



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA**
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



IÊDA MARIA DOS SANTOS

**ESTUDOS *in silico*, *in vitro* E *in vivo* NA INVESTIGAÇÃO
DA ATIVIDADE ANTIASMÁTICA DE CUMARINAS E
DERIVADOS**

IÊDA MARIA DOS SANTOS

**ESTUDOS *in silico*, *in vitro* E *in vivo* NA INVESTIGAÇÃO
DA ATIVIDADE ANTIASMÁTICA DE CUMARINAS E
DERIVADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Fabricio de Souza Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Edilson Beserra de Alencar Filho

Feira de Santana, BA
2026

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

S235

Santos, Iêda Maria

Estudos *in silico*, *in vitro* e *in vivo* na investigação da atividade antiasmática de cumarinas e derivados / Iêda Maria dos Santos. - 2026. 91 f.: il.

Orientador: Fabricio de Souza Silva

Coorientador: Edilson Beserra de Alencar Filho

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Feira de Santana, 2026.

1. Asma. 2. Antitussígeno. 3. Cumarinas. 4. Derivados cumarínicos. 5. Modelagem QSAR. 6. Docking molecular. 7. Umbeliferona. I. Silva, Fabricio de Souza, orient. II. Alencar Filho, Edilson Beserra de, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU 616.248

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ieda Maria dos Santos

Estudos *in silico* na identificação de cumarinas para tratamento de doenças respiratórias e efeito antitussígeno da 7-hidroxicumarina

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, área de concentração em Biotecnologia com ênfase em Recursos Naturais da Região Nordeste, como requisito para obtenção do grau de doutor, tendo sido aprovada pelos membros signatários abaixo.

Feira de Santana, Bahia, 30 de março de 2026.

Documento assinado digitalmente
 **FABRÍCIO SOUZA SILVA**
Data: 30/03/2026 18:17:37 (GMT)
Verifique em <https://validar.dl.gov.br>

Orientador e presidente da Banca: Prof. Dr. **Fabício Souza Silva**
Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF

Documento assinado digitalmente
 **ROSINEIRE FERREIRA DOS SANTOS**
Data: 30/03/2026 18:25:52 (GMT)
Verifique em <https://validar.dl.gov.br>

Membra: Profa.ª Dra.ª **Rosimeire Ferreira dos Santos**
Universidade Federal do Piauí – UFPI

Documento assinado digitalmente
 **TIAGO FERREIRA DA SILVA ARAÚJO**
Data: 30/03/2026 19:23:27 (GMT)
Verifique em <https://validar.dl.gov.br>

Membro: Prof. Dr. **Tiago Ferreira da Silva Araújo**
Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF

Documento assinado digitalmente
 **BRUNO SILVA ANDRADE**
Data: 30/03/2026 19:23:27 (GMT)
Verifique em <https://validar.dl.gov.br>

Membro: Prof. Dr. **Bruno Silva Andrade**
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB

Documento assinado digitalmente
 **RAQUEL GUIMARÃES BENEVIDES**
Data: 30/03/2026 19:23:27 (GMT)
Verifique em <https://validar.dl.gov.br>

Membra: Prof.ª Dr.ª **Raquel Guimarães Benevides**
Universidade Federal do Ceará - UFC

*À minha família e todos aqueles que de alguma forma
contribuíram para a realização deste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, autor da vida e digno de toda honra e glória, minha fonte de amor e alegria.

À minha família, fonte de inspiração e celebração da vida: Valmir Santos, Maria Luciene, Iara Maria, Valmir Filho, Lara Flávia, Flávio Abraão, Maria Liz, Emanoela e Natália Seixas. Amo cada um de vocês!

Aos meus amigos, lugar seguro para descobertas e partilhas: Tiago Araújo, Valdenice Carneiro, Sandra Costa, Rafaela Ribeiro, Israele, Valquíria, Victória Laysna e Delis. Que bom que vocês existem!

Aos meus queridos orientadores Fabricio Silva e Edilson Beserra, pelos ensinamentos, amizade, confiança, paciência e por todo o apoio no desenvolvimento desta pesquisa.

A toda a equipe dos laboratórios LAFEX e LAMMAF-UNIVASF, pelo apoio e excelente convivência de amizade durante a realização deste trabalho.

À minha doce e amada Melissa Negro Dellacqua, pela amizade, incentivo, ensinamentos e conselhos, além de todo o amor e carinho de mãe postiça que sempre me ofereceu. Você é minha grande referência de professora e ser humano inspirador.

Aos meus queridos amigos Diego Grégore, Cintya Souza e Renan Grégore, por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e celebrando comigo cada conquista. Vocês são muito especiais!

Aos meus queridos alunos, pelo respeito, dedicação, carinho e reconhecimento do meu trabalho. Vocês me fazem perceber que escolhi o caminho certo. Amo vocês!

Ao amor da minha vida, Rodrigo Conceição Santos, por todo o companheirismo, paciência, dedicação, amor e cuidado ao longo dessa trajetória. Sem dúvida, você foi a minha melhor escolha, e continuarei te escolhendo todos os dias. Amo-te!

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec), da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), e a todos os professores, o meu muito obrigada!

Ao secretário administrativo Alberto Vicente Silva. Você é daqueles seres humanos que fazem a diferença por onde passam. Obrigada, meu querido!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro concedido a este estudo.

À Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), por toda a infraestrutura oferecida.

Finalmente, agradeço a todos que me impulsionaram e se tornaram importantes em algum capítulo da minha vida. Reconheço e valorizo cada experiência vivenciada com vocês.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

*“[...] talvez não tenha conseguido fazer o melhor, Mas lutei para que
o melhor fosse feito [...] Não sou o que deveria ser,
Mas graças a Deus, não sou o que era antes”*

Marthin Luther King

RESUMO

A asma é caracterizada como uma doença heterogênea marcada por inflamação crônica, hiperresponsividade brônquica e remodelamento das vias aéreas. Nesse contexto, compostos naturais têm despertado interesse científico, destacando-se as cumarinas e seus derivados como potenciais agentes terapêuticos. Assim, esta tese teve como objetivo principal utilizar métodos *in silico*, *in vitro* e *in vivo* na investigação de cumarinas e derivados, visando identificar compostos com maior potencial antiasmático. Na revisão sistemática foram analisados artigos publicados nos últimos dez anos (2014–2024), selecionados de acordo com as diretrizes do PRISMA nas bases PubMed, (BVS) e ScienceDirect. Após a aplicação dos critérios de inclusão, dezoito estudos foram escolhidos. Entre as moléculas mais investigadas destacaram-se a imperatorina e o ostol, que demonstraram promover relaxamento da musculatura lisa das vias aéreas, reduziu processos inflamatórios e diminui a liberação das citocinas Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13), além de favorecer mecanismos imunológicos associados a células Th1, macrófagos e células dendríticas. Dessa forma, modelos QSAR foram desenvolvidos a partir de 21 análogos cumarínicos descritos na literatura com atividade relaxante de traqueia, utilizando diferentes estratégias de modelagem e seleção de descritores moleculares. A partir desses modelos, cinco cumarinas projetadas disponíveis comercialmente foram avaliadas *in silico*, apresentando previsões de atividade dentro de uma faixa satisfatória para futuras validações experimentais. Paralelamente, a 7-hidroxycumarina (HXC), presente na quimioteca do laboratório, foi submetida a ensaios *in vivo* para avaliação do potencial expectorante e antitussígeno. A HXC demonstrou efeito antitussígeno robusto em modelos animais, sem atividade expectorante associada e sem sinais de toxicidade até a dose de 300 mg/kg, sendo ativa nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg. O mecanismo observado indicou que o efeito antitussígeno depende da integridade do sistema opioide, sendo antagonizado por naloxona. Contudo, estudos de *docking* molecular não evidenciaram interação direta relevante entre a HXC e receptores opioides, sugerindo um mecanismo indireto de modulação do reflexo da tosse. Em conjunto, os resultados indicam que, embora pertençam à mesma classe química, as cumarinas podem apresentar perfis farmacológicos distintos e complementares na fisiopatologia da asma.

Palavras-chave: Cumarinas. Derivados cumarínicos. Asma. Modelagem QSAR. Docking molecular. Antitussígeno. Umbeliferona.

ABSTRACT

Asthma is characterized as a heterogeneous disease marked by chronic inflammation, bronchial hyperresponsiveness, and airway remodeling. In this context, natural compounds have attracted increasing scientific interest, with coumarins and their derivatives standing out as potential therapeutic agents. Thus, the main objective of this thesis was to use *in silico*, *in vitro*, and *in vivo* methods to investigate coumarins and their derivatives in order to identify compounds with greater anti-asthmatic potential. In the systematic review, articles published in the last ten years (2014–2024) were analyzed, selected according to PRISMA guidelines from the PubMed, Virtual Health Library (BVS), and ScienceDirect databases. After applying the inclusion criteria, eighteen studies were selected. Among the most investigated molecules were imperatorin and osthole, which demonstrated the ability to promote relaxation of airway smooth muscle, reduce inflammatory processes, and decrease the release of Th2 cytokines (IL-4, IL-5, and IL-13), in addition to favoring immune mechanisms associated with Th1 cells, macrophages, and dendritic cells. Of this context, QSAR models were developed from 21 coumarin analogs described in the literature with tracheal relaxant activity, using different modeling strategies and molecular descriptor selection. Based on these models, five designed and commercially available coumarins were evaluated *in silico*, presenting predicted activities within a satisfactory range for future experimental validation. In parallel, 7-hydroxycoumarin (HXC), present in the laboratory compound library, was subjected to *in vivo* assays to evaluate its expectorant and antitussive potential. HXC demonstrated a robust antitussive effect in animal models, without associated expectorant activity and without signs of toxicity up to a dose of 300 mg/kg, being active at doses of 10, 30, and 100 mg/kg. The observed mechanism indicated that the antitussive effect depends on the integrity of the opioid system, being antagonized by naloxone. However, molecular docking studies did not show relevant direct interaction between HXC and opioid receptors, suggesting an indirect mechanism in the modulation of the cough reflex. Taken together, the results indicate that although they belong to the same chemical class, coumarins may present distinct and complementary pharmacological profiles in the pathophysiology of asthma.

Keywords: Coumarin derivatives. Asthma. QSAR modeling. Molecular docking. Antitussive. Umbelliferone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Características fisiopatológicas da asma.....	20
Figura 2. Fluxograma dos estudos incluídos na revisão sistemática.....	23
Figura 3. Estruturas químicas das cumarinas dos artigos selecionados.....	30
Figura 4. Composto mais ativo figura 1 e molécula sugerida pelos autores 2.....	41
Figura 5. Análogo de cumarina semi-sintético (2, 3 e 11) do artigo de Sánchez-Recillas e colaboradores [14].....	60
Figura 6. Resultado da validação leave-one-out para o Modelo III.....	64
Figura 7. Resultado da validação k-fold para o Modelo III.....	64
Figura 8. Resultado da aleatorização Y para o Modelo III.....	65
Figura 9. Estruturas comerciais e derivadas previstas nos Modelos I, II e III.....	66
Figura 10. Porcentagem de tosse em relação ao 1º dia.....	69
Figura 11. Investigação do mecanismo de ação da HXC.....	70
Figura 12. Expectoração de vermelho de fenol no LBA.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características gerais dos estudos incluídos	24
Tabela 2. Análogos cumarinicos semissintéticos e valores de atividade relaxante em traqueia	56
Tabela 3. Valores de atividade relaxante e descritores moleculares selecionados pelo OPS para construção do primeiro modelo QSAR	57
Tabela 4. Parâmetros de validação do modelo QSAR escolhido	58
Tabela 5. Valores da atividade observada experimentalmente (Y_{exp}), atividade calculada pelo modelo (Y_{cal}) e resíduos da regressão (Y_{res})	59
Tabela 6. Valores de atividade relaxante e descritores moleculares selecionados pelo OPS mais descritores a priori do segundo modelo QSAR	60
Tabela 7. Validação “Leave-n-out” do modelo QSAR baseado em PLS	62
Tabela 8. Validação aleatorização-Y do modelo QSAR baseado em PLS. (na última linha, R ² e Q ² do modelo original)	62
Tabela 9. Tipos e principal interpretação dos descritores encontrados no Modelo III	63
Tabela 10. Avaliação do consumo de água ao longo do período de observação. Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (n =3). Para análise de dados utilizou-se a ANOVA Two-way com pós-teste de Dunnett 's	67
Tabela 11. Avaliação do consumo de ração ao longo do período de observação. Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (n =3). Para análise de dados utilizou-se a ANOVA Two-way com pós teste de Dunnett 's	67
Tabela 12. Avaliação do peso corporal ao longo do período de observação. Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (n =3). Para análise de dados utilizou-se a ANOVA Two-way com pós teste de Dunnett 's	67
Tabela 13. Avaliação do peso dos órgãos (coração, baço, rins [esquerdo + direito], estômago, intestino e fígado) em relação ao peso corpóreo final (g/100g). Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (n =3). Para análise de dados utilizou-se a ANOVA One-way com pós teste de Dunnett 's	68

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

QSAR	- <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>
HXC	- 7-hidroxicumarina (Umbeliferona)
GINA	- <i>Global Strategy for Asthma Management and Prevention</i>
PDE-4	- Fosfodiesterase-4
PRISMA	- <i>Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta Analyses</i>
BVS	- Biblioteca Virtual em Saúde
DeCS	- Descritores em Ciências da Saúde
MeSH	- <i>Medical Subject Headings</i>
HVA	- Hiperresponsividade das vias aéreas
MCs	- Mastócitos
SNC	- Sistema Nervoso Central
CBA	- Ácido cumarínico borônico
HP	- Hidróxidos de proteínas
OVA	- Ovalbumina
BALF	- Fluido de lavagem broncoalveolar
IMP	- Imperatorina
Der p	- <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>
SP	- Substância P
TEM	- Transição epitélio-mesenquimal
PDE4D5	- Prostaglandina 5
BER	- Bergapten
SAR	- Relação Estrutura-Atividade
NO	- Óxido Nítrico
LPS	- Lipopolissacarídeo
DPOC	- Doença pulmonar obstrutiva crônica
ACT	- <i>Asthma Control Test</i>
ROS	- Espécies reativas de oxigênio
Tregs	- Células T reguladoras
Th2	- Células T auxiliaries do tipo 2
TNF- α	- Fator de necrose tumoral alfa
DCs	- Células dendríticas
ILC2s	- Células linfoides inatas do grupo dois

NK	- Natural killer
IgE	- Imunoglobulina E
TRPV1	- <i>Transient receptor potential vanilloid 1</i>
AMPc	-Adenosina Monofosfato Cíclico
PKA	- Proteína Quinase A
AC	-Adenilil cyclase
PGE2	- Prostaglandina E2
PDE4D5	- Subfamília de fosfodiesterase D, subtipo cinco
UCR2	- Região conservada a montante dois
GPCRs	- Receptores acoplados à proteína G
OPS	- <i>Ordered Predictors Selection</i>
MLR	- <i>Multiple Linear Regression</i>
PCs	-Componentes Principais
PLS	- <i>Partial Least Squares</i>
KNN	- <i>K-Nearest Neighbors</i>
OECD	- <i>Organization for Economic Co-operation and Development</i>
LBA	- Lavado broncoalveolar
Q ² loo	- <i>Leave-One-Out</i>
DMT	- Dose máxima tolerada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
REFERÊNCIAS.....	16
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 GERAL.....	17
2.2 ESPECÍFICOS.....	17
CAPÍTULO I - Cumarinas e seus derivados no tratamento da asma – uma revisão sistemática.....	18
1 INTRODUÇÃO.....	20
2 METODOLOGIA.....	22
2.1 ESTRATÉGIAS DE SELEÇÃO DE BASES E BUSCA DE DADOS.....	22
2.2 SELEÇÕES DE ESTUDOS.....	22
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	43
CAPÍTULO II - Modelagem QSAR de cumarinas relaxantes de traqueia e atividade antitussígena da umbeliferona: perfis de atividade distintos dentro de uma única classe química na fisiopatologia da asma.....	46
1 INTRODUÇÃO.....	48
2 METODOLOGIA.....	50
2.1 PROCEDIMENTOS COMPUTACIONAIS.....	50
2.1.1 Modelagem QSAR de análogos cumarínicos da literatura – Modelo I	50
2.1.2 Modelagem QSAR - MODELO II.....	51
2.1.3 Modelagem QSAR – Modelo III.....	52
2.2 EXPERIMENTOS DE BANCADA.....	53
2.2.1 Materiais.....	53
2.2.2 Animais.....	53
2.2.3 Avaliação da toxicidade aguda da umbeliferona.....	53
2.2.4 Avaliação do efeito antitussígeno.....	54
2.2.5 Investigação do mecanismo de tosse.....	55
2.2.6 Avaliação do efeito expectorante.....	55
2.2.7 Análise dos dados.....	56
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.1 MODELAGENS QSAR - MODELO I.....	56
3.2 MODELAGENS QSAR - MODELO II.....	60

3.3 MODELAGENS QSAR - MODELO III.....	63
3.4 AVALIAÇÕES DA TOXICIDADE AGUDA DA UMBELIFERONA.....	66
3.5 AVALIAÇÕES DO EFEITO ANTITUSSÍGENO DA UMBELIFERONA E MECANISMO DE AÇÃO.....	69
3.6 AVALIAÇÕES DO EFEITO EXPECTORANTE.....	71
4 CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS.....	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
REFERÊNCIAS GERAIS.....	78
ANEXOS.....	87

1 INTRODUÇÃO

A asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas, caracterizada por sintomas respiratórios recorrentes como sibilância, dispneia, aperto torácico e tosse, geralmente associados a uma limitação variável e reversível do fluxo aéreo. (HOQUE; NAYAK, 2025). De acordo com dados da Estratégia Global para Gestão e Prevenção da Asma (*Global Strategy for Asthma Management and Prevention* [GINA]), trata-se de um problema de saúde pública global, afetando cerca de 300 milhões de pessoas em todo o mundo, com impacto significativo sobre a qualidade de vida, a produtividade e os sistemas de saúde associados (GINA, 2024).

Segundo o Ministério da Saúde (2022), a asma continua a ser um desafio significativo de saúde pública no Brasil, afetando aproximadamente 23,2% da população. Caracterizada por inflamação crônica e sintomas recorrentes como tosse e falta de ar, a condição resulta de uma interação complexa entre predisposição genética e diversos gatilhos ambientais, que variam de alérgenos a infecções virais (MOUHANA et al., 2025).

Apesar da pesquisa e do tratamento da asma apresentarem progressos substanciais nos últimos anos, incluindo a incorporação de terapias biológicas direcionadas, o uso preferencial de corticosteroides inalatórios associados ao formoterol como terapia de manutenção e alívio, além da utilização de biomarcadores inflamatórios no tratamento personalizado da doença, o sobrediagnóstico e o subdiagnóstico ainda são frequentes. Esses aspectos permanecem em destaque nas atualizações recentes da Iniciativa Global para Asma de 2025, centradas no tratamento ideal e individualizado do paciente (GINA, 2025).

Do ponto de vista fisiopatológico, a asma envolve inflamação crônica das vias respiratórias e hiperresponsividade brônquica, frequentemente associadas à ativação de células inflamatórias como eosinófilos, mastócitos e linfócitos T. Esses mecanismos levam à obstrução variável das vias aéreas e contribuem para os sintomas intermitentes da doença. A apresentação clínica é heterogênea, com diferentes fenótipos que podem incluir asma alérgica, eosinofília, induzida por exercícios físicos, estímulos endógenos e ambientais (GONZALEZ-URIBE; ROMERO-TAPIA; CASTRO-RODRIGUEZ, 2023).

Nos últimos anos, importantes avanços ocorreram no diagnóstico e manejo da asma. As diretrizes da Iniciativa Global para Asma (GINA 2024–2025) propõem uma

abordagem baseada em dois caminhos terapêuticos, o preferencial (Track 1), que utiliza a combinação de corticosteroide inalado (CI) com formoterol como medicação de alívio e manutenção, e o alternativo (Track 2), com CI de uso regular associado ao uso de beta-agonista de curta ação (SABA) de acordo com a necessidade do paciente. Além disso, a medicina personalizada vem ganhando espaço, com o uso de biomarcadores e terapias biológicas, como o mepolizumabe e o tezepelumabe, que são anticorpos monoclonais humanos que bloqueiam a linfopoietina estromal tímica, uma citocina derivada de células epiteliais na patogênese da asma, voltadas para subtipos específicos da doença, especialmente os casos de asma grave não controlada (MENZIES-GOW et al., 2021).

Paralelamente às terapias convencionais, cresce o interesse científico pelo uso de produtos naturais no controle da asma, especialmente devido às limitações terapêuticas observadas em parte dos pacientes, aos efeitos adversos associados ao uso prolongado de corticosteroides, ao elevado custo de terapias biológicas e à persistência de fenótipos de difícil controle. Nesse contexto, substâncias naturais como as cumarinas, um grupo de metabólitos secundários amplamente encontrados em plantas, têm demonstrado propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e imunomoduladoras promissoras. Estudos indicam que as cumarinas podem modular a resposta inflamatória nas vias aéreas, reduzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e o recrutamento de eosinófilos, contribuindo para o alívio dos sintomas asmáticos. Dessa forma, essas moléculas vêm sendo investigadas como potenciais agentes adjuvantes no tratamento da asma, podendo futuramente contribuir para estratégias terapêuticas mais acessíveis e com múltiplos alvos farmacológicos (AMARAL; SILVA; COSTA, 2021; PEREIRA; OLIVEIRA; SANTOS, 2022).

Nesse cenário, a química computacional tem se mostrado uma ferramenta estratégica na identificação e otimização de novas moléculas com potencial antiasmático derivadas de cumarinas. Técnicas envolvendo estudos de *docking* molecular, dinâmica molecular, modelagem por homologia e QSAR (*Quantitative Structure–Activity Relationship*) têm permitido a triagem virtual de compostos com alta afinidade por alvos terapêuticos relevantes na fisiopatologia da asma, como por exemplo, a fosfodiesterase-4 (PDE-4), IL-5, e receptores beta-adrenérgicos. Além disso, modelos preditivos ajudam a identificar moléculas mais potentes, seletivas, de fácil síntese e com perfil farmacocinético favorável. Essa abordagem integrada

acelera o processo de descoberta de fármacos, reduz custos experimentais e pode conduzir ao desenvolvimento de fitofármacos inovadores e mais acessíveis (SILVA; MELO; LIMA, 2023; ALMEIDA; ROCHA; BARBOSA, 2024).

Alguns autores relatam que um dos principais problemas na pesquisa com produtos naturais corresponde à complexidade estrutural, a qual inviabiliza o desenvolvimento de rotas sintéticas viáveis para aplicação em larga escala na indústria farmacêutica, além de apresentarem dificuldade na incorporação das principais formulações utilizadas clinicamente (PRESS; JOLY; ERTL, 2019; REX, 2024).

Proporcionalmente neste sentido e inversamente a essa dificuldade relatada, os derivados cumarínicos, objeto do presente estudo, possuem estrutura química relativamente simples e comercialmente de fácil obtenção. Além disso, Estratégias em Química Teórica como os estudos QSAR, por exemplo, podem assim contribuir como ferramentas poderosas no estabelecimento de relações estrutura atividade, compreensão do mecanismo de ação, proposição de modificações moleculares e orientação de futuras derivatizações sintéticas no sentido de obter moléculas mais ativas.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi contribuir para a busca de novas moléculas baseadas em arcabouços cumarínicos com potencial terapêutico, por meio da construção de modelos QSAR baseados na atividade antiasmática de cumarinas e seus derivados, bem como da utilização de modelos experimentais *in vivo* e *in vitro* para avaliação farmacológica de cumarinas adquiridas comercialmente. Além disso, buscou-se investigar de forma mais detalhada os possíveis mecanismos envolvidos na atividade antiasmática das moléculas previamente selecionadas pelos modelos QSAR, visando à identificação de alternativas farmacológicas promissoras para o tratamento da asma.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. J.; ROCHA, T. S.; BARBOSA, P. M. Abordagens computacionais na triagem de derivados cumarínicos com potencial terapêutico antiasmático. **Computational Chemistry in Natural Product Research**, v. 9, n. 1, p. 45–59, 2024.
- AMARAL, T. M.; SILVA, D. M.; COSTA, J. S. Cumarinas como potenciais agentes anti-inflamatórios no tratamento da asma: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 31, n. 3, p. 421–430, 2021.
- BRASIL. Em um ano, SUS registrou 1,3 milhão de atendimentos a casos de asma na Atenção Primária. Ministério da Saúde, 3 maio 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/maio/em-um-ano-sus-registrou-1-3-milhao-de-atendimentos-a-casos-de-asma-na-atencao-primaria>. Acesso em: 28 fev. 2026.
- GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA (GINA). **Global Strategy for Asthma Management and Prevention** – 2025 update. Disponível em: <https://ginasthma.org>. Acesso em: 27 jun. 2025.
- GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA. **Global Strategy for Asthma Management and Prevention**, 2024 (GINA 2024); 2024 GINA Main Report – Global Initiative for Asthma – GINA. Disponível em: <https://ginasthma.org/2024-report/>. Acesso em: 25 set. 2024.
- GONZALEZ-URIBE, V.; ROMERO-TAPIA, S. J.; CASTRO-RODRIGUEZ, J. A. Asthma phenotypes in the era of personalized medicine. **Journal of Clinical Medicine**, v. 12, n. 19, p. 6207, 2023.
- HOQUE, F.; NAYAK, R. Focused overview of the 2024 Global Initiative for Asthma guidelines. **APIK Journal of Internal Medicine**, v. 13, n. 1, p. 4–12, 2025.
- MENZIES-GOW, A. et al. Tezepelumab in adults and adolescents with severe, uncontrolled asthma. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 19, p. 1800–1809, 2021.
- MOUHANA, A. T. et al. Análise do perfil epidemiológico das internações por asma no Brasil: um estudo de 2019 a 2023. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 11, n. 1, p. 945–956, 2025.
- PEREIRA, M. C.; OLIVEIRA, L. F.; SANTOS, R. A. Produtos naturais no manejo da asma: evidências experimentais e perspectivas clínicas. **Revista Fitos**, v. 16, n. 2, p. 98–109, 2022.
- PRESS, N. J.; JOLY, E. E. P. Natural product drug delivery: A special challenge? **Progress in Medicinal Chemistry**, v. 58, p. 157–187, 2019.
- REX, D. Abordagens retrossintéticas estratégicas para síntese de produtos naturais em P&D farmacêutico. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 16, p. 126, 2024.
- SILVA, E. R.; MELO A. L.; LIMA, V. C. Estudo in silico de cumarinas com atividade inibitória sobre PDE-4 para o tratamento da asma. **Journal of Molecular Modeling and Drug Design**, v. 12, n. 1, p. 25–37, 2023.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Utilizar métodos *in silico*, *in vitro* e *in vivo* na investigação de cumarinas e derivados, visando identificar compostos com maior potencial antiasmático.

2.2 ESPECÍFICOS

- Construir e realizar a otimização geométrica de compostos cumarínicos descritos na literatura por métodos de química quântica, visando à obtenção de descritores moleculares para a construção de modelos QSAR;
- Calcular descritores moleculares de compostos cumarínicos e desenvolver modelos QSAR clássicos para predição de moléculas com potencial atividade antiasmática e aplicação em testes experimentais;
- Avaliar os efeitos antitussígeno e expectorante da 7-hidroxicumarina adquirida comercialmente em modelos murinos;
- Investigar os possíveis mecanismos de ação da 7-hidroxicumarina em músculo liso de traqueia isolada de rato.

**CAPÍTULO I - CUMARINAS E SEUS DERIVADOS NO TRATAMENTO DA ASMA –
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Artigo de Revisão publicado na revista *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* (Qualis A1 - Biotecnologia) (ANEXO A)

CUMARINAS E SEUS DERIVADOS NO TRATAMENTO DA ASMA – UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Iêda Maria dos Santos^a, João Lázaro de Oliveira Rocha^b, Edilson Beserra da Silva^c, Fabrício de Souza Silva^d

^a *Universidade Estadual de Feira de Santana, 44036-900, Feira de Santana –BA, Brasil*

^b *Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56304-97, Petrolina – PE, Brasil*

^c *Colegiado de Ciências da Saúde e Biológica, Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56304-97, Petrolina – PE, Brasil*

^d *Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56304-97, Petrolina – PE, Brasil*

Resumo:

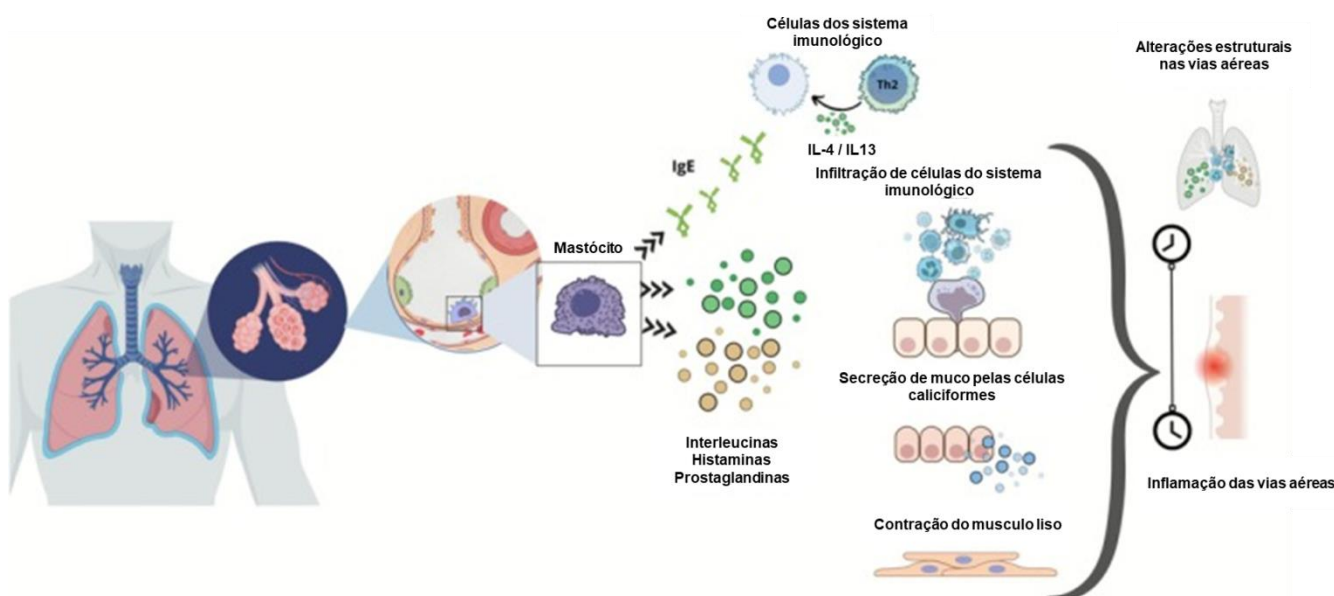
A asma é um grave problema de saúde global que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Trata-se de uma doença heterogênea caracterizada por inflamação, hiperresponsividade brônquica e remodelamento das vias aéreas. Compostos da classe das cumarinas têm sido amplamente documentados na literatura como agentes promissores para o tratamento da asma. Esta revisão destaca o potencial das cumarinas e seus efeitos em modelos animais de asma. Artigos dos últimos 10 anos (2014–2024) foram selecionados de acordo com as diretrizes do PRISMA, a partir das bases de dados PubMed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e ScienceDirect. A estratégia de busca utilizou Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e Medical Subject Headings (MeSH). Dezoito artigos foram selecionados após a aplicação dos critérios de inclusão: artigos completos publicados em inglês e português, de acesso livre e que investigassem cumarinas e seus derivados com atividade antiasmática. As cumarinas mais exploradas pelos autores foram a imperatorina e o ostol, e os resultados mostraram que essas cumarinas relaxam a musculatura lisa das vias aéreas, reduzem a inflamação e a liberação das citocinas Th2 IL-4, IL-5 e IL-13, além de aumentarem a proteção contra a inflamação por meio de células pró-inflamatórias, Th1, macrófagos e células dendríticas. Assim, conclui-se que as cumarinas e seus efeitos, particularmente a imperatorina e o ostol, apresentam um potencial promissor no tratamento da asma e podem servir como importantes estruturas moleculares para futuras investigações.

Palavras-chave: Inflamação das vias aéreas. Asma. Cumarina. Citocina. Pulmão.

1 INTRODUÇÃO

A asma é caracterizada por processos inflamatórios crônicos nas vias aéreas, levando à infiltração celular, hipersecreção de muco, edema e espessamento da musculatura lisa. Isso resulta em obstrução do fluxo aéreo, acompanhada de aperto no peito recorrente e dificuldade respiratória, causando sofrimento significativo e mortalidade nos pacientes (YANG et al., 2020). Afeta mais de 300 milhões de pessoas em todo o mundo, com prevalência e incidência crescentes, o que acarreta um ônus econômico significativo para a sociedade. As principais características patológicas da asma incluem hiperresponsividade das vias aéreas (HVA), infiltração de células inflamatórias e produção excessiva de muco. Além disso, a inflamação de longa duração leva a alterações estruturais nas vias aéreas (Figura 1). Estudos epidemiológicos demonstraram que a asma alérgica representa aproximadamente 13% de todas as doenças alérgicas no mundo. Ela é desencadeada por estímulos endógenos e ambientais e pode ser causada pela inalação de alérgenos ambientais, picadas de insetos ou ingestão de alérgenos alimentares (WADHWA et al., 2019).

Figura 1. Características fisiopatológicas da asma



Os mastócitos (MCs) desempenham um papel fisiopatológico crucial nos estágios iniciais da asma alérgica, migrando para os tecidos inflamados e estimulando a contração do músculo liso brônquico (CAHILL et al., 2017). Alérgenos inalados podem se ligar e ativar receptores específicos localizados na membrana do

MC, desencadeando a liberação de mediadores alérgicos, como histamina, interleucinas e prostaglandinas. Isso resulta em contração do músculo liso, secreção de muco, inflamação alérgica e infiltração de células inflamatórias (Figura 1) (KUBO et al., 2017).

A terapia farmacológica da asma concentra-se principalmente no controle da broncoconstrição e da inflamação das vias aéreas, utilizando agonistas β 2-adrenérgicos e glicocorticoides inalatórios, respectivamente. Outras alternativas terapêuticas incluem antagonistas dos receptores de leucotrienos, inibidores da fosfodiesterase, antagonistas muscarínicos e anticorpos monoclonais direcionados a citocinas inflamatórias. Entretanto, o uso prolongado dessas terapias pode estar associado a limitações clínicas e efeitos adversos importantes, como imunossupressão, candidíase oral, disfonia, taquicardia, tolerância farmacológica e alterações metabólicas, especialmente relacionadas aos corticosteroides e β 2-agonistas. Além disso, anticorpos monoclonais, como reslizumab, dupilumab e omalizumab, embora eficazes em casos de asma grave, apresentam elevado custo, necessidade de administração contínua e acesso restrito em muitos sistemas de saúde, particularmente em populações socioeconomicamente vulneráveis (CAMINATI et al., 2020; MORAN et al., 2020).

Nesse sentido, os produtos naturais têm atraído considerável atenção dos pesquisadores para o desenvolvimento de agentes anti-inflamatórios, com muitos compostos bioativos servindo como protótipos para novas moléculas terapêuticas. Por exemplo, as cumarinas e seus derivados são uma importante classe de produtos naturais encontrados principalmente nas famílias *Rutaceae* e *Apiaceae*. Esses compostos são amplamente classificados como cumarinas simples, furanocumarinas, piranocumarinas, biscumarinas e triscumarinas. A literatura relata que as cumarinas possuem uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana, antiviral, anticancerígena, anti-inflamatória, antioxidante, anticoagulante e antiasmática (GROVER; JACHAK, 2015). Além dessas propriedades, as cumarinas são bem conhecidas por sua atividade antiespasmódica, frequentemente atribuída à sua capacidade de modular os canais de cálcio e a contratilidade do músculo liso, bem como por seus efeitos no sistema nervoso central (SNC), que incluem ações neuroprotetoras, ansiolíticas e antidepressivas (MOHD et al., 2024).

Além das propriedades atrativas mencionadas anteriormente, as cumarinas possuem boa acessibilidade sintética, oferecendo diversidade estrutural por meio de derivação molecular e métodos de síntese total. O uso de produtos naturais como fonte de novos fármacos está bem estabelecido na literatura (MOHD et al., 2024; NAN et al., 2025; ZHU; JIANG, 2018). Nesse contexto, a prospecção de moléculas baseadas na estrutura química das cumarinas com potencial atividade antiasmática desperta grande interesse científico. Entretanto, apesar dos resultados promissores já descritos para algumas cumarinas e seus derivados, muitos compostos ainda carecem de estudos aprofundados relacionados aos seus mecanismos de ação, parâmetros farmacocinéticos, segurança toxicológica, otimização estrutural e validação experimental, etapas fundamentais para o avanço no desenvolvimento de candidatos a fármacos. Assim, a investigação dessas moléculas pode contribuir para a identificação de alternativas farmacológicas promissoras para o tratamento da asma.

2 METODOLOGIA

Esta revisão sistemática envolveu um levantamento bibliográfico de dados científicos com métodos quantitativos, exploratórios e descritivos. A questão de pesquisa deste estudo foi formulada com base na seguinte pergunta orientadora: “Qual o efeito das cumarinas e seus derivados na asma?” E tem como objetivo compilar estudos sobre cumarinas no tratamento da asma na última década, fornecendo informações robustas e atualizadas sobre seu uso no tratamento da asma.

2.1 ESTRATÉGIAS DE SELEÇÃO DE BASES E BUSCA DE DADOS

O desenho do estudo foi realizado em acordo com as diretrizes “*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*” (PRISMA). Foi realizada uma busca de estudos publicados nas seguintes bases de dados: Pubmed, BVS (Biblioteca Virtual em Saúde) e Science Direct. A estratégia de busca foi padronizada, utilizando os descritores das plataformas Medical Subject Headings (MeSH) e Descritores em Ciências da Saúde (DeCS). Os descritores utilizados para a busca de dados foram: “cumarinas - coumarin”, “asma - asthma”, “pulmão - lung”.

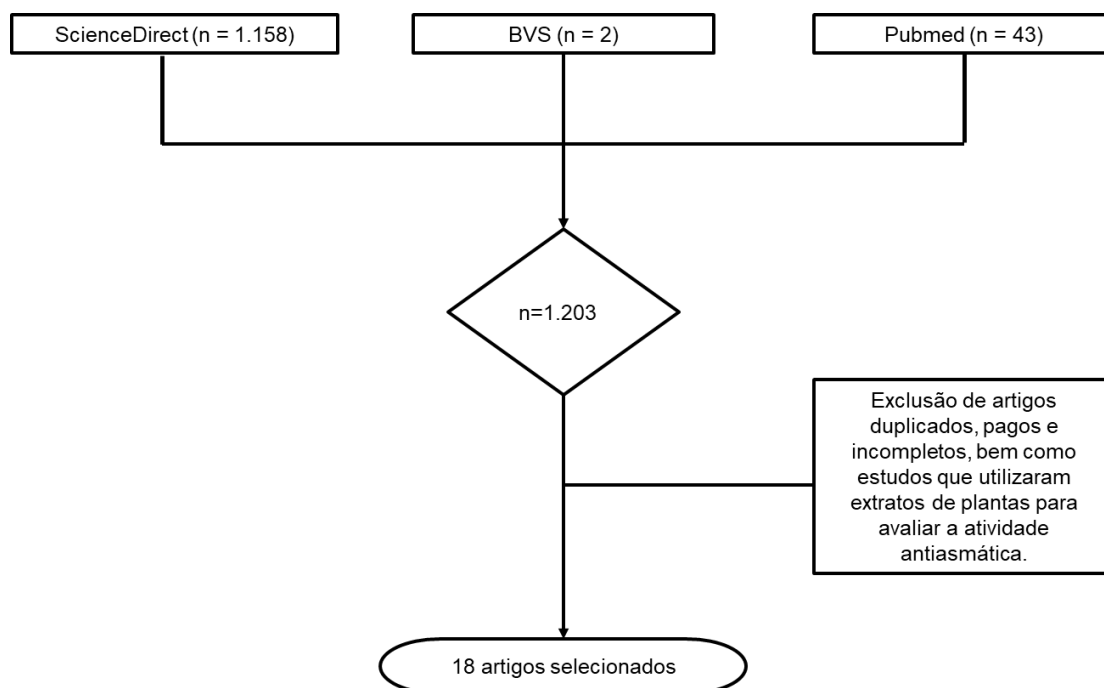
Cada descritor foi inserido de acordo com o sistema da base de dados e combinados considerando a aplicação dos operadores booleanos “OR” e “AND”. Foram considerados para a revisão sistemática apenas estudos publicados no espaço de tempo entre 2014 e 2024, a fim de demonstrar dados experimentais atualizados na última década a respeito dessa temática.

2.2 SELEÇÕES DE ESTUDOS

O processo de seleção dos estudos foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa, títulos, resumos e identificações de duplicatas foram examinados por dois revisores a partir das diversas bases de dados utilizadas. Em caso de discordância entre os revisores, um terceiro revisor foi consultado para emitir um parecer final sobre a inclusão ou exclusão de um artigo da revisão. Na segunda etapa, os revisores avaliaram a inclusão dos trabalhos na revisão sistemática com base na adesão aos critérios de elegibilidade após a leitura dos textos completos. Assim, os artigos foram incluídos se atendessem aos seguintes critérios de elegibilidade: estudos em inglês e português, *in silico*, *in vitro* e *in vivo*, que abordassem os efeitos das cumarinas e seus derivados no tratamento da asma. Artigos duplicados e incompletos foram excluídos, assim como estudos que utilizaram extratos vegetais para avaliar a atividade antiasmática.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca nas três bases de dados definidas resultou em 1.203 artigos, sendo 43 identificados no PubMed, 1.158 no ScienceDirect e 2 no BVS. Após a aplicação dos critérios de elegibilidade descritos na metodologia, 18 artigos foram selecionados para inclusão e discussão nesta revisão sistemática (Figura 2).

Figura 2. Fluxograma dos estudos incluídos na revisão sistemática

Os dados relacionados às informações gerais destes estudos como autores, ano de publicação, assim como o tipo de cumarina e/ou seus derivados utilizados na pesquisa, e um breve desfecho de cada artigo, encontram-se descritos na Tabela 1 e Figura 3.

Tabela 1. Características gerais dos estudos incluídos

Cumarina	Detalhes metodológicos	Resultado do estudo	Referências
Columbianadina CAS: 5058-13-9 Fórmula molecular: $C_{19}H_{20}O_5$ Nome IUPAC: 2 [(8S)-2-oxo-8,9 diidrofuro[2,3-h]cromen-8-il]propan-2-il (Z)-2-metilbut-2-enoato	<i>In vitro</i> (A549, MH-S); <i>in vivo</i> (camundongos). Inflamação pulmonar aguda induzida por LPS <i>in vivo</i> . Grupos controle (sem LPS); LPS; LPS + columbianadina.	Inibição <i>in vitro</i> da produção de óxido nítrico em células A549 e MH-S induzidas por LPS. Redução <i>in vivo</i> da inflamação pulmonar induzida por LPS após tratamento com columbianadina em doses que variam de 20 a 60 mg/kg.	Lim et al., 2014
Ácido cumarínico borônico (CBA) CAS: 1357078-03-5 Fórmula molecular: $C_9H_7BO_4$ Nome IUPAC: ácido (2-oxocromen-7 il)borônico	Estudo clínico em humanos (observação analítica) envolvendo pacientes com asma e controles saudáveis. Pacientes com asma (n = 74); controles saudáveis (n = 65). Análise realizada em sangue periférico e fluido broncoalveolar para medir o estresse oxidativo e marcadores inflamatórios utilizando a técnica	Observou-se um aumento significativo de espécies reativas de oxigênio no sangue periférico de indivíduos com asma, especificamente a formação de hidróxidos de proteínas (HP), que ocorreu 35% mais rapidamente e foi 58% maior em pacientes asmáticos. O estudo destacou como o uso de CBA contribui para	Bazan-Socha et al., 2022

	de detecção em tempo real de hidroperóxidos de proteínas (HP) por meio do ensaio com ácido cumarínico borônico (CBA).	o controle de espécies reativas de oxigênio na inflamação relacionada à asma.	
Isoimperatorina CAS: 482-45-1 Fórmula molecular: $C_{16}H_{14}O_4$ Nome IUPAC: 4-(3-metilbut-2-enoxi)furo[3,2-g]cromen-7-ona	Modelo experimental <i>in vivo</i> (camundongos BALB/c). Asma alérgica induzida por ovalbumina (OVA). Grupo controle; grupo OVA; grupo OVA + IMP (10, 30 mg/kg).	Redução de IL-4, IL-5, IL-13, eotaxina e IgE no fluido de lavagem broncoalveolar (BALF), plasma e pulmões. Diminuição da infiltração de células inflamatórias nas vias aéreas e da produção de muco no trato respiratório. Redução da atividade de p38 MAPK, ERK1/2 e NF-κB, sugerindo mecanismos anti-inflamatórios.	Wijerathne et al., 2017
Imperatorina (IMP) CAS: 482-44-0 Fórmula molecular: $C_{16}H_{14}O_4$ Nome IUPAC: 9-(3-metilbut-2-enoxi)furo[3,2-g]cromen-7-ona	Modelo animal <i>in vivo</i> (camundongos) com asma alérgica induzida por (OVA). Grupos: controle (sem OVA); OVA; OVA + imperatorina.	O IMP atenuou a inflamação das vias aéreas mediada por Th2, modulando a função das células dendríticas (DCs) e inibindo diretamente a ativação das células T.	Lin et al., 2016
Imperatorina (IMP)	Asma alérgica induzida por <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (Der p) em camundongos. Grupos: Controle negativo: camundongos sem sensibilização/sem exposição a Der p. Grupo Der p: camundongos sensibilizados e desafiados com Der p para induzir asma. Grupos tratados com IMP: camundongos tratados com Der p + imperatorina em diferentes doses (1, 5 e 10 mg/kg).	Em comparação com o grupo Der p, houve redução na infiltração de células inflamatórias no tecido pulmonar. Houve redução na hiperplasia de células endoteliais e na hipersecreção de muco nas vias aéreas. A imperatorina (5 e 10 mg/kg) diminuiu a contagem total de células inflamatórias no fluido de lavagem broncoalveolar (BALF). Além disso, houve redução nos níveis séricos de IgE e IgG1, com aumento de IgG2a após o tratamento com imperatorina. A imperatorina também diminuiu as citocinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-13) no BALF e aumentou as citocinas Th1 (IFN-γ, IL-12) e IL-10, indicando modulação da resposta imune.	Hsieh et al., 2022
Imperatorina (IMP)	A ativação de mastócitos mediada por MRGPRX2 foi avaliada em mastócitos peritoneais murinos (MPMCs), células LAD2 e células HEK293-Mrgprx2. A interação IMP-MRGPRX2 foi analisada por	O composto IMP reduziu o influxo de Ca^{2+} induzido pela substância P (SP) e inibiu a degranulação de mastócitos, suprimindo a fosforilação de ERK e CamKII e a produção de MIP-2 e TNF-α. <i>In vivo</i> , atenuou a asma alérgica	Wang et al., 2021

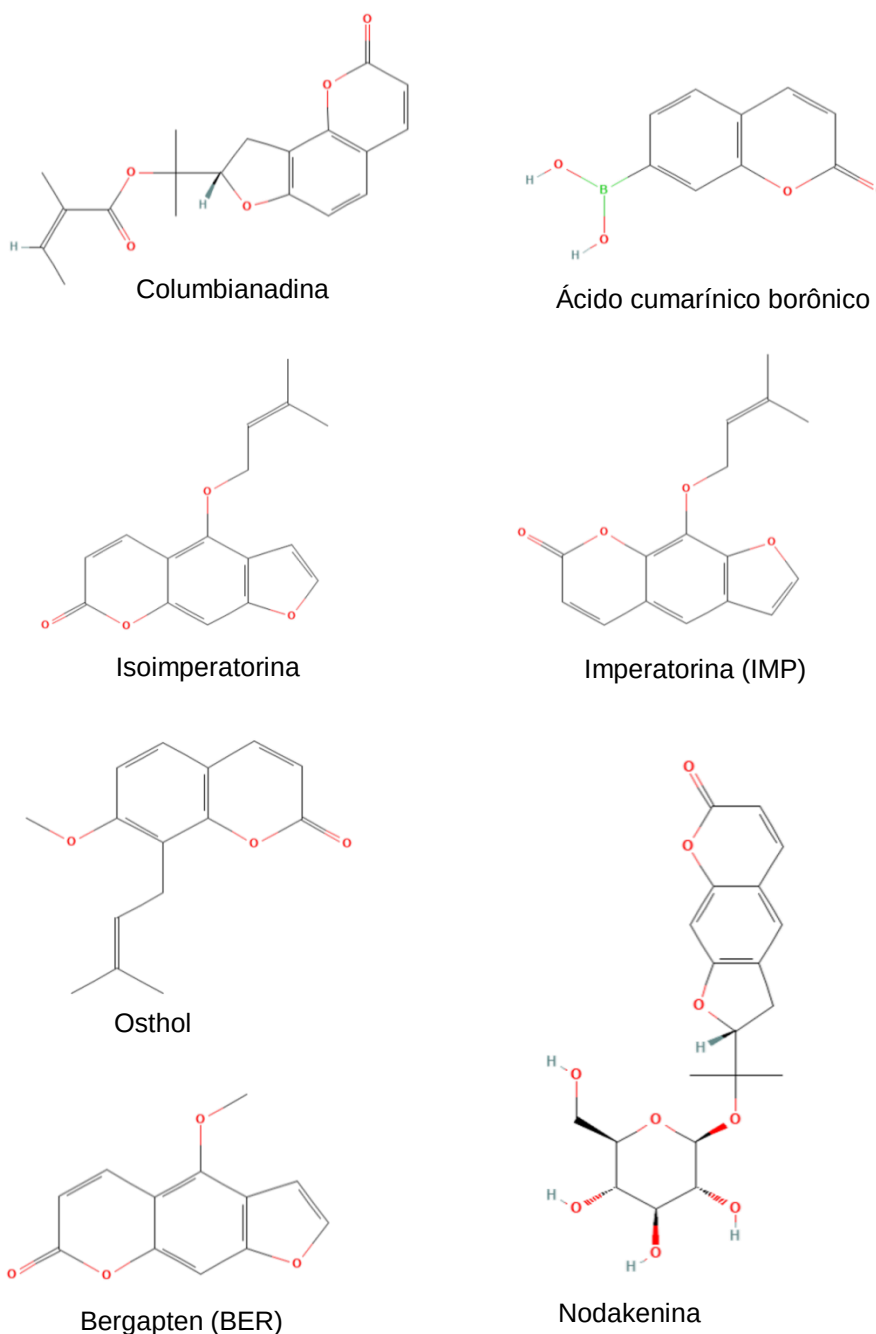
	acoplamento molecular e ressonância plasmônica de superfície (SPR), e a sinalização subsequente por Western blot. Respostas independentes de IgE foram examinadas em modelos de anafilaxia cutânea passiva (PCA) e anafilaxia sistêmica ativa (ASA), e o efeito antiasmático do IMP foi avaliado em um modelo murino de inflamação pulmonar induzida por OVA.	induzida por SP e a inflamação pulmonar induzida por OVA, reduzindo a ativação de mastócitos. O IMP apresentou alta afinidade pelo receptor MRGPRX2, com uma constante de ligação de $4,48 \pm 0,49 \times 10^{-7} \text{ M}$, sendo identificado como um potencial inibidor desse receptor na asma alérgica.	
Imperatorina (IMP)	O estudo utilizou camundongos BALB/c divididos em três grupos: um grupo controle sem tratamento, um modelo de asma alérgica induzida por OVA e um grupo de intervenção tratado com imperatorina (IMP), 30 mg/kg, após a indução da asma. Foram avaliadas as alterações patológicas no tecido pulmonar, a contagem de células inflamatórias no BALF (lavado broncoalveolar), os níveis de marcadores inflamatórios e o estado de estresse oxidativo. A expressão de proteínas da via de sinalização S1PR2/STAT3 nos pulmões também foi analisada.	Tratamento com IMP: Redução da infiltração de macrófagos e linfócitos no BALF; atenuação dos danos patológicos ao tecido pulmonar; diminuição dos níveis de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo (como MDA); Aumentou a atividade de antioxidantes endógenos (SOD e GSH-Px). Inibiu a expressão da via de sinalização S1PR2/STAT3, que estava elevada no modelo de asma. Esses resultados indicam que o IMP reverteu os danos pulmonares e melhorou a remodelação das vias aéreas ao suprimir a sinalização S1PR2/STAT3.	Wang et al., 2023
Osthol CAS: 484-12-8 Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$ Nome IUPAC: 7-metoxi-8-(3-metilbut-2-enil)cromen-2-ona	Modelos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (mastócitos humanos e murinos; modelos murinos de inflamação). Grupos: controle sem tratamento (veículo). Tratamento com ostol. Diferentes estímulos para ativação de mastócitos: composto 48/80, substância P, LL-37. O ostol foi aplicado a mastócitos pré-ativados e administrado em modelos murinos antes da indução de uma resposta inflamatória. Estudos de acoplamento molecular também foram utilizados para investigar as interações entre o ostol e o receptor MRGPRX2.	Inibição do receptor MRGPRX2 em mastócitos pelo ostol. O ostol afeta dois processos críticos na ativação de mastócitos mediada pelo receptor MRGPRX2: mobilização de cálcio intracelular (Ca^{2+}) e degranulação. Modelos <i>in vivo</i> mostraram que o ostol atenua a inflamação. Dados de modelagem e acoplamento molecular sugerem que o ostol atua por modulação alostérica do MRGPRX2, em vez de competir diretamente pelos sítios de ligação do ligante.	Callahan et al., 2020
Osthol	Modelo murino <i>in vivo</i> de asma alérgica (camundongos BALB/c). A asma foi induzida por ovalbumina (OVA), com análise da inflamação das vias aéreas, hiperresponsividade e resposta imune. Grupos: controle negativo	Redução da hiperresponsividade das vias aéreas em camundongos sensibilizados com OVA + osthole em comparação ao grupo asmático não tratado. Diminuição significativa nos níveis de citocinas Th2 (IL-4, IL-5 e IL-13) com	Chiang et al., 2017

	— veículo; grupo asma (OVA) — sensibilização e desafio com OVA sem tratamento; grupo de tratamento — OVA + osthole (5, 25 e 50 mg/kg de osthole).	osthole, indicando modulação da resposta inflamatória Th2 típica da asma alérgica. Aumento de IL-10 e expansão de células T reguladoras (Treg) no grupo tratado, sugerindo um efeito imunomodulador anti-inflamatório. Alteração na maturação de células dendríticas (DCs): o osthole promoveu um fenótipo menos pró-inflamatório nas DCs, reduzindo a expressão de moléculas ativadoras e citocinas pró-inflamatórias. Inibição da proliferação de células T CD4+ ativadas e supressão das respostas Th1/Th2 <i>in vitro</i> com osthol.	
Osthol	<i>In vivo</i> , camundongos fêmeas (BALB/c) com asma induzida por OVA e <i>in vitro</i> , cultura de células epiteliais (linhagem celular 16HBE). Grupos: controle saudável; modelo de asma (OVA) sem tratamento; modelo de asma + osthole (50 mg/kg). A viabilidade das células 16HBE após incubação com osthol em uma série de concentrações, incluindo 2,5, 5, 10, 20 e 40 μ M por 24 h, foi avaliada utilizando o kit de contagem celular CCK-8 (Beyotime, China).	A lesão do epitélio pulmonar induzida por TGF- β foi atenuada com o osthol, sugerindo proteção das células epiteliais. A transição epitélio-mesenquimal (TEM) mediada por TGF- β foi inibida pelo osthol, um importante indicativo de redução da remodelação das vias aéreas. A inflamação e os danos teciduais em camundongos asmáticos foram aliviados com o tratamento com osthole, indicando um efeito anti-inflamatório <i>in vivo</i> . <i>In vitro</i> , a viabilidade das células epiteliais 16HBE melhorou e houve uma redução nos marcadores de apoptose com o osthol em comparação com o grupo tratado apenas com TGF- β .	Tang; Liu; Zhang, 2022
Osthol	<i>In vivo</i> , camundongos BALB/c sensibilizados com OVA (modelo de asma). Grupos: controle—saudável (sem OVA): asma (OVA) sem osthol: asma + osthole em duas doses (25 e 50 mg/kg).	Efeitos antiasmáticos do osthol em camundongos por meio de mecanismos subjacentes que envolvem a via IL-33/ST2. Os principais resultados foram uma redução da inflamação pulmonar devido à infiltração de células inflamatórias, particularmente eosinófilos, nos pulmões dos camundongos, demonstrando uma diminuição notável no espessamento das paredes das vias aéreas e na hiperplasia epitelial do trato respiratório.	Yang et al., 2020
Osthol	<i>In vivo</i> , camundongos (modelo murino) com asma alérgica induzida por OVA. Grupos: controle — saudável (sem OVA);	O tratamento com osthol reduziu tanto as células inflamatórias quanto os níveis de citocinas Th2 no BLAF e a IgE específica para	Wang et al., 2017

	OVA (asma induzida) sem tratamento; tratamento — OVA + Osthol (25, 50 e 100 mg/kg).	OVA no soro. Melhorou as alterações patológicas no tecido pulmonar e suprimiu a atividade de NF-κB no modelo de asma.	
Osthol	<i>In vitro</i> , macrófagos peritoneais de camundongos (MPMs) foram tratados com osthole (20, 50 ou 100 μM) por 24 horas, e a viabilidade celular foi medida pelo ensaio MTT. <i>In vivo</i> , camundongos C57BL/6 com lesão pulmonar aguda induzida por LPS. Grupos: controle – saudável; LPS – sem osthole; LPS + osthole em diferentes doses de pré-tratamento (20 e 40 mg/kg).	Resultados <i>in vitro</i> indicaram que o tratamento inibiu a resposta inflamatória ao bloquear a translocação nuclear de NF-κB. Estudos <i>in vivo</i> mostraram que o osthole prolongou significativamente a sobrevivência de camundongos com lesão pulmonar aguda.	Yivi et al., 2018
Osthol	<i>In vivo</i> , camundongos fêmeas (C57BL/6) com asma induzida por OVA; e <i>in vitro</i> , linhagem celular de macrófagos alveolares (NR8383) estimulada com IL-4. Grupos experimentais: Controle saudável: Asmáticos por OVA sem tratamento: Asmáticos por OVA + osthole (15 e 40 mg/kg). <i>In vitro</i> , tratamento de macrófagos NR8383 estimulados com IL-4 com e sem osthol.	Observou-se redução da ativação de macrófagos nos pulmões de asmáticos e da expressão de CD206 em macrófagos no grupo tratado com OVA + osthol em comparação com o grupo tratado apenas com OVA. Houve diminuição da infiltração de células inflamatórias e da deposição de colágeno nas vias aéreas com o uso de osthole. Houve redução das citocinas pró-inflamatórias (IL-1β, TNF-α, MIF) nos pulmões dos animais tratados com osthol. Em estudos <i>in vitro</i> , o osthol suprimiu a proliferação e a migração de macrófagos induzidos por IL-4 (linhagem celular NR8383). Houve diminuição da translocação de NF-κB (p-IκBα e NF-κB nuclear) em macrófagos estimulados por IL-4 após o tratamento com osthol, indicando supressão da via NF-κB/MIF.	Li et al., 2021
Osthol	Os mecanismos broncodilatadores do osthol foram investigados por meio de experimentos <i>in silico</i> , <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> . <i>In vivo</i> , camundongos fêmeas C57BL/6J foram expostos a 25 μg de extrato purificado de ácaro da poeira doméstica (HDM) e, subsequentemente, tratados com osthole (25 mg/mL/10 g de peso corporal). <i>In vitro</i> , fatias de pulmão de camundongo (PCLS)	Foram observados efeitos relaxantes dependentes da concentração; a combinação de osthol e albuterol resultou em maior relaxamento; reduziu a inflamação e, estruturalmente, o osthol se liga mais fortemente a um domínio catalítico específico da prostaglandina 5 (PDE4D5).	Wang et al., 2022

	foram utilizadas para avaliar a resposta de constrição e relaxamento.		
Bergapten (BER) CAS: 484-20-8 Fórmula molecular: $C_{12}H_8O_4$ Nome IUPAC: 4-metoxifuro[3,2-g]cromen-7-ona	Um modelo murino de asma induzida por OVA foi estabelecido para examinar os efeitos antiasmáticos do BER. O influxo de cálcio (Ca^{2+}), a β -hexosaminidase e a liberação de histamina foram utilizados para avaliar a degranulação de mastócitos (MC) <i>in vitro</i> . O sequenciamento de RNA (RNA-Seq) foi utilizado para estudar o perfil de expressão gênica. RT-PCR e Western blot foram realizados para examinar a expressão das moléculas-alvo.	Foi capaz de suprimir a ativação de mastócitos mediada pelo receptor MRGPRX2, inibindo a expressão da proteína nuclear NR4A1 e, assim, reduzindo as reações alérgicas e inflamatórias na asma.	Wang et al., 2024
Nodakenina CAS: 495-31-8 Fórmula molecular: $C_{20}H_{24}O_9$ Nome IUPAC: (2R)-2-[2-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-tri-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxipropan-2-il]-2,3-di-hidrofuro[3,2-g]cromen-7-ona	Modelo murino <i>in vivo</i> de asma alérgica crônica, utilizando camundongos BALB/c sensibilizados com OVA. Grupos: Controle negativo: camundongos sensíveis a OVA recebendo veículo (sem nodakenina). Grupos tratados: nodakenina em 3 doses diferentes (5, 10 e 20 mg/kg) administradas por via oral antes de cada desafio com OVA.	Reduziu tanto a infiltração de células inflamatórias quanto a espessura da parede brônquica, assim como a deposição de colágeno nas vias aéreas de camundongos tratados com essa substância. Diminuiu os níveis de IL-4, IL-5, IL-13, MMP-2 e MMP-9 no fluido de lavagem broncoalveolar (BALF). Também reduziu a IgE específica para OVA no soro.	Xiong et al., 2014
Derivados cumarínicos	Este trabalho relata a semissíntese, a avaliação <i>in vitro</i> do relaxamento traqueal em ratos e estudos de relação estrutura-atividade (SAR) de 18 cumarinas. Todos os compostos foram avaliados (0,1–500 μ M) em contração induzida por carbachol (1 μ M, agonista colinérgico muscarínico) em anéis traqueais de ratos; e a teofilina (inibidor da fosfodiesterase) foi utilizada como controle positivo. Os compostos avaliados foram utilizados em concentrações que permitiram a determinação de Emax e EC50 em comparação com a teofilina.	Os resultados indicaram que os derivados de éter 1–3, 7–9 e 13–15 exibiram a melhor atividade relaxante ($E_{max} = 100\%$), sendo o composto 2 (42 μ M) o mais potente. Na relação estrutura-atividade (SAR), os derivados com pequenos grupos éter (metil, etil e propil) nas posições 6 e 7 tendem a promover maior relaxamento na traqueia. Os ésteres foram menos ativos que os éteres. Grupos metil adicionais podem modular a atividade, sugerindo a importância da hidrofobicidade e do tamanho na estrutura da cumarina.	Sánchez-recillas et al., 2014

Figura 3. Estruturas químicas das cumarinas dos artigos selecionados



O artigo de Lim e colaboradores (2014) relataram os efeitos anti-inflamatórios das raízes de *Angelica decursiva* e seu principal composto ativo, columbianadina, um derivado de cumarina, nas vias aéreas. Esta planta tem sido tradicionalmente usada na medicina para tratar várias condições respiratórias, incluindo tosse, asma e bronquite. Este estudo foi conduzido tanto *in vitro* quanto *in vivo*. *In vitro*, células epiteliais pulmonares (A549) e macrófagos alveolares (MH-S) foram usados para examinar marcadores inflamatórios como interleucina-6 (IL-6) e óxido nítrico (NO). *In*

vivo, um modelo murino de lesão pulmonar aguda induzida por lipopolissacarídeo (LPS) foi usado, e a inflamação pulmonar foi medida pela contagem de células no fluido de lavagem broncoalveolar (BALF) e análise histopatológica. A columbianadina demonstrou forte atividade inibitória na resposta inflamatória de células A549 tratadas com IL-1 β e células MH-S tratadas com LPS, além de inibir a produção de NO por meio da regulação negativa da síntese induzível de NO. O composto também demonstrou atividade inibitória significativa contra a inflamação pulmonar induzida por LPS em camundongos, com doses variando de 20 a 60 mg/kg. Em relação às implicações clínicas deste estudo, os autores destacaram que a columbianadina possui propriedades anti-inflamatórias significativas e sugeriram seu potencial para o tratamento de condições respiratórias inflamatórias, como asma e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). No entanto, os autores afirmaram que são necessários estudos clínicos para confirmar esses achados em humanos e para explorar os potenciais efeitos colaterais e a dosagem ideal.

O artigo de Bazan-Socha e colaboradores (2022) conduziu um estudo em humanos, 74 pacientes com asma atendidos no Ambulatório do Departamento de Alergia e Imunologia Clínica, Hospital Universitário, Cracóvia, na Polônia. O diagnóstico de asma e a gravidade da doença (doença leve, moderada e grave) foram estabelecidos com base na diretriz atual da *Global Initiative for Asthma* (GINA), e o controle dos sintomas foi avaliado com base no resultado do *Asthma Control Test* (ACT) (asma bem controlada, não bem controlada e muito mal controlada). Os autores exploraram a relação entre o estresse oxidativo e a asma, focando especificamente em como o aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) contribui para a inflamação e remodelação das vias aéreas. Os autores utilizaram um ensaio inovador baseado em ácido borônico de cumarina (CBA) para monitorar em tempo real a formação de hidroperóxidos proteicos (HP) no sangue periférico de pacientes asmáticos comparados com controles saudáveis. Os resultados mostraram um aumento significativo do estresse oxidativo sistêmicos em indivíduos com asma. Especificamente, a formação de HP foi 35% mais rápida e 58% maior nos pacientes asmáticos, refletindo um aumento no estresse oxidativo. Este aumento no estresse oxidativo foi inversamente correlacionado com a função pulmonar, sugerindo que quanto maior o estresse oxidativo, pior a função pulmonar. No entanto, não houve correlação significativa com a gravidade da asma ou medidas histológicas de remodelação das vias aéreas. Além disso, a geração de HP foi

positivamente associada a vários marcadores inflamatórios tanto no sangue quanto no fluido de lavagem broncoalveolar (BAL), incluindo proteína C-reativa e interleucinas (IL-6, IL-12). Portanto, os achados sugerem que o controle adequado da doença pode reduzir o estresse oxidativo e, conseqüentemente, melhorar a função pulmonar e diminuir a inflamação das vias aéreas. Em resumo, o estudo destaca a importância de abordar o estresse oxidativo como parte do tratamento da asma, apontando para potenciais intervenções terapêuticas que possam suavizar os efeitos deletérios do estresse oxidativo em pacientes asmáticos.

No estudo conduzido por Wijerathne e colaboradores (2017) investigaram os efeitos da imperatorina (IMP), uma furanocumarina ativa isolado de *Angélica dahurica* (Apiaceae), sobre a inflamação das vias aéreas e a hipersecreção de muco em um modelo murino de asma induzida por ovalbumina. Os principais achados dos autores revelaram que o IMP reduziu significativamente a produção de interleucina IL-4, IL-5, IL-13, eotaxina e imunoglobulina IgE no fluido broncoalveolar (BALF). Os autores sugerem ainda que os efeitos benéficos da imperatorina podem estar associados à inibição das vias NF-κB e proteínas cinases ativadas por mitógeno (MAPKs). Com isso, foi concluído que o IMP pode ser um potencial agente terapêutica para o tratamento da asma, devido à sua capacidade de atenuar a inflamação das vias aéreas e a hipersecreção de muco, especialmente em casos onde a inflamação e o excesso de muco são preocupações predominantes.

No ano anterior Lin e colaboradores (2016) já haviam estudado os efeitos da IMP em um modelo de asma alérgica mediada por células T auxiliares tipo 2 (Th2). E nos resultados obtiveram aumento na população de células T reguladoras (Tregs) produtoras de IL-10, uma citocina anti-inflamatória, o que contribuiu para a supressão da resposta inflamatória alérgica. Além disso, a IMP alterou a função das células dendríticas, favorecendo tolerância imunológica em vez da resposta alérgica, o que está associado ao aumento da indução de células Tregs. Também houve uma diminuição nos níveis de citocinas Th2 (como IL-4, IL-5 e IL-13), que são mediadoras chaves da inflamação alérgica.

Hsieh e colaboradores (2022) avaliaram o efeito da IMP no tratamento da asma alérgica induzida pelo ácaro *Dermatophagoides pteronyssinus* em camundongos e obtiveram como resultados a supressão da resposta Th2, que é responsável pela produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-4, IL-5, e IL-13, levando a uma diminuição na produção de IgE e IgG1, que está associada à

resposta alérgica. Por outro lado, a especificidade relacionada a Th1 para IgG2a aumentou significativamente nos camundongos tratados com imperatorina, o que é positivo, pois além de limitar a inflamação, fornece proteção contra a inflamação do trato respiratório induzida pela asma alérgica. Esses resultados revelaram que a imperatorina equilibra as citocinas Th1 e Th2 em camundongos com asma alérgica induzida por *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Já os autores Wang e colaboradores (2021) propuseram a utilização do IMP envolvendo um mecanismo de inibição do receptor MRGPRX2 e a interrupção da sinalização das proteínas CamKII e ERK, que são componentes chave nas cascatas de sinalização celular envolvidas na ativação dos mastócitos. Segundo os autores, o receptor MRGPRX2 acoplado à proteína G é expresso em mastócitos e é um dos receptores endógenos responsáveis pela ativação independente de IgE de mastócitos humanos. O estudo envolveu uma combinação de experimentos *in vitro*, *in vivo* e análises computacionais para investigar o efeito do IMP na inflamação alérgica mediada por mastócitos. Os principais resultados obtidos pelos autores foram: inibição da degranulação dos mastócitos, o IMP reduziu a degranulação dos mastócitos *in vitro*, de maneira dependente da concentração, significando que um menor número de mediadores inflamatórios foram liberados. Redução da produção de citocinas pró-inflamatórias, diminuiu a produção de citocinas como IL-4, IL-6 e TNF- α , que desempenham papéis importantes na resposta inflamatória alérgica; inibição da via de sinalização CamKII/ERK, nos experimentos de sinalização celular, foi observado que a imperatorina reduziu a fosforilação das proteínas CamKII e ERK, componentes importantes na ativação de mastócitos, sugerindo que a imperatorina interfere diretamente na via de sinalização intracelular que leva à inflamação; bloqueio do receptor MRGPRX2, o IMP mostrou forte afinidade pelo receptor MRGPRX2, inibindo sua ativação em mastócitos, o que foi confirmado tanto nos experimentos *in vitro* quanto no ensaio de *docking* molecular; eficácia *in vivo*, em modelos murinos de inflamação alérgica das vias aéreas, reduziu significativamente a inflamação pulmonar, a infiltração de células inflamatórias e a produção de muco, demonstrando potencial terapêutico contra a asma alérgica.

Semelhante ao estudo anterior, os autores Callahan e colaboradores (2020) investigaram a inibição do mesmo receptor MRGPRX2 nas células mastocitárias com um outro derivado cumarínico, o osthol. Nesse artigo os autores discutem como o osthol afeta dois processos críticos na ativação das células mastocitárias

mediadas pelo receptor MRGPRX2, a mobilização de cálcio intracelular (Ca^{2+}) e a degranulação. O osthol inibiu significativamente a mobilização de Ca^{2+} após a ativação de MRGPRX2, interferindo diretamente no processo de ativação das células mastocitárias, diminuindo a degranulação induzida por MRGPRX2 prevenindo a resposta inflamatória. O osthol reduziu também a produção de quimiocinas e citocinas, como o TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e IL-8, que desempenham papéis cruciais na inflamação. Em modelos *in vivo* o osthol foi usado para avaliar sua capacidade de atenuar a inflamação dependente de células mastocitárias, redução do edema e da infiltração de células inflamatórias foi observada nos locais afetados. Foi utilizado também estudos de *docking* molecular para investigar as interações entre o osthol e o receptor MRGPRX2. Essa interação foi mediada por ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, que são essenciais para a estabilização do osthol no sítio ativo do receptor. Os resíduos-chave identificados incluem aminoácidos localizados na região transmembranar, que são responsáveis pela transmissão do sinal intracelular após a ativação de MRGPRX2. O osthol, ao se ligar nesses locais, bloqueia ou diminui a capacidade do receptor de transmitir sinais que levariam à degranulação.

Wang e colaboradores (2023) investigaram também os efeitos do IMP sobre o remodelamento das vias aéreas em um modelo de asma brônquica, focando em como o composto pode modular a via de sinalização S1PR2/STAT3, que está envolvido no processo inflamatório e na mudança estrutural das vias respiratórias associadas à asma. Os autores observaram que o IMP foi capaz de reduzir significativamente o espessamento da camada muscular das vias aéreas e a deposição de colágeno em modelos experimentais de asma brônquica. Assim como inibiu a ativação da via S1PR2/STAT3, destacada como um importante alvo terapêutico para o tratamento de doenças pulmonares inflamatórias, reduzindo os níveis de expressão da proteína S1PR2 e da proteína STAT3 fosforilada (p-STAT3) nos pulmões de camundongos asmáticos tratados com a substância. Isso sugere que a imperatorina exerça seus efeitos de prevenção dessa via de sinalização, que é conhecida por promover inflamação e remodelamento em doenças pulmonares. Além de reduzir o remodelamento, também apresentou efeitos anti-inflamatórios, como a diminuição da infiltração de células inflamatórias e da produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-13 e TNF- α) nos pulmões. Em virtude disso, os autores sugerem que a IMP se destaca com um potencial terapêutico especialmente em

casos específicos em que as vias respiratórias se tornam espessas devido a lesões pulmonares prolongadas.

Chiang e colaboradores (2017) exploraram os efeitos antialérgicos do osthol em camundongos asmáticos e investigou suas ações imunomoduladoras em células dendríticas (DCs) e células T. Como resultados principais foram observados uma redução significativa da inflamação das vias aéreas, diminuição da produção de muco, e menor infiltração de eosinófilos nos pulmões dos camundongos com asma alérgica. Além disso, o osthol exerce efeitos imunomoduladores importantes sobre a maturação e função das células dendríticas, que são células apresentadoras de antígenos cruciais na ativação das células Th2, reduzindo a produção de citocinas associadas a essa resposta, como IL-4, IL-5 e IL-13, que são mediadores chave na patogênese da asma alérgica. E, como efeitos imunomoduladores o estudo destacou que o osthol não só suprime a resposta alérgica, mas também modula a função do sistema imunológico de forma mais ampla, impactando a maturação e a função das células dendríticas e, conseqüentemente, a resposta imune adaptativa.

A pesquisa conduzida por Jin e colaboradores (2018) abrangendo estudos *in vitro* e *in vivo* para avaliar o potencial anti-inflamatório do osthol, observaram uma redução significativa da produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , após estimulação com lipopolissacarídeo (LPS), além de inibir tanto a degradação do anticorpo I κ B- α estimulada por LPS, como a translocação nuclear da subunidade p65 de NF- κ B, mecanismos essenciais na mediação da resposta inflamatória. Segundo os autores, os resultados indicam que o osthol exerce um efeito protetor contra a lesão pulmonar aguda, principalmente através da supressão da inflamação dependente do NF- κ B, sugerindo que o osthol pode ser um agente anti-inflamatório promissor para o tratamento de choque séptico e lesão pulmonar aguda.

O osthol também foi estudado por Tang, Liu e Zhang (2022), sobre a apoptose induzida por TGF- β no epitélio pulmonar e a transição epitelial-mesenquimal (EMT) na asma pediátrica, demonstrando capacidade de inibir a EMT, um processo chave na remodelação das vias aéreas, suprimindo a expressão de marcadores mesenquimais e restaurando a expressão de marcadores epiteliais, além de se mostrar eficaz em inibir a apoptose das células epiteliais pulmonares induzidas pelo TGF- β . Através de experimentos *in vitro*, observou-se que o tratamento com osthol reduziu significativamente a expressão de proteínas pró-

apoptóticas, como caspases, e aumentou a expressão de proteínas anti-apoptóticas. Em relação a modulação das vias de sinalização, o estudo indicou que o osthon atua bloqueando a ativação das vias de sinalização SMAD e MAPK, que são ativadas pelo TGF- β e estão envolvidas na apoptose e EMT. Sugerindo que a capacidade do osthon de modular essas vias de sinalização pode abrir novas oportunidades para intervenções que visam prevenir o agravamento da asma ao preservar a integridade do epitélio pulmonar e limitar a remodelação das vias aéreas.

Yang e colaboradores (2020) estudaram o mesmo composto, osthon, porém focada na via de sinalização IL-33/ST2, que é conhecida por desempenhar um papel crucial na resposta inflamatória e no desenvolvimento de asma. O receptor de IL-33, ST2, é altamente expresso em células linfoides inatas do grupo dois (ILC2s), células Th2, mastócitos, eosinófilos e células natural killer (NK). O presente estudo examinou os efeitos antiasmáticos do osthon em camundongos e teve como objetivo elucidar os mecanismos subjacentes envolvendo a via IL-33/ST2. Os principais resultados foram a redução da inflamação pulmonar através da infiltração de células inflamatórias, especialmente eosinófilos nos pulmões dos camundongos, mostrando uma redução notável no espessamento das paredes das vias aéreas e na hiperplasia do epitélio das vias respiratórias, observados na análise histopatológica dos pulmões. Inibição da sinalização IL-33/ST2, ambos fundamentais na promoção da resposta inflamatória na asma. Além disso, houve uma redução nas citocinas inflamatórias associadas e essa via, incluindo IL-4, IL-5 e IL-13, que estão relacionadas à inflamação alérgica e à hiperresponsividade das vias aéreas. A imunoglobulina E (IgE), que é crítica na resposta alérgica, também apresentou níveis diminuídos nos camundongos tratados com osthon, sugerindo que o composto pode atenuar a sensibilidade alérgica.

Em um estudo anterior conduzido pelos autores Wang e colaboradores (2017) também com o osthon, buscaram determinar seus efeitos na asma alérgica em um modelo murino de asma induzido por ovoalbumina (OVA). No experimento, os camundongos foram sensibilizados e desafiados com OVA para induzir um quadro asmático, apresentando inflamação das vias aéreas, aumento de muco e hiperresponsividade brônquica. O tratamento com osthon resultou em uma redução significativa na inflamação, na produção de muco e na hiperresponsividade brônquica em camundongos quando comparados ao grupo de controle. Os autores também observaram uma redução na secreção de citocinas inflamatórias, como IL-4,

IL-5 e IL-13, indicando que o osthol pode modular a resposta imune Th2, típica em casos de asma alérgica.

Li e colaboradores (2021) demonstraram que o osthol inibiu a inflamação das vias aéreas e a ativação de macrófagos em um modelo murino de asma induzida por OVA. O osthol pode suprimir a ativação de macrófagos induzida por IL-4, incluindo proliferação celular, migração celular e produção de citocinas do tipo M2. Os efeitos inibitórios dessa cumarina podem ser mediados pela via de sinalização NF- κ B/MIF (fator nuclear-kappa B/fator inibitório de macrófago). Essa via, NF- κ B/MIF, exerce um papel significativo na ativação de macrófagos induzida por IL-4. As atividades biológicas dos macrófagos incluem proliferação celular, migração celular e secreção de citocinas do tipo M2.

No artigo de Wang e colaboradores (2020), foram investigados os mecanismos pelos quais o osthol exerce efeitos broncodilatadores, a fim de explorar seu uso para melhorar a função pulmonar em pacientes asmáticos. As principais descobertas foram: O relaxamento das pequenas vias aéreas nas fatias de pulmão de camundongos pré-contraídas com substâncias como metacolina (um agente broncoconstritor), os efeitos relaxantes foram dependentes da concentração. Além de prevenir a contração muscular, também reverteu a contração das vias aéreas já induzida pela metacolina, o que reforça sua capacidade broncodilatadora, segundo os autores. Ainda mostrou-se eficaz em relaxar as vias aéreas de forma comparável a broncodilatadores convencionais usados no tratamento da asma, como a teofilina e o isoproterenol. Os autores também averiguaram se os canais de cálcio do tipo L (Cav1.2) e os canais TRPV1 (*transient receptor potential vanilloid 1*) desempenham um papel no efeito de relaxamento das vias aéreas induzido pela osthol. Eles utilizaram bloqueadores específicos, como o nifedipino, para testar se esses canais estavam envolvidos no mecanismo de relaxamento induzido pela osthol, o resultado mostrou que o bloqueio não afetou no relaxamento. Os autores investigaram também se o osthol tem um efeito sinérgico ou aditivo quando combinada com o albuterol, um broncodilatador β 2-agonista comumente utilizado no tratamento da asma. A combinação de osthol com albuterol resultou em um maior relaxamento das vias aéreas em comparação com o albuterol isolado, o que pode ser especialmente útil em pacientes que não respondem de forma satisfatória ao uso isolado de β 2-agonistas. Sabendo que em pacientes asmáticos, o uso prolongado de β 2-agonistas pode levar à dessensibilização dos receptores β 2-adrenérgicos, tornando os

tratamentos menos eficazes. As vias aéreas dos camundongos foram tratadas com albuterol repetidamente, causando a dessensibilização dos receptores β_2 -adrenérgicos, o que levou a uma diminuição da resposta ao albuterol, e mesmo após a dessensibilizados, o osthol foi capaz de induzir relaxamento significativo das vias aéreas. Os autores exploraram os mecanismos moleculares pelos quais o osthol induz o relaxamento das vias aéreas, focando no papel da via de sinalização do AMPc (Adenosina Monofosfato Cíclico) e da PKA (Proteína Quinase A), um mecanismo molecular proposto subjacente ao relaxamento das vias aéreas induzido pelo osthol. As células do músculo liso das vias respiratórias (ASM) secretam PGE2 que ativa EP2 e EP4 acoplados a Gs para estimular a adenilil ciclase (AC) a produzir AMPc que é rapidamente degradado por PDE4D (fosfodiesterase 4) na musculatura lisa. Osthol inibe a atividade de PDE4D para amplificar a sinalização autócrina de PGE2 e aumenta os níveis de AMPc, levando ao relaxamento das vias aéreas mediado por ASM e dependente de AMPc/PKA. Aqui, o osthol aumentou significativamente os níveis intracelulares de AMPc nas células musculares lisas das vias aéreas humanas (ASM), ativando a PKA, que além de promover a abertura de canais de potássio e à redução da concentração de cálcio intracelular, fosforila e inibe proteínas que promovem a contração muscular, facilitando o relaxamento das vias aéreas. Quando os autores bloquearam a via AMPc-PKA com inibidores específicos, o efeito relaxante do osthol foi reduzido significativamente, sugerindo que essa via é crucial para o mecanismo de ação do osthol no relaxamento das células ASM. Na sinalização autócrina mediada pela prostaglandina E2 (PGE2) por meio dos receptores EP2 e EP4 (principais receptores envolvidos no relaxamento) nas células musculares lisas, o osthol foi capaz de potencializar a ativação dos receptores EP2 e EP4, os quais estão acoplados à via de sinalização do AMPc, promovendo o aumento do AMPc intracelular e, conseqüentemente, o relaxamento das células ASM, mostrando que por meio da amplificação da sinalização PGE2 autócrina pelos receptores EP2 e EP4 com osthol pode ajudar a aumentar o relaxamento das vias aéreas em condições asmáticas, onde a contratilidade do músculo liso é exacerbada. Os autores descobriram que a PDE4 (fosfodiesterase 4), uma enzima que degrada o AMPc, tem um papel central na regulação da sinalização autócrina de PGE2, quando o uso de inibidores específicos da PDE4, como rolipram, resultou em uma elevação dos níveis de AMPc e intensificou o efeito broncodilatador da PGE2 nas células ASM., sugerindo que a PDE4 age como um regulador negativo

da sinalização autócrina de PGE₂, limitando a duração e a intensidade do relaxamento muscular nas vias aéreas, observado tanto em experimentos *in vitro* quanto em modelos *in vivo*. Os autores ainda relatam que o osthol foi capaz de inibir a atividade da PDE4D5 (subfamília de fosfodiesterase D, subtipo cinco), uma isoforma específica da PDE4D, de maneira seletiva com uma inibição significativa dessa isoforma em comparação com outras variantes da PDE4. Essa seletividade é importante, pois a inibição de subtipos específicos de PDE4 pode reduzir os efeitos colaterais comuns associados a inibidores de PDE4 de amplo espectro, como náusea e vômito. E ainda apresentaram dados estruturais sobre como o osthol interage com a isoforma PDE4D5 da fosfodiesterase 4. A análise da estrutura cristalina revelou que o osthol se liga diretamente ao domínio catalítico da PDE4D5. Essa ligação ocorre em um local específico que é crucial para a atividade enzimática da fosfodiesterase. A estrutura cristalina forneceu detalhes sobre a conformação do osthol e os resíduos de aminoácidos na PDE4D5 que interagem com o composto. Em relação ao mecanismo de inibição, a ligação do osthol ao domínio catalítico impede a interação da enzima com seu substrato, o AMPc. Essa inibição resulta em uma diminuição na degradação do AMPc, aumentando assim os níveis intracelulares desse mensageiro e promovendo o relaxamento das células musculares lisas das vias aéreas. A análise estrutural sugere que o osthol pode induzir mudanças conformacionais na PDE4D5, o que é uma característica comum de inibidores de enzimas. Ainda foi examinada uma região específica da PDE4D5, chamada de região conservada a montante dois (UCR2), como essa região influencia a interação entre o osthol e a enzima, e os resultados mostraram que na presença da UCR2 o osthol se liga mais fortemente ao domínio catalítico da PDE4D5, sugerindo que essa região pode facilitar uma conformação que otimiza a interação com o composto.

Bergapten (BER) é uma furanocumarina naturalmente isolada de plantas pertencentes à família *Apiaceae*, estudada pelos autores Wang e colaboradores (2024) em relação aos seus efeitos inibitórios na ativação de mastócitos (MCs) mediada por MRGPRX2, por meio do modelo de asma. O MRGPRX2 trata-se de uma proteína G X2, um novo receptor que pertence aos receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e está envolvido na ativação de MCs independentes de IgE, que mediam reações pseudoalérgicas induzidas por medicamentos. Neste trabalho o BER demonstrou capacidade de suprimir a ativação dos mastócitos mediada pelo receptor MRGPRX2, inibindo a expressão da proteína nuclear NR4A1, essencial

para a ativação dos mastócitos. Com isso, os autores sugerem que o BER pode ser uma nova abordagem terapêutica para doenças respiratórias inflamatórias ao visar especificamente a via de sinalização MRGPRX2/NR4A1, com potencial de reduzir reações alérgicas e inflamatórias sem causar grandes efeitos colaterais.

Xiong e colaboradores (2014) investigaram o potencial antiasmático da nodakenina, um glicosídeo cumarino em um modelo animal de asma alérgica. Os autores observaram menor infiltração de células inflamatórias, especialmente eosinófilos, redução nos níveis de citocinas inflamatórias como IL-4, IL-5, e IL-13 no BALF, diminui de forma significativa a espessura da parede brônquica e a deposição de colágeno nas vias aéreas dos camundongos tratados com nodakenina. Portanto, esses resultados indicam que o composto pode atenuar as alterações estruturais crônicas nas vias aéreas, a redução da inflamação e hiperresponsividade associadas à progressão da asma.

E no trabalho dos autores Sánchez-Recillas e colaboradores (2014) abordaram três principais aspectos envolvendo semi-síntese, avaliação *in vitro* e Estudos de Relação Estrutura Atividade (SAR). Em relação aos resultados obtidos, os autores conseguiram gerar uma série de novos derivados de cumarinas, os quais mostraram uma variedade de características físico-químicas, sugerindo potencial para atividade biológica no tratamento da asma. Foi observado que a adição do grupo éter (metil, etil e propil) na posição sete ou posições seis e sete das cumarinas levam a efeitos relaxantes significativos, enquanto a formação de ésteres gerou compostos menos ativos. O composto que obteve um maior destaque em relação a potencia apresentou um efeito relaxante máximo de 100% (E_{max}) com uma concentração EC_{50} de 42 μM como demonstrado na Figura 4, mostrando-se quatro vezes mais ativo que a teofilina (controle positivo). Esses achados sugerem que o aumento da cadeia lipofílica na posição seis e/ou sete do esqueleto da cumarina aumenta o efeito relaxante nos anéis traqueais de ratos. Os autores ainda propuseram a construção de um modelo farmacofórico e de uma nova molécula projetada (Figura 4), com base nas moléculas mais ativas tratadas neste estudo. Essa parte do estudo foi baseada em resultados experimentais e descrição das principais características químicas compartilhadas pelos derivados cumarínicos mais ativos. Segundo os autores, uma inspeção química da estrutura molecular sugere uma incorporação do grupo metil na posição quatro, bem como substituições etoxi nas posições seis e sete.

Figura 4. Composto mais ativo 1 e molécula sugerida pelos autores 2



Fonte: Adaptado de Sánchez-Recillas (2014).

De modo geral todos os artigos analisados relatam a efetividade das cumarinas e seus derivados no tratamento da asma. No entanto, aquelas de maior destaque pelos autores foram apenas duas, imperatorina e osthol, com cinco e oito artigos, respectivamente, apesar de os efeitos anti-inflamatórios das cumarinas e seus derivados já serem bem relatados na literatura. De acordo com os resultados das pesquisas, ambas as substâncias forneceram respostas celulares do tipo Th1 e Th2, assim como mediadores químicos, histamina, prostaglandinas e leucotrienos, no processo crucial da asma que é a inflamação, seguida de contração exacerbada do músculo liso, deposição de colágeno e secreção mucosa, podendo chegar a remodelação estrutural, quando a intensidade é persistente. Os autores também demonstraram os mecanismos pelos quais esses eventos ocorreram, destacando como essas duas cumarinas podem atuar nessas vias, atenuando os principais eventos da asma. No entanto, enfatizaram a necessidade de mais pesquisas sobre quais mecanismos as cumarinas e seus derivados atuam no tratamento dessa patologia. Em relação à toxicidade e/ou efeitos adversos associados às cumarinas, nenhum dos artigos selecionados deixou isso claro, pois não mencionaram esses valores na seção de resultados. Embora os estudos incluídos nesta revisão não tenham abordado diretamente aspectos toxicológicos, as evidências disponíveis indicam que as cumarinas podem apresentar potencial hepatotóxico de forma dependente da dose, da duração e do metabolismo. Essa toxicidade está principalmente associada ao metabolismo mediado pelo citocromo P450 e à formação de metabólitos reativos, levando ao estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e lesão hepatocelular, particularmente em modelos animais. Em humanos, a hepatotoxicidade induzida por cumarinas parece ser rara e geralmente reversível, com relatos de elevações transitórias nas enzimas hepáticas em uma pequena proporção de indivíduos, o que destaca a importância do monitoramento da função hepática durante o uso terapêutico prolongado ou em altas doses (YANG et al., 2020; ZHU; JIANG, 2018). Em conclusão, as cumarinas e seus derivados são

candidatos promissores para o tratamento da asma. No entanto, o avanço no desenvolvimento dessas moléculas como candidatos terapêuticos requer estudos adicionais voltados à caracterização mecanística, otimização estrutural, avaliação farmacocinética e toxicológica, bem como validação experimental em modelos pré-clínicos e clínicos. A obtenção dessas informações poderá ampliar a compreensão do potencial farmacológico das cumarinas e fortalecer sua aplicabilidade no tratamento da asma.

4 CONCLUSÃO

A busca bibliográfica realizada nesta revisão sistemática sobre o efeito antiasmático das cumarinas e seus derivados, rendeu um quantitativo de dezoito artigos envolvendo estudos *in silico*, *in vitro* e *in vivo*. Desses artigos, houve um destaque especial para duas cumarinas, imperatorina e osthol, as quais foram exploradas por cinco e oito artigos, respectivamente, envolvendo efeitos relaxantes, anti-inflamatórios e estruturais das vias aéreas, eventos importantes da asma. Os autores também mostraram que assim como algumas vias de sinalização, CamKIL/ERK, S1PR2/STAT3, SMAD/MAPK, MRGPRX2/NR4A1 e AMPc/PKA, como receptores específicos, Cav1.2, TRPV1 e PDE4D5 são importantes quando ativados ou inibidos pelas cumarinas, com o objetivo de obter respostas efetivas contra a asma. Concluindo os resultados promissores catalogados nesta revisão sistemática juntamente com a carencia de dados envolvendo tanto toxicidade e efeitos adversos, quanto a exploração de outras estruturas cumarinas, já que seu efeito contra inflamação é bem demonstrado na literatura, sugerem que esta é uma área de pesquisa com significativo potencial de exploração e expansão.

Agradecimentos

Esta pesquisa foi apoiada pelo Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - PPGBiotec através da Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS.

Estudo financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo nº 311940/2022-6.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- BAZAN-SOCHA, S. et al. Increased oxidative stress in asthma: relation to inflammatory blood and lung biomarkers and airway remodeling indices. **Biomedicines**, v. 10, n. 7, p. 1499, 2022.
- CAHILL, K. N. et al. Effect of KIT inhibition by imatinib on airway mast cells in patients with severe refractory asthma (KIA). **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 139, n. 2, p. AB169, 2017.
- CALLAHAN, B. N. et al. Osthole, a natural plant derivative inhibits MRGPRX2 induced mast cell responses. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 703, 2020.
- CAMINATI, M. et al. Biologics for the treatments of allergic conditions: severe asthma. **Immunology and Allergy Clinics**, v. 40, n. 4, p. 549–564, 2020.
- CHIANG, C. Y. et al. Osthole treatment ameliorates Th2-mediated allergic asthma and exerts immunomodulatory effects on dendritic cell maturation and function. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 14, n. 11, p. 935–947, 2017.
- FOROOZESH, M. et al. Coumarins and P450s, studies reported to date. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1620, 2019.
- GROVER, J.; JACHAK, S. M. Coumarins as privileged scaffold for anti-inflammatory drug development. **RSC Advances**, v. 5, n. 49, p. 38892–38905, 2015.
- HSIEH, C. C. et al. Ameliorative effect of imperatorin on Dermatophagoides pteronyssinus-induced allergic asthma by suppressing the Th2 response in mice. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 7028, 2022.
- JIN, Y. et al. Osthole protects against acute lung injury by suppressing NF- κ B-dependent inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, p. 4934592, 2018.
- KUBO, M. Innate and adaptive type 2 immunity in lung allergic inflammation. **Immunological Reviews**, v. 278, n. 1, p. 162–172, 2017.
- LI, R. et al. Osthole attenuates macrophage activation in experimental asthma by inhibiting the NF- κ B/MIF signaling pathway. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 572463, 2021.
- LIM, H. J. et al. Inhibition of airway inflammation by the roots of Angelica decursiva and its constituent, columbianadin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 2, p. 1353–1361, 2014.
- LIN, C. L. et al. Imperatorin exerts antiallergic effects in Th2-mediated allergic asthma via induction of IL-10-producing regulatory T cells by modulating the function of dendritic cells. **Pharmacological Research**, v. 110, p. 111–121, 2016.

LIU, B. et al. Unveiling hepatotoxicity distinction of coumarin-related compounds from glycosides to aglycones in Fructus Psoraleae by integrating UPLC-Q-TOF-MS and high content analysis. **Journal of Ethnopharmacology**, 2023.

MOHD, K. H. et al. Coumarins as versatile therapeutic phytomolecules: a systematic review. **Phytomedicine**, v. 134, 2024.

MORAN, A. M. et al. Blood eosinophil depletion with mepolizumab, benralizumab, and prednisolone in eosinophilic asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 202, n. 9, p. 1314–1316, 2020.

NAN, Z. D. et al. Systematic review of natural coumarins in plants (2019–2024): chemical structures and pharmacological activities. **Phytochemistry**, v. 235, p. 114480, 2025.

SÁNCHEZ-RECILLAS, A. et al. Semisynthesis, ex vivo evaluation, and SAR studies of coumarin derivatives as potential antiasthmatic drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 400–408, 2014.

TANG, J.; LIU, J.; ZHANG, X. The role of osthole on TGF- β -induced lung epithelium apoptosis injury and epithelial-mesenchymal transition-mediated airway remodeling in pediatric asthma. **Journal of Healthcare Engineering**, v. 2022, p. 7099097, 2022.

WADHWA, R. et al. Identification of biomarkers and genetic approaches toward chronic obstructive pulmonary disease. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 10, p. 16703–16723, 2019.

WANG, D. et al. Effects of imperatorin on airway remodeling in bronchial asthma through S1PR2/STAT3 signaling pathway. **Cellular and Molecular Biology**, v. 69, n.15, p. 1–5, 2023.

WANG, J. et al. Antiasthmatic activity of osthole in an ovalbumin-induced asthma murine model. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 239, p. 64–69, 2017.

WANG, J. et al. Bergapten inhibits airway inflammation and MRGPRX2-mediated mast cells activation by targeting NR4A1. **International Immunopharmacology**, v. 130, p. 111798, 2024.

WANG, N. et al. Imperatorin ameliorates mast cell-mediated allergic airway inflammation by inhibiting MRGPRX2 and CamKII/ERK signaling pathway. **Biochemical Pharmacology**, v. 184, p. 114401, 2021.

WANG, S. et al. Airway relaxation mechanisms and structural basis of osthole for improving lung function in asthma. **Science Signaling**, v. 13, n. 659, eaax0273, 2022.

WIJERATHNE, C. U. et al. Isoimperatorin attenuates airway inflammation and mucus hypersecretion in an ovalbumin-induced murine model of asthma. **International Immunopharmacology**, v. 49, p. 67–76, 2017.

XIONG, Y. et al. The effects of nodakenin on airway inflammation, hyper-responsiveness and remodeling in a murine model of allergic asthma. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 36, n. 5, p. 341–348, 2014.

YANG, Q. et al. Osthole attenuates ovalbumin-induced lung inflammation via the inhibition of IL-33/ST2 signaling in asthmatic mice. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 46, n. 4, p. 1389–1398, 2020.

ZHU, J. J.; JIANG, J. G. Pharmacological and nutritional effects of natural coumarins and their structure-activity relationships. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 14, p. 1701073, 2018.

**CAPÍTULO II - MODELAGEM QSAR DE CUMARINAS RELAXANTES DE
TRAQUEIA E ATIVIDADE ANTITUSSÍGENA DA UMBELIFERONA: PERFIS DE
ATIVIDADE DISTINTOS DENTRO DE UMA ÚNICA CLASSE QUÍMICA NA
FISIOPATOLOGIA DA ASMA**

**Artigo submetido na revista *Natural Products and Bioprospecting*
(Qualis A2 - Biotecnologia) (ANEXO B)**

Modelagem QSAR de Cumarinas Relaxantes de Traqueia e Atividade Antitussígena da Umbeliferona: perfis de atividade distintos dentro de uma única classe química na fisiopatologia da asma

lêda Maria dos Santos^a, João Lázaro de Oliveira Rocha^b, Murilo Soares da Silva^b, Nívea Amanda Cardoso de Sousa^b, Vanessa Costa Santos^c, Rosalvo Ferreira de Oliveira Neto^d, Edilson Beserra de Alencar Filho^{c, e}, Fabrício Souza Silva^{b, e*}

^a Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brazil

^b Laboratório de Farmacologia Experimental, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, Pernambuco, Brazil

^c Colegiado de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, Pernambuco, Brazil

^d Colegiado de Engenharia da Computação, Federal University of Vale do São Francisco (Univasf), Antônio C. Magalhães Avenue - 510, Santo Antonio, 48902-300, Juazeiro, Bahia, Brazil;

^e Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, Pernambuco, Brazil

* Corresponding author: Dr. Fabrício Souza Silva, Colegiado de Farmácia, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Av. José de Maniçoba S/N, Centro, Petrolina-PE, Brazil, CEP: 56304-917. Email: fabricao.souzasilva@univasf.edu.br

Resumo:

Modelos QSAR foram desenvolvidos a partir de 21 análogos cumarínicos descritos na literatura com atividade relaxante de traqueia, contemplando diferentes estratégias de modelagem e seleção de descritores moleculares. A partir desses modelos, cinco cumarinas projetadas ou comercialmente disponíveis foram avaliadas *in silico*, apresentando previsões de atividade dentro de uma faixa satisfatória, para futuras validações experimentais. Características desejáveis foram grupos substituintes apolares nas posições 6 e 7, bem como metil em 4. Em paralelo, a 7-hidroxycumarina (umbeliferona - HXC) presente na quimioteca do Laboratório de Farmacologia Experimental da UNIVASF (LAFEX), foi submetida a ensaios *in vivo* para avaliação do potencial expectorante e antitussígeno. A HXC revelou um efeito antitussígeno robusto em modelos animais, sem atividade expectorante associada e sem sinais de toxicidade até a dose de 300 mg/kg, sendo ativa nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg. O mecanismo indicou que o efeito antitussígeno da HXC depende da integridade do sistema opioide (antagonizado por naloxona). Estudos de *docking* molecular não evidenciaram interação direta relevante entre a HXC e receptores opioides, sugerindo um mecanismo indireto de modulação do reflexo da tosse. Em conjunto, os resultados evidenciam que, embora pertencentes à mesma classe química, as cumarinas podem apresentar perfis farmacológicos distintos e complementares no contexto da fisiopatologia da asma. Enquanto a modelagem QSAR contribuiu para a identificação de características estruturais associadas à atividade relaxante de traqueia, a HXC destacou-se como um agente antitussígeno eficaz por mecanismos independentes da modulação direta de receptores opioides. Esses achados reforçam o potencial das cumarinas como

um arcabouço químico versátil para a descoberta de novas abordagens terapêuticas direcionadas a diferentes componentes da asma, incluindo broncoconstrição e tosse, além de evidenciar o papel da serendipidade aliada a estratégias de modelagem racional no desenvolvimento de compostos bioativos.

Palavras-chave: 7-hidroxycumarina. Antitussígeno. Antiasmático. Toxicidade. QSAR.

1 INTRODUÇÃO

A asma é uma doença inflamatória crônica das vias aéreas caracterizada por limitação variável ao fluxo aéreo, hiperresponsividade brônquica e sintomas respiratórios recorrentes, como dispneia, sibilância, aperto torácico e tosse. Trata-se de uma condição heterogênea, com múltiplos fenótipos clínicos e mecanismos fisiopatológicos, que representa importante problema de saúde pública devido à sua elevada prevalência e impacto na qualidade de vida dos pacientes (GINA, 2024; PAPI; BRIGHTLING; PEDERSEN; REDDEL, 2018).

A tosse constitui um dos principais sintomas da asma e pode persistir mesmo em pacientes com controle parcial da inflamação das vias respiratórias. Evidências indicam que a tosse associada à asma está relacionada à hiperresponsividade dos receptores sensoriais das vias aéreas e à sensibilização dos circuitos neurais envolvidos no reflexo da tosse, o que contribui para sua condição crônica e dificuldade terapêutica (CHUNG; PAVORD, 2008; MORICE et al., 2020).

A modulação farmacológica do reflexo da tosse pode ocorrer por meio de mecanismos centrais e periféricos, envolvendo diferentes neurotransmissores. Entre os antitussígenos clássicos, os opioides, como a codeína, exercem seus efeitos predominantemente por ação central, modulando a transmissão neural em regiões do tronco encefálico associadas ao reflexo da tosse. Esses fármacos atuam principalmente sobre receptores μ -opioides, embora seu uso clínico seja limitado por efeitos adversos e potencial de dependência (TAKAHAMA; SHIRASAKI, 2007; DICPINIGAITIS et al., 2014).

Nessa perspectiva, as cumarinas constituem uma classe de metabólitos secundários amplamente distribuídos no reino vegetal e reconhecidos por um amplo espectro de atividades farmacológicas. Diversos derivados cumarínicos apresentam propriedades anti-inflamatórias, antiespasmódicas, broncodilatadoras e moduladoras do sistema nervoso central, características que os tornam candidatos promissores

para a investigação no contexto de doenças respiratórias, incluindo a asma (BORGES et al., 2005; STEINER; BRANCO; CUNHA; FERREIRA, 2019).

Entre as cumarinas simples, a umbeliferona tem despertado interesse devido às suas diversas atividades biológicas relatadas, incluindo efeitos anti-inflamatórios e moduladores de processos fisiológicos relevantes. Apesar dessas evidências, ainda são escassos os estudos que avaliem de forma integrada seu potencial antitussígeno, bem como os mecanismos farmacológicos envolvidos nessas ações (VENUGOPALA; RASHMI; ODHAV, 2013; LIN; CHENG; ZHENG, 2023).

A modelagem QSAR tem sido amplamente empregada como ferramenta *in silico* para estabelecer relações quantitativas entre a estrutura química de compostos e suas atividades biológicas, permitindo a priorização racional de moléculas promissoras no processo de descoberta de fármacos. A integração de modelos QSAR com a validação experimental *in vitro* e *in vivo* tem se mostrado particularmente relevante para aumentar a eficiência e a robustez da pesquisa farmacológica, reduzindo custos e tempo de desenvolvimento (TODESCHINI; CONSONNI, 2009; CHERKASOV et al., 2014).

Neste estudo, empregou-se uma abordagem integrada de Química Medicinal para investigar o potencial das cumarinas no contexto da fisiopatologia da asma. Foram desenvolvidos modelos QSAR preliminares baseados em cumarinas com atividade relaxante de traqueia descritas na literatura, visando identificar características estruturais associadas a esse efeito e priorizar moléculas promissoras. Em paralelo, avaliou-se experimentalmente o potencial antitussígeno da umbeliferona (7-hidroxycumarina), bem como os mecanismos farmacológicos envolvidos, explorando perfis de atividade distintos e complementares dentro de uma mesma classe química.

2 METODOLOGIA

2.1 PROCEDIMENTOS COMPUTACIONAIS

2.1.1 Modelagem QSAR de análogos cumarínicos da literatura – Modelo I

Análogos cumarínicos semissintéticos apresentados no trabalho de Sanches-Recillas e colaboradores (2014) totalizando 21 compostos foram utilizados como conjunto treinamento para realização de modelagem QSAR, objetivando encontrar descritores moleculares relevantes para uma maior potência antiasmática, promover

o design de possíveis análogos mais promissores, bem como usar a equação QSAR para prever a tendência de novos compostos a serem testados na bancada. O conjunto de dados desse artigo foi utilizado devido ser o único banco de dados de cumarinas encontrado na literatura no período de desenvolvimento deste trabalho, correspondendo a atividades biológicas determinadas por um mesmo método e de forma homogênea, importante em análises QSAR. É importante esclarecer que os estudos QSAR podem ser utilizados de forma genérica, para grandes bases de dados, visando atender requisitos como predição de toxicidade, efeitos biológicos estudados em larga escala (ex. Câncer), bem como verificação do potencial de substâncias por agências regulatórias (SANTOS et al., 2022). Adicionalmente, na rotina de laboratórios de Química Medicinal, sintéticos e/ou de farmacologia, estudos QSAR preliminares feitos com menores quantidades de amostras (dezenas) podem elucidar alguns fatores que influenciam nos efeitos observados, contribuindo com os avanços nas pesquisas (SANTOS et al., 2018; SANDOVAL et al., 2023). Neste sentido, a base de dados homogênea encontrada, de cumarinas com efeito relaxante em traquéia de ratos (SÁNCHEZ-RECILLAS et al., 2014), foi usada visando fornecer à literatura uma elucidação inicial junto a um modelo matemático, contribuindo ainda com as racionalizações do nosso grupo de pesquisas dentro da classe das cumarinas. Apesar de o artigo já considerar uma possível relação estrutura-atividade (SAR), um modelo numérico pode trazer contribuições no sentido de descritores físico-químicos e previsão objetiva da tendência de novos compostos, mesmo com um pequeno domínio de aplicabilidade (MUSHTAQ et al., 2023; TEOFILO; MARTINS; FERREIRA, 2009). As estruturas foram inicialmente construídas com auxílio do programa ACD/ChemSketch, obedecendo a estereoquímica apropriada de cada composto. Foi realizada uma otimização de geometria inicial com o método semi-empírico RM1 no programa HyperChem8.0[®]. A escolha do método semi-empírico levou em conta um equilíbrio entre custo computacional e precisão na análise teórica, cabendo ainda salientar que a estrutura relativamente rígida dos anéis condensados das cumarinas torna o processo de otimização de geometria confortável em relação às possibilidades conformacionais limitadas. O programa Dragon5[®] foi utilizado para determinação dos descritores clássicos de natureza diversa. Estes representam parâmetros constitucionais, topológicos e baseados em dados empíricos, que codificam características moleculares usando, em muitos destes, matrizes de conectividade interatômica

(TODESCHINI; CONSONNI, 2009). A matriz de dados gerada foi submetida ao método de seleção de variáveis OPS (*“Ordered Predictors Selection”*) (MARTINS; FERREIRA, 2013), usando o programa QSAR Modeling, do pacote LQTA-QSAR (DE OLIVEIRA; GAUDIO, 2000). O programa Build QSAR (MAJUMDAR; BASAK, 2018). Também foi utilizado para investigar a obtenção de um modelo baseado em Regressão Linear Múltipla (*“Multiple Linear Regression”*, MLR), mais simples na construção e interpretação por considerar as variáveis originais em sua construção. A MLR foi escolhida ainda tendo em vista o reduzido número de amostras submetidas à modelagem. Ainda neste sentido, não foram definidos conjunto treinamento e teste. Consideramos que este estudo QSAR é limitado pelo número de amostras, tem a finalidade de fornecer uma visão inicial do potencial das cumarinas e que a perda de informações na definição de um conjunto teste prejudicaria de forma irremediável qualquer análise. Assim, nos baseamos também no trabalho de Majumdar e Basak (2018) para fundamentar a análise em um modelo que, devido ao limitado número de amostras, visa obter um panorama inicial da classe das cumarinas para o relaxamento de traqueia. As análises QSAR propostas, sendo preliminares devido ao número reduzido de cumarinas treinadas, tiveram o objetivo de racionalizar o potencial antiasmático da classe previamente evidenciado no artigo base para a modelagem bem como fornecer um modelo objetivo, com domínio de aplicabilidade limitado, a ser aplicado em pequenas modificações do scaffold cumarínico, visando possíveis direcionamentos farmacológicos.

2.1.2 Modelagem QSAR - MODELO II

Tendo em vista o modelo anterior, buscou-se incluir algumas variáveis *“a priori”* visando melhorar as métricas de validação e interpretação, bem como fornecer um segundo modelo útil para o design e previsão de novos compostos, dentro do panorama de cumarinas com potencial antiasmático. Neste sentido, determinamos três descritores binários, onde o primeiro chamado *“2lin”* tem valor 1 quando a molécula tem dois substituintes lineares e 0 na ausência; o segundo, chamado *“1lin”*, tem valor 1 quando a molécula possui um substituinte linear, e o terceiro, chamado *“Lac”*, onde a cumarina ganha o valor 1 quando há grupo substituinte hidrofóbico no anel lactônico. Considerando que o somatório dos descritores *à priori* mais os 3 anteriormente trabalhados dá um valor de 6

descritores, ultrapassando a razão compostos/descritores preconizada para modelos baseados em MLR, buscamos então um modelo baseado em componentes principais, onde os eixos originais das 6 variáveis em um sistema cartesiano são rotacionados em novos fatores (Componentes Principais –“PCs”) as quais conservam as informações originais das amostras (compostos) com o máximo de variância explicada possível. Neste sentido, o modelo construído baseado em 6 variáveis teve um melhor desempenho quando considerada a técnica PLS (“*Partial Least Squares*”), usando uma variável latente no modelo final. O modelo foi obtido diretamente no programa LQTA-QSAR, módulo QSAR modeling.

2.1.3 Modelagem QSAR – Modelo III

Nesta etapa, foram investigados modelos QSAR baseados em aprendizagem de máquina (*Machine Learning*). A planilha de milhares de descritores Dragon, do Modelo I, foi utilizada nestes experimentos. Variáveis foram inicialmente selecionadas usando os métodos “Correlation-based Feature Subset Selection for Machine Learning” com o mecanismo de busca “BestFirst”. Estas correspondem aos descritores SpDiam_AEA(ed); Mor11u; Mor15m; G3v; CATS3D_03_LL. (GAUDIO; ZANDONADE, 2001).

Validações cruzadas foram desenvolvidas pelos métodos leave-one-out, k-fold (com $n=5$ e repetido 50 vezes), bem como pelo método Y-scrambling com 5 repetições. A não definição de conjunto teste segue a mesma lógica dos modelos anteriores. A técnica *Random Forest* (Floresta Randômica) foi averiguada, mas insatisfatória considerando o pequeno número de amostras. Neste sentido, o modelo final foi baseado na técnica k vizinho mais próximo (*K-Nearest Neighbors* - KNN), com $K = 2$. O modelo final de QSAR foi desenvolvido com o algoritmo dos K vizinhos mais próximos (KNN), utilizando $K = 2$, onde a previsão da atividade de uma nova molécula é baseada na média das atividades das duas moléculas mais próximas, segundo uma métrica de similaridade calculada a partir dos descritores moleculares. Esse tipo de abordagem é simples e eficiente em conjuntos de dados com forte relação local entre estrutura e atividade (SANTOS et al., 2022). A literatura relata que a validação externa em métodos de *machine learning* pode ser substituída pelo *k-fold*, o que no nosso caso ainda conserva o máximo de informações de um conjunto de dados limitado (HALL, 1999).

2.2 EXPERIMENTOS DE BANCADA

2.2.1 Materiais

A HXC, obtida comercialmente, foi solubilizada em álcool e tween com cremophor a 3%, sendo o veículo utilizado em todos os experimentos. Todos os reagentes e fármacos estão disponíveis no Laboratório de Farmacologia Experimental, LAFEX, da UNIVASF.

2.2.2 Animais

Foram utilizados camundongos machos ou fêmeas nulíparas não-grávidas (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, com 4 a 8 semanas de idade e peso variando de 30 a 40g. Todos os animais foram providos pelo Biotério Central da UNIVASF, mantidos em caixas adequadas, com ciclo claro escuro de 12 horas, água e ração ad libitum. Os experimentos respeitaram os critérios éticos de experimentação animal, preconizados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UNIVASF (CEUA-UNIVASF), registrado com o nº 0002/191223.

2.2.3 Avaliação da toxicidade aguda da umbeliferona

A avaliação da toxicidade oral aguda foi conduzida conforme as diretrizes da *Organization for Economic Co-operation and Development* nº 423 (OECD, 2002) e as diretrizes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013). Através do método de classe, que indica a utilização de apenas um sexo para o teste, geralmente fêmeas, que recebem somente uma dose e a partir do desfecho, morte ou não morte é determinado a dose letal para 50% da população (DL50) e por meio desses dados é definida também a categoria da substância que pode ser de 1 a 5, onde na 1 estão presentes as mais tóxicas, com menor DL50 e na 5 as menos tóxicas com DL50 maiores. Camundongos fêmeas foram divididos em dois grupos (n=3), sendo que o grupo controle negativo recebeu solução salina (0,1 mL/10 g, por via oral) e o grupo tratado com as cumarinas individualmente, recebeu uma única dose de 2.000 mg/kg por via oral. Seguido aos tratamentos, os animais foram observados nos primeiros 30, 60, 120, 180 e 360 min e a cada 24 h durante 14 dias. Os animais foram observados para a verificação da ocorrência de mortes e dos

parâmetros presentes na tabela de Malone, a qual permite avaliar os seguintes parâmetros estimulantes do SNC como coçar o focinho, convulsão clônica e tônica, exoftalmia, aumento da frequência respiratória, lambes patas, morder cauda, aumento da motilidade, movimentos estereotipados, piloereção, tremores finos e grosseiros. Relacionados às ações depressoras do SNC eram observados alienação ao meio, analgesia (por compressão da cauda do animal), anestesia (puxando o pêlo e suspendendo o animal), ataxia, diminuição da apreensão da pata, catatonia, dispnéia, diminuição da frequência respiratória, diminuição da motilidade, diminuição do reflexo corneano, tônus dorsal, ptose palpebral e sedação. Outros parâmetros também foram observados, como agressividade, contorção, coloração da urina, diâmetro da pupila, diarreia, ereção da cauda, fasciculações, grunhidos, aumento ou diminuição da micção, midríase, orelha (cianótica, hiperêmica ou pálida), passividade, reação de fuga, sialorréia, tremor da cauda, lacrimejamento, sudorese, coma e morte. Ao final do experimento os animais foram eutanasiados com administração de tiopental (150 mg/kg, via i.p.) e retirados os órgãos, coração, fígado, rins, intestino, estômago e baço, eles foram pesados e avaliados macroscopicamente para análise de alterações que indicassem toxicidade.

2.2.4 Avaliação do efeito antitussígeno

Para avaliação do efeito antitussígeno da HXC foi utilizado o modelo experimental descrito por Menezes e colaboradores (2019). Assim, camundongos machos foram colocados em câmara de vidro (com volume aproximado de 500 mL) e expostos, individualmente, a inalação de ácido cítrico 0,4 M durante 3 minutos por nebulização para observação da tosse e depois foram randomizados em grupos de 6 animais, sendo o critério de inclusão os animais que apresentaram um número superior a 3 e inferior a 20 tosses. Após 24 horas da primeira exposição, os animais selecionados (n=6) receberam por via oral HXC (nas doses 10, 30 e 100 mg/kg), codeína (30 mg/kg, como controle positivo) ou veículo (0,1 mL/10 g). Após 30 minutos do tratamento, os camundongos foram submetidos a uma nova nebulização de solução de ácido cítrico 0,4 M por 3 minutos e foram avaliados os parâmetros de latência (período até o aparecimento da 1ª tosse) e frequência de tosse (número total de tosse durante 3 minutos).

2.2.5 Investigação do mecanismo de tosse

Para o mecanismo de ação antitussígeno apenas a dose mais eficaz de cada cumarina foi avaliada. Assim, camundongos (n=6) receberam por via oral propranolol (3 mg/kg) ou glibenclamida (5 mg/kg) ou por via i.p. naloxona (0,4 mg/kg) ou flumazenil (2 mg/kg) e após 30 minutos os animais foram tratados por via oral com HXC (na dose eficaz determinada anteriormente) ou com o veículo (0,1 mL/10 g). Passados mais 30 minutos, os camundongos foram submetidos a uma nova nebulização de solução de ácido cítrico 0,4 M por 3 minutos e foram avaliadas a latência e frequência de tosse. Ao final de cada experimento os animais foram eutanasiados com administração de tiopental (150 mg/kg, via i.p.).

2.2.6 Avaliação do efeito expectorante

A atividade expectorante foi determinada pela mensuração do vermelho de fenol no lavado broncoalveolar (LBA), descrito por Menezes e colaboradores (2022). Camundongos machos (n=9) foram submetidos ao jejum por quatro horas antes do procedimento experimental e receberam por via oral ambroxol (120 mg/kg, controle positivo), veículo (0,1 mL/10 g, controle negativo) e com HXC (nas doses 10, 30 e 100 mg/kg). Após 30 minutos foi administrado suspensão de vermelho de fenol (na concentração 12,5 mg/mL e dose 500 mg/kg) por via i.p. Passados mais 30 minutos da administração do vermelho de fenol, os animais foram eutanasiados com administração de tiopental (150 mg/kg, via i.p.), o LBA foi obtido e processado para a quantificação (em µg/mL) do vermelho de fenol em espectrofotômetro UV-VIS a 565 nm.

2.2.7 Análise dos dados

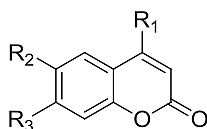
Os dados numéricos obtidos foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média ($X \pm e.p.m$) e n representa o número de animais utilizados por grupo experimental em um dado protocolo. Diferenças entre as médias foram comparadas usando análise de variância uma via (ANOVA one-way) com pós-teste de Dunnett. Para as análises dos dados não paramétricos foram utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo pós-teste de Dunn usando o Prism 7 for Windows, sendo as diferenças consideradas significantes quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MODELAGENS QSAR - MODELO I

A Tabela 2 apresenta os análogos cumarínicos semissintéticos estudados no trabalho de Sanches-Recillas e colaboradores (2014) totalizando 21 compostos, que foram utilizados como conjunto treinamento para realização de modelagem QSAR, objetivando encontrar descritores moleculares relevantes relacionados ao efeito relaxante em traquéia. Das 21 cumarinas, 7 apresentaram efeito biológico quanto à EC_{50} indefinido, sendo então retiradas desta modelagem preliminar na classe.

Tabela 2. Analógos cumarínicos semissintéticos e valores de atividade relaxante em traquéia



Moléculas	R ₁	R ₂	R ₃	E _{max} (%)	EC ₅₀ (μM)
*SM1	eH	eOH	eOH	47.9	*NS
1	eH	eOMe	eOMe	100	80
2	eH	eOEt	eOEt	100	42
3	eH	eOPr	eOPr	100	89
4	eH	eOAc	eOAc	77	231
5	eH	eOCOPh	eOCOPh	12	*NS
6	eH	eOCH ₂ COOEt	eOCH ₂ COOEt	33	*NS
*SM2	eH	eH	eOH	67	449
7	eH	eH	eOMe	100	244
8	eH	eH	eOEt	100	245
9	eH	eH	eOPr	100	133
10	eH	eH	eOAc	16	*NS
11	eH	eH	eOCOPh	26	*NS
12	eH	eH	eOCH ₂ COOEt	31	*NS
*SM3	eMe	eH	eOH	90	260
13	eMe	eH	eOMe	100	230
14	eMe	eH	eOEt	100	80
15	eMe	eH	eOPr	100	267
16	eMe	eH	eOAc	62	360
17	eMe	eH	eOCOPh	34	*NS
18	eMe	eH	eOCH ₂ COOEt	70	200

*SM: Molécula de partida, *NS = Atividade indefinida

A modelagem QSAR pode abordar grandes conjuntos de dados, visando atender programas robustos de desenvolvimento de fármacos, avaliação por agências regulatórias (ANVISA) bem como em áreas com grande número de dados já relatados (ex.: Câncer). Por outro lado, modelos menos genéricos podem ser construídos à partir da rotina de laboratórios sintético e/ou de produtos naturais, usando bases de dados mais limitadas e controladas, os quais visam a elucidação

de parâmetros moleculares influentes no efeito e permitam avanços mais pontuais nas pesquisas. Os benefícios dessa última abordagem estão no fato de que geralmente são classes químicas mais homogêneas, que permitem discussões estrutura-atividade quantitativas com maior facilidade, além dos modelos qualitativos.

Do ponto de vista conformacional, a relativa simplicidade estrutural das cumarinas e presença de anéis nestes compostos confere uma menor liberdade, tornando o processo de otimização da geometria menos complexo e confiável, favorecendo estudos de modelagem baseados no ligante (FERREIRA; MONTANARI; GAUDIO, 2002).

Os valores de atividade antiasmática para cada molécula, previamente obtidas de Sanches-Recillas e colaboradores (2014) podem ser visualizados na Tabela 3, assim como os descritores Dragon® selecionados após o algoritmo OPS (*“Ordered Predictors Selection”*).

Tabela 3. Valores de atividade relaxante e descritores moleculares selecionados pelo OPS para construção do primeiro modelo QSAR

Molécula	Atividade (Y)	Mor26u	Mor16u	Mor15m
C-01	4.100	0.008	-0.299	1.201
C-02	4.380	-0.040	-0.109	1.504
C-03	4.050	0.119	0.088	1.401
C-04	3.640	-0.294	0.005	0.973
C-05	3.350	-0.287	0.173	0.857
C-06	3.610	-0.067	0.024	0.986
C-07	3.610	-0.105	0.172	1.084
C-08	3.880	-0.039	0.167	1.095
C-09	3.590	-0.133	0.197	0.789
C-10	3.640	-0.037	0.006	0.902
C-11	4.100	0.092	0.065	1.012
C-12	3.570	0.014	0.190	0.995
C-13	3.440	-0.222	0.171	0.905
C-14	3.700	-0.031	0.084	1.129

O modelo QSAR foi obtido apresentando a Equação (1).

$$Y_1 = + 0,7274 (\text{Mor26u}) - 0,6428 (\text{Mor16u}) + 0,7477 (\text{Mor15m}) + 3,0652$$

Com o modelo selecionado, foram realizados outros parâmetros de validação (Tabela 4), incluindo a matriz de correlação entre os descritores selecionados pela técnica MLR. Esta técnica levou em consideração a razão compostos/descriptores em

torno de 5, conservando o sentido físico dos descritores originais (DE OLIVEIRA; GAUDIO, 2000).

Tabela 4. Parâmetros de validação do modelo QSAR escolhido

Correlation matrix between the descriptors MLR			
Descriptors	Mor26u	Mor16u	Mor15m
Mor26u	1	0.242	0.541
Mor16u	-	1	0.493
Mor15m	-	-	1

Variáveis altamente correlacionadas, além de descreverem a mesma propriedade, causam problemas de dependência linear no conjunto de dados, levando a construção de um modelo sem precisão numérica. Portanto, o grau de correlação entre as variáveis é avaliado através da elaboração da matriz de correlação. É possível observar que estes descritores podem ser combinados na mesma equação, pois apresentam coeficiente de correlação menor que 0,7, estando dentro do que é preconizado pela literatura (GAUDIO; ZANDONADE, 2001).

Na Tabela 5, podem ser visualizados os valores da atividade observada experimentalmente (Y_{exp}), da atividade calculada pelo modelo QSAR proposto (Y_{calc}), bem como os resíduos da regressão (Y_{res}) para os 14 compostos. Os resíduos representam uma medida da diferença entre o valor experimental da atividade biológica e o valor predito pelo modelo. De acordo com a literatura, os valores de resíduo além de $\pm 2,5$ são considerados altos sob as condições usuais da estatística, atestando a capacidade preditiva do modelo escolhido no trabalho (Tabela 5) (ALEXANDER et al., 2015). Resíduos considerados altos podem ser indicativos de incerteza nas medidas experimentais de atividade biológica, o que deverá ser respaldado com uma explicação química ou biológica para cada amostra classificada como atípica. De maneira geral, os resíduos de um modelo de regressão contêm toda a informação necessária à compreensão dos motivos, pelo quais o mesmo não consiga explicar 100% da variabilidade dos valores observados de Y (valores de atividade adquiridos experimentalmente) (TROPSHA, 2010).

Tabela 5. Valores da atividade observada experimentalmente (Y_{exp}), atividade calculada pelo modelo (Y_{cal}) e resíduos da regressão (Y_{res})

Molécula	Y_{exp}	Y_{cal}	Y_{res}
1	4.100	4.161	-0.061
2	4.380	4.231	0.149
3	4.050	4.142	-0.092
4	3.640	3.576	0.064
5	3.350	3.386	-0.036
6	3.610	3.738	-0.128
7	3.610	3.688	-0.078
8	3.880	3.749	0.131
9	3.590	3.432	0.158
10	3.640	3.709	-0.069
11	4.100	3.847	0.253
12	3.570	3.697	-0.127
13	3.440	3.470	-0.030
14	3.700	3.833	-0.133

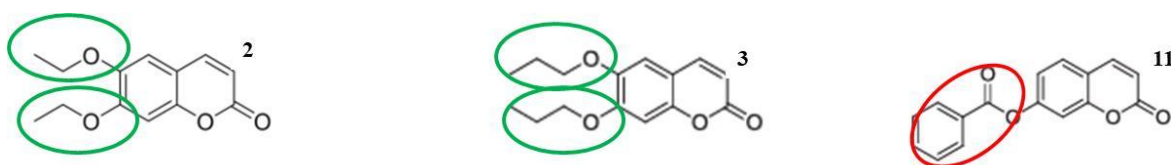
Os descritores determinados no modelo de QSAR são considerados de fácil interpretação, fornecendo dessa forma, uma compreensão clara das relações de estrutura química-atividade biológica, o que poderá ser útil para a síntese de compostos análogos, poupando custos e esforços em pesquisas voltadas para a atividade antiasmática.

Considerando os coeficientes de regressão (Equação 1), o Mor26u é positivo, indicando que moléculas mais compactas até um certo valor médio (4Å) mantêm atividade, havendo uma correlação positiva entre o descritor e a resposta, já que aquele denota uma característica de tamanho ideal. A estrutura das cumarinas já é relativamente compacta, não devendo ser muito curta e extremamente simples, o que leva a baixos valores do descritor e perda da atividade, nem muito longa, levando também a baixos valores do descritor. Por outro lado, o coeficiente de regressão de Mor16u é negativo, o que pode estar relacionado ao fato de maiores valores desse descritor representar distâncias maiores (7Å), o que prejudica a atividade. Estas características estão condizentes com o padrão estrutural observado para as mais ativas, que em geral tem grupos metoxi no anel, mas a cadeia carbônica não pode aumentar sem perda na atividade. Por outro lado, substituições muito curtas no anel benzênico não levam a uma boa resposta biológica.

Na mesma linha, aparece o descritor Mor15m, cujo significado pode ser obtido de forma análoga aos anteriores, acrescentando a ponderação pela massa (m). Neste caso, maiores valores para estruturas em média de 7 a 8 Å quanto às

distâncias Euclidianas entre os átomos, a ponderação pela massa denota que a presença de mais átomos dentro de um mesmo raio médio a partir de distâncias Euclidianas tende a aumentar a atividade. Isso pode estar relacionado ao anel benzênico dissustituído bem como a presença da metila adicional no anel lactônico (Figura 5), ambos elevando o descritor (compostos 2, 3 e 11- Tabela 1) (SÁNCHEZ-RECILLAS et al., 2014).

Figura 5. Análogo de cumarina semi-sintético (2, 3 e 11) do artigo de Sánchez-Recillas e colaboradores [14]



3.2 MODELAGENS QSAR - MODELO II

Os descritores obtidos no primeiro modelos somados aos do modelo de número 2, totalizou em 6 descritores, os quais estão demonstrados na Tabela 6, juntamente com seus respectivos valores de atividade relaxante de traqueia.

Tabela 6. Valores de atividade relaxante e descritores moleculares selecionados pelo OPS mais descritores *a priori* do segundo modelo QSAR

Molécula	Atividade (Y)	Mor26u	Mor16u	Mor15m	2lin	1lin	Lac
C-01	4.100	0.008	-0.299	1.201	1	0	0
C-02	4.380	-0.040	-0.109	1.504	1	0	0
C-03	4.050	0.119	0.088	1.401	1	0	0
C-04	3.640	-0.294	0.005	0.973	0	0	0
C-05	3.350	-0.287	0.173	0.857	0	0	0
C-06	3.610	-0.067	0.024	0.986	0	1	0
C-07	3.610	-0.105	0.172	1.084	0	1	0
C-08	3.880	-0.039	0.167	1.095	0	1	0
C-09	3.590	-0.133	0.197	0.789	0	0	1
C-10	3.640	-0.037	0.006	0.902	0	1	1
C-11	4.100	0.092	0.065	1.012	0	1	1
C-12	3.570	0.014	0.190	0.995	0	1	1

C-13	3.440	-0.222	0.171	0.905	0	0	1
C-14	3.700	-0.031	0.084	1.129	0	0	1

$$Y2 = + 0.545 (\text{Mor26u}) + 0.766 (\text{Mor16u}) + 0.666 (\text{Mor15m}) + 0.545 (2\text{lin}) + 0.563 (1\text{lin}) + 0.654 (\text{Lac}) + 3.368 \quad \text{Equação (2)}$$

Os parâmetros de O programa QSAR modeling do pacote LQTA-QSAR permite a determinação de uma validação leave-n-out, bem como uma aleatorização Y, que estão demonstradas nas Tabelas 7 e 8 à seguir, atestando a robustez e não correlação ao acaso entre Y e X. Para o leave-n-out foram consideradas até 4 amostras retiradas por vez para a validação ($n = 1 \dots 4$), num total de dez escolhas aleatórias para cada “n”. Para a aleatorização-Y, consideramos 10 matrizes correspondendo cada uma a misturas aleatórias da coluna Y, das quais se esperaria a construção de modelos com parâmetros de validação inferiores à 0,4. Podemos observar na Tabela 8 que a validação atesta a ausência de correlação ao acaso. Os parâmetros de validação Q^2 e R^2 foram respectivamente 0.60 e 0.77, melhorando um pouco quanto à robustez. Devido a técnica não ser sensível a variáveis ortogonais (PLS), apesar de o princípio da parcimônia continuar a ser importante, uma matriz de correlação considerando as variáveis binárias não se faz necessária.

O programa QSAR modeling do pacote LQTA-QSAR permite a determinação de uma validação leave-n-out bem como uma aleatorização Y, que estão demonstradas nas Tabelas 7 e 8 à seguir, atestando a robustez e não correlação ao acaso entre y e X. Para o leave-n-out foram consideradas até 4 amostras retiradas por vez para a validação ($n = 1 \dots 4$), num total de dez escolhas aleatórias para cada “n”. Para a aleatorização-Y, consideramos 10 matrizes correspondendo cada uma à misturas aleatórias da coluna Y, das quais se esperaria a construção de modelos com parâmetros de validação inferiores à 0,4. Podemos observar na Tabela 8 que a validação atesta a ausência de correlação ao acaso.

Além do sentido das variáveis já expostas no modelo 1, observamos que a presença de 1 ou dois substituintes lineares na porção arila do sistema cumarínico bem como substituinte hidrofóbico na metila, representado pela metila, auxiliam nos efeitos relaxantes em traqueia.

Tabela 7. Validação “Leave-n-out” do modelo QSAR baseado em PLS

n	Q^2_{LNO}									
1	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
2	0.61	0.52	0.62	0.65	0.57	0.61	0.62	0.62	0.55	0.62
3	0.61	0.67	0.57	0.50	0.58	0.56	0.61	0.59	0.61	0.65
4	0.54	0.47	0.66	0.58	0.53	0.58	0.66	0.65	0.68	0.64

Tabela 8. Validação aleatorização-Y do modelo QSAR baseado em PLS. (na última linha, R^2 e Q^2 do modelo original)

R^2	Q^2
0.29	-0.24
0.27	-0.10
0.16	-0.92
0.10	-1.11
0.24	-0.16
0.30	-0.81
0.25	-0.40
0.11	-1.63
0.21	-0.32
0.12	-0.44
0.24	-0.30
0.14	-1.36
0.17	-0.32
0.16	-1.41
0.26	-0.80
0.28	-0.73
0.22	-0.74
0.24	-0.18
0.25	-0.84
0.31	-0.73
0.21	-0.54
0.21	-0.79
0.20	-0.58
0.40	-0.33
0.20	-0.69
0.41	-0.54

0.34	-1.38
0.12	-0.46
0.15	-0.99
0.18	-0.31
0.77	0.60

3.3 MODELAGEM QSAR - MODELO III

Os descritores encontrados no Modelo III foram: SpDiam_AEA(ed); Mor11u; Mor15m; G3v; CATS3D_03_LL, e suas características principais estão descritas na Tabela 9.

Tabela 9. Tipos e principal interpretação dos descritores encontrados no Modelo III

Descritor	Tipo	Ponderação	Interpretação principal
SpDiam_AEA(ed)	Índice espectral (grafo)	grau da aresta	Topologia global modular da estrutura molecular
Mor11u	3D-MoRSE (momento 11)	distribuição eletrônica	Orientação eletrônica em nível 3D
Mor15m	3D-MoRSE (momento 15)	massa atômica	Distribuição de massa em estrutura 3D
G3v	Autocorrelação 2D	volume van der Waals	Similaridade volumétrica local a 3 ligações
CATS3D_03_LL	CATS 3D farmacofórica	localização em 3 Å	Ocorrências de interações ligante-ligante em distância específica

As Figuras 6 e 7 abaixo apresentam os resultados da validação do modelo III mostrando que os parâmetros de validação foram Q^2_{loo} e k-fold médio > 0,6.

De acordo com a literatura, valores de Q^2 iguais ou superiores a 0,5, obtidos em validações cruzadas como Leave-One-Out (Q^2_{loo}) e k-fold, indicam que o modelo possui capacidade preditiva adequada e robustez interna, sendo considerados aceitáveis para fins preditivos em estudos QSAR (OECD, 2014; KIRALJ; FERREIRA, 2011).

Figura 6. Resultado da validação *leave-one-out* para o Modelo III

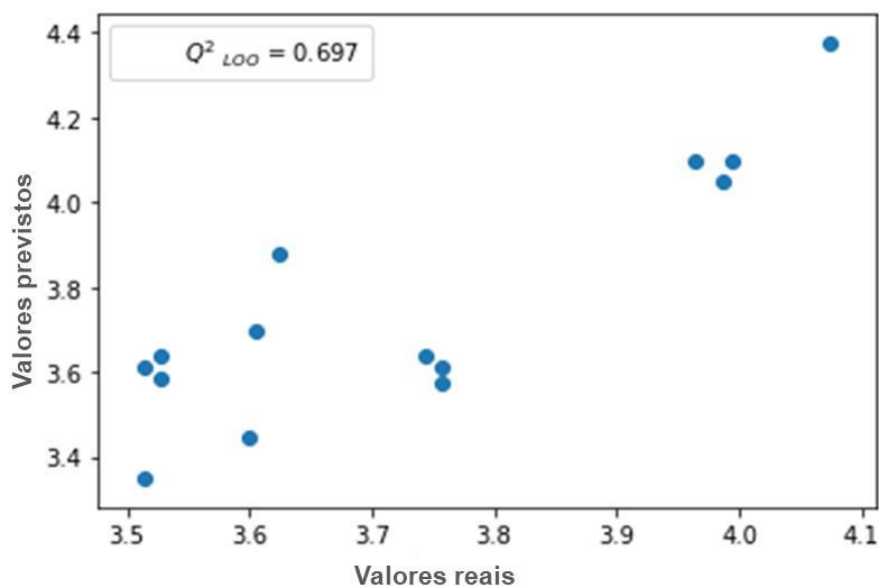
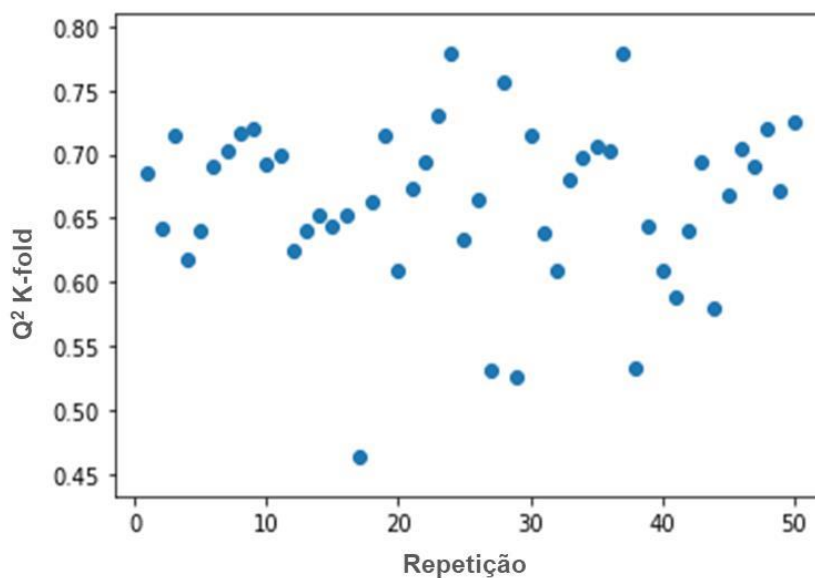
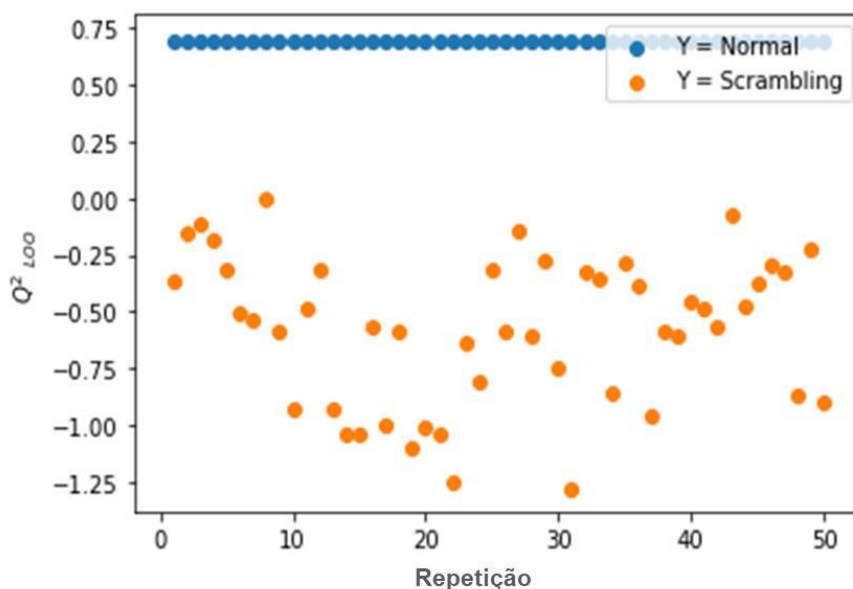


Figura 7. Resultado da validação k-fold para o Modelo III



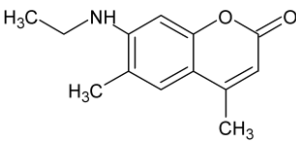
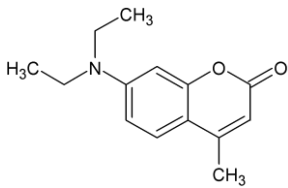
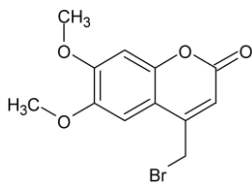
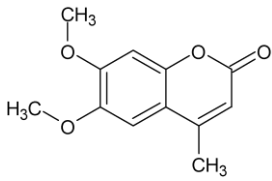
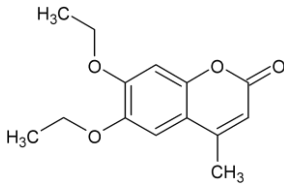
Os valores Q^2_{loo} e R^2 após aleatorização-Y (Figura 8) para os modelos permutados foram abaixo de 0,4 (FERREIRA; KIRALJ, 2011). Se bons modelos de regressão forem obtidos com o auxílio desse teste, implicaria que o modelo QSAR proposto não é aceitável, possivelmente devido a uma correlação ao acaso ou redundância estrutural do conjunto de treinamento (MARTINS; FERREIRA, 2013). Os parâmetros de validação para KNN foram melhores que as modelagens anteriores.

Figura 8. Resultado da aleatorização Y para o Modelo III



A partir deste e dos outros dois modelos QSAR obtidos, foram investigadas moléculas comerciais (*Merk-Sigma Aldrich*) ou derivados sintéticos que fossem possíveis prever como potenciais candidatos, das quais 5 moléculas foram evidenciadas: três análogos para compra comercial direta (C1, C2, C3) e dois análogos passíveis de síntese (C4, C5) a partir de precursores comerciais. Os valores de pIC₅₀ previstos podem ser visualizados à seguir, onde observamos que todas apresentam tendência a um bom efeito, comparadas aos valores de Y do conjunto treinamento (Tabela 5). Os dados corroboram o favorecimento de um padrão dissubstituído e mais hidrofóbico, encorajando estudos futuros em modelos de relaxamento de traqueia (Figura 9).

Figura 9. Estruturas comerciais e derivadas previstas nos Modelos I, II e III

 MI = 3.20 MII = 5.97 MIII = 3.99	 MI = 3.64 MII = 5.74 MIII = 3.87	 MI = 4.52 MII = 6.16 MIII = 3.97
 MI = 4.28 MII = 6.07 MIII = 3.99	 MI = 4.12 MII = 6.00 MIII = 4.07	

*M(n) significa o modelo I, II ou III e o valor respectivo o pIC50.

3.4 AVALIAÇÕES DA TOXICIDADE AGUDA DA UMBELIFERONA

A umbeliferona, possuindo relato prévio de efeito antiasmático por influência nas vias inflamatórias, não tendo os requisitos estruturais para efeito relaxante apontados no QSAR foi investigada quanto ao potencial antitussígeno, bem como toxicidade. Em relação a este último aspecto, demonstrou toxicidade na primeira dose aplicada (2000 mg/kg) em comparação ao veículo. Seguindo o indicado na OECD, 2002, nº 423 o teste prosseguiu com a diminuição da dose para 300 mg/kg visto que houve a morte de 2 animais durante as primeiras 24h após aplicação da substância. Na dose de 300 mg/kg a HXC não apresentou toxicidade em comparação ao veículo, os três animais sobreviveram durante os 14 dias do experimento e não demonstraram sinais de toxicidade durante o período. Não houve diferença significativa no consumo de água nem de ração na maior parte dos dias do experimento (Tabela 10 e 11, respectivamente). Nos dias 2, 5, 11 e 13

houve diferença significativa entre o grupo HXC 300 mg/kg e o grupo veículo. Provavelmente essas diferenças estão associadas a uma variação normal do consumo por animal, visto que não houve diferença significativa no peso dos animais do grupo HXC 300 mg/kg em relação ao grupo veículo (Tabela 12).

Tabela 10. Avaliação do consumo de água ao longo do período de observação. Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (n =3). Para análise de dados utilizou-se a ANOVA Two-way com pós-teste de Dunnett 's

Dias	Veículo	Umbeliferona 300 (mg/Kg)	Umbeliferona 2000 (mg/Kg)
Dia 1	14,3 $\pm$ 1,3	10 $\pm$ 0,6	13
Dia 4	10 $\pm$ 1,5	9,0 $\pm$ 2,1	12
Dia 7	9,7 $\pm$ 0,9	8,7 $\pm$ 1,2	10
Dia 10	9,3 $\pm$ 0,3	12 $\pm$ 1,5	10
Dia 12	9,3 $\pm$ 0,3	9,3 $\pm$ 1,2	10
Dia 14	10 $\pm$ 0,6	9,7 $\pm$ 0,3	12

Tabela 11. Avaliação do consumo de ração ao longo do período de observação. Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (n =3). Para análise de dados utilizou-se a ANOVA Two-way com pós teste de Dunnett 's

Dias	Veículo	Umbeliferona 300 (mg/Kg)	Umbeliferona 2000 (mgKg)
Dia 1	3,0 $\pm$ 0,5	4,0 $\pm$ 0,9	5,5
Dia 4	3,8 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,9	4,5
Dia 7	5,0 $\pm$ 0,3	4,2 $\pm$ 1,0	5,5
Dia 10	3,8 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,4	4,0
Dia 12	4,2 $\pm$ 0,3	5,7 $\pm$ 1,2	5,5
Dia 14	5,0 $\pm$ 0,0	5,3 $\pm$ 0,3	5,0

Tabela 12. Avaliação do peso corporal ao longo do período de observação. Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (n =3). Para análise de dados utilizou-se a ANOVA Two-way com pós teste de Dunnett 's

Dias	Veículo (g)	Umbeliferona 300 (g)	Umbeliferona 2000 (g)
Dia 0	32,8 $\pm$ 0,8	34,3 $\pm$ 0,3	30,3 $\pm$ 0,6
Dia 3	32 $\pm$ 0,7	33,8 $\pm$ 0,4	31,5 $\pm$ 0,0
Dia 6	31,5 $\pm$ 1,0	33,3 $\pm$ 0,7	31,5 $\pm$ 0,0
Dia 9	32,8 $\pm$ 1,3	32,5 $\pm$ 0,5	30,5 $\pm$ 0,0
Dia 12	31,6 $\pm$ 0,8	32 $\pm$ 0,5	30,0 $\pm$ 0,0
Dia 15	31,8 $\pm$ 0,6	32,6 $\pm$ 0,6	30,5 $\pm$ 0,0

A análise macroscópica dos órgãos não revelou diferenças aparentes entre os dois grupos, assim como o peso dos órgãos que não apresentou diferença significativa em relação ao veículo para nenhum dos órgãos analisados (Tabela 13).

Tabela 13. Avaliação do peso dos órgãos (coração, baço, rins [esquerdo + direito], estômago, intestino e fígado) em relação ao peso corpóreo final (g/100g). Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (n =3). Para análise de dados utilizou-se a ANOVA One-way com pós teste de Dunnett 's

Dias	Veículo (g)	Umbeliferona 300 (g)	Umbeliferona 2000 (g)
Coração	0,499 $\pm$ 0,0	0,605 $\pm$ 0,0	0,679 $\pm$ 0,0
Baço	0,408 $\pm$ 0,0	0,435 $\pm$ 0,0	0,467 $\pm$ 0,0
Rins	1,178 $\pm$ 0,0	1,295 $\pm$ 0,0	1,475 $\pm$ 0,0
Estômago	2,007 $\pm$ 0,1	3,335 $\pm$ 1,0	2,769 $\pm$ 0,3
Intestino	13,147 $\pm$ 0,8	13,338 $\pm$ 1,0	12,721 $\pm$ 0,6
Fígado	5,100 $\pm$ 0,1	5,153 $\pm$ 0,0	5,233 $\pm$ 0,4

Em um estudo realizado por Cruz e colaboradores (2020) foram apresentados possíveis efeitos envolvendo toxicidade dependente de dose. Os autores avaliaram a dose máxima de 200 mg/kg de peso corporal dos animais sem apresentar sinais e sintomas tóxicos, assim como alteração na média do peso corporal. A dose máxima foi por eles escolhida, baseado em um estudo de “dose de alcance”, Zinovieva e Zhminko (2017), no qual foi demonstrado que a dose de 300 mg/kg causou letargia em todos os animais 1 hora após a administração da HXC e posteriormente um animal foi encontrado morto. No entanto, segundo Cruz e colaboradores (2020), um trabalho desenvolvido por Macckay e Elliott (1992) sobre ajuste de dose para estudos de toxicologia genética *in vivo*, determinaram a dose máxima de 320 mg/kg, sendo que doses mais elevadas são responsáveis por efeitos letais em roedores. Edwards e colaboradores (2000) a partir de um estudo preliminar de toxicidade envolvendo cumarinas, determinaram que a dose máxima tolerada (DMT) oral foi de 320 mg/kg de peso corporal. Portanto, a dose escolhida de 300 mg/kg neste estudo além de não apresentar toxicidade, serve como um parâmetro adicional de dados experimentais da HXC corroborando com dados já existentes na literatura.

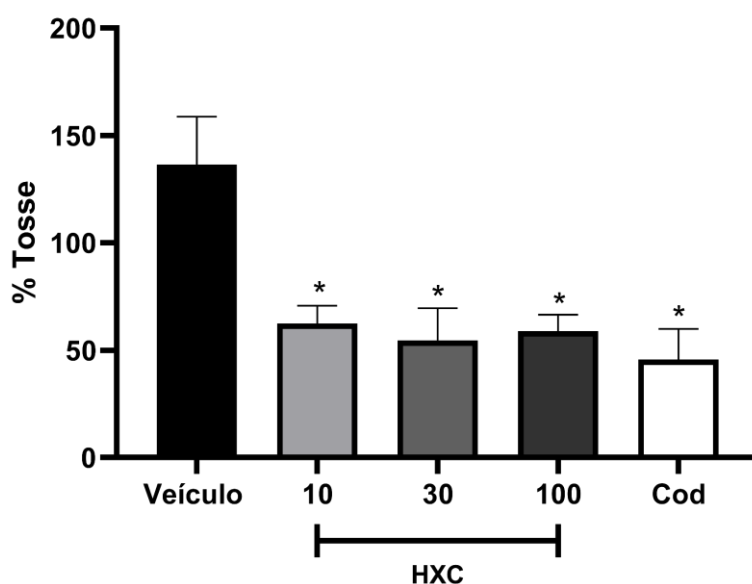
Embora raras evidências indiquem que as cumarinas podem apresentar potencial hepatotóxico de maneira dependente da dose, duração e metabolismo. Essa toxicidade está principalmente associada ao metabolismo mediado pelo citocromo P450 e à formação de metabólitos reativos, levando ao estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e lesão hepatocelular, particularmente em modelos murinos. Em humanos, a hepatotoxicidade induzida por cumarinas parece ser rara e geralmente reversível, com relatos de elevações transitórias nas enzimas hepáticas em uma pequena proporção de indivíduos, destacando a importância do

monitoramento da função hepática durante o uso terapêutico prolongado ou em altas doses (LIU et al., 2023; VASCONCELOS et al., 2009).

3.5 AVALIAÇÕES DO EFEITO ANTITUSSÍGENO DA UMBELIFERONA E MECANISMO DE AÇÃO

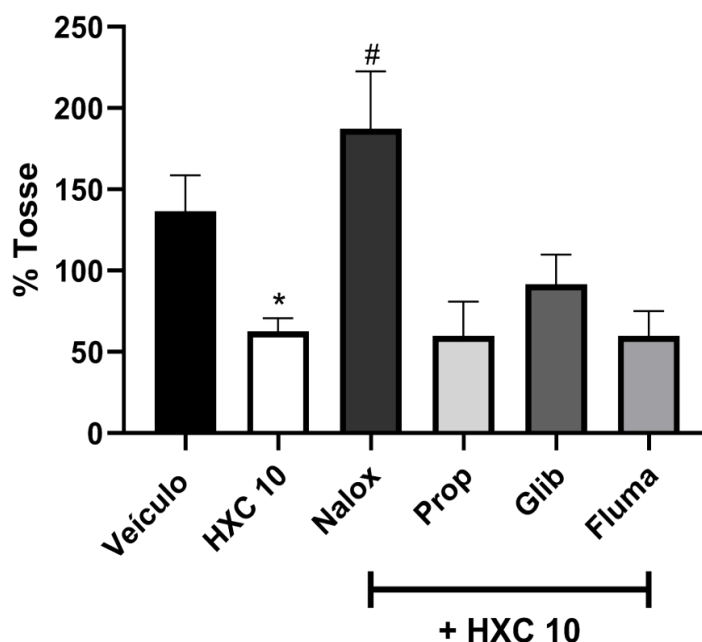
A Figura 10 apresenta o percentual de tosse de cada grupo em relação à tosse do primeiro dia. Os animais foram tratados nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg de HXC, Codeína 30 mg/kg e Veículo. Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 7$). Para análise dos dados utilizou-se o teste ANOVA One-way com pós-teste de Dunnett's. * Indica diferença significativa em relação ao veículo ($p < 0,05$).

Figura 10. Porcentagem de tosse em relação ao 1º dia



A HXC demonstrou efeito antitussígeno significativo no modelo de tosse induzida por ácido cítrico, reduzindo a frequência de tosse de forma comparável à codeína, um opioide amplamente utilizado como padrão farmacológico em modelos experimentais de asma (Figura 10).

A eficácia da HXC nesse modelo sugere que o composto interfere em vias centrais e/ou neurogênicas envolvidas na modulação do reflexo da tosse. Essa hipótese foi confirmada pelos experimentos de mecanismos de ação, nos quais o pré-tratamento com naloxona promoveu reversão significativa do efeito antitussígeno da HXC, indicando a participação da via opioide (Figura 11).

Figura 11. Investigação do mecanismo de ação da HXC

Apesar da escassez de estudos diretamente avaliando o efeito antitussígeno de umbeliferona, alguns autores indicam que esta cumarina possui fortes propriedades anti-inflamatórias e moduladoras de respostas respiratórias, como a redução de inflamação brônquica, diminuição de eosinófilos, muco e mediadores inflamatórios em modelos de inflamação das vias aéreas, efeitos que podem contribuir para atenuar reflexos de tosse induzidos por irritantes ou inflamação local (SAADATI et al., 2024; DHALIWAL; GUPTA, 2023).

A reversão do efeito antitussígeno da HXC pela administração de naloxona, um antagonista opioide não seletivo, indica que o mecanismo de ação dessa cumarina depende funcionalmente da via opioide. Embora a literatura atual sobre HXC não descreva ligação direta ao receptor opioide, os receptores μ -opioides (MOR) são amplamente conhecidos por mediar a supressão do reflexo da tosse por fármacos opioides como codeína, principalmente através de sua ação no núcleo do trato solitário e circuitos integradores do tronco encefálico, inibindo a transmissão excitatória aferente (BIRRING et al., 2025; LUBEJKO et al., 2022). A modulação da via opioide pode ocorrer por facilitação da liberação ou da eficácia de opioides endógenos, ou por aumento da eficiência do acoplamento inibitório desses receptores em redes neurais que controlam a tosse, sendo consistente com achados

de reversão de efeitos farmacológicos de compostos naturais por naloxona em outros modelos experimentais (BIRRING et al., 2025; MORICE et al., 2020).

A reversão significativa do efeito antitussígeno da HXC pela naloxona indica que o sistema opioide desempenha um papel funcional em seu mecanismo de ação e para explorar ainda mais uma possível interação direta com os receptores opioides, foram realizados estudos de docking molecular. No entanto, estes estudos não corroboraram uma interação agonista direta entre a umbeliferona e os receptores opioides, visto que o composto apresentou baixas energias de ligação e não possuía características estruturais comumente associadas à agonistas opioides conhecidos.

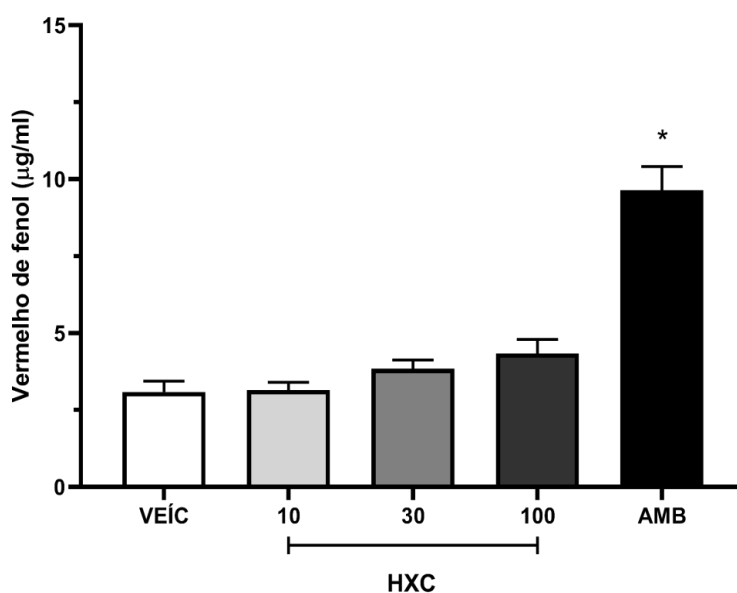
Essa aparente discrepância está de acordo com relatos anteriores que demonstram que a sensibilidade à naloxona não implica necessariamente ligação direta ao receptor, mas pode refletir a modulação indireta das vias opioides endógenas. De fato, diversos compostos antitussígenos e neuromoduladores exercem seus efeitos facilitando a liberação de opioides endógenos ou potencializando a sinalização inibitória mediada por opioides sem ativar diretamente os esses receptores (ADCOCK, 1991; WEISS et al., 2018). Além disso, as limitações intrínsecas do acoplamento molecular para alvos GPCR (Receptores Acoplados a Proteína G) altamente dinâmicos, como os receptores opioides, reforçam a interpretação de que a atividade antitussígena da HXC, dependente de opioides, pode ocorrer por meio de mecanismos indiretos ou subsequentes (WEISS et al., 2018; PAGGI; PANDIT; DROR, 2024).

Nesse contexto, análises futuras utilizando antagonistas seletivos para receptores opioides μ , κ e δ , associadas a estudos de sinalização intracelular, ensaios de afinidade receptor-ligante e abordagens de dinâmica molecular, poderão auxiliar na identificação dos mecanismos envolvidos na modulação opioide induzida pela HXC.

3.6 AVALIAÇÕES DO EFEITO EXPECTORANTE

Na Figura 12 pode ser observado a concentração de vermelho de fenol em $\mu\text{g/ml}$ no LBA em relação aos grupos tratados, 10, 30 e 100 mg/kg de HXC, Ambroxol (AMB) 120 mg/kg (controle positivo) e Veículo. Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média ($n = 8$). Para análise de dados utilizou-se o teste ANOVA One-way com pós-teste de Dunnett 's. * Indica diferença significativa em relação ao veículo ($p < 0,05$).

Figura 12. Expectoração de vermelho de fenol no LBA



A HXC não demonstrou atividade expectorante em nenhuma das 3 doses testadas, houve um aumento na média da concentração de vermelho de fenol conforme aumento da dose de HXC, porém sem diferença significativa em relação ao veículo.

Embora a HXC não tenha aumentado significativamente a secreção brônquica no teste de expectoração com vermelho de fenol, essa descoberta sugere que seus efeitos antitussígenos não estão relacionados a mecanismos secretagogos ou mucolíticos (DICPINIGAITIS et al., 2014). Semelhante a agentes antitussígenos de ação central, como a codeína, a umbeliferona parece modular o reflexo da tosse sem aumentar a produção de muco (TAKAHAMA; SHIRASAKI, 2007). Esse perfil

farmacológico pode ser vantajoso na asma, uma condição frequentemente associada à hipersecreção de muco e obstrução das vias aéreas, reforçando o potencial da umbeliferona como um agente antitussígeno e broncodilatador seletivo, em vez de um composto expectorante (SONG et al., 2015).

4 CONCLUSÃO

Dessa forma, os resultados obtidos sugerem que as cumarinas selecionadas pelos modelos QSAR representam candidatos promissores para investigação antiasmática futura, permitindo uma priorização racional de compostos com maior probabilidade de sucesso em validações experimentais. Entre os compostos avaliados, C1, C2, C3, C4 e C5 demonstraram perfil preditivo mais favorável.

Em paralelo, a avaliação farmacológica da umbeliferona evidenciou um efeito antitussígeno significativo *in vivo*, cuja reversão por naloxona indica a participação funcional do sistema opioide. Contudo, a ausência de interações diretas relevantes nos estudos de *docking* sugere que esse efeito não decorre de agonismo opioide clássico, mas possivelmente de mecanismos indiretos envolvendo a modulação do tônus opioide ou de vias neurais sensoriais associadas ao reflexo da tosse. A inexistência de atividade expectorante associada reforça um perfil farmacológico predominantemente antitussígeno, distinto de agentes secretagogos.

Em conjunto, os resultados demonstram que, embora estruturalmente relacionadas, diferentes cumarinas podem atuar sobre componentes distintos e complementares da fisiopatologia da asma, como broncoconstrição e tosse. Esses achados ampliam a compreensão do potencial terapêutico da umbeliferona e das cumarinas como classe química, além de destacar o valor da integração entre modelagem QSAR, avaliação experimental e descobertas de caráter serendípico.

Como perspectivas futuras, estudos adicionais deverão priorizar a validação experimental das moléculas preditas pelos modelos QSAR, bem como a caracterização mais aprofundada de seus mecanismos moleculares de ação, incluindo a investigação de vias inflamatórias, modulação de receptores e sinalização intracelular. Além disso, análises farmacocinéticas, toxicológicas e de biodisponibilidade serão fundamentais para avaliar o potencial translacional desses compostos. Estudos envolvendo antagonistas seletivos, ensaios de ligação receptor-ligante e abordagens avançadas de modelagem molecular, como dinâmica

molecular, também poderão contribuir para a elucidação mais precisa dos mecanismos farmacológicos associados às cumarinas. Em conjunto, essas abordagens poderão favorecer a otimização racional de derivados cumarínicos e o avanço dessas moléculas como potenciais candidatos terapêuticos para o tratamento da asma.

Agradecimentos

Esta pesquisa foi apoiada pelo Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - PPGBiotec através da Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS.

Estudo financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) processo nº 311940/2022-6, e Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) processo nº APQ-1037-2.10/24.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- ADCOCK, J. J. Peripheral opioid receptors and the cough reflex. **Pulmonary Pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 43-46, 1991.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica de medicamentos**. Brasília: ANVISA, 2013.
- ALEXANDER, D. L. et al. Simple, Unambiguous Assessment of the Prediction Accuracy of QSAR and QSPR Models. **J Chem Inf Model**, v. 55, n.7, p.1316-22, 2015.
- BIRRING, S. S. et al. Kappa and mu opioid receptors in chronic cough: current evidence and future treatment. **Lung**, v. 203, n. 1, p. 62, 2025.
- BORGES, F. et al. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 887-916, 2005.
- CHERKASOV, A. et al. QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 4977-5010, 2014.
- CHUNG, K. F.; PAVORD, I. D. Prevalence, pathogenesis, and causes of chronic cough. **The Lancet**, v. 371, n. 9621, p. 1364-1374, 2008.
- CRUZ, L. F. et al. Umbelliferone (7-hydroxycoumarin): a non-toxic antidiarrheal and antiulcerogenic coumarin. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 129, p. 110432, 2020.
- DE OLIVEIRA, D. B.; GAUDIO, A. C. BuildQSAR: a new computer program for QSAR analysis. **Quantitative Structure-Activity Relationships**, v. 19, n. 6, p. 599-601, 2000.
- DICPINIGAITIS, P. V. et al. Antitussive drugs—past, present, and future. **Pharmacological Reviews**, v. 66, n. 2, p. 468-512, 2014.
- DHALIWAL, A.; GUPTA, M. Physiology, opioid receptor. In: **Stat Pearls**. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2023.
- EDWARDS, A. J. et al. Lack of effect of coumarin on unscheduled DNA synthesis in the in vivo rat hepatocyte DNA repair assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 5, p. 403-409, 2000.
- FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.
- FERREIRA, M. M. C.; MONTANARI, C. A.; GAUDIO, A. C. Variable selection in QSAR. **Química Nova**, v. 25, p. 439-448, 2002.
- GAUDIO, A. C.; ZANDONADE, E. Proposição, validação e análise dos modelos que correlacionam estrutura química e atividade biológica. **Química Nova**, v. 24, p. 658-671, 2001.

GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA (GINA). **Global strategy for asthma management and prevention**. 2024.

GOLBRAIKH, A.; TROPSHA, A. Beware of q^2 ! **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 20, n. 4, p. 269-276, 2002.

GOLBRAIKH, A.; TROPSHA, A. Predictive QSAR modeling based on diversity sampling of experimental datasets for the training and test set selection. **Molecular Diversity**, v. 5, p. 231-243, 2000.

HALL, M. A. **Correlation-based feature subset selection for machine learning**. 1999. Tese (Doutorado) – University of Waikato, Hamilton, Nova Zelândia.

KIRALJ, R.; FERREIRA, M. Basic validation procedures for regression models in QSAR and QSPR studies: theory and application. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 770-787, 2011.

LIN, Z.; CHENG, X.; ZHENG, H. Umbelliferone: a review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics. **Inflammopharmacology**, v. 31, n. 4, p. 1731-1750, 2023.

LUBEJKO, S. T. et al. The role of endogenous opioid neuropeptides in neurostimulation-driven analgesia. **Frontiers in Systems Neuroscience**, v. 16, 2022.

MACKAY, J. M.; ELLIOTT, B. M. Dose-ranging and dose-setting for in vivo genetic toxicology studies. **Mutation Research**, v. 271, n. 1, p. 97-99, 1992.

MAJUMDAR, S.; BASAK, S. C. Beware of external validation! **Current Computer-Aided Drug Design**, v. 14, n. 4, p. 284-291, 2018.

MARTINS, J. P. A.; FERREIRA, M. QSAR modeling: um novo pacote computacional open source para gerar e validar modelos QSAR. **Química Nova**, v. 36, p. 554-560, 2013.

MENEZES, P. M. N. et al. Chemical analysis by LC-MS of Cannabis sativa root samples from Northeast Brazil and evaluation of antitussive and expectorant activities. **Planta Medica**, v. 88, n. 13, p. 1223-1232, 2022.

MENEZES, P. M. N. et al. Analytical and pharmacological validation of the quantification of phenol red in a mouse model. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 98, 2019.

MONTEFUSCO-PEREIRA, C. V. et al. Decoding lung pathophysiology by advanced in vitro models. **Drug Discovery Today**, v. 26, n. 1, p. 148-163, 2021.

MORICE, A. H. et al. ERS guidelines on the diagnosis and treatment of chronic cough in adults and children. **European Respiratory Journal**, v. 55, n. 1, p. 1901136, 2020.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Test No. 423: acute oral toxicity – acute toxic class method**. Paris: OECD Publishing, 2002.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Guidance document on the validation of (Q)SAR models**. Paris: OECD, 2014.

PAGGI, J. M.; PANDIT, A.; DROR, R. O. The art and science of molecular docking. **Annual Review of Biochemistry**, v. 93, p. 389-410, 2024.

PAPI, A. et al. Asthma. **The Lancet**, v. 391, n. 10122, p. 783-800, 2018.

SAADATI, F. et al. Coumarin: a natural solution for alleviating inflammatory disorders. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, v. 7, 2024.

SÁNCHEZ-RECILLAS, A. et al. Semisynthesis and SAR studies of coumarin derivatives as potential antiasthmatic drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 400-408, 2014.

SANDOVAL, C. et al. Application of QSAR in the prediction of compounds with anti-leukemic activity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 15, 2023.

SONG, K. J. et al. Expectorant and antitussive effect of Hedera helix and Rhizoma coptidis. **Yonsei Medical Journal**, v. 56, n. 3, p. 819-824, 2015.

STEINER, A. A. et al. Coumarins: pharmacological profile and therapeutic applications. **Molecules**, v. 24, n. 8, 2019.

TAKAHAMA, K.; SHIRASAKI, T. Central and peripheral mechanisms of narcotic antitussives. **Cough**, v. 3, p. 8, 2007.

TEÓFILO, R. F.; MARTINS, J. P. A.; FERREIRA, M. M. Sorting variables by informative vectors. **Journal of Chemometrics**, v. 23, p. 32-48, 2009.

TODESCHINI, R.; CONSONNI, V. **Molecular descriptors for chemoinformatics**. New York: John Wiley & Sons, 2009.

TROPSHA, A. Best practices for QSAR model development and validation. **Molecular Informatics**, v. 29, p. 476-488, 2010.

VASCONCELOS, J. F. et al. Effects of umbelliferone in a murine model of allergic airway inflammation. **European Journal of Pharmacology**, v. 609, p. 126-131, 2009.

VENUGOPALA, K. N.; RASHMI, V.; ODHAV, B. Natural coumarin lead compounds for pharmacological activity. **BioMed Research International**, 2013.

WEISS, D. R. et al. Selectivity challenges in docking screens for GPCR targets. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, n. 15, p. 6830-6845, 2018.

ZINOVIEVA, M. L.; ZHMINKO, P. G. Toxicity study of 7-hydroxycoumarin in rats.
Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 5, p. 237-244, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que a abordagem integrada, combinando estratégias *in silico*, *in vivo* e *in vitro*, foi eficaz na investigação do potencial farmacológico de cumarinas no contexto de alterações respiratórias associadas à asma. Inicialmente, a construção e otimização estrutural de derivados cumarínicos, aliadas ao desenvolvimento de modelos QSAR robustos, permitiram a identificação de descritores moleculares relevantes e a predição de compostos com maior potencial bioativo, contribuindo para uma triagem racional de candidatos promissores para estudos experimentais.

A análise sistemática da literatura corroborou esses achados, demonstrando que cumarinas como imperatorina e osthol apresentam efeitos consistentes sobre mecanismos-chave da fisiopatologia asmática, incluindo modulação de vias inflamatórias, relaxamento do músculo liso das vias aéreas e interferência em processos de remodelamento. Esses efeitos parecem estar associados à regulação de múltiplas vias de sinalização e alvos moleculares, reforçando o caráter multifuncional dessa classe de compostos.

No âmbito experimental, a avaliação da 7-hidroxicumarina (umbeliferona) revelou atividade antitussígena significativa em modelo murino, sem efeito expectorante associado, caracterizando um perfil farmacológico específico. A reversão desse efeito por naloxona sugere a participação do sistema opioide, embora os resultados de *docking* indiquem a ausência de interação direta com receptores opioides clássicos, apontando para mecanismos indiretos possivelmente relacionados à modulação de vias neurais sensoriais envolvidas no reflexo da tosse.

De forma geral, os dados demonstram que, embora estruturalmente semelhantes, as cumarinas podem exercer efeitos farmacológicos distintos e complementares, atuando em diferentes etapas da fisiopatologia respiratória, como inflamação, broncoconstrição e tosse. Essa diversidade de mecanismos amplia significativamente o potencial terapêutico dessa classe de compostos.

Por fim, destaca-se que, apesar dos resultados promissores, ainda existem lacunas importantes, especialmente no que se refere à avaliação toxicológica, segurança e caracterização mais aprofundada dos alvos moleculares envolvidos. Nesse sentido, estudos futuros são essenciais para validar esses achados e avançar no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas baseadas em cumarinas,

consolidando seu papel como candidatos relevantes no tratamento de distúrbios respiratórios.

REFERÊNCIAS

- ADCOCK, J. J. Peripheral opioid receptors and the cough reflex. **Pulmonary Pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 43-46, 1991.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica de medicamentos**. Brasília: ANVISA, 2013.
- ALEXANDER, D. L. et al. Simple, Unambiguous Assessment of the Prediction Accuracy of QSAR and QSPR Models. **J Chem Inf Model**, v. 55, n.7, p.1316-22, 2015.
- ALMEIDA, F. J.; ROCHA, T. S.; BARBOSA, P. M. Abordagens computacionais na triagem de derivados cumarínicos com potencial terapêutico antiasmático. **Computational Chemistry in Natural Product Research**, v. 9, n. 1, p. 45–59, 2024.
- AMARAL, T. M.; SILVA, D. M.; COSTA, J. S. Cumarinas como potenciais agentes anti-inflamatórios no tratamento da asma: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 31, n. 3, p. 421–430, 2021.
- BIRRING, S. S. et al. Kappa and mu opioid receptors in chronic cough: current evidence and future treatment. **Lung**, v. 203, n. 1, p. 62, 2025.
- BORGES, F. et al. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 887-916, 2005.
- BAZAN-SOCHA, S. et al. Increased oxidative stress in asthma: relation to inflammatory blood and lung biomarkers and airway remodeling indices. **Biomedicines**, v. 10, n. 7, p. 1499, 2022.
- BRASIL. Em um ano, SUS registrou 1,3 milhão de atendimentos a casos de asma na Atenção Primária. Ministério da Saúde, 3 maio 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/maio/em-um-ano-sus-registrou-1-3-milhao-de-atendimentos-a-casos-de-asma-na-atencao-primaria>. Acesso em: 28 fev. 2026.
- CAHILL, K. N. et al. Effect of KIT inhibition by imatinib on airway mast cells in patients with severe refractory asthma (KIA). **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 139, n. 2, p. AB169, 2017.
- CALLAHAN, B. N. et al. Osthole, a natural plant derivative inhibits MRGPRX2 induced mast cell responses. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 703, 2020.
- CAMINATI, M. et al. Biologics for the treatments of allergic conditions: severe asthma. **Immunology and Allergy Clinics**, v. 40, n. 4, p. 549–564, 2020.
- CHERKASOV, A. et al. QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 4977-5010, 2014.

CHIANG, C. Y. et al. Osthole treatment ameliorates Th2-mediated allergic asthma and exerts immunomodulatory effects on dendritic cell maturation and function. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 14, n. 11, p. 935–947, 2017.

CHUNG, K. F.; PAVORD, I. D. Prevalence, pathogenesis, and causes of chronic cough. **The Lancet**, v. 371, n. 9621, p. 1364-1374, 2008.

CRUZ, L. F. et al. Umbelliferone (7-hydroxycoumarin): a non-toxic antidiarrheal and antiulcerogenic coumarin. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 129, p. 110432, 2020.

DE OLIVEIRA, D. B.; GAUDIO, A. C. BuildQSAR: a new computer program for QSAR analysis. **Quantitative Structure-Activity Relationships**, v. 19, n. 6, p. 599-601, 2000.

DHALIWAL, A.; GUPTA, M. Physiology, opioid receptor. In: **Stat Pearls**. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2023.

DICPINIGAITIS, P. V. et al. *Antitussive* drugs—past, present, and future. **Pharmacological Reviews**, v. 66, n. 2, p. 468-512, 2014.

EDWARDS, A. J. et al. Lack of effect of coumarin on unscheduled DNA synthesis in the in vivo rat hepatocyte DNA repair assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 5, p. 403-409, 2000.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.

FERREIRA, M. M. C.; MONTANARI, C. A.; GAUDIO, A. C. Variable selection in QSAR. **Química Nova**, v. 25, p. 439-448, 2002.

FOROOZESH, M. et al. Coumarins and P450s, studies reported to date. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1620, 2019.

GAUDIO, A. C.; ZANDONADE, E. Proposição, validação e análise dos modelos que correlacionam estrutura química e atividade biológica. **Química Nova**, v. 24, p. 658-671, 2001.

GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA (GINA). **Global Strategy for Asthma Management and Prevention** – 2025 update. Disponível em: <https://ginasthma.org>. Acesso em: 27 jun. 2025.

GLOBAL INITIATIVE FOR ASTHMA. **Global Strategy for Asthma Management and Prevention**, 2024 (GINA 2024); 2024 GINA Main Report – Global Initiative for Asthma – GINA. Disponível em: <https://ginasthma.org/2024-report/>. Acesso em: 25 set. 2024.

GONZALEZ-URIBE, V.; ROMERO-TAPIA, S. J.; CASTRO-RODRIGUEZ, J. A. Asthma phenotypes in the era of personalized medicine. **Journal of Clinical Medicine**, v. 12, n. 19, p. 6207, 2023.

GROVER, J.; JACHAK, S. M. Coumarins as privileged scaffold for anti-inflammatory drug development. **RSC Advances**, v. 5, n. 49, p. 38892–38905, 2015.

GOLBRAIKH, A.; TROPSHA, A. Beware of q^2 ! **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 20, n. 4, p. 269-276, 2002.

GOLBRAIKH, A.; TROPSHA, A. Predictive QSAR modeling based on diversity sampling of experimental datasets for the training and test set selection. **Molecular Diversity**, v. 5, p. 231-243, 2000.

HALL, M. A. **Correlation-based feature subset selection for machine learning**. 1999. Tese (Doutorado) – University of Waikato, Hamilton, Nova Zelândia.

HSIEH, C. C. et al. Ameliorative effect of imperatorin on Dermatophagoides pteronyssinus-induced allergic asthma by suppressing the Th2 response in mice. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 7028, 2022.

HOQUE, F.; NAYAK, R. Focused overview of the 2024 Global Initiative for Asthma guidelines. **APIK Journal of Internal Medicine**, v. 13, n. 1, p. 4–12, 2025.

JIN, Y. et al. Osthole protects against acute lung injury by suppressing NF- κ B-dependent inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, p. 4934592, 2018.

KIRALJ, R.; FERREIRA, M. Basic validation procedures for regression models in QSAR and QSPR studies: theory and application. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 770-787, 2011.

KUBO, M. Innate and adaptive type 2 immunity in lung allergic inflammation. **Immunological Reviews**, v. 278, n. 1, p. 162–172, 2017.

LI, R. et al. *Osthole* attenuates macrophage activation in experimental asthma by inhibiting the NF- κ B/MIF signaling pathway. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, p. 572463, 2021.

LIM, H. J. et al. Inhibition of airway inflammation by the roots of *Angelica decursiva* and its constituent, columbianadin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 2, p. 1353–1361, 2014.

LIN, Z.; CHENG, X.; ZHENG, H. Umbelliferone: a review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics. **Inflammopharmacology**, v. 31, n. 4, p. 1731-1750, 2023.

LIN, C. L. et al. Imperatorin exerts antiallergic effects in Th2-mediated allergic asthma via induction of IL-10-producing regulatory T cells by modulating the function of dendritic cells. **Pharmacological Research**, v. 110, p. 111–121, 2016.

LIU, B. et al. Unveiling hepatotoxicity distinction of coumarin-related compounds from glycosides to aglycones in *Fructus Psoraleae* by integrating UPLC-Q-TOF-MS and high content analysis. **Journal of Ethnopharmacology**, 2023.

LUBEJKO, S. T. et al. The role of endogenous opioid neuropeptides in neurostimulation-driven analgesia. **Frontiers in Systems Neuroscience**, v. 16, 2022.

MACKAY, J. M.; ELLIOTT, B. M. Dose-ranging and dose-setting for in vivo genetic toxicology studies. **Mutation Research**, v. 271, n. 1, p. 97-99, 1992.

MAJUMDAR, S.; BASAK, S. C. Beware of external validation! **Current Computer-Aided Drug Design**, v. 14, n. 4, p. 284-291, 2018.

MARTINS, J. P. A.; FERREIRA, M. QSAR modeling: um novo pacote computacional open source para gerar e validar modelos QSAR. **Química Nova**, v. 36, p. 554-560, 2013.

MENEZES, P. M. N. et al. Chemical analysis by LC-MS of Cannabis sativa root samples from Northeast Brazil and evaluation of antitussive and expectorant activities. **Planta Medica**, v. 88, n. 13, p. 1223-1232, 2022.

MENEZES, P. M. N. et al. Analytical and pharmacological validation of the quantification of phenol red in a mouse model. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 98, 2019.

MENZIES-GOW, A. et al. Tezepelumab in adults and adolescents with severe, uncontrolled asthma. **New England Journal of Medicine**, v. 384, n. 19, p. 1800–1809, 2021.

MOHD, K. H. et al. Coumarins as versatile therapeutic phytomolecules: a systematic review. **Phytomedicine**, v. 134, 2024.

MONTEFUSCO-PEREIRA, C. V. et al. Decoding lung pathophysiology by advanced in vitro models. **Drug Discovery Today**, v. 26, n. 1, p. 148-163, 2021.

MORAN, A. M. et al. Blood eosinophil depletion with mepolizumab, benralizumab, and prednisolone in eosinophilic asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 202, n. 9, p. 1314–1316, 2020.

MORICE, A. H. et al. ERS guidelines on the diagnosis and treatment of chronic cough in adults and children. **European Respiratory Journal**, v. 55, n. 1, p. 1901136, 2020.

MOUHANA, A. T. et al. Análise do perfil epidemiológico das internações por asma no Brasil: um estudo de 2019 a 2023. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 11, n. 1, p. 945–956, 2025.

NAN, Z. D. et al. Systematic review of natural coumarins in plants (2019–2024): chemical structures and pharmacological activities. **Phytochemistry**, v. 235, p. 114480, 2025.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Test No. 423: acute oral toxicity – acute toxic class method**. Paris: OECD Publishing, 2002.

ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). **Guidance document on the validation of (Q)SAR models**. Paris: OECD, 2014.

PAGGI, J. M.; PANDIT, A.; DROR, R. O. The art and science of molecular docking. **Annual Review of Biochemistry**, v. 93, p. 389-410, 2024.

PAPI, A. et al. Asthma. **The Lancet**, v. 391, n. 10122, p. 783-800, 2018.

PEREIRA, M. C.; OLIVEIRA, L. F.; SANTOS, R. A. Produtos naturais no manejo da asma: evidências experimentais e perspectivas clínicas. **Revista Fitos**, v. 16, n. 2, p. 98–109, 2022.

PRESS, N. J.; JOLY, E. E. P. Natural product drug delivery: A special challenge? **Progress in Medicinal Chemistry**, v. 58, p. 157–187, 2019.

REX, D. Abordagens retrossintéticas estratégicas para síntese de produtos naturais em P&D farmacêutico. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 16, p. 126, 2024.

SAADATI, F. et al. Coumarin: a natural solution for alleviating inflammatory disorders. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, v. 7, 2024.

SÁNCHEZ-RECILLAS, A. et al. Semisynthesis and SAR studies of coumarin derivatives as potential antiasthmatic drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 400-408, 2014.

SANDOVAL, C. et al. Application of QSAR in the prediction of compounds with anti-leukemic activity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 15, 2023.

SILVA, E. R.; MELO A. L.; LIMA, V. C. Estudo in silico de cumarinas com atividade inibitória sobre PDE-4 para o tratamento da asma. **Journal of Molecular Modeling and Drug Design**, v. 12, n. 1, p. 25–37, 2023.

SONG, K. J. et al. Expectorant and antitussive effect of Hedera helix and Rhizoma coptidis. **Yonsei Medical Journal**, v. 56, n. 3, p. 819-824, 2015.

STEINER, A. A. et al. Coumarins: pharmacological profile and therapeutic applications. **Molecules**, v. 24, n. 8, 2019.

TAKAHAMA, K.; SHIRASAKI, T. Central and peripheral mechanisms of narcotic antitussives. **Cough**, v. 3, p. 8, 2007.

TANG, J.; LIU, J.; ZHANG, X. The role of osthole on TGF- β -induced lung epithelium apoptosis injury and epithelial-mesenchymal transition-mediated airway remodeling in pediatric asthma. **Journal of Healthcare Engineering**, v. 2022, p. 7099097, 2022.

TEÓFILO, R. F.; MARTINS, J. P. A.; FERREIRA, M. M. Sorting variables by informative vectors. **Journal of Chemometrics**, v. 23, p. 32-48, 2009.

TODESCHINI, R.; CONSONNI, V. **Molecular descriptors for chemoinformatics**. New York: John Wiley & Sons, 2009.

TROPSHA, A. Best practices for QSAR model development and validation. **Molecular Informatics**, v. 29, p. 476-488, 2010.

VASCONCELOS, J. F. *et al.* Effects of umbelliferone in a murine model of allergic airway inflammation. **European Journal of Pharmacology**, v. 609, p. 126-131, 2009.

VENUGOPALA, K. N.; RASHMI, V.; ODHAV, B. Natural coumarin lead compounds for pharmacological activity. **BioMed Research International**, 2013.

WADHWA, R. *et al.* Identification of biomarkers and genetic approaches toward chronic obstructive pulmonary disease. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 10, p. 16703–16723, 2019.

WANG, D. *et al.* Effects of imperatorin on airway remodeling in bronchial asthma through S1PR2/STAT3 signaling pathway. **Cellular and Molecular Biology**, v. 69, n.15, p. 1–5, 2023.

WANG, J. *et al.* Antiasthmatic activity of osthole in an ovalbumin-induced asthma murine model. **Respiratory Physiology & Neurobiology**, v. 239, p. 64–69, 2017.

WANG, J. *et al.* Bergapten inhibits airway inflammation and MRGPRX2-mediated mast cells activation by targeting NR4A1. **International Immunopharmacology**, v. 130, p. 111798, 2024.

WANG, N. *et al.* Imperatorin ameliorates mast cell-mediated allergic airway inflammation by inhibiting MRGPRX2 and CamKII/ERK signaling pathway. **Biochemical Pharmacology**, v. 184, p. 114401, 2021.

WANG, S. *et al.* Airway relaxation mechanisms and structural basis of osthole for improving lung function in asthma. **Science Signaling**, v. 13, n. 659, eaax0273, 2022.

WEISS, D. R. *et al.* Selectivity challenges in docking screens for GPCR targets. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, n. 15, p. 6830-6845, 2018.

WIJERATHNE, C. U. *et al.* Isoimperatorin attenuates airway inflammation and mucus hypersecretion in an ovalbumin-induced murine model of asthma. **International Immunopharmacology**, v. 49, p. 67–76, 2017.

XIONG, Y. *et al.* The effects of nodakenin on airway inflammation, hyper-responsiveness and remodeling in a murine model of allergic asthma. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 36, n. 5, p. 341–348, 2014.

YANG, Q. *et al.* Osthole attenuates ovalbumin-induced lung inflammation via the inhibition of IL-33/ST2 signaling in asthmatic mice. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 46, n. 4, p. 1389–1398, 2020.

ZINOVIEVA, M. L.; ZHMINKO, P. G. Toxicity study of 7-hydroxycoumarin in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, p. 237-244, 2017.

ZHU, J. J.; JIANG, J. G. Pharmacological and nutritional effects of natural coumarins and their structure-activity relationships. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 14, p. 1701073, 2018.

ANEXO A

Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology

WILEY

FOCUSED REVIEW OPEN ACCESS

Coumarins and Their Derivatives in Animal Models of Asthma: A Systematic Review

Iêda Maria dos Santos¹ | João Lázaro de Oliveira Rocha² | Edilson Beserra de Alencar Filho³ | Fabricio Souza Silva^{1,2,3}

¹Postgraduate Program in Biotechnology, State University of Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brazil | ²Laboratory of Experimental Pharmacology, Federal University of the São Francisco Valley, Petrolina, Pernambuco, Brazil | ³Postgraduate Program in Biosciences, Federal University of the São Francisco Valley, Petrolina, Pernambuco, Brazil

Correspondence: Fabricio Souza Silva (fabricio.souzasilva@univasf.edu.br)

Received: 3 October 2025 | Revised: 6 January 2026 | Accepted: 26 January 2026

Keywords: airway inflammation | asthma | coumarin | cytokine | lung

ABSTRACT

Asthma is a serious global health issue that affects millions of people worldwide. It is a heterogeneous disease characterized by inflammation, bronchial hyperresponsiveness and airway remodelling. Compounds from the coumarin class have been extensively documented in the literature as promising agents for asthma treatment. This review highlights the potential of coumarins and their effects in animal models of asthma. Articles from the past 10 years (2014–2024) were selected according to the guidelines of the PRISMA from the PubMed, Virtual Health Library (BVS) and ScienceDirect databases. The search strategy utilized descriptors from the Medical Subject Headings (MeSH) and Descriptors in Health Sciences (DeCS) databases. Were selected 18 articles after applying the inclusion criteria: full-text articles published in English and Portuguese, freely accessible and investigating coumarins and their derivatives with antiasthmatic activity. The coumarins most explored by the authors were imperatorin and osthole, and the results showed that these coumarins relax airway smooth muscle, reduce inflammation and the release of Th2 cytokines IL-4, IL-5 and IL-13 and increase protection against inflammation through pro-inflammatory cells, Th1, macrophages and dendritic cells. Thus, it is concluded that coumarins and their effects, particularly imperatorin and osthole, present a promising potential in asthma management and could serve as important molecular scaffolds for future investigations.

PLAIN LANGUAGE SUMMARY

Asthma is a chronic disease affecting millions of people worldwide, with no definitive cure, as symptoms reappear when treatment is discontinued. This study reviewed research from the past 10 years to evaluate the potential of coumarins, which are natural compounds found in plants, in the management of the disease. Among the most extensively investigated molecules, imperatorin and osthole stand out for their ability to reduce inflammation, relax airways and modulate immune responses. These findings suggest that coumarins are valuable candidates for developing novel therapies aimed at improving the quality of life of individuals with asthma.

1 | Introduction

Asthma is characterized by chronic inflammatory processes in the airways, leading to cellular infiltration, mucus hypersecretion, oedema and smooth muscle thickening. This results in airflow obstruction, accompanied by recurrent chest tightness

and breathing difficulty, causing significant suffering and mortality in patients [1]. It affects more than 300 million individuals worldwide, with increasing prevalence and incidence, leading to a significant economic burden on society. The main pathological features of asthma include airway hyperresponsiveness (AHR), inflammatory cell infiltration and excessive mucus

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution](#) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2026 The Author(s). *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of Nordic Association for the Publication of BCPT (former Nordic Pharmacological Society).

Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2026; 138:e70210
<https://doi.org/10.1111/bcpt.70210>

1 of 14

ANEXO B

NPAB-D-26-00125 - Submission Notification to co-author - [EMID:b48a5bf5d673e34f]

Caixa de entrada x



Natural Products and Bioprospecting (NPAB) <em@editorialmanager.com>

15 de mar. de 2026, 21:33 (há 3 días)



para mim ▾

Re: "QSAR modelling of tracheal relaxant coumarins and antitussive activity of 7-hydroxycoumarin: distinct activity profiles within a single chemical class in asthma pathophysiology"

Full author list: Iêda Maria dos Santos; João Lázaro de Oliveira Rocha; Murilo Soares da Silva; Nivia Amanda Cardoso de Sousa; Vanessa Costa Santos; Rosalvo Ferreira de Oliveira Neto; Edilson Beserra de Alencar Filho; Fabrício Souza Silva

Dear Ms dos Santos,

We have received the submission entitled: "QSAR modeling of tracheal relaxant coumarins and antitussive activity of 7-hydroxycoumarin: distinct activity profiles within a single chemical class in asthma pathophysiology" for possible publication in Natural Products and Bioprospecting, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Prof. Fabrício Souza Silva who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,