



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANDRÉIA LIMA DE AMORIM

**SÍNTESE EFICIENTE DE TETRACETONAS, AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE
AGUDA E POTENCIAL ANTITIROSinASE *IN VIVO* E *IN SILICO***

Macapá

2025

ANDRÉIA LIMA DE AMORIM

**SÍNTESE EFICIENTE DE TETRACETONAS, AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE
AGUDA E POTENCIAL ANTITIROSinASE *IN VIVO* E *IN SILICO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira

Co-orientador: Prof. Dra Adriana Maciel
Ferreira

Macapá

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP

Elaborado por Aline Farias Bandeira Couto – CRB-2 1700/O

A512s Amorim, Andréia Lima de.

Síntese eficiente de tetracetonas, avaliação da toxicidade aguda e potencial antitirosinase *in vivo* e *in silico* / Andréia Lima de Amorim. - Macapá, 2025.

1 Recurso eletrônico.

89 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amapá, Departamento de Pós-Graduação, Coordenação do Curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Macapá, 2025.

Orientador: Irlon Maciel Ferreira.

Coorientadora: Adriana Maciel Ferreira.

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Tetracetonas. 2. Química verde. 3. Tirosinase. I. Ferreira, Irlon Maciel, orientador. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 615.322

AMORIM, Andréia Lima de Amorim. **Síntese eficiente de tetracetonas, avaliação da toxicidade aguda e potencial antitirosinase *in vivo* e *in silico***. Orientador: Irlon Maciel Ferreira. 2025. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Coordenação do Curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Pós-Graduação, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2025.

ANDRÉIA LIMA DE AMORIM

**SÍNTESE EFICIENTE DE TETRACETONAS, AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE
AGUDA E POTENCIAL ANTITIROSinASE *IN VIVO* E *IN SILICO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Data de Aprovação: 14/10/2025



Documento assinado digitalmente

IRLON MACIEL FERREIRA

Data: 19/12/2025 15:20:29-0300

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

Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira - UNIFAP

Orientador



Documento assinado digitalmente

LORANE IZABEL DA SILVA HAGE MELIM

Data: 15/12/2025 07:56:23-0300

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

Dra. Lorane Izabel da Silva Hage Melim - UNIFAP



Documento assinado digitalmente

FABRÍCIO HOLANDA E HOLANDA

Data: 16/12/2025 23:59:03-0300

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

Dr. Fabrício Holanda e Holanda - GEA

*À minha amada família, meus pais Antônio e Miracy, minhas queridas irmãs e irmão
Ciolex (in memoriam).*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela dádiva da vida e por me permitir, durante todos esses anos e em meio há tantas adversidades, chegar até aqui. Agradeço a Ele pela renovação diária, pela força para buscar meus objetivos e permanecer nesta difícil jornada. Sem Ele nada sou e nada poderia;

Aos meus pais Antônio e Miracy, irmãs Karina, Michele, Bruna e Camilly e meus sobrinhos Alessa, Matheus, Maria, Yasmin, Henry e Cecília por todo suporte para realização deste sonho. Os momentos que passamos juntos preencheram os meus dias e meu coração e me ajudaram a suportar esse longo processo. Amo imensamente cada um de vocês;

Ao meu esposo Breno e meu filho do coração Gabriel, que estiveram ao meu lado durante os dias mais difíceis e cansativos neste desafio de ser mãe, mulher, esposa, farmacêutica e estudante de pós graduação. Sem o apoio de vocês eu não teria conseguido;

Ao meu orientador Prof^o. Dr. Irlon Maciel que antes mesmo de me conhecer confiou em minha capacidade e me incluiu num ambiente de trabalho novo para ambos. Muito obrigada por todo o conhecimento repassado, paciência e suporte. Há 10 anos compartilhamos conhecimentos, projetos e sonhos. Ao senhor, minha eterna gratidão;

A minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Adriana Maciel Ferreira, por toda ajuda fornecida sem medidas para a conclusão deste trabalho. Com seu auxílio adquiri conhecimentos que levarei por toda minha vida profissional;

A todos os meus companheiros Grupo de Pesquisa em Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada (BIORG), que me ajudaram desde o início deste trabalho e participaram de muitas etapas, desde minha vida acadêmica até a profissional. Todos que colaboraram direta e indiretamente com este trabalho, vocês fazem parte desta vitória;

À minha amiga e colega de profissão Alice Mara, que chegou em minha vida quando menos esperei e tornou-se uma pessoa valiosa e indispensável para mim. Em pouco tempo demonstrou que amizade e reciprocidade andam juntas e que verdadeiros amigos existem. Obrigada por tudo e por tanto;

A todo o corpo docente e técnico do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) que durante esses anos compartilharam tanto saber e me prepararam para uma nova etapa em minha carreira.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

As tetracetonas representam uma classe promissora de compostos orgânicos, cujas propriedades estruturais e funcionais têm despertado interesse nas ciências farmacêuticas devido à sua versatilidade sintética e potencial bioativo, demonstrando em diversos estudos atividades biológicas como ação anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana e, mais recentemente, atividade inibitória sobre a enzima tirosinase. Assim, o presente estudo teve como objetivo desenvolver uma rota sintética eficiente e ambientalmente sustentável para obtenção de derivados de tetracetonas, bem como avaliar seu potencial antitirosinase por meio de screening *in silico* (*docking* molecular) e *in vivo* com testes de toxicidade embrionária em *zebrafish* (*Danio rerio*). A reação de formação das tetracetonas foi otimizada a partir de benzaldeído (1 mmol), dimedona (2,0 mmol) e Al(OH)₃ (10%), como catalisador em água, como solvente, aquecida a 80°C por 60 min. Em seguida a reação foi filtrada, recristalizada. Após otimização da reação diferentes compostos foram preparados (**3a-3h**) e caracterizados por RMN de ¹H e RMN de ¹³C IV-. O estudo de *docking* molecular foi realizado com a tirosinase humana (PDB ID: 5M8N), utilizando os softwares ChemSketch, Discovery Studio® e o servidor DockThor. Para triagem da atividade antimelanogênica e toxicidade embrionária utilizou-se o modelo *in vivo zebrafish*, conforme protocolo OECD 236. Os resultados demonstraram que a metodologia proposta foi eficiente na síntese das tetracetonas, com rendimentos que variaram de moderados a excelentes (44,22% a 95,29%), foi observado que a presença de grupos eletronegativos nos aldeídos influenciou nos rendimentos (**3a**, 48,55% e **3g**, 44,22%), possivelmente por efeitos eletrônicos e baixa solubilidade em meio aquoso, enquanto que os aldeídos com grupos doadores de elétrons do tipo -CH₃ **3e** ou -OCH₃ **3b**, renderem 95,29% e 86,51%, respectivamente, favorecendo a condensação com a dimedona. Já no *docking* molecular, os compostos apresentaram boa afinidade pelo sítio ativo da tirosinase, com valores de energia de ligação semelhantes ou superiores aos inibidores MMS e ácido kójico, sugerindo relevante atividade inibitória, tendo os compostos **3g** e **3d** se destacado, apresentando valores de afinidade de -8.391 kcal/mol e -8.229 kcal/mol, respectivamente, enquanto o MMS e o ácido kójico apenas -7.500 e -7.254 kcal/mol e as interações observadas para estes compostos foram similares aquelas vistas nos controles para os resíduos de aminoácidos de Tyr362, Arg374, His381 e Ser394. Nos ensaios com *zebrafish*, os compostos **3g** e **3d** corroboram os resultados obtidos no teste *in silico* demonstrando efeito despigmentante visualmente perceptível, além de baixa toxicidade nas concentrações testadas. Os derivados de tetracetonas, neste estudo, apresentaram potencial significativo como agentes antitirosinase, com perfil promissor para desenvolvimento de aplicações cosméticas e terapêuticas. O uso de rota sintética verde, associado a ferramentas computacionais e modelos alternativos, reforça a aplicabilidade deste estudo no contexto do desenvolvimento racional de novos fármacos.

Palavras-chave: Tetracetonas; química verde; *docking*; tirosinase; *zebrafish*.

Agradecimentos: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Tetraketones represent a promising class of organic compounds whose structural and functional properties have aroused interest in pharmaceutical sciences due to their synthetic versatility and bioactive potential. Several studies have demonstrated biological activities such as anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial properties, and, more recently, tyrosinase inhibitory activity. Thus, the present study aimed to develop an efficient and environmentally sustainable synthetic route for obtaining tetraketone derivatives and to evaluate their antityrosinase potential through *in silico* screening (molecular *docking*) and *in vivo* embryonic toxicity tests in *zebrafish* (*Danio rerio*). The tetraketone formation reaction was optimized using benzaldehyde (1 mmol), dimedone (2.0 mmol), and Al(OH)₃ (10%) as a catalyst in water as a solvent, heated to 80°C for 60 min. The reaction was then filtered and recrystallized. After reaction optimization, different compounds (**3a-3h**) were prepared and characterized by ¹H NMR and ¹³C IV- NMR. Molecular *docking* was performed with human tyrosinase (PDB ID: 5M8N) using ChemSketch and Discovery Studio® software, and the DockThor server. The *in vivo zebrafish* model was used to screen for antimelanogenic activity and embryonic toxicity, according to the adapted OECD 236 protocol. The results demonstrated that the proposed methodology was efficient in the synthesis of tetraketones, with yields ranging from moderate to excellent (44.22% to 95.29%). It was observed that the presence of electronegative groups in the aldehydes influenced the yields (**3a**, 48.55% and **3g**, 44.22%), possibly due to electronic effects and low solubility in aqueous medium, while the aldehydes with electron donating groups of the type -CH₃ **3e** or -OCH₃ **3b**, yielded 95.29% and 86.51%, respectively, favoring condensation with dimedone. In molecular *docking*, the compounds showed good affinity for the tyrosinase active site, with binding energy values similar to or higher than the inhibitors MMS and kojic acid, suggesting relevant inhibitory activity. Compounds **3g** and **3d** stood out, presenting affinity values of -8,391 kcal/mol and -8,229 kcal/mol, respectively, while MMS and kojic acid only had -7,500 and -7,254 kcal/mol. The interactions observed for these compounds were similar to those seen in the controls for the amino acid residues Tyr362, Arg374, His381 and Ser394. In the *zebrafish* assays, compounds **3g** and **3d** corroborate the results obtained in the *in silico* test, demonstrating a visually perceptible depigmenting effect, in addition to low toxicity at the concentrations tested. The tetraketone derivatives in this study showed significant potential as anti-tyrosinase agents, with a promising profile for the development of cosmetic and therapeutic applications. The use of a green synthetic route, combined with computational tools and alternative models, reinforces the applicability of this study in the context of the rational development of new drugs.

Keywords: Tetraketones; green chemistry; docking; tyrosinase; zebrafish.

Acknowledgements: National Council for Scientific and Technological Development.

Figura 1 -	Rota biossintética simplificada da melanina.	21
Figura 2 -	Síntese de tetracetonas utilizando 2-aminopirazina como catalisador e compostos sintetizados com os melhores resultados nos testes de atividade antioxidante	34
Figura 3 -	Representação gráfica do <i>zebrafish</i> com destaque para as células pigmentares	36
Figura 4 -	Ilustração do resultado da atividade antimelanogênica realizada em <i>zebrafish</i> e análise da pigmentação corporal dos embriões.....	37
Figura 5 -	Derivados de 2-arylchromone-4-thione sintetizados por Mughal <i>et al.</i> (2022) com atividade antitirosinase.	41
Figura 6 -	Ilustração do ancoramento molecular entre os compostos com as melhores energias de ligação, respectivamente -8.5064 e -7.7652 e o alvo tirosinase de cogumelo (PBD 2Y9X)	42
Figura 7 -	Ilustração do ancoramento molecular entre o composto 2,2'-((3-aminofenil)metileno)bis(5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona (ID27), que apresentou a melhor energia de interação com o sítio ativo de 4R3P.....	42
Figura 8 -	Compostos derivados de 2-fenilcromona com as melhores energias de ligação no estudo de <i>docking</i> contra a tirosinase de <i>Agaricus bisporus</i> (PDB ID: 2Y9X)	43
Figura 9 -	Ilustração do resultado de <i>docking</i> molecular dos compostos 10, 11 e 26 (respectivamente) com o sítio ativo da tirosinase de <i>Agaricus bisporus</i> (PDB ID: 2Y9X)	44
Figura 10 -	FT-IR of 2,2'-((2-fluorophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3a	75
Figura 11 -	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((2-fluorophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3a	76
Figura 12 -	^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((2-fluorophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3a	76
Figura 13 -	FT-IR of 2,2'-((4-bromophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3b	77

Figura 14 -	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((4-bromophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3b	78
Figura 15 -	¹³ C NMR (101 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((4-bromophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3b	78
Figura 16 -	FT-IR of 2,2'-((3-nitrophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3c	79
Figura 17 -	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((3-nitrophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3c	80
Figura 18 -	¹³ C NMR (101 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((3-nitrophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3c	80
Figura 19 -	FT-IR of 2,2'-((4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3d	81
Figura 20 -	¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3d	82
Figura 21 -	¹³ C NMR (126 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3d	82
Figura 22 -	FT-IR of 2,2'-((4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3e	83
Figura 23 -	¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3e	84
Figura 24 -	¹³ C NMR (126 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3e	84
Figura 25 -	FT-IR of 2,2'-(furan-2-ylmethylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3f	85
Figura 26 -	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-(furan-2-ylmethylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3f	86
Figura 27 -	¹³ C NMR (101 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-(furan-2-ylmethylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3f	86

Figura 28 -	FT-IR of 2,2'-((4-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3g	87
Figura 29 -	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((4-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3g	88
Figura 30 -	¹³ C NMR (101 MHz, CDCl ₃) of 2,2'-((4-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3g	88

Artigo: “Aluminum hydroxide-catalyzed synthesis of tetraketones and evaluation of their antityrosinase potential *in vivo*”.

Figura 1 -	Reação geral da síntese de tetracetonas utilizando Al(OH) ₃ como catalisador.....	48
Figura 2 -	Interações dos controles MMS, Kojic acid e os potenciais inibidores 3d e 3g com sítio de ligação da tirosinase humana	58
Figura 3 -	Morfologia dos embriões de <i>zebrafish</i> testados com as amostras 3d e 3g pós 24 hpf em comparação com os grupos controles, água e DMSO 3%	60

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 -	Síntese de 1,8-dioxo-octa-hidroxantenos catalisada por nanopartículas preparadas a partir de concha de ostra calcinada	25
Esquema 2 -	Síntese de tetracetonas e xantenodionas xantenodionas sem emprego de catalisador.	26
Esquema 3 -	Síntese de xantenodionas utilizando iodo molecular como catalisador ácido	27
Esquema 4 -	Síntese de tetracetonas utilizando água como solvente	28
Esquema 5 -	Síntese de tetracetonas funcionalizadas utilizando carregina como matriz polimérica	28
Esquema 6 -	Síntese de xantenodionas	29
Esquema 7 -	Síntese de tetracetonas mediada por fosfato de hidrogênio de zircônio trocado por potássio [α - Zr(KPO ₄) ₂] a partir de β -dicarbonil, cianometileno ativados e aldeídos	30
Esquema 8 -	Síntese de tetracetonas por condensação de aldeídos aromáticos com dicetonas 1,3-cíclicas.	30
Esquema 9 -	Síntese de tetracetonas utilizando água como solvente e sem emprego de catalisadores.....	31
Esquema 10 -	Síntese de tetracetonas utilizando sal iônico como catalisador	31
Esquema 11 -	Síntese de tetracetonas empregando PEG como solvente e sem uso de catalisadores	32
Esquema 12 -	Síntese de tetracetonas a partir de dicetonas cíclicas e aminas terciárias, utilizando eosina Y catalisada sob LED	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Síntese de tetracetonas (3a-3h) catalisada por Al(OH) ₃ , em água (80 °C a 60 min)	51
Tabela 2 - Valores de afinidade de ligação dos compostos 3a-3h no receptor da tirosinase humana (PDB ID: 5M8N)	57

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

[BCMIM][Cl]	Sal Iônico
3Rs	Substituição, Redução E Refinamento (Do Inglês, Respectivamente, Replacement, Reduction, Refinement)
°C	Grau Celsius
ABTS	Ácido 2,2'-Azino-Bis(3-Etilbenzotiazolina-6-Sulfônico)
Al(OH) ₃	Hidróxido de Alumínio
AK	Ácido Kójico
CAT	Capacidade Antioxidante Total
CH ₃ OH	Metanol
COS NPs	Concha de Ostra Calcificada
DCT	Dopacromo Tautomerase
CDCl ₃	Clorofórmio Deuterado
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	2,2-Difenil-1-Picril-Hidrazila
EPA	Agência de Proteção Ambiental (Do Inglês, <i>Environmental Protection Agency</i>)
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (Do Inglês, Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
HI	Ácido Iodídrico
H ₂ O	Água
HPF	Horas Pós Fertilização

I ₂	Iodo Molecular
IBL	6- <i>O</i> -Isobutirilbritanilactona
IC ₅₀	Concentração Inibitória 50%
J	Constante de Acoplamento
LED	Diodo Emissor de Luz (Do Inglês, <i>Light Emitting Diode</i>)
L-DOPA	Levodopa (3,4-Dihidroxifenilalanina)
mmol	Mili Mol
MMS	Mimosina
OECD	Organização Para Cooperação E Desenvolvimento Econômico
PDB	Banco de Dados de Proteínas (Do Inglês, Protein Data Bank)
PEG-400	Polietilenoglicol
ppm	Parte Por Milhão
QSAR	Relação Quantitativa Estrutura-Atividade
RUV	Radiação Ultravioleta
TYRP1	Proteína Relacionada À Tirosinase 1

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	20
2.1	Objetivo Geral	20
2.2	Objetivos Específicos	20
3	CAPÍTULO 1	21
3.1	Enzima Tirosinase	21
3.2	Tetracetonas	24
3.3	Zebrafish (<i>Danio Rerio</i>) Como Modelo Experimental	35
3.4	<i>Docking</i> Molecular	39
4	CAPÍTULO 2	45
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	66
	REFERÊNCIAS	67
	APÊNDICES	75
	ANEXOS	89

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o desenvolvimento de novos compostos bioativos com potencial farmacológico tem sido um dos principais objetivos da química medicinal e das ciências farmacêuticas. Nesse contexto, as tetracetonas têm se destacado como uma classe promissora de substâncias orgânicas, cuja estrutura química permite a obtenção de diversos derivados funcionais com atividade biológica relevante. Tais compostos apresentam equilíbrio tautômero cetona-enólico, cuja estabilidade e reatividade dependem fortemente do ambiente químico e das condições de reação, o que os torna versáteis para aplicações sintéticas e farmacológicas.

A literatura descreve múltiplas rotas sintéticas para a obtenção de tetracetonas, variando desde métodos clássicos envolvendo descarboxilação de derivados do ácido malônico até abordagens mais recentes baseadas em catálise verde, fotocatálise e sistemas livres de solventes. A busca por procedimentos mais eficientes, sustentáveis e economicamente viáveis impulsiona a inovação no campo da síntese orgânica, especialmente quando se considera o impacto ambiental de processos convencionais que utilizam catalisadores tóxicos ou solventes orgânicos voláteis. Nesse cenário, destacam-se métodos baseados em catalisadores heterogêneos reutilizáveis, líquidos iônicos e condições reacionais brandas, como micro-ondas e irradiação com LED.

Além de sua importância sintética, as tetracetonas têm demonstrado diversas atividades biológicas, incluindo ação anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana e, mais recentemente, atividade inibitória sobre a enzima tirosinase. Esta última representa um alvo terapêutico de relevância biomédica, dada sua participação essencial no processo de melanogênese e sua implicação em distúrbios pigmentares e câncer de pele, como o melanoma. A inibição seletiva da tirosinase vem sendo intensamente estudada tanto para aplicações dermatológicas quanto para o desenvolvimento de agentes antimelanogênicos e cosméticos clareadores.

Neste contexto, a avaliação do potencial *antitirosinase* de tetracetonas sintetizadas por rotas alternativas se torna relevante, especialmente quando associada ao uso de métodos *in silico* como o *docking* molecular, que permite prever interações proteína-ligante e orientar o desenvolvimento racional de inibidores enzimáticos. Além disto, a validação da bioatividade dessas substâncias pode ser realizada por meio de testes *in vivo* utilizando o *zebrafish* (*Danio*

reio), um modelo experimental consolidado nas ciências biomédicas e toxicológicas, visto sua elevada similaridade genética com os seres humanos, facilidade de manejo e baixo custo operacional que tornam-no uma alternativa ética e eficiente para triagem de compostos bioativos e avaliação de toxicidade aguda.

Assim, este trabalho propõe a síntese eficiente de derivados de tetracetona por métodos ambientalmente seguros, seguida da caracterização estrutural, avaliação da atividade inibitória da enzima tirosinase por métodos experimentais e *in silico*, e análise de toxicidade utilizando o modelo *zebrafish*. Espera-se que este estudo possa contribuir para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos e fortalecer as bases científicas para o uso racional de compostos sintéticos com potencial terapêutico.

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a síntese de tetracetonas funcionalizadas, catalisadas por $\text{Al}(\text{OH})_3$, e avaliar sua atividade antitirosinase.

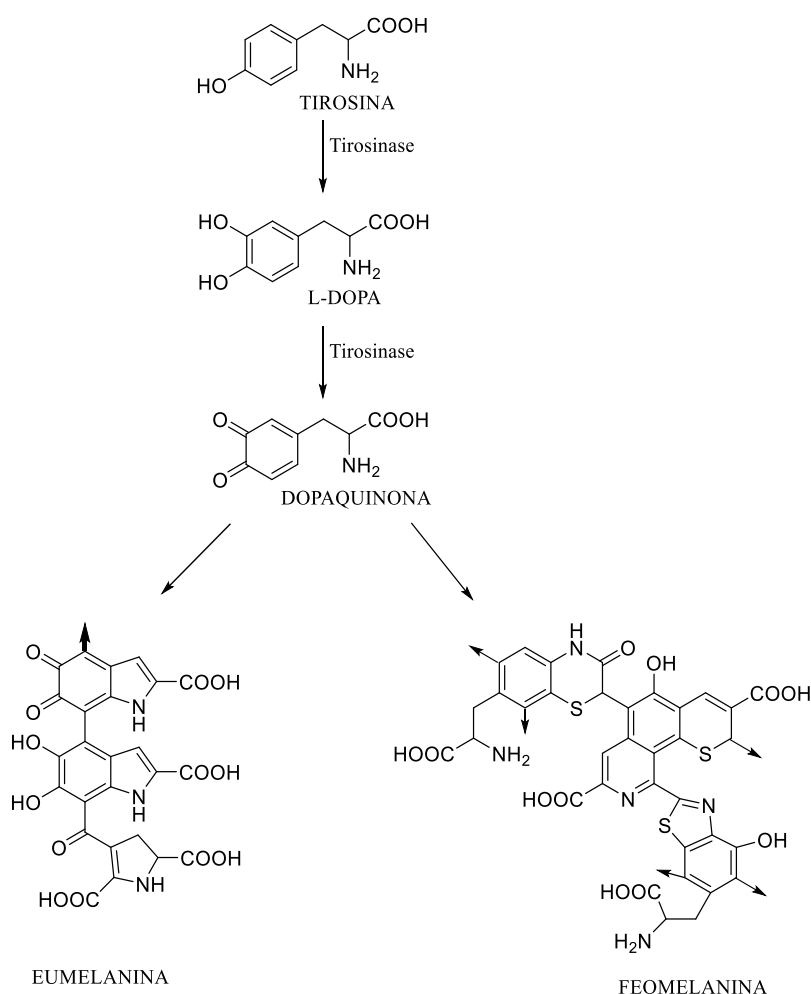
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a eficiência da síntese de tetracetonas utilizando os princípios da química verde;
- Caracterizar as substâncias sintetizadas por técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV-FT) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^{13}C e ^1H e também por características físicas, como ponto de fusão, quando couber;
- Avaliar o potencial antimelanogênico dos compostos sintetizados a partir da análise das interações entre as moléculas estudadas e o alvo biológico tirosinase humana;
- Avaliar a toxicidade dos compostos sintetizados utilizando o zebrafish (*Danio rerio*) como modelo experimental.

3.1 ENZIMA TIROSINASE

A tirosinase é uma metaloenzima dependente de cobre amplamente estudada por seu papel essencial na biossíntese da melanina, o principal pigmento responsável pela coloração da pele, cabelos e olhos em seres humanos. Sua função catalítica está diretamente relacionada à conversão da L-tirosina em L-DOPA (3,4-dihidroxifenilalanina) e, posteriormente, da L-DOPA em dopaquinona que através de reações de oxidação e polimerização são convertidas em um dos tipos do biopolímero: eumelanina (marrom a negra) ou feomelanina (amarela a vermelha) (OLIVEIRA, 2011)(Fig. 1).

Figura 1. Rota biossintética simplificada da melanina.



Fonte: Baseado em Oliveira (2011).

A tirosinase é expressa predominantemente nos melanócitos localizados na epiderme, em especial nos melanossomas, organelas onde ocorre a síntese e armazenamento da melanina. Entretanto, sua presença também é registrada em outros tecidos, como folículos pilosos, retina, e em algumas regiões do sistema nervoso central. Sua ampla distribuição reforça a importância fisiológica da enzima, especialmente no que diz respeito aos mecanismos de proteção contra a radiação ultravioleta (RUV), visto que a melanina atua como fotoprotetor natural, absorvendo e dispersando a radiação solar e reduzindo os danos ao DNA celular (Oliveira, 2011; Bae-Harboe; Park, 2012).

O envolvimento da tirosinase em processos fisiológicos vai além da pigmentação, pois ela também participa da resposta imune, na cicatrização de feridas e em processos antioxidantes, embora essas funções estejam bem menos estabelecidas. Em contrapartida, seu papel em condições patológicas está amplamente documentado, como nos casos de melasma e câncer de pele (Đorđić *et al.*, 2012; Jakovija; Chtanova, 2023; Katiyar; Yadav; Singh, 2024; Liu; Chen; Xia, 2023).

O melasma é uma desordem pigmentar adquirida, caracterizada pelo aparecimento de máculas acastanhadas simétricas, predominantemente em áreas fotoexpostas, como a face. Evidências científicas revelam aumento significativo da expressão de tirosinase nos melanócitos das lesões, indicando hiperatividade da unidade epidérmico-melânica. Fatores hormonais, particularmente estrogênio e progesterona, contribuem para essa hiperpigmentação ao estimularem a transcrição de genes melanogênicos (TYRP1 e DCT) e modular vias de sinalização pró-melanogênicas, como a via Wnt/ β -catenina (Espósito *et al.*, 2022; Lee, 2015).

No contexto oncológico, a tirosinase tem papel fundamental no desenvolvimento e progressão do melanoma, o tipo mais agressivo de câncer de pele. Além de sua função como marcador biológico para diagnóstico, esta enzima tem sido alvo de terapias inovadoras, como estratégias de imunoterapia direcionada, diagnóstico por imagem com radiofármacos e vacinas peptídicas. Sua atividade também está envolvida nos mecanismos de defesa cutânea contra mutações induzidas por radiação ultravioleta, sendo sua regulação essencial na prevenção da carcinogênese cutânea (Huang *et al.*, 2025; Jimbow *et al.*, 2013; Sun *et al.*, 2020; Wolchok *et al.*, 2007).

A tirosinase emerge como uma enzima de extrema relevância biomédica, conectando processos fisiológicos de pigmentação a aplicações terapêuticas em dermatologia e oncologia. Nas últimas décadas, a inibição da tirosinase tem sido objeto de intensa pesquisa, nas quais o principal foco é a descoberta e desenvolvimento de agentes antimelanogênicos,

antioxidantes ou antimicrobianos, bem como conservantes naturais e sintéticos para aplicação em alimentos e cosméticos (Fernandes; Kerkar, 2017; Hassan; Shahzadi; Kloczkowski, 2023; Liu, 2022; Teixeira *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2018).

Os inibidores da tirosinase podem ser classificados conforme seu mecanismo de ação em: a) competitivos, que se ligam ao sítio ativo da enzima e competem com o substrato natural; b) não-competitivos, que se ligam a sítios alostéricos, promovendo alterações conformacionais; e c) inibidores mistos, que podem interagir tanto com a enzima livre quanto com o complexo enzima-substrato (Chang, 2009).

Diversas classes de agentes químicos têm demonstrado capacidade de inibição da tirosinase, abrangendo tanto compostos naturais quanto sintéticos. Os compostos fenólicos representam a classe mais proeminente, devido à sua habilidade de complexar íons metálicos, especialmente o cobre presente no sítio ativo da enzima (Chang, 2009).

O ácido kójico, é um metabólito secundário de *Aspergillus* sp., cuja estrutura lactônica permite interação eficaz com o cobre da enzima e atua como inibidor competitivo, sendo amplamente utilizado em formulações cosméticas despigmentantes (Chang, 2009). A arbutina, é um derivado glicosilado da hidroquinona com ação inibitória competitiva que apresenta boa estabilidade e é menos tóxica que a hidroquinona (Boo, 2019; Lv *et al.*, 2025; Repert; Matthes; Rozhon, 2022). O resveratrol é um estilbeno com reconhecida atividade antioxidante. Estudos demonstram que ele pode atuar como substrato da tirosinase, sendo oxidado pela enzima e após pré-incubação, pode inibir suas atividades monofenolase e difenolase através de um mecanismo do tipo inibição suicida (k_{cat}) (Satooka; Kubo, 2012). Embora iniba a tirosinase humana de forma eficaz, o mecanismo cinético parece não competitivo ou dependente da metabolização (Boo, 2019). A quercetina e outros flavonoides são compostos com estrutura catecólica capazes de quelar cobre e competir com a L-DOPA, atuando como inibidores reversíveis, predominantemente competitivos, cuja efetividade depende da posição dos grupos hidroxila (Fan *et al.*, 2017)

No que diz respeito a compostos sintéticos, podemos citar os estudos de Pillaiyar *et al.* (2017) que demonstraram que hidroxipiridinas e ariltioureas são substâncias com potencial ação não-competitiva, cuja atividade está relacionada à capacidade de modificação conformacional da enzima e/ou interferência nos estados redox do cobre.

Entretanto, um grupo de moléculas tem ganhado destaque e importância nessa jornada em busca de inibidores da tirosinase. Khan *et al.* (2006) sintetizaram 28 tetracetonas com vários substituintes e constataram que compostos com grupos metil em determinadas

posições exibiram maior atividade inibitória contra a tirosinase. Esses compostos demonstraram atividade promissora, com alguns superando inibidores padrão, como o ácido kójico. Embora o mecanismo de ação ainda não tenha sido plenamente elucidado, estruturas semelhantes, particularmente aquelas com capacidade de quelar metais, podem interagir com os íons cobre do centro ativo da tirosinase, sugerindo potencial como inibidores mistos ou quelantes irreversíveis (Qu *et al.*, 2020)

A compreensão das estruturas químicas que favorecem a inibição da tirosinase é essencial para o desenvolvimento de agentes terapêuticos seletivos, com aplicações seguras em seres humanos ou em produtos industrializados. O avanço nesse campo depende tanto da investigação experimental quanto da aplicação de ferramentas computacionais, como acoplamento molecular (*docking*), dinâmicas moleculares e análise de propriedades farmacofóricas.

3. 2 TETRACETONAS

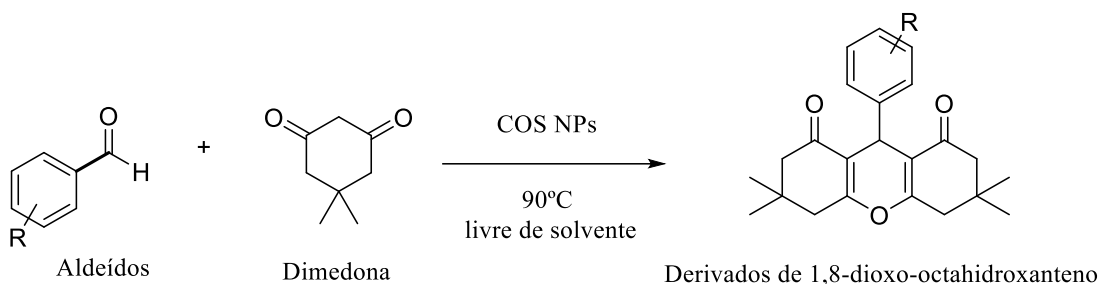
Xanteno e seus derivados é uma classe importante de compostos orgânicos por causa de suas atividades farmacêuticas, biológicas e médicas como anti-inflamatório, antibacteriano, antiviral, antidepressivo e agente antimalárico. São antagonistas da ação paralisante da Zoxazolamina e utilizados na terapia fotodinâmica. Além disso, estão sendo usados como precursores sintéticos valiosos para muitos compostos orgânicos, corantes, materiais fluorescentes sensíveis ao pH para a visualização de conjuntos biomoleculares, e em tecnologias a laser.

Vários métodos foram relatados para a preparação de vários derivados de xanteno. Entre esses métodos, a condensação de aldeídos com β -naftol, compostos cíclicos 1,3-dicarbonil e/ou uma mistura equimolar de β -naftol e compostos cíclicos 1,3-dicarbonil são os mais simples para a síntese de xantenos simétricos e assimétricos.

Vários catalisadores foram usados para a preparação desses xantenos, dentre esses, nanopartículas calcinadas foram preparadas a partir de concha de ostra calcinada (COS NPs) e utilizadas como um novo nanocatalisador heterogêneo. A composição deste catalisador foi determinada, com tamanho de partícula de COS NPs de 100–120 nm. O catalisador sólido nanoestruturado como um catalisador eficiente e ecológico foi usado para a síntese de 1,8-dioxo-octa-hidro-xantenos por meio da reação de condensação em um único recipiente de 5,5-dimetilciclo-hexano-1,3-diona (dimedona) com vários aldeídos com ausência de solvente

(Esquema 1). Segundo os autores essa metodologia é econômica e oferece várias vantagens, como alto rendimento, excelente pureza, curto tempo de reação, alta economia de átomos, operação simples e um procedimento de trabalho conveniente sem o uso de quaisquer solventes prejudiciais. Além disso, o catalisador foi facilmente reutilizável mantendo bons rendimentos (Mohammadian & Akhlaghinia, 2018).

Esquema 1. Síntese de 1,8-dioxo-octa-hidroantenos catalisada por nanopartículas preparadas a partir de concha de ostra calcinada.

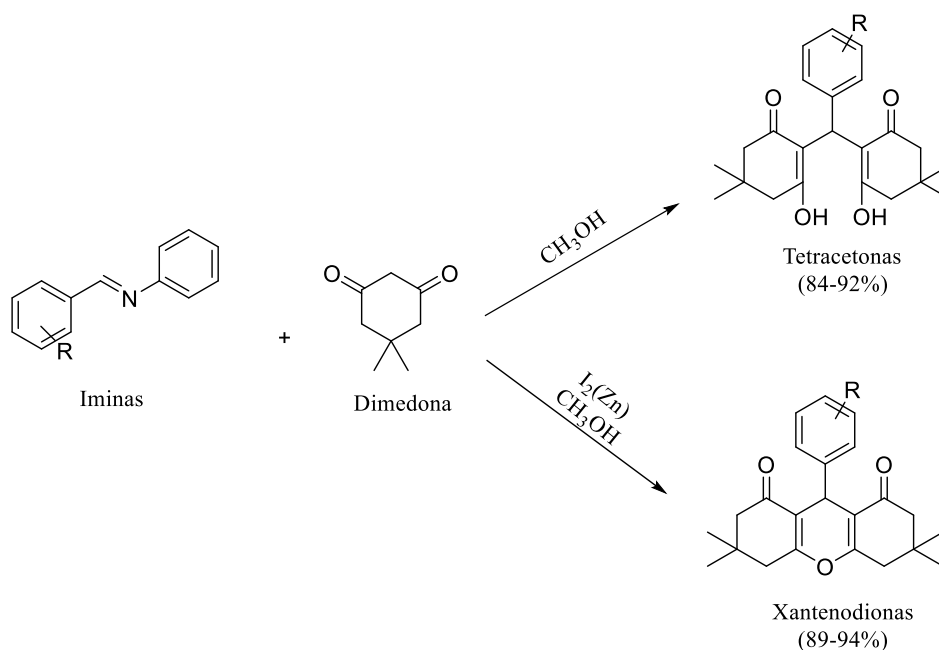


R = 3-Br; 4-F, 4-Cl,

Fonte: Baseado em Mohammadian & Akhlaghinia (2018)

Já Rong *et al.* (2006) utilizaram iminas (1 mmol), 5,5-dimetil-1,3-ciclo hexandiona 2 (2 mmol) e 10 ml de metanol à 70°C, sem nenhum catalisador para obter derivados de xantenodionas abertas em altos rendimentos (Esquema 2). No entanto, para surpresa, sob condições de reação semelhantes, quando iodo molecular e quantidade catalítica de pó de zinco foram utilizados foram formados xantenodionas fechadas em excelente rendimento (Esquema 3).

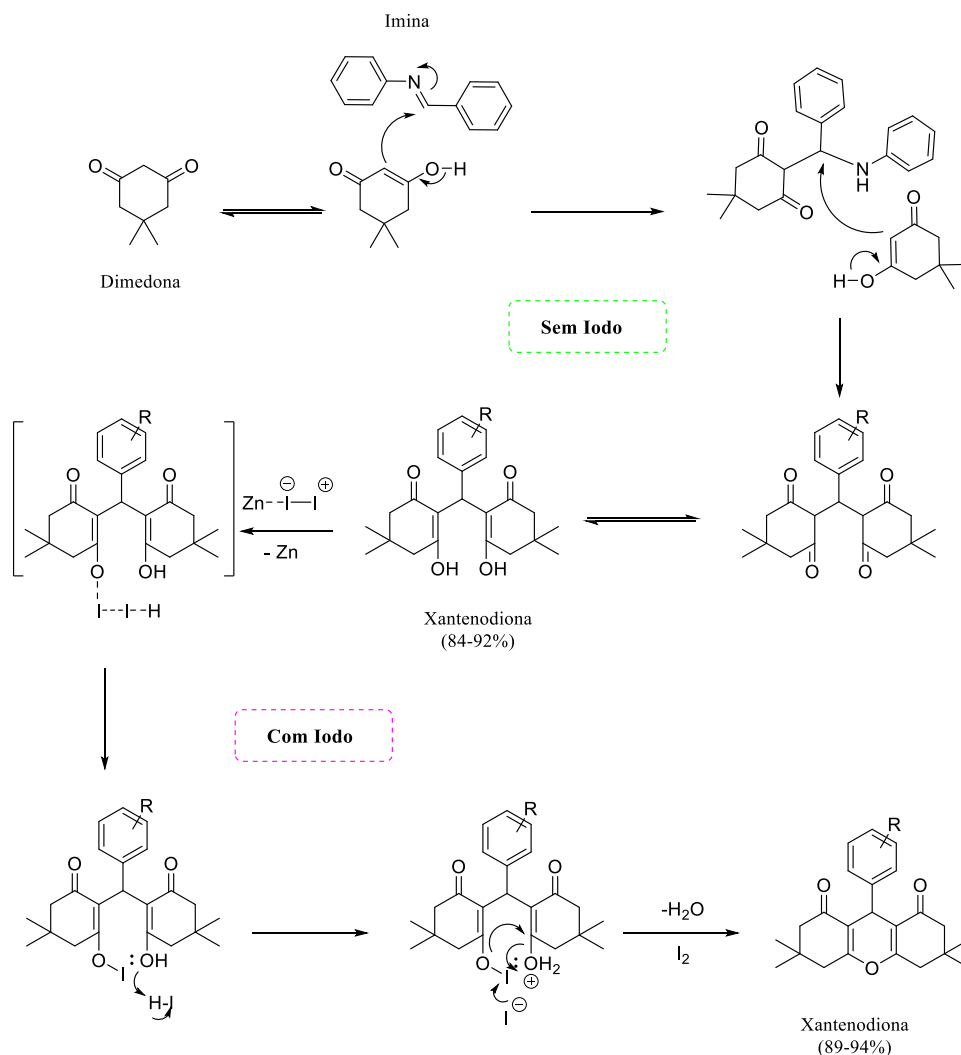
Esquema 2. Síntese de tetracetonas e xantenodionas sem emprego de catalisador.



Fonte: Rong *et al.*, 2006.

A síntese de xantenodionas precisou do catalisador de iodo molecular, no entanto, foi observado que uma quantidade catalítica de pó de zinco é necessária, e isso poderia promover a reação. No processo de reação, as ligações duplas (“ligação α ” e “ligação π ”) de carbono e nitrogênio em iminas foram rompidas, segundo os autores esse fenômeno raramente ocorre. Com base na literatura, segundo os autores, o possível mecanismo foi descrito, a molécula iodo atua como um catalisador ácido de Lewis fraco e participa da reação. A princípio, influenciada pelo poder do zinco, a molécula iodo ocorre polarização e então forma HI pela interação do iodo com um hidróxi. HI combina outro hidróxi e perde uma molécula de H_2O e finalmente, os derivados de xantenodionas podem ser obtidos. Acreditamos que o HI tem um efeito importante durante a reação (Geedkar; Kumar; Sharma, 2022).

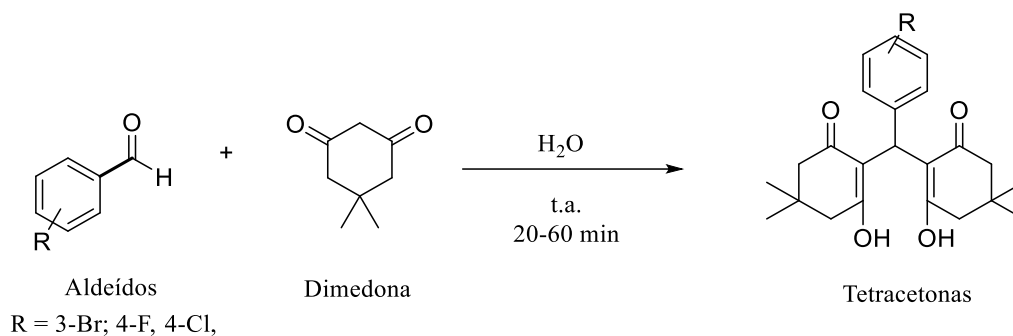
Esquema 3. Síntese de xantenodionas utilizando iodo molecular como catalisador ácido.



Fonte: Baseado em Geedkar et al. (2022).

Outro exemplo na síntese de cromenos foi reportada por Bayat (2009), que utilizaram um método simples e eficiente para a síntese de derivados de tetracetonas usando ácido *p*-toluenossulfônico como catalisador, o qual envolveu a dimedona com aldeídos aromáticos em água como solvente à temperatura ambiente (Esquema 4). Os procedimentos experimentais nas duas etapas são muito simples e os produtos são formados em excelentes rendimentos.

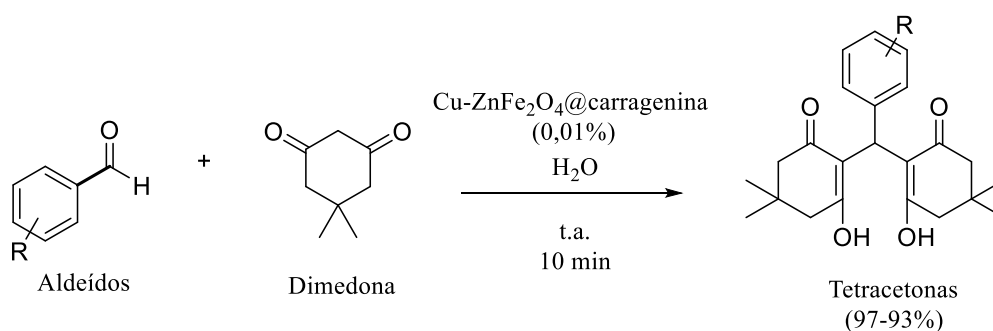
Esquema 4. Síntese de tetracetonas utilizando água como solvente.



Fonte: Baseado em Bayat et al. (2009)

Um sistema híbrido de óxidos de cobre e zinco imobilizado em carragenina como matriz polimérica foi preparado como catalisador heterogêneo na síntese de tetracetonas funcionalizadas, foi desenvolvido por Mir Saeed Esmaeili (2021). A superfície de carragenina foi magnetizada através da composição com nanopartículas de óxido de ferro. Sítios metálicos de cobre e zinco são empregados como os principais sítios catalíticos para catalisar a síntese de derivados de xantenodiona a partir de aldeído e dimedona (**Esquema 5**). Devido ao comportamento magnético do catalisador, o processo de purificação é realizado com alta conveniência. Neste trabalho foi obtido rendimentos altos de reação (97-93%) para diferentes derivados de xantenodiona funcionalizados sob condições suaves (10 min, refluxo e água como solvente).

Esquema 5. Síntese de tetracetonas funcionalizadas utilizando carragenina como matriz polimérica.

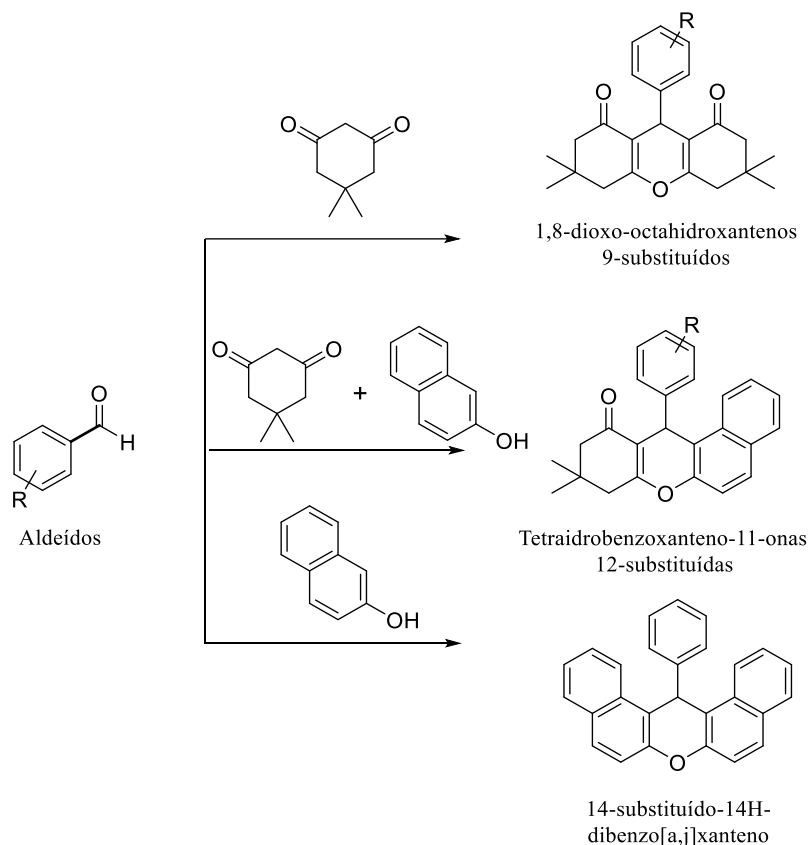


Fonte: Baseado em Esmaeili et al. (2021).

A presença de um grupo amino ou nitrila no núcleo 4H-pirano amplia a gama de aplicações desses heterociclos. Tais compostos têm sido usados como pigmentos, agroquímicos ou andaimes sintéticos versáteis. A importância desses compostos é ainda maior quando observamos os inúmeros esforços recentes feitos para sintetizá-los. Um exame mais detalhado

dos métodos preparativos disponíveis indica que o acoplamento de três componentes de um aldeído, um derivado β -dicarbonil e um doador de metileno ativado é o método de escolha para obter o núcleo 4H-pirano (Zhang *et al.*, 2019).

Esquema 6. Síntese de xantenodionas

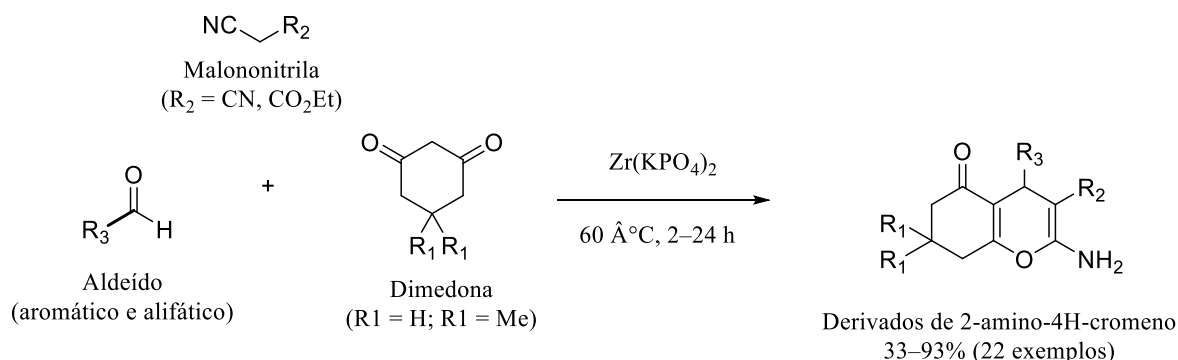


Fonte: Baseado em Zhang *et al.* (2019)

Kaupp e colaboradores relataram uma síntese sem catalisador de derivados de 2-amino-4H-pirano de adutos de Michael em altas temperaturas (97–130 °C). Evidentemente, esse procedimento requer adutos de Michael que precisam ser sintetizados com antecedência, e as condições adversas para a reação não são adequadas ao uso seguro de aldeídos voláteis.

Uma síntese de alto rendimento, *one-pot*, tri-componentes a partir de 2-amino-4H-piranos funcionalizados a partir de compostos β -dicarbonil, cianometileno ativados e aldeídos, mediada por fosfato de hidrogênio de zircônio trocado por potássio [α -Zr(KPO₄)₂] foi relatada por Rosati *et al.* 2015 (Esquema 7). O protocolo mostra excelente versatilidade, pois pode ser aplicado a aldeídos aromáticos, alifáticos ou α,β -insaturados sob condições livres de solvente.

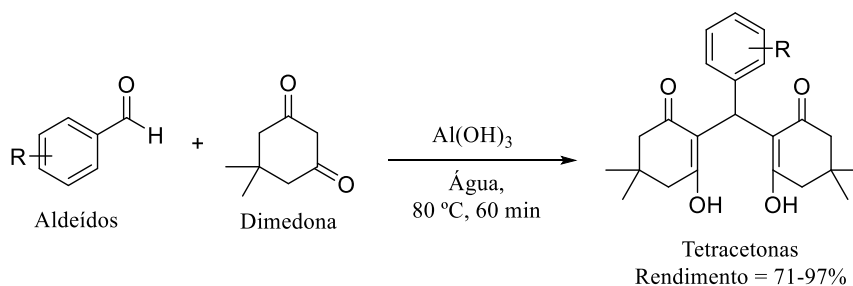
Esquema 7. Síntese de derivados de 2-amino-4H-cromeno mediada por fosfato de hidrogênio de zircônio trocado por potássio [α -Zr(KPO₄)₂] a partir de β -dicarbonil, cianometileno ativado e aldeídos.



Fonte: Baseado em Rosati *et al.* (2015)

Outra abordagem comumente baseada na reação em cascata de Knoevenagel-Michael, método que envolve a condensação de aldeídos aromáticos com dicetonas 1,3-cíclicas, podendo ser catalisadas por Al(OH)₃ em meio aquoso, sendo esta reação quimiosseletiva e proporcionando elevados rendimentos em condições reacionais brandas (Muniz *et al.*, 2024) (Esquema 8).

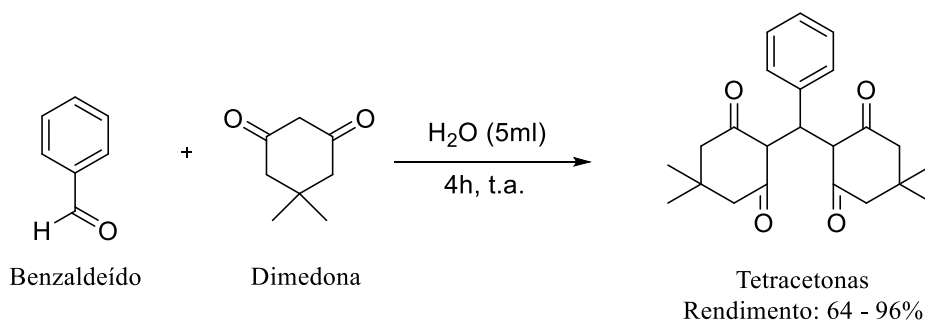
Esquema 8. Síntese de tetracetonas por condensação de aldeídos aromáticos com dicetonas 1,3-cíclicas.



Fonte: Baseado Muniz *et al.* (2024)

Atualmente há uma grande ênfase na realização de sínteses orgânicas em condições reacionais ambientalmente favoráveis, como por exemplo, a eliminação do uso de solventes orgânicos voláteis e tóxicos. Yu et al (2010) obtiveram tetracetonas com rendimentos variáveis (64 % a 99%) utilizando apenas água como solvente e sem adição de catalisadores (esquema 9).

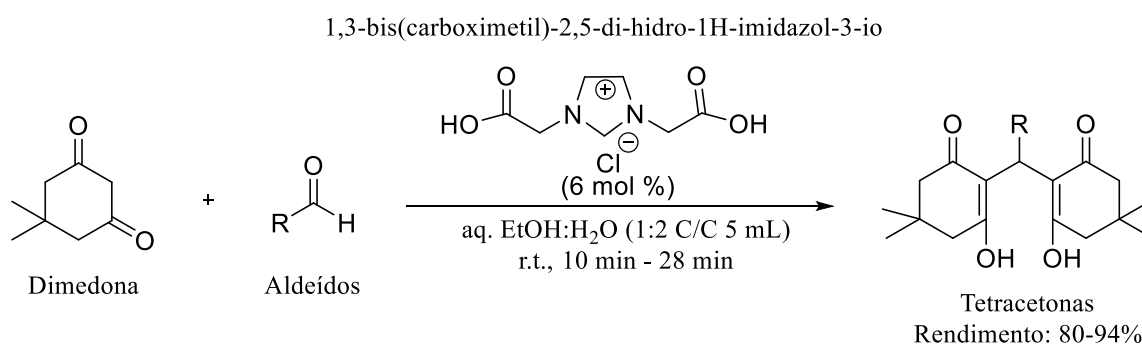
Esquema 9. Síntese de tetracetonas utilizando água como solvente e sem emprego de catalisadores.



Fonte: Baseado em Yu e colaboradores (2010).

Recentemente, Kali e Maiti (2023) sintetizaram 20 derivados de tetracetonas com altos rendimentos empregando 6% de sal iônico [BCMIM][Cl] como catalisador na condensação da dimedona com aldeídos em etanol aquoso a temperatura ambiente (esquema 10).

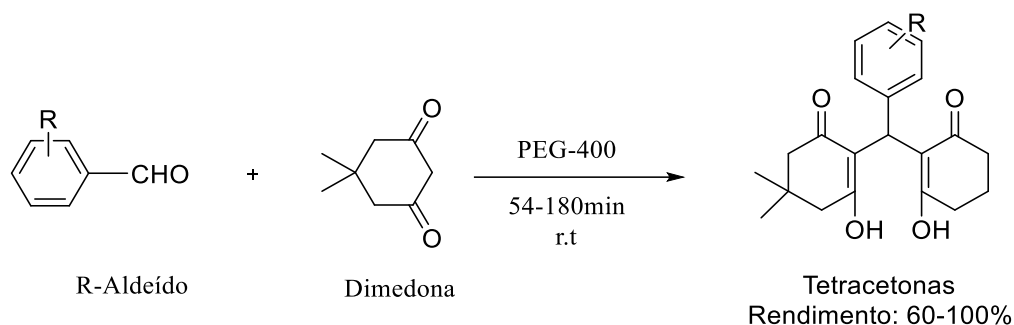
Esquema 10. Síntese de tetracetonas utilizando sal iônico como catalisador.



Fonte: Baseado em Kali e Maiti (2023).

Métodos sem catalisadores ganharam força devido à sua simplicidade e sustentabilidade. Firouzeh e Hossein (2011; 2012) utilizando PEG-400 como solvente na reação entre aldeídos aromáticos e dicetonas 1,3-cíclicas à temperatura ambiente, obtiveram através dessa abordagem ecológica sete novos compostos de tetracetonas com altos rendimentos (esquema 11).

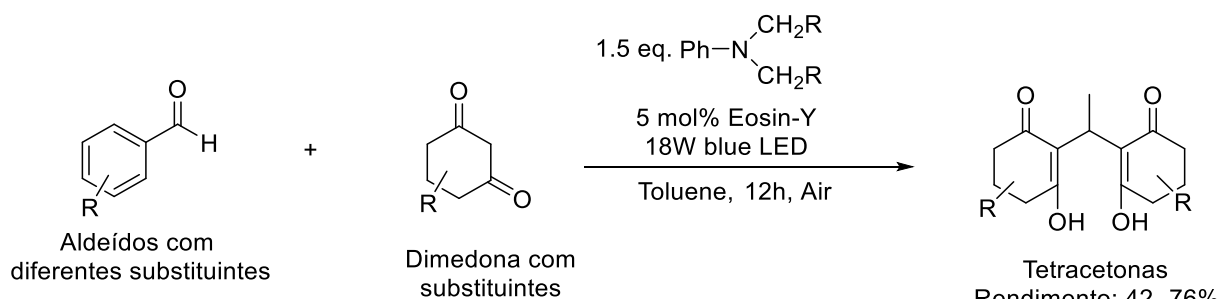
Esquema 11. Síntese de tetracetonas empregando PEG como solvente e sem uso de catalisadores.



Fonte: Baseado em Firouzeh e Hossein (2011).

Não obstante, métodos fotocatalíticos também têm demonstrado bons resultados para a síntese dessas substâncias, a citar Mondal *et al.* (2024), que utilizando eosina Y como catalisador sob LED azul de 18W na reação entre 1,3-dicetonas cíclicas e aminas terciárias conseguiram compostos com rendimentos de até 76%, demonstrando assim que a catálise organofotoredox mediada por luz visível oferece uma rota suave e eficiente para síntese de tetracetonas (esquema 12).

Esquema 12. Síntese de tetracetonas a partir de dicetonas cíclicas e aminas terciárias, utilizando eosina Y catalisada sob LED.



Fonte: Baseado em Mondal et al. (2024).

Portanto, percebe-se que a síntese de tetracetonas evoluiu significativamente, abrangendo a química verde, a fotocatalise, bem como sistemas catalíticos inovadores. Esses métodos não apenas aumentam a eficiência, mas também se alinham a práticas sustentáveis, onde pesquisas futuras podem e devem otimizar ainda mais estratégias para a obtenção destes compostos bioativos.

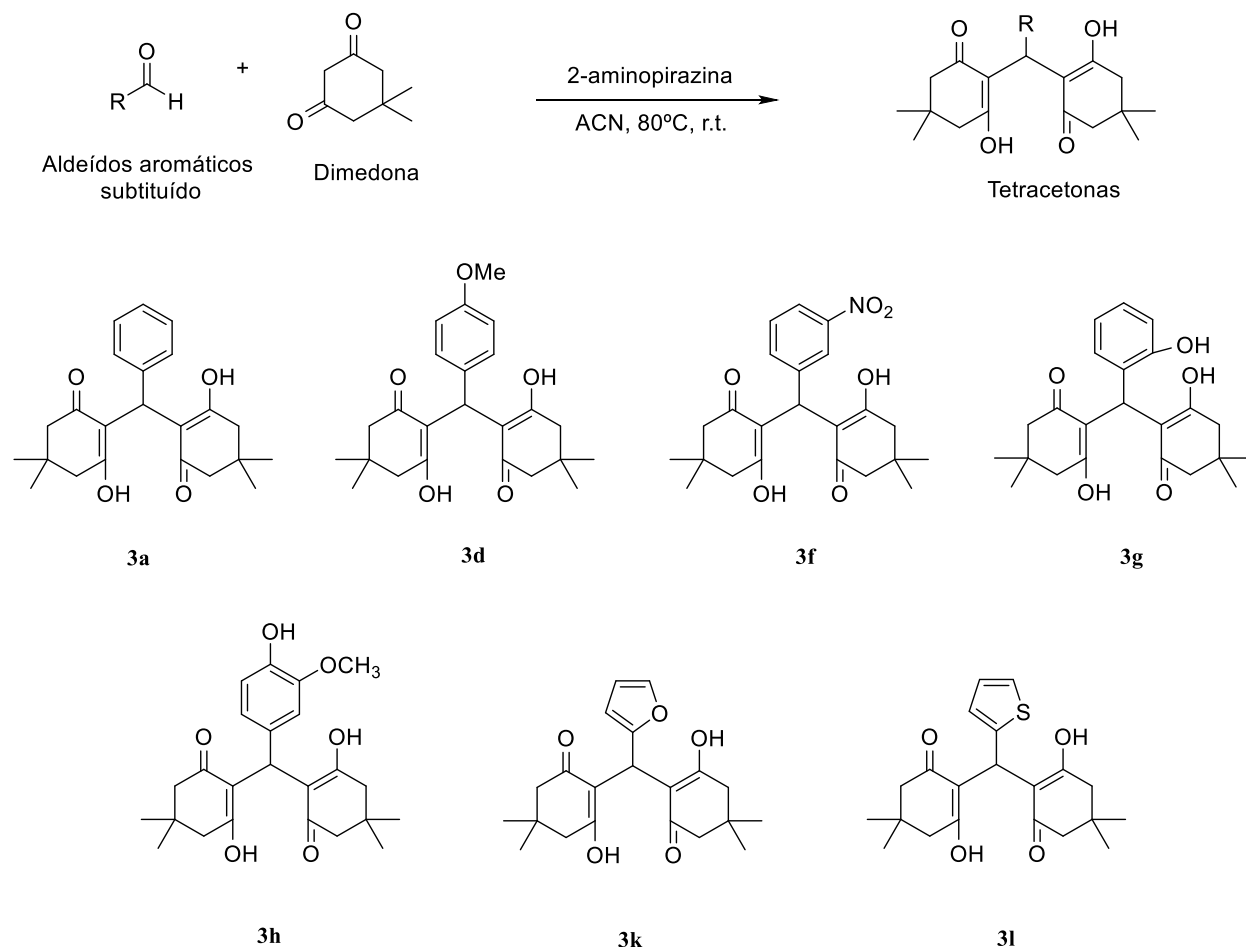
As tetracetonas são uma classe de compostos orgânicos que têm se destacado na literatura científica por suas notáveis atividades biológicas, com ênfase na inibição enzimática e no potencial antioxidante, onde as pesquisas atuais destacam seu potencial como agentes

terapêuticos para diversas doenças, tornando seu estudo altamente relevante para a área farmacêutica.

Estudos recentes demonstraram que esses compostos apresentam atividade inibitória significativa contra a enzima lipoxigenase, enzimas chaves nos processos inflamatórios e em diversas patologias relacionadas. Notavelmente, diversos derivados destas moléculas mostraram-se equivalentes e alguns até mais eficazes na inibição da lipoxigenase do que o composto de referência empregado (baicaleína, controle positivo), sugerindo um potencial terapêutico como agentes anti-inflamatórios (Ali *et al.*, 2009; Maharvi *et al.*, 2008a).

Thakur *et al.* (2021) em seu trabalho recente, demonstraram que 12 tetracetonas obtidas através do uso de 2-aminopirazina como catalisador (Esquema 13), apresentaram atividade antioxidante promissora em três testes distintos – atividade de sequestro do radical DPPH, atividade sequestradora de radicais ABTS e Capacidade Antioxidante Total (CAT) – quando em comparação com os padrões utilizados, ácido gálico e ácido ascórbico, onde em todos estes os compostos sintetizados apresentaram atividade significativa e em alguns casos, até valores ligeiramente superiores aos do padrão como no caso do composto 3h no teste de DPPH (Figura 2). Esses resultados são de grande relevância, uma vez que o estresse oxidativo está diretamente relacionado à fisiopatologia de diversas doenças crônicas e degenerativas e a capacidade dessas moléculas de neutralizar espécies reativas de oxigênio reforçam seu potencial terapêutico (Ali *et al.*, 2009; Khurana; Vij, 2012; Maharvi *et al.*, 2008; Thakur *et al.*, 2021).

Figura 2. Síntese de tetracetonas utilizando 2-aminopirazina como catalisador e compostos sintetizados com os melhores resultados nos testes de atividade antioxidante.



(DPPH $93,77 \pm 0,5$)

> ácido gálico $91,76 \pm 0,2$

Fonte: Baseado em Thakur e colaboradores (2021).

Além disso, outro potencial biológico das tetracetonas é a atividade antitirozinase. Ela é uma enzima-chave no processo de melanogênese que está diretamente relacionada a distúrbios de hiperpigmentação e em neoplasias como o melanoma. Alguns derivados demonstraram inibição mais eficiente da tirozinase do que agentes inibitórios estabelecidos, o que evidencia seu potencial para aplicação no tratamento de condições dermatológicas, incluindo hiperpigmentação e câncer de pele (Khan *et al.*, 2006; Kali; Maiti, 2024).

Dessa maneira, as propriedades biológicas relatadas apontam para a possibilidade de desenvolvimento de novos fármacos derivados de tetracetonas que podem ser utilizados para o tratamento de doenças inflamatórias, asma, câncer, enfermidades autoimunes e distúrbios dermatológicos.

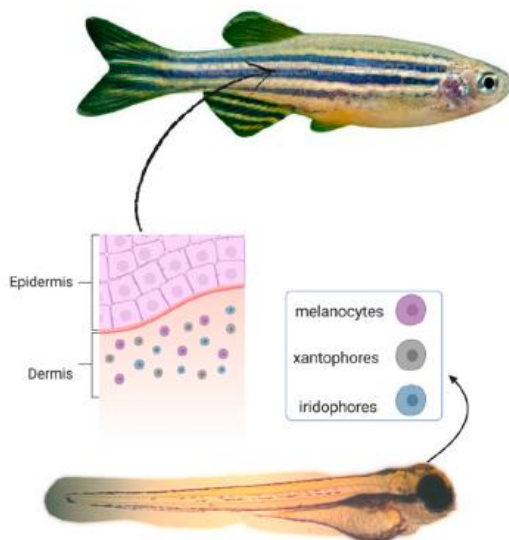
3.3 ZEBRAFISH (*Danio rerio*) COMO MODELO EXPERIMENTAL

O zebrafish (*Danio rerio*), tem se consolidado como modelo experimental versátil e eficaz em diversas áreas da ciência, notadamente na biologia do desenvolvimento, genética, farmacologia e toxicologia. Originário da região sul da Ásia, esse pequeno teleósteo de água doce apresenta características biológicas e genéticas que o tornam altamente atrativo para uso em laboratório. Dentre essas características, destacam-se o pequeno porte, a elevada taxa de fecundidade, o desenvolvimento embrionário rápido e externo, além da transparência dos embriões, que possibilita a observação direta dos processos morfogenéticos e celulares *in vivo* sem a necessidade de empregar técnicas muito complexas (Kimmel *et al.*, 1995; Kari *et al.*, 2007).

O zebrafish compartilha aproximadamente 70% de identidade gênica com os seres humanos e cerca de 84% dos genes humanos associados a doenças possuem homólogos nesse organismo (Howe *et al.*, 2013). Essa similaridade genômica, aliada à facilidade de manipulação genética, à capacidade de regeneração de tecidos e à resposta fisiológica conservada frente a diversos xenobióticos, torna o *zebrafish* um modelo relevante para estudos de biomedicina, farmacodinâmica, triagem de fármacos e avaliação de toxicidade ambiental e ocupacional (MacRae; Peterson, 2015).

Com relação a atividade antimelanogênica, o zebrafish tem sido valorizado por apresentar células pigmentares denominadas melanóforos, que são funcionalmente semelhantes aos melanócitos humanos, sendo responsáveis pela síntese e deposição de melanina. Ele possui três tipos de células pigmentares: iridóforos (contendo linhas reflexivas, em azul), xantóforos (amarelos) e o já citado, os melanóforos, células que tem favorecido seu uso possibilitando a quantificação dos efeitos de compostos antimelanogênicos de forma visual e espectrofotométrica (Figura 3) (Choi *et al.*, 2007; Ferreira *et al.*, 2023; Kim *et al.*, 2023).

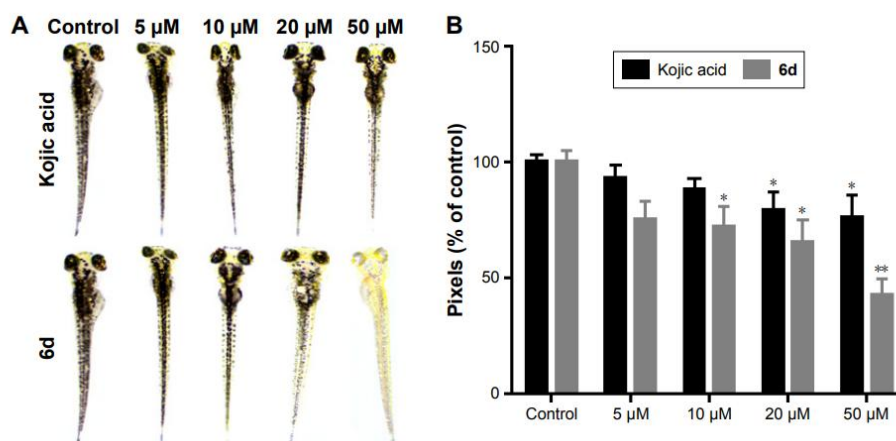
Figura 3. Representação gráfica do zebrafish com destaque para as as células pigmentares.



Fonte: FERREIRA, A.M., et al. (2023).

Estudos utilizando zebrafish como modelo de triagem têm demonstrado a eficácia de diversos compostos na inibição da melanogênese. Em 2018, Abbas e colaboradores demonstraram atividade antimelanogênica superior ao ácido kójico, um dos despigmentantes clássicos utilizados como controle positivo, de um composto sintético hidroxilado derivado de amida (Figura 4) em concentrações de 5, 10, 20 e 50 μM . A análise da pigmentação corporal dos embriões revelou que o composto 6d promoveu uma redução de 57,3% na pigmentação total na concentração de 50 μM , enquanto o ácido kójico resultou em redução de apenas 24,2% na mesma concentração. A diferença entre os tratamentos foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Figura 4. Ilustração do resultado da atividade antimelanogênica realizada em zebrafish e análise da pigmentação corporal dos embriões.



Fonte: Abbas *et al.* 2018

A molécula natural 6-O-isobutyrylbritannilactone (IBL), quando aplicada a embriões de zebrafish nas concentrações de 10, 50 e 100 μM , resultou em significativa redução da área pigmentada, em respectivamente, 8%, 13% e 16%, com efeito superior ao ácido kójico (1 mM) que apresentou inibição de apenas 3%. A inibição da pigmentação foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$), sem afetar significativamente a viabilidade celular no ensaio MTT (Jang *et al.*, 2020)

A isoflavona calicosina, extraída de *Astragalus membranaceus*, também demonstrou elevado potencial despigmentante em *zebrafish*. Os embriões tratados com calicosina apresentaram a pigmentação corporal reduzida de forma dose-dependente, em comparação com o grupo tratado com veículo havendo reduções significativas no conteúdo total de melanina e na atividade da tirosinase após o tratamento com 40 μM e 80 μM de calicosina indicando a potente atividade antimelanogênica *in vivo* da calicosina e ainda baixa toxicidade, visto que após o tratamento com calicosina por 48 h ou 72 h, a viabilidade celular ainda estava acima de 80% nas concentrações de 100 μM e 80 μM (Wu *et al.*, 2022)

Além dos efeitos fenotípicos, estudos moleculares com *zebrafish* revelaram a modulação de vias de sinalização envolvidas na melanogênese. Derivados de ácido kójico, como o composto KAD2, suprimiram a expressão de MITF, TYR, TRP-1 e TRP-2, genes diretamente ligados à síntese de melanina, atuando por meio da inibição da via PKA/CREB/Akt (Chen *et al.*, 2019). Tais achados demonstram a aplicabilidade do *zebrafish* não apenas para

avaliação fenotípica, mas também para a elucidação de mecanismos moleculares envolvidos na atividade antimelanogênica.

No âmbito da toxicologia, o *Danio rerio* é amplamente utilizado em ensaios de toxicidade aguda, com destaque para o teste de toxicidade embriofetal, padronizado pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD), no guideline nº 236. Esse protocolo avalia os efeitos de substâncias químicas nas primeiras 96 horas pós-fertilização (hpf), observando *endpoints* como mortalidade, malformações, desenvolvimento atrasado e alterações comportamentais (OECD, 2013). Tais testes possuem alta sensibilidade e especificidade, sendo compatíveis com plataformas automatizadas de triagem de compostos, reduzindo significativamente o uso de vertebrados superiores nos testes toxicológicos, conforme os princípios dos 3Rs (substituição, redução e refinamento, do inglês, respectivamente, Replacement, Reduction, Refinement) (Strähle *et al.*, 2012).

Em 2024, Koga *et al.* avaliaram a toxicidade aguda dos extratos hidroetanólicos das folhas (HELBg) e dos caules (HESBg) de *Bauhinia guianensis* em embriões de *zebrafish* (*Danio rerio*). Os embriões foram expostos a concentrações crescentes (0,25 a 1,5 µg/mL) e os resultados mostraram que o extrato HESBg apresentou maior toxicidade, evidenciada pela ausência de batimentos cardíacos em todos os grupos tratados com HESBg (4,0 a 7,5 embriões por grupo), além de redução acentuada na taxa de eclosão (10% a 50%), casos de coagulação embrionária e atraso no desenvolvimento. No grupo HELBg, os efeitos foram menos intensos, tendo a coagulação aumentado nas maiores concentrações (3,5 embriões em 1,0 e 1,5 µg/mL), com discreta ausência de batimentos cardíacos (máximo de 1,5 embriões por grupo), taxa de eclosão de 98% nas menores doses e menos de 10% na dose mais alta, indicando toxicidade dose-dependente. A frequência cardíaca e o crescimento embrionário também foram prejudicados nas doses mais elevadas.

Outra vantagem notável do *zebrafish* é seu baixo custo de manutenção, em comparação com modelos mamíferos como camundongos e ratos. A sua criação em larga escala demanda menos espaço físico e menores recursos, o que viabiliza experimentações em maior escala com um menor investimento. Além disso, devido ao desenvolvimento externo e à curta geração, o *zebrafish* permite análises intergeracionais, estudos de epigenética e investigações sobre efeitos transgeracionais de contaminantes ambientais (Howe *et al.*, 2013; Kalueff; Stewart; Gerlai, 2014)

O uso crescente do *zebrafish* em pesquisas biomédicas e ambientais reflete-se no aumento expressivo de publicações científicas e no reconhecimento por parte de agências

regulatórias, como a OECD e a EPA (Environmental Protection Agency), consolidando-o como um organismo modelo promissor e ético para a ciência do século XXI.

3.4 DOCKING MOLECULAR

Ensaio *in vitro* e *in vivo* são etapas necessárias para avaliar a segurança e eficácia de substâncias teste, mas com a aplicação direcionada e interpretação correta dos dados, os testes *in silico* podem otimizar o processo de identificação e refinamento de compostos candidatos a fármacos de maneira racional (Castilho, 2011).

A compreensão das interações moleculares que ocorrem entre os alvos terapêuticos (biomacromoléculas) e os ligantes é importante para a interpretação de inúmeros fenômenos bioquímicos, constituindo uma das bases estratégicas para o desenho racional de drogas (Kuntz *et al.*, 1994; Lybrand, 1996; Lengauer; Rarey, 1995; Castilho, 2011). O *docking* molecular é uma técnica computacional fundamental na biologia estrutural e no desenvolvimento racional de fármacos sendo comumente definido como uma ferramenta capaz de prever e reproduzir complexos proteína-ligante, definindo a orientação preferencial (pose) de uma com relação a outra permitindo a avaliação do potencial de interação e afinidade entre ambos (Brooijmans; Kuntz, 2003; Kitchen *et al.*, 2004; Pinheiro *et al.*, 2015).

A metodologia baseia-se em algoritmos que simulam, em nível atômico, a interação entre ligante e receptor, considerando fatores estéricos, eletrostáticos, hidrofóbicos e energéticos. A partir dessas simulações, obtêm-se scores que estimam a energia livre de ligação e a estabilidade do complexo formado, permitindo a classificação dos compostos quanto ao seu potencial bioativo (Morris; Lim-Wilby, 2008). Os resultados auxiliam na triagem virtual de grandes bancos de dados moleculares, reduzindo o número de compostos a serem testados *in vitro* e *in vivo*, otimizando recursos e tempo de pesquisa.

Diversas são as vantagens do *docking* molecular. Primeiramente, trata-se de uma técnica não invasiva e de baixo custo, já que não requer o uso de reagentes ou experimentação biológica nas etapas iniciais de triagem. Além disso, permite a exploração rápida de milhares de moléculas, com base na estrutura do alvo, identificando possíveis interações-chave em sítios catalíticos, alostéricos ou estruturais (Kitchen *et al.*, 2004).

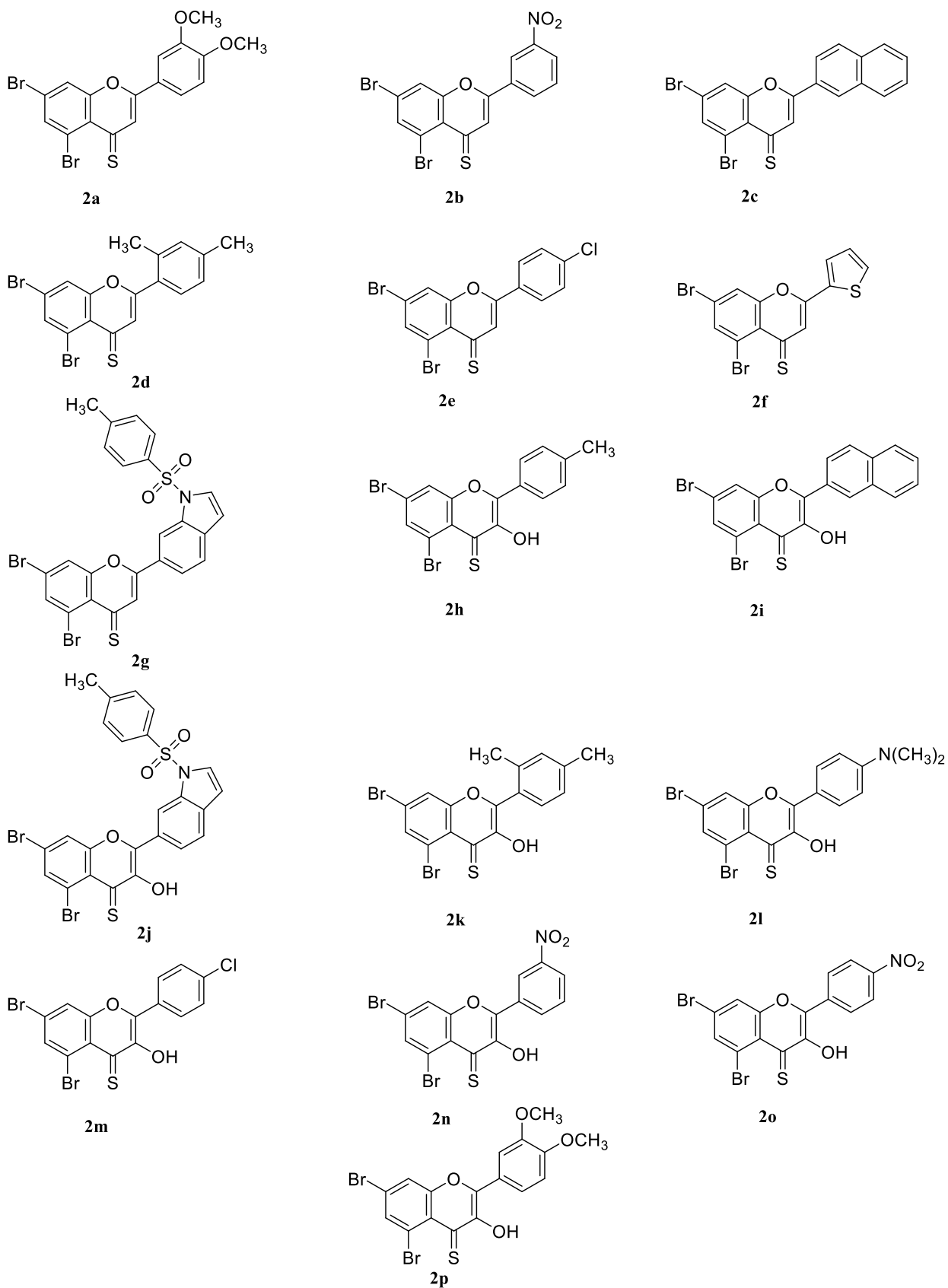
Outra vantagem significativa é a possibilidade de elucidar mecanismos de ação em nível molecular, fornecendo evidências sobre quais interações específicas são responsáveis por efeitos agonistas, antagonistas ou inibitórios. Essa capacidade é particularmente útil para

reposicionamento de fármacos e desenvolvimento de inibidores seletivos, como no caso de enzimas envolvidas em doenças neurodegenerativas, câncer e distúrbios inflamatórios (Forli *et al.*, 2016).

No contexto acadêmico e industrial, o *docking* molecular tornou-se uma etapa padrão em projetos de desenvolvimento de novos candidatos a fármacos, agentes antimicrobianos, inibidores enzimáticos, entre outros compostos com interesse farmacológico, ambiental ou agroquímico. Sua aceitação e confiabilidade vêm sendo reforçadas por sucessos comprovados, como o desenvolvimento de inibidores de proteases virais ou compostos que modulam alvos da via do receptor tirosina quinase (Santos *et al.*, 2017).

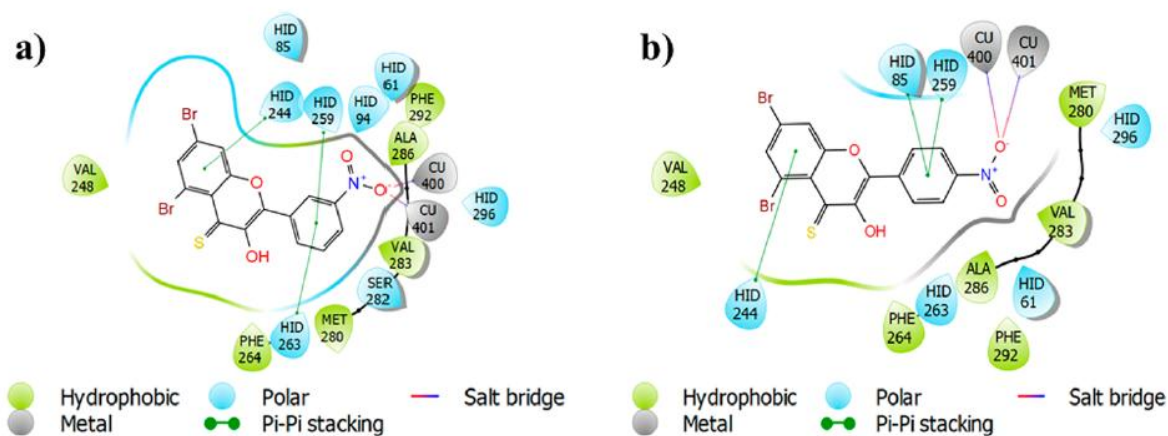
Diversos estudos recentes têm utilizado o *docking* molecular para investigar potenciais inibidores da tirosinase. Mughal *et al.* (2022) realizaram a síntese e caracterização estrutural de compostos derivados de 2-arylchromone-4-thione, obtendo 16 compostos (Figura 5). Nos testes *in vitro* de inibição da tirosinase de cogumelo todos os compostos apresentaram atividade superior ao ácido kójico, com valores de IC₅₀ variando de $1,12 \pm 0,04 \mu\text{M}$ a $5,68 \pm 0,13 \mu\text{M}$, já nos estudos de *docking* molecular com a estrutura cristalográfica 2Y9X, os autores evidenciaram interações estáveis dos compostos com os resíduos do sítio ativo da enzima, especialmente por ligações π - π e coordenação metálica com os átomos de cobre nos quais obtiveram energia de ligação (-8.5064 a -4.9786 kcal/mol) melhores que a do próprio ácido kójico (-4.2620 kcal/mol) (Figura 6).

Figura 5. Derivados de 2-arylchromone-4-thione sintetizados por Mughal *et al.* (2022) com atividade antitirosinase.



Fonte: Baseado em Mughal *et al.* (2022).

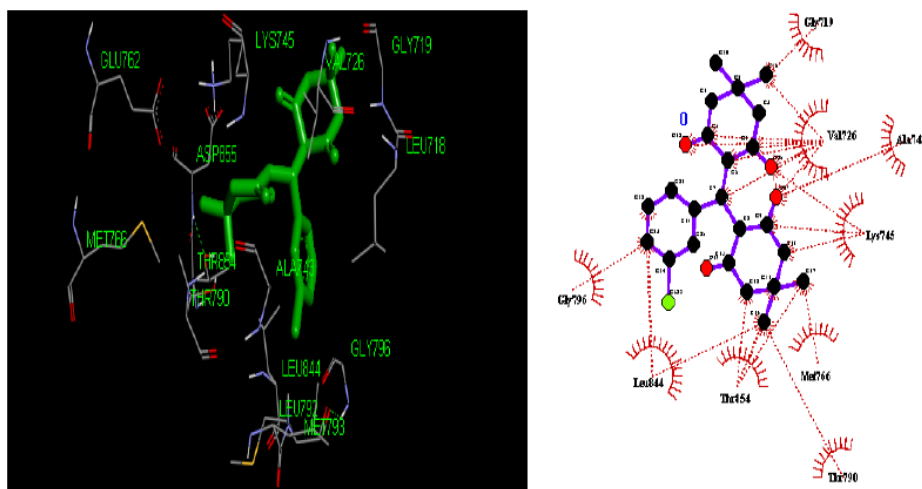
Figura 6. Ilustração do ancoramento molecular entre os compostos com as melhores energias de ligação, respectivamente -8.5064 e -7.7652 e o alvo tirosinase de cogumelo (PBD 2Y9X).



Fonte: Mughal et al. (2022)

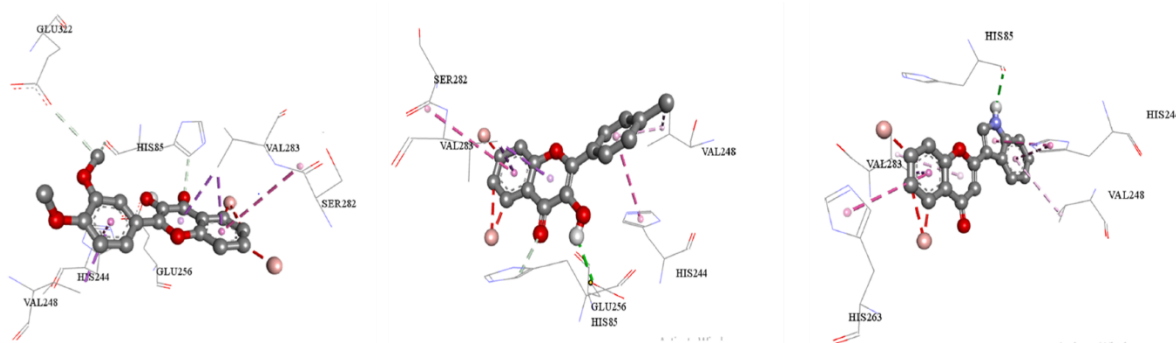
Edache et al. (2020) investigaram a atividade antitirosinase através de um estudo da relação quantitativa estrutura-atividade (QSAR) e de *docking* molecular em derivados de tetracetona e benzilbenzoato como inibidores de proteínas tirosina quinases (EGFR). No método QSAR, realizado através de regressão linear múltipla por algoritmo genético (GA-MLR), os resultados foram promissores e a análise de *docking* molecular identificou interações hidrofóbicas e de ligação de hidrogênio, levando à identificação de sítios de ligação ativos da proteína EGFR (Figura 7).

Figura 7. Ilustração do ancoramento molecular entre o composto 2,2'-((3-aminofenil)metileno)bis(5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona) (ID27), que apresentou a melhor energia de interação com o sítio ativo de 4R3P.



Fonte: Baseado em Edache et al. (2020).

Figura 9. Ilustração do resultado de *docking* molecular dos compostos 10, 11 e 26 (respectivamente) com o sítio ativo da tirosinase de *Agaricus bisporus* (PDB ID: 2Y9X).



Fonte: Ashraf et al. (2021).

Assim, considerando os benefícios e resultados obtidos através de vários estudos, o *docking* molecular representa uma ferramenta essencial para a ciência contemporânea, contribuindo significativamente para a redução do tempo e dos custos em pesquisas de novas moléculas bioativas, ao mesmo tempo em que amplia a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos nas interações fármaco-alvo.

Aluminum hydroxide-catalyzed synthesis of tetraketones and evaluation of their antityrosinase potential *in vivo*

Andréia L. Amorim^a; Késia T. Costa^a, Roosenilson^a, Ryan S. Ramos^a, David E. Q. Jimenez^a, Adriana M. Ferreira^a, Irlon M. Ferreira^{a,*} 

^aDepartamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal do Amapá, 68903-419 Macapá-AP, Brasil

Abstract: The synthesis of tetraketone derivatives has attracted increasing interest due to their biological and pharmacological properties, including antimelanogenic activity. In this study, a green methodology was developed to obtain tetraketones using water as a solvent and aluminum hydroxide [Al(OH)₃] as a heterogeneous catalyst, at 80 °C for 60 min. The protocol resulted in moderate to excellent yields (44.22–95.29%), mainly influenced by the electronic nature of the substituents in the aldehydes used. The compounds were characterized by FT-IR, ¹H and ¹³C NMR, confirming their structures. Molecular docking assays against human tyrosinase (PDB ID: 5M8N) revealed that derivatives 3d and 3g exhibited high binding affinities (–8.229 and –8.391 kcal/mol, respectively), outperforming the controls kojic acid and mimosine. *In vivo* evaluation in zebrafish embryos demonstrated no acute toxicity and a significant reduction in pigmentation, suggesting an antimelanogenic effect associated with tyrosinase inhibition. These results reinforce the potential of synthesized tetraketones as promising candidates for the development of depigmenting agents and functional cosmetics, combined with an environmentally sustainable synthetic route.

Keywords: Tetraketones; Aluminum hydroxide; Molecular docking; Tyrosinase; Zebrafish.

INTRODUÇÃO

As reações de condensação aldólica são muito importantes na química orgânica porque levam à criação de novas ligações C-C e muitos produtos de reações apresentam propriedades biológico-farmacêuticas, por exemplo, os derivados de tetracetonas que podem ser preparados usando aldeídos (alifáticos e aromáticos) e dimedona¹⁷. As tetracetonas apresentam atividades como: antiviral¹², anticâncer⁶, asma²⁵, antibacteriana¹⁷ e outras²⁶.

Diferentes metodologias têm sido propostas para a síntese de tetracetonas, geralmente baseadas em reações multicomponentes que empregam aldeídos aromáticos, dimedona ou derivados análogos, em condições variadas de solvente, temperatura e tempo reacional. A busca por catalisadores mais eficientes, seletivos e ambientalmente benignos tem se destacado como tendência nos últimos anos. Nesse contexto, Nemati *et al.*³⁰ demonstraram o uso de nanopartículas de Fe₃O₄@SiO₂-SO₃H como catalisador, obtendo rendimentos entre 44–97%. Outras estratégias envolvem catalisadores moleculares ou suportados, como a sulfacetamida^{16,15} a melamina¹⁵ e a 2-aminopirazina³⁸, que permitiram sínteses em diferentes condições, com rendimentos geralmente superiores a 85% e, em alguns casos, associados à avaliação de propriedades biológicas relevantes.

Também têm sido exploradas alternativas sustentáveis, como o uso de biossurfactantes de origem vegetal³⁴, metodologias mecanoquímicas sem solvente⁴ e catalisadores oriundos de resíduos agroindustriais, como carvão ativado de casca de arroz³³. Dentro dessa perspectiva, destaca-se ainda a utilização de líquidos iônicos (LI) como meios reacionais verdes. Kali & Maiti¹⁴ relataram a aplicação do cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio ([BCMIM][Cl]) em meio etanol/água (1:2), sob condições de temperatura ambiente, permitindo a obtenção de derivados de tetracetonas em apenas 10–28 minutos, com rendimentos variando de 79 a 94%.

Recentemente, Muniz *et al.*²⁸ relataram o emprego de Al(OH)₃ como catalisador para a síntese de tetracetonas entre derivados de aldeídos aromáticos, dimedona, água como solvente, 80°C, 60 min, com rendimento de 52-97%. Alguns derivados de tetracetonas apresentam atividade antibacteriana contra bactérias Gram-negativas (*S. aureus* - ATCC-6539P) com valores de 31,25-250 µ g.mL⁻¹. Esses avanços evidenciam o interesse crescente em metodologias eficientes e ecologicamente corretas para a síntese de tetracetonas, alinhadas tanto ao desenvolvimento de novos materiais funcionais quanto à prospecção de compostos bioativos.

A tirosinase é uma enzima metaloenzimática contendo cobre em seu centro ativo, desempenhando papel essencial na biossíntese da melanina. Sua atividade está envolvida na conversão da L-tirosina em L-DOPA e, subsequentemente, em dopaquinona, etapas críticas na formação de eumelanina e feomelanina. Dada sua relevância fisiológica e implicação em distúrbios pigmentares e câncer de pele, como o melanoma, a tirosinase tem se consolidado como alvo terapêutico relevante para o desenvolvimento de agentes despigmentantes e cosméticos antimelanogênicos.

Nesse cenário, os derivados de tetracetonas vêm ganhando destaque devido ao seu potencial inibitório frente à tirosinase. Estudos anteriores demonstraram que modificações estruturais,

como a inserção de grupos metila ou fenólicos, aumentam significativamente a afinidade desses compostos pelo sítio ativo da enzima, muitas vezes superando o ácido kójico, inibidor amplamente utilizado. A compreensão das interações entre essas moléculas e a tirosinase pode ser aprofundada por meio do docking molecular, ferramenta computacional que permite prever, em nível atômico, a orientação e a afinidade de ligantes ao alvo enzimático.

Adicionalmente, o modelo experimental com *zebrafish* (*Danio rerio*) tem sido amplamente utilizado na triagem de compostos bioativos, incluindo agentes antimelanogênicos, devido à sua semelhança genética com os humanos e à presença de melanóforos. A redução da pigmentação em embriões de *zebrafish* após exposição a inibidores de tirosinase representa uma abordagem eficiente e eticamente aceitável para avaliação da atividade *in vivo*.

Este estudo teve como objetivo sintetizar derivados de tetracetonas por metodologia verde, avaliar sua atividade inibitória contra a tirosinase por meio de ensaios *in vitro* e *docking* molecular, e investigar seu potencial antimelanogênico e toxicidade aguda utilizando o modelo *zebrafish*. Os títulos da seção são escritos com todas as letras maiúsculas e em negrito. Deve haver espaçamento antes e depois do título da seção.

PARTE EXPERIMENTAL

Animais

Os animais são provenientes da Piscicultura Power Fish, located in Itaguaí-RJ, Brazil. Utilizou os peixes de ambos os sexos, com idade entre 8 meses e 2 anos, de linhagem AB selvagem, os animais foram mantidos em água, sob controle de temperatura ($23 \pm$ dois °C), alimentação e ciclo claro/escuro (10/14)⁷, acondicionados em aquários na Laboratório de Ictio e Genotoxicidade da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP). Este estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNIFAP (Brasil) sob o número 007/2020.

Reagentes químicos

Os aldeídos 2-fluorobenzaldehyde, 2-bromobenzaldehyde, 2-nitrobenzaldehyde, 3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde, 2-(furan-2-yl)benzaldehyde, 4-methoxybenzaldehyde, 4-methylbenzaldehyde, a 5,5-dimethylcyclohexane-1,3-dione, o DMSO e o hidróxido de alumínio Al(OH)₃ foram adquiridos na *Sigma-Aldrich* e utilizados sem

purificação adicional. O clorofórmio deuterado (CDCl_3) foi adquirido pela *Cambridge Isotope Laboratories*.

Síntese de derivados de tetracetonas

A metodologia para obtenção das tetracetonas foi aplicada conforme descrito por Muniz *et al*²⁸, utilizando-se 1 mmol de aldeído e 2 mmol de dimedona em 5 mL de água, empregando o hidróxido de alumínio (10%) como catalisador. A reação foi mantida sob agitação orbitalar (500 rpm) e temperatura de 80°C durante 60 minutos (Figura 1), variando-se os aldeídos empregados (Tabela 1).

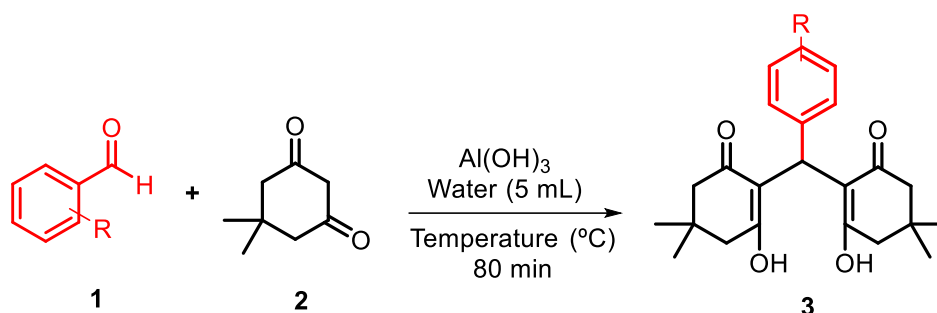


Figura 1. Reação geral da síntese de tetracetonas utilizando $\text{Al}(\text{OH})_3$ como catalisador.

Identificação e caracterização das substâncias sintetizadas

As análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas em espectrômetro Shimadzu IRAffinity-1 (Shimadzu, São Carlos, Brasil) e as amostras foram preparadas na forma de pastilhas de KBr e analisadas na faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , com os resultados expressos em unidades de transmitância.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos em espectrômetros Agilent Technologies 500/54 Premium Shielded ou Agilent Technologies 400/54 Premium Shielded. Utilizou-se CDCl_3 como solvente, com tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos (δ) foram reportados em partes por milhão (ppm) e referenciados tanto ao sinal do padrão TMS quanto ao solvente deuterado empregado.

Otimização e Docking Molecular

As estruturas químicas foram desenhadas e minimizadas no software *ChemSketch* pelo método de Mecânica Molecular (MM+) com campo de força inicialmente baseado na parametrização CHARMM^{5,22,29}. Os arquivos de saída com as estruturas químicas 3D foram salvos em formato .sdf, .mol e .pdb.

A estrutura cristalina da tirosinase humana (PDB ID: 5M8N) foi baixada do RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/> acesso em maio de 2024) com resolução de 2.60 Å, e utilizada para o estudo de docking molecular²⁰. A atribuição de protonação e estados tautoméricos dos ligantes, retirada de resíduos de moléculas de água e cofatores foram realizados com o programa Discovery Studio[®] v.16 (2008), enquanto os átomos de hidrogênio da proteína foram adicionados com PROPKA usando o pH fisiológico. Os ligantes controles usados nas simulações de docking molecular foram Mimosine (MMS) e Ácido Kójico (KA). As simulações de docking molecular foram realizadas através do servidor DockThor (<https://dockthor.lncc.br/v2/> acesso em maio de 2024)⁹. Os parâmetros padrões do algoritmo usado foram definidos da seguinte forma: (1) 24 corridas de conformações de encaixe, (2) 1000000 avaliações por corrida de encaixe e (3) população de 750 indivíduos. A qualidade de pontuação do docking do receptor-ligante foi avaliada com base na Raiz Quadrada do Desvio Médio (RMSD) entre o melhor score da pose de *docking* e o modo de ligação experimental do ligante cristalográfico.

Toxicidade Aguda em zebrafish

O teste seguiu as recomendações com base na Organization for Economic Cooperation and Development 32 236 com algumas adaptações. Foi realizado o acondicionamento (pelo menos 12 horas) de dez grupos de animais, cada grupo era composto por dois machos e 1 fêmea, mantidos separados por uma divisória de vidro transparente em aquário de reprodução, onde os ovos são capturados para o fundo para que não haja canibalismo. Após pernoite, foram acesas luminárias, simulando o amanhecer (estímulo luminoso) de forma a incitar a postura^{32, 56-57}. Segundo metodologia descrita por Yang *et al.*⁴¹, para evitar variantes do tipo genético optou-se por coletar ovos de no mínimo três grupos diferentes. Após coleta, os ovos foram lavados com água de aquário, randomizados, para cada concentração avaliou-se grupos de 20 embriões (em triplicata), totalizando 60 embriões por concentração transferidos para placas de 96 poços, 2 embriões por poço, em contato com as concentrações a serem estudadas, seguindo a metodologia descrita por Ferreira *et al.*⁷.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese de derivados de tetracetonas

Devido à importância biológica e química das tetracetonas, as propriedades dessas moléculas têm atraído crescente atenção em diversas áreas de pesquisa. Diversos métodos sintéticos já foram desenvolvidos, utilizando operações como piridina, hidróxidos metálicos, L-prolina, iodo molecular, $\text{HClO}_4\text{-SiO}_2$, nanopartículas de níquel, dentre outras, porém, apesar dos claros avanços, ainda se buscam por métodos mais eficientes e ambientalmente seguros para a obtenção de tetracetonas e seus derivados.

A síntese dos derivados de tetracetonas (**3a–3h**) foi conduzida em meio aquoso, utilizando-se hidróxido de alumínio como catalisador heterogêneo, a 80 °C durante 60 minutos. O uso de água como solvente representa uma estratégia alinhada aos princípios da química verde por ser ambientalmente segura. Conforme esperado para as reações de condensação de Knoevenagel, a utilização de um solvente prótico como a água foi capaz de aumentar a eficiência da reação devido a sua capacidade de estabilizar os intermediários iônicos formados após a desprotonação do composto, onde tal efeito é evidenciado nos rendimentos superiores a 50% na síntese das 8 moléculas estudadas (Tabela 1).

A temperatura empregada favoreceu a taxa de reação visto que ela auxilia na promoção do ataque nucleofílico da enolato de dimedona ao aldeído. No entanto, embora essas condições sejam geralmente eficientes, observou-se variabilidade significativa nos rendimentos dos produtos, oscilando de 44,22% a 95,29%.

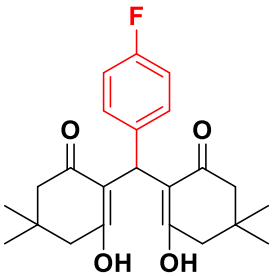
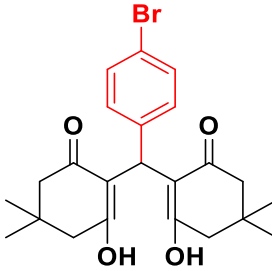
Embora tempo (60 min) e temperatura (80 °C) tenham permanecido constantes, a natureza eletrônica e estérica dos aldeídos exerceu papel crucial no desempenho da síntese. Dentre os compostos obtidos, **3a** (60,68%) e **3g** (55,27%) apresentaram os menores rendimentos, onde as características eletrônicas dos grupos substituintes dos aldeídos utilizados podem ter influenciado diretamente nos resultados.

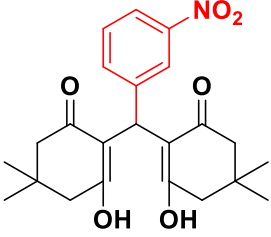
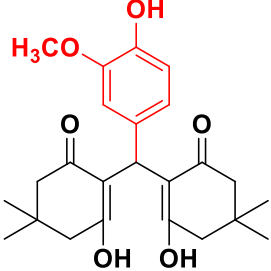
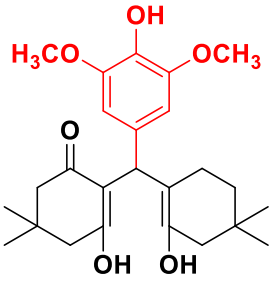
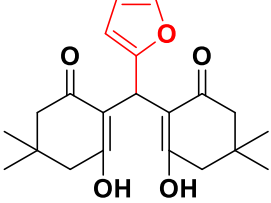
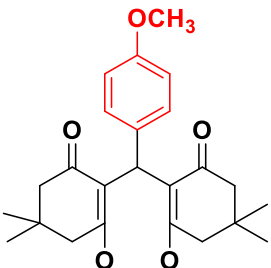
No presente estudo, observou-se que a posição e a natureza eletrônica dos substituintes influenciam diretamente a reatividade do aldeído e as etapas da reação de Knoevenagel–Michael. O substituinte flúor (-F) em **3a** exerce um efeito indutivo retirador de elétrons o que reduz a densidade eletrônica sobre a carbonila do aldeído, tornando-a menos suscetível ao ataque nucleofílico do intermediário enolato. Além disto, a natureza básica do catalisador

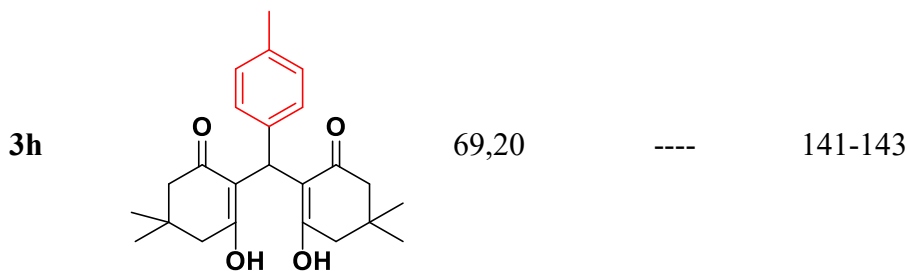
Al(OH)₃ não fornece uma ativação tão eficiente em carbonilas pouco reativas. o que explica o baixo rendimento observado^{14-17,28}. Esse comportamento difere de alguns relatos utilizando catalisadores sólidos fortemente ácidos (como HClO₄-SiO₂ ou PPA-SiO₂), nos quais substituintes retiradores, como o grupo nitro, resultaram em conversões mais rápidas e altos rendimentos⁵²⁻⁵⁵. Assim, os resultados aqui obtidos são coerentes quando se considera a diferença na força catalítica, visto que o Al(OH)₃ atua de forma eficaz em substratos mais ativados, enquanto aldeídos desativados requerem catalisadores mais fortes ou técnicas de ativação adicionais⁴⁰.

Por outro lado, o grupo metoxila (-OCH₃) em **3g**, ainda que tradicionalmente seja considerado como doador de elétrons por ressonância, dependendo da posição relativa no anel aromático e do sistema de catálise, pode estabilizar a forma não reativa diminuindo sua solubilidade em meio aquoso e/ou afetando a orientação estérica de ataque (ou seja, o alinhamento do nucleófilo), gerando uma desativação parcial e contribuindo tempos de reação mais longos ou conversões menores em sistemas de catálises menos vigorosas^{14-15,30}.

Tabela 1. Síntese de tetracetonas (**3a-3h**) catalisada por Al(OH)₃, em água (80 °C a 60 min)

Produto	Estrutura	Rendimento (%)	Ponto de fusão. exp. (°C)	Ponto de fusão literatura (°C)
3a		60,68	179-182	182-184
3b		86,51	167-170	170-174

3c		82,94	187-193	187-190
3d		66,00	203-205	201-205
3e		95,29	203-206	203-205
3f		76,76	175-180	172-175
3g		55,27	210-211	218-220



Por outro lado, compostos como **3e** (95,29%) e **3b** (86,51%) apresentaram rendimentos elevados. O bromo, embora ligeiramente desativador por indução é altamente polarizável e pode favorecer interações dispersivas com a superfície do catalisador, melhorando o posicionamento do aldeído para a etapa nucleofílica e estabilizando o estado de transição por forças de van der Waals, efeito já observado para derivados halogenados em sínteses heterogêneas^{40,42-45}. Para o composto **3e** a combinação dos grupos metoxila e uma hidroxila fenólica aumentou a solubilidade em meio aquoso, onde o grupo -OH possibilita ligações de hidrogênio com o meio e com sítios superficiais do catalisador, favorecendo orientação pró-reativa e solubilidade na interface água/catalisador, o que justifica o rendimento quase quantitativo observado. Estudos que empregaram aldeídos fenólicos e sistemas “verdes” relatam comportamento semelhante, com altos rendimentos quando a solubilidade e as interações. Resultados semelhantes foram descritos por Kali e Maiti¹⁴, que relataram rendimentos superiores para aldeídos portadores de substituintes doadores de elétrons e fenólicos.

Além disso, a solubilidade desses aldeídos em meio aquoso pode ter contribuído para o alto desempenho, uma vez que, em sistemas heterogêneos, a compatibilidade de fases exerce papel determinante no rendimento global⁴²⁻⁴⁵. Trabalhos utilizando líquidos iônicos também reportaram que aldeídos contendo substituintes doadores de elétrons conduzem a rendimentos elevados e tempos reacionais reduzidos⁴⁶⁻⁴⁸.

Ademais, o uso do Al(OH)₃ como catalisador é relevante por seu caráter ecológico e reutilizável, já demonstrado em diversas sínteses heterocíclicas⁴⁹⁻⁵¹. Contudo, sua menor acidez o torna menos eficiente para substratos desativados, sugerindo a necessidade de otimizações futuras.

Dados analíticos experimentais

Todos os compostos foram caracterizados usando espectros de FT-IR, ^1H e ^{13}C NMR com atribuições de ressonâncias completas.

2,2'-(2-fluorophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3a

$\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{FO}_4$, 386.19 g.mol $^{-1}$; (96.8% yield); White solid, m.p. = 182-184 °C; FTIR $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (pure) = 2957.27, 2870.72, 1724.91, 1588.89, 1487.91, 1452.88, 1370.44, 1302.44, 1226.19, 1166.42, 1152, 1114.9, 1044.83, 752.2, 733.65, 702.74.; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 11.90 (s, 1H), 7.21-7.11 (m, 2H), 7.05 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 6.94 (dd, $J = 11.9, 8.1$ Hz, 1H), 5.61 (s, 1H), 2.51-2.24 (m, 8H), 1.23-0.98 (m, 12H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 189.5, 162.1, 159.7, 129.2, 129.2, 128.0, 127.9, 123.6, 123.6, 115.7, 115.5, 115.5, 31.3, 28.9.

2,2'-(4-bromophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3b

$\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{BrO}_4$, 446.11 g.mol $^{-1}$; (91.4% yield); White solid, m.p. = 170-174 °C; FTIR $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (pure) = 2957.27, 2870.72, 1712.54, 1584.77, 1485.85, 1366.32, 1300.38, 1250.92, 1120, 1166.42, 1154.06, 1067.5, 1009.8, 826.39.; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 11.86 (s, 1H), 7.39-7.35 (m, 2H), 6.98-6.94 (m, 2H), 5.44 (s, 1H), 2.38 (dq, $J = 26.7, 17.9$ Hz, 7H), 1.21 (s, 6H), 1.10 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 190.6, 189.4, 137.3, 131.3, 128.6, 119.6, 115.3, 115.2, 47.0, 46.4, 32.5, 31.4, 31.4, 31.4, 29.6, 27.4.

2,2'-(3-nitrophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) 3c

$\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{NO}_6$, 413.18 g.mol $^{-1}$; (88.4% yield); Orange pale solid, m.p. = 187-190 °C; FTIR $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ (pure) = 2959.34, 2870.72, 1586.83, 1527.07, 1469.36, 1448.76, 1370.44, 1345.71, 1304.5, 1250.92, 1166.42, 1154.06, 1067.5, 1044.83, 838.75, 803.72, 729.53, 702.74.; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 11.85 (s, 1H), 8.04 (ddt, $J = 7.6, 2.4, 1.2$ Hz, 1H), 8.00 (q, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.47-7.39 (m, 2H), 5.54 (s, 1H), 2.42 (dq, $J = 28.5, 17.7$ Hz, 7H), 1.27 (s, 6H), 1.12 (s, 6H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 191.1, 189.6, 148.41, 140.7, 132.9, 129.1, 122.2, 121.0, 114.8, 47.0, 46.4, 32.9, 31.4, 29.6, 27.3.

2,2'-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one)
3d

C₂₄H₃₀O₆, 414.20 g.mol⁻¹; (82.3% yield); White solid, m.p. = 201-205 °C; FTIR $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (pure) = 3462.18, 2955.21, 2868.66, 1710.48, 1580.65, 1514.7, 1448.76, 1362.2, 1306.56, 1238.55, 1209.7, 1152, 1106.66, 1053.08, 1038.65, 824.33, 807.84, 762.5.; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 11.97 (s, 1H), 6.81 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.62 (dd, *J* = 2.2, 1.1 Hz, 1H), 6.59 (ddd, *J* = 8.3, 2.2, 1.3 Hz, 1H), 5.50 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.48 -2.30 (m, 8H), 1.24 (s, 6H), 1.11 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 190.4, 189.3, 146.3, 143.6, 129.7, 119.5, 115.8, 114.1, 109.9, 55.6, 47.1, 46.4, 32.3, 31.3, 31.3, 29.9, 27.1.

2,2'-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) *3e*

C₂₅H₃₂O₇, 444.21 g.mol⁻¹; (94% yield); White solid, m.p. = 203-205 °C; FTIR $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (pure) = 3429.2, 2957.27, 2870.72, 1584.77, 1512.64, 1448.76, 1419.9, 1368.38, 1308.62, 1267.4, 1236.49, 1152, 1125.21, 1032.47, 807.84, 733.65.; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 12.02 (s, 1H), 6.35 (s, 2H), 5.50 (s, 1H), 3.77 (s, 6H), 2.47-2.34 (m, 8H), 1.24 (s, 6H), 1.12 (s, 6H). ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 190.4, 189.3, 146.8, 132.7, 129.1, 115.7, 103.9, 56.1, 47.1, 46.3, 32.5, 31.1, 30.0, 26.8.

2,2'-(furan-2-ylmethylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) *3f*

C₂₁H₂₆O₅, 358.18 g.mol⁻¹; (88.1% yield); Brown solid, m.p. = 172-175 °C; FTIR $\nu_{\max}(\text{cm}^{-1})$ (pure) = 3410.65, 3058.25, 3004.67, 2961.4, 2872.78, 1710.48, 1601.26, 1419.9, 1360.14, 1220, 1092.23, 1013.92, 898.52, 834.63, 733.65.; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 12.14 (s, 1H), 7.25 (dt, *J* = 2.1, 0.9 Hz, 1H), 6.28 (dd, *J* = 3.3, 1.9 Hz, 1H), 5.93 (dt, *J* = 2.9, 1.3 Hz, 1H), 5.38 (t, *J* = 1.3 Hz, 1H), 2.36 (d, *J* = 6.3 Hz, 9H), 1.20-1.04 (m, 21H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 189.5, 151.7, 141.0, 114.1, 110.1, 106.2, 46.9, 46.2, 31.4, 31.4, 29.7, 29.2, 26.5.

2,2'-(4-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) *3g*

C₂₄H₃₀O₅, 398.21 g.mol⁻¹; (89.2% yield); Yellow solid, m.p. = 218-220 °C; FTIR ν_{\max} (cm⁻¹) (pure) = 3431.26, 2957.27, 2868.66, 1528.71, 1510.58, 1457, 1419.9, 1368.38, 1308.62, 1267.4, 1236.49, 1152, 1125.21, 1044.83, 1030.41, 805.78, 733.65.; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 11.90 (s, 1H), 7.02-6.97 (m, 2H), 6.83-6.78 (m, 2H), 5.48 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.49-2.26 (m, 6H), 1.22 (s, 6H), 1.09 (s, 6H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 190.4, 189.3, 157.6, 129.8, 127.8, 115.8, 115.8, 113.6, 55.2, 47.1, 46.4, 32.0, 31.4, 31.4, 31.4, 29.6, 27.4.

Docking molecular

Os resultados da validação dos protocolos de simulações de docking molecular foram considerados satisfatórios, uma vez que a sobreposição (pose+orientação+torção) relativa do ligante cristalográfico (modelo experimental) e do ligante acoplado (Pose de docking-modelo teórico) foram considerados similares. Recuperando as poses do ligante cristalográfico e melhor pose obtida no docking molecular foi possível realizar o cálculo da raiz quadrada do desvio quadrático médio (RMSD), isto é, a medida da distância média entre átomos de duas moléculas que foi de 1.235 Å (Figura S1- Material suplementar). Dessa forma, a literatura específica que quando os valores de RMSD ≤ 2 Å, o protocolo de docking é considerado satisfatório por apresentar similaridade ao modelo experimental^{1,2,31}

A tirosinase é a enzima limitante da velocidade na via biossintética da melanina, catalisando tanto a hidroxilação da tirosina em 3,4-diidroxifenilalanina (DOPA) quanto a oxidação da DOPA em dopaquinona. Em razão desse papel central, a tirosinase tem sido amplamente reconhecida como um alvo estratégico no desenvolvimento de inibidores da melanogênese^{20,35}. A Proteína 1 relacionada à tirosinase (TYRP1) liga-se a substratos e inibidores típicos de tirosinase, e é importante ressaltar que a L-tirosina e o análogo de L-DOPA, L-MMS, não interagem diretamente com os íons de zinco, mas seus grupos hidroxila e ceto aromáticos estão ligados por ligação de hidrogênio à molécula de água que forma a ponte entre os dois íons de zinco. Interações adicionais incluem interações de empilhamento aromático compensado com His381 e interações de ligação de hidrogênio de seu grupo carboxilato com Arg374 e Ser394. A densidade eletrônica da L-MMS é mais bem definida do que a da L-tirosina, sugerindo que as interações do grupo e-hidroxila aumentam a afinidade de ligação da MMS.

A pose de docking molecular obtida (Figura 2) possibilitou analisar que o MMS se liga aos resíduos de aminoácidos no sítio de ligação da tirosinase humana, comparada a pose

cristalográfica. No sítio de ligação, as interações observadas estão em torno da α -hélice entre os resíduos de aminoácidos His381-Ser394 e na β -folha entre os resíduos de aminoácidos Tyr362, Arg374, Thr391. No MMS é possível observar ligações de hidrogênio com os resíduos Tyr362, Thr391 e Ser394.

Os inibidores mais bem avaliados em termos de afinidade de ligação foram **3g** e **3d**, nos quais as interações foram similares as observadas nos controles MMS e Kojic acid para os resíduos de aminoácidos de Tyr362, Arg374, His381, e Ser394, sendo que essas contribuições de interação corroboram com os dados da literatura para classificação de potenciais constituintes ativos anti-melanogênicos^{13,20,24}, conforme Tabela 2.

O potencial ligante **3g** (Figura 2 e Tabela 2) apresentou melhor valor de afinidade de ligação (-8.391 kcal/mol), seguido do **3d** (-8.229 kcal/mol) que são bons inibidores da tirosinase, tendo uma variação de ± 0.891 kcal/mol e ± 0.279 kcal/mol em relação ao MMS, respectivamente.

Tabela 2. Valores de afinidade de ligação dos compostos **3a-3h** no receptor da tirosinase humana (PDB ID: 5M8N).

Molecules	Binding Affinity (kcal/mol)
MMS	-7.500
KA	-7.254
3a	-8.007
3b	-8.111
3c	-7.478
3d	-8.229
3e	-7.729
3f	-7.296
3g	-8.391
3h	-8.103

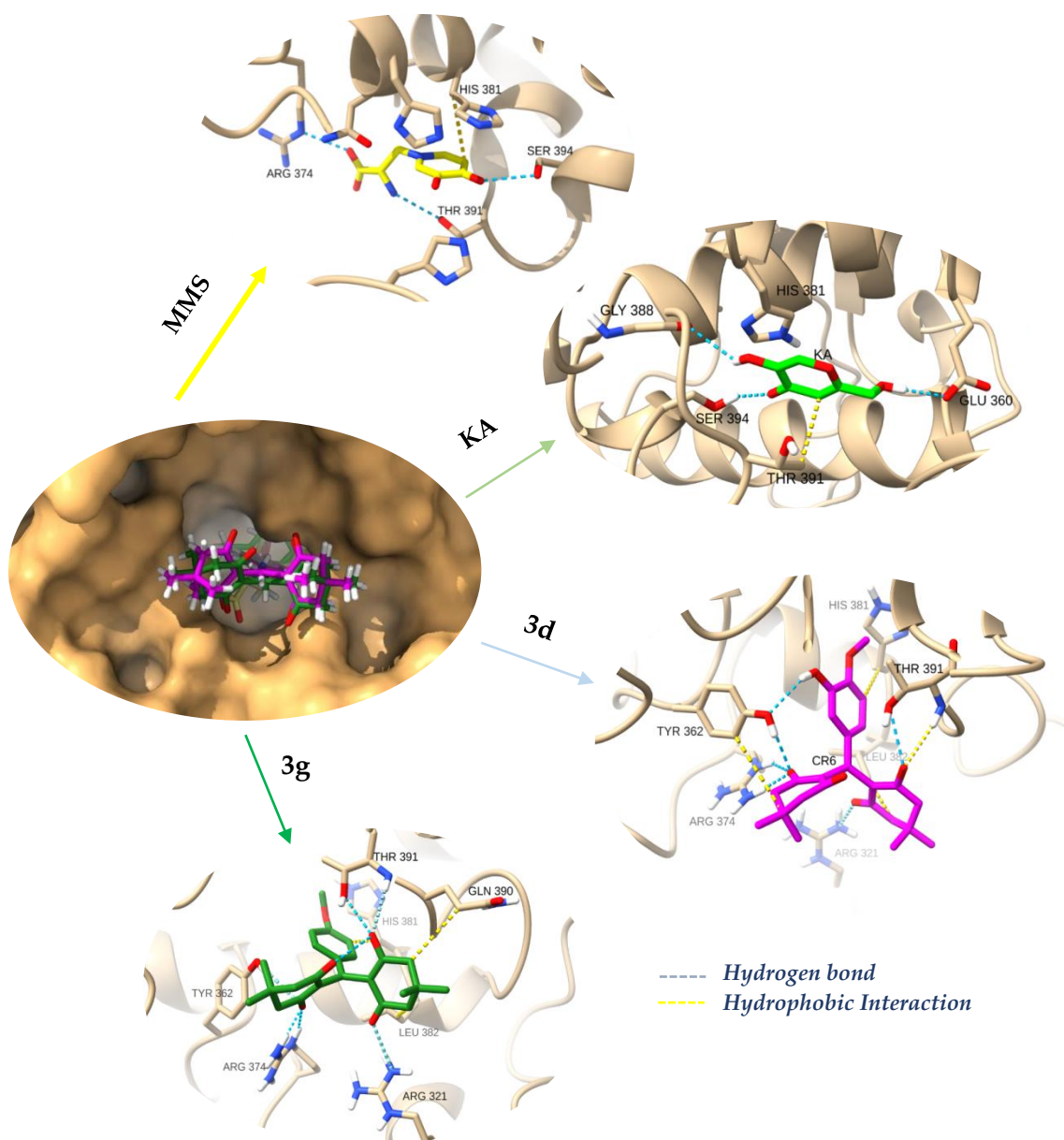


Figura 2. Interações dos controles MMS, Kojic acid e os potenciais inibidores **3d** e **3g** com sítio de ligação da tirosinase humana.

No ligante **3g** é possível observar interações do tipo hidrofóbica com os resíduos de aminoácidos de His381, Leu382 e Gln390 e ligações de hidrogênio com Arg321, Tyr362, Arg374 e Thr391. As interações no sítio de ligações atribuem alta estabilidade que contribuem para o posicionamento favorável do ligante por meio de interações hidrofóbicas e empilhamento $\pi-\pi$.

Toxicidade Aguda em zebrafish

O processo de embriogênese inicia-se logo após a fertilização dos ovos, estendendo-se até a eclosão, ocorrendo normalmente entre 48 e 96 horas pós-fertilização (hpf). Nessa fase, os estágios de desenvolvimento são assim classificados: 0 a 24 horas – ovo; 24 a 48 horas – embrião; 72 a 120 horas – eleuteroembrião, período em que os órgãos já estão completamente formados; e a partir de 144 horas, o organismo é considerado uma larva³⁷.

Foram utilizadas as concentrações de 0,01mg/mL, 0,02mg/mL e 0,05mg/mL para as amostras **3d** e **3g** e para os grupos controles, os embriões foram incubados em água e DMSO.

Para determinar a toxicidade foram levadas em consideração condições letais quanto às alterações teratogênicas, mortalidade, presença de coagulação, eclosão e ausência de separação da cauda e desenvolvimento de somitos. As quais foram realizadas através da análise em microscópio óptico nas seguintes horas: 24, 48, 72 e 96 horas pós fertilização (hpf)³². Os grupos controles e tratados apresentaram desenvolvimento embrionário normal, com taxas de sobrevivência elevadas, ausência de alterações teratogênicas visíveis, separação completa da cauda e formação regular dos somitos, sem sinais de coagulação ou atraso na eclosão durante todo o período experimental.

A ausência ou redução de pigmentação observada nos embriões tratados com **3d** e **3g** (fig.1), sugere um possível efeito inibitório sobre a via da melanogênese, processo fundamental para a síntese de melanina nos melanócitos do *zebrafish*. Segundo Ferreira et al. (2023), a melanogênese nos vertebrados é regulada principalmente pela enzima tirosinase (TYR), que catalisa as etapas iniciais de oxidação da L-tirosina e L-DOPA, etapas-chave para a formação de eumelaninas e feomelaninas. A ausência de pigmentação, portanto, pode estar relacionada à inibição direta da atividade da tirosinase ou à regulação negativa de genes envolvidos no processo (*TYR*, *TRP-1*, *TRP-2*, *MITF*), resultando na falha de formação ou deposição do pigmento.

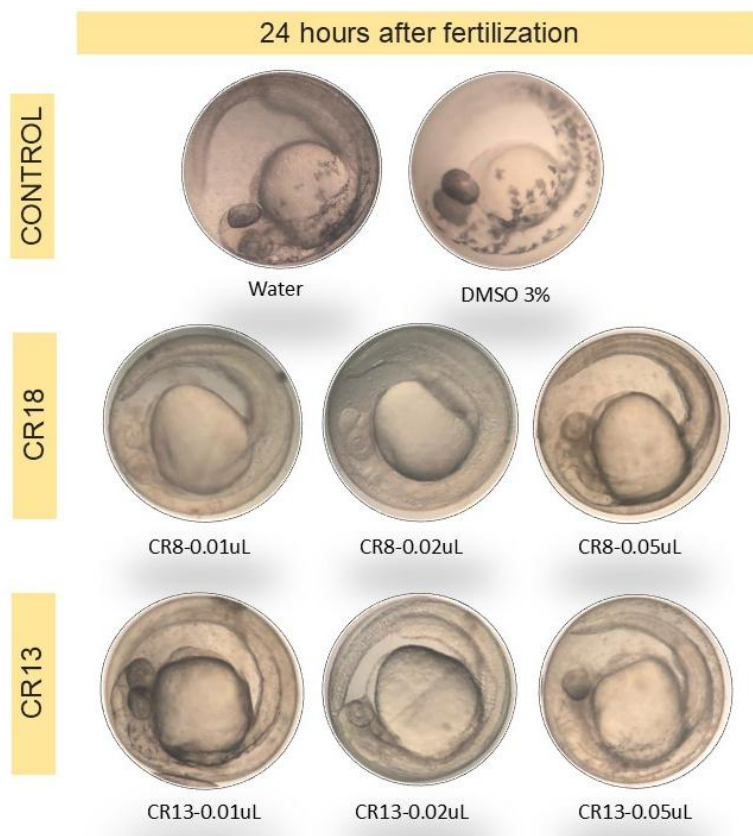


Figura 3. Morfologia dos embriões de zebrafish testados com as amostras **3d** e **3g** pós 24 hpf em comparação com os grupos controles, água e DMSO 3%.

CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou com sucesso a viabilidade de uma metodologia de síntese verde para derivados de tetracetonas, utilizando água como solvente e hidróxido de alumínio como catalisador, sob condições brandas. A maioria dos compostos foi obtida com rendimentos moderados a excelentes, confirmando a aplicabilidade do protocolo. As variações observadas no rendimento foram atribuídas principalmente à natureza eletrônica dos grupos substituintes nos aldeídos aromáticos, influenciando diretamente a reatividade do carbono carbonílico e, portanto, a eficiência da condensação com dimedona.

Adicionalmente, os derivados sintetizados foram submetidos a ensaios de *docking* molecular, nos quais os compostos **3d** e **3g** se destacaram com elevada afinidade pela tirosinase humana, superando inclusive o ácido kójico e a mimosina. Esses dados indicam forte potencial inibitório dessas moléculas frente à melanogênese.

Os ensaios de toxicidade aguda em *zebrafish* corroboraram a segurança biológica dos compostos testados, com ausência de efeitos letais ou teratogênicos. A redução de pigmentação observada nos embriões tratados sugere um efeito antimelanogênico *in vivo*, o que reforça o potencial desses derivados como candidatos para o desenvolvimento de agentes despigmentantes e cosméticos funcionais.

Portanto, os resultados aqui apresentados contribuem para o avanço na síntese de compostos bioativos por rotas ambientalmente sustentáveis, aliando rendimento sintético, segurança toxicológica e atividade biológica promissora.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa, fundamentais para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Araújo, I. F. de; Ramos, R. S.; Matos, M. J. S.; Santos, C. B. R.; Rameshrad, M.; Souto, N. P.; Ferreira, I. M. Natural Products Diversity from Genus *Aspergillus*: A Bioinformatics Study for Insecticidal Activity against the *Aedes aegypti* Vector. *J. Braz. Chem. Soc.* 2025. <https://doi.org/10.21577/01035053.20240161>
2. Bastos, R. S.; Aguiar, C. P. O.; Cruz, J. N.; Ramos, R. S.; Kimani, N. M.; Souza, J. S. N.; Chaves, M. H.; Freitas, H. F.; Pita, S. S. R.; Santos, C. B. R. Rational Approach toward COVID-19's Main Protease Inhibitors: A Hierarchical Biochemoinformatics Analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25(12). <https://doi.org/10.3390/ijms25126715>.
3. Ben Chabchoubi, I.; Bouchhima, R. A.; Louhichi, N.; Baanannou, A.; Masmoudi, S.; Hentati, O. Short-term Effects of Various Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) on *Danio rerio* Embryos. *MethodsX* 2023, 10, 102215.
4. Borah, B.; Swain, S.; Patat, M.; Kumar, B.; Prajapat, K. K.; Biswas, R.; Vasantha, R.; Chowhan, L. R. *Sci. Rep.* 2023, 13, 1386.
5. Brooks, B. R.; Bruccoleri, R. E.; Olafson, B. D.; States, D. J.; Swaminathan, S.; Karplus, M. CHARMM: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations. *J. Comput. Chem.* 1983, 4(2), 187–217. <https://doi.org/10.1002/jcc.540040211>.
6. Chimirri, A.; Gitto, R.; Zappalà, M. *Expert Opin. Ther. Pat.* 1999, 9, 557–570.

7. Ferreira, A. M.; Sena, I. S.; Curti, J.; Souza, A. A.; Lima, P. C. S.; Rodrigues, A. B. L.; Ramos, R. S.; Pinheiro, W. B. S.; Ferreira, I. M.; Carvalho, J. C. T. *Microorganisms*. 2023, 11, 1089.
8. Grunwald, D. J.; Eisen, J. S. Headwaters of the Zebrafish — Emergence of a New Model Vertebrate. *Nat. Rev. Genet.* 2002, 3, 717.
9. Guedes, I. A.; Silva, M. M. P.; Galheigo, M.; Krempser, E.; Magalhães, C. S.; Barbosa, H. J. C.; Dardenne, L. E. DockThor-VS: A Free Platform for Receptor-Ligand Virtual Screening. *J. Mol. Biol.* 2024, 436(17).
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2024.168548>.
10. Howe, K. et al. *Nature* 2013, 496, 498–503.
11. Ilangovan, A.; Malayappasamy, S.; Muralidharan, S.; Maruthamuthu, S. *Chem. Cent. J.* 2011, 5.
12. Jamison, J.; Krabill, K.; Hatwalkar, A.; Jamison, E.; Tsai, C. *Cell Biol. Int. Rep.* 1990, 14, 1075–1084.
13. Kagotani, K.; Nakayama, H.; Zang, L.; Fujimoto, Y.; Hayashi, A.; Sono, R.; Nishimura, N.; Shimada, Y. Lecithin-Based Dermal Drug Delivery for Anti-Pigmentation Maize Ceramide. *Molecules* 2020, 25(7), 1595.
<https://doi.org/10.3390/molecules25071595>.
14. Kali, V.; Maiti, B. *J. Mol. Struct.* 2024, 1299, 137053.
15. Kamali, F.; Shirini, F. *Polycycl. Aromat. Compd.* 2021, 41, 73–94.
16. Kamalifar, S.; Kiyani, H. *Polycycl. Aromat. Compd.* 2022, 42, 3675–3693.
17. Khan, K. M.; Maharvi, G. M.; Khan, M. T. H.; Shaikh, A. J.; Perveen, S.; Begum, S.; Choudhary, M. I. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 344–351.
18. Kettleborough, R. N. W. et al. *Nature* 2013, 496, 494–497.
19. Kimmel, C. B.; Ballard, W. W.; Kimmel, S. R.; Ullmann, B.; Schilling, T. F. Stages of Embryonic Development of the Zebrafish. *Dev. Dyn.* 1995, 203, 253–310.
20. Lai, X.; Wichers, H. J.; Soler-López, M.; Dijkstra, B. W. Structure of Human Tyrosinase Related Protein 1 Reveals a Binuclear Zinc Active Site Important for Melanogenesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2017, 56(33), 9812–9815.
21. Lammer, E.; Kamp, H. G.; Hisgen, V.; Koch, M.; Reinhard, D.; Salinas, E. R.; Wendler, K.; Zok, S.; Braunbeck, T. Development of a Flow-Through System for the Fish Embryo Toxicity Test (FET) with the Zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicol. In Vitro* 2009, 23, 1436–1442.
22. Laxmi, K. Chemsketch Study of Phenobarbital: An Antiepileptic Drug. *Int. J. Comput. Theor. Chem.* 2017, 5(3), 25.
<https://doi.org/10.11648/j.ijctc.20170503.11>.

23. Lu, L.; Huang, R.; Wu, Y.; Jin, J.-M.; Chen, H. Z.; Zhang, L.-J.; Luan, X. Brucine: A Review of Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. *Front. Pharmacol.* 2020, 11, 377.
24. Luo, Y.; Wang, J.; Li, S.; Wu, Y.; Wang, Z.; Chen, S.; Chen, H. Discovery and Identification of Potential Anti-Melanogenic Active Constituents of *Bletilla striata* by Zebrafish Model and Molecular Docking. *BMC Complement. Med. Ther.* 2022, 22(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03492-y>.
25. Magyar, Á.; Hell, Z. *Monatsh. Chem.* 2019, 150, 2021–2023.
26. Maharvi, G. M.; Ali, S.; Riaz, N.; Afza, N.; Malik, A.; Ashraf, M.; Iqbal, L.; Lateef, M. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2008, 23, 62–69.
27. Mandlimath, T. R.; Umamahesh, B.; Sathiyarayanan, K. I. *J. Mol. Catal. A: Chem.* 2014, 391, 198–207.
28. Muniz, R.; Matos, M. J.; Oliveira, A. N.; Porto, A. L. M.; Pokutsa, A.; Oliveira, F. F.; Jimenez, D. E. Q.; Ferreira, I. M. *Curr. Org. Chem.* 2025, 29, 119–126.
29. Mweene, P.; Muzaza, G. Implementation of Interactive Learning Media on Chemical Materials. *J. Educ. Verkenning* 2020, 1(1), 8–13. <https://doi.org/10.48173/jev.v1i1.24>.
30. Nemati, F.; Heravi, M. M.; Rad, R. S. *Chin. J. Catal.* 2012, 33, 1825–1831.
31. Njue, A. W.; Omolo, J.; Ramos, R. S.; Santos, C. B. R.; Kimani, N. M. Ergostanes from the Mushroom *Trametes versicolor* and Their Cancer Cell Inhibition: In Vitro and In Silico Evaluation. *Steroids* 2024, 212. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2024.109511>.
32. OECD. Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. OECD Publishing, Paris, 2013.
33. Patel, G.; Patel, A. R.; Kahar, N.; Kumar, M.; Das, U.; Seth, R.; Banerjee, S. *Chemistry Select* 2024, 9, e202401457.
34. Patil, R. C.; Zambare, D. N.; Damate, S. A.; Jagdale, A. A.; Mali, S. R.; Shinde, S. K.; Patil, S. S. *Res. Chem. Intermed.* 2022, 48, 2181–2198.
35. Rosa, G. P.; Palmeira, A.; Resende, D. I. S. P.; Almeida, I. F.; Kane-Pagès, A.; Barreto, M. C.; Sousa, E.; Pinto, M. M. M. Xanthones for Melanogenesis Inhibition: Molecular Docking and QSAR Studies. *Bioorg. Med. Chem.* 2021, 29, 115873.
36. Scopel, C. F. V.; Sousa, C.; Machado, M. R. F.; Santos, W. G. BPA Toxicity during Development of Zebrafish Embryo. *Braz. J. Biol.* 2021, 81(2), 437–447.

37. Strecker, R.; Weigt, S.; Braunbeck, T. Cartilage and Bone Malformations in the Head of Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos Following Exposure to Disulfiram and Acetic Acid Hydrazide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2013, 268, 221–231.
38. Thakur, D.; Kaur, M.; Malhi, D. S.; Garg, S.; Sharma, A.; Sohal, H. S. *Monatsh. Chem.* 2021, 152, 537–543.
39. Yen, J.; Donerly, S.; Levin, E. D.; Linney, E. D. Differential Acetylcholinesterase Inhibition of Chlorpyrifos, Diazinon and Parathion in Larval Zebrafish. *Neurotoxicol. Teratol.* 2011, 33(6), 735–741.
40. Khurana, J. M., & Vij, K. *J. Chem. Sci.* 2012, 124.
41. Yang, F.; Qiu, W.; Li, R.; Hu, J.; Luo, S.; Zhang, T.; He, X.; Zheng, C. Genome-wide identification of the interactions between key genes and pathways provide new insights into the toxicity of bisphenol F and S during early development in zebrafish. *Chemosphere* **2018**, 213, 559–567.
42. Kumar, P.; Sharma, V.; Singh, R. Effect of substituents on the reactivity of aromatic aldehydes in condensation reactions with dimedone. *Tetrahedron Lett.*, 2008, 49, 7205–7208.
43. Basha, S. K.; Kumar, R.; Rao, V. J. Substituent effects on the Knoevenagel condensation of aldehydes with active methylene compounds. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 2016, 422, 1–8.
44. Yadav, L. D. S.; Singh, V.; Kumar, A.; Rao, D. S. Catalyst-mediated synthesis of xanthenediones: substituent effects and mechanism. *J. Chem. Res.*, 2004, 2, 77–81.
45. Suresh, R.; Ramesh, A.; Devi, S. Electronic effects of substituents in multicomponent reactions of aldehydes and diketones. *Catal. Commun.*, 2012, 24, 45–50.
46. Doherty, S.; Chamberlain, T. W.; Green, J.; Smith, R. Highly efficient aqueous phase chemoselective reactions using ionic liquids. *Green Chem.*, 2017, 19, 111–114.
47. Ryan, R.; O'sullivan, T.; Murphy, R. Organic synthesis in ionic liquids. *Green Chem.*, 2003, 5, 1–10.
48. Zeger, V. R.; Jones, M. L.; Clark, D. Ionic liquids in analytical chemistry. *Anal. Chem.*, 2025, 97, 1–15.
49. Orralba, R.; Velázquez-Herrera, F. D.; Velasco, M.; Alvarado, C.; Fetter, G. Lial-Ldh: a heterogeneous catalyst for the multicomponent synthesis of coumarin-3-carboxamide derivatives. *Res. Chem. Intermed.*, 2025, 51(6), 3003–3018.
50. Monem, A.; et al. A potential DES catalyst for the fast and green synthesis of quinoline derivatives. *Sci. Rep.*, 2024, 14, 69817.

51. Hashmi, S. Z.; et al. Green advancements towards the electrochemical synthesis of N-, S-, and O-heterocycles. *RSC Adv.*, 2024, 14, 12345.
52. Kantevari, S.; Bantu, R.; Nagarapu, L. HClO₄-SiO₂ and PPA-SiO₂ catalyzed efficient one-pot Knoevenagel condensation, Michael addition and cyclo-dehydration of dimedone and aldehydes in acetonitrile, aqueous and solvent free conditions: Scope and limitations. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, 2007, 269(1-2), 53-57. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.MOLCATA.2006.12.039>. Acesso em: 25 set. 2025.
53. Kumar, S.; Verma, N.; Ahmed, N. Microwave assisted highly efficient one-pot multi-component synthesis of novel 2-(tetrasubstituted-1H-pyrrol-3-yl)-4H-chroman-4-ones catalyzed by heterogeneous reusable silica gel supported polyphosphoric acid (PPA/SiO₂). *J. Saudi Chem. Soc.*, 2018, 22(2), 136-145. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.JSCS.2016.01.005>. Acesso em: 25 set. 2025.
54. Mallouk, S.; Bougrin, K.; Laghzizil, A.; Benhida, R. Microwave-assisted and efficient solvent-free Knoevenagel condensation. A sustainable protocol using porous calcium hydroxyapatite as catalyst. *Molecules*, 2010, 15(2), 813-823. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules15020813>. Acesso em: 25 set. 2025.
55. Rao, K.; Kumar, M.; Kumar, A. Note: An efficient and simple synthesis of tetraketones catalyzed by Yb(OTf)₃-SiO₂ under solvent free conditions. *Indian J. Chem.*, 2011, 50, [páginas não informadas].
56. Souza G, Duarte J, Fernandes C, Moyado J, Navarrete A, Carvalho J. 2016. Obtainment and study of the toxicity of perillyl alcohol nanoemulsion on zebrafish (*Danio rerio*). *J Nanomed Res* 4(4):00093. doi:10.15406/jnmr.2016.04.00093.
57. Borges RS, Keita H, Ortiz BLS, dos Santos Sampaio TI, Ferreira IM, Lima ES, de Jesus Amazonas da Silva M, Fernandes CP, de Faria Mota Oliveira AEM, da Conceição EC, et al. 2018. Anti-inflammatory activity of nanoemulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.: *in vitro* and in zebrafish studies. *Inflammopharmacology*. 26(4):1057-1080. doi:10.1007/s10787-017-0438-9.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Neste trabalho, foi possível aplicar uma metodologia eficiente e ambientalmente sustentável para a síntese de derivados de tetracetonas, utilizando água como solvente e hidróxido de alumínio como catalisador heterogêneo. Essa abordagem está alinhada com os princípios da química verde, promovendo reações em meio aquoso e condições brandas, com rendimentos satisfatórios para a maioria dos compostos sintetizados. Ainda que algumas reações tenham apresentado rendimento inferior, os resultados obtidos demonstram a viabilidade da metodologia proposta, cuja simplicidade e eficiência a tornam promissora para a síntese de novos derivados bioativos.

A caracterização estrutural dos compostos obtidos confirmou a formação dos derivados de tetracetonas desejados e os ensaios *in silico* indicaram potencial atividade inibitória frente à enzima tirosinase. Os estudos de *docking* molecular revelaram interações favoráveis entre os compostos sintetizados e o sítio ativo da enzima, com energias de ligação comparáveis ou superiores aos padrões de referência, como o ácido kójico. Tais resultados corroboram a hipótese de que modificações estruturais nas tetracetonas podem otimizar sua afinidade pelo alvo enzimático e reforçam sua relevância como possíveis candidatos a inibidores seletivos da tirosinase.

Os testes de toxicidade aguda realizados com o modelo *zebrafish* (*Danio rerio*) demonstraram a aplicabilidade deste organismo na triagem de segurança dos compostos sintetizados. Os dados obtidos evidenciam que nas concentrações testadas, a maioria dos compostos apresentou baixa toxicidade e efeito antimelanogênico visível, reforçando seu potencial para aplicações dermatológicas e cosméticas. A utilização do *zebrafish* também mostrou-se vantajosa por sua alta sensibilidade, baixo custo e conformidade com os princípios éticos da experimentação animal.

Dessa forma, este estudo contribui significativamente para o avanço no desenvolvimento de novas moléculas com potencial atividade antitirosinase, propondo uma rota sintética limpa e eficiente, integrando técnicas computacionais e modelos alternativos de avaliação biológica. Como perspectivas futuras, este trabalho abre portas para a busca de novos derivados de tetracetonas com diferentes grupos funcionais, bem como a realização de ensaios adicionais de eficácia e segurança *in vivo*, com foco na aplicação terapêutica ou cosmética dos compostos mais promissores.

- ALI, S., MAHARVI, G. M., RIAZ, N., AFZA, N., MALIK, A., REHMAN, A. U., LATEEF, M., & IQBAL, L. (2009). 58 (2): 92 Lipoxygenase Inhibitory Tetraketones: Potential Remedial Source for Inflammation and Asthma Las Tetracetonas Inhibidoras de la Lipoxygenasa: Fuente Potencial Remedial para la Inflamación y el Asma. In *West Indian*.
- BAE-HARBOE, Y. S. C., & PARK, H. Y. (2012). Tyrosinase: A central regulatory protein for cutaneous pigmentation. In *Journal of Investigative Dermatology* (Vol. 132, Issue 12, pp. 2678–2680). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.324>
- BASTOS, R. S., DE AGUIAR, C. P. O., CRUZ, J. N., RAMOS, R. S., KIMANI, N. M., DE SOUZA, J. S. N., CHAVES, M. H., DE FREITAS, H. F., PITA, S. S. R., & SANTOS, C. B. R. DOS. (2024). Rational Approach toward COVID-19's Main Protease Inhibitors: A Hierarchical Biochemoinformatics Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12). <https://doi.org/10.3390/ijms25126715>
- BASTOS, R. S., DE AGUIAR, C. P. O., CRUZ, J. N., RAMOS, R. S., KIMANI, N. M., DE SOUZA, J. S. N., CHAVES, M. H., DE FREITAS, H. F., PITA, S. S. R., & SANTOS, C. B. R. dos. (2024). Rational Approach toward COVID-19's Main Protease Inhibitors: A Hierarchical Biochemoinformatics Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12). <https://doi.org/10.3390/ijms25126715>
- BOO, Y. C. (2019). Human Skin Lightening Efficacy of Resveratrol and Its Analogs: From in vitro Studies to Cosmetic Applications. *Antioxidants*, 8(9), 332. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX8090332>
- BORAH, B., SWAIN, S., PATAT, M., KUMAR, B., PRAJAPAT, K. K., BISWAS, R., VASANTHA, R., & CHOWHAN, L. R. (2023). Brønsted acid catalyzed mechanochemical domino multicomponent reactions by employing liquid assisted grindstone chemistry. *Scientific Reports*, 13(1), 1386. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27948-Y>
- BROOKS, B. R., BRUCCOLERI, R. E., OLAFSON, B. D., STATES, D. J., SWAMINATHAN, S., & KARPLUS, M. (1983). <scp>CHARMM</scp> : A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. *Journal of Computational Chemistry*, 4(2), 187–217. <https://doi.org/10.1002/jcc.540040211>.
- BROOKS, B. R., BRUCCOLERI, R. E., OLAFSON, B. D., STATES, D. J., SWAMINATHAN, S., & KARPLUS, M. (1983). <scp>CHARMM</scp> : A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. *Journal of Computational Chemistry*, 4(2), 187–217. <https://doi.org/10.1002/jcc.540040211>
- CHANG, T. S. (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 10, Issue 6, pp. 2440–2475). <https://doi.org/10.3390/ijms10062440>
- CHEN, Y. M., SU, W. C., LI, C., SHI, Y., CHEN, Q. X., ZHENG, J., TANG, D. L., CHEN, S. M., & WANG, Q. (2019). Anti-melanogenesis of novel kojic acid derivatives in B16F10 cells and zebrafish. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 723–731. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.031>
- CHIMIRRI, A., GITTO, R., & ZAPPALÀ, M. (1999). AMPA receptor antagonists. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 9(5), 557–570. <https://doi.org/10.1517/13543776.9.5.557>

- CHIMIRRI, A., GITTO, R., & ZAPPALÀ, M. (1999). AMPA receptor antagonists. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 9(5), 557–570. <https://doi.org/10.1517/13543776.9.5.557>
- CHOI, T. Y., KIM, J. H., KO, D. H., KIM, C. H., HWANG, J. S., AHN, S., KIM, S. Y., KIM, C. D., LEE, J. H., & YOON, T. J. (2007). Zebrafish as a new model for phenotype-based screening of melanogenic regulatory compounds. *Pigment Cell Research*, 20(2), 120–127. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2007.00365.x>
- ĐORĐIĆ, M., MATIĆ, I. Z., FILIPOVIĆ-LJEŠKOVIĆ, I., DŽODIĆ, R., ŠAŠIĆ, M., ERIĆ-NIKOLIĆ, A., VULETIĆ, A., KOLUNDŽIJA, B., DAMJANOVIĆ, A., GROZDANIĆ, N., NIKOLIĆ, S., PRALICA, J., DOBROSAVLJEVIĆ, D., RAŠKOVIĆ, S., ANDREJEVIĆ, S., & JURANIĆ, Z. (2012). Immunity to melanin and to tyrosinase in melanoma patients, and in people with vitiligo. <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/12/109>
- ESPÓSITO, A. C. C., CASSIANO, D. P., DA SILVA, C. N., LIMA, P. B., DIAS, J. A. F., HASSUN, K., BAGATIN, E., MIOT, L. D. B., & MIOT, H. A. (2022). Update on Melasma—Part I: Pathogenesis. In *Dermatology and Therapy* (Vol. 12, Issue 9, pp. 1967–1988). Adis. <https://doi.org/10.1007/s13555-022-00779-x>
- F. DE ARAÚJO, I., S. RAMOS, R., J. S. MATOS, M., B. R. DOS SANTOS, C., RAMESHRAD, M., N. P. SOUTO, R., & M. FERREIRA, I. (2025). Natural Products Diversity from Genus *Aspergillus*: A Bioinformatics Study for Insecticidal Activity against the *Aedes aegypti* Vector. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20240161>
- F. DE ARAÚJO, I., S. RAMOS, R., J. S. MATOS, M., B. R. DOS SANTOS, C., RAMESHRAD, M., N. P. SOUTO, R., & M. FERREIRA, I. (2025). Natural Products Diversity from Genus *Aspergillus*: A Bioinformatics Study for Insecticidal Activity against the *Aedes aegypti* Vector. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20240161>
- FAN, M., ZHANG, G., HU, X., XU, X., & GONG, D. (2017). Quercetin as a tyrosinase inhibitor: Inhibitory activity, conformational change and mechanism. *Food Research International*, 100(Pt 1), 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.010>
- FERNANDES, M. S., & KERKAR, S. (2017). Microorganisms as a source of tyrosinase inhibitors: a review. *Annals of Microbiology*, 67(4), 343–358. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1261-7>
- FERREIRA, A. M., DE SOUZA, A. A., KOGA, R. DE C. R., SENA, I. DA S., MATOS, M. DE J. S., TOMAZI, R., FERREIRA, I. M., & CARVALHO, J. C. T. (2023). Anti-Melanogenic Potential of Natural and Synthetic Substances: Application in Zebrafish Model. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules28031053>
- GUEDES, I. A., PEREIRA DA SILVA, M. M., GALHEIGO, M., KREMPSER, E., DE MAGALHÃES, C. S., CORREA BARBOSA, H. J., & DARDENNE, L. E. (2024). DockThor-VS: A Free Platform for Receptor-Ligand Virtual Screening. *Journal of Molecular Biology*, 436(17). <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2024.168548>
- HASSAN, M., SHAHZADI, S., & KLOCZKOWSKI, A. (2023). Tyrosinase Inhibitors Naturally Present in Plants and Synthetic Modifications of These Natural Products as Anti-Melanogenic Agents: A Review. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules28010378>

- HOWE, K., CLARK, M. D., TORROJA, C. F., TORRANCE, J., BERTHELOT, C., MUFFATO, M., COLLINS, J. E., HUMPHRAY, S., MCLAREN, K., MATTHEWS, L., MCLAREN, S., SEALY, I., CACCAMO, M., CHURCHER, C., SCOTT, C., BARRETT, J. C., KOCH, R., RAUCH, G. J., WHITE, S., ... STEMPLE, D. L. (2013). The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, 496(7446), 498–503. <https://doi.org/10.1038/nature12111>
- HUANG, R., WANG, Y., TENG, H., XU, M., HE, K., SHEN, Y., GUO, G., FENG, X., LI, T., ZHOU, B., BAJENOFF, M., LAWRENCE, T., LIANG, Y., LU, L., & ZHANG, L. (2025). Tyrosinase in melanoma inhibits anti-tumor activity of PD-1 deficient T cells. *BMC Biology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12915-025-02237-4>
- ILANGOVA, A., MALAYAPPASAMY, S., MURALIDHARAN, S., & MARUTHAMUTHU, S. (2011). A highly efficient green synthesis of 1, 8-dioxo-octahydroxanthenes. *Chemistry Central Journal*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/1752-153X-5-81>
- JAKOVIJA, A., & CHTANOVA, T. (2023). Skin immunity in wound healing and cancer. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1060258>
- JAMISON, J., KRABILL, K., HATWALKAR, A., JAMISON, E., & TSAI, C. (1990). Potentiation of the antiviral activity of poly r(A-U) by xanthene dyes. *Cell Biology International Reports*, 14(12), 1075–1084. [https://doi.org/10.1016/0309-1651\(90\)90015-Q](https://doi.org/10.1016/0309-1651(90)90015-Q)
- JAMISON, J., KRABILL, K., HATWALKAR, A., JAMISON, E., & TSAI, C. (1990). Potentiation of the antiviral activity of poly r(A-U) by xanthene dyes. *Cell Biology International Reports*, 14(12), 1075–1084. [https://doi.org/10.1016/0309-1651\(90\)90015-Q](https://doi.org/10.1016/0309-1651(90)90015-Q)
- JANG, D. K., PHAM, C. H., LEE, I. S., JUNG, S. H., JEONG, J. H., SHIN, H. S., & YOO, H. M. (2020). Anti-melanogenesis activity of 6-O-isobutyrylbritannilactone from *Inula britannica* on B16F10 melanocytes and in vivo zebrafish models. *Molecules*, 25(17). <https://doi.org/10.3390/molecules25173887>
- JIMBOW, K., ISHII-OSAI, Y., ITO, S., TAMURA, Y., ITO, A., YONETA, A., KAMIYA, T., YAMASHITA, T., HONDA, H., WAKAMATSU, K., MURASE, K., NOHARA, S., NAKAYAMA, E., HASEGAWA, T., YAMAMOTO, I., & KOBAYASHI, T. (2013). Melanoma-Targeted Chemotherapy and In Situ Peptide Immunotherapy through HSP Production by Using Melanogenesis Substrate, NPrCAP, and Magnetite Nanoparticles . *Journal of Skin Cancer*, 2013, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2013/742925>
- KAGOTANI, K., NAKAYAMA, H., ZANG, L., FUJIMOTO, Y., HAYASHI, A., SONO, R., NISHIMURA, N., & SHIMADA, Y. (2020). Lecithin-Based Dermal Drug Delivery for Anti-Pigmentation Maize Ceramide. *Molecules*, 25(7), 1595. <https://doi.org/10.3390/molecules25071595>
- KAGOTANI, K., NAKAYAMA, H., ZANG, L., FUJIMOTO, Y., HAYASHI, A., SONO, R., NISHIMURA, N., & SHIMADA, Y. (2020). Lecithin-Based Dermal Drug Delivery for Anti-Pigmentation Maize Ceramide. *Molecules*, 25(7), 1595. <https://doi.org/10.3390/molecules25071595>
- KALI, V., & MAITI, B. (2024). The expediency of [BCMIM][Cl] ionic salt in the synthesis of tetraketones: Insights into their photophysical properties and theoretical calculations. *Journal of Molecular Structure*, 1299, 137053. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2023.137053>

- KALI, V., & MAITI, B. (2024A). The expediency of [BCMIM][Cl] ionic salt in the synthesis of tetraketones: Insights into their photophysical properties and theoretical calculations. *Journal of Molecular Structure*, 1299. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137053>
- KALUEFF, A. V., STEWART, A. M., & GERLAI, R. (2014). Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends in Pharmacological Sciences*, 35(2), 63–75. <https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2013.12.002>
- KAMALI, F., & SHIRINI, F. (2021). Melamine: An Efficient Promoter for Some of the Multi-component Reactions. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 41(1), 73–94. <https://doi.org/10.1080/10406638.2019.1570949>
- KAMALIFAR, S., & KIYANI, H. (2022). Facile and Efficient Synthesis of 9-Aryl-1,8-Dioxo-Octahydroxanthenes Catalyzed by Sulfacetamide. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 42(6), 3675–3693. <https://doi.org/10.1080/10406638.2021.1872656>
- KATIYAR, S., YADAV, D., & SINGH, S. K. (2024). Markers of Oxidative Stress and Tyrosinase Activity in Melasma Patients: A Biochemical Investigation. *Current Protein & Peptide Science*, 25(2), 183–188. <https://doi.org/10.2174/0113892037269116231115065458>
- KHAN, K. M., MAHARVI, G. M., KHAN, M. T. H., JABBAR SHAIKH, A., PERVEEN, S., BEGUM, S., & CHOUDHARY, M. I. (2006A). Tetraketones: A new class of tyrosinase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14(2), 344–351. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.08.029>
- KHAN, K. M., MAHARVI, G. M., KHAN, M. T. H., JABBAR SHAIKH, A., PERVEEN, S., BEGUM, S., & CHOUDHARY, M. I. (2006B). Tetraketones: A new class of tyrosinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(2), 344–351. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2005.08.029>
- KHAN, K. M., MAHARVI, G. M., KHAN, M. T. H., JABBAR SHAIKH, A., PERVEEN, S., BEGUM, S., & CHOUDHARY, M. I. (2006). Tetraketones: A new class of tyrosinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(2), 344–351. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2005.08.029>
- KHURANA, J. M., & VIJ, K. (2012). Nickel nanoparticles: A highly efficient catalyst for one pot synthesis of tetraketones and biscoumarins. In *J. Chem. Sci* (Vol. 124, Issue 4).
- KIM, H. DO, CHOI, H., ABEKURA, F., PARK, J. Y., YANG, W. S., YANG, S. H., & KIM, C. H. (2023). Naturally-Occurring Tyrosinase Inhibitors Classified by Enzyme Kinetics and Copper Chelation. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms24098226>
- LAI, X., WICHERS, H. J., SOLER-LOPEZ, M., & DIJKSTRA, B. W. (2017). Structure of Human Tyrosinase Related Protein 1 Reveals a Binuclear Zinc Active Site Important for Melanogenesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 56(33), 9812–9815. <https://doi.org/10.1002/anie.201704616>
- LAI, X., WICHERS, H. J., SOLER-LOPEZ, M., & DIJKSTRA, B. W. (2017). Structure of Human Tyrosinase Related Protein 1 Reveals a Binuclear Zinc Active Site Important for Melanogenesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 56(33), 9812–9815. <https://doi.org/10.1002/anie.201704616>

- LAXMI, K. (2017). Chemsketch Study of Phenobarbital: An Antiepileptic Drug. *International Journal of Computational and Theoretical Chemistry*, 5(3), 25. <https://doi.org/10.11648/j.ijctc.20170503.11>
- LAXMI, K. (2017). Chemsketch Study of Phenobarbital: An Antiepileptic Drug. *International Journal of Computational and Theoretical Chemistry*, 5(3), 25. <https://doi.org/10.11648/j.ijctc.20170503.11>
- LEE, A. Y. (2015). Recent progress in melasma pathogenesis. In *Pigment Cell and Melanoma Research* (Vol. 28, Issue 6, pp. 648–660). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/pcmr.12404>
- LIU, J. K. (2022). Natural products in cosmetics. In *Natural Products and Bioprospecting* (Vol. 12, Issue 1). Springer. <https://doi.org/10.1007/s13659-022-00363-y>
- LIU, W., CHEN, Q., & XIA, Y. (2023). NEW Mechanistic Insights of Melasma. In *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* (Vol. 16, pp. 429–442). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/CCID.S396272>
- LUO, Y., WANG, J., LI, S., WU, Y., WANG, Z., CHEN, S., & CHEN, H. (2022). Discovery and identification of potential anti-melanogenic active constituents of *Bletilla striata* by zebrafish model and molecular docking. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03492-y>
- LV, Y., YAO, C., HAN, K., XIE, D., XIE, S., XU, J., ZHAO, P., & YANG, X. (2025). Investigation of the Inhibitory Activity of β -Arbutin and its Analogues on Tyrosinase Based on Molecular Docking and Enzyme Inhibition Kinetics. *Chemistry and Biodiversity*, 22(2). <https://doi.org/10.1002/CBDV.202402040>,
- MACRAE, C. A., & PETERSON, R. T. (2015). Zebrafish as tools for drug discovery. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 14, Issue 10, pp. 721–731). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrd4627>
- MAGYAR, Á., & HELL, Z. (2019). Simple and efficient synthesis of 2,2'-arylmethylenebis(3-hydroxy-5,5-dimethyl-2-cyclohexene-1-one) derivatives. *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*, 150(12), 2021–2023. <https://doi.org/10.1007/s00706-019-02515-2>
- MAGYAR, Á., & HELL, Z. (2019). Simple and efficient synthesis of 2,2'-arylmethylenebis(3-hydroxy-5,5-dimethyl-2-cyclohexene-1-one) derivatives. *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*, 150(12), 2021–2023. <https://doi.org/10.1007/s00706-019-02515-2>
- MAHARVI, G. M., ALI, S., RIAZ, N., AFZA, N., MALIK, A., ASHRAF, M., IQBAL, L., & LATEEF, M. (2008A). Mild and efficient synthesis of new tetraketones as lipoxygenase inhibitors and antioxidants. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23(1), 62–69. <https://doi.org/10.1080/14756360701408754>
- MANDLIMATH, T. R., UMAMAHESH, B., & SATHIYANARAYANAN, K. I. (2014). Rapid one pot synthesis of xanthene derivatives by an efficient and reusable nano-ZnAl₂O₄ – An insight into a new process. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 391, 198–207. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCATA.2014.04.030>
- MOHAMMADIAN, N., & AKHLAGHINIA, B. (2018). Calcined oyster shell nanoparticles (COS NPs): a new, efficient and reusable catalyst for one-pot rapid preparation of 1,8-dioxo-

octahydroxanthenes under solvent-free conditions. *Research on Chemical Intermediates*, 44(2), 1085–1103. <https://doi.org/10.1007/S11164-017-3153-7/TABLES/4>

MORRIS, G. M., & LIM-WILBY, M. (2008). Molecular Docking. *Methods in Molecular Biology*, 443, 365–382. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19

MUNIZ, R., MATOS, M. J., OLIVEIRA, A. DE N. DE, PORTO, A. L. M., POKUTSA, A., OLIVEIRA, F. F., JIMENEZ, D. E. Q., & FERREIRA, I. M. (2024). “Green” Synthesis of Substituted Tetraketones with Prominent Bactericide Effect. *Current Organic Chemistry*, 29(2), 119–126. <https://doi.org/10.2174/0113852728310688240711064139>

MWEENE, P., & MUZAZA, G. (2020). Implementation of Interactive Learning Media on Chemical Materials. *Journal Educational Verkenning*, 1(1), 8–13. <https://doi.org/10.48173/jev.v1i1.24>

NEMATI, F., HERAVI, M. M., & SAEEDI RAD, R. (2012). Nano-Fe₃O₄ Encapsulated-Silica Particles Bearing Sulfonic Acid Groups as a Magnetically Separable Catalyst for Highly Efficient Knoevenagel Condensation and Michael Addition Reactions of Aromatic Aldehydes with 1,3-Cyclic Diketones. *Chinese Journal of Catalysis*, 33(11–12), 1825–1831. [https://doi.org/10.1016/S1872-2067\(11\)60455-5](https://doi.org/10.1016/S1872-2067(11)60455-5)

NJUE, A. W., OMOLO, J., RAMOS, R. S., SANTOS, C. B. R., & KIMANI, N. M. (2024). Ergostanes from the mushroom *Trametes versicolor* and their cancer cell inhibition: In vitro and in silico evaluation. In *Steroids* (Vol. 212). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2024.109511>

OLIVEIRA, N. S. M. DE. (2011). UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS-UFAM FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS-FCF PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS-PPGCF AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E EFEITO SOBRE A MELANOGÊNESE DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Passiflora nitida* Kunth.

PATEL, G., PATEL, A. R., KAHAR, N., KUMAR, M., DAS, U., SETH, R., & BANERJEE, S. (2024). Rice Husk Derived Activated Carbon-Catalyzed Synthesis of Coumarin Derivatives: Study of Anti-Cancer Activity. *ChemistrySelect*, 9(37), e202401457. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/slct.202401457>

PATIL, R. C., ZAMBARE, D. N., DAMATE, S. A., JAGDALE, A. A., MALI, S. R., SHINDE, S. K., & PATIL, S. S. (2022). Chickpea leaf exudates (CLE) mediated Knoevenagel–Michael reactions for the synthesis of diketodiols and biscoumarins. *Research on Chemical Intermediates*, 48(5), 2181–2198. <https://doi.org/10.1007/s11164-022-04707-8>

QU, Y., ZHAN, Q., DU, S., DING, Y., FANG, B., DU, W., WU, Q., YU, H., LI, L., & HUANG, W. (2020). Catalysis-based specific detection and inhibition of tyrosinase and their application. In *Journal of Pharmaceutical Analysis* (Vol. 10, Issue 5, pp. 414–425). Xi’an Jiaotong University. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.07.004>

REPERT, S., MATTHES, S., & ROZHON, W. (2022). Quantification of Arbutin in Cosmetics, Drugs and Food Supplements by Hydrophilic-Interaction Chromatography. *Molecules*, 27(17), 5673. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27175673/S1>

RONG, L., LI, X., WANG, H., SHI, D., TU, S., & ZHUANG, Q. (2006). Reaction of imines with 5,5-dimethyl-1,3-cyclohexandione. *Synthetic Communications*, 36(16), 2345–2353. <https://doi.org/10.1080/00397910600640131>

- ROSA, G. P., PALMEIRA, A., RESENDE, D. I. S. P., ALMEIDA, I. F., KANE-PAGÈS, A., BARRETO, M. C., SOUSA, E., & PINTO, M. M. M. (2021). Xanthones for melanogenesis inhibition: Molecular docking and QSAR studies to understand their anti-tyrosinase activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 29, 115873. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115873>
- ROSA, G. P., PALMEIRA, A., RESENDE, D. I. S. P., ALMEIDA, I. F., KANE-PAGÈS, A., BARRETO, M. C., SOUSA, E., & PINTO, M. M. M. (2021). Xanthones for melanogenesis inhibition: Molecular docking and QSAR studies to understand their anti-tyrosinase activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 29, 115873. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115873>
- SATOOKA, H., & KUBO, I. (2012). Resveratrol as a k cat type inhibitor for tyrosinase: Potentiated melanogenesis inhibitor. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(2), 1090–1099. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.11.030>
- STRÄHLE, U., SCHOLZ, S., GEISLER, R., GREINER, P., HOLLERT, H., RASTEGAR, S., SCHUMACHER, A., SELDESLAGHS, I., WEISS, C., WITTERS, H., & BRAUNBECK, T. (2012). Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments—A commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations. *Reproductive Toxicology*, 33(2), 128–132. <https://doi.org/10.1016/J.REPROTOX.2011.06.121>
- SUN, X., ZHANG, N., YIN, C., ZHU, B., & LI, X. (2020). Ultraviolet Radiation and Melanomagenesis: From Mechanism to Immunotherapy. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00951>
- TEIXEIRA, R. DA S., ROCHA, P. R., POLONINI, H. C., BRANDÃO, M. A. F., CHAVES, M. DAS G. A. MI. M., & RAPOSO, N. R. B. (2012). Mushroom tyrosinase inhibitory activity and major fatty acid constituents of Amazonian native flora oils. In *Article Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* (Vol. 48, Issue 3).
- THAKUR, D., KAUR, M., MALHI, D. S., GARG, S., SHARMA, A., & SOHAL, H. S. (2021). 2,2'-(Arylmethylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-enone) crystals formation via atom economy reaction and their antioxidant activity. *Monatshefte Fur Chemie*, 152(5), 537–543. <https://doi.org/10.1007/s00706-021-02767-x>
- WOLCHOK, J. D., YUAN, J., HOUGHTON, A. N., GALLARDO, H. F., RASALAN, T. S., WANG, J., ZHANG, Y., RANGANATHAN, R., CHAPMAN, P. B., KROWN, S. E., LIVINGSTON, P. O., HEYWOOD, M., RIVIERE, I., PANAGEAS, K. S., TERZULLI, S. L., & PERALES, M. A. (2007). Safety and immunogenicity of tyrosinase DNA vaccines in patients with melanoma. *Molecular Therapy*, 15(11), 2044–2050. <https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300290>
- WU, K. C., HSEU, Y. C., SHIH, Y. C., SIVAKUMAR, G., SYU, J. T., CHEN, G. L., LU, M. T., & CHU, P. C. (2022). Calycosin, a Common Dietary Isoflavonoid, Suppresses Melanogenesis through the Downregulation of PKA/CREB and p38 MAPK Signaling Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3). <https://doi.org/10.3390/ijms23031358>
- WU, L., CHEN, C., CHENG, C., DAI, H., AI, Y., LIN, C., & CHUNG, Y. (2018). Evaluation of Tyrosinase Inhibitory, Antioxidant, Antimicrobial, and Antiaging Activities of *Magnolia officinalis* Extracts after *Aspergillus Niger* Fermentation. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5201786>
- ZHANG, M., CHEN, M. N., LI, J. M., LIU, N., & ZHANG, Z. H. (2019). Visible-Light-Initiated One-Pot, Three-Component Synthesis of 2-Amino-4 H-pyran-3,5-dicarbonitrile

Derivatives. ACS Combinatorial Science, 21(10), 685–691.
https://doi.org/10.1021/ACSCOMBSCI.9B00124/SUPPL_FILE/CO9B00124_SI_001.PDF

Figura 10. FT-IR of 2,2'-((2-fluorophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3a**.

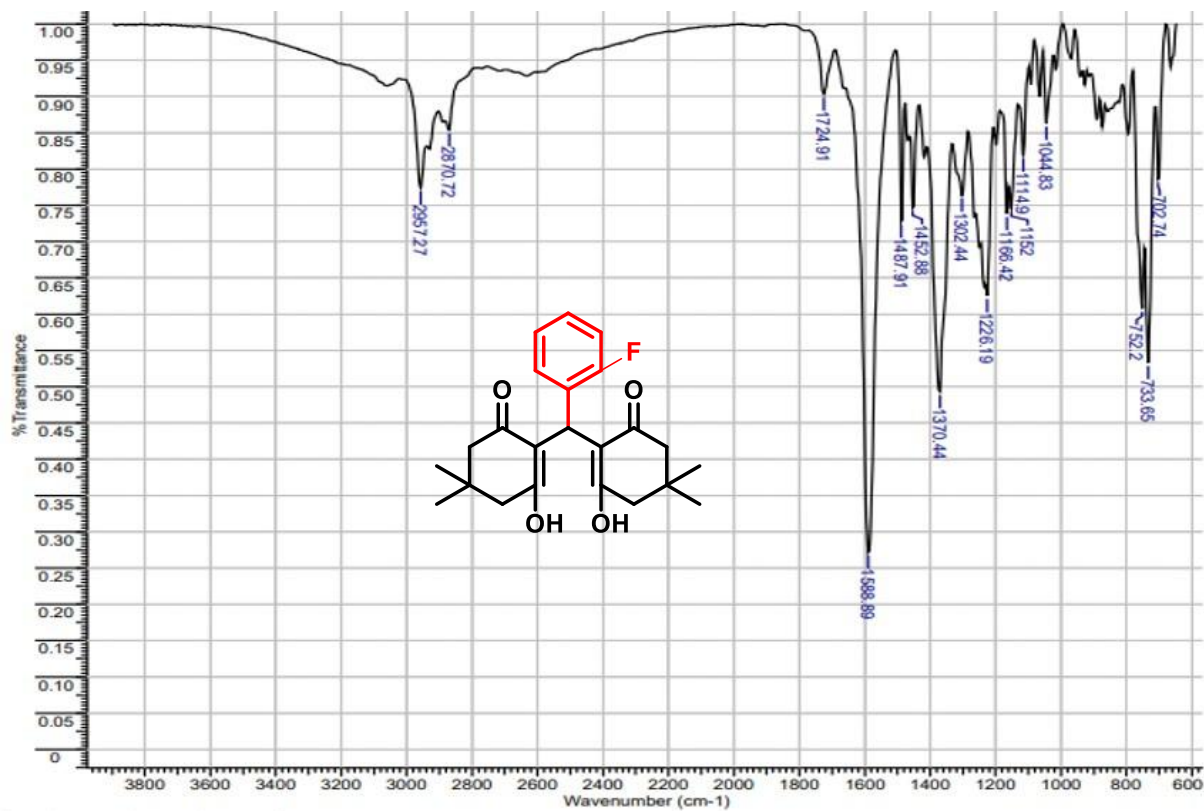


Figure 11. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((2-fluorophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3a**.

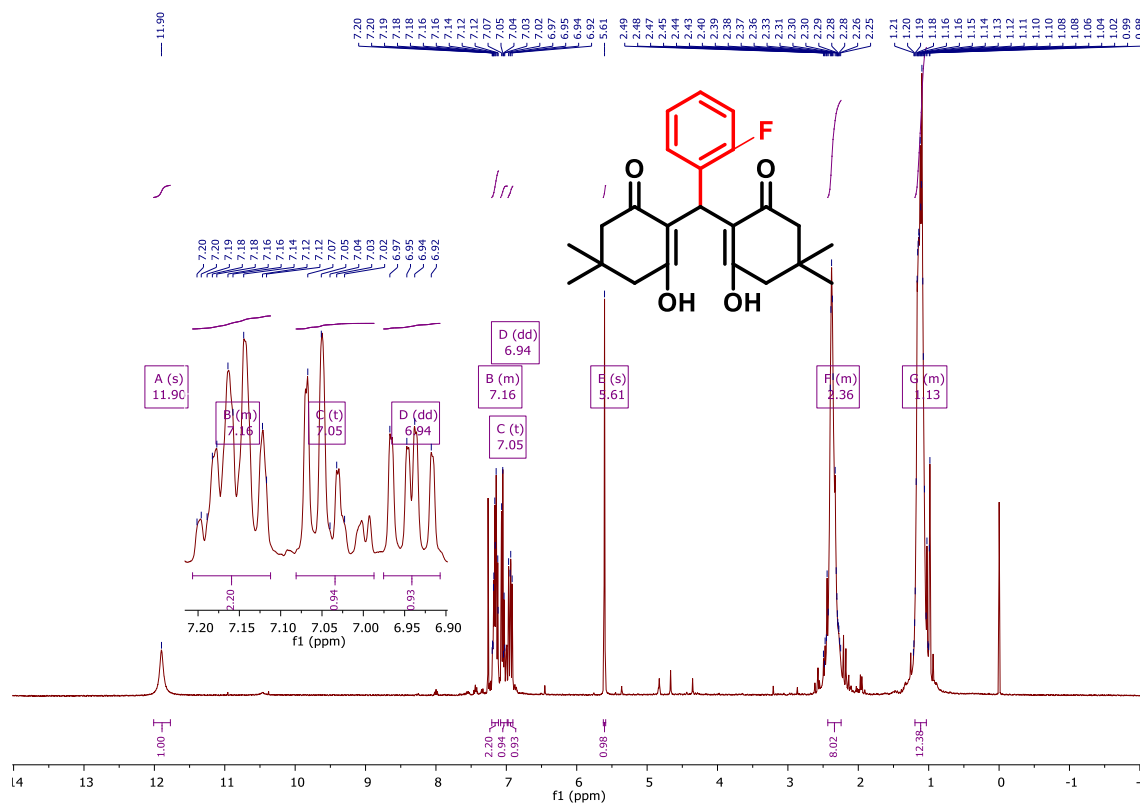


Figure 12. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((2-fluorophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3a**.

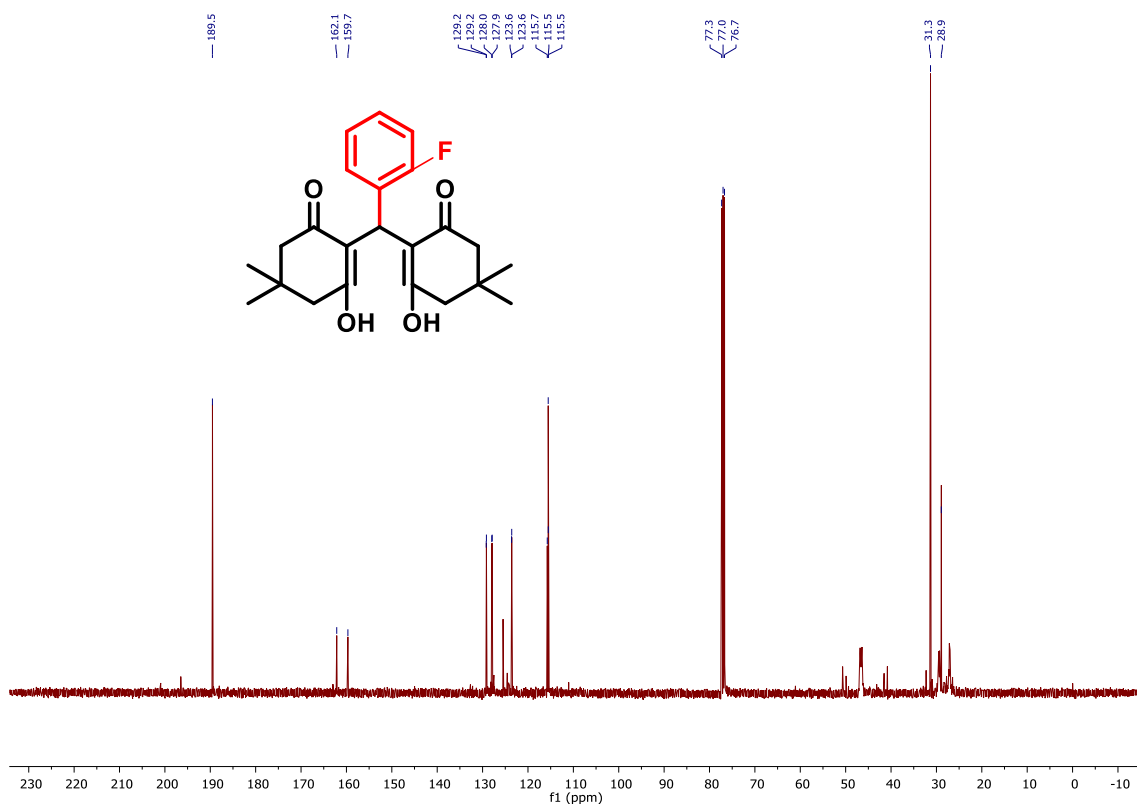


Figure 13. FT-IR of 2,2'-((4-bromophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3b**.

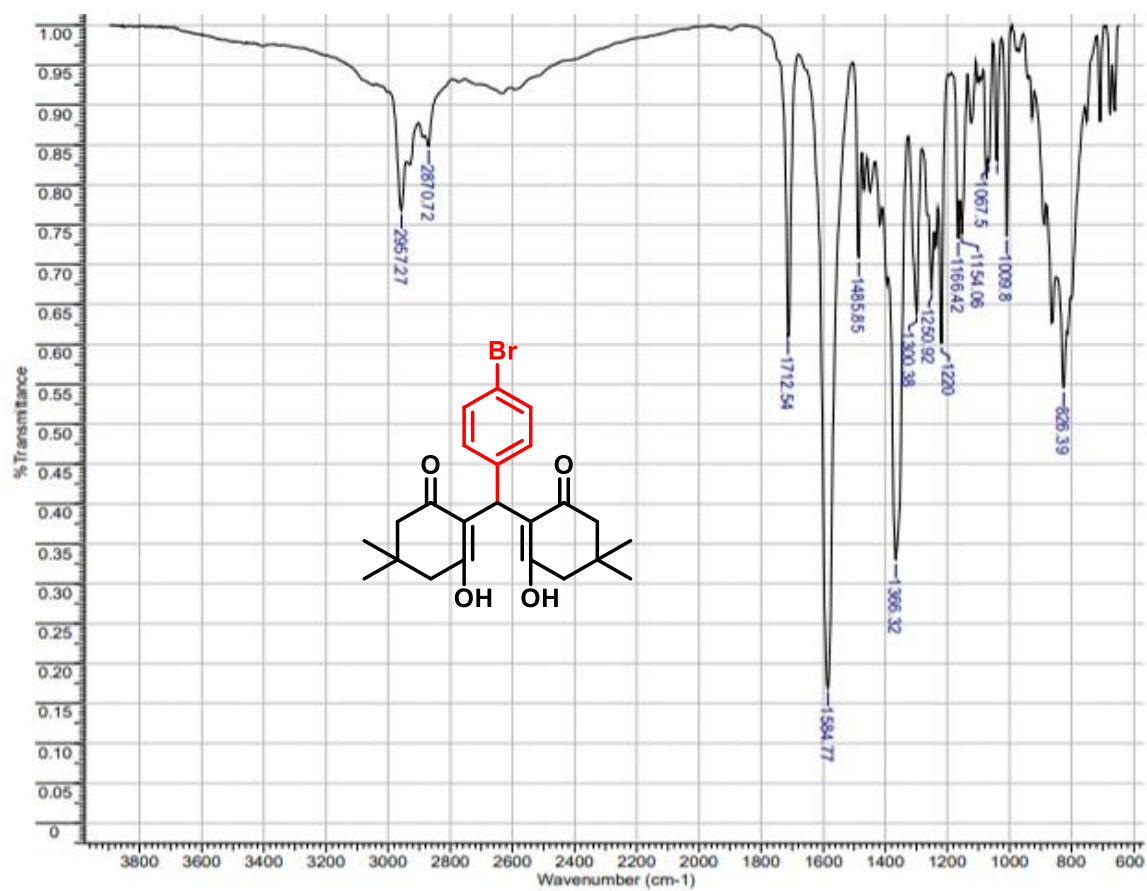


Figure 16. FT-IR of 2,2'-((3-nitrophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3c**.

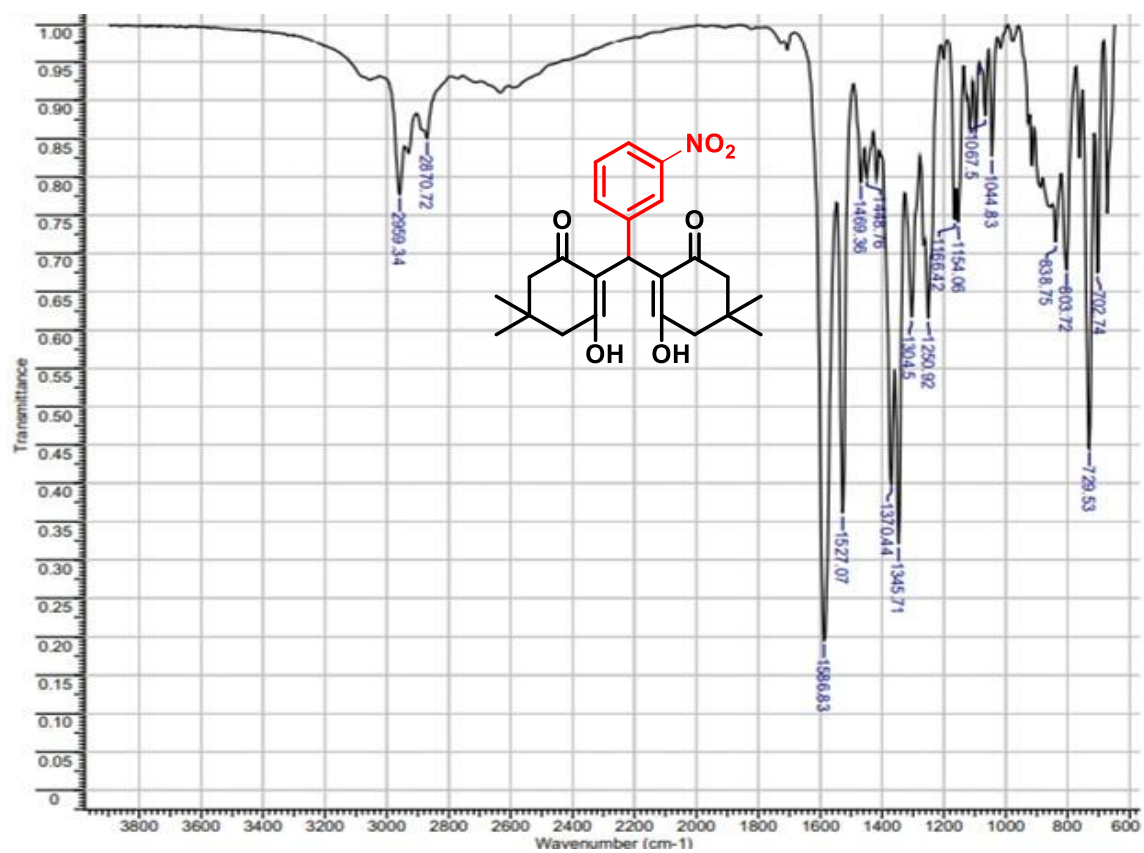


Figure 17. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((3-nitrophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3c**.

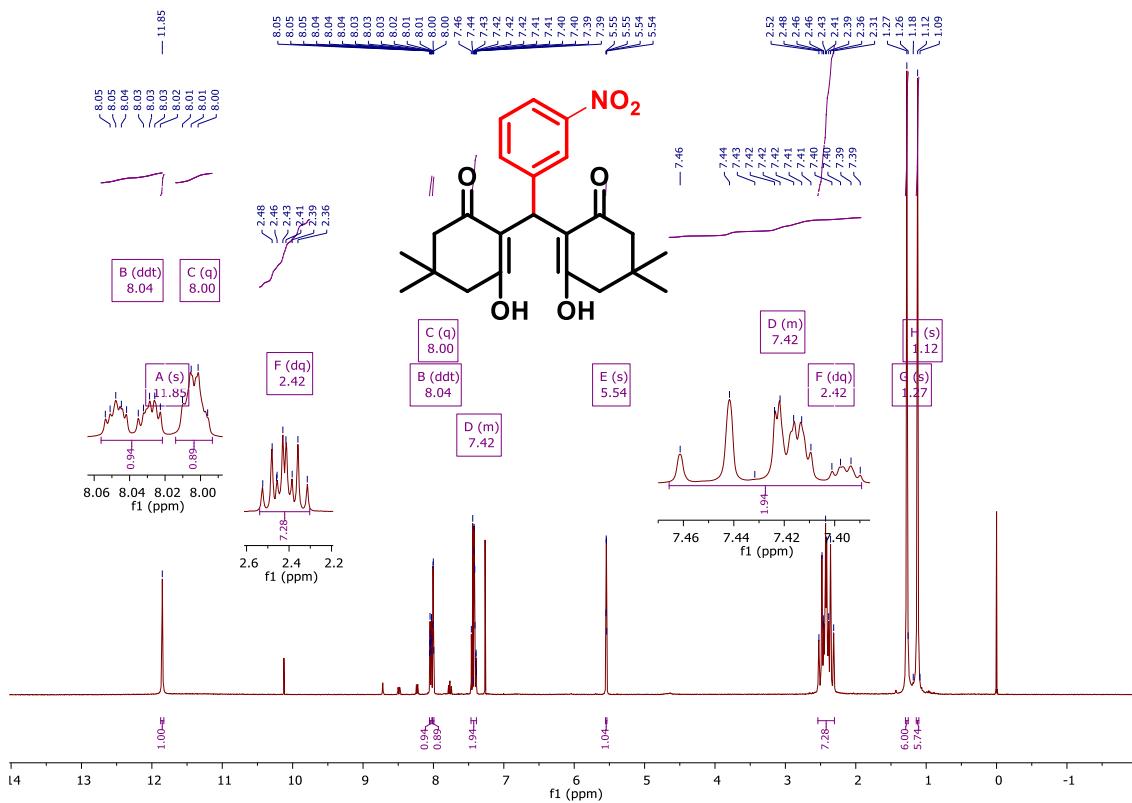


Figure 18. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((3-nitrophenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3c**.

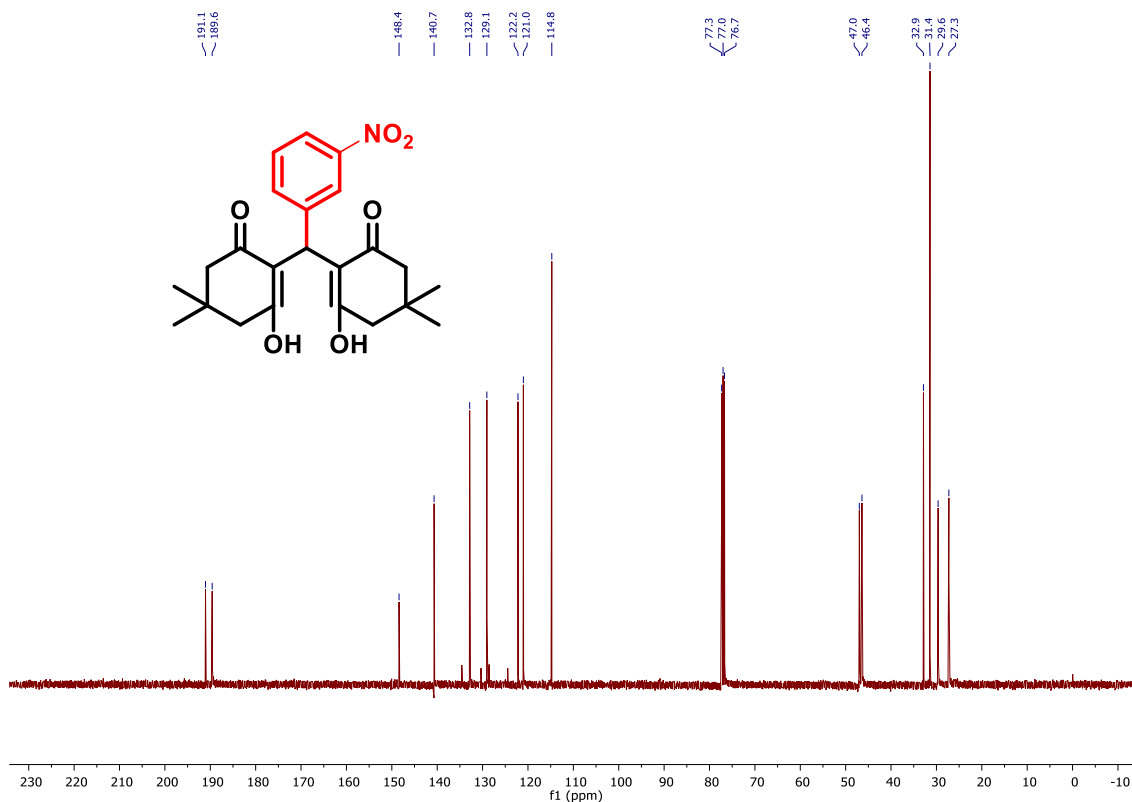


Figure 19. FT-IR of 2,2'-((4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3d**.

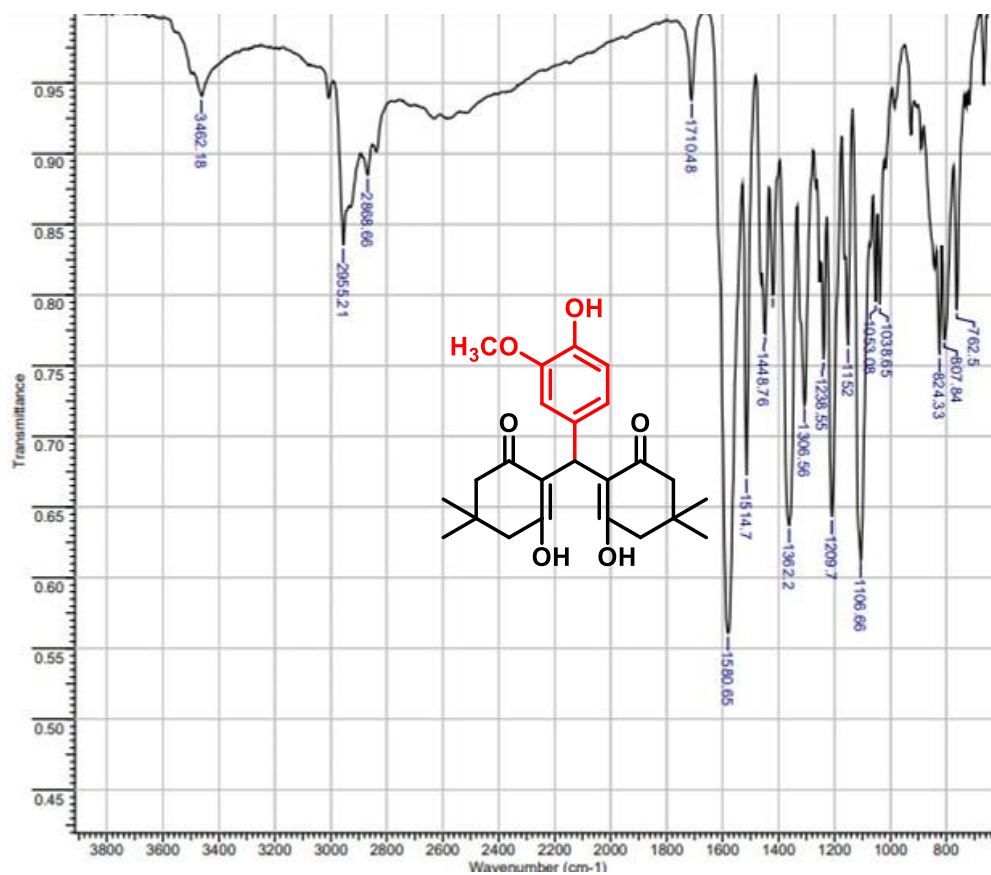


Figure 20. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3d**.

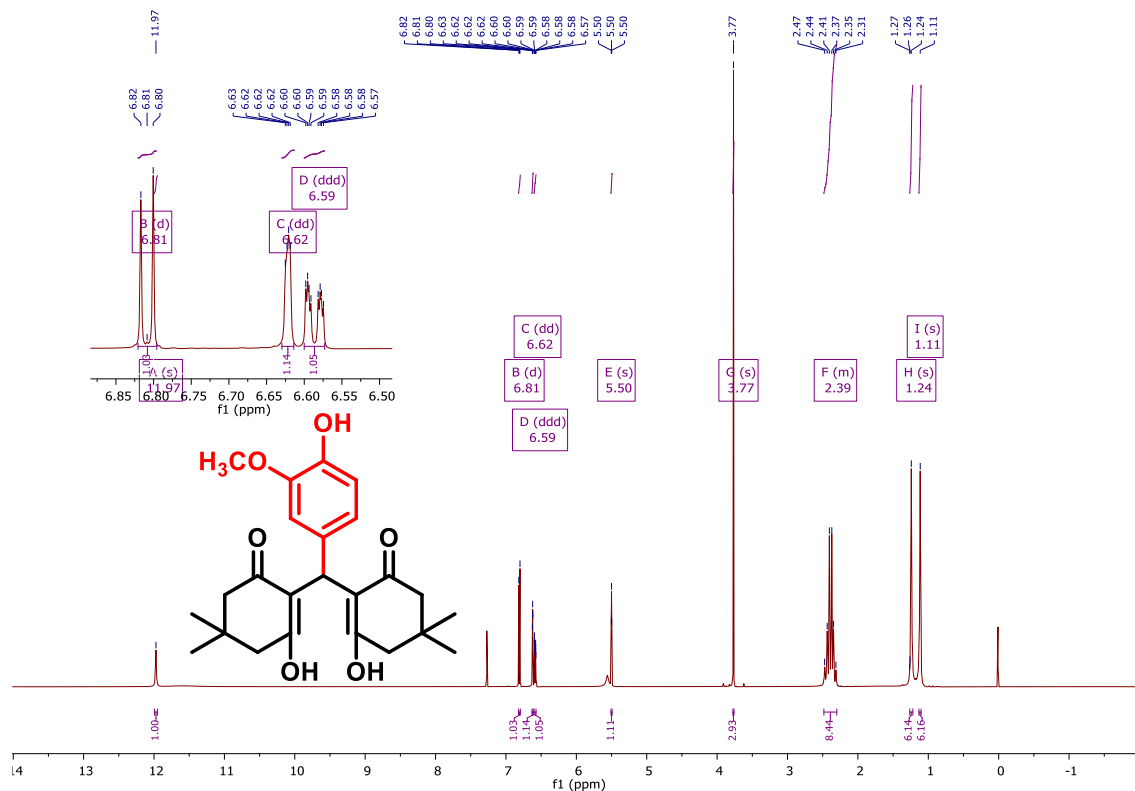


Figure 21. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3d**.

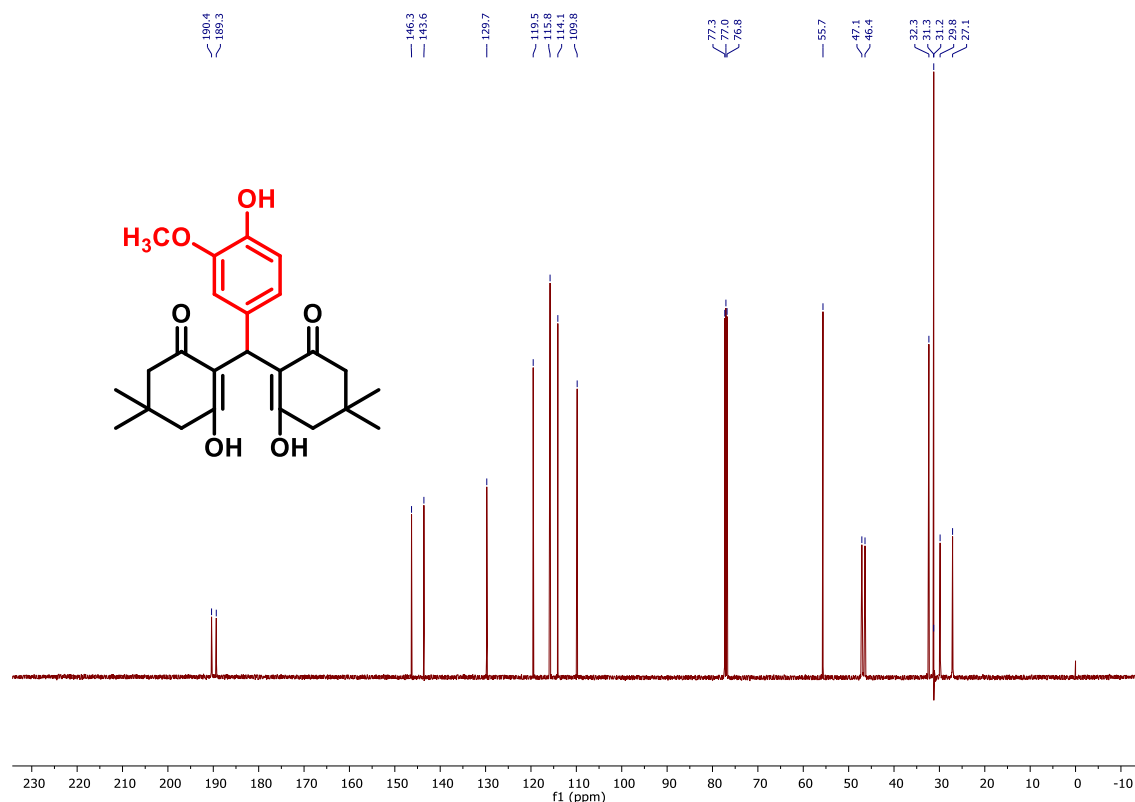


Figure 22. FT-IR of 2,2'-((4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3e**.

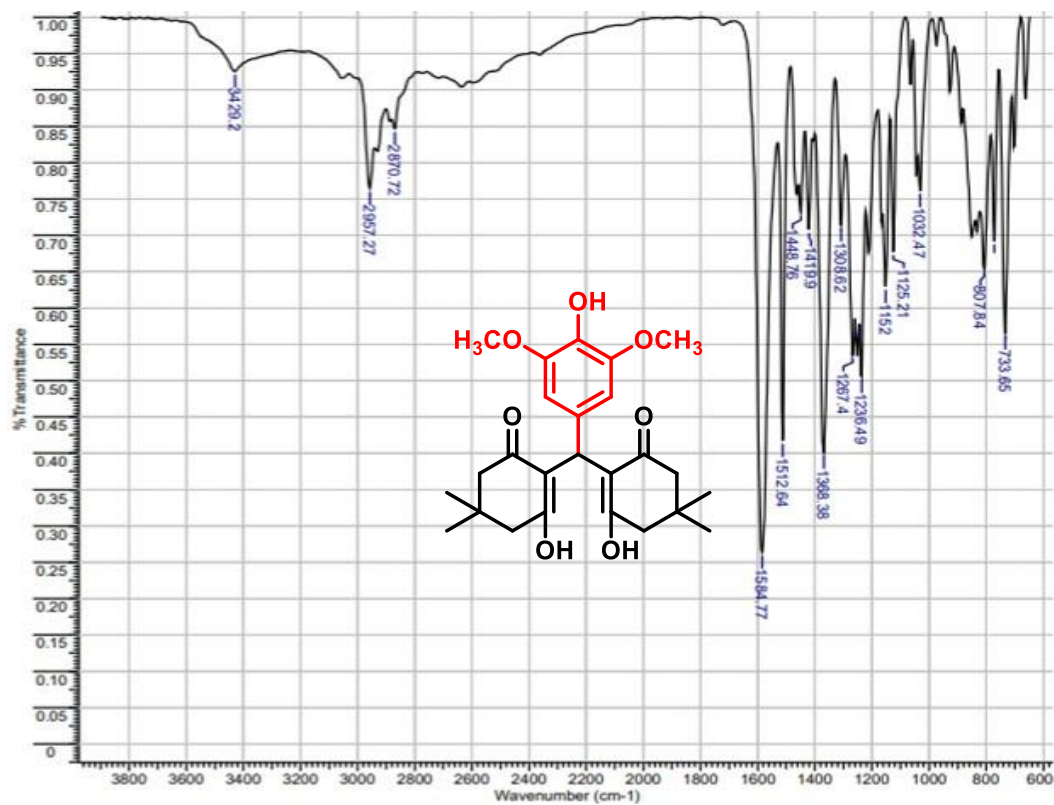


Figura 23. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3e**.

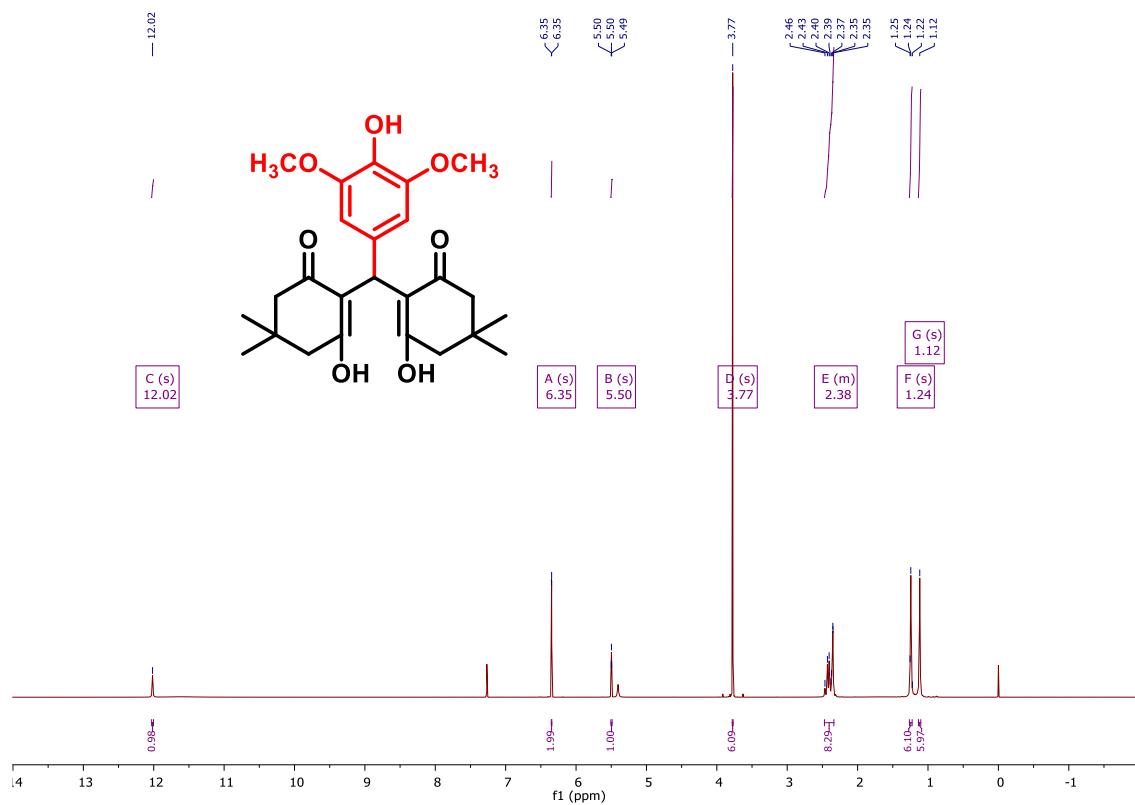


Figura 24. ^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3e**.

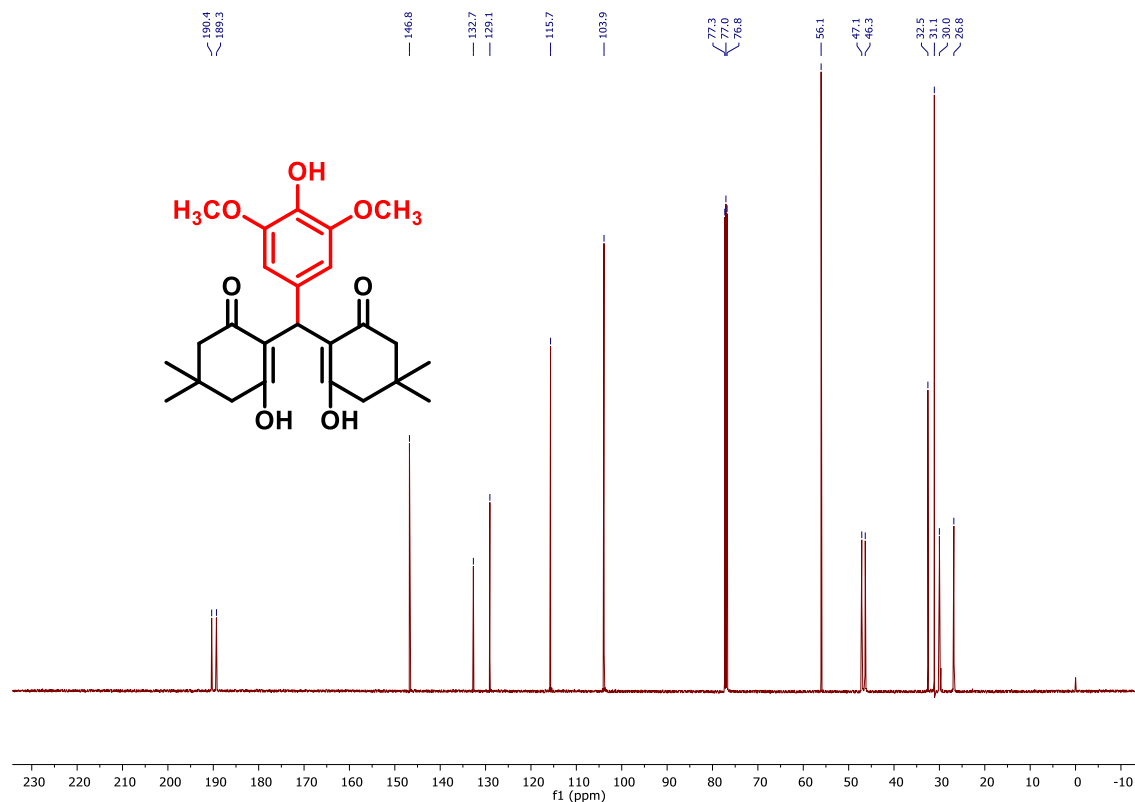


Figure 25. FT-IR of 2,2'-(furan-2-ylmethylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3f**.

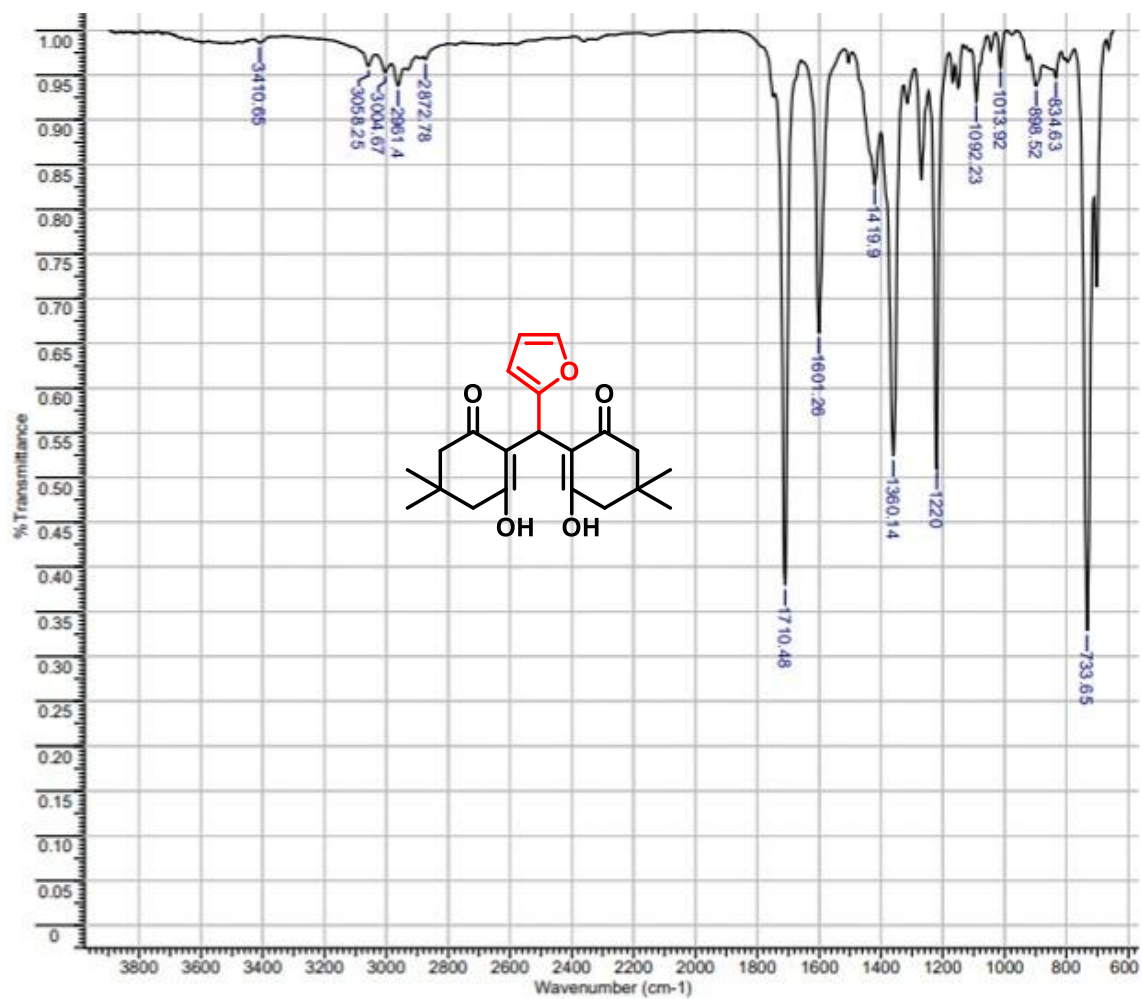


Figure 26. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) of 2,2'-(furan-2-ylmethylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3f**.

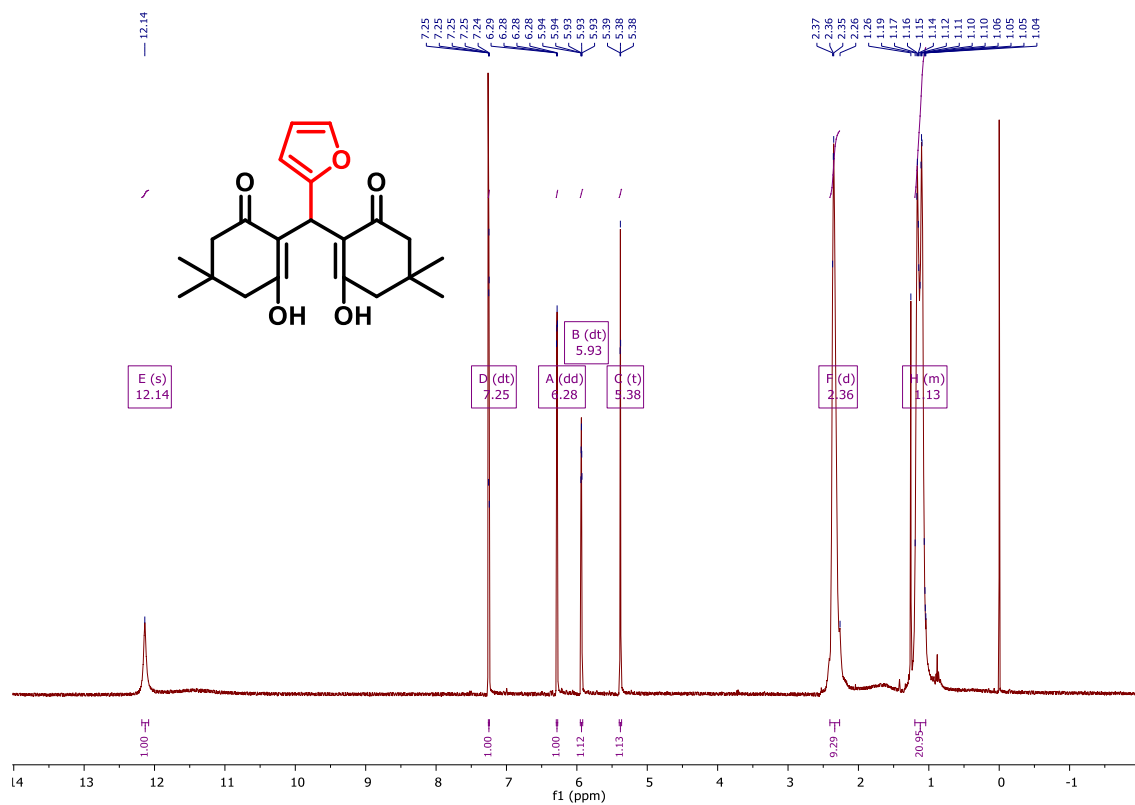


Figure 27. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) of 2,2'-(furan-2-ylmethylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3f**.

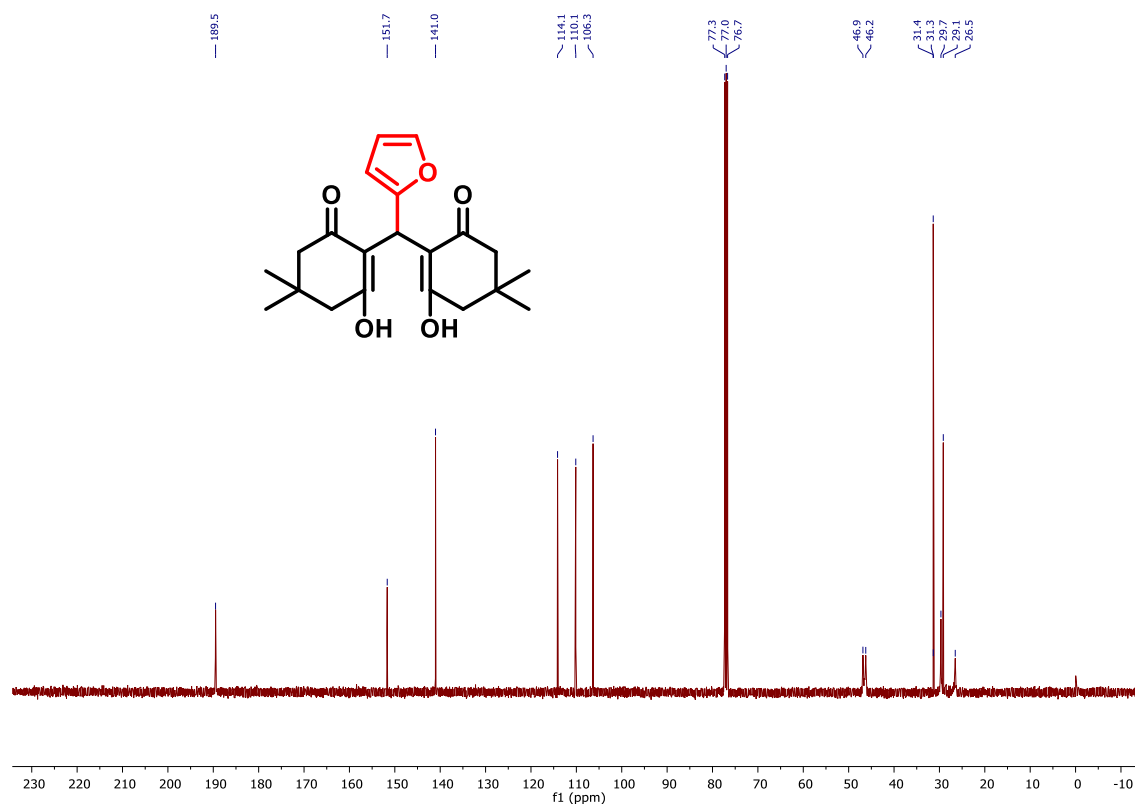


Figure 28. FT-IR of 2,2'-((4-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3g**.

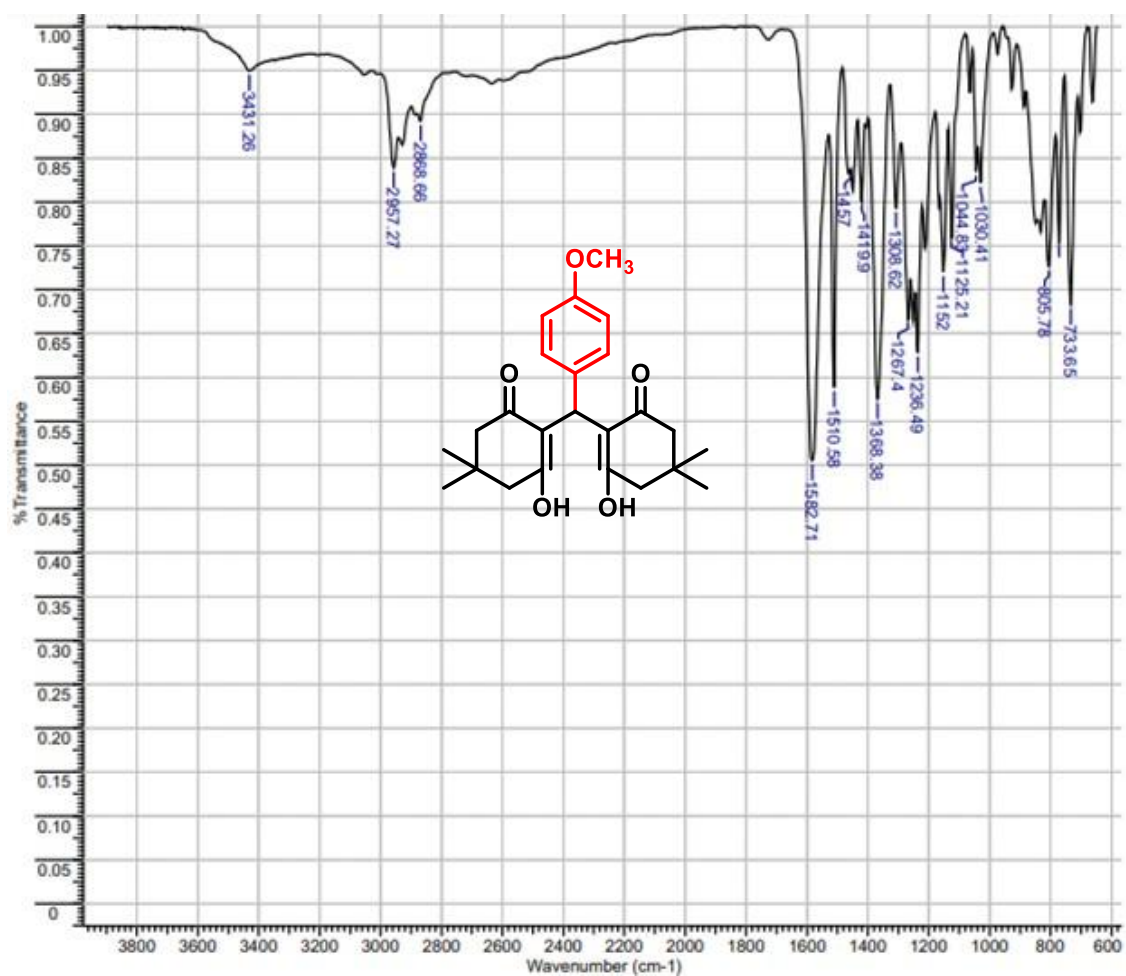


Figura 29. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((4-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3g**.

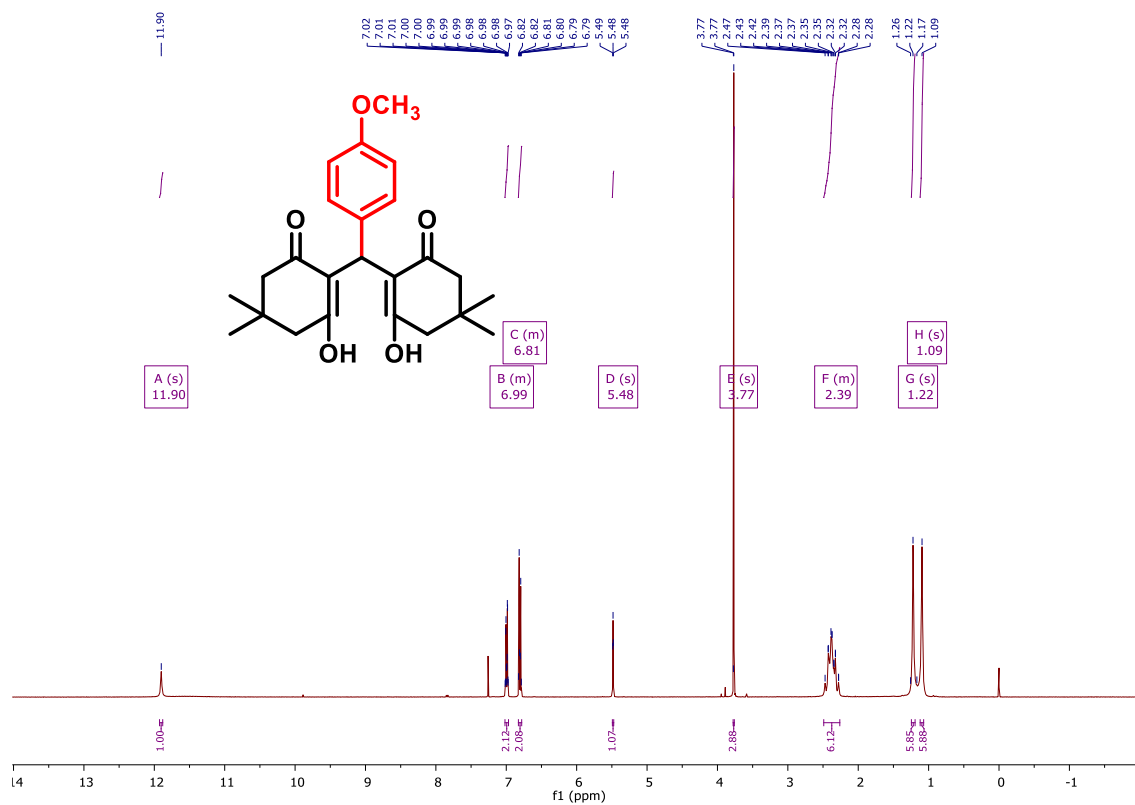
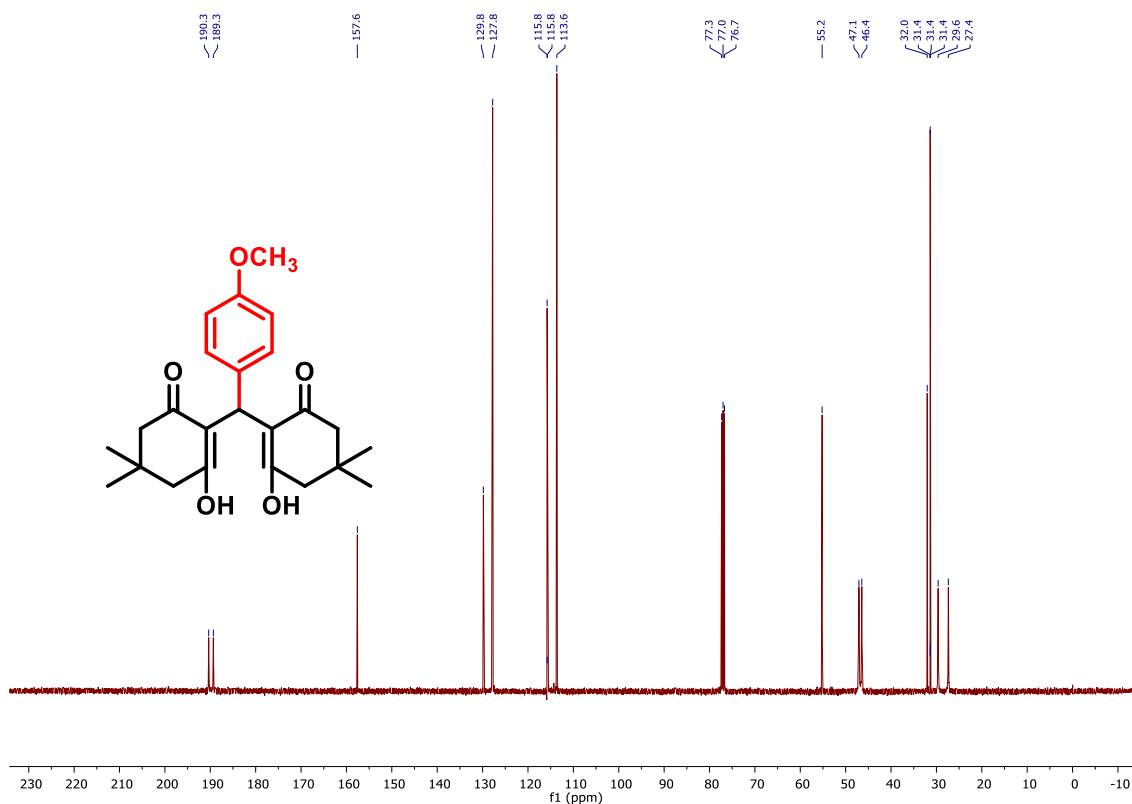


Figura 30. ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) of 2,2'-((4-methoxyphenyl)methylene)bis(3-hydroxy-5,5-dimethylcyclohex-2-en-1-one) **3g**.



ANEXO 1 – Comprovante de Submissão de Artigo Científico

Química Nova

química nova

**Aluminum hydroxide-catalyzed synthesis of tetraketones
and evaluation of their antityrosinase potential in vivo**

Journal:	Química Nova
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	de Amorim, Andréia; UNIFAP FERREIRA, IRLON; Universidade Federal do Amapa, DINT
Keyword:	Tetraketones, Aluminum hydroxide, Molecular docking, Tyrosinase, Zebrafish, Tetraketones Aluminum hydroxide Molecular docking Tyrosinase Zebrafish
Please, specify if the submission is for a Regular Issue or Special Issue:	Regular Issue

SCHOLARONE™
Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/qn-scielo>