



Universidade Federal de Alagoas  
Sistema Integrado de Gestão de Atividades Acadêmicas  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação



Emitido em 19/08/2024 às 11:36

### Projeto de Pesquisa

Dados do Projeto Pesquisa	
<b>Código:</b>	PVCA1851-2023
<b>Título do Projeto:</b>	Híbridos Moleculares de Cumarinas como Potenciais Agentes Fotoprotetores, Antioxidantes e Inibidores da Enzima Tirosinase.
<b>Tipo do Projeto:</b>	INTERNO (Projeto Novo)
<b>Natureza do Projeto:</b>	Projeto de Pesquisa
<b>Tipo de Pesquisa:</b>	Pesquisa Básica
<b>Situação do Projeto:</b>	EM ANDAMENTO
<b>Unidade de Lotação do Coordenador:</b>	CAMPUS ARAPIRACA (11.00.43.63)
<b>Unidade de Execução:</b>	CAMPUS ARAPIRACA (11.00.43.63)
<b>Centro:</b>	CAMPUS ARAPIRACA (11.00.43.63)
<b>Palavra-Chave:</b>	Cumarinas, tiosemicarbazonas, inibidores, fotoproteção, antioxidantes
<b>E-mail:</b>	silvia.cardoso@arapiraca.ufal.br
<b>Edital:</b>	Edital 05 Pibic Ufal 2023-2024
<b>Cota:</b>	Cota Edital 05 Pibic Ufal 2023-2024 (01/09/2023 a 31/08/2024)
Objetivos de Desenvolvimento Sustentável	
3	Saúde e Bem-Estar
4	Educação de Qualidade
9	Indústria, Inovação e Infraestrutura
Área de Conhecimento, Grupo e Linha de Pesquisa	
<b>Área de Conhecimento:</b>	Síntese Orgânica
<b>Grupo de Pesquisa:</b>	Química Medicinal
<b>Linha de Pesquisa:</b>	Química Medicinal
Comitê de Ética	
<b>Nº do Protocolo:</b>	Não possui protocolo de pesquisa em Comitê de Ética.
Resumo	
<p>A exposição a radiação ultravioleta (UV) está diretamente ligada ao surgimento de problemas na pele, sendo que o comprimento de onda (<math>\lambda</math>) da radiação solar determina o poder de penetração desta em cada tecido. Desta forma a partir da exposição acumulativa dos raios solares, sem proteção, podem surgir na pele: manchas escuras, despigmentações, queimaduras, fotoenvelhecimento e fotossensibilidade sendo que nos casos mais graves pode haver o surgimento de neoplasias malignas cutâneas, conhecidas como câncer de pele. De acordo com a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) o câncer de pele pode ser do tipo I (não melanoma) e do tipo II (melanoma). O tipo I é o de maior ocorrência, porém de menor letalidade, se diagnosticado precocemente, possui índice de cura de 95%. O tipo II (melanoma) é o de menor ocorrência, no entanto, é o mais perigoso, pois esse tipo de câncer é responsável pela maioria dos casos de morte, principalmente em razão de metástase. O melanoma, como dito anteriormente, é uma das consequências mais graves da exposição frequente e sem proteção a radiação ultravioleta do sol (UVA e UVB). Tem origem nos melanócitos, as células que produzem um pigmento cutâneo conhecido como melanina e a enzima tirosinase é uma enzima chave na biossíntese deste pigmento que confere a cor ao cabelo, à pele, aos olhos e que exerce uma função fundamental na proteção da pele dos mamíferos contra os raios UV (KETATA, et al., 2019; LOPES, 2015; Park &amp; Sung, 2011). A tirosinase é capaz de promover a oxidação de compostos fenólicos em quinonas utilizando o oxigênio molecular (NAIRN; CRESSWELL; NAIRN, 2015) e, além de sua estrutura proteica está associada a dois átomos de cobre, os quais estão conectados a seis moléculas de histidina em seu sítio ativo.</p> <p>Na síntese da melanina a tirosinase está envolvida na oxidação inicial da L-tirosina à 3,4-diidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA) que desencadeia uma cascata de outras reações que levam a produção de dois tipos de melanina, a feomelanina e a eumelanina. Portanto, a expressão anormal da tirosinase pode levar a diversos tipos de distúrbios dermatológicos, como: melasma, manchas da idade, locais de dano actínico e lesões cutâneas malignas. De acordo com o INCA e a SBD a melhor forma de prevenção contra o câncer de pele e outros distúrbios dermatológicos provocados pela radiação UV é uso frequente de agentes fotoprotetores, comumente conhecidos como filtros solares. Os fotoprotetores atuam minimizando os efeitos deletérios dos raios UV através da absorção, reflexão ou difusão dos raios solares incidentes na pele e podem ser substâncias inorgânicas ou orgânicas. Geralmente estão associadas a outros compostos capazes de agir na captura de espécies reativas de oxigênio (EROs). De acordo com a literatura existem substâncias de origem natural, tais com as cumarinas, alvos do nosso grupo de pesquisa que possuem tanto ação fotoprotetora como antioxidante (COBIAN, E. et al 2020; LEE, B. C et al 2007). A exemplo da 7-hidroxycumarina (umbeliferona) que já é utilizada como agente fotoprotetor o que justifica o nosso interesse nesta classe de compostos orgânicos. Além disso, cumarinas apresentam grupos cromóforos capazes de absorver a radiação ultravioleta UVB, danosa à pele, e transformá-la em outros tipos de radiação inofensivas ao ser humano. Adicionalmente, Zolghadri, S. e colaboradores (2019) publicaram artigo de revisão onde apontam a importância de cumarinas como potenciais inibidores da enzima tirosinase. Em nossa observação da literatura também nos deparamos com os trabalhos de Matos, M. J. RCS (2013) e outros autores que apontam para a existência de pelo menos 3 derivados cumarínicos com promissora atividade de inibição da enzima tirosinase (0,21-3,44 micromolar). Desta forma, encorajados pelos nossos bons resultados através da colaboração com o professor Edeildo F. Silva-Júnior (IQB-UFAL) que realiza os estudos de modelagem molecular dos nossos compostos, bem como pela colaboração internacional com os pesquisadores poloneses Joanna Cytarska e Krzysztof Z. Laczowski da Nicolaus Copernicus University, responsáveis pelos estudos de inibição da enzima tirosinase nos ciclos PIBIC anteriores, foi possível realizar a triagem de um composto líder (FN-19), além de outras moléculas potencialmente interessantes. Esses resultados foram recentemente publicados (Nunes, J. A et al. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 5216.), em revista indexada e de alto fator de impacto (IF = 6,2), o que demonstra o compromisso e relevância da pesquisa científica desenvolvida pelo Laboratório de Síntese Orgânica e Medicinal (LaSOM - NCEX) no Campus Arapiraca. Destaca-se ainda como produção desta linha de pesquisa o artigo de revisão recentemente aceito pelo Current Medicinal Chemistry (IF 4,7) intitulado - "Natural Coumarin Derivatives Targeting Melanoma" (trabalho aceito).</p> <p>No sentido de dar continuidade as investigações iniciadas propusemos para esta edição do PIBIC 2023-2024 a síntese e investigação biológica de outros compostos a partir da inserção de novos grupos substituintes específicos à estrutura básica das cumarinas. Tais modificações químicas poderão nos levar a novas moléculas com resultados ainda mais promissores, os quais deverão estar associados a melhores perfis farmacológicos e menores efeitos indesejáveis. Nesse sentido, a hibridização molecular pode ser uma alternativa interessante para a obtenção de outros compostos líderes, bem como as ferramentas de triagem virtual e docking molecular irão nos auxiliar propondo um caminho certamente mais interessante e racional. Assim, esse projeto de pesquisa, de característica multidisciplinar, propõe: 1) Dar continuidade da prospecção de substâncias orgânicas sintética da classe das cumarinas, já estudadas desde 2014 em nosso grupo de pesquisa; 2) Sintetizar outros híbridos de cumarinas; 3) Investigar o potencial fotoprotetor das moléculas sintetizadas nesta edição do PIBIC; 4) Dar continuidade a investigação da ação como inibidores da enzima tirosinase das substâncias preparadas.</p>	

Ressalta-se a importância de trabalhos de pesquisa básica como este para a geração de dados acadêmicos (publicações) e novos produtos, tais como novo filtro solar ou clareador cutâneo (patente), de interesse comercial e tecnológico. Sem perder de vista o papel da pesquisa científica na formação de novos profissionais associados às ciências, espera-se que o desenvolvimento deste projeto contribua para a formação de recursos humanos qualificados em nível de graduação (iniciação científica) e pós-graduação (mestrado). Neste sentido, destaca-se a importância da convivência entre os estudantes de graduação (PIBIC) e alunos de mestrado e/ou doutorado. Entende-se que é no ambiente da Universidade e nos Institutos de pesquisa que se dão as discussões científicas de alto nível, as quais despertam o interesse e apreço pelas ciências naturais. Especificamente, na química a rotina de discussões nos laboratórios de pesquisa e as trocas de experiências através de congressos e seminários (presenciais ou remotos) motiva, orienta e conduz o percurso acadêmico do bolsista PIBIC e levando-o ao desenvolvimento intelectual. Com o projeto espera-se também criar e fortalecer as colaborações e parcerias entre grupos de pesquisa da UFAL (interior e capital, já firmadas) e outras instituições nacionais e internacionais; divulgar ciência a partir dos dados produzidos, captar recursos para o Campus Arapiraca.

## **Introdução/Justificativa**

**(incluindo os benefícios esperados no processo ensino-aprendizagem e o retorno para os cursos e para os professores da UFAL em geral)**

O corpo humano é capaz de absorver radiações em uma faixa limitada de comprimento de onda do espectro eletromagnético. Essa absorção compreende a região do infravermelho ( $IV > 700\text{nm}$ ), do visível ( $Vis\ 400\text{-}800\text{nm}$ ) e do ultravioleta ( $UV\ 100\text{-}400\text{nm}$ ). Contudo, a radiação UV, a qual possui menor comprimento de onda e, consequentemente, maior energia, é a que possui o maior impacto sobre a saúde humana. A radiação UV pode ser dividida em UVA ( $320\text{-}400\text{nm}$ ), UVB ( $290\text{-}320\text{nm}$ ) e UVC ( $100\text{-}200\text{nm}$ ) sendo que as duas primeiras são responsáveis por 95% e 5%, respectivamente, de incidência em nosso planeta (MORABITO, K., 2011).

A exposição à radiação ultravioleta (UV) está diretamente ligada ao surgimento de problemas na pele, sendo que o comprimento de onda ( $\lambda$ ) da radiação solar determina o poder de penetração desta no tecido. Neste sentido, a partir da exposição acumulativa na pele dos raios solares, sem proteção, podem surgir manchas, despigmentações cutâneas, queimaduras, envelhecimento precoce e fotossensibilidade sendo que nos casos mais graves há o surgimento de neoplasias malignas cutâneas, conhecidas como câncer de pele.

É importante destacar que o Brasil recebe altos índices de radiação UV, sobretudo nas regiões norte e nordeste e para melhor compreensão dessa exposição aos raios ultravioleta foi criado o índice ultravioleta (IUV). O IUV é uma medida da intensidade da radiação UV exatamente ao meio-dia solar, horário de máxima intensidade de radiação UV na terra. Os valores IUV são agrupados em categorias de intensidades, que vão de baixo a extremo, segundo as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS). Assim, é importante que a população se conscientize de que a exposição excessiva ao longo dos anos aos raios UV pode levar ao aparecimento de câncer da pele. Nesse contexto, o Estado de Alagoas deve estar em alerta quanto a exposição aos raios UVA e UVB, uma vez que encontra-se na faixa de risco muito alto ( $IUV = 8\text{-}10$ ) de exposição a radiação solar.

A ocorrência de eritemas e até mesmo do câncer de pele está associada à formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), as quais podem acarretar a ruptura da cadeia do DNA. Especificamente, quando o DNA absorve a radiação UV, principalmente a UVB, podem ocorrer processos mutagênicos. Assim, a ação dos raios UVB no DNA leva a divisão celular acelerada produzindo novas células tumorais (NASCIMENTO, L.F. 2014; IVRY, G. B., 2006).

O câncer de pele pode ser do tipo não melanoma I e melanoma II. O tipo I é o de maior ocorrência e também o de menor letalidade. O câncer de pele não melanoma, se diagnosticado precocemente, possui índice de cura de 95%. O tipo II é o de menor ocorrência, porém o mais perigoso. Esse tipo de câncer é responsável pela maioria dos casos de mortes principalmente pela ocorrência de metástase. O melanoma é uma das consequências mais graves da exposição frequente e sem proteção a radiação UVA e UVB. Tem origem nos melanócitos, as células que produzem um pigmento cutâneo conhecido como melanina. No melanoma há a produção anormal de melanina em um processo chamado de melanogênese. Acredita-se que a melanogênese e as vias apoptóticas compartilhem algumas de suas moléculas de sinalização, as quais estão interligadas umas com as outras por meio de mecanismos complexos. Por esta razão, os fatores parácrinos produzidos em resposta à irradiação solar (UVB) não apenas regulam a melanogênese, mas também podem afetar vias que são fundamentais para a coordenação da sobrevivência celular e apoptose. Assim, uma tentativa de controle da cor da pele modulando a via da melanogênese pode induzir perturbações no equilíbrio apoptótico das células, levando a várias doenças de pele, incluindo o câncer (LEE, H. S. et al 2015). Neste contexto, a tirosinase é a enzima-chave na biossíntese da melanina, o pigmento que confere a cor ao cabelo, à pele, aos olhos e que exerce uma função fundamental na proteção da pele dos mamíferos contra os raios UV (KETATA, et al., 2019; LOPES, 2015; Park & Sung, 2011). No entanto qualquer expressão anormal da tirosinase pode levar a distúrbios dermatológicos, como: melasma, manchas da idade, lesões e locais de dano actínico.

A tirosinase (Tyr) é capaz de promover a oxidação de compostos fenólicos em quinonas utilizando o oxigênio molecular (NAIRN; CRESSWELL; NAIRN, 2015). Além de sua estrutura proteica a tirosinase está associada a dois átomos de cobre, os quais estão conectados a seis moléculas de histidina em seu sítio ativo. Na síntese da melanina a tirosinase está envolvida na oxidação inicial da L-tirosina à 3,4-diidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA) que desencadeia uma cascata de outras reações que levam a produção de dois tipos de melanina: a feomelanina e a eumelanina.

A OMS estima que ocorram entre 2 a 3 milhões de novos casos de câncer de pele no mundo por ano. Destes, 130.000 são do tipo melanoma com um total de 70.000 mortes. No Brasil, segundo dados mais recentes do INCA, o número de casos novos estimados será de 4.200 em homens e de 4.250 em mulheres para cada ano do triênio 2020-2022. O câncer de pele é o tipo de neoplasia mais comum sendo responsável por 25% de todos os tumores (CHINEMBIRI, T. N. 2014). De acordo com o INCA e a Sociedade Brasileira de Dermatologia a melhor forma de prevenção contra o câncer de pele e outras anomalias cutâneas associadas a exposição a radiação UV se dá através do uso frequente e adequado de agentes fotoprotetores ou filtros solares. Por definição, os filtros solares consistem em preparações cosméticas que contêm agentes fotoprotetores. Esses atuam minimizando os efeitos deletérios dos raios UV através da absorção, reflexão ou difusão dos raios solares incidentes na pele. Podem ser substâncias inorgânicas ou orgânicas. Em geral, os compostos inorgânicos agem via reflexão dos raios UV e os orgânicos através da absorção destes. Os principais fotoprotetores inorgânicos são ZnO e TiO<sub>2</sub>, porém, filtros contendo essas substâncias podem deixar uma película branca sobre a pele o que as torna esteticamente desfavorável em altas concentrações. Os fotoprotetores orgânicos são classificados de acordo com sua região de absorção dos raios UV. Isso ocorre porque esses compostos não possuem um amplo espectro de proteção UV e atuam especificamente em faixas UVA I ( $340\text{-}400\text{nm}$ ), UVA II ( $320\text{-}340\text{nm}$ ) e UVB ( $290\text{-}320\text{nm}$ ). Por exemplo, os produtos derivados de benzofenonas protegem apenas na faixa UVA e os salicilatos e cinamatos absorvem os raios na faixa do UVB. Portanto, a partir da observação de que agentes fotoprotetores são capazes de reduzir a probabilidade do desenvolvimento do câncer de pele e outras anomalias cutâneas esse projeto de pesquisa, de característica multidisciplinar, propõe 1) Dar continuidade da prospecção de substâncias orgânicas sintéticas da classe das cumarinas, já estudadas; 2) Sintetizar e Caracterizar por técnicas espectroscópicas híbridos moleculares baseados na estrutura das cumarinas; 3) Investigar o potencial fotoprotetor das moléculas sintetizadas nesta edição do PIBIC; 4) Dar continuidade a investigação da ação como inibidores da enzima tirosinase das substâncias preparadas.

No que diz respeito a esse projeto justifica-se a escolha desta classe de substâncias pela observação de que cumarinas naturais como a umbeliferona (7-hidroxycumarina) e o psoraleno já são utilizados na prevenção e tratamento de distúrbios cutâneos, o que justifica por si só o nosso interesse. Além disso, destaca-se por sua capacidade de atuar na captura de espécies reativas de oxigênio (EROs) ou radicais livres (ação antioxidante) (ESTOLANO-COBIAN, E. et al 2020; LEE, B. C et al 2007). A produção de radicais livres está envolvida no desenvolvimento de neoplasias malignas e a prospecção de moléculas com características fotoprotetoras e antioxidantes concomitantes são de interesse, visto a sua ação preventiva e sinérgica contra o câncer de pele. Adicionalmente, desde 2014, o Laboratório de Síntese Orgânica e Medicinal (LaSOM da UFAL C. Arapiraca) tem estudado a modificação estrutural de cumarinas e naftoquinonas com a finalidade de produzir novas entidades bioativas. Recentemente, motivados pelos trabalhos de MATOS, M. J et al (2015) e ROSADA, B. (2019), além dos nossos próprios resultados (Nunes, J. A et al. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 5216.) decidimos ampliar nossos estudos e explorar a ação fotoprotetora e de inibição da enzima tirosinase para esta classe de substâncias. Ressalta-se a importância de trabalhos de pesquisa básica como este para a geração de dados acadêmicos (publicações) e novos produtos, tais como novo filtro solar (patente), de interesse comercial e tecnológico.

Sem perder de vista o papel da pesquisa científica na formação de novos profissionais associados às ciências, espera-se que o desenvolvimento deste projeto contribua para a formação de recursos humanos qualificados em nível de graduação (iniciação científica) e pós-graduação (mestrado). Neste sentido, destaca-se a importância da convivência entre os estudantes de graduação (PIBIC) e alunos de mestrado e/ou doutorado. Entende-se que é no ambiente da Universidade e nos Institutos de pesquisa que se dão as discussões científicas de alto nível, as quais despertam o interesse e apreço pelas ciências naturais. Especificamente, na química a rotina de discussões nos laboratórios de pesquisa e as trocas de experiências através de congressos e seminários (presenciais ou remotos) motiva, orienta e conduz o percurso acadêmico do bolsista PIBIC e levando-o ao desenvolvimento intelectual. Com o projeto espera-se também criar e fortalecer as colaborações e parcerias entre grupos de pesquisa da UFAL (interior e capital, já firmadas) e outras instituições nacionais e internacionais.

## **Objetivos**

### **OBJETIVO GERAL**

Realizar a Prospecção Novos Híbridos Moleculares de Cumarinas com vista a Investigação do seu Potencial Fotoprotetor, Antioxidante e como Inibidor da Enzima Tirosinase. Adicionalmente, formar recursos humanos qualificados em nível de graduação e pós-graduação com especialidade na área de Química Orgânica e Medicinal.

### **OBJETIVO ESPECÍFICO**

Preparar 3 novas moléculas orgânicas análogas de cumarinas-heterociclos e seus precursores.

Purificar e caracterizar 3 moléculas orgânicas por Ressonância Magnética Nuclear (RMN 1H), Infravermelho (FTIR) e suas propriedades físicas (Ponto de fusão e solubilidade).

Determinar o perfil cromatográfico das moléculas por TLC e HPLC.

Investigar as propriedades estruturais e ADMET in silico (regra dos cinco de Lipinski) das substâncias utilizando software livre.

Determinar as Propriedades Eletrônicas e Fator de Proteção Solar (FPS) in vitro por UV-VIS dos 3 compostos, usando o método de Mansur. Preparar as amostras para enviar a Polônia a fim de que a investigação do potencial inibidor da enzima tirosinase possa ser realizado. Analisar os resultados dessas análises no relatório final.

Fortalecer a colaboração entre o grupo do prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Edeildo Ferreira da Silva-Junior (IQB - UFAL) e com o grupo do pesquisador Krzysztof Z. Laczkowski da Polônia.

Divulgar os resultados obtidos para a comunidade científica, através da apresentação em congressos e a publicação de artigos científicos.

## Metodologia

1- Obtenção dos derivados sintéticos: A síntese e purificação derivados de tiossemicarbazona-cumarinas será realizada de acordo com procedimentos descritos na literatura MATOS, M. J et al (2015) e registros do nosso grupo CARDOSO, SH et al (2011), NUNES, J. A et al. (2023). Inicialmente, os derivados 3-ceto-cumarínicos de interesse serão preparados pela reação de aldeídos substituídos com acetoacetado de etila utilizando-se base como catalisador, através da metodologia desenvolvida por Knoevenagel. Nesta etapa os derivados 3-ceto-cumarínicos de interesse serão purificados cristalização/recristalização. De posse dos intermediários-chave, posteriormente, deverá ocorrer a inserção do nucleófilo, tiossemicarbazida, à estrutura base da cumarina. Posteriormente, esses novos intermediários poderão ser usados para a preparação de heterociclos, tais como 1,3,4-oxadiazóis ou 1,3,4-tiodiazóis. Nesta etapa os compostos serão purificados por cromatografia a fim de se conseguir o grau de pureza desejado. Todo o planejamento sintético deverá levar em conta o número reduzido de etapas, utilizando-se materiais de partida disponíveis e de baixo custo. Se necessário poderão ser utilizadas as técnicas de microondas ou ultrassom para melhorar resultados experimentais.

2- Caracterização dos compostos por RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica espectroscópica que permite a identificação de grupos funcionais e a determinação das conexões entre os átomos de pequenas e de macromoléculas (PAVIA, D. 2014). Todos os derivados preparados neste trabalho serão analisados por espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e os espectros obtidos serão comparados àqueles produzidos via síntese clássica. As análises de RMN serão realizadas em um espectrômetro Bruker Modelo Avance DRX operando à 400 MHz (<sup>1</sup>H). As análises serão realizadas com 10-20mg de cada substância dissolvidas em solventes deuterados apropriados (CDCl<sub>3</sub>, MeOD etc) e utilizando-se TMS como padrão interno. Para o tratamento dos dados de RMN utilizaremos o programa NMRnotebook 2000-2011 versão 2.70 ou Topspin.

3- Caracterização dos compostos por FTIR: No espectro eletromagnético, a região de frequência compreendida entre 3 x 10<sup>12</sup> Hz e 4,3 x 10<sup>14</sup> Hz corresponde ao infravermelho (IV). Quando esta radiação é absorvida por uma molécula de composto orgânico, ocorrem "deformações" nas ligações entre os átomos constituintes do composto. As deformações sofridas pelas ligações químicas são percebidas através de movimentos vibracionais nas ligações, os quais envolvem deformações angulares (nos "ângulos" de ligações) e deformações axiais (nos eixos das ligações). A análise de um espectro obtido por absorção no infravermelho é de muito valor para o estudo e a elucidação da estrutura química de uma substância orgânica. A região do espectro compreendida entre frequência 4000 cm<sup>-1</sup> e 400 cm<sup>-1</sup> apresenta importância para a química orgânica. (PAVIA, D. 2014). As análises de FTIR (IV) serão realizadas, em colaboração com o IQB - UFAL ou IFAL, em um espectrômetro Bomem FTIR-102 MB em pastilhas de KBr. Para o tratamento dos dados utilizaremos o programa Origin ou IR solution.

4- Determinação do perfil cromatográfico das amostras: As análises de HPLC serão realizadas em um cromatógrafo líquido. Para o tratamento dos dados utilizaremos o programa Origin.

5- Determinação das Propriedades Eletrônicas das amostras por UV-VIS:

A espectroscopia de absorção molecular é valiosa para a identificação dos grupos funcionais na molécula. Mais importante, entretanto, são as aplicações da espectroscopia de absorção visível/ultravioleta para a determinação quantitativa de compostos contendo grupos absorventes. A região ultravioleta do espectro é geralmente considerada na faixa de 200 a 400 nm, e a região do visível entre 400 a 800 nm. As energias correspondentes a essas regiões são ao redor de 150 a 72 kcal.mol<sup>-1</sup> na região ultravioleta, e 72 a 36 kcal.mol<sup>-1</sup> para a região visível. Energias dessa magnitude correspondem, muitas vezes, à diferença entre estados eletrônicos de muitas moléculas. De um ponto de vista prático, o aspecto mais importante do cálculo quântico é a determinação de quanta luz é absorvida pela amostra. Isto é descrito pela lei de Beer- Lambert, que dá a relação entre a intensidade da luz incidindo na solução (I<sub>0</sub>) e a intensidade da luz saindo da solução (I). Nos compostos orgânicos, os que possuem dupla ligação absorvem fortemente no ultravioleta remoto. Os compostos que possuem ligações simples e duplas alternadamente, chamadas de ligações conjugadas, produzem absorção em comprimentos de ondas maiores. Quanto mais extenso for o sistema conjugado, mais longos serão os comprimentos de onda absorvidos, podendo chegar à região do visível. A absorção da região visível e ultravioleta depende, em primeiro lugar, do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes. Como conseqüência, o pico de absorção pode ser correlacionado com o tipo de ligação que existe na espécie que está sendo estudada. As análises de UV-VIS serão realizadas em um espectrofotômetro SHIMADSU UV 1650 PC utilizando-se cubetas de quartzo de caminho ótico igual a 1,0 cm. Para o tratamento dos dados utilizaremos o programa Origin.

7- Determinação do fator de proteção solar contra radiação UVB (FPS-UVB)

O FPS na região UVB será determinado por ensaio in vitro utilizando-se espectrofotometria. Inicialmente serão preparadas soluções estoque em concentração adequada (1 a 0,1 mM). Em seguida, realizadas diluições sucessivas a fim de se obter a melhor concentração para as medidas espectrofotométricas no UV. Posteriormente, as absorvâncias das amostras serão determinadas na faixa de 290 a 320 nm, com intervalos de 5 nm. Os experimentos serão realizados em triplicata e o FPS-UVB será determinado de acordo com o método de Mansur e colaboradores (MANSUR, J. S., 1979 e 1986)

8- Determinação da Atividade de Inibição da Enzima Tirosinase

Os ensaios de inibição da tirosinase serão conduzidos de acordo com o método descrito por (LIU et al., 2008, YI et al., 2010; e ROSADA, B. (2019). Primeiramente, os compostos serão avaliados em relação a sua atividade inibitória da enzima tirosinase usando L-DOPA como substrato. Os compostos serão diluídos em DMSO. A concentração final da solução teste será de 2.0%. Tampão fostato, pH 6.8, será utilizado para diluição das soluções estoque dos compostos em DMSO. Para o ensaio, 30 unidades da enzima (mushroom tyrosinase - 0.5 mg/ml) serão inicialmente pré-incubadas com os compostos, em 50 micromolar de tampão (pH 6.8), por 10 min a 25 °C. Após esse período o L-DOPA (0.5 mM) será adicionado a mistura e a reação enzimática será monitorada em 475nm pela formação do composto oxidado DOPA-croma por um período de tempo estabelecido. As medidas serão realizadas em triplicata para as concentrações selecionadas. Os valores de IC<sub>50</sub>, serão determinadas através das curvas de interpolação da doseresposta e os percentuais de inibição da tirosinase serão calculados através da equação : % de inibição = [(B<sup>-</sup>-S<sup>-</sup>)/B] x 100, onde B e S são as absorções para o branco (B) e as amostras (S). O ácido Kójico e ácido ascórbico serão usados como padrão de referência por serem inibidores da tirosinase.

9- Avaliação da capacidade antioxidante frente ao radical DPPH

A determinação da capacidade antioxidante dos compostos e seus precursores será realizada de acordo com Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1999), com algumas modificações. Esse método consiste na avaliação da capacidade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). Inicialmente ocorre o preparo da solução de DPPH (c = 40 &#956;g mL<sup>-1</sup>) em metanol P.A. As soluções das amostras serão preparadas nas concentrações de

250, 500, 1000, 1500, 2000 e 3000 &#956;mol L<sup>-1</sup>, solubilizadas em etanol P.A. Em seguida, os eppendorfs são preparados com as misturas reacionais através do uso de 30 &#956;L das soluções de cada amostra mais 270 &#956;L da solução metanólica de DPPH, cujas concentrações finais serão: 25, 50, 100, 150, 200 e 300 &#956;mol L<sup>-1</sup>. Para o branco será utilizado 30 &#956;L de metanol P.A. e como controle positivo será utilizado 270 &#956;L de DPPH. As microplacas serão

colocadas no espectrofotômetro, e então serão realizadas as medidas de absorvência a 516 nm em triplicata. A porcentagem de atividade sequestradora de radicais (RSA, do inglês radical scavenging activity) para 30 minutos de reação será calculada através da Equação 1. %RSA = (1 AC/AD) X 100 Equação 1 - Onde AC é a absorvência da solução em determinada concentração em 30 min de reação, e AD é a absorvência da solução de DPPH.

## Referências

1. Morabito, K., Shapley, N. C., Steeley, K. G., Tripathi, A. International Journal of Cosmetic Science, 2011, 33, 385390
2. Nascimento, L. F.; Santos, E. P.; Aguiar, A. P. Rev. Virtual Quím., 2014, 6 (2), 190-223
3. Ivry, G. B.; Ogle, C. A.; Shim, E. K. Role of Sun Exposure in Melanoma. Dermatologic Surgery 2006, 32, 481
4. Chinembiri, T. N., du Plessis, L. H., Gerber, M., Hamman, J. H., du Plessis, J., Molecules 2014, 19, 11679-11721
5. López, L. I. Vitae, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica, 21, 3, 2014
6. Araújo, C. R. M.; Santos, V. L. A.; Guimarães, D. G.; Oliveira-Junior, R. G.; Almeida, J. R. G. da S.; Gonsalves, A. A. Rev. Virtual Quím., 2014, 6 (6), 1702-1712.
7. Gouda, M. A., Eldien, H. F., Girges, M. M., Berghot, M. A., Med Chem 3, 2, 2013.
8. Moraes, T. A. P., Filha, M. J. S., Camara, C. A., Silva, T. M. S., Soares, M. S., Bomfim, I., S., Pessoa, C., Ximenes, G. C., Junior, V. A.S. Molecules 2014, 19, 13199.
9. Paiva, Y., Rocha Ferreira, F., Silva, T., Labbe, E., Buriez, O., Amatore, C., Fonseca Goulart, M. Current Topics in Medicinal Chemistry, v. 15, p. 136-162, 2015.
10. Leite, J. C. A Castro, T. M. X., Barbosa-Filho, J. M., Siqueira-Junior, J. P., Marques-Santos, L. F., J. Photochemistry and Photobiology, 2015, 146, 44-51
11. Estolano-Cobián, A., Noriega-Irube, E., Díaz-Rubio, L., Padrón, J. M., Brito-Perea, M., Cornejo-Bravo, J. M., Chávez, D., Rivera, R. R., Quintana-Melgoza, J. M., Cruz-Reyes, J., Córdova-Guerrero, I., Medicinal Chemistry Research, 2020, 29, 1986-1999
12. Lee, B. C., Lee, S. Y., Lee, H. J., Sim, G. S., et al Archives of Pharmacal Research, 2007, 30, 1293
13. Matos, M. J., Varela, C., Vitar, S., et al RSC Adv., 2015, 5, 94227-94235

14. Rosada, B., Bekier, A., Cytarska, J., Laczinski, W., Zavyalova, O., Sikora, A., Dzitko, K., Laczowski, K. Z., European Journal of Medicinal Chemistry 2019, 184, 111765
15. Cardoso, S. H., Barreto, M. B. Lourenco, M. C. S., Henriques, M. G. M. O., Candea, A. L. P., Kaiser, C. R., De Souza, M. V. N. Chem Biol Drug Des 2011; 77, 489493
16. Nunes, J. A., De Araújo. R. S. A., Da Silva, F. N., Cytarska, J., &aczkowski, K. Z., Cardoso, S. H., Mendonça-Júnior, F. J. B., Silva-Júnior, E. F., Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 5216.
17. Pavia, D., Introdução a espectroscopia, 5a ed. Cengage Learning, 2015
18. Mansur, J. S., Breder, M. N. R., Levee, G. J., Marlowe, E. A., Photochemistry and Photobiology, 1979, 29, 559.
19. Liu, J. B., Yi, W., Wan, Y. Q., Ma, L., Song, H. C., Bioorganic and Medicinal Chemistry, 2008, 14, 1096-1102
20. Yi, W., Cao, R., Peng, W., Wen, H., Yan, Q., Zhou, B., et al., European Journal Medicinal Chemistry, 2010, 45, 639-646
21. Zolghadria, S., Bahramia, A., Khanb. M. T. H., Munoz-Munozc, J., Garcia-Molinad, Garcia-Canovasd., F., Saboury, A. A Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 2019, VOL. 34, NO. 1, 279309

#### Membros do Projeto

CPF	Nome	Categoria	CH Dedicada	Tipo de Participação
072.817.504-55	ADEILDO JUNIOR DE OLIVEIRA	SERVIDOR	4	COLABORADOR(A)
082.587.424-69	EDEILDO FERREIRA DA SILVA JUNIOR	DOCENTE	4	COLABORADOR(A)
070.571.673-26	JÉSSICA ALVES NUNES	DISCENTE	2	COLABORADOR(A)
121.634.794-80	MIDIANE CORREIA GOMES	DISCENTE	4	COLABORADOR(A)
125.011.168-44	SERGIO MODESTO VECHI	DOCENTE	2	COLABORADOR(A)
047.871.856-08	SILVIA HELENA CARDOSO	DOCENTE	12	COORDENADOR(A)
071.891.154-71	THAISSA LUCIO SILVA	DOCENTE	4	COLABORADOR(A)

#### 2023

Atividades	Set	Out	Nov	Dez
PESQUISA BIBLIOGRÁFICA				
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS E HÍBRIDOS MOLECULARES DE CUMARINAS POR RMN, FTIR E UV-VIS E SUAS PROPRIEDADES FÍSICAS.				
INVESTIGAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO POR TLC E HPLC DAS SUBSTÂNCIAS PREPARADAS.				
PRODUÇÃO DE RELATÓRIO PARCIAL PIBIC.				
INVESTIGAÇÃO DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ADMET IN SILICO				
AVALIAÇÃO DA AÇÃO FOTOPROTETORA DAS SUBSTÂNCIAS PELO MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE MANSUR				
ENVIO DAS AMOSTRAS PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO INIBIDORA DA ENZIMA/ANÁLISE DOS RESULTADOS TIROSINASE.				
ENVIO DAS AMOSTRAS PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DAS SUBSTÂNCIAS/ANÁLISE DOS RESULTADOS				
PRODUÇÃO DE RELATÓRIO ESCRITO E MATERIAIS DESTINADOS A DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS NO CONGRESSO PIBIC E OUTROS.				

#### 2024

Atividades	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago
PESQUISA BIBLIOGRÁFICA								
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS E HÍBRIDOS MOLECULARES DE CUMARINAS POR RMN, FTIR E UV-VIS E SUAS PROPRIEDADES FÍSICAS.								
INVESTIGAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO POR TLC E HPLC DAS SUBSTÂNCIAS PREPARADAS.								
PRODUÇÃO DE RELATÓRIO PARCIAL PIBIC.								
INVESTIGAÇÃO DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ADMET IN SILICO								
AVALIAÇÃO DA AÇÃO FOTOPROTETORA DAS SUBSTÂNCIAS PELO MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE MANSUR								
ENVIO DAS AMOSTRAS PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO INIBIDORA DA ENZIMA/ANÁLISE DOS RESULTADOS TIROSINASE.								
ENVIO DAS AMOSTRAS PARA AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DAS SUBSTÂNCIAS/ANÁLISE DOS RESULTADOS								
PRODUÇÃO DE RELATÓRIO ESCRITO E MATERIAIS DESTINADOS A DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS NO CONGRESSO PIBIC E OUTROS.								

#### Avaliações do Projeto

Situação/Parecer	Data da Avaliação	Média
<b>AVALIAÇÃO REALIZADA</b> O Projeto atende todos os pré-requisitos do referido edital. É inédito no que tange a síntese e caracterização de novas moléculas derivadas de Cumarinas. Além disso, os autores deixam claro a necessidade de seguir nessa linha, apontando, portanto, o sucesso de trabalhos reportados na última edição do PIBIC. Por essa	17/07/2023	10.0

razão, recomendo fortemente sua APROVAÇÃO, com destaque para o fortalecimento da pesquisa do estado de Alagoas.		
---	--	--

<b>Histórico do Projeto</b>		
-----------------------------	--	--

<b>Data</b>	<b>Situação</b>	<b>Usuário</b>
13/04/2023	GRAVADO	SILVIA HELENA CARDOSO / 04787185608
18/04/2023	SUBMETIDO	SILVIA HELENA CARDOSO / 04787185608
20/04/2023	GRAVADO	JOSE VITOR DE MENEZES TORRES / 01168563437
20/04/2023	SUBMETIDO	SILVIA HELENA CARDOSO / 04787185608
29/05/2023	DISTRIBUIÇÃO PARA AVALIAÇÃO (MANUALMENTE)	JULIETE DE OLIVEIRA SANTOS / 10051804409
10/10/2023	APROVADO	JOSE VITOR DE MENEZES TORRES / 01168563437

Documento emitido por: SILVIA HELENA CARDOSO