



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
ANTIOXIDANTE DE CUMARINAS FUNCIONALIZADAS
COM SELÊNIO**

BRUNA DE ALMEIDA CORRÊA

Florianópolis
Novembro/2015

Bruna de Almeida Corrêa

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
CUMARINAS FUNCIONALIZADAS COM SELÊNIO**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Braga

Co-orientador: Dr. Alisson Rosário Rodrigues

Florianópolis
11/2015

Bruna de Almeida Corrêa

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
CUMARINAS FUNCIONALIZADAS COM SELÊNIO**

Prof. Dr. Alexandre Luis Parize

Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Antonio Luiz Braga
Orientador

Prof. Dr. Hugo Alejandro Gallardo Olmedo

Dr. Eduard Westphal

Florianópolis
Novembro/2015

Agradecimentos

A Deus, primeiramente, por sempre me acompanhar e proteger neste caminho;
A minha família, meus pais Luis e Juleide e as minhas irmãs Talita e Gabriela, por todo amor, companheirismo e paciência que tiveram comigo, pois esse foi fundamental para que eu pudesse atingir meus objetivos;

Ao meu namorado Maxwell, por estar comigo em toda essa caminhada e por nunca medir esforços para me ajudar.

Ao prof. Dr. Antonio Luiz Braga, pela oportunidade oferecida, disposição e por todo aprendizado concedido ao longo do período de Iniciação Científica;

Ao Dr. Alisson Rosário Rodrigues, por todo ensinamento como co-orientador, pela paciência e pela grande amizade;

Aos meus antigos e atuais colegas do *LabSelen*: Tiago, Pedro, Gian, Juliano, Vanessa, Marcos M., Marcos S., Vinicius, Alex, Carlos, Julia, Marcelo, Igor, Breno, Rômulo, Laís, Flávio, Manuela, Luana, Jamal, Sumbal e Natasha, deixo um agradecimento especial em nome de nossa amizade e convivência diária;

Aos colegas dos laboratórios dos professores Antonio C. Joussef, Marcus M. Sá, Vanderlei G. Machado e Josiel B. Domingos por todo auxílio;

Aos grandes mestres que tive durante a minha graduação;

Aos meus amigos de longa data e aos que fiz durante a faculdade por toda a ajuda, compreensão e momentos de alegria e descontração;

À Universidade Federal de Santa Catarina, ao Departamento de Química e à Central de Análises;

Ao CNPq, à CAPES e ao INCT-Catálise;

Enfim, a todos que de alguma forma estiveram presente e me ajudaram a concretizar mais essa etapa importante da minha vida.

SUMÁRIO

1.JUSTIFICATIVA	9
2.REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1.Compostos de Organosselênio	10
2.2.Atividade Antioxidante de Compostos de Organosselênio	11
2.3.Cumarinas	14
2.4.Atividade Biológica das Cumarinas	15
3.OBJETIVOS.....	18
3.1.Objetivos Gerais	18
3.2.Objetivos Específicos.....	18
4.METODOLOGIA	19
4.1. Solventes e Reagentes.....	19
4.2. Equipamentos	19
4.3. Procedimentos Experimentais	20
4.3.1. Procedimento geral para a síntese das 4-cloro-cumarinas.	20
4.3.2. Procedimento geral para a síntese dos selenoésteres.	21
4.3.3. Procedimento geral para a síntese dos selenocianatos.	22
4.3.4. Procedimento geral para a síntese do disseleneto.....	23
4.4. Teste de atividades antioxidantes dos compostos sintetizados	24
4.4.1 Avaliação da atividade GPx-like	24
5.RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
5.1. Síntese das 4-cloro-cumarinas.....	25
5.2. Síntese dos Selenoésteres	26
5.3. Síntese dos Selenocianatos	30
5.4. Síntese dos Disselenetos.....	31
5.5. Teste de atividade antioxidante dos compostos sintetizados	33
5.5.1. Avaliação da atividade GPx-like	33
6.CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO.....	36
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

LISTA DE ESQUEMA

- Esquema 1:** Reação de Eliminação de selenóxido.
- Esquema 2:** Reação de redução de peróxidos catalisada pela GPx.
- Esquema 3:** Ciclo catalítico da enzima glutathiona peroxidase.
- Esquema 4:** Reação de Pechmann para síntese da cumarina.
- Esquema 5:** Síntese do material de partida **12a**.
- Esquema 6:** Síntese do material de partida **12b**.
- Esquema 7:** Formação do intermediário Selenocarboxilato **14**.
- Esquema 8:** Rota sintética para obtenção do selenocianato da cumarina **15d**.
- Esquema 9:** Rota sintética para obtenção do selenocianato da cumarina **15e**.
- Esquema 10:** Rota sintética 1 da desproteção do selenocianato.
- Esquema 11:** Rota sintética 2 da desproteção do selenocianato.
- Esquema 12:** Síntese do disseleneto **15f** derivado da cumarina.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Representação do sítio ativo da GPx.
- Figura 2:** Estruturas de miméticos da enzima GPx.
- Figura 3:** Estrutura da cumarina.
- Figura 4:** Estruturas de hidróxicumarinas com potencial antioxidante.
- Figura 5:** Espectro de RMN de hidrogênio do composto **15b** em DMSO- d^6 a 200 MHz.
- Figura 6:** Espectro de RMN de carbono do composto **15b** em DMSO- d^6 a 200 MHz.

Figura 7: Espectro de massas de alta resolução do composto **15b** utilizando fonte de ionização APPI.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Síntese dos selenoésteres.

Tabela 2 :Atividade GPx-like dos compostos **15a,15b, 15c, 15d, 15e, 15f,** Disseleneto de Difenila e Ebselen.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterase
APPI	Fotoionização à temperatura ambiente
CCD	Cromatografia em camada delgada
EROS	Espécies reativas de oxigênio
Gln	Glutamina
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione
GSSG	Glutathione oxidada
HRMS	Espectroscopia de massas de alta resolução
<i>J</i>	Constante de acoplamento
PPM	Partes por milhão
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de Hidrogênio
Sec	Selenocisteína
Trp	Triptofano
M.W.	Microondas

RESUMO

Compostos de selênio são substâncias orgânicas que vem apresentando uma elevada importância em síntese orgânica, bem como em química medicinal. Da mesma maneira, cumarinas se mostram bastantes eficientes em diversos ensaios biológicos. Tendo em vista a notável aplicação biológica desses compostos e dos organoselênio, planejou-se, para o presente trabalho, a síntese e avaliação de novas cumarinas funcionalizadas com selênio.

Efetivamente, sintetizou-se uma série de cumarinas contendo selenoésteres através de uma rota sintética modular, com rendimentos moderados. Realizou-se, também, a síntese de cumarinas contendo selenocianatos por meio de uma rota sintética simples e eficiente. O disseleneto da cumarina, também foi sintetizado, porém em baixo rendimento. Tais moléculas tiveram sua atividade antioxidante avaliada pelo ensaio GPx-like.

Os compostos apresentaram atividade antioxidante no ensaio, assim demonstrando potencial como miméticos da enzima GPx. Tendo destaque o disseleneto derivado da cumarina que apresentou valores promissores ao realizar-se o teste biológico.

Em suma, foi obtida uma série de cumarinas funcionalizadas com selênio com grande potencial para aplicação como fármacos com ação antioxidante.

Palavras-chave: Selênio, cumarina, GPx-like, atividade antioxidante.

1. JUSTIFICATIVA

Compostos organosselênio são moléculas que apresentam em sua estrutura uma ou mais ligações do tipo carbono–selênio. Este tipo de molécula possui uma importância em síntese orgânica e também em química medicinal.^{1a}

Em termos biológicos, o átomo de selênio normalmente é encontrado na forma do aminoácido selenocisteína (21º aminoácido), no sítio ativo de algumas selenoenzimas, como por exemplo, as enzimas da família das glutatona peroxidases (GPxs). A GPx, juntamente com outras enzimas, atua no sistema de defesa antioxidante, convertendo as espécies reativas de oxigênio (EROs), danosas aos organismos, em metabólitos inócuos.^{1b} Além de atuar como antioxidante, várias outras atividades biológicas são atribuídas aos compostos organosselênios, como atividade citotóxica, neuroprotetora e anti-inflamatória.^{1c}

Assim como os compostos de selênio, as cumarinas são estruturas privilegiadas e também apresentam elevada importância na química medicinal. Estes heterociclos se mostram eficientes em diversos ensaios biológicos, dentre os quais, podem ser citadas as atividades antioxidante, antitumoral, anticolinesterásica, antifúngica entre outras.² Tais estruturas podem ser encontradas a partir do extrato de plantas (*Coumarouna odorata*) bem como podem ser obtidas por síntese.

Dessa forma, o desenvolvimento de compostos contendo cumarinas e selênio, torna-se uma atividade de extrema relevância, além de ser um tópico pouco explorado, tanto em síntese orgânica bem como na investigação de suas propriedades medicinais. A síntese dessas estruturas híbridas é importante, pois envolveria compostos com funções como selenoésteres, selenocianatos e disselenetos,³ com propriedades antioxidantes e cumarinas com propriedades terapêuticas.⁴ Essa conexão poderia resultar em moléculas com características diferenciadas, como possíveis atividades biológicas potencializadas, que é de extrema relevância do ponto de vista medicinal. Assim, o presente trabalho visa a síntese e avaliação do potencial biológico de estruturas híbridas de cumarinas com grupamentos selenoésteres, selenocianatos e disselenetos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Compostos de Organosselênio

O átomo de selênio, pertencente ao grupo 16 da tabela periódica, foi descoberto em 1817 por Jöns Jakob Berzelius. Todavia, compostos contendo selênio foram, durante muito tempo considerados substâncias tóxicas principalmente devido ao desagradável odor apresentado pelos mesmos.⁵ Atualmente, sabe-se que ele é um micronutriente essencial à dieta humana e, além disso, muito vem sendo estudado acerca de sua aplicação em síntese orgânica e na química medicinal.⁶

Em meados da década de 70, o papel bioquímico do selênio foi estabelecido devido à descoberta de selenoproteínas, a princípio encontradas em bactérias e posteriormente, em mamíferos.^{7,8} De fato, tais proteínas estão envolvidas em uma série de processos fisiológicos, como no sistema antioxidante, na produção do hormônio da tireóide, no sistema imunológico e reprodutor, dentre outros.⁹

O papel biológico do selênio começou a ser explorado a partir da descoberta de que o mesmo faz parte da enzima Glutathione Peroxidase (GPx). O selênio está presente na forma de um aminoácido selenocisteína, e desempenha papel fundamental no sítio ativo da enzima Glutathione Peroxidase (GPx), conforme representado na Figura 1. A “tríade catalítica” da enzima GPx é composta pelos resíduos de aminoácidos de selenocisteína, juntamente com o triptofano (Trp) e a glutamina (Gln).¹⁰

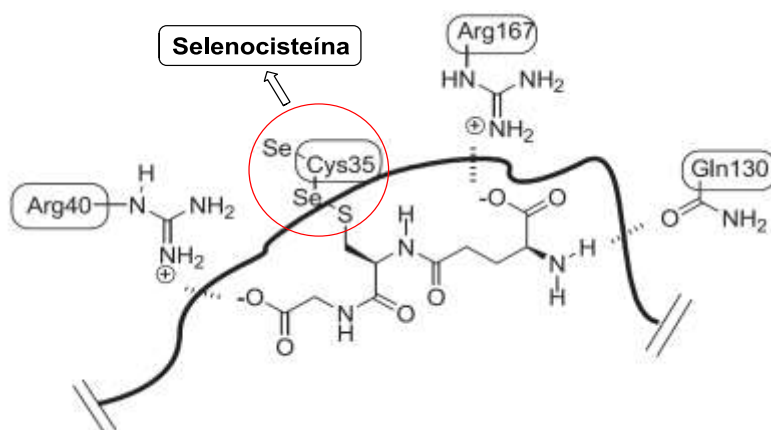
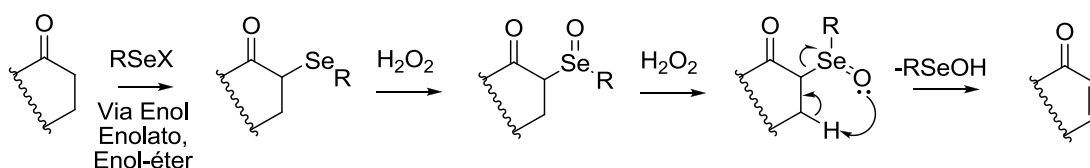


Figura 1: Representação do sítio ativo da GPx.

Fonte: **Quim. Nova**, v. 31, p. S1-S4, 2008. (adaptada).

Entretanto, em síntese orgânica, o principal método sintético envolvendo o selênio é a reação de olefinação via eliminação de selenóxido (Esquema 1), no qual é possível realizar a formação de carbonilas α,β -insaturadas. Esse processo, ainda hoje bastante empregado em síntese total descoberto na década de 70, foi o que impulsionou e popularizou o desenvolvimento da química de compostos organoselênio.¹¹ A reação se processa via uma eliminação do tipo *syn*, na qual, no estado de transição o selenóxido deve estar co-planar ao hidrogênio em β para que haja a eliminação.¹²



Esquema 1: Reação de Eliminação de selenóxido.

2.2. Atividade Antioxidante de Compostos de Organoselênio

Os organismos aeróbicos obtêm energia dos alimentos pelo processo da respiração celular, realizada no interior das mitocôndrias, na qual o oxigênio é reduzido em um processo de transferência de um elétron.¹³ Durante este processo são formadas espécies químicas como peróxidos e superóxidos, conhecidas como Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). Esta classe de compostos, quando produzida em excesso, gera o estresse oxidativo que, por sua vez, está relacionado a uma série de patologias humanas.¹⁴ O controle dos EROs nas células se dá principalmente pelo sofisticado sistema de defesa antioxidante dos organismos, especialmente através das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx), que convertem essas espécies nocivas em metabólitos inócuos.¹⁵

Como mencionando anteriormente, compostos organoselênio exercem um papel fundamental no organismo, principalmente por apresentar atividade antioxidante. Essa ação é devido a presença do mesmo no sítio ativo de algumas enzimas antioxidantes, como a tioredoxina redutase (TrxR) e a glutathiona peroxidase (GPx).¹⁶

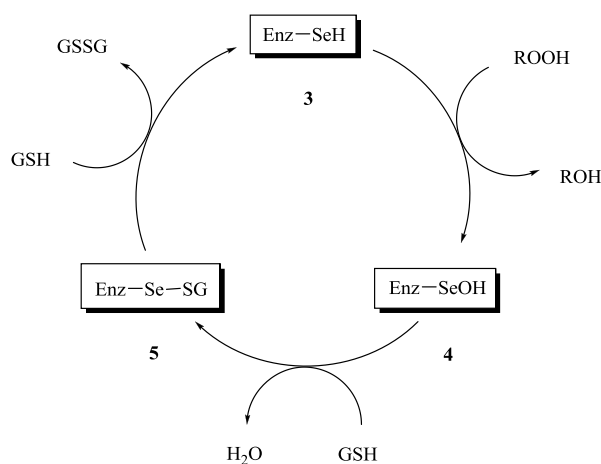
A selenoenzima GPx atua catalisando a redução de peróxidos de hidrogênio e/ou peróxidos orgânicos (ROOH), consumindo tióis (glutathiona GSH), com formação de dissulfeto orgânico (glutathiona oxidada GSSG) e água e/ou álcoois, como mostrado no esquema 2.



Esquema 2: Reação de redução de peróxidos catalisada pela GPx.

Fonte: **Methods in Enzymology**, v.252, p.38-48, 1995.(adaptada).

No mecanismo da enzima glutathiona peroxidase, primeiramente é proposto que a enzima, na sua forma ativa selenol (Enz-SeH, **3**), entra em reação com um equivalente de peróxido, reduzindo-o à água ou álcool (dependendo da estrutura do peróxido) e formando o ácido selênico (Enz-SeOH, **4**). Este então é atacado por um equivalente da glutathiona reduzida (GSH) formando o sulfeto de selenenila (Enz-Se-SG, **5**) e água. Na última etapa, o selenosulfeto **5** reage com um segundo equivalente de GSH regenerando a forma ativa da enzima para reiniciar o ciclo catalítico e produzindo simultaneamente a glutathiona oxidada (GSSG) (Esquema 3).¹⁷



Esquema 3: Ciclo catalítico da enzima glutathionaperoxidase.

Fonte: **Methods in Enzymology**, v.252, p.38-48, 1995.

Entretanto, essa enzima possui algumas desvantagens que limitam seu uso terapêutico, tais como: a instabilidade e o alto peso molecular. Muitos estudos têm proposto a síntese de novos compostos que possam mimetizar a atividade da enzima GPx. Sendo assim, o *design* e a síntese de

novas moléculas contendo selênio e a avaliação do seu potencial em mimetizar a enzima glutatona peroxidase tornaram-se importantes segmentos da pesquisa.

Já existe um grande número de moléculas contendo selênio, capazes de mimetizar a atividade da enzima glutatona peroxidase *in vitro*. Dentre elas, uma das mais promissoras é o ebselen (2-fenil-1,2-benzoisoselenazol-3-(2*H*)-ona).¹⁸ Este heterociclo foi o primeiro mimético sintético da GPx. Nos últimos anos, o ebselen **1** passou a ser utilizado como composto padrão para comparar a atividade mimética da enzima GPx de compostos organoselênio. Devido à promissora atividade GPx-*like*, vários grupos de pesquisa têm se dedicado no desenvolvimento de moléculas similares a ele. O objetivo é elevar a atividade mimética GPx, promovendo a redução de peróxidos às custas de tióis no menor tempo possível. O disseleneto de difenila **2**, por exemplo, possui uma atividade GPx-*like* aproximadamente duas vezes maior que o ebselen.¹⁹

Tanto as selenilamidas cíclicas (como por exemplo o ebselen) e os disselenetos de diarila são atribuídas várias atividades biológicas, não somente atividade antioxidante bem como anti-inflamatória e antitumoral. Essas atividades são atribuídas a sua capacidade de mimetizar a enzima GPx ou por outros mecanismos de ação.² Entretanto, outras classes como selenocianatos e selenoésteres também vêm demonstrando relevante atividade GPx-*like*.^{20,21}

O seleneto **3**, também apresenta atividade GPx-*like*, sendo melhor catalisador que o padrão Ebselen. Todavia, o selenoéster **4** apresentou atividade aproximadamente quatro vezes superior ao padrão disseleneto de difenila **2**. Os autores atribuem a atividade à facilidade do grupamento selenoéster em gerar seu respectivo selenolato. A molécula **5** trata-se de um selenocianato com atividade antioxidante, a qual apresentou atividade GPx-*like* superior ao disseleneto de difenila.²²

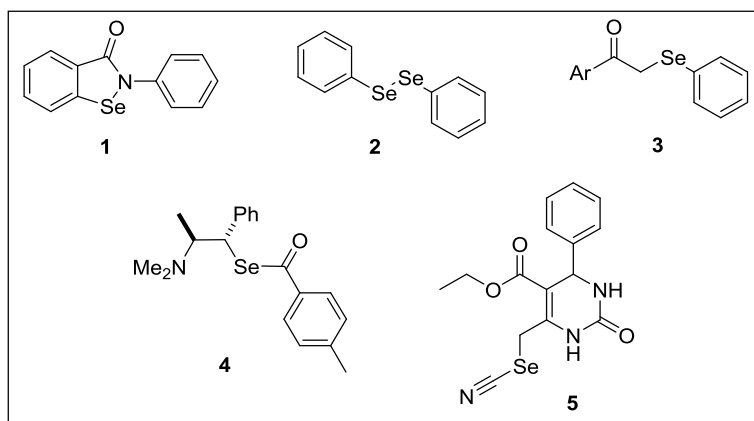


Figura 2: Estruturas de miméticos da enzima GPx.

2.3. Cumarinas

As cumarinas **7** são compostos orgânicos aromáticos heterocíclicos que representam uma importante classe de compostos fenólicos. Tais moléculas compreendem uma grande classe de compostos que são encontrados em todo o reino vegetal. Foi isolado pela primeira vez em 1820, da fava tonca (*Dipteryx odorata* Willd, Fabaceae) uma espécie previamente conhecida da classe “Coumarou”, por isso o termo cumarina. As cumarinas encontram-se em níveis elevados em alguns óleos essenciais, óleo de casca de canela em particular, óleo de folha de cássia e óleo de lavanda. Entretanto, a cumarina também pode ser encontrada em frutas (por exemplo, mirtilo, amora silvestre), chá verde e outros alimentos, como chicória. A maioria das cumarinas se encontram em plantas superiores, com as fontes mais ricas sendo a Umbeliferona e Rutaceae. Entretanto, as mesmas também podem ser encontradas em fungos e bactérias.^{23,24}

Essas moléculas têm suas estruturas provenientes de lactonas do ácido o-hidróxi-cinâmico (2*H*-1-benzopiran-2-onas). Podem ser encontradas em quatro subtipos principais: cumarinas simples, a qual está ilustrada na figura **3**, furanocumarinas, piranocumarinas e as piranocumarinas substituídas.

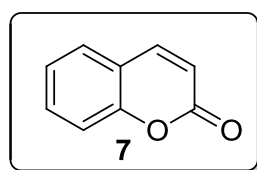


Figura 3: Estrutura da cumarina.

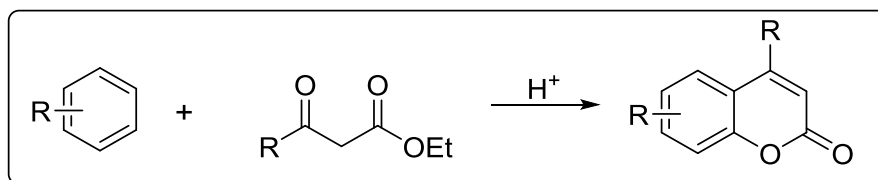
Cumarinas naturais, bem como sintéticas têm atraído muita atenção recentemente devido aos resultados satisfatórios das suas atividades farmacológicas. Portanto a síntese destes heterociclos é de grande interesse do ponto de vista da química orgânica medicinal.

Vários métodos de síntese de cumarinas têm sido empregados e a escolha dentre eles depende do padrão de substituição desejado. Algumas metodologias são baseadas nas reações de Perkin,²⁵ Reformatsky,²⁶ Knoevenagel,²⁷ Wittig e Pechmann.^{28,29}

Entretanto, outra metodologia para a síntese das cumarinas é o uso de irradiação de micro-ondas (MW) que tem sido reportado como uma excelente ferramenta na síntese de cumarinas com substituição no C-4 e diidróxicumarinas.³⁰

Dentre as metodologias sintéticas existentes para a obtenção dos derivados de cumarinas, destaca-se a condensação de Pechmann, por ser um rota sintética rápida, eficaz que apresenta as devidas possibilidades de substituição no anel.

Essa reação se baseia na reação entre um β -cetoéster e um composto fenólico, na presença de ácido de Brønsted ou ácido de Lewis, conforme Esquema 4.^{31,32}



Esquema 4: Reação de Pechmann para síntese da cumarina.
Fonte: **Bioorg. Med. Chem. Lett.** V.12, p.783, 2002. (adaptada).

2.4. Atividade Biológica das Cumarinas

Assim como os compostos organosselênio, as cumarinas são bastante exploradas em química medicinal e tem suas propriedades biológicas reconhecidas.³³ Tais moléculas possuem uma extensa variedade de atividades farmacológicas como antitumorais, antidiabéticas, antioxidantes,

antimicrobianas, anticolinesterásicas, anti-inflamatórias entre outras. Percebe-se que a inibição do estresse oxidativo é um fator que contribui para cada um desses testes biológicos citados anteriormente. Portanto, as cumarinas têm sido relatadas para impedir a formação dessas espécies reativas de oxigênio evitando o estresse oxidativo. Logo, existe claramente um interesse atual no desenvolvimento de moléculas com alta atividade antioxidante como candidatos potenciais a fármacos a serem adotadas contra estas patologias, e cumarinas se destacam como antioxidantes promissores com interesse farmacológico.⁴

Dentro deste contexto, hidróxicumarinas têm atraído grande interesse por causa das suas propriedades farmacológicas potencializadas (Figura 4). Entre estas propriedades, os seus efeitos antioxidantes foram amplamente estudados, na qual está relacionada com a posição do grupamento hidroxila ligada a cumarina. Por exemplo, a Umbeliferona **7** (7-hidróxicumarina) é um antioxidante natural além de apresentar propriedades vaso dilatadoras.³⁴ Estudos revelam que estruturas que apresentam mais grupos hidroxilas possuem uma atividade antioxidante mais eficaz, conforme na figura 4, os compostos **8** e **9** têm uma atividade mais pronunciada que o composto **7**, acredita-se ser pelo aumento na densidade eletrônica no anel aromático.³⁵

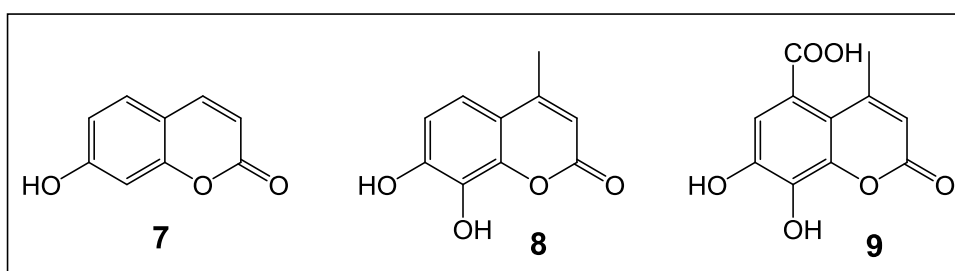


Figura 4: Estruturas de hidróxicumarinas com potencial antioxidante.

Fonte: **Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 7260–7270, 2012.(adaptada).

Outros estudos também têm demonstrado que cumarinas possuem uma atividade inibitória potente no que diz respeito a enzima acetilcolinesterase (AChE).³⁶ Adicionalmente, a funcionalização do anel aromático de cumarinas tem levado ao desenvolvimento de análogos que são capazes de inibir a agregação da proteína beta-amilóide. Ambas atividades estão relacionadas à

patogênese da doença de Alzheimer e isso demonstra mais uma vertente de aplicação para este tipo de estrutura.³⁷

3.OBJETIVOS

3.1 Objetivos Gerais

O presente trabalho de conclusão do curso de bacharel em química tem como objetivo geral sintetizar e avaliar o potencial antioxidante de novos compostos derivados de cumarinas funcionalizados com selênio.

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar os materiais de partida: 4-cloro-cumarinas, de acordo com o procedimento descrito em literatura.
- Obter as selenocumarinas substituídas (selenoésteres, selenocianatos e disseleneto) através da metodologia proposta e determinar as melhores condições reacionais para a obtenção dos compostos alvos
- Identificar os compostos sintetizados através de ^1H RMN, ^{13}C RMN, e espectrometria de Massas, quando necessário.
- Avaliar a atividade antioxidante dos produtos sintetizados.

4. METODOLOGIA

4.1. Solventes e Reagentes

- A cumarina que foi utilizada nesse projeto foi sintetizada de acordo com o item 4.3.1. Os demais materiais de partida (cloreto ácido, selenocianato de potássio) foram provenientes de fontes comerciais (Aldrich e Acros).

- Os solventes orgânicos usados para isolamento e purificação dos produtos foram de fontes comerciais (Vetec e Synth).

- As purificações foram realizadas por recristalização ou cromatografia em coluna utilizando fase estacionária de sílica gel 0,063 - 0,2 *mesh*. As frações purificadas foram identificadas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando placas de alumínio recobertas por sílica gel de marca Whatman, com 0,25 mm de espessura.

- Para identificação dos produtos utilizando CCD, foi utilizados alguns métodos, como revelação em câmara de iodo, revelação em câmara de luz ultravioleta e revelação com reagente de vanilina ácida com posterior aquecimento.

4.2. Equipamentos

- Os rota- evaporadores utilizados para a remoção dos solventes foram do tipo M Büchi HB -140.
- A linha de vácuo que foi utilizada para a secagem final dos produtos, está equipada com uma bomba de alto-vácuo Vacuum brand modelo RD 4, 4,3 m³/ h.
- As análises de ressonâncias magnéticas nuclear de hidrogênio e carbono 13 foram realizadas em um espectrômetro Varian AS-400, operando em 400 MHz e 100 MHz, e também pelo espectrômetro Bruker operando em 200 MHz e 50 MHz, sendo ambos equipamentos localizados na Central de Análise do DQ-UFSC.
- Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos a partir de um aparelho Bruker MicrOTOF-Q II (Bruker Daltonics, Billerica, EUA)

operando em modo APPI (Fotoionização à Pressão Atmosférica) no CEBIME – Laboratório Central de Biologia Molecular Estrutural da UFSC.

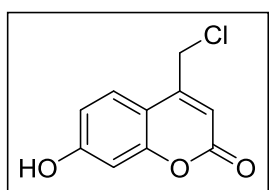
- Os dados de absorção de luz ultravioleta foram obtidos a partir de um espectrofotômetro (Cary 60 UV-Vis Spectrophotometer) com arranjo de diodos, com célula termostática do LabSelen–UFSC.

4.3. Procedimentos Experimentais

4.3.1 Procedimento geral para a síntese das 4-cloro-cumarinas.

Em um balão de duas bocas foram colocados os determinados compostos fenólicos (30 mmol), o 4-Cl-acetoacetato de etila (30 mmol), 45 mL de H₂SO₄ concentrado. O meio reacional foi resfriado em um banho de gelo a 0°C e ficou sob agitação pelo tempo necessário para completa reação. Após o término da reação, na qual foi verificado por cromatografia em camada delgada, o *work-up* da reação foi feito pela adição da mistura reacional a um becker contendo gelo triturado. O sólido formado foi filtrado e lavado com porções de água gelada, e posteriormente foi seco sob vácuo.

Os produtos foram utilizados posteriormente sem purificação adicional. Os dados das análises espectroscópicas dos produtos obtidos seguem abaixo.

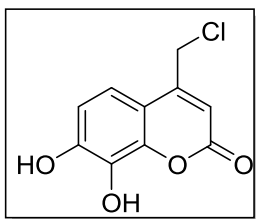


4-(clorometil)-7-hidróxi-2H-cromen-2-ona (12a)

Rendimento: 63%.

Características Físicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO – d₆): δ = 4,95 (s, 2H); 6,43 (s, 1H); 6,78 (d, J = 2,4Hz, 1H); 6,87(dd, J = 6,4 e 2,4Hz, 1H); 7,70 (d, J = 6,4, 1H). **¹³C RMN (400 MHz, DMSO – d₆):** δ = 41,71; 102,87; 109,66; 111,25; 113,51; 126,63; 151,16; 155,54; 160,72.



4-(clorometil)-7,8-diidroxi-2H-cromen-2-ona (12b)

Rendimento: 40%

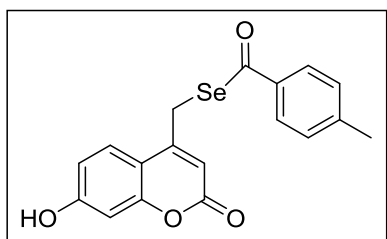
Características Físicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO – d⁶): δ= 4,93 (s, 2H); 6,43 (s, 1H); 6,88 (d, *J*= 8,7Hz, 1H); 7,20 (d, *J*= 8,7Hz, 1H).

4.3.2 Procedimento geral para a síntese dos selenoésteres.

Em um balão de duas bocas, munido de barra magnética de agitação, sob atmosfera de argônio, foi suspenso o selênio (3,6 mmol) em 10mL de etanol. A essa suspensão foi adicionado aos poucos, boroidreto de sódio (7,2 mmol) e após ocorrer o desprendimento de gás a solução tornou-se incolor. Após a adição do boroidreto de sódio esperou-se cessar o desprendimento de gás e adicionou-se o cloreto de ácido adequado (3,6 mmol), o meio reacional torna-se alaranjado/vermelho. Após 30 minutos adicionou-se o eletrófilo adequado (4-cloro- cumarina) (3mmol). A reação foi monitorada por CCD até o consumo total do eletrófilo. A mistura reacional foi então extraída com acetato de etila e NH₄Cl, e a fase orgânica seca com MgSO₄ e o solvente removido sob vácuo. O produto foi purificado por cromatografia líquida em coluna eluindo-se com uma mistura apropriada de 40:60 hexano/acetato de etila.

Os dados das análises espectroscópicas dos produtos obtidos seguem abaixo.



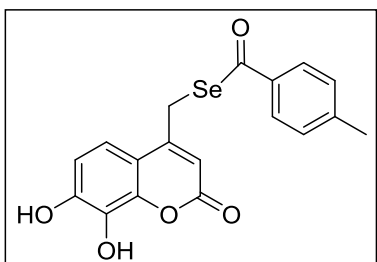
Se-((7-hidroxi-2-oxo-2H-cromen-4il) metil)

4-metilselenobenzoato (15a)

Rendimento: 64%

Características Físicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO – d⁶): δ= 2,37 (s, 3H); 4,41 (s, 2H); 6,33 (s, 1H); 6,73 (s, 1H); 6,84 (d, *J*= 6,8, 1H); 7,38(d, *J*= 7,8Hz, 2H); 7,66(d, *J*= 7,8Hz, 1H); 7,80 (d, *J*= 7,8Hz, 2H); 10,62 (s,1H).**HRMS (APPI)** *m/z* calculado para C₁₈H₁₄O₄Se [M+H] 375,0131; encontrado 375,0136.

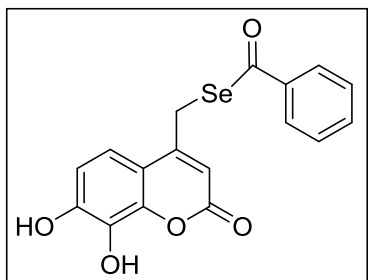


Se-((7,8-diidróxi-2-oxo-2*H*-cromen-4-il)metil) 4-metilselenobenzoato (15b)

Rendimento: 40%

Características Físicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO - *d*⁶): δ = 2,37 (s, 3H); 4,40 (s, 2H); 6,33 (s, 1H); 6,83 (d, *J* = 8,7Hz, 1H); 7,16 (d, *J* = 8,7Hz, 1H); 7,37 (d, *J* = 8,2Hz, 2H); 7,79 (d, *J* = 8,2Hz, 2H); 9,37 (s, 1H); 10,15 (s, 1H). **RMN ¹³C (200 MHz, DMSO - *d*⁶):** δ = 26,42; 29,04; 115,71; 116,17; 117,43; 120,42; 132,28; 135,12; 137,70; 140,20; 148,91; 150,65; 154,92; 159,15; 165,22; 197,51. **HRMS (APPI) *m/z*** calculado para C₁₈H₁₄O₅Se [M+H] 391,0080; encontrado 391,0084.



Se-((7,8-diidróxi-2-oxo-2*H*-cromen-4-il)metil) selenobenzoato (15c)

Rendimento: 30%

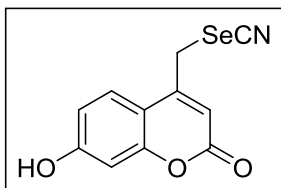
Características Físicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO - *d*⁶): δ = 4,43 (s, 2H); 6,35 (s, 1H); 6,84 (d, *J* = 8,7Hz, 1H); 7,17 (d, *J* = 8,7Hz, 1H); 7,61- 7,53 (m, 5H); 9,39 (s, 1H); 10,17 (s, 1H). **HRMS (APPI) *m/z*** calculado para C₁₇H₁₂O₅Se [M+H] 376,9924; encontrado 376, 9919.

4.3.3 Procedimento geral para a síntese dos selenocianatos.

Em um balão de uma boca sob agitação magnética, foi adicionado a 4-cloro-cumarina desejada (3 mmol), o selenocianato de potássio (4,5 mmol) e 15mL de metanol. O meio reacional foi agitado por 24 horas a temperatura ambiente, o fim da reação foi acompanhado por CCD até consumir todo o material de partida. A mistura reacional foi então extraída com acetato de etila e lavado com água, e a fase orgânica seca com MgSO₄ e o solvente removido sob vácuo. Os produtos foram utilizados posteriormente sem purificação adicional.

Os dados das análises espectroscópicas dos produtos obtidos seguem abaixo.

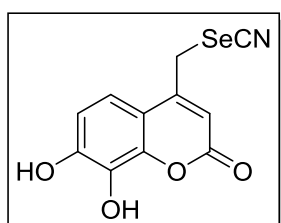


7-hidróxi-4-(selenocianatometil)-2H-cromen-2-ona (15d)

Rendimento: 91%

Características Físicas: Sólido amarelo esverdeado.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO - *d*⁶): δ = 4,37 (s, 2H); 6,26 (s, 1H); 6,76 (s, 1H) - 6,85 (d, *J*= 8,7Hz); 7,86 (d, *J*= 8,7Hz, 1H); 10,66 (s,1H). **HRMS (APPI) *m/z*** calculado para C₁₁H₇NO₃Se [M+H] 281,9664; encontrado 281,9668.



7,8-diidróxi-4-(selenocianatometil)-2H-cromen-2-ona (15e)

Rendimento: 72%

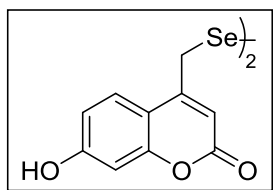
Características Físicas: Sólido amarelo esverdeado.

RMN ¹H (200 MHz, DMSO - *d*⁶): δ = 4,37 (s, 2H); 6,27 (s, 1H); 6,83 (d, *J*= 8,7Hz, 1H); 7,36 (d, *J*= 8,7Hz, 1H); 9,43 (s, 1H); 10,18 (s,1H). **HRMS (APPI) *m/z*** calculado para C₁₁H₇NO₄Se [M+H] 297,9613; encontrado 297,9618.

4.3.4 Procedimento geral para a síntese do disseleneto

Em um balão de duas bocas, munido de barra magnética de agitação, sob atmosfera de argônio, foi suspenso o selênio (0,5 mmol) em etanol. A essa suspensão foi adicionado aos poucos, boridreto de sódio (1,0 mmol), neste momento ocorre desprendimento de gás e o meio reacional torna-se incolor, esperou-se cessar o desprendimento de gás e adicionou-se novamente selênio (0,5 mmol) o meio reacional torna-se vermelho. Após acrescentou-se a 4-cloro-cumarina (1mmol) dissolvida previamente em THF. Deixou-se a mistura reacional agitando por 72 horas até o completo consumo do material de partida, monitorada por CCD. A solução foi extraída com acetato de etila e água, e a fase orgânica seca com MgSO₄ e o solvente removido sob vácuo. O produto foi purificado por cromatografia líquida em coluna eluindo-se com uma mistura apropriada de hexano/acetato de etila.

O dado das análises espectroscópicas do produto obtido segue abaixo.



Disseleneto derivado do 4-(clorometil)-7-hidróxi-2H-cromen-2-ona (15f)

Rendimento: 20%

Características Físicas: Sólido amarelado

RMN ¹H (400 MHz, DMSO - d⁶): δ = 4,09 (s, 4H); 5,84 (s, 2H); 6,81-6,69 (m, 4H); 7,76 (d, J=8,7Hz, 2H); 10,56 (s, 2H). **HRMS (APPI) m/z** calculado para C₂₀H₁₄O₆Se₂ [M+H] 297,9613; encontrado 297,9618.

4.4. Teste de atividades antioxidantes dos compostos sintetizados

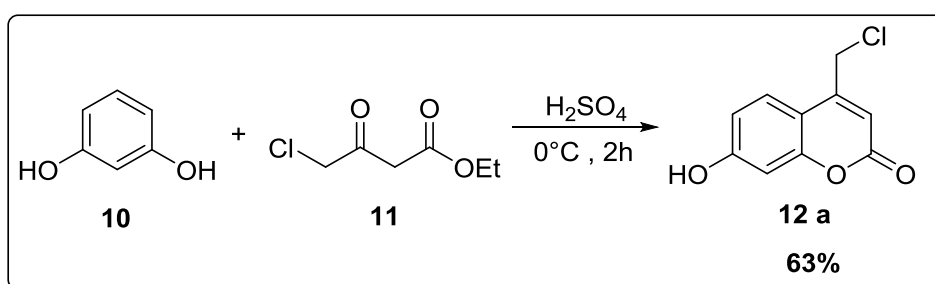
4.4.1 Avaliação da atividade GPx-like

A atividade catalítica como miméticos da enzima GPx dos compostos sintetizados foi executada de acordo com o método de Tomoda.³⁸ Em cubeta de quartzo, se adicionou o catalisador de selênio (concentração final = 0,2 e 0,1 mM), tiofenol (concentração final = 5 mM) e MeOH (1 ml) a 25 (± 2) °C. Programa-se o espectrofotômetro para promover a leitura da absorvância de luz UV no comprimento de onda de 305 nm a cada 10 segundos. Após 120 segundos do início do experimento adicionou-se na cubeta peróxido de hidrogênio (concentração final = 10 mM) e monitorou-se a reação por mais 150 segundos aproximadamente. Cada análise foi feita em triplicata.

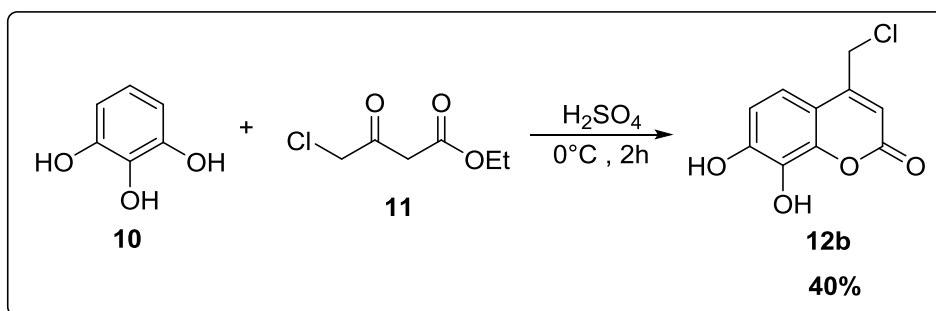
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Síntese das 4-cloro-cumarinas

Na primeira etapa do trabalho realizou-se a síntese dos materiais de partida, as 4-cloro-cumarinas, as quais foram obtidas através de uma condensação de Pechmann, onde reagiu-se um composto fenólico **10** com diferentes substituintes na porção aromática, 4-cloroacetoacetato de etila **11** na proporção de 1:1 equivalentes, respectivamente, por duas horas sob catálise ácida.³⁹ Após o término da reação, a mesma foi transferida a um béquer contendo gelo picado e água, onde ocorreu à precipitação do produto, que posteriormente foi filtrado e seco.



Esquema 5: Síntese do material de partida **12a**.



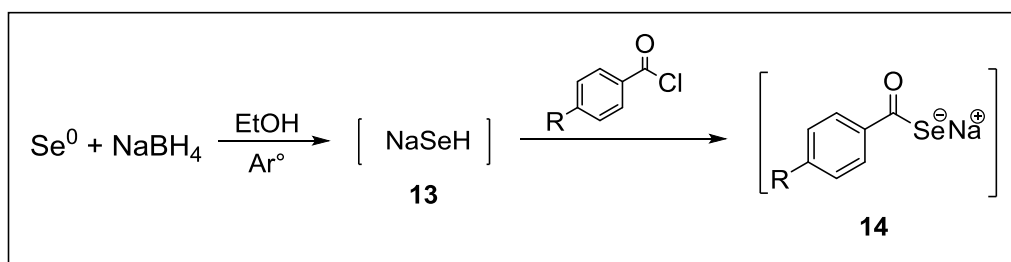
Esquema 6: Síntese do material de partida **12b**.

Como mostrado a cima, as sínteses dos materiais de partida foram realizadas com sucesso e as 4-cloro-cumarinas foram obtidas com rendimentos satisfatórios, de 40 e 63%. Foram sintetizados duas cumarinas de partida, que se diferenciam pela quantidade de grupamentos hidroxilas presentes nas moléculas; tal substituição com hidroxilas foi realizada a fim de avaliar a influência desses grupamentos na atividade antioxidante dos compostos sintetizados.

As análises das 4-cloro-cumarinas foram feitas com os compostos em seu estado bruto, a pureza dos compostos foi verificada por CCD e RMN.

5.2. Síntese dos Selenoésteres

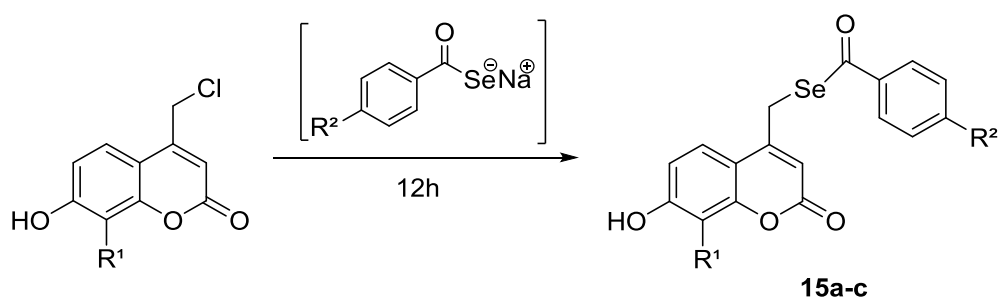
Nesta etapa do trabalho foi realizada a síntese das cumarinas funcionalizadas com selênio contendo a função selenoésteres. Para tanto, foi utilizada uma metodologia descrita em literatura.⁴⁰ Empregou-se uma rota sintética na qual, primeiramente a espécie nucleofílica de selênio NaSeH **13** é gerada *in situ* através da reação de selênio elementar com boroidreto de sódio em etanol sob atmosfera inerte. Em seguida foi adicionado ao intermediário **13** o cloreto de ácido desejado, obtendo-se assim o selenocarboxilato **14** (Esquema7).



Esquema 7: Formação do intermediário Selenocarboxilato**14**.

Após a formação do intermediário **14**, o mesmo reage com a cumarina adequada promovendo a substituição do átomo de cloro, levando a formação dos produtos (**15a-c**) como apresentado na tabela abaixo.

Tabela 1: Síntese dos Selenoésteres.



#	R ¹	R ²	Produto	Rendimento
1	H	CH ₃		64%
2	OH	CH ₃		40%
3	OH	H		30%

Como pode ser observado na tabela 1, foram sintetizados três selenoésteres (**15a-c**), com diferentes substituintes. De forma geral os selenoésteres foram obtidos em rendimentos moderados. A presença dos grupamentos hidroxila pode ter prejudicado os rendimentos das reações, visto que a presença dos grupamentos hidroxila tem um caráter ácido pronunciado e os nucleófilos (selenolatos) possuem um certo caráter básico.

Cabe salientar que os produtos formados foram de difícil purificação em coluna cromatográfica pois os materiais de partida que não foram consumidos na reação possuíam o mesmo R_f dos produtos na proporção de eluente

estabelecidas. Após a purificação por cromatografia líquida em coluna, os selenoésteres foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C .

A título de exemplo, abaixo se encontra o espectro de hidrogênio do composto **15b** (Figura 5), o qual foi obtido na frequência de 200 MHz, em solvente $\text{DMSO-}d^6$ e apresenta todos os sinais característicos do composto em questão.

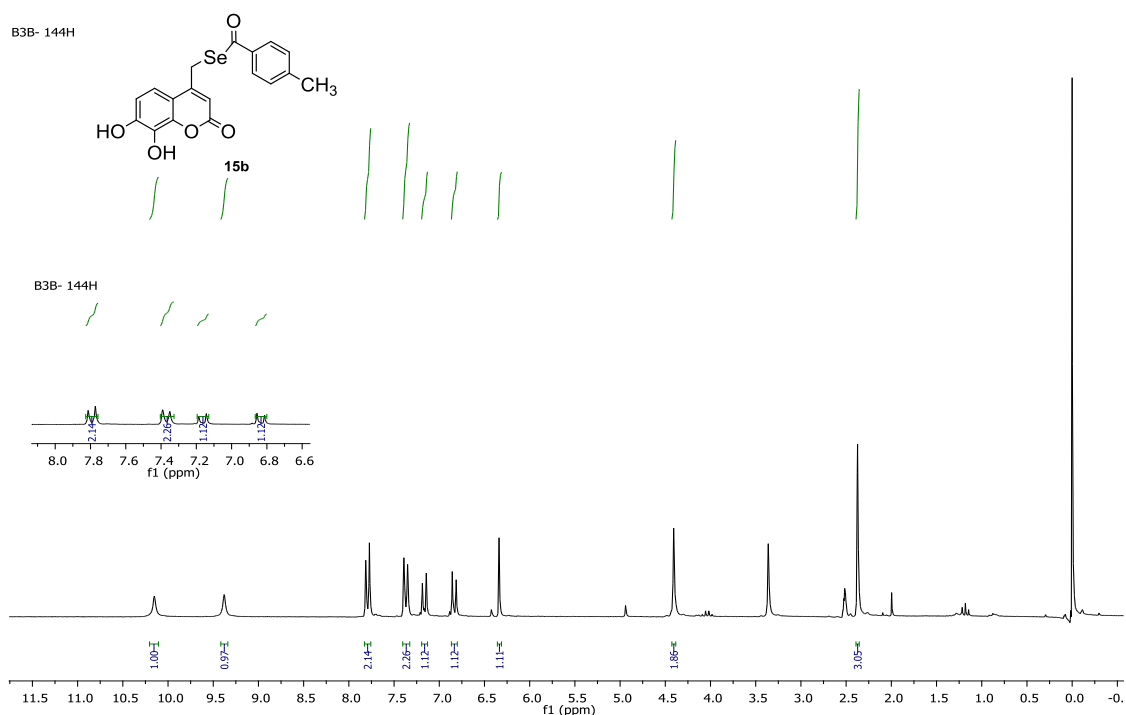


Figura 5: Espectro de RMN de hidrogênio do composto **15b** em $\text{DMSO-}d^6$ a 200 MHz.

Na região de 2,37 ppm encontra-se um singlete referente a metila ligada a fenila, o qual possui um valor de integração referente aos três hidrogênios. Em seguida é possível observar um singlete na região de 4,40 ppm com integral referente aos dois hidrogênios do CH_2 alílico. Posteriormente em 6,33ppm um singlete referente ao hidrogênio vinílico ligado, presente no anel da cumarina.

Na região de 6,83 ppm observa-se um dubleto ($J = 8,7$ Hz) referente a um hidrogênio, já em 7,16 ppm refere-se a um dubleto ($J = 8,7$ Hz) de um hidrogênio. Já na região de 7,37 a 7,79 ppm encontram-se dois dubletos ($J = 8,2$ Hz) que refere-se aos hidrogênios presentes no anel aromático que possui o substituinte metila. Na região de campo baixo, percebe-se dois singletos um em 9,37 ppm e outro em 10ppm, que referem-se aos hidrogênios das

hidroxilas. No espectro de RMN ^{13}C , por sua vez, observa-se os sinais referentes a todos os carbonos do composto **15b** (Figura 6).

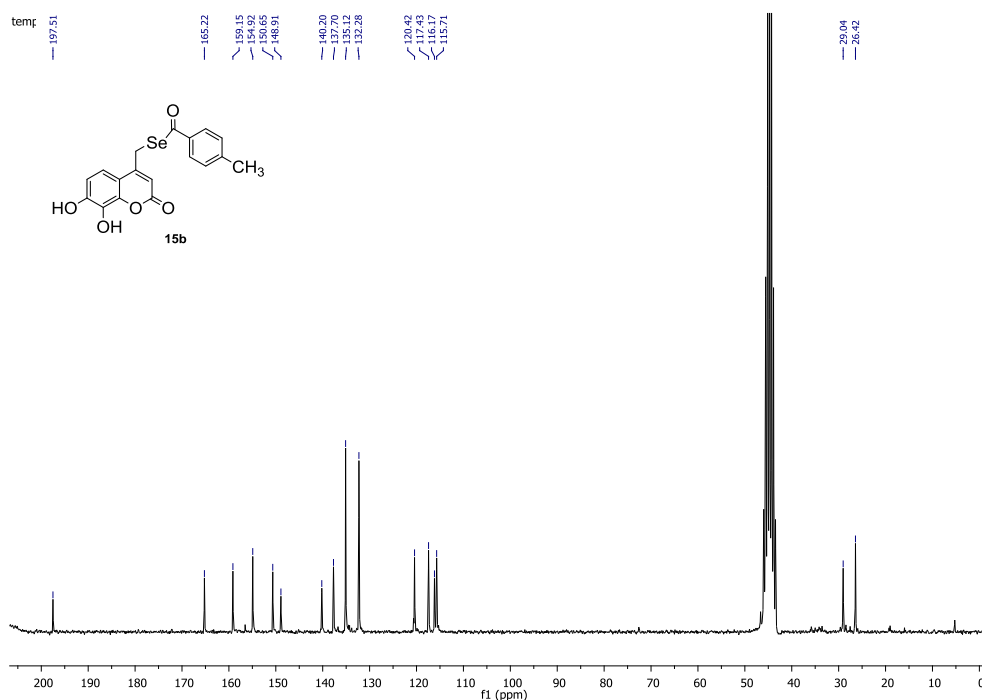


Figura 6: Espectro de RMN de carbono do composto **15b** em $\text{DMSO-}d^6$ a 200 MHz.

Na região de campo mais alto, em 26,42 ppm, pode ser atribuído ao carbono metílico, já em 29,04 ppm, pode ser atribuído ao CH_2 alílico presente na molécula. Entre 115,71 e 165,52 ppm encontram-se 13 sinais referentes aos carbonos aromáticos presentes na estrutura. Já o sinal em campo mais baixo 197,51 refere-se ao carbono da carbonila. Cabe salientar que por RMN de ^{13}C pode constatar-se a fraca interação do átomo de selênio com a carbonila através do efeito mesomérico. Ésteres e amidas possuem uma forte interação por efeito de ressonância e isso pode ser observado nos sinal do carbono carbonílico destes compostos na região de campo mais alto do espectro, entre 150 e 170 ppm. Diferentemente, o carbono carbonílico do selenoéster apresentou um deslocamento químico em 197,51 comprovando a fraca interação com o carbono da carbonila quando comparado aos ésteres e amidas.

Os compostos também foram analisados por espectroscopia de massas de alta resolução em modo positivo e com fonte de ionização APPI, com a qual foi possível verificar o pico do íon molecular das cumarinas funcionalizadas

com selênio com a distribuição isotópica característica. É possível observar na Figura 7, o espectro de massas expandido do composto **15b**, no qual é observado o pico referente à sua massa encontrada. A massa calculada para $C_{18}H_{14}O_5Se [M+H]^+$ era de 391,0080, e o encontrado foi 391,0084.

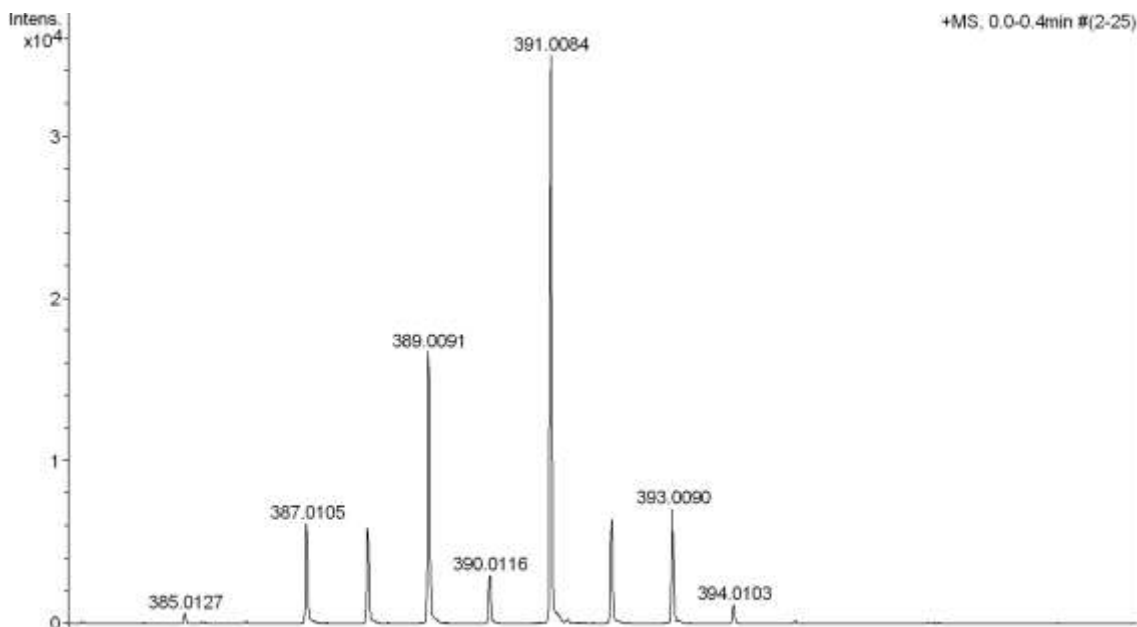
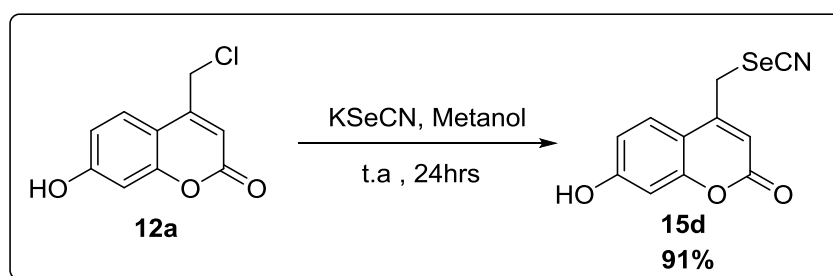


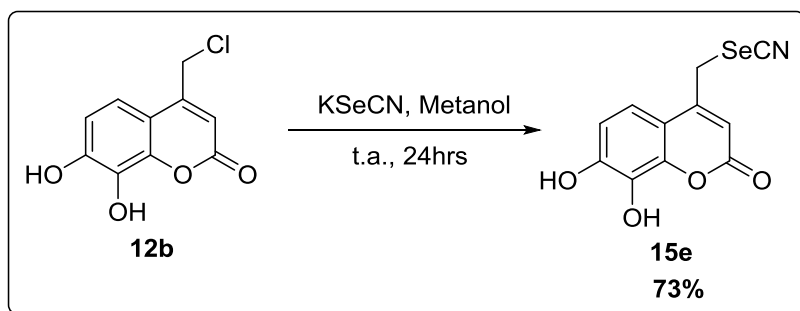
Figura 7: Espectro de massas de alta resolução do composto **15b** utilizando fonte de ionização APPI.

5.3 Síntese dos Selenocianatos

Posteriormente, partiu-se para a síntese das cumarinas contendo selenocianatos, através de uma substituição nucleofílica com selenocianato de potássio. Para a obtenção das moléculas alvos, reagiu-se a cumarina, selenocianato de potássio em metanol durante 24 horas, conforme os esquemas **8** e **9** abaixo.



Esquema 8: Rota sintética para obtenção do selenocianato da cumarina **15d**.



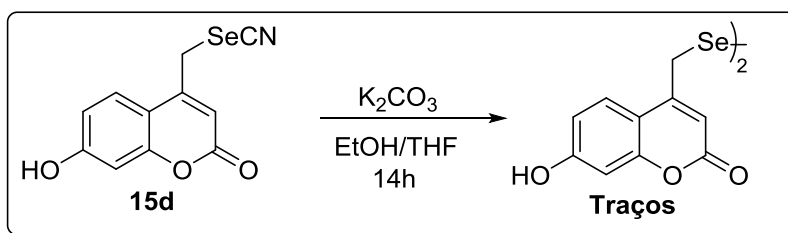
Esquema 9: Rota sintética para obtenção do selenocianato da cumarina **15e**.

Foram sintetizado dois selenocianatos, com substituintes diferentes na porção do núcleo cumarínico. Novamente, observou-se um decréscimo no rendimento quando duas hidroxilas estavam presentes na estrutura. Todavia, a rota sintética mostrou-se simples e eficiente para ambos os casos, pois apresentou rendimentos altos. Os produtos não precisaram de purificações adicionais, devido ao fato de tanto no CCD, quanto nas análises de RMN o produto apresentar-se puro.

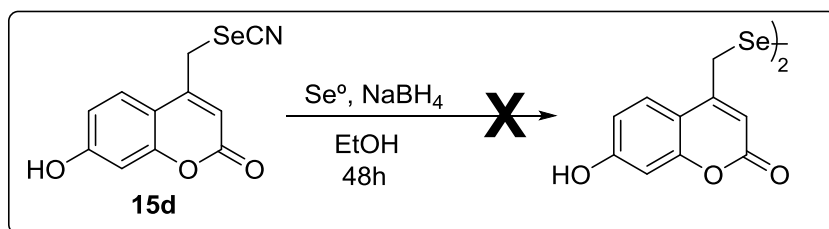
5.4 Síntese dos Disselenetos

Nessa etapa do trabalho, realizou-se a síntese de disselenetos e para isso, diversas metodologias foram testadas. A reação primeiramente foi testada através da desproteção do respectivo selenocianato em meio básico⁴¹ para essa rota sintética adicionou-se o selenocianato, e como solvente da reação Etanol/H₂O (2:1), o produto foi obtido porém, somente traços do mesmo o qual tornou-se difícil quantificar, o produto majoritário dessa reação é a cumarina reduzida (esquema **10**).

Testou-se então a desproteção do selenocianato em meio redutor mas infelizmente a molécula alvo não foi alcançada conforme o esquema **11**.⁴²

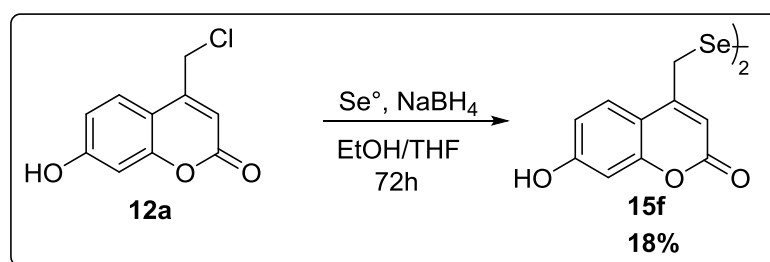


Esquema 10: Rota sintética 1 da desproteção do selenocianato.



Esquema 11: Rota sintética 2 da desproteção do selenocianato.

Logo, após algumas tentativas sem sucesso para a formação do disseleneto através da desproteção do selenocianato, testou-se uma outra alternativa para a obtenção da molécula alvo. Partindo-se da cumarina livre de selênio como material de partida e faz-se reagir com a espécie nucleofílica Na_2Se_2 na qual é formada quando reagiu-se o Se^0 com o boroidreto de sódio durante 72 horas como pode ser visto no esquema 12.



Esquema 12: Síntese do disseleneto **15f** derivado da cumarina.

Todavia, como pode ser observado a molécula alvo foi obtida com um rendimento de 18%. Isso se deve ao fato da cumarina reduzida ser o produto majoritário. O produto foi purificado através de coluna cromatográfica e posteriormente análise de RMN foi realizada para a caracterização da molécula.

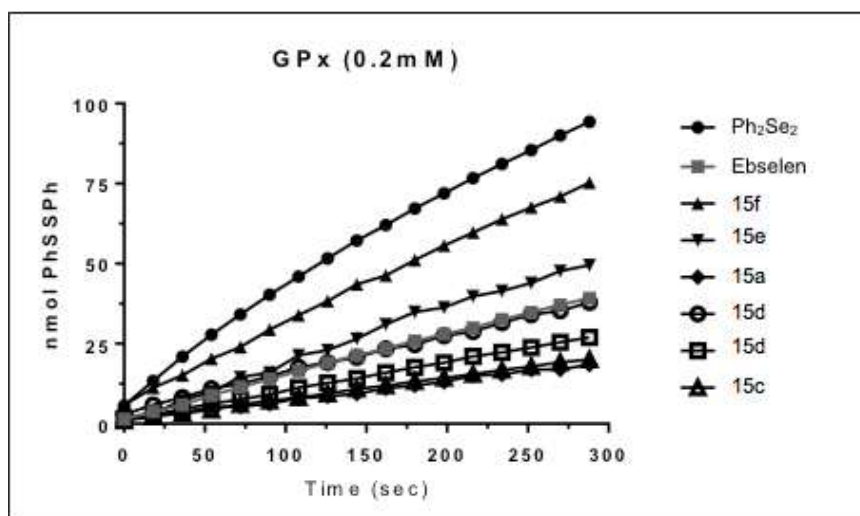
5.5 Teste de atividade antioxidante dos compostos sintetizados

5.5.1 Avaliação da atividade GPx-like

Os compostos sintetizados tiveram seu potencial antioxidante como miméticos da enzima GPx avaliado pelo método de Tomoda,³⁸ o qual utiliza tiofenol (PhSH) como um substituto da glutathiona. Este método consiste no monitoramento da oxidação do tiol ao seu respectivo dissulfeto (PhSSPh), mediada por peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A formação do dissulfeto é verificada por espectrofotometria de UV-vis em 305 nm.

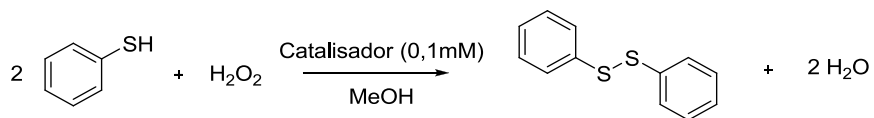
Todos as cumarinas funcionalizadas com selênio foram submetidos ao teste de atividade *GPx-like* pelo método de Tomoda, por uma estudante de nosso grupo de pesquisa (Sumbal Saba). Os resultados podem ser observados no Gráfico 1 e na Tabela 2. O ebselen (Ebs) foi utilizado como padrão positivo.

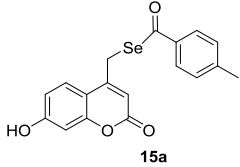
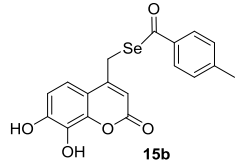
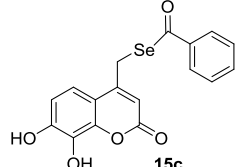
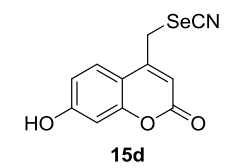
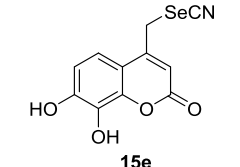
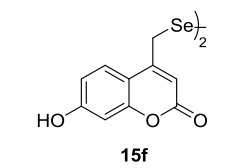
Gráfico 1 - Formação de PhSSPh catalisada pelos compostos **15a, 15b, 15c, 15d, 15e, 15f**, Disseleneto de difenila e Ebselen.



No Gráfico 1 é possível observar a formação de dissulfeto de difenila (PhSSPh) após a adição do H_2O_2 à solução reacional contendo o solvente (1ml), tiofenol (2,0mM) e os catalisadores (0,1mM). É possível observar que a concentração do PhSSPh aumenta em função do tempo, e que os compostos **15e** e **15f** catalisam a reação mais eficientemente.

Tabela 2 - Atividade GPx-like dos compostos **15a,15b, 15c, 15d, 15e, 15f** , Disseleneto de Difenila e Ebselen.



Entrada ^a	Catalisador ^b	T ₅₀ (min) ^{c,d}	Eficiência relativa ao Ebselen	Eficiência relativa ao Disseleneto
1	 15a	308.63±(11.01)	-	-
2	 15b	201.93±(6.38)	-	-
3	 15c	276.66±(9.49)	-	-
4	 15d	176.64±(6.12)	-	-
5	 15e	125.79±(4.89)	1.19	-
6	 15f	69.95±(0.77)	2.15	-
7	EbSelen	150.51±(4.47)	1	-
8	DPDS	56.32±(2.35)	2.67	1 34

^aSob esta condição a adição de H₂O₂ na ausência do composto organosselênio não produziu qualquer oxidação significativa de PhSH.

^bMeOH (1 mL); catalisador (0,2 mM); PhSH (5 mM); H₂O₂ (10 mM)

^cT₅₀ é o tempo necessário, em minutos para reduzir a concentração do tiol em 50% após a adição do H₂O₂.

^dDado em parenteses: erro experimental.

Na Tabela 2 é observado os valores de T₅₀ para os compostos avaliados. Todos os compostos avaliados apresentaram atividade *GPx-like*, sendo que dois deles apresentaram atividade *GPx-like* superior ao padrão ebselen.

Dentre os dois compostos mais ativos (**15e**, **15f**), o composto **15e** apresentou um valor de T₅₀ igual a 125.79±(4.89) sendo 1,19 vezes superior ao padrão ebselen. O disseleneto **15f** foi o composto que melhor catalisou a reação, apresentando um valor de T₅₀=69.95±(0.77) mostrando atividade *GPx-like* 2,15 vezes superior ao padrão Ebselen, e superior também aos demais selenocianatos e selenoésteres.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Considerando-se os objetivos propostos para o presente trabalho e analisando-se os resultados obtidos, algumas conclusões e considerações relevantes podem ser feitas.

O trabalho teve como foco principal a síntese e a avaliação antioxidante de uma série de novas cumarinas funcionalizadas com selênio. Nesse contexto, pode-se considerar que o projeto foi realizado com sucesso, pois foi desenvolvida uma rota sintética eficaz para a obtenção das diferentes cumarinas contendo a porção de selênio. Os produtos desejados foram obtidos em rendimentos que variaram de 18 a 91%.

Outro aspecto importante do presente trabalho foi a atividade antioxidante desses compostos, pois apresentaram atividade antioxidante como miméticos da enzima GPx. Com destaque para os compostos **15f** e **15e**, que apresentaram valores superiores ao padrão Ebselen.

Como perspectiva, a partir destes estudos preliminares, planeja-se a síntese de uma classe maior de compostos selenoésteres, selenocianatos e disselenetos derivados do núcleo cumarínico e a avaliação do potencial antioxidante destes compostos através dos testes de GPx bem como outros ensaios biológicos para uma melhor compreensão da relação estrutura-atividade.

Futuramente, após a realização de alguns estudos planeja-se a publicação destes resultados na forma de uma patente, assim como em um periódico de fator de impacto relevante.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.a)SANTI, C.et al. Selenium Containing Compounds from Poison to Drug Candidates: A Review on the GPx-like Activity. **Curr. Chem. Biol.**, v.7, p.25–36, 2013.b)LAQUERRE, M. et al. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Prog. in Lipid Res.**, v.46, p.244-282, 2007.c)NOGUEIRA, W.C. et al. Organoselenium and Organotellurium Compounds: Toxicology and Pharmacology. **Chem. Rev.**v.104,p.6255-6285, 2004.
- 2.BUBOLSA, B.G. et al. The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoid. **Mini-Rev. Med. Chem**, v.13, p.318-334, 2013.
- 3.ORIAN, L.; TOPPO, S. Organochalcogen peroxidase mimetics as potential drugs: a long story of a promise still unfulfilled. **Free Radical Bio.Med.**, v. 66, p. 65–74, 2014.
- 4.VIANNA, D.R. et al. Evaluation of the Antioxidant Capacity of Synthesized Coumarins. **J.Mol Sciences.**, v. 13, p. 7260 – 7270, 2012.
- 5.SANTI, C. et al. Selenium Containing Compounds from Poison to Drug Candidates: A Review on the GPx-like Activity. **Curr. Chem. Biol**, v.7,p.25–36, 2013.
- 6.SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration.**J. Am. Chem. Soc**, p. 3292–3293, 1957.
- 7.TURNER, D. C.; STADTMAN, T. C. Purification of Protein Components of Clostridial Glycine Reductase System and Characterization of Protein a as a Selenoprotein. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.154, p.366-381, 1973.
- 8.FORSTROM, J.W. et al. Identification of Catalytic Site of Rat-Liver Glutathione Peroxidase as Selenocysteine.**Biochemistry**, v.17, p.2639-2644, 1978
- 9.FLOHE, L.et al.Selenium, the element of the moon, in life on earth.**lubmb Life**, v.49, p.411, 2000.
- 10.HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P. Glutathione e Enzimas Relacionadas: Papel Biológico e Importância em Processos Patológicos.**Quim. Nova**, v.31, p.S1-S4, 2008.
- 11.HUGET, J. L. Oxidation of olefins catalyzed by selenium.**Adv. Chem. Ser.** v.76, p. 345-351, 1967.

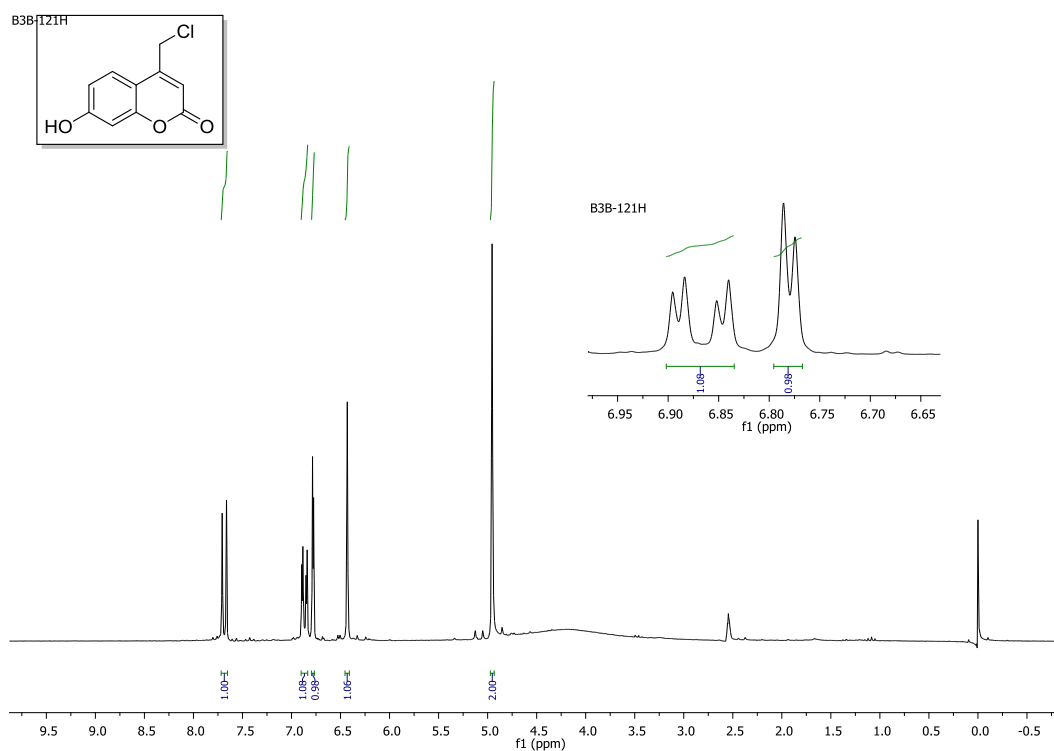
12. SHARPLESS, K. B.; LAUER, R. F.; TERANISHI, A. Y. Electrophilic and Nucleophilic Organoselenium Reagents. New Routes to α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 95, n. 18, p. 6137–6139, 1973.
13. AUST, S. D. ; SVIGEN, B. A. **Free Radicals in Biology**. New York: Academic Press, 1982.
14. ALBERTO, E. E. ; NASCIMENTO, V. ; BRAGA, A. L. Catalytic Application of Selenium and Tellurium Compounds as Glutathione Peroxidase Enzyme Mimetics. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.21, p.2032-2041, 2010.
15. LAQUERRE, M. ; LECOMTE J. ; VILLENEUVE P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v.46, p.244-282, 2007.
16. MUSTACICH, D.; POWIS, G. Thioredoxin reductase. **Biochem.J.**, v. 346, p. 1–8, 2000.
17. MAIORINO, F. M. et al. Diversity of glutathione peroxidases. **Method. Enzymol.**, v.252, p.38-48, 1995.
18. SCHEWE, T. Molecular actions of ebselen--an antiinflammatory antioxidant. **Gen. Pharmacol.**, v.26, p.1153-1169, 1996.
19. WILSON, S.R., et al. Development of Synthetic Compounds with Glutathione-Peroxidase Activity. **J. Am. Chem. Soc.**, v.111, p.5936-5939, 1989.
20. CANTO, R. F. S. et al. synthesis and evaluation of seleno-dihydropyrimidinones as potential multi-targeted therapeutics for Alzheimer's disease. **Org. Biomol. Chem.**, v. 12, p. 3470–3477, 2014.
21. DOMÍNGUEZ-ÁLVAREZ, E. et al. Synthesis and antiproliferative activity of novel selenoester derivatives. **Eur.J.Med.Chem.**, v. 73, p. 153–66, 2014.
22. BACK, T. G. Design and synthesis of some biologically interesting natural and unnatural products based on organosulfur and selenium chemistry. **Can. J. Chem.**, v. 87, p. 1657–1674, 2009.
23. RADUNZ, L. L. et al. Rendimento extrativo de cumarina de folhas de guaco (*Mikaniaglomerata Sprengel*) submetidas a diferentes temperaturas de secagem. **Rev.Bras. Plantas Med.**, v. 14, 2012.

24. JAIN, P.K.; JOSHI, H. Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. **J. Appl. Pharm. Sci.** v.2, p. 236-240, 2012
25. JOHNSON, J.R. The Perkin reaction and related reactions. **Org. Reactions**, v. 1, p. 210-265, 1942.
26. SHRINER, R.L. The Reformatsky Reaction. **Org. Reactions**, v. 1, p. 15-18, 1942.
27. KADIN, S.B. Reduction of Conjugated Double Bonds with Sodium Borohydride. **J. Org. Chem.**, v. 31, p. 620-622, 1996.
28. YAVARI, I.; HEKMAT-SHOAR, R.; ZONOUKI, A. A new and efficient route to 4-carboxymethylcoumarins mediated by vinyltriphenylphosphonium salt. **Tetrahedron Letters**, v. 39, p. 2391-2392, 1998.
29. SETHNA S., PHADEKE, R.; The Pechmann reaction, **J. chem. Educa.** v.75, p. 1631, 1998.
30. SINGH, V. et al. Microwave accelerated preparation of [bmim][HSO₄] ionic liquid: an acid catalyst for improved synthesis of coumarins. **Catal. Commun.**, v. 6, p. 57-60, 2005.
31. RIVIEIRO E. M. et al. Coumarins: Old Compounds with Novel Promising Therapeutic Perspectives. **Curr. Med. Chem.**, v.17, p. 1325-1338, 2010.
32. CAMPOS-TOIMIL, M. et al. Synthesis and vasorelaxant activity of new coumarin and furocoumarin derivatives. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** V.12, p.783,2002.
33. BUBOLSA, B.G. et al. The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoid. **Mini-Rev. Med. Chem.**, v. 13, p.318-334, 2013.
34. KOSTOVA, I. et al. Coumarins as Antioxidants. **Curr. Chem. Biol.** v.18, p.3929-3951, 2011.
35. VIANNA, D.R. et al. Evaluation of the Antioxidant Capacity of Synthesized Coumarins. **J.Mol Sciences.**, v. 13, p. 7260 – 7270, 2012.
36. CHANGWONG, N. et al. Acetyl- and Butyryl-cholinesterase Inhibitory Activities of Mansorins and Mansonones. **Phytother. Res.** , v.26, 392-396, 2012.

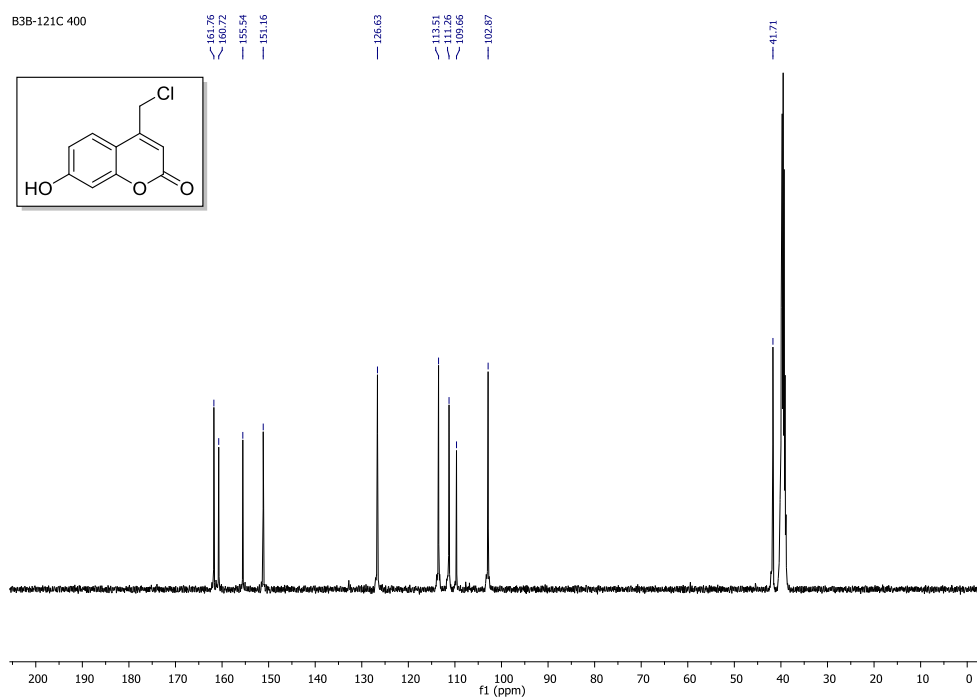
37. PIAZZI, L. et al. Multitarget-directed coumarin derivatives: hAChE and BACE1 inhibitors as potential anti-Alzheimer compounds. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** v.18, 423-426, 2008.
38. IWAOKA, M.; TOMODA, S. A Model Study on the Effect of an Amino Group on the Antioxidant Activity of Glutathione Peroxidase. **J. Am. Chem. Soc.** v.116, p. 2557–2561, 1994.
39. CAMPOS-TOIMIL, M. et al. Synthesis and vasorelaxant activity of new coumarin and furocoumarin derivatives. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** V.12, p.783,2002.
40. ATHAYDE-FILHO, P. F. et al. Synthesis and characterization of three new organo-selenium compounds . A convenient synthesis of aroylselenoglycolic acids. **Arkivoc**, v.2004,p. 22–26, 2004.
41. KRIEF, A. et al, reaction of organic selenocyanates with Hydroxides: The one-Pot Synthesis of DialkylDiselenides from alkyl Bromides. **Angew. Chem. Int. Ed.** v.39,p. 1669-1672,2000.
42. KRIEF. A. et al. Chemoselective Reduction of Organoselenocyanates to Diselenides. **TetrahedronLett.** v.38, p.3079-3080, 1997.

ANEXOS

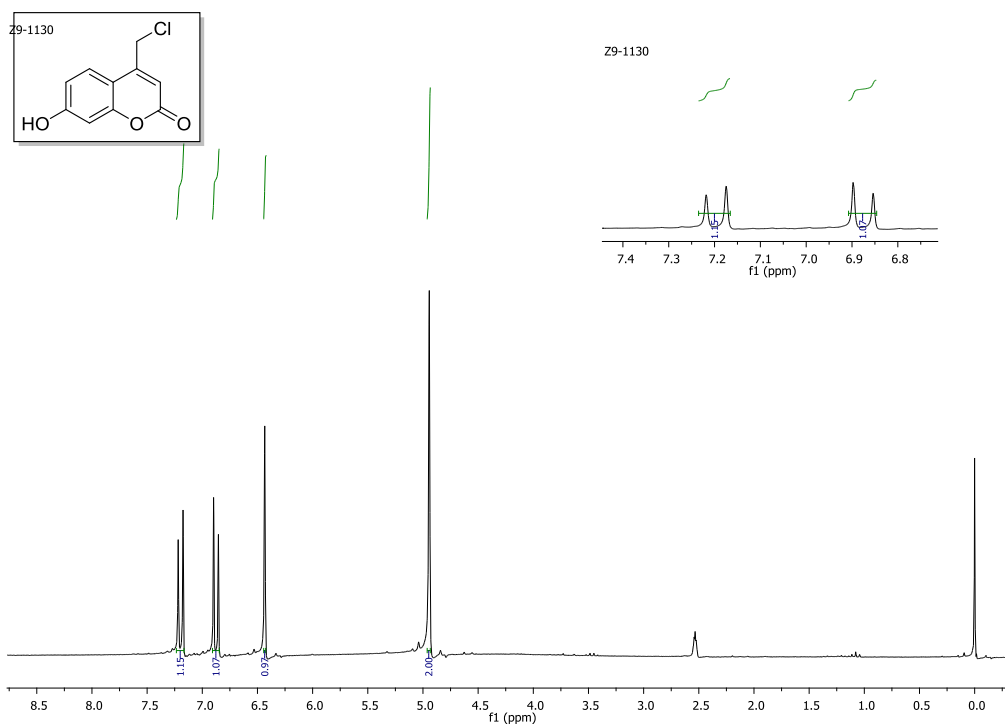
Anexo 01: Espectro de RMN ^1H do composto **12a** em $\text{DMSO-}d^6$ a 200 MHz.



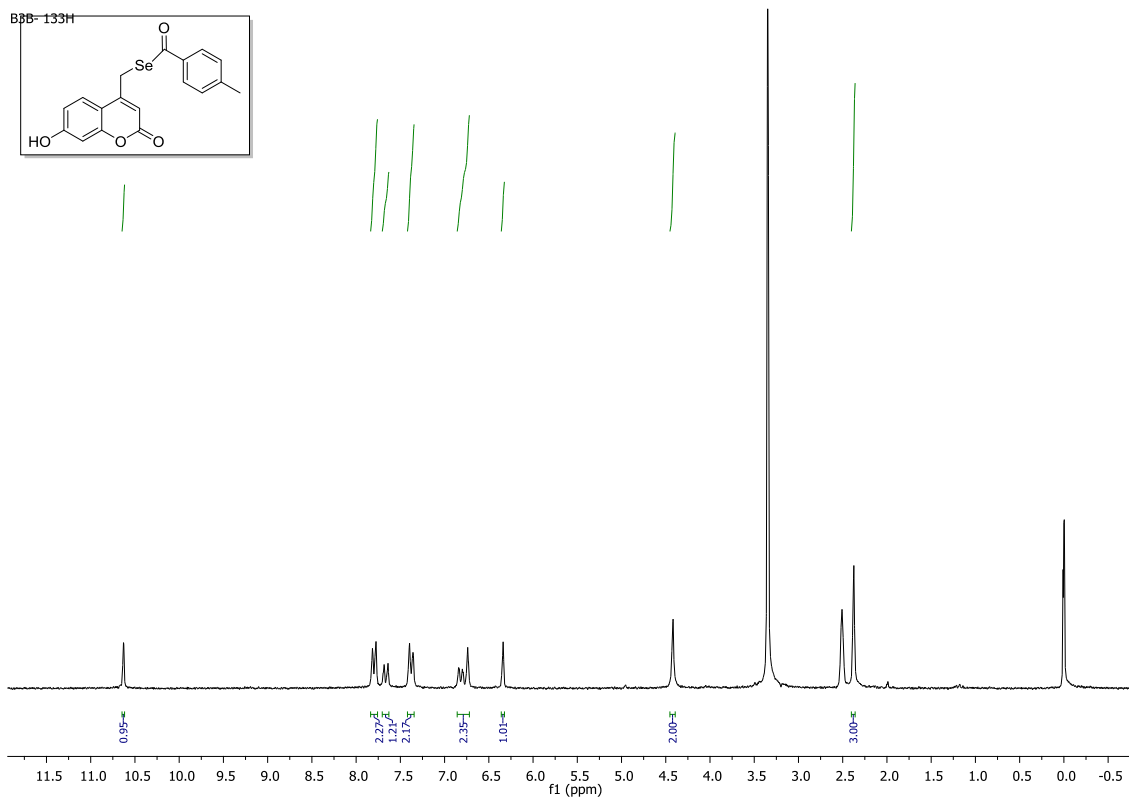
Anexo 02: Espectro de RMN ^{13}C do composto **12a** em $\text{DMSO-}d^6$ a 200 MHz.



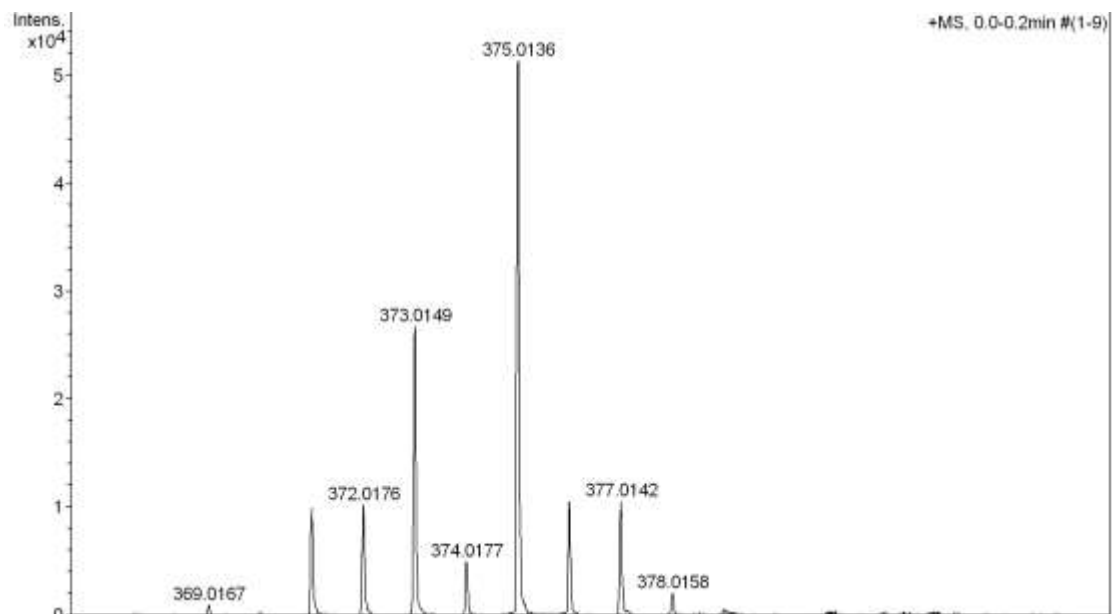
Anexo 03: Espectro de RMN ^1H do composto **12b** em $\text{DMSO-}d_6$ a 200 MHz.



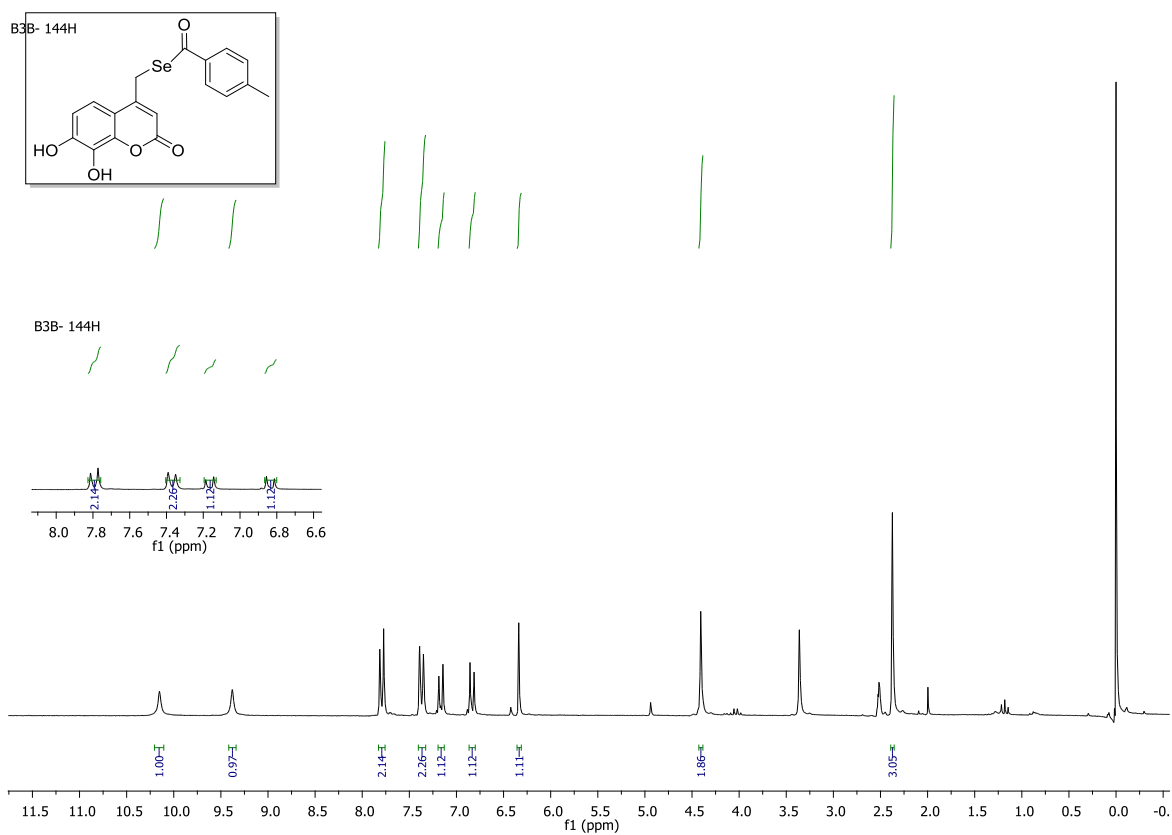
Anexo 04: Espectro de RMN ^1H do composto **15a** em $\text{DMSO-}d_6$ a 200 MHz.



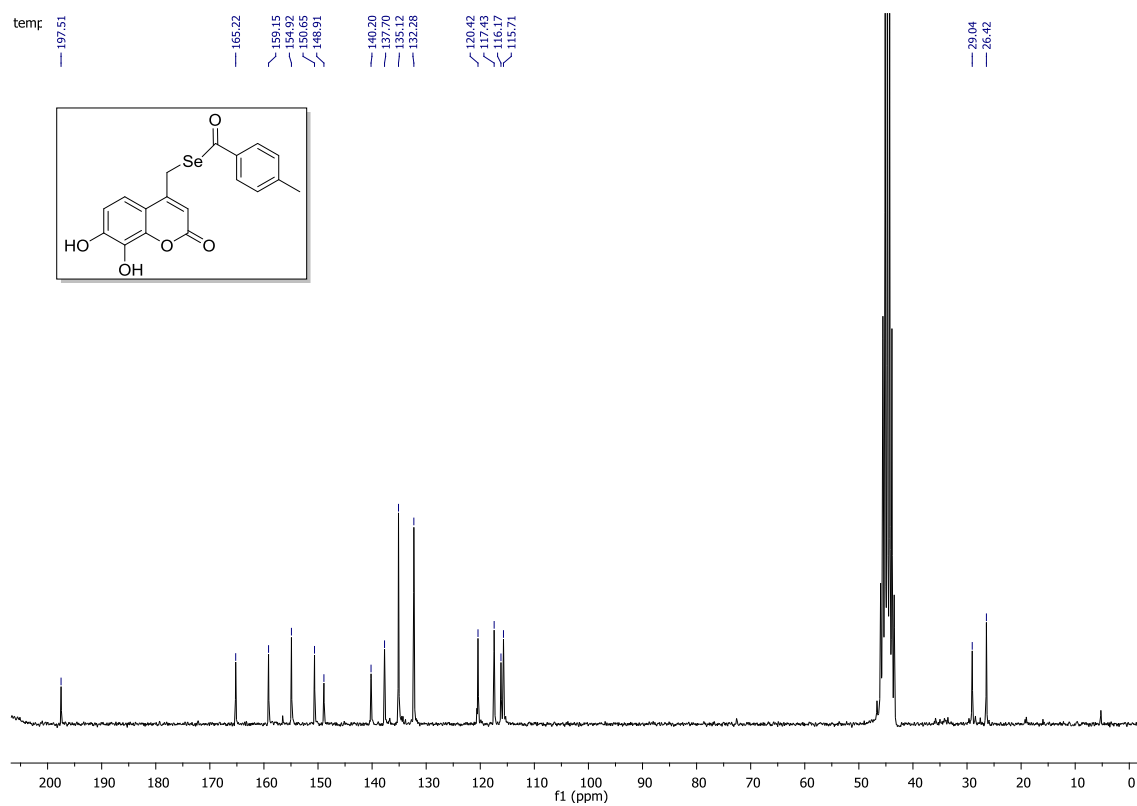
Anexo 05: Espectro de massas de alta resolução do composto **15a** utilizando fonte de ionização APPI.



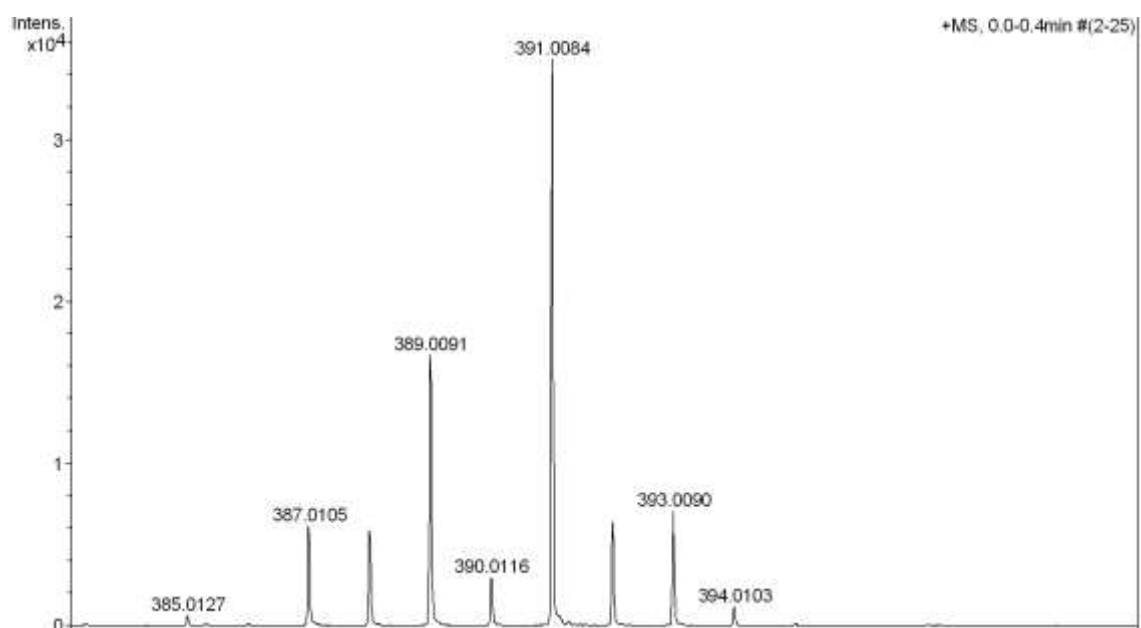
Anexo 06: Espectro de RMN ¹H do composto **15b** em DMSO-d⁶ a 200 MHz.



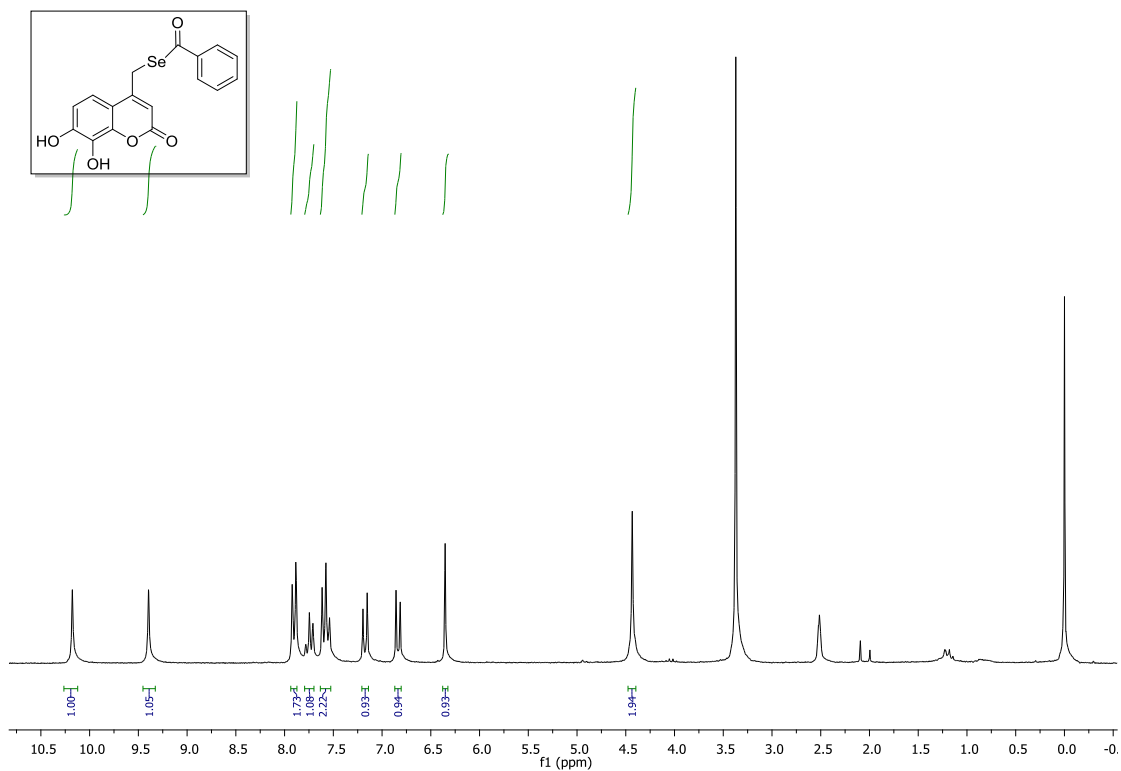
Anexo 07: Espectro de RMN ^{13}C do composto **15b** em $\text{DMSO-}d^6$ a 200 MHz.



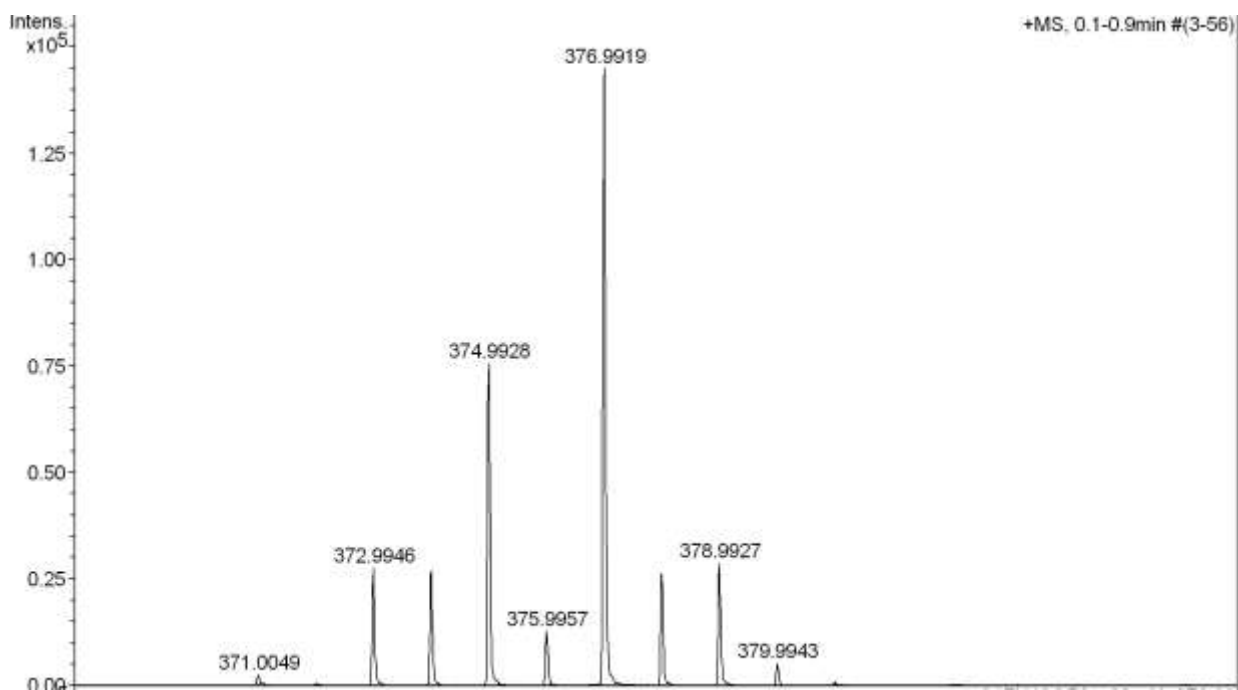
Anexo 08: Espectro de massas de alta resolução do composto **15b** utilizando fonte de ionização APPI.



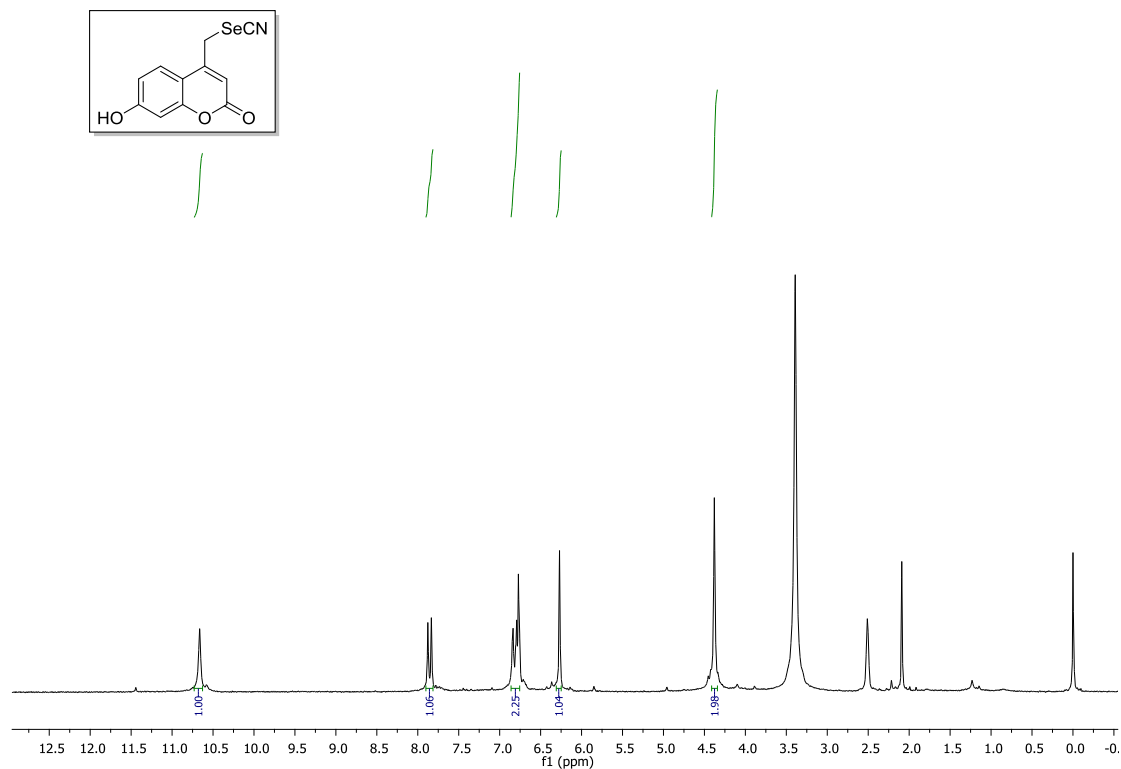
Anexo 09: Espectro de RMN ^1H do composto **15c** em $\text{DMSO-}d^6$ a 200 MHz.



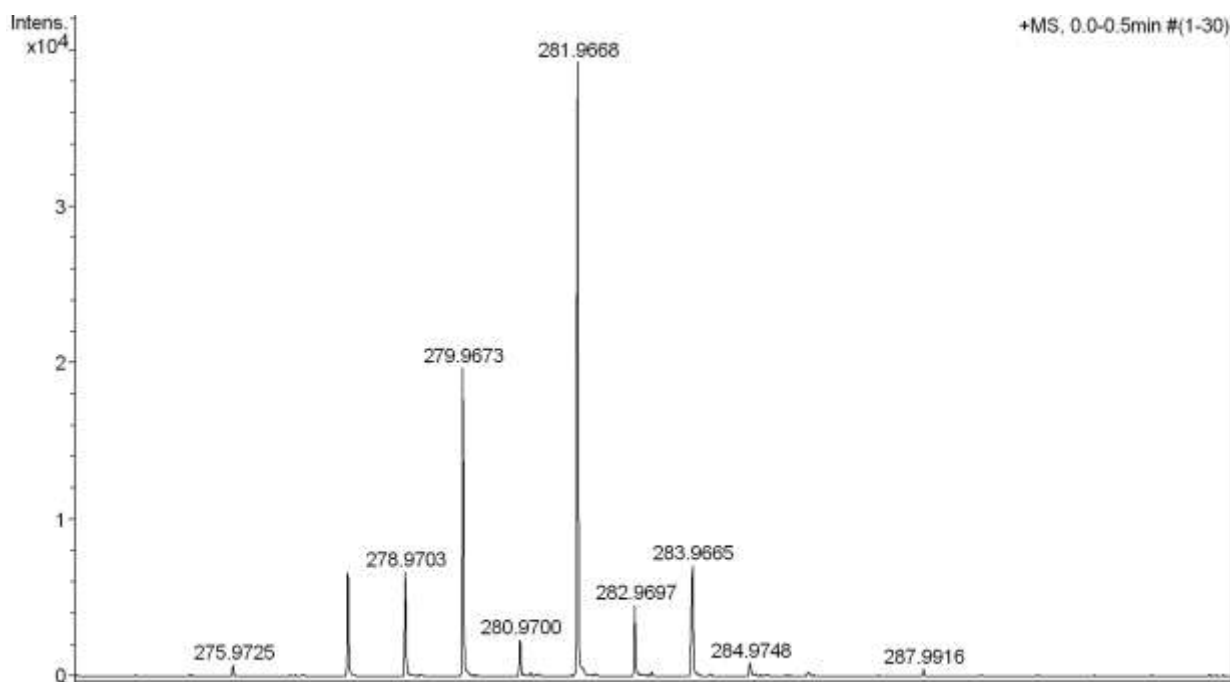
Anexo 10: Espectro de massas de alta resolução do composto **15c** utilizando fonte de ionização APPI.



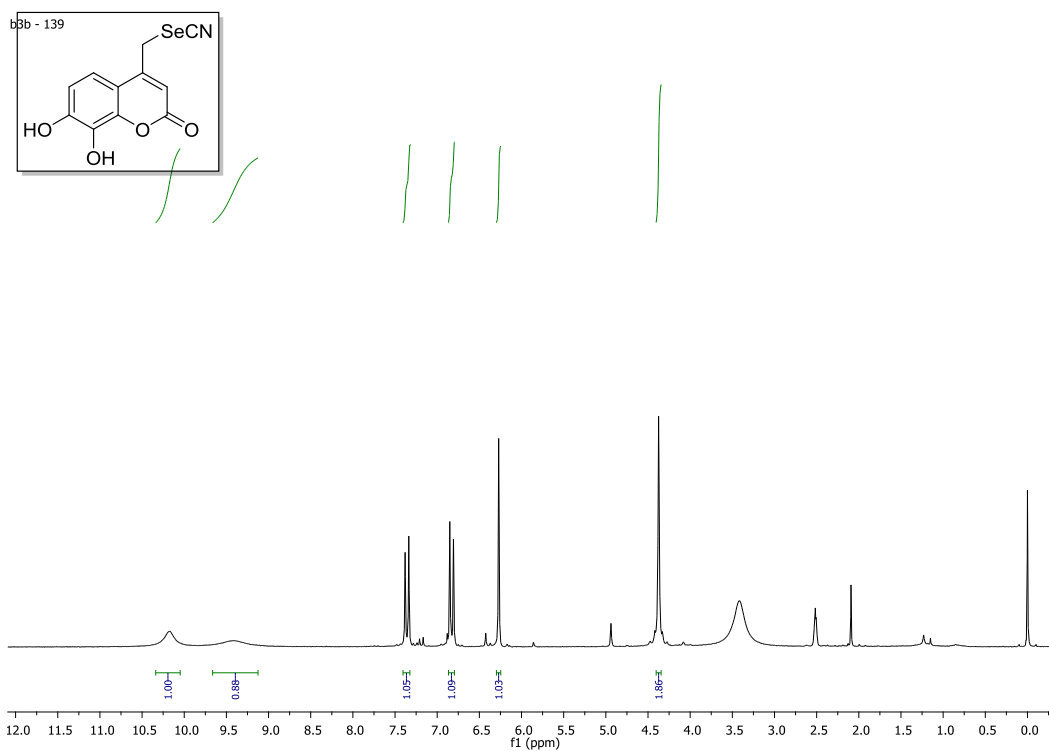
Anexo 11: Espectro de RMN ^1H do composto **15d** em $\text{DMSO-}d_6$ a 200 MHz.



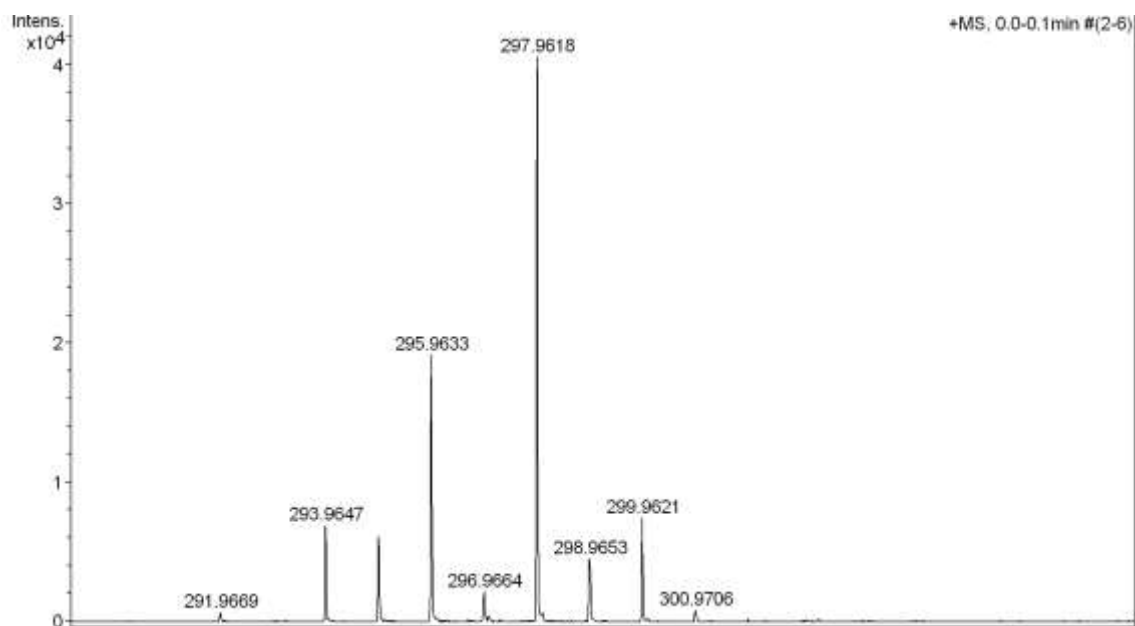
Anexo 12: Espectro de massas de alta resolução do composto **15d** utilizando fonte de ionização APPI.



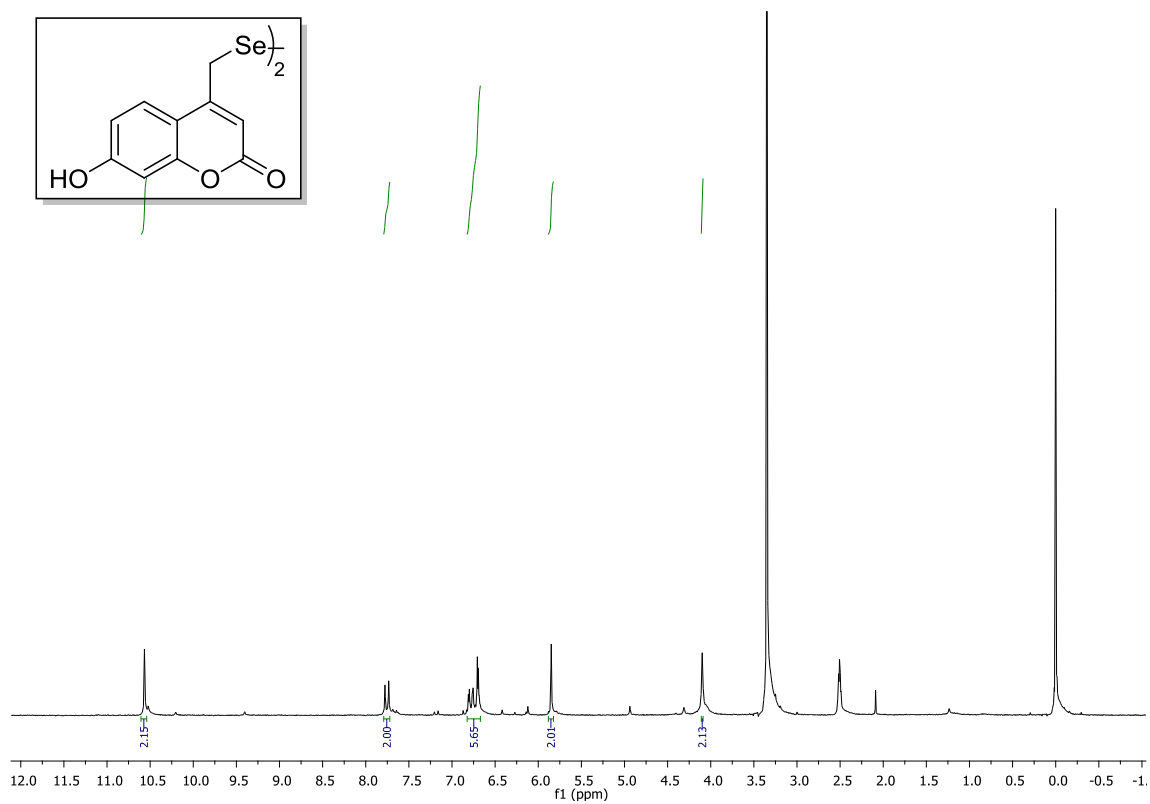
Anexo 13: Espectro de RMN ^1H do composto **15e** em $\text{DMSO-}d_6$ a 200 MHz.



Anexo 14: Espectro de massas de alta resolução do composto **15e** utilizando fonte de ionização APPI.



Anexo 15: Espectro de RMN ^1H do composto **15f** em $\text{DMSO-}d^6$ a 200 MHz.



Anexo 16: Espectro de massas de alta resolução do composto **15f** utilizando fonte de ionização APPI.

