

UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

SÍNTESE DE CUMARINAS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES: LARVICIDA, ANTIFÚNGICA E ANTIOXIDANTE

LUCAS FERNANDO DE LIMA COSTA

SÍNTESE DE CUMARINAS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADE: LARVICIDA, ANTIFÚNGICA E ANTIOXIDANTE

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB) do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas - UFAL, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Dimas José da Paz Lima

|

Maceió/AL
2024

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Elisângela Vilela dos Santos – CRB-4 – 2056

C837s Costa, Lucas Fernando de Lima.

Síntese de cumarinas e avaliação das atividade: larvicida, antimicrobiana e antioxidante / Lucas Fernando de Lima Costa. – 2024.

113 f.: il., color.

Orientador: Dimas José da Paz Lima.

Dissertação (Mestrado em química e biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2024.

Bibliografia: f. 83-100.

Anexos: f. 101-113.

1. Cumarinas. 2. Compostos orgânicos. 3. Larvicidas. 4. Antioxidantes
5. Fungicidas. I. Título.

CDU: 547.1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA**



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb@iqb.ufal.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de dissertação do mestrando **Lucas Fernando de Lima Costa** intitulada: “**SÍNTESE DE CUMARINAS E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADE: LARVICIDA, ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 04 de outubro de 2024, às 14h, na sala de aula 201 do Instituto de Química e Biotecnologia.

Maceió, 04 de outubro de 2024.

Comissão Examinadora:

Dra. VERÔNICA DINIZ DA SILVA
Examinadora Externa à Instituição



Documento assinado digitalmente

VERONICA DINIZ DA SILVA

Data: 05/10/2024 15:45:46-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. JADRIANE DE ALMEIDA XAVIER, UFAL
Examinadora Interna



Documento assinado digitalmente

JADRIANE DE ALMEIDA XAVIER

Data: 07/10/2024 07:47:29-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. DIMAS JOSE DA PAZ LIMA, UFAL
Presidente



Documento assinado digitalmente

DIMAS JOSE DA PAZ LIMA

Data: 05/10/2024 09:20:01-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Alagoas;

Ao Instituto de Química e Biotecnologia;

Às agências de fomento CAPES/CNPq;

Ao Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Materiais e Compostos Bioativos;

Ao Núcleo de Análises e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear;

Ao Laboratório de Eletroquímica e Estresse Oxidativo.

“To the stars who listen and the dreams that are answered.”

Sarah J. Maas

RESUMO

A cumarina é um composto orgânico heterocíclico inserido na classe das benzopirona e de origem natural que se destaca por sua versatilidade e uma ampla gama de aplicações biológicas, entre eles, o uso de cumarinas como larvicidas apresenta-se como alternativa aos métodos convencionais de controle de mosquitos como o *Aedes Aegypti*. Além disso, diversos compostos de origem natural foram estudados como agentes antimicrobianos e antioxidantes naturais, entre eles as cumarinas. No presente trabalho, uma série de derivados de cumarinas foram sintetizados e submetidos a avaliação quanto a sua atividade larvicida, antifúngica e antioxidante. Na avaliação larvicida, um estudo *in sílico* foi performed utilizando enzimas homólogas a AchE e GSTs. Os compostos A₁ e A₃ apresentaram os melhores valores de pontuação para as enzimas AChE e GST, respectivamente. Na aplicação *in vivo*, os bioensaios foram realizados sob uma abordagem qualitativa, empregando-se larvas do quarto instar. Os resultados da avaliação larvicida apontam que apenas o derivado C₃ apresenta potencial como larvicida. Além disso, os derivados de cumarina sintetizados foram avaliados quanto à sua atividade fungicida, apenas o derivado A₁ apresentou atividade fungiestática frente ao *C. albicans*. Quanto a sua atividade frente ao *C. neoformans*, os derivados A₁ e A₃ foram classificados como fungicida nas concentrações de 400 e 200 µg, o derivado C₁ apresentou comportamento fungiestático na concentração de 400 µg. Por fim, os derivados de cumarinas foram avaliados quanto a sua atividade antioxidante, no ensaio DPPH apenas os derivados A₃ e C₃ apresentaram atividade, com IC₅₀ (µM) de 171,76 ± 1,94 e 7,47 ± 0,22 respectivamente. No ensaio SOD, o derivado C₃ apresentou atividade similar a Quercetina, com IC₅₀ (µM) de 55,26 ± 1,84. Para a análise de HOCl, o derivado A₂ apresentou o melhor resultado, com IC₅₀ (µM) de 35,34 ± 0,04.

Palavras-chave: Cumarinas; *Aedes aegypti*; Larvicidas; Antioxidante e Fungicida.

ABSTRACT

Coumarin is a heterocyclic organic compound belonging to the benzopyrone class and of natural origin that stands out for its versatility and a wide range of biological applications. Among them, the use of coumarins as larvicides presents itself as an alternative to conventional methods of controlling mosquitoes such as *Aedes aegypti*. In addition, several compounds of natural origin have been studied as natural antimicrobial and antioxidant agents, including coumarins. In the present work, a series of coumarin derivatives were synthesized and submitted to evaluation for their larvicidal, antifungal and antioxidant activity. In the larvicidal evaluation, an *in silico* study was performed using enzymes homologous to AChE and GSTs. Compounds A₁ and A₃ presented the best score values for the enzymes AChE and GST, respectively. In the *in vivo* application, the bioassays were performed under a qualitative approach, using fourth instar larvae. The results of the larvicidal evaluation indicate that only derivative C₃ has potential as a larvicidal. In addition, the synthesized coumarin derivatives were evaluated for their fungicidal activity, with only derivative A₁ showing fungistatic activity against *C. albicans*. Regarding their activity against *C. neoformans*, derivatives A₁ and A₃ were classified as fungicidal at concentrations of 400 and 200 µg, with derivative C₁ showing fungistatic behavior at a concentration of 400 µg. Finally, the coumarin derivatives were evaluated for their antioxidant activity; in the DPPH assay, only derivatives A₃ and C₃ showed activity, with IC₅₀ (µM) of 171.76 ± 1.94 and 7.47 ± 0.22, respectively. In the SOD assay, derivative C₃ showed activity similar to Quercetin, with IC₅₀ (µM) of 55.26 ± 1.84. For the HOCl analysis, derivative A₂ presented the best result, with IC₅₀ (µM) of 35.34 ± 0.04.

Key words: Coumarins; *Aedes aegypti*; Larvicides; Antioxidant and Fungicide.

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 - REPRESENTAÇÃO DA CONDENSAÇÃO DE KNOEVENAGEL.	18
ESQUEMA 2 - FORMAÇÃO DO ADUTO DE KNOEVENAGEL.	19
ESQUEMA 3 - MÉTODOS SINTÉTICOS PARA FORMAÇÃO DE CUMARINAS.	19
ESQUEMA 4 - SÍNTESE DOS 3-CARBOXILATOS (A_1 , A_2 , A_3).	37
ESQUEMA 5 - SÍNTESE DOS 3-ACETIL (B_1 , B_2 , B_3).	39
ESQUEMA 6 - SÍNTESE DOS 3-ÁCIDOCARBOXÍLICO (C_1 , C_2 , C_3).	40
ESQUEMA 7 - METODOLOGIA APLICADA NOS BIOENSAIOS.	42
ESQUEMA 8 - FORMAÇÃO DO PRODUTO A,B-INSATURADO	56
ESQUEMA 9 - MECANISMO DA BIOSÍNTESE DE QUERCETINA.	73
ESQUEMA 11 - ROTA SINTÉTICA DA QUERCETINA.	74

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURA BASE DAS CUMARINAS.....	15
FIGURA 2 - TIPOS MAIS COMUNS DE CUMARINAS RELATADOS NA LITERATURA.....	16
FIGURA 3 - CICLO DE INFECÇÃO DO MOSQUITO Aedes Aegypti.....	21
FIGURA 4 - ESTRUTURA DA 4-METIL-CROMEN-2-ON E ACETATO DE 3,6,8-TRIBROMO-4-METIL-2'-OXO-2H-CROMEN-7-IL RESPECTIVAMENTE.....	28
FIGURA 5 - DERIVADOS DE CUMARINA-CARBAZOL COM ATIVIDADE LARVICIDA	29
FIGURA 6 - DERIVADO DE CUMARINA PROJETADO COM PARÂMETROS IN SILICO.....	31
FIGURA 7 - DERIVADOS DE CUMARINA-HISTIDINA FUNGICIDAS.....	33
FIGURA 8 - CLUSTER 2-OXO-2H-CROMENO-3-CARBOXILATO (A₁)- GSTs.....	51
FIGURA 9 - INTERAÇÕES ENTRE O 2-OXO-2H-CROMENO-3-CARBOXILATO (A₁) E A GSTs...	52
FIGURA 10 - CLUSTER 7,8-DIHIIDROXI-2-OXO-2H-CROMENO-3-CARBOXILATO (A₃) -ACHE.	53
FIGURA 11 - -- INTERAÇÕES A ₃ - ACHE.....	54
FIGURA 12 – ANÁLISE ESTRUTURA-ATIVIDADE DOS DERIVADOS DE CUMARINA AVALIADOS. .	67
FIGURA 13 - REAÇÃO REDOX PARA COMPLEXO FÉRRICO NO ENSAIO FRAP.....	68
FIGURA 14 - METILAÇÃO DA AESCULETINA.....	79
FIGURA 15 – ESPECTRO DE RMN ¹ H (A₁)	101
FIGURA 16 - ESPECTRO DE RMN DEPT 135 (A₁).....	102
FIGURA 17 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (A₂)	103
FIGURA 18 - ESPECTRO DE RMN ¹³ C (A₂).....	104
FIGURA 19 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (A₃)	105
FIGURA 20 - ESPECTRO DE RMN ¹³ C (A₃).....	106
FIGURA 21 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (C₁)	107
FIGURA 22 – ESPECTRO DE RMN ¹³ C (C₁)	108
FIGURA 23 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (C₂)	109
FIGURA 24 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (C₃)	110
FIGURA 25 – ESPECTRO DE RMN ¹ H (B₂)	111
FIGURA 26 – ESPECTRO DE RMN ¹ H (B₃)	112
FIGURA 27 - ESPECTRO DE RMN ¹ H (B₁).....	113

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DERIVADOS DE CUMARINA COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.	33
TABELA 2 -PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS CALCULADAS.	47
TABELA 3 - PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS CALCULADAS.	48
TABELA 4 – DERIVADOS DE CUMARINA (A) SINTETIZADOS E SEUS RENDIMENTOS	57
TABELA 5 - DERIVADOS DE CUMARINA (B) SINTETIZADOS E SEUS RENDIMENTOS.	58
TABELA 6 - DERIVADOS DE CUMARINA (C) SINTETIZADOS E SEUS RENDIMENTOS.	59
TABELA 7 – RESULTADOS DA AVALIAÇÃO LARVICIDA.	62
TABELA 8 - RESULTADOS DA AVALIAÇÃO LARVICIDA.....	64
TABELA 9 – RESULTADOS DO ENSAIO DPPH	65
TABELA 10 - RESULTADOS DO ENSAIO FRAP	69
TABELA 11 - RESULTADOS DO ENSAIO SOD.	71
TABELA 12 - RESULTADOS DO ENSAIO HOCL.	74
TABELA 13 – AVALIAÇÃO FUNGICIDA FRENTE AO C. ALBICANS	76
TABELA 14 - AÇÃO C. ALBICANS.....	79
TABELA 15 - AVALIAÇÃO FUNGICIDA FRENTE AO C. NEOFORMANS.	79
TABELA 16 - AÇÃO C.NEOFORMANS.....	81

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - ATUALIZAÇÃO DE CASOS DE ARBOVIROSES NO BRASIL NO PERÍODO ENTRE A SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 1 A 28.	22
GRÁFICO 2 -PONTUAÇÃO DA ANCORAGEM MOLECULAR USANDO GSTs E ACHe.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μ – Micrômetro

AChE – Enzima acetil colinesterase

Anvisa – Agência de Vigilância Sanitária

CHIKV – Chikungunya

DDT – Dicloro difenil tricloroetano

DENV1 – Vírus dengue 1

DENV2 – Vírus dengue 2

DENV3 – Vírus dengue 3

DENV4 – Vírus dengue 4

DEPT – Experimento de RMN ^{13}C de Distorção aumentada por transferência depolarização para carbonos primários, secundários, terciários e não hidrogenados.

CL₅₀ – Concentração Letal que elimina 50% da população

DMSO – Dimetilsulfóxido

FTIR– Infravermelho com Transformada de Fourier

GDE – Grupo doador de elétrons

GRE – Grupo retirador de elétrons

GSTs – Glutathione S- transferase

Hz – Hertz

J – Constante de acoplamento

MHz –Megahertz

OMS – Organização Mundial de Saúde

P.A. – Grau para análise

ppm – partes por milhão

Py – Piridina

RMN ^{13}C – Ressonância Magnética de Carbono 13

RMN ^1H – Ressonância Magnética de Hidrogênio

TMS – Tetrametilsilano

ZIKV – Zika Vírus

δ – banda de deformação

δ – deslocamento químico

MW – molecular weight

fChar – carga formal

nHet – número de heteroátomos

MaxRing – número de átomos no maior anel

nRing - número de anéis

nRot - número de ligações rotacionáveis

TPSA - área de superfície polar topológica

nHD – número de doadores de ligação de hidrogênio

nHA – número de aceptores de ligação de hidrogênio

LogP - coeficiente de lipossolubilidade

LogD - LogP em pH fisiológico 7.4

LogS - Log da solubilidade aquosa

CDC - Centro de Controle e Prevenção de Doenças

SUMÁRIO

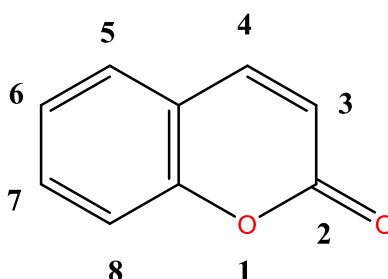
1.INTRODUÇÃO	15
2.CUMARINAS E SÍNTESE.....	16
2.1 CUMARINAS.....	16
2.2 <i>Aedes Aegypti</i>	20
2.3 LARVICIDAS	23
2.4 CUMARINAS LARVICIDAS.....	26
2.5 MODELOS <i>IN SILICO</i>	29
2.6 ANTIOXIDANTES	31
2.7 FUNGICIDA	32
3. OBJETIVOS.....	35
3.1. GERAL	35
3.2. ESPECÍFICO.....	35
4. EXPERIMENTAL	36
4.1. REAGENTES, SOLVENTES E CONDIÇÕES	36
4.2. ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	36
4.3. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS.....	36
4.4. SÍNTESES.....	37
4.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA	41
4.6. ANTIOXIDANTE	43
4.7. ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS DERIVADOS DE CUMARINA.	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	47
5.2 SÍNTESE DOS COMPOSTOS	54
5.3 – AVALIAÇÃO LARVICIDA.....	61
5.4 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	65
5.5 – AVALIAÇÃO FUNGICIDA	76
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	82

7. PERSPECTIVAS.....	82
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
9. ANEXOS	101

1.INTRODUÇÃO

A cumarina, também conhecida como 2H-cromen-2-ona (**Figura 1**), representa um composto orgânico heterocíclico inserido na classe das benzopironas. Além disso, é considerada uma lactona de origem natural, caracterizada por sua fórmula molecular geral $C_9H_6O_2$. Nessa estrutura, os átomos de hidrogênio adjacentes ao anel benzeno são substituídos por uma configuração semelhante à lactona, -CH=CH-CO-O-, formando a base estrutural das cumarinas. Esses compostos destacam-se por sua versatilidade, apresentando uma ampla gama de aplicações biológicas (VAITHIYALINGAM et al., 2022; MATOS et al. 2013; XIANG et al., 2024). Em virtude das suas características estruturais, os derivados incluem um anel benzeno adjacente a um anel α -pirona, com um sistema altamente conjugado π - π . Em virtude dessas características, os derivados cumarínicos emergem como uma classe significativa na química medicinal, além disso, na indústria de cosméticos, a cumarina é um ingrediente popular em algumas fragrâncias, graças ao seu odor herbáceo adocicado (UROOS et al., 2022; POOJA et al. 2022; DOCTOR et al., 2020).

Figura 1 - Estrutura base das cumarinas.

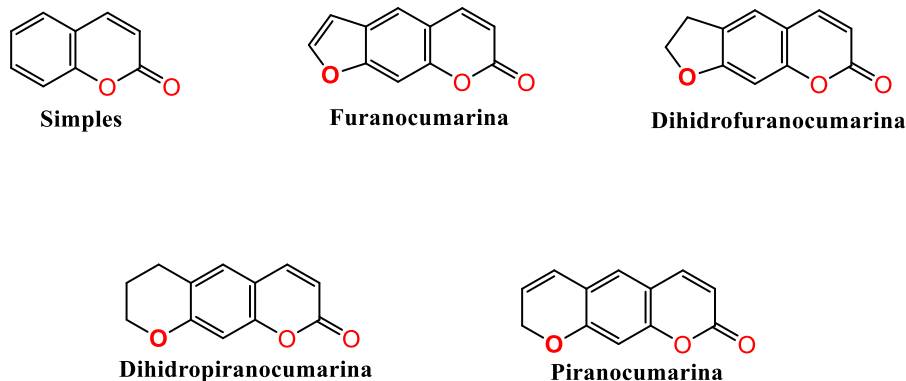


Fonte: autor, 2024.

Esses compostos podem ter origem tanto natural quanto sintética, contando com cerca de 1.000 derivados isolados. Na natureza, são encontrados em plantas e microrganismos, como fava tonka, erva-doce americana, erva-doce, trevo doce, canela cássia, damascos, cerejas e morangos, bem como em chá verde.

Graças à sua diversidade estrutural (**Figura 2**), os derivados de cumarinas permitem sua classificação em cumarinas simples ou cumarinas complexas, sendo esses condensados com outros heterociclos: furanocumarinas, piranocumarinas, biscumarinas, cumarinolignanas e triscumarinas (MATOS, 2013).

Figura 2 - Tipos mais comuns de cumarinas relatados na literatura.



Fonte: Autor, 2024.

Somente, em 1868, Henry Perkin conduziu a primeira síntese desse composto, proporcionando a possibilidade de produção artificial dessas substâncias (MATOS et al., 2013; POOJA et al., 2022). No cenário atual, a síntese de compostos heterocíclicos com atividade biológica, tais como: antitumoral (TIAN et al., 2023), anti-HIV (FOBOFOU et al., 2022), antioxidante (LI et al., 2023), antimicrobiana (JUCA et al., 2018), anti-câncer (BHAT et al., 2024), vem se tornando relevante para os químicos orgânicos (GU et al., 2022; MATOS et al. 2013; REHMAN et al., 2019).

Em adicional, as cumarinas são empregadas como precursores em sínteses de compostos utilizados pela indústria farmacêutica, além de apresentarem características como: baixa toxicidade, excitação e emissão na região do visível (POOJA et al. 2022; PANDEY et al., 2020).

Desta forma, este trabalho tem como objetivo avaliar algumas das propriedades biológicas das cumarinas, tais como sua atividade larvívica frente ao *Aedes Aegypti*, fungicida e antioxidante.

2.CUMARINAS E SÍNTESE

2.1 CUMARINAS

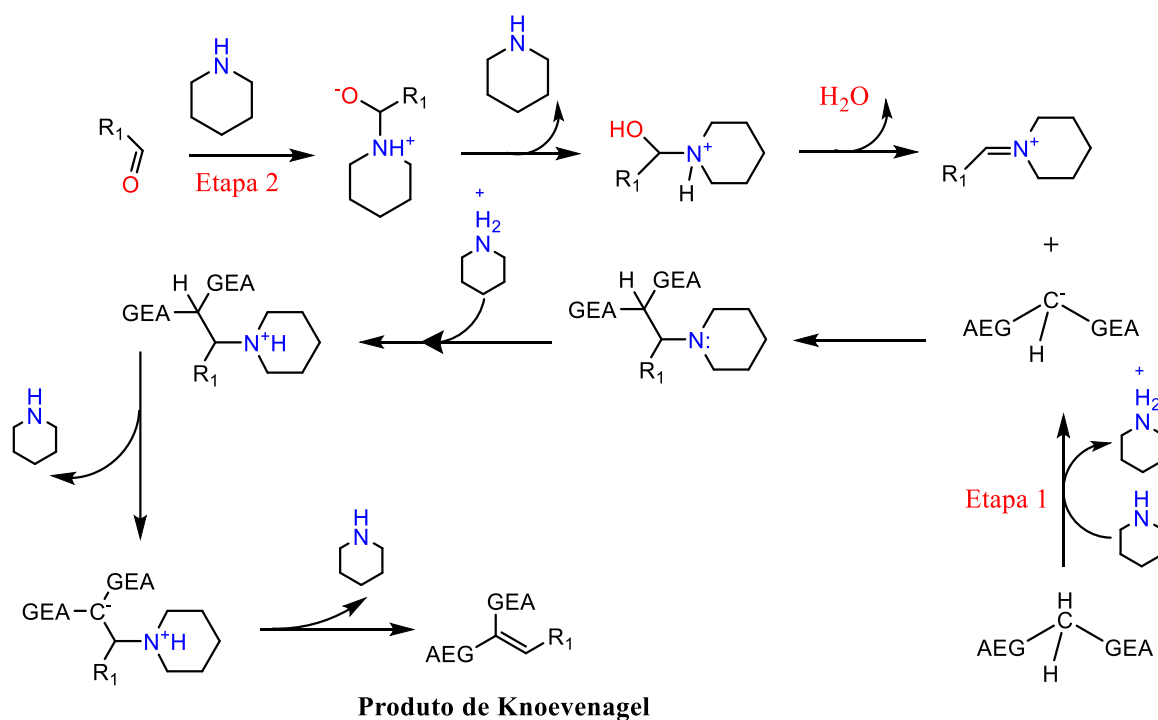
As cumarinas são derivadas do ácido cinâmico, divergindo na ciclização da cadeia lateral do ácido *o*-cumárico. Geralmente, são biossintetizadas nas plantas

como mecanismo de defesa contra organismos invasores, como insetos. Apesar do esqueleto conservado das cumarinas, seus derivados podem exibir variações na estrutura, resultando em uma diversidade que confere inúmeras propriedades biológicas (FAGUNDES et al., 2010).

Inicialmente, as cumarinas foram extraídas da fava tonca ou cumaru por A. Vogel 1822. O nome cumarina teve origem a partir da palavra 'coumarou', uma palavra de origem francesa para fava tonka. Até o presente momento, cerca de 1300 diferentes tipos de derivados de cumarina já foram identificados, com origem majoritária como metabólitos de vegetais.

Devido à sua estrutura versátil e simples, os químicos orgânicos têm sintetizados cumarinas por meio de diferentes metodologias. Entre as metodologias sintéticas, a condensação de Knoevenagel é uma das mais utilizadas na síntese dessa classe, por permitir a obtenção desses compostos em bons rendimentos. Embora muito similar à condensação aldólica, a condensação de Knoevenagel se difere dessa no que concerne à utilização de grupos metilenos ativos. Nesses grupos, os hidrogênios são relativamente mais ácidos, devido ao efeito mesomérico, aumentando a estabilidade da base conjugada (FALCÃO et al., 2021; POOJA et al., 2022).

A primeira proposta mecanística para essa reação (**Esquema 1**) foi feita por Knoevenagel 1896, onde a piperidina desprotona o grupo metileno ativo (etapa 1) e promove um ataque nucleofílico à carbonila do composto carbonílico (etapa 2), resultando na eliminação da água e gerando o íon imínio, que por sua vez sofre um ataque nucleofílico do carbânio levando à formação do aduto de Knoevenagel e seguinte restituição do catalisador utilizado (FALCÃO et al., 2021).

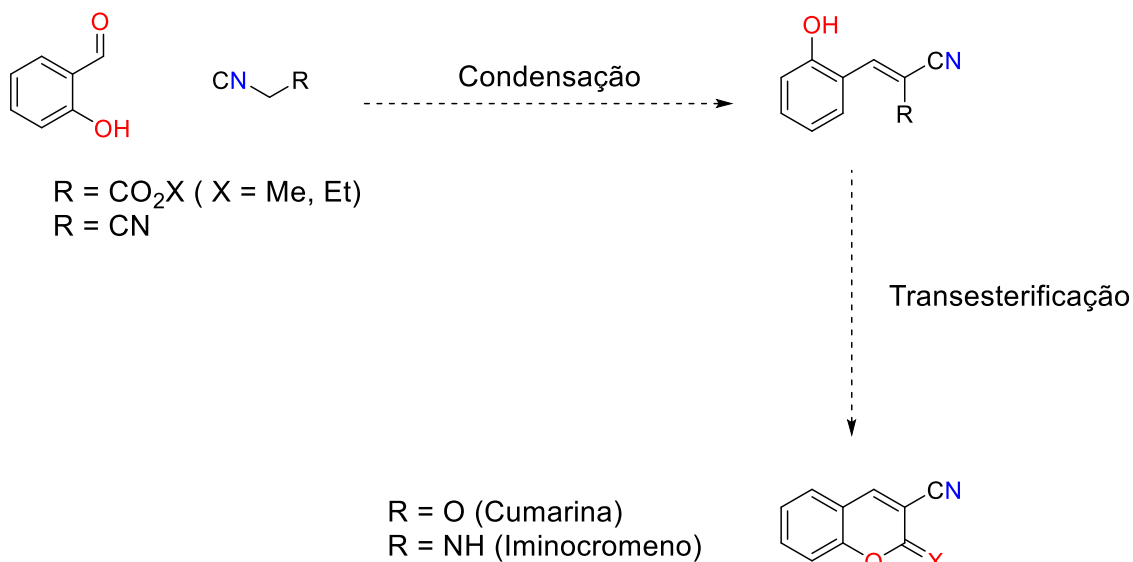
Esquema 1 - Representação da condensação de Knoevenagel.

$R_1 = H$, Grupo alquil ou aril

GEA = Grupo eletroatrator

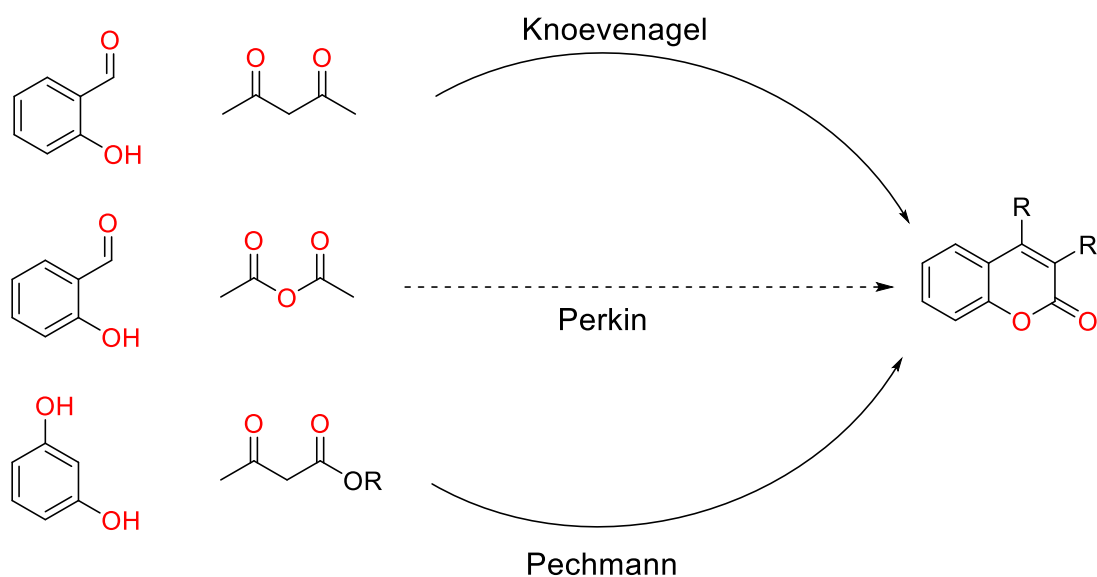
Fonte: Adaptado de FALCÃO et al, 2021.

Usualmente, a síntese de cumarinas ocorre pela reação entre o salicilaldeído e um metileno ativo numa reação sequencial (**Esquema 2**), em que o aduto de Knoevenagel sofre uma transesterificação seguida da ciclização formando a cumarina (KUMAR et al., 2021). Essa metodologia é muitas vezes facilitada por catalisadores homogêneos, como piperidina, pirrolidina, piridina, entre outros. Entretanto, esses catalisadores não são recuperados após a conclusão da reação, resultando em uma considerável geração de resíduos (KOLMYKOV et al., 2016).

Esquema 2 - Formação do aduto de Knoevenagel.**Aduto de Knoevenagel**

Fonte: Autor, 2024.

Outros métodos clássicos da síntese de cumarinas, além da condensação de Knoevenagel, (**Esquema 3**) são as reações de Pechmann que utiliza fenóis e β -cetoésteres, e a reação de Perkin, que consiste na utilização de 2-carboxifenóis e anidrido acético (CUNHA et al., 2015).

Esquema 3 - Métodos sintéticos para formação de cumarinas.

Fonte: Autor, 2024

2.2 *Aedes Aegypti*

O *Aedes aegypti* desempenha um papel crucial na propagação de várias arboviroses, como Dengue, Chikungunya, Zika e febre amarela. Originário da África, o *Aedes aegypti* se dispersou pelo planeta no início do século XVII. Graças à sua notável capacidade de adaptação, o *Aedes aegypti* é hoje, um dos mosquitos com maior dispersão em áreas urbanas no mundo (GARCEZ et al., 2005; SILVA et al., 2004). Aliado a isso, a expansão populacional proporcionou condições favoráveis para a dispersão do *Aedes aegypti*, particularmente devido ao uso indiscriminado de materiais descartáveis. Como resultado, o número de criadouros potenciais para esse vetor aumentou significativamente. O controle do *Aedes aegypti* na fase larval é imprescindível para reduzir as infecções transmitidas por este vetor, por impactar à saúde de muitas pessoas, representando um ônus social e econômico (PORTO et al., 2008; MENDES et al., 2023).

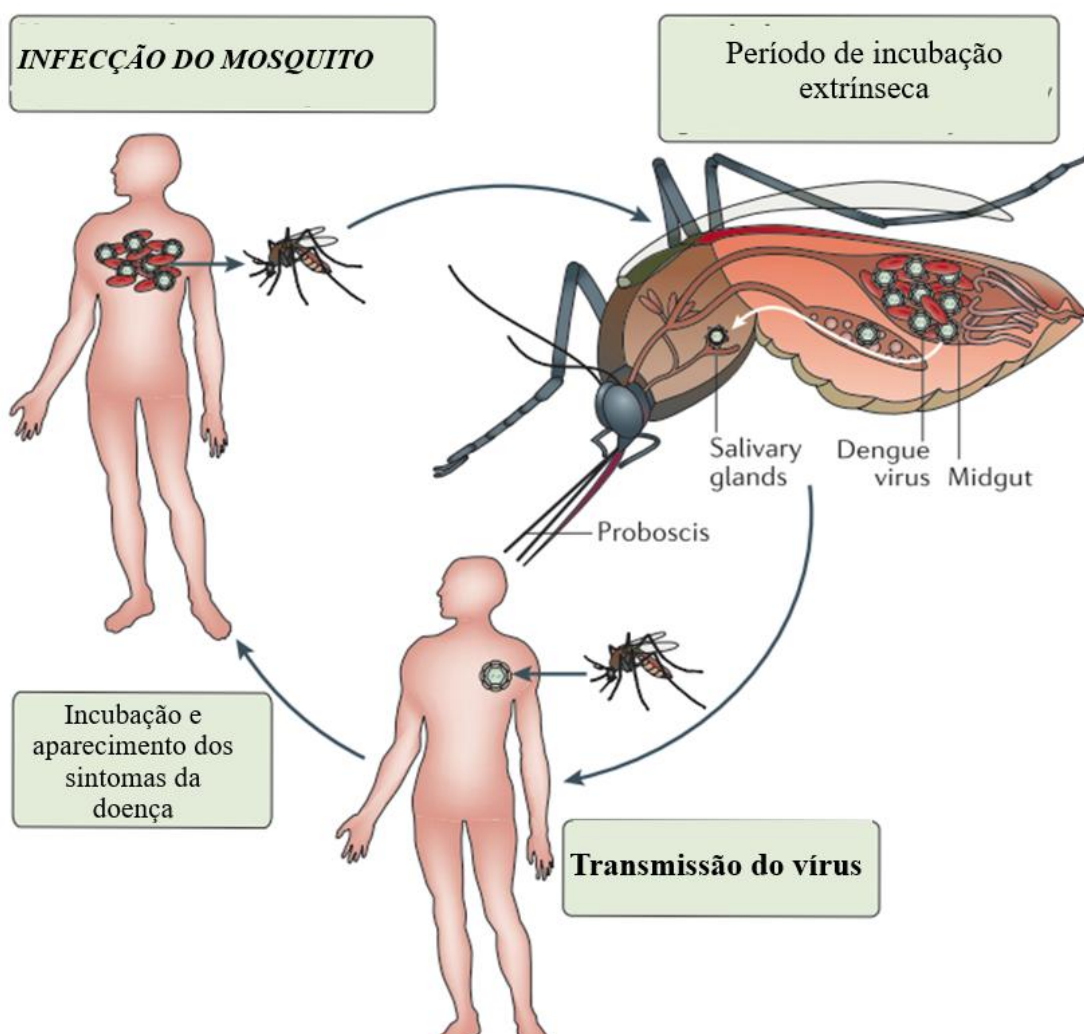
Grande parte das patologias e mortes em todo o mundo ainda são decorrentes de doenças transmitidas por insetos. Estimasse que cerca de 700 milhões de pessoas sofrem de patologias relacionadas a mosquitos, que são vetores de doenças como Dengue, Zika Virus, Chikungunya e malária (VAITHIYALINGAM et al., 2022). A Dengue, uma das mais importantes doenças virais humanas disseminadas por vetores artrópodes do gênero *Aedes*, é uma patologia febril e sistêmica com cerca de 100 milhões de infecções anuais. Até 2016, a dengue emergiu como uma das doenças negligenciadas mais prevalentes globalmente. Com um aumento de mais de 30 vezes nas últimas décadas, essa arbovirose tem se expandido geograficamente, sendo disseminada pelo seu vetor, o *Aedes aegypti*. O vírus da dengue está agora presente em diversas regiões, incluindo o Mediterrâneo, partes da Ásia, Pacífico Ocidental, África e Américas (GUZMAN et al., 2016; CHAVARRPIA et al., 2024).

Existem duas formas da doença, clássica e hemorrágica, ambas relacionadas ao flavivírus. A forma hemorrágica dessa doença tem sido reportada desde o século XVIII. No Brasil, os primeiros relatos de surtos de dengue datam do século XIX. No entanto, a primeira epidemia registrada ocorreu na década de 1980 (GARCEZ et al., 2013). Até o momento, são conhecidos quatro sorotipos virais da Dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4), compostos de RNA de cadeia simples com capacidade de codificação limitada (JAVIDFAR et al., 2020). A infecção por qualquer um dos sorotipos do DENV pode levar desde uma manifestação momentânea até uma

sequência da infecção e pode ser um fator determinante na gravidade dessa patologia. Os sintomas da infecção da dengue podem ser divididos em três fases: a fase aguda ou febril, a fase crítica onde ocorre vazamento de plasma e a fase de reabsorção (RODRIGUES et al., 2021).

A transmissão do vírus da Dengue ocorre por meio de um ciclo endêmico-epidêmico, envolvendo humanos e mosquitos. A infecção do mosquito (**Figura 3**), mais especificamente da fêmea, ocorre quando o mosquito realiza uma 'refeição' de sangue e é exposto ao DENV. Durante a incubação, o vírus afeta inicialmente as células do intestino médio e depois se dissemina para os tecidos do mosquito, infectando as glândulas salivares. Uma vez que essas glândulas salivares estão infectadas, o mosquito pode transmitir o vírus para outra pessoa durante sua alimentação sanguínea. Além disso, o mosquito uma vez infectado, pode transmitir o vírus durante todo o seu ciclo de vida e através dos seus ovos (GUZMAN et al., 2016).

Figura 3 - Ciclo de infecção do mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: Adaptado de GUZMAN et al., 2016.

O Brasil é um dos países com maior ocorrência epidêmica de Dengue e, atualmente, também registra um aumento nos casos de Chikungunya e Zika. (**Gráfico 1**). Entre os macros fatores associados na transmissão da Dengue, destacam-se os fatos de risco socioambientais, que incluem a urbanização desorganizada, as variações climáticas, e a insuficiência na oferta de água potável em domicílios, além da coleta inadequada de lixo, que podem servir como criadouros. Entre os micros fatores, incluem-se os fatores do hospedeiro, do agente e dos vetores (CHAVARRÍA et al., 2024; Dias et al., 2024).

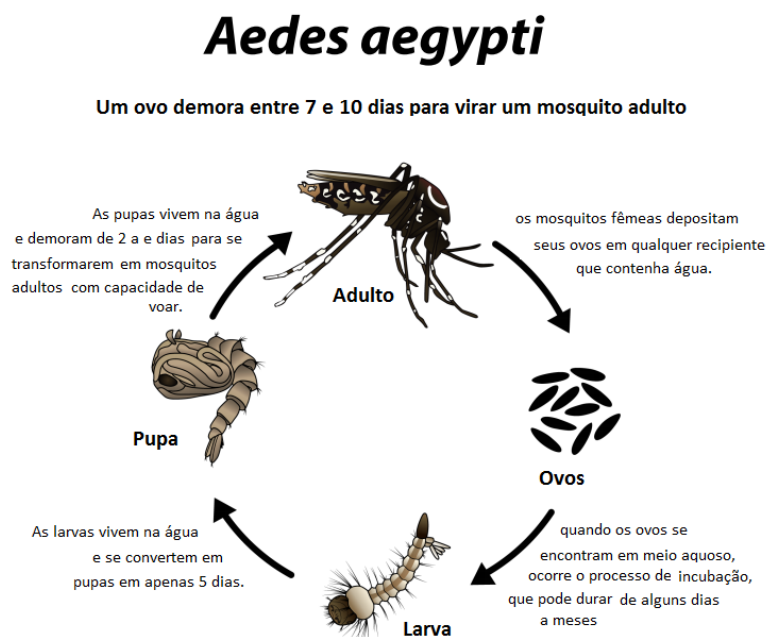
Gráfico 1 - Atualização de casos de arboviroses no Brasil no período entre a semana epidemiológica 1 a 28.



Fonte: Adaptado de SINAN 2024.

O *Aedes aegypti* tem uma associação estreita com seres humanos, especialmente as fêmeas, que possuem comportamento hematofílico. Seus ovos são depositados em recipientes com água, e o ciclo de vida, após a eclosão, dura aproximadamente duas semanas. As larvas do *Aedes aegypti* são altamente adaptáveis e com grande capacidade vetorial. O ciclo de vida do mosquito (**Figura 4**) consiste em quatro fases: 1 - ovo, 2- larva (as quais compreendem 4 estágios larvais), pupas e após 5 a 7 dias os mosquitos adultos emergem e podem viver até 35 dias (MARTINS et al., 2023; CAVALCANTE et al., 2023).

Figura 4 – Ciclo de vida do *Aedes aegypti*.



Fonte: portal.fiocruz.br/pergunta/como-e-o-ciclo-de-vida-do-mosquito-aedes-aegypti.

Portanto, nesse contexto, o combate a esse mosquito que representa um sério problema de saúde pública é contínua, e medidas de controle mais eficazes na tentativa de reduzir as infecções causadas pelo *Aedes aegypti* são mandatórias (RUNDITO *et al.*, 2022; GUZMAN *et al.*, 2016; GARCEZ., 2013).

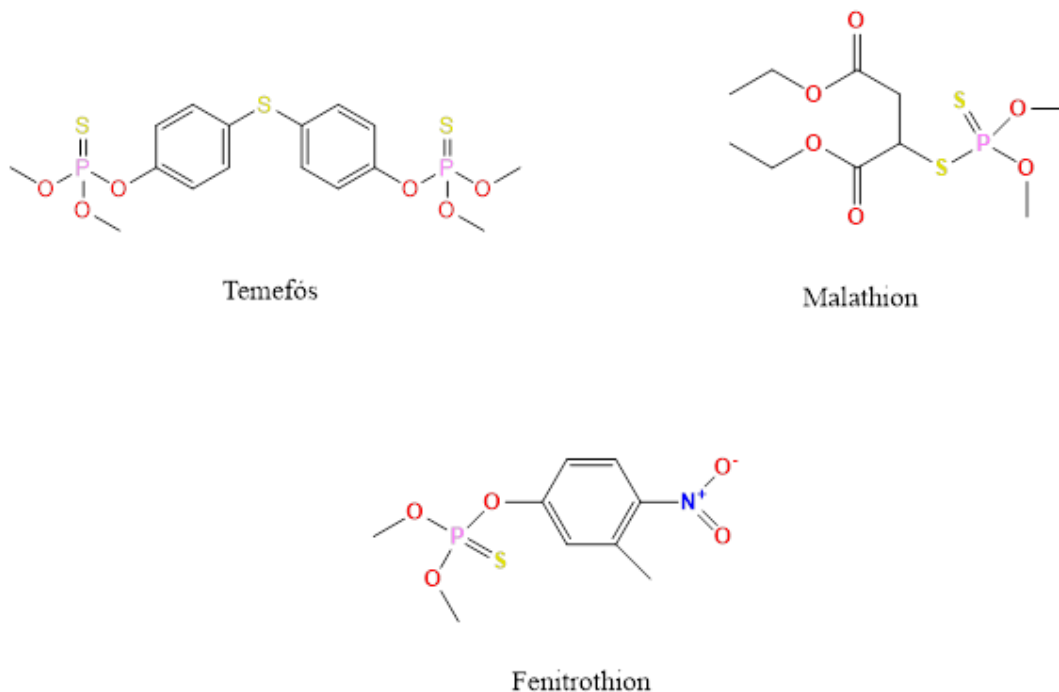
2.3 LARVICIDAS

A erradicação do *Aedes Aegypti* é uma estratégia de controle para conter doenças como Dengue, Zika vírus e *Chikungunya*. Esse controle está diretamente ligado ao uso de larvicidas, por exemplo, o temefós o qual mostra alta eficácia na redução da população desse vetor. No entanto, é importante ressaltar que o uso excessivo do temefós levou ao desenvolvimento de resistência nas larvas (RUNDITO, 2022; GUZMAN *et al.*, 2016).

Até o ano de 2005, a principal forma de controle desse vetor adotada pelos programas de saúde pública era o uso de inseticidas (**Figura 5**) como temefós, malation e fenitrothion. No entanto, a resistência desse vetor aos inseticidas convencionais foi registrada no Brasil e em várias outras partes do mundo. (FURTADO *et al.*, 2005). Outro fator importante está relacionado à permanência prolongada dos

inseticidas no meio ambiente, o que interfere nos ecossistemas. Isso torna necessária a pesquisa de novos inseticidas como alternativas mais sustentáveis (SILVA et al., 2004).

Figura 5 - Estrutura dos larvicidas temefós, malation e fenitrothion.



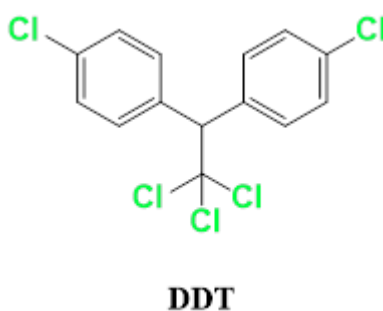
Fonte: Adaptado de FURTADO et al., 2005.

Em regiões propícias à circulação epidêmica de arboviroses, como a Dengue, são necessárias medidas de prevenção e controle dessas arboviroses. Atualmente, as medidas de prevenção (**Figura 6**) como o controle mecânico, são estratégias fundamentais adotadas pela OMS, aliado ao controle biológico, utilizando-se de parasitas, patógenos e predadores naturais. Todavia, o controle químico ainda é considerado como a principal ferramenta utilizada no combate a este vetor, empregando pesticidas químicos como organofosforados, carbamatos e piretróides (ELIDIO et al., 2024).

Figura 6 - Métodos de controle do *Aedes aegypti*.

Fonte: Autor, 2024.

O organoclorado diclorodifeniltricloroetano (**Figura 7**), conhecido como DDT, foi um dos primeiros pesticidas desenvolvidos. Porém, o uso sem controle desse pesticida levou a um processo de bioacumulação, causando impacto negativo ambiental e na saúde humana, além de propiciar o surgimento de uma população de mosquitos resistentes, capazes de transferir essa resistência para os seus descendentes (MARTINS *et al.*, 2023; GARCEZ *et al.*, 2013).

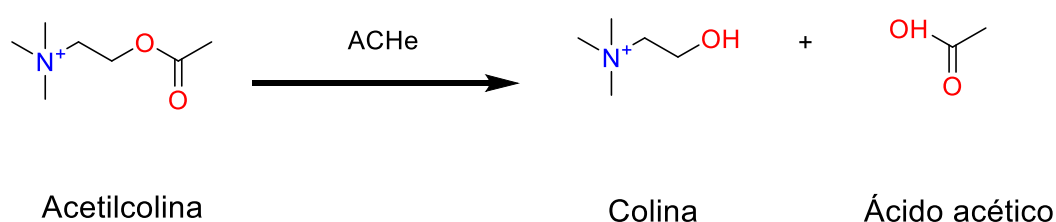
Figura 7 - Estrutura química do Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT).

Fonte: Autor, 2024.

Além disso, outro fator determinante para a resistência aos inseticidas é a possível evolutibilidade das enzimas, podendo ligar-se a diferentes substratos. Os compostos organofosforados e carbamatos têm como mecanismo de ação a inibição da enzima acetilcolinesterase, presente no sistema nervoso (PEREIRA *et al.*, 2023).

Nos organofosforados, essa interação ocorre de forma irreversível no sítio ativo da enzima. A acetilcolinesterase (AChE) é responsável por hidrolisar (**Figura 8**) a acetilcolina, resultando na formação de ácido acético e colina. A acetilcolina, por sua vez, é um importante mediador químico que desempenha um papel crucial nas sinapses dos neurônios colinérgicos tanto no sistema nervoso central quanto no periférico. Com a inibição da acetilcolinesterase, ocorre um aumento nos níveis de acetilcolina nas sinapses, o que leva à paralisia e eventual morte do inseto (GARCEZ et al., 2013).

Figura 8 - Reação de hidrólise da acetilcolina pela acetilcolinesterase.



Fonte: Adaptado de GARCEZ et al., 2013.

Em adicional, a Glutathione S-transferase (GSTs) é uma das enzimas responsáveis por conferir resistência a organoclorados e a carbamatos em espécies como o *Aedes aegypti*. As GSTs apresentam um grande potencial de metabolização de vários compostos. Essas enzimas são associadas ao mecanismo de detoxificação de compostos endógenos e exógenos em organismo eucariotos. Além disso, a capacidade de metabolizar componentes tóxicos como drogas e inseticidas torna essas enzimas complexas (PEREIRA et al., 2023).

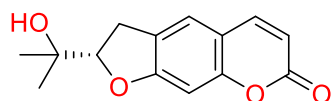
2.4 CUMARINAS LARVICIDAS

Com o aumento do interesse científico em compostos bioativos de fontes naturais, a descoberta de novos fármacos ganhou notável importância. Atualmente, várias pesquisas têm como objetivo identificar e isolar compostos de origem natural para o tratamento de diversas doenças (VAITHIYALINGAM et al., 2022). Diversos produtos naturais já foram testados frente às larvas do *Aedes aegypti*, incluindo ácidos fenólicos, espinosinas, cumarinas, monoterpenóides de óleos essenciais entre outros (GONÇALVES et al., 2023). Todavia, não há elementos suficientes de que essas substâncias possam ser utilizadas de modo eficiente quanto à sua atividade larvicida,

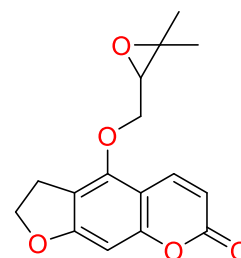
mas não sejam nocivas ao ecossistema (JAVIDFAR et al., 2020).

Em adicional, GARCEZ e colaboradores (2013) descrevem uma série de atividades biológicas atribuídas às cumarinas, entre elas, a atividade larvícida. Em seu trabalho, GARCEZ e colaboradores (2013) atribuem à marmesina e à oxipeucedanina (**Figura 9**), cumarinas provenientes de algumas plantas, um valor de CL_{50} de 0,08 ppm e CL_{100} de 25,00 ppm, respectivamente.

Figura 9 - Estrutura química da Marmesina e Oxipeucedanina.



Marmesina

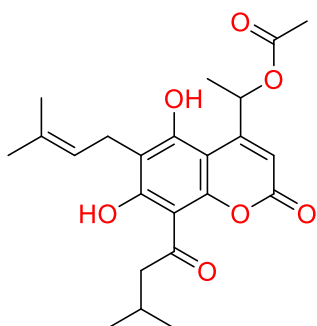


Oxipeucedanina

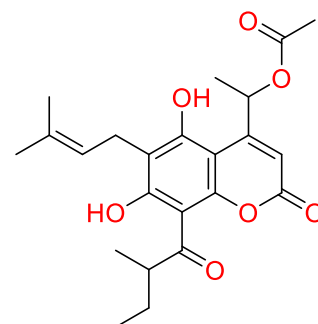
Fonte: Autor, 2024.

Segundo HUSSAIN e colaboradores (2018), os derivados (**Figura 10**) de 4-alquil-5-7-dihidroxicumarina, mammea E/BA e mammea E/Bb, também apresentam atividade larvícida contra larvas de *Aedes aegypti* no quarto estágio, com um valor de CL_{50} de 5,9 ppm.

Figura 10 - Estrutura química da mammea E/BA e mammea E/Bb.



Mammea E/BA

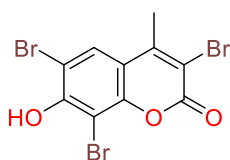


Mammea E/BB

Fonte: Adaptado de Hussain et al., 2018.

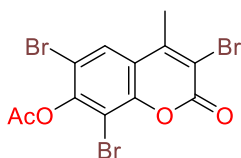
Outras cumarinas isoladas do fruto de *Cnidium monnieri* (**Figura 11**) também mostraram atividade larvica contra as larvas do *Aedes aegypti*. A 4-metil-cromen-2-ona apresentou uma promissora atividade larvica contra larvas do quarto estágio, com um valor de LC_{50} de 2,23 ppm. Além disso, o acetato de 3,6,8-tribromo-4-metil-2'-oxo-2H-cromen-7-il demonstrou uma redução de até 85% na eclosão de ovos do mosquito, utilizando uma concentração de 100 ppm (KISHORE; et al., 2013).

Figura 11- Estrutura da 4-metil-cromen-2-on e acetato de 3,6,8-tribromo-4-metil-2'-oxo-2H-cromen-7-il respectivamente.



4-metil-cromen-2-ona

CL_{50} de 2,23 ppm

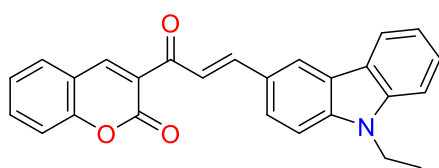


Acetato de 3,6,8-tribromo-4-metil-2'-oxo-2H-cromen-7-il

Redução de 86% na
eclosão dos ovos

Fonte: Adaptado de KISHORE et al., 2013.

SHAO e colaboradores (2018) sintetizaram uma série de híbridos de carbazol cumarinas, e seus testes revelaram que o híbrido de cumarina-carbazol apresentou uma excelente atividade larvica, com um valor de CL_{50} de 0,02 ppm (**Figura 12**).

Figura 12 - Derivados de cumarina-carbazol com atividade larvícida

CL₅₀ - 0,02 ppm

(E)-3-(3-(9-etil-9H-carbazol-3-il)acrilóil)-2H-cromen-2-ona

Fonte: Adaptado de Shao et al., 2018

Nesse contexto, torna-se necessária a busca por novos compostos capazes de atuar como inseticidas de maneira eficaz e eficiente. Uma vez que os relatos na literatura fortalecem a utilização de cumarinas como larvicidas, o presente trabalho tem como objetivo a obtenção de novos derivados visando sua atividade larvícida.

2.5 MODELOS *IN SILICO*

Um dos principais objetivos em pesquisas relacionadas à química medicinal, é formação de um banco de dados com compostos e sua ação biológica específica detalhada. Nesse sentido, a crescente necessidade de processos com um mínimo de etapas sintéticas possíveis e de baixo custo torna-se um obstáculo para os químicos sintéticos (LOHNING et al., 2017). Neste contexto, a modelagem molecular é amplamente utilizada na tentativa de descobrir e desenvolver novos fármacos. Os estudos que buscam avaliar as propriedades farmacocinéticas de novos compostos bioativos originaram uma gama de novos fármacos, reforçando a importância dos estudos *in silico* (RODRIGUES et al., 2021).

Os modelos *in silico* são métodos computacionais e matemáticos que buscam otimizar estruturas com maior potência de desenvolvimento. Durante a fase de otimização da estrutura do protótipo, é possível compreender e identificar os diferentes níveis de contribuição. Além disso, pode-se antecipar o reconhecimento molecular pelo alvo selecionado, com o objetivo de melhorar a eficácia e seletividade, reduzir a toxicidade e estabelecer uma relação estrutura-atividade (LIMA et al., 2007).

Esses modelos permitem avaliar propriedades físico-químicas consideráveis para a ação farmacológica. A regra de Lipinski surgiu por volta de 1997 com objetivo de traçar um padrão físico-químico de substâncias através de seus descritores. Embora a regra de Lipinski seja conhecida como a regra dos 5, ela não se refere à avaliação de cinco descritores, mas sim a valores de referência que são múltiplos de

5. Entre as propriedades físico-químicas que podem interferir no perfil farmacocinético de uma molécula, incluem-se: peso molecular (MW), número de anéis (nRig), carga formal (fChar), número de heteroátomos (nHet), número de átomos no maior anel (MaxRing), número de anéis (nRing), número de ligações rotacionáveis (nRot), área de superfície polar topológica (TPSA), número de doadores e aceptores de ligação de hidrogênio (nHD e nHA), coeficiente de lipossolubilidade (LogP), LogP em pH fisiológico 7.4 (LogD), e Log da solubilidade aquosa (LogS) (OLIVEIRA et al., 2022; RODRIGUES et al., 2021).

Desta forma, o reconhecimento de alvos em sistemas biológicos é de fundamental importância, pois ele é responsável pelo entendimento de diversas propriedades. Representações mais realistas de sistemas biológicos, bem como a capacidade de prever com acurácia as interações entre um alvo biológico e um ligante tornam as técnicas de modelagem mais atrativas para os pesquisadores. Todavia, se faz necessário integrar os estudos *in silico* e *in vivo* para obter resultados mais promissores.

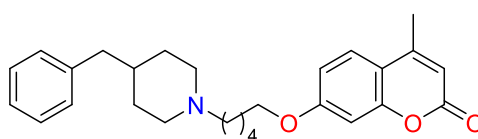
Até meados dos anos 60, os primeiros estudos relacionando estrutura e atividade foram publicados, sendo essas análises realizadas utilizando equações deduzidas manualmente. Atualmente, as técnicas de modelagem molecular são classificadas em dois grupos: modelos baseados na física quântica e modelos que não se baseiam nela. Entre os modelos baseados na física quântica, temos os métodos *ab initio*, que se fundamentam unicamente nas aproximações da equação de Schrödinger, considerando apenas o sistema eletrônico e desconsiderando dados experimentais. Além disso, temos os métodos semi-empíricos, que, além das aproximações da equação de Schrödinger, também incorporam parâmetros experimentais (ALVES et al., 2017; LOHNING et al., 2017).

Recentemente, os softwares dedicados a avaliar características farmacocinéticas *in silico* ganharam notoriedade. Esses softwares se baseiam em modelos matemáticos complexos e permitem avaliar a cinética além de prever características não desejadas em um composto candidato a fármaco. Essas características fazem que a utilização dos modelos *in silico* seja uma importante ferramenta no planejamento racional de compostos bioativos, graças a capacidade do processamento de dados em quantidade além de reduzir custos e tempo de pesquisa. (SILVA et al., 2020; LOHNING et al., 2017).

De modo geral, o entendimento dos parâmetros farmacocinéticos e

toxicológicos de um composto em estudo se mostra essencial no processo de desenvolvimento de fármacos. Em seu trabalho, KECEL-GUNDUZ e colaboradores (2023) projetaram um híbrido de cumarina (**Figura 13**) com piperidina como substituinte, no qual foram calculados parâmetros de lipofilicidade. A lipofilicidade está diretamente relacionada à permeabilidade gastrointestinal, à passagem pela barreira hematoencefálica e à ligação com proteínas plasmáticas.

Figura 13 - Derivado de cumarina projetado com parâmetros *in silico*.



7-((5-(4-benzylpiperidin-1-yl)pentyl)oxy)-4-methyl-2H-chromen-2-one

Fonte: Adaptado de KECEL-GUNDUZ et al., 2023.

2.6 ANTIOXIDANTES

A oxidação em sistemas biológicos é decorrente de um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, levando a uma interrupção da sinalização redox e controle e/ou dano molecular (SIES et al., 2017). Estas espécies altamente reativas, quando em desequilíbrio, são responsáveis por efeitos destrutivos em estruturas como proteínas, DNA e lipídios, gerando dano celular. As células danificadas podem resultar em um desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, denominado estresse oxidativo, resultando na indução de danos celulares potencialmente levando à morte celular (BULBOLS et al., 2013; SOARES et al., 2002; BIANCHI et al., 1999).

Além disso, o estresse oxidativo ocasionado pela geração de radicais é um dos principais fatores relacionados ao aparecimento de doenças crônicas humanas (WITAICENIS et al., 2014). Dessa forma, as substâncias antioxidantes desempenham um papel fundamental como fator de proteção à saúde (AL-MAJEDY et al., 2016).

Substâncias antioxidantes podem ser definidas como qualquer substância que, em baixas concentrações, é capaz de reduzir ou até mesmo inibir a oxidação de um substrato de maneira eficaz, neutralizando os efeitos nocivos dessas espécies

reativas. Dessa forma, elas previnem doenças crônicas relacionadas ao estresse oxidativo (FYLAKTAKIDOU et al., 2004; WITAICENIS et al., 2014). Relatos em literatura (KOSTOVA et al., 2011; BULBOLS et al., 2013) descrevem o uso de cumarinas na redução da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS).

2.7 FUNGICIDA

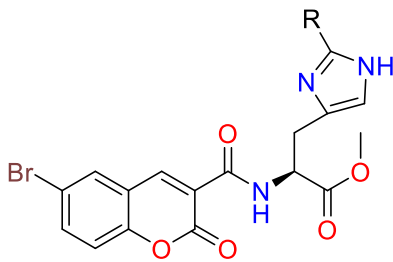
O aumento na incidência de infecções causadas por fungos demonstra a importância desse tópico para a saúde global, uma vez que diversas espécies estão associadas a inúmeras doenças. Essas infecções fúngicas representam a invasão de tecidos, afetando órgãos e podendo até mesmo se espalhar pelo sangue (NOGUEIRA et al., 2023). O *C. albicans* é uma espécie de fungo que é capaz de colonizar superfícies da mucosa oral e se tornar um patógeno, ocasionando infecções graves, como a candidíase oral (PHUMAT et al., 2020).

Dados recentes do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) demonstram um aumento no número de casos relacionados à resistência a medicamentos antifúngicos. Diante desse, torna-se necessário descobrir e desenvolver novos medicamentos antifúngicos (ATRIWAL et al., 2021).

Diversos compostos de origem natural foram estudados quanto à sua atividade como agentes antimicrobianos e antioxidantes naturais, entre eles as cumarinas (RADITHIA et al., 2023). Desde 1962, estudos demonstram a utilização de cumarinas e seus derivados como fungicidas de origem natural. Dentre esses compostos, a escopoletina, que apresentou capacidade de inibir o crescimento do *Fusarium solani* (JURD et al., 1971).

NESHAT e colaboradores (2024) relatam o uso de derivados de cumarina contendo histidina em sua estrutura (**Figura 14**) em um ensaio antimicrobiano frente ao *C. neoformans* e *C. albicans*. Esses derivados exibiram atividade de boa a moderada, com o melhor derivado apresentando IC₅₀ de 0,27 µg/mL contra *C. neoformans* e 1,1 µg/mL contra *C. albicans*.

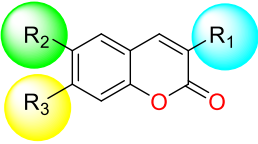
Figura 14 - Derivados de cumarina-histidina fungicidas.



Fonte: Adaptado de Neshat et al., 2024.

PRABHALA e colaboradores (2022) consideram o esqueleto cumarínico um importante farmacóforo e relatam uma série de derivados (**Tabela 1**) de cumarina com atividade antimicrobiana.

Tabela 1 – Derivados de cumarina com atividade antimicrobiana.

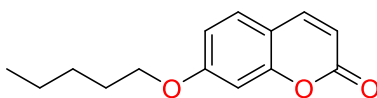
	R ₁	R ₂	R ₃	C. Albicans*
	3,4,5-(OMe)3-ph	H	H	1
	4-OMe-ph	OMe	H	2
	2-Br-4-OMe-pH	Br	H	4

*Atividade antifúngica in vitro [MIC's em (µg/mL)] de análogos de cumarina

Fonte: Adaptado de Prabhala et al. (2022).

Em um estudo realizado por Nogueira e colaboradores (2023), o derivado 7-(pentiloxi)-2H-cromen-2-ona (**Figura 15**) apresentou grande estabilidade *in silico* com a 14-α-desmetilase. Além disso, demonstrou atividade fungicida contra cepas de espécies de Candida, avaliadas por meio de um mecanismo de ação na membrana plasmática envolvendo ergosterol, que impediu o crescimento fúngico por pelo menos 24 horas.

Figura 15 – Estrutura da 7-(pentiloxi)-2H-cromen-2-ona



7-(pentyloxy)-2*H*-chromen-2-one

Fonte: Autor, 2024.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

Planejar e sintetizar uma série de derivados de cumarínicos, seguido da avaliação do potencial antioxidante, larvicida e antifúngico.

3.2. ESPECÍFICO

- I. Elaborar o estudo *in sílico* das cumarinas;
- II. Sintetizar uma série de cumarinas pela reação de Knoevenagel;
- III. Avaliar a atividade larvicida frente às larvas do 4º estágio;
- IV. Avaliar a atividade antioxidante e antifúngica dos derivados sintetizados.

4. EXPERIMENTAL

O trabalho se desenvolveu no Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Materiais e Compostos Bioativos (LMC) IQB/UFAL, Laboratório de Eletroquímica e Estresse Oxidativo (LEEO) IQB/UFAL, Laboratório de Diversidade e Biotecnologia Microbiana – ICBS/UFAL. Na sua execução utilizou-se reagentes, solventes, equipamentos e técnicas espectroscópicas para a síntese e caracterização dos derivados de cumarinas. Todos são descritos a seguir, assim, como a síntese e avaliação da atividade biológica.

4.1. REAGENTES, SOLVENTES E CONDIÇÕES

4.2. ESTUDOS *IN SILICO*

As propriedades físico-químicas das moléculas foram obtidas utilizando a ferramenta online SWISS ADME. Onde foi possível determinar massa molecular (MW); coeficiente de partição (CLogP); número de aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) e doadores (DLH); número de ligações rotativas (LRo); número de ligações aromáticas (LAr). Tais propriedades estão intimamente relacionadas à hidrofilicidade, à lipofilicidade, à solubilidade, à permeabilidade e à flexibilidade, bem como à fotoestabilidade

As estruturas foram desenhadas utilizando o software MarvinSketch® em seguida tiveram sua geometria otimizadas por meio do software Spartan utilizando o modelo semi-empírico AM1 e salvas no formato. mol2.

As análises de docking molecular foram preformadas utilizando-se o software GOLD disponibilizado pela CAPES. As proteínas foram tratadas com a adição dos hidrogênios polares e posterior remoção de moléculas de água. Em seguida, foi utilizada a função de pontuação ChemPLP em um raio de busca de 6 Å.

4.3. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e Carbono (RMN ^{13}C) utilizando a técnica DEPT 135 foram realizadas pelo Núcleo de Análises e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN) em um equipamento Bruker com frequência de 600 e 400 MHz. Utilizou-se na preparação das amostras clorofórmio delterado (CDCl_3) e DMSO deuterado, adquirido

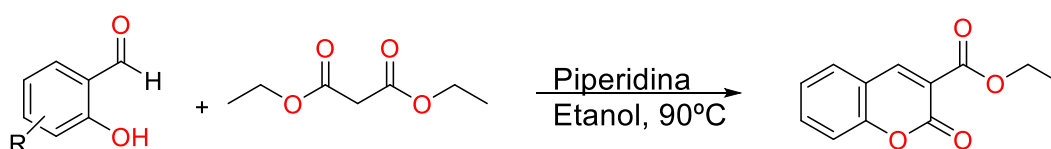
comercialmente pela Cambridge Isotope Laboratories. As multiplicidades dos sinais dos hidrogênios nos espectros de RMN de ^1H foram indicadas segundo a convenção: singlete (s), singlete alargado, dubleto (d), duplo dubleto (dd), tripleto (t), quarteto (q) e multipeto (m). Os espectros de Infravermelho (IV) foram obtidos em um aparelho Shimadzu IR PRESTINGE.

4.4. SÍNTESES

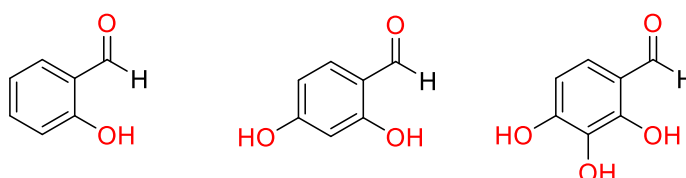
Síntese dos 3-carboxilato (A_1 , A_2 , A_3).

Em um balão de fundo redondo de 5 mL, foram adicionados (**Esquema 4**) 200 mg (1,44 mmol) de 2,4 -dihidroxibenzaldeído, 4 mL de etanol absoluto. Em seguida, foram adicionados 217 μL (1,42 mmol) de malonato de dietila e 13 μL (0,13 mmol) de piperidina. Após a adição dos reagentes, a mistura reacional foi agitada a 90°C e deixada em refluxo overnight. O decorrer da reação foi acompanhado por CCD (Hex:OAc 8:2), após o consumo dos reagentes, o balão foi resfriado à temperatura ambiente e o precipitado formado foi lavado com acetato de etila. O sólido obtido foi purificado por recristalização em acetato de etila a quente, sendo obtido um sólido de coloração marron em 74% de rendimento.

Esquema 4 - Síntese dos 3-carboxilatos (A_1 , A_2 , A_3).



Aldeídos a serem utilizados



Fonte: Autor, 2024.

7-hidroxi-2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila (A_2).

Sólido marrom, ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 11,11 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 7,76 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,85 (dd, J = 8,6; 2,2 Hz, 1H), 6,74 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 4,26 (q, J = 7,1

Hz, 2H), 1,30 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (DMSO) δ 164,5, 163,4 157,6 156,9 149,93 132,6 114,46 112,5 110,9 102,3 61,3 14,6.

7,8-di-hidroxi-2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila (A₃).

Sólido laranja, ^1H NMR (CDCl_3) δ 1,30 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 4,26 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 6,87 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,27 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 8,63 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 14,3 61,0 111,4 112,1 113,5 121,8 132,0 145,1 150,2 152,8 156,6 163,2.

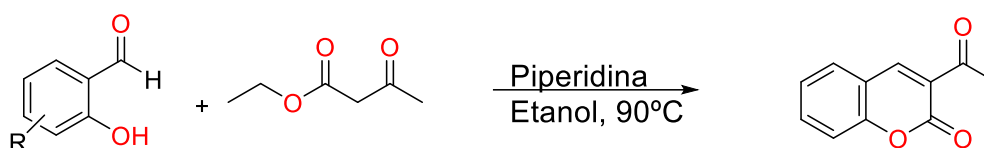
2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila (A₁)

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,42 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3), 4,4 (q, 2H, $J = 7,2$ Hz, OCH_2), 7,32-7,36 (m, 2H), 7,61- 7,69 (m, 2H), 8.51 (s, 1H). ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 14,08 61,82 116,56 117,70 118,06 124,72 129,40 134,23 148,49 154,97 156,60 162,86 ppm.

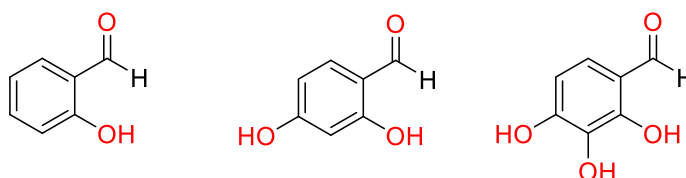
Síntese dos 3-acetil (B₁, B₂, B₃).

3-acetil-2H-cromen-2-ona (B₁)

Em um balão de fundo redondo de 5 mL foram adicionados (**Esquema 5**) 149 μL (1,4 mmol) 2-hidroxibenzaldeído, 4 mL de etanol absoluto. Em seguida, foram adicionados 200 μL (1,39 mmol) de acetoacetato de Etila e 13 μL (0,13 mmol) de piperidina. Após a adição dos reagentes, a mistura reacional foi agitada a 90° C e deixada em refluxo overnight. O decorrer da reação foi acompanhado por CCD (Hex:OAc 8:2), após o consumo dos reagentes, o balão foi resfriado à temperatura ambiente e o precipitado formado foi lavado com acetato de etila. Os sólidos obtidos foram purificados por recristalização em acetato de etila a quente, sendo obtido um sólido de coloração branca em 40% de rendimento. ^1H NMR (DMSO-d_6): δ 2,51 (s, 3H, CH_3), 7,32– 7,95 (m, 4H), 8.65(s,1H).

Esquema 5 - Síntese dos 3-acetil (B₁, B₂, B₃).

Aldeídos a serem utilizados



Fonte: Autor, 2024.

3-acetil-7-hidroxi-2H-cromen-2-ona (B₂)

Sólido amarelo, ^1H NMR δ (DMSO- d_6): 11,14 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 7,78 (d, 1H, $J = 8,85$ Hz), 6,84 (d, 1H, $J = 8,87$ Hz), 6,75 (s, 1H, H₉), 2,55 (s, 3H); ^{13}C -NMR δ (ppm, DMSO- d_6), 195,15 (C=O), 164,60 (C2), 159,52 (C10), 157,60 (C8), 148,18 (C4), 133,31 (C3), 119,62 (C6), 114,66 (C7), 111,15 (C5), 102,36 (C9), 30,35 (CH₃).

3-acetil-7,8-di-hidroxi-2H-cromen-2-ona (B₃)

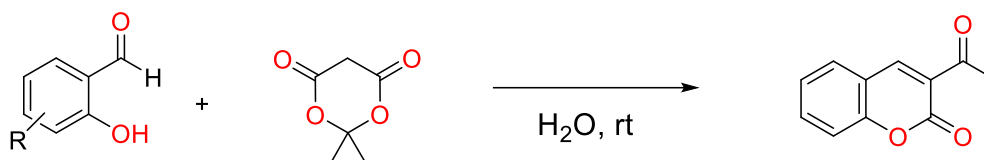
^1H NMR (DMSO) δ 10,71 (s, 1H), 9,60 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,31 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 2,57 ppm (s, 3H); ^{13}C NMR (DMSO) δ 195,26 159,50 153,14 148,95 145,41 132,27, 122,75 119,46 113,92 112,02 30,58 ppm.

Síntese dos 3-carboxilato (C₁, C₂, C₃).**Ácido 7,8-di-hidroxi-2-oxo-2H-cromeno-3-carboxílico (C₃)**

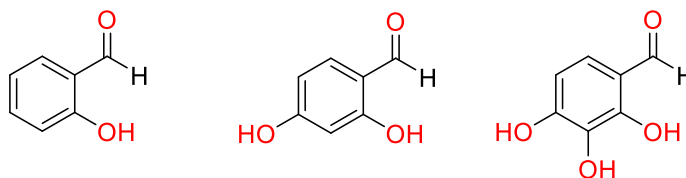
Em um balão de fundo redondo de 5 mL foram adicionados (**Esquema 6**) 80 mg (0,5 mmol) de 2,3,4-trihidroxibenzaldeído, 5 mL de água destilada. Em seguida, foram adicionados 100 mg (0,7 mmol) de ácido de meldrum. Após a adição dos reagentes, a mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente e deixada overnight. O decorrer da reação foi acompanhado por TLC (Hex:OAc 8:2), após o consumo dos reagentes, o precipitado formado foi lavado com água destilada gelada. Os sólidos obtidos foram secos em estufa a 60° C, sendo obtido um sólido de coloração

alaranjada em 34% de rendimento. ^1H NMR (DMSO) δ 8,42 (s, 1H) 7,17 (d, $J=8,6$ Hz, 1H) 6,79 (d, $J=8,5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (DMSO) δ 166,11 159,87 155,84 147,92 144,41 132,74 122,04 114,65 112,72 111,29.

Esquema 6 - Síntese dos 3-ácidocarboxílico (C_1 , C_2 , C_3).



Aldeídos a serem utilizados



Fonte: Autor, 2024.

Ácido 7-hidroxi-2-oxo-2H-cromeno-3-carboxílico (C_2)

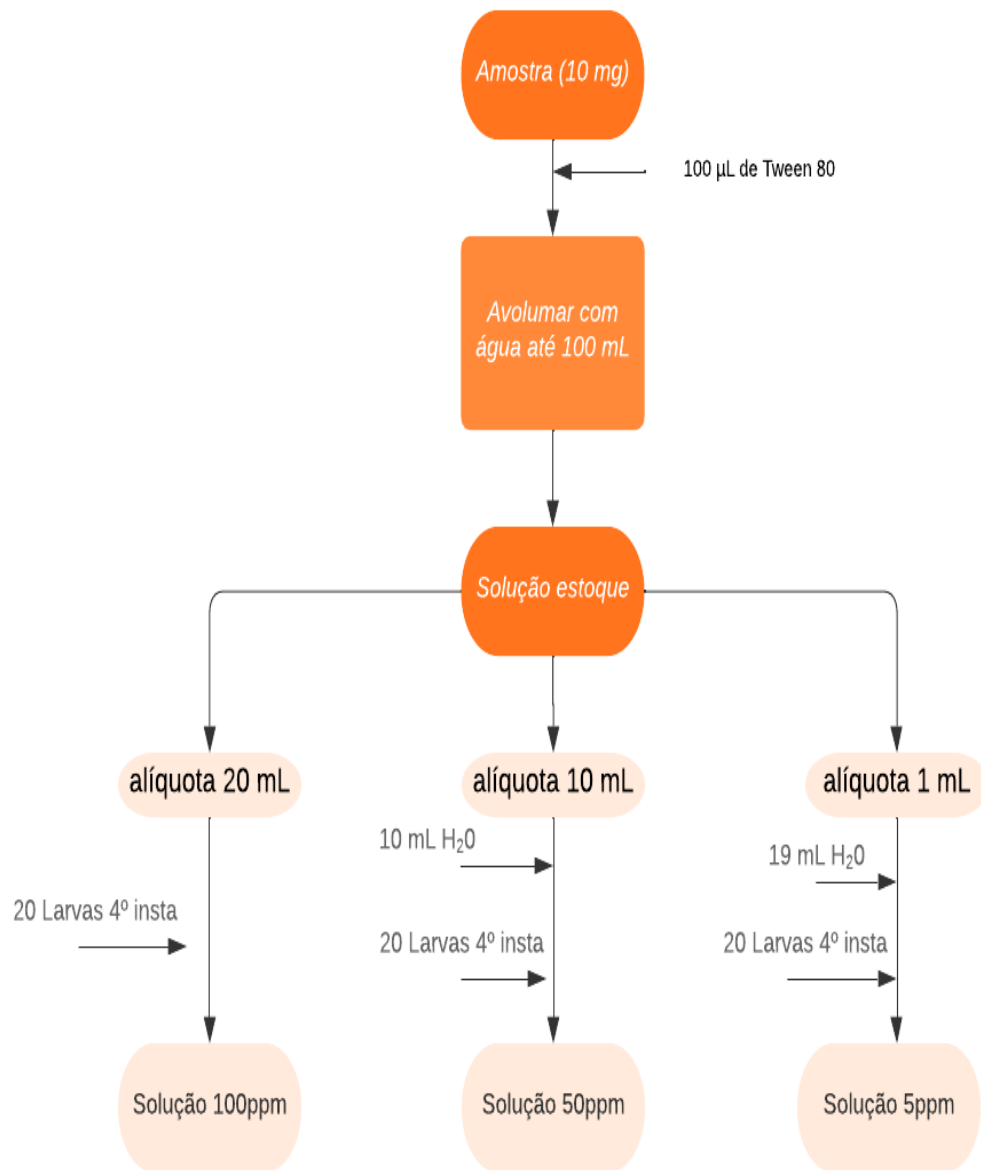
^1H NMR (DMSO- d_6) δ 12,89 (s, 1H), 11,07 (s, 1H), 8,68 (s, 1H), 7,75 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 6,84 (dd, $J = 8,6, 2,2$ Hz, 1H), 6,74 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H). ^{13}C NMR (DMSO) δ 164,7 164,4 158,00 157,5 149,9 132,5 114,5 113,0 111,1 102,3.

Ácido 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxílico (C_1)

Sólido branco RMN ^1H (DMSO- d_6): δ 7,28-7,33 (2H, m); 7,52-5,56 (1H, m); 7,71 (1H, dd, J 1,0 Hz J 7,5 Hz); 8,01 (1H, s). RMN ^{13}C (DMSO- d_6): δ 116,1 (CH); 119,7 (C); 124,5 (CH); 128,9 (CH); 129,6 (CH $_2$); 131,6 (CH); 139,8 (CH); 153,7 (C); 158,8 (C); 166,0 (C).

4.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA

Os vetores foram mantidos à temperatura de 27 ± 2 °C e $80 \pm 4\%$ de umidade, em água isenta de cloro, por um fotoperíodo de 12h. As larvas foram alimentadas com ração Friskies® durante todo o seu desenvolvimento. Os bioensaios foram realizados sob uma abordagem qualitativa e em triplicata (**Esquema 7**). Para os testes qualitativos foram aplicadas as concentrações de 100 µg/mL, 50 µg/mL e 5 µg/mL, empregando-se larvas do quarto estágio (L4). Para tanto, a solução estoque foram preparadas diluindo-se as amostras em 100 µL de Tween 80, seguida da adição de água destilada até completar um volume de 100 mL. Posteriormente, alíquotas de 20 mL da solução teste foram transferidas para recipientes descartáveis de 50 mL, por último 20 larvas foram adicionadas.

Esquema 7 - metodologia aplicada nos bioensaios.

Fonte: Autor, 2024.

4.6. ANTIOXIDANTE

MÉTODO: DPPH•

A determinação da capacidade antioxidante dos compostos derivados de cumarinas foi realizada de acordo com SÁNCHEZ-MORENO e colaboradores (1999), com algumas modificações. A solução etanólica dos compostos foram preparadas na concentração de 1000 µM. No preparo das misturas reacionais foram utilizados 30 µL da solução da amostra e 270 µL da solução metanólica de DPPH• a 40 µg mL⁻¹. A avaliação da capacidade antioxidante foi determinada monitorando-se a redução do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) a DPPH-H (difenil-picril-hidrazina), através da medida do decréscimo da absorvência a 516 nm, em espectrofotômetro. A percentagem da atividade sequestradora de radicais (ASR) de cada extrato foi calculada através da **Eq. 1**, no tempo reacional de 30 minutos.

$$\%ASR = \left[\frac{(Abs_{controle} - Abs_{amostra})}{Abs_{controle}} \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, Abs_{controle} é a absorvência inicial da solução metanólica de DPPH• e Abs_{amostra} é a absorvência da mistura reacional (DPPH• + amostra). As reações foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como % ASR média ± desvio padrão. A concentração inibitória IC₅₀ (definida como concentração da amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH•), avaliada para os compostos, foram obtidas graficamente através da curva analítica na faixa (12 – 102 µM), da concentração versus o percentual de inibição correspondente. A curva foi construída a partir do programa Origin 8.0 e o ensaio foi realizado em triplicata.

MÉTODO: FRAP

A determinação da capacidade antioxidante por redução do ferro (III) foi realizada de acordo com o procedimento descrito por BENZIE e colaboradores (1996), com algumas modificações. Uma alíquota de 90 µL da solução dos compostos (150 µM) foi transferida para tubos de ensaio, junto com 270 µL de água deionizada e 2,7 mL do reagente FRAP, que foi preparado no momento da análise, por meio da mistura de 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 2,5 mL de solução TPTZ (10 mM em

HCl 40 mM) e 2,5 mL da solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mM). Em seguida, os tubos com tampas foram mantidos em banho-maria a 37 °C durante 30 minutos. As medidas de absorvência foram realizadas em espectrofotômetro a 595 nm. O reagente FRAP foi utilizado como branco. Utilizou-se o padrão Trolox para a construção da curva de analítica (0,15 – 30,15 μM) e os resultados foram expressos em mM de equivalentes trolox (ET) / mol de cada composto.

ENSAIO: SOD

O potencial do extrato etanólico e do composto puro em sequestrar $\text{O}_2^{\cdot-}$ foi determinada a partir do método descrito por Lucas e colaboradores (2021), com algumas modificações. Este método baseia-se na redução da sonda NBT a formazan (roxo) pelos $\text{O}_2^{\cdot-}$, os quais são gerados a partir da oxidação de NADH em um sistema não enzimático, NADH/PMS. Assim, numa placa de 96 poços foram adicionadas as seguintes soluções nas concentrações finais indicadas: 50 μL de A_1 , A_2 , A_3 , C_1 , C_2 e C_3 (μM), 50 μL de NADH (166 μM), 150 μL de NBT (43,3 μM) e 50 μL de PMS (2,7 μM). NADH, NBT e PMS foram dissolvidos em tampão fosfato (19 mM, pH 7,4). Paralelamente, conduziu-se um controle negativo, substituindo o extrato por etanol; um controle positivo substituindo o extrato por quercetina; e um branco, substituindo extrato por etanol e PMS por tampão. Os resultados foram obtidos pela leitura de 2 min de incubação, a 37 °C e a 560 nm. Cada estudo corresponde a quatro experimentos realizados em triplicata. Os resultados foram expressos como a inibição (em porcentagem) da redução do NBT a formazan induzida pelo superóxido.

ENSAIO: HOCl

A determinação da capacidade antioxidante dos compostos foi determinada de acordo com Lucas e colaboradores (2021). Inicialmente, as soluções etanólicas da amostra e do controle positivo (quercetina) foram preparados na faixa de concentração de 1,6 – 50 μM e 6,25 – 200 μM , respectivamente. No preparo da mistura reacional foram colocadas alíquotas na microplaca, em triplicata, de 50 μL da solução dos compostos, 50 μL da solução de DHR (dihidrorodamina), 150 μL da solução tampão e 50 μL da solução de HOCl (ácido hipocloroso). A concentração de HOCl foi determinada espectrofotometricamente a 235 nm. As soluções de DHR (5

μM) e HOCl ($5 \mu\text{M}$) foram preparadas utilizando o tampão fosfato de sódio (100 mM , pH 7,4), preparado previamente, e armazenadas em gelo e na ausência de luz, devido à rápida oxidação desses compostos. Para o branco, utilizou-se a reação na ausência de HOCl e da amostra, para o controle negativo foi usada a mistura reacional sem a presença da amostra. A capacidade de captação do ácido hipocloroso foi determinada por espectrofluorimetria, usando leitor de microplacas, com excitação em 505 nm e emissão em 530 nm , em temperatura de 37°C . Os resultados foram expressos como a percentagem de inibição da oxidação da DHR, induzida pelo HOCl.

4.7. ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS DERIVADOS DE CUMARINA.

A atividade antifúngica contra as leveduras patogênicas *Candida albicans* ATCC® 90028 e *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* ATCC® 208821 foi avaliada por meio do método de microdiluição em caldo, seguindo o protocolo de referência M27 4ª ed. (CLSI, 2017). Os inóculos das leveduras foram preparados a partir de um pré-cultivo em meio YEPD (0,5% de extrato de levedura, 1% de peptona, 2% de dextrose e 2% de ágar), seguido de incubação a 28°C por 24 ~ 48h. A densidade celular foi ajustada em solução salina para uma escala de McFarland de 0,5 com um espectrômetro UV/Vis 1600 (Pro-Tools) com valores de absorbância variando de 0,11-0,15 a 530 nm . Posteriormente, os inóculos foram diluídos a 1:50, seguido de uma segunda diluição 1:20 em meio RPMI 1640 para obter uma concentração celular final entre $5,0 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^3 \text{ cfu/mL}$.

Diluições seriadas foram preparadas em microplacas de 96 poços, contendo $96 \mu\text{L}$ de meio RPMI 1640 (HiMedia™) em cada poço, $4 \mu\text{L}$ da amostra a ser testada diluída em DMSO para uma concentração final de 2%, e $100 \mu\text{L}$ do inóculo da levedura a ser testada e preparado conforme parágrafo anterior. Sendo assim, no primeiro poço o volume inicial continha $200 \mu\text{L}$. A primeira concentração avaliada foi de $400 \mu\text{g/mL}$. Posteriormente, uma alíquota de $100 \mu\text{L}$ do primeiro poço foi transferida e realizada a diluições seriadas até o poço 10, em concentrações finais entre 400 e $0,781 \mu\text{g/mL}$ ($100 \mu\text{L}$). As faixas de concentração de antifúngicos controles testados foram 64 – $0,03 \mu\text{g/mL}$ (anfotericina B) e 64 – $0,125 \mu\text{g/mL}$ (fluconazol). No poço 11 foi usado como controle positivo ($100 \mu\text{L}$) do inóculo contendo só o microrganismo e o 12 como controle negativo contendo unicamente meio estéril. Após, as placas foram incubadas

a 35 °C por 24 – 48 h. Passado o período de incubação, foi avaliado o crescimento por meio de turbidez, e a concentração mínima sem crescimento visível foi tomada como concentração inibitória mínima. Para cada concentração e cada microrganismo testado o ensaio foi realizado em triplicata. Esse estudo foi realizado pelo Laboratório de Diversidade e Biotecnologia Microbiana – ICBS/UFAL.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

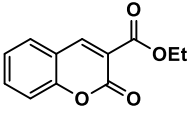
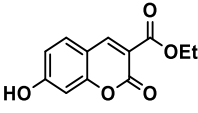
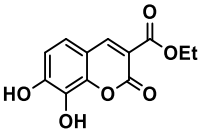
5.1 ESTUDOS *IN SILICO*

As propriedades farmacocinéticas foram calculadas e estão apresentadas na **tabela 2**. É possível observar que todos os compostos candidatos atendem a todos os parâmetros propostos, sem apresentar violações aos valores de referência.

A regra de 5 é uma ferramenta utilizada em estudos dessa natureza para prever a biodisponibilidade de potenciais moléculas com propriedades farmacoterapêuticas. Segundo essa regra, um candidato será considerado adequado se: 1) o peso molecular for inferior a 500 u.m.a, 2) o coeficiente de partição octanol / água calculado (LogP) for menor que 5,3) houver menos de 5 doadores de ligação de hidrogênio (grupos OH e NH, por exemplo) e, 4) existir menos de dez aceptores de ligação de hidrogênio (notavelmente N e O) (Lipinski et al., 1997).

Ao avaliar os derivados éster, observou-se que não há diferença consideravelmente significativa no valor da massa molecular entre os compostos (Max. 250,20 ~ Min. 218,21), indicando que ambos os derivados podem ter biodisponibilidade semelhante, e serem absorvidos de forma eficaz.

Tabela 2 -Propriedades farmacocinéticas calculadas.

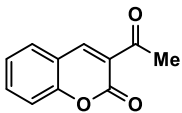
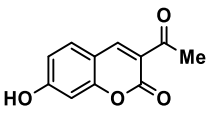
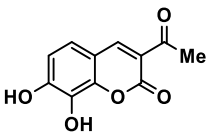
Composto	MW	HBD	HBA	NRB	TPSA	MLOGP
	218,21	0	4	3	56,51	1,80
Cod: A₁						
	234.20	1	5	3	76.74	1.23
Cod: A₂						
	250.20	2	6	3	96.97	0.69
Cod: A₃						

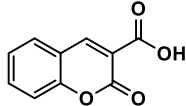
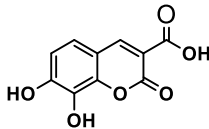
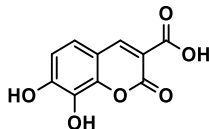
Fonte: Autor, 2024.

Entretanto, quando se comparou os valores apresentados para Tpsa nos derivados ésteres, é notável o aumento proporcional desse valor com a adição de grupos OH ao anel. Esse fato se mostra importante, uma vez que estudos demonstraram (OLIVEIRA et al., 2022) que o tPSA está correlacionado com o padrão de ligação de hidrogênio da molécula na fase aquosa, fato corroborado pelo aumento no número de aceptores de ligações de H e número de doadores de ligações de H, onde o composto A₃ apresenta maior quantidade. Além disso, se faz necessário ressaltar que valores elevados de Tpsa indicam uma possível dificuldade na permeabilidade de composto, uma vez que compostos com alto valor de Tpsa podem complexar com moléculas de água, de forma que resulte em um aumento no volume molecular.

De forma análoga, quando se avaliou os valores obtidos para os derivados da serie B e serie C (**Tabela 3**), observou-se o mesmo padrão apresentado anteriormente, conforme ocorre a adição de grupos OH ao anel, maior o valor de TPSA observado, além do maior número de doadores e aceptores de ligação de H.

Tabela 3 - Propriedades farmacocinéticas calculadas.

Composto	MW	HBD	HBA	NRB	TPSA	MLOGP
	190.15	1	4	1	67.51	1.22
Cod: B₁						
	206.15	2	5	1	87.74	0.66
Cod: B₂						
	222.15	3	6	1	107.97	0.12
Cod: B₃						

	188.18	0	3	1	47.28	1.29
Cod: C₁						
	204.18	1	4	1	67.51	0.70
Cod: C₂						
	220.18	2	5	1	87.74	0.14
Cod: C₃						

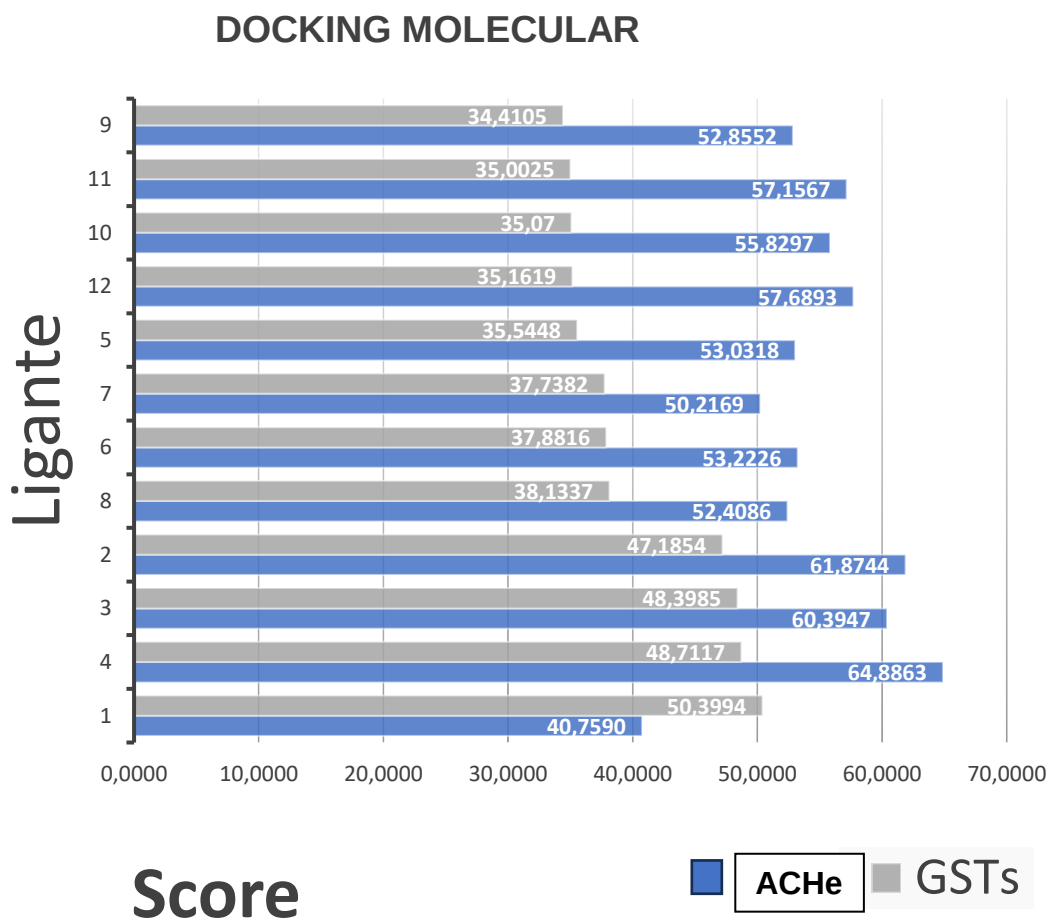
Fonte: Autor, 2024.

Na busca por novas moléculas larvicidas, destaca-se a simulação de docking molecular como uma ferramenta chave no planejamento de compostos bioativos. O docking molecular, uma técnica comum na mecânica molecular, representa uma estratégia eficaz que permite a avaliação virtual de interações moleculares, acelerando a identificação de candidatos antes de experimentos laboratoriais, facilitando desenvolvimento de novos agentes larvicidas (VAITHIYALINGAM et al., 2022).

No docking molecular, estão envolvidas basicamente duas metodologias, a primeira que constitui uma busca por um espaço conformacional que esteja disponível para o ligante, seguido da técnica, que é constituída por um conjunto de funções que atribuem uma pontuação a afinidade de ligação entre o ligante e o alvo (LOHNING et al., 2017).

Para a ancoragem molecular, foram utilizadas enzimas homologas à Acetilcolinesterase e Glutathione S-transferase, uma vez que a AChE tem a função de hidrolisar a acetilcolina, neurotransmissor que atua na comunicação entre os neurônios da espécie (JAVIDFAR et al., 2020; AHMADI et al., 2020).

Os valores de pontuação obtidos estão apresentados no **Gráfico 2**, no qual observou-se que os compostos ligantes **A₃** exibe pontuação mais elevada para a AChE, ao passo que o composto **A₁** demonstra a pontuação mais alta para a GSTs.

Gráfico 2 -Pontuação da ancoragem molecular usando GSTs e AChE.

Fonte:

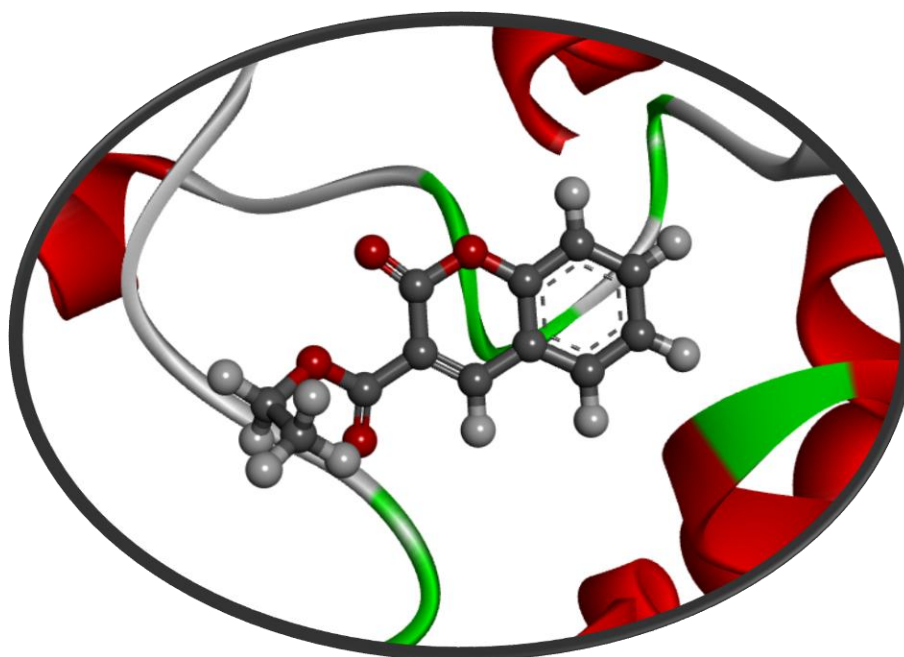
Autor, 2024.

Conforme observado no **Gráfico 2**, a pontuação média obtida utilizando a AChE é maior que a pontuação média para a GSTs, sendo 55,0261 e 40,3031, respectivamente. Esse resultado corrobora com o esperado, uma vez que a literatura já relata a ação de alguns derivados de cumarina como inibidores da AChE (FALLARERO et al., 2008).

Ao analisar as interações entre o derivado **A₁** (**Figura 16**), composto que apresentou o maior valor de pontuação e os resíduos de aminoácidos na GSTs, observa-se (**Figura 17**) a predominância de interações não covalentes, como Van Der Waals, interações π - π em forma de T e π -Alquil. Nas interações π -alquil, ocorre a interação da nuvem de elétrons π de um sistema aromático com o grupo alquil de outro composto. Na interação π - π em forma de T, ocorre a interação entre a nuvem de elétrons π de dois grupos aromáticos, essa interação é caracterizada pelo

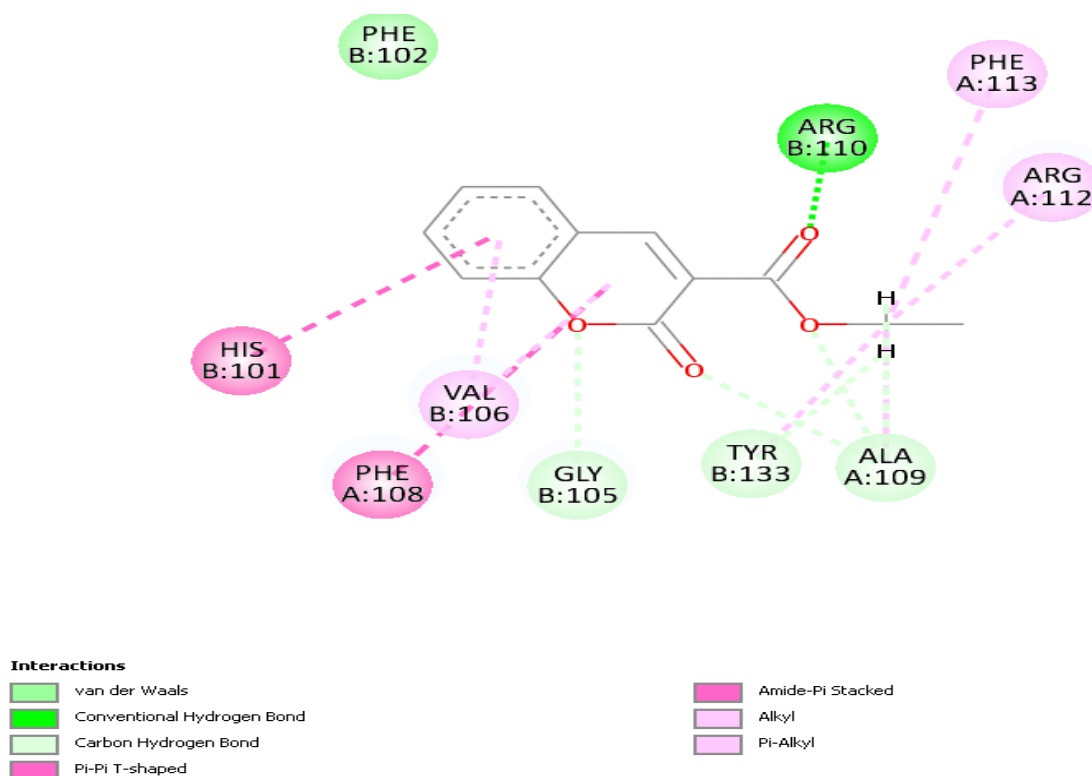
posicionamento forma de T, facilitando a formação de associações não covalentes entre os dois sistemas aromáticos. Entretanto, é importante destacar a ausência de interações com resíduos que desempenham papéis-chave, como Tirosina 8 (Tyr8), Lisina 41 (Lys41) e Arginina 107 (Arg107).

Figura 16 - Cluster 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato (**A₁**)- GSTs



Fonte: Autor, 2024

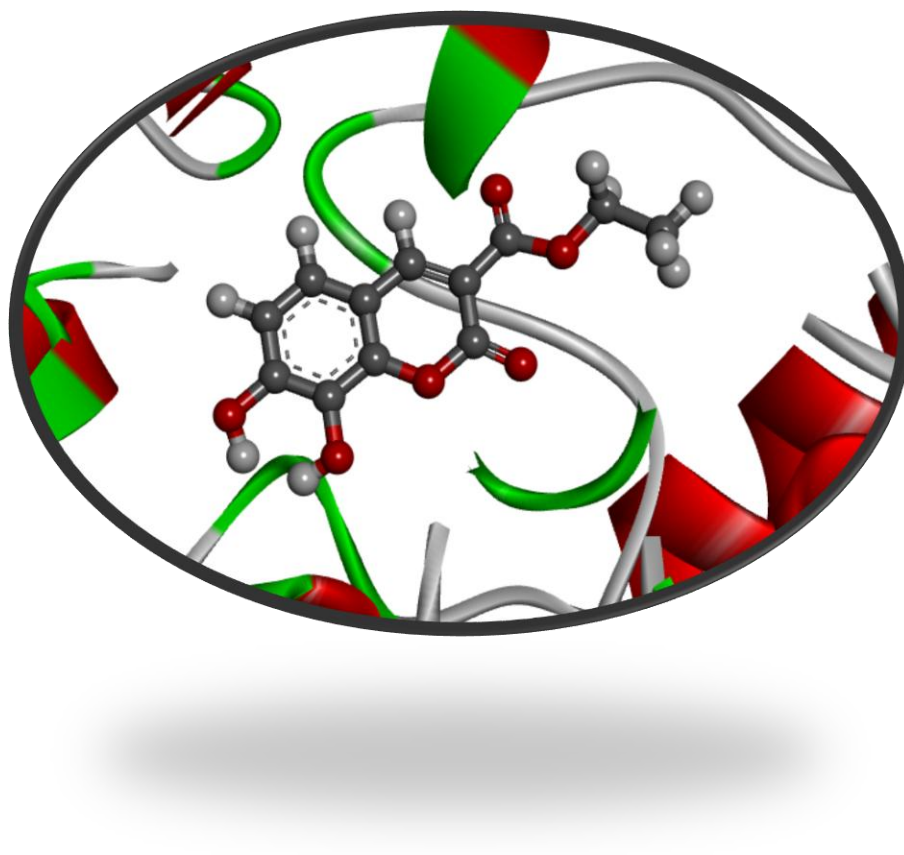
Figura 17 - interações entre o 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato (**A₁**) e a GSTs



Fonte: Autor, 2024.

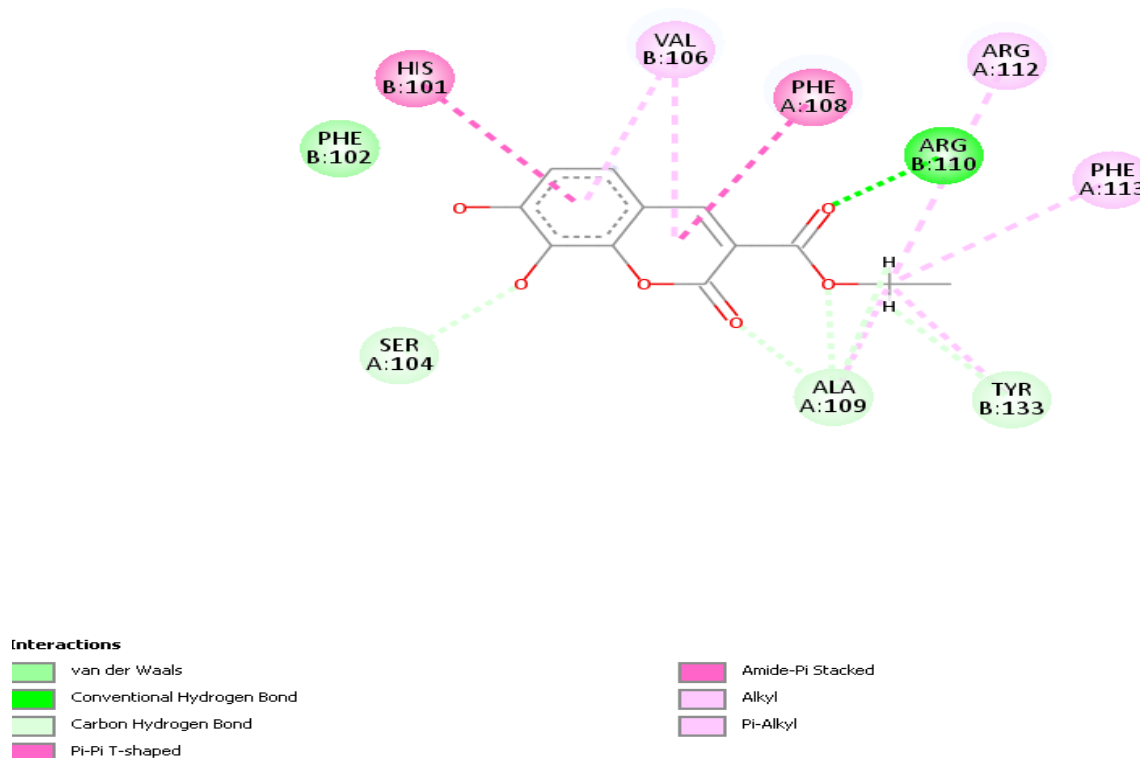
De forma semelhante, ao analisar as interações entre o derivado **A₃** (**Figura 18**), composto que apresentou o maior valor de pontuação e os resíduos de aminoácidos na AChE, observa-se a predominância de interações não covalentes (**Figura 19**), como Van Der Waals, interações π - π em forma de T e π -Alquil. Além disso, também é possível notar a ausência de interações com resíduos chave da enzima, como Histidina 480 (His480), Serina 238 (Ser238) e Ácido Glutâmico 367 (Glu367).

Figura 4 - Cluster 7,8-dihidroxi-2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato (**A₃**) -ACHe.



Fonte: Autor, 2024.

Figura 5 - Interações A₃ - ACHe



Fonte: Autor, 2024.

Com base nos resultados obtidos, os métodos computacionais apontam para candidatos possíveis como inseticidas. Em seguida, os derivados de cumarina foram sintetizados e submetidos a análises experimentais, visando explorar sua atividade larvívica.

5.2 SÍNTESE DOS COMPOSTOS

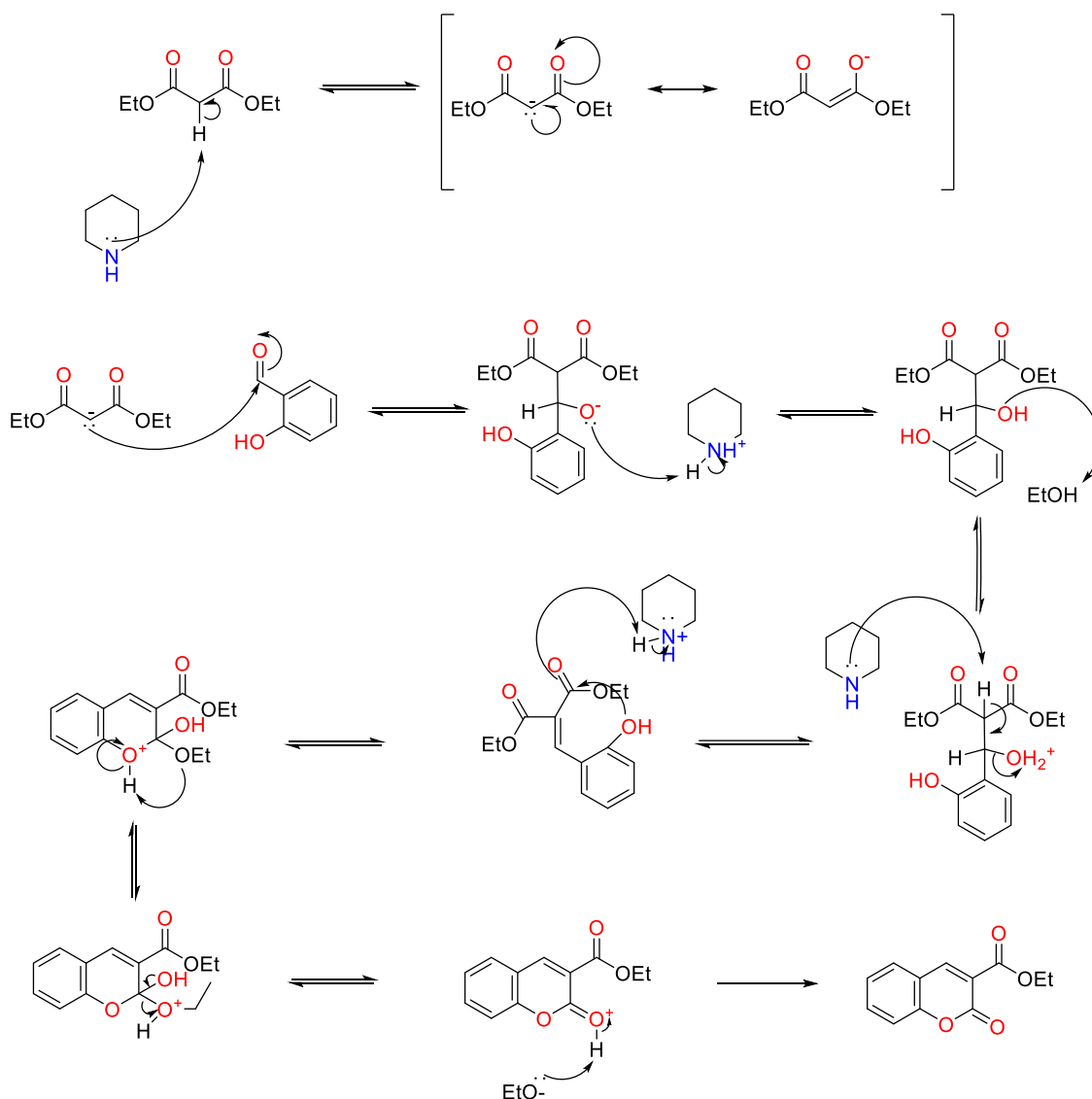
Atualmente, existem várias rotas sintéticas conhecidas para obtenção desses derivados 3-substituídos com potencial farmacológico. A reação de Perkin, condensação de Knoevenagel e a reação de Claisen são algumas das metodologias utilizadas (PANDEY et al., 2020).

No presente trabalho, foi utilizada a condensação de Knoevenagel para obtenção de 9 derivados de cumarina. A reação de Knoevenagel baseia-se em uma condensação aldólica, em que um composto carbonílico interage com um metileno ativo sob catálise básica (**Esquema 8**), dando origem a um produto α,β -insaturado (FALCÃO et al., 2021).

Embora a piperidina apresente menor valor de pKa (pKa = 11), sua utilização como catalisador se mostra válida, uma vez que ela é capaz de promover a

desprotonação parcial do malonato de dietila ($pK_a = 12,9$), dando início a uma reação sequencial, onde o par de elétrons adstrito ao grupo metileno, um doador de Michael, interage com o derivado salicílico, aceitor de Michael. Após seguidas etapas, ocorre a eliminação da base conjugada (E_1CB) levando à formação do composto carbonilado α,β -insaturado.

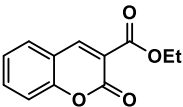
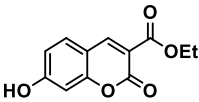
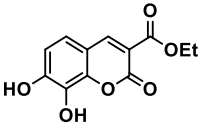
Uma vez que houve a formação do composto carbonilado α,β -insaturado, a etapa seguinte é coordenada por uma transesterificação promovida pelo ataque ao carbono da carbonila. Esse centro, parcialmente deficiente em elétrons devido à proximidade ao oxigênio da carbonila (duro), tem maior afinidade com o oxigênio do grupo OH, que atua como nucleófilo. Adicionalmente, de forma simultânea à transesterificação, também ocorre a ciclização da molécula, onde após formação da carbonila no carbono 2, seguido da eliminação do grupo OR na forma de EtOH e posterior remoção do H^+ restante, resulta na formação do derivado de cumarina.

Esquema 8 - formação do produto α,β -insaturado

Fonte: Adaptado de SAIRAM et al., 2015; FALCÃO et al., 2021.

Os compostos foram sintetizados com rendimentos variando entre 76% e 82%, conforme indicado na **(Tabela 4)**. Os resultados obtidos para os compostos da série A (A_1 , A_2 e A_3) estão de acordo com o esperado na literatura (SAIRAM et al, 2015).

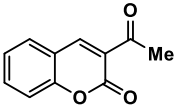
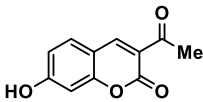
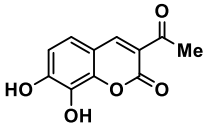
Tabela 4 – Derivados de cumarina (A) sintetizados e seus rendimentos

ESTRUTURA	COLORAÇÃO	RENDIMENTO(%)
 Cod: A₁	<i>Branco</i>	76
 Cod: A₂	<i>Marrom</i>	74
 Cod: A₃	<i>Amarelo claro</i>	82

Fonte: Autor, 2024.

Na síntese dos derivados da série B (B₁, B₂ e B₃), os compostos foram obtidos com rendimentos entre 40% e 45% (**Tabela 5**). Para esses derivados, foi utilizada a mesma metodologia empregada na síntese dos derivados da serie A. Como o pKa do acetoacetato de etila é menor que o pKa da piperidina, 10,6 e 11 respectivamente, era esperado que a remoção do primeiro H⁺ no grupo metileno do acetoacetato de etila fosse favorecida. No entanto, os rendimentos observados para os compostos foram inferiores aos relatados em literatura (DOS SANTOS et al., 2013). Diante disso, se faz necessário a busca por modificações na metodologia a ser utilizada.

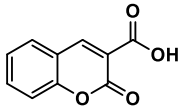
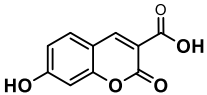
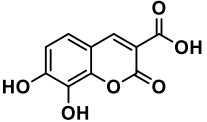
Tabela 5 - Derivados de cumarina (B) sintetizados e seus rendimentos.

ESTRUTURA	COLORAÇÃO	RENDIMENTO(%)
 Cod: B₁	Branco	40
 Cod: B₂	Amarelado	41
 Cod: B₃	Alaranjado	45

Fonte: Autor, 2024.

De forma análoga, aos rendimentos observados para os derivados da série C (C₁, C₂ e C₃) (**Tabela 6**) também se mostraram inferiores aos relatados na literatura. Todavia, é necessário ressaltar a praticidade da metodologia, uma vez que o produto é lavado apenas com água destilada gelada e seco em estufa, visto que as cumarinas se mantêm estáveis entre 100 a 150°C (DOCTOR et al., 2020).

Tabela 6 - Derivados de cumarina (C) sintetizados e seus rendimentos.

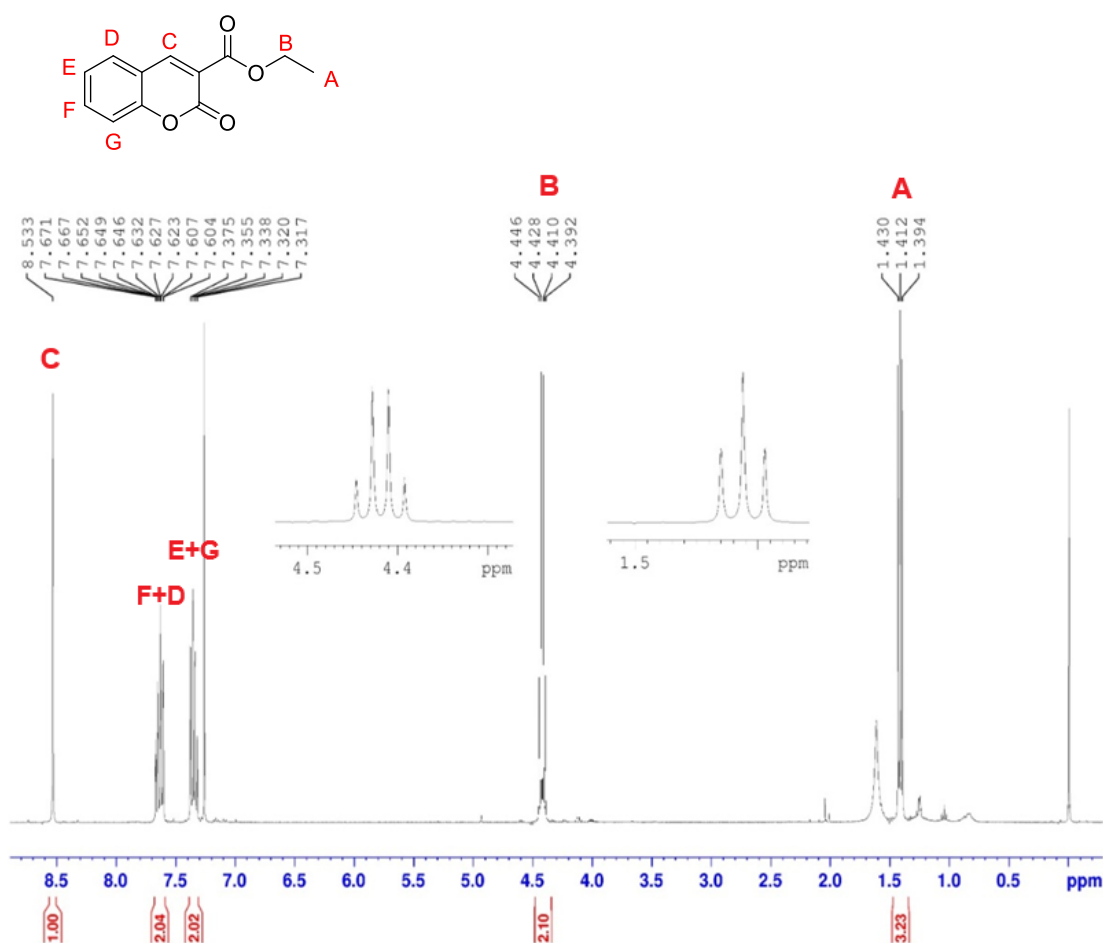
ESTRUTURA	COLORAÇÃO	RENDIMENTO(%)
 Cod: C ₁	Branco	31
 Cod: C ₂	Amarelado	33
 Cod: C ₃	Alaranjado	34

Fonte: Autor, 2014

Os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN. Devido à similaridade da estrutura básica dos derivados de cumarina, aqui serão discutidos os dados referentes ao 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila, visto que o mesmo engloba os sinais do esqueleto básico das cumarinas, variando apenas na cadeia lateral.

No espectro de RMN de ¹H (**Figura 20**) do composto 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila, identificou-se um tripleto em 1,26 ppm associado ao carbono metílico da cadeia lateral. Adicionalmente, observou-se um quarteto em 4,4 ppm correspondente ao carbono adjacente ao oxigênio na função éster, presente na mesma cadeia lateral. O singlete na região de 8,5 ppm é característico do carbono 4, que forma uma ligação dupla com o C₃. Os sinais na faixa de 7,3 a 7,6 ppm são atribuídos aos hidrogênios aromáticos.

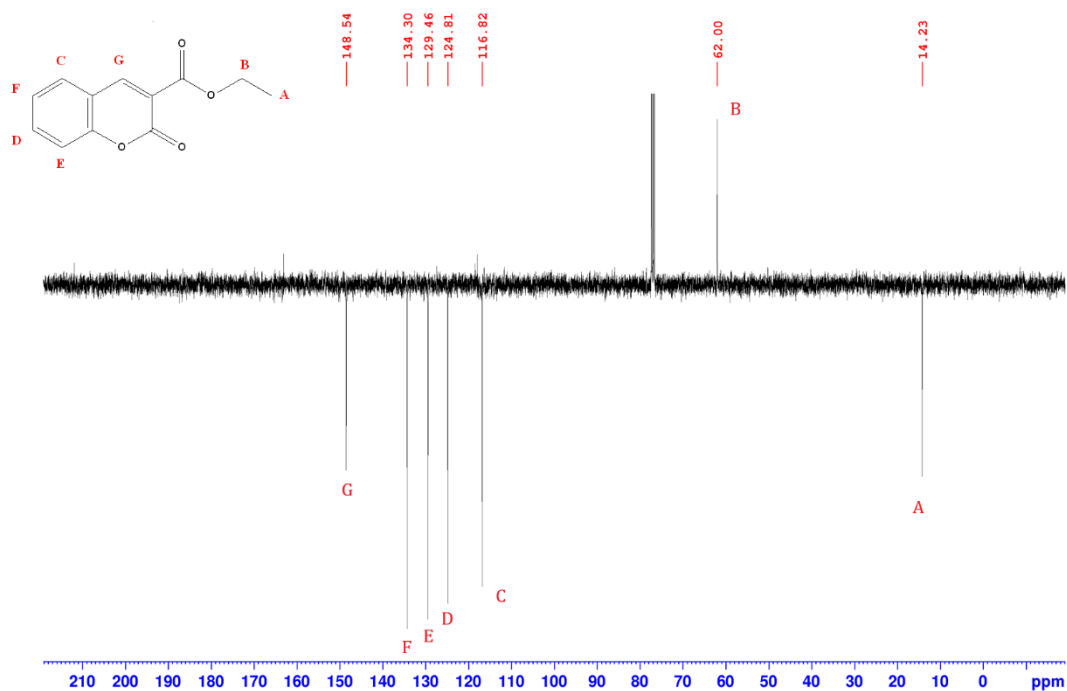
Figura 20 – Espectro de RMN ^1H do composto 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila (A_1).



Fonte: Autor, 2024.

No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 21**), utilizando a sequência de pulsos DEPT 135, observou-se que os sinais correspondentes aos carbonos CH_3 e CH estão na mesma fase (para baixo), enquanto os sinais dos carbonos CH_2 estão em fase oposta (para cima). A atribuição desses sinais foi realizada em conformidade com informações disponíveis na literatura (FERREIRA et al., 2021).

Figura 21 - Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3) do composto 2-oxo-2H-cromeno-3-carboxilato de etila (A_1).

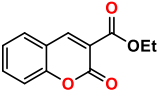
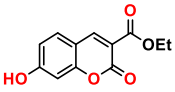
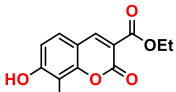
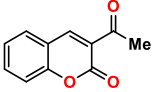
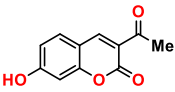
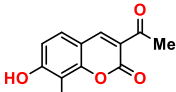
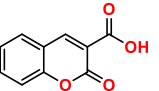
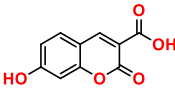
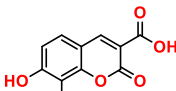
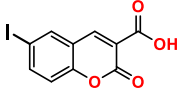
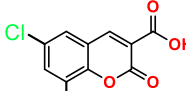


Fonte: Autor, 2024.

5.3 – AVALIAÇÃO LARVICIDA

De acordo com os resultados referentes ao ensaio larvica preliminar (**Tabela 7**), dentre os compostos avaliados, apenas o derivado A_3 apresentou ação larvica promissora.

Tabela 7 – Resultados da avaliação larvicida.

Mortalidade (%)		Mortalidade (%)		Mortalidade (%)	
	<25%		<25%		<25%
Cod: A ₁		Cod: A ₂		Cod: A ₃	
	<25%		<25%		<25%
Cod: B ₁		Cod: B ₂		Cod: B ₃	
	<25%		>25%		≥50%
Cod: C ₁		Cod: C ₂		Cod: C ₃	
	<25%		<25%		
Cod: D ₁		Cod: D ₂			

* Mortalidade em 48h, utilizando a concentração de 100 ppm

Fonte: Autor, 2024.

Embora estudos (GU et al., 2022) indiquem que as bioatividades desses derivados podem ser melhoradas por meio da introdução de grupos nas posições 3,4,5,6,7 e 8 da cumarina, tais como grupos eletrodadores. Ao comparar os derivados da série A com os derivados da série B, verificou-se que a adição de grupos OH nas posições 7 e 8 não resultou em uma mudança significativa quanto à sua atividade larvicida. Entretanto, para os derivados série C, observou-se que essas modificações, com a introdução dos grupos OH resultou em uma mudança significativa na sua atividade larvicida, uma vez que o C₃ apresentou percentagem de

mortalidade acima de 50%. indicando que a substituição na posição 3 possa ser mais efetiva para a ação larvícida, contudo, mais estudos se fazem necessários.

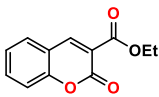
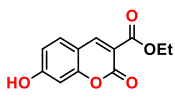
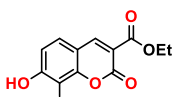
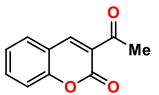
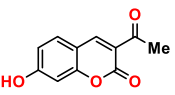
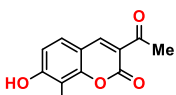
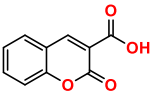
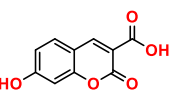
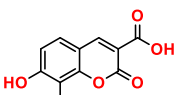
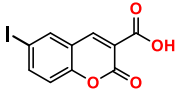
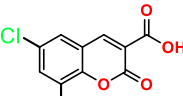
Ao comparar os resultados experimentais com as previsões realizadas pelos métodos *in silico*, observou-se que não foi possível estabelecer uma correlação direta entre a atividade larvícida e o resultado obtido com o Docking molecular. Todavia, é importante ressaltar que os resultados *in silico* foram obtidos considerando uma enzima no vácuo e de forma estática.

Em adicional, 2 derivados de cumarinas fornecidos pelo GPQBioMol-UFAL (NUNES, 2023), contendo grupos halogenados também foram avaliados quanto a sua atividade larvícida, uma vez que estudos em literatura (KISHORE et al., 2013) já relatam derivados contendo grupos retirados de elétrons apresentam atividade larvícida promissora. Diferente dos derivados contendo halogênios em sua estrutura (**Tabela 8**) os derivados D₁ e D₂ não apresentaram nocividade frente às larvas do 4º estágio.

Além disso, embora não se possa estabelecer uma relação direta entre os derivados da série D e os derivados da série C, observa-se que a adição de grupos OH ao anel apresentou maior sensibilidade quanto à sua atividade larvícida do que à adição de halogênios ao anel. Esse fato sugere que a presença de grupos OH ligados ao anel pode induzir uma melhor atividade larvícida em derivados substituídos 3-ácido carboxílico (série C e D). Contudo, ao se comparar os mesmos derivados com os derivados apresentados por KISHORE e colaboradores (2013) (**Figura 11**) e Hussain e colaboradores (2018) (**Figura 10**), observa-se que a adição de grupos alquila na posição 4 do anel lactona resultou em uma excelente atividade larvícida, apresentando valores de CL₅₀ de 2,23 ppm e 5,9 ppm respectivamente. Esses resultados sugerem que modificações na posição 4 do anel lactona, como a introdução de grupos alquila se mostrou uma estratégia viável no planejamento desses larvícidas.

Diante dos resultados expressos anteriormente, os derivados sintetizados foram classificados conforme o seu grau de atividade larvícida (**Tabela 8**) de acordo a classificação fornecida pela OMS (2005).

Tabela 8- Resultados da avaliação larvicida.

Atividade		Atividade		Atividade	
	Inativo		Inativo		Inativo
Cod: A ₁		Cod: A ₂		Cod: A ₃	
	Inativo		Inativo		Inativo
Cod: B ₁		Cod: B ₂		Cod: B ₃	
	Inativo		Fracamente Ativo		Parcialmente ativo
Cod: C ₁		Cod: C ₂		Cod: C ₃	
	Inativo		Inativo		
Cod: D ₁		Cod: D ₂			

Ref.	Mortalidade (%)	<25%	25 ~ 50%	50 ~75%	>75%
Classificação		Inativo	Fracamente Ativo	Parcialmente ativo	Ativo

* Classificação utilizando o temefós como controle positivo

** Mortalidade em 48h

5.4 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

MÉTODO: DPPH•

O radical DPPH• é amplamente utilizado em ensaios de capacidade antioxidante. Essa metodologia apresenta algumas vantagens, tais como: disponibilidade comercial, estabilidade ao oxigênio atmosférico, coloração acentuada e possibilidade de monitoramento da reação por UV-Vis (RODRÍGUEZ et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015). Neste ensaio, observa-se o comportamento da banda característica de absorção do DPPH• em 516 nm, onde se espera que o valor de absorbância decaia a partir do momento em que a amostra comece a reagir com o DPPH• (IONITA et al., 2021).

Os resultados parciais são expostos na **Tabela 9**. Os derivados A₁ e C₂ foram testados até a concentração de 1000 µM enquanto que o derivado A₂ foi testado até a concentração de 200 µM. Contudo esses compostos não foram ativos nesse ensaio.

Tabela 9 – Resultados do ensaio DPPH

AMOSTRA	DPPH•	
	ASR %	IC ₅₀ (µM)
A ₁	NA	NA
A ₂	NA	NA
A ₃	54,28 ± 1,07	171,76 ± 1,94
C ₁	NA	NA
C ₂	NA	NA
C ₃	79,84 ± 0,22	7,47 ± 0,22

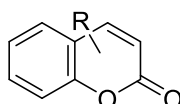
* N.A – Não Ativo

Fonte: Autor, 2024

Conforme esperado, os derivados que não continham hidroxilas ligadas ao anel, assim como os derivados contendo apenas um grupo OH, apresentaram menor ou nenhuma atividade antioxidante do que os derivados contendo maior quantidade de grupos OH. Assim como relatado por KANEKO e colaboradores (2003), onde o derivado Ácido 7-hidroxycumarina-4-acético apresentou apenas 5.4% na inibição do

radical DPPH. De modo semelhante, quando comparado a outros derivados de cumarina (**Figura 22**) presente em literatura (FYLAKTAKIDOU et al., 2004), observa-se que as interações *in vitro* desses derivados com o DPPH, apresentou uma baixa habilidade de redução, entre 8 ~22%.

Figura 22 – Derivados de cumarina testados frente ao radical DPPH.



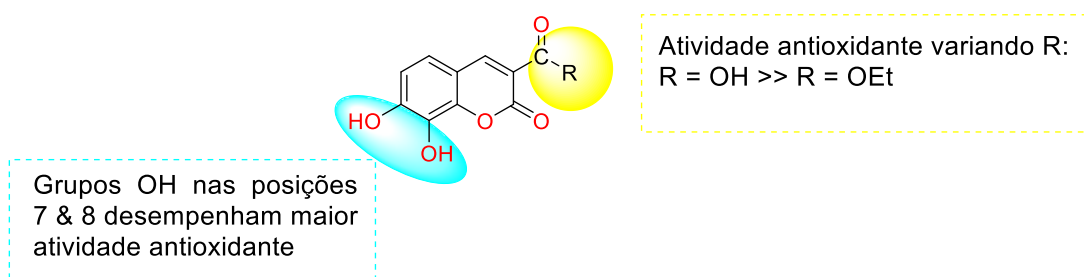
8 - 22%

Fonte: adaptado de FYLAKTAKIDOU et al., 2004.

Além disso, KANEKO e colaboradores (2003) também sugerem que a fraca proteção de derivados contendo apenas um grupo OH, pode estar relacionada à estabilidade dos radicais formados através da reação com o radical DPPH. Isso ocorre porque os grupos hidroxila presentes em diversas hidroxycumarinas são potenciais doadores de hidrogênio radicalar para aceptores de radicais, graças à deslocalização de elétrons em sua estrutura (VUKOVIC et al., 2010). Dessa forma, os derivados A₁, A₂, C₁ e C₂ foram classificados como não ativos.

Não obstante, os derivados A₃ e C₃ apresentaram atividade antioxidante, com ASR% $54,28 \pm 1,07$ e $79,84 \pm 0,22$ respectivamente. Embora dados relatados por RODRÍGUES e colaboradores (2011) indiquem que a substituição na fração pirona da cumarina tenha pouca influência na atividade antioxidante de cumarinas com um grupo fenólico, os resultados obtidos sugerem que, embora ambos os derivados A₃ e C₃ possuam os mesmos substituintes no anel, os dados indicam que a substituição na posição 3 da fração pirona (**Figura 23**) desempenha um papel importante na atividade observada. De modo que, a atividade antioxidante observada quando R = OEt se mostrou paupérrima quando comparado a R = OH, evidenciando que os grupos OH ligado a essa posição também funcionam como potenciais doadores de hidrogênio radicalar.

Figura 23 – Análise estrutura-atividade dos derivados de cumarina avaliados.

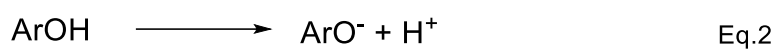
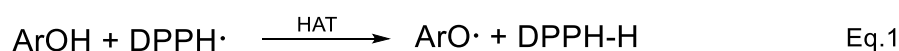


Fonte: Autor, 2024

Dessa maneira, apenas os derivados A₃ e C₃ foram considerados como ativos, apresentando IC₅₀ de 171,76 ± 1,94 µM e 7,47 ± 0,22 µM respectivamente, sendo o derivado C₃ o de maior potencial.

Essa atividade antioxidante, pode ser atribuída à natureza dos substituintes presente no esqueleto das cumarinas **A₃** e **C₃**, que graças à sua estrutura análoga a flavonoides e benzofenonas, reduz os radicais devido a seu comportamento elêtrondoador, atuando na eliminação desse radical, uma vez que, quanto mais doadores de H, mais forte é sua atividade antioxidante (AHMED et al., 2017; VUKOVIC et al., 2010).

Embora não se possa estabelecer um mecanismo de ação exato para esses derivados, estudos em literatura (RODRÍGUEZ et al., 2014) relatam que a abstração de hidrogênio de derivados fenólicos pelo radical DPPH• pode ocorrer de diferentes maneiras, nas quais um elétron e um próton são transferidos. Essa transferência pode ocorrer em etapa única (HAT/PCET) (**Eq.1**) ou em duas etapas (**Eq.2 & Eq.3**) (SPLET).



Em seu trabalho, Rouaiguia-Bouakkaz et al. (2015) relatam que a vitamina E elimina radicais DPPH por meio do mecanismo de transferência de elétron único–transferência de próton, sugerindo o papel do mecanismo de transferência de elétrons na eliminação dos radicais DPPH e sua contribuição com a transferência de Átomo de

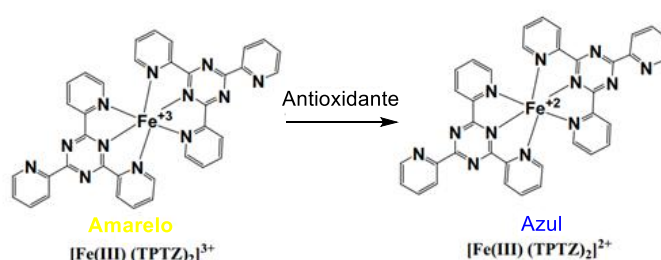
Hidrogênio (HAT). Entretanto, em relação à ação antioxidante, o resultado de ambos os mecanismos é o mesmo: a formação do radical fenóxido (RODRÍGUEZ et al., 2014).

Quando comparado com substâncias antioxidantes utilizadas em literatura (CASTRO et al., 2006) como o Trolox e o α -tocoferol (Vitamina E), observa-se que o derivado C₃ apresenta percentagem da capacidade sequestradora de radicais próxima ao α -tocoferol, sendo $79,84 \pm 0,22\%$ e $84,029 \pm 1,98$ respectivamente. No entanto, quando comparado ao Trolox, é observado uma maior diferença entre esses valores, sendo observado um valor de percentagem da capacidade sequestradora de radicais de 100,00%. Os resultados observados sugerem que o derivado C₃ apresenta considerável potencial como antioxidante frente ao radical DPPH.

MÉTODO: FRAP

O ensaio FRAP (Poder antioxidante redutor férrico) consiste na produção de íons tripiriril triazina ferrosa TPTZ-Fe(II) pela redução do Fe^{3+} (**Figura 24**) presente do complexo tripiridil triazina férrica (TPTZ). Esse método se mostra interessante, uma vez que os derivados de hidroxycumarinas são caracterizados por sua alta capacidade antioxidante, devido à sua similaridade estrutural com compostos polifenólicos como o resveratrol (POZO-MARTÍNEZ et al., 2022).

Figura 24 - reação redox para complexo férrico no ensaio Frap.



Fonte: AYATI et al., 2018.

Os resultados são expostos na **Tabela 10**. Para os compostos da série A, os derivados A₁ e A₂ apresentaram os menores valores, $1,17 \pm 0,27$ e $41,24 \pm 0,83$ (mM ET/ mol de amostra) respectivamente, ao passo que o derivado dihidroxilado, A₃, apresentou o melhor resultado entre os compostos da série, $450,08 \pm 9,01$ (mM ET/

mol de amostra). Esses resultados sugerem que a adição de grupos OH desempenham de forma mais efetiva a redução do complexo de ferro. Os resultados do estudo realizado por Razavi et al. (2013) também reforça essa proposição ao demonstrar que hidroxilas fenólicas aumentam significativamente o potencial antioxidante dos derivados de cumarina, contribuindo para a doação de elétrons e a estabilização dos radicais, reforçando a eficácia antioxidante desses compostos.

Além disso, estudos em literatura (Pérez-Cruz et al. 2017; AYATI et al., 2018) também corroboram essa observação, sugerindo que o grau de atividade antioxidante das cumarinas está diretamente relacionado ao grau de hidroxilação e conjugação de sua estrutura. Derivados de cumarina contendo um maior número de substituintes hidroxila mostraram uma capacidade superior de transferir elétrons e reduzir o complexo $[(TPTZ)_2Fe(III)]$.

Tabela 10 - Resultados do ensaio FRAP.

AMOSTRA	FRAP (mM ET/ mol de amostra)
A ₁	1,17 ± 0,27
A ₂	41,24 ± 0,83
A ₃	450,08 ± 9,01
C ₁	NA
C ₂	NA
C ₃	1058,81 ± 16,68

ET (equivalente de Trolox);
N.A: NÃO ATIVO

Fonte: Autor, 2024.

Para os derivados 7,8-dihidroxiado (A₃ e C₃) foram observados os melhores resultados, 450,08 ± 9,01 e 1058,81 ± 16,68 (mM ET/ mol de amostra) respectivamente. Esses resultados estão em concordância com o descrito em literatura, conforme o estudo realizado por Beillerot e colaboradores (2008), que demonstrou que os derivados 7,8-dihidroxi-cumarínicos mostraram-se ativos quanto à sua capacidade de capturar radicais superóxidos. Além disso, ao utilizar o ensaio FRAP, esses derivados exibiram uma capacidade antioxidante equivalente ao Trolox, um potente antioxidante padrão amplamente utilizado para comparação em estudos de atividade antioxidante.

Nos compostos da série C, embora por Patel e colaboradores (2012), tenham constatado que derivados de cumarina substituídos pelo grupo OH apresentam maior poder de redução férrico, os resultados obtidos no presente estudo não indicaram variação significativa após a adição de um grupo OH, sendo ambos os derivados, C₁ e C₂, classificados como N.A em termo de sua atividade antioxidante. Entretanto, a atividade antioxidante observada para o derivado dihidroxilado, C₃, se mostrou similar ao Trolox. Esse resultado sugere que a adição de grupos OH na posição 8 desempenha um papel fundamental na ação desses derivados como antioxidante.

Em adicional, os resultados observados sugerem uma maior eficiência dos derivados da série C quando comparados aos da série A, indicando que a substituição na posição 3 por um ácido carboxílico resulta em uma melhor capacidade antioxidante em comparação à substituição por um grupo éster.

ENSAIO: SOD

A superóxido dismutase (SOD) é uma das três enzimas principais que protegem as células e atuam suprimindo ou prevenindo a formação de radicais ou espécies reativas, como superóxido. Essa enzima atua decompondo peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos em moléculas inofensivas, como H₂O, álcool e O₂ (IGHODARO et al., 2018; CARUSO et al., 2022).

Os derivados foram submetidos ao ensaio SOD uma vez que estudos em literatura (ATMACA et al., 2009; KANEKO et al., 2003) constataram que a utilização de cumarinas, como a esculetina no pré-tratamento em ratos com danos no fígado, demonstrou que a esculetina apresenta capacidade de eliminar ROS, como radicais superóxido. Foi realizado um teste inicial (**Tabela 11**) e os compostos mais ativos foram: A₃ e C₃, inibiram mais de 50% o radical superóxido.

Tabela 11 - Resultados do ensaio SOD.

AMOSTRA	Ânion radical superóxido IC ₅₀ (µM)
A ₁	NA
A ₂	NA
A ₃	365,86 ± 3,29
C ₁	NA
C ₂	NA
C ₃	55,26 ± 1,84
Quercetina	49,80 ± 2,63

Fonte: Autor, 2024.

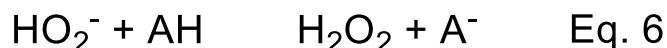
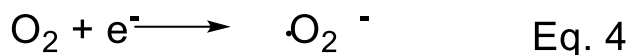
Conforme esperado, os derivados contendo o maior número de OH ligado ao anel expressaram maior grau de atividade, ao passo que os derivados A₁, A₂, C₁ e C₂ não foram ativos no ensaio. Esse resultado apresenta consonância com a maioria dos antioxidantes fenólicos, uma vez que, tanto a configuração quanto a quantidade de grupos OH exercem influencia em diversos mecanismos de atividade antioxidante (HEIM et al., 2002; BURDA et al., 2001).

Essa maior atividade expressa pelos derivados A₃ e C₃ pode estar relacionada aos grupos substituintes ligados ao anel, já que o número de hidroxilas ligadas ao anel desempenha um papel importante na atividade antioxidante. estudos realizados por ATMACA e colaboradores (2009) sugerem que nesses derivados, a eliminação de radicais esta relacionado com a quantidade e a localização desses grupos OH (HEIM et al., 2002).

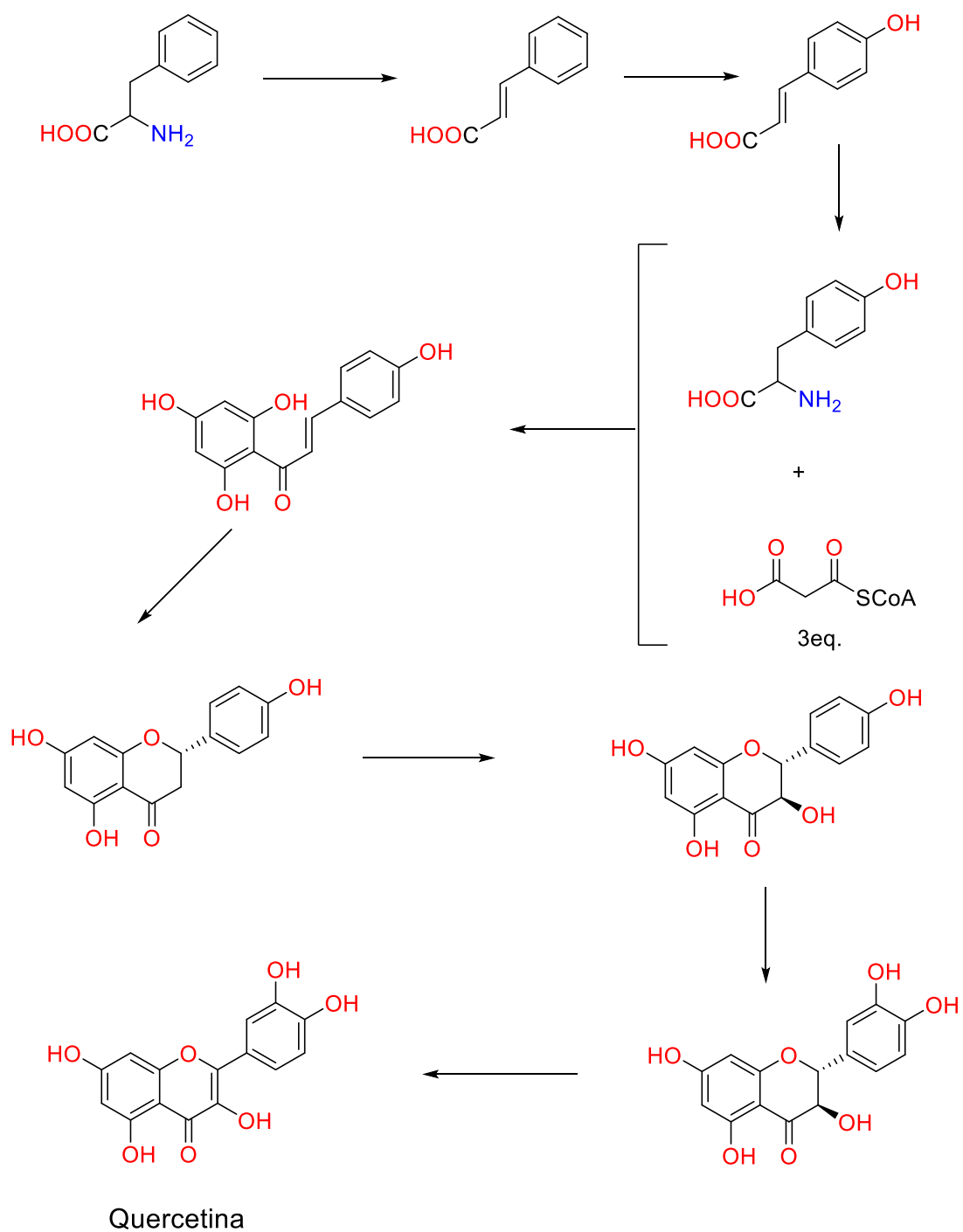
Além disso, a discrepância de valores obtidos para os derivados A₃ e C₃, sendo IC₅₀ 365,86 ± 3,29 µM e 55,26 ± 1,84 µM respectivamente, evidencia o papel crucial que a substituição na posição 3 da fração pirona desempenha. A comparação de IC₅₀ reforça o papel fundamental que grupos doadores H, como OH tem, uma vez que a substituição dessa hidroxila por um grupo Etoxi (OEt) se provou ser menos efetiva.

De forma semelhante aos ensaios discutidos anteriormente, o mecanismo de ação desses derivados é objeto de estudo. Em seu trabalho, CARUSO e colaboradores (2022) relatam algumas das interações entre flavonoides (AH) e superóxido, utilizando as equações 4, 5 e 6. Além disso, a 4-metil-7,8-dihidroxicumarina é associado o mecanismo padrão de eliminação de superóxido,

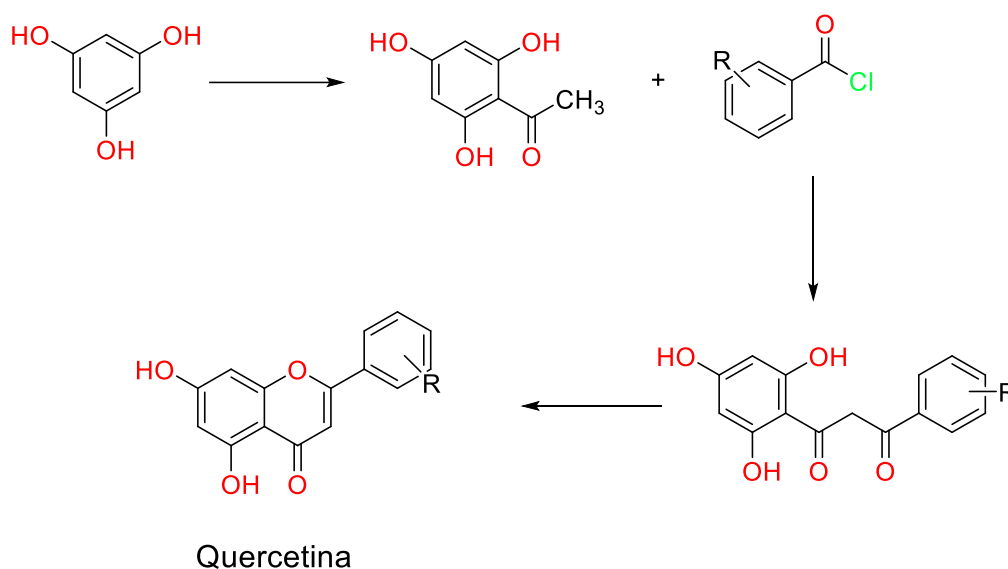
sendo esse, a abstração de hidrogênio.



Em adicional, a proximidade observada nos valores de IC₅₀ referente ao derivado C₃ e a Quercetina, composto utilizado como referência, demonstra que o derivado C₃ apresenta capacidade antioxidante análoga à Quercetina, especificamente em relação à neutralização do radical superóxido. Esse fato, indica que o derivado C₃ apresenta considerável potencial de ser utilizado como uma alternativa a quercetina, uma vez que o derivado C₃ não apresenta fotossensibilidade, podendo ser armazenado sem a utilização de material foto protetor, além da possibilidade de ser de forma simples e rápida, sem a necessidade da utilização de catalisadores, ao passo que tanto biossíntese de Quercetina (**Esquema 9**) quando a síntese da quercetina (**Esquema 10**) apresentam maior número de etapas, além da utilização de solventes halogenados.

Esquema 9 - Mecanismo da biossíntese de Quercetina.

Fonte: Adaptado de INGH e colaboradores (2021).

Esquema 10 - Rota sintética da Quercetina.

Fonte: Adaptado de Hirpara e colaboradores (2009).

ENSAIO: HOCl

O ácido hipocloroso (HOCl) é um derivado bactericida formado pelos neutrófilos ativados. Como espécies reativas de oxigênio muito importantes, o ácido hipocloroso (HOCl)/hipoclorito (OCl⁻) desempenha um papel especial em uma variedade de processos fisiológicos e patológicos (NIE et al., 2020). Os efeitos deletérios da formação excessiva de HOCl podem ser amenizados através do uso de substâncias antioxidantes (HARTOG et al., 2002).

Foi realizado um teste inicial (**Tabela 12**) e os compostos A₁ e C₁ não apresentaram atividade antioxidante considerável, sendo assim classificados como não ativos. Em adicional, os derivados A₂, A₃, C₂ e C₃ apresentaram maior atividade, inibindo cerca de 50% o radical superóxido.

Tabela 12 - Resultados do ensaio HOCl.

AMOSTRA	Ácido hipocloroso IC ₅₀ (µM)
A ₁	NA
A ₂	35,34 ± 0,04
A ₃	72,29 ± 3,01
C ₁	NA
C ₂	239,8 ± 4,85

C ₃	**
Quercetina	0,14 ± 0,01

Fonte: Autor, 2024.

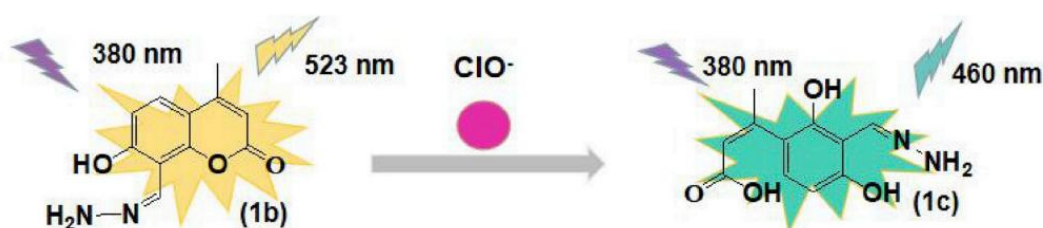
*NA – NÃO ATIVO

** NECESSARIO REFAZER O ENSAIO.

Toda via, quando comparado os valores de IC₅₀ entre os derivados A₂ e A₃, diferente do relatado em literatura (PAYÁ et al., 1992) onde derivados de cumarinas que possuem dois grupos se mostraram inibidores altamente ativos, os resultados obtidos indicam uma melhor interação com o derivado contendo apenas uma hidroxila. Além disso, os resultados obtidos sugerem uma melhora na atividade antioxidante com presença de um substituinte carboxilato na posição 3 da fração pirona, sendo o IC₅₀ de 35,34 ± 0,04 µM e 239,8 ± 4,85 µM para os derivados A₂ e C₂ respectivamente. Haja vista os resultados apresentados, torna-se necessário a compreensão do mecanismo de ação entre os derivados de cumarina e o ácido hipocloroso.

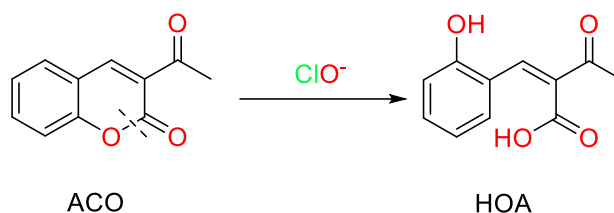
JIN e colaboradores (2019) investigaram o mecanismo de ação da ligação do derivado de cumarina com ClO⁻ em CH₃OH/H₂O e propõem (**Figura 25**) que a reação ocorre pela oxidação da ligação C-O da lactona da cumarina com o ClO⁻ seguido de uma hidrólise.

Figura 25 - mecanismo de ação cumarina – ClO⁻.



Fonte: JIN et al., 2019.

Além disso, STARZAK e colaboradores (2019) também corroboram com a ideia que a cloração ocorre principalmente no anel de lactona. Em seu estudo, Wang e colaboradores (2019) também relatam que o ACO (**Figura 26**) pode ser convertido em ácido (Z)-2-(2-hidroxibenzilideno)-3-oxobutanóico (HOA) em presença de ClO⁻.

Figura 26 – Formação do HOA na presença de ClO^- .

Fonte: Adaptado de Wang et al., 2019.

Contudo, NIE e colaboradores (2020) também sugerem que a ligação $\text{C}=\text{C}$ também pode ser utilizado como um sítio de ligação para HOCl/OCl^- (**Figura 27**) sob condições leves. Além disso, propõem que a ligação π é quebrada dando origem a um derivado clorado.

Figura 27 – Ligação $\text{C}=\text{C}$ com sítio para HOCl/OCl^- .

Fonte: Adaptado de NIE et al., 2020.

5.5 – AVALIAÇÃO FUNGICIDA

Os derivados de cumarina foram testados quanto à sua capacidade de inibir ou retardar o crescimento do *C. Albicans*, e os resultados estão expostos na **Tabela 13**. Os testes foram realizados tendo a Anfotericina, um antifúngico da classe dos polienos, e o Fluconazol, um antifúngico triazólico, como controle. Ambos os compostos utilizados como controle inibiram totalmente o crescimento do fungo.

Tabela 13 – Avaliação Fungicida frente ao *C. Albicans*

	400 µg	200 µg	100 µg	50 µg	25 µg	12,5 µg
A₁	Crescimento reduzido	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu
A₂	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu
A₃	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu

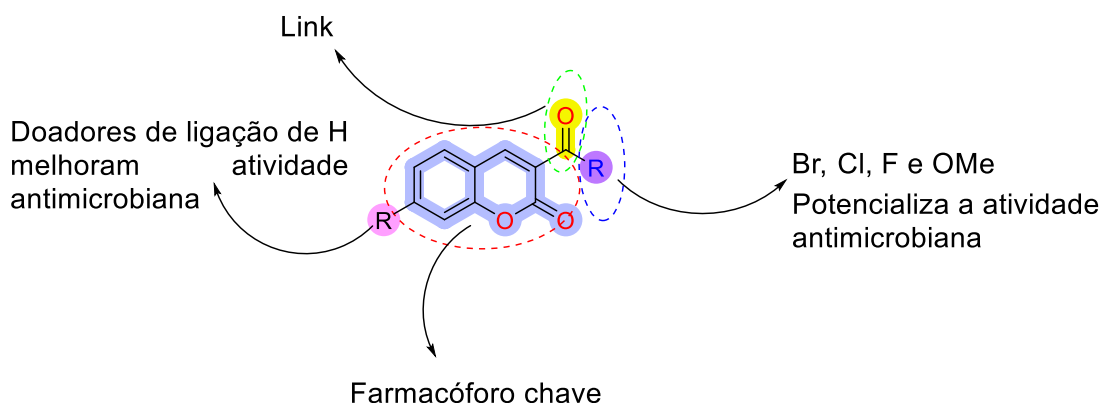
			u		u	u
C₁	Cresceu	Cresceu	Cresce	Cresceu	Cresce	Cresce
			u		u	u
C₂	Cresceu	Cresceu	Cresce	Cresceu	Cresce	Cresce
			u		u	u
C₃	Cresceu	Cresceu	Cresce	Cresceu	Cresce	Cresce
			u		u	u
Anfotericin a	Não cresceu	Não cresceu	Não cresceu	Crescimeto o reduzido	Cresce u	Cresce u
Fluconazol	Não cresceu	Crescimento o reduzido	Cresce u	Cresceu	Cresce u	Cresce u

Fonte: Autor, 2024.

Com base nos resultados obtidos, fica evidenciado que os compostos da série C (C₁, C₂ e C₃) não apresentam atividade frente ao *C. Albicans*. Quanto aos derivados da série A (A₁, A₂ e A₃), os resultados indicam que apenas o derivado A₁ foi capaz de reduzir o crescimento do fungo. Sendo esse dose-dependente, apresentando atividade na concentração de 400 µg, ao passo que nas concentrações de 200 µg, 100 µg, 50 µg, 25 µg e 12,5 µg não houve atividade.

Esses derivados de cumarinas foram selecionados para avaliação quanto a sua atividade fungicida uma vez que em literatura (Radithia et al., 2023; Nogueira et al. 2023) já relata a utilização de cumarinas como fungicida. Esses derivados apresentam características estruturais necessárias, tais como Valores de LogP (0.46 até 5.6) e interações π - π empilhada (PRABHALA et al., 2022).

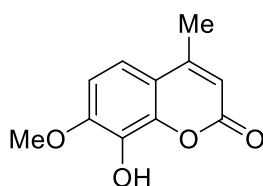
Aliado a isso, NESHA et al. (2024) também evidenciam que o esqueleto das cumarinas (**Figura 28**) desempenha um papel crucial na atuação desses derivados, pois esse fragmento é responsável pela formação de interações π - π empilhadas com o resíduo TYR409.

Figura 28 – Análise Estrutura – Atividade de derivados de cumarina.

Fonte: Adaptado de NESHTAT et al.2024; PRABHALA et al., 2022.

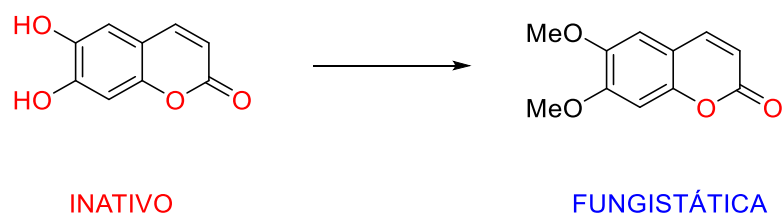
Ao comparar os resultados obtidos para cada série (A e C), observa-se que, embora a adição de um grupo elétron-retirador na posição 6 e 7 do anel acentue a atividade antimicrobiana das cumarinas (NESHTAT et al.2024), a adição de grupos OH nas posições 7 e 8 dos derivados sintetizados não resultou em melhora dessa atividade. De forma contrária, os derivados que carregam os grupos OH nessas posições foram classificados como inativos.

Esses resultados estão em consonância com os dados apresentados por JURD e colaboradores (1971), onde o derivado de cumarina 7,8-dihidroxi-4-metildafnetina (**Figura 29**) não teve efeito no crescimento de *Candida tropicalis*, ao passo que o derivado contendo uma metoxila na posição 7, inibiu totalmente o crescimento de *Candida tropicalis*.

Figura 29 – Estrutura da 7,8-dihidroxi-4-metildafnetina.

Fonte: Autor, 2024.

Além disso, os resultados observados por JURD e colabores (1971) corroboram a ideia de que a adição de grupos OH ao anel resulta em uma diminuição da atividade antimicrobiana. Em seu estudo, observou-se que a metilação da aesculetina (**Figura 30**), resultando na 6,7-dimetoxicumarina, levou ao desenvolvimento de sua atividade fungistática.

Figura 6 - Metilação da aesculetina.

Fonte: Adaptado de JURD et al., 1971.

Dessa forma, o fato de A₁ ser o único derivado a apresentar atividade frente ao *C. Albicans* vai ao encontro com os dados apresentados por PRABHALA e colaboradores (2022), indicando que quando há um átomo de hidrogênio na posição 7 do anel, observa-se uma melhor atividade antifúngica.

Diante dos resultados observados, os derivados de cumarina avaliados foram classificados (**Tabela 14**) quanto à sua ação frente ao *C. Albicans* e apenas o derivado A₁ recebeu a classificação de fungiestático, ou seja, capaz de retardar o desenvolvimento do *C. Albicans*.

Tabela 14 - Ação *C. Albicans*.

COMPOSTO	400 µg	200 µg
A ₁	Fungiestático	-

Fonte: Autor, 2024.

Embora o mecanismo de ação exato não seja conhecido, Atriwal et al. (2021) sugerem que as cumarinas atuem induzindo a apoptose mediada por espécies reativas de oxigênio (ROS).

Adiante, os derivados de cumarina foram testados quanto a sua capacidade de inibir ou retardar o crescimento do *C. neoformans*, e os resultados estão expostos na **Tabela 15**.

Tabela 15 - Avaliação Fungicida frente ao *C. neoformans*.

	400 µg	200 µg	100 µg	50 µg	25 µg	12,5 µg
A ₁	Crescimento reduzido	Crescimento reduzido	Cresceu	Cresceu	Cresceu	Cresceu

A₂	Cresceu	Cresceu	Cresce u	Cresceu	Cresce u	Cresce u
A₃	Crescimen to reduzido	Crescimen to reduzido	Cresce u	Cresceu	Cresce u	Cresce u
C₁	Crescimen to reduzido	Cresceu	Cresce u	Cresceu	Cresce u	Cresce u
C₂	Cresceu	Cresceu	Cresce u	Cresceu	Cresce u	Cresce u
C₃	Cresceu	Cresceu	Cresce u	Cresceu	Cresce u	Cresce u
Anfoterici na	Não cresceu	Não cresceu	Não cresce u	Não cresceu	Não cresce u	Não cresce u
Fluconazo l	Não cresceu	Não cresceu	Não cresce u	Crescimen to reduzido	Cresce u	Cresce u

Fonte: Autor, 2024.

Os resultados indicam que, na concentração de 400 µg, os derivados C₁, A₁ e A₃ foram capazes de retardar o desenvolvimento do *C. neoformans*. Na concentração de 200 µg, apenas os derivados A₁ e A₃ conseguiram retardar o crescimento. No entanto, quando comparados aos fungicidas de referência, Anfotericina e Fluconazol, todos os derivados se mostraram menos eficientes.

De forma análoga ao observado na avaliação frente ao *C. Albicans*, os resultados obtidos para a avaliação frente ao *C. neoformans* também sugerem que a adição de grupos OH ao esqueleto das cumarinas da serie C (C₁, C₂ e C₃) resulta em uma diminuição de sua atividade fungicida. Além disso, os resultados observados para os derivados da serie A (A₁, A₂ e A₃) sugerem que a atividade fungicida observada frente ao *C. neoformans* pode estar maioritariamente relacionada com o substituinte na posição 3 da fração pirona, e não com os grupos OH ligados diretamente ao anel.

Diante dos resultados obtidos, os derivados de cumarina avaliados foram classificados (**Tabela 16**) quanto a sua ação frente ao *C. neoformans*, os derivados A₁ e A₃ foram classificados como fungicida e apenas o derivado C₁ recebeu a

classificação de fungiestático.

Tabela 16 - Ação *C.neoformans*

COMPOSTO	400 µg	200 µg
C ₁	fungiestático	
A ₁	fungicida	fungicida
A ₃	fungicida	fungicida

Fonte: Autor, 2024.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após análise *in silico*, uma série de derivados cumarínicos foi sintetizada e submetida a ensaios biológicos para determinar a sua atividade larvica frente às larvas do 4º estágio. Embora os estudos de docking sugiram uma melhor interação com os da série A, os bioensaios apontam que os derivados da série C apresentam maior eficiência quanto a atividade larvica. Nos ensaios antioxidantes, o derivado C₃ destacou-se por sua capacidade de capturar o radical DPPH (IC₅₀ 7,47 ± 0,22 µM) e demonstrou uma capacidade semelhante à quercetina na captura de O₂^{•-} (IC₅₀ 55,26 ± 1,84 µM). Além disso, no ensaio FRAP, os resultados indicam que o derivado C₃ apresentou potencial antioxidante similar ao Trolox. Em relação à atividade fungicida, o derivado A₁ apresentou o maior potencial, sendo considerado fungicida frente ao *C. neoformans* nas concentrações de 400 e 200 µg, além de expressar comportamento fungiestático dose-dependente frente ao *C. albicans*.

7. PERSPECTIVAS

- Realizar análises de toxicidade das cumarinas sintetizadas;
- Realizar os ensaios antioxidante remanescentes.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A FALLARERO,; OINONEN, P; GUPTA, S; BLOM, P; A GALKIN,; MOHAN, C; VUORELA, P. Inhibition of acetylcholinesterase by coumarins: the case of coumarin 106. **Pharmacological Research**, [S.L.], v. 58, n. 3-4, p. 215-221, set. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2008.08.001>.

AHMED, Nadeem; ZAREEN, Wajeeha; ZHANG, Di; YANG, Xiaopeng; YE, Yong. Irreversible coumarin based fluorescent probe for selective detection of Cu²⁺ in living cells. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S.L.], v. 264, p. 120313, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2021.120313>.

AL-MAJEDY, Yasameen; AL-AMIERY, Ahmed; KADHUM, Abdul Amir; BAKARMOHAMAD, Abu. Antioxidant Activity of Coumarins. **Systematic Reviews In Pharmacy**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 24-30, 19 nov. 2016. SynthesisHub Advance Scientific Research. <http://dx.doi.org/10.5530/srp.2017.1.6>.

ALVES, Vinicius; BRAGA, Rodolpho; MURATOV, Eugene; ANDRADE, Carolina. QUIMIOINFORMÁTICA: uma introdução. Química Nova, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 202-212, 2017. **Sociedade Brasileira de Química** (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170145>.

ATMACA, Mukadder; BILGIN, Hakkı Murat; OBAY, Basra Deniz; DIKEN, Hüda; KELLE, Mustafa; KALE, Ebru. The hepatoprotective effect of coumarin and coumarin derivatives on carbon tetrachloride-induced hepatic injury by antioxidative activities in rats. **Journal Of Physiology And Biochemistry**, [S.L.], v. 67, n. 4, p. 569-576, 9 jun. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13105-011-0103-5>.

ATRIWAL, Tanu; CHAWLA, Meenal; HUSSAIN, Afzal; ALAJMI, Mohamed F.; ABID, Mohammad. Reactive oxygen mediated apoptosis as a therapeutic approach against opportunistic Candida albicans. **Advances In Protein Chemistry And Structural**

Biology, [S.L.], p. 25-49, 2021. Elsevier.
<http://dx.doi.org/10.1016/bs.apcsb.2020.12.004>.

AYATI, Adileh; BAKHSHAIESH, Tayebbeh Oghabi; MOGHIMI, Setareh; ESMAEILI, Rezvan; MAJIDZADEH-A, Keivan; SAFAVI, Maliheh; FIROOZPOUR, Loghman; EMAMI, Saeed; FOROUMADI, Alireza. Synthesis and biological evaluation of new coumarins bearing 2,4-diaminothiazole-5-carbonyl moiety. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 155, p. 483-491, jul. 2018. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.06.015>.

BARDASOV, I. N. et al. One-pot synthesis of 4-alkyl-2-amino-4H-chromene derivatives. **Heterocyclic Communications**, v. 21, n. 3, p. 175–177, 1 jun. 2015. DOI: 10.1515/hc-2015-0077.

BEILLEROT, Adeline; DOMÍNGUEZ, Juan-Carlos Rodríguez; KIRSCH, Gilbert; BAGREL, Denyse. Synthesis and protective effects of coumarin derivatives against oxidative stress induced by doxorubicin. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S.L.], v. 18, n. 3, p. 1102-1105, fev. 2008. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.12.004>.

BENZIE, I. E. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BHAT, Aeyaz Ahmad; KAUR, Gurdeep; TANDON, Nitin; TANDON, Runjhun; SINGH, Iqbal. Current advancements in synthesis, anticancer activity, and structure–activity relationship (SAR) of coumarin derivatives. **Inorganic Chemistry Communications**, [S.L.], v. 167, p. 112605, set. 2024. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.inoche.2024.112605>.

BIANCHI, Maria de Lourdes Pires; ANTUNES, Lusânia Maria Greggi. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 123-130, ago. 1999. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52731999000200001>.

BUBOLS, Guilherme Borges; VIANNA, Damiana da Rocha; MEDINA-REMON, Alexander; VON POSER, Gilsane; LAMUELA-RAVENTOS, Rosa Maria; EIFLER-LIMA, Vera Lucia; GARCIA, Solange Cristina. The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoids. **Mini-Reviews In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 318-334, 18 jan. 2013. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389557511313030002>.

BURDA, Stanislaw; OLESZEK, Wieslaw. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 49, n. 6, p. 2774-2779, 30 maio 2001. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf001413m>.

CAMPOS, Izabela Cristina Pereira. Modelagem e docking molecular da glutathione S-transferase epsilon 2 de aedes aegypti: possíveis implicações na resistência a inseticidas químicos. 2017. 66f. (Trabalho de Conclusão de Curso – Monografia), Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé – Paraíba – Brasil, 2017. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/4767>

CARUSO, Francesco; INCERPI, Sandra; PEDERSEN, Jens; BELLI, Stuart; KAUR, Sarjit; ROSSI, Miriam. Aromatic Polyphenol π - π Interactions with Superoxide Radicals Contribute to Radical Scavenging and Can Make Polyphenols Mimic Superoxide Dismutase Activity. **Current Issues In Molecular Biology**, [S.L.], v. 44, n. 11, p. 5209-5220, 26 out. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cimb44110354>.

CASTRO, Inar A.; ROGERO, Marcelo M.; JUNQUEIRA, Roberto M.; CARRAPEIRO, Mariana M.. Free radical scavenger and antioxidant capacity correlation of α -tocopherol and Trolox measured by three in vitro methodologies. **International Journal Of Food Sciences And Nutrition**, [S.L.], v. 57, n. 1-2, p. 75-82, jan. 2006. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/09637480600656199>.

CHAVARRÍA, Alma Iris Valenzuela; BLAS, Richard David Arana. Determinantes

sociodemográficos y ambientales asociados a infestación domiciliaria por *Aedes aegypti* en el barrio Nuevo Amanecer, San Sebastián de Yalí, Jinotega, Nicaragua, 2022. **Revista Científica Estelí**, [S.L.], n. 49, p. 42-60, 20 maio 2024. Consejo Nacional de Universidades. <http://dx.doi.org/10.5377/esteli.v13i49.17884>.

CHEN, Shan-Shan; WANG, Haoran; WU, Bo; LI, Qiyao; GONG, Junyi; ZHAO, Yun-Li; ZHAO, Yun; XIAO, Xia; LAM, Jacky W. Y.; ZHAO, Zheng. Natural Coumarin Isomers with Dramatically Different AIE Properties: mechanism and application. **Acs Central Science**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 883-891, 19 abr. 2023. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acscentsci.3c00012>.

CUNHA, S. et al. SYNTHESIS OF 3-COUMARI N-CARBOXYLIC ACIDS AND THEIR APPLICATION IN THE TOTAL SYNTHESIS OF AIAPIN, COUMARIN, AND UMBELIFERONE. **Química Nova**, 2015. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150096>.

DESHMUKH, M. et al. Efficacy of 4-methyl-7-hydroxy coumarin derivatives against vectors *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 46, n. 11, p. 788–792, 1 nov. 2008.

DIAS, Livia Karla Sales; SANHUEZA-SANZANA, Carlos; PINHEIRO JÚNIOR, Francisco Marto Leal; MARTINS, Adriano Ferreira; CORREIA, Francisco Gustavo Silveira; AGUIAR, Italo Wesley Oliveira de; FERREIRA, Nayane Cavalcante; STOLOW, Jeni; RUTHERFORD, George; TEIXEIRA, Maria Gloria. Uso de repelente como medida de proteção pessoal por mulheres em idade fértil residentes em áreas endêmicas para arboviroses no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, [S.L.], v. 27, p. 1-11, 2024. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1980-549720240025.2>.

DOCTOR, Ninad; PARKER, Grayson; VANG, Katie; SMITH, Melanie; KAYAN, Berkant; YANG, Yu. Stability and Extraction of Vanillin and Coumarin under Subcritical Water Conditions. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 5, p. 1061, 27 fev. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25051061>.

DOTSENKO, V. V.; VARZOEVA, E.A.; BURIY, D.S.; AKSENOV.; AKSENOVA, I.V.. First Synthesis of 2-Amino-5-hydroxy-4H-chromene-3-carbonitriles from 4-(2-Pyridylazo)resorcinol. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 92, n. 11, p. 2254–2258, 1 nov. 2022. DOI: 10.1134/S1070363222110081.

ELIDIO, Guilherme A.; SALLAS, Janaína; PACHECO, Flávia Caselli; OLIVEIRA, Cesar de; GUILHEM, Dirce Bellezi. Atenção primária à saúde: a maior aliada na resposta à epidemia da dengue no brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, [S.L.], v. 48, p. 1-2, 4 abr. 2024. Pan American Health Organization. <http://dx.doi.org/10.26633/rpsp.2024.47>.

EL-SHAAER, H. M. Cyclocondensation, antimicrobial activity and semi-empirical AM1-MO calculations of benzopyrone derivatives. **European Journal of Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 51–56, 31 mar. 2012. DOI:10.5155/eurjchem.3.1.51-56.500

FAGUNDES, F. H. R. **Estudos de estrutura e função de uma PLA2 Lys49 de Bothrops jararacussu e avaliação do efeito de cumarinas sintéticas sobre sua estrutura e atividade biológica.** Disponível em: <<https://hdl.handle.net/20.500.12733/1614060>>. Acesso em: 19 jan. 2024.

FALCÃO, N. K. S. M. Síntese e aplicações de catalisadores com propriedades magnéticas em estudos metodológicos de reações orgânicas. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/21562>>. Acesso em: 18 jan. 2024.

FERREIRA, J. M. G. DE O. Estudo da reação de Knoevenagel em condições eco-amigáveis visando às sínteses de compostos carbonílicos α,β - insaturados e cumarinas. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/20678>>. Acesso em: 8 fev. 2024.

FOBOFOU, Serge A. T.; FRANKE, Katrin; BRANDT, Wolfgang; MANZIN, Aldo; MADEDDU, Silvia; SERRELI, Gabriele; SANNA, Giuseppina; WESSJOHANN, Ludger A.. Bichromonol, a dimeric coumarin with anti-HIV activity from the stem bark of *Hypericum roeperianum*. **Natural Product Research**, [S.L.], v. 37, n. 12, p. 1947-1953, 12 ago. 2022. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2022.2110094>.

FURTADO, Roselayne F.; LIMA, Maria G.A. de; ANDRADE NETO, Manoel; BEZERRA, José N.s.; SILVA, Maria G. de V.. Atividade larvica de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: culicidae). **Neotropical Entomology**, [S.L.], v. 34, n. 5, p. 843-847, out. 2005. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1590/s1519-566x2005000500018>.

FYLAKTAKIDOU, Konstantina; HADJIPAVLOU-LITINA, Dimitra; LITINAS, Konstantinos; NICOLAIDES, Demetrios. Natural and Synthetic Coumarin Derivatives with Anti-Inflammatory / Antioxidant Activities. **Current Pharmaceutical Design**, [S.L.], v. 10, n. 30, p. 3813-3833, 1 nov. 2004. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1381612043382710>.

GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SARMENTO, U. C.. Naturally Occurring Plant Compounds with Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti*. **Revista Virtual de Química**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 363-393, 2013. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20130034>.

GONÇALVES, L. D.; VASCONCELOS, V. de O.; AZEVEDO, A. M.; ROYO, V. de A.; VIEIRA, T. M.; MENEZES, E. V. Atividade larvica de extratos vegetais de espécies do cerrado sobre *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 9, n. 11, p. 30024–30040, 2023. DOI: 10.34117/bjdv9n11-047. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/64943>. Acesso em: 22 jul. 2024.

GU, J.; XIAO, pan-lei.; WANG, jie.; ZHONG, liang.; NIE, xu-liang.; PENG, da-yong. Synthesis, crystal structure, spectroscopic characterization and anti-fungal activity of Ethyl 2-Oxo-2H-chromene-3-carboxylate Derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1257, p. 132576–132576, 1 jun. 2022.

GUZMAN, M. G. et al. Dengue infection. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, n. 1, 18 ago. 2016. doi:10.1038/nrdp.2016.55.

HARTOG, G.J.M. Den; HAENEN, G.R.M.M.; VEGT, E.; VIJGH, W.J.F. van Der; BAST, A.. Efficacy of HOCl Scavenging by Sulfur- Containing Compounds: antioxidant activity of glutathione disulfide?. **Biological Chemistry**, [S.L.], v. 383, n. 3-4, p. 709-713, 12 jan. 2002. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/bc.2002.073>.

HEIM, Kelly e; TAGLIAFERRO, Anthony R; BOBILYA, Dennis J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal Of Nutritional Biochemistry**, [S.L.], v. 13, n. 10, p. 572-584, out. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0955-2863\(02\)00208-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00208-5).

HIRPARA, Ketan V.; AGGARWAL, Pawan; MUKHERJEE, Amrita J.; JOSHI, Narendra; BURMAN, Anand C.. Quercetin and Its Derivatives: synthesis, pharmacological uses with special emphasis on anti-tumor properties and prodrug with enhanced bio-availability. **Anti-Cancer Agents In Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 138-161, 1 fev. 2009. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/187152009787313855>.

HUMAT, Pimpak; KHONGKHUNTHIAN, Sakornrat; WANACHANTARARAK, Phenphichar; OKONOGI, Siriporn. Comparative inhibitory effects of 4-allylpyrocatechol isolated from Piper betle on Streptococcus intermedius, Streptococcus mutans, and Candida albicans. **Archives Of Oral Biology**, [S.L.], v. 113, p. 104690, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104690>.

HUSSAIN, M. I.; QAMAR ABBAS, S.; REIGOSA, M. J.. Activities and Novel Applications of Secondary Metabolite Coumarins. **Planta Daninha**, v. 36, p. e018174040, 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582018360100016>.

IGHODARO, O.M.; AKINLOYE, O.A.. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 54, n. 4, p. 287-293, 1 dez. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.

IONITA, Petre. The Chemistry of DPPH· Free Radical and Congeners. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 1545, 3 fev. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22041545>.

JAVIDFAR, M.; AHMADI, S.. QSAR modelling of larvicidal phytocompounds against *Aedes aegypti* using index of ideality of correlation. **Sar And Qsar In Environmental Research**, [S.L.], v. 31, n. 10, p. 717-739, 15 set. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1062936x.2020.1806922>.

JIN, Lei; TAN, Xiaoxue; DAI, Lihui; ZHAO, Cong; WANG, Wenling; WANG, Qingming. A novel coumarin-based fluorescent probe with fine selectivity and sensitivity for hypochlorite and its application in cell imaging. **Talanta**, [S.L.], v. 202, p. 190-197, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2019.04.070>.

JUCÁ, Mércia Marques; CYSNE FILHO, Francisco Mauricio Sales; ALMEIDA, Jamily Cunha de; MESQUITA, Dara da Silva; BARRIGA, Jéssica Rodrigues de Moraes; DIAS, Kátia Cilene Ferreira; BARBOSA, Talita Matias; VASCONCELOS, Luna Costa; LEAL, Luzia Kalyne Almeida Moreira; RIBEIRO, José Eduardo. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. **Natural Product Research**, [S.L.], v. 34, n. 5, p. 692-705, 16 nov. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2018.1493588>.

JURD, L.; CORSE, J.; KING, A.D.; BAYNE, H.; MIHARA, K.. Antimicrobial properties of 6,7-dihydroxy-, 7,8-dihydroxy-, 6-hydroxy- and 8-hydroxycoumarins. **Phytochemistry**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 2971-2974, dez. 1971. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)97334-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(00)97334-5).

KANEKO, Takao; BABA, Naomichi; MATSUO, Mitsuyoshi. Protection of coumarins against linoleic acid hydroperoxide-induced cytotoxicity. **Chemico-Biological Interactions**, [S.L.], v. 142, n. 3, p. 239-254, jan. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0009-2797\(02\)00077-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0009-2797(02)00077-7).

KECEL-GUNDUZ, Serda; BUDAMA-KILINC, Yasemin; BICAK, Bilge; GOK, Bahar; BELMEN, Burcu; AYDOGAN, Feray; YOLACAN, Cigdem. New coumarin derivative

with potential antioxidant activity: synthesis, dna binding and in silico studies (docking, md, admet). **Arabian Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 104440, fev. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104440>.

KIRILLOV, N. F.; MAKHMUDOV, R. R.; NIKIFOROVA, E. A.; MARDANOVA, L. G.. Synthesis and Antinociceptive Activity of 4-(1-Methoxycarbonylcyclohexyl)-and 6-Bromo-4-(1-Methoxycarbonylcyclohexyl)-2-Oxochromane-3-Carboxylic Acid Derivatives. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, [S.L.], v. 49, n. 8, p. 506-508, nov. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11094-015-1315-8>.

KISHORE, Navneet; MISHRA, Bhuwan B.; TIWARI, Vinod K.; TRIPATHI, Vyasji; LALL, Namrita. Natural products as leads to potential mosquitocides. *Phytochemistry Reviews*, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 587-627, 23 ago. 2013. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1007/s11101-013-9316-2>.

KOLMYKOV, Oleksii; CHEBBAT, Nassima; COMMENGE, Jean-Marc; MEDJAHDI, Ghouti; SCHNEIDER, Raphaël. ZIF-8 nanoparticles as an efficient and reusable catalyst for the Knoevenagel synthesis of cyanoacrylates and 3-cyanocoumarins. **Tetrahedron Letters**, [S.L.], v. 57, n. 52, p. 5885-5888, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.11.070>.

KOSTOVA, I.; BHATIA, S.; GRIGOROV, P.; BALKANSKY, S.; PARMAR, V. S.; PRASAD, A. K.; SASO, L.. Coumarins as Antioxidants. **Current Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 18, n. 25, p. 3929-3951, 1 set. 2011. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/092986711803414395>.

KUMAR, S.; VASHISHT, N.; ARUNA; SHARMA, S. P.. One-Pot Green Synthesis of 2-Oxo-2H-chromene-3-carbonitriles Using Dual-Frequency Ultrasonication. **Russian Journal Of Organic Chemistry**, [S.L.], v. 57, n. 9, p. 1508-1512, set. 2021. Pleiades Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.1134/s1070428021090189>.

LI, Qing; YANG, Yunhui; LI, Yijian; MI, Yingqi; MA, Xuanxuan; JIANG, Aili; GUO, Zhanyong. Enhanced biological activities of coumarin-functionalized polysaccharide

derivatives: chemical modification and activity assessment. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 253, p. 126691, dez. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126691>.

LIMA, Lídia M.. Química Medicinal Moderna: desafios e contribuição brasileira. *Química Nova*, [S.L.], v. 30, n. 6, p. 1456-1468, dez. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422007000600015>.

LIPINSKI, Christopher A.; LOMBARDO, Franco; DOMINY, Beryl W.; FEENEY, Paul J.. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 23, n. 1-3, p. 3-25, jan. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x\(96\)00423-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0169-409x(96)00423-1).

LOHNING, A. E. et al. A Practical Guide to Molecular Docking and Homology Modelling for Medicinal Chemists. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 18, 7 jun. 2017.

LUCAS, M. et al. The scavenging effect of curcumin, piperine and their combination against physiological relevant reactive pro-oxidant species using in vitro non-cellular and cellular models. **Chemical Papers**, v. 75, n. 10, p. 5269–5277, 2021.

MARTINS, Suzi Moraes Aires; CAVALCANTE, Kiany Sirley Brandão; TELES, Rogério de Mesquita; BRANDÃO, Clenilma Marques; GODINHO, Allan Sampaio; SILVA, Lanna Karinny; HOLANDA, Carlos Alexandre; ROCHA, Cláudia Quintino da. Chemical profiling of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae) plant extracts and its application against larvae of *Aedes aegypti* L. (diptera: culicidae). **Acta Tropica**, [S.L.], v. 237, p. 106706, jan. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106706>.

MATOS, Maria João Correia Pinto Carvalho de. **Cumarinas: Versatilidad estructural y aplicaciones en Química Farmacéutica**. 2013. 342 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 2013.

MENDES, Luiza Alves; SILVA, Rafael Resende Assis; VASCONCELOS, Loren

Cristina; TEIXEIRA, Róbson Ricardo; FERREIRA, Marcia Flores da Silva; MOREIRA, Renata Pereira Lopes. ATIVIDADE LARVICIDA DO COMPLEXO DE INCLUSÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PSIDIUM CATTLEYANUM S. EM AEDES AEGYPTI L. **Anais do XXVII Inic, XXIII Epg, XVII Inic Jr, XIII Inid, III Enexun**, [S.L.], p. 1-4, 2023. Universidade do Vale do Paraíba. <http://dx.doi.org/10.18066/inic0010.23>.

NESHAT, Naziya; AAGHAZ, Shams; NASIR, Abdul; ALAM, Ozair; RAO, Gsn Koteswara; IMRAN, Mohd.; DAS, Subham; JOSEPH, Alex; AKHTER, Mymoon. Coumarin-based C-2 cycloalkylated histidine derivatives: design, synthesis, biological evaluation, molecular docking and md simulation studies as potential antimicrobial agents. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1295, p. 136648, jan. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136648>.

NIE, Jing; SUN, Hao; MIAO, Baoxi; NI, Zhonghai. A novel coumarin-based ratiometric near-infrared fluorescence probe for hypochlorous acid in living cells. **Dyes And Pigments**, [S.L.], v. 181, p. 108590, out. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108590>.

NUNES, Jéssica Alves. Planejamento racional de novas cumarinas como potenciais inibidores de cisteíno proteases do Trypanosoma cruzi e Trypanosoma brucei. 2023. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2023.

NOGUEIRA, Paula Lima; ALVES, Danielle da Nóbrega; COSTA, Palloma Christine Queiroga Gomes da; ARAUJO, Gleycyelly Rodrigues; FERREIRA, Alana Rodrigues; FARIAS, Ana Paula Gomes Moura; SOUSA, Natália Ferreira de; SOBRAL, Marianna Vieira; SOUSA, Damião Pergentino de; SCOTTI, Marcus Tullius. Derivative of 7-hydroxycoumarin has antifungal potential against Candida species and low cytotoxicity against human cells: in silico studies and biological evaluation. **Fungal Biology**, [S.L.], v. 127, n. 12, p. 1451-1465, dez. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2023.10.007>.

OLIVEIRA, Ewerton Cristhian Lima de; COSTA, Kauê Santana da; TAUBE, Paulo Sérgio; LIMA, Anderson H.; SALES JUNIOR, Claudomiro de Souza de. Biological

Membrane-Penetrating Peptides: computational prediction and applications. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [S.L.], v. 12, p. 1-23, 25 mar. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2022.838259>.

OLIVEIRA, G.L.s.. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 36-44, mar. 2015. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/12_165.

OLIVEIRA, Vanessa; SÁ, Ingredy; SILVA, Georgetown da; SANTOS, Victória; ARAËJO, Cleônia; GONSALVES, Arlan. SEMICARBAZONAS: sequência didática interdisciplinar em aulas experimentais de química orgânica e química medicinal. **Química Nova**, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 207-214, jul. 2022. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170962>.

PANDEY, A. K. et al. Efficient Synthesis of 3-Substituted Coumarins as Potential Anti-Microbial Agents. **Journal of scientific research**, v. 64, n. 01, p. 176–181, 2020. DOI: 10.37398/JSR.2020.640138.

PATEL, Ketan S.; PATEL, Jiten C.; DHOLARIYA, Hitesh R.; PATEL, Kanuprasad D.. Multiple heating rate kinetic parameters, thermal, X-ray diffraction studies of newly synthesized octahedral copper complexes based on bromo-coumarins along with their antioxidant, anti-tubercular and antimicrobial activity evaluation. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S.L.], v. 96, p. 468-479, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2012.05.057>.

PAYÁ, Miguel; HALLIWELL, Barry; HOULT, J.R.s.. Interactions of a series of coumarins with reactive oxygen species. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 44, n. 2, p. 205-214, jul. 1992. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952\(92\)90002-z](http://dx.doi.org/10.1016/0006-2952(92)90002-z).

PÉREZ-CRUZ, Karina; MONCADA-BASUALTO, Mauricio; MORALES-VALENZUELA, Javier; BARRIGA-GONZÁLEZ, Germán; NAVARRETE-ENCINA, Patricio; NÑEZ-VERGARA, Luis; SQUELLA, J.A.; OLEA-AZAR, Claudio. Synthesis and antioxidant study of new polyphenolic

hybrid-coumarins. **Arabian Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 525-537, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.007>.

POOJA et al. Coumarin-based Chemosensors for Metal Ions Detection. **Asian Journal of Organic Chemistry**, v. 11, n. 12, 8 nov. 2022.

PORTO, Karla Rejane de Andrade; ROEL, Antonia Railda; SILVA, Márcia Marlene da; COELHO, Rosemary Matias; SCHELEDER, Eloty Justina Dias; JELLER, Alex Haroldo. Atividade larvicida do óleo de Anacardium humile Saint Hill sobre Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 41, n. 6, p. 586-589, dez. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822008000600008>.

POZO-MARTÍNEZ, Josué; VÁZQUEZ-RODRÍGUEZ, Saleta; OLEA-AZAR, Claudio; MONCADA-BASUALTO, Mauricio. Evaluation of ORAC methodologies in determination of antioxidant capacity of binary combinations of quercetin and 3-(3,4,5-trihydroxybenzoyl) coumarin derivatives. **Arabian Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 15, n. 11, p. 104298, nov. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104298>.

PRABHALA, Pavankumar; SUTAR, Suraj M.; SAVANUR, Hemantkumar M.; JOSHI, Shrinivas D.; KALKHAMBKAR, Rajesh G.. In vitro antimicrobial combat, molecular modelling and structure activity relationship studies of novel class of aryl-ethyne tethered coumarin analogues and some 3-aryl coumarin derivatives. **European Journal Of Medicinal Chemistry Reports**, [S.L.], v. 5, p. 100048, ago. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmcr.2022.100048>.

RADITHIA, Desiana; TANJUNGSARI, Rindang; ERNAWATI, Diah Savitri; PARMADIATI, Adiastruti Endah. The effectiveness of essential oil from Citrus limon peel on Candida albicans biofilm formation: an experimental in vivo study. **Journal Of Taibah University Medical Sciences**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 190-195, fev. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtumed.2022.07.011>.

RAZAVI, Seyyede Faeze; KHOOBI, Mehdi; NADRI, Hamid; SAKHTEMAN,

Amirhossein; MORADI, Alireza; EMAMI, Saeed; FOROUMADI, Alireza; SHAFIEE, Abbas. Synthesis and evaluation of 4-substituted coumarins as novel acetylcholinesterase inhibitors. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 64, p. 252-259, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.03.021>.

REHMAN, H. et al. Synthesis, X-ray analysis and antibacterial study of silver complex with ethyl-5-hydroxy- 2-oxo-2H-chromene-3-carboxylate. **Bulletin of The Chemical Society of Ethiopia**, v. 33, n. 3, p. 467–467, 15 nov. 2019.

RODRIGUES, J. S. da M. .; COSTA, E. D. . In silico ADME/T prediction of novel potential inhibitors against dengue virus. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 4, p. e53010414459, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i4.14459. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14459>. Acesso em: 16 jan. 2024. RODRÍGUEZ, Sergio A.; BAUMGARTNER, Maria T.. Theoretical study of the reaction mechanism of a series of 4-hydroxycoumarins against the DPPH radical. **Chemical Physics Letters**, [S.L.], v. 601, p. 116-123, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cplett.2014.03.080>.

RODRÍGUEZ, Sergio A.; NAZARENO, Mónica A.; BAUMGARTNER, Maria T.. Effect of different C3-aryl substituents on the antioxidant activity of 4-hydroxycoumarin derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 19, n. 21, p. 6233-6238, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2011.09.012>.

ROSSI, Tatiane de; LOZOVOY, Marcell Alysson Batisti; SILVA, Valeriano da; FERNANDES, Eduardo Vignoto; GERALDINO, Thais Herrero; COSTA, Ivete Conchon; SARIDAKIS, Halha Ostrenski; WATANABE, Maria Angelica Ehara; FELIPE, Ionice. Interações entre Candida albicans e hospedeiro. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 15-28, 30 jul. 2011. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.2011v32n1p15>.

ROUAIGUIA-BOUAKKAZ, Samia; BENAYAHOU, Ali. The antioxidant activity of 4-hydroxycoumarin derivatives and some sulfured analogs. **Journal Of Physical Organic Chemistry**, [S.L.], v. 28, n. 12, p. 714-722, 27 ago. 2015. Wiley.

<http://dx.doi.org/10.1002/poc.3475>.

RUNDITO, R.; NOVRIAL, D.; SUTRISNA, E. Uji Efek Larvasida Ekstrak Daun Gamal (*Gliricida sepium*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* . **Jurnal Surya Medika (JSM)**, v. 7, n. 2, p. 116–123, 1 fev. 2022.

SAIRAM, Mudulkar; SAIDACHARY, Gannerla; RAJU, Bhimapaka China. Condensation of salicylaldehydes with ethyl 4,4,4-trichloro-3-oxobutanoate: a facile approach for the synthesis of substituted 2h-chromene-3-carboxylates. **Tetrahedron Letters**, [S.L.], v. 56, n. 11, p. 1338-1343, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.01.114>.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. **Food Research Internacional**, v. 32, n. 6, p. 407-412, 1999.

ŠARKANJ, Bojan; MOLNAR, Maja; ČAČLĆ, Milan; GILLE, Lars. 4-Methyl-7-hydroxycoumarin antifungal and antioxidant activity enhancement by substitution with thiosemicarbazide and thiazolidinone moieties. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 139, n. 1-4, p. 488-495, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.027>.

SHAO, Guang., XIA, Yan., XIONG, Honglan., HE, líjuan., ZENG, Zhuo., JÍANG, Dingxin., WANG, Hui. Synthesis and larvicidal activities of compounds based on coumarin and dibenzothiophene/carbazole. **Research on Chemical Intermediates** 44, 1235–1245 (2018). <https://doi.org/10.1007/s11164-017-3163-5>.

SILVA, Heloísa Helena Garcia da; SILVA, Ionizete Garcia da; SANTOS, Regina Maria Geris dos; RODRIGUES FILHO, Edson; ELIAS, Carmeci Natalina. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 396-399, out. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822004000500005>.

SILVA, Welson Vicente da; SILVA, Wesley Vicente da; HOLANDA, Vanderlan Nogueira. ESTUDO IN SILICO DO POTENCIAL DE FÁRMACOS AZÓLICOS SOBRE SARS-CoV-2: uma abordagem química-medicinal. *Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia*, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 636-648, 5 nov. 2020. *Revista Interfaces: Saude, Humanas e Tecnologia*. <http://dx.doi.org/10.16891/2317-434x.v8.e3.a2020.pp636-648>.

SINGH, Priyanka; ARIF, Yamshi; BAJGUZ, Andrzej; HAYAT, Shamsul. The role of quercetin in plants. *Plant Physiology And Biochemistry*, [S.L.], v. 166, p. 10-19, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.023>.

SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 71-81, jan. 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732002000100008>.

STARZAK, Karolina; MATWIJCZUK, Arkadiusz; CREAVENT, Bernadette; MATWIJCZUK, Alicja; WYBRANIEC, Sławomir; KARCZ, Dariusz. Fluorescence Quenching-Based Mechanism for Determination of Hypochlorite by Coumarin-Derived Sensors. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 281, 11 jan. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20020281>.

TIAN, Zejie; SHI, Lei; LIU, Zhenhua; LI, Hui; YANG, Lingyan; LIU, Yunmei. Synthesis and antitumor study of novel porphyrin–coumarin derivatives for chemotherapy and photodynamic therapy. *Journal Of Molecular Structure*, [S.L.], v. 1288, p. 135826, set. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135826>.

UROOS, Maliha; JAVAID, Arshad; BASHIR, Amina; TARIQ, Javaria; KHAN, Iqra Haider; NAZ, Sadia; FATIMA, Sameeta; SULTAN, Misbah. Green synthesis of coumarin derivatives using Brønsted acidic pyridinium based ionic liquid [MBSPy][HSO₄] to control an opportunistic human and a devastating plant pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*. *Rsc Advances*, [S.L.], v. 12, n. 37, p. 23963-23972, 2022. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/d2ra03774b>.

VAITHIYALINGAM, M., KAMARAJ, C., MOHANKUMAR, R. *et al.* Bio-active compound isolated from *Aegle marmelos* fruit pulp and semi-synthetic modifications: a Biological potential. **Biomass Conversion and Biorefinery** (2022). <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03538-2>.

VALIZADEH, H.; ASHRAF FAKHARI. Facile, efficient, and eco-friendly synthesis of benzo[b]pyran-2-imines over MgO and transformation to the coumarin derivatives. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 46, n. 6, p. 1392–1395, 1 nov. 2009.

VUKOVIC, Nenad; SUKDOLAK, Slobodan; SOLUJIC, Slavica; NICIFOROVIC, Neda. Substituted imino and amino derivatives of 4-hydroxycoumarins as novel antioxidant, antibacterial and antifungal agents: synthesis and in vitro assessments. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 120, n. 4, p. 1011-1018, jun. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.040>.

WANG, Qingming; JIN, Lei; WANG, Wenling; DAI, Lihui; TAN, Xiaoxue; ZHAO, Cong. Two coumarin-based turn-on fluorescent probes based on for hypochlorous acid detection and imaging in living cells. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S.L.], v. 211, p. 239-245, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2018.12.019>.

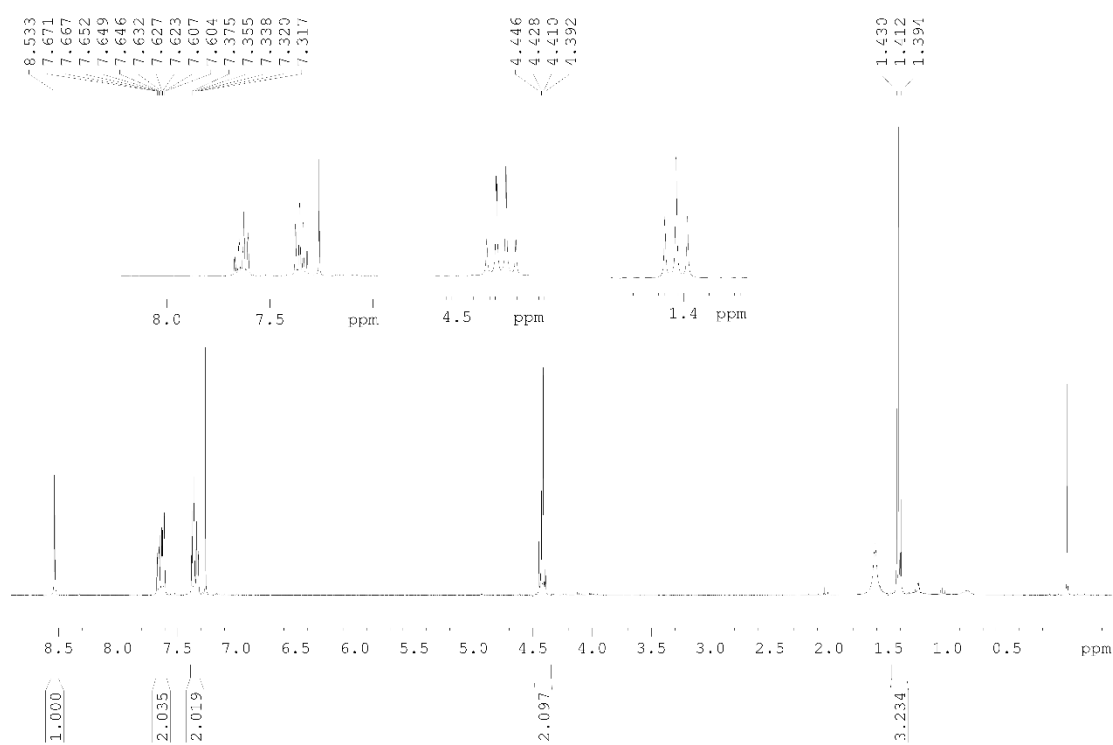
WEI, Lai; WANG, Jixia; ZHANG, Xiuli; WANG, Ping; ZHAO, Yaopeng; LI, Jiaqi; HOU, Tao; QU, Lala; SHI, Liying; LIANG, Xinmiao. Discovery of 2H-Chromen-2-one Derivatives as G Protein-Coupled Receptor-35 Agonists. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 60, n. 1, p. 362-372, 28 dez. 2016. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01431>.

WITAICENIS, Aline; SEITO, Leonardo Noboru; CHAGAS, Alexandre da Silveira; ALMEIDA, Luiz Domingues de; LUCHINI, Ana Carolina; RODRIGUES-ORSI, Patrícia; CESTARI, Silvia Helena; STASI, Luiz Claudio di. Antioxidant and intestinal anti-inflammatory effects of plant-derived coumarin derivatives. **Phytomedicine**, [S.L.], v. 21, n. 3, p. 240-246, fev. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2013.09.001>.

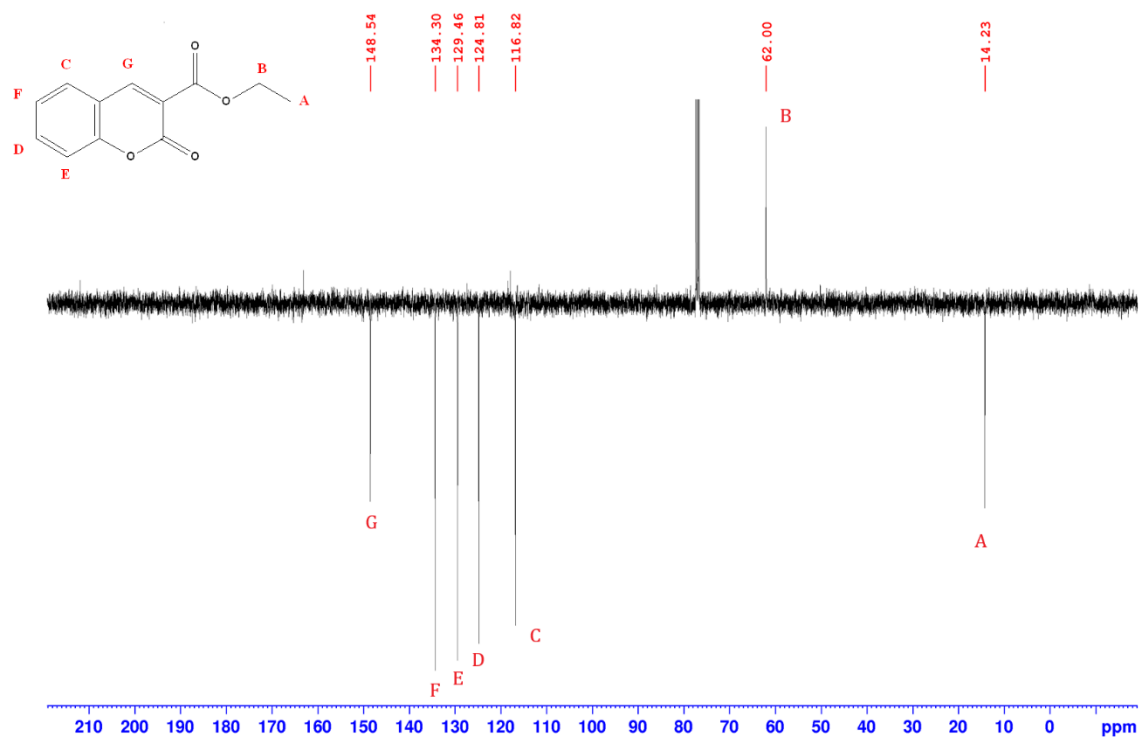
WU, Xiaoming; WANG, Hao; YANG, Shaoxiang; TIAN, Hongyu; LIU, Yongguo; SUN, Baoguo. A novel coumarin-based fluorescent probe for sensitive detection of copper(II) in wine. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 284, p. 23-27, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.090>.

XIANG, Xin; CHEN, Yafang; WU, Lang; ZHANG, Long; ZHANG, Yan; YANG, Wude; YU, Xiang. Preparation and biological evaluation of coumarin amide derivatives bearing fluorine as potential fungicides and anticancer agents. **Arabian Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 17, n. 9, p. 105872, set. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2024.105872>.

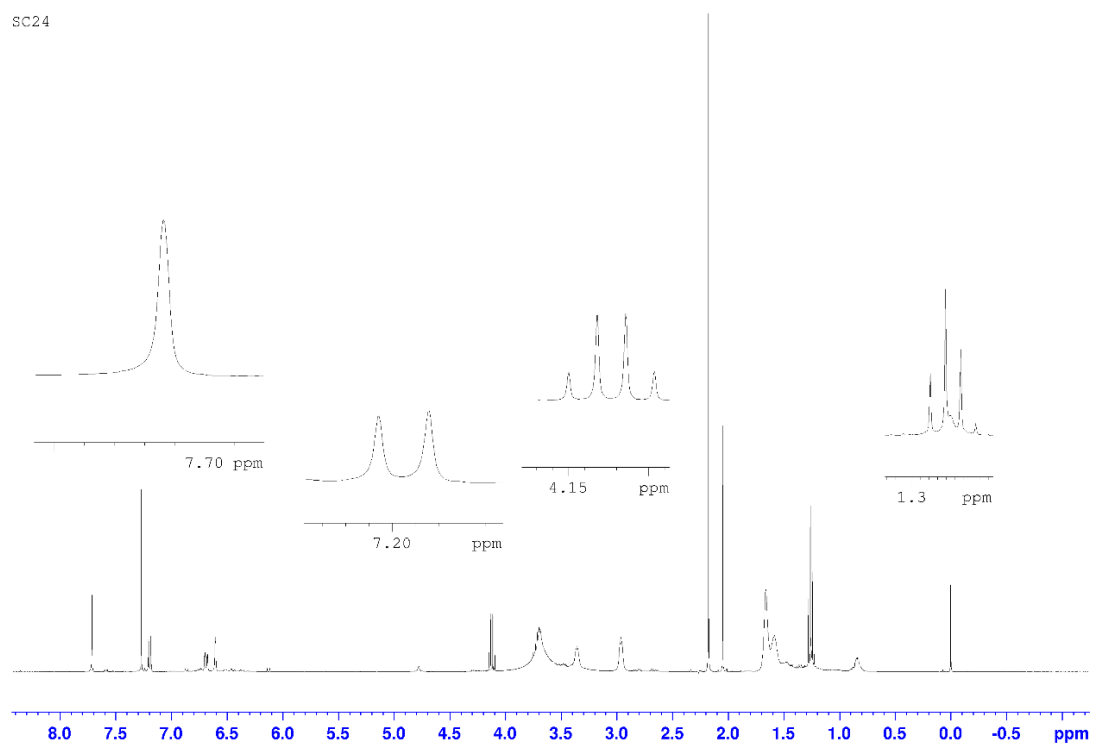
9. ANEXOS

Figura 31 – Espectro de RMN ^1H (A_1).

Fonte: Autor, 2024.

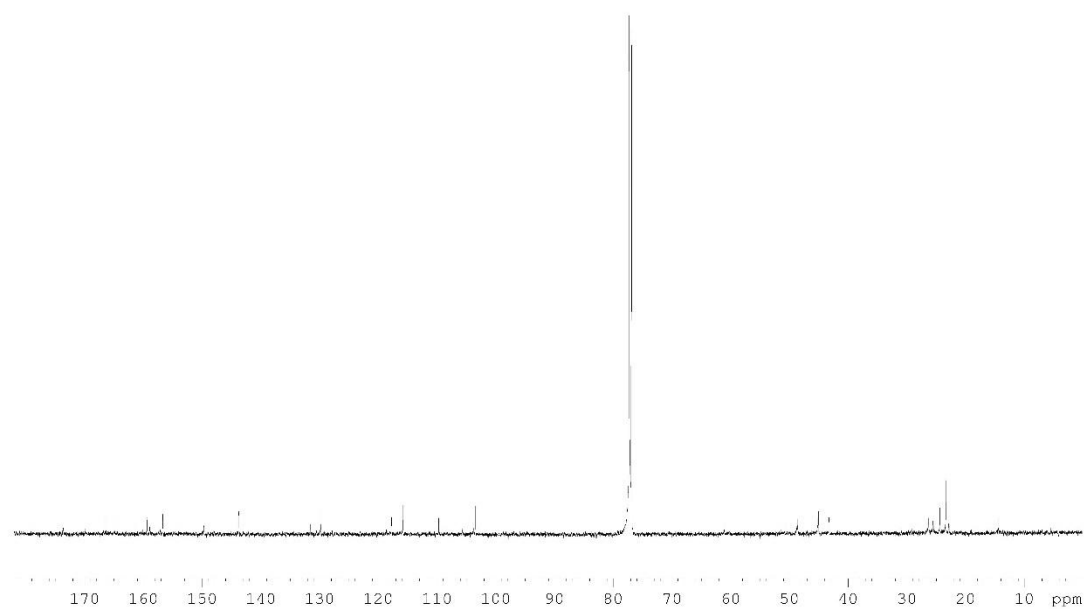
Figura 32 - Espectro de RMN DEPT 135 (**A₁**).

Fonte: Autor, 2024.

Figura 33 - Espectro de RMN ^1H (**A₂**).

Fonte: Autor, 2024.

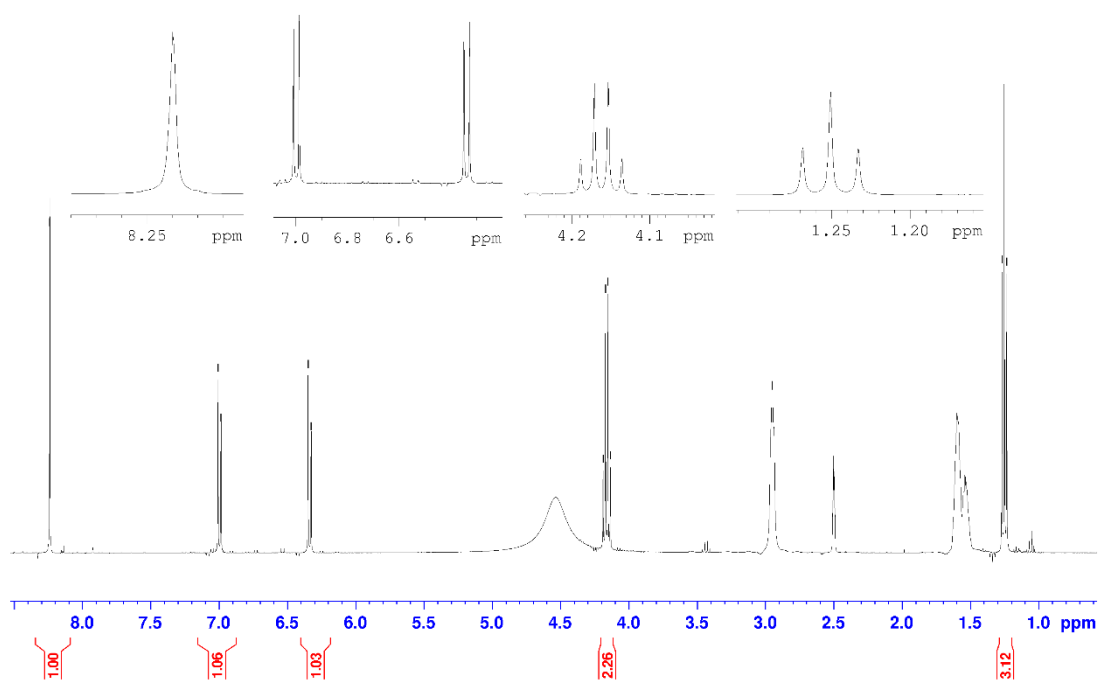
Figura 34 - Espectro de RMN ^{13}C (**A**₂).



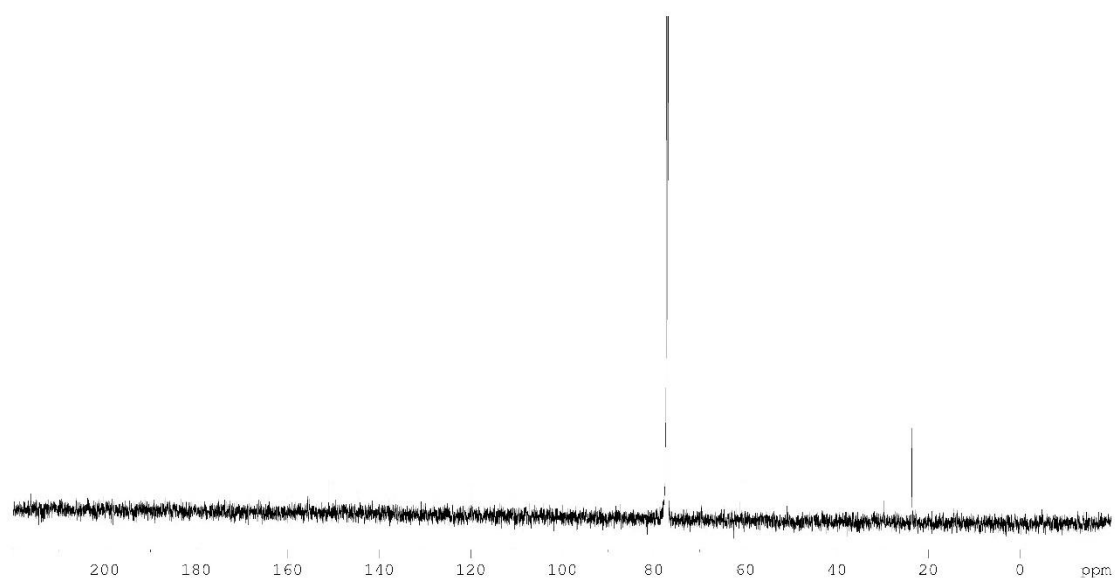
Fonte: Autor, 2024.

Figura 35 - Espectro de RMN ^1H (**A**₃).

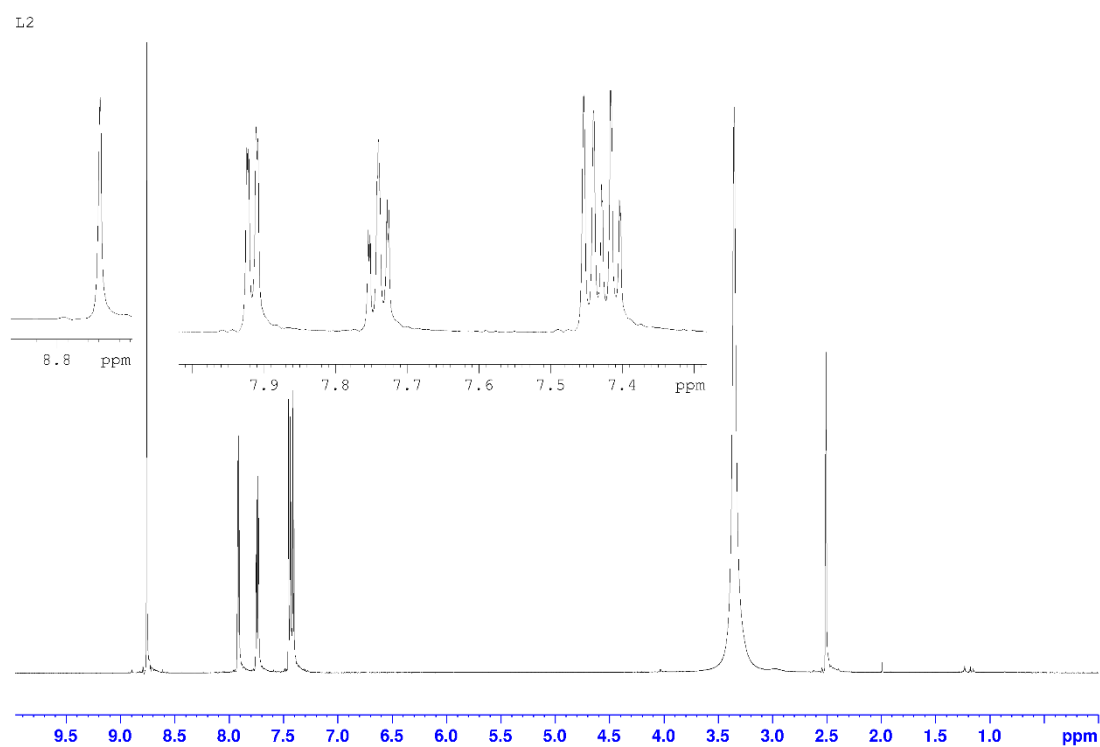
SC 2,3,4



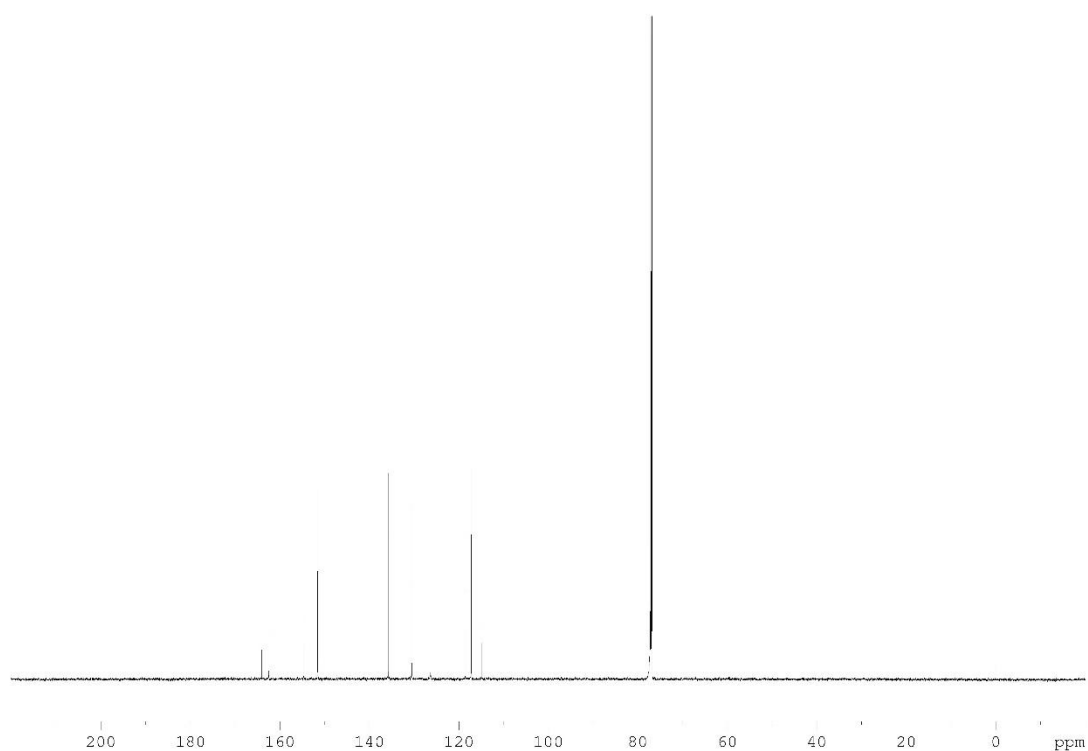
Fonte: Autor, 2024.

Figura 36 - Espectro ^{13}C RMN (**A₃**).

Fonte: Autor, 2024.

Figura 37 - Espectro de RMN ^1H (C_1).

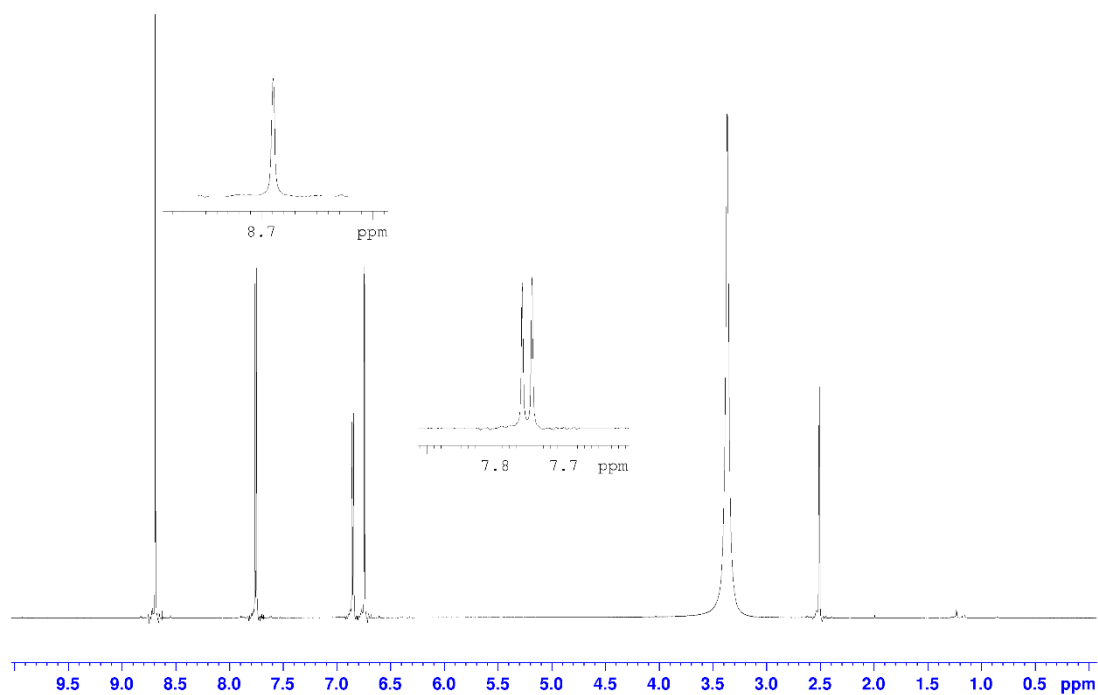
Fonte: Autor, 2024.

Figura 38 – Espectro de RMN ^{13}C (**C₁**).

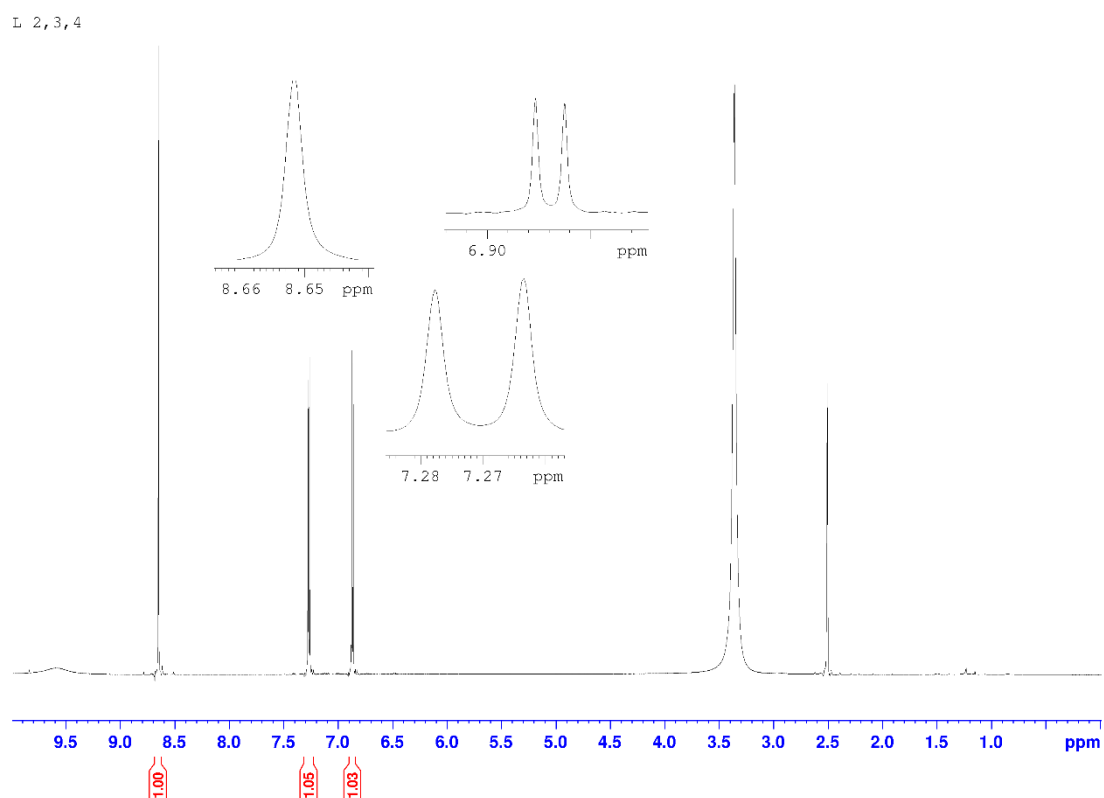
Fonte: Autor, 2024.

Figura 39 - Espectro de RMN ^1H (C_2).

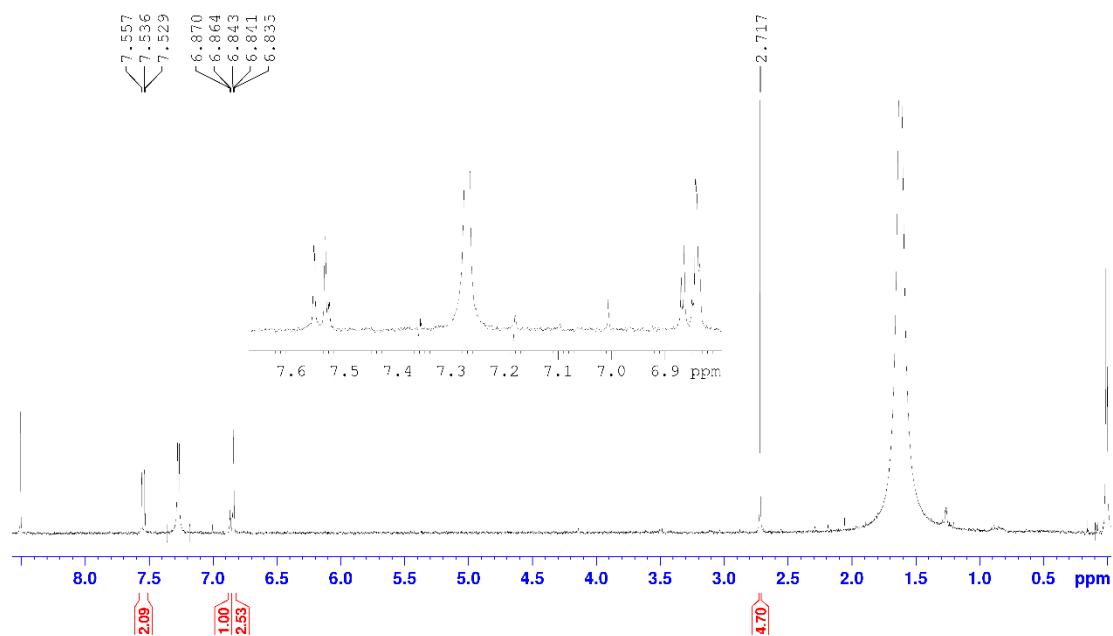
Ly 2,4



Fonte: Autor, 2024.

Figura 40 - Espectro de RMN ^1H (C_3).

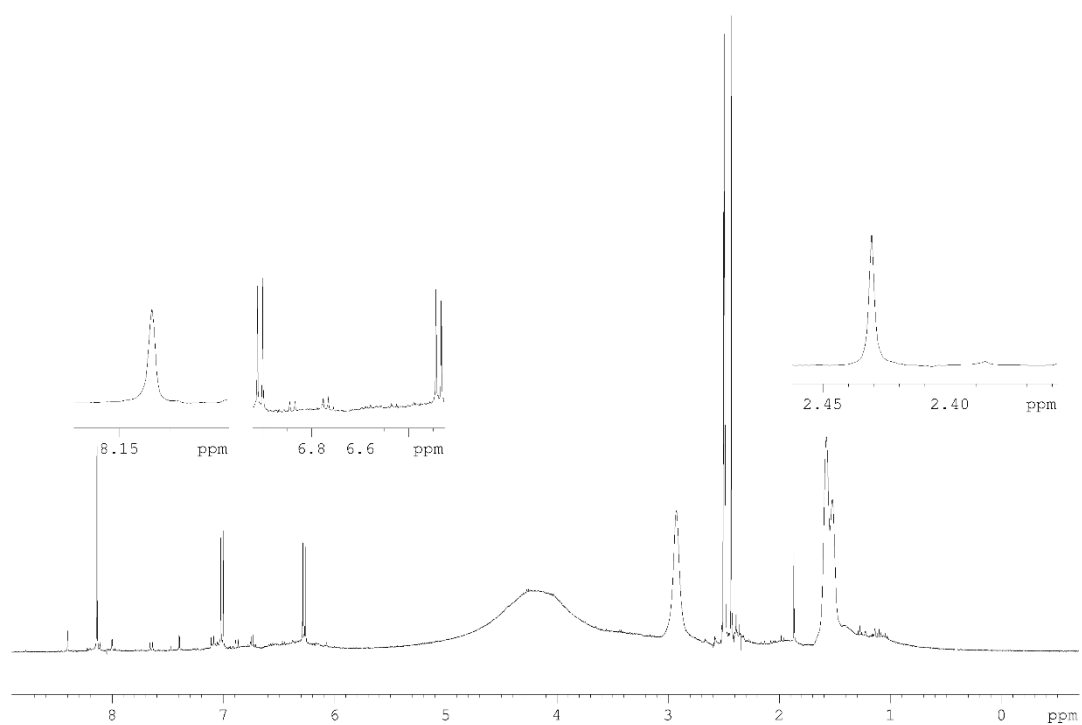
Fonte: Autor, 2024.

Figura 41 – Espectro de RMN ^1H (**B**₂).NH₂, 4

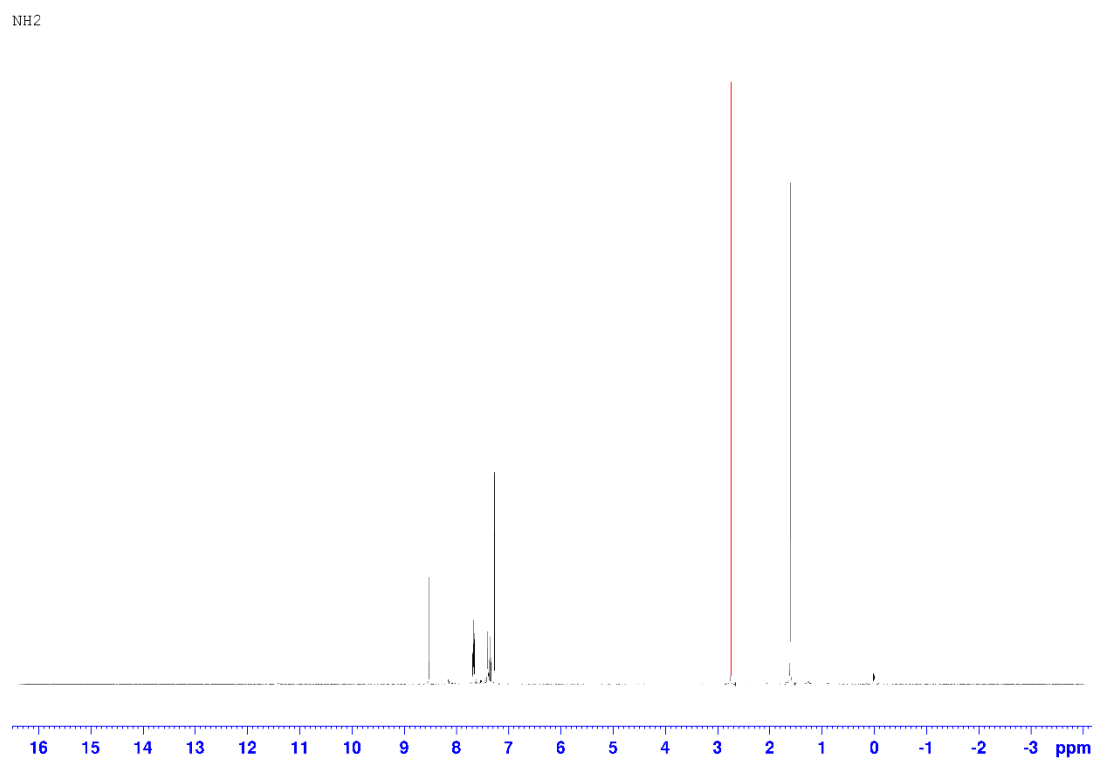
Fonte: Autor, 2024.

Figura 42 – Espectro de RMN ^1H (B_3).

NH234



Fonte: Autor, 2024.

Figura 43- Espectro de RMN ^1H (B_1).

Fonte: Autor, 2024.