

Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Campus de Araraquara

**Síntese e caracterização de derivados de benzofenona e ácido cinâmico com
atividade fotoprotetora**

Esther Borin Del Valle Violla

Araraquara

2015

Esther Borin Del Valle Violla

**Síntese e caracterização de derivados de benzofenona e ácido cinâmico
com atividade fotoprotetora**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da
Universidade Estadual Paulista para
obtenção do grau de Farmacêutica-
Bioquímica.

Orientadora: Profa. Dra. Chung Man Chin

Co-orientador: Me. Paulo Renato Yamasaki

Araraquara

2015

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Solange e Sibamar, por acompanharem todos os meus passos com muita paciência, dedicação, apoio e amor.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é uma maneira simbólica de agradecer imensamente à minha família por ser minha base emocional em todas as fases da vida, com majoritária participação e auxílio nestes árduos anos de graduação.

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais Solange e Sibamar, pelo carinho imenso, pela paciência e pelas palavras acolhedoras em todos os momentos, por nunca desistirem de mim e acreditarem na minha capacidade. Por me darem o apoio fundamental para que eu encarasse todos os obstáculos da vida e por sempre se desdobrarem para me fornecer as melhores condições.

À minha irmã Stella, por sempre me apoiar, aconselhar, confortar e se orgulhar de mim;

À toda minha família e amigos muito próximos pela força, convivência, confiança e palavras confortantes;

Ao meu maior co-orientador, Paulo Renato Yamasaki que compartilhou seu conhecimento comigo sempre de uma forma divertida e descomplicada e, ainda, me concedeu a oportunidade de conhecer um novo âmbito interessante;

Ao grande professor e orientador Diego Chiba que com muita paciência, me auxiliou com seu conhecimento. Também ao Rafael Chelucci que com paciência, tornou meus períodos mais descontraídos e com mais experiências;

Às queridas Aline Renata Pavan e Maria Aldrigui que com doçura, companheirismo, carinho e paciência me propiciaram grandes alegrias e a descoberta do prazer da amizade mesmo em momentos difíceis. Tendo minha gratidão e amizade eternas.

À minha orientadora e querida Chung Man Chin pela oportunidade de realizar este trabalho no departamento e por todos seus ensinamentos profissionais, além da amizade e compartilhamento de experiências e alegrias.

E, finalmente, à Deus por me fornecer as habilidades, capacidade, paciência e conhecimento para tal realização.

RESUMO

A radiação ultravioleta emitida pela radiação solar pode causar sérios danos à pele humana, sendo essa estratificada em três regiões do espectro de luz: UVA (315-400nm), UVB (280-315nm) e UVC (200-280nm). A incidência da radiação UVA sobre a pele induz a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS), afetando indiretamente o DNA humano, podendo provocar câncer de pele. Além disso, a radiação UVB afeta diretamente as bases pirimidínicas das moléculas de DNA, aumentando sua produção e favorecendo processos mutagênicos, produzindo novas células tumorigênicas também. Entre os filtros solares químicos conhecidos estão as benzofenonas e os cinamatos. O objetivo deste trabalho foi sintetizar pró-fármacos derivados de filtros solares químicos baseados nas estruturas das benzofenonas ligadas à derivados do ácido cinâmico, com propriedades antioxidantes para, desta maneira, obter um composto que prevenisse a carcinogênese cutânea por diferentes vertentes. Foram obtidos dois compostos, os quais foram caracterizados estruturalmente por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e sua capacidade fotoprotetora através do método *Optometrics*, indicando atividade promissora.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3MC: Ácido 3-Metoxicinâmico

4MC: Ácido 4-Metoxicinâmico

BrBZF: 4 -bromobenzofenona

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

DCM: diclorometano

DMAP: dimetilaminopiridina

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

EDC: N-(3-Dimetilaminopropil)-N-etilcarbodiimida hidrocloreto

FPS: Fator de Proteção Solar

RMN : Ressonância Magnética Nuclear, ^1H para representação de prótons

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação da radiação solar penetrando na pele.....	13
Figura 2.Equação FPS	15
Figura 3.Equação 2 cálculo FPS	16
Figura 4.Transição eletrônica das radiações UV e conversão em VIS e IV pelo fotoprotetores orgânicos. Deslocação eletrônica e rearranjo molecular. Adaptado por Yamasaki, P.R.	18
Figura 5. Estados do O ₂ segundo a Teoria do Orbital Molecular.	20
Figura 6. Planejamento estrutural.	25
Figura 7. Esquema da obtenção do Composto 3MCOHBZF ((<i>E</i>)-4- <i>benzoilbenzil</i> 3(4- <i>metoxifenil</i>) <i>acrilato</i>)	29
Figura 8. Esquema da obtenção do Composto 4MCOHBZF ((<i>E</i>)-4- <i>benzoylbenzyl</i> 3(3- <i>methosyphenyl</i>) <i>acrylate</i>)	30
Figura 9. RMN ¹ H do composto 3MCOHBZF, DMSO d ₆ , 300 mHz.	31
Figura 10. Ampliação da região aromática do espectro de RMN ¹ H do composto 3MCOHBZF	32
Figura 11. Molécula 3MCOHBZF	32
Figura 12. RMN ¹ H do composto 4MCOHBZF, CDCl ₃ d ₆ , 300 mHz.	35
Figura 13. Ampliação da região aromática do espectro de RMN ¹ H do composto 4MCOHBZF, CDCl ₃ d ₆ , 300 mHz.	36
Figura 14. Molécula 4MCOHBZF	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Radiações que compõe os raios do sol.....	11
Tabela 2. Divisões da radiação UV	11
Tabela 3. Influência na dosagem do FPS-UVB.....	16
Tabela 4. Representação dos deslocamentos químicos do composto 3MCOHBZF apresentados nos espectros de RMN ¹ H.....	33
Tabela 5. Representação dos deslocamentos químicos do composto 4MCOHBZF apresentados nos espectros de RMN ¹ H.....	37
Tabela 6. Resultados obtidos no Teste de determinação de FPS pelo método Optometrics	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Fotoproteção, Radiação Solar e Carcinogênese Cutânea	10
1.2 Radicais Livres e Antioxidantes	19
2. JUSTIFICATIVA	24
2.1. Objetivo.....	24
2.2. Planejamento Estrutural.....	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1 Solventes	26
3.2. Métodos Analíticos	27
3.2.1. Cromatografia em Camada Delgada (C.C.D.).....	27
3.2.2. Determinação da Faixa de Fusão	27
3.2.3. Espectrometria de RMN ¹ H	27
3.2.4. Teste de determinação de FPS <i>Optometrics</i>	27
3.3. Metodologia Sintética.....	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1. Identificação por Ressonância Magnética Nuclear	31
4.2. Teste de determinação de FPS método <i>Optometrics</i>	38
5. CONCLUSÃO.....	40
6. REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

1.1 Fotoproteção, Radiação Solar e Carcinogênese Cutânea

De acordo com a definição do Ministério da Saúde: “Protetor Solar: qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, com a finalidade exclusiva ou principal de protegê-la contra a radiação UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação.”

Em 1928, nos Estados Unidos, foi comercializado o primeiro protetor solar e este consistia numa emulsão empregando salicilato de benzila e cinamato de benzila como agentes fotoprotetores. Através da constatação de que tais produtos prolongavam a exposição ao sol e preveniam queimaduras na pele, os protetores solares foram difundidos uma vez que em 1930 ocorreram os primeiros relatos correlacionando problemas de pele à exposição solar. (UTUMI, 2007).

O conceito de fotoprotetores foi reconhecido e adotado a partir de 1978, onde os filtros solares foram reclassificados de cosméticos para medicamentos de fins preventivos. (SHAATH, 2007).

Radiação Solar

Os raios do sol que atingem a superfície terrestre possuem uma extensão de espectro eletromagnético, compostos por uma pequena faixa predominante (Tabela 1). (UTUMI, 2007; SHAATH, 2007; NASCIMENTO et al., 2014; COSTA; SILVA, 1995; GASPARRO et al., 1998; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; MCMICHAEL; SMITH; ARMSTRONG, 2006; HARRIS, 2005).

Tabela 1. Radiações que compõe os raios do sol

Radiação	Comprimento de ondas (nm)	Energia (KJ/mol)	Incidência terrestre (%)
Infravermelho (IV)	800-5.000	0,12-150	40-50
Visível (VIS)	400-800	150-310	40-50
Ultravioleta (UV)	100-400	310-12.000	05-10

Fonte: NASCIMENTO; SANTOS; AGUIAR, 2014.

O corpo humano detecta estas radiações de diferentes formas. Os efeitos da radiação IV são percebidos pelo calor durante o aumento da temperatura, a região do visível é detectada pelas diferentes cores através do sistema ótico e os raios UV, mais energéticos, promovem reações fotoquímicas na pele humana. A radiação UV é menos incidente na superfície terrestre, pois é absorvida pelo oxigênio e pela camada de ozônio na estratosfera. Contudo, as ondas eletromagnéticas de menores comprimentos de onda (λ) são as mais energéticas, portanto, a radiação UV é a que possui maior impacto sobre a saúde humana. Todavia, a radiação UV ainda possui subdivisões em função de diferentes comprimentos de ondas (Tabela 2). (SHAATH, 2007; LUCAS; MCMICHAEL; SMITH; ARMSTRONG, 2006; GLASER; PRODANOVIC, 2009; GUARATINI et al., 2009).

Tabela 2. Divisões da radiação UV

Radiação UV	Comprimento de ondas (λ_{nm})	Incidência terrestre (%)
UVA I	340-400	95
UVA II	320-340	
UVB	290-320	05
UVC	200-290	-
UV-vácuo	100-200	-

Fonte: NASCIMENTO et al., 2014.

A intensidade da radiação UV na superfície terrestre possui diversos fatores de variação, tais como a poluição atmosférica, a existência de nuvens,

a umidade relativa do ar, o horário do dia, a estação do ano, a altitude e a latitude. Outros fatores podem influenciar, indiretamente, através da reflexão ou dispersão dos raios UV, são eles, a água, o acrílico, o vidro, a areia da praia, a neve e até mesmo o asfalto. (SAMBANDAN; PARTNER, 2011).

Os raios UVC são totalmente absorvidos pela camada de ozônio atmosférica, não atingindo a Terra. 90% ou mais dos raios UVB são absorvidos pela camada de ozônio, enquanto os UVA passam através da atmosfera com pouca mudança. (SAMBANDAN & PARTNER, 2011).

Atualmente, sabe-se que tanto os raios UVB, mais energéticos, quanto os raios UVA, menos energéticos, são responsáveis por diversos problemas de pele, sendo o tempo para o diagnóstico o fator diferencial entre ambos. Entretanto, os raios UVA penetram mais profundamente na pele, chegando à derme, e promovendo sua pigmentação através da produção de melanina pelos melanócitos, mas também são responsáveis pelo fotoenvelhecimento cutâneo e pela fotossensibilidade ocular, dentre outros danos à saúde. A radiação UVB penetra somente até a epiderme e é responsável pela produção natural da vitamina D3, importante para a absorção de cálcio na estrutura óssea. Porém, a grande exposição aos raios UVB, pode gerar sérios problemas cutâneos que vão desde queimaduras até o câncer de pele. (UTUMI, 2007; GLASER; PRODANOVIC, 2009; IVRY et al., 2006; WLASCHEK et al., VOLKOVOVA et al., 2012).

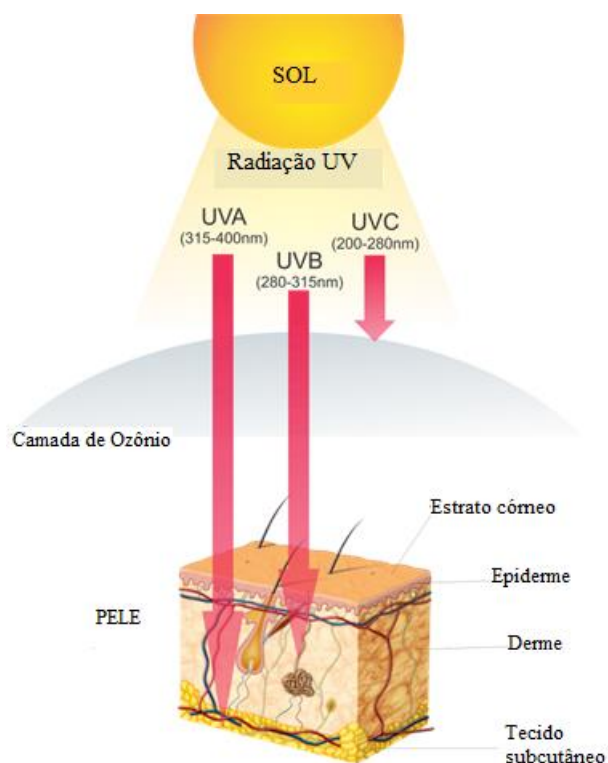


Figura 1. Representação da radiação solar penetrando na pele.

Fonte: SAMBANDAM; PARTNER, 2011.

Câncer de Pele

Dentre os diversos problemas de saúde ocasionados por uma exposição excessiva aos raios solares, tais como sensibilidade à luz, manchas na pele, despigmentação cutânea, queimadura solar, envelhecimento da pele e supressão do sistema imunológico, o câncer de pele é o de maior gravidade. (WLASCHEK, et al., 2001; VOLKOVOVA, 2012; FOURTANIER, et al., 2012; AFAQ, et al., 2005). A ocorrência de eritemas e até mesmo o câncer de pele está associada à formação das espécies reativas de oxigênio (EROs), formadas pela ação dos raios UV e implicam na ruptura da cadeia do DNA, onde pode ocorrer mutação genética. A carcinogênese cutânea também está associada ao alto nível de produção de dímeros de pirimidina, decorrente principalmente da absorção de raios UVB, favorecendo processos mutagênicos, produzindo novas células tumorigênicas. (AFAQ, et al., 2005).

A estimativa de câncer no Brasil para 2015 no Brasil, é de aproximadamente 576 mil novos casos, com maior incidência para câncer de pele, com cerca de 182 mil novos casos. (INCA, 2015). Por isso a importância do uso de fotoprotetores como tratamento preventivo.

Agentes Fotoprotetores

Um filtro solar consiste em uma preparação cosmética que contém agentes fotoprotetores. Estes agentes minimizam os efeitos deletérios dos raios UV através da absorção, da reflexão ou da difusão dos raios incidentes. (UTUMI; CAMPI, 2007). Estas substâncias são comumente classificadas como químicas e físicas, porém de acordo com Flor e colaboradores, a melhor classificação seria filtros orgânicos ou inorgânicos, baseados na função da sua respectiva natureza química. Desta maneira, a melhor classificação seria em orgânicas ou inorgânicas, em função da sua respectiva natureza química. Em geral, os compostos orgânicos agem via absorção e os inorgânicos através da reflexão dos raios UV. (FLOR, et al., 2007).

As substâncias inorgânicas empregadas como fotoprotetores são o óxido de zinco (ZnO) e o dióxido de titânio (TiO₂). Estes óxidos apresentam excelente proteção contra os raios UV, além de possuírem baixo potencial de irritação. Contudo, de acordo com o tamanho das partículas sólidas do ZnO e do TiO₂, o produto pode deixar uma película branca sobre a pele o que se torna um inconveniente estético. (FLOR, et al., 2007).

Os fotoprotetores orgânicos são comumente classificados em filtros UVA e UVB, de acordo com a região de proteção UV. Isto ocorre, pois estes compostos quase sempre não possuem um amplo espectro de proteção, como por exemplo, as benzofenonas e as avobenzonas que protegem somente em UVA e os salicilatos e cinamatos que agem exclusivamente contra os raios UVB. (SHAATH, 2007).

Fator de Proteção Solar

A ação fotoprotetora de um filtro solar é medida universalmente através do fator de proteção solar (FPS). Este fator estabelece o aumento do tempo à exposição solar com o produto fotoprotetor aplicado sem a ocorrência de eritema, desta maneira sendo aplicado exclusivamente às radiações UVB, pois estas são as causadoras de eritemas. O FPS pode ser considerado seguro a partir do valor 15, que corresponde a quantidade de vezes a mais que a pele pode ser exposta a radiação UV. Este valor deve levar em consideração o tempo e as condições da exposição solar. (SERPONE, et al., 2007).

O FPS é calculado pela razão entre a energia UVB suficiente para a ocorrência da dose mínima eritematosa (DME) na pele fotoprottegida e a pele sem filtro solar (Equação 1). A DME é a dose de energia capaz de iniciar a produção de eritemas nítidos observados entre 16 e 24 horas após a exposição à radiação UVB. (GLASER et al., 2009; VELASCO, et al., 2011.)

$$\text{FPS} = \frac{\text{DME (na pele fotoprottegida)}}{\text{DME(na pele fotodesprotegida)}}$$

Figura 2.Equação FPS

Fonte: GLASER et al., 2009; VELASCO, et al., 2011.

A forma mais precisa para avaliar o valor de FPS é em seres humanos e, para isso, há quantidade padronizada de produto e área para serem aplicados, com irradiação simulada. Assim, a eficiência de um produto está relacionada ao FPS e a sua dosagem. Contudo, o FPS não possui uma linearidade de proteção UVB e o seu valor somente será alcançado a partir da aplicação da sua porção mínima padronizada (Tabela 3). (NASCIMENTO, et al., 2014.)

Tabela 3. Influência na dosagem do FPS-UVB

FPS	Proteção UVB aproximada (%)	FPS/aplicação de filtro solar (mg/cm ²)		
		2,0	1,0	0,5
2	50	2,0	1,4	1,2
4	75	4,0	2,0	1,4
8	87	8,0	2,8	1,7
15	93	15,0	3,9	2,0
30	96	30,0	5,5	2,3

Fonte: UTUMI, et al., 2007; GLASER, et al., 2009.

O valor do fator de proteção UVA (FPUVA) é conseguido, *in vivo*, pela razão entre a dose mínima pigmentária (DMP) numa pele fotoprottegida e a pele fotodesprotegida (Figura 3). É compreendida como DMP a radiação UVA necessária para promover o escurecimento pigmentário natural cutâneo observado entre 2 e 4 horas após a exposição à radiação UVA simulada (15 J/cm²). (VELASCO, et al., 2011).

$$FP-UVA = \frac{DMP(\text{na pele fotoprottegida})}{DMP(\text{na pele fotodesprotegida})}$$

Figura 3. Equação 2 cálculo FPS.

Fonte: VELASCO, et al., 2011.

Fotoprotetores Orgânicos

As estruturas moleculares dos fotoprotetores orgânicos apresentam, muito comumente, anéis benzênicos contendo pelo menos dois grupos substituintes nas posições orto ou para, sendo um grupo doador de elétrons e o outro um elétron-atrator. São substituintes que atribuem um efeito batocrômico pela extensão da conjugação e absorvem na região de interesse do UV. (FLOR, et al., 2007).

Outra característica importante é a inserção de cadeias alquílicas para contribuir na lipofilia molecular, pois aumenta a adesão da substância à pele evitando sua retirada pela ação da água. (SHAATH, 2007.)

A natureza do grupo substituinte na posição orto pode conferir um efeito batocrômico em função da possibilidade de ligação de hidrogênio intramolecular. (SHAATH, 2007.) Estas substâncias absorvem em maiores comprimentos de onda, pois sua ressonância é facilitada pela disponibilidade eletrônica. (PAVIA, et al., 2010). As moléculas que possuem estas especificações absorvem os raios UV danosos à pele (UVB-UVA) transformando-os em ondas eletromagnéticas da região do VIS ou IV, inofensivas aos seres humanos. (SHAATH, 2007.) O mecanismo de ação consiste na transição eletrônica dos estados estáveis do orbital molecular não ligante n ou do orbital ligante π , ou seja, do orbital ocupado de maior energia (HOMO), para o estado excitado π^* do orbital desocupado de menor energia (LUMO). Durante o retorno do elétron do orbital antiligante ao estado fundamental, $\pi^* \rightarrow n$ ou $\pi^* \rightarrow \pi$, ocorre a liberação de menor quantidade de energia sob a forma de ondas eletromagnéticas com comprimentos de onda acima de 400 nm (Figura 4). A radiação UV absorvida tem energia exatamente igual à diferença de energia entre os estados fundamental e excitado. Assim, uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$ processa bem mais energia do UV quando comparada à transição $n \rightarrow \pi^*$. (PAVIA, et al., 2010; BALZANI, et al., 1996).

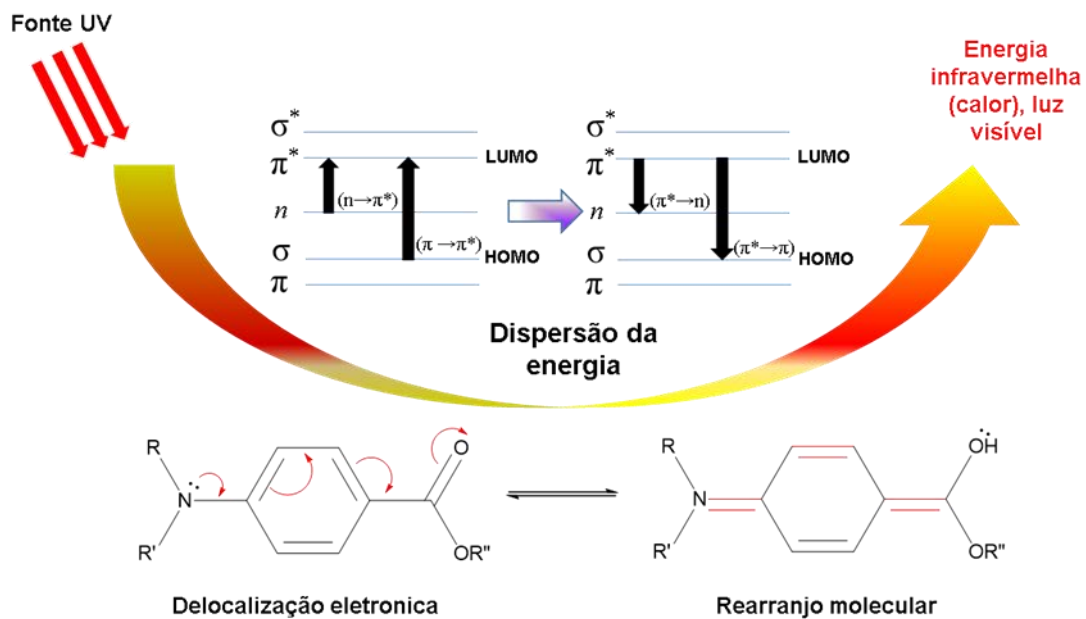


Figura 4. Transição eletrônica das radiações UV e conversão em VIS e IV pelo fotoprotetores orgânicos. Deslocação eletrônica e rearranjo molecular. Adaptado por Yamasaki, P.R.

Fonte: NASCIMENTO, et al., 2014.

1.2 Radicais Livres e Antioxidantes

A existência de espécies químicas reativas em forma de radicais livres vem sendo estudada e demonstrada há muitos anos, porém, a demonstração destas espécies em meio biológico tem sido realizada por volta de 1940, com a introdução de técnicas que permitiram sua detecção e identificação. (BERGENDI, et al., 1999).

As espécies químicas que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados em sua estrutura química são denominados radicais livres, espécies altamente reativas, sobretudo em meios biológicos, como o metabolismo humano. Estas espécies que compreendem a maioria dos metais de transição, o átomo de hidrogênio e o oxigênio molecular (singleto), foram parte do objeto de estudo deste trabalho. (RIBEIRO, et al., 2005).

Dentre as espécies radicalares, as espécies reativas de oxigênio (ERO's) e nitrogênio (ERN's) são as mais abundantes, induzindo reações em níveis celulares e enzimáticos, muitas vezes levando a formação de câncer. (RIBEIRO, et al., 2005).

A reatividade do oxigênio molecular

Em seu estado fundamental, a molécula de oxigênio possui dois elétrons desemparelhados no orbital π , os dois elétrons localizados neste orbital possuem *spins* paralelos. Esta configuração ocasiona a restrição da reatividade da molécula, devido a especificidade do tipo de emparelhamento requerido (restrição pelo *spin*) por esta condição, dificultando a reatividade do oxigênio molecular com espécies não “parelhas”. (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990).

Para a reação com o oxigênio molecular ocorrer, desprende-se de muita energia para que haja inversão do *spin* por meio da movimentação dos elétrons desemparelhados, contudo esta reação acarreta na formação do “oxigênio singleto”. Para o emparelhamento dos elétrons, deve haver a inversão do *spin* através do movimento dos elétrons desemparelhados, mas isto requer muita

energia e gera a formação do oxigênio singleto, uma forma excitada do estado fundamental de sua molécula. (RIBEIRO, et al., 2005).

Na figura 3 podem ser observadas as duas formas de oxigênio singleto: os dois elétrons em orbitais diferentes e com os elétrons no mesmo orbital. A primeira forma é considerada muito instável e antes de reagir com outra moléculas, ela se converte no estado $^1\Delta_g$, mais estável. (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990).

Para geração da forma excitada do oxigênio é exigida uma grande fonte de energia, o qual pode ser obtida através da absorção de fótons (energia luminosa) e a radiação UV pode ser considerada essa fonte de energia capaz de induzira a formação de espécies radicalares. (RIBEIRO, et al., 2005).

Além do oxigênio singleto, outras espécies reativas de oxigênio podem ser destacadas, por sua importância biológica: ânion superóxido (O_2^{2-}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a hidroxila radicalar ($OH\cdot$). (RIBEIRO, et al., 2005).

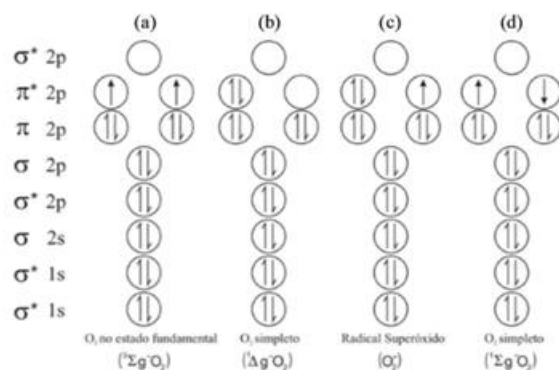


Figura 5. Estados do O₂ segundo a Teoria do Orbital Molecular.

Fonte: RIBEIRO, et al., 2005; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990.

Principais Espécies Reativas de Oxigênio geradas no organismo humano

Os seres aeróbicos estão constantemente sujeitos à oxidação dos metabólitos reativos de oxigênio formados durante o processo respiratório. (WARNER, 1994.)

As EROs podem reagir com outros átomos e gerar espécies reativas secundárias como o óxido nítrico por exemplo (NO^\cdot). (RIBEIRO, et al., 2005)

Radical superóxido – formado a partir da redução parcial do oxigênio molecular por um único elétron, podendo atuar como oxidante ou redutor. (FRIDOVICH, 1989.) Seus sítios de formação são as reações de autooxidação envolvendo flavoproteínas e ciclos redox, como a cadeia respiratória na mitocôndria, via da xantina oxidase (flavoproteína), via da NADPH oxidase em células fagocíticas, etc. (RIBEIRO, et al., 2005)

Peróxido de hidrogênio – formado a partir de dois radicais superóxido, por conversão espontânea a partir das vias catalisadas por oxidases, e pela enzima superóxido dismutase. (RIBEIRO, et al., 2005)

Radical hidroxil – formado através da reação de Fenton – principal via de geração do radical, *in vivo*, através da decomposição do peróxido de hidrogênio catalisada por metal, principalmente ferro. (SIES, 1985). E também pela reação de Waber Weiss, que inclui a redução do Fe^{3+} pelo radical superóxido. (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). Estas reações ocorrem em locais próximos à formação de ânion superóxido/peróxido de hidrogênio na presença de ferro, principalmente; produto de reação do óxido nítrico com o radical superóxido. (RIBEIRO, et al., 2005).

Radical alcoxil – trata-se de um radical orgânico centrado no oxigênio. Forma-se como intermediário na peroxidação lipídica de membrana. (RIBEIRO, et al., 2005).

Radical peroxil – formado a partir de hidroperóxidos orgânicos, também intermediário na peroxidação lipídica de membrana. (RIBEIRO, et al., 2005).

Oxigênio molecular Simpleto ($^1\Delta_g\text{O}_2$) – é o primeiro estado excitado do oxigênio molecular e não possui sítios metabólicos de formação definidos. (RIBEIRO, et al., 2005).

Efeitos Fisiológicos das EROs e mecanismos de defesa antioxidante do organismo

As principais funções biológicas atribuídas às EROs são: a regulação da expressão de genes sensíveis aos sinais redox e as alterações da homeostase celular, através da síntese de moléculas fisiologicamente ativas. Por serem espécies reativas quimicamente, o meio biológico utiliza-se destas ou de seus produtos em vias de sinalização, já que preenchem os seguintes critérios: são produzidas por células quando estimuladas; têm ação na própria célula onde é produzida ou em células próximas; quando removidas do meio, revertem o sinal. (HANCOCK, et al., 2001).

Os metabólitos do oxigênio são muito reativos, exibindo como consequência toxicidade. Em concentrações fisiológicas, as EROs tem funções biológicas definidas, atuando como mensageiros de sinalização. Entretanto, em concentrações fisiologicamente maiores devem ser evitadas, já que sua reatividade traz consequências nocivas às células, induzindo oxidação de biomoléculas como DNA, proteínas, lipídios, carboidratos e o rompimento da homeostase celular. (SIES, 1985).

Antioxidantes são moléculas capazes de neutralizar quimicamente a oxidação de outras moléculas, o organismo humano apresenta reações metabólicas capazes de minimizar os efeitos deletérios oriundos da formação radicalar, neutralizando-os. (ORESANO, et al., 2012). Para minimizar os efeitos das EROs, o organismo apresenta mecanismos de defesa, em três níveis distintos (SIES, 1985):

1. Prevenção da formação de EROs: ocorre por meio de mecanismos antioxidantes, como a restrição de spin do oxigênio diminuindo a reatividade com biomoléculas, o transporte de oxigênio na forma ligada e não livre, a quelação de metais durante transporte e armazenamento, evitando a ocorrência da reação de Fenton – catálise de radicais livres, gerando radical hidroxila ($^{\circ}\text{OH}$), gerando a eficiência da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria que mantém a formação de EROs em nível controlado e a organização estrutural do DNA em cromatina. (SIES, 1985).

2. Eliminação de EROs formadas: por mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. Mecanismo enzimático: as enzimas envolvidas no processo constituem proteção intrínseca do organismo e mantém a concentração das EROs dentro dos limites fisiológicos. Incluem: superóxido dismutase (SOD); glutathione peroxidase (Se-Gpx); glutathione S-transferase (GSTs), utilizadas para remoção de hidroperóxidos orgânicos; e catalase, que elimina peróxido formado no peroxissoma, diminuindo a formação de radical hidroxil, via Reação de Fenton. Mecanismo não enzimático: moléculas que protegem alvos biológicos frente à oxidação por apresentarem propriedades consideradas antioxidantes: supressão da formação de radical livre (quelação de metais ou inibição de enzimas geradoras de radicais livres), eliminação de radicais livres ou desativação, formando um produto estável e participação em processos de reparo. (RIBEIRO, et al., 2005). As moléculas podem ser endógenas, exógenas, sintéticas ou naturais. (SIES, 1985). Os antioxidantes exógenos constituem o principal mecanismo antioxidante não enzimático do organismo, e podem ser obtidos por meio da dieta.
3. Reparo de moléculas modificadas por EROs: o mecanismo mais aceito é o do sistema de reparo do DNA, embora, as ações de proteases e fosfolipases possam ser consideradas formas de reparo *per se*. Três mecanismos básicos foram descritos para reparar danos oxidativo do DNA: Reparo de Excisão de Bases (REB), Reparo de Excisão de Nucleotídeo (REN) e Reparo de Erro de Pareamento (REP). (RIBEIRO, et al., 2005).

Estresse Oxidativo

A condição denominada estresse oxidativo ocorre quando o equilíbrio estacionário entre as condições pró-oxidante e antioxidante é rompido, tendo como consequências danos às biomoléculas. (SIES, 1985). Na área da medicina, o estresse oxidativo é considerado um evento importante em muitos processos patológicos, sendo a hipótese oxidativa mais utilizada para explicar mecanismos moleculares de algumas doenças e, também, a senescência. (RIBEIRO, et al., 2005).

2. JUSTIFICATIVA

As benzofenonas absorvem de forma eficaz as radiações UVA e UVB e, por isso, são utilizadas em formulações fotoprotetoras. Porém, a carcinogênese cutânea pode ser gerada pela formação de EROs. Neste sentido, no presente trabalho realizou-se planejamento e obtenção de compostos através da associação de benzofenona e derivados do ácido cinâmico, visando além da propriedade fotoprotetora, capacidade antioxidante combatendo o efeito deletério por ambas vertentes.

2.1. Objetivo

Sintetizar dois compostos derivados de benzofenona e ácido cinâmico com potencial propriedade fotoprotetora e antioxidante.

2.2. Planejamento Estrutural

O Planejamento estrutural dos compostos foi baseado na reação clássica de esterificação utilizando um ácido orgânico (derivados do ácido cinâmico) com um álcool (derivado de benzofenona) para a formação de pró-fármacos recíprocos derivados das benzofenonas, que apresentem capacidade fotoprotetora e antioxidante.

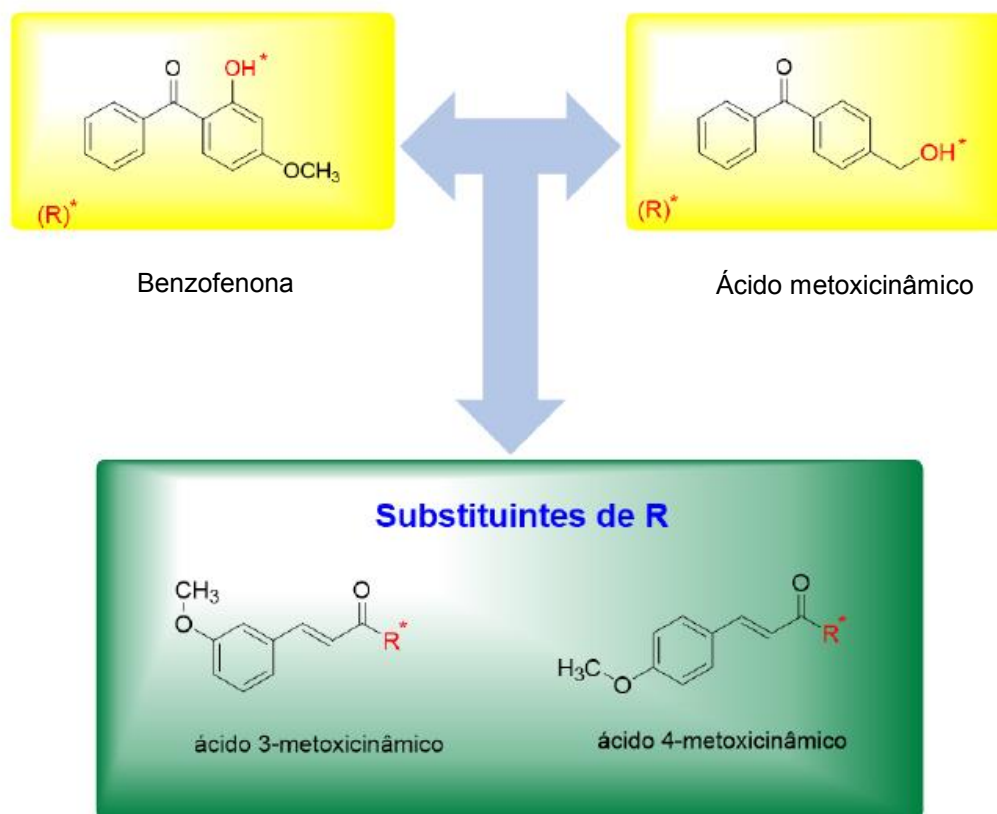


Figura 6. Planejamento estrutural.

Fonte: Yamasaki, P.R., 2015.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Solventes

Solventes P.A.:

Acetato de Etila

Ácido Clorídrico

Água Destilada

Diclorometano

Hexano

Trietilamina

Reagentes:

4-BromoBenzofenona

4-Dimetilaminopiridina (DMAP)

Ácido 3-metoxicinâmico

Ácido 4-metoxicinâmico

Carbonato de Potássio

Sulfato de Sódio Anidro

N-(3-Dimetilaminopropil)-N-etilcarbodiimida hidrocloreto (EDC)

3.2. Métodos Analíticos

3.2.1. Cromatografia em Camada Delgada (C.C.D.)

Para o acompanhamento das reações foram utilizadas placas de sílica gel 60G, com 0,25 mm de espessura, e placas Alugram Nano-Sil G/UV 254 da Merck com os seguintes sistemas: Hex/AcE (70:30) para o intermediário OHBZF e Hex/AcE (60:40) para os produtos finais. Posteriormente sendo revelados em luz ultravioleta.

3.2.2. Determinação da Faixa de Fusão

As análises das faixas de fusão das matérias primas e dos compostos obtidos de reação foram realizadas em aparelho de ponto de fusão da marca STUART SIENTIFIC, do modelo SMP3.

3.2.3. Espectrometria de RMN ¹H

Os compostos foram submetidos ao estudo de RMN ¹H em espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear da marca Bruker DRX 300, na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, em 300 MHz.

3.2.4. Teste de determinação de FPS *Optometrics*

As leituras do fator de proteção solar dos compostos foram efetuadas no aparelho Optometrics SPF1 no Laboratório de Cosmetologia através de base emulsionada.

3.3. Metodologia Sintética

Os dois compostos são obtidos da mesma maneira, a diferença é a inserção do ácido 3-metoxicinâmico ou ácido 4-metoxicinâmico. A síntese é realizada em duas etapas: reação para formação do intermediário 4-hidroxi-metil-benzofenona e reação para o produto final. A primeira ocorre em um balão de fundo redondo de 50 ml, conectado a um condensador de refluxo, já que a reação ocorre sob aquecimento (120° C). Adiciona-se ao balão reacional 0,301 g de K_2CO_3 e 500 mg de BrBZF (reação 1,2:1), utilizando como solvente 20 mL de água destilada. O tempo de reação foi de 24 horas, com agitação constante. Após ocorrer a reação, acidificou-se com ácido clorídrico e, posteriormente, realizou-se cinco extrações em funil de separação com 20 mL de diclorometano. Foi adicionado sulfato de sódio anidro para remover resquícios de água e, por isso, foi realizada a filtração simples. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (C.C.D.) usando como fase móvel: 70% hexano e 30% acetato de etila.

Após todo o procedimento, o produto é retirado do balão, o solvente foi evaporado e o sólido obtido, purificado por coluna cromatográfica (fase estacionária: sílica flash; fase móvel: 7:3 hexano:acetato de etila). Após a separação pela coluna obtêm-se o composto intermediário.

Para a síntese do produto final, utiliza-se balão de fundo redondo de 50mL e a reação ocorre à temperatura ambiente, com agitação constante. Adiciona-se a um balão reacional de 50 mL, 0,150 g de ácido 3-metoxicinâmico ou ácido 4-metoxicinâmico e 15mL de diclorometano anidro. Posteriormente, adiciona-se 0,215 mL de Et_3N e, após, adiciona-se 0,1937g de EDC. Após 15 minutos, verifica-se através da CCD se houve a formação desejada e adiciona-se ao balão reacional 0,18 g do intermediário obtido na primeira parte. Posteriormente, adiciona-se aproximadamente 50mg de DMAP e verifica-se se o pH está básico. A reação ocorre por 24 horas, com proteção à luz e agitação constante. Posteriormente, com um funil de separação, a reação é lavada com água destilada para retirada do EDC utilizado, tornando o composto mais adequado para a purificação.

Após todo o procedimento, o produto é retirado do balão, o solvente é evaporado e o sólido obtido é purificado por coluna cromatográfica com 10 cm de altura e 5 cm de diâmetro (fase estacionária: sílica flash; fase móvel: 6:4 hexano:acetato de etila). Após a separação pela coluna obtêm-se os compostos 3MCOHBZF ou 4MCOHBZF. Sólido de cor branca, que apresenta faixa de fusão entre: 230-235°C e fator de retenção ($R_f = 0,6$). As reações apresentaram rendimento entre 37,5% e 40%.

REAÇÃO 1

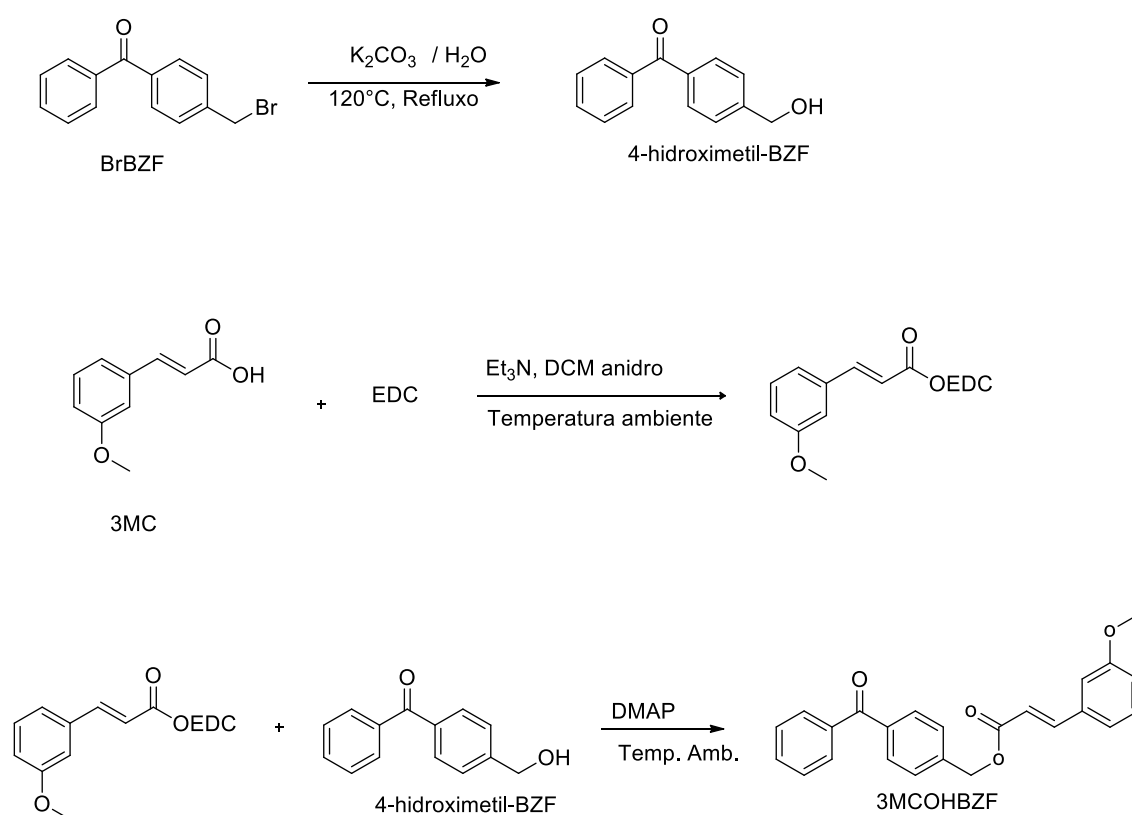


Figura 7. Esquema da obtenção do Composto 3MCOHBZF ((E)-4-benzoilbenzil3(4-metoxifenil)acrilato)

Fonte: Dados da pesquisa.

REAÇÃO 2

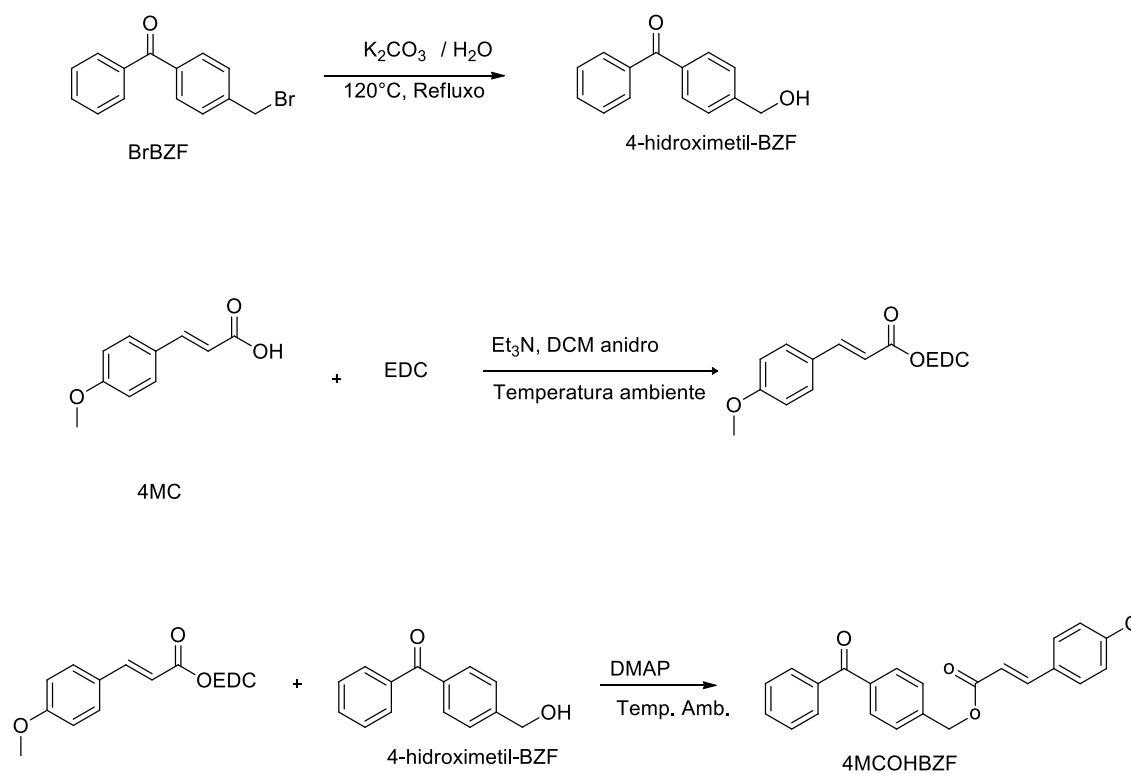


Figura 8. Esquema da obtenção do Composto 4MCOHBZF ((*E*)-4-benzoylbenzyl 3(3-methoxyphenyl)acrylate)

Fonte: Dados da pesquisa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Identificação por Ressonância Magnética Nuclear

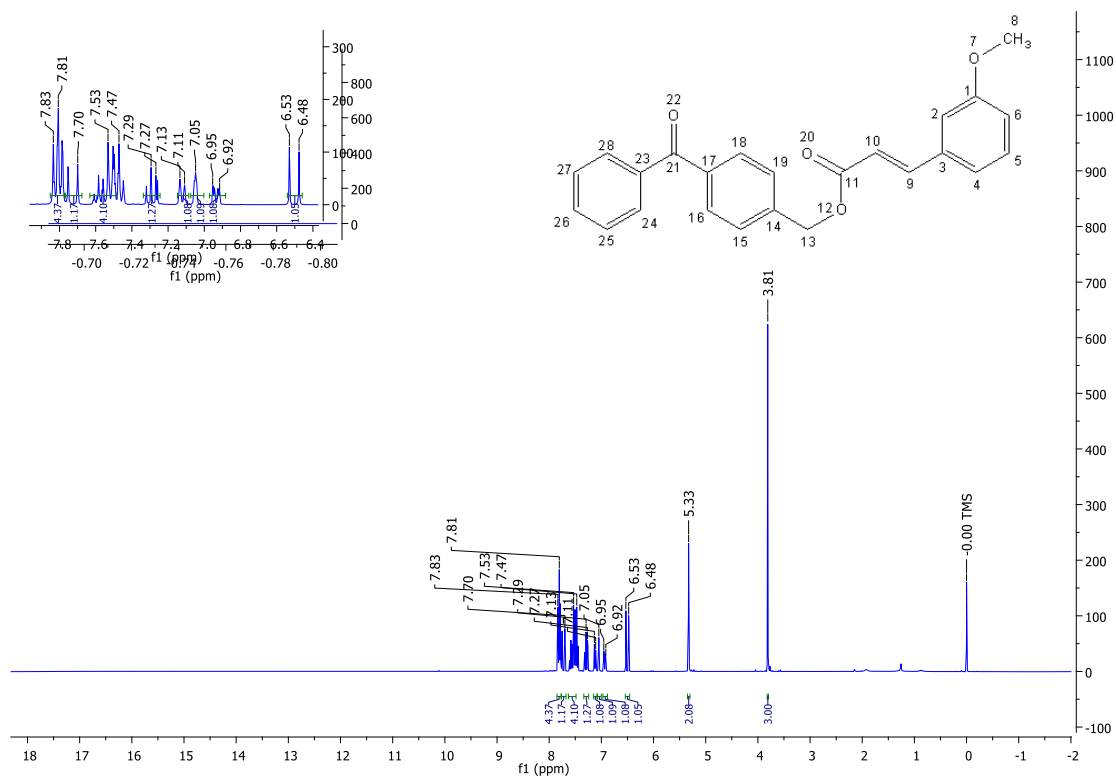


Figura 9. RMN ^1H do composto 3MCOHBZF, DMSO-d_6 , 300 MHz.
Fonte: Dados da Pesquisa.

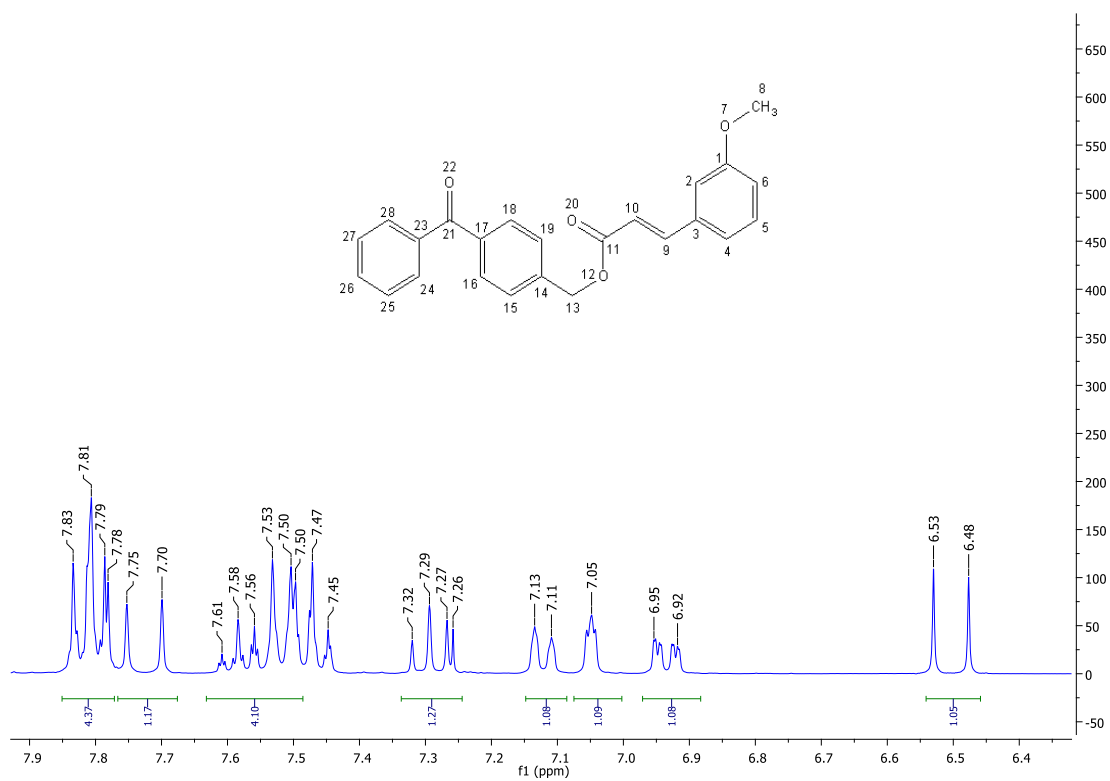


Figura 10. Ampliação da região aromática do espectro de RMN ^1H do composto 3MCOHBZF.
 Fonte: Dados da Pesquisa.

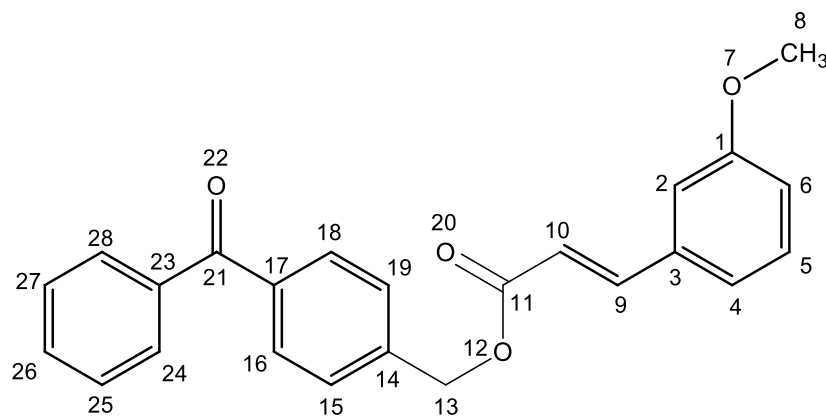


Figura 11. Molécula 3MCOHBZF

Fonte: Dados da Pesquisa.

Tabela 4. Representação dos deslocamentos químicos do composto 3MCOHBZF apresentados nos espectros de RMN¹H.

Posição	δ ¹ H (ppm)	M / J ⁰ (Hz)
1	-	-
2	7,13	m
3	-	-
4	7,29	m
5	7,53	m
6	6,92 – 6,95	dd 7,9 – 2,5
8	3,81	s
9	6.50	d / 16,0
10	7.70-7.75	d / 16,0
13	5,33	m
14	-	-
15	7,50	m
16	7,78	m
17	-	-
18	7,79	m
19	7,50	m
21	-	-
23	-	-
24	7,70 – 7,75	m
25	7,83	m

26	7,61 – 7,58	s
27	7,81	m
28	7,70 – 7,75	m

Fonte: Dados da Pesquisa.

A partir da análise espectrofotométrica do composto 3MCOHBZF comparada aos seus padrões, pode-se sugerir que o referido composto foi efetivamente obtido. Observa-se pela integração e distribuição dos hidrogênios nos espectros de RMN ^1H , a confirmação da formação do produto proposto, pois, foram confirmados os sinais no espectro de RMN correspondentes tanto aos hidrogênios do ácido 3-metoxicinâmico quanto da 4-hidroxibenzofenona. O singlete na posição 3,84ppm integra para 3H indicando os hidrogênios presentes na metoxila do ácido 3-metoxicinâmico, os hidrogênios 4 e 5 aparecem como um tripleto em 7,50ppm, em 7,28 pode-se observar um dubleto correspondente ao hidrogênio da posição 6; os hidrogênios das posições 9 em 7,47ppm e da posição 10 em 6,54ppm integram para 1H cada; os sinais do hidrogênios 16 e 18 bem como, os posicionados em 24 e 28 aparecem como multipletos em 7,78 e ,83ppm respectivamente.

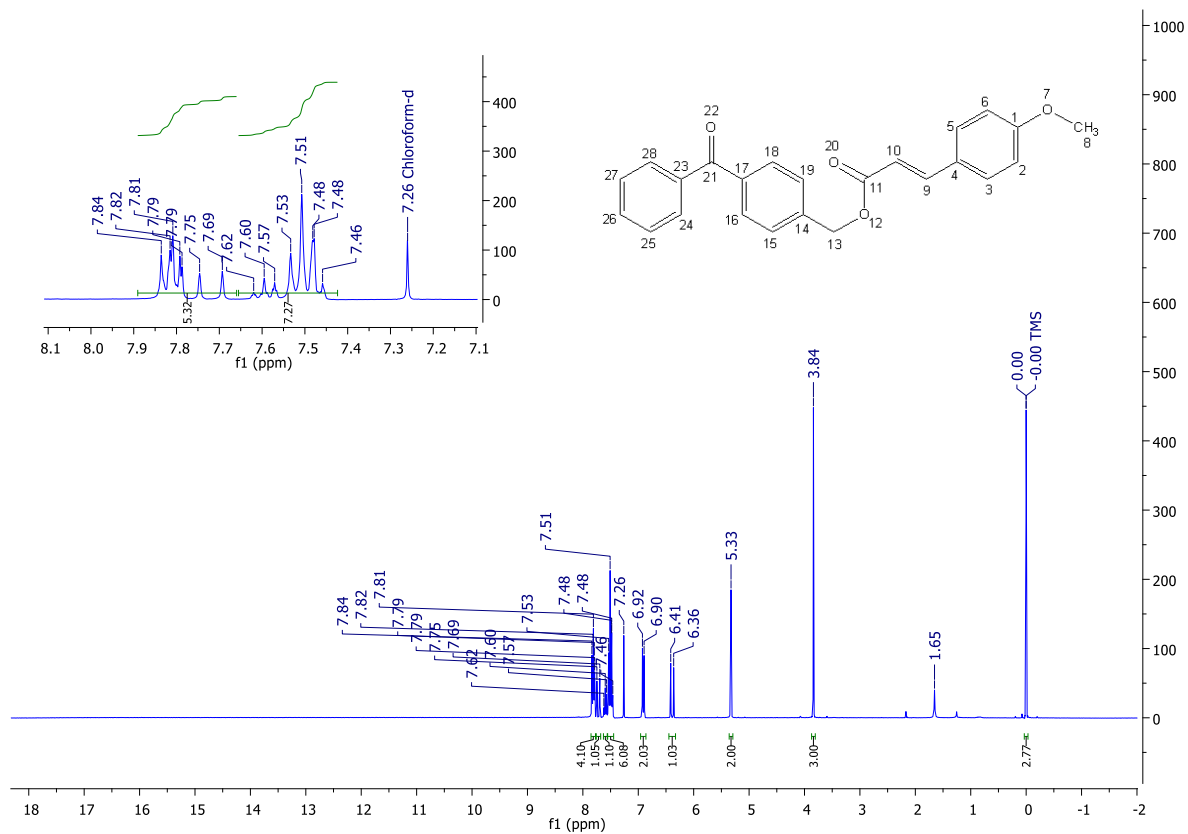


Figura 12. RMN ^1H do composto 4MCOHBZF, CDCl_3 d_6 , 300 MHz.
Fonte: Dados da Pesquisa.

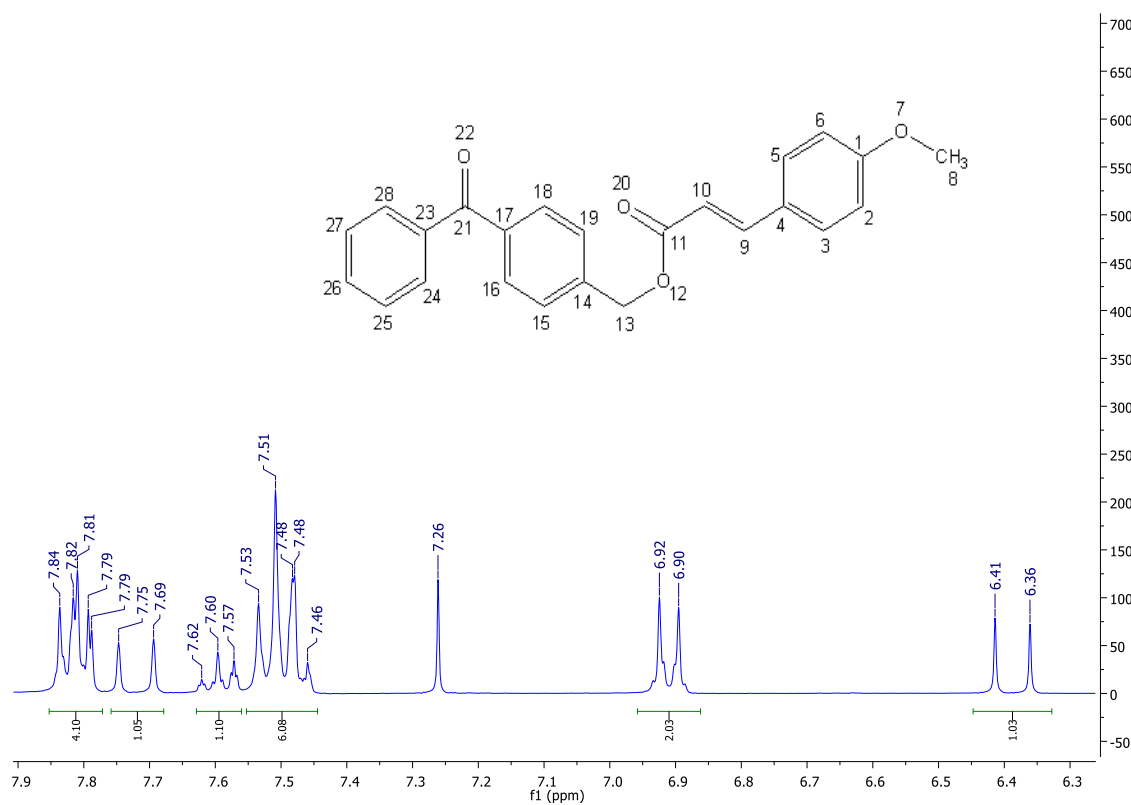


Figura 13. Ampliação da região aromática do espectro de RMN ^1H do composto 4MCOHBZF, CDCl_3 d_6 , 300 MHz.

Fonte: Dados da Pesquisa.

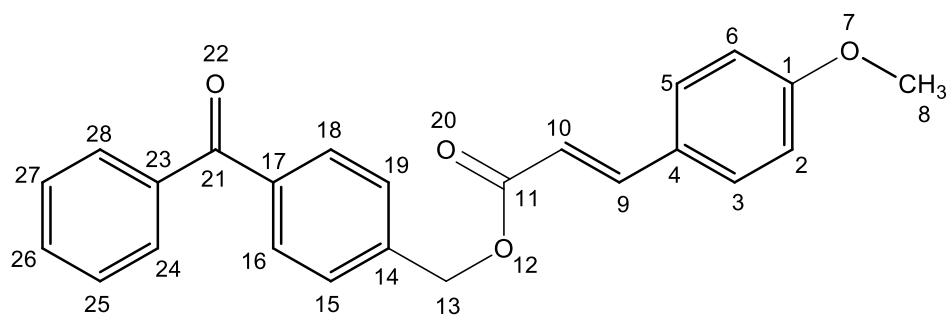


Figura 14. Molécula 4MCOHBZF

Fonte: Dados da Pesquisa.

Tabela 5. Representação dos deslocamentos químicos do composto 4MCOHBZF apresentados nos espectros de RMN¹H.

Posição	δ ¹ H (ppm)	M / J ⁰ (Hz)
1	-	-
2	6,91	d /16,0
3	7,53	M
4	-	-
5	7,53	M
6	-	-
8	3,89	S
9	7,72	M
10	6,39	d/15,9
11	-	-
13	5,33	S
14	-	-
15	7,48	M
16	7,69	M
17	-	-
18	7,69	M
19	7,48	M
21	-	-
23	-	-
24	7,82	M

25	7,51	M
26	7,62	M
27	7,51	M
28	7,82	M

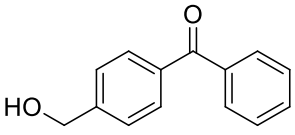
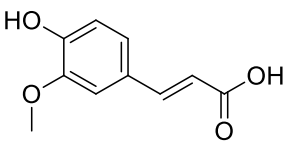
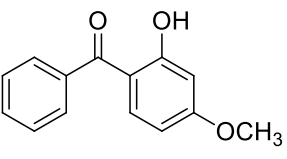
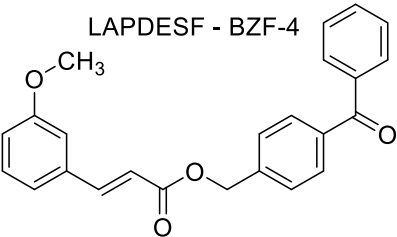
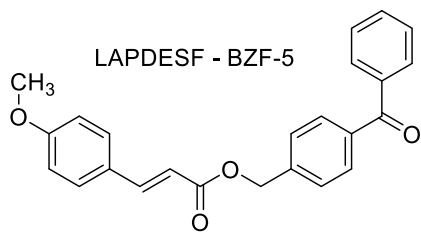
Fonte: Dados da pesquisa.

A partir da análise espectrofotométrica do composto LAPDESF- BZF-5 comparada aos seus padrões pode-se inferir que o referido composto foi efetivamente obtido. Pode-se observar pela integração e distribuição dos hidrogênios nas figuras 29 e 30 referentes aos espectros completo e ampliado de RMN 1H do composto 4MCOHBZF, a confirmação da formação do produto proposto, pois observou-se a presença tanto dos hidrogênios do produto desejado. Pode-se destacar os seguintes deslocamentos do ácido 4-metoxicinâmico: um singlete da posição 8, integrando para 3H em δ 3,84 ppm referente aos hidrogênios da metoxila; um singlete, integrando para 2H em δ 5,33 ppm que corresponde a metila na posição 13; os dupletos em δ 7,28 ppm e δ 6,31 ambos integrando cada um para 1H, correspondentes aos prótons das posições 9 e 10 respectivamente. Também foram observados os deslocamentos referentes aos anéis aromáticos do ácido 4-metoxicinâmico (posições 2, 4, 5 e 6) e do 4-hidroxi-metil-benzofenona (posições 15, 16, 18, 19, 24, 25, 26, 27 e 28) que estão dispostos no quadro 2.

4.2. Teste de determinação de FPS método *Optometrics*

Para o método de *Optometrics* foi preparada uma base emulsionada onde cada composto foi adicionado na concentração de 5% e em seguida foram aplicados 0,1g desta emulsão sobre uma fita 3M helios, e posteriormente foram efetuadas as leituras no aparelho. (VELASCO et al., 2011).

Tabela 6. Resultados obtidos no Teste de determinação de FPS pelo método Optometrics

Composto	FPS Optometrics [0,1mg/ml]
 <p>4-hidroxi-metil-benzofenona</p>	3,93
 <p>ácido ferúlico</p>	2,35
 <p>oxibenzona (benzofenona-3)</p>	1,23
 <p>LAPDES F - BZF-4</p>	2,75
 <p>LAPDES F - BZF-5</p>	2,69

Fonte: Dados da Pesquisa.

5. CONCLUSÃO

Foram obtidos dois novos derivados de benzofenona (3MCOHBZF e 4MCOHBZF), caracterizados por RMN ^1H e testados através do método *Optometrics*, apresentando potenciais fotoprotetores interessantes.

6. REFERÊNCIAS

Afaq, F.; Adhami, V. M.; Mukhtar, H. Photochemoprevention of ultraviolet B signaling and hotocarcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 2005, 571, 153.

Balzani, V.; Scandola, F. *Chemistry and Light. Part 1: Photochemistry, a New Dimension of Chemistry*. *Química Nova* 1996, 19, 542.

BERGENDI, L.; BENES, L.; DURACKOVÁ, Z.; FERENCIK, M. *Chemistry, physiology and pathology of free radicals*. Life Sciences, Elmsford, Outubro, 1999.

Costa, M. L.; Silva, R. R. Ataque à pele. *Química Nova na Escola* 1995, 1, 3.

Flor, J.; Davolos, M. R.; Correa, M. A. Protetores solares. *Química Nova*, 2007.

Fourtanier, A.; Moyal, D.; Seite, S. UVA filters in sun-protection products: regulatory and biological aspects. *Photochemical & Photobiological Sciences* 2012, 11, 81.

FRIDOVICH, I. *Superoxide Dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas*. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, May, 1989.

Gasparro, F. P.; Mitchnick, M.; Nash, J. F. *A Review of Sunscreen Safety and Efficacy*. *Photochemistry and Photobiology*, 1998.

Glaser, D. A.; Prodanovic, E. *Em Cosmecêuticos*; Draelos, Z. D., ed.; 2a. ed., Elsevier: Rio de Janeiro, 2009.

Guaratini, T.; Collejon, D. R.; Pires, D. C.; Lopes, J. N. C.; Lima, L. M.; Neto, D. G.; Sustovick, C.; Lopes, N. P. *Fotoprotetores derivados de produtos naturais: perspectivas de mercado e interações entre o setor produtivo e centros de pesquisa*. *Química Nova*, 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. *Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview*. *Methods in Enzymology*, New York, 1990.

HANCOCK, J. T.; DESIKAN, R.; NEILL, S. J. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochemical Society Transactions*, London, May, 2001.

Harris, D. C.; *Análise química quantitativa*, 6a. ed., LTC: Rio de Janeiro, 2005.

INCA – Pele Melanoma. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_melanoma>. Acesso em 22 de agosto de 2015.

Ivry, G. B.; Ogle, C. A.; Shim, E. K. Role of Sun Exposure in Melanoma. *Dermatologic Surgery* 2006.

Lucas, R.; McMichael, T.; Smith, W.; Armstrong. B.; Solar ultraviolet radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation, *Environmental Burden of Disease Series*, n. 13., World Health Organization: Geneva, 2006.

Nascimento, L. F.; Santos, E. P.; Aguiar, A. P. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. *Rev. Virtual Quim.*, 2014.

Oresajo, C. et al. *Antioxidants and the skin: Understanding formulation and efficacy*, 2012.

Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R.; *Introdução à espectroscopia*, Cengage Learning: São Paulo, 2010.

Resolução RDC nº 30, de 01 junho de 2012. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0030_01_06_2012.pdf>. Acesso em 13 de julho de 2015.

Ribeiro, S. M. R.; Queiroz, J. H.; Pelúzo, M. C. G.; Costa, N. M. B.; Matta, S. L. P.; Queiroz, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. *Review*. Uberlândia, Dezembro, 2005.

Sambandan, D.R; PARTNER D. Sunscreens: an overview and update. *J Am Acad Dermatol*, v.64, p.748-758, 2011.

Shaath, N. A.; The encyclopedia of ultraviolet filters, APC: New York, 2007.

SERPONE, N.; DONDI, D.; ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: their role and efficacy in sunscreens and sun care products. *Inorg. Chim. Acta*, v.360, n.3, p.794-802, 2007.

SIES, H. *Oxidative stress*. London: Academic, 1985.

Velasco, M. V. R.; Balogh, T. S.; Pedriali, C. A.; Sarruf, F. D.; Pinto, C. A. S. O.; Kaneko, T. M.; Baby, A. R. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (in vitro) – revisão. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* 2011.

Utumi, M. G.; Campi, P. M. *Em Cosmiatria em dermatologia: usos e aplicações*; Borelli, S., ed.; Roca: São Paulo, 2007.

Volkovova, K.; Bilanicova, D.; Bartonova, A.; Letašiová, S.; Dusinska, M. Associations between environmental factors and incidence of cutaneous melanoma. Review. *Environmental Health* 2012.

WARNER, R. H. *Superoxide dismutase, aging and degenerative disease*. Free Radical Biology and Medicine, New York, Sept. 1994.

Wlaschek, M.; Tantcheva-Poór, I.; Naderi, L.; Ma, W.; Schneider, L. A.; Razi-Wolf, Z.; Schüller, J.; Scharffetter-Kochanek, K. Solar UV irradiation and dermal photoaging. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2001.