

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA

Antineoplásico Potencial: síntese de derivado de salicilato de octila e 5-fluoruracila para o tratamento do câncer de pele



Vanessa Fabrina Zambrano

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luis Vitor Silva Sacramento

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Márcia da Silva

ARARAQUARA - SP

2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CAMPUS DE ARARAQUARA

Antineoplásico Potencial: síntese de derivado de salicilato de octila e 5-
fluoruracila para o tratamento do câncer de pele

Vanessa Fabrina Zambrano

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Pesquisa
e Desenvolvimento de Fármacos e Medicamentos, da
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como
parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre
em Ciências Farmacêuticas.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luis Vitor Silva Sacramento

CO-ORIENTADOR: Profa. Dra. Márcia da Silva

ARARAQUARA - SP

2006

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

Z24a Zambrano, Vanessa Fabrina
Antineoplásico potencial: síntese de derivado de salicilato de octila e 5-fluoruracila para tratamento do câncer de pele / Vanessa Fabrina Zambrano. – Araraquara, 2006.
94 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Luis Vitor Silva Sacramento

Co-orientador: Márcia da Silva

1. Câncer de pele. 2. Latenciação. I. Sacramento, Luis Vitor Silva, orient.
II. Silva, Márcia da, co-orient. III. Título.

CDD: 615.1

CAPES:40300005

Dedico este trabalho a meus
pais e irmãos por torcerem pelo
meu sucesso e por me amarem
sempre

Vanessa Fabrina Zambrano

“O sucesso nasce do querer. Sempre que o homem aplicar a determinação e a persistência para um objetivo, ele vencerá os obstáculos e, se não atingir o alvo, pelo menos fará coisas admiráveis”.

(José de Alencar)

Agradecimentos

A Deus acima de tudo por estar sempre presente em minha vida, por não deixar tropeçar nessa minha caminhada em busca dos meus objetivos.

Aos meus avós que iluminaram o meu caminho e se dedicaram durante muitos anos à minha vida, sendo sempre muito grata.

Ao meu noivo Luiz Eduardo Marchesan pelo apoio, tolerância, pelo seu amor e carinho

A querida amiga e co-orientadora Profa. Dra. Márcia da Silva pela oportunidade, pela confiança por acreditar no meu potencial, por compartilhar comigo as dificuldades e, principalmente, a percorrer novos caminhos, ouvir com interesse e ânimo todas as questões, dúvidas e problemas que surgiam. Por sua amizade, pela compreensão silenciosa dos momentos difíceis, permitindo que meu tempo interno fluísse, respeitosamente e pela alegria de trabalharmos juntas.

Ao Prof. Dr. Luis Vitor Sacramento pelo carinho e auxílio.

Ao Prof. Dr. Wagner Villegas e ao Prof. Dr. Marcos Antônio Correa pelas suas considerações e sugestões, por ter sempre me atendido prontamente quando precisei de ajuda.

A Profa. Dra. Adélia Emilia de Almeida pelo carinho e momentos de alegria.

Ao Prof. Dr. João Aristeu da Rosa, a farmacêutica Ana Maria Rivoiro Romero e ao colega e ex-aluno da farmácia Fernando Colbari Amaral por terem conseguido a matéria prima do projeto.

Às empresas Eurofarma e Galena pelo fornecimento da matéria-prima 5-fluoruracila, pois sem ela não haveria possibilidade de dar continuidade ao trabalho.

A Kátia Cirlene Alves Botelho e Luiz Octávio Regasini pela realização das análises de Ressonância Magnética Nuclear.

Ao Dr. Alberto Malvezzi pela sua disponibilidade e paciência em ajudar a realizar o teste de coeficiente de partição no Instituto de Química da USP.

Aos queridos amigos de laboratório pelo companheirismo e convivência, sempre prontos a me ajudarem e pela tolerância nos momentos mais difíceis.

Aos amigos de mestrado pela convivência e amizade criada, que tornaram esse período muito mais agradável, principalmente a amiga Thais Costa Contente pela consideração e amizade sincera, sempre disposta a me ajudar e dar-me muita força.

Aos funcionários Dudu e Osmar pela amizade, dedicação com que desempenharam o seu trabalho, por terem contribuído na busca do meu objetivo.

Aos queridos amigos e familiares pela torcida e pelo apoio nas horas de desânimo.

Aos órgãos Capes e Pró-Reitoria de Pesquisa da UNESP pelo suporte financeiro.

“Bom mesmo é ir à luta com determinação, abraçar a vida e viver com paixão, perder com classe e viver com ousadia. Pois o triunfo pertence a quem se atreve, e a vida é muito bela para ser insignificante.”
(Charles Chaplin)

Índice

Abreviaturas	I
Resumo	II
Abstract	III
1- Introdução	1
2 - Objetivos	5
3 - Revisão Bibliográfica	6
3.1 - <i>Câncer de pele</i>	6
3.1.2 - Patogenia	12
3.1.3 - Epidemiologia	16
3.1.3.1 - Epidemiologia no Brasil	18
3.1.4 - Tratamento	23
3.2 - <i>Latenciação</i>	29
4 - Material e Métodos	36
4.1 - <i>Material</i>	36
4.1.1 - <i>Reagentes e solventes</i>	36
4.2 - <i>Métodos</i>	37
4.2.1 - Métodos de síntese	37
4.2.1.1 - Síntese do succinil octil salicilato (SOS)	37
4.2.1.2 - Síntese do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila	38
4.2.2 - <i>Métodos analíticos</i>	38
4.2.2.1 - Faixa de fusão	38
4.2.2.2 - Espectroscopia de absorção IV	39
4.2.2.3 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹³ C e ¹ H	39
4.2.2.4 - Cromatografia em camada delgada (CCD)	39
4.2.2.5 - Determinação do coeficiente de extinção molar (ε)	39
4.2.2.6 - Determinação do coeficiente de partição	40

4.2.3 - <i>Métodos de purificação</i>	40
4.2.3.1 - Liofilização	40
4.2.3.2 - Destilação de solvente à pressão reduzida	41
4.2.3.3 - Recristalização	41
4.2.3.4 - Extração Líquido-Líquido	41
5 - Resultados e Discussão	42
5.1 - Obtenção do succinil octil salicilato (SOS)	42
5.2 - Síntese do succinil octil salicilato 5-fluoruracila	50
6 - Conclusão	69
7 - Perspectivas	70
8 - Referências Bibliográficas	71

Figuras

Figura 1 - Evolução hipotética de células normais para células malignas	7
Figura 2 - Diferença de penetração dos raios UVA e UVB	9
Figura 3 - Mecanismo de ação dos filtros solares físicos	10
Figura 4 - Mecanismo de ação dos filtros solares químicos	11
Figura 5 - Diferentes fases dos melanomas	14
Figura 6 - Carcinoma basocelular	14
Figura 7 - Carcinoma espinocelular	15
Figura 8 - Mecanismo de ação do antineoplásica 5-fluoruracila	27
Figura 9 - Estrutura molecular dos fotoprotetores derivados do salicilato	28
Figura 10 - Representação esquemática do conceito de pró-fármaco	30
Figura 11 - Representação esquemática de pró-fármaco recíproco	32
Figura 12 - Esquema geral de obtenção dos intermediários e pró-fármaco de salicilato de octila e 5-fluoruracila	37

Figura 13 - Representação esquemática da reação de obtenção do pró-fármaco succinil octil salicilato de 5-fluoruracila	51
Figura 14 - Derivados <i>N</i> -substituídos do 5-fluoruracila	61

Espectros

Espectro1 - Espectro de absorção no infravermelho do anidrido succínico	46
Espectro 2 - Espectro de absorção no infravermelho do salicilato de octila	46
Espectro 3 - Espectro de absorção no infravermelho do SOS	47
Espectro 4 - Espectroscopia de RMN ¹ H do SOS	48
Espectro 5 - Espectroscopia de RMN ¹³ C do SOS	48
Espectro 6 - Espectro de infravermelho do SOSFlu	55
Espectro 7 - Espectro de infravermelho da 5-fluoruracila comercial	56
Espectro 8 - Espectroscopia de RMN de ¹ H do composto do SOSFlu	59
Espectro 9 – Espectroscopia de RMN de ¹³ C do composto do SOSFlu	59

Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição percentual de pacientes segundo diagnóstico de câncer de pele	20
Gráfico 2 - Distribuição do câncer de pele segundo faixa etária	21
Gráfico 3 - Determinação coeficiente de extinção molar do salicilato de octila	63
Gráfico 4 - Determinação coeficiente de extinção molar do succinil octil salicilato	64
Gráfico 5 - Determinação coeficiente de extinção molar do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila	64
Gráfico 6 - Curva de calibração do succinil octil salicilato e do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila	67

Tabelas

Tabela 1 - Distribuição de diagnóstico clínico de pacientes que apresentam câncer no Brasil	20
Tabela 2 - Estimativa para o ano 2005 de números de casos novos de câncer não melanoma por Unidade Federada - Brasil	22
Tabela 3 - Aspectos físicos e solubilidade do succinil octil salicilato e dos reagentes de partida	44
Tabela 4 - Técnica de purificação, faixa de fusão e rendimento % de SOS	45
Tabela 5 - Atribuições dos espectros de infravermelho do ANS, do SO, do SOS	47
Tabela 6 – Espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C do SOS	49
Tabela 7 - Espectroscopia no infravermelho do SOSFlu	56
Tabela 8 - Espectroscopia no infravermelho 5-fluoruracila comercial	57
Tabela 9 - Espectroscopia RMN de ^1H e de ^{13}C do SOSFlu	58
Tabela 10 - Coeficiente de extinção dos compostos em álcool etílico	63
Tabela 11 - Valores de log P determinados em pH 7,4 por HPLC usando metanol/tampão	67

Fluxograma

Fluxograma 1 - Procedimento de isolamento/purificação do SOS	42
--	----

Abreviaturas

- ϵ - Coeficiente de extinção molar
- $\lambda_{\text{máx}}$ - comprimento de onda máximo
- **5-FdUMP** - 5-monofosfato nucleotídeo
- **5-Flu** - 5-fluoruracila
- **5-FUR** -5-fluoruracila ribose
- **A** - absorbância
- **AnS** - anidrido succínico
- **b** - caminho óptico da cela de absorção
- **c** - concentração da amostra
- **Ca** - câncer
- **CCD** - cromatografia em camada delgada
- **DCC** - *N',N'*- dicicloexilcarbodiimida
- **DCU** - 1,3-dicicloexiluréia
- **FDA** - Food and Drug Administration
- **FPS** - Fator de Proteção Solar
- **Ft₁** - filtrado amarelo
- **INCA** - Instituto Nacional do Câncer
- **IV** - infravermelho
- **MC** - mistura de compostos
- **PGE₂** - prostaglandina E₂
- **RMN ¹³C e ¹H** - Ressonância Magnética Nuclear de carbono e de hidrogênio
- **SBD** - Sociedade Brasileira de Dermatologia
- **S_{Ft1}** - succinil octil salicilato
- **SO** - salicilato de octila
- **SOS** - succinil octil salicilato
- **SOSFlu** - succinoil octil salicilato de 5-fluoruracila
- **UV** - ultravioleta

Resumo

A incidência do câncer de pele vem aumentando anualmente em homens e em mulheres, tornando-se grave problema de Saúde Pública mundial. Diversos são os fatores que influenciam a formação dos tumores, sendo a radiação ultravioleta um dos principais responsáveis, que vem elevando seu índice graças à redução da camada de ozônio. Ainda assim o câncer de pele poderia ser evitado se as medidas de prevenção fossem tomadas a tempo, como a fotoproteção, cuidados com os horários de exposição ao sol e a detecção precoce dos tumores.

Os avanços científicos e tecnológicos têm proporcionado novas abordagens para o desenvolvimento de agentes antineoplásicos e o direcionamento de fármacos a locais de ação específicos, gerando maior eficácia dos tratamentos. Nesta linha, a principal proposta deste trabalho envolve a possibilidade de conjugar as propriedades do fotoprotetor salicilato de octila com a do antineoplásico 5-fluoruracila, por meio do processo de latenciação. Para tanto foi obtido o pró-fármaco succinil octil salicilato de 5-fluoruracila (SOSFlu), a partir de duas etapas sintéticas, cujos compostos foram caracterizados por meio da determinação da faixa de fusão, cromatografia em camada delgada, análises espectroscópicas de infravermelho, de ressonância magnética nuclear de ^{13}C e ^1H , determinação dos coeficientes de extinção molar e de partição.

Tendo o SOSFlu apresentado melhores valores de coeficientes de extinção molar e de partição em relação ao fotoprotetor salicilato de octila e ao antineoplásico 5-fluoruracila, espera-se que apresente maior efetividade para proteger a pele contra a radiação ultravioleta e maior permeabilidade cutânea.

Abstract

The incidence of the skin cancer comes increasing annually in men and in women, becoming a serious problem of world Public Health. Several they are the factors that influence the formation of the tumors, being the ultraviolet radiation responsible one of the main ones that comes elevating its index thanks to the reduction of the layer of ozone. Nevertheless the skin cancer could be avoided the prevention measures they were taken on time, as the sunscreen, cares with the schedules of exhibition in the sun and the precocious detection of the tumors.

The scientific and technological progresses have been providing new bonding for the development of agents antineoplastic and the drug delivery to specific action places, generating larger effectiveness of the treatments. In this line, the main proposal of this work involves the possibility to conjugate the property of the sunscreen octil salicilate with an antineoplastic 5-fluoruracil, by means of the latentiation process. For so much it was obtained pro-drug succinoil octil salicilate of 5-fluoruracil derived of the octil salicilate and 5-fluoruracil, starting from two synthetic stages, whose compositions were characterized by means of analyses IR spectra, melting point determination, thin layer chromatography and ^{13}C and ^1H MNR, extinction molar coefficient and partition coefficient.

Tends SOSFlu presented better values of coefficients of extinction molar and of partition in relation to the sunscreen octil salicilate and to the antineoplastic 5-fluoruracil, it is waited that presents larger effectiveness to protect the skin against the ultraviolet radiation and larger cutaneous permeability.

1. Introdução

Nas últimas décadas, as dimensões alcançadas pelo câncer (Ca) vêm convertendo-o em evidente problema de Saúde Pública mundial (KLIGERMAN, 2000). Estatisticamente, em pesquisa realizada pela Organização Mundial da Saúde, o câncer é apontado como a terceira causa de mortalidade no mundo, com percentuais de 12%, levando cerca de 6 milhões de pessoas a óbito por ano e a segunda causa de morte por doença no Brasil, sendo o câncer de pele não melanoma o mais comum e o de maior incidência entre homens e mulheres (ALMEIDA et al., 2005). Em 2003, no Brasil, estimativas de *Incidência e Mortalidade do Instituto Nacional do Câncer (INCA)* apontaram que o melanoma atingiria 4.370 pessoas, perfazendo 1.125 óbitos. Nos Estados Unidos esse aumento foi também muito expressivo, tendo incidência quase triplicada nas últimas quatro décadas (SBD, 2005). Aumento que se deve não apenas ao comportamento das pessoas em relação à exposição ao sol, mas também à redução da camada de ozônio, importante na filtração de raios ultravioleta (SBCD, 2005).

A agressão do sol à pele não se limita à queimadura solar, manifestada sob a forma de eritema, edema, formação de bolhas e desprendimento da pele, ela é, na realidade, cumulativa, irreversível, capaz de produzir alteração nas fibras de colágeno, elastina, perda de tecido adiposo subcutâneo e carcinogênese. Episódios mais intensos de queimaduras solares, especialmente na infância, têm sido relacionados com a ocorrência posterior de carcinomas basocelular e melanomas, enquanto a ação cumulativa das radiações UVB resulta em carcinomas epidermóides (HC-AC CAMARGO, 2004).

Entre os tipos de neoplasias existentes, apesar do câncer de pele ser o mais freqüente, são conhecidos diversos fatores de risco que se relacionam basicamente com características cutâneas e pigmentares, como, presença de numerosos nevos, nevos atípicos, sardas, cabelos ruivos, incapacidade de bronzeamento e propensão a queimaduras, sendo que, na maioria dos casos, o câncer de pele poderia ser evitado se as medidas de prevenção fossem tomadas a tempo, como a fotoproteção, cuidados com os horários de exposição ao sol e a detecção precoce dos tumores. Não se pode perder de vista, no entanto, que indivíduos sadios ou portadores de câncer de pele devem fazer uso de protetores solares, sem que estes confirmem à falsa segurança de possibilidade de prolongamento a exposição intencional, aumentando conseqüentemente o risco de surgimento da doença (SOUZA, 2004).

Existem três abordagens principais para o tratamento de cânceres: excisão cirúrgica, radioterapia para o tumor e quimioterapia. A conveniência de cada uma depende do tipo de tumor e do estágio de seu desenvolvimento. A quimioterapia constitui o principal método de tratamento de certos tipos de cânceres, porém, pode constituir-se como adjuvante da cirurgia ou da radioterapia (ALMEIDA et al., 2005).

Nos últimos anos, a evolução do conhecimento de proliferação celular levou ao entendimento da biologia da célula cancerosa. Esse avanço tem proporcionado novas abordagens para o desenvolvimento de agentes antineoplásicos e o direcionamento de fármacos a locais de ação específicos, gerando maior eficácia dos tratamentos (LEMKE ,1995).

O uso de pró-fármacos, forma transporte inativo que, *in vivo*, libera a porção ativa, tem sido eficiente para o tratamento de tumores com diminuída toxicidade nas células normais, pois podem ser ativados no local de ação, principalmente, por meio de processos enzimáticos (SHIBAMOTO et al., 2000; CHUN et al., 2003).

A 5-fluoruracila, graças a sua capacidade de controlar tumores localizados e prevenir metástase sistêmica, tem sido muito usado para o tratamento tópico de doenças que são caracterizados pela proliferação incontrolada de diversos células da pele. Por apresentar alta toxicidade e baixo poder de penetração em membranas biológicas, tem motivado importantes pesquisas com a finalidade de desenvolver moléculas com propriedades físico-químicas modificadas e menos tóxicas (DOMINGUEZ et al., 2003; PATRICK et al., 1997; ESPINOSA et al., 2005).

No contexto da igual ou maior necessidade de fotoproteção por parte dos indivíduos portadores de câncer de pele comparados a indivíduos saudáveis, entra em cena a possibilidade de conjugar as propriedades de um fotoprotetor com a de um antineoplásico, por meio da obtenção de um pró-fármaco. Para tanto, neste trabalho, efetuou-se a síntese do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila, na expectativa de agregar as propriedades antineoplásica da 5-fluoruracila, fotoprotetora e, quiçá, antiinflamatória do salicilato de octila. Desta forma, espera-se que a modificação efetuada confira à nova molécula melhores propriedades físico-químicas, que ocasione, por exemplo, melhoria do coeficiente de partição, que contribua, entre outros, para a penetração nos tecidos cutâneos afetados pelo câncer de pele.

Adicionalmente a derivatização química pode também modificar o coeficiente de extinção molar do salicilato de octila, melhorando a sua efetividade como filtro solar enquanto estiver ligado ao antineoplásico, cuja liberação espera-se que seja gradual. Tal liberação gradativa, inclusive, otimizará a atividade do fármaco, no sentido de prolongar-lhe a ação, podendo ocorrer em função do meio fisiológico ou condicionado pela formulação.

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho consiste na síntese de pró-fármaco recíproco derivado do salicilato de octila e 5-fluoruracila para o tratamento do câncer de pele. Este procedimento envolve a transformação de um fármaco em forma de transporte inativa que, *in vivo*, mediante processos enzimático ou químico, libera a porção ativa no local de ação ou próximo dele. Em linhas gerais, tal recurso presta-se ao aumento de seletividade, ao prolongamento de ação, à alteração da farmacocinética – reduzindo toxicidade e/ou melhorando a biodisponibilidade e, à melhoria de problemas de formulação entre outros (THOMAS, 2003; WILGUS et al., 2003, SINGH & SHARMA, 1994). Desta forma a presente proposta deriva, primariamente, da expectativa de unir as propriedades antineoplásica da 5-fluoruracila e fotoprotetora do salicilato de octila, que como salicilato, pode também vir a apresentar atividade antiinflamatória. Com a modificação molecular, pode ocorrer alteração do coeficiente de extinção molar do salicilato de octila, melhorando assim, a sua efetividade como filtro solar, além disso, espera-se que a liberação da 5-fluoruracila seja gradual, otimizando sua atividade, no sentido de prolongar-lhe a ação. Adiciona-se ainda, que tal latenciação poderá promover a otimização do coeficiente de partição e da biodisponibilidade dos compostos em questão.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Câncer de pele

Quando em processo ativo de divisão, as células passam por uma seqüência de eventos denominado ciclo celular, que apresenta as fases: G_1 (primeira fase de crescimento celular), G_0 (período em que a célula mantém sua taxa metabólica, mas não cresce em tamanho, a não ser que receba sinais extracelulares, portanto é pouco vulnerável aos antineoplásicos), S (síntese de DNA, ou seja, duplicação do material genético), G_2 (segunda fase de crescimento, em que está se preparando para se dividir) e M (fase de divisão mitótica). Porém existem alguns fatores como, radiação, fatores ambientais, produtos químicos, que comprometem o ciclo celular alterando o processo de divisão das células normais, levando ao câncer (ALMEIDA, 2004a).

Contudo, o câncer ou neoplasia constitui a denominação para a um conjunto complexo de doenças, que se inicia pelo processo de hiperplasia, ou seja, pelo aumento do número de células de um tecido, por estímulo hormonal fisiológico ou anomalias genéticas no tecido de origem, tendo em comum o crescimento e desenvolvimento destas células anormais por meio do processo de displasia, derivadas de uma única célula normal, que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo (PAGE et al., 1999) (figura 1). Por outro lado, um tumor benigno corresponde a uma massa localizada de células que se multiplicam vagarosamente e se assemelham ao seu tecido original, não sofrem metástase, constituindo, raramente, um risco para a vida, (ALMEIDA et al., 2005; SBD, 2004).

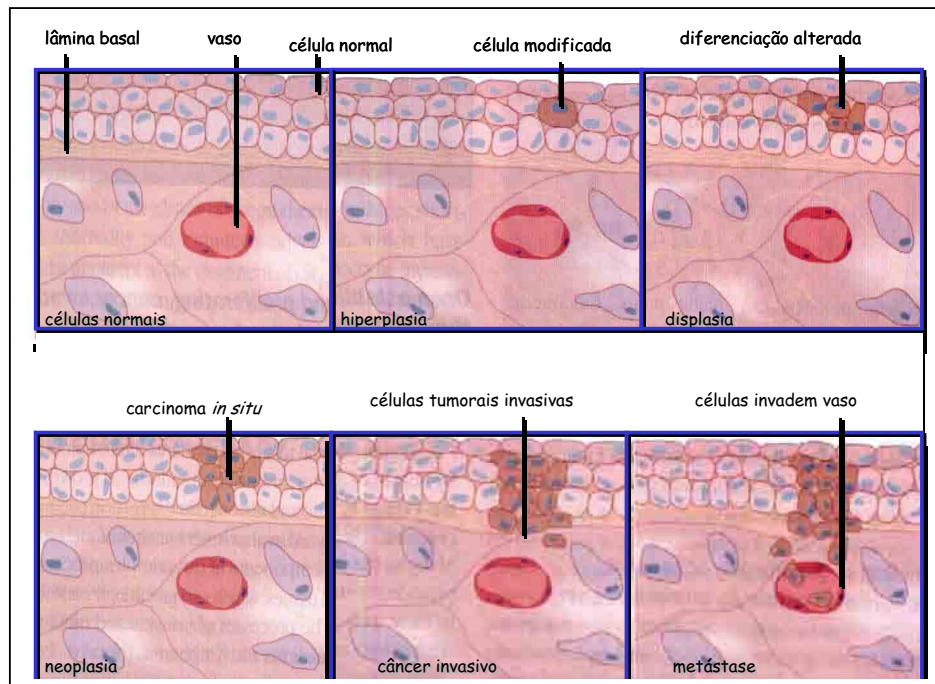


Figura 1: Evolução hipotética de células normais para células malignas (PAGE et al., 1999)

Enfermidades malignas hematológicas e tumores sólidos constituem os grupos principais de câncer: As enfermidades malignas hematológicas afetam os sistemas linfático e sangüíneo, que devido a sua natureza já se encontram disseminados. Os tumores sólidos, por sua vez, disseminam-se a partir do tumor primário localizados em tecidos e órgãos concretos formando tumores secundários.

Os tumores malignos recebem denominações diferentes segundo sua localização e forma ou localização anatômica: carcinoma (tecido glandular), sarcoma (tecido conectivo), linfoma (gânglios linfáticos) e leucemia (glóbulos sangüíneos). Igualmente leucemias recebem nomes diferentes, de acordo com o quadro sangüíneo e os sintomas.

Doenças neoplásicas afetam tanto crianças quanto adultos. As que acometem as crianças, mais comumente são: leucemia aguda, usualmente do tipo linfoblástica, e quatro tumores sólidos: tumor de Wilms, neuroblastoma,

retinoblastoma, e rabdomiossarcoma embrionário; nos adultos encontram-se as seguintes: leucemia aguda (principalmente do tipo granulocítico mieloblástico), leucemia linfocítica crônica, leucemia mielocítica crônica, doença de Hodgkin, mieloma múltiplo, policitemia vera, sarcoma celular, linfossarcoma, coriocarcinoma, carcinomas (da próstata, testículo, mama, ovário, endométrio, cérvix, pulmão, cólon, estômago, fígado, pâncreas) e melanoma.

O câncer de pele é um dos principais cânceres que vem acometendo, de forma crescente, o homem. Este fato está relacionado com a redução da camada de ozônio, pois é essa camada que protege a vida da destruição por radiações, responsáveis pelas mudanças fotocutâneas provocadas na pele. O dano intracelular causado pela radiação UV, com alterações bioquímicas e imunológicas que a radiação induz, pode ser carcinogênica (STEINER, 1997). Para se evitar que esse tipo de câncer se manifeste, a melhor maneira é a prevenção, que além disso, pode significar a diferença entre a gravidade das lesões, pois apesar da alta incidência da doença, os altos índices de cura ocorrem quando o diagnóstico é precoce.

A radiação UV é dividida em três categorias: UVC, UVB e UVA.

Nenhuma radiação UV inferior a 288 nm atinge a superfície da terra, devido à filtração pela camada de ozônio (KERR & ELROY, 1993), como o caso dos raios UVC, que correspondem à faixa entre 100 e 290 nm. Comprimentos de ondas maiores, entre 290 e 320 nm correspondem aos raios UVB, que possuem intensa atividade fisio-patológica sobre a pele, sendo responsáveis pelas queimaduras solares, fotoenvelhecimento e cânceres cutâneos, mesmo não penetrando profundamente nas camadas da pele e sendo em grande parte absorvidas em cima da derme.

Já os raios UVA, entre 320 e 400 nm, responsáveis pelo bronzeamento imediato, são menos energéticos, porém estão presentes em proporções constantes durante o ano todo. Penetram profundamente na derme (figura 2), acreditando-se, atualmente, que sejam responsáveis por danos às membranas celulares e DNA, contribuindo assim, nos fenômenos do fotoenvelhecimento e na gênese de determinados cânceres (OSTERWALDER et al., 2000).

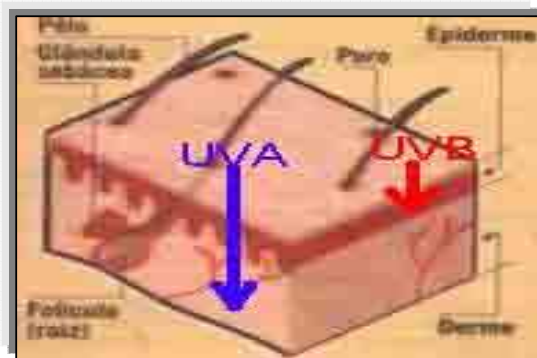


Figura 2: Diferença da penetração na pele dos raios UVA e UVB.

Fonte: <http://www.ufrj.br/institutos/it/de/acidentes/risco.htm>

Durante os anos 70, o FDA (Food and Drug Administration) reconheceu a necessidade de instituir um método capaz de quantificar a efetividade das preparações fotoprotetoras. Foram propostos então, procedimentos clínicos para a medida do Fator de Proteção Solar (FPS), sendo este um número que, considerando a possibilidade de eritema, avalia a quantidade de tempo durante o qual a pele estaria protegida contra o dano solar. (RIEGER, 1989; SANTOS et al., 1998).

Assim definiu-se os fotoprotetores como agentes que atenuam o efeito da radiação UV (290-400nm), prevenindo o eritema solar e o efeito

carcinogênico por mecanismos de absorção, reflexão e dispersão da radiação (SANTOS et al., 1998; SCHUELLER et al., 2000).

Os filtros físicos mais utilizados são dióxido de titânio e óxido de zinco. Estes oferecem barreira física, refletindo e dispersando a radiação UVA e UVB (figura 3). No passado eram utilizados na sua forma bruta que resultavam produtos opacos na pele, não sendo cosmeticamente aceitáveis. Com o desenvolvimento de tecnologias de micronização (diminuição do tamanho das partículas) passaram a ser transparentes na pele, sendo ideal a sua associação com os filtros químicos (MOTA et al., 2003).

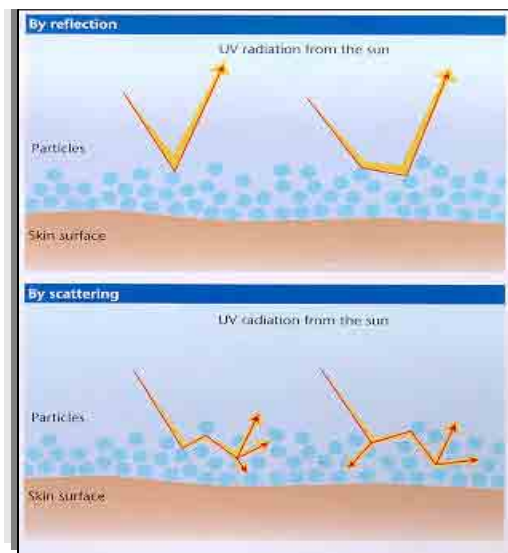


Figura 3: Representação do mecanismo de ação dos filtros solares físicos.

Fonte: <http://www.jnjbrasil.com.br>

Benzofenonas, antranilatos, ésteres do ácido *p*-aminobenzoico, cinamatos e salicilatos são exemplos de fotoprotetores químicos. Estes filtros absorvem a energia luminosa, convertendo-a em energia não danosa para a pele humana. Existem numerosos compostos aprovados para o uso, cada qual com absorção em faixas específicas de comprimento de onda, UVB ou UVA ou

UVB e UVA. O mecanismo de ação desses filtros é baseado nas características de absorção dos anéis aromáticos em conjunto com os grupamentos substituintes ligados a estes anéis, em geral grupos carboxílicos na posição *orto* ou *para*, que conferem diferentes intervalos de absorção, absorvendo em comprimentos de ondas correspondentes ao espectro UV de 290 a 320 nm e convertendo a energia resultante em radiações de baixa energia (geralmente superiores a 380 nm). Portanto, quando a molécula do filtro solar é atingida por um fóton de luz, com determinado nível de energia, passa para um estado eletrônico excitado, e como a molécula entra em ressonância ela dissipa essa energia, retornando ao seu estado fundamental, emitindo outro fóton com menor energia, em magnitude, que a energia inicialmente absorvida e capaz de causar excitação (Figura 4).

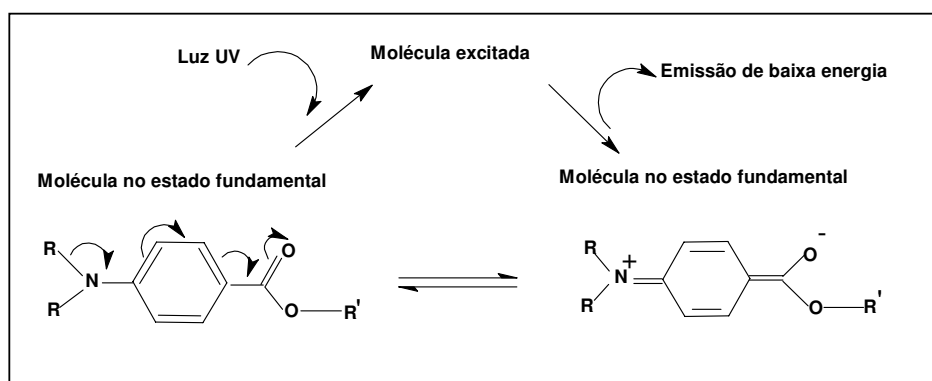


Figura 4: Mecanismo de ação dos filtros solares químicos:

Fonte: <http://www.sbbq.org.br>

Embora seja incontestável que a superexposição é bastante prejudicial à pele, não é necessário renunciar as atividades ao ar livre para reduzir as probabilidades de desenvolver efeitos indesejáveis. Porém, o mais importante é evitar a exposição ao sol no período das 10 às 16 horas, devendo usar a proteção adequada mesmo nos horários de menor risco a pele (SBCD, 2005).

3.1.2 Patogenia

O surgimento do câncer ocorre por fatores que influenciam na formação dos tumores e na sua maioria, os agentes responsáveis são substâncias químicas, determinadas infecções virais, radiações, fatores ambientais e principalmente mutações genéticas, as quais contribuem com aproximadamente 50% dos cânceres humanos (PRADO et al., 2005).

As alterações podem ocorrer em genes especiais, denominados protooncogenes, que a princípio são inativos em células normais. Quando ativados, os protooncogenes transformam-se em oncogenes, responsáveis pela malignização (cancerização) das células normais, que passam a ser denominadas células cancerosas ou neoplásicas. Dividindo-se rapidamente, estas células dão origem aos tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas, sendo que, a velocidade de multiplicação e a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes, são características que diferenciam os tipos de câncer.

As células cancerosas são menos especializadas nas suas funções quando comparadas com as células normais, assim conforme essas células vão invadindo os tecidos, acabam por substituí-las, com isso esses tecidos acabam perdendo suas funções (CUMMINGS et al., 1997).

Os diferentes tipos de câncer correspondem aos vários tipos de células do corpo. Se o câncer tem início em tecidos epiteliais como a pele, ele é denominado *carcinoma*. Se começa em tecidos conjuntivos como osso, músculo ou cartilagem é chamado de *sarcoma*.

Em se tratando de câncer de pele, este se distribui nos tipos descritos a seguir:

O *melanoma maligno* origina-se dos melanócitos, células que produzem o pigmento que dá cor à pele. É considerado o câncer de pele de pior prognóstico, devido ao seu alto potencial de produzir metástases e conseqüente difusão das células tumorais. O melanoma inicia-se como uma lesão escura que aumenta de tamanho em extensão e/ou profundidade, com alteração de suas cores originais, surgindo pontos pigmentados ao redor da lesão inicial, ulceração, sangramento ou sintomas como coceira, dor ou inflamação.

A coloração pode variar do castanho-claro passando por vários matizes chegando até à cor negra (melanoma típico) ou apresentar área com despigmentação, devido a diminuição da produção de melanina (melanoma com área de regressão espontânea). O crescimento ou alteração da forma é progressivo e se faz no sentido horizontal ou vertical. Na fase de crescimento horizontal (superficial), a neoplasia invade a epiderme, podendo atingir ou não a derme papilar superior. No sentido vertical, o seu crescimento é acelerado através da espessura da pele, formando nódulos visíveis e palpáveis.

Na fase inicial, o melanoma está restrito à camada mais superficial da pele, época ideal para realização do diagnóstico e tratamento, pois, nesta localização, ainda não ocorreu a disseminação de células tumorais à distância e a retirada completa do tumor tem altos índices de cura (REINTGEN et al., 1994; SAMPAIO & RIVITTI, 1998).

Mais freqüente em pessoas de pele clara, o melanoma pode surgir em área de pele não exposta ao sol, porém, o maior número de lesões aparece nas áreas da pele que ficam expostas à radiação solar, pois a exposição

excessiva ao sol é o maior fator de risco da doença (figura 5) (BRAUD et al., 2003).



Figura 5: Diferentes fases do melanoma.

Fonte: http://www.inca.gov.br/pele/prevencao/auto_exame.html.

Carcinoma Basocelular é o mais freqüente e com o menor potencial de malignidade. Seu crescimento é lento e muito raramente se dissemina à distância, podendo se manifestar de várias maneiras, como nas fotos ilustradas a seguir (figura 6). Feridas que não cicatrizam ou lesões que sangram com facilidade devido a pequenos traumatismos, como o roçar da toalha, podem ser um carcinoma basocelular.



Figura 6: Carcinoma basocelular.

Fonte: http://www.inca.gov.br/pele/prevencao/auto_exame.html

Carcinoma Espinocelular também conhecido como carcinoma epidermóide, tem crescimento mais rápido, é bem menos freqüente que o basocelular, correspondendo a cerca de 15% das neoplasias epiteliais malignas. Acomete mais áreas de mucosa aparente, como a boca ou o lábio,

cicatrices de queimaduras antigas ou áreas que sofreram irradiação (raios X). Além disso, lesões pré-cancerosas decorrentes da exposição prolongada e repetida da pele ao sol são acometidas. Lesões maiores podem gerar metástases, que podem ocorrer após meses ou anos, sendo mais frequentes nos carcinomas das mucosas, dorso das mãos e cicatrizes das queimaduras (figura 7) (SAMPAIO & RIVITTI, 1998; BIGBY et al., 2005).



Figura 7: Carcinoma espinocelular.

Fonte: http://www.inca.gov.br/pele/prevencao/auto_exame.html

Embora seja realmente reconhecido o uso de protetores solares como forma de proteção, a probabilidade de desenvolvimento de carcinoma basocelular e espinocelular depende da exposição total à radiação durante a vida de uma pessoa, a intensidade e a predisposição genética (MARTIN & RIEGER, 1989).

É importante ainda destacar, que a abordagem do câncer de pele deve ser realizada pela interação entre o médico e o paciente, pois a evolução dessa doença pode culminar em formas graves e levar o paciente a óbito (NCI, 2004).

3.1.3 Epidemiologia

De acordo com a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD), o câncer de pele vem aumentando sua incidência em todo o mundo nos últimos quarenta anos. No entanto, em países com maior número de descendentes de europeus, a incidência da doença tem se tornado maior, confirmando evidências de que as pessoas de pele clara, mais propensas, inclusive, a queimaduras têm maior predisposição à doença do que a população da raça negra ou amarela (PINHEIRO et al., 2003; WATERHOUSE et al., 1987). A crescente incidência dessa patologia tornou-se alvo de preocupação para as autoridades de todos os países, resultando em muitas campanhas de prevenção e diagnóstico precoce (AZEVEDO & MENDONÇA, 1992).

A Austrália, por ser um país tropical e estar localizada numa região onde existe a redução da camada de ozônio, a incidência de câncer de pele dobrou de 14/100.000 habitantes em 1965 para 28/100.000 em 1980. De 1980 a 1987, a incidência em Queensland também atingiu aproximadamente o dobro, 60/100.000 habitantes.

De acordo com a “*Skin Câncer Foundation*”, o melanoma apresenta 3 a 4 % dos tumores cutâneos, ocorrendo com freqüência em adultos jovens de 20 a 50 anos de idade, sendo mais comum em mulheres com idade de 25 a 29 anos nos EUA, devido à maior incidência de fotoexposição, surgindo a cada ano cerca de 840.000 novos casos, sendo que, as formas não melanomas representam cerca de 95% desses casos, tendo sua incidência maior do que as incidências somadas de carcinomas de pulmão, de colo, mama, reto, próstata e de todos os linfomas (ROCHA et al., 2002; McCARTHY, 2004). Nos últimos 20 anos, a proporção de tumores removidos em estágios iniciais tem

sido maior, principalmente em países que investem em programas educacionais por meio de campanhas e exames de prevenção, dirigidos aos profissionais da saúde e à população em geral (SCHOTTENFELD & FRAUMENI, 1982).

Vários são os sinais que devem alertar os médicos e pacientes quanto à possibilidade de um indivíduo vir a apresentar câncer de pele:

- Pessoas com história pessoal ou familiar de câncer de pele;
- Pessoas de pele clara, olhos azuis ou verdes, cabelos loiros ou ruivos;
- Pessoas com a imunidade reduzida, por doença ou por medicamentos;
- Pessoas albinas ou portadoras de algumas doenças que predispõem ao câncer de pele;
- Pessoas que já se expuseram ou se expõem ao sol excessivamente;
- Pessoas expostas prolongadamente a RX, raios ultravioleta, arsênio, ou outros produtos químicos;
- Pessoas que possuem quantidade grande de pintas;
- Pessoas que possuem cicatrizes há muitos anos, as quais apresentam ulcerações freqüentes (HC-AC CAMARGO, 2004).

Ainda com o objetivo de auxiliar o diagnóstico precoce, é de suma importância orientar a população geral a realizar auto-exame da pele regularmente e alertá-la em relação às mudanças clínicas de lesões pré-existentes. Infelizmente, alguns dados revelam que a maioria dos diagnósticos de melanoma são realizados em estágios avançados da doença, e com isso, os pacientes acabam apresentando poucas chances de cura, sendo que, o melanoma é responsável por 75% dos óbitos por câncer cutâneo (PEREIRA, 2004).

3.1.3.1 Epidemiologia no Brasil

No Brasil a estimativa da ocorrência do câncer de pele não tem sido diferente de outras partes do mundo, uma vez que o câncer de pele não melanoma é o tipo de câncer mais freqüente na população brasileira, estimando-se que cerca de 4.000 novos casos sejam diagnosticados a cada ano (KLIGERMAN, 2000; ROCHA et al., 2002).

Em 1985, segundo o sistema de mortalidade do Ministério da Saúde, foram registrados 462 casos de morte por melanoma maligno, representando 0,66% do total de mortes por câncer (AZEVEDO & MENDONÇA, 1992).

A 5ª Campanha Nacional de Prevenção do câncer de pele da SBD, realizada em novembro de 2003, atendeu 37.853 pessoas, sendo que mais de 3 mil apresentavam lesões de câncer de pele. A campanha mostrou que os casos acontecem em pessoas que não usam qualquer tipo de proteção quando se expõem ao sol, sendo este índice alto, tanto entre os homens quanto entre as mulheres, estimando-se que até 65% dos casos possam estar relacionados à exposição solar, cerca de 8% a 14% apresentam histórico familiar positivo para essa neoplasia, sendo que hoje, 10% dos pacientes com mais de um melanoma primário sejam portadores de uma mutação de predisposição hereditária a esse tumor (CARVALHO et al., 2004).

Alguns estudos realizados no Hospital Universitário de Brasília, com o objetivo de avaliar as características clínicas, epidemiológicas e histológicas, num período de cinco anos, o perfil do portador de melanoma cutâneo primário, corresponde ao indivíduo do sexo feminino, pele branca, cuja lesão predomina nos membros, sendo mais freqüente o tipo de crescimento nodular e que não apresenta sintomas à época do diagnóstico (PINHEIRO et al., 2003).

Segundo o Programa Nacional de Controle do Câncer de Pele, realizado pela SBD em 2004 (Tabela 1), o câncer do tipo basocelular é o que apresenta maior taxa, seguido pelo carcinoma espinocelular e consecutivamente, o mais grave dentre eles, o melanoma maligno. Devido a essa alta incidência, os estudos de seus tipos, do grau de comprometimento e de sua epidemiologia são importantes para a prevenção e o tratamento precoce desses tumores.

As estatísticas vitais têm seu foco em doenças quase sempre fatais e não incluem muitos dados sobre os cânceres de pele não melanoma, praticamente não há registros de medidas básicas populacionais de morbidade desses cânceres na literatura mundial, pois os cânceres espinocelulares, geralmente aparecem nas estatísticas somados aos cânceres basocelulares e classificados como cânceres de pele não melanoma, indicando que esse tipo aumenta significativamente com a idade (NASSER, 2004).

Observando os gráficos 1 e 2 verifica-se que o Brasil, em 2004, apresentou um índice de 8,4% pacientes que tiveram diagnóstico do câncer de pele, sendo que a faixa etária entre 40-80 anos de idade a mais atingida, talvez por serem pessoas que se expõem ou se expuseram durante um maior tempo ao sol (SBD, 2005).

O Ministério da Saúde, por meio do INCA, tem desempenhado importante papel no desenvolvimento das ações nacionais para o trabalho de orientação, prevenção e controle do câncer, levando em consideração a grande variação dos tipos de câncer em relação à distribuição da doença nas diversas

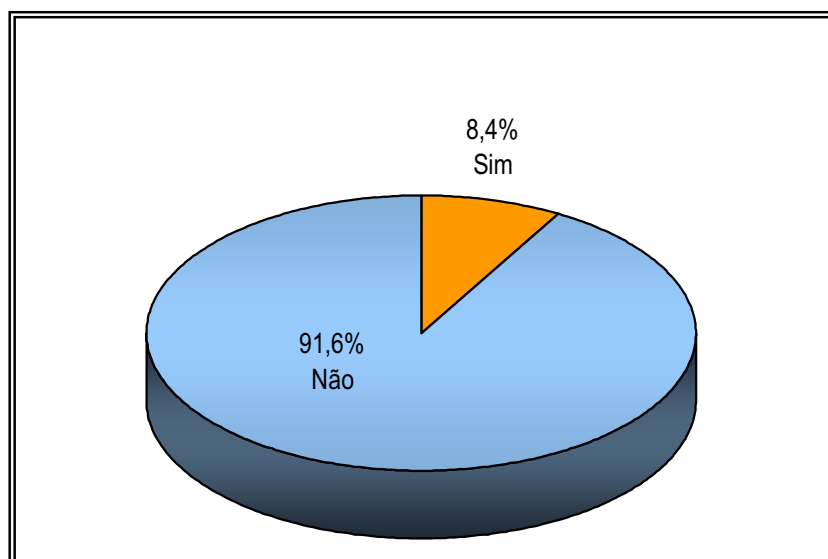
regiões do país, devido às discrepâncias observadas no grau de expectativa de vida, industrialização, exposição a fatores de risco e acesso aos serviços de saúde (SBD, 2005).

Tabela 1: Distribuição de diagnóstico clínico de pacientes que apresentam câncer no Brasil

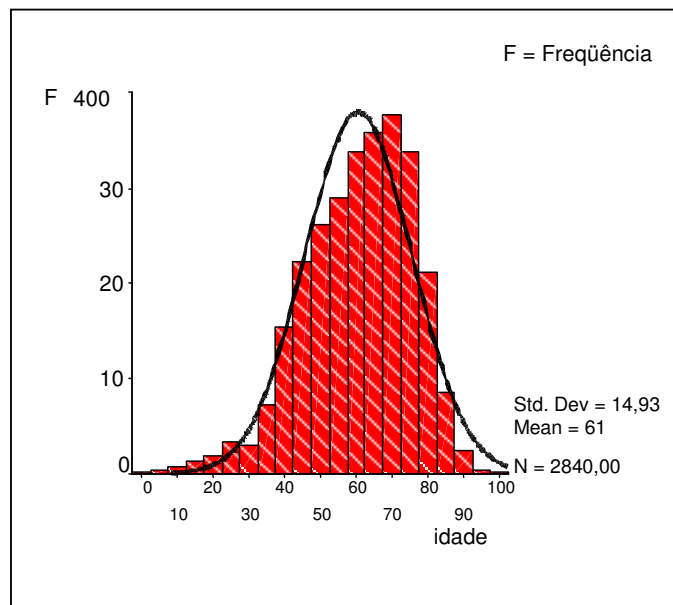
Diagnóstico Clínico	n	%
Carcinoma basocelular	2153	6,3%
Carcinoma espinocelular	464	1,3%
Melanoma maligno	187	0,5%
Outros Ca (tumores malignos)	189	0,5%
Outras pré-neoplasias	4563	13,3%
Outras dermatoses	20143	58,6%
Ausência de dermatoses	6688	19,4%
Total	34387	100,0%

Fonte: SBD, 2005.

Gráfico 1: Distribuição percentual de pacientes segundo diagnóstico de câncer de pele



Fonte: SBD, 2005.

Gráfico 2: Distribuição de câncer de pele segundo faixa etária

Fonte: SBD, 2005.

Por meio da análise da distribuição das taxas de incidência do câncer de pele, no Brasil, mostrada na Tabela 2, observa-se que o Sudeste apresenta a maior taxa, 58.850 casos, seguido pelo Sul, 23.270 e Nordeste, 21.600. Enquanto Norte e Centro-Oeste apresentam taxas menores, 4.880, 4.420, respectivamente.

Observa-se, no entanto, que há no país populações de maior risco para o câncer de pele, principalmente nas regiões sul e sudeste, devido a grande concentração de imigrantes europeus e ainda pela existência de comunidades que por razões geográficas, sociais e culturais sofreram poucas ou quase nenhuma miscigenação racial. Conseqüentemente, estas comunidades expressam riscos importantes, por suas características raciais, para o desenvolvimento do câncer de pele.

Tabela 2: Estimativa para o ano de 2005 de números de casos novos de câncer de pele não melanoma por Unidade Federada – Brasil

Unidade Federada	Ca de pele não melanoma
Acre	150
Alagoas	610
Amapá	140
Amazonas	1.170
Bahia	4.520
Ceará	5.850
Distrito Federal	1.160
Espírito Santo	1.160
Goiás	4.290
Maranhão	870
Mato Grosso	1.600
Mato Grosso do Sul	1.270
Minas Gerais	9.910
Pará	1.860
Paraíba	1.080
Paraná	7.870
Pernambuco	5.380
Piauí	1.330
Rio de Janeiro	11.420
Rio Grande do Norte	2.410
Rio Grande do Sul	9.740
Rondônia	690
Roraima	0
Santa Catarina	5.660
São Paulo	32.070
Sergipe	420
Tocantins	390
Brasil	113.020

Fonte: INCA, 2005.

Destaca-se que a região sul é a que apresenta maior risco de câncer de pele no país, pois além de concentrar o maior número de população de pele clara e ter uma economia baseada em atividades agro-pastoris, é uma região

em que existe a maior redução da camada de ozônio (<http://www.monamb.furg.br>).

Somente por meio de programas de prevenção conseguir-se-á avançar no sentido de modificar o quadro de incidência e mortalidade por câncer no Brasil, com inquestionável ganho de qualidade de vida para os brasileiros.

3.1.4 Tratamento

A quimioterapia oncológica era, até recentemente, reservada as etapas avançadas da doença neoplásica, mas hoje é empregada em fases iniciais, com o intuito de cura, prolongamento da sobrevida ou alívio dos sintomas da neoplasia maligna (PRADO et al., 2005).

A terapia medicamentosa antineoplásica subdivide-se em: adjuvante (após tratamento cirúrgico e/ou radioterápico), neo-adjuvante (antes do tratamento cirúrgico ou radioterápico definitivo), paliativa e curativa, atuando sobre células que estão no ciclo celular, que compreende as fases G_1 (pré-sintética), S (síntese celular), G_2 (pós-síntese) e M (mitose), precedidas de G_0 . Os agentes antineoplásicos exercem seus efeitos principalmente por bloquearem bioquimicamente a síntese de DNA, fase S do ciclo celular (ALMEIDA et al., 2005; ROITHMANN, 1998).

Durante o tratamento pode surgir resistência ao fármaco e para controlá-la são necessárias associações medicamentosas (WILSON & GISVOLD'S, 1998a). O uso de associações de antineoplásicos resulta em maior taxa de resposta quando comparado a monoterapia. Para isso, os fármacos combinados devem ter:

- atividade antitumoral comprovada em monoterapia;
- diferentes mecanismos de ação;
- toxicidade diferente sobre tecidos normais, por atuarem em vias diferentes;
- ausência de resistência cruzada.

Outros fatores determinantes para o sucesso da terapia são o estadiamento da doença, o qual orienta a resposta ao tratamento; os fatores prognósticos específicos em cada caso, tais como genética, hereditariedade, dieta, toxicidade dos fármacos antineoplásicos em tecidos sadios como medula óssea, epitélio gastrintestinal, folículos pilosos da pele e epitélio germinativo (BONASSA, 1996).

Entretanto, as diferenças de sensibilidade entre células neoplásicas e normais são às vezes pequenas e a toxicidade é um problema comum, podendo surgir reações adversas como náusea, vômito, fadiga, mal-estar, sendo que estes sintomas, mais freqüentes, geralmente ocorrem no período de 1 a 6 h após a administração do medicamento. Portanto, deve-se considerar durante o tratamento as indicações e contra-indicações, melhor opção terapêutica, resposta da neoplasia ao fármaco, melhor forma de administração e dose (CALABRESI & CHABNER, 2001; FERGUSON et al., 2001; PRADO et al., 2005; RUSTIGI & PODOLSKY, 1996).

O período do tratamento depende do estágio e tipo de neoplasia. Mas, para que a quimioterapia seja eficaz, é necessário que a célula tumoral seja exposta a concentrações do fármaco por período de tempo suficiente para atingir o maior número de células numa fase sensível do ciclo celular, até que o tumor esteja presumivelmente erradicado. Para pacientes que se encontram

debilitados, a dose inicial deve ser reduzida, quando o tumor não está em estágio avançado (PRADO et al., 2005).

A quimioterapia é o método mais simples, efetivo e barato para se controlar o câncer. Entretanto, sua eficácia não é absoluta, havendo a necessidade de aperfeiçoá-la por meio da pesquisa de novos e melhores antineoplásicos (LIMA, 2004; PRADO et al., 2005). Os fármacos que compõem o arsenal terapêutico para o tratamento são distribuídos em classes como: agentes alquilantes, antimetabólitos, antibióticos, alcalóides, anti-hormônios, hormônios, imunomoduladores, etc (WILLIAMS & LEMKE, 2002). A era da quimioterapia para doenças malignas nasceu em 1941, quando Huggins demonstrou que com a administração de estrógenos havia regressão da metástase do câncer de próstata. No ano seguinte, Gilman descobriu, por meio de estudos clínicos, que as mostardas nitrogenadas eram efetivas contra as doença de Hodgkin's e linfossarcoma. Nesta mesma década foram descobertos os antimetabólitos, incluindo a 5-fluoruracila em 1957, que há mais de 50 anos continua sendo o mais comum agente quimioterápico prescrito. Os efeitos citotóxicos que antimetabólitos ocasionam, faz com que seja necessário o desenvolvimento de novos derivados, que resultariam na melhoria da terapia ao torná-la além de menos tóxica, mais eficaz (FERGUSON et al., 2001; WILSON & GISVOLD'S, 1998a).

Entre os antineoplásicos, a 5-fluoruracila é um dos mais indicados para o tratamento de doenças da pele. Sua forma tópica é indicada para o tratamento de tumores metastáticos de carcinoma de pele, e também ceratoses actínicas, queilite actínica, radiodermatite, doença de Bowen, leucoplasia da mucosa e carcinoma de célula basal não sensível a outros tratamentos, sendo

contra-indicada para mulheres em idade fértil ou que pretendam engravidar (ASHTON et al., 1970; BEALL & SLOAN, 1996; CULLEN, 1979; EPSTEIN, 1977; QUIGLEY & LLOYD, 2002).

Agente antimetabólito, análogo das pirimidinas, 5-fluoruracila, como mostra a figura 8, requer conversão enzimática para 5-fluoruracila ribose (5-FUR), que origina diretamente o metabólito 5-fluoruracila monofosfato nucleotídeo (5-FdUMP), inibidor da enzima timidilato sintetase, importante alvo para a quimioterapia do câncer (PATRICK et al., 1997; GMEINER, 2005). A interação entre o metabólito e a timidilato sintetase bloqueia a reação de metilação do ácido desoxiuridílico a ácido timidílico, ocasionando depleção de trifosfato de desoxitimidina, precursor necessário à síntese de DNA. Além disso, a 5-fluoruracila é anabolizada a trifosfato de 5-fluoruracila ou a trifosfato de 5-fluorodesoxiuracila, que se incorporam ao RNA e ao DNA, respectivamente, resultando em morte das células que proliferam mais rapidamente (PETERS et al., 2002; LUDWING et al., 2005).

Estudos pré-clínicos mostram que a quimioterapia tópica combinando 5-fluoruracila e inibidores de COX-2 apresenta-se como nova opção de tratamento para a regressão da indução de raios UV-B no câncer de pele por meio da diminuição dos níveis de prostaglandina (PGE₂). Quando usada em associação com inibidores de COX, a 5-fluoruracila torna-se 70% mais eficaz do que quando usada sozinha, pois diminui o efeito de multiplicidade das células tumorais, graças à redução de células PCNA-positivas presentes nos tumores. Além disso, a associação de inibidores de COX torna-se uma medida profilática para o controle mais eficaz da dor no doente com câncer

(BUVANENDRAN et al., 2003; DELONG et al., 2003; DELONG et al., 2004; SOUMAORO et al., 2004; WILGUS et al., 2004).

A dor pode decorrer de fatores relacionados direta ou indiretamente com o tumor primário e suas metástases, podendo também não estar relacionada com o processo de neoplasia, pois freqüentemente múltiplas causas concorrem para a sua ocorrência (LIMA, 2004).

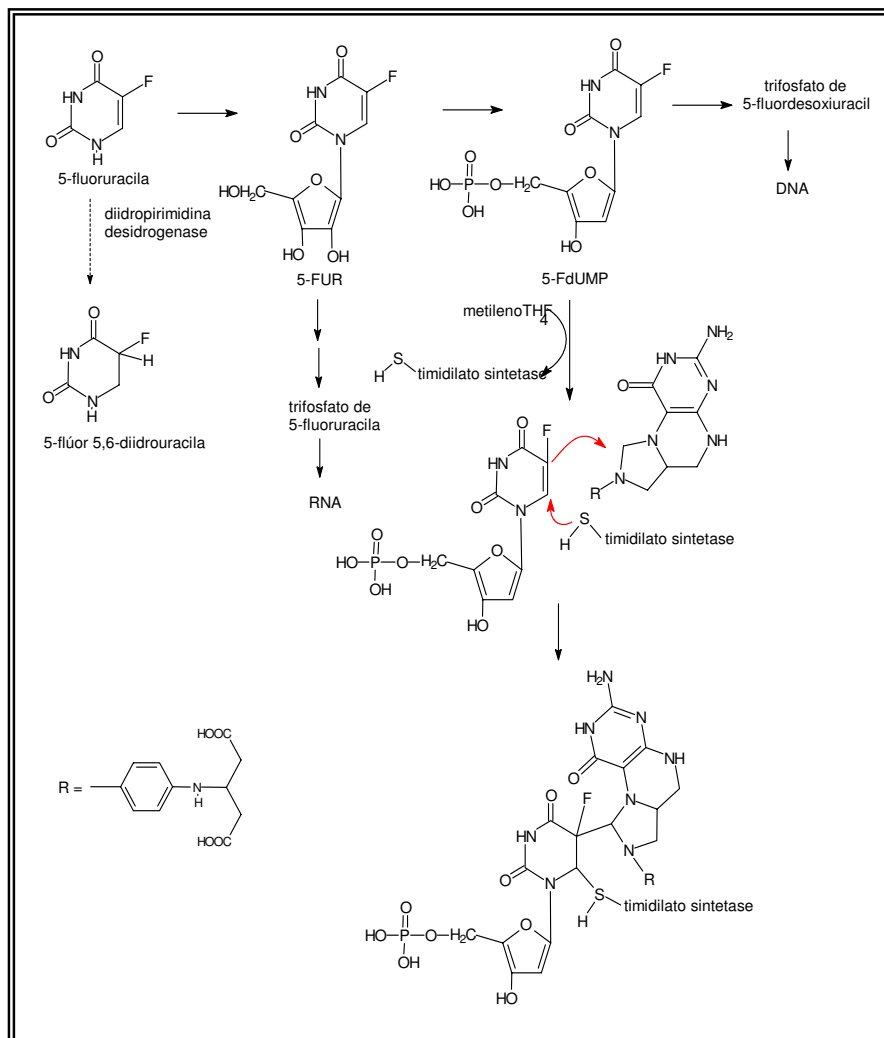


Figura 8: Mecanismo de ação do antineoplásico 5-fluoruracila (WILLIAMS & LEMKE, 2002).

Apesar dos problemas que acometem o paciente durante o tratamento, incluindo a sua debilitação, esse deve ser iniciado rapidamente, considerando também que o abandono do tratamento pode levar ao ressurgimento do câncer.

Como o UVB, e em algumas circunstâncias o UVA, é a causa primária do câncer de pele, foi comprovado, por estudos de Kligman e seus colaboradores, que o uso tópico de fotoprotetores proporciona proteção contra essa doença (KLIGMAN, 1978; MARTIN & RIEGER, 1989). Um dos primeiros fotoprotetores usados na preparação de filtros solares foi os derivados de salicilato, cuja fórmula estrutural está ilustrada na figura a seguir (figura 9).

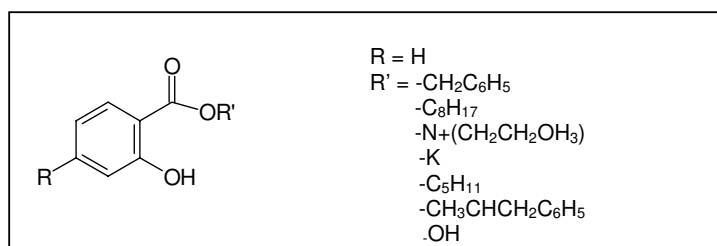


Figura 9: Estrutura molecular dos fotoprotetores derivados do salicilato (PATINI, 1998).

Os salicilatos são compostos orto-dissubstituídos, cujo arranjo espacial permite a ligação do hidrogênio interno com a própria molécula. Segundo o FDA, são relativamente bons absorvedores de UV, apresentando proteção ideal contra os raios UVB, pois absorvem em torno de 300 nm. Os derivados de salicilatos, principalmente o salicilato de octila, são usados em algumas formulações farmacêuticas, devido à facilidade de incorporação em formulações cosméticas, estabilidade, emoliência, não solubilidade em água e baixo custo.

É importante salientar que os fotoprotetores não curam o câncer de pele, mas têm a capacidade de proteger os seres humanos contra uma série de doenças induzidas pela luz solar. Atualmente os filtros solares são utilizados nos momentos de lazer e descanso ao ar livre, mas no futuro as pessoas tomarão consciência de sua importância na prevenção do câncer de pele (JAFFE & ORCHIN, 1964; PATINI, 1998)

O diagnóstico precoce também é fundamental no tratamento, pois sendo a pele um órgão de fácil acesso ao auto-exame e à inspeção médica, torna-se ideal para permitir o diagnóstico de neoplasias em fases iniciais (ROCHA et al., 2002).

3.1.5 Latenciação

A modificação molecular é o método mais utilizado para a introdução de novos fármacos. Consiste, basicamente, em partir de um protótipo de estrutura e ação biológica conhecidas e sintetizar análogos ou homólogos estruturais do mesmo com propriedades físico-químicas e biológicas aprimoradas (FERREIRA & KOROLKOVAS, 1980; TESTA, 2004).

A latenciação constitui um dos recursos da modificação molecular, definida como um processo de modificação química para se obter pró-fármaco, ou seja, composto farmacologicamente inativo *per si*, mas que, *in vivo*, por meio de processos químicos ou enzimáticos, libera a porção ativa (figura 10) (BUNDGAARD, 1991; WILSON & GISVOLD`S, 1998b).

A estratégia de se usar a latenciação consiste, de forma geral, em melhorar diversas propriedades indesejáveis do fármaco protótipo sem alterar,

no entanto, suas propriedades biológicas (FERREIRA & KOROLKOVAS, 1980).

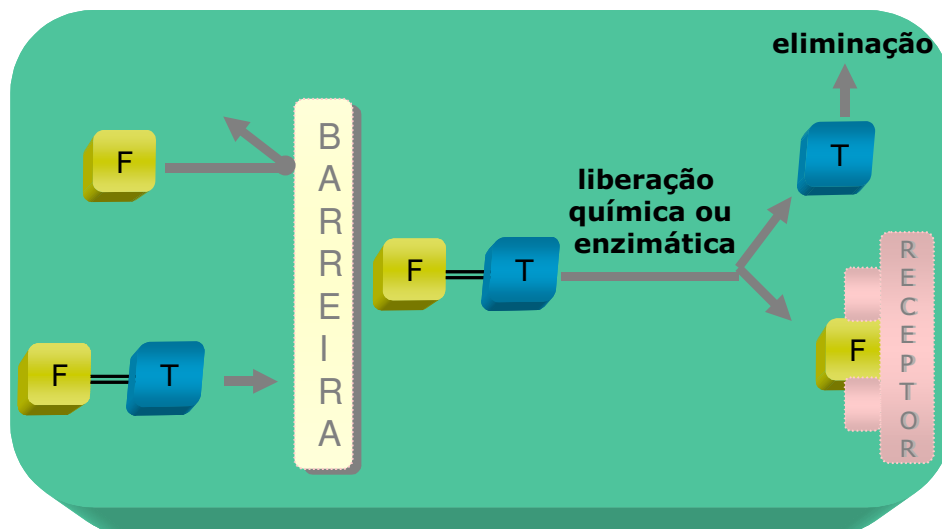


Figura 10: Representação esquemática do conceito de pró-fármaco (FERREIRA & KOROLKOVAS, 1980).

Para que haja sucesso na aplicação dessa estratégia devem-se considerar critérios como a presença de grupos funcionais passíveis de serem derivatizados no fármaco matriz; a utilização de métodos simples de obtenção e purificação do pró-fármaco; a estabilidade química do pró-fármaco; toxicidade do transportador e do pró-fármaco propriamente ditos; a conversão à forma ativa *in vivo* em quantidades terapêuticas e à velocidade adequada; a existência de substâncias, meios ou mecanismos químicos e/ou biológicos que promovam a ativação do pró-fármaco (WILSON & GISVOLD'S, 1998b, FRIIS & BUNDGAARD, 1996).

A obtenção dos pró-fármacos, excetuando-se os bioprecursores, envolve a anexação ao fármaco de um transportador destituído de atividade farmacológica ou não. Desta forma a escolha do transportador adequado, bem como a ligação química entre o transportador e a parte ativa devem ser

adequadamente consideradas. Ligações do tipo éster, hemi-ésteres, amidas, carbamatos podem ser facilmente metabolizados, afetando não somente a velocidade de liberação do fármaco, como também a absorção e a distribuição da forma ativa (BUNDGAARD, 1991; KOROLKOVAS, 1988; THOMAS, 2003).

Os transportadores são classificados, segundo o papel fisiológico, em limitantes e selecionantes. Os limitantes se dividem em volumosos, ionizados e fortemente lipofílicos. Tal divisão se deve, no caso dos volumosos por serem capazes de bloquear a passagem do pró-fármaco por membranas biológicas devido ao grande volume que apresentam. Os ionizados apresentam carga que os atraem ou os repelem devido à polaridade que possuem, limitando a passagem através de membranas lipídicas. Por sua vez, os fortemente lipofílicos, devido a essa natureza, acumulam-se em tecidos lipídicos, permitindo a liberação lenta do composto ativo (FERREIRA & KOROLKOVAS, 1980). Por outro lado, os transportadores selecionantes limitam especificamente a distribuição dos fármacos, em razão da capacidade de dirigirem para locais previamente estabelecidos.

Os transportadores quando apresentam atividade farmacológica indica que houve conjugação de fármacos entre si, ou seja, um funcionando como transportador do outro, compondo pró-fármacos recíprocos ou duplos (TESTA, 2004; BUNDGAARD, 1991). Entretanto, as regras sobre biorreversibilidade são as mesmas dos pró-fármacos clássicos, devendo o derivado ser inativo antes do rompimento da ligação (SINGH & SHARMA, 1994).

As ligações encontradas em pró-fármacos recíprocos em geral envolvem os grupos químicos que fazem parte da estrutura fundamental para a

atividade farmacológica da molécula (grupo farmacofórico). Apesar de muitas vezes os fármacos permitirem a ligação direta molécula a molécula, sabe-se que em certos casos, alguns fármacos ao ficarem ligados diretamente ao transportador não são hidrolisados por enzimas lipossômicas, dificultando a liberação da porção ativa, portanto ocorre a necessidade de introduzir um agente espaçante, que é um grupamento químico intermediário que estabelece a ligação entre o fármaco e o transportador (figura 11). Desse modo, o derivado torna-se mais suscetível à hidrólise, principalmente ao se tratar de hidrólise enzimática, pois estando os fármacos mais separados um do outro, há maior facilidade de acesso pelas enzimas, já que o efeito de impedimento estérico está diminuído (MENGER & ROURK, 1997).

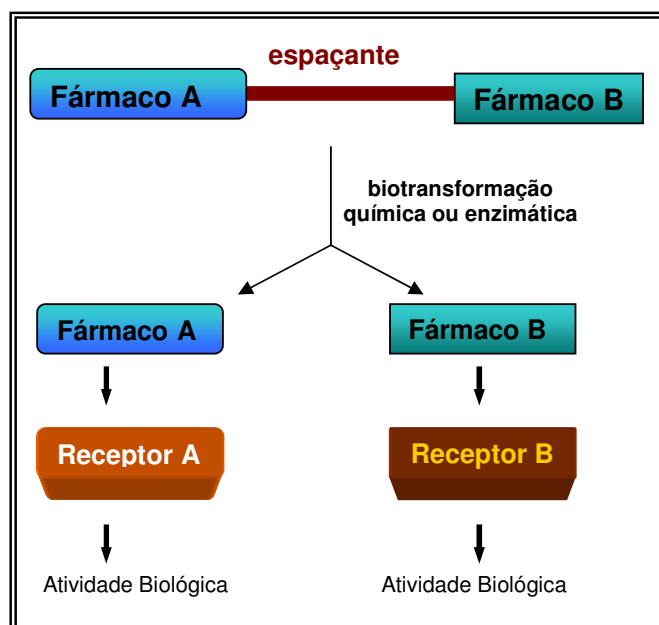


Figura 11: Representação esquemática de pró-fármaco recíproco (MENGER & ROURK, 1997).

Semelhante à associação farmacotécnica de agentes terapêuticos, apesar de não se tratar apenas de mistura de fármacos, mas de uma ligação química, estes derivados recíprocos podem ser utilizados quando a patologia

ou o distúrbio a ser tratados necessitam de mais de um fármaco com propriedades farmacocinéticas diferentes dos fármacos associados, alcançando locais de ação simultaneamente. Devido às vantagens que apresenta, o pró-fármaco recíproco pode (MENGER & ROURK, 1997):

- ser bem absorvido;
- liberar ambos componentes concomitantemente e quantitativamente após a absorção;
- gerar efeito máximo da combinação dos dois fármacos a uma razão de 1:1;
- distribuir os dois compostos similarmente.

Por ter efeito aditivo, que resulta da ligação de fármacos que agem por meio de mecanismos de ação diferentes, os derivados recíprocos se tornam muito úteis na quimioterapia, tanto antineoplásica quanto antifecciosa, pois podem auxiliar na prevenção do desenvolvimento de linhagens de células ou microrganismos resistentes aos fármacos (MENGER & ROURK, 1997). Isso pode ser resultante do fato desses fármacos liberarem suas porções ativas para o local de ação em tempos iguais e estes atuarem em vias diferentes do metabolismo do agente invasor sem dar-lhe oportunidade de criar rotas bioquímicas alternativas para escapar do ataque ou então diminuir a toxicidade em relação às células normais, quando se trata de fármacos antiinfeciosos ou antineoplásicos, respectivamente.

Os problemas diversos que muitos fármacos apresentam que limitam seu uso e/ou eficácia podem ser solucionados com a aplicação da latenciação, pois através deste processo, é capaz de solucionar problemas farmacocinéticos, farmacotécnicos e de toxicidade, por meio da alteração da

absorção, prolongamento de ação, liberação do fármaco no local específico, entre outros.

Algumas considerações são apresentadas a seguir ilustrando, simplificada, como esses aspectos podem ser alcançados.

Ao serem planejados visando ao aprimoramento da terapêutica, o ideal é que os pró-fármacos sejam desprovidos de toxicidade, não devendo, pois, a porção ativa liberar porções tóxicas no organismo, visando principalmente diminuir efeitos adversos.

No que diz respeito à resolução de problemas de absorção, sobretudo para o aumento da biodisponibilidade do fármaco, o coeficiente de partição é particularmente importante, uma vez que a atividade biológica dos compostos está estreitamente relacionada à sua hidrofiliabilidade e lipofiliabilidade. O ideal é que o fármaco seja hidrofílico o suficiente para solubilizar em água e lipofílico o bastante para atravessar as barreiras biológicas (BUNDGAARD, 1991).

O planejamento de pró-fármacos de ação duradoura, por sua vez, justifica-se, pois são úteis na redução do número e frequência de doses necessárias a serem administradas; capazes de aumentar a anuência do paciente, de reduzir a toxicidade e diminuir efeitos indesejáveis (BUNDGAARD, 1991; PATRICK, 2001).

O uso da latenciação para o melhoramento das características organolépticas, apesar de encontrar alguns obstáculos, vem sendo bastante explorado (MACDONALD & TURCAN, 1990) contribuindo grandemente para a aceitação do fármaco pelo paciente. Conhecimento de relações empíricas e qualitativas entre estrutura e sabor auxilia no planejamento de substância com

sabores específicos, como por exemplo: a presença de grupamentos nitro em uma molécula, são frequentemente indicativos de sabor amargo (cloranfenicol e ácido pícrico); compostos contendo muitos grupos hidroxilas, são usualmente doces (glicóis, açúcares e outros carboidratos); o aumento da cadeia lateral diminui o sabor doce e aumenta o sabor amargo; esterificação pode aumentar o sabor doce (McEVOY, 1974).

A liberação do fármaco no seu local específico está entre os objetivos mais importantes do processo de latenciação, pois se relaciona com a distribuição e ação específica em sítios alvo no sistema biológico, e ainda permite o controle da toxicidade. Para que tal objetivo seja alcançado, o fármaco latenciado deve possuir características como: transporte dirigido para o órgão ou tecido alvo; ser ativado no local de ação; não se ligar a proteínas ou tecidos inespecíficos; não ser degradado ou metabolizado antes de atingir o alvo; ser completamente eliminado, após exercer sua ação.

Vale ainda observar que modificações nas propriedades físico-químicas contribuem para a regulação do transporte, por meio do aumento ou diminuição do volume, alteração do coeficiente de partição, introdução ou retirada de grupos catiônicos ou aniônicos (FRIIS & BUNDGAARD, 1996; FERREIRA & KOROLKOVAS, 1980; MACDONALD & TURCAN, 1990).

Diante do apresentado, o uso da latenciação é alternativa promissora como uma estratégia de desenvolvimento de fármacos, por parte da indústria farmacêutica e instituições de pesquisas, capaz de proporcionar a introdução de fármacos mais eficazes e menos tóxicos na terapêutica e controle de diversas doenças.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1- Reagentes e solventes

- Acetato de etila (Synth)
- Acetona (Merck)
- Acetonitrila (Tedia)
- Acetofenona (Aldrich)
- Ácido acético (Synth)
- Ácido sulfúrico (Synth)
- Álcool etílico (Merck)
- Álcool metílico (Merck)
- Álcool metílico HPLC (EMD)
- Anidrido succínico (Laboratory DBH Reagent)
- Benzamida (Merck)
- Bifenila (Aldrich Byfenyl)
- Clorofórmio (Merck)
- 4-Clorofenol (Merck)
- Diciclohexilcarbodiimida (Merck- Schuchardt)
- Diclorometano (Merck)
- Éter etílico (Merck)
- Éter de petróleo (Tedia)
- 5-fluoruracila (Pharmaceuticals Bigmar/ Eurofarma)
- Hexano (Synth)
- Piridina (Merck)
- Salicilato de octila (DEG)
- Sulfato de magnésio anidro (Synth)
- Tiouréia (Merck)

4.2 Métodos

4.2.1 Métodos de síntese

A figura 12 mostra esquematicamente as reações envolvidas na síntese do pró-fármaco derivado do salicilato de octila e 5-fluoruracila.

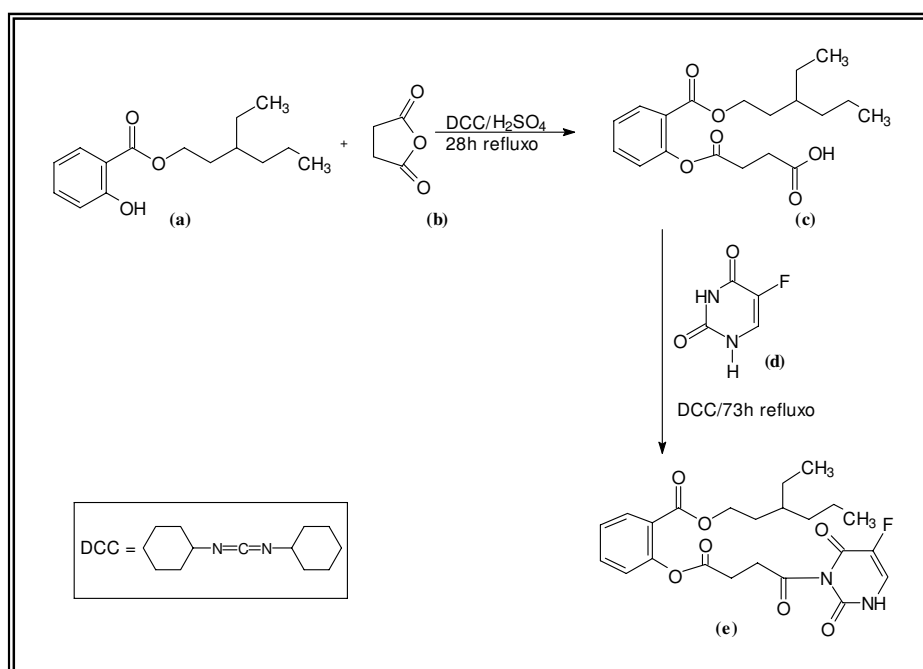


Figura 12: Esquema geral de obtenção do intermediário e pró-fármaco de salicilato de octila e 5-fluoruracila.

- | | |
|---------------------------------|--|
| (a) - salicilato de octila | (d) - 5-fluoruracila |
| (b) - anidrido succínico | (e) - succinil octil salicilato 5-fluoruracila |
| (c) - succinil octil salicilato | |

4.2.1.1 - Síntese do succinil octil salicilato (SOS)

Adicionou-se a uma suspensão de 0,08 mol (8 g) de anidrido succínico em 30 mL de diclorometano, 0,08 mol (16,5 g) de *N,N'*-dicloexilcarbodiimida (DCC), seguida de gotas de ácido sulfúrico (q.s.p. pH 5) e 0,08 mol (20 mL) de salicilato de octila. A mistura reacional foi mantida sob

agitação e refluxo durante 28 horas e posteriormente submetida à filtração à pressão reduzida. O filtrado foi particionado com éter etílico:água (1:1, v/v), sendo o produto cristalizado na fase orgânica a -30 °C após 72 h. O composto foi recristalizado em etanol. Rendimento: 42,30%.

4.2.1.2. Síntese do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila

Foram adicionados a uma solução de 5,6 mmol (2 g) de succinil octil salicilato em 14 mL de mistura de acetonitrila e piridina (1:1; v/v), 0,56 mmol (0,11 g) de DCC, seguido de 5,6 mmol (0,74 g) de 5-fluoruracila. A mistura reacional foi mantida sob agitação e refluxo por 73 horas. Após este período, a mistura reacional foi submetida a filtração à pressão reduzida. O filtrado foi particionado com clorofórmio:água (1:1,v/v), sendo adicionado à fase orgânica álcool metílico, que foi filtrada e em seguida submetida à destilação sob pressão reduzida até completa remoção dos solventes, gerando resíduo sólido. Rendimento: 41,28%.

4.2.2. Métodos Analíticos

4.2.2.1. Faixa de fusão

As faixas de fusão dos compostos foram determinadas, sem correção, em aparelho de Ponto de fusão capilar Electrothermal 9200, disponível no Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara .

4.2.2.2. Espectroscopia de absorção no infravermelho (IV)

Os espectros de absorção no IV, na região de 4000 a 400 cm^{-1} foram obtidos em pastilhas de KBr no espectrofotômetro Shimadzu, modelo FTIR-8300 do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara.

4.2.2.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (^{13}C) e Hidrogênio (^1H)

A espectrometria de RMN ^{13}C e ^1H foi realizada utilizando-se espectrômetro Brüker, modelo Advance DPX300 - 300 MHz do Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP - SP. Foram utilizados tubos de ressonância de 5 mm de diâmetro e dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d_6) como solvente.

4.2.2.4. Cromatografia em camada delgada (CCD)

Utilizou-se cromatografia em camada delgada para acompanhamento das reações e caracterização dos compostos sintetizados.

Cromatofolhas AL TLC 20 X 20 cm Sílica gel 60 F₂₅₄.

Placa de vidro (20x20 e 5x20 cm) recoberta com sílica gel 60 G.

Reveladores: iodo e UV

Sistemas eluentes: clorofórmio:metanol (70:30; V:V); acetato de etila (100V).

4.2.2.5. Determinação do coeficiente de extinção molar (ϵ)

A determinação do coeficiente de extinção molar foi efetuada por meio de espectrofotometria de absorção no ultravioleta, na região de 200-600

nm, utilizando espectrofotômetro Hitachi, modelo U-2001 do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara. Foram preparadas soluções etanólicas em concentrações de 2×10^{-4} mol/L para cada composto em questão, sendo aplicada a fórmula $A = \epsilon \cdot c \cdot b$.

4.2.2.6. Determinação do coeficiente de partição (log P)

A determinação dos valores do coeficiente de partição (log P) obtidos pelo método cromatográfico (HPLC-High Performance Liquid Chromatography), dos compostos obtidos por síntese, foi realizada em um cromatógrafo marca Shimadzu do Laboratório de QSAR, Instituto de Química - USP, SP, equipado com injetor automático modelo SIL-10Ai, bomba de fluxo da fase móvel, modelo LC-10Ai, detector *Diode Array* modelo SPD-M10Avp, degasificador DGU-14A e unidade controladora modelo CBM 10A. Utilizou-se uma coluna LC 18DB da marca Supelco de 7,5cm x 4,6mm.

4.2.3. Métodos de Purificação

4.2.3.1. Liofilização

A liofilização dos compostos foi efetuada em liofilizador Edwards modelo MLW-LGAO5 do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara.

4.2.3.2. Destilação de solvente à pressão reduzida

A remoção de solventes à pressão reduzida, a temperaturas variáveis segundo o solvente removido, foi efetuada em aparelho rotaevaporador modelo MA280 do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara.

4.2.3.3. Recristalização

A recristalização do SOS foi efetuada em álcool etílico.

4.2.3.4. Extração Líquido-Líquido

A partição foi efetuada com solvente adequado à solubilidade do composto e água, para obtenção das respectivas fases orgânicas e aquosas.

5. RESULTADOS e DISCUSSÃO

5.1 - Obtenção do succinil octil salicilato (SOS)

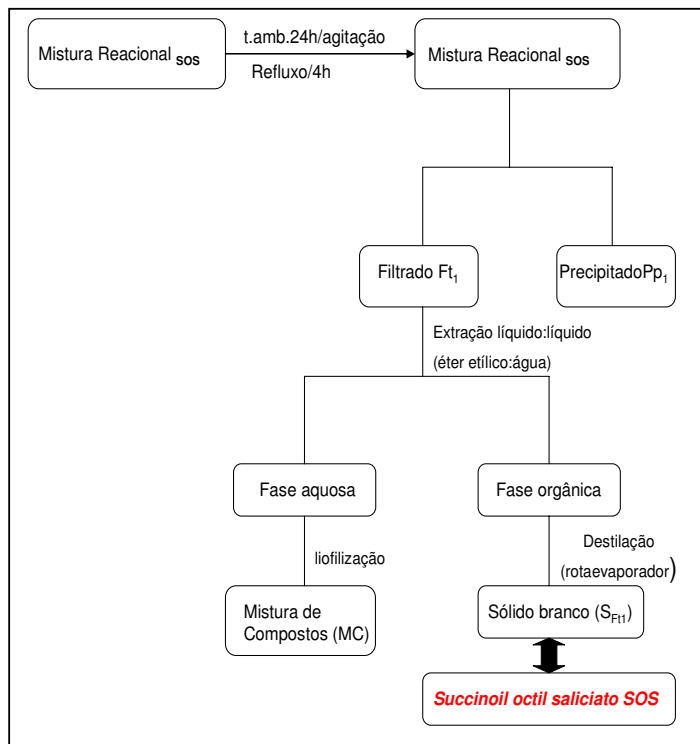
O método de síntese do SOS, descrito no sub-item 4.2.1.1, envolve a utilização de salicilato de octila, anidrido succínico, DCC e gotas de ácido sulfúrico. Observando o fluxograma 1, após 28 h sob refluxo e agitação, filtrou-se a mistura reacional sob pressão reduzida, obtendo-se precipitado branco (Pp1) e filtrado amarelo (Ft1). Este filtrado foi particionado com éter etílico:água por 4 vezes repetidamente. A fase aquosa resultante desta partição foi liofilizada, gerando uma pequena quantidade de resíduo (MC) e a fase orgânica, por sua vez, foi destilada à pressão reduzida até completa remoção dos solventes, gerando resíduo sólido branco (S_{Ft1}).

Com as faixas de fusão determinadas e as análises comparativas dos espectros no IV de Pp1, MC, S_{Ft1} , e dos reagentes de partida, verificou-se que esses correspondiam à dicicloexiluréia, mistura de compostos, que devido a muito pequena quantidade recuperada foi descartada, e succinil octil salicilato, respectivamente.

Junto aos resultados, propriamente ditos, referentes ao succinil octil salicilato estão dispostos dados dos reagentes de partida, salicilato de octila e anidrido succínico, empregados em suas sínteses para efeito de comparação, facilitando assim a visualização ou constatação de obtenção do composto proposto.

O acompanhamento das reações foi feito por cromatografia em camada delgada (CCD) usando metanol:clorofórmio (70:30; v/v) como fase móvel, revelando que a mancha correspondente ao SOS apresentava $R_f =$

0,85, enquanto que o R_f do do salicilato de octila, anidrido succínico, DCC são de 0,78, 0,37 e 0,76, respectivamente.



Fluxograma 1: Procedimento de isolamento/purificação do SOS.

➤ Caracterização física

O succinóil octil salicilato foi caracterizado fisicamente quanto ao aspecto macroscópico e à solubilidade (Tabela 3). Ante ao perfil de solubilidade do composto em questão, quando comparado ao anidrido succínico, observa-se comportamento distinto, especialmente nos solventes água, etanol, acetona e éter, o que permitiu a escolha do solvente adequado a ser utilizado em técnica de purificação.

Tabela 3 – Aspectos físicos e solubilidade do succinil octil salicilato e dos reagentes de partida.

Compostos	Aspecto Físico	Solubilidade*				
		1	2	3	4	5
AnS	sólido branco	s	fs	ps	ps	fs
SO	líquido	i	s	s	s	s
SOS	sólido cristalino, branco, inodoro	i	s	s	s	s

AnS – anidrido succínico, SO – salicilato de octila.
 1 – água; 2 – etanol; 3 – acetona; 4 – clorofórmio; 5 – éter
 s = solúvel fs = fracamente solúvel i = insolúvel ps = parcialmente solúvel

➤ Análises e rendimento dos produtos obtidos

Para a caracterização do SOS procederam-se as análises espectroscópicas e determinação de faixa de fusão.

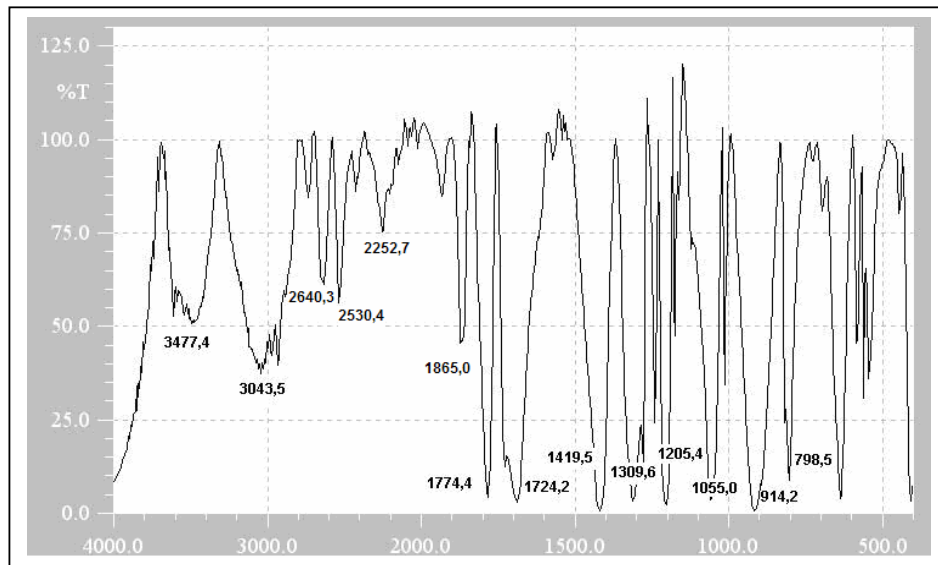
Na tabela 4 observa-se que a faixa de fusão do SOS é significativamente diferente daquelas dos reagentes de partida, mantendo-se entre 69,9-72,1 °C.

Observa-se ainda, que o rendimento da reação é baixo. Tal fato pode ser atribuído a fatores como, uso de ácido sulfúrico, processo de particionamento., Este processo permitiu isolar e purificar o composto, uma vez através fase aquosa removeu-se as impurezas solúveis na mesma e na fase orgânica manteve-se o composto desejado. Porém, esse procedimento envolveu repetidas manipulações que podem ter ocasionado perda do composto, tanto por eventual hidrólise do éster, como por possível arraste de fase, uma vez que os solventes guardam solubilidade entre si. Isto pode ser confirmado efetuando partições em número maior e menor do que quatro vezes repetidas, em que se verificou no primeiro caso redução significativa do rendimento e no segundo, maior presença de impurezas.

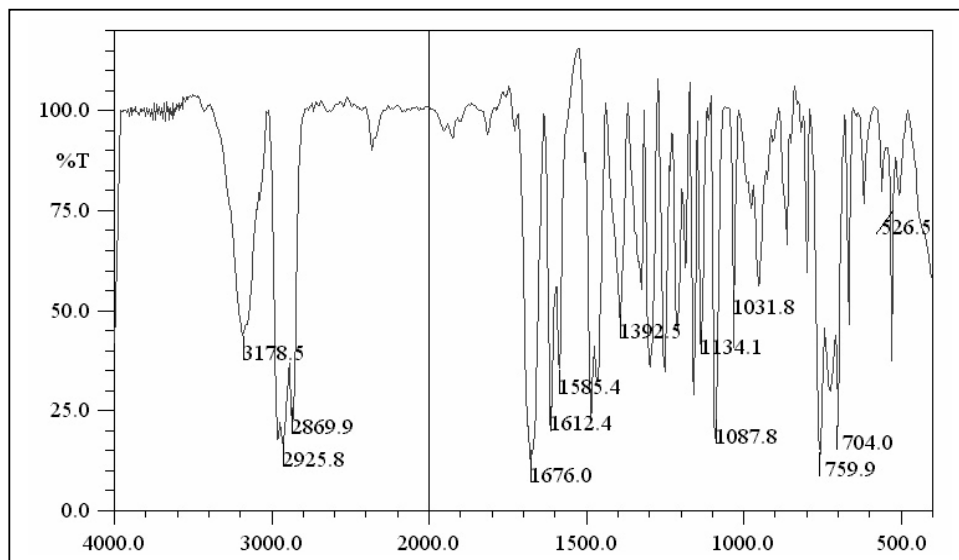
Tabela 4 – Técnica de purificação, faixa de fusão e rendimento % do SOS.

Compostos	Técnica de Purificação	Faixa de Fusão (°C)	Rendimento %
AnS	sublimação	119,6 °C	-----
SO	-----	-----	-----
SOS	1º - partição éter etílico:água 2º - recristalização em álcool etílico	69,9-72,1°C	42,30%

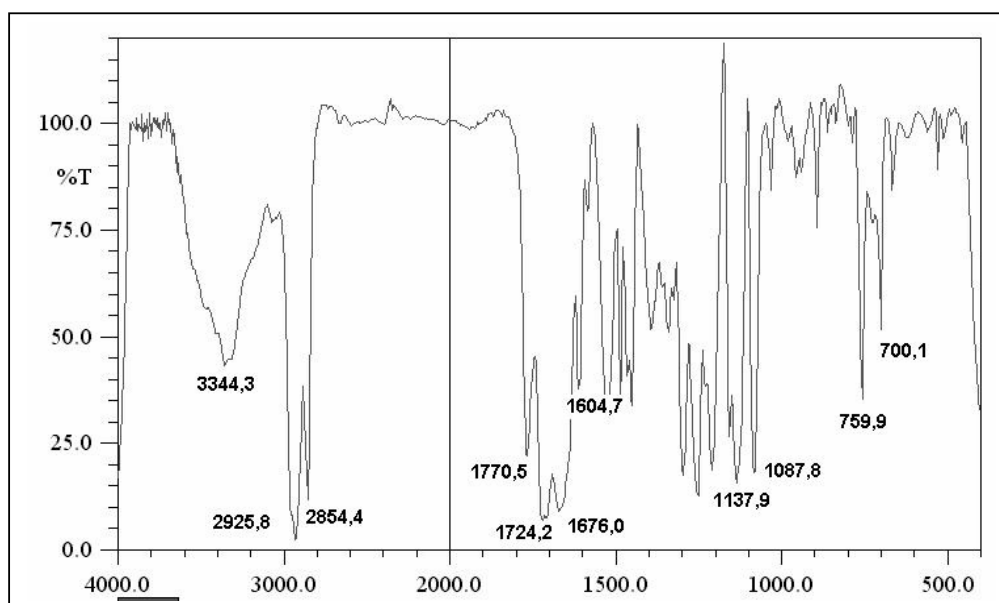
No espectro 3 correspondente à espectrofotometria de absorção no IV do SOS, observa-se que a principal informação, comparativamente às matérias-primas (AnS, SO) — espectros 1 e 2 — é o surgimento de absorção em torno de 1770 cm^{-1} , correspondente ao estiramento da carbonila do éster, quando da formação desta ligação. Absorções referentes aos demais grupamentos da molécula também são observadas (estiramento do anel aromático, cadeia alifática; deformações fora do plano do anel aromático dissubstituído) – conforme as atribuições dispostas na tabela 5. Importa destacar que diferente do esperado, mesmo tendo se partido de anidrido succínico previamente sublimado e efetuado-se repetidamente o processo de purificação do SOS, o ácido succínico não foi completamente removido nem da matéria prima, nem do produto final, conforme observado pelas absorções em torno de $3477,4\text{-}3344,3\text{ cm}^{-1}$ e $1724,2\text{ cm}^{-1}$, referentes a hidroxila e carboxila, respectivamente, formadores da função ácido carboxílico (espectros 1 e 3).



Espectro 1: Espectro de absorção no infravermelho do anidrido succínico.



Espectro 2: Espectro de absorção no infravermelho do salicilato de octila.



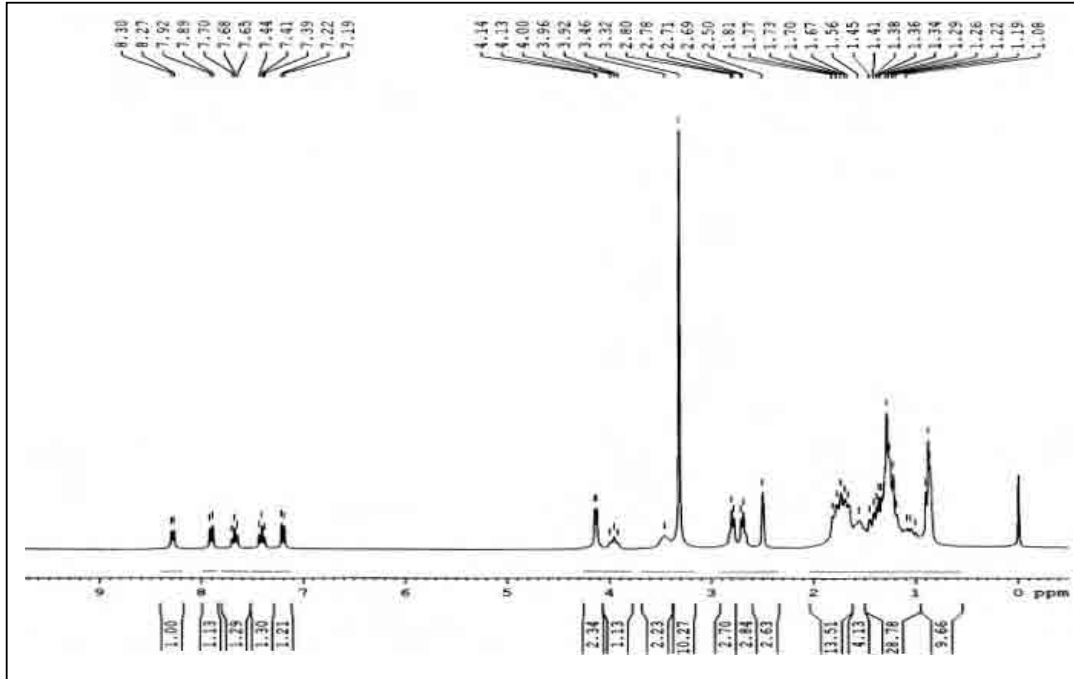
Espectro 3 : Espectro de absorção no infravermelho do SOS.

Tabela 5 – Atribuições dos espectros de infravermelho do AnS, do SO, do SOS.

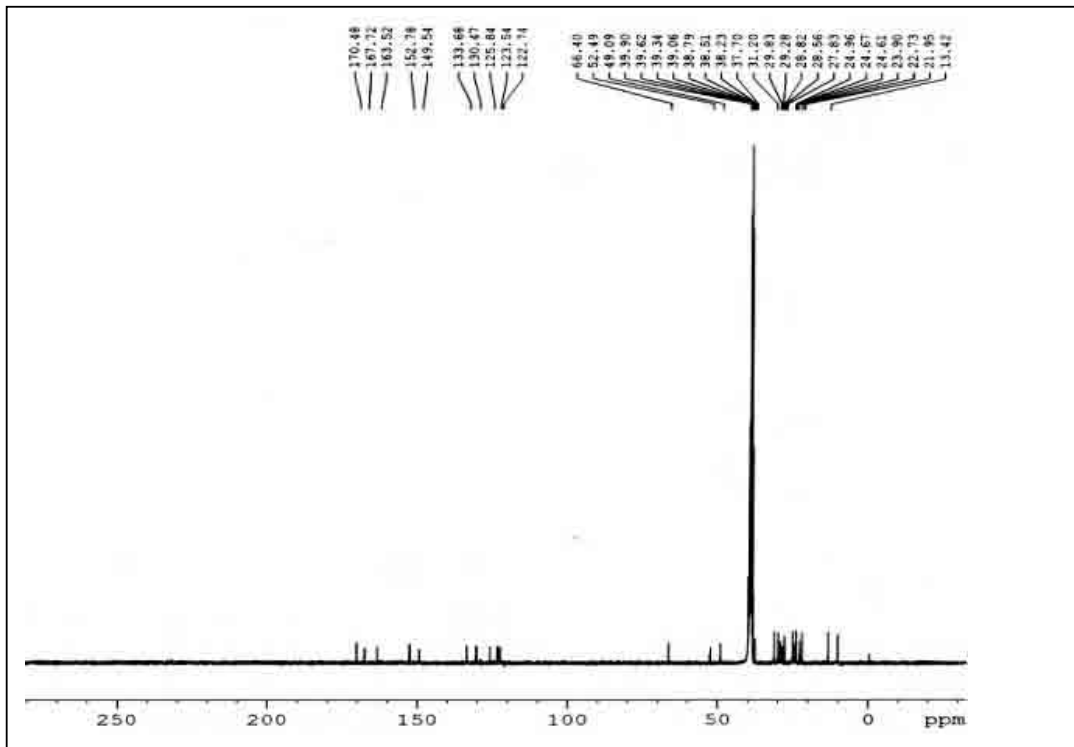
Grupo Químico	IV _v máx (KBr, cm ⁻¹)		
	AnS	SO	SOS
v OH		3178,5	3344,3
v C-H	3043,5	2925,8; 2869,9	2925,8; 2854,4
v C=O	1865,0; 1774,4	1676,0	1770,5; 1676,0;
δ C-O	1055,0	1134,1; 1087,8	1137,9; 1087,8
δ CH	914,2; 798,5	759,9; 700,1	759,9; 700,1

Por meio da RMN ¹H (espectros 4), foi possível verificar os deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios do SOS como mostra a tabela 6. Igualmente, em se tratando da RMN ¹³C (espectro 5), atribuíram-se os deslocamentos químicos dos carbonos, que mantiveram os valores próximos

aos atribuídos para os carbonos provenientes dos seus precursores. No SOS, a principal ligação, a éster, aparece em torno de 167 ppm.

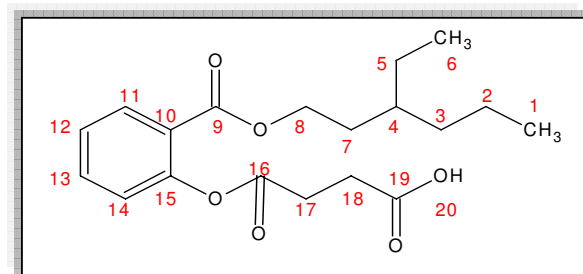


Espectro 4: Espectrometria de RMN ^1H do SOS.



Espectro 5: Espectrometria de RMN ^{13}C do SOS.

Na tabela 6 encontram-se as atribuições dos espectros 5 e 6 RMN ^1H e ^{13}C do SOS.



RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 , δ)	RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ)
0,87(H1);1,29(H2);	13,42(C1);21,95
1,08(H3);1,45(H4);	(C2);39,06(C3);
1,36(H5);0,86(H6);	38,79(C4);27,83
1,67(H7);3,96(H8);	(C5);10,27(C6);
7,90(H11);7,41(H12);	38,51(C7);66,40(C8);
7,67(H13);7,20(H14);	163,52(C9);122,74(C10);
2,79(H17);2,70(H18);	130,47(C11);
8,28(H20)	125,84(C12);
	133,68(C13);
	123,54(C14);
	152,78(C15);
	167,72(C16);
	31,20(C17);
	29,83(C18);
	170,48(C19)

5.2 Síntese do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila

O succinil octil salicilato de 5-fluoruracila (SOSFlu) foi obtido da reação entre 5-fluoruracila e succinil octil salicilato, em presença de agente condensante, no caso, dicitloexilcarbodiimida. Nesta reação a piridina, também usada como solvente, desprotona a hidroxila do SOS, aumentando seu caráter nucleofílico. Desta forma, ocorre a ativação da carbonila do ácido carboxílico livre presente no succinil octil salicilato, formando intermediário reativo. Este reagindo com a 5-fluoruracila resultaria no produto desejado e em DCU, enquanto que se reagindo com moléculas do derivado ácido geraria um anidrido e DCU como subprodutos. Em outras palavras a formação do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila ocorre devido ao ataque nucleofílico da carboxila ácida do succinil octil salicilato ao carbono imínico do DCC. Posteriormente, ocorre ataque nucleofílico do(s) nitrogênio(s) do anel piridínico do 5-fluoruracila ao carbono carbonílico do intermediário, resultando na formação da ligação imida e de ligação amida, caracterizando o subproduto DCU e o composto final, succinil octil salicilato de 5-fluoruracila, respectivamente. Tal mecanismo encontra-se ilustrado na figura 13.

Inicialmente tentativas de síntese do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila envolveram a utilização de diclorometano como solvente. Neste, comumente, ocorre a precipitação da DCU, em razão da sua baixa solubilidade no referido solvente, facilitando assim sua eliminação. Esperava-se ainda que, à medida que houvesse formação do produto desejado, este se mantivesse solúvel no meio reacional.

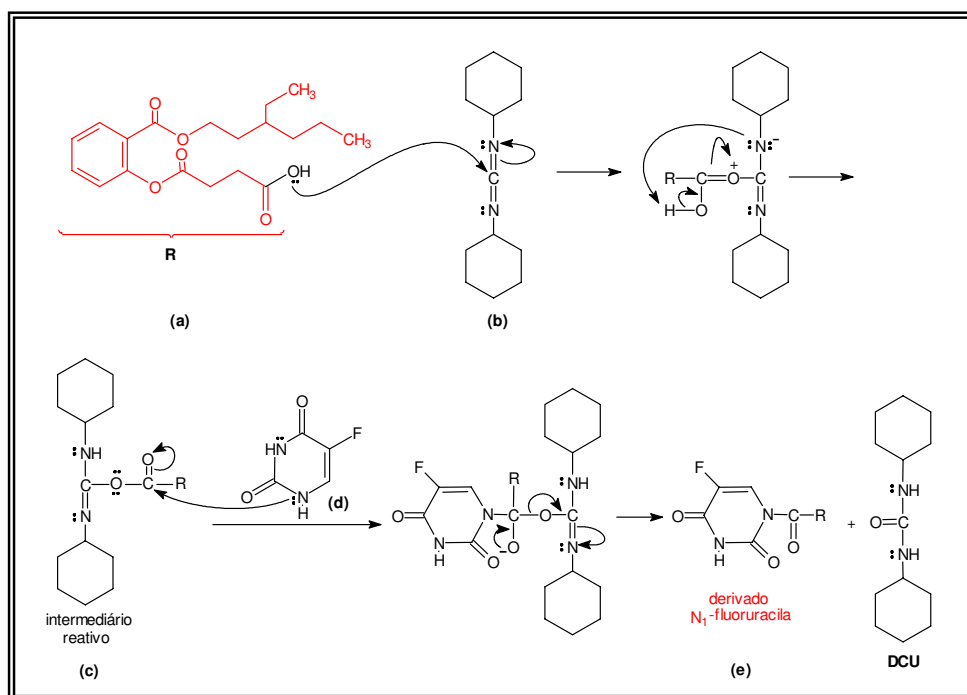


Figura 13: Representação esquemática da reação de obtenção do pró-fármaco succinoil octil salicilato de 5-fluoruracila.

- | | |
|---------------------------------|--|
| (a) - succinil octil salicilato | (d) - 5-fluoruracila |
| (b) - DCC | (e) - succinoil octil salicilato de 5-fluoruracila |
| (c) - intermediário reativo | |

No entanto, dada a insolubilidade da 5-fluoruracila no meio, não se observou a formação do produto proposto, com isolamento ao término da reação de precipitado branco que foi caracterizado como 5-fluoruracila, pela espectroscopia de absorção no infravermelho e determinação da faixa de fusão (279-283 °C).

O filtrado resultante foi particionado com água, já que se apresentava com diclorometano. Da fase orgânica isolou-se um resíduo viscoso e levemente amarelado, após destilação à pressão reduzida, e com a adição de éter ao mesmo, gerou precipitado branco com faixa de fusão de 228-232 °C e espectro no infravermelho equivalente à DCU.

O succinil octil salicilato também foi isolado da fase orgânica, apresentando uma faixa de fusão de 68-71°C, e espectro no infravermelho característico.

A partir desses resultados, o diclorometano foi substituído pela mistura de acetonitrila e piridina, buscando solucionar o problema da insolubilidade da 5-fluoruracila. Inicialmente tentou-se utilizar acetonitrila com apenas gotas de piridina, procedimento que não foi igualmente bem sucedido. Ao se utilizar proporção acetonitrila:piridina, 1:1, v/v houve solubilização completa da 5-Flu na mistura reacional, devido à basicidade da piridina. Utilizando então tal mistura de solvente o método foi estabelecido, cuja descrição foi apresentada no sub-item 4.2.1.2 e, os resultados estão dispostos e discutidos a seguir.

A síntese do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila se deu sob refluxo, agitação constante, usando acetonitrila e piridina (1:1, v/v) como solventes. A reação teve duração de 73 h, sendo acompanhada por cromatografia em camada delgada metanol:clorofórmio: (70:30; v/v). No entanto, a CCD da mistura reacional final, utilizando acetato de etila como fase móvel, melhor sistema eluente, apresentou manchas de $R_f = 0,57$ e $0,36$. Nestas mesmas condições os R_f da 5-fluoruracila e succinil octil salicilato foram de $0,27$ e $0,66$, respectivamente.

Após o período de 73 h, a mistura reacional foi filtrada, sendo o precipitado identificado como DCU e o filtrado, submetido à destilação sob pressão reduzida, gerando resíduo marrom de aspecto oleoso, que foi particionado em água e clorofórmio (q.s.p.).

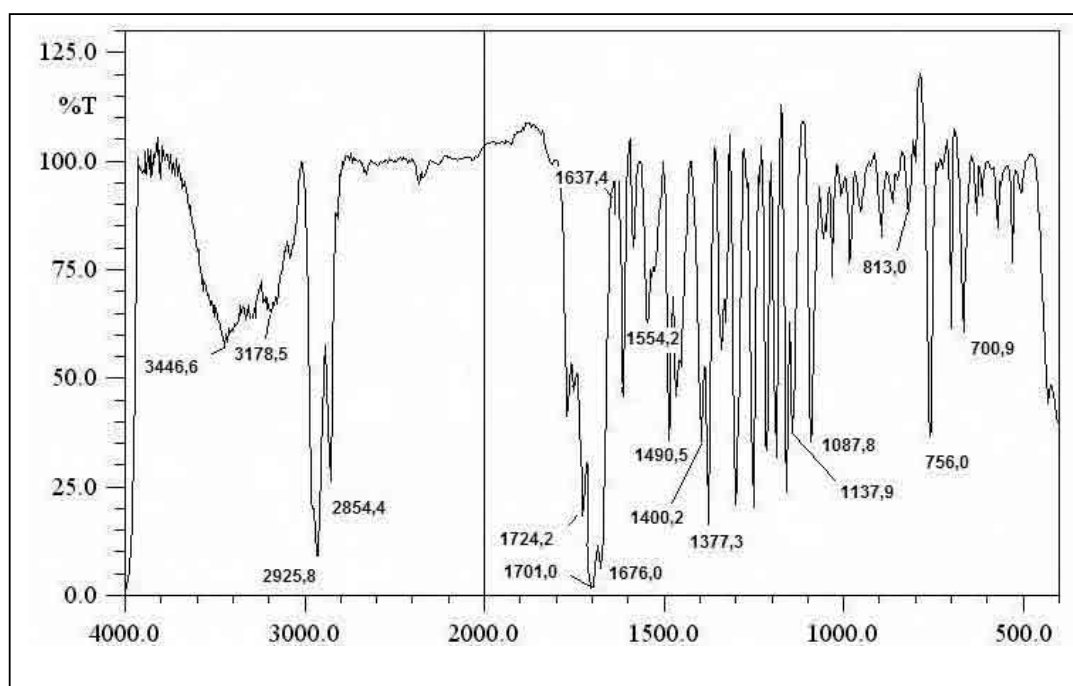
A fase orgânica submetida à destilação sob pressão reduzida no rotaevaporador resultou em resíduo viscoso, que foi denominado “R_{SOSFlu}“. Procedendo-se a cromatografia em camada delgada do resíduo da reação contra os reagentes de partida verificou-se que a mancha correspondente ao resíduo apresentava perfil cromatográfico distinto dos reagentes, sugerindo a formação de novo composto, demandando sua purificação. Para tanto, inicialmente adicionou-se ao resíduo, separadamente, vários solventes, com vistas a promover eficiente precipitação. Os solventes acetona, acetato de etila, clorofórmio, éter etílico, éter de petróleo, *n*-hexano e metanol foram testados. Éter etílico mostrou melhor resultado e foi eleito, como solvente para separar o produto de possíveis contaminantes. Ressuspendeu-se o produto em éter etílico, centrifugou-se, obtendo-se precipitado amarelado, e sobrenadante de igual coloração. O sobrenadante, submetido à destilação sob pressão reduzida, resultou novamente em resíduo semi-sólido pastoso, que mesmo após ter sido liofilizado, conservou as mesmas características. Ainda objetivando-se remover contaminantes, por completo, submeteu-se o precipitado e o resíduo à filtração à quente em etanol, utilizando-se carvão ativado. O precipitado, resultante da purificação com carvão ativado, apresentou coloração amarela parda, já o resíduo manteve as características originais, sendo submetido novamente por duas vezes ao processo de precipitação com éter etílico, sem sucesso. Em razão da quantidade de resíduo final e seu aspecto físico, as análises do mesmo foram inviabilizadas.

A faixa de fusão do precipitado mostrou-se larga (130,1-140,0°C), sugerindo que a substância ainda se encontrava impura. A espectroscopia no infravermelho realizada não apresentou indícios do estado de pureza da

substância. Adotou-se então, cromatografia preparativa como segundo recurso de purificação do precipitado. A amostra foi solubilizada em etanol, aplicada na placa, utilizando-se metanol:clorofórmio: (70:30; v/v) como sistema eluente. Terminada a eluição, visualizou-se por meio de UV quatro zonas diferentes na placa. Extraíram-se as substâncias contidas nas faixas com etanol, obtendo-se filtrados 1, 2, 3 e 4 que tiveram o solvente eliminado por completo utilizando-se o rotaevaporador. Ressolubilizou-se cada uma das quatro substâncias obtidas em etanol e procedeu-se nova CCD contra os reagentes de partida. Como sistema eluente utilizou-se metanol:clorofórmio (70:30, v/v) da cromatografia preparativa e para revelação iodo e UV foram empregados. A revelação em UV mostrou que as manchas das frações 1, 3 e 4 coincidiam com manchas dos reagentes de partida, enquanto 2 indicava ser a nova substância obtida, sendo os Rfs determinados respectivamente para 1, 2, 3 e 4 de 0,33; 0,68; 0,76; 0,85. Novas análises foram efetuadas e esta substância passou a ser denominada "SOSFlu", que foi devidamente caracterizada. SOSFlu apresenta-se como sólido cristalino amarelo pardo com faixa de fusão de 133-135,8°C. Considerando-se o rendimento bruto da reação de 52,75% e líquido de 41,28%, as perdas ocasionadas pelas tentativas de isolamento/purificação do produto desejado, ainda é necessário otimizar o método de purificação e/ou o método sintético, em especial usando proporção equimolar de DCC às carbonilas do composto de partida (SOS), desta forma, com um maior número de carbonilas ativadas, poderá a reação, passar a ter maior rendimento.

Pela análise da espectrofotometria no infravermelho (espectro 6), verificam-se absorções características dos grupamentos formadores do SOSFlu, conforme atribuições mostradas na tabela 7. As absorções geradas

pela porção do SOS são: deformações axiais em $2925,8$ - $2854,4$ cm^{-1} , relativas a CH alifático; as três carbonilas em $1770,4$; $1724,2$ e $1676,0$ cm^{-1} ; deformação angular de C-O em $1137,9$; $1087,8$ cm^{-1} e deformação angular assimétrica do aromático dissubstituído em $700,9$ e $756,0$ cm^{-1} . Nesta mesma linha, tomando a título comparativo, o espectro da 5-fluoruracila (espectro 7) e as respectivas atribuições deste (Tabela 8), o espectro do SOSFlu revela a presença de absorções relativas a essa molécula — absorção em $3446,6$ cm^{-1} atribui-se ao estiramento axial H-N da amida, as carbonilas em $1676,0$ - $1637,4$ cm^{-1} , deformações axiais relacionadas ao anel aromático aparecem em $1612,4$; $1490,5$; $1400,2$ cm^{-1} e deformação angular em $813,0$ cm^{-1} . Destaca-se que a absorção relativa a ligação amida formada entre SOS e 5-FLU em $1701,6$ cm^{-1} .



Espectro 6: Espectro de absorção no infravermelho do SOSFlu.

Tabela 7 - Espectrofotometria no infravermelho do SOSFlu.

<i>Grupo químico</i>	<i>v_{máx} (KBr, cm⁻¹)</i>
v N-H	3446,6
v C-Hsp ²	3178,5
v C-Hsp ³	2925,8; 2854,4
v C=O	1770,4; 1751,0; 1701,0; 1676,0; 1637,4
v CH=CH _{Ar}	1554,2; 1490,5; 1400,2; 1377,3; 1301,0; 1217,2
δ C-O	1137,9; 1087,8
δ CH _{Ar} .	813,0; 756,0; 700,9

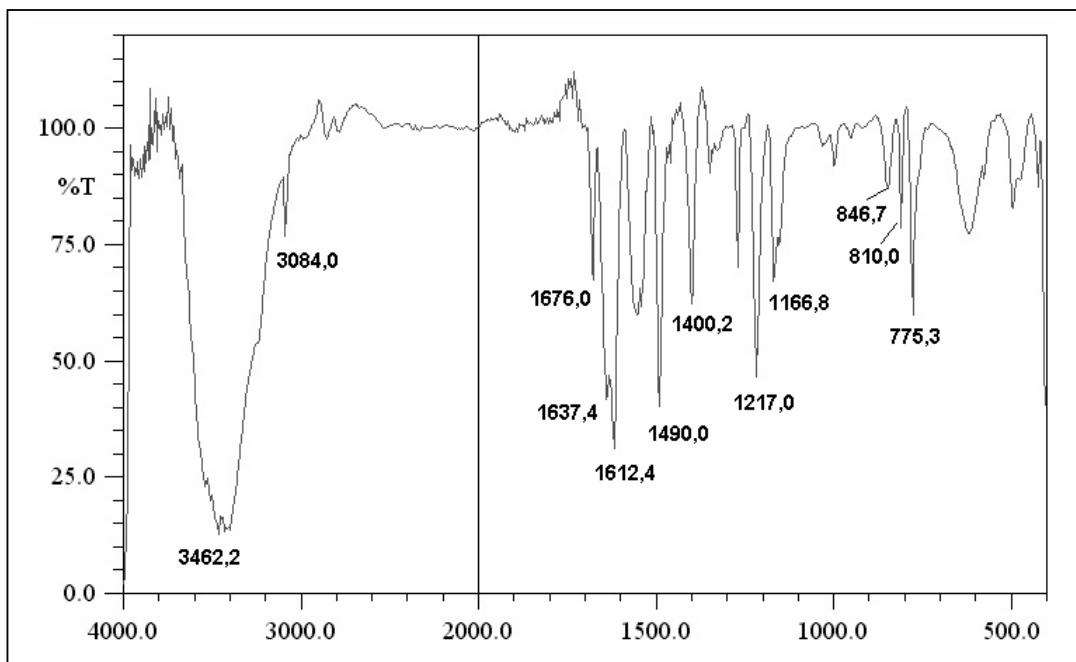
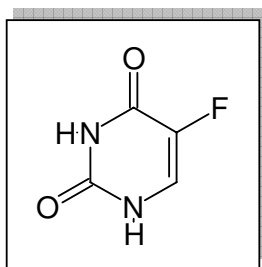
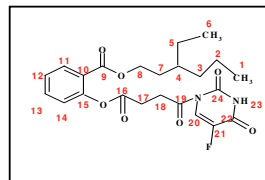
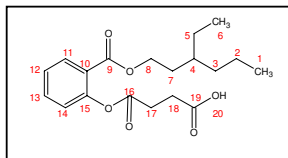
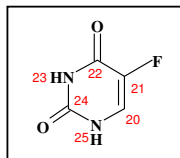
**Espectro 7:** Espectro de infravermelho da 5-fluoruracila comercial.

Tabela 8 - Espectrofotometria no infravermelho da 5-fluoruracila comercial.

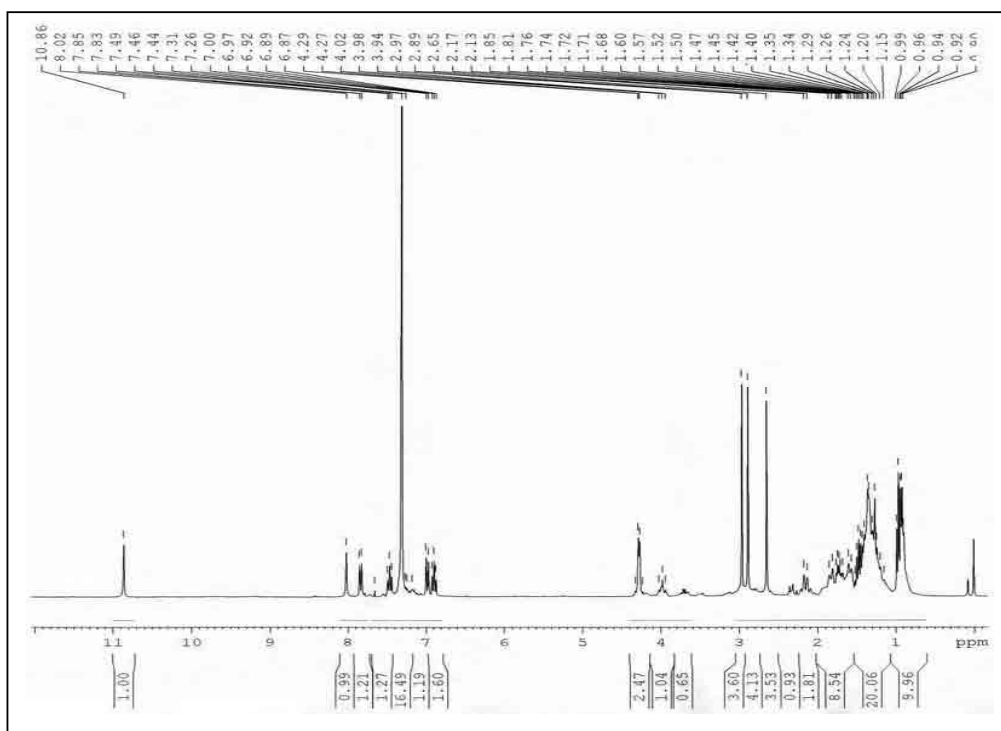
Grupo químico	$\nu_{\text{máx}}$ (KBr, cm^{-1})
ν N-H	3462,0
ν C-H	3084,0
ν C=O	1676,0; 1637,4
ν CH=CH _{Ar}	1612,4; 1490,9; 1400,2
δ CH _{Ar} .	810,0; 846,7; 775,3

Efetuada a análise do produto por RMN ^1H e RMN ^{13}C , para confirmação da sua identidade, obteve-se os espectros 8 e 9, cujas atribuições estão dispostas na tabela 9:

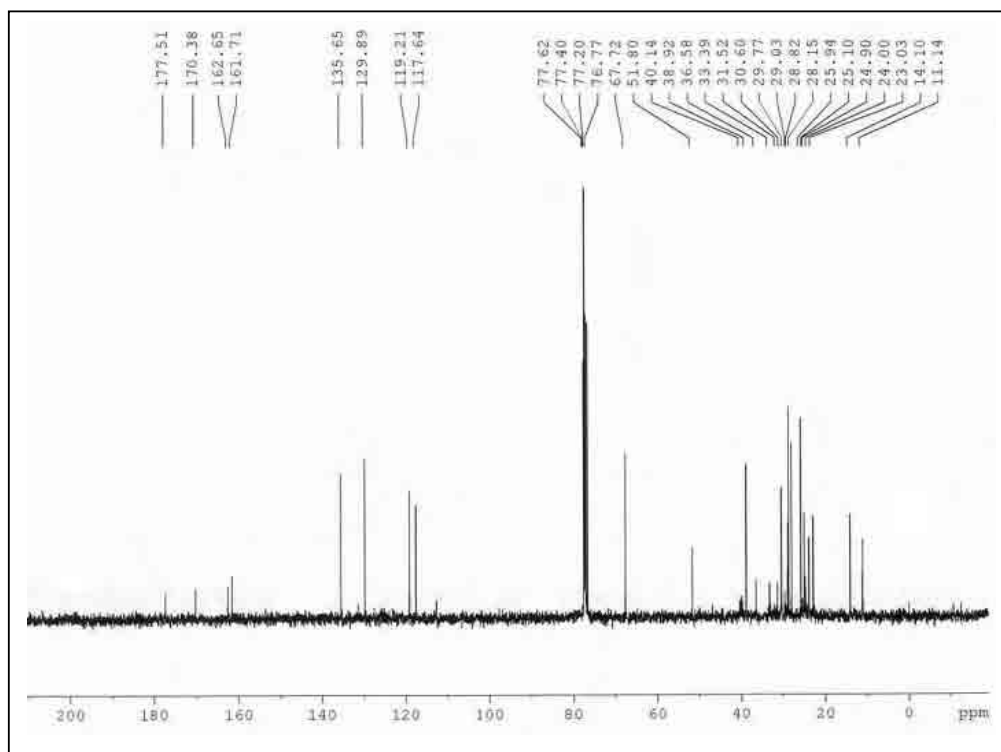
Tabela 9 - Espectrometria de RMN de ^1H e de ^{13}C do SOSFlu.

5-Flu [*]		SOS		SOSFlu	
RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 O, δ)	RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ)	RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 , δ)	RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ)	RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 , δ)	RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6 , δ)
H20-7,80	C20-126,34	H1-0,87	C1-13,42	H1-0,99	C1-14,20
H23-10,78	C21-138,16	H2-1,29	C2-21,95	H2-1,20	C2-23,02
H25-11,45	C22-149,91	H3-1,08	C3-39,06	H3-1,19	C3-40,14
	C24-157,94	H4-1,45	C4-38,79	H4-1,45	C4-38,92
		H5-1,36	C5-27,83	H5-1,35	C5-28,82
		H6-0,86	C6-10,27	H6-0,90	C6-11,14
		H7-1,67	C7-38,51	H7-1,68	C7-31,52
		H8-3,96	C8-66,40	H8-3,98	C8-67,72
		H11-7,90	C9-163,52	H11-7,84	C9-162,65
		H12-7,41	C10-122,74	H12-6,96	C11-129,89
		H13-7,67	C11-130,47	H13-7,46	C12-119,21
		H14-7,20	C12-125,84	H14-6,88	C13-135,65
		H17-2,79	C13-133,68	H17-2,97	C14-117,64
		H18-2,70	C14-123,54	H18-2,89	C16-170,38
		H20-8,28	C15-152,78	H23-10,86	C17-30,60
			C16-167,72	H20-7,31	C18-29,77
			C17-31,20		C19-177,51
			C18-29,83		C24-161,71
			C19-170,48		

*BAYOMI et.al., 1989



Espectro 8: Espectrometria de RMN de ^1H do composto do SOSFlu.



Espectro 9: Espectrometria de RMN de ^{13}C do composto do SOSFlu.

Nas análises de RMN ^1H (espectro 8) e RMN ^{13}C (espectro 9), realizada do SOSFlu, contudo, observa-se a presença da ligação N-H em torno de 10,86 ppm, sendo 10,78 o indicado na literatura (BAYOMI & AL-BADR, 1989) e a presença de grupos metilas e metilenos em torno de 2 ppm.

É importante notar o aparecimento do deslocamento químico em torno de 7,31 ppm, o que pode evidenciar o sinal do próton da posição 20 (C-H), da molécula da 5-fluoruracila, cuja presença em campo mais desprotegido, pode ser indicativo da ligação no N_1 , uma vez que não apresenta efeito anisotrópico do grupamento vizinho. O sinal que indica a formação da ligação amídica aparece em 177,51 ppm e o sinal em torno de 161,72 ppm pode ser atribuído ao carbono carbonílico da 5-fluoruracila da posição 24. O sinal do carbono carbonílico da posição 22 e os carbonos quaternários da posição 10 e 15 não foram visualizados neste espectro, talvez isto tenha ocorrido devido à curta disponibilidade de tempo à acumulação da solução submetida à análise que estava diluída. O sinal do carbono da 5-fluoruracila da posição 20 (C-H) pode estar presente num pequeno sinal em torno de 116 ppm.

Dada a presença dos grupamentos amídico e imídico na molécula da 5-fluoruracila, isômeros estruturais podem ser gerados na reação de obtenção do succinil octil salicilato de 5-fluoruracila, sendo dois isômeros monossustituídos (N_1 ou N_3) e um dissustituído (N_1 e N_3) (figura 14).

Segundo Kametani e colaboradores, a posição de acilação é dependente da temperatura de reação, da base orgânica utilizada e do agente acilante envolvido no meio reacional (KAMETANI et al., 1980). No entanto, pode ocorrer a formação de compostos N_1 e N_3 substituído, devido à estabilidade, já que, o F aumenta a acidez do próton N_1 e a presença do próton

dicarbonílico do N₃ também o torna ácido, portanto, o comportamento nucleofílico de ambos os derivados se torna favorável (figura 14).

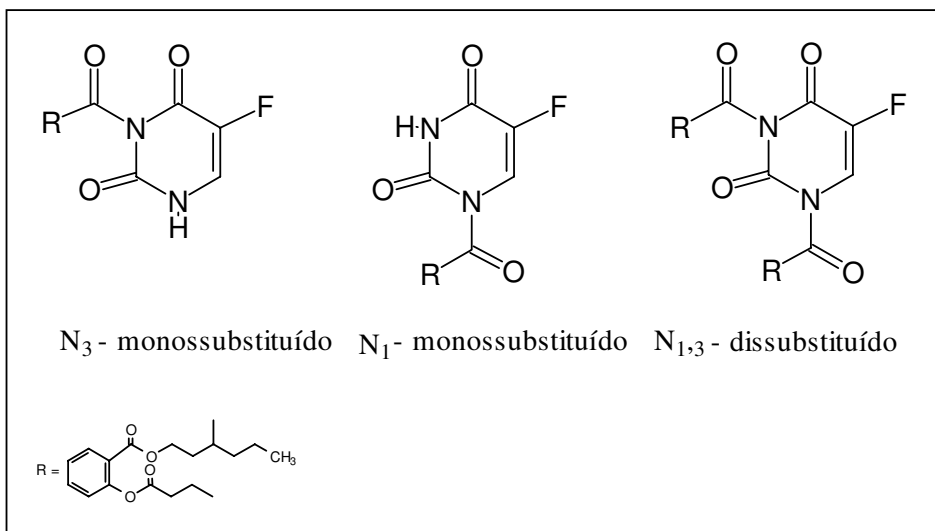


Figura 14: Derivados N-substituídos da 5-fluoruracila.

No presente trabalho, conforme dados de RMN, sugere que o derivado formado é o N₁-monossubstituído, sendo que esta afirmação se baseia, especialmente, no fato de que, no caso do derivado dissubstituído, muito mais sinais deveriam ser visualizados, o que não ocorreu em qualquer análise efetuada dos compostos sintetizados e, em relação ao N₃-monossubstituído a diferença, embora sutil, deve ser considerada em relação especialmente ao sinal do H 20 que aparece neste composto em campo mais protegido, com sinal 8,0 ppm.

➤ Coeficiente de extinção molar (ϵ)

O estudo do coeficiente de extinção molar indica a intensidade de absorção de uma amostra em determinado comprimento de onda, sendo proporcional à probabilidade de ocorrência da transição eletrônica da estrutura

da molécula, ou seja, quanto maior o valor obtido, maior a capacidade da molécula em absorver a energia. A absorção de uma molécula depende então da capacidade de seus elétrons absorverem a energia e se excitarem, permitindo que ocorra transição de um orbital molecular ocupado (ligante) ao primeiro orbital de energia superior (antiligante). A transição eletrônica de um composto qualquer está ligada à facilidade que sua estrutura tem para produzir uma estrutura ressonante. Dessa forma, existem moléculas que apresentam simetria que permite ou facilita o deslocamento eletrônico ou cuja simetria dificulta ou impede o deslocamento eletrônico (CHEMKEYS, 2005).

No caso do salicilato de octila, este apresenta substituinte no anel benzênico em posição orto, produzindo assim impedimento estérico, dificultando o deslocamento eletrônico e conseqüentemente a absorção é prejudicada.

A determinação destes valores é a base sobre a qual a efetividade dos filtros solares é avaliada, para que este seja eficiente, necessita apresentar coeficiente alto na faixa de absorção de UV (290 a 320 nm).

Portanto, neste trabalho, a determinação dos valores do coeficiente de extinção molar é importante, pois sendo o composto sintetizado derivado de um fotoprotetor (salicilato de octila), após a sua liberação no local de ação específico terá a função de proteger a pele contra a radiação ultravioleta, ou seja quanto maior o valor obtido, maior será a efetividade do composto como filtro solar.

Para a determinação do coeficiente de extinção molar, foram preparadas soluções etanólicas em concentração de 2×10^{-4} mol/L para cada composto em questão. Os resultados do coeficiente foram baseados no

comprimento de onda de valor máximo ($\lambda_{\text{máx}}$) e sua respectiva absorbância (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000), sendo dados pela tabela 10, segundo os gráficos 3, 4 e 5.

O coeficiente é obtido da Lei de Lambert-Beer baseada no caminho óptico da cela de absorção (b), absorbância (A) e concentração da amostra (c), aplicados na fórmula $A = \epsilon \cdot c \cdot b$.

Tabela 10- Coeficiente de extinção dos compostos em álcool etílico.

Composto	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Absorbância (A)	ϵ
SO	λ_1 : 212	A_1 : 2,191	ϵ_1 : 10955
	λ_2 : 237	A_2 : 2,380	ϵ_2 : 11900
	λ_3 : 305,5	A_3 : 1,186	ϵ_3 : 5930
SOS	λ_1 : 209	A_1 : 2,400	ϵ_1 : 12000
	λ_2 : 226	A_2 : 1,739	ϵ_2 : 8695,5
	λ_3 : 277	A_3 : 0,195	ϵ_3 : 975
	λ_4 : 305	A_4 : 0,121	ϵ_4 : 605
SOSFlu	λ_1 : 216	A_1 : 2,407	ϵ_1 : 12035
	λ_2 : 236,5	A_2 : 2,466	ϵ_2 : 12330
	λ_3 : 305,5	A_3 : 1,055	ϵ_3 : 5275

Coeficiente de extinção molar (ϵ): $c = 2 \cdot 10^{-4}$ mol/L; $b = 1$ cm

Gráfico 3: Determinação coeficiente de extinção molar do salicilato de octila.

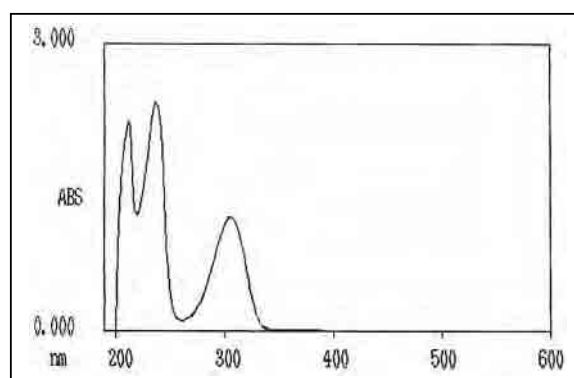
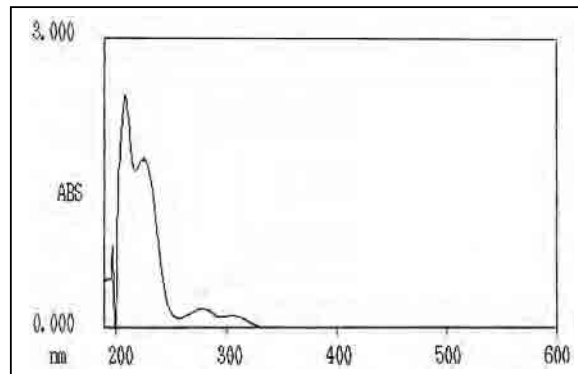
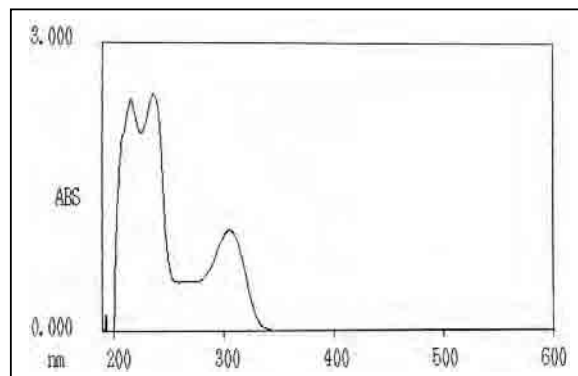


Gráfico 4: Determinação coeficiente de extinção molar do succinil octil salicilato.**Gráfico 5:** Determinação coeficiente de extinção molar do succinoil octil salicilato de 5-fluoruracila.

Apesar do composto final ser orto substituído, como era de se esperar, o resultado do coeficiente de extinção molar, apresentou-se com valores significativamente maiores em relação ao composto de partida, salicilato de octila. Isso se deve à introdução de grupamentos cromóforos na posição orto da molécula do salicilato de octila, substituindo a hidroxila, alterando dessa forma tanto o comprimento de onda quanto a intensidade de absorção, facilitando a ressonância e conseqüentemente aumentando ϵ , melhorando, portanto a sua efetividade como filtro solar (SILVERSTEIN &

WEBSTER, 2000; SBCD, 2005), já que o aumento da capacidade de absorver a energia UV está diretamente relacionada com o aumento do coeficiente de extinção molar dos filtros químicos.

➤ Coeficiente de partição

Os valores do coeficiente de partição (*Log P*) dos compostos succinil octil salicilato e succinoil octil salicilato de 5-fluoruracila foram obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando-se coluna de fase reversa preenchida com octadecilsilano (C18) como fase estacionária, e como fase móvel solução tampão Prisma base com pH igual a 7,4 e álcool metílico, sendo este último em concentrações de 50%; 55%; 60%; 65%; 70% e extrapolado à zero, tanto para as soluções padrão quanto para os compostos sintetizados.

O procedimento foi realizado em sala com temperatura controlada e ajustada para 23,0 °C. Foram aplicadas injeções de soluções padrão e dos compostos em cada concentração de metanol, registrando-se o tempo de retenção de cada amostra — tempo que o pico do analito leva para alcançar o detector após a introdução da amostra na porta de injeção.

Desta forma, após estabilização da linha de base do aparelho, amostras de tiouréia, benzamida, acetofenona, 4-clorofenol e bisfenila, substâncias padrão, cujos valores de *LogP* são conhecidos (KLEIN, *et al.*, 1988) foram injetadas na coluna, com fluxo contínuo de 0,5ml/min, em volumes de 5,0µL e a diferentes concentrações metanólicas. A tiouréia foi usada para a determinação do tempo morto do sistema cromatográfico. A partir dos tempos de retenção extrapolados para zero (t_{R0}) determinaram-se os

correspondentes valores da constante de capacidade K' foram determinados para cada um dos padrões. Para tanto, tem-se que:

$$K_A = (t_a - t_0) / t_0, \text{ sendo:}$$

K'_A - constante de capacidade

t_0 - tempo de retenção da tiouréia

t_a - tempo de retenção da espécie A.

Obtém-se assim, os valores do $\text{Log}P$.

Vale destacar ainda que, os valores de K' obtidos para cada padrão e seus correspondentes valores de $\text{Log}P$ são usados para caracterizar, calibrar e validar o sistema cromatográfico.

$$\text{Log}P = a \log K' + b, \text{ sendo:}$$

$\text{Log}P$ - coeficiente de partição

$\log K'$ - coeficiente de capacidade determinado pelo método de HPLC

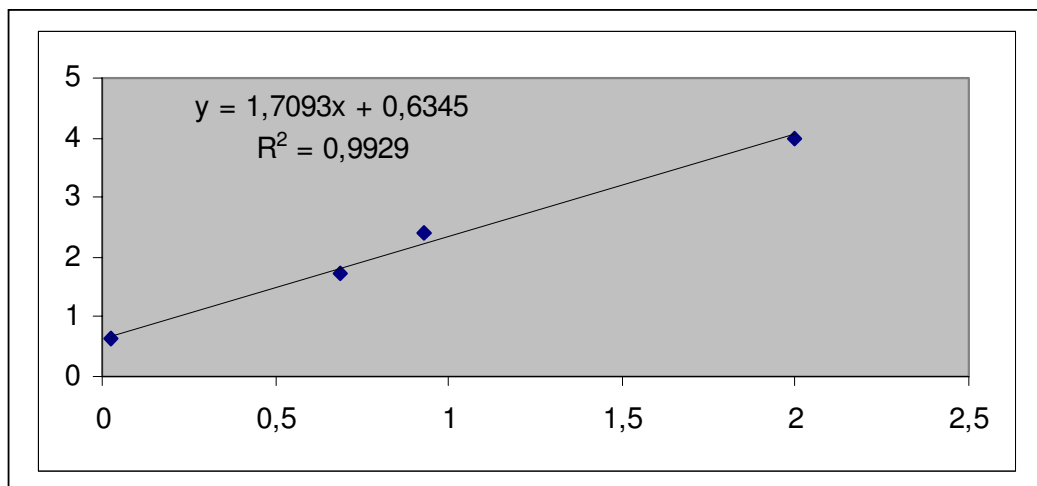
a, b - coeficientes angulares.

A tabela 11 apresenta os valores de tempo de retenção, do fator de capacidade (K'), do logaritmo de $\log K'$, do $\log P$ das substâncias padrão registrados na literatura, e do $\log P$ dos compostos sintetizados através desses resultados se obtém o gráfico da curva de calibração, que visa calibrar o sistema de partição HPLC (gráfico 6) e a equação de correlação entre os padrões e os compostos. Através dela determina-se os valores de $\log P$ dos compostos SOS e SOSFlu.

Tabela 11: Valores de log P determinados (pH 7,4 por HPLC usando metanol/tampão).

Composto	Tempo de retenção	k	log K	log P Literatura	log P Experimental (HPLC)
tiouréia	1,6936	0			
benzamida	3,4940	1,063061	0,026558	0,64	
acetofenona	9,9812	4,893481	0,689618	1,73	
p-clorofenol	16,114	8,514643	0,930166	2,4	
bifenila	170,897	99,90753	1,999598	4,0	
SOS	126,000	73,39773	1,865683		3,82
SOSFlu	433,1677	254,7674	2,406144		4,75

Gráfico 6: Curva de calibração do sistema de partição por HPLC



Fase estacionária: coluna C8 C18 de 7,5cm; fase móvel: misturas de metanol/tampão (tris-HCl pH 7,4 força iônica 0,1M (NaCl) nas proporções de 75/25; 70/30; 65/35; 60/40; 65/45; 50/50. Os tempos de retenção usados são extrapolados para 100% de tampão.

O estudo do coeficiente de partição para os compostos sintetizados é fundamental, pois as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas são influenciadas pela lipofilia dos compostos biologicamente ativos, ou seja, as características estruturais de um fármaco refletem nas propriedades de transporte no sistema biológico. Portanto essas características devem ser compatíveis com a natureza da membrana que o fármaco deve atravessar, constituindo um fator limitante para que este atinja o local de ação (RAMA et al., 2006).

No caso 5-fluoruracila que apresenta alta hidrofiliabilidade ($\log P = -0,83$), (QUIGLEY & LLOYD, 2002) este parece ser um dos parâmetros físico-químicos que torna o seu uso tópico limitado, pois a alta hidrofiliabilidade dificulta tanto a penetração nas membranas biológicas quanto na pele diminuindo assim sua liberação nos locais de ação (PATRICK et al., 1997).

Pela tabela 11 podemos notar que os valores de $\log P$ encontrados para os compostos sintetizados (SOS, SOSFlu), indica um grande aumento da lipofiliabilidade, o que pode resultar numa melhora da sua permeabilidade na pele quando do seu uso tópico.

6 - Conclusão

Para o alcance do objetivo proposto empregou-se um dos processos de modificação molecular, a latenciação, com a realização de 2 etapas sintéticas para a obtenção do pró-fármaco de salicilato de octila e 5-fluoruracila:

➤ Os compostos sintetizados, succinil octil salicilato e succinoil octil salicilato de 5-fluoruracila, foram caracterizados por meio de análises espectrofotométrica de infravermelho, determinação da faixa de fusão e CCD, cuja comprovação efetivou-se por meio da espectrometria de ressonância nuclear de ^{13}C e ^1H .

➤ A obtenção do succinil octil salicilato envolveu o uso de salicilato de octila, anidrido succínico, DCC e ácido sulfúrico, sob 28h de refluxo e agitação.

➤ Embora o succinoil octil salicilato de 5-fluoruracila tenha sido obtido, o rendimento foi baixo, provavelmente ocasionado pelas perdas ocorridas durante as tentativas de isolamento/purificação do produto desejado, sendo ainda necessário otimizar o método de purificação e/ou o método sintético.

➤ O coeficiente de partição comprova o aumento da lipofilicidade do composto sintetizado.

7- Perspectivas

Este trabalho não se encerra aqui, haja vista além da necessidade de otimizar a obtenção do succinoil octil salicilato de 5-fluoruracila e sua análise, esclarecendo a efetiva ligação entre os átomos formadores da molécula, Vale destacar que, ensaios biológicos de permeação cutânea e fotoproteção já estão sendo encaminhados. Ademais, propõe-se realizar estudo da cinética de liberação da 5-fluoruracila e do salicilato de octila.

8 - Referências Bibliográficas

ALMEIDA, J.R.C. Conceitos gerais em oncologia. **Farmacêuticos em Oncologia. Uma nova realidade**. Ed. Atheneu, p. 1-11, 2004a.

ALMEIDA, V.L.; LEITÃO, A.; REINA, B.L.C.; MONTANARI, C.A.; DONNICI, C.L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específico e ciclo-celular não específico que interagem com o DNA: Uma introdução. **Quim. Nova**, v.28, n.1, p.118-129, 2005.

ASHTON, H.; BEVERIDGE, G.W.; STEVENSON, C.J. Topical treatment of skin tumors with 5-fluoruracil. **Br. J. Dermatol.**, v.82, n.2, p.207-209, 1970.

AZEVEDO, G.; MENDONÇA, S. Risco crescente de melanoma de pele no Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.26, n.4, 1992.

BAYOMI, S.M., AL-BADR, A. Analytical Profile of 5-fluoruracil. **Analytical Profiles of drug substances**, v.18, p.599-639,1989.

BEALL, H.D.; SLOAN, K.B. Topical delivery of 5-fluorouracil (5-Fu) by 3-alkylcarbonyl-5-Fu prodrugs. **Int. J. Pharm.**, v.129, p.203-210, 1996.

BEALL, H.D.; SLOAN, K.B. Transdermal delivery of 5-fluoruracil (5-FU) by 1-alkylcarbonyl-5-FU prodrugs. **Int. J. Pharma.**, v.129, p.203-210, 1996.

BIGBY, S.M.; CHARLTON, A.; MILLER, M.V.; ZWI, L.J.; OLIVER, G.F. Biphasic sarcomatoid basal cell carcinoma (carcinosarcoma): four cases with immunohistochemistry. **J. Cutaneous Pathology**, v.32, n.2, p.141, 2005.

BONASSA, E.M. A Enfermagem em Quimioterapia. São Paulo: Atheneu, p. 279, 1996.

BRAUD, F.; KHAYAT, D.; KROON, B.B.R.; VALDAGNI, R.; BRUZZI, P.; CASCINELLI, N. Malignant Melanoma. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, n.47, p.35-63, 2003.

BROWN, J.R.; DUBOIS, R.N. Cyclooxygenase-2 in Lung Carcinogenesis and Chemoprevention. **J. Invest. Dermatol.**, v.125, n.5, p.134S - 140S, 2004.

BROWN, J.R.; DUBOIS, R.N. Treatment with 5-Fluorouracil and Celecoxib Displays Synergistic Regression of Ultraviolet Light B-Induced Skin Tumors. **J. Invest. Dermatol.**, v.122, n.6, p.1488 – 1494, 2004.

BUNDGAARD, H. Novel chemical approaches in prodrug design. **Drug Fut.**, v.16, n.5, p.443-458, 1991.

BUVANENDRAN, KROIN, J.S.; TUMAN, K.J.; LUBENOW, T.R.; ELMOFTY, D.; MORIC, M.; ROSENBERG, A.G. Use of Cyclooxygenase-2 Inhibition to Enhance the Efficacy of Immunotherapy. **Cancer Res.**, v.63, n.22, p.7845 – 7852, 2003.

CALABRESI, P.; CHABNER, B.A. Chemotherapy of neoplastic diseases. *In*: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G editors. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.10th ed. New York, p.1381-1459, 2001.

Câncer de Pele na zona rural. Disponível na Internet em: <<http://www.ufrj.br/institutos/it/de/acidentes/riscos.htm>. Acesso em 16 set. 2005

CARVALHO, C.A.; CUNHA, M.E.; GIULIANI, R.; BAKOS, L.; ASHTON-PROLLA, P. Melanoma hereditário: prevalência de fatores de risco em um grupo de pacientes no sul do Brasil. **An.bras.Dermatol.**, v.79, n.1, p.53-60, 2004.

CHUN, D.; GU, J.; LIU, W.; FAWCETT, J.P.; DONG, Q. Sensitive liquid chromatographic assay for the simultaneous determination of 5-fluoruracil and its prodrug, tegafur, in beagle dog plasma. **J. Chromat.B.**, v.795, p.377-382, 2003.

CHEMKEYS. Elemento de espectroscopia. Disponível na Internet em: <<http://www.chemkeys.com>. Acesso em 08 dez. 2005.

ESTAÇÃO DE MONITORAMENTO AMBIENTAL. Disponibilizando informações sobre a intensidade de irradiação UVB atingindo a superfície do sul do Brasil desde janeiro de 1997. Disponível na internet em: <<http://www.monamb.furg.br>. Acesso em 22 de agos. 2006.

CULLEN, S. I. Topical fluoruracil therapy for precancers and cancers of the skin. **J. Am. Geriatr. Soc.**, v.27, n.12, p.529-35, 1970.

CUMMINGS, S.R.; TRIPP, M.K. HERMANN, N.B. Approaches the prevention and control of skin cancer. **Cancer and Metastasis Review**, v.16, p.109-327, 1997.

DELONG, P.; TANAKA, T.; KRUKLITIS, R.; HENRY, A.C.; KAPOOR, V.; KAISER, L.R.; STERMAN, D.H.; ALBELDA, S.M. Use of Cyclooxygenase-2 Inhibition to Enhance the Efficacy of Immunotherapy. **Cancer Res.**, v.63, n.22, p.7845 – 7852, 2003.

DELONG, P.; TANAKA, T.; KRUKLITIS, R.; HENRY, A.C.; KAPOOR, V.;KAISER, L.R.; STERMAN, D.H.; ALBELDA, S.M. Cyclooxygenase-2 in Lung Carcinogenesis and Chemoprevention. **Cancer Res.**, v.125, n.5, p.134S - 140S, 2004.

DOMINGUEZ, J.F.; MARCHAL, J.A.; CORREA, A.; CARILLO, E.; BOULAIZ, H.; ARÁNEGA, A.; GALLO, M.A.; ESPINOSA, A. Synthesis and evaluation of new 5-fluoruracil antitumor cell differentiation derivatives. **Bioorg. Med. Chem.**, v.11, p.315-323, 2003.

EPSTEIN, E. Treatment of lip keratoses with topical fluoruracil. **Arch. Dermatol.**, v.113, n.7, p.906-08, 1977

ESPINOSA, A.; MARCHAL, A.E.; ARÁNEGA, A.; GALLO, M.A.; AIELLO, S.; CAMPOS, J. Antitumoral properties of benzannelated seven-membered 5-fluoruracila derivatives and related open analogous. Molecular markers for apoptosis and cell cycle dysregulation. **IL. Farmaco**, v.60, p.91-97, 2005.

FERGUSON, M.J.; AHMED, F.Y.; CASSIDY, J. The role of pro-dug terapy in the treatment of cancer. **Drug Resistance Updates**, v.4, p.225-232, 2001.

FERREIRA, E.I.; KOROLKOVAS. Pró-fármacos e Latenciação. **Quím. Nova**, v.3, n.3, p.113-28, 1980.

FRIIS, G.J.; BUNDGAARD, H. Design and applications of prodrug. In: KROGSGAARD-LARSEN, P.; LILJEFORS, T.; MADSEN, U. **A textbook of drug design and development**, 2^a ed, Oxford: Harwood Academic Press, p. 351-385, 1996.

GMEINER, W.H. Novel chemical strategies for thymidylate synthase inhibition. Department. **Curr.Med.Chem.**, v.12, n.2, p.191-202, 2005.

HOSPITAL DO CÂNCER-AC CAMARGO. **Departamento de Oncologia Cutânea do Hospital do Câncer**. Disponível na Internet em: < <http://www.hcanc.org.br>> Acesso em 24 jun. 2004.

JAFFE, H.H; ORCHIN, M. Theory and Application of ultraviolet spectroscopy, p.111, 1964.

KAMETANI, T.; KIGASAWA, K.; HIIRAGI, M.; WAKISAKA, K.; OKADA, T.; NAKAYAMA, M. Studies on the synthesis of chemotherapeutics. Synthesis and antitumor activity of N-Acyl-and N-(alkoxycarbonyl)-5-fluoruracil derivatives. **J.Med.Chem.**, v.23, p.1324-1329, 1980.

KERR, J.B.; ELROY, C.T. Evidence for large upward trends of ultraviolet B radiation linked to ozone depletion . **Sci.**, v.262, p.1032-1034, 1993.

KLEIN, W.; KORDEL, W.; WEISS, M.; POREMSKI, H.J. Updating Of The OECD Test Guideline 107 Particion-Coefficient N-Octanol Water-OECD Laboratory Intercomparison Test On The HPLC Method. **Chemosphere**, v.17, n. 2, p.361-386, 1988.

KLIGERMAN, J. Estimativa sobre incidência e mortalidade por câncer no Brasil-2000. **Rev. Bras. Canc.**, v.46, n.1, 2000.

KLIGMAN, A. M. Solar damage to the skin. **Drug Cosm. Ind.**, v.123, n.3, p. 33-44, 112-113, 1978.

KOROLKOVAS, A. **Essential of medicinal chemistry**, 2^a ed. New York: Wiley-Interscience, p.1204, 1988.

KUBINYI, H. QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches. In: MANNHOLD, R., KROSGAARD-LARSEN, P., TIMMERMAN, H., Eds. **Methods and Principles in Medicinal Chemistry**, v.1, 1993a.

LEMKE, T.L. Cancer and cancer chemotherapy agents. In: FOYE, W.O; LEMKE, T.L.; WILLIAMS, D.A. (Ed). **Principles of medicinal chemistry**, 4th ed. Philadelphia: Willians & Wilkins, p. 924-949, 1995.

LIMA, J.L.O. Modalidade terapêutica:Princípios Gerais. Educando para ter saúde. Disponível na Internet em:<<http://www.napacan.com.br>> Acesso em 20 jul. 2004.

LUDWIG, P.S.; SCHWENDENER, R.A.; SCHOTT, H. Synthesis and anticancer activities of amphiphilic 5-fluoro-2'-deoxyuridylic acid prodrugs. **European J. Med. Chem.**, v.40, p.494-504, 2005.

MACDONALD, C.M.; TURCAN, R.G. **Sites of drug Metabolism, Prodrugs an Bioactivation**. In: TAYLOR, J.B. (Ed). *Comprehensive medicinal chemistry: the rational design, mechanistic study & therapeutic application compounds*. Oxford: Pergamon Press, v.5, p.11-141, 1990.

MARTIN, M., RIEGER, P.H.D. Efeito protetor dos filtros solares contra patologias da pele. **Cosm.Toil.**, v.1, p.33-40, 1989.

McCARTHY, W.H. The Australian experience in sun protection and screening for melanoma. **J. Surg. Oncol.**, v.86, n.4, p.236-245, 2004.

McEVOY, J.P. (Ed.) **American Hospital Formulary Service**, v.8, p.24, 1974. American Society of Hospital Pharmacists: Washington DC. In: WERMUTH, C.C. **The practice of medicinal chemistry**. San Diego: Academic Press, 1996.

MENGER, F.M.; ROURK, M.J. Synthesis and reactivity of 5-fluoruracil/cytarabine mutual prodrugs. **J. Org. Chem.**, v.62, p.9083-9088, 1997.

MOTA, E.D.; PAES, M.,T.,C., SERRANO, S.,C. El sol y los filtros solares. **Medifam**, v.13, n.3, p.159-165, 2003.

NASSER, N. Epidemiologia dos cânceres espinocelulares-Blumenau (SC)-Brasil, de 1980 a 1999. **An.Bras.Dermatol.**, v.79, n.6, p.1-12, 2004.

NCI- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Tipos de câncer de pele- Sinais e Sintomas**. Disponível na Internet em: <<http://www.nci.nhi.gov>>Acesso em 20 Jul.2004.

OSTERWALDER, U.; LUTHER, H.; HERZO B. Novo protetor UVA. **Cosm.Toil.**, v.12, n.4, p.52, 2000.

PAGE, C.P.; CURTIS, M.J.; SUTTER, M.C.; WALKER, M.J.A.; HOFFMAN, B.B. Neoplasias. **Farmacologia Integrada**. 1th ed., p. 501-522, 1999.

PATINI, G. Perfluoropolyethers in sunscreens. **Drug Cosmet. Ind.**, p. 142-143, 1998.

PATRICK, A.I.; BEALL, H.D.; GILROY, P.; SLOAN, K.B. Effect of vehicles on topical delivery of 5-fluoruracil (5FU) by 1-acyl-5FU prodrugs. **Int. J. Pharm.**, v.154, p.39-48, 1997.

PATRICK, G.L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**, 2^aed, New York p.238-251, 2001.

PEREIRA, S.M. Melanoma- Introdução e Epidemiologia. **GBM-Apoio ao Diagnóstico**. Disponível na Internet em:<<http://www.gbm.org.br>> Acesso em 16 dez. 2004.

PETERS, G.J.; BACKUS, H.H.J.; FREEMANTLE, S.; TRIEST, B.; CODACCI-PISANELLI, G.; WILT, C.L.; SMID, K.; LUNEC, J.; CALVERT, A. H.; MARSH, S.; MCLEOD, H.L.; BLOEMENA, E.; MEIJER, S.; JANSEN, G.; GROENIMGEN, C.J.; PINEDO, H.M. Induction of thymidylate synthase as a 5-fluoruracil resistance mechanism. **Bioch. Bioph. Acta**, v.1587, p.194-205, 2002.

PINHEIRO, A.M.C.; CABRAL, A.L.S.V.; FRIEDMAN, H.; RODRIGUES, H.A. Melanoma cutâneo: características clínicas, epidemiológicas e histopatológicas no Hospital Universitário de Brasília entre janeiro de 1994 e abril de 1999. **An. bras. Dermatol.**, v.78, n.2, p.179-186, 2003.

PRADO, F.C.; RAMOS, J.A.; VALLE, J.R. Oncologia. In: BORGES, D.R.; ROTHCHILD, H. editors. **Atualização terapêutica**. 22 ed, p.1273-1311, 2005.

QUIGLEY, J.M.; LLOYD, D.G. A topological study of prodrugs of 5-fluoruracil. **Int. J. Pharma.**, v. 231, p. 241-251, 2002.

RAMA, A.C.R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I.V.; SOUZA, A.; CARAMONA, M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil-b-ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 42, n. 1, p. 59-68, 2006.

REINTGEN, D.S.; CRUSE, C.W.; WEELS, K.; BERMAN, C.; FENSKE, N.; GLASS, F.; SCHROER, K.; HELLER, R.; ROSS, M.; LYMAN, G. An orderly progression of melanoma nodal metastases. **Ann. Surg.**, v.220, p.759-767, 1994.

RIEGER, M.M. Efeito protetor dos filtros solares contra patologias da pele. **Cosm.Toil.**, v.1, n.3, p.33-40, 1989.

ROCHA, F.P.; MENEZES, A.M.B.; ALMEIDA, H.L.; TOMASI, E. Especificidade e sensibilidade de rastreamento para lesões cutâneas pré-malignas e malignas. **Rev. Saúde Pública**, v.36, n.1, 2002.

ROITHMANN, S. **Fármacos antineoplásicos**. In: FUCHS FD., WANNMACHER L. **Farmacologia clínica. Fundamentos da terapêutica racional**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.317-27,1998.

RUSTIGI, A.K.; PODOLSKY, D.K. The molecular basis of colon cancer. **Ann. Rev. Med.**, v.43, p.61-68, 1996.

SAMPAIO, S.A.P.; RIVITTI, E.A. **Dermatologia**, 1ª ed. São Paulo: Artes Médicas S.A., 1998.

SANTOS, I.B.; SANT'ANNA, F., A.; CARVALHO, R.; MENDONÇA, M.; REIS, V.M.; FRANÇA, E.R. Filtros Solares: normas de utilização. **An. bras. Dermatol.**, v.73, n.2, p.5-9, 1998.

SBCD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA DERMATOLÓGICA)- INCA- Ministério da Saúde. Fotoproteção X Câncer de pele. Disponível na Internet em: <http://www.sbcd.org.br>. Acesso em 16 set. 2005.

SBCD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA DERMATOLÓGICA)- INCA- Ministério da Saúde. Carcinoma. Disponível na Internet em: <http://www.sbcd.org.br>. Acesso em 10 out. 2005.

SBD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA)- INCA- Ministério da Saúde. Bioquímica da Beleza. Disponível na Internet em: <http://www.sbcd.org.br>. Acesso em 21 nov. 2005.

SBD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA)- INCA- Ministério da Saúde. Câncer de pele – “O sol pode provocar envelhecimento precoce e câncer de pele”. Disponível na Internet em: <http://www.sbd.org.br>. Acesso em 16 set. 2005.

SBD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA)- INCA- Ministério da Saúde. Programa Nacional de Controle de Câncer de Pele. Disponível na Internet em: <http://www.sbd.org.br>. Acesso em 28 out. 2005.

SBD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA)- INCA- Ministério da Saúde. Diagnóstico e Tratamento do Melanoma Cutâneo. Disponível na Internet em: <http://www.sbd.org.br>. Acesso em 6 dez. 2004.

SCHOTTENFELD, D.; FRAUMENI, J.F. Cancer epidemiology and prevention, 1982.

SCHUELLER, R.; ROMANOWSKI, P.; CULVER, A. Introdução aos produtos fotoprotetores. **Cosm.Toil.**, v.12, n.4, p.60-67, 2000.

SHIBAMOTO, Y.; ZHOU, L.; HATTA, H.; MORI, M.; NISHIMOTO, S. A novel class of antitumor prodrug, 1-(2'-oxopropyl)-5-fluoruracil (0FU001), that

releases 5-fluoruracil upon hypoxic irradiation. **Jpn. J. Cancer. Res.**, v.91, p. 433-438, 2000.

SILVERSTEIN, R.M., WEBSTER, F.X., **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**, 6^a ed. Rio de Janeiro, LTC, p.263-284, 2000.

SINGH, G.; SHARMA, P.D. Mutual prodrugs - a recent trend in prodrug design. **Indian J. Pharm. Sci.**, v.56, n.3, p.69-79, 1994.

SOUZA, L.T.; UETAKE, H.; HIGUCHI, T.; TAKAGI, Y.; ENOMOTO, M.; SUGIHARA, K. Cyclooxygenase-2 Expression: A Significant Prognostic Indicator for Patients With Colorectal Cancer. **Clin. Cancer Res.**, v.10, n.24, p.8465 – 8471, 2004.

SOUZA, S.R.P. Bronzeamento e risco de melanoma cutâneo: revisão da literatura. **Rev. Saúde Pública**, v.38, n.4, 2004.

STEINER, D. Cancer de pele. **Cosm.Toil.**, v.9, n.5, p.26-27, 1997.

TESTA, B. Prodrug research: futile or fertile? **Bioch.Pharm.**, v.68, p.2097-2106, 2004.

THOMAS, G. **Química Medicinal: Uma Introdução**. Ed. Guanabara Koogan, p.13, 2003.

WATERHOUSE, J.; MUIR, C.; MACK, T.; POWELL, J.; WHELAN, S. Cancer incidence in five continentes. **IARC Scientific Publication**, v.5, 1987.

WERMUTH, C.G. **The practice of medicinal chemistry**. San diego: Academic Press, 1996.

WILGUS, T.A.; BREZA, T.S. Jr.; TOBER, K.L.; OBERYSZYN, T.M. Treatment with 5-Fluorouracil and Celecoxib Displays Synergistic

Regression of Ultraviolet Light B-Induced Skin Tumors **J. Invest. Dermatol.**, v.122, n.6, p.1488 – 1494, 2004.

WILGUS, T.A.; BREZA, T.S.; Jr, TOBER, K.L.; OBEYZYN, T.M. Treatment with 5-Fluorouracil and Celecoxib Displays Synergistic Regression of Ultraviolet Light Induced Skin Tumors. **J. Invest. Dermat.**, p.586-592, 2003.

WILLIAMS, D.A.; LEMKE, T.L. **Foye's Principles of medicinal chemistry**. 5.ed. Philadelphia, Lea & Febiger, p.924-949, 2002.

WILSON AND GISVOLD`S. Antineoplasics Agents. In: JAIME N.D; WILLIAN A.R.(Ed.). **Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, tenth ed., Philadelphia, p.343-393, 1998a.

WILSON AND GISVOLD`S. Drug Latentiation and Prodrug. In: JAIME N. D; WILLIAN A. R.(Ed.). **Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**, tenth ed., Philadelphia, p.123-138, 1998b.

WOLFF, P.; DONAWHO, C.K.; KRIPKE, M.L. Analysis of the protective effect of different sunscreens on ultraviolet radiation-induced local systemic suppression of contact hypersensitivity and inflammatory responses in mice. **J. Invest. Dermatol.**, v.100, n.3, p.254-259, 1993.