



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANA HELOÍSA FONSECA AYALA

**SÍNTESE DE HÍBRIDOS MOLECULARES CUMARINA-
ÁCIDOS FENÓLICOS COM POTENCIAIS ANTIOXIDANTE E
FOTOPROTETOR.**

Londrina
2024

ANA HELOÍSA FONSECA AYALA

**SÍNTESE DE HÍBRIDOS MOLECULARES CUMARINA-
ÁCIDOS FENÓLICOS COM POTENCIAIS ANTIOXIDANTE E
FOTOPROTETOR.**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química- Área de concentração Química Orgânica, da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carla Cristina Perez

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marcelle de Lima Ferreira Bispo.

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

A532s Ayala, Ana Heloísa Fonseca.
Síntese de Híbridos Moleculares Cumarina-Ácidos Fenólicos com Potencias Antioxidante e Fotoprotetor / Ana Heloísa Fonseca Ayala. - Londrina, 2024.
116 f. : il.

Orientador: Carla Cristina Perez.
Coorientador: Marcelle de Lima Ferreira Bispo.
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Cumarinas - Tese. 2. Ácidos fenólicos - Tese. 3. Fotoproteção - Tese. 4. Atividade antioxidante - Tese. I. Perez, Carla Cristina. II. Bispo, Marcelle de Lima Ferreira. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU 54

ANA HELOÍSA FONSECA AYALA

**SÍNTESE DE HÍBRIDOS MOLECULARES CUMARINA-ÁCIDOS
FENÓLICOS COM POTENCIAIS ANTIOXIDANTE E
FOTOPROTETOR.**

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química- Área de concentração Química Orgânica, da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito à obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Carla Cristina Perez
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Anna Paola Butera
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Fernanda Andréia Rosa
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Londrina, 29 de fevereiro de 2024.

Quando criança, meu sonho era ser médica, porque acreditava que eram os médicos que criavam os remédios. Me indignava a inexistência de um medicamento que pudesse curar e salvar a minha vó, Neuza. Infelizmente, ela não pode acompanhar a minha trajetória, mas acredito que no fundo, há uma grande influência dela em minhas escolhas. Por isso, dedico esse trabalho a ela.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar agradecendo a minha família, em especial aos meus pais, Valéria e Sebastião, e à minha irmã Hisadora. Seus sacrifícios, compreensão, amor, incentivo e motivação foram fundamentais em minha jornada. Aos meus avôs, Madalena e Dirceu, meus tios Márcio, Cecília e Rosemare, e meus primos André, Carol, Ana Helena e Raphael. Muitas vezes, quando tive medo de tomar algumas decisões, vocês estavam sempre me lembrando que eu podia tentar e que estariam comigo independente do resultado. Obrigada por serem meu porto seguro!

Aos meus amigos Fabrício e Karen, meus irmãos de outra mãe, com quem compartilho a vida, lutas, angustias, sonhos, muitas risadas e conquistas. E aos demais amigos que fiz ao longo desses anos na UEL- Barbara, Bruno, Daniel e Alexandre. A caminhada é árdua, mas se tornou mais leve com todos vocês ao meu lado. À minha madrinha de graduação, professora Cecilia, que tantas vezes me incentivou e aconselhou, contribuindo para minha perseverança no curso de química. A todos vocês, muito obrigada!

À professora Dr^a Carla Cristina Perez, minha orientadora, que ainda na graduação fez meus olhos brilharem com um quadro cheio de reações e mecanismos, despertando meu amor pela química orgânica. Sua paciência, dedicação, conhecimento e orientação foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Serei sempre grata pela oportunidade de aprender com alguém tão dedicada e inspiradora como você.

À minha co-orientadora, professora Dr^a Marcelle de Lima Ferreira Bispo, agradeço pelos valiosos ensinamentos e pelo aprendizado ao longo desses dois anos, fundamentais para o desenvolvimento deste projeto e o enriquecimento da minha jornada acadêmica.

Aos meus companheiros de laboratório, em especial: Mariana, Gabriel, Gabrielle, Ana Carolina, Kaio, Priscila e Marcieli. Meu agradecimento por toda a ajuda, paciência, conselhos, amizade e pelo acolhimento. Minha gratidão também as alunas de iniciação científica, Karina e Piethra, que me acompanharam e me ajudaram nesse projeto. Obrigada a todos.

Agradeço aos membros da banca, à Professora Dr^a Fernanda Andréia Rosa por aceitar participar deste trabalho. Da mesma forma, expresso minha gratidão à

Professora Dr^a Anna Paola Butera, sempre presente em minha trajetória acadêmica, contribuindo com valiosas colaborações. Obrigada.

A universidade estadual de Londrina, pelos investimentos e espaço físico que nos proporciona. Minha gratidão ao programa de Pós-Graduação em Química e aos professores vinculados ao departamento, que compartilham diariamente seus conhecimentos com todos os alunos, muito obrigada.

Gostaria, também, de expressar minha gratidão aos laboratórios parceiros que colaboraram durante este projeto. Aos laboratórios LAPSSO (Laboratório de Propriedade e Síntese de Substâncias Orgânicas) e LabFitoBio (Laboratório de Fitoquímica e Biomoléculas) por compartilharem conosco sua expertise, equipamentos e reagentes. Da mesma forma, agradeço ao LabEspec - Laboratório de Espectroscopia pelas análises de RMN.

Por fim, expresso meu agradecimento a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste projeto. Muito obrigada!

“One step at time”

AYALA, Ana Heloísa Fonseca. **Síntese de híbridos moleculares cumarina-ácidos fenólicos com potenciais antioxidante e fotoprotetor**. 115 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

RESUMO

A pele constitui-se como o maior órgão do corpo humano, possuindo uma estrutura complexa e desempenhando múltiplas funções no organismo. Mesmo sendo um processo natural causado por fatores intrínsecos, o envelhecimento da pele pode ser acelerado por fatores extrínsecos, ambos, associados a distúrbios bioquímicos, como a formação excessiva de espécies radicalares, levando a danos proteicos e no DNA, além de alterações nas características físicas da pele. Nesse contexto, torna-se necessário o uso de agentes que retardem esse processo. Os ácidos fenólicos constituem-se como substâncias naturais pertencentes a classe dos polifenóis, apresentando diversas atividades biológicas. Por outro lado, as cumarinas se apresentam como metabólitos secundários encontrados em espécies vegetais, sendo de fácil obtenção sintética e com potencial de hibridização com outros grupos farmacofóricos, possibilitando a criação de compostos propriedades específicas. O possível uso cosmético e dermatológico de derivados de ácidos fenólicos e cumarinas, baseia-se principalmente em suas características estruturais. Além da diversidade de atividades biológicas atribuídas a ambos compostos, fazendo deles e de seus derivados ativos muito interessantes para possíveis formulações dermatológicas. Com isso, esse trabalho tem como objetivos sintetizar e caracterizar duas séries de híbridos moleculares que combinam cumarina e ácidos fenólicos, além da avaliação *in vitro* de seus potenciais antioxidante e fotoprotetor, junto com a predição *in silico* dos parâmetros ADMET dos novos derivados. Inicialmente, foram realizadas as sínteses dos precursores, cumarinas (**4a-e**) foram obtidas através de uma reação de condensação de Knoevenagel, entre o acetoacetato de etila e salicilaldeído, resultando em sólidos com rendimentos entre 39 e 88%. Já o aldeído protocatecuico (**3b**) foi sintetizado por meio de uma reação de desmetilação da vanilina (**3a**), apresentando 61% de rendimento. Os híbridos da série 1 (**5a-e**) e 2 (**6a-e**) foram produzidos por uma reação de condensação aldólica entre as substâncias (**4a-e**) e o aldeído correspondente (**3a ou 3b**), resultando em compostos sólidos com rendimentos entre 51 a 92%, para a série de derivados cumarina-ácido vanílico, e entre 52 a 95%, para derivados da série cumarina-ácido protocatecuico). Destaca-se que, oito dos dez híbridos moleculares sintetizados são inéditos na literatura. Todos os compostos foram caracterizados por RMN (^1H e ^{13}C) e quando sólidos, por ponto de fusão, confirmando-se suas estruturas. Na avaliação da atividade biológica *in vitro*, destaca-se a segunda série de derivados, com os compostos **6b** e **6c** apresentando os melhores valores de IC_{50} . Quanto ao teste de fotoproteção, os derivados de ambas as séries demonstram bons valores de FPS, com destaque para os compostos com substituinte nitro (**5e** e **6e**). Com os resultados obtidos na avaliação *in silico* observou-se que o híbrido **6d** apresentou os melhores resultados, sendo predito como não tóxico na maioria das vias de administração, não sensibilizador ou irritante a pele. Testes *in vitro* devem ser realizados para avaliações mais aprofundadas das propriedades de todos os novos compostos. Esses resultados abrem perspectivas promissoras para o desenvolvimento de novos medicamentos e produtos para cuidados da pele.

Palavras-chave: Cumarinas; Ácidos Fenólicos; Híbridos moleculares; Antioxidante; Fotoprotetor.

AYALA, Ana Heloísa Fonseca. **Synthesis of molecular hybrids coumarin- phenolic acids with antioxidant and photoprotector potenciales**. 115 f. Dissertation (Master's Degree in Chemistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

ABSTRACT

The skin is the largest organ in the human body, possessing a complex structure and playing various roles within the organism. Although skin aging is a natural process influenced by inherent factors, external factors can accelerate this process. Both processes are associated with biochemical disorders, such as the excess formation of radical species, leading to DNA and protein damage, alongside physical changes in the skin. To counteract these effects, the use of substances to delay the aging process is required. Phenolic acids, natural substances classified as polyphenols, exhibit diverse biological activities. Coumarins, secondary metabolites found in plant species, are easily synthetically acquired and possess hybridization potential with other pharmacophoric groups, making the creation of compounds with specific properties possible. The potential dermal and cosmetic applications of derivative compounds of phenolic acids and coumarins are grounded in their structural features. Additionally, the diversity of biological activities assigned to both compounds make them and their derivatives interesting actives for dermatological formulations. Therefore, the objectives of this work are to synthesize and characterize two series of molecular hybrids that combine coumarin and phenolic acids, as well as to evaluate the antioxidant and photoprotective potential, along with the *in silico* prediction for ADMET parameters of these new derivatives. First, the precursors **4a-e** and **3b** were synthesized. The methyl ketones (**4a-e**) were obtained through a Knoevenagel condensation reaction between ethyl acetoacetate and salicylaldehyde, resulting in solid compounds with yields ranging from 39% to 88%. Protocatechuic aldehyde resulted from demethylation of vanillin (**3a**) with a 61% yield. Serie 1 (**5a-e**) and serie 2 (**6a-e**) were prepared through an aldol condensation reaction between compounds **4a-e** and the corresponding aldehyde (**3a** ou **3b**). This led to the formation of solids with yields ranging 51% to 92% yield for vanillic acid derivatives and 52% to 95% for protocatechuic acid derivatives. Notably, eight out of ten of the hybrid derivatives have not been previously published in the literature. All the compounds were characterized by ¹H and ¹³C NMR and melting point, confirming their structures. In *in vitro* evaluations, the series of protocatechuic acid compounds demonstrated the best results in the antioxidant test, particularly emphasizing **6b** and **6c**, showed the best values of IC₅₀. The photoprotection test revealed that all derivatives exhibited favorable SPF values, with the compounds containing nitro substituent (**5e** and **6e**) standing out. With these results of the *in silico* assessment, it was observed that the **6d** hybrid had the best results, being predicted as non-toxic in most routes of administration, non-sensitizer, or irritating for the skin. In vitro assays should be performed for a more in-depth appraisal of the properties of all the new compounds. These results open promising perspectives for the development of new medicines and skin care products.

Key-words: Coumarin; Phenolic acids; Molecular hybrids; Antioxidant; Photoprotector.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ilustração da estrutura da pele e suas diferentes camadas.	21
Figura 2- Representação da transição eletrônica entre os orbitais HOMO e LUMO de uma molécula com capacidade de absorção UV.	24
Figura 3- Atividades biológicas associadas aos ácidos vanílico A, protocatecuico C e vanilina B.	27
Figura 4- Núcleo básico da cumarina.	29
Figura 5- Diversidade biológica associada ao núcleo cumarínico.	29
Figura 6- Chalconas e suas atividades biológicas.	32
Figura 7- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância (4c)	43
Figura 8- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância (4c)	44
Figura 9- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (3b)	48
Figura 10- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (3b)	49
Figura 11- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (5c)	54
Figura 12- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (5c)	55
Figura 13- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (6b)	57
Figura 14- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (6b)	58
Figura 15- Redução do radical DDPH \cdot , por meio da doação de um átomo de hidrogênio de uma espécie antioxidante	62
Figura 16- Resultados obtidos para os compostos 5a-e no teste antioxidante DPPH \cdot	63
Figura 17- Resultados obtidos para os precursores 4a-e e 3a no teste antioxidante DPPH \cdot	63
Figura 18- Resultados obtidos para os derivados 6a-e no teste antioxidante DPPH \cdot	64
Figura 19- Resultados obtidos para os precursores 4a-e e 3b no teste antioxidante DPPH \cdot	65
Figura 20- Estruturas dos compostos utilizados como padrões antioxidantes e seus valores de IC_{50}	65
Figura 21- Rendimentos globais dos derivados 5a-e e 6a-e	85

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1- Reação de redução entre um exemplo de molécula antioxidante e um radical livre.	26
Esquema 2- Planejamento geral do trabalho com a proposta de hibridização de cumarinas com ácidos vanílico e protocatecuico.	38
Esquema 3- Análise Retrossintética.	39
Esquema 4- Síntese das cumarinas precursoras e seus rendimentos.	39
Esquema 5- Proposta de mecanismo para a reação de condensação de Knoevenagel para as metilcetonas 4a-e.	40
Esquema 6- Síntese do aldeído protocatecuico (3b).	44
Esquema 8- Proposta de mecanismo para a reação de desmetilação da vanilina 3b.	45
Esquema 8- Síntese dos derivados cumarina-ácido vanílico (5a-e) e cumarina-ácido protocatecuico (6a-e)	49
Esquema 9- Proposta de mecanismo para a reação de condensação aldólica para os derivados 5a-e e 6a-e.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Características físicas e rendimentos para as substâncias 4a-e.....	41
Tabela 2- Valores de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C e ^1H , constantes de acoplamentos e integrais para o composto 4c.	42
Tabela 3 – Valores de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C e ^1H , constantes de acoplamentos e integrais para o composto 3b.	47
Tabela 4- Características estruturais, físicas e rendimentos para as substâncias 5a-e e 6a-e.	51
Tabela 5- FPS e desvio padrão obtidos em diferentes concentrações das soluções de derivados cumarínicos 5a-e.	59
Tabela 6- FPS e desvio padrão obtidos em diferentes concentrações das soluções de derivados cumarínicos 6a-e.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 7- FPS e desvio padrão obtidos em diferentes concentrações das soluções dos precursores 3a e b, 4a-e e do padrão de benzofenona-3.	Erro! Indicador não definido.
Tabela 8- Comprimentos de onda e respectivos fatores de multiplicação para cálculo do FPS.	82

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	PROCESSOS ASSOCIADOS AO ENVELHECIMENTO DA PELE	21
1.2	FOTOENVELHECIMENTO	23
1.3	ESTRESSE OXIDATIVO.....	25
1.4	ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE ÁCIDOS FENÓLICOS E SEUS DERIVADOS	26
1.5	NÚCLEO CUMARÍNICO E SUA DIVERSIDADE BIOLÓGICA	29
1.6	CHALCONAS E SEUS DERIVADOS	31
1.7	PREDIÇÕES <i>IN SÍLICO</i> DE PARÂMETROS RELACIONADOS A ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO, ELIMINAÇÃO E TOXICIDADE (ADMET)	34
2	OBJETIVOS	36
2.1	OBJETIVO GERAL	36
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
3.1	PLANEJAMENTO GERAL.....	37
3.2	ANÁLISE RETROSSINTÉTICA.....	38
3.3	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS CUMARINAS (4A-E)	39
3.4	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO ALDEÍDO PROTOCATECUÍCO (3B).....	44
3.5	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS HÍBRIDOS (5A-E/ 6A-E).....	49
3.6	TESTES <i>IN VITRO</i>	58
3.6.1	Determinação da Capacidade Fotoprotetora	58
3.6.2	Determinação da Capacidade Antioxidante Pelo Método de Redução do Radical DPPH• Para Ambas as Séries de Híbridos Moleculares e Seus Precursores.....	62
3.7	TESTES <i>IN SÍLICO</i>	66
4	METODOLOGIA	73
4.1	PROCEDIMENTOS GERAIS	73
4.2	MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO	73
4.3	PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS	74
4.3.1	Síntese das cumarinas precursoras (4a-e)	74
4.3.2	Síntese do aldeído protocatecuíco (3b)	76
4.3.3	Síntese dos derivados híbridos cumarina-polifenóis (5a-e/ 6a-e)	76
4.4	AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA.....	81
4.5	AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (CAPACIDADE REDUTORA DPPH•) 82	
4.6	AVALIAÇÃO <i>IN SÍLICO</i> DAS PROPRIEDADES DE ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO, EXCREÇÃO E TOXIDADE (ADMET)	84
5	CONCLUSÃO	85
6	REFERÊNCIAS	87

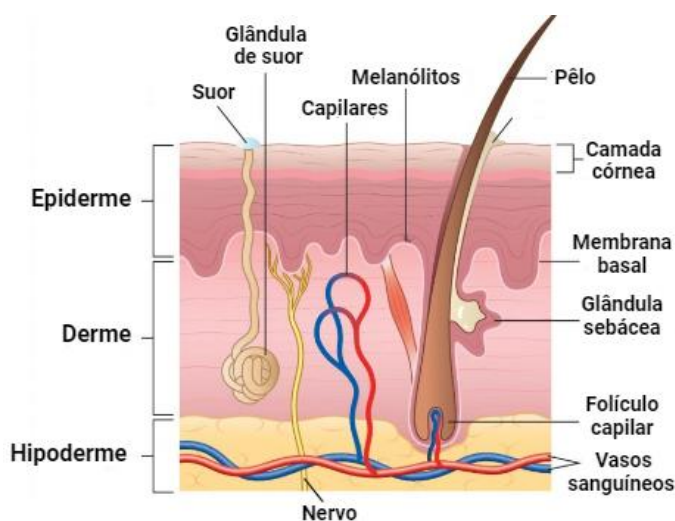
APÊNDICE A – CARACTERIZAÇÃO DAS METILCETONAS 4A-E	94
APÊNDICE B – CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS CUMARÍNICOS HÍBRIDOS COM ÁCIDO VANÍLICO 5A-E	100
APÊNDICE C – CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS CUMARÍNICOS HÍBRIDOS COM ÁCIDO PROTOCATECÚICO 6A-E	108

1 INTRODUÇÃO

A pele se constitui como o maior órgão do corpo humano, tendo como função primária a proteção contra ações físicas (diferentes tipos de radiações, fatores mecânicos e térmicos), químicas (substâncias corrosivas, irritantes e alergênicas) e/ou biológicas (patógenos). Agindo como uma capa impermeável e isolante garantindo assim, uma barreira contra agentes externos. Além disso, apresenta importantes ações no equilíbrio hídrico e eletrolítico, termorregulação, resposta imune e sensorial. Atuando também, na eliminação, absorção e armazenamento de substância, metabolismo e homeostase. (BHARADVAJA; GAUTAM; SINGH, 2023; GILABERTE *et al.*, 2016; LEE; KIM, 2022).

A pele apresenta três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme. A mais externa, chamada de epiderme, é formada por uma camada de tecido epitelial escamoso estratificado, composta basicamente por queratinócitos, células envolvidas na queratinização e melanócitos, células pigmentares. Sua principal função é formar uma primeira barreira protetora do corpo, protegendo contra danos externos, dificultando a saída de água e a entrada de substâncias. Também é responsável pela origem de outras estruturas, como unhas, glândulas sudoríparas e unidades pilossebáceas. A camada dérmica é ligada a epiderme pela membrana basal, e em sua estrutura apresenta as subcamadas papilar e reticular, essas, contendo fibroblastos responsáveis pela produção de colágeno, elastina e glicosaminoglicanos (GAGs), bem como vasos sanguíneos, terminações nervosas, folículos capilares, glândulas sudoríparas e sebáceas. As fibras de colágeno constituem 70% da derme, atribuindo-lhe força e resistência, enquanto a elastina atua mantendo a elasticidade e flexibilidade. Por fim, a hipoderme ou tecido subcutâneo, consiste em tecido conjuntivo frouxo contendo células adiposas, organizados em lóbulos definidos por tecido conjuntivo fibroso, chamado de septo. Nervos, sangue e vasos linfáticos estão localizados dentro dos septos. Essa camada atua principalmente no isolamento térmico e reserva energética (**figura 1**) (GILABERTE *et al.*, 2016; MICHALAK *et al.*, 2021).

Figura 1- Ilustração da composição da pele, suas diferentes camadas e estruturas anexas.



Fonte: Adaptado de Nursing Times, 2019

1.1 PROCESSOS ASSOCIADOS AO ENVELHECIMENTO DA PELE

O processo de envelhecimento da pele é complexo, mas natural, que acompanha os seres humanos de seu nascimento até a sua morte. Seu mecanismo de atuação baseia-se em uma combinação entre influências externas, estilo de vida e genética, havendo, por muitas vezes, grandes diferenças para pessoas de mesma etnia, ou mesmo em diferentes locais do corpo de um mesmo indivíduo. Pode-se dividir os processos envolvidos no envelhecimento em dois diferentes fatores: intrínsecos (endógenos) e extrínsecos (exógenos) (IMHOF; LEUTHARD, 2021; JACCZAK; RUBIŚ; TOTOÑ, 2021).

As ações intrínsecas estão intimamente ligadas com a genética e o estado metabólico do organismo. Esse dinamismo cronológico e inevitável, faz com que haja uma redução da atividade celular causando diversos prejuízos como: recuperação mais lenta da epiderme, causada pela diminuição da capacidade regenerativa; achatamento da membrana basal, fazendo com que ocorra uma redução no fluxo de nutrientes para a camada mais externa da pele, interferindo na produção de queratina; redução de melanócitos, gerando manchas; grande acúmulo de células senescentes; menor produção de colágeno e elastina, ocasionando perda de volume e estrutura, menor elasticidade e favorecimento a formação de rugas; declínio da capacidade antioxidante e aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) no organismo. Esse

desequilíbrio entre espécies oxidantes e antioxidantes gera o chamado estresse oxidativo, promovendo danos proteicos e celulares nas diversas camadas da pele. O impacto exógeno, causado por agentes externos (radiação UV, poluição, estresse, mal hábitos alimentares e cigarro) está intimamente ligado as ações endógenas, induzindo e colaborando para a aceleração dos processos de envelhecimento. De longe, a maior fonte extrínseca é a exposição solar acumulada e desprotegida, causando o chamado fotoenvelhecimento, atingindo especialmente áreas mais expostas do corpo. Estima-se que, mais de 80% do envelhecimento da pele facial se dê pela exposição crônica de baixo grau à radiação ultravioleta. Outros danos também são associados a essa exposição excessiva como: queimaduras solares; inflamação; imunossupressão e danos ao tecido conjuntivo dérmico. Percebe-se que ambos fatores envolvem distúrbios bioquímicos, induzindo à formação excessiva de radicais de oxigênio, danos proteicos e do DNA, bem como alterações nas características físicas, morfológicas e fisiológicas das camadas dérmica e epidérmica. Como resultado, há a diminuição da proteção contra patógenos, o surgimento de rugas, perda de elasticidade, alterações de cor, pigmentação irregular e descoloração, secura, regeneração, cicatrização mais lenta e suscetibilidade ao câncer. Adicionalmente, pode resultar na degradação dos vasos sanguíneos, ocasionando oxigenação e nutrição inadequadas da pele. (CSEKES; RAČKOVÁ, 2021; DOMASZEWSKA-SZOSTEK; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA; KURYŁOWICZ, 2021; JACCZAK; RUBIŚ; TOTOŃ, 2021; TOBIN, 2017).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) e a radiação solar desempenham um papel central nos processos de envelhecimento da pele. De acordo com a teoria do envelhecimento por radicais livres, esses agentes atuam tanto no envelhecimento cronológico quanto no fotoenvelhecimento. Embora vários mecanismos antioxidantes comumente se deteriorarem com o aumento da idade, o acréscimo dessas espécies por ações externas acelera ainda mais a diminuição das capacidades antioxidantes e leva, conseqüentemente ao envelhecimento celular. Níveis elevados de colágeno parcialmente degradado estão presentes na pele intrinsecamente envelhecida, semelhante à pele fotoenvelhecida, estando esse processo intimamente ligado a exposição à radiação ultravioleta (UV) (FARJADMAND *et al.*, 2020; KOHL *et al.*, 2011).

Uma atividade ligada a todo esse mecanismo de ação do envelhecimento, mencionada acima, é a de senescência. A senescência celular caracteriza-se pela

inabilidade de divisão, resistência a apoptose, liberação de substâncias inflamatórias e deterioração de tecidos. Apesar de apresentar benefícios para o organismo, como a atuação contra a proliferação de tumores e auxílio na padronização de crescimento de células embrionárias, existem evidências que sugerem que o acúmulo de células senescentes nos tecidos e em órgãos envelhecidos, prejudicam desempenhos fisiológicos como a regeneração, e atuam de forma ativa no envelhecimento do organismo. Além das ações involuntárias do próprio organismo, esse processo pode ser induzido e acelerado por várias perturbações celulares. Vários fatores externos e internos, incluindo o aumento de espécies oxidativas no organismo e outros agentes prejudiciais ao DNA, podem induzir essa atividade na epiderme e derme (CSEKES; RAČKOVÁ, 2021; HO; DREESSEN, 2021).

1.2 FOTOENVELHECIMENTO

A radiação ultravioleta pode ser dividida em três categorias, a depender do seu comprimento de onda eletromagnética: UVA (400-315nm), UVB (315-280nm) e UVC (280-100 nm). A camada de ozônio bloqueia grande parte da radiação UVC, e acabamos expostos principalmente as radiações UVA e UVB. Estas radiações atuam como mutagênicos ambientais, resultando em efeitos diretos e indiretos, aumentando a produção de radicais livres oxidativos e causando mudanças na estrutura celular. (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; SAEWAN; JIMTAISONG, 2015).

De Lima Cherubim et al. (2020), ressaltam que os efeitos biológicos da radiação UV baseiam-se na absorção dessa energia por grupos cromóforos, com subsequente conversão dessa energia em reações químicas.

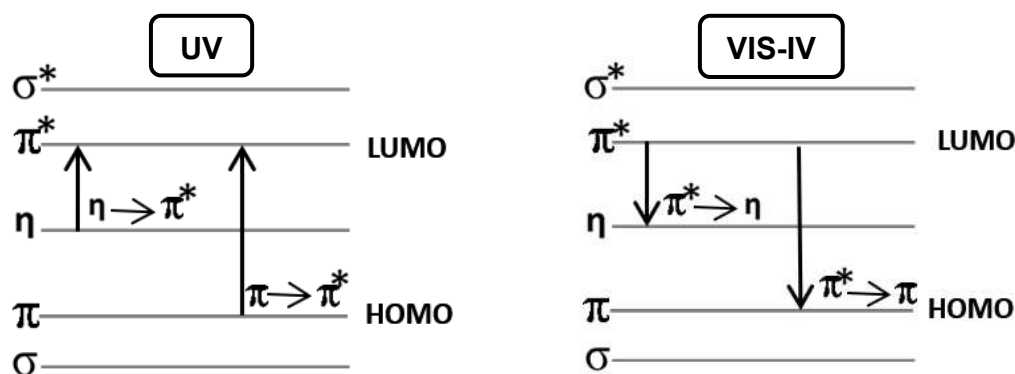
A radiação UVB, com menores comprimentos de onda, atua principalmente na camada dérmica. Embora constitua uma fração muito menor da radiação UV total, é considerada o componente mais ativo da luz solar, com potência de queimadura solar na pele mil vezes maior que a radiação UVA, devido a sua maior energia. Suas ações resultam em danos ao DNA, com a formação de carcinogênicos e fotoprodutos. A radiação UVA é o componente mais penetrante e prevalente da radiação UV solar, sendo promotora de alterações profundas no tecido conjuntivo dérmico. É absorvida por grupos cromóforos celulares, induzindo a formação de espécies oxidativas de oxigênio, danificando estruturas proteicas e do DNA, aumentando o risco de mutações, como o câncer de pele. A exposição prolongada a esse tipo de energia

causa o chamado fotoenvelhecimento prematuro da pele, por isso, são conhecidos como “raios do envelhecimento”. As manifestações externas de seus efeitos (raios UVA e UVB) se dão com aparecimento flacidez, rugas e machas (FARJADMAND *et al.*, 2020; KOHL *et al.*, 2011).

A pele apresenta um mecanismo intrínseco de autorreparação para lidar com alterações induzidas por raios solares. Os melanócitos desempenham um papel importante nesse processo, absorvendo essa energia, enquanto enzimas específicas são responsáveis por remover fragmentos danificados de DNA. A primeira defesa contra os danos solares é a produção de melanina, um pigmento que absorve os raios UV, protegendo as células da pele. No entanto, em certos momentos, a proteção endógena pode não ser suficiente, tornando-se necessário recorrer a barreiras externas. Barreiras físicas, como roupas e a utilização de filtros solares, são estratégias eficazes para proteger a pele, bloqueando a radiação UV incidente na epiderme (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Os filtros solares podem ser divididos em orgânicos e inorgânicos. Filtros inorgânicos são compostos majoritariamente por óxidos metálicos, agindo por meio da reflexão da radiação UV, um efeito físico. Já os filtros orgânicos, são moléculas com a capacidade de absorver a radiação UV de alta energia e transformá-la em radiações com maiores comprimentos de onda (baixa energia), inofensivas ao ser humano. Estas moléculas orgânicas são geralmente constituídas por compostos aromáticos com grupos carboxílicos. Quando absorvem a energia da radiação UV, os elétrons situados no orbital π HOMO dessas moléculas são excitadas para orbital π^* LUMO. Ao retornarem ao seu estado inicial, liberam o excesso de energia na forma de calor, ajudando a dissipar a radiação UV, como representado na **figura 2** (DO NASCIMENTO; DOS SANTOS; DE AGUIAR, 2014; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Figura 2- Representação da transição eletrônica entre os orbitais HOMO e LUMO de uma molécula com capacidade de absorção e transformação da radiação UV.



Fonte: A autora.

1.3 ESTRESSE OXIDATIVO

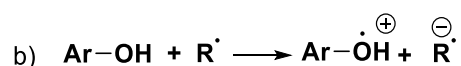
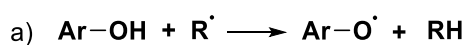
A oxidação pode ser definida como uma transferência de elétrons de uma substância para a outra. Essa ação gera radicais livres, como espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais em excesso no organismo, causam danos ao DNA, proteínas e organelas celulares. As EROs desempenham um papel protagonista nos processos de envelhecimento da pele, sendo produzidos por vias endógenas (metabolismo oxidativo celular) ou exógenas (radiação UV, estilo de vida, estresse e poluição). Com o passar dos anos, é natural que a defesa antioxidante se deteriore, causando um desequilíbrio entre o sistema de proteção antioxidante e oxidante (estresse oxidativo). No entanto, essa ação pode ser acelerada e potencializada por agentes externos (ALVES *et al.*, 2010; MICHALAK *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2022).

O estresse oxidativo provoca danos às membranas celulares, lesões nos tecidos, alterações nas expressões gênicas pela quebra e modificação nas bases do DNA. Estimula a formação de metaloproteinases de matriz (MMP1 e MMP2) em fibroblastos assim como, a ativação das enzimas colagenase, elastase, tirosinase e xantina oxidase, resultando na degradação e redução de colágeno e a elastina, danos no tecido conjuntivo e conseqüentemente, envelhecimento precoce. Além disso, esses radicais livres podem interagir com lipídios da matriz extracelular, gerando alterações na barreira epidérmica e perda de água, ocasionando ressecamento da pele [Clique ou toque aqui para inserir o texto.](#)(DE LIMA CHERUBIM *et al.*, 2020; JACCZAK; RUBIŚ; TOTOŃ, 2021; KOHL *et al.*, 2011).

Devido à forte relação entre exposição aos raios UV e a geração de espécies reativas de oxigênio, uma forma de prevenção aos malefícios gerados é o uso de

filtros solares e/ou de compostos específicos com atividade antioxidante. Geralmente, um antioxidante eficaz possui grupos substituintes em sua estrutura com capacidades de doação de elétrons ou átomos de hidrogênio. Esses grupos têm o potencial de estabilizar o radical formado, principalmente por meio da ressonância. É importante ressaltar que a atividade antioxidante está diretamente relacionada a estrutura química dos compostos, especialmente em relação ao número e posição dos grupos hidroxilas nas porções fenólicas. Esses compostos reagem com as espécies reativas de oxigênio, reduzindo-as ou inativando-as. O **esquema 1** apresenta os mecanismos de ação de redução/inativação, como a transferência de átomos de hidrogênio (**esquema 1a**) ou doação de um elétron para o radical (esquema 2a). No esquema, ArOH representa a molécula antioxidante e R, o radical livre. Ambos os intermediários formados nessas reações são relativamente estáveis, principalmente devido à ressonância do elétron desemparelhado com o anel aromático. (BJØRKLUND *et al.*, 2022; DE LIMA CHERUBIM *et al.*, 2020).

Esquema 1- Exemplo de uma reação de redução entre uma molécula antioxidante e um radical livre.



Fonte: Adaptado DE LIMA CHERUBIM, 2020.

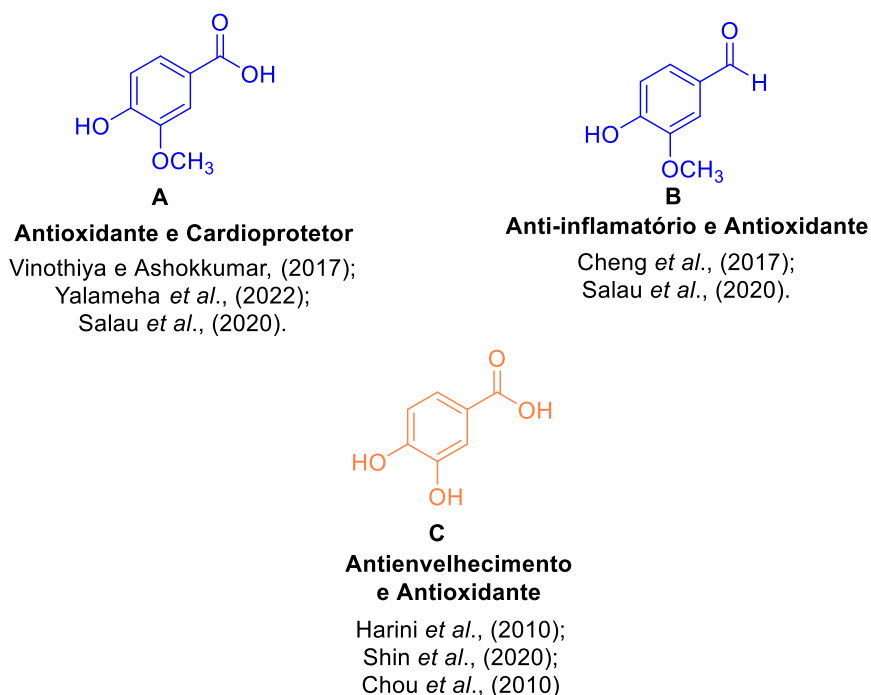
Muitas substâncias de origem natural apresentam essas características estruturais e são retratados na literatura como agentes antioxidantes. Dentre as quais, destacam-se as cumarinas e os polifenóis, núcleos biológicos riquíssimos e com grande potencial de exploração. (AGUIAR *et al.*, 2022; BHARADVAJA; GAUTAM; SINGH, 2023; BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK; FABISZEWSKA; ZIENIUK, 2018a).

1.4 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE ÁCIDOS FENÓLICOS E SEUS DERIVADOS

Os ácidos fenólicos são substâncias naturais pertencentes a classe dos polifenóis, e subdivididos em duas categorias: ácidos benzoicos (ácidos vanílico, protocatecuico, seríngico e gálico) e cinâmicos (cafeico, ferúlico e cumárico). Os ácidos vanílico (VA, composto **A**), protocatecuíco (PA, composto **C**) juntamente com seus derivados, pertencentes a esse grupo, são relatados na literatura associados à

diversas atividades, incluindo propriedades anti-inflamatória, anti-diabetes, cardioprotetor, antioxidante e antienvhecimento. (**Figura 3**).

Figura 3- Estruturas dos ácidos vanílico **A**, protocatecuico **C** e vanilina **B**, e atividades biológicas associadas.



Fonte: A autora.

Com base nos experimentos realizados por Yalameha *et al.* (2023), observa-se o potencial cardioprotetor do VA (ácido vanílico) (**A, figura 3**). Essa atividade baseia-se em suas ações redutoras na produção de EROs, eliminando os radicais livres e diminuindo a peroxidação lipídica. O que gera uma melhora a função mitocondrial e conseqüentemente, diminui a disfunção cardíaca. Apresentando-se um importante antioxidante e cardioprotetor do sistema vascular.

O trabalho de Salau *et al.*, apresenta atividade relacionada ao potencial antioxidante dos compostos A e B com efeito terapêutico sobre doenças neurodegenerativas. Esse estudo teve como objetivo a análise dos efeitos comparativos e protetores desses fenólicos sobre o estresse oxidativo, desequilíbrio colinérgico e hidrolisante de nucleotídeos enzimáticos, vias metabólicas desregularizadas induzindo neurotoxicidade em tecidos do cérebro.

A atividade anti-inflamatória da vanilina, foi avaliada por Cheng *et al.* (2017) contra inflamações crônicas, como a psoríase cutânea. A administração oral do composto **B** (vanilina), apresentado na **figura 3**, na dose de 100 mg/kg foi capaz de

prevenir significativamente danos à pele de ratos, através da inibição do recrutamento de células de defesa para tecidos, bem como, reduzir a expressão gênica para produção de IL17, IL-17F e IL-23, as principais interleucinas envolvidas na patogênese da psoríase.

O ácido protocatecuico (PA) se diferencia estruturalmente do ácido vanílico, pela presença de um grupo hidroxila substituindo a metoxila, na posição 3 (**C, figura 3**). Para confirmar o efeito antienvhecimento do ácido protocatecuico Shin *et al.* (2020) estudaram a síntese de colágeno tipo I e o nível de metaloproteinase de matriz MMP-1. É reportado na literatura que, a irradiação UVA pode causar fotoenvhecimento através da indução da atividade de MMP-1, que subsequentemente quebra as ligações cruzadas no colágeno. Os resultados do estudo performed confirmaram que o PA inibiu a MMP-1 instigada pelos raios UVA, o que sugere atividade anti-envhecimento, promovendo a síntese de procolágeno tipo I e diminuindo a expressão de MMP-1.

O trabalho de Chou *et al.* (2010) confirmou a capacidade antioxidante do ácido protocatecuico através de sua atividade de eliminação de radicais livres, inibição da peroxidação lipídica e supressão de espécies reativas de oxigênio em células BNLCL2 induzidas por H₂O₂. Estudos *in vivo*, utilizando camundongos tratados com gel contendo PA foram realizados. Os resultados mostraram que, os níveis de eritema-melanina na pele foram reduzidos, quando comparados aos valores de grupos de controle não tratados. Com isso, o composto pode atuar como um inibidor eficaz de agressores oxidativos com propriedades anti-melanogênese, ou seja, se aplicado topicamente pode reduzir a pigmentação na pele humana.

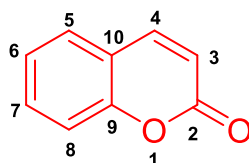
Além do combate ao envelhecimento celular, composto com propriedades antioxidantes podem ter um importante papel na luta contra doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer. Essas doenças estão frequentemente associadas a inflamação e estresse oxidativo no cérebro, o que pode levar a danos neurais significativos. O estudo de Salau *et al.*, (2020) avaliou os efeitos protetores dos compostos **A e B, figura 3**, contra a toxicidade induzida pelo Fe²⁺, capacidade de ação terapêutica no desequilíbrio oxidativo, enzimas colinérgicas e hidrolisadoras de nucleotídeos, além da regulação de vias metabólicas. Os resultados mostraram que, os compostos estudados foram capazes de promover melhora a saúde dos tecidos cerebrais, aumentando os níveis de glutathione e maior atividade das enzimas catalases e superóxido desmutases. Além disso, notou-se uma redução no nível de

malonaldeído e óxido nítrico, indicando a diminuição do estresse oxidativo. Observou-se ação inibitória das atividades da acetilcolinesterase e da butirilcolinesterase, e aumento da ATPase. Além disso, a vanilina levou à restauração de metabólitos oxidativamente debilitados e reativou-se algumas vias metabólicas. Embora o ácido vanílico não tenha demonstrado atividade de ativação em vias metabólicas específicas, sua capacidade de restaurar e reativar metabólitos sugere que ele também desempenha um papel importante na proteção e recuperação dos tecidos cerebrais afetados por danos oxidativos. Esses resultados destacam o potencial terapêutico da vanilina e do ácido vanílico no tratamento de condições neurodegenerativas associadas ao estresse oxidativo.

1.5 NÚCLEO CUMARÍNICO E SUA DIVERSIDADE BIOLÓGICA

Outro núcleo biologicamente interessante são as cumarinas (**Figura 4**). Essas, constituem-se lactonas do ácido *o*-hidróxido-cinâmico, metabólitos secundários encontrados em espécies vegetais, como *Mikania glomerata*, *Nasturtium officinale*, e *Cinnamomum verum*. (KOSTOVA *et al.*, 2011).

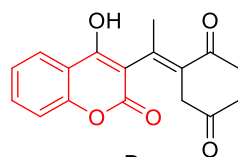
Figura 4- Núcleo básico da cumarina.



Fonte: Adaptado de KOSTOVA *et al.*, 2011.

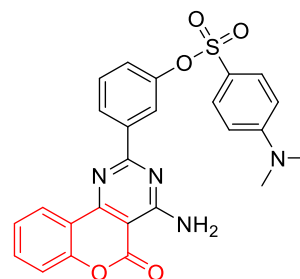
A fácil obtenção sintética do núcleo cumarínico, aliado à possibilidade de hibridização com outros grupos farmacofóricos possibilita a obtenção de moléculas potencializadas. Na literatura vários derivados cumarínicos são associados às ações: anti-tumoral, anti-inflamatória, antioxidante, entre outras, **Figura 5** (ABUL QAIS; AHMAD, 2019; KOSTOVA *et al.*, 2011; SAEED *et al.*, 2017).

Figura 5- Derivados cumarínicos e sua diversidade biológica.



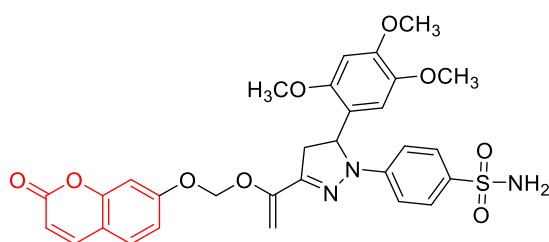
D
Antioxidante

$IC_{50} = 2,45 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ - DPPH
Mladenovic *et al.*, (2011)



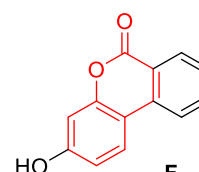
E
Anti-tumoral

$IC_{50} = 1,92 \pm 0,13 \mu\text{M}$ - CNE2
 $IC_{50} = 1,97 \pm 0,51 \mu\text{M}$ - Cal27
 $IC_{50} = 3,72 \pm 0,54 \mu\text{M}$ - KB
Lv *et al.*, (2017)



G
Anti-inflamatório

$IC_{50} = 53,08 \pm 3,47 \mu\text{M}$ - COX-1
 $IC_{50} = 0,23 \pm 0,16 \mu\text{M}$ - COX-2
 $IC_{50} = 0,87 \pm 0,07 \mu\text{M}$ - 5-LOX
Chen *et al.*, (2017)



F
Antioxidante e Anti-inflamatório

Lee *et al.*, (2018)

Fonte: A autora.

O trabalho de Mladenovic *et al.* (2011), avaliou o potencial antioxidante de um grupo de derivados da 4-hidroxycumarina. O composto **D**, representado na **figura 5**, teve sua capacidade antioxidante total (*in vitro*) avaliada pelo método DPPH (1,1-difenil-2-picrilo-hidrazilo) e pela comparação com os padrões de ácido ascórbico e BHT (hidroxitolueno butilado). Este derivado se mostrou capaz de consumir o DPPH com um IC_{50} de $2,45 \mu\text{g mL}^{-1}$, após exposição por 60 min, enquanto os padrões apresentaram IC_{50} de $15,61 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o ácido ascórbico e $6,05 \mu\text{g mL}^{-1}$, para o BHT.

Em seu estudo, Lv *et al.* (2017) reportam a síntese de diferentes tipos de derivados cumarínicos da 2-fenilpirimidina com atividades antitumorais (*in vitro*) contra três diferentes tipos de células cancerígenas: carcinoma nasofaríngeo (CNE2); carcinoma oral de células escamosas (Cal27); e carcinoma epidermoide bucal (KB). O composto **E**, demonstrado na **figura 5**, apresentou forte atividade inibitória contra células CNE2 ($IC_{50} = 1,92 \pm 0,13 \mu\text{M}$), Cal27 ($IC_{50} = 1,97 \pm 0,51 \mu\text{M}$), KB ($IC_{50} = 3,72 \pm 0,54 \mu\text{M}$), indicando ser um potente agente anticancerígeno.

Em sua pesquisa, de Lee *et al.* (2019) apresentaram o potencial anti-inflamatório e antioxidante de uma série de derivados cumarínicos, dentre eles a urotilina B, composto **F**, **figura 5**. Notoriamente, esse composto demonstrou a capacidade de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias e estimulou produção de citocinas anti-inflamatórias (IL-10) em celular micróglia estimulado por LPS. Essa mesma molécula, exibiu efeitos antioxidantes com inibição da produção de EROs intracelulares e também da expressão da enzima NADPH oxidase. Além de, regular positivamente a heme oxigenase-1 pela via de sinalização Nrf2/ARE. Esses resultados evidenciam um significativo potencial terapêutico dessa molécula como anti-inflamatório e antioxidante.

Como já citado, a diabetes mellitus é uma desordem metabólica, caracterizada pela hiperglicemia. As enzimas α -glicosidase, α -amilase e aldose redutase desempenham papel vital na hiperglicemia catalisando a quebra de glicose dos dissacarídeos, por isso, o uso de inibidores dessas enzimas podem reduzir significativamente a absorção de glicose, e conseqüentemente, diminuir o nível de glicose no sangue (SINGH *et al.*, 2019).

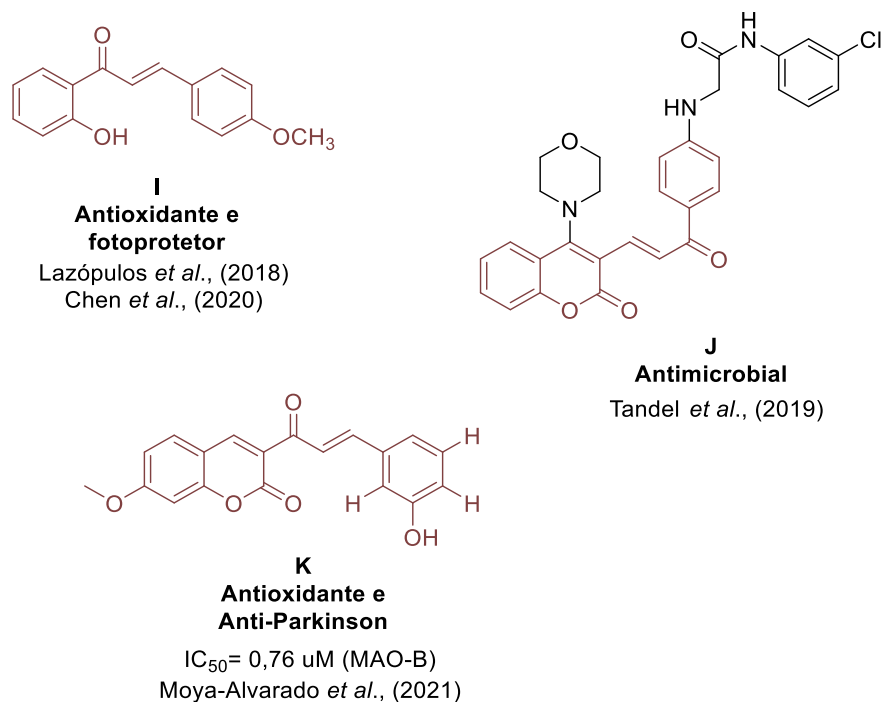
As inflamações são mecanismos de defesa do organismo contra lesões ou infecções; no entanto, se essas inflamações se tornam crônicas, podem provocar lesões nos tecidos além de doenças como artrite e arteriosclerose. Considerando isso, Chen *et al.* (2017) propuseram a síntese e avaliação de uma série de derivados da fenil-pirazolina cumarina, investigando suas ações anti-inflamatórias contra enzimas COX-2 e 5-LOX. A substância **G**, representado na **figura 5**, destacou-se ao apresentar a maior atividade anti-inflamatória, podendo suprimir significativamente expressões de COX-2 ($IC_{50} = 0.23 \pm 0.16 \mu M$) e produções de 5-LOX ($IC_{50} = 0.87 \pm 0.07 \mu M$).

1.6 CHALCONAS E SEUS DERIVADOS

As chalconas são compostos de cadeia aberta contendo dois anéis aromáticos unidos por um sistema carbonílico α - β insaturado, com amplo sistema de deslocamento eletrônico. Apesar de natural, essa estrutura pode ser sintetizada comumente, por meio de uma condensação de Claisen-Schmidt. Nesse processo, utiliza-se um aldeído aromático e um composto cetônico, como reagentes, em presença de base ou sob catalise ácida. Essa abordagem sintética permite a produção de novas entidades químicas, sendo retratadas na literatura com uma ampla

variedade estrutural e atividades biológicas diversas (**figura 6**) (LEITÃO, 2020; SHARMA; SARASWAT, 2021).

Figura 6- Atividades biológicas associadas as chalconas e seus derivados.



Fonte: A autora.

O estudo conduzido por Lazópulos *et al.* (2018), identificou derivados de chalconas com potencial para se tornarem ativos em filtros de proteção UVA. Dentre esses, a substância **I**, apresentada na **figura 6**, mostrou-se uma das mais promissoras. Com seu máximo de absorção na faixa de 350-370nm (UVA), baixo índice de decomposição (em torno de 1,3%) e não produzindo quaisquer espécies reativas de oxigênio ou outros radicais livres. Tornando-se uma substância interessante para ativos em protetores solares.

Essa mesma molécula é apresentada em outro estudo conduzido por Chen *et al.* (2020b), desta vez destacando seu potencial antioxidante. Nesta pesquisa, observou-se que a substância **I** atenuou elevações nos níveis de espécies reativas de oxigênio, induzidas por lipopolisacarídeos (LPS) por *down regulation* e estimulação do sistema antioxidante do fator nuclear 2, relacionado ao eritróide 2 (Nrf2) e da enzima heme-oxigenase 1 (HO-1).

A hibridização é uma estratégia muito explorada na química medicinal para a criação de novas entidades químicas. Esse método se baseia na combinação de unidades farmacofóricas, de dois ou mais compostos bioativos, esperando-se criar

esqueletos moleculares que mantenham características pré-selecionadas de seus precursores originais, tendo ações múltiplas e potencializadas. Além disso, com o conhecimento desta técnica e de atributos individuais de diferentes classes moleculares, é possível criar uma extensa biblioteca química com diversos híbridos moleculares homólogos (DE OLIVEIRA PEDROSA *et al.*, 2017; IVASIV *et al.*, 2019; VIEGAS-JUNIOR *et al.*, 2007).

As cumaril-chalconas são caracterizadas pela presença de um núcleo cumarínico associado a uma chalcona. Esses derivados apresentam diversas propriedades farmacológicas como, ação neuroprotetiva e múltipla inibição enzimática. A avaliação de inibidores da enzima monoamina oxidase B (MAO-B) tem despertado considerável interesse terapêutico, a fim de que, compostos possam ser utilizados para doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson. Com isso, o estudo de Moya-Alvarado *et al.* (2021) teve como objetivo a síntese de 14 derivados cumaril-chalcona e a avaliação *in vitro* destas substâncias contra a MAO-B. Dentre esses compostos, o derivado **K (figura 6)** apresentou os melhores resultados nos testes, com $IC_{50} = 0,76 \pm 0,08 \mu M$, demonstrando-se um potencial agente anti-Parkinson.

O trabalho de Tandel *et al.* (2019) investigou a atividade antimicrobiana de híbridos cumaril-chalconas. O teste *in vitro* avaliaram o potencial de inibição desses derivados contra a cepa de *M. tuberculosis* H37Rv. Com isso, notou-se que, o composto **J** demonstrou 91% de inibição com uma dose de 50 $\mu g/mL$, superando até mesmo os compostos padrões utilizados para o mesmo propósito. Esses resultados destacam o potencial antimicrobiano dos híbridos sintetizados.

O possível uso cosmético e dermatológico de derivados híbridos de ácidos fenólicos e cumarinas baseia-se principalmente em suas características estruturais. Um bom exemplo disso é a presença de grupos cromóforos em suas estruturas, demonstrando potencial capacidade de absorção da radiação ultravioleta, assim, minimizando efeitos nocivos dessa radiação e proporcionando ação fotoprotetora. Além disso, suas diversas atividades biológicas reportadas, como antioxidantes e anti-inflamatórias, fazem desses compostos ativos muito interessantes para possíveis formulações dermatológicas. Essas propriedades combinadas tornam seus derivados alternativas promissoras para o desenvolvimento de produtos para fins cosméticos (ANNUNZIATA *et al.*, 2020; DE LIMA CHERUBIM *et al.*, 2020).

1.7 PREDIÇÕES *IN SÍLICO* DE PARÂMETROS RELACIONADOS A ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO, ELIMINAÇÃO E TOXICIDADE (ADMET)

Os parâmetros ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) abrangem a avaliação das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas de uma molécula por experimentos *in vitro* e *in vivo*, a fim de atestar sua segurança. No entanto, a determinação desses parâmetros por meio de experimentos individuais demanda tempo e muitos recursos, e muitas vezes apresenta baixo índice de aprovação das substâncias testadas. Uma alternativa para contornar esse desafio é a estimativa precoce dos parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos, o que pode resultar em uma considerável redução de custos e maior rapidez na execução. Nesse cenário, os métodos *in silico* se apresentando como opção muito promissora (KAR; LESZCZYNSKI, 2020; ZHONG *et al.*, 2018).

Os métodos *in silico* referem-se a predições feitas por simulação computacional para sistemas biológicos, e muitas são as alternativas de ferramentas com essa função. Um trabalho notável nesta área é do pioneiro Christopher Lipinski, ele e sua equipe apresentaram um estudo de compostos oralmente ativos para definir faixas de propriedades (regra de cinco), demarcando a relação entre os parâmetros farmacocinéticos e físico-químicos para fármacos de uso oral. Esse estudo é uma das referências para plataformas e softwares com estudos ADMET. Dentre essas plataformas, pode-se citar a SwissADME, um excelente instrumento para a previsão de propriedades físico-químicas e farmacocinéticos das moléculas. Através de sua base de dados, prevê-se à similaridade de uma molécula com fármacos já comercializados (do inglês “*drug-likeness*”), em termos de permeabilidade pelas membranas e absorção. Isso aumenta as chances de que essa substância se destaque nas fases subsequentes de desenvolvimento. (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2019; LIPINSKI *et al.*, 2001).

Comumente utilizados para a predição de fármacos de administração oral, os parâmetros ADMET podem também serem utilizados para a avaliação de cosméticos, com adaptações para atender às necessidades específicas de formulação e aplicação desses produtos. Ao que diz respeito a formulações de uso dérmico, destacam-se parâmetros como biodisponibilidade, acumulação sistêmica, segurança ocular, toxicidade crônica e aguda, potencial de sensibilização, irritabilidade e absorção

cutâneas. Esse conjunto de aspectos é essencial para garantir a segurança e eficácia de formulações cosméticas (CRONIN *et al.*, 2022; ANVISA, 2012).

A biodisponibilidade de um fármaco refere-se à quantidade e velocidade com que ele entra e permanece no organismo para ser utilizado, tendo esse atributo, relação direta com sua absorção. O processo de absorção diz respeito aos meios pelo qual a substância é transferida da via de administração para a corrente sanguínea. Por exemplo, um cosmético tem sua administração pela pele, onde seus ativos são absorvidos adentram a corrente sanguínea, para esse caso, o absorvimento é influenciado principalmente pela lipossolubilidade da molécula e seu peso molecular. Moléculas menores e mais lipossolúveis apresentam maior facilidade de absorção pela pele. Já toxicidade de uma substância pode se dar por diversos fatores: a dose administrada; exposição aguda ou crônica; bioacumulação; carcinogenicidade e mutagenicidade. E a avaliação *in silico* dessas propriedades se dá através dos fragmentos moleculares, baseando-se em danos relatados na literatura para estruturas similares (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017; GOROUHI; MAIBACH, 2009; HU; HE, 2021).

É notável que os métodos computacionais, ao preverem a biodisponibilidade e toxicidade, podem auxiliar na triagem inicial de moléculas candidatas com maior acurácia. Essa abordagem contribui para a diminuição de custos e aumento na velocidade de introdução desses produtos no mercado cosmético. Assim, fica evidente que o uso de *in silico* se apresenta como uma ótima alternativa para uma filtragem mais eficiente e econômica no processo de desenvolvimento de novos ativos cosméticos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar duas séries de compostos híbridos moleculares que combinam cumarina e ácidos fenólicos, além da avaliação *in vitro* de seus potenciais antioxidante e fotoprotetor, junto com as predições *in silico* dos parâmetros ADMET dos novos derivados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

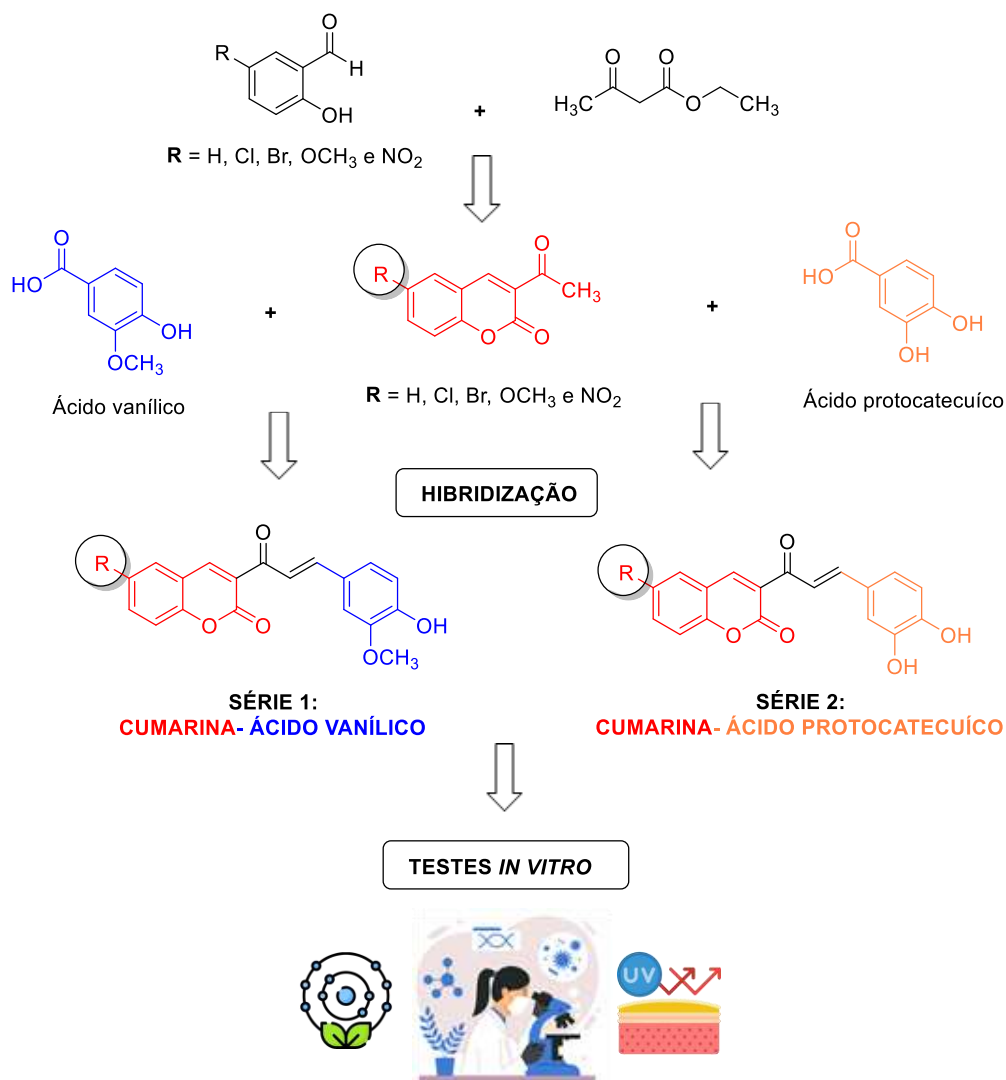
- Sintetizar cinco precursores cumarínicos distintos com substituintes doadores e retiradores de elétrons, além de duas séries de híbridos moleculares de cumarina combinados com os ácidos vanílico e protocatecuico;
- Avaliar a eficácia de inibição dos derivados sintéticos como antioxidantes e fotoprotetores por meio de testes *in vitro*, comparando os resultados obtidos com os de seus precursores;
- Realizar experimentos *in silico* para avaliar os parâmetros ADMET dos novos híbridos moleculares.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PLANEJAMENTO GERAL

Com o propósito de oferecer uma representação visual dos objetivos estabelecidos e demonstrar de maneira nítida todas as etapas executadas, o **esquema 2** ilustra o planejamento geral do projeto. Neste esquema, observa-se duas séries distintas: a de híbridos cumarina-ácido vanílico (**série 1**) e cumarina-ácido protocatecuico (**série 2**), com diferentes substituintes R. A função destes grupos, presentes tanto nos precursores quanto nos produtos finais, é de atuar como doadores e aceptadores de elétrons. A diversidade desses substituintes proporciona uma maior variedade nos testes in vitro, enriquecendo a análise e tornando-a mais detalhada e abrangente para os híbridos de ambas as séries. Isso permite uma melhor avaliação da eficácia e potencial aplicação dos híbridos propostos.

Esquema 2- Planejamento geral com a proposta de hibridização molecular de cumarinas com ácidos vanílico e protocatecuico.



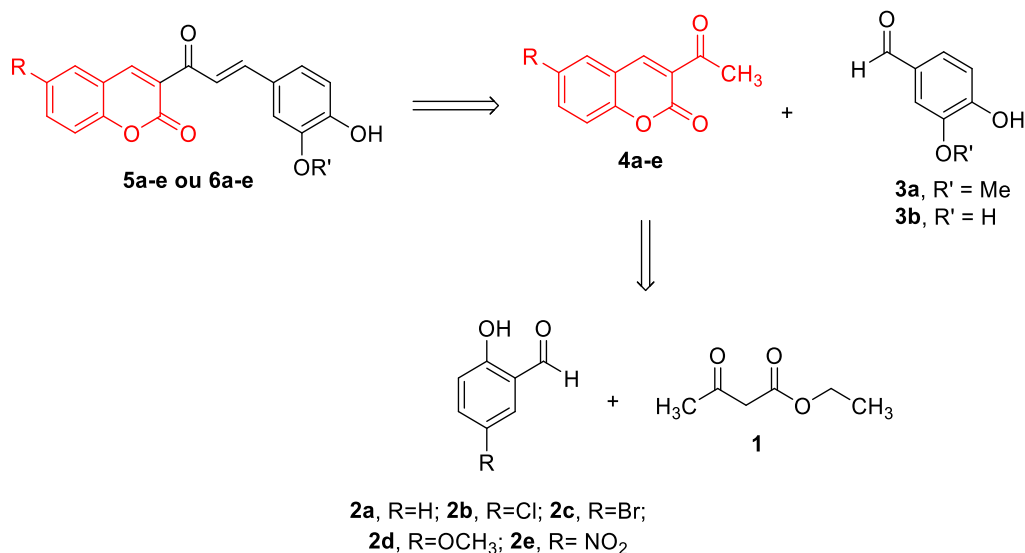
Fonte: A autora.

3.2 ANÁLISE RETROSSINTÉTICA

A partir dos objetivos, o planejamento sintético é iniciado com uma proposta de retrosíntese, como demonstrado no **Esquema 3**. Nessa estratégia, o trabalho é iniciado com a definição do alvo final de interesse (produtos finais), e a partir disto, faz-se uma análise no caminho inverso para definir-se os materiais de partida a serem utilizados. Vê-se então que, os derivados **6a-b** e **5a-b** podem ser obtidos a partir de uma reação de condensação aldólica entre as cumarinas **4a-e** e os aldeídos **3a** ou **3b**.

E as metilcetonas **4a-e** (que contêm o núcleo cumarínico), podem ser obtidas pela reação de condensação de Knoevenagel entre **2a-b** e **1** (CLAYDEN, 2012).

Esquema 3- Análise Retrossintética.

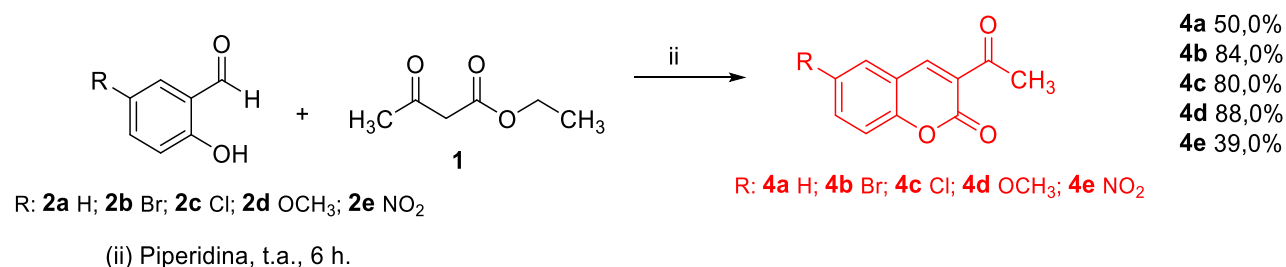


Fonte: A autora.

3.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS CUMARINAS (4A-E)

A síntese das cumarinas (**4a-e**) foi realizada por meio de uma reação de condensação de Knoevenagel entre os reagentes **1** e **2** em meio contendo piperidina e ausência de solvente, conforme descrito por Čačić *et al.* (2011) (**Esquema 4**)

Esquema 4- Síntese das cumarinas precursoras e seus rendimentos.

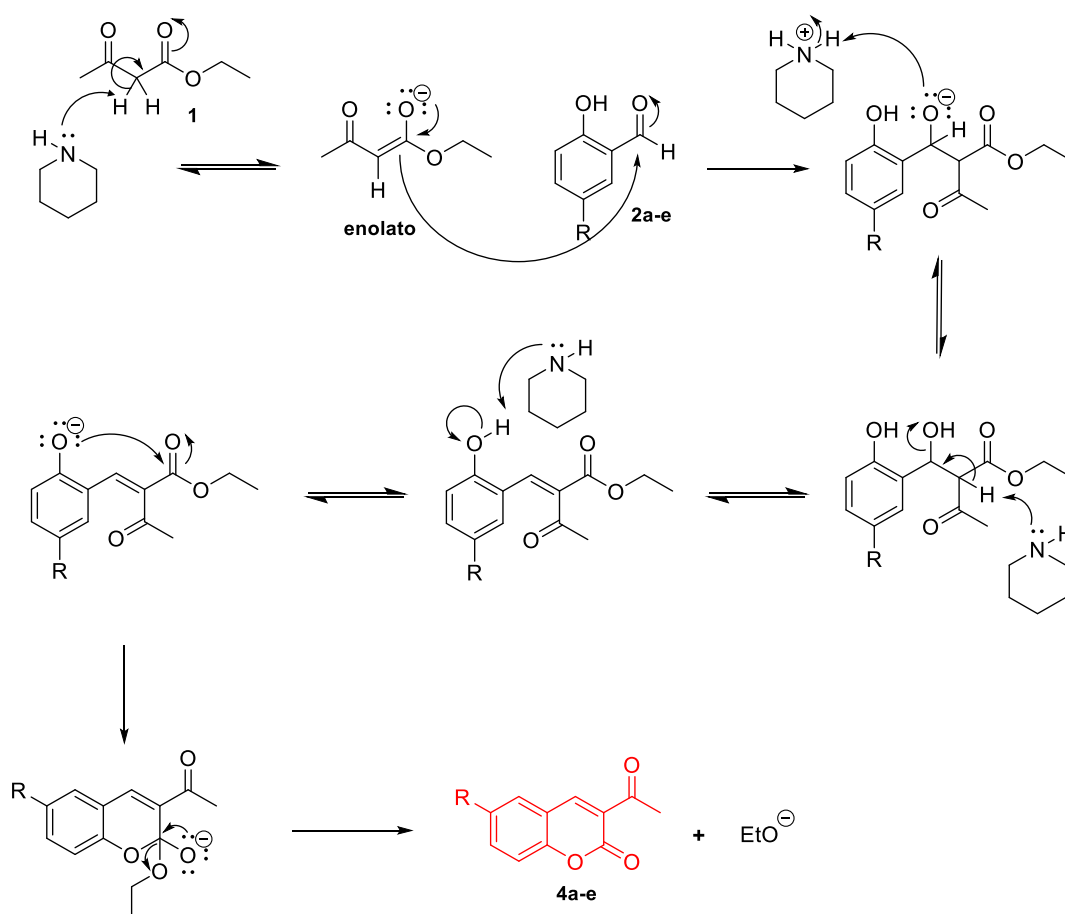


Fonte: A autora.

Uma proposta de mecanismo está apresentada no **esquema 5**. A reação é iniciada pela enolização do acetocetato de etila (**1**) catalisada pela piperidina, uma base fraca. Essa ação é justificada pela acidez elevada do hidrogênio alfa às duas carbonilas, uma vez que sua base conjugada permite a deslocalização da carga negativa entre os dois oxigênios do sistema beta-carbonílico. Após a formação do

enolato, acontece o ataque dos elétrons da ligação dupla do enolato, à carbonila presente nos salicilaldeídos (**2a-e**). Um hidrogênio α às carbonilas da estrutura é abstraído, ocorrendo a β eliminação da hidroxila. O ânion fenóxido formado na estrutura impulsiona o ataque nucleofílico intramolecular à carbonila do éster, levando a uma ciclização. Com a restauração da carbonila, tem-se a quebra de ligação C-OR, obtendo-se, por fim, os produtos **4a-e**. (ISENMANN, 2013; SOLOMONS; FRYHLE, 2009; TOKALA; BORA; SHANKARAIHAH, 2022).

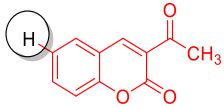
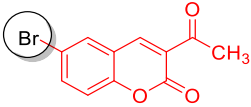
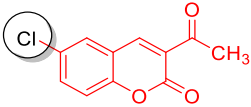
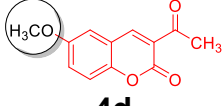
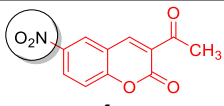
Esquema 5- Proposta de mecanismo para a reação de condensação de Knoevenagel para as cumarinas **4a-e**.



Fonte: A autora

Como resultado da síntese proposta, obteve-se os precursores cumarínicos de interesse (**4a-e**) na forma sólida com rendimentos entre 39 e 88%, como apresentado na **tabela 1**. Todas as substâncias foram caracterizadas pelos seus pontos de fusão e por RMN ^1H . Além dessas técnicas, as substâncias **4a-c** também foram caracterizadas por RMN ^{13}C e os valores obtidos, para todas as análises, foram comparados com os descritos na literatura.

Tabela 1– Características físicas e rendimentos para as substâncias 4a-e.

Substâncias	Características Físicas	Rendimento %	P.F. (°C)	P.F. lit (°C)
 4a	Sólido amarelo claro	50	115-116	119- 120
 4b	Sólido amarelo claro	84	211-213	216- 217
 4c	Sólido amarelo claro	80	205-206	207- 208
 4d	Sólido amarelo esverdeado	88	175-177	180- 181
 4e	Sólido amarelo	39	186-189	192-195

Fonte: A autora.

A título de exemplo, a caracterização espectroscópica do composto 3-Acetil-6-cloro-2H-cromen-2-ona (**4c**) será demonstrada. Essa substância foi obtida como sólido amarelo claro e apresentou ponto de fusão de 205-206 °C, estando de acordo com o valor encontrado na literatura de 207-208 °C (WANG *et al.*, 2018).

No espectro de RMN ¹H (**figura 7**) identificou-se um singlete com valor de deslocamento de 8,42 ppm e integral igual a 1, referente ao sinal do hidrogênio mais desblindado do anel cumarínico (H8). As integrações dos demais sinais foram normalizadas tendo como referência o valor obtido para o H8, encontrando-se assim, a soma total de 7 hidrogênios distribuídos em 5 diferentes sinais. Dentre os quais, observou-se a presença de um duplete com deslocamento de 7,63 ppm e constante de acoplamento de 2,4Hz referente a H7, um duplo duplete em δ 7,59 com valores de *J* iguais a 8,8 e 2,4Hz, pertencente a H5, outro duplete em δ 7,33 com *J* = 8,8Hz, relativo a H2. Por fim, encontrou-se o sinal com menor deslocamento químico (2,72 ppm) correspondente aos hidrogênios da metila, denotados de H1. O espectro de carbono-13 do mesmo composto (**figura 8**), apresentou onze diferentes sinais referentes aos onze carbonos presentes em sua estrutura. Atribui-se os sinais observados em δ 195,1 e 158,6 aos carbonos carbonílicos, mais desblindados (C11 e

C10). Em δ 153,6, 125,5 e 119,2 nota-se os deslocamentos referentes aos carbonos terciários C9; C4 e C3, respectivamente. O sinal de C8 apresenta-se em 146,1 ppm e de C6 em δ 130,3, esse, atribuído ao átomo de carbono ligado ao cloro. Em δ 134,3 (C7); 129,1 (C5); 118,2 (C2) tem-se os carbonos secundários presentes no anel aromático halogenado. Por fim, observou-se o sinal do núcleo com menor deslocamento, em 30,6 ppm, alusivo ao carbono da metila (C1). Com todas essas informações, concluiu-se a atribuição dos sinais presentes no espectro de RMN de ^1H e ^{13}C para o precursor **4c**. Todos os valores foram equivalentes àqueles descritos na literatura por Korgavkar; Samant, 2017^a como apresentado na **tabela 2**, confirmando a formação do composto em questão.

Tabela 2- Valores de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C e ^1H , constantes de acoplamentos e integrais para o composto **4c**.

^{13}C δ_{c} (ppm)	^1H δ_{H} (ppm) <i>J</i> (Hz)	Integral	^1H (lit.) δ_{H} (ppm) <i>J</i> (Hz)
30,6 (C1)	2,72 (H1)	3	2,74 (H1)
118,2 (C2)	7,33 (d, 8,8) (H2)	1	7,35 (d, 8,8) (H2)
119,2 (C3)	-	-	-
125,5 (C4)	-	-	-
129,1 (C5)	7,59 (dd, 8,8; 2,4) (H5)	1	7,61 (dd, 8,8; 2,4)
130,3 (C6)	-	-	-
134,3 (C7)	7,63 (d, 2,4) (H7)	1	7,65 (d, 2,4)
146,1 (C8)	8,41 (H8)	1	8,43
153,6 (C9)	-	-	-
158,6 (C10)	-	-	-
195,1 (C11)	-	-	-

Fonte: A autora. **Legenda:** Letras enumeradas entre parênteses e negrito indicam o núcleo ao qual o valor de deslocamento se refere.

Figura 7- Espectro de RMN de 1H (400 MHz, CDCl3) da substância (4c)

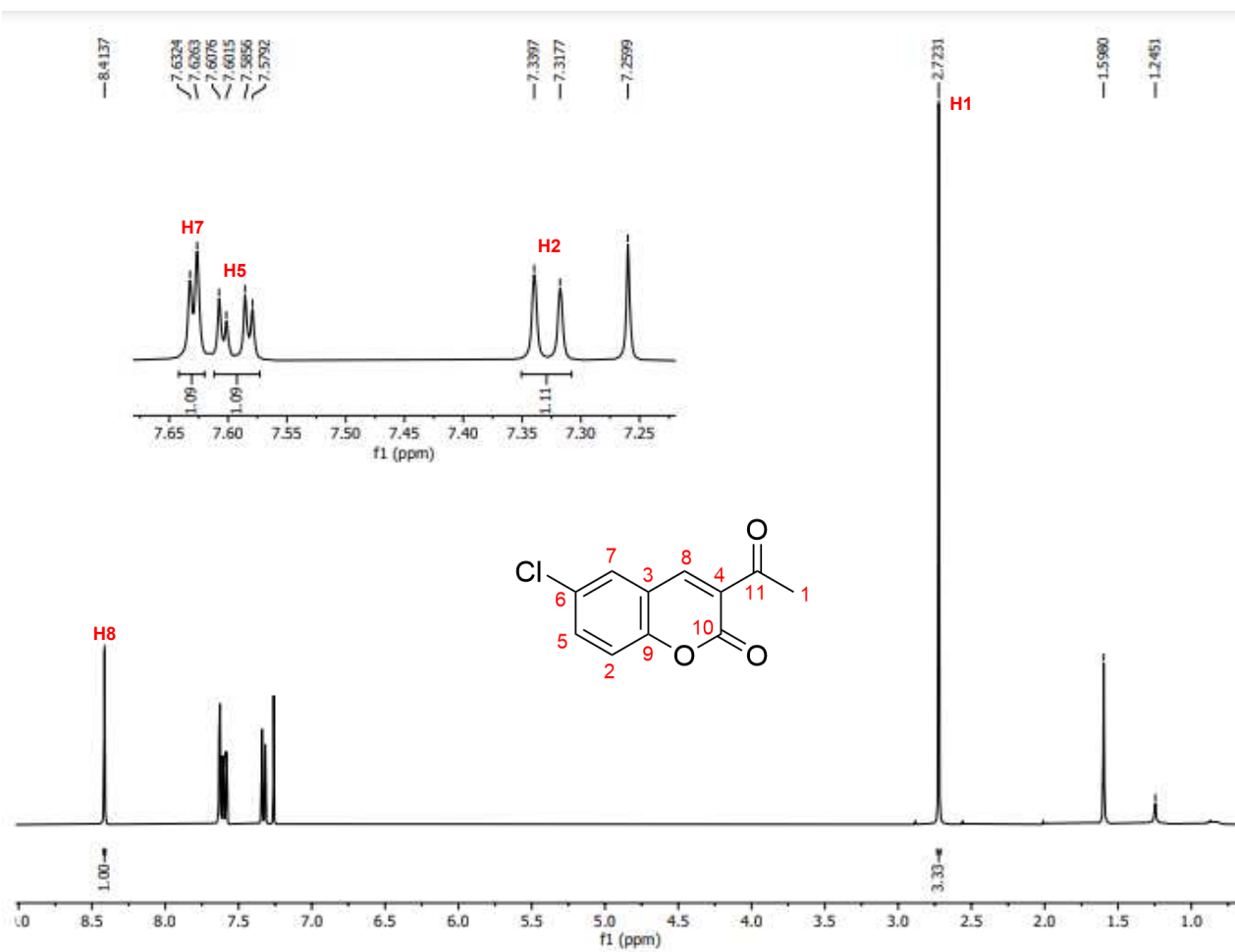
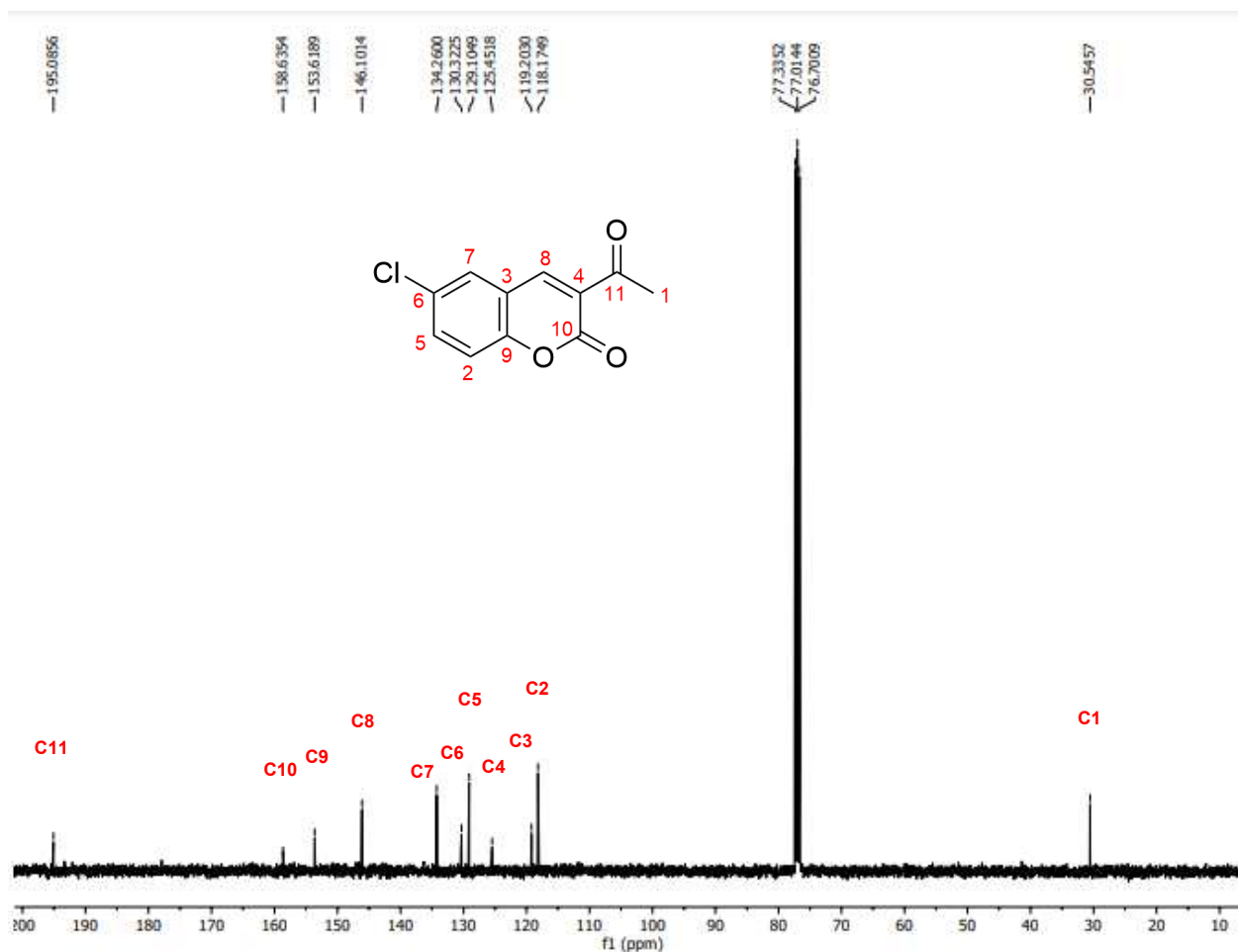


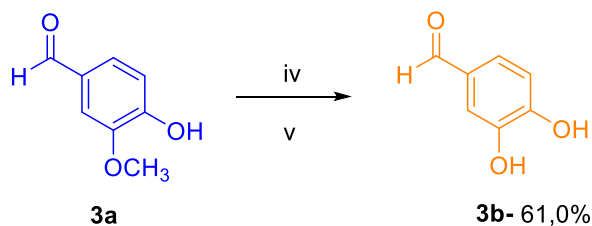
Figura 8- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância (**4c**)



3.4 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO ALDEÍDO PROTOCATECUICO (**3b**)

Como descrito no planejamento, a obtenção da segunda série de derivados híbridos (**6a-e**) tem como um dos precursores o aldeído protocatecuico (**3b**). Composto esse, que pode ser obtido através de uma reação de desmetilação da vanilina (**3a**) utilizando cloreto de alumínio anidro na presença de piridina, conforme descrito por Lange, 1961. (**Esquema 6**)

Esquema 6- Síntese do aldeído protocatecuico (**3b**).



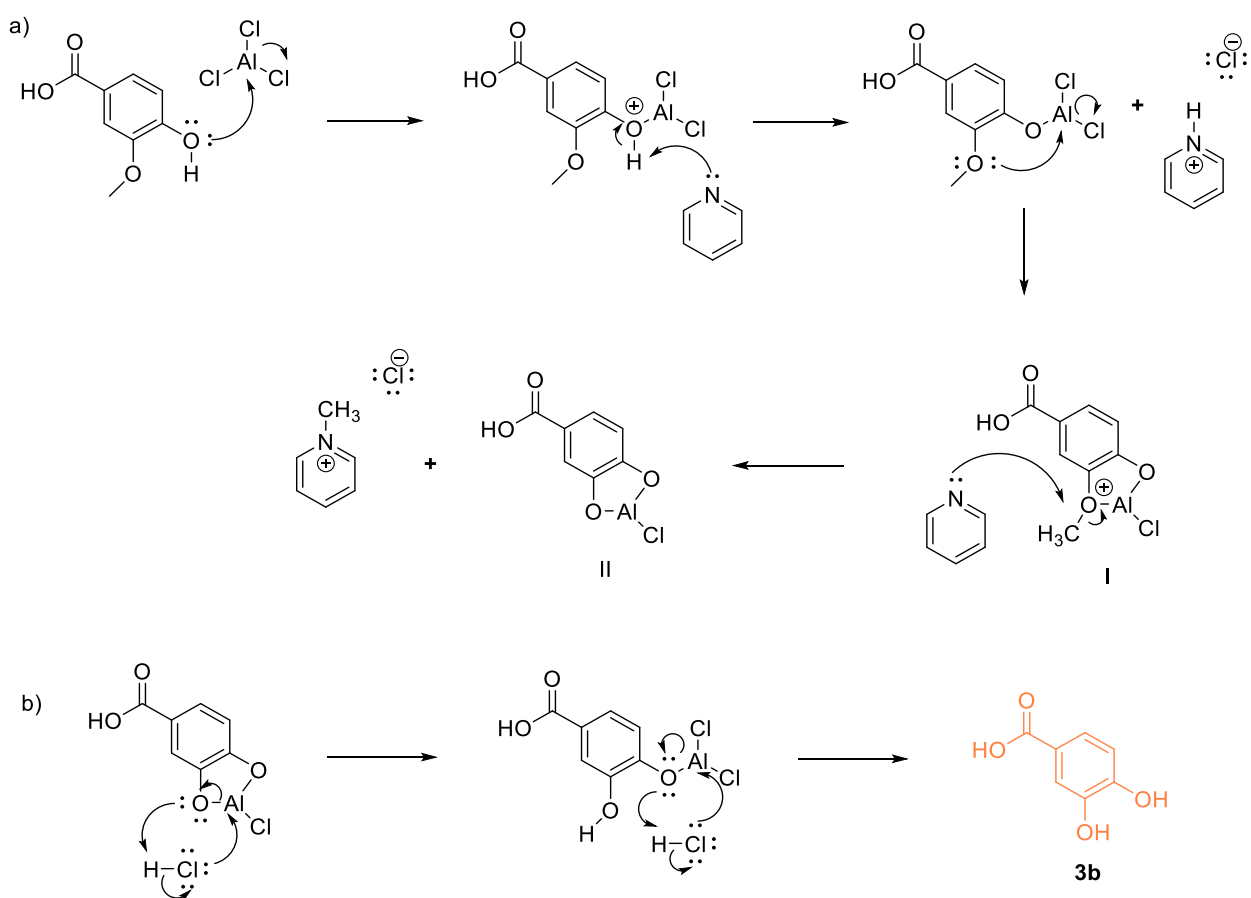
(iv) CH_2Cl_2 , AlCl_3 , 0°C , $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$

(iv) Refluxo, 24h

Fonte: A autora.

O cloreto de alumínio presente no meio, ácido de Lewis, polariza o oxigênio da hidroxila deixando-o positivo, com isso, seu hidrogênio é abstraído. Com isso, o oxigênio pertencente a metoxila se liga ao alumínio formando o intermediário I. O grupo metila é então, atacado pela piridina, passando pelo intermediário II. A etapa final acontece com um *work-up* ácido, onde os oxigênios são protonados formando o produto de interesse **3b**, como apresentado no **esquema 8**. (LANGE, 1908; SANG *et al.*, 2019a)

Esquema 7- Proposta de mecanismo para a reação de desmetilação da vanilina **3b**.



Fonte: Adaptado de Lange, (1908) e Sang *et al.* (2019a).

O composto 3,4-Dihidroxi-benzaldeído (**3b**) foi obtido na forma sólida na coloração amarelo pálido, com ponto de fusão de 152-154 °C, valor equivalente ao descrito na literatura de 153-154 °C (SANG *et al.*, 2019b).

Em seu espectro de RMN ¹H (**figura 9**) identificou-se quatro diferentes sinais, com valores de integrais iguais a 1. A normalização da integral teve como base o hidrogênio do aldeído com deslocamento de δ 9,69, se apresentando como um singlete (H9). Os demais núcleos apresentaram valores de δ 7,27, duplo duplete com $J= 8,0; 2,0$ Hz (H3); 7,23, duplete com $J= 2,0$ Hz (H1) e 6,90, duplete com $J= 8,4$ Hz, (H2), sendo estes localizados no anel aromático. No espectro de RMN de ¹³C (**figura 10**) do mesmo composto, notou-se a presença de sete diferentes sinais, referentes aos sete carbonos presentes na estrutura. Então, atribuiu-se o sinal com maior valor de deslocamento, em 191,1 à C7, carbono carbonílico da estrutura. Em δ 152,2 e 145,9, vê-se os carbonos secundários C6 e C5, ligados à hidroxila, além do único carbono terciário da estrutura (C4) com deslocamento de 128,9. Por fim, tem-se os demais carbonos secundários com deslocamentos de 124,5 (C3); 115,5 (C2); 114,4 (C1). Todos os valores foram equivalentes àqueles descritos na literatura, por Sang *et al.* (2019) Clique ou toque aqui para inserir o texto.de como apresentado na **tabela 3**, confirmando a formação do precursor.

Tabela 3 – Valores de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C e ^1H , constantes de acoplamentos e integrais para o composto **3b**.

^{13}C δ_c (ppm)	^1H δ_H (ppm) J (Hz)	Integral	^1H (lit.) δ_H (ppm) J (Hz)	^{13}C (lit.) δ_c (ppm)
114,4 (C1)	6,90 (d, 8,4) (H2)	1	6,91 (d, 8,0) (H2)	114,4 (C1)
115,5 (C2)	7,23 (d, 2,0) (H1)	1	7,24 (d, 2,0) (H1)	115,6 (C2)
124,5 (C3)	7,27 (dd, 8,0; 2,0) (H3)	1	7,27 (dd, 8,0; 2,0) (H3)	124,6 (C3)
128,9 (C4)	-	-	-	129,0 (C4)
145,9 (C5)	-	-	-	146,0 (C5)
152,2 (C6)	-	-	-	152,2 (C6)
191, (C7)	-	-	-	191,2 (C7)
-	9,69 (H8)	1	9,70 (H8)	-
-	-	1	9,57 (OH)	-
-	-	1	10,13 (OH)	-

Fonte: A autora. **Legenda:** Letras enumeradas entre parênteses e negrito indicam o núcleo ao qual o valor de deslocamento se refere.

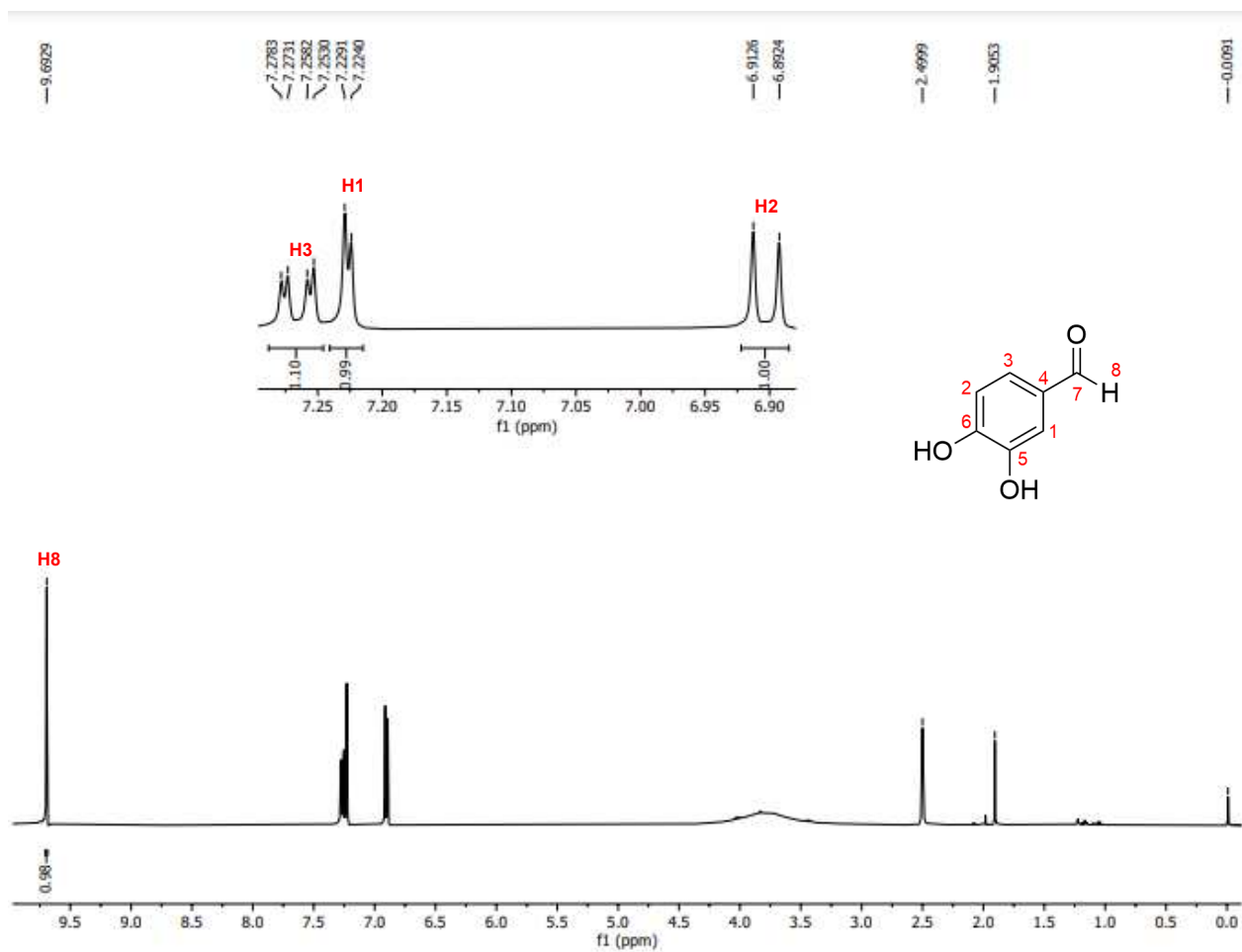
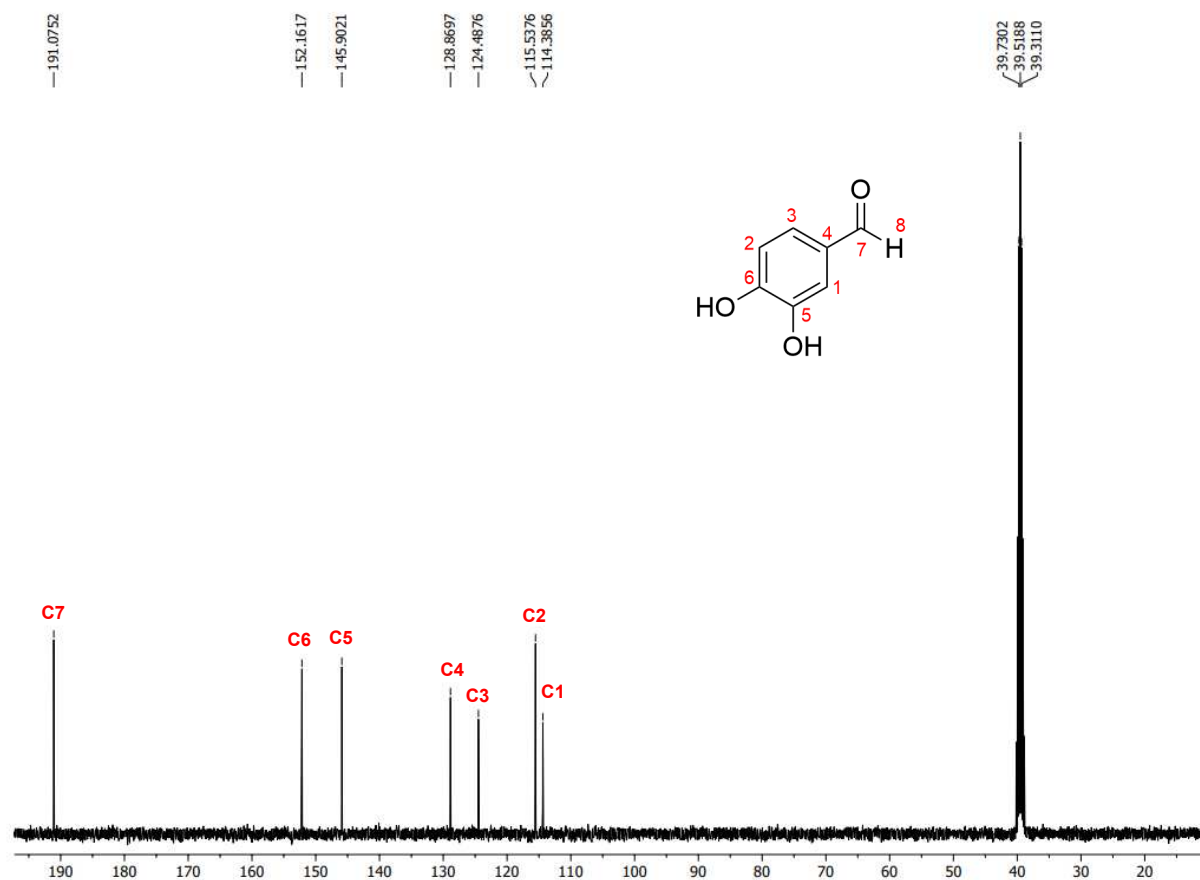
Figura 9- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (**3b**)

Figura 10- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (**3b**)

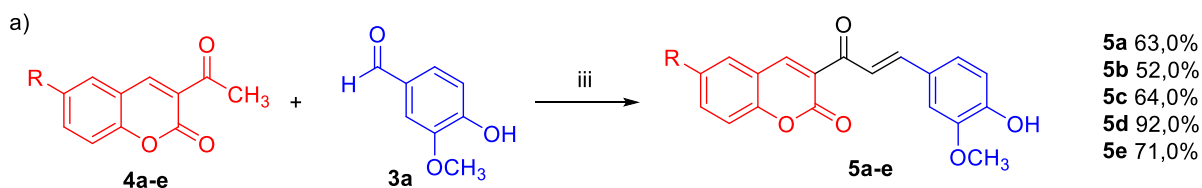


3.5 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS HÍBRIDOS (**5A-E/ 6A-E**)

Com a síntese e caracterização de todos os precursores necessários, seguiu-se o planejamento com a síntese dos compostos híbridos cumarina-ácido vanílico (**5a-e**) e cumarina-ácido protocatecuico (**6a-e**). Os produtos de ambas as séries foram obtidos através de uma reação de condensação aldólica entre os precursores **4a-e** e **3a** para a série 1 (**Esquema 8a**) e precursores **4a-e** **3b** para a série 2 (**Esquema 8b**), sob um sistema contendo cloreto de tionila/etanol absoluto (PETROV; IVANOVA; GEROVA, 2008).

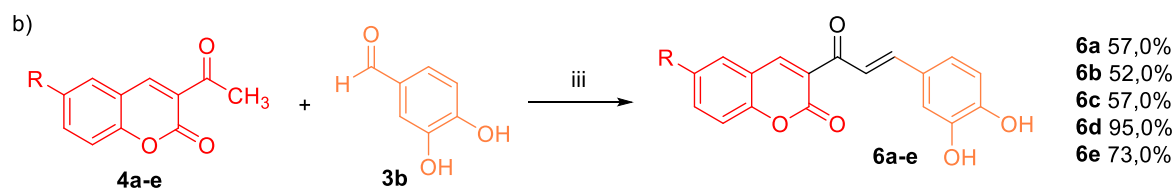
Esquema 8- Síntese dos derivados cumarina-ácido vanílico (**5a-e**) e cumarina-ácido protocatecuico (**6a-e**)

SÉRIE 1: CUMARINA-ÁCIDO VANÍLICO



(iii) SOCl_2 , EtOH, t.a., 5 h.

SÉRIE 2: CUMARINA-ÁCIDO PROTOCATECUICO

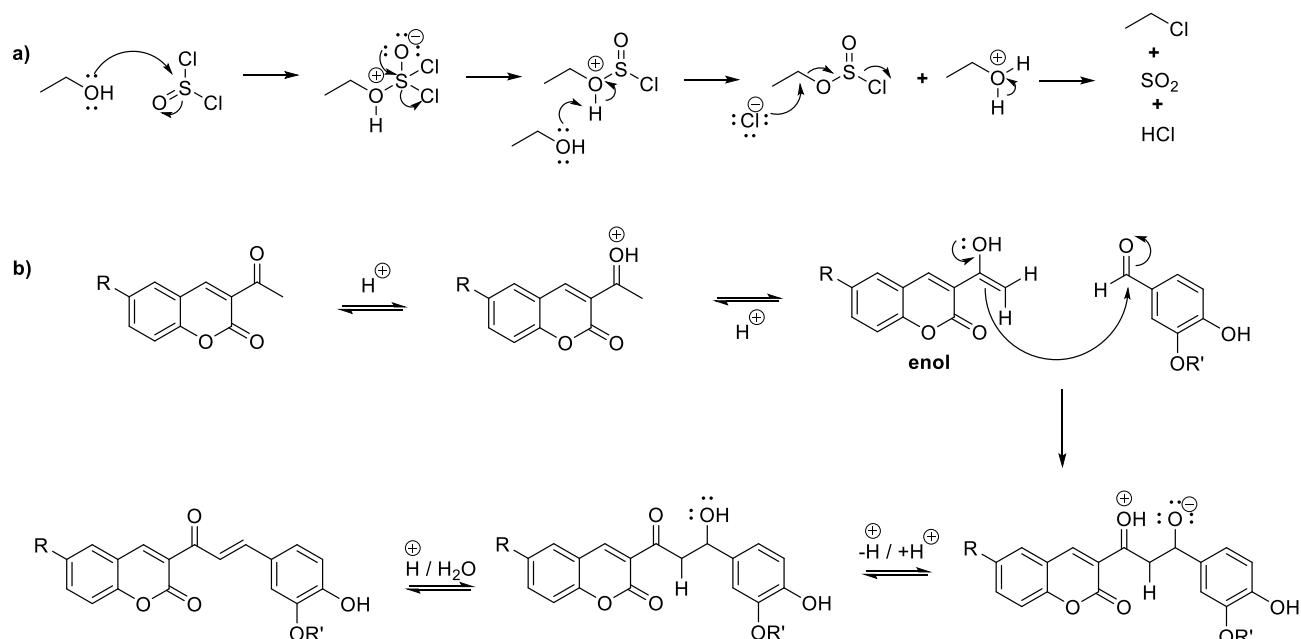


(iii) SOCl_2 , EtOH, t.a., 5 h.

Fonte: A autora.

Esta síntese ocorre em presença de ácido clorídrico, que é gerado *in situ* através da reação entre o SOCl_2 e EtOH. Comumente, reações que produzem haletos de alquila a partir de álcoois primários se dão na presença de uma base fraca, impedindo a formação imediata do HCl. Na estratégia escolhida, com a ausência de outro composto básico, propõe-se que próprio solvente faça essa função (**esquema 9a**). Com o meio ácido, tem-se a etapa de formação do enol, seguido pelo ataque à carbonila da vanilina (**3a**). O oxigênio do aldeído é protonado para formar H_2O , e o hidrogênio α -carbonílico é então, abstraído, o que impulsiona a eliminação da molécula de água, formando a ligação dupla característica da estrutura chalcônica (**esquema 9b**) (BRUICE, 2006; CAREY, 2011; ISENMANN, 2013; PETROV; IVANOVA; GEROVA, 2008).

Esquema 9- Proposta de mecanismo para a reação de condensação aldólica para os derivados **5a-e** e **6a-e**.



Fonte: A autora.

Os derivados de interesse **5a-e** e **6a-e** foram obtidos como sólidos, com rendimentos entre 52 e 95%, dos quais, oito dos dez compostos sintetizados, são inéditos na literatura, como apresentado na **tabela 4**. Todas as substâncias foram caracterizadas pelos seus pontos de fusão e por RMN ^1H e ^{13}C .

Tabela 4- Características estruturais, físicas e rendimentos para as substâncias **5a-e** e **6a-e**.

Substâncias	Características Físicas	Rendimento %	P.F. (°C)	P.F. lit (°C)
 5a	Sólido marrom avermelhado	63	172-174	170- 172
 5b	Sólido verde	52	220-223	Inédita
 5c	Sólido laranja	65	219-221	Inédita
 5d	Sólido amarelo esverdeado	92	179-182	Inédita

	Sólido amarelo	71	247-250	Inédita
5e				
	Sólido marrom avermelhado	57	221-223	-
6a				
	Sólido marrom esverdeado	52	271-273	Inédita
6b				
	Sólido verde musgo	57	280-283	Inédita
6c				
	Sólido verde	95	251-254	Inédita
6d				
	Sólido verde	73	302-305	Inédita
6e				

Fonte: A autora.

A título de exemplo a caracterização, os compostos 6-Cloro-3-[3-(3,4-Dihidroxifenil)-Acriloil]-Cromen-2-ona (**5c- série 1**), e 6-Bromo-3-[3-(3,4-Dihidroxifenil)-Acriloil]-Cromen-2-ona (**6b- série 2**), serão apresentadas.

A substância **5c** foi obtida como sólido laranja, com ponto de fusão igual a 219-221 C°. Em seu espectro de RMN ¹H (**figura 11**) identificou-se um singlete com valor de deslocamento de 8,51 ppm e integral igual a 1, pertencente ao hidrogênio mais desblindado do anel cumarínico (H15). As demais integrais foram normalizadas tendo como referência o valor obtido para o H15, encontrando-se assim, a soma total de 13 hidrogênios distribuídos em 11 diferentes sinais. Nota-se em campo baixo, um sinal em 9,84 ppm, atribuído ao hidrogênio da hidroxila presente na estrutura (H20). Os núcleos constituintes do anel aromático clorado apresentaram deslocamentos, multiplicidade e constantes de acoplamento de: δ 8,04, duplete, com $J= 2,4\text{Hz}$ (H12); 7,77, duplo duplete, com $J= 8,8; 2,4\text{Hz}$ (H10) e 7,53, duplete, com $J=8,8\text{ Hz}$ (H4). Encontrou-se os sinais referentes os átomos da dupla ligação da chalcona com deslocamentos de δ 7,70 (H13) e 7,38 (H7), ambos com constante de acoplamento igual a 16,0 Hz, indicando a configuração em *trans*. Notou-se também, sinais característicos dos hidrogênios aromáticos da vanilina em δ 7,33, na forma de duplete

com $J = 2,0\text{Hz}$ pertencente a H2; em 7,22, um duplo duplete com $J = 8,4; 2,0\text{Hz}$ (H9) e 6,84, um duplete, $J = 8,4\text{Hz}$ (H3). Por fim, observa-se em δ 3,82 um singlete referente aos hidrogênios na metoxila (H1). O espectro de carbono-13 da mesma substância (**figura 12**), apresentou dezenove sinais, referentes aos dezenove carbonos presentes na estrutura. Atribui-se os sinais observados em 187,5 e 158,0 ppm aos carbonos carbonílicos C19 e C18. Os núcleos ligados diretamente ao heteroátomo oxigênio na estrutura, apresentaram sinais em δ 152,9 (C17), δ 150,2 (C16) e δ 146,2 (C14). Nota-se carbonos secundários com maiores valores de deslocamentos, justificados pela ressonância com a carbonila *alfa-beta* insaturada, são eles, C15 em 148,0 e C13 em 144,5 ppm. Em δ 133,2 (C12) e 128,6 (C10), tem-se os carbonos vizinhos ao carbono diretamente ligado ao cloro (C10), este com deslocamento de 129,0 ppm. Tem-se os núcleos pertencentes aos carbonos terciários com valores de δ 125,9 (C8), 121,6 (C6) e 119,8 (C5), e em 123,7 ppm, apresenta-se C7, *alfa* a carbonila. Os demais carbonos aromáticos se apresentam em δ 127,2 (C9), 118,3 (C4), 115,8 (C3) e 112,1 (C2). Por fim, observou-se o sinal do núcleo com menor deslocamento, em 55,7 ppm, pertencente a C1. Com todas essas informações, concluiu-se a atribuição dos sinais presentes no espectro de RMN de ^1H e ^{13}C para o derivado **5c**.

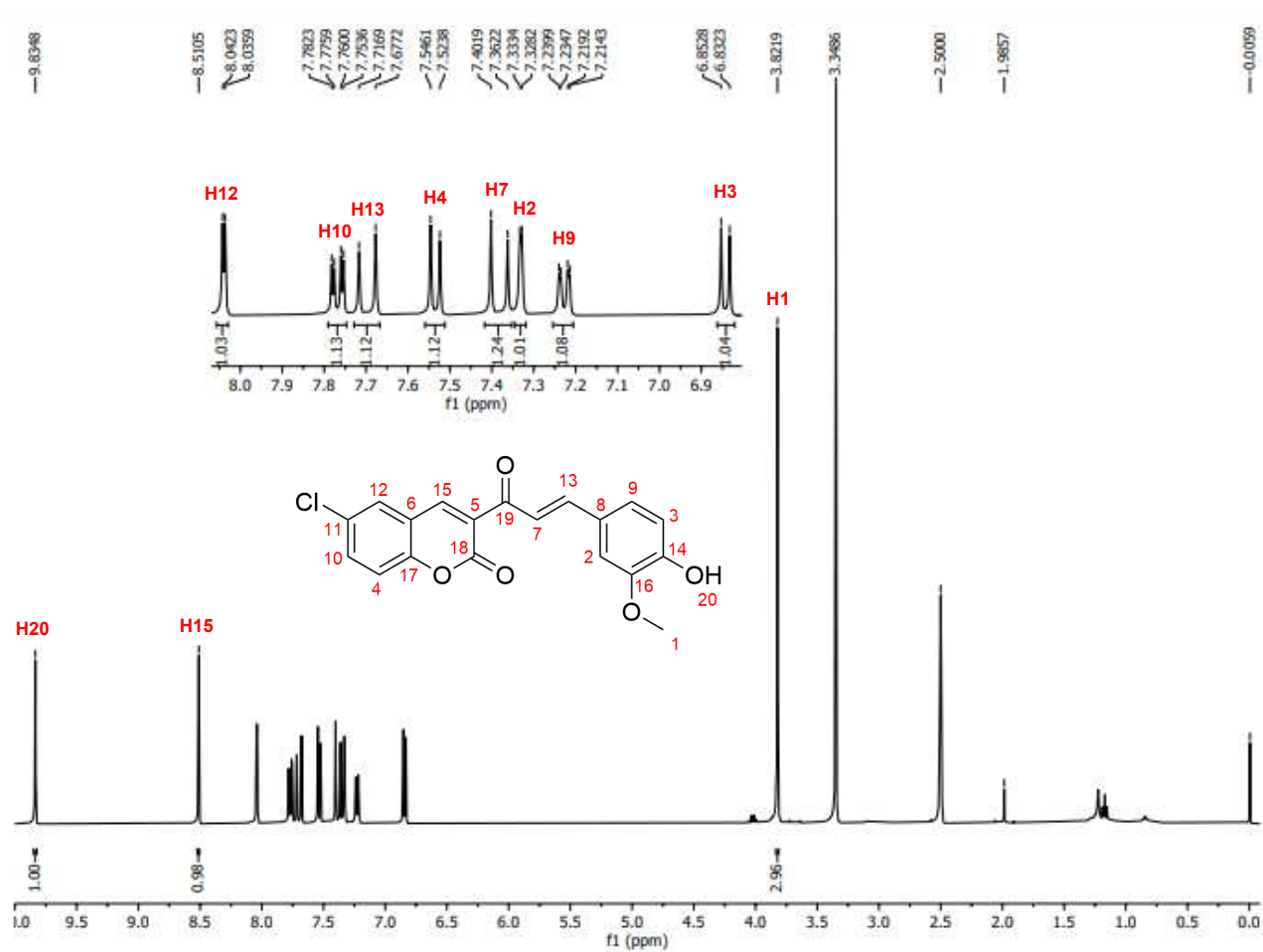
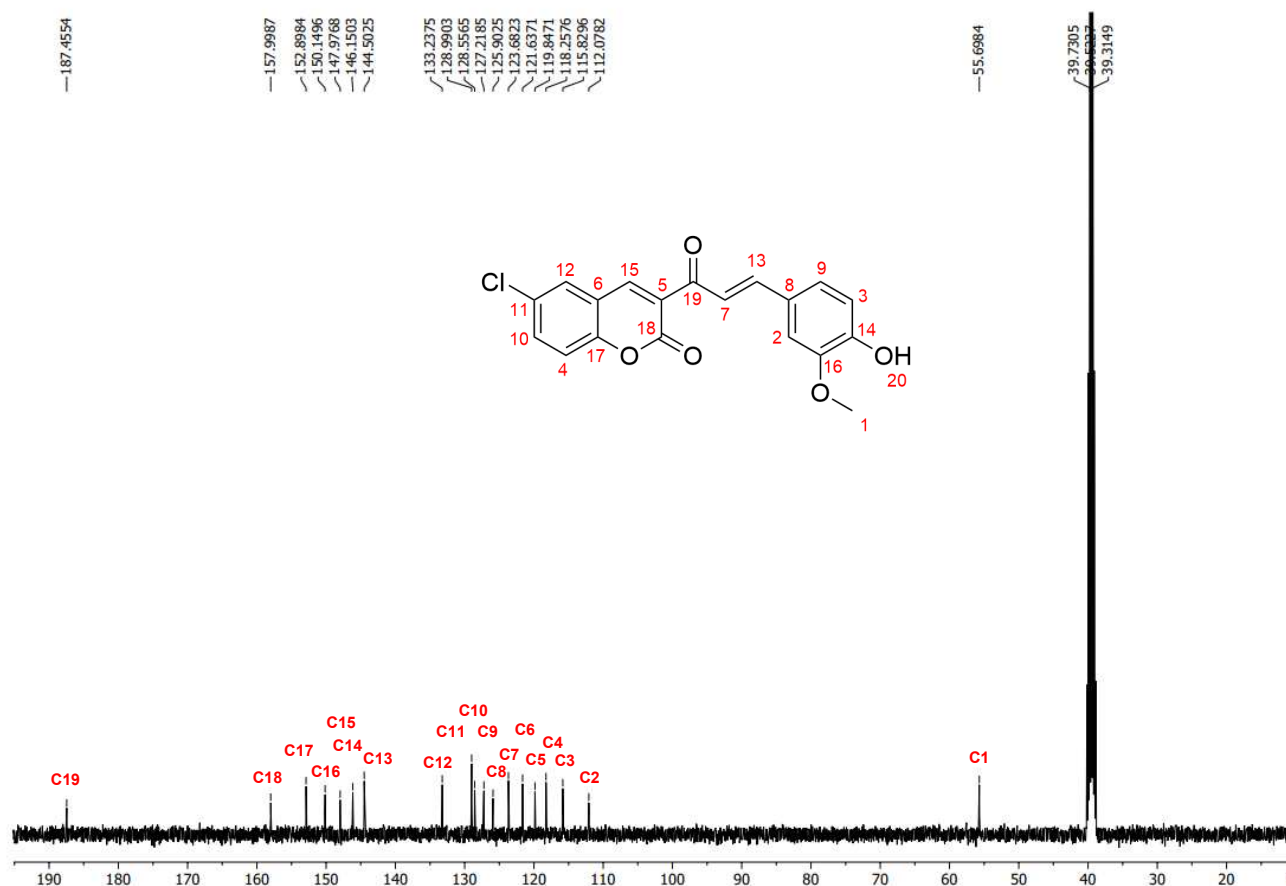
Figura 11- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (**5c**)

Figura 12- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (**5c**)



Assim como o composto **5c**, a substância **6b** foi caracterizada por ponto de fusão, RMN de ^1H e ^{13}C . O derivado **6b** foi obtido como sólido marrom, com ponto de fusão igual a 271-273 $^\circ\text{C}$. No espectro de RMN de ^1H (**figura 13**) identificou-se um singlete com valor de deslocamento igual a 8,56 ppm e integral 1, referente ao sinal do hidrogênio mais desblindado do anel cumarínico (H15). Com a normalização das integrais, tendo como base o valor obtido para o H9, encontrou-se um total de onze hidrogênios distribuídos em onze diferentes sinais. Nota-se dois núcleos com alto deslocamento químico em 9,77 e 9,33 ppm, atribuídos aos hidrogênios das hidroxilas presentes na estrutura (H20 e H19). Os núcleos de ^1H , pertencentes do anel aromático bromado, demonstraram deslocamentos, multiplicidade e constantes de acoplamento de: δ 8,19, duplete com $J= 2,4\text{Hz}$ (H10); 7,88, duplo duplete com $J= 8,8; 2,4\text{Hz}$ (H11) e 7,47, duplete com $J=8,8\text{ Hz}$ (H1). Os sinais referentes os hidrogênios presentes na dupla ligação da chalcona apresentaram deslocamentos de δ 7,63 (H12) e 7,37 (H7), ambos com constante de acoplamento igual a 16,0 Hz, indicando a configuração *trans*. Por fim, foram atribuídos os sinais aos hidrogênios localizados no anel aromáticos da

vanilina, δ 7,16, duplete com $J= 2,0\text{Hz}$ (H2), 7,06, duplo duplete com $J= 8,4; 2,0\text{ Hz}$ (H9) e 6,80, duplete $J= 8,4\text{Hz}$ (H3). O espectro de carbono-13 do mesmo composto (**figura 14**), apresentou dezoito sinais, referentes aos dezoito carbonos presentes na estrutura. Atribui-se os sinais observados em δ 187,1 e 158,6 aos carbonos carbonílicos C18 e C17. Os núcleos ligados diretamente ao heteroátomo oxigênio na estrutura, apresentaram sinais em δ 153,9 (C16), 146,2 (C14) e 146,2 (C13). Nota-se carbonos secundários com maiores valores de deslocamentos, justificados pela ressonância com a carbonila *alfa-beta* insaturada, são eles, C15 em δ 149,8 e C12 em 145,5 ppm. Em δ 133,2 (C12) e 128,6 (C10), tem-se os carbonos vizinhos ao núcleo diretamente ligado ao bromo (C10), este com deslocamento de 129,0 ppm. Tem-se os núcleos pertencentes a carbonos terciários com valores de δ 125,9 (C8), 121,6 (C6) e 119,8 (C5), e em 123,7 ppm vê-se o sinal de C7, carbono *alfa* a carbonila. Os demais carbonos aromáticos aparecem em δ 127,2 (C9), 118,2 (C4), 115,8 (C3) e 112,1 (C2). Por fim, observou-se o sinal do núcleo com menor deslocamento, em 55,7 ppm, pertencente a C1. Com todas essas informações, concluiu-se a atribuição dos sinais presentes no espectro de RMN de ^1H e ^{13}C para o derivado **6b**.

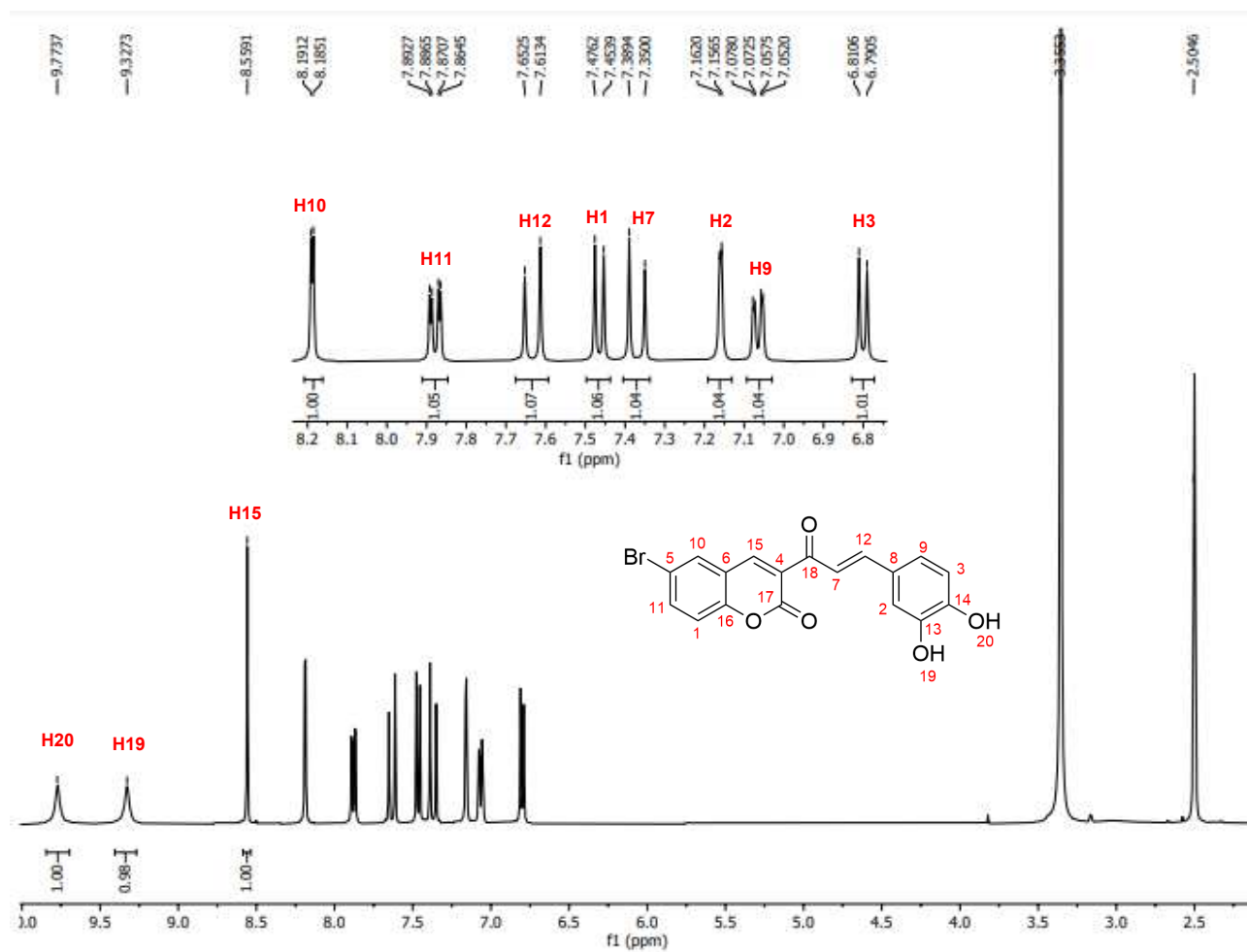
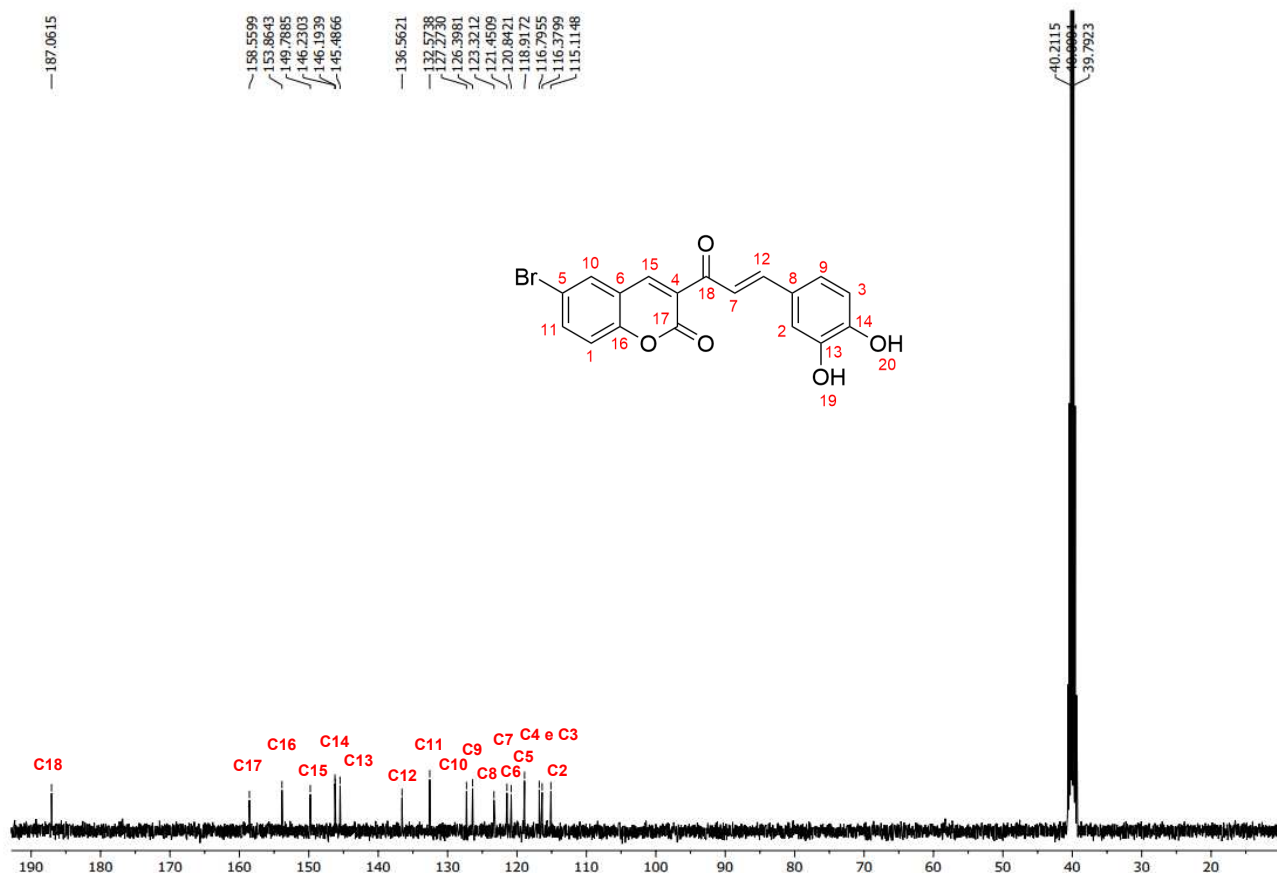
Figura 13- Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (6b)

Figura 14- Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (6b)



3.6 TESTES *IN VITRO*

3.6.1 Determinação da Capacidade Fotoprotetora

Para a medida do fator de proteção solar (FPS), utiliza-se o método *in vitro* descrito por Mansur *et al.* (1986). Esse teste é considerado um teste primário para a identificação de compostos orgânicos que possuam atividade fotoprotetora. Onde, em um espectrofotômetro são feitas leituras de absorvância na faixa 290 a 320 nm, e a partir desses valores, determina-se o FPS através da multiplicação da absorvância medida pelo efeito eritemogênico da radiação (EE) para cada um dos comprimentos de onda, e a somatória dos valores, multiplicada por um fator de correção, conforme determinado por Wagemaker *et al.*, (2011) (Equação 1).

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

FC = fator de correção (10);

EE = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda λ ;

$I(\lambda)$ = intensidade do sol no comprimento de onda λ ;

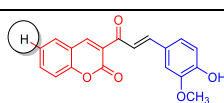
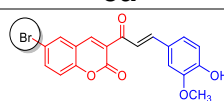
$Abs(\lambda)$ = absorvância da solução no comprimento de onda λ .

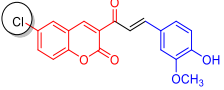
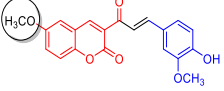
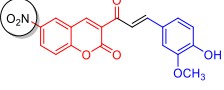
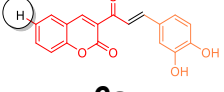
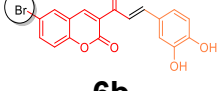
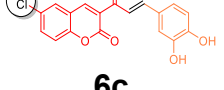
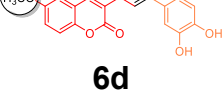
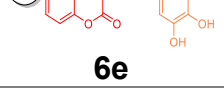
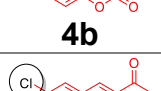

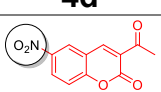
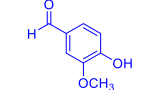

O Teste de Tukey é um teste amplamente utilizado para análises estatísticas, com o objetivo de comparar as médias dos dados obtidos. Por meio dessa análise, determina-se se há diferença mínima significativa, com um intervalo de confiança de 95%, entre as médias das amostras. Na interpretação dos resultados do teste de Tukey, se as duas médias são designadas com a mesma letra, isso indica que não há diferença significativa entre elas. Por exemplo, se as médias das amostras 1 e 2 são indicadas como “1a” e “2a”, respectivamente, isso sugere que não existe diferença mínima significativa entre essas amostras. Por outro lado, se as médias são designadas com letras distintas, como “1a” e “2b”, estatisticamente, dentro de um intervalo de confiança de 95%, elas demonstram diferença mínima significativa (ABDI; WILLIAMS, 2010).

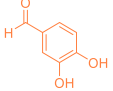
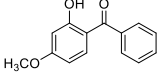
De acordo com a Resolução - RDC 30, 01 de junho de 2012 da ANVISA, uma substância é considerada fotoprotetora quando apresenta um valor de FPS superior a 6 (ANVISA, 2012).

Na **tabela 5** são apresentados os valores de FPS e desvio padrão obtidos em cinco diferentes concentrações (5, 15, 25, 35, 45 μ M) para a benzofenona-3, os derivados das séries 1- ácido vanílico **5a-e** e série 2- protocatecuíco **6a-e**, e seus precursores **4a-e** e **3a-b**.

Tabela 5- FPS e desvio padrão obtidos em diferentes concentrações das soluções de derivados cumarínicos **5a-e** e **6a-e**.

Substâncias	Fator de proteção solar (\pm desvio padrão)				
	5 μ M	15 μ M	25 μ M	35 μ M	45 μ M
 5a	2,32 \pm 0,04 ^{abc}	3,47 \pm 0,05 ^{bc}	4,85 \pm 0,04 ^{cde}	6,05 \pm 0,08 ^{efg}	8,05 \pm 0,09 ^{cd}
 5b	2,44 \pm 0,17 ^{ab}	3,60 \pm 0,11 ^{bc}	5,37 \pm 0,11 ^c	6,91 \pm 0,07 ^{cd}	8,49 \pm 0,12 ^c

	$1,35 \pm 0,03^h$	$2,31 \pm 0,02^{ef}$	$4,81 \pm 0,04^{cde}$	$7,24 \pm 0,05^c$	$10,40 \pm 0,30^b$
5c					
	$0,76 \pm 0,06^i$	$2,46 \pm 0,04^e$	$3,91 \pm 0,10^{ef}$	$5,35 \pm 0,06^{gh}$	$7,18 \pm 0,09^f$
5d					
	$1,63 \pm 0,01^{fgh}$	$4,39 \pm 0,17^a$	$7,53 \pm 0,32^{ab}$	$11,16 \pm 0,35^a$	$15,15 \pm 0,25^a$
5e					
	$2,27 \pm 0,09^{abcd}$	$3,58 \pm 0,10^{bc}$	$5,19 \pm 0,03^c$	$6,77 \pm 0,08^{cde}$	$8,43 \pm 0,14^c$
6a					
	$2,15 \pm 0,08^{abcde}$	$3,57 \pm 0,14^{bc}$	$5,04 \pm 0,04^{cd}$	$6,77 \pm 0,10^{cde}$	$8,30 \pm 0,03^c$
6b					
	$1,91 \pm 0,19^{efg}$	$3,28 \pm 0,20^{cd}$	$5,69 \pm 0,21^{cdef}$	$8,75 \pm 0,31^{fg}$	$11,34 \pm 0,51^{ef}$
6c					
	$1,54 \pm 0,04^{gh}$	$3,58 \pm 0,03^{bc}$	$4,62 \pm 0,11^{cde}$	$6,24 \pm 0,14^{def}$	$7,95 \pm 0,06^{cde}$
6d					
	$2,57 \pm 0,31^a$	$4,51 \pm 0,37^a$	$8,26 \pm 0,48^a$	$11,40 \pm 0,47^a$	$14,54 \pm 0,21^a$
6e					
	$1,82 \pm 0,09^{bcdef}$	$2,69 \pm 0,02^{cd}$	$3,66 \pm 0,30^{def}$	$4,43 \pm 0,11^{fgh}$	$5,30 \pm 0,02^g$
4a					
	$2,01 \pm 0,06^{defg}$	$3,05 \pm 0,11^{de}$	$4,13 \pm 0,11^f$	$5,56 \pm 0,08^{ij}$	$6,34 \pm 0,15^{hj}$
4b					
	$1,89 \pm 0,06^{cdefg}$	$3,30 \pm 0,19^{bc}$	$4,72 \pm 0,13^{cde}$	$6,18 \pm 0,06^{def}$	$7,56 \pm 0,05^{def}$
4c					
	$0,79 \pm 0,02^i$	$1,60 \pm 0,06^{gh}$	$2,34 \pm 0,07^g$	$3,87 \pm 0,20^{jk}$	$4,90 \pm 0,05^i$
4d					
	$1,28 \pm 0,15^h$	$3,71 \pm 0,21^b$	$6,66 \pm 0,62^b$	$8,63 \pm 0,21^b$	$10,69 \pm 0,25^b$
4e					
	$0,75 \pm 0,01^{gh}$	$1,74 \pm 0,03^{de}$	$2,57 \pm 0,05^f$	$3,50 \pm 0,03^{hi}$	$4,72 \pm 0,05^h$
3a					

	$0,82 \pm 0,05^i$	$1,13 \pm 0,02^h$	$2,02 \pm 0,05^g$	$2,95 \pm 0,09^l$	$4,03 \pm 0,07^j$
3b					
	$1,49 \pm 0,09^i$	$2,66 \pm 0,06^{fg}$	$3,60 \pm 0,05^g$	$4,88 \pm 0,02^{kl}$	$5,56 \pm 0,11^i$
Benzofenona-3					

Fonte: A autora. **Legenda:** As letras transcritas (**a-l**) representam a diferença estatística entre os valores de FPS de cada compostos em mesma concentração. Onde o maior valor de FPS é denotado “a”, os valores subseqüentes são denotados por “b”, “c”, “d” e assim respectivamente, por ordem decrescente de magnitude.

Dentre todos os compostos analisados na **tabela 5**, destacam-se os híbridos moleculares com substituinte nitro, **5e** e **6e**, com os melhores resultados de FPS, exibindo valores de FPS superiores a 6 a partir da concentração de 25 uM. Para os demais compostos da série 1(cumarina-ácido vanílico), observa-se que todos apresentaram atividade fotoprotetora a partir da concentração de 45 uM, com valores de FPS variando entre 7,95 e 14,54 para essa concentração. Já, para a série 2 (cumarina-ácido protocatecuico), todos os derivados demonstraram atividade fotoprotetora a partir da concentração de 35 uM, com valores de FPS entre 6,24 e 11,40 nessa concentração.

Para um melhor entendimento e para efeito de comparação, o teste também foi performado para os cinco precursores cumarínicos (**4a-e**), os aldeídos dos ácidos (**3a-b**) e para um padrão fotoprotetor, a benzofenona-3. Essa substância é utilizada como padrão por ser um ingrediente muito comum na formulação de protetores solares, agindo como filtro UV. Os valores de FPS obtidos para esses compostos estão apresentados na **tabela 5**.

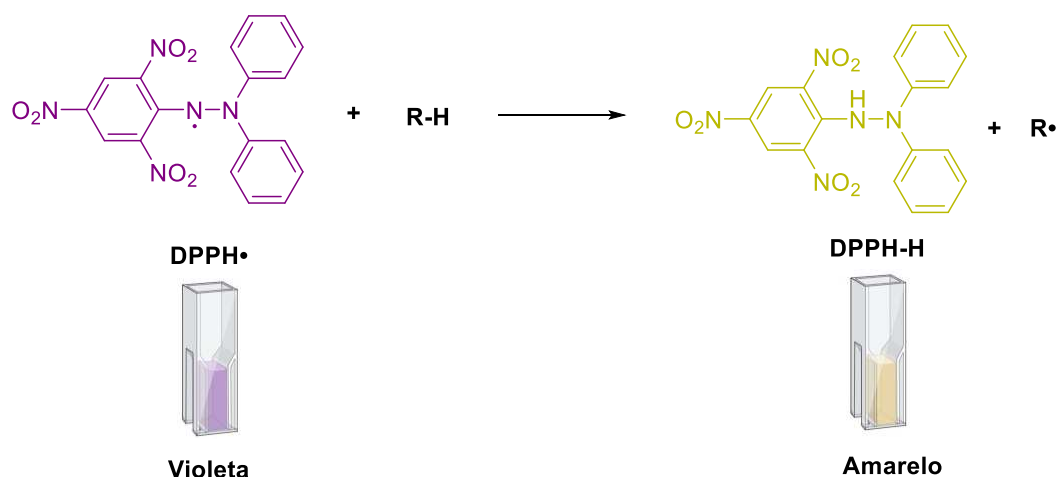
Com essa comparação, observou-se que todos os derivados sintetizados apresentaram valores de fotoproteção superior ao de seus precursores. Por exemplo, o composto **5c**, com substituinte cloro, apresentou FPS de 10,40 (45 uM), enquanto seus precursores, as substâncias **4c** e a vanilina (**3a**), apresentaram FPS de 7,54, e 4,72, respectivamente. Essa tendencia também foi observada para os derivados da série 2, como no caso do derivado **6c**, também com o substituinte cloro, que apresentou FPS de 11,34 (45 uM), tendo como precursores as substâncias **4c**, com FPS de 7,54, e o aldeído protocatecuico (**3a**), com FPS de 4,03. Com esses resultados, é notável a potencialização da atividade fotoprotetora devido à hibridização molecular em ambas as séries, com todos os novos híbridos moleculares apresentadores valores de FPS superior ao de seus precursores.

Além disso, ao comparar aos valores obtidos para o padrão benzofenona-3 nas mesmas concentrações, é possível notar uma grande discrepância entre os valores do padrão e dos híbridos moleculares, o que mais uma vez reforça o potencial dos novos derivados.

3.6.2 Determinação da Capacidade Antioxidante Pelo Método de Redução do Radical DPPH• Para Ambas as Séries de Híbridos Moleculares e Seus Precursores.

Uma forma de avaliar o potencial antioxidante de um composto, é através de testes *in vitro*, como o ensaio de DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Esse radical apresenta a coloração violeta escuro e é considerado estável em virtude da deslocalização de seu elétron desemparelhado. Característica essa, que também lhe confere sua coloração inicial. Quando reduzido, esse radical deixa de apresentar a cor violeta, com absorção UV-Vis em 517nm, e passa a ser amarelo. Assim, a capacidade antioxidante de uma substância pode ser medida pelo decaimento da absorbância do sistema, como apresentado na **figura 15** (CHEN *et al.*, 2020a).

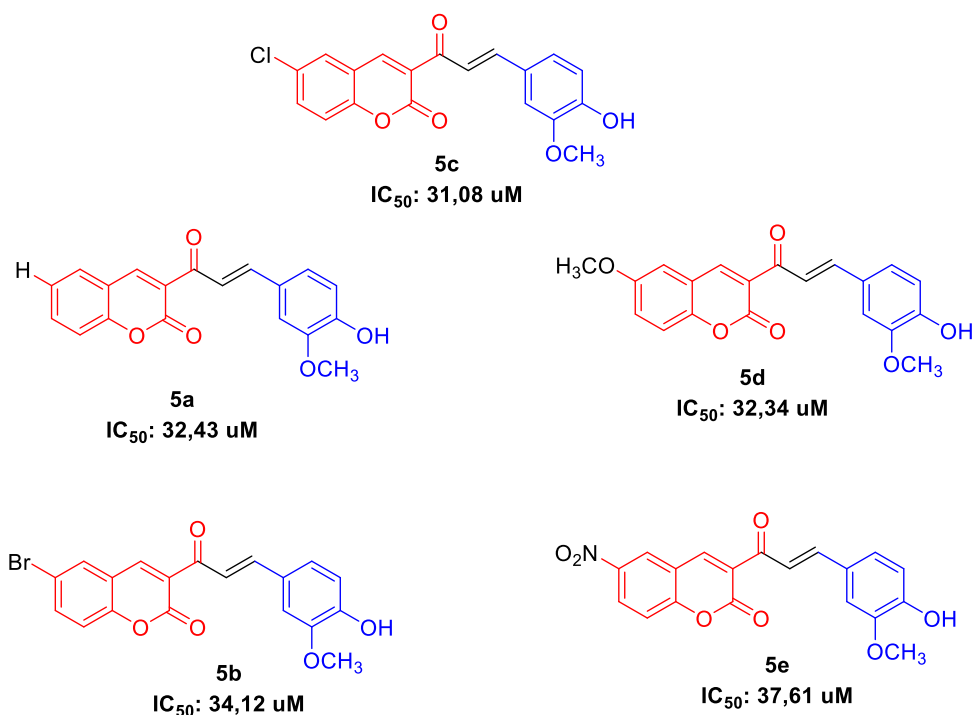
Figura 15- Redução do radical DPPH•, por meio da doação de um átomo de hidrogênio de uma espécie antioxidante



Fonte: A autora.

O IC₅₀ é uma medida quantitativa da concentração dos derivados na qual a concentração do radical DPPH é reduzida em 50%. Esse valor foi determinado com uma regressão não linear dose-resposta, determinando-se os parâmetros da equação de Hill, utilizando-se para isso o software GraphPad Prism 8.0 (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; MOTULSKY, 2023).

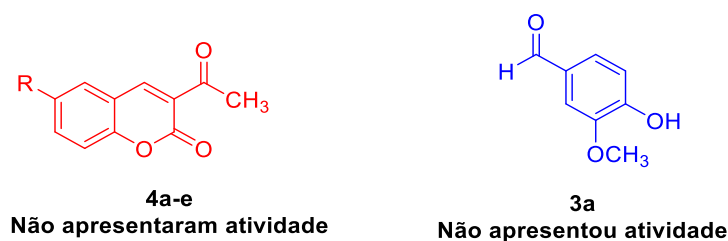
Figura 16- Resultados obtidos para os compostos **5a-e** no teste antioxidante DPPH•.



Fonte: A autora.

A **figura 16** exibe os valores de IC₅₀ para a série de compostos cumarina-ácido vanílico. Para uma melhor análise e comparação mais detalhada, fez-se o mesmo teste com as moléculas precursoras (**4a-e** e **3a**) **figura 17**. Os experimentos conduzidos seguiram os mesmos parâmetros utilizados para os compostos da série 1.

Figura 17- Resultados obtidos para os precursores **4a-e** e **3a** no teste antioxidante DPPH•.



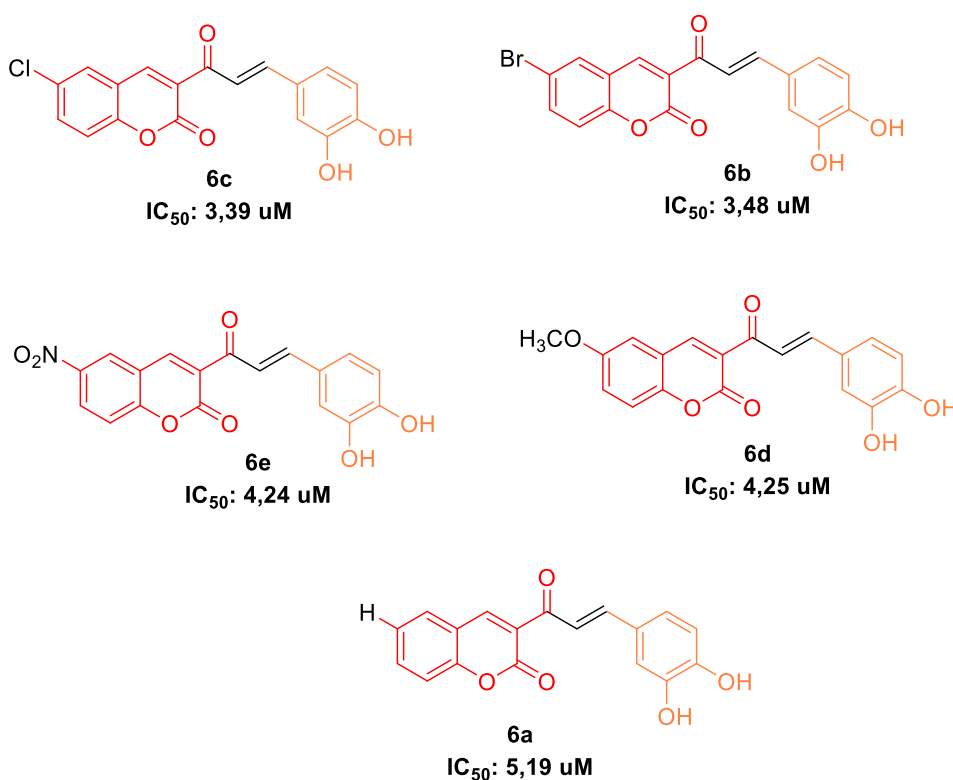
Fonte: A autora.

Nota-se que, todos os compostos apresentados na **figura 16**, demonstram atividade antioxidante. Com os derivados **5c** e **5d** exibindo os melhores valores de IC₅₀, e o derivado **5e** mostrando menor atividade. Quanto aos precursores vê-se que, nenhum deles apresentam potencial antioxidante nas concentrações estudadas. A

vanilina, em concentrações de 240 μM , duas vezes maior que a maior concentração utilizada no teste, exibiu baixas porcentagens de inibição, próximas a 15%. Os resultados obtidos demonstram que a hibridização entre os aldeídos e as cumarinas aumentam o potencial antioxidante de seus derivados.

Para a série cumarina-ácido protocatecuico, as concentrações do teste precisaram ser ajustadas para abranger faixas de inibição entre o mínimo (entre 10-20%) e máximo (platô) de inibição. Os valores compreenderam concentrações de 1,0 a 20 μM . **A figura 18** exibe os valores dessa medida de IC_{50} para a série 2 de compostos estudada.

Figura 18- Resultados obtidos para os derivados **6a-e** no teste antioxidante DPPH•.

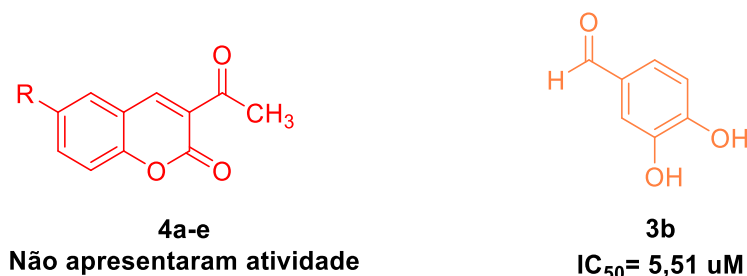


Fonte: A autora.

Os compostos da segunda série de derivados apresentaram melhores valores de IC_{50} , o que pode ser relacionado com a presença de mais um grupo hidroxila em sua estrutura. Os melhores derivados foram **6c** e **6b**, com menor valor de IC_{50} observado para o híbrido **6a**. Em relação aos seus precursores, as cumarinas não apresentaram atividade antioxidante, enquanto o aldeído protocatecuico apresentou IC_{50} igual a 5,51 μM (**figura 19**). Nesta série, fica ainda mais evidente o papel potencializador da hibridização, onde mesmo com o aldeído **3b** apresentando um bom valor de IC_{50} , os derivados **6a-e** demonstrando valores ainda melhores. Melhora essa,

que pode ser relacionada ao sistema conjugado dos híbridos, permitindo maior estabilidade ao radical formado.

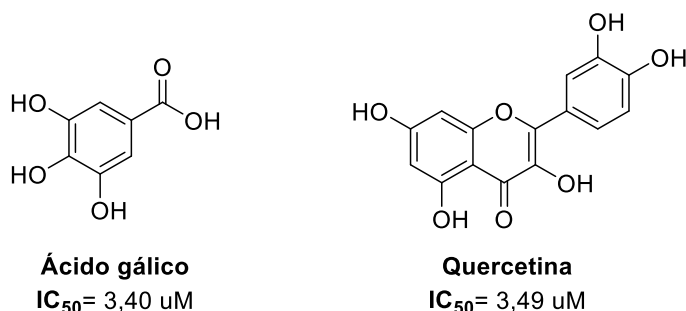
Figura 19- Valores de IC₅₀ obtidos para os precursores **4a-e** e **3b** no teste antioxidante DPPH•.



Fonte: A autora.

Outra análise realizada, a título de comparação, foi com padrões antioxidante quercetina e o ácido gálico, **figura 20**.

Figura 20- Estruturas dos compostos utilizados como padrões antioxidantes e seus valores de IC₅₀.



Fonte: A autora.

Os padrões mencionados ostentaram melhores valores de IC₅₀ quando comparados aos compostos da primeira série (**5a-e**). No entanto, ao compará-los com os derivados da segunda série (**6a-e**), vê-se que os valores de IC₅₀ são muito próximos. Isso chama a atenção porque o número de hidroxilas na estrutura dos padrões é superior ao dos híbridos **6a-e**, o que novamente sugere a importância da conjugação nos compostos. Embora seja comum associar uma maior capacidade antioxidante a um maior número de hidroxilas presente na estrutura das substâncias, vê-se que essa relação não é direta e definitiva para a estrutura-atividade. Outros fatores, como a posição desses grupos e o sistema ao qual estão inseridos, também afetam sua atividade biológica (BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK; FABISZEWSKA; ZIENIUK, 2018b; LAGO *et al.*, 2014; SCOTTI *et al.*, 2007).

3.7 TESTES *IN SILICO*

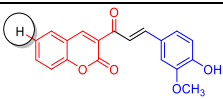
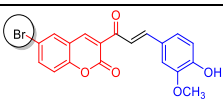
Conforme discutido anteriormente, um candidato a ativo cosmético deve atender a certos parâmetros pré-estabelecidos para sua eficácia e segurança. Utilizando a plataforma SwissADME, realizou-se a predição de vários parâmetros físico-químicos incluindo, lipofilicidade, tamanho, polaridade, solubilidade, flexibilidade e saturação.

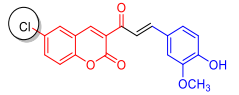
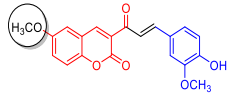
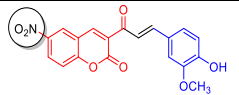
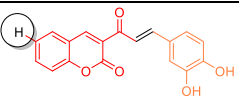
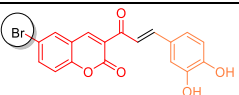
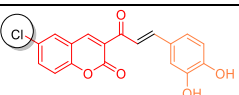
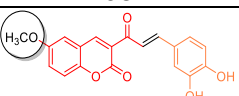
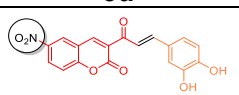
Dentre esses parâmetros, o peso molecular e a solubilidade estão diretamente ligados a absorção dérmica, sendo desejável que os compostos apresentem baixo peso molecular, menor que 500 daltons, e maior lipossolubilidade. No que diz respeito a medida da lipossolubilidade três parâmetros merecem atenção especial: o valor da superfície topológica polar (do inglês TPSA), que reflete a polaridade da molécula; o *logS*, referente a solubilidade em água; e o *logP* (coeficiente de partição octanol/água) (CHENG *et al.*, 2007; ERTL; SCHUFFENHAUER, 2009)

Idealmente, para os fins desejados, o valor de TPSA deve estar entre 20 e 130 Å², o *logS* próximo ou acima de 6, sendo considerado moderado ou pouco solúvel, e o de *logP* deve ter seu valor entre -0,7 e 5, ou seja, de moderado a baixo. Compostos com valores de *logP* abaixo de -0,7, pode-se encontrar dificuldades de absorção, enquanto para valores acima de 5 podem implicar em acumulação na pele (CHENG *et al.*, 2007; LIPINSKI *et al.*, 2001b)

Os valores preditos para cada híbrido molecular estão expostos no **quadro 1**. Todas as moléculas apresentam peso molecular abaixo de 500 daltons. Quanto à superfície polar, vê-se que apenas o derivado **6e** apresenta valor superior a 130 Å², demonstrando uma alta polaridade, que pode dificultar a passagem dessa substância em membranas celulares lipídicas. Os valores de *logP* ficaram entre 2,07 e 3,66, sendo considerados pouco ou moderadamente solúveis em meios aquosos.

Quadro 1- Propriedades físico-químicas dos híbridos **5a-e** e **6a-e**.

Substância	P.M. (g/mol)	Lig. Rotativas	Nº de aceptores	Nº de doadores	TPSA (Å ²)	LogP	LogS
 5a	322,31	4	5	1	76,74	3,04	Solubilidade moderada
 5b	401,21	4	5	1	76,74	3,66	Baixa solubilidade

 5c	356,76	4	5	1	76,74	3,56	Baixa solubilidade
 5d	352,34	5	6	1	85,97	3,06	Solubilidade moderada
 5e	367,31	5	7	1	122,56	2,49	Solubilidade moderada
 6a	308,28	3	5	2	87,74	2,72	Solubilidade moderada
 6b	387,18	3	5	2	87,74	3,33	Solubilidade moderada
 6c	342,73	3	5	2	87,74	3,24	Solubilidade moderada
 6d	338,31	4	6	2	96,97	2,70	Solubilidade moderada
 6e	353,28	4	7	2	133,56	2,07	Solubilidade moderada

Fonte: A autora.

As propriedades farmacocinéticas foram estimadas utilizando a mesma plataforma, e os dados obtidos estão exibidos no **quadro 2**.

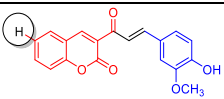
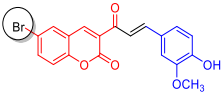
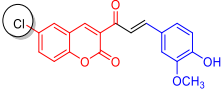
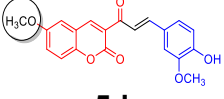
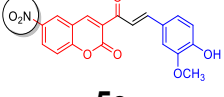
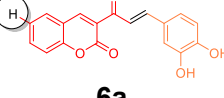
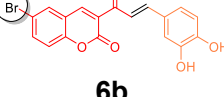
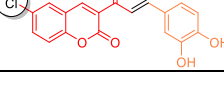
Observa-se que, os derivados da primeira série de híbridos moleculares (**5a-e**) apresentaram alta absorção intestinal passiva, assim como os compostos (**6a-d**). A exceção entre os 10 compostos foi o derivado **6e**, demonstrando baixa HIA, o que pode ser justificado por sua maior polaridade. No que diz respeito a barreira hematoencefálica (BHE), nota-se que apenas os compostos **5a** e **5c** demonstraram um perfil de permeação.

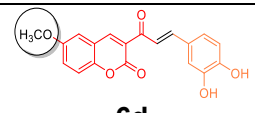
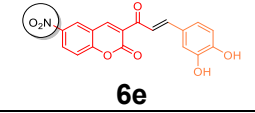
Outro parâmetro calculado foi o $\log K_p$, referente a permeabilidade da pele, de grande importância para compostos com aplicação tópica. Quanto mais negativo esse valor, menor a permeabilidade dérmica da substância. No entanto, é muitas vezes desejável que o valor desse parâmetro seja baixo, principalmente para ingredientes que não precisem penetrar tão profundamente. Isso pode demonstrar uma menor

chance de que quantidades significativas do composto penetrarem a pele, o que pode reduzir os efeitos colaterais ou interações adversas (LIPINSKI *et al.*, 2001b).

Todos os compostos estudados exibiram valores próximos de $\log K_p$, entre -5,69 e -6,32 cm/s, com o derivado **6c**, apresentando a maior permeabilidade. Quanto ao metabolismo, nenhuma das substâncias estudadas é um substrato da P-gp, o que indica uma maior biodisponibilidade. Em relação as enzimas mono-oxidases da família CYP450, notou-se potencial de inibição dos compostos **5b** e **5c** à CYP2C19; do híbrido molecular **5d** à CYP3A4; e ação de todos os derivados contra a CYP2C9. Essas enzimas são responsáveis pela metabolização de hormônios, ácido graxos e alguns fármacos. A inibição é interessante, pois, alguns estudos mostram que em certas circunstâncias, podem produzir EROs excessivamente, gerando estresse oxidativo e morte celular (GONZALEZ, 2005).

Quadro 2- Parâmetros farmacocinéticos previstos para os híbridos **5a-e** e **6a-e**.

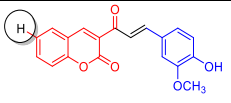
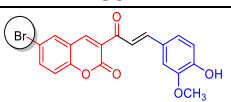
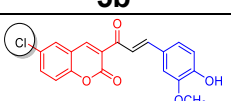
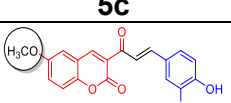
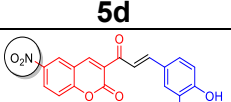
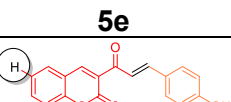
Substância	HIA	BHE	Log k_p (cm/s)	Substrato P-gp	Inibidor CYP
 5a	Alta	Sim	-5,78	Não	CYP2C9
 5b	Alta	Não	-5,77	Não	CYP2C9/ CYP2C19
 5c	Alta	Sim	-5,54	Não	CYP2C9/ CYP2C19
 5d	Alta	Não	-5,99	Não	CYP2C9/ CYP3A4
 5e	Alta	Não	-6,18	Não	CYP2C9
 6a	Alta	Não	-5,92	Não	CYP2C9
 6b	Alta	Não	-5,91	Não	CYP2C9
 6c	Alta	Não	-5,69	Não	CYP2C9

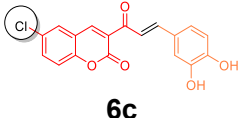
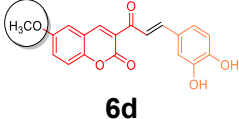
6c 	Alta	Não	-6,13	Não	CYP2C9
6d 	Baixa	Não	-6,32	Não	CYP2C9

Fonte: A autora.

A primeira avaliação de toxicidade dos híbridos foi conduzida na plataforma SwissADME com os parâmetros “PAINS” e “Brenk”, **quadro 3**. Os alertas para fragmentos dos compostos promíscuos são descritos pelos procedimentos “PAINS”. Já no que diz respeito a fragmentos identificados como tóxicos, reativos, metabolicamente instáveis e com complicações farmacocinética, esses, são tipificados por alertas de “Brenk”. Esses alertas podem identificar potenciais problemas de reatividade e toxicidade, permitindo ajustes ou descartes dos compostos em uma avaliação inicial (BRENK *et al.*, 2008).

Quadro 3- Avaliação de toxidade baseado em fragmentos das estruturas (**5a-e** e **6a-e**).

Substância	Alerta PAINS	Alerta Brenk
5a 	0	2; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada)
5b 	0	2; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada)
5c 	0	2; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada)
5d 	0	2; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada)
5e 	0	3; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada) e grupo nitro
6a 	1; catecol (orto-hidroxi benzeno)	3; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada) e catecol

 <p>6b</p>	1; catecol (orto-hidroxi benzeno)	3; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada) e catecol
 <p>6c</p>	1; catecol (orto-hidroxi benzeno)	3; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada) e catecol
 <p>6d</p>	1; catecol (orto-hidroxi benzeno)	3; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada) e catecol
 <p>6e</p>	1; catecol (orto-hidroxi benzeno)	4; cumarina, acceptor de michael (insaturação alfa-beta insaturada), catecol e grupo nitro

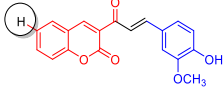
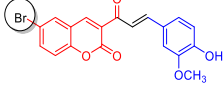
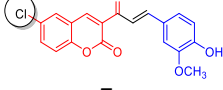
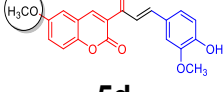
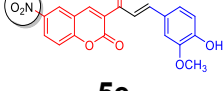
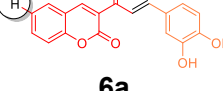
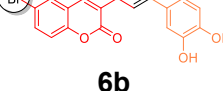
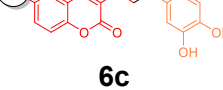
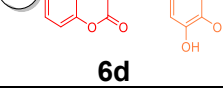
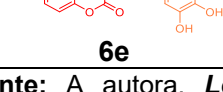
Fonte: A autora.

Nota-se que, apenas os derivados da série cumarina-ácido protocatecuico apresentaram alertas de “PAINS”, isso se deve a presença de um catecol. Isso indica que, esse fragmento pode exibir respostas potentes em ensaios, independente do alvo de interesse o que pode levar a falsos positivos (promiscuidade). Quanto aos alertas de Brenk, nota-se que todos os compostos apresentaram alertas referentes a grande reatividade frente a proteínas pela catecol e aceptores de Michael na estrutura, o que pode ocasionar falsos-positivos em experimentos *in vitro*. Já o grupamento nitro, presente nos derivados **5e** e **6e**, é considerado um fragmento tóxico e com poder mutagênico, por isso o alerta estrutural (BRENK *et al.*, 2008; RISHTON, 1997)

Os 10 derivados híbridos também foram avaliados quanto ao seu potencial de causar toxicidade aguda por meio da plataforma StopTOX. Utilizando-se da metodologia “6 packs”, fez-se a previsão dos parâmetros de toxicidade aguda oral, dérmica e inalatória, além da avaliação da irritação ocular, sensibilização, irritação e corrosão da pele, conforme apresentado no **quadro 4**. Esta metodologia leva em consideração dados *in vivo* contidos na literatura para cada fragmento molecular. Um candidato a fármaco necessita passar por vários testes para ser aprovado pelas agências regulatórias. Nesse sentido, a previsão *in silico* destes parâmetros pode facilitar este processo, auxiliando em uma melhor filtragem das substâncias, economizando tempo e recursos (BORBA *et al.*, 2022).

Quadro 4- Avaliação de toxicidade aguda dos compostos híbridos **5a-e** e **6a-e**.

Substância	Inalatória	Oral	Dérmica	Ocular	Sensibilidade na pele	Irritação e corrosão
------------	------------	------	---------	--------	-----------------------	----------------------

 5a	Não (51%)	Não (51%)	Tóxico (71%)	Não (73%)	Não (60%)	Não (90%)
 5b	Não (60%)	Tóxico (56%)	Tóxico (62%)	Tóxico (55%)	Não (50%)	Não (80%)
 5c	Não (63%)	Tóxico (59%)	Tóxico (65%)	Tóxico (55%)	Não (50%)	Não (80%)
 5d	Tóxico (51%)	Tóxico (61%)	Tóxico (71%)	Não (73%)	Não (60%)	Não (90%)
 5e	Não (58%)	Tóxico (63%)	Tóxico (71%)	Tóxico (63%)	Não (50%)	Não (90%)
 6a	Não (66%)	Não (59%)	Tóxico (62%)	Tóxico (63%)	Sensibilizador (50%)	Não (90%)
 6b	Não (71%)	Não (54%)	Tóxico (52%)	Tóxico (88%)	Sensibilizador (60%)	Não (70%)
 6c	Não (72%)	Não (58%)	Tóxico (57%)	Tóxico (84%)	Sensibilizador (60%)	Não (80%)
 6d	Não (59%)	Não (60%)	Tóxico (61%)	Não (66%)	Não (50%)	Não (90%)
 6e	Não (65%)	Não (60%)	Tóxico (56%)	Tóxico (70%)	Sensibilizador (60%)	Não (90%)

Fonte: A autora. **Legenda:** As porcentagens descritas entre parênteses indicam o nível de confiabilidade.

Os parâmetros regulatórios enfatizam a importância de garantir a segurança de produtos cosméticos e farmacêuticos, com foco na ausência de toxicidade aguda ou crônica em diferentes vias de exposição, como dérmica, oral, inalatória e ocular. Além do que, é de grande importância de que esses compostos não apresentem potencial de sensibilização, irritação ou acumulação sistêmica, garantindo a saúde e bem-estar dos consumidores (ANVISA, 2012).

Com base nos resultados exibidos no **quadro 4**, vê-se que, apenas o derivado **5d** demonstrou possibilidade de toxicidade inalatória. Em relação à potencial toxicidade oral, quatro dos cinco compostos da primeira série de híbrido moleculares- **5b**, **5c**, **5d**

e **5e**- apresentaram essa propriedade. Todos os híbridos, de ambas as séries, indicaram toxicidade dérmica. Quanto a toxicidade ocular, apenas os compostos **5a**, **5d** e **6d** não apresentaram predição de toxicidade ocular. É importante ressaltar que os compostos **5d** e **6d** apresentam o mesmo substituinte metoxila, indicando um padrão estrutural. Em relação a sensibilidade da pele, os compostos **6a**, **6b**, **6c** e **6e**, pertencentes à série cumarina-ácido protocatecuico demonstraram ser sensibilizadores. No entanto, nenhum dos dez compostos exibiram potencial de irritação ou corrosão da pele. Nota-se que, no teste realizado, o híbrido **6d** apresentou os melhores resultados, sendo predito como não tóxico na maioria das vias de administração, não sensibilizador ou irritante a pele.

É essencial entender que os resultados obtidos se baseiam em modelos e simulações e não constituem afirmações definitivas. Embora os métodos *in silico* serem ferramentas importantes para a triagem de substâncias que podem vir a se tornar fármacos, testes *in vitro* devem ser performados para avaliações mais profundas dessas propriedades.

4 METODOLOGIA

4.1 PROCEDIMENTOS GERAIS

Os solventes utilizados para fins analíticos não foram submetidos a nenhum tratamento prévio. Já, os solventes e reagentes utilizados para fins sintéticos foram tratados, destilados e secos, conforme necessidades requeridas nas metodologias adotadas e de acordo com os processos descritos por Armarego e Chai, (2009). O acompanhamento das reações foi realizado através de cromatografia em camada delgada (CCD), em cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 F-254 com espessura de 0,25mm, marca Merck. Os eluentes utilizados foram preparados volume à volume (v/v) e as substâncias, reveladas com luz ultravioleta (254-366 nm) ou solução de vanilina sulfúrica.

4.2 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

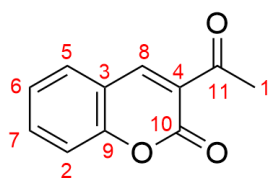
Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho digital Microquímica MQAPF 302. Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Bruker Ascend III, operando em uma frequência de 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C , equipado com sondas multinucleares de 5 mm, e localizado no Laboratório Multiusuário de Espectroscopia (ESPEC) da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Os espectros foram registrados utilizando clorofórmio deuterado (CDCl_3) (δH , 7,26 ppm) ou dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) (δH , 2,50 ppm) como solventes e TMS como padrão interno (δH , 0,00 ppm). O processamento dos dados foi feito através do software MestreNova (versão 14.2). A área dos sinais foi determinada por integração eletrônica, e as multiplicidade dos sinais descritas como simpleto (s), duplete (d), duplo duplete (dd), duplo tripleto (dt) e multiplete (m). As constantes de acoplamento (J^2 e J^3) foram descritas em hertz (Hz).

4.3 PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS

4.3.1 Síntese das cumarinas precursoras (**4a-e**)

A metodologia sintética utilizada seguiu o procedimento descrito por Čačić *et al.* (2011). Em um balão de fundo redondo de 50 mL, adicionou-se o salicilaldeído (0,93g; 7,65 mmol) e acetoacetato de etila (0,99g; 7,65mmol, 1 eq.). Essa mistura foi agitada por 5 minutos e em seguida, ainda sob agitação, foram adicionados 0,09 mL piperidina. O sistema reacional foi mantido em temperatura ambiente e movimentação magnética constante por 6 h. O término da reação foi acompanhado por CCD, tendo como fase móvel uma mistura de hexano/acetato de etila nas proporções 6:4 (v/v) e utilizando a luz UV como revelador. Então, o precipitado formado foi filtrado à vácuo, lavado com 5mL de etanol absoluto gelado e seco em estufa a 100°C. Assim, obtendo-se as substâncias precursoras **4a-e** com rendimentos entre 39 a 88% para esta etapa.

3-Acetil-2H-cromen-2-ona (C₁₁H₈O₃) (4a): Sólido amarelo claro; 50% (1,437 g); **PF:**



115-116°C; **Lit.:** 119- 120 °C (HIRAI; TOGO, 2005); **RMN de ¹H**

[400 MHz, CDCl₃] δ (ppm): 8,52 (1H, s, H8); 7,68-7,64 (2H, m, H4 e H5); 7,39-7,33 (2H, m, H2 e H6); 2,73 (3H, s, CH₃). **Lit.:**

RMN de ¹H [CDCl₃] δ (ppm): 8,52 (s, 1H); 7,33-7,39 (m, 2H);

7,64-7,69 (m, 2H); 2,73 (s, 3H, -CH₃). (TOGO; HIRAI, 2005). **RMN de ¹³C [100 MHz,**

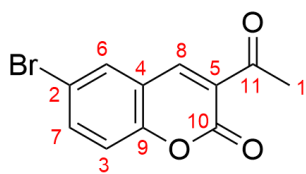
CDCl₃] δ (ppm): 195,7 (C11); 159,4 (C10); 155,5 (C9); 147,6 (C8); 134,6 (C7); 130,4

(C6); 125,1 (C5); 124,7 (C4); 118,4 (C3); 116,8 (C2); 30,7 (C1). **Lit.: RMN de ¹³C**

[CDCl₃] δ (ppm): 195,5; 159,2; 155,3; 147,5; 134,4; 130,2; 125,0; 124,4; 118,2; 116,6;

30,6. (SAEED *et al.*, 2016).

3-Acetil-6-bromo-2H-cromen-2-ona (C₁₁H₇BrO₃) (4b): Sólido amarelo claro; 84%



(0,669g) **PF:** 211-213 °C; **Lit.:** 216- 217 °C (BAO; WANG; LI,

2003); **RMN de ¹H [400 MHz, CDCl₃] δ (ppm):** 8,39 (1H, s,

H8); 7,76 (1H, d, *J*= 2,4 Hz, H6); 7,71 (1H, dd, *J*= 8,8; 2,4 Hz,

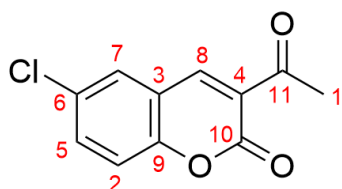
H7); 7,24 (1H, s, *J*= 8,8 Hz, H3); 2,70 (3H, s, CH₃). **Lit.: RMN**

de ¹H [CDCl₃] δ (ppm): 8,40 (1H, s); 7,78 (1H, d, *J*= 2,1 Hz); 7,76-7,69 (1H, m); 7,27

(1H, d, *J*= 8,8 Hz); 2,72 (3H, s) (JANG *et al.*, 2012); **RMN de ¹³C [100 MHz, CDCl₃] δ**

(ppm): 195,2 (C11); 158,7 (C10); 154,2 (C9); 146,1 (C8); 137,2 (C7); 132,3 (C6); 125,5 (C5); 119,8 (C4); 118,5 (C3); 117,6 (C2); 30,6 (C1). **Lit.:** RMN de ^{13}C [CDCl_3] δ (ppm): 195,0; 158,5; 154,1; 145,9; 137,0; 132,2; 125,5; 119,8; 118,4; 117,5; 30,5 (JANG *et al.*, 2012).

3-Acetil-6-cloro-2H-cromen-2-ona (C₁₁H₇ClO₃) (4c): Sólido amarelo claro; 80%

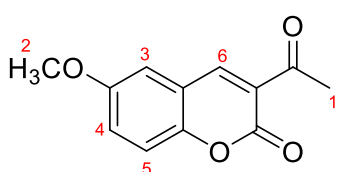


(0,342 g) **PF:** 205-206 °C; **Lit.:** 207-208 °C (WANG *et al.*, 2018); **RMN de ^1H [400 MHz, CDCl_3] δ (ppm):** 8,41 (1H, s, H8); 7,63 (1H, d, J = 2,4 Hz, H7); 7,59 (1H, dd, J = 8,8; 2,4 Hz, H5); 7,33 (1H, d, J = 8,8 Hz, H2); 2,72 (3H, s, CH₃). **Lit.:**

RMN de ^1H [CDCl_3] δ (ppm): 8,43 (1H, s); 7,65 (1H, d, J = 2,4 Hz); 7,61 (1H, dd, J = 8,8; 2,4 Hz); 7,35 (1H, d, J = 8,8 Hz); 2,74 (3H, s). (KORGAVKAR; SAMANT, 2017b);

RMN de ^{13}C [100 MHz, CDCl_3] δ (ppm): 195,1 (C11); 158,6 (C10); 153,6 (C9); 146,1 (C8); 134,3 (C7); 130,3 (C6); 129,1 (C5); 125,5 (C4); 119,2 (C3); 118,2 (C2); 30,5 (C1).

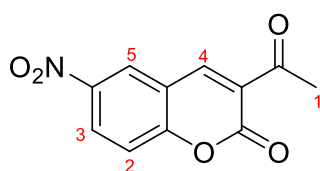
3-Acetil-6-metoxi-2H-cromen-2-ona (C₁₂H₁₀O₄) (4d): Sólido amarelo esverdeado;



88% (0,231 g) **PF:** 175-177 °C; **Lit.:** 180-181 °C (HIRAI; TOGO, 2005); **RMN de ^1H [400 MHz, CDCl_3] δ (ppm):** 8,46 (1H, s, H6); 7,30 (1H, d, J = 9,2, H5); 7,23 (1H, dd, J = 9,2; 3,2 Hz, H4); 7,03 (1H, d, J = 2,8 Hz, H3) 3,86 (3H, s, -OCH₃,

H2) 2,72 (3H, s, -CH₃, H1). **Lit.:** **RMN de ^1H [CDCl_3] δ (ppm):** 8,46 (1H, s); 7,31 (1H, d, J = 9,2); 7,24 (1H, dd, J = 9,2; 2,9 Hz); 7,04 (1H, d, J = 2,9 Hz) 3,87 (3H, s) 2,73 (3H, s) (HIRAI; TOGO, 2005).

3-Acetil-6-nitro-2H-cromen-2-ona (C₁₁H₇NO₅) (4e): Sólido amarelo; 39% (0,324 g);



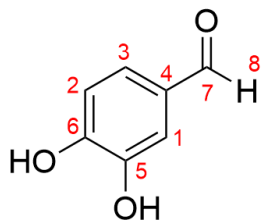
PF: 186-189 °C; **Lit.:** 192-195 °C (LIU *et al.*, 2008); **RMN de ^1H [400 MHz, CDCl_3] δ (ppm):** 8,59 (1H, d, J = 2,8Hz, H5); 8,55 (1H, s, H4); 8,50 (1H, dd, J = 9,2; 2,4 Hz, H3); 7,52 (1H, d, J = 8,8Hz, H2); 2,74 (3H, s, H1). **Lit.:** **RMN de ^1H [CDCl_3]**

δ (ppm): 8,59 (1H, d, J = 2,45Hz, Ar-H); 8,55 (1H, s, CH); 8,50 (1H, dd, J = 2,2 Hz); 7,52 (1H, d, J = 9,15Hz, Ar-H); 2,74 (3H, s, CH₃). (LIU *et al.*, 2008)

4.3.2 Síntese do aldeído protocatecuíco (**3b**)

O composto **3b** foi obtido seguindo o procedimento descrito por Lange, 1961. Em um balão de fundo redondo de 125 mL, adicionou-se vanilina **3a** (10,0 g; 65,8 mmol) em 100mL de cloreto de metileno. A solução formada foi mantida em atmosfera inerte, e a ela, acrescentou-se cloreto de alumínio anidro (9,70g; 72,4mmol). Colocou-se essa mistura em banho de gelo, e adicionou-se 23,3 mL de piridina lentamente. A solução laranja resultante foi aquecida sob refluxo, mantendo-se a temperatura e agitação por 24 horas. Então, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente, e hidrolisado com a adição de ácido clorídrico diluído (15-20%), até que a mistura apresentasse pH ácido. A fase aquosa foi extraída 3 vezes com éter etílico. As fases orgânicas foram combinadas e secas com MgSO₄ anidro e o solvente evaporado. Por fim, lavou-se o sólido formado com clorofórmio, filtrou-o à vácuo e secou-o em estufa por 24h. Obtendo-se a substância precursora **3b** com rendimento de 61,1%.

3,4-Dihidroxi-benzaldeído (3b): Sólido amarelo pálido; 61,1% (5,55 g); **PF**: 152-



154°C; **Lit.:** 153-154 °C (SANG *et al.*, 2019b); **RMN de ¹H [400**

MHz, DMSO-*d*₆] δ (ppm): 9,69 (1H, s, H8); 7,27 (1H, dd, *J*= 8,0; 2,0Hz, H3); 7,23 (1H, d, *J*= 2,0Hz, H1); 6,90 (1H, d, *J*= 8,4Hz, H2);

Lit.: **RMN de ¹H, [DMSO-*d*₆] δ (ppm):** 10,13 (s, 1H); 9,70 (s, 1H); 9,57 (s, 1H); 7,27 (dd, *J*= 8,0; 2,0Hz, 1H); 7,24 (d, *J*= 2,0Hz, 1H);

6,91 (d, *J*= 8,0Hz, 1H) (SANG *et al.*, 2019b). **RMN de ¹³C [100 MHz, DMSO-*d*₆] δ**

(ppm): 191,1 (C7); 152,2 (C6); 145,9 (C5); 128,9 (C4); 124,5 (C3); 115,5 (C2); 114,4 (C1). **Lit.:** **RMN de ¹³C, [DMSO-*d*₆] δ (ppm):** 191,2 (C7); 152,2 (C6); 146,0 (C5); 129,0

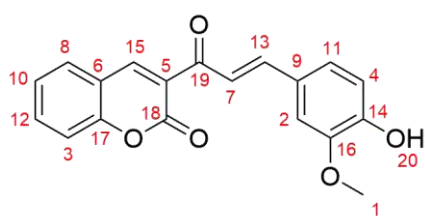
(C4); 124,6 (C3); 115,6 (C2); 114,4 (C1) (METE; KHOPADE; BHAT, 2017).

4.3.3 Síntese dos derivados híbridos cumarina-polifenóis (**5a-e/ 6a-e**)

Os derivados híbridos das séries 1 (**5a-e**) e 2 (**6a-e**) foram obtidos seguindo a metodologia descrita por Petrov *et al* (2007). Inicialmente, em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se a cumarina correspondente (**4a-e**) (0,268g, 1,2 mmol) e o aldeído precursor (0,248g, 1,8 mmol, 1,5 eq), vanilina (**3a**) para a série 1, e aldeído protocatecuíco (**3b**) para a série 2, em 2,0 mL de etanol absoluto. A mistura foi então, agitada por 5 minutos e a essa, acrescentou-se 0,20 mL de cloreto de tionila (2,76

mmol), gota-a-gota, ainda sob agitação. A evolução da reação foi acompanhada por CCD utilizando-se como fase móvel Hexano:Acetato de Etila (6:4), e luz UV como revelador. Após 5 h de agitação a temperatura ambiente, e constatado o fim da reação, adicionou-se 2 mL de água destilada e 8 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio no balão, até que os gases produzidos cessassem. Esse procedimento foi feito para que o ácido formado na reação fosse neutralizado. Os precipitados obtidos foram filtrados à vácuo e lavados com etanol absoluto gelado, e então, recristalizados com clorofórmio. Por fim, os produtos foram secos em estufa a 100 C°, obtendo-se rendimentos para essa etapa, entre 52 e 91% para os derivados **5a-e** e 57 e 95% para os derivados **6a-e**.

3-[3-(4-Hidroxi-3-Metoxifenil)-Acrilóil]-Cromen-2-ona (5a): Sólido marrom



avermelhado; 63% (0,540 g); **PF:** 172-174 °C; **Lit.:**

171-173 °C (XI *et al.*, 2018)**RMN de ¹H [400 MHz,**

DMSO-*d*₆] δ (ppm): 9,82 (1H, s, OH); 8,59 (1H, s, H15); 7,92 (1H, d, *J*= 8,0Hz, H8); 7,74 (1H, t, *J*=

8,0Hz, H12); 7,67 (1H, d, *J*= 16,0Hz, H13); 7,49 (1H,

d, *J*= 8,0Hz, H3); 7,43 (1H, d, *J*= 8,0Hz, H10); 7,41-7,45 (1H, d, *J*= 16,0Hz, H7); 7,33

(1H, s, H2); 7,22 (1H, d, *J*= 8,0Hz, H4); 6,84 (1H, d, *J*= 8,0Hz, H11); 3,82 (3H, s, H1);

Lit.: RMN de ¹H [600 MHz, DMSO-*d*₆] δ (ppm): 9,80 (1H, s, OH); 8,59 (1H, s, H15);

7,93 (1H, dd, *J*= 7,8 e 1,2Hz, H8); 7,74 (1H, td, *J*= 7,8 e 1,2Hz, H12); 7,70 (1H, d, *J*=

15,6Hz, H13); 7,49 (1H, d, *J*= 8,4Hz, H3); 7,42-7,46 (2H, m); 7,34 (1H, d, *J*= 1,8Hz,

H2); 7,24 (1H, dd, *J*= 7,8 e 1,8Hz, H4); 6,85 (1H, d, *J*= 7,8Hz, H11); 3,84 (3H, s, H1)

(XI *et al.*, 2018). **RMN de ¹³C [100 MHz, DMSO-*d*₆] δ (ppm):** 187,4 (C19); 158,4 (C18);

154,3 (C17); 150,0 (C16); 147,9 (C15); 146,0 (C14); 145,6 (C13); 133,9 (C12); 130,2

(C11); 126,1 (C10); 126,0 (C9); 124,9 (C8); 123,5 (C7); 121,7 (C6); 118,4 (C5); 116,2

(C4); 115,8 (C3); 112,1 (C2); 55,7 (C1). **Lit.: RMN de ¹³C [125 MHz, DMSO-*d*₆] δ**

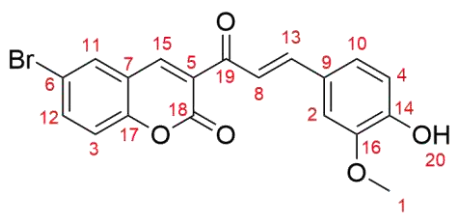
(ppm): 187,5 (C19); 158,4 (C18); 154,3 (C17); 150,0 (C16); 147,9 (C15); 145,9 (C14);

145,6 (C13); 133,9 (C12); 130,2 (C11); 126,1 (C10); 125,9 (C9); 124,9 (C8); 123,5

(C7); 121,7 (C6); 118,4 (C5); 116,2 (C4); 115,8 (C3); 112,0 (C2); 55,7 (C1) (XI *et al.*,

2018).

6-Bromo-3-[3-(4-Hidroxi-3-Metoxifenil)-Acrilóil]-Cromen-2-ona (5b): Sólido verde



musgo; 52% (0,193g); PF: 220-223 °C; RMN de ^1H

[400 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 8,50 (1H, s, H15);

8,16 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$, H11); 7,87 (1H, dd, $J = 8,8$;

2,4Hz H12); 7,69 (1H, d, $J = 16,0\text{Hz}$, H13); 7,47 (1H,

d, $J = 8,8\text{Hz}$, H3); 7,38 (1H, d, $J = 16\text{Hz}$, H8); 7,33

(1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H2); 7,22 (1H, dd, $J = 8,4$; 2,0Hz, H4); 6,84 (1H, d, $J = 8,0\text{ Hz}$, H10);

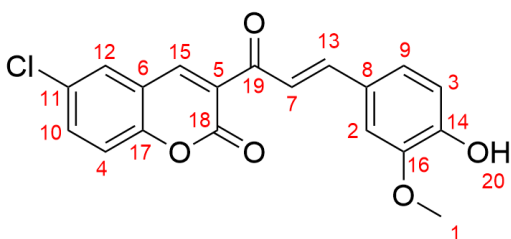
3,82 (3H, s, H1). RMN de ^{13}C [100 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 187,9 (C19); 158,4 (C18);

153,8 (C17); 150,6 (C16); 148,4 (C15); 146,6 (C14); 144,9 (C13); 136,4 (C12); 132,4

(C11); 127,6 (C10); 126,3 (C9); 124,1 (C8); 122,1 (C7); 120,8 (C6); 119,0 (C5); 116,8

(C4); 116,3 (C3); 112,5 (C2); 56,2 (C1).

6-Cloro-3-[3-(4-Hidroxi-3-Metoxifenil)-Acrilóil]-Cromen-2-ona (5c): Sólido laranja;



65% (0,253 g); PF: 219-221 °C; RMN de ^1H

[400 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 9,84 (1H, s,

OH); 8,51 (1H, s, H15); 8,04 (1H, d, $J = 2,4\text{Hz}$,

H12); 7,77 (1H, dd, $J = 8,8$; 2,4Hz, H10); 7,70

(1H, d, $J = 16,0\text{Hz}$, H13); 7,53 (1H, d, $J = 8,8\text{Hz}$,

H4); 7,38 (1H, d, $J = 16,0\text{Hz}$, H7); 7,33 (1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$, H2); 7,22 (1H, dd, $J = 8,4$;

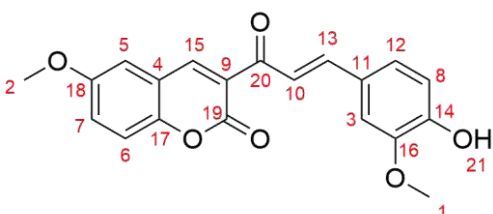
2,0Hz, H3); 6,84 (1H, d, $J = 8,4\text{Hz}$, H9); 3,82 (3H, s, H1). RMN de ^{13}C [100 MHz,

DMSO- d_6] δ (ppm): 187,5 (C19); 158,0 (C18); 152,9 (C17); 150,1 (C16); 148,0 (C15);

146,1 (C14); 144,5 (C13); 133,2 (C12); 129,0 (C11); 128,6 (C10); 127,2 (C9); 125,9

(C8); 123,7 (C7); 121,6 (C6); 119,8 (C5); 118,2 (C4); 115,8 (C3); 112,1 (C2); 55,7 (C1).

6-Metoxi-3-[3-(4-Hidroxi-3-Metoxifenil)-Acrilóil]-Cromen-2-ona (5d): Sólido



amarelo; 92% (0,284 g); PF: 179-182 °C; RMN

de ^1H [400 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 9,82 (1H,

s, OH); 8,53 (1H, s, H15); 7,68 (1H, d, $J = 16,0\text{Hz}$,

H13); 7,48 (1H, d, $J = 2,90\text{Hz}$, H5); 7,47-7,42 (1H,

d, $J = 16,0\text{Hz}$, H10); 7,43 (1H, d, $J = 9,2\text{Hz}$ H6);

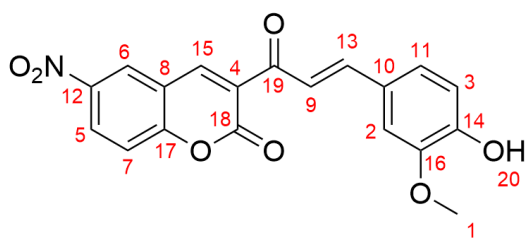
7,34-7,31 (2H, m, H7 e H3); 7,22 (1H, dd, $J = 8,0$; 2,0Hz, H12); 6,84 (1H, d, $J = 8,4\text{Hz}$,

H8); 3,82 (6H, s, H1 e H2). RMN de ^{13}C [100 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 187,9 (C20);

159,0 (C19); 156,3 (C18); 150,5 (C17); 149,3 (C16); 148,4 (C15); 146,3 (C14); 146,0

(C13); 126,7 (C12); 126,4 (C11); 124,0 (C10); 122,2 (C9); 122,1 (C8); 119,3 (C7); 117,8 (C6); 116,3 (C5); 112,5 (C4); 112,3 (C3); 56,3 (C2); 56,2 (C1).

6-Nitro-3-[3-(4-Hidroxi-3-Metoxifenil)-Acriloil]-Cromen-2-ona (5e): Sólido laranja;



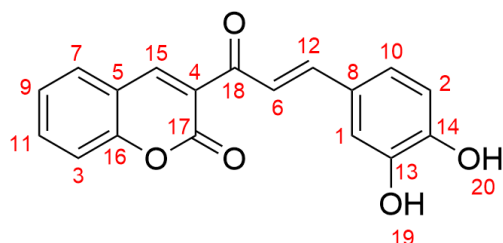
71% (0,223 g); PF: 247-250 °C; RMN de ^1H

[400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$] δ (ppm): 9,87 (1H, s, OH); 8,90 (1H, d, $J = 2,8\text{Hz}$, H6); 8,70 (1H, s, H15); 8,50 (1H, dd, $J = 9,2; 2,8\text{Hz}$, H5); 7,74-7,70 (2H, m, H13 e H7); 7,37-7,33 (2H, d, H9 e

H2); 7,23 (1H, dd, $J = 8,4; 2,0\text{Hz}$, H11); 6,84 (1H, d, $J = 8,4\text{Hz}$, H3); 3,82 (3H, s, H1).

^{13}C [100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$] δ (ppm): 187,7 (C19); 158,2 (C18); 157,9 (C17); 150,7 (C16); 148,4 (C15); 147,1 (C14); 144,9 (C13); 144,2 (C12); 128,4 (C11); 128,3 (C10); 126,3 (C9); 126,3 (C8); 124,2 (C7); 122,0 (C6); 119,3 (C5); 118,2 (C4); 116,3 (C3); 112,5 (C2); 56,2 (C1).

3-[3-(3,4-Dihidroxiifenil)-Acriloil]-Cromen-2-ona (6a): Sólido marrom avermelhado;



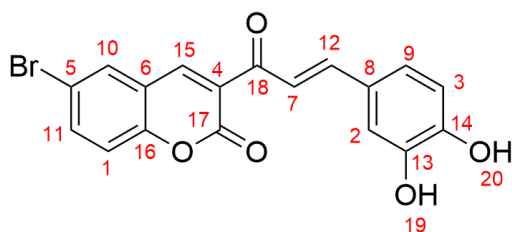
57% (0,280 g); PF: 221-223 °C; RMN de ^1H

[400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$] δ (ppm): 8,64 (1H, s, H15); 7,94 (1H, dd, $J = 8,0; 2,0\text{ Hz}$, H7); 7,74 (1H, dt, $J = 8,8; 2,0\text{Hz}$, H11); 7,62 (1H, d, $J = 15,6\text{Hz}$, H12); 7,49 (1H, d, $J = 8,4\text{Hz}$, H3); 7,45-

7,41 (2H, m, H6 e H9); 7,17 (1H, d, $J = 2\text{Hz}$, H1); 7,07 (1H, dd, $J = 8,0; 2,0\text{Hz}$, H10);

6,80 (1H, d, $J = 8,0\text{Hz}$, H2). ^{13}C [100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$] δ (ppm): 186,6 (C18); 158,5 (C17); 154,4 (C16); 149,2 (C15); 146,6 (C14); 145,7 (C13); 145,2 (C12); 134,0 (C11); 130,3 (C10); 126,0 (C9); 125,7 (C8); 124,9 (C7); 122,8 (C6); 121,0 (C5); 118,5 (C4); 116,2 (C3); 115,9 (C2); 114,6 (C1)

6-Bromo-3-[3-(3,4-Dihidroxiifenil)-Acriloil]-Cromen-2-ona (6b): Sólido marrom



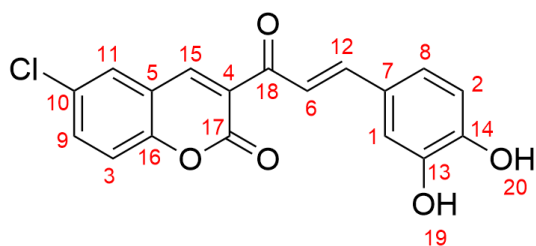
esverdeado; 52% (0,193 g); PF: 271-273 °C;

RMN de ^1H [400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$] δ (ppm): 9,77 (1H, s, H20); 9,33 (1H, s, H19); 8,56 (1H, s, H15); 8,19 (1H, d, $J = 2,4\text{ Hz}$, H10); 7,88 (1H, dd, $J = 8,8; 2,4\text{ Hz}$, H11); 7,63 (1H, d, $J = 15,6\text{ Hz}$,

H12); 7,47 (1H, d, $J = 8,8\text{ Hz}$, H1); 7,37 (1H, d, $J = 15,6\text{ Hz}$, H7); 7,16 (1H, d, $J = 2,0\text{ Hz}$,

H2); 7,06 (1H, dd, $J = 8,4; 2,4$ Hz, H9); 6,80 (1H, d, $J = 8,4$ Hz, H3). ^{13}C [100 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 187,1 (C18); 158,6 (C17); 153,9 (C16); 149,8 (C15); 146,2 (C14); 146,2 (C13); 145,5 (C12); 136,6 (C11); 132,6 (C10); 127,3 (C9); 126,4 (C8); 123,3 (C7); 121,4 (C6); 120,8 (C5); 118,9 (C4); 116,8 (C3); 116,4 (C2); 115,1 (C1).

6-Cloro-3-[3-(3,4-Dihidroxifenil)-Acriloil]-Cromen-2-ona (6c): sólido verde musgo;

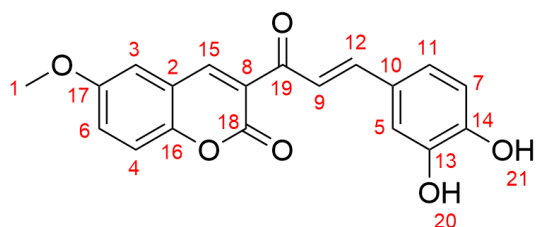


57% (0,280 g); PF: 280-283 °C; RMN de ^1H

[400 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 8,57 (1H, s, H15); 8,06 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H11); 7,77 (1H, dd, $J = 8,8; 2,4$ Hz, H9); 7,64 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H12); 7,53 (1H, d, $J = 9,2$ Hz, H3); 7,37

(1H, d, $J = 16,0$ Hz, H6); 7,16 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H1); 7,07 (1H, dd, $J = 8,4; 2,0$ Hz, H8); 6,80 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H2). ^{13}C [100 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 187,0 (C18); 158,6 (C17); 153,5 (C16); 149,8 (C15); 146,2 (C14); 146,2 (C13); 145,6 (C12); 133,8 (C11); 129,6 (C10); 129,0 (C9); 127,3 (C8); 126,4 (C7); 123,3 (C6); 121,4 (C5); 120,3 (C4); 118,6 (C3); 116,4 (C2); 115,1 (C1).

6-Metoxi-3-[3-(3,4-Dihidroxifenil)-Acriloil]-Cromen-2-ona (6d): Sólido verde; 95%

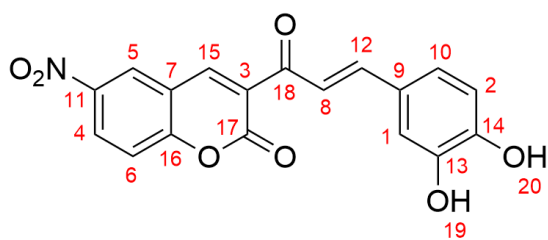


(0,307 g); PF: 251-254 °C; RMN de ^1H [400

MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 9,75 (1H, s, H21); 9,33 (1H, s, H20); 8,58 (1H, s, H15); 7,62 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H12); 7,50 (1H, d, $J = 3,2$ Hz, H3); 7,46-7,42 (1H, m, H9, H4); 7,33 (1H, dd,

$J = 9,2; 3,2$ Hz, H6); 7,16 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H5); 7,06 (1H, dd, $J = 8,0; 2,0$ Hz, H11); 6,80 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H7); 3,82 (3H, s, H1). ^{13}C [100 MHz, DMSO- d_6] δ (ppm): 187,1 (C19); 159,2 (C18); 156,2 (C17); 149,7 (C16); 149,4 (C15); 146,9 (C14); 146,2 (C13); 145,7 (C12); 126,5 (C11); 126,3 (C10); 123,2 (C9); 122,3 (C8); 121,5 (C7); 119,3 (C6); 117,7 (C5); 116,4 (C4); 115,1 (C3); 112,4 (C2); 56,3 (C1).

6-Nitro-3-[3-(3,4-Dihidroxifenil)-Acrilóil]-Cromen-2-ona (6e): Sólido verde; 73%



(0,221 g); **PF:** 302-305 °C; **RMN de ¹H [400**

MHz, DMSO-*d*₆] δ (ppm): 9,80 (1H, s, H20);

9,33 (1H, s, H19); 8,92 (1H, d, *J*=2,8 Hz, H5);

8,75 (1H, s, H15); 8,50 (1H, dd, *J*= 9,2; 2,8

Hz, H4); 7,70 (1H, d, *J*= 9,2 Hz, H6); 7,66

(1H, d, *J*= 15,6 Hz, H8); 7,33 (1H, d, *J*=15,6 Hz, H12); 7,16 (1H, d, *J*= 2,4 Hz, H1); 7,07

(1H, dd, *J*= 8,4; 2,4 Hz, H10); 6,80 (1H, d, *J*= 8,4 Hz, H2). **¹³C [100 MHz, DMSO-*d*₆] δ**

(ppm): 186,9 (C18); 158,3 (C17); 158,0 (C16); 149,9 (C15); 146,7 (C14); 146,2 (C13);

145,5 (C12); 144,2 (C11); 128,5 (C10); 128,0 (C9); 126,4 (C8); 126,3 (C7); 123,3 (C6);

121,3 (C5); 119,3 (C4); 118,2 (C3); 116,4 (C2); 115,2 (C1).

4.4 AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA

A medida do fator de proteção solar (FPS) dos derivados foi determinada utilizando-se o método *in vitro* descrito por Mansur *et al.* (1986). Esse teste é considerado um teste primário para a identificação de compostos orgânicos que possuam atividade fotoprotetora. Preparou-se soluções dos precursores **3a-b**, **4a-e** e dos derivados **5a-e**, **6a-e** em DMSO, nas concentrações de 5, 15, 25, 35, 45 μM, assim como o padrão Benzofenona-3. A Benzofenona-3 foi utilizada como padrão por ser um ativo muito comum na formulação de protetores solares, atuando como filtro UV. As leituras foram realizadas em triplicata na faixa de 290 a 320 nm (a cada 5 nm) em espectrofotômetro UV-visível (Hitachi, U-3000. A determinação do FPS foi feita através da multiplicação da absorbância medida pelo efeito eritemogênico da radiação (EE) para cada um dos comprimentos de onda, **tabela 8**. E a somatória dos valores multiplicado por um fator de correção, conforme determinado por Wagemaker *et al.*, (2011) (**Equação 1**).

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

FC = fator de correção (10);

EE = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda λ;

I(λ) = intensidade do sol no comprimento de onda λ;

$Abs(\lambda)$ = absorvância da solução no comprimento de onda λ .

Tabela 6- Comprimentos de onda e respectivos fatores de multiplicação para cálculo do FPS.

Comprimento de onda (nm)	EE x I (normalizado)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

Os cálculos de média e desvio padrão (DP), assim como, as tabelas e gráficos, foram feitos utilizando o programa Microsoft Excel. E para as análises estatísticas ANOVA e Teste de Tukey, utilizou-se o programa SISVAR versão 5.6, com o intuito de comparar e avaliar os dados obtidos.

4.5 AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (CAPACIDADE REDUTORA DPPH^{*})

A capacidade redutora do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil DPPH^{*} foi determinada através da medida da diminuição da absorbância desta substância. O ensaio de DPPH^{*} se baseia em sua banda de absorbância em 517 nm, esta, tem sua intensidade diminuída, podendo desaparecer, conforme a reação de redução vai se consolidando, pela ação do composto antirradical e assim, a porcentagem de DPPH^{*} reduzido é calculada. (BLOIS, 1958; CASAGRANDE *et al.*, 2007)

O ensaio inicia-se com o preparo de uma curva dose-resposta, onde alíquotas de 50 μ L de soluções nove diferentes concentrações dos compostos **5a-e**, e de seus precursores **4a-e** e **3a**, foram adicionadas em tubos de ensaio contendo 1,0 mL de tampão acetato 0,1 M (pH 5,5), 1,0 mL de etanol e 0,5 mL de solução etanólica de DPPH^{*} 250 μ M, de modo que, as substâncias apresentassem as concentrações finais de: 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0; 60,0; 80,0; 100,0 e 120,0 μ M. Para as substâncias **6a-e** e seus precursores, seguiu-se o mesmo procedimento com mudanças na concentrações finais utilizadas, agora com valores de: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 7,5; 10,0;

15,0 e 20,0 μM . Essa alteração foi feita para que fosse abrangida uma maior faixa de inibição, com valores mínimos (em torno de 10%) e máximos (platô). Os conjuntos foram mantidos em incubação em ausência de luz e temperatura ambiente por 15 minutos. Após esse período, fez-se a leitura das absorvâncias em um espectrofotômetro Helios alfa Thermo Spectronic®. Para controle positivo utilizou-se uma solução contendo 1,0 mL de tampão acetato, 1,0 mL de etanol e 0,5 mL de solução etanólica de DPPH \cdot , tendo assim, 100% de radicais livres. Todas as medidas foram feitas em triplicata. Como padrões antioxidantes, foram utilizados quercetina e ácido gálico, de modo que as concentrações finais de ambos fossem 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12,0 μM . A **Equação 2** fornece a capacidade de cada substância neutralizar o radical DPPH \cdot :

$$\% \text{ Atividade} = 1 - \left(\frac{\text{Absorvância da amostra}}{\text{Absorvância do controle positivo}} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

O cálculo de IC₅₀ é feito por regressão não linear, através de curvas dose-resposta. Essas curvas, muito utilizadas para experimentos que envolvem amostras biológicas, assumem uma forma sigmoide que pode ser bem aproximada por meio da equação de Hill (equação não linear de 4 parâmetros). Sendo esses quatro parâmetros: a linha de resposta base (*bottom*), resposta máxima (*top*), inclinação (*hill slope*) e a concentração média (IC₅₀) (**equação 3**). Neste experimento, o eixo X representa os dados da concentração da substância e o eixo Y os dados de percentuais de inibição (GADAGKAR; CALL, 2015; MOTULSKY; CHRISTOPOULOS, 2004; MOTULSKY, 2023)

$$Y = \frac{\text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom})}{1 + \left(\frac{\text{IC}_{50}}{X}\right)^{\text{hill slope}}} \quad (\text{Eq. 3}).$$

É importante também, para esse tipo de análise, que a curva tenha inclinação variável, tendo-se assim, um melhor ajuste dos dados. Para isso, se faz necessário que o teste seja feito com vários pontos na abcissa (X).

A estimativa dos parâmetros da equação de Hill, para a obtenção do valor de IC₅₀ das amostras, foi feita com a utilização do software GraphPad Prism 8.0.

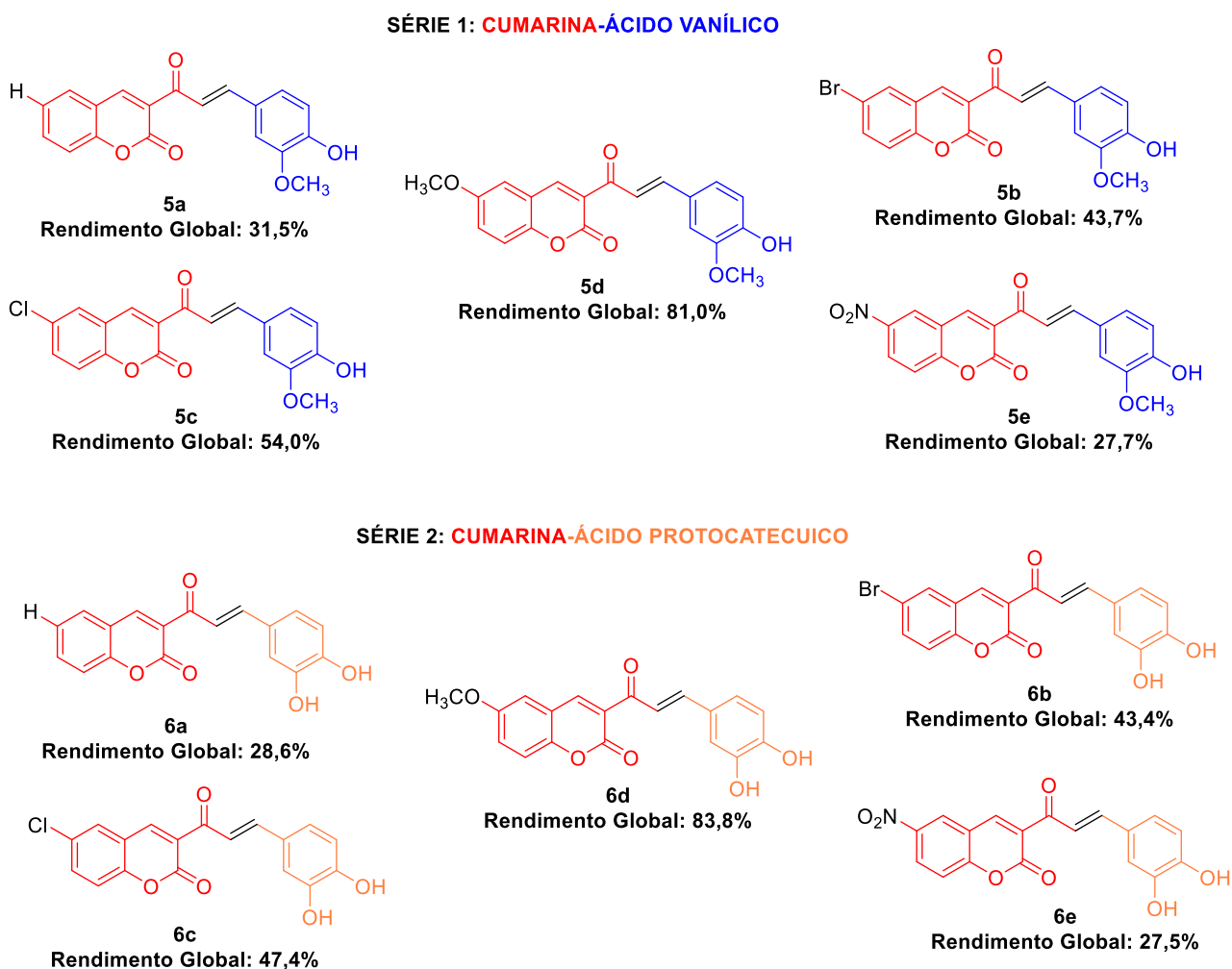
4.6 AVALIAÇÃO *IN SÍLICO* DAS PROPRIEDADES DE ABSORÇÃO, DISTRIBUIÇÃO, METABOLISMO, EXCREÇÃO E TOXIDADE (ADMET)

Os estudos *in silico* performados tiveram o objetivo de prever os parâmetros farmacocinéticos teóricos dos híbridos sintetizados. As propriedades de biodisponibilidade oral, absorção intestinal, distribuição, metabolismo e “*drug-likeness*” foram obtidas através da plataforma SwissADME (<http://www.swissadme.ch>). Já os 6 parâmetros de toxicidade aguda (oral, dérmica, ocular e dérmica), corrosão, irritação e sensibilidade da pele, foram conseguidos com o uso a metodologia “*6-pack acute toxicity tests*”, utilizada pela plataforma STopTOX (<https://stoptox.mml.unc.edu/>).

5 CONCLUSÃO

Com base no que foi discutido, fica evidente que a síntese e caracterização, por RMN (H^1 e C^{13}) e ponto de fusão, dos 10 novos híbridos moleculares e seus precursores foi realizada com sucesso. Os rendimentos globais para duas etapas sintéticas variaram entre 27,7 e 81% para os derivados **5a-e**, 17,4 e 51,0% para **6a-e** em três etapas, **figura 21**.

Figura 21- Rendimentos globais dos derivados **5a-e** e **6a-e**



Fonte: A autora.

Os resultados dos testes de atividades biológicas *in vitro* revelaram que, no teste antioxidante, a segunda série de derivados se sobressai, com os compostos apresentando valores de IC_{50} entre 3,39 e 5,19 μM . Com destaque para os híbridos moleculares **6b** e **6c**, que exibiram os menores valores de IC_{50} . Quando esses valores são comparados aos obtidos para o padrão de benzofenona-3, observa-se um desempenho ainda melhor por parte dos novos híbridos, com valores de IC_{50} mais

eficazes. Essa análise evidência o potencial antioxidante dos novos compostos. Além disso, é notável que, para ambas as séries, há uma potencialização de ação da hibridização, com os novos híbridos moleculares apresentando maior atividade quando comparados aos seus precursores.

Quanto ao teste de fotoproteção, considerado como uma avaliação primária para identificação de substâncias com potencial atividade fotoprotetora, todos os derivados sintetizados apresentaram bons valores FPS. Onde, os derivados da série 1 exibiram valores superiores a 6 a partir da concentração de 45 uM, e da série 2, a partir de 35 uM. Com destaque para os derivados com substituintes nitro (**5e e 6e**) e cloro (**5c e 6c**). Esses resultados evidenciam o potencial desses compostos como agentes fotoprotetores.

Com os resultados obtidos na avaliação *in silico* observou-se que o híbrido **6d** apresentou os melhores resultados, sendo predito como não tóxico na maioria das vias de administração, além de não sensibilizador ou irritante a pele- características importantes, considerando que uma das intenções do trabalho é o uso dos derivados em formulações semissólidas. No entanto, testes *in vitro* devem ser realizados para avaliações mais aprofundadas das propriedades de todos os novos compostos. Além disso, com os resultados da análise *in silico* indicam que outras vias de administração devem ser consideradas, levando em conta a baixa toxicidade e propriedades dos novos compostos. Portanto, é importante que outras possibilidades de aplicação sejam exploradas, com a realização testes adicionais para garantir a segurança e eficácia dos derivados em diferentes contextos.

Assim, foram sintetizados 10 compostos híbridos moleculares sintetizados, dos quais sendo 8 inéditos na literatura. Esses compostos demonstraram atividade antioxidante e fotoprotetora, sugerindo seu potencial para diversas aplicações, não se limitando apenas às cosméticas. Esses resultados abrem perspectivas promissoras para o desenvolvimento de novos medicamentos e produtos para cuidados da pele.

6 REFERÊNCIAS

ABDI, H.; WILLIAMS, L. J. Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) Test. **Encyclopedia of research design**, p. 1–5, 2010.

ABUL QAIS, F.; AHMAD, I. Mechanism of non-enzymatic antiglycation action by coumarin: A biophysical study. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 32, p. 12823–12835, 2019.

AGUIAR, B. *et al.* In vitro evaluation of the photoreactivity and phototoxicity of natural polyphenol antioxidants. **Molecules**, v. 27, n. 1, 1 jan. 2022.

ALVES, C. Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quim. Nova**. Vol. 33, No. 10, 2202–2210, 2010.

ANNUNZIATA, F. *et al.* An overview of coumarin as a versatile and readily accessible scaffold with broad-ranging biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, 21, 4618, 2020.

ARMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. L. LIN. **Purification of laboratory chemicals**. 6ed. Elsevier, 2009.

BAO, W.; WANG, Z.; LI, Y. Coumarin synthesis via Knoevenagel condensation in moisture stable room temperature ionic liquids. **J. Chem. Research (S)**. 294–295, 2003.

BHARADVAJA, N.; GAUTAM, S.; SINGH, H. Natural polyphenols: a promising bioactive compounds for skin care and cosmetics. **Molecular Biology Reports**, 50, 1817–1828, 2023.

BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK, E.; FABISZEWSKA, A.; ZIENIUK, B. Phenolic Acids Derivatives - Biotechnological Methods of Synthesis and Bioactivity. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 19, n. 14, p. 1098–1113, 17 dez. 2018a.

BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK, E.; FABISZEWSKA, A.; ZIENIUK, B. Phenolic Acids Derivatives - Biotechnological Methods of Synthesis and Bioactivity. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 19, n. 14, p. 1098–1113, 17 dez. 2018b.

BJØRKLUND, G. *et al.* **Natural Compounds and Products from an Anti-Aging Perspective**. **Molecules**, 1 out. 2022.

BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199–1200, 1958.

BORBA, J. V. B. *et al.* STopTox: An in Silico Alternative to Animal Testing for Acute Systemic and Topical Toxicity. **Environmental Health Perspectives**, v. 130, n. 2, 1 fev. 2022.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT- Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRENK, R. *et al.* Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases. **ChemMedChem**, v. 3, n. 3, p. 435–444, 14 mar. 2008.

BRUICE, P. Y. **Química orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson/Prentice Hall, 2006.

ČAČIĆ, M.; MOLNAR, M.; STRELEC, I. Synthesis and biological evaluation of a novel series of 1,3-dicoumarinyl-5-aryl-2-pyrazolines. **Heterocycles**, v. 83, n. 7, p. 1553–1566, 27 jun. 2011.

CAREY, F. A. **Química orgânica**. 7. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

CASAGRANDE, R. *et al.* In vitro evaluation of quercetin cutaneous absorption from topical formulations and its functional stability by antioxidant activity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 328, n. 2, p. 183–190, 10 jan. 2007.

CHEN, L. *et al.* Design, synthesis, characterization, and biological activities of novel spirooxindole analogues containing hydantoin, thiohydantoin, urea, and thiourea moieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 39, p. 10618–10625, 30 set. 2020a.

CHEN, L. Z. *et al.* New arylpyrazoline-coumarins: Synthesis and anti-inflammatory activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 170–181, 2017.

CHEN, Y. F. *et al.* The antioxidant, anti-inflammatory, and neuroprotective properties of the synthetic chalcone derivative AN07. **Molecules**, v. 25, n. 12, 1 jun. 2020b.

CHENG, H. M. *et al.* Oral Administration of Vanillin Improves Imiquimod-Induced Psoriatic Skin Inflammation in Mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 47, p. 10233–10242, 29 nov. 2017.

CHENG, T. *et al.* Computation of octanol-water partition coefficients by guiding an additive model with knowledge. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 47, n. 6, p. 2140–2148, 2007.

CHOU, T. H. *et al.* Inhibition of melanogenesis and oxidation by protocatechuic acid from *origanum vulgare* (Oregano). **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 11, p. 1767–1774, 29 nov. 2010.

CRONIN, M. T. D. *et al.* A review of in silico toxicology approaches to support the safety assessment of cosmetics-related materials. **Computational Toxicology**, v. 21, 1 fev. 2022.

CSEKES, E.; RAČKOVÁ, L. Skin aging, cellular senescence and natural polyphenols. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, 12641, 2021.

DE LIMA CHERUBIM, D. J. *et al.* Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. **Journal of Cosmetic Dermatology**, 19:33-37, 2020.

DE OLIVEIRA PEDROSA, M. *et al.* Hybrid Compounds as Direct Multitarget Ligands: A Review. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 1044–1079, 2017.

DO NASCIMENTO, L. F.; DOS SANTOS, E. P.; DE AGUIAR, A. P. Organic sunscreens. Research, innovation and the organic synthesis importance. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 2, p. 190–223, 2014.

DOMASZEWSKA-SZOSTEK, A.; PUZIANOWSKA-KUŹNICKA, M.; KURYŁOWICZ, A. Flavonoids in skin senescence prevention and treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, 6814, 2021.

ERTL, P.; SCHUFFENHAUER, A. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. **Journal of Cheminformatics**, v. 1, n. 1, 2009.

FARJADMAND, F. *et al.* Plant Polyphenols: Natural and Potent UV-Protective Agents for the Prevention and Treatment of Skin Disorders. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 5, p. 576–585, 10 nov. 2020.

FERREIRA, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D. ADMET modeling approaches in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v.24, n.5, 2019.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores Solares. **Quim. Nova**. Vol. 30, N. 1, 153-158, 2007

GADAGKAR, S. R.; CALL, G. B. Computational tools for fitting the Hill equation to dose-response curves. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 71, p. 68–76, 1 jan. 2015.

GILABERTE, Y. *et al.* Anatomy and Function of the Skin. **Nanoscience in Dermatology**, Academic Press, 2016. p. 1–14.

GONZALEZ, F. J. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: Studies with CYP2E1. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, p. 101-110, 569, 2005.

HIRAI, T.; TOGO, H. Preparation and synthetic use of polymer-supported acetoacetate reagent. **Synthesis**, n. 16, p. 2664–2668, 17 out. 2005.

HO, C. Y.; DREESEN, O. Faces of cellular senescence in skin aging. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 198, 1 set. 2021.

IMHOF, L.; LEUTHARD, D. Topical Over-the-Counter Antiaging Agents: An Update and Systematic Review. **Dermatology**, p. 217-229, 237, 2021.

ISENMANN, A. F. **Princípios da Síntese Orgânica**. 2. ed. Timotéo- MG: Edição do autor, 2013.

IVASIV, V. *et al.* Molecular Hybridization as a Tool for Designing Multitarget Drug Candidates for Complex Diseases. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 19, p. 1694–1711, 26 jun. 2019.

JACCZAK, B.; RUBIŚ, B.; TOTOŃ, E. Potential of naturally derived compounds in telomerase and telomere modulation in skin senescence and aging. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, 6381, 2021.

JANG, Y. J. *et al.* Syntheses of furo[3,4-c]coumarins and related furyl coumarin derivatives via intramolecular Wittig reactions. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 843–847, 28 jan. 2012.

KAR, S.; LESZCZYNSKI, J. Open access in silico tools to predict the ADMET profiling of drug candidates. **Expert Opinion on Drug Discovery**, 15, 1473-1487, 2020.

KOHL, E. *et al.* Skin ageing. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, 25, 873-884, 2011.

KORGAVKAR, N. N.; SAMANT, S. D. Development of hydrogelator-based gel-entrapped base catalysts (GEBs) as heterogeneous basic catalysts for the synthesis of 3-acetylcoumarins. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 21, p. 12422–12428, 2017a.

KORGAVKAR, N. N.; SAMANT, S. D. Development of hydrogelator-based gel-entrapped base catalysts (GEBs) as heterogeneous basic catalysts for the synthesis of 3-acetylcoumarins. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 21, p. 12422–12428, 2017b.

KOSTOVA, I. *et al.* Coumarins as Antioxidants. **Current Medicinal Chemistry**, 18, 3929-3951, 2011.

LAGO, J. H. G. *et al.* Structure-Activity association of flavonoids in lung diseases. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 3570–3595, 2014.

LANGE, R. G. Cleavage of Alkyl o-Hydroxyphenyl Ethers. **Am. Chem. Soc.** p.2037-2039, 1961.

LAZÓPULOS, S. Q. *et al.* Absorption and photo-stability of substituted dibenzoylmethanes and chalcones as UVA filters. **Cosmetics**, v. 5, n. 2, 1 jun. 2018.

LEE, G. *et al.* Anti-inflammatory and antioxidant mechanisms of urolithin B in activated microglia. **Phytomedicine**, v. 55, p. 50–57, 1 mar. 2019.

LEE, H. J.; KIM, M. Skin Barrier Function and the Microbiome. **International Journal of Molecular Sciences**, 23, 13071, 2022.

LEITÃO, E. P. T. Chalcones: Retrospective Synthetic Approaches and Mechanistic Aspects of a Privileged Scaffold. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 24, p. 2843–2858, 3 abr. 2020.

LIPINSKI, C. A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development q settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 43, 3-26, 2001.

LIU, X. H. *et al.* L-Proline as an efficient and reusable promoter for the synthesis of coumarins in ionic liquid. **Journal of Zhejiang University: Science B**, v. 9, n. 12, p. 990–995, 2008.

LUNKAD, A. S.; SAWANT, R. L. Conventional and microwave assisted synthesis of some new derivatives of coumarin containing pyrazoline and investigation of their antibacterial and antifungal activities. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 7, p. 2852–2858, 2018.

LV, N. *et al.* Design and synthesis of 2-phenylpyrimidine coumarin derivatives as anticancer agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 19, p. 4578–4581, 2017.

MANSUR, J. DE S. *et al.* Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **An. bras. dermatol**, v. 61, n. 3, p. 121–124, 1986.

METE, T. B.; KHOPADE, T. M.; BHAT, R. G. Oxidative decarboxylation of arylacetic acids in water: One-pot transition-metal-free synthesis of aldehydes and ketones. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 29, p. 2822–2825, 2017.

MICHALAK, M. *et al.* Bioactive Compounds for Skin Health: A Review. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 203, 2021.

MLADENOVIĆ, M. *et al.* In vitro antioxidant activity of selected 4-hydroxy-chromene-2-one derivatives-SAR, QSAR and DFT studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 5, p. 2822–2841, maio 2011.

MOTULSKY, H.; CHRISTOPOULOS, A. **Fitting Models to Biological Data using Linear and Nonlinear Regression A practical guide to curve fitting Contents at a Glance**, Oxford University Press, 2004.

MOTULSKY, H. J. **Equation: [Inhibitor] vs. response -Variable slope**. Disponível em: <<http://www.graphpad.com/guides/prism/7/curve-fitting/index.htm>>. Acesso em: 19 dez. 2023.

MOYA-ALVARADO, G. *et al.* Coumarin-chalcone hybrids as inhibitors of MAO-B: Biological activity and in silico studies. **Molecules**, v. 26, n. 9, 22 abr. 2021.

PETROV, O.; IVANOVA, Y.; GEROVA, M. SOCl₂/EtOH: Catalytic system for synthesis of chalcones. **Catalysis Communications**, v. 9, n. 2, p. 315–316, fev. 2008.

RISHTON, G. M. Reactive compounds and in vitro fake positives in HTS. **DDT**, v.2, n.9, 1997.

SAEED, A. *et al.* Hybrid Pharmacophoric Approach in the Design and Synthesis of Coumarin Linked Pyrazolinyl as Urease Inhibitors, Kinetic Mechanism and Molecular Docking. **Chemistry and Biodiversity**, v. 14, n. 8, 1 ago. 2017.

SAEWAN, N.; JIMTAISONG, A. Natural products as photoprotection. **Journal of Cosmetic Dermatology**, 14, 47-63, 2015.

SALAU, V. F. *et al.* Vanillin and vanillic acid modulate antioxidant defense system via amelioration of metabolic complications linked to Fe²⁺-induced brain tissues damage. **Metabolic Brain Disease**, v. 35, n. 5, p. 727–738, 1 jun. 2020.

SANG, D. *et al.* Cleavage of Catechol Monoalkyl Ethers by Aluminum Triiodide-Dimethyl Sulfoxide. **Synthesis (Germany)**, v. 51, n. 3, p. 704–712, 2019a.

SANG, D. *et al.* Cleavage of Catechol Monoalkyl Ethers by Aluminum Triiodide-Dimethyl Sulfoxide. **Synthesis (Germany)**, v. 51, n. 3, p. 704–712, 2019b.

SCOTTI, L. *et al.* Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, 2007.

SHARMA, A.; SARASWAT, A. Overview on cumulative synthetic approaches for chalcone based functionalized scaffolds. **Journal of the Indian Chemical Society**, 98, 100028, 2021.

SHIN, S. *et al.* Anti-skin aging properties of protocatechuic acid in vitro and in vivo. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 19, n. 4, p. 977–984, 1 abr. 2020.

SINGH, H. *et al.* Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for therapeutic coumarin hybrids. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, 27, 3477-3510, 2019.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 10. ed., v.1, Rio de Janeiro: LTC, 2012.

SUN, M. *et al.* Effects of Natural Polyphenols on Skin and Hair Health: A Review. **Molecules**, v. 27, n. 22, p. 7832, 14 nov. 2022.

TANDEL, H. T.; CHIKHALIA, K. H.; PATEL, S. K. Synthesis and antibacterial activity of novel coumarin-chalcone hybrids. **Indian Journal of Chemistry**. 594-602, 2019.

TOBIN, D. J. Introduction to skin aging. **Journal of Tissue Viability**, v. 26, n. 1, p. 37–46, 1 fev. 2017.

TOKALA, R.; BORA, D.; SHANKARAIHAH, N. Contribution of Knoevenagel Condensation Products toward the Development of Anticancer Agents: An Updated Review. **ChemMedChem**, 17, 2022.

VIEGAS-JUNIOR, C. *et al.* Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. **Current Medicinal Chemistry**. 1829- 1852, 2007.

WAGEMAKER, T. A. L. *et al.* Sun protection factor, content and composition of lipid fraction of green coffee beans. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 2, p. 469–473, mar. 2011.

WANG, Z. *et al.* Nano self-aggregation of new benzotriazole-coumarin dyads displaying strengthened emission with huge Stokes shift. **Dyes and Pigments**, v. 157, p. 140–142, 1 out. 2018.

XI, G. *et al.* **The method of one pot process cumarin base chalcone compounds.** Depositante: China Tobacco Henan Industrial Co Ltd, CN n.108558807^a. Depósito: 21 de set. de 2018.

YALAMEHA, B.; NEJABATI, H. R.; NOURI, M. Cardioprotective potential of vanillic acid. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 2023.

ZHONG, F. *et al.* Artificial intelligence in drug design. **Science China Life Sciences**. Press 61, 1191– 1204, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A – CARACTERIZAÇÃO DAS METILKETONAS 4A-E

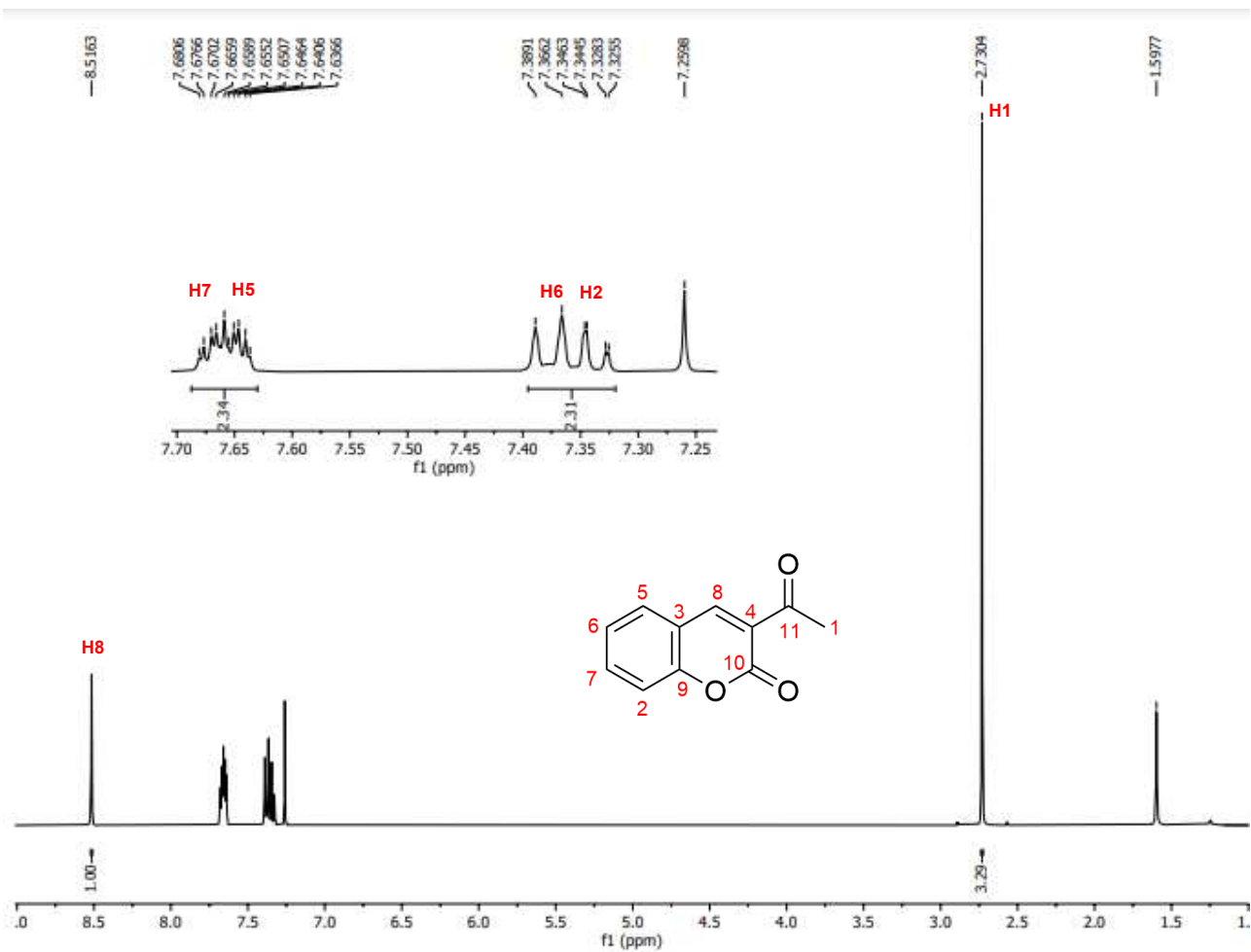
Figura A1 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância (4a)

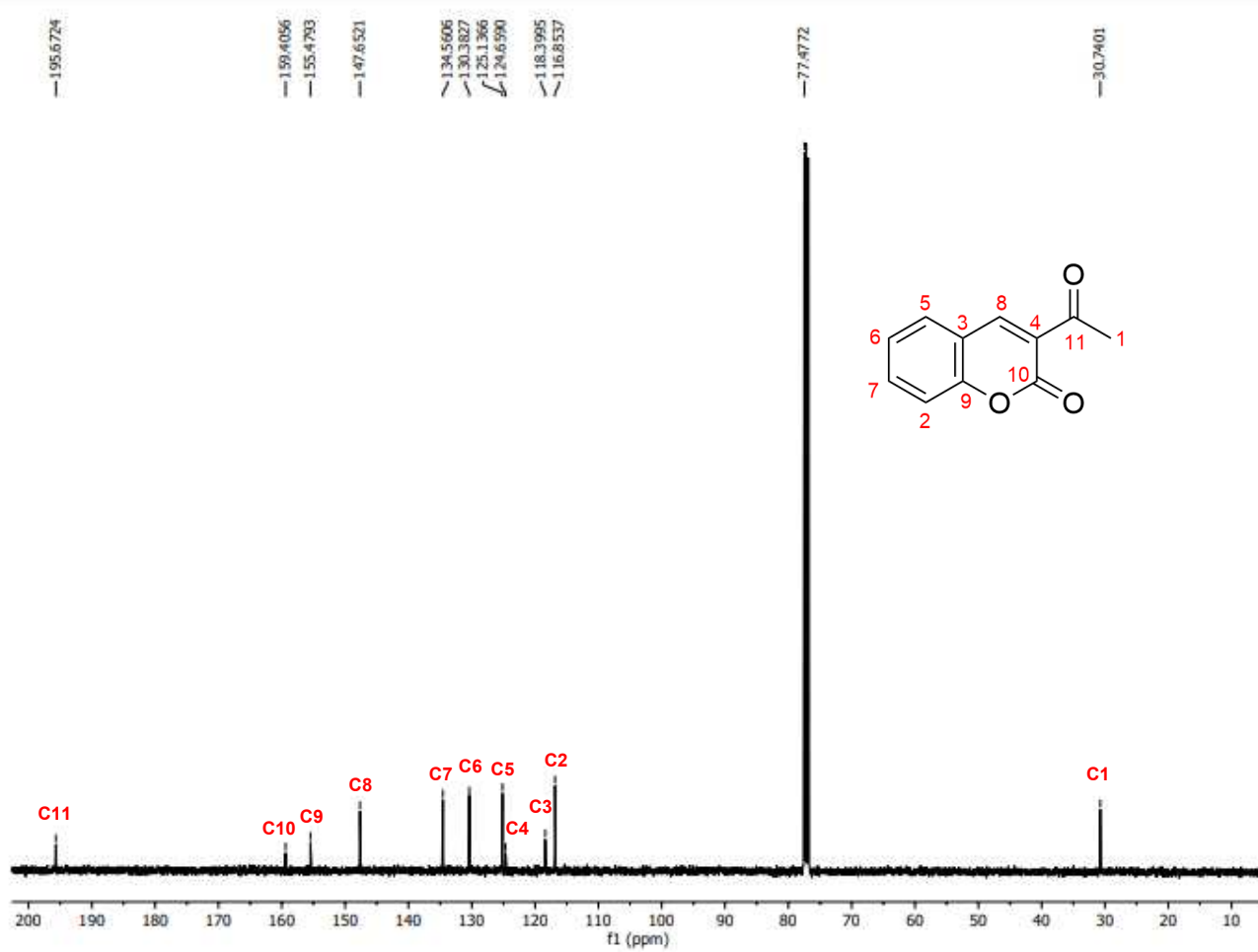
Figura A2 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância (4a)

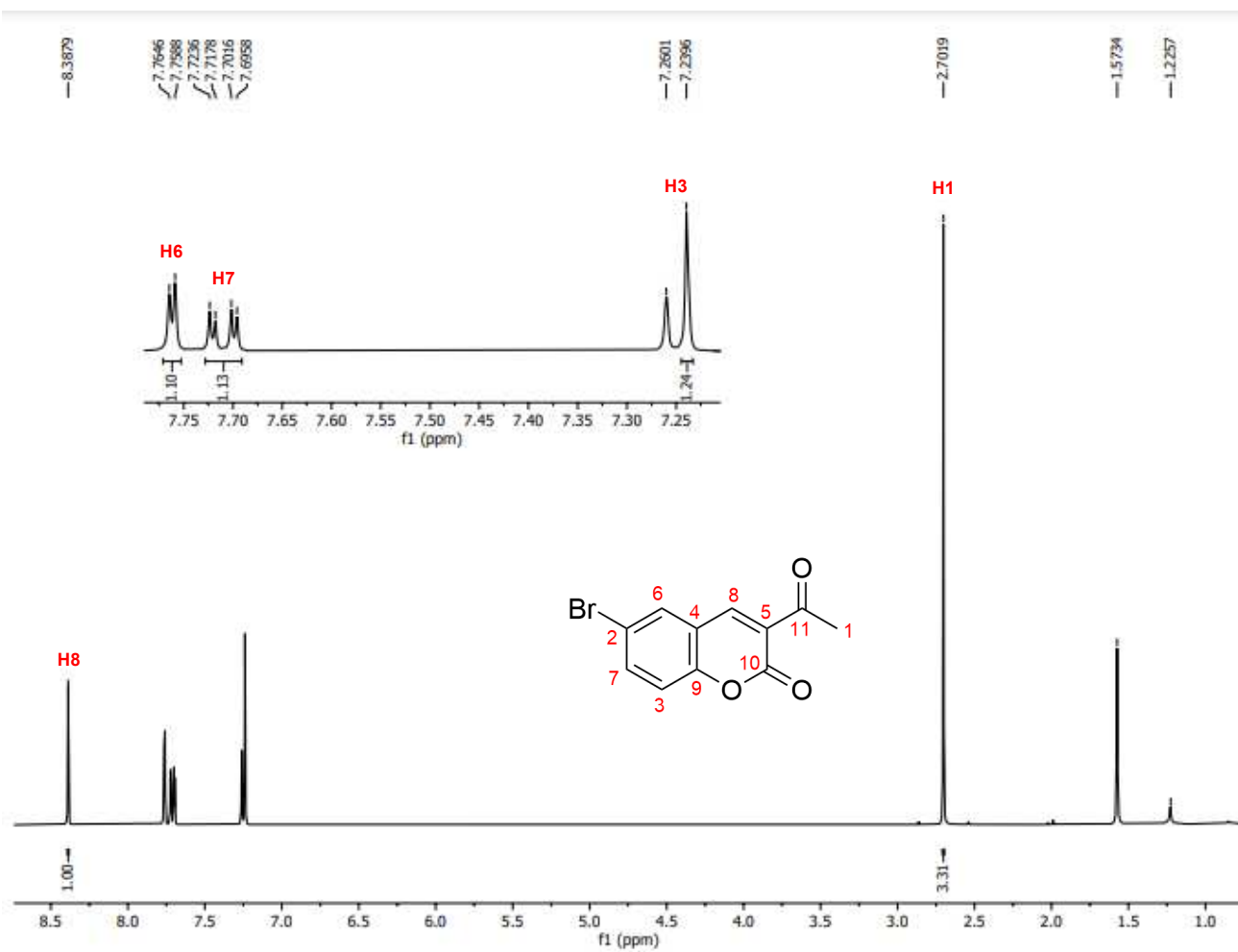
Figura A3 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância (**4b**)

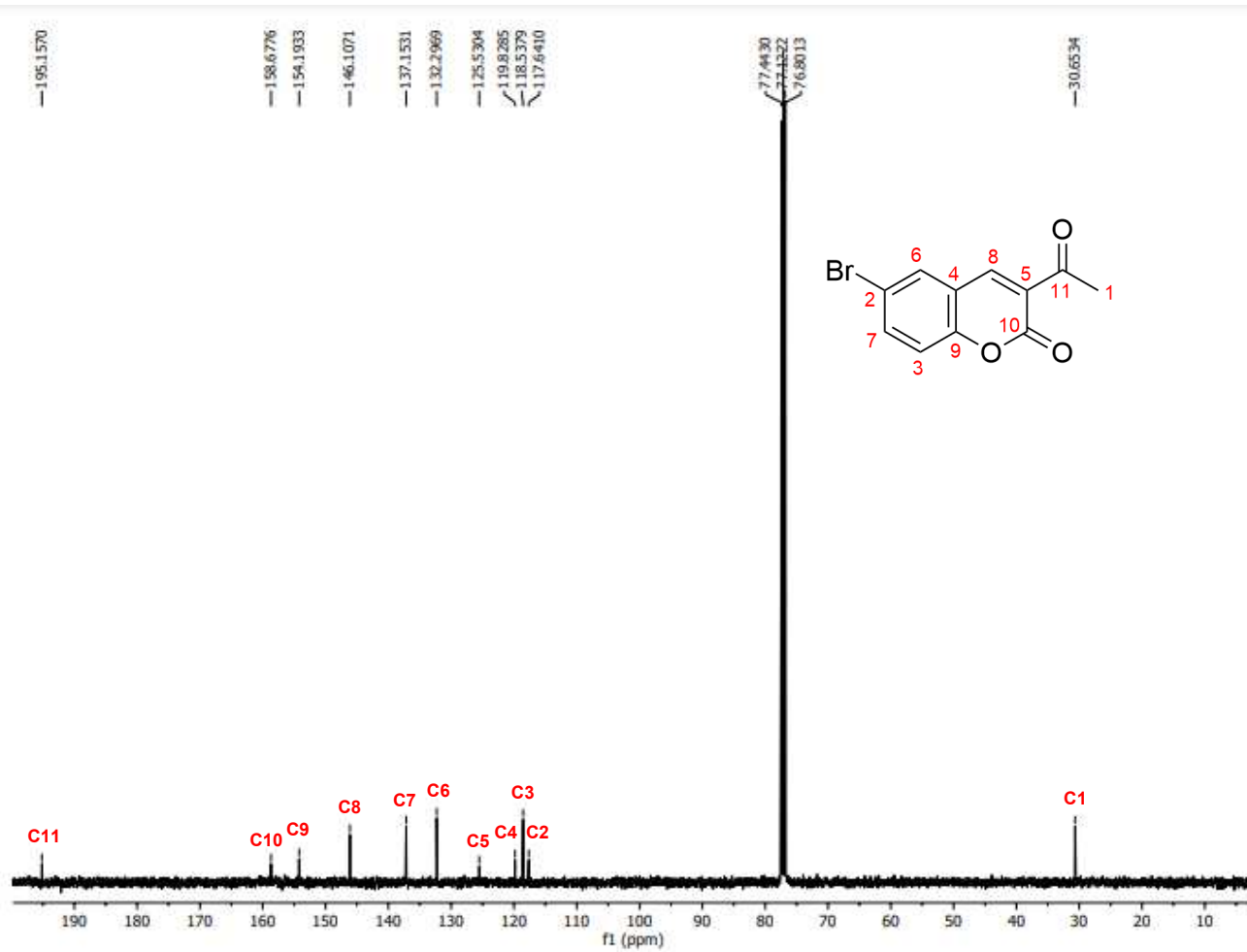
Figura A4 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância (**4b**)

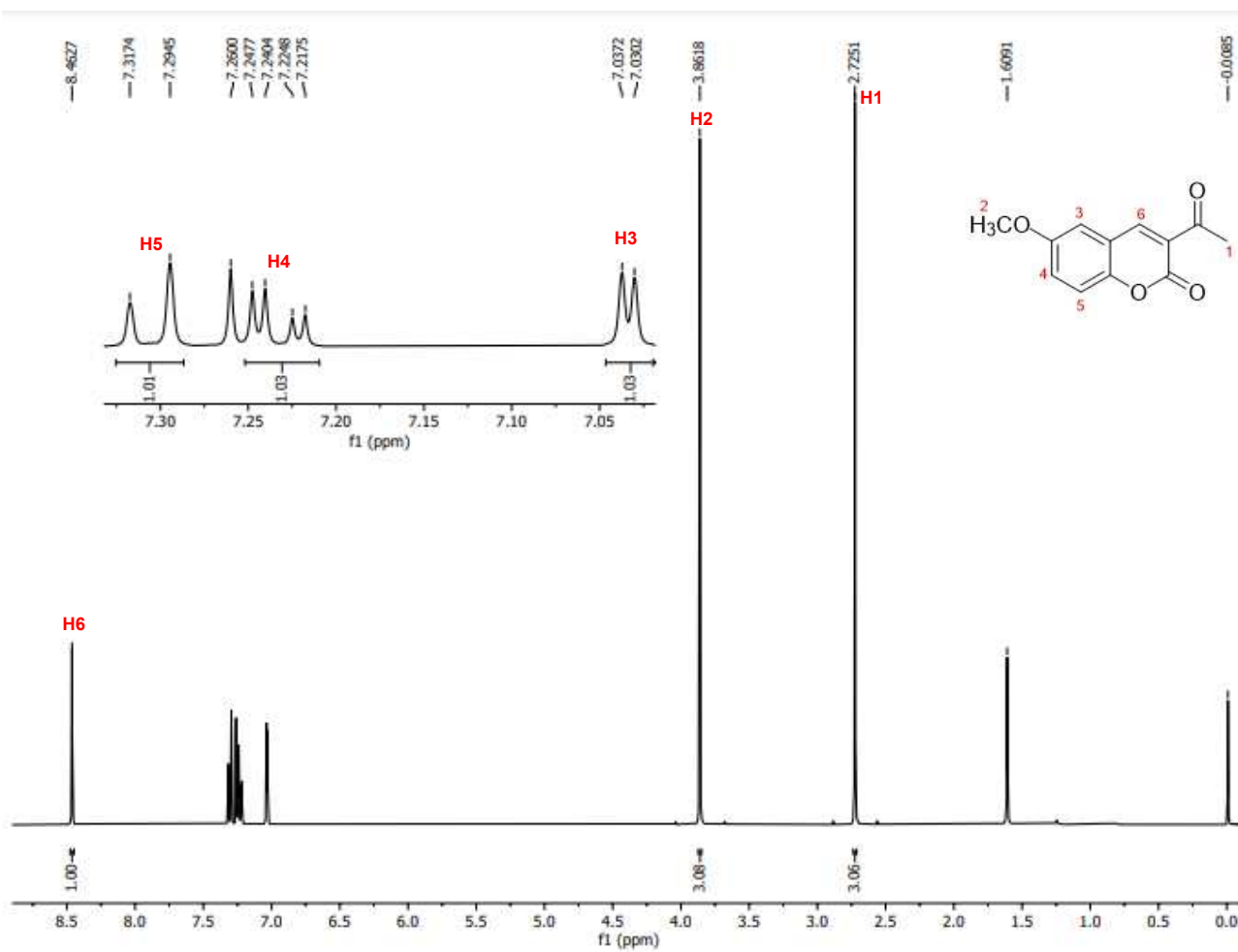
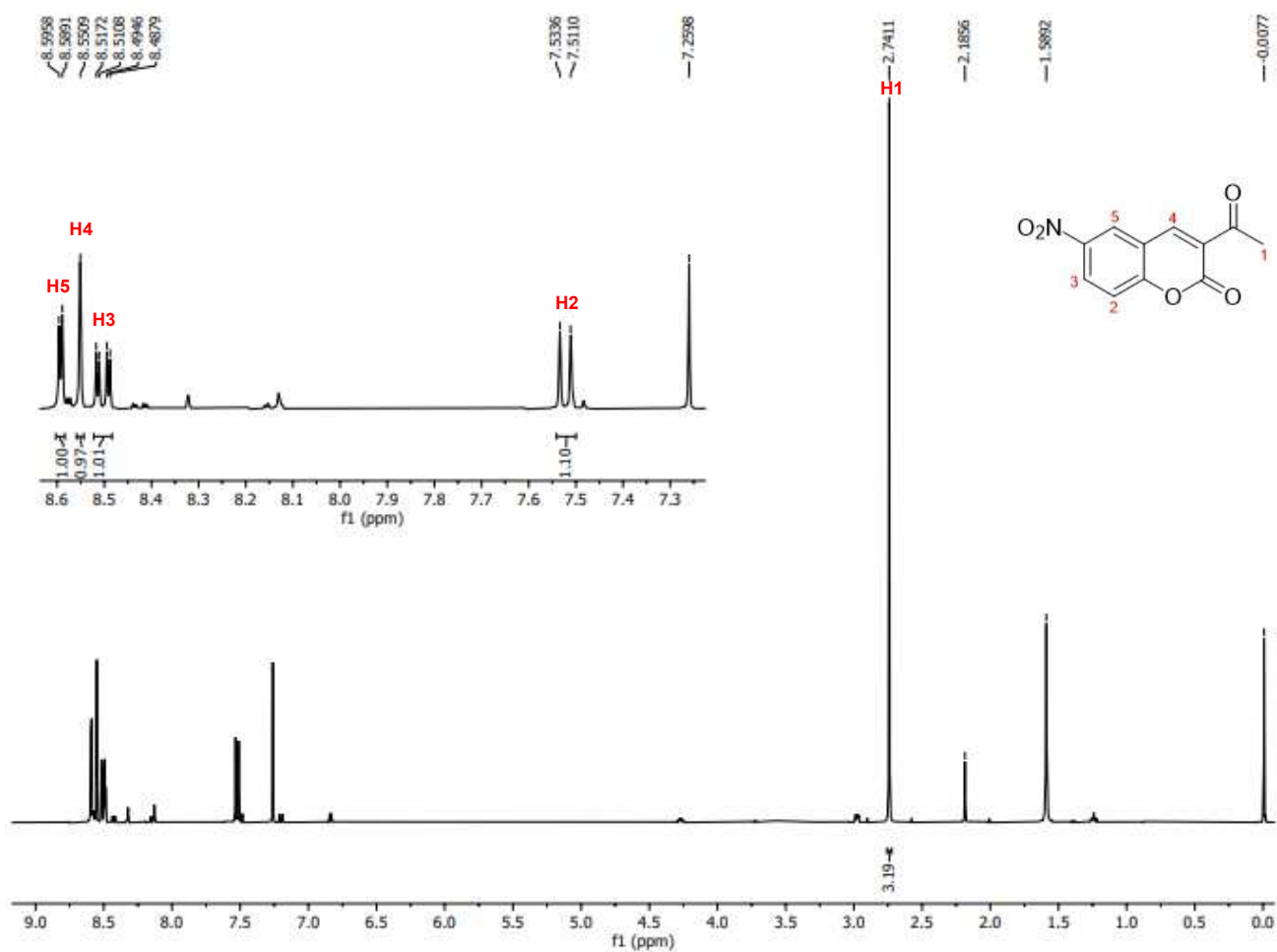
Figura A5 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância (4d)

Figura A6 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância (**4e**)

APÊNDICE B – CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS CUMARÍNICOS HÍBRIDOS COM ÁCIDO VANÍLICO **5A-E**

Figura B1 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (**5a**)

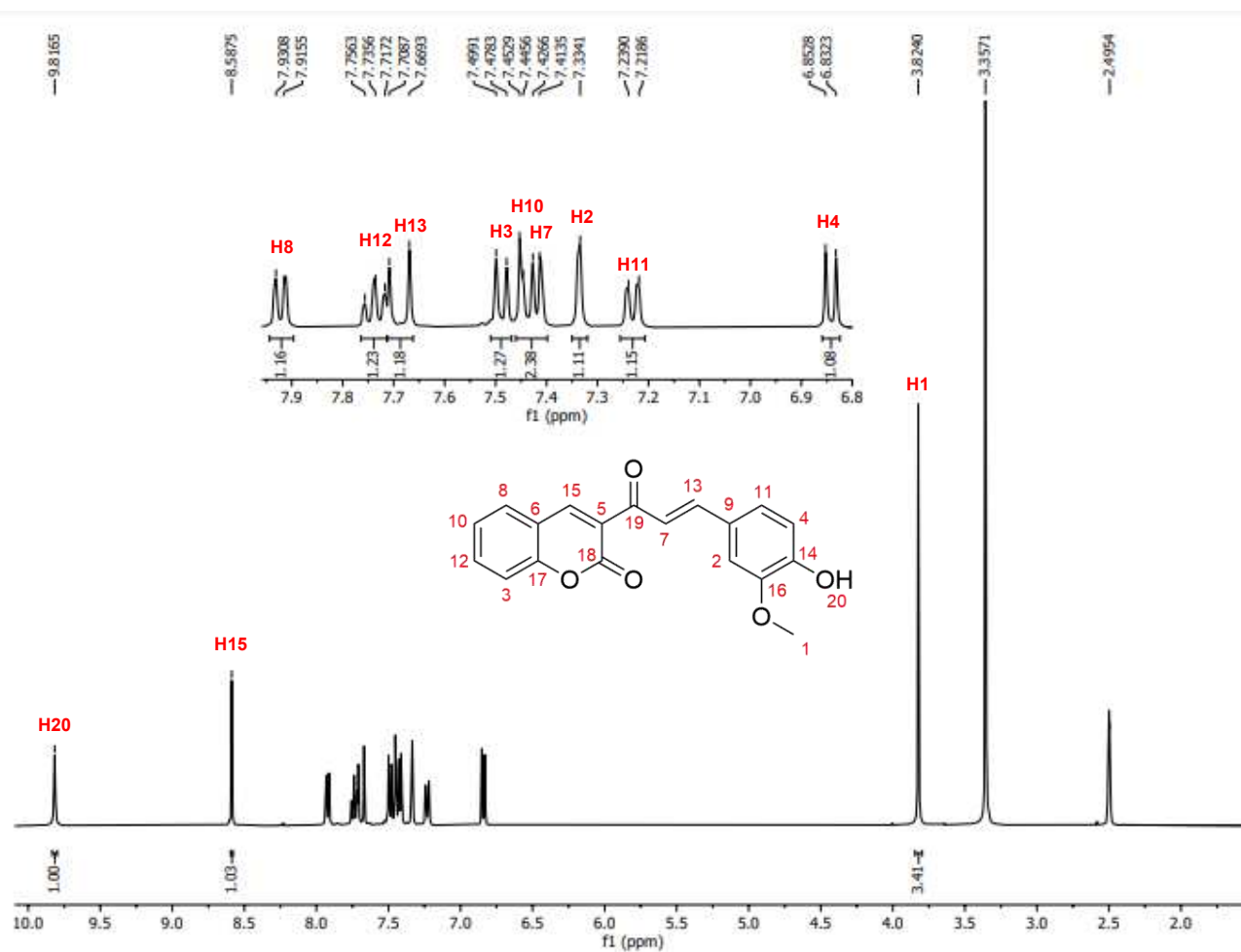


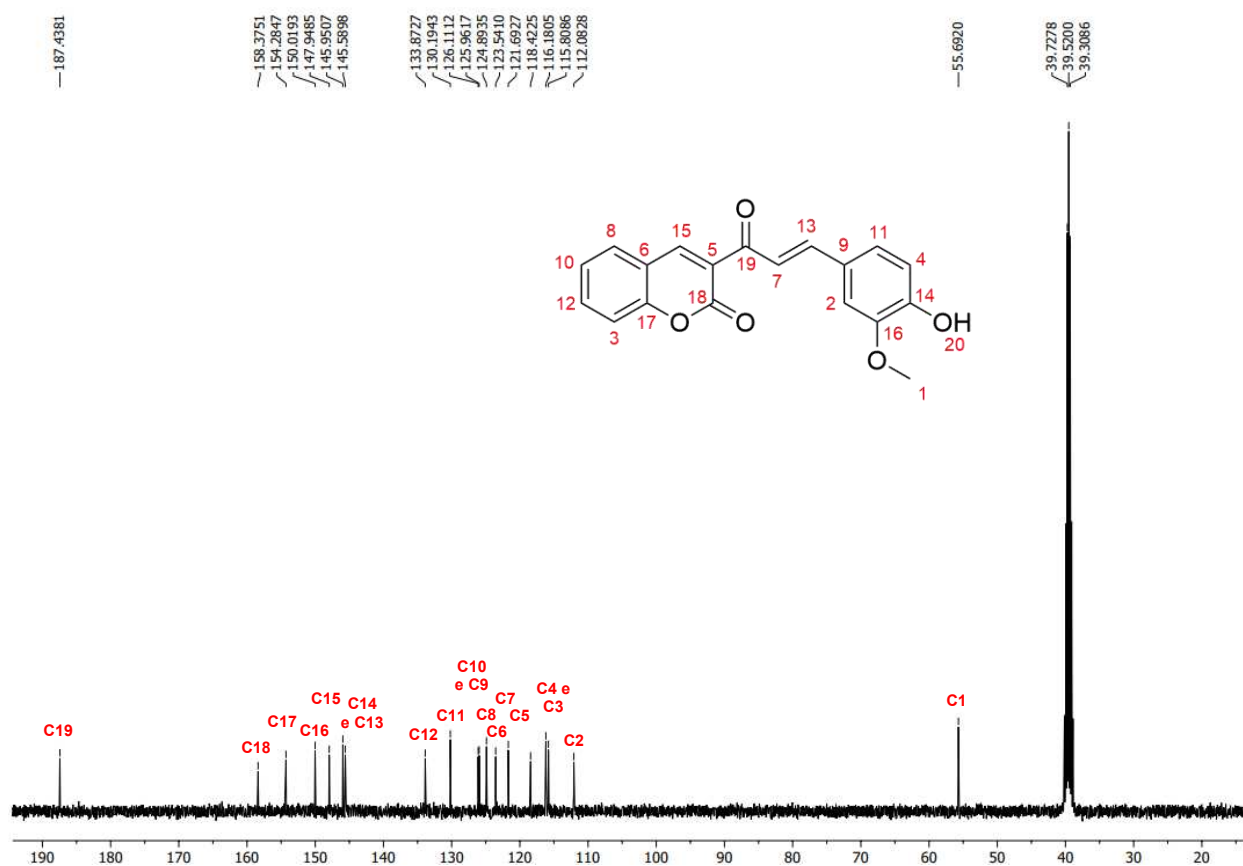
Figura B2 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (5a)

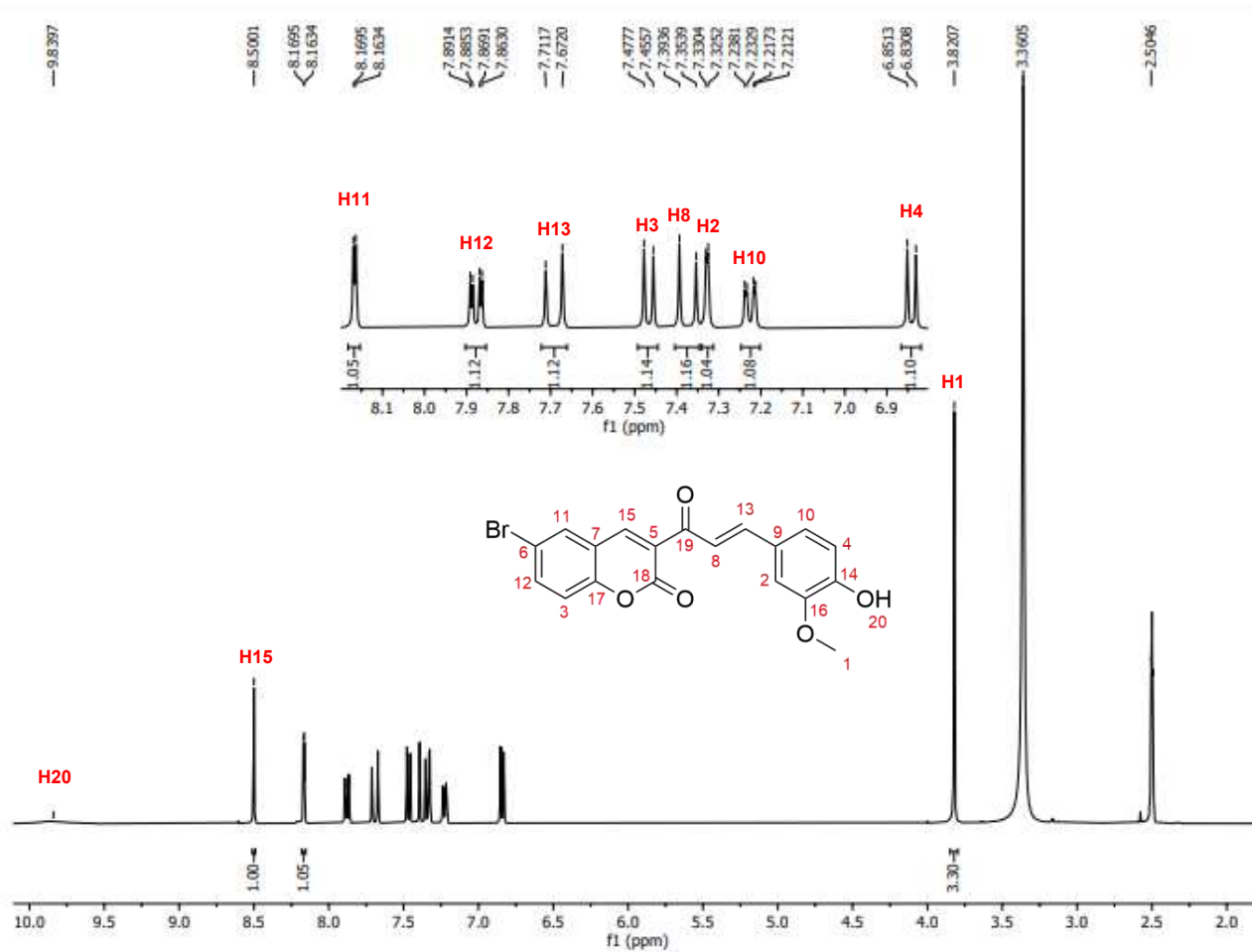
Figura B3 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (5b)

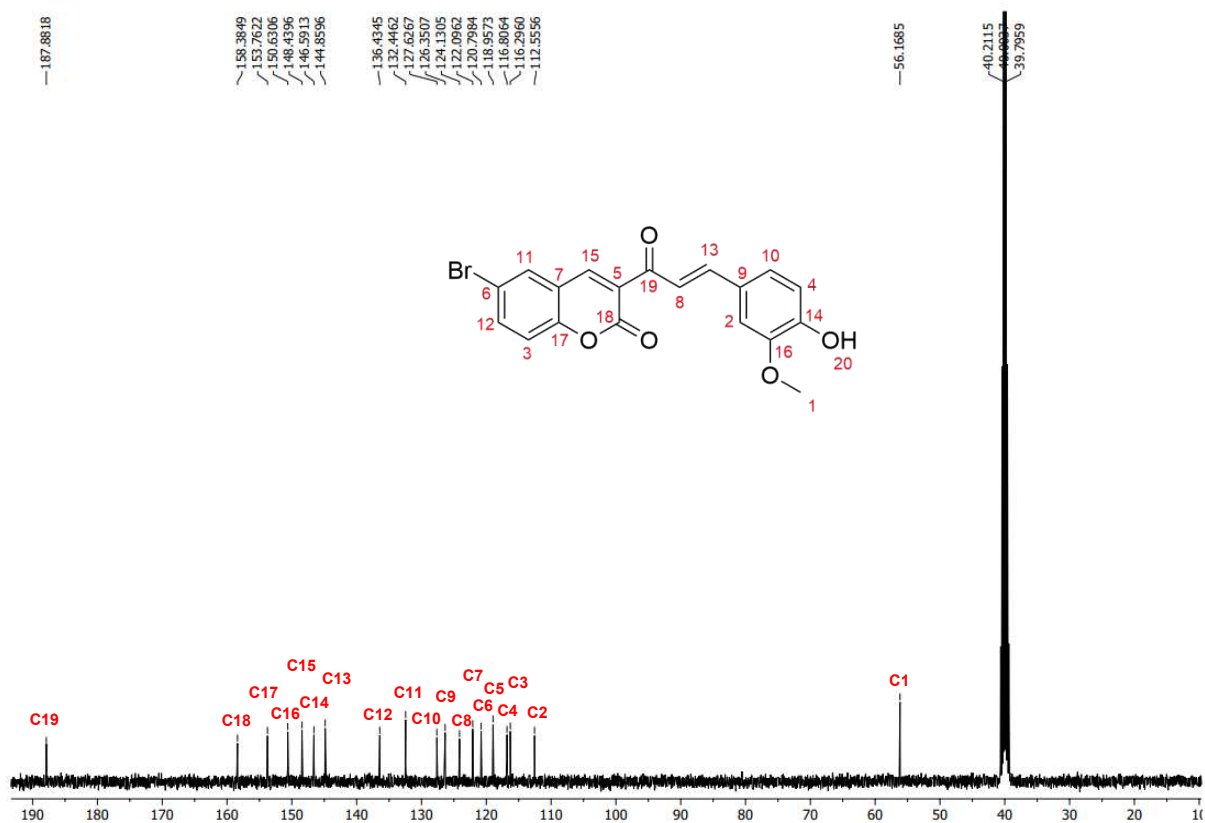
Figura B4 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (5b)

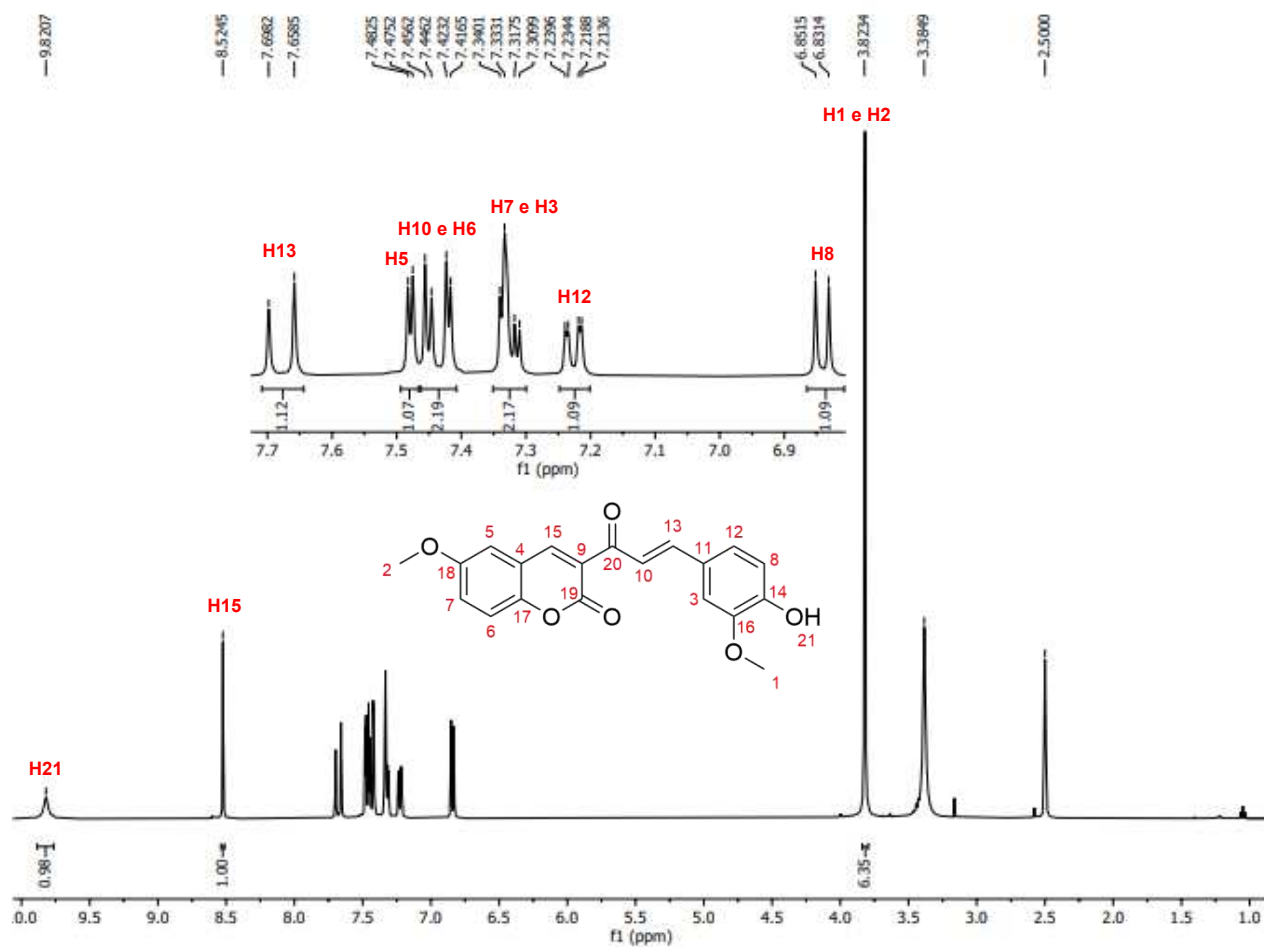
Figura B5 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (5d)

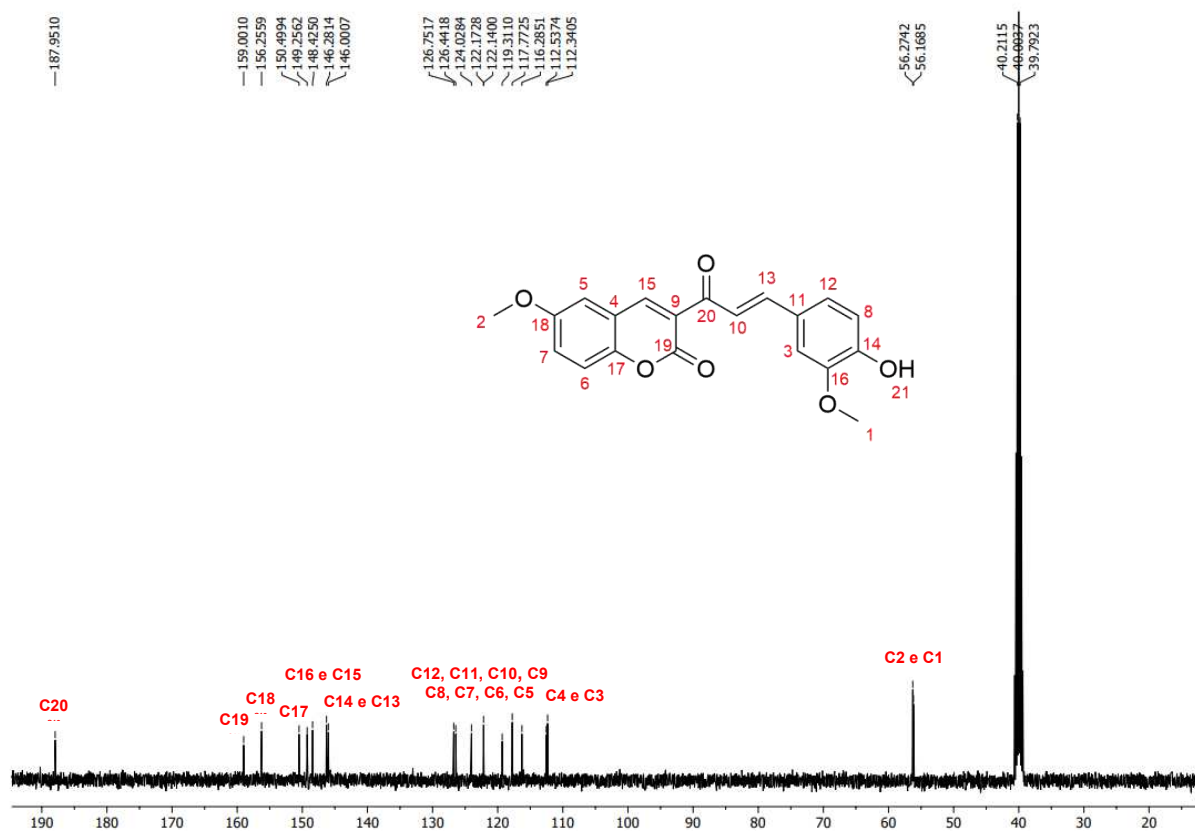
Figura B6 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (**5d**)

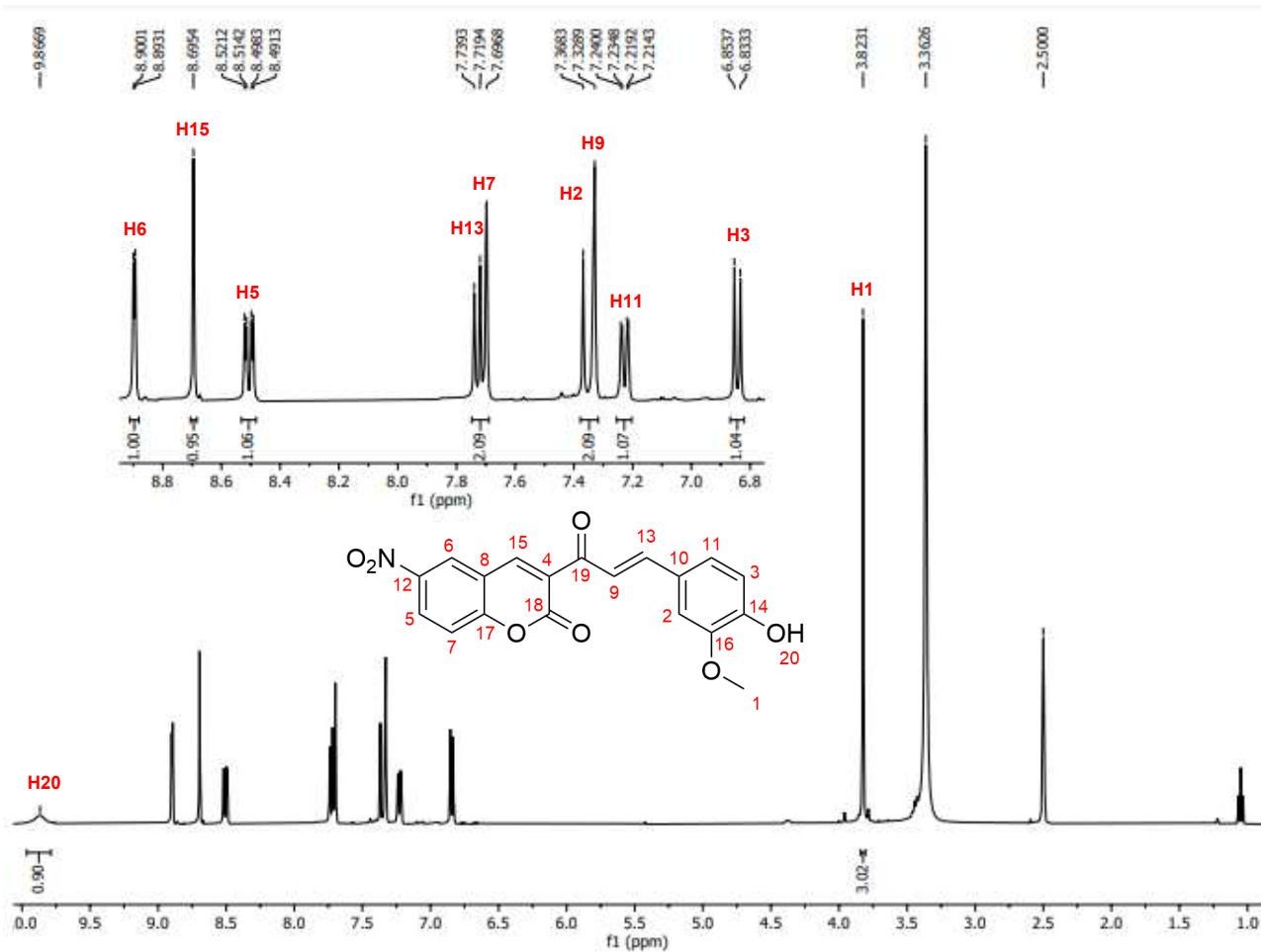
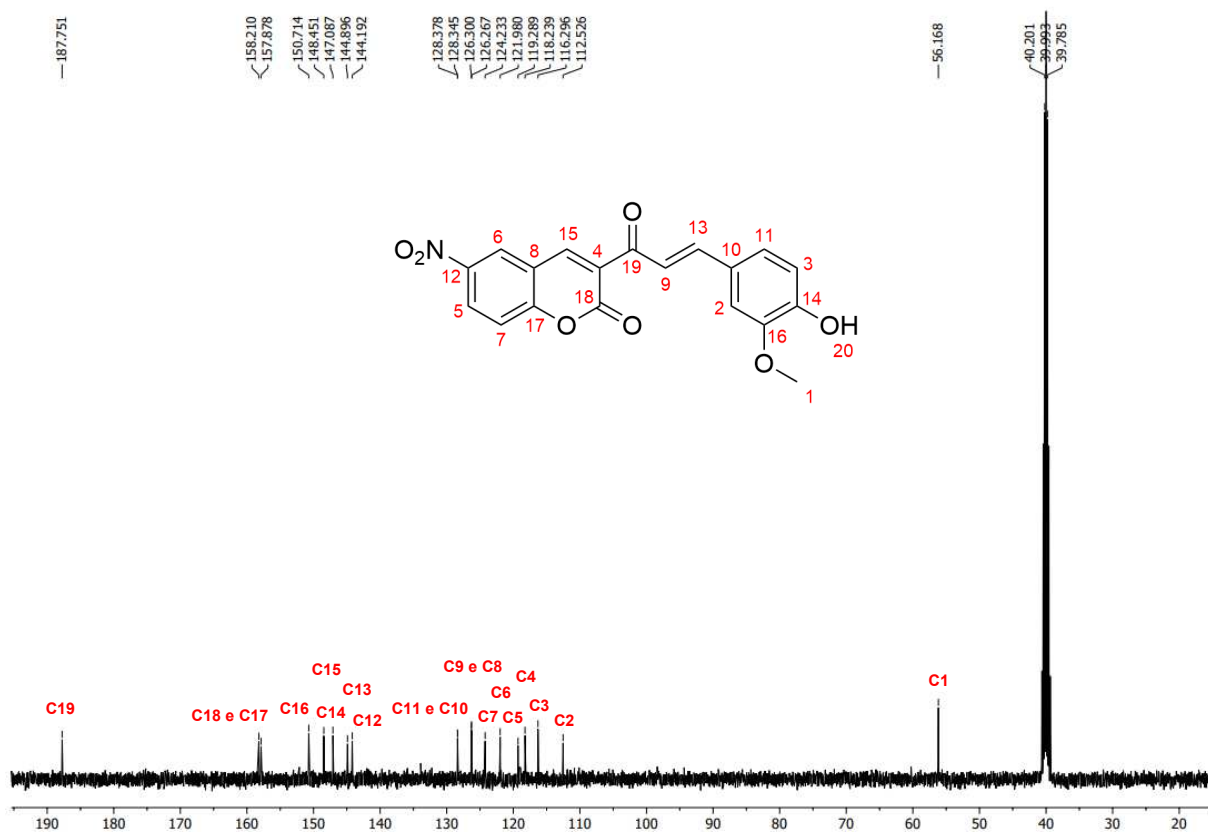
Figura B7 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (5e)

Figura B8 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (5e)

APÊNDICE C – CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS CUMARÍNICOS HÍBRIDOS COM ÁCIDO
PROTocateuÍCO **6A-E**

Figura C1 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (**6a**)

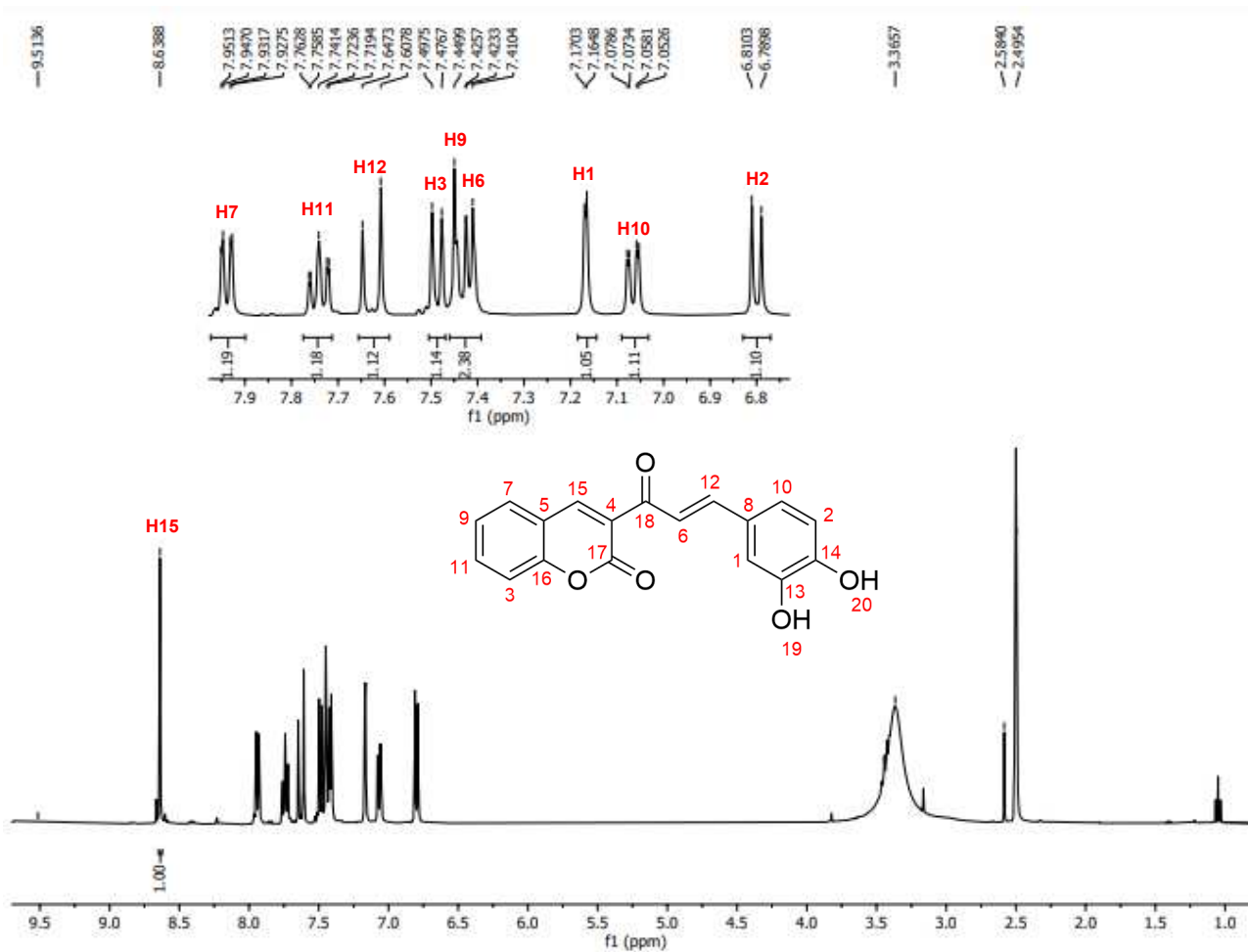


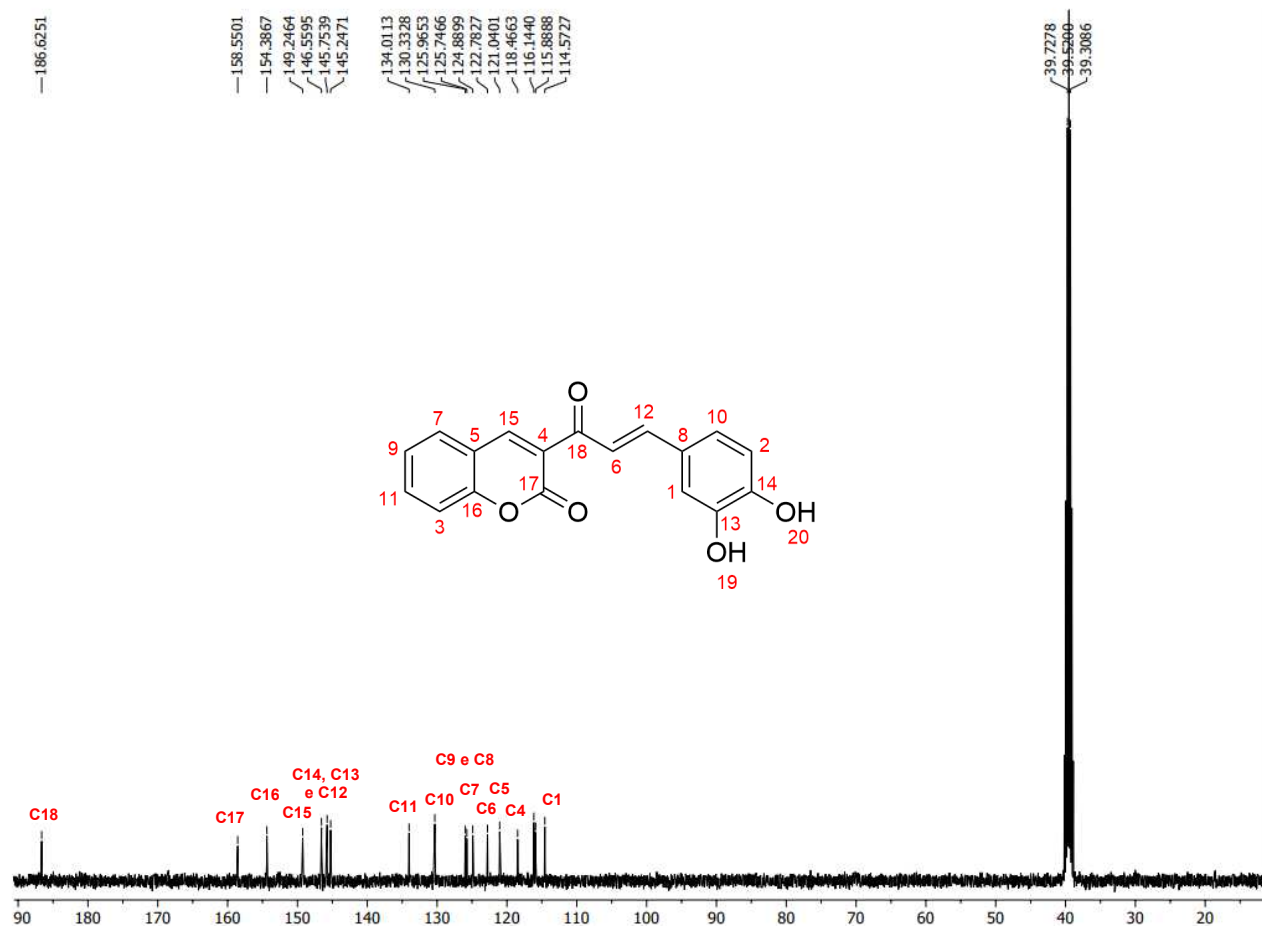
Figura C2 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (6a)

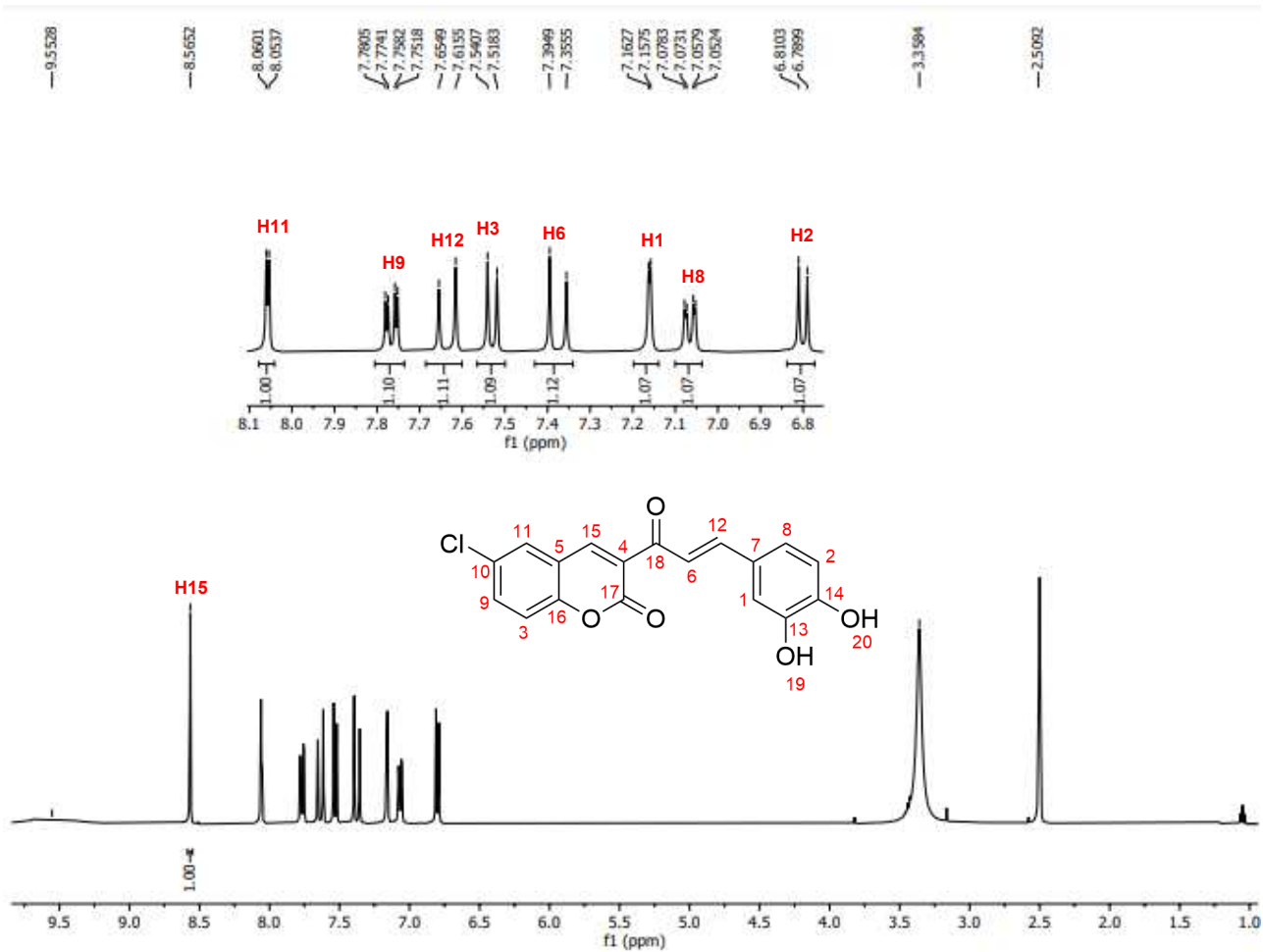
Figura C3 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (6c)

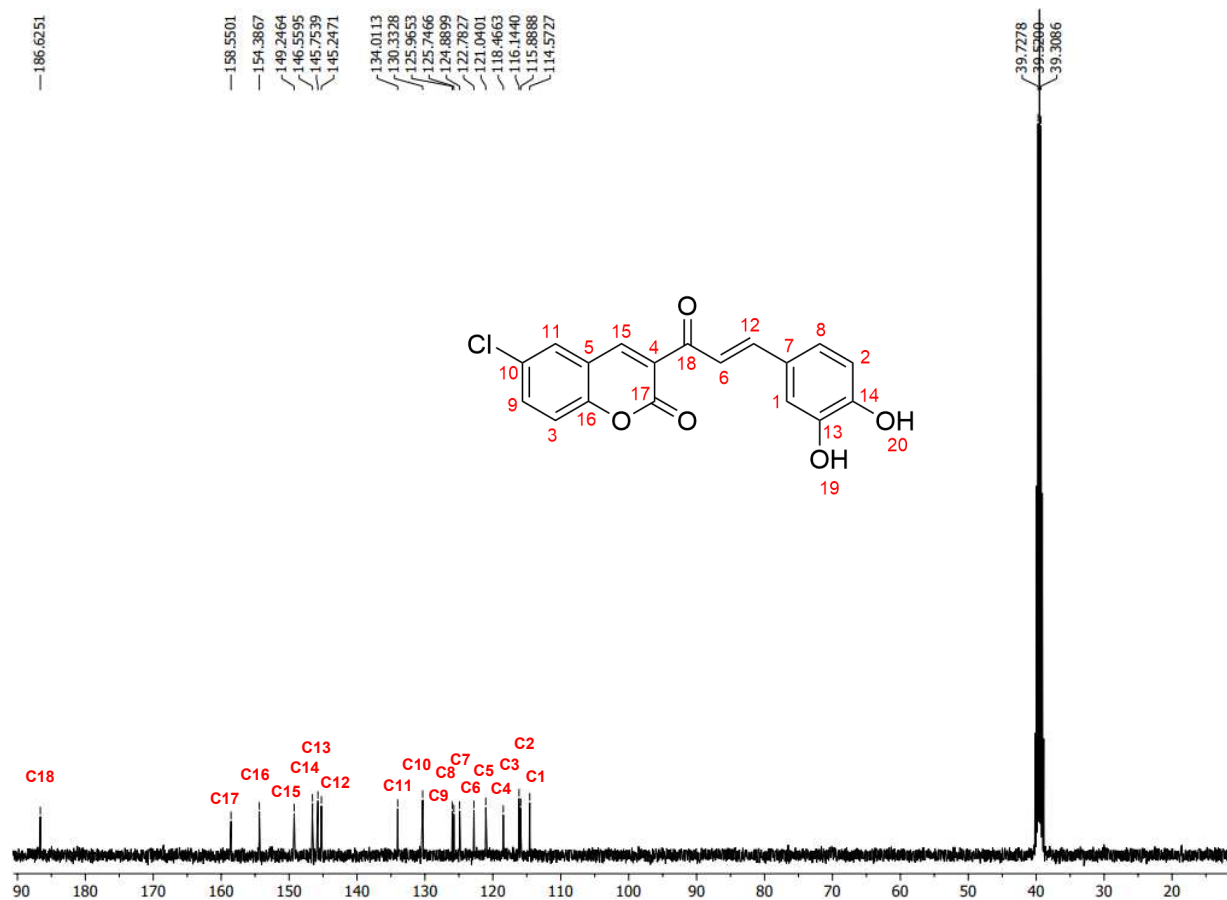
Figura C4 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (6c)

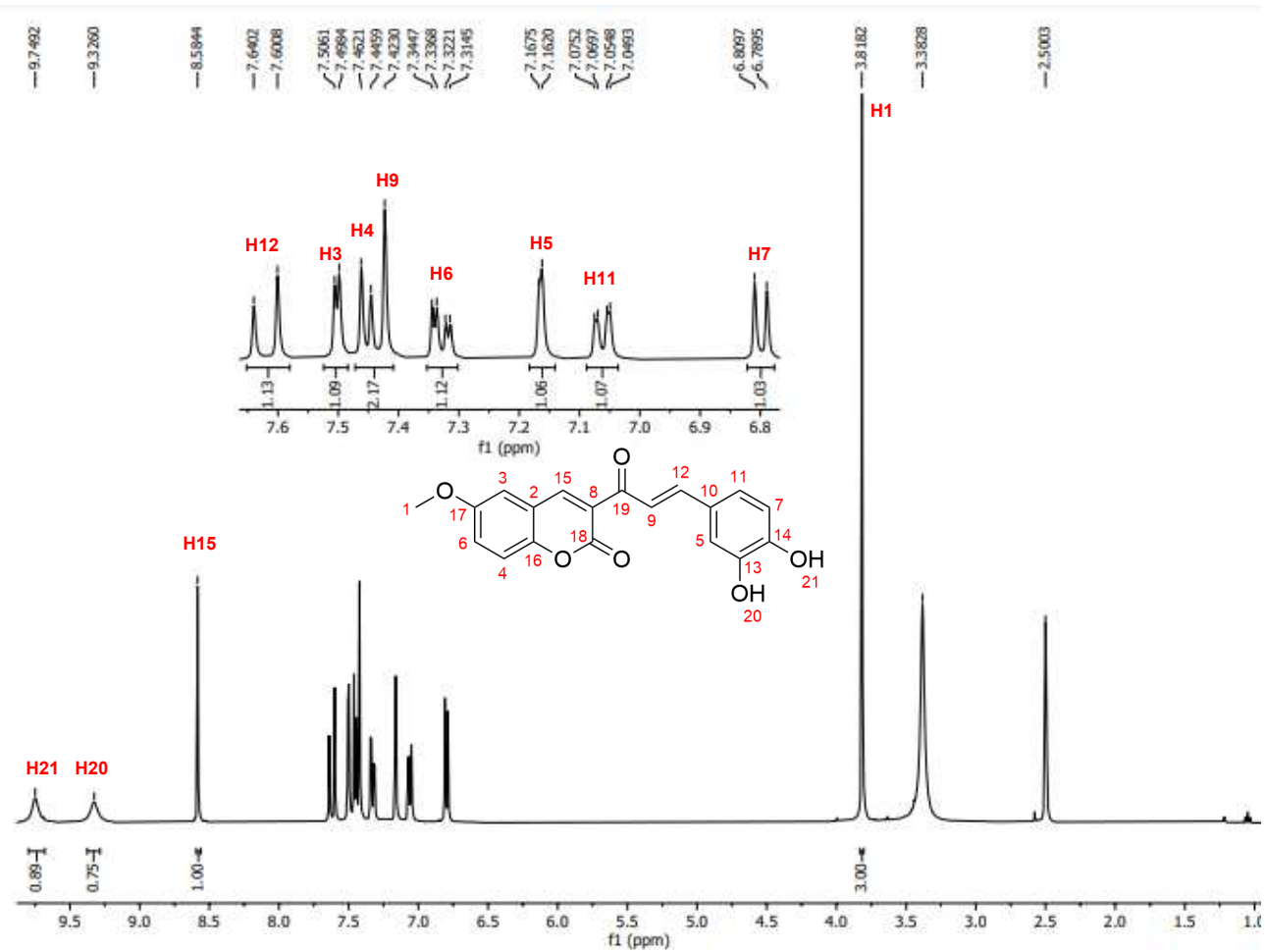
Figura C5 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (6d)

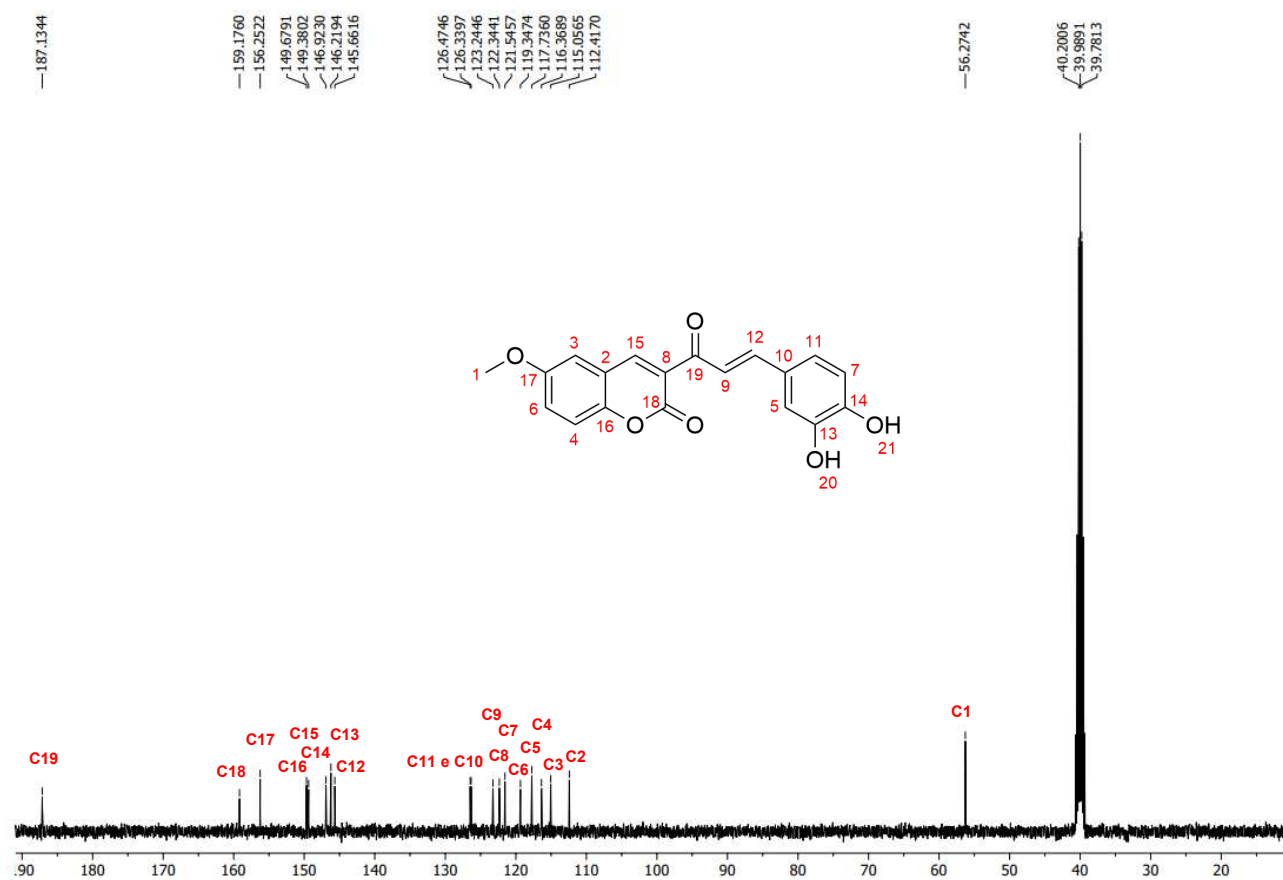
Figura C6 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (6d)

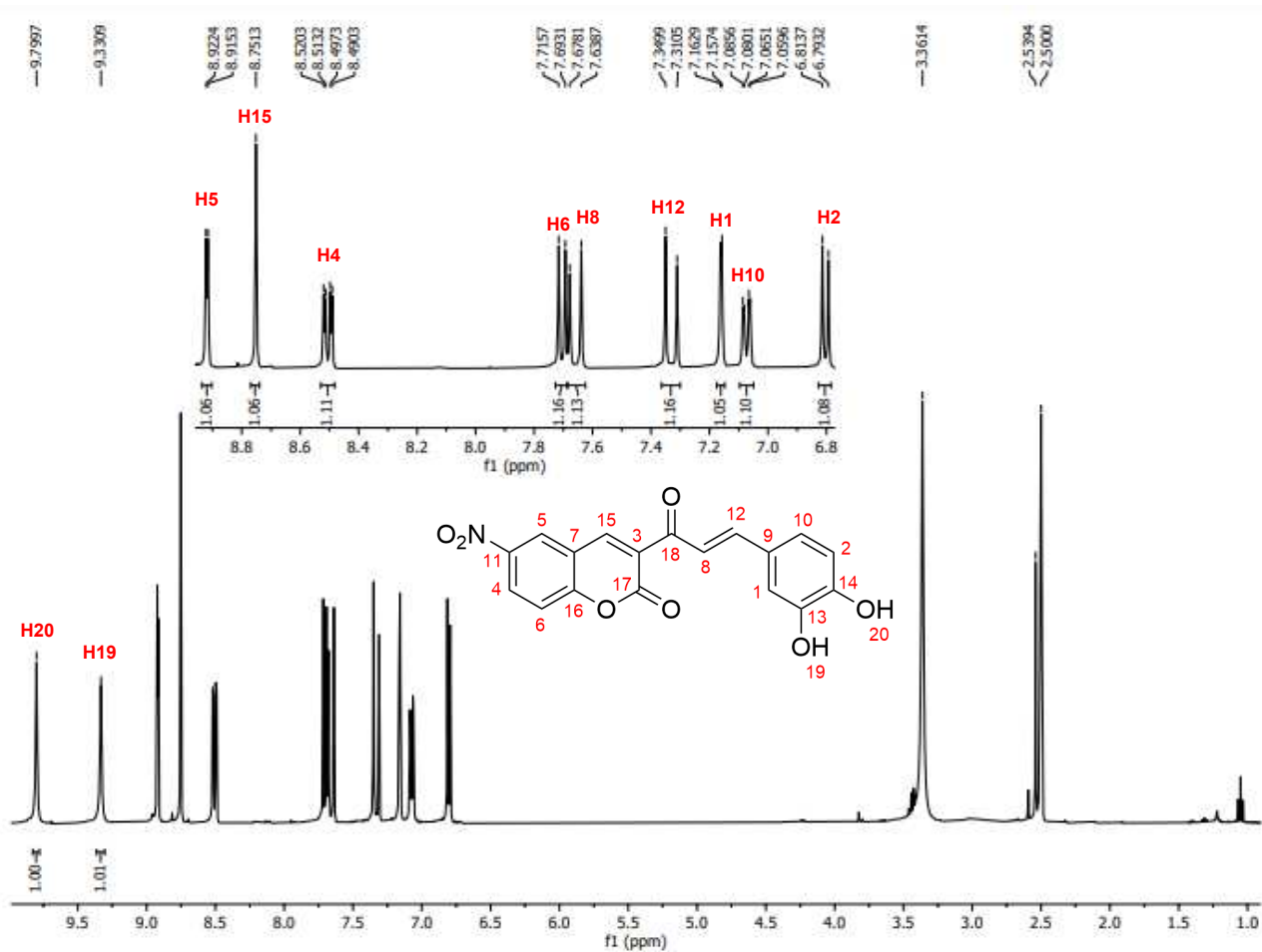
Figura C7 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO) da substância (6e)

Figura C8 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO) da substância (6e)