



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE QUÍMICA
CAMPUS DE ARARAQUARA



Programa de Pós-Graduação em Química

**Desenvolvimento de filtros solares a partir de
complexos metálicos de Zn^{2+} e/ou Ce^{3+} com
quercetina para protetores solares.**

MARIANA BIZARI

Araraquara-SP
2013

MARIANA BIZARI

Desenvolvimento de filtros solares a partir de complexos metálicos de Zn^{2+} e/ou Ce^{3+} com quercetina para protetores solares.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Marian Rosaly Davolos
Co-orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Cebim

Araraquara
2013

MARIANA BIZARI

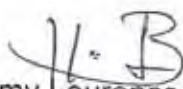
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 05 de abril de 2013.

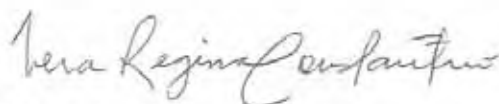
BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Marian Rosaly Davolos
Instituto de Química – UNESP, Araraquara - SP



Prof. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara - SP



Profª Drª Vera Regina Leopoldo Constantino
Instituto de Química - USP, São Paulo - SP

FICHA CATALOGRÁFICA

B625d	Bizari, Mariana Desenvolvimento de filtros solares a partir de complexos metálicos de Zn^{2+} e/ou Ce^{3+} com quercetina para protetores solares / Mariana Bizari. – Araraquara : [s.n], 2013 129 f. : il. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Marian Rosaly Davolos Coorientador: Marco Aurélio Cebim 1. Química Inorgânica. 2. Complexos metálicos. 3. Filtros solares. 4. Terras raras. I. Título.
-------	--

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

DADOS CURRICULARES

MARIANA BIZARI

1. DADOS PESSOAIS

Nascimento: 30/06/1987

Nacionalidade: Brasileira

Naturalidade: Catanduva / SP

Estado civil: Solteira

Filiação

Pai: Mario Antonio Bizari

Mãe: Heliana Beatriz Filippini Bizari

Profissão: Química

Endereço Pessoal: Av. Alberto Toloi, 185, Apto.23, bloco 05, Bairro Quitandinha, Araraquara-SP, CEP 14800-105

Endereço Profissional: Laboratório de Materiais Luminescentes (LML), Departamento de Química Geral e Inorgânica (DQGI), Instituto de Química de Araraquara-UNESP, Rua Professor Francisco Degni, 55, Bairro Quitandinha, CEP 14800-900

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

2011-2013: Mestrado em Química (em andamento)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP – Instituto de Química.

Dissertação (título): Desenvolvimento de filtros solares a partir de complexos metálicos de Zn^{2+} e/ou Ce^{3+} com Quercetina para protetores solares.

Orientadora: Profa. Dra. Marian Rosaly Davolos

Co-orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Cebim

Bolsista: FAPESP

Período: 01/03/2011 – 28/02/2013.

2006-2010: Graduação em Licenciatura em Química

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP.

Monografia: Desenvolvimento de filtros inorgânico-orgânicos a partir de óxido de zinco e moléculas orgânicas para formulação de protetores solares.

Orientadora: Profa. Dra. Marian Rosaly Davolos

Co-orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Cebim

Bolsista: FAPESP

3. ESTÁGIOS REALIZADOS

Iniciação à Pesquisa Científica

1. Título do projeto: Desenvolvimento de filtros orgânico-inorgânicos para protetores solares”, Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP.

Orientação: Profa. Dra. Marian Rosaly Davolos

Bolsa: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico –CNPq/PIBIC

Período: 2008-2009

2. Título do projeto: “Desenvolvimento de filtros inorgânico-orgânicos a partir de óxido de zinco e moléculas orgânicas para formulação de protetores solares”, Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP.

Orientação: Profa. Dra. Marian Rosaly Davolos

Bolsa: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP

Período: 2010.

Atividade de extensão universitária

1. Projeto “Palestra na escola”

Apresentação da palestra “*Proteção Solar*” em escolas da cidade de Araraquara-SP e região. Abaixo encontra-se a relação das apresentações realizadas no período 2011-2012.

Data	Local	Número de alunos
08/08/2011	Colégio Progresso- Araraquara-SP	23
08/08/2011	Colégio Progresso- Araraquara-SP	22
10/08/2011	E.E Prof. Odone Bellini- Matão-SP	90
19/09/2011	E.E Bento De Abreu - Santa Lúcia-SP	120
23/05/2012	Colégio Coeducar- Araraquara-SP	50
19/06/2012	Colégio Progresso- Araraquara-SP	30

22/06/2012	Colégio Progresso- Araraquara-SP	25
14/08/2012	E.E. Profa. Idalina Vianna Ferro- Bariri-SP	70
27/09/2012	E.E Bento De Abreu - Santa Lúcia-SP	70

2. Folder “Proteção Solar”

Elaboração de folder contendo os principais conteúdos abordados na palestra “Proteção Solar”, que deverá ser entregue aos alunos das escolas que solicitarem a palestra.

3. Centro de Ciências de Araraquara (CCA)

Participação como monitora nos seguintes Projetos de Extensão:

- Projeto Ciência - Viva: projeto que visa integração dos alunos do ensino fundamental e médio com experimentos e exposições, transmutando o ensino formal para o não-formal. O Projeto funciona com visitas programadas de grupos de alunos do ensino fundamental e médio. Todos os visitantes são acompanhados e auxiliados por monitores.
- Projeto Plantão de Dúvidas: auxilia alunos através de monitorias nas disciplinas de Inglês, Biologia, Matemática, Física, Geografia, Português e Química do Ensino Fundamental e Médio.
- Projeto Ciência Vai à Escola: projeto que desenvolve atividades experimentais em escolas do Ensino Fundamental e médio.

Orientação: Prof. Dr. Luis Antonio Andrade de Oliveira

Bolsa: Bolsa de Extensão Universitária - BEU

4. TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

- **BIZARI, M.** ; CEBIM, M.A. ; DAVOLOS, M. R.; ASSIS, R. P.; BRUNETTI, I. L. Síntese e estudo do complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina para potencial utilização como filtro solar. In: 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, 2013. (Trabalho submetido)
- **BIZARI, M.** ; SAITO, G. P.; CEBIM, M.A. ; DAVOLOS, M. R. Estudo de formulações de protetores solares contendo como filtros complexos metálicos de Zn^{2+} e/ou Ce^{3+} com quercetina. In: 36ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, 2013. (Trabalho submetido)
- **BIZARI, M.** ; CEBIM, M.A. ; DAVOLOS, M. R. Estudo de complexos de Zn^{2+} ou Ce^{3+} com quercetina para potencial utilização como filtros em formulações de

Protetores Solares. In: 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, 2012.

- SAITO, G. P.; DAVOLOS, M. R.; CEBIM, M.A. ; **BIZARI, M.** Estudo de viscosidade e de absorção UV-VIS de protetores solares contendo filtros orgânicos e óxido de zinco. In: 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, 2012.
- SAITO, G. P.; DAVOLOS, M. R.; CEBIM, M. A.; **BIZARI, M.** Protetores solares contendo ZnO e filtros orgânicos. In: XXIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 1ª fase/Araraquara-SP e 2ª fase/São Pedro-SP, 2011.
- **BIZARI, M.** ; CEBIM, M.A.; FERNANDES. D. G.; PASQUALOTTO, S.; SILVA, D. H. S.; DAVOLOS, M. R.. Desenvolvimento de novos filtros solares a partir de ZnO e produtos naturais para utilização em formulações de protetores solares. In: 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Florianópolis-SC, 2011.
- **BIZARI, M.** ; CEBIM,M.A. ; DAVOLOS, M. R. . Estudo de complexos metálicos de Zn(II) e Quercetina para potencial utilização como filtros em formulações de protetores solares. In: 18º Encontro da Sociedade Brasileira de Química Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti, São José do Rio Preto-SP, 2011.
- **BIZARI, M.** ; DAVOLOS, M. R. ; CEBIM,M.A. ; PASQUALOTTO, S. Obtenção e estudo de filtros híbridos para utilização em formulações de Protetores Solares. In: XXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP- 1ª fase/Araraquara-SP e 2ª fase/Marília-SP, 2010.
- SAITO, G. P. ; DAVOLOS, M. R. ; CEBIM, M. A. ; **BIZARI, M.** Obtenção e estudo dos filtros solares orgânico-inorgânicos: Uvinul-A-Plus – Óxido de Zinco. In: XXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP- 1ª Fase/Araraquara-SP, 2010.
- BACCINI, L. R.; **BIZARI, M.** ; ROCHA, C. V. ; RIBEIRO, F. L. ; ZANON, D. A. V. . Inserção da experimentação investigativa e contextual no ensino de Química. In: VIII Evento de Educação em química, Araraquara-SP, 2010.
- **BIZARI, M.**; PASQUALOTTO, S.; CEBIM, M.A.; DAVOLOS, M. R.. "Obtenção e estudo de filtros híbridos inorgânico-orgânico (ZnO/Uvinul-A-Plus) para utilização em formulações de Protetores Solares. In: 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, 2010.
- **BIZARI, M.** ; FERNANDES. D. G.; FERNANDES. D. G.; PASQUALOTTO, S.; CEBIM,M.A. ; SILVA, D. H. S. ; DAVOLOS, M. R. . Obtenção e estudo de filtros híbridos a partir de produtos naturais e ZnO para utilização em formulações de Protetores Solares. In: 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, 2010.
- **BIZARI, M.** ; PASQUALOTTO, S. ; CEBIM,M.A. ; DAVOLOS, M. R. . A new hybrid organic-inorganic sunscreen filter with Uvinul A Plus and ZnO. In: 11th International Conference on Advanced Materials / VIII SBP Mat., Rio de Janeiro-RJ,

2009.

- **BIZARI, M.** ; PASQUALOTTO, S. ; CEBIM,M.A. ; DAVOLOS, M. R. . Obtenção e estudo da associação dos filtros solares orgânico-inorgânico: Uvinul A Plus- óxido de zinco. In: XXI Congresso de Iniciação Científica, São José do Rio Preto-SP, 2009.
- CEBIM,M.A. ; DAVOLOS, M. R. ; PASQUALOTTO, S. ; **BIZARI, M.** ; FERNANDES. D. G. ; FLOR,J. ; FERNANDES. D. G. ; SILVA, D. H. S. . Obtenção e estudo do potencial de híbridos orgânico-inorgânicos para aplicações como filtros em protetores solares. In: 17º Encontro da SBQ- Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti, Araraquara-SP, 2009.
- PASQUALOTTO, S.; **BIZARI, M.** ; CEBIM,M.A.; DAVOLOS, M. R. ; CORREA, M. A. ; FLOR, J. Preparação de protetores solares utilizando filtro orgânico-inorgânico associados (Eusolex 9020-ZnO). In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, 2008.
- **BIZARI, M.** ; PASQUALOTTO, S. ; CAGNIN, F. ; CEBIM,M.A. ; DAVOLOS, M. R. Estudo das Interações do filtro orgânico Uvinul-A-Plus com zinco (II) para obtenção de filtros solares híbridos. In: XX Congresso de Iniciação Científica, São José dos Campos-SP, 2008.

5. PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

- Workshop dos Programas de Pós- Graduação Química e Biotecnologia IQ-UNESP, Araraquara, 2012 (Workshop).
- 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas De Lindóia-SP, 2012 (Congresso).
- II Escola de Espectroscopia de Luminescência de Lantanídeos, Araraquara-SP, 2012 (Escola).
- 18º Encontro da Sociedade brasileira de Química Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti, São José do Rio Preto-SP, 2011(Congresso).
- Encontro de Pós-graduação em Química do Interior Paulista do Programa de Pós-Graduação em Química- IQ-UNESP, Araraquara-SP, 2011. (Encontro).
- 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.Obtenção e estudo de filtros híbridos inorgânico-orgânico (ZnO- Uvinul -A- Plus) para utilização em formulações de Protetores Solares. 2010. (Congresso).
- XXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP- 1ª Fase/ Araraquara-SP e 2ª fase/Marília-SP, 2010 (Congresso).
- VIII Evento de Educação em Química, Araraquara-SP, 2010 (Encontro).

- 11th International Conference on Advanced Materials / VIII SBP Mat. A new hybrid organic-inorganic sunscreen filter with Uvinul A Plus® and ZnO, Rio de Janeiro-RJ, 2009. (Congresso Internacional).
- XXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP. São Jose do Rio Preto-SP, 2009 (Congresso).
- VII Evento de Educação em Química, Araraquara-SP, 2009 (Encontro).
- XXXIX Semana da Química da UNESP, Araraquara-SP, 2009 (Encontro).
- 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia-SP, 2008 (Congresso).
- XX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, São José dos Campos-SP, 2008 (Congresso).
- XXXVIII Semana da Química, Araraquara-SP, 2008 (Encontro).
- I Semana de Cultura e Arte do IQ –QUIMIARTE, Araraquara-SP, 2008 (Encontro).
- V Evento de Educação em Química, Araraquara-SP, 2007 (Encontro).
- XXXVII Semana da Química, Araraquara-SP, 2007 (Encontro).
- IV Evento de Educação em Química, Araraquara-SP, 2006 (Encontro).
- XXXVI Semana da Química, Araraquara-SP, 2006 (Encontro).
- XIII Encontro Nacional de Ensino de Química, Campinas-SP, 2006 (Encontro).

6. ORGANIZAÇÃO DE EVENTOS

XXXIX Semana da Química da UNESP, Araraquara-SP, 2009.

7. INFORMAÇÕES ADICIONAIS

- Trabalho intitulado “Obtenção e estudo de filtros híbridos para utilização em formulações de Protetores Solares”, apresentado na 1ª fase do XXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP foi selecionado para 2ª fase do mesmo congresso.
- Trabalho intitulado “Protetores solares contendo ZnO e filtros orgânicos”, apresentado na 1ª fase do XXIII Congresso de Iniciação Científica da UNESP foi selecionado para 2ª fase do mesmo congresso.

Dedico este trabalho aos meus pais Mario e Heliana por todo amor, carinho e apoio dispensados a mim, pelo exemplo de hombridade e profissionalismo, por toda compreensão diante da minha ausência ao longo desses anos (estiveram sempre comigo em pensamento e coração) e por terem lutado durante toda suas vidas pela minha vitória ...

As minhas irmãs e verdadeiras amigas Ana Carolina e Camila, por todo companheirismo e apoio, por terem me dado de presente as riquezas da minha vida (Ana Beatriz e Vitória), por compartilharem solidariamente a alegria das vitórias e o dissabor dos insucessos...

Ao meu noivo Felipe, meu companheiro fiel, minha melhor conquista, dono do meu coração e credor do meu amor, carinho, admiração e respeito...

*...Vocês são as razões da minha vida!
Amo mais que tudo*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer a Deus, por estar ao meu lado em todos os momentos, e por me permitir realizar um dos meus maiores objetivos da minha vida.

Em segundo lugar, a minha família, que não mediu esforços na minha educação, me apoiando sempre em minhas atividades acadêmicas, além do amor, companheirismo, dedicação e compreensão em todos esses anos.

Ao meu amor, Felipe, pela força, carinho, companheirismo e paciência durante todo tempo que estamos juntos.

Aos meus amigos, Miguel, Marcelo, Glauco, Jer, Cunhado, Kamila, Fabi, Vane e Fer, minha segunda família, por todos os momentos vividos até hoje e por me proporcionarem os melhores anos de minha vida. Amigos verdadeiros que serão sempre parte de minha vida, mesmo longe...

Aos meus amigos de Graduação João, Luciene e Carol, pelo companheirismo dispensado desde o início da faculdade.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Materiais Luminescentes (LML), Renata, Flávia, Sheila, Higor, João (mais uma vez amigo de graduação e companheiro diário), Maike, Gustavo, Fernanda, Daniel, Andreza, Jéssica e Pâmela pelos momentos de discussão, descontração e amizade.

A minha orientadora Profa Dra. Marian Rosaly Davolos, por me proporcionar grandes oportunidades de aprendizado, me mostrando sempre as opções e me apoiando nas minhas decisões. Agradeço pela confiança em mim depositada durante a realização deste trabalho e ainda, pelos ensinamentos, que com sua seriedade, tranquilidade e conhecimento, me guiaram para caminhos corretos e compensadores.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Marco Aurélio Cebim, pela amizade, conselhos, ensinamentos e por acreditarem sempre em meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti e seus orientados, em especial a Renata, pela ajuda com os ensaios antioxidantes, pelos ensinamentos, discussões, conversas e atenção dispensados ao meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Marco Antônio Corrêa, pela ajuda com a formulação de Protetores solares.

Ao grupo Materiais Magnéticos e de Interfaces principalmente ao Prof. Dr. Miguel Jafelicci Júnior pelas discussões nos seminários de grupo.

Ao Jorge pela ajuda com as medidas de análise elementar.

Aos técnicos, professores e demais funcionários do IQ.

A Profa. Dra. Vânia Martins Nogueira e ao Dr. Luis Octavio Regasini por terem contribuído para a finalização deste trabalho com sugestões importantes no exame geral de qualificação.

A banca examinadora dessa dissertação que aceitou prontamente o convite de participar e contribuir para com este trabalho.

A FAPESP pela bolsa concedida e apoio financeiro ao projeto.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para concretização deste trabalho.

*“Sucesso significa realizar seus próprios sonhos, cantar sua própria
canção, dançar sua própria dança, criar do seu coração e apreciar a
jornada, confiando que não importa o que aconteça, tudo ficará bem.
Criar sua própria aventura.”*

Elana Lindquist

RESUMO

O uso de protetores solares para a proteção da pele contra os raios UV emitidos pelo sol está se tornando imprescindível e o estudo tanto de filtros inorgânicos, orgânicos como das suspensões estáveis que constituem os protetores requerem pesquisa acadêmica. Este trabalho tem por objetivo o desenvolvimento de novos tipos de filtros solares através da obtenção de complexos metálicos de Zn^{2+} , de Ce^{3+} e heterobimetálicos de Zn^{2+} e Ce^{3+} a fim de utilizá-los na formulação de protetores solares com melhor desempenho no fator de proteção solar (FPS) e com menor irritabilidade. Dentre os diversos filtros orgânicos existentes foi escolhido como ligante o flavonoide quercetina (3,3',4',5,7 pentahidroxiavona), um composto natural que apresenta propriedades bactericidas, antiinflamatórias e antioxidantes, além de absorção intensa na região UVA e UVB do espectro eletromagnético. Os complexos obtidos foram caracterizados por difração de raios X, análises térmica e elementar, espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS, espectroscopia de fotoluminescência. Os complexos de Zn^{2+} com quercetina, denominados de *complexo 1* e *complexo 2*, apresentam interação metal-ligante pelos grupos 4-oxo e 3-OH, e fórmulas mínimas $[\text{Zn}(\text{Q})(\text{H}_2\text{O})_2]$ e $[\text{Zn}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ respectivamente. O complexo de Ce^{3+} com quercetina, denominado de *complexo 4*, apresenta a interação metal-ligante ocorrendo pelos grupos 4-oxo e 5-OH da quercetina e a fórmula mínima $[\text{Ce}(\text{Q})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$. O complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} , *complexo H*, apresenta fórmula mínima $[\text{CeZn}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})_4]\text{Cl}$ com seu espectro UV-VIS sugerindo interação dos centros metálicos com dois grupos principais da molécula de quercetina. A atividade antioxidante desses complexos frente às espécies reativas e/ou radicalares $\text{ABTS}^{\bullet+}$, $\text{DPPH}^{\bullet}$, $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{HOCl} / \text{OCl}^-$ e H_2O_2 , de forma geral é superior a do ligante indicando que a complexação da quercetina com metais potencializa a atividade antioxidante desta. As formulações de protetores solares utilizando quercetina e os complexos obtidos no trabalho como filtros solares, nas porcentagens de 1, 3 e 5%, apresentam como característica principal a tixotropia e absorção condizente com o filtro solar de partida. Assim, os complexos obtidos neste trabalho são bastante promissores como filtros solares antioxidantes em formulações de protetores solares e portanto com potencial para formular cosméticos multifuncionais.

Palavras-chave: complexos metálicos, Zn^{2+} , Ce^{3+} , quercetina e filtros solares.

ABSTRACT

The use of sunscreens to protect the skin against UV rays emitted by the sun is becoming crucial and the study of both inorganic and organic filters, as well as stable suspensions which are the sunscreens require academic research. This work aims the development of new types of sunscreens by obtaining metal complexes of Zn^{2+} , Ce^{3+} and hetero bimetallic complexes of Zn^{2+} and Ce^{3+} in order to use them in the sunscreen formulations to provide better performance in sun protection factor (FPS) and less irritability. Among the many existing organic filters it was chosen as ligand the flavonoid quercetin (3, 3', 4', 5,7 pentahydroxiflavone), a natural compound that has antibacterial, anti-inflammatory and antioxidants, besides intense absorption in the UVA and UVB region of electromagnetic spectrum. The complexes obtained in powder form were characterized by X-ray diffraction, elemental and thermal analyzes, infrared vibrational spectroscopy, electronic absorption in the UV-VIS and photoluminescence spectroscopies. Complexes of Zn^{2+} with quercetin, designated complex 1 and complex 2 show metal-ligand interaction by the 4-oxo and 3-OH groups, and formulas $[\text{Zn}(\text{Q})(\text{H}_2\text{O})_2]$ and $[\text{Zn}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ respectively. The complex of Ce^{3+} with quercetin, called complex 4 shows the metal-ligand interaction by the 4-oxo and 5-OH groups and formula $[\text{Ce}(\text{Q})_3(\text{H}_2\text{O})_2]$. The hetero bimetallic complex of Zn^{2+} and Ce^{3+} with quercetin, called complex H, presents formula $[\text{CeZn}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})_4]\text{Cl}$ and its UV-VIS spectrum suggests interaction of the metal centers with two main groups of quercetin. The antioxidant activity of these complexes against the reactive species and / or free radical ABTS^{++} , $\text{DPPH}^{\bullet}$, $\text{O}_2^{\bullet -}$, $\text{HOCl} / \text{OCl}^-$ and H_2O_2 is generally superior to the ligand indicating that complexation of quercetin with metals enhances its antioxidant activity. The sunscreen formulations utilizing quercetin complex obtained in 1, 3 and 5% percentages present as main characteristic the thixotropy and UV absorption consistent with the sunscreen properties. Thus, the complexes obtained in this work are promising as antioxidants in sunscreen formulations and therefore with the potential to develop multifunctional cosmetics.

Keywords: metal complexes, Zn^{2+} , Ce^{3+} , quercetin and sunscreens.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da profundidade de penetração da radiação UV nas camadas da pele.....	25
Figura 2. Estruturas de alguns filtros solares orgânicos.	28
Figura 3. Esqueleto básico e padrão dos flavonoides.	29
Figura 4. Rota Biossintética Geral para Flavonóides.	31
Figura 5. Fórmula estrutural da Quercetina.	32
Figura 6. Número de publicações sobre protetores solares ou protetores solares e quercetina, no período 1940-2012.....	37
Figura 7. Procedimento experimental de obtenção dos complexos de Zn^{2+}	41
Figura 8. Procedimento experimental de obtenção dos complexos de Ce^{3+}	43
Figura 9. Procedimento experimental de obtenção do complexo de Zn^{2+} e Ce^{3+} , método 1.	44
Figura 10. Procedimento experimental de obtenção do complexo de Zn^{2+} e Ce^{3+} , método 2.	45
Figura 11. Reação de oxidação do ABTS.	52
Figura 12. Estrutura molecular do DPPH [•]	53
Figura 13. Representação da geração do ânion superóxido em presença de um antioxidante.....	54
Figura 14. Representação da oxidação do TMB pelo HOCl / OCl ⁻	55
Figura 15. Representação da oxidação do TNB à DTNB pelo H ₂ O ₂	56
Figura 16. Espectros no IV do ligante quercetina e das amostras obtidas a partir de acetato de zinco.....	57
Figura 17. Espectros ERD do ligante quercetina e das amostras obtidas na proporção M:L de (a) 1:1 (O), (b) 1:2 (1) e (c) 2:1(2).	59
Figura 18. Espectros FTIR da quercetina e dos complexos nas regiões de (a) 4000-370 cm ⁻¹ e (b) 1800-370 cm ⁻¹	61
Figura 19. DRX (a) da quercetina e dos complexos e (b) do complexo 2 após as lavagens.	64
Figura 20. Espectros eletrônicos UV-VIS da quercetina e dos complexos 1, 2, 3. (a) ERD (b) Espectros de absorção calculados através da relação de Kubelka-Munk.....	65
Figura 21. Estrutura da quercetina e divisão das bandas I e II relatadas acima.	66
Figura 22. Curvas TG e DTA do (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 3 e (d) curva TG da quercetina	68
Figura 23. Provável estrutura para o complexo 1.....	69
Figura 24. Provável estrutura para o complexo 2.....	70
Figura 25. Espectros de luminescência da quercetina e dos complexos 1 e 2 na temperatura de 20°C: (a) de excitação e (b) de emissão.....	71
Figura 26. Índice de cor da quercetina e dos complexos de Zn^{2+}	72
Figura 27. Espectros FTIR da quercetina e das amostras iniciais denominadas, complexo 4 e complexo 5 nas regiões de (a) 4000-370 cm ⁻¹ (b) 1800-370 cm ⁻¹	73
Figura 28. DRX da quercetina e do complexo 4 antes e após as lavagens.	75
Figura 29. Espectros eletrônicos UV-VIS da quercetina e do complexo 4 (a) ERD (b) Espectro de absorção calculado através da relação de Kubelka-Munk.	76
Figura 30. Curvas TG e DTA para complexo 4.	78
Figura 31. Provável estrutura para o complexo 4.....	79
Figura 32. Espectros de luminescência da quercetina e do complexo 4 na temperatura de 20°C (a) excitação e (b) emissão.	80
Figura 33. Índice de cor da quercetina e do complexo 4.....	82

Figura 34. Espectros FTIR da quercetina e das amostras nas regiões de (a) 4000-370 cm^{-1} e (b) 1800-370 cm^{-1} .	83
Figura 35. DRX da quercetina e das amostras 1 e 2.	85
Figura 36. (a) Espectro FTIR e (b) DRX dos resíduos das amostras 1 e 2.	86
Figura 37. Espectros eletrônicos UV-VIS da quercetina e das amostras 1 e 2 (a) ERD (b) Espectro de absorção calculado através da relação de Kubelka-Munk.	88
Figura 38. Curvas TG e DTA do complexo heterobimetálico H.	89
Figura 39. Proposta de estrutura para o complexo H.	91
Figura 40. Espectros de luminescência da quercetina e do complexo heterobimetálico H na temperatura de 20° (a) excitação e (b) emissão.	92
Figura 41. Índice de cor da quercetina e do complexo H.	93
Figura 42. Estrutura da quercetina, rutina e glutathiona reduzida (GSH).	94
Figura 43. Inibição (captura) do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ pelos padrões (a) quercetina, (b) rutina e (c) glutathiona, em tampão fosfato de sódio 10 mmol/L, pH 7,4; $\lambda = 734 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.	95
Figura 44. Inibição (captura) do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ pelo (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 4 e (d) complexo H, em tampão fosfato de sódio 10 mmol/L, pH 7,4; $\lambda = 734 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos complexos.	96
Figura 45. Inibição (captura) do $\text{DPPH}^{\bullet}$ pelos padrões (a) quercetina, (b) rutina, e (c) glutathiona, em $\lambda = 517 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do $\text{DPPH}^{\bullet}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.	99
Figura 46. Inibição (captura) do $\text{DPPH}^{\bullet}$ pelo (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 4 e (d) complexo H, em $\lambda = 517 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do $\text{DPPH}^{\bullet}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos complexos.	100
Figura 47. Inibição (captura) do $\text{O}_2^{\bullet-}$ pelos padrões (a) quercetina, (b) rutina, e (c) glutathiona, em tampão pirofosfato de sódio 25 mmol/L, pH 8,3, $\lambda = 560 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do $\text{O}_2^{\bullet-}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.	103
Figura 48. Inibição (captura) do $\text{O}_2^{\bullet-}$ pelo (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 4 e (d) complexo H em tampão pirofosfato de sódio 25 mmol/L, pH 8,3, $\lambda = 560 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do $\text{O}_2^{\bullet-}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.	104
Figura 49. Inibição (captura) do HOCl/OCl^- pelos padrões (a) quercetina, (b) rutina, e (c) glutathiona, em tampão fosfato de sódio 50 mmol/L, pH 7,4; $\lambda = 655 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do HOCl/OCl^- na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.	106
Figura 50. Inibição (captura) do HOCl/OCl^- pelo (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 4, e (d) complexo H, em tampão fosfato de sódio 50 mmol/L, pH 7,4; $\lambda = 655 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do HOCl/OCl^- na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.	107
Figura 51. Inibição (captura) do H_2O_2 pela catalase; em tampão fosfato de potássio 50 mmol/L, H_2O_2 0,3 mM, pH 6,6; $\lambda = 412 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do TNB na presença de diferentes concentrações da catalase.	109
Figura 52. Inibição (captura) do H_2O_2 pela glutathiona; em tampão fosfato de potássio 50 mmol/L, H_2O_2 0,3 mM, pH 6,6; $\lambda = 412 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do TNB na presença de diferentes concentrações da catalase.	110

Figura 53. Espectros no UV-VIS de reflectancia e de absorção respectivamente dos: (a) e (b) ZnO, (c) e (d) quercetina (e) e (f) protetores comerciais.....	112
Figura 54. Espectros no UV-VIS de reflectancia e de absorção respectivamente dos: (a) e (b) complexo 1, (c) e (d) complexo 2, (e) e (f) complexo 4, (g) e (h) complexo H.....	114
Figura 55. Curva da viscosidade em função da velocidade de cisalhamento dos protetores solares nas temperaturas (a) 25 °C. (b) 40 °C e (c) 60 °C.....	117
Figura 56. Curva da viscosidade em função do tempo dos protetores solares com 1% de filtro, submetidos à mesma velocidade de cisalhamento ($V= 0,3$ rpm).....	118
Figura 57. (a) Curva da viscosidade em função da temperatura e (b) Curva da viscosidade em função da porcentagem de filtro para os protetores solares com 1% de filtro, submetidos à mesma velocidade de cisalhamento ($V= 0,3$ rpm).....	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: <i>Relação de reagentes utilizados.</i>	40
Tabela 2: <i>Condições experimentais e amostras obtidas.</i>	42
Tabela 3: <i>Condições experimentais e amostras obtidas.</i>	46
Tabela 4: <i>Classificação do desempenho de um filtro contra a radiação UVA calculado pela razão UVA/UVB.</i>	49
Tabela 5: <i>Atribuição das principais bandas encontradas no espectro IV da quercetina e dos complexos 1, 2 e 3.</i>	62
Tabela 6: <i>Resultados de bandgap (E_g), comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB da quercetina e dos complexos 1 e 2.</i>	67
Tabela 7: <i>Resultados encontrados na análise térmica e elementar.</i>	69
Tabela 8: <i>Atribuição das principais bandas presentes no espectro FT-IR da quercetina e do complexo 4.</i>	74
Tabela 9: <i>Resultados de bandgap (E_g), comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB da quercetina e dos complexos 1 e 2.</i>	77
Tabela 10: <i>Resultados encontrados na análise térmica e elementar.</i>	79
Tabela 11: <i>Atribuição das principais bandas do espectro FT-IR da quercetina e das amostras.</i>	84
Tabela 12: <i>Resultados de bandgap (E_g), comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB da quercetina e amostras 1, 2 e 3.</i>	89
Tabela 13: <i>Resultados de análise térmica e elementar do complexo H.</i>	90
Tabela 14: <i>Capacidade de captura do ABTS^{•+}, expressa em porcentagem de inibição (IC_{50}).</i>	97
Tabela 15: <i>Capacidade de captura do DPPH[•], expressa em porcentagem de inibição (IC_{50}).</i>	101
Tabela 16: <i>Capacidade de captura do ânion superóxido expressa em porcentagem de inibição (IC_{50}).</i>	105
Tabela 17: <i>Capacidade de captura do HOCl/OCl⁻, expressa como a porcentagem de inibição (IC_{50}) da oxidação do TMB.</i>	108
Tabela 18: <i>Resultados de bandgap (E_g), comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB para as formulações.</i>	115

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

λ - comprimento de onda

λ_c - comprimento de onda crítico

v- estiramento

μm - micrômetros

ABTS- 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico)

BC - banda de condução

BV - banda de valência.

$\text{Ce}(\text{OH})_3$ – hidróxido de cério

dmsO - dimetilsulfóxido

DNA - Ácido desoxiribonucleíco

DPPH - radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila

DRX – difratometria de raios X.

DTNB- ácido 5-5'-ditio-2-nitrobenzóico

E_g - *bandgap* (diferença de energia entre a banda de Valência e banda de condução).

EPM- erro padrão da média

edta- ácido etilenodiamino tetra-acético

ERD- espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS por reflectância difusa

EFL- espectroscopia de fotoluminescência com excitação UV

ERN- espécies reativas de nitrogênio

ERO - espécies reativas de oxigênio

eV – elétron volt.

FPS- fator de proteção solar

FT-IR- espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho

GSH - glutatona reduzida

HOMO- Orbital molecular ocupado de maior energia

$\text{HO}^\bullet$ - radical hidroxila

H_2O_2 - peróxido de hidrogênio

HOCl - ácido hipocloroso

IC_{50} – concentração necessária de determinado analito para que ocorra uma inibição de 50% do radical

IV – infravermelho

LPO- lipoperoxidação

LUMO- Orbital molecular vazio de menor energia

Min- minutos

mm- milímetros

MPO- mieloperoxidase

NADH- Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida

NaOH - hidróxido de sódio

NBT- Azul de nitrotetrazólio

nm- nanômetros

$O_2^{\bullet -}$ - ânion radical superóxido

1O_2 – oxigênio singlete

PMS – metassulfato de fenazina

$ROO^{\bullet}$ - radical peroxila

$RO^{\bullet}$ - radical alcoxila

SOD- enzima superóxido dismutase

TiO₂- dióxido de titânio

TMB - 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina

TNB- ácido 5-tio-2- nitrobenzóico

UV – região do espectro electromagnético ultravioleta

UVA- ultravioleta A

UVB - ultravioleta B

UVC - ultravioleta C

UV-VIS - ultravioleta e visível

VIS- visível

W- watts

ZnO- óxido de zinco

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO	24
1.1. Radiação solar e a pele	24
1.2. Protetores solares	26
1.2.1. <i>Filtros Inorgânicos</i>	26
1.2.2. <i>Filtros Orgânicos.....</i>	27
1.2.3. <i>Filtros orgânicos naturais: Flavonóides</i>	29
1.2.4. <i>Flavonóide quercetina: características e propriedades gerais</i>	32
1.3. Atividade antioxidante.....	33
1.4. Complexos metálicos de quercetina e seu potencial como filtros solares e antioxidantes.....	35
1.5. Levantamento bibliográfico	37
2-OBJETIVOS	39
3- EXPERIMENTAL.....	40
3.1. Reagentes	40
3.2. Obtenção dos compostos de coordenação	40
3.2.1 <i>Complexo de Zn^{2+} com quercetina</i>	40
3.2.2 <i>Complexo de Ce^{3+} com quercetina</i>	42
3.2.3 <i>Obtenção do complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina</i>	44
3.3. Preparação dos protetores solares.....	45
3.4. Caracterizações	47
3.4.1 <i>Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR).....</i>	47
3.4.2 <i>Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS por reflectância difusa (ERD)</i>	47
3.4.3 <i>Espectroscopia de Fotoluminescência com excitação de radiação UV (EFL)</i>	49
3.4.4 <i>Difração de Raios X (DRX)</i>	50
3.4.5 <i>Análise Térmica (TG/DTA).....</i>	50
3.4.6 <i>Análise elementar.....</i>	50
3.4.7 <i>Titulação complexométrica.....</i>	50
3.4.8 <i>Índice de Cor.....</i>	50
3.4.9 <i>Viscosidade</i>	51
3.4.10 <i>Medida da Capacidade antioxidante dos complexos.....</i>	51
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57

4.1. Complexo de Zn^{2+} com quercetina	57
4.2. Complexo de Ce^{3+} com quercetina	73
4.3. Complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina	82
4.4. Capacidade antioxidante	93
4.5. Formulação de protetores solares.....	110
5- CONCLUSÕES.....	120
6-PERSPECTIVAS.....	123
7-REFERÊNCIAS.....	124

1-INTRODUÇÃO

1.1. Radiação solar e a pele

A radiação solar é a denominação dada à energia de vários comprimentos de onda emitida pelo sol. Quando essa radiação atravessa a atmosfera da Terra, alguns desses comprimentos de onda são filtrados (SCHUELLER et al., 2000; MASSON et al., 2003). Assim, o espectro solar que atinge a superfície da Terra é formado pelas radiações Infravermelha (IV), Visível (VIS) e Ultravioleta (UV). Nosso organismo percebe a presença destas radiações do espectro solar de diferentes formas. A radiação infravermelha é percebida sob a forma de calor, a radiação visível através das diferentes cores detectadas pelo sistema óptico e a radiação ultravioleta através de reações fotoquímicas.

A energia proveniente do sol é essencial para manutenção da vida na Terra e dependendo da intensidade, frequência e das características individuais de cada pessoa, pode resultar em efeitos benéficos ao ser humano, como sensação de bem estar físico e mental, estímulo à produção de melanina e de vitamina D, além de ser utilizada no tratamento de algumas doenças como a icterícia. No entanto, caso não se tome os devidos cuidados quanto ao tempo de exposição, a radiação solar pode causar muitos prejuízos ao organismo (DE PAOLA et al., 1998).

A luz ultravioleta, que compreende a região de comprimentos de onda de 100 a 400 nm, causa maior preocupação, pois as reações fotoquímicas podem estimular a produção da melanina, cuja manifestação é visível sob a forma de bronzeamento da pele, ou pode levar desde a produção de inflamações até graves queimaduras e câncer de pele (SCHUELLER et al., 2000). Também há possibilidade de ocorrer mutações genéticas e comportamentos anormais das células, há maior risco de câncer de pele e também o fotoenvelhecimento precoce da pele (OSTERWALDER et al., 2004). Essa radiação é convenientemente dividida em UVC, UVB e UVA.

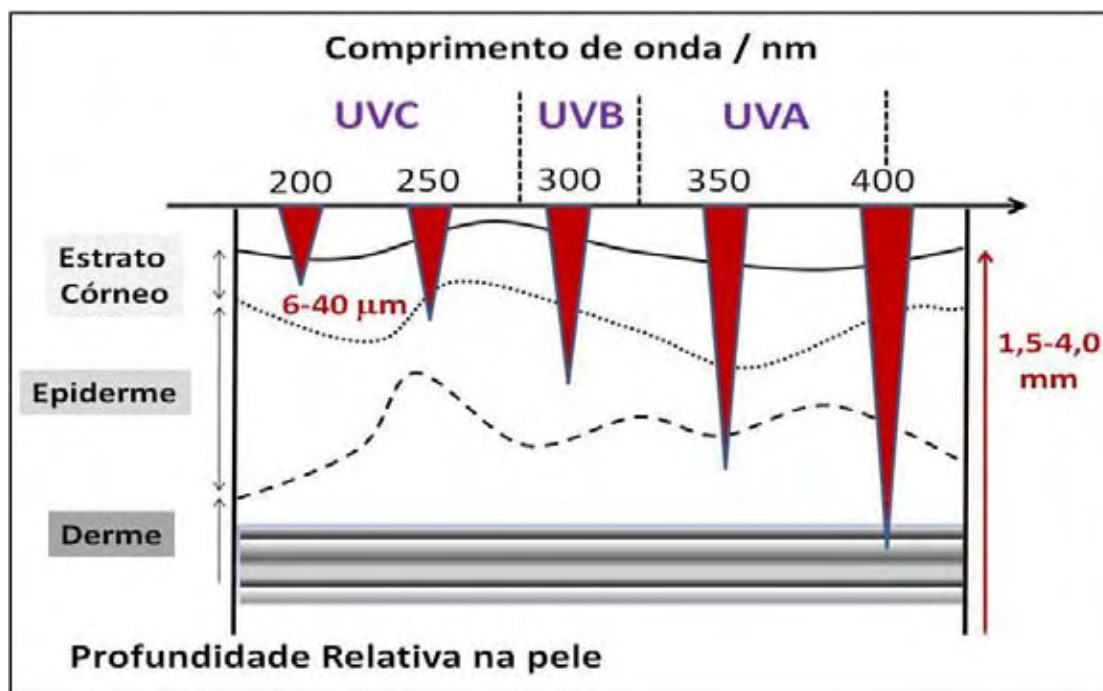
A radiação UVC compreende a faixa de comprimentos de onda de 100-290 nm, é extremamente lesiva nos seres vivos por ser bastante energética (STEINER, 1995; STREILEIN et al., 1994), no entanto praticamente 100% deste tipo de radiação é absorvida pela camada de ozônio e atmosfera da terra. O UVB define a faixa de radiações com comprimentos de onda compreendidos entre 290-320 nm e cerca de 1-10% dessa radiação atinge a superfície da terra. Já a radiação UVA (320-400 nm) atinge a superfície da terra

em maior quantidade relativa, cerca de 90-99%, e pode ser subdividida em UVA1 (320-340 nm) e UVA2 (340-400 nm).

Por serem as radiações presentes em maior quantidade, UVA e UVB são responsáveis pelos danos mais graves causados à pele humana. Com faixas de energia diferentes, cada tipo de radiação é capaz de criar tipos diferentes de lesão na pele devido a diferentes graus de penetrabilidade.

Na **figura 1** está ilustrada a penetrabilidade da radiação UV em função do comprimento de onda. Na ilustração, baseada no trabalho de DRANSFIELD (2000), é possível observar que a penetrabilidade da radiação na pele é diretamente proporcional ao seu comprimento de onda, o que confere ao UVA um maior caminho livre médio em relação ao UVB. Já a radiação UVB causa lesões mais superficiais, enquanto que a radiação UVA pode causar lesões mais profundas (DRANSFIELD, 2000).

Figura 1. Representação esquemática da profundidade de penetração da radiação UV nas camadas da pele.



Fonte: DRANSFIELD (2000).

Assim, a radiação UVB (290-320 nm), mais energética e menos penetrante que a radiação UVA, é responsável por lesões superficiais como queimaduras e eritemas, além de contribuir para a fotocarcinogênese devido a sua interação direta com o DNA e subsequente formação de glicóis de timina e dímeros de ciclobutano pirimidina (SEITÉ et al., 2000; HEINRICH et al., 2004; VIELHABER et al., 2006; VELASCO et al., 2008a). Já

a radiação UVA, por ser menos energética e mais penetrante, é responsável pelo bronzeamento da pele, além de causar lesões mais profundas e cumulativas, como o fotoenvelhecimento (alterações das fibras de colágeno, elastina e formação de radicais livres). No entanto, a maior consequência da exposição à radiação é a geração de espécies reativas de oxigênio, que podem, portanto, gerar bases derivadas de DNA oxidadas, como o 8-hidroxideoxiguanosina e genes supressores de tumor alterados (SEITÉ et al., 2000; HEINRICH et al., 2004; VIELHABER et al., 2006; VELASCO et al., 2008a).

Desta forma, os perigos causados pela radiação UV à saúde humana, podem ser minimizados pelo emprego de protetores solares, que são formulações cosméticas que contém filtros solares capazes de proteger a pele dos danos causados pela radiação UV (FLOR et al., 2007).

1.2. Protetores solares

Os protetores solares são sistemas coloidais complexos que podem ser formados por sóis, emulsões ou ambos. Apesar de serem considerados cosméticos, os protetores solares apresentam efeitos profiláticos e podem ser definidos como formulações que contém filtros solares. Existem dois tipos de filtros solares, os inorgânicos e os orgânicos. Em geral, os protetores solares disponíveis no mercado contém ambos.

1.2.1 Filtros Inorgânicos

Os Filtros inorgânicos como TiO_2 e ZnO são extensivamente utilizados em formulações de protetores solares. Esses filtros são também denominados erroneamente de filtros físicos, pois além de absorverem, também refletem a radiação visível e dispersam a radiação UVA/UVB da luz solar. Como refletir e dispersar são fenômenos físicos, tem-se, então, a denominação de filtros físicos (SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007). Assim, a atenuação da radiação UV por esses óxidos ocorre através da combinação do espalhamento que depende de características morfológicas e da absorção que envolve transições eletrônicas entre a banda de valência (BV) e a banda de condução (BC). Esses fenômenos são determinados pelo índice de refração, pelo tamanho da partícula, pela dispersão na emulsão e pela espessura do filme que se forma na pele quando o protetor é aplicado.

Esses filtros solares representam a forma mais segura e eficaz para proteger a pele, por apresentarem baixo potencial de irritabilidade e por serem quimicamente estáveis (BECHERI et al., 2008). São também preferencialmente utilizados na forma microfina,

pois em tamanhos maiores, podem espalhar a luz visível e ocasionar o indesejável efeito branco sobre a pele dos usuários (PINNELL et al., 2000). Deve-se, entretanto, tomar devido cuidado quanto ao tamanho de partículas, já que o TiO_2 promove reações fotocatalíticas quando expostos à radiação UV (DUNFORD et al., 1997), o que pode levar a possíveis efeitos tóxicos devido à liberação de radicais livres.

O TiO_2 , um excelente filtro UV, é considerado um grande candidato a ser utilizado em produtos cujo objetivo é a obtenção de um alto FPS de largo espectro. Existe nas formas cristalinas do tipo rutilo, anatase e brookita, além da forma não cristalina. Apenas as fases rutilo, que possui energia de bandgap de 3,0 eV, e anatase (energia de bandgap de 3,2 eV) têm aplicabilidade em loções de protetores solares, além de fotocatalise heterogênea. A principal diferença entre as duas está na maior foto-atividade da fase anatase, mas a fase mais comum é a rutilo (COTTON; WILKINSON, 1988).

O ZnO é um semicondutor que pode existir em três formas, wurtzita, blenda de zinco e sal gema. À temperatura ambiente, a forma termodinamicamente estável do ZnO é a wurtzita. Seu bandgap é de ~3,4 eV tendo diversas aplicações, como a proteção solar já que é extremamente efetivo na atenuação da radiação UVA e UVB, cosmetologia, células solares e fotocatalise heterogênea (ÖZGÜR et al., 2005).

Há que se ressaltar, porém, que muitas formulações não apresentam somente filtros inorgânicos. Para uma melhor proteção da pele contra os raios UV, é comum utilizar também filtros orgânicos.

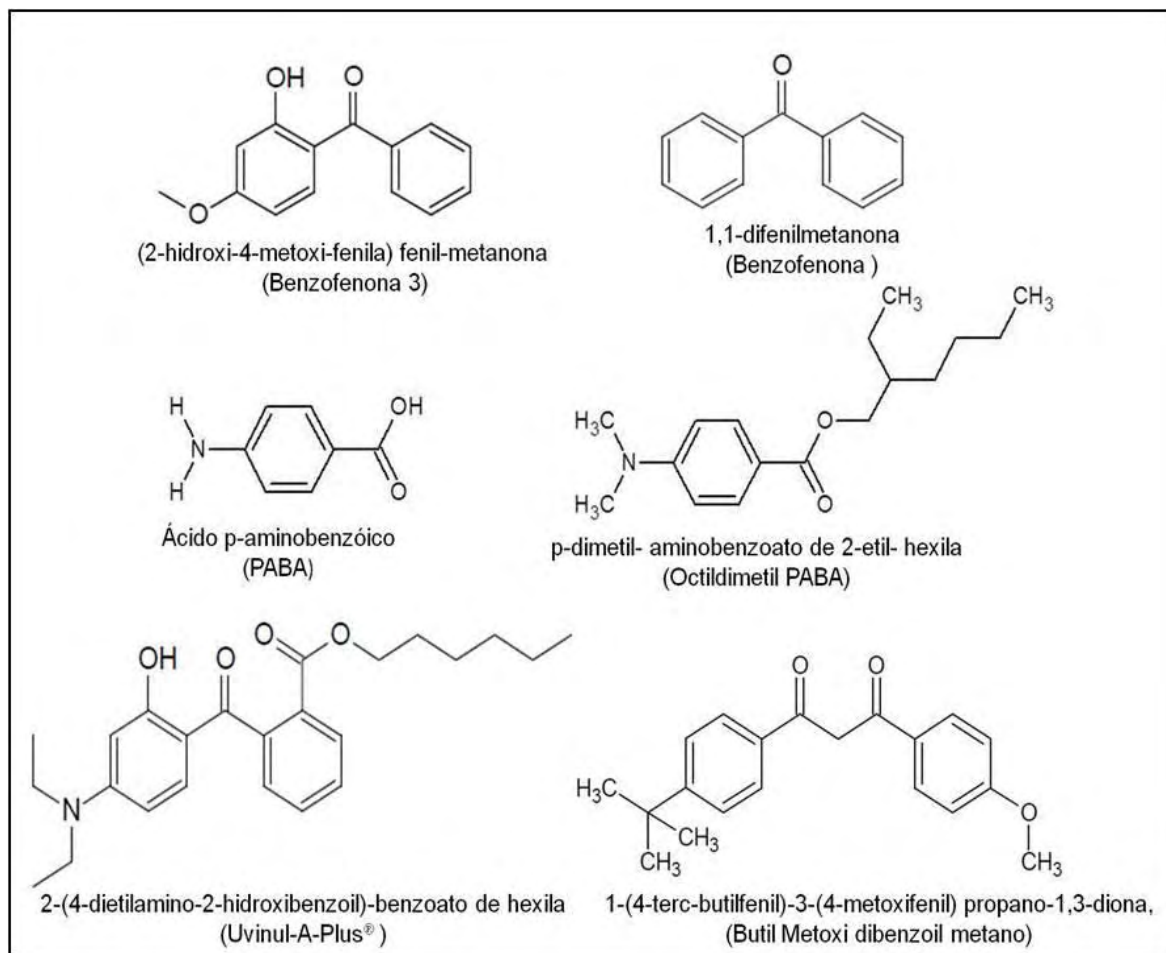
1.2.2 Filtros Orgânicos

Os filtros orgânicos, erroneamente denominados de filtros químicos, são representados por moléculas orgânicas capazes de absorver a radiação UV de alta energia e transformá-la em radiações com energias menores, as quais sejam inofensivas ao ser humano. Estas moléculas são essencialmente compostos aromáticos com grupos carbonila e possuem, em geral, um grupo doador de elétrons, como uma amina ou um grupo metoxila na posição orto ou para, do anel aromático. No processo de absorção, a molécula orgânica absorve a luz UV fazendo com que elétrons situados nos orbitais HOMO sejam excitados para orbitais de maior energia (orbitais LUMO), e ao retornar para o estado inicial, o excesso de energia é liberado na forma de calor.

De acordo com a região da radiação UV que absorvem, os filtros orgânicos são classificados tanto como filtros UVA, isto é, aqueles derivados da benzofenona, antranilato e dibenzoilametano que absorvem radiação UVA, quanto como filtros UVB, tais como os

derivados do ácido *p*-aminobenzóico (PABA), de salicilatos, cinamatos e da cânfora, que absorvem radiação UVB. As estruturas de alguns filtros orgânicos estão representadas na **figura 2**. Vale ressaltar que atualmente alguns desses filtros estão proibidos de serem utilizados em formulações de protetores solares devido seu possível potencial carcinogênico.

Figura 2. Estruturas de alguns filtros solares orgânicos.



Atualmente existe uma grande variedade de filtros orgânicos utilizados comercialmente. Como cada filtro orgânico absorve apenas parte da região do ultravioleta (UVA e/ou UVB), para se ter uma proteção completa da radiação UVA e UVB, deve-se fazer uma combinação entre estes. Devido às combinações, esses filtros muitas vezes apresentam um alto grau de irritabilidade quando aplicados à pele.

Uma tendência na formulação de protetores solares é o uso de maiores quantidades de filtros inorgânicos, principalmente para crianças e pessoas com peles sensíveis. Isto está associado ao fato do filtro inorgânico possuir um baixo potencial de irritabilidade da pele,

frente ao filtro orgânico. A irritabilidade da pele muitas vezes acontece devido à permeação da formulação, ou seja, a passagem do filtro solar orgânico através da epiderme.

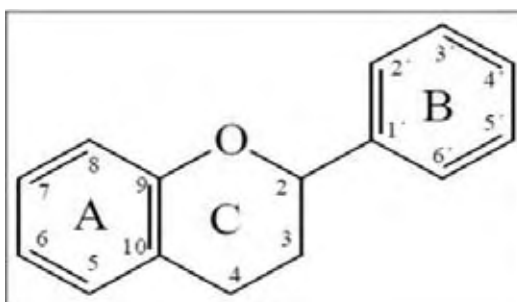
O problema da permeação do filtro pode ser resolvido pela associação do filtro inorgânico com o orgânico, resultando num filtro híbrido, que poderá contar com as características de ambos os filtros orgânico/inorgânico para efetuar a proteção solar, e pela obtenção de complexos metálicos utilizando como ligantes moléculas orgânicas, que apresentem potencial como filtros UV em formulações de protetores solares.

1.2.3 Filtros orgânicos naturais: Flavonóides

As plantas produzem uma grande diversidade de compostos orgânicos que podem ser divididos em metabólitos primários, que são as moléculas essenciais e constitutivas, e aquelas que não estão diretamente envolvidas nos processos de crescimento e desenvolvimento. Estas últimas são tradicionalmente chamadas de metabólitos secundários e se originam através de vias biossintéticas de ocorrência restrita, distribuídas em grupos taxonômicos específicos no reino vegetal. Neste sentido, destacam-se os flavonóides, encontrados em diversos vegetais, frutas cítricas, flores, castanhas, sementes, chás, vinho e em outras fontes de alimentação. Podem ocorrer como monômeros, dímeros ou formas oligoméricas, sendo encontrados em sua grande maioria oxigenados e conjugados com açúcares (heterosídeos).

Os flavonóides são derivados da benzo- α -pirona com a maioria de seus representantes formados por 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituindo os núcleos A, B e C (**figura 3**). Eles constituem uma enorme classe de substâncias fenólicas divididas em sete subgrupos principais: chalconas, flavonas, flavonóis, antocianinas e taninos condensados ou proantocianidinas e as auronas (BEHLING et al., 2004; HARBONE, 2001).

Figura 3. Esqueleto básico e padrão dos flavonoides.



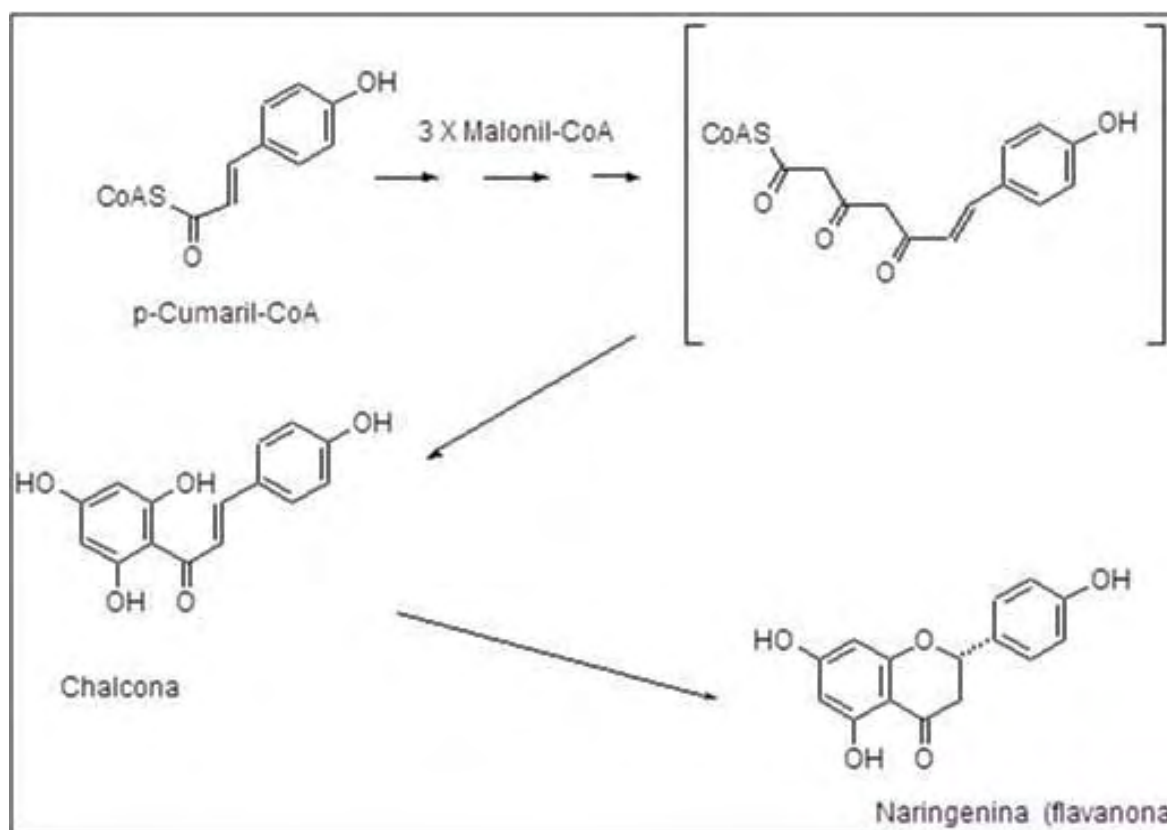
Dependendo da substituição e do nível de oxidação do anel pirano (anel C) os flavonóides podem ser divididos em diversas classes:

- Flavanois: hidroxila na posição 3, ex. catequina e epicatequina.
- Flavonois: carbonila na posição 4, hidroxila em 3 e uma ligação dupla entre 2 e 3, ex: quercetina e canferol.
- Flavonas: carbonila na posição 4 e uma ligação dupla entre 2 e 3, ex: rutina e apigenina.
- Antocianidinas: hidroxila na posição 3, e ligação dupla entre o oxigênio e o carbono 2, e entre os carbonos 3 e 4, ex: cianidina.
- Flavononas: carbonila na posição 4, ex: miricetina e naringenina.

Além dessas classes há as chalconas, auronas, diidrochalconas, flavandiols, bioflavonóides e protoantocianidinas.

Os flavonóides podem ocorrer como agliconas, porém frequentemente ocorrem como glicosídeos, e dentro de uma mesma classe podem diferir entre si de acordo com o padrão de substituição do glicosídeo nos anéis A e B, que podem se ligar a molécula em C-3 ou C-7, sendo a primeira mais comum.

A biossíntese dos flavonóides (**figura 4**) apresenta a singularidade de seus anéis aromáticos serem formados por rotas metabólicas distintas. Sua porção fenil-propanoídica (anéis B C2, C3, C4) é derivada do ácido p-cumárico formado pela via do chiquimato. Por outro lado, o anel A é formado basicamente pela condensação de unidades de acetato, pela via dos policetídeos. A biossíntese geral dos flavonóides tem como intermediário central o tio-éster p-cumaroil-CoA, que será alongado pela condensação de três unidades de malonil-CoA. A ciclização resulta na formação do anel A e produz a chalcona, que em condições fisiológicas, tende espontaneamente à flavona racêmica. Contudo, sabe-se que a ciclização da chalcona é catalisada por uma enzima, chalcona isomerase, que induz o fechamento estereoespecífico do anel (adição syn sobre a dupla ligação E) formando exclusivamente a 2-(S)-flavanona. Os outros tipos de flavonóides são formados por subsequentes etapas de óxi-redução deste intermediário comum (CROTEAU, 2000; XIE; DIXON, 2005).

Figura 4. Rota Biossintética Geral para Flavonóides.

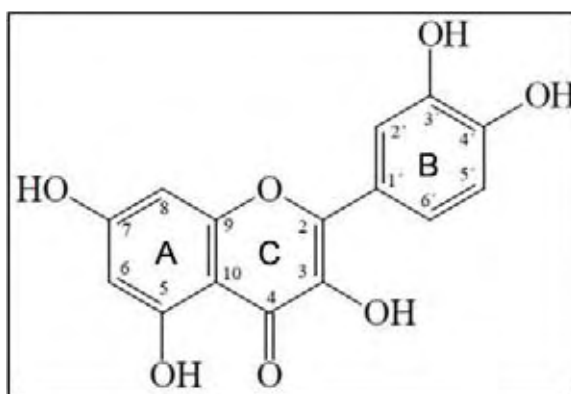
Fonte: Adaptado de CROTEAU, 2000; XIE; DIXON, 2005.

Vários flavonóides têm sido exhaustivamente estudados pela perspectiva de seu uso na proteção da saúde, ação farmacológica e atividade antioxidante. De um modo geral, estes possuem estrutura ideal para o sequestro de radicais, sendo antioxidantes mais efetivos que as vitaminas C e E em determinadas situações. Têm sido avaliados como moduladores na imunidade e como resposta antiinflamatória pelo impacto que causam nas funções de músculos lisos. Possuem efeito preventivo ou protetor em doenças coronarianas, na perda óssea, e em outras patologias relacionadas com a idade. Muitos flavonóides são também considerados anticancerígenos, antivirais, antialérgico, hepatoprotetores, antiúlcero-gênicos, que são atribuídas à capacidade de captura do radical oxigênio (BEHLING et al., 2004; MIDDLETON, 2000; WANG; HUANG, 2004). Além disso, devido à presença de grupos cromóforos em suas estruturas, estes são também capazes de absorver radiação UV apresentando, portanto, grande potencial para sua utilização como filtros orgânicos em formulação de protetores solares.

1.2.4 Flavonóide quercetina: características e propriedades gerais

Dentre os diversos flavonoides conhecidos, será dado destaque para quercetina (3, 3', 4', 5, 7 pentahidroxi-flavona) (**figura 5**), um flavonol denominado aglicona, ou forma sem açúcar da rutina, e que se encontra muito presente na dieta humana, sendo encontrado em grande quantidade em alimentos como frutas, verduras e chás. Por possuir uma série de ações farmacológicas e grande abundância na natureza, tem sido objeto de muitos estudos.

Figura 5. Fórmula estrutural da quercetina.



Fonte: Adaptado de DEHGHAN; KHOSHKAM, 2012.

A substância apresenta-se como um pó amarelo-alaranjado, com fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_7$ e massa molecular $302,24 \text{ g.mol}^{-1}$ na forma anidra e $338,24 \text{ g.mol}^{-1}$ na forma dihidratada, forma que se encontra cristalizada. Funde em torno de 330°C , porém em torno de 314°C já é observada sua decomposição. Quanto à solubilidade, é praticamente insolúvel em água, sendo mais solúvel em metanol, etanol a quente, ácido acético glacial e em soluções alcalinas, às quais apresenta coloração amarelada (BUDAVARI, 1996).

Por meio de pesquisa na literatura foi possível verificar que espectro de RMN de ^1H da quercetina em dmso apresenta os seguintes sinais: δ 12,50 (s, 1H, 5-OH), 10,76 (s, 1H, 7-OH), 9,60 (s, 1H, 3-OH), 9,39 (s, 1H, 4'-OH), 9,31 (s, 1H, 3'-OH), 7,68 (d, $J_{H2'/H6'} = 1,8 \text{ Hz}$, 1H, 2'-H), 7,55 (dd, 1H, 6'-H), 6,89 (d, $J_{H5'/H6'} = 8,5 \text{ Hz}$, 1H, 5'-H), 6,43 (d, $J_{H8/H6} = 1,5 \text{ Hz}$, 1H, 8-H), 6,22 (d, 1H, 6-H) (DEHGHAN; KHOSHKAM, 2012). Através deste desses dados, é possível atribuir a seguinte ordem para a desprotonação de suas hidroxilas: 5-OH, 7-OH, 3-OH, 4'-OH e 3'-OH.

Semelhantemente aos outros flavonóides, apresenta sensibilidade à luz (HARBONE; WILLIAN, 2001) e sua estabilidade em solução está comprometida em valores de pH acima de 7, condição na qual as reações de oxidação e hidrólise tornam-se favorecidas (GOMATHI et al., 2003).

Possui propriedades farmacológicas de grande interesse, dentre as quais estão efeitos anticarcinogênicos, antiviral, antiinflamatório, protetores do sistema renal, cardiovascular e hepático, além de propriedade antioxidante (BEHLING, 2004; MASUOKA et al., 2012) que contribui com a prevenção ou redução de efeitos fotobiológicos causados pela radiação UV (INAL; KAHRAMAN, 2000). Além disso, a quercetina possui características espectroscópicas interessantes para utilização como filtro orgânico em formulações de protetores solares, como intensa absorção da radiação UVA/UVB, além de ser comercial.

1.3. Atividade antioxidante

De acordo com Halliwell e Gutteridge (2000), antioxidante é qualquer composto que, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo.

Existe um grande interesse no estudo de compostos antioxidantes, devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo. São conhecidos como radicais livres quaisquer espécies químicas capazes de existir de forma independente e que contenham um ou mais elétrons desemparelhados no orbital molecular. Por isso, são muito reativos e capazes de interagir com muitas biomoléculas, como lipídeos, proteínas e DNA (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Além das espécies radicalares, existem espécies não radicalares que também são altamente reativas. Entre estas espécies podem-se destacar dois grupos: as espécies reativas de oxigênio (ERO) e as espécies reativas de nitrogênio (ERN). As ERO radicalares mais importantes são o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila ($HO^{\bullet}$), peroxila ($ROO^{\bullet}$), alcoxila ($RO^{\bullet}$); e as não radicalares são o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso ($HOCl$) e o oxigênio singlete (1O_2). O óxido nítrico (NO_2) e o peroxinitrito ($ONOO^-$) constituem as principais ERN. Tais espécies são geradas em sistemas biológicos por vários processos de oxidação (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2010; DURACKOVÁ, 2010; ARAÚJO, 2008; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990).

O conhecimento dos mecanismos de formação e regulação das ERO é de grande importância para a compreensão dos eventos celulares relacionados ao controle da sobrevivência, morte e proliferação celular. Tais espécies são dotadas de grande reatividade, as quais apresentam papéis adversos nos sistemas biológicos, podendo ser

benéficas e mesmo essenciais ou deletérias para os organismos vivos (VALKO et al, 2006; NIKI, 2010).

As oxidações ocorrem como partes fundamentais da vida aeróbica e do nosso metabolismo; sendo assim, ocorre à produção das espécies reativas naturalmente e seus níveis podem ser exacerbados por alguma disfunção biológica (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

O desequilíbrio entre a presença de níveis relativamente altos de espécies reativas, principalmente as ERO e/ou ERN, e a insuficiência de mecanismos de defesa detoxificantes, é uma condição bioquímica denominada de estresse oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2010). Também é considerado um evento intracelular importante em vários processos patológicos, com envolvimento nas complicações de várias doenças, como por exemplo, aterosclerose, doenças neurodegenerativas (doença de Alzheimer, esclerose múltipla, mal de Parkinson), câncer e síndrome de Down, entre outras (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2010; NIKI, 2010; DURACKOVÁ, 2010; VALKO et al., 2006).

As ERO, além de seu envolvimento com determinadas patologias, também têm sido apontadas como responsáveis pelo processo de envelhecimento em consequência do desacoplamento das reações de transporte de elétrons e da elevação dos níveis de metais, que causam o aumento das oxidações de biomoléculas como as proteínas e consequente acúmulo destas, alterando a homeostase celular (RODRIGUES, 2007; FINKEL; HOLBROOK, 2000).

Todos os componentes celulares são suscetíveis à ação das ERO. O processo pelo qual as ERO atacam as membranas biológicas é chamado de lipoperoxidação (LPO). A LPO é um processo contínuo que ocorre na membrana celular lipoproteica, gerando o radical peroxila ($\text{ROO}^\bullet$), o que acarreta alterações na sua estrutura e permeabilidade. Consequentemente, há perda da seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomas, e formação de produtos citotóxicos (como o malonaldeído), culminando com a morte celular. A lipoperoxidação é postulada estar associada aos mecanismos de envelhecimento, de câncer e na exacerbação da toxicidade de xenobióticos (NIKI et al., 2005; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004; MENEHINI, 1987).

Assim, o efeito das espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio pode ser equilibrado pela ação de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, os quais têm como função a remoção dessas espécies, evitando o estresse oxidativo, podendo assim proteger o

organismo. Dentre os antioxidantes enzimáticos, os mais eficientes são: SOD, a catalase e a glutathione peroxidase. Entre antioxidantes não enzimáticos, podemos destacar as vitaminas C e E, carotenóides, compostos tiólicos, flavonóides naturais como a quercetina, melatonina e outros. A atividade antioxidante contra o estresse oxidativo depende da espécie reativa, como foi e onde foi gerada, pois o local de atuação dos antioxidantes dentro da célula depende também de sua solubilidade, e do tipo celular envolvido (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2010; DURACKOVÁ, 2010; VASCONCELOS et al., 2007).

1.4. Complexos metálicos de quercetina e seu potencial como filtros solares e antioxidantes

É inegável que este século está sendo marcado pela força dos movimentos ecológicos e por terapias que irão refletir de maneira significativa na obtenção de novos compostos com propriedades terapêuticas.

De um modo geral, os produtos naturais têm sido foco de diversos estudos devido à sua presumível utilização segura, questões ecológicas como a sustentabilidade e impacto ambiental mínimo (TRABIZI; MORTAZAVI; KAMALINEJAD, 2003). Voltado para a aplicação em proteção solar, o uso de matérias primas naturais, como o flavonóide quercetina, que possui absorção da radiação UV e consequente proteção da pele contra danos causados pelas radiações UVA e UVB é de grande interesse devido aos benefícios que estes produtos podem trazer e finalmente a confiança do consumidor ao “nome” produto natural (BANOV et al., 2006; ROLIM et al., 2005; ROLIM et al., 2006; VELASCO et al., 2008b).

A interação de flavonóides com íons metálicos pode mudar as propriedades antioxidantes, biológicas e espectrais dos mesmos, sendo a maioria dessas propriedades muitas vezes superiores as dos compostos originais (SOUZA et al., 2003). Dessa forma, tem-se buscado obter complexos metálicos com flavonóides, como a quercetina, a fim de potencializar as propriedades farmacológicas e antioxidantes que tais produtos naturais apresentam (SOUZA et al., 2003).

O flavonóide quercetina apresenta sítios de coordenação com a presença de grupos hidroxil e oxo e desta forma, capacidade de se coordenar a metais de transição. Seus principais sítios de coordenação são os grupos presentes nas posições 4-oxo, 3-OH, 5-OH, 3'-OH e 4'-OH (**Figura 5**) porque além da desprotonação das hidroxilas, estes grupos são capazes de quelar metais, diferentemente da hidroxila 7-OH, que apesar de possuir

hidrogênio acídico, não possui grande possibilidade de formar quelatos. Apesar de alguns estudos envolvendo complexos de quercetina e rutina contendo íons Fe (II), Cu (II) e Zn (II), Sn (II) já serem encontrados na literatura (DEHGHAN; KHOSHKAM, 2012; BUKHARI et al., 2009; LEKKA et al., 2009; HYNES, et al., 2008; TORREGGIANI et al., 2005; SOUZA; DE GIOVANI et al., 2005), o uso de metodologias diferentes (solvente, temperatura e tempo de reação) levam a obtenção de complexos distintos com propriedades químicas e biológicas diferentes (FERRETTI et al., 2007).

Alguns estudos apontam o uso da quercetina e de outros flavonóides em proteção solar, mas o uso de complexos metálicos de quercetina como filtros em formulações de protetores solares ainda não foram descritas na literatura.

Assim, uma alternativa inédita à utilização de filtros híbridos é a obtenção de complexos entre cátions metálicos como Zn^{2+} e Ce^{3+} e heterobimetálicos de Zn^{2+} e Ce^{3+} com o filtro orgânico quercetina. Apesar de complexos poderem permear a pele, ainda que com maior dificuldade, dado o seu maior volume por fórmula unitária, pode haver um ganho de absorção de radiação UV, aumento razão UVA/UVB e do Fator de Proteção Solar (FPS). Complexos combinam cátions metálicos com ligantes orgânicos, e absorvem radiação UV também através de transições de natureza semelhante as dos ligantes orgânicos, isto é, transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. Nesses compostos, a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ possui força de oscilador de várias ordens de grandeza maior que o valor da transição $BV \rightarrow BC$ em óxidos inorgânicos (CEBIM, 2008). Esse aumento da força de oscilador implica numa maior absorvidade molar do composto utilizado como filtro solar e consequentemente trará maior razão UVA/UVB e um maior FPS ao protetor solar, tornando-o um produto de alto desempenho. Ressalta-se também que os complexos podem absorver radiação UV através de transições de transferencia de carga, com força de oscilador alta, no entanto, menores que a da transição $\pi \rightarrow \pi^*$ (LEVER, 1984). Além das propriedades ópticas, tais complexos podem apresentar atividade antioxidante superior ao flavonoide de origem, apresentando-se assim como um filtro solar multifuncional.

A presença do Ce^{3+} na composição do complexo que será utilizado na formulação do protetor justifica-se, pois este íon apresenta absorções elevadas na região do UVA/UVB devido à transição $4f \rightarrow 5d$. Também pode ser citado que sob determinadas condições de simetria e especialmente de força e de distância de ligação, Ce^{3+} pode apresentar luminescência, possibilitando a correlação das propriedades espectroscópicas e estruturais do complexo com os parâmetros de proteção solar (FLOR et al., 2007; CEBIM, 2008). Já a

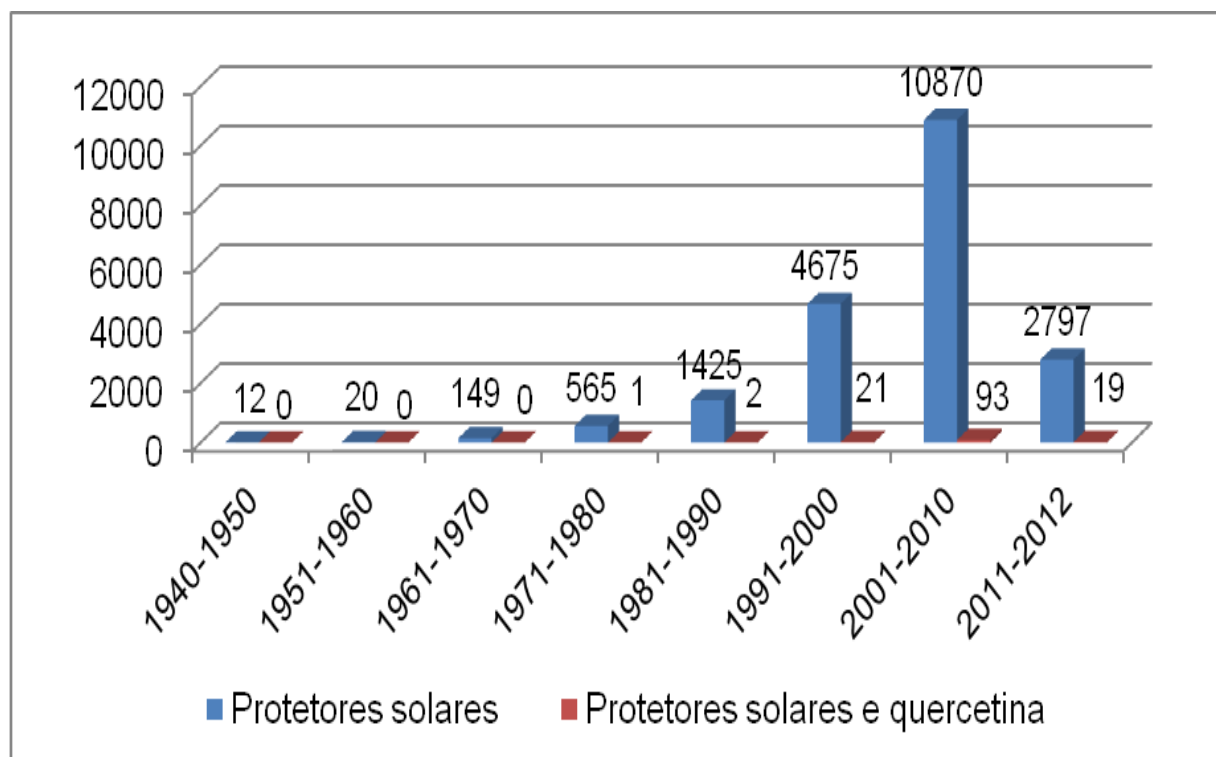
presença do Zn^{2+} pode ser justificada pela grande importância desse íon para os sistemas biológicos (MAFRA; COZZOLINO, 2004).

Assim, cientes de que o uso de protetores solares para a proteção da pele contra os raios UV emitidos pelo sol é imprescindível nos dias atuais, torna-se de grande relevância o estudo de novos filtros solares através da obtenção de complexos metálicos e heterobimetálicos utilizando os íons metálicos Zn^{2+} , Ce^{3+} e quercetina como ligante, a fim de preparar formulações de protetores solares com menor irritabilidade, melhor desempenho no fator de proteção solar (FPS) e na porcentagem de radiação UVA bloqueada.

1.5. Levantamento bibliográfico

Levantamento bibliográfico foi realizado na base de dados Scifinder® primeiramente com a palavra-chave *protetor solar*, e posteriormente com as palavras-chave *protetor solar* e *quercetina*. Na **figura 6** encontra-se o número de publicações envolvendo protetores solares, referente ao período de 1940 a 2012 e o número de publicações envolvendo conjuntamente os termos *protetor solar* e *quercetina* neste mesmo período.

Figura 6. Número de publicações sobre protetores solares ou protetores solares e quercetina, no período 1940-2012.



O primeiro artigo envolvendo o conceito de protetor solar foi publicado por Bird em 1942 com o título *Ultraviolet absorption of surface anesthetics* na revista *Journal of the American Pharmaceutical Association*. O segundo trabalho sobre este assunto foi publicado dois anos mais tarde por Mueller e tratou de uma revisão sobre a determinação da absorção e da estabilidade de um protetor solar, além da avaliação deste material em termos de toxicidade, odor, irritação e outras potencialidades. No decorrer dos anos, o número de publicações envolvendo este assunto cresceu exponencialmente e de uma forma geral, os artigos publicados até o momento envolvem diversos conceitos como a composição da formulação, a descoberta de novos filtros solares orgânicos ou inorgânicos, fotoestabilidade dos componentes de um protetor, síntese e caracterização de filtros orgânicos, além de estudos de métodos *in vitro* e *in vivo* que atestam a eficiência de um protetor solar. Esse crescimento no número de publicações reflete o reconhecimento da importância que este tema tem para os dias atuais. Vale ressaltar que o número de publicações da última década foi menor que o número de publicações nas décadas anteriores visto que foram analisados os trabalhos publicados apenas nos anos de 2011 e 2012, não contemplando todos os anos pertencentes a esta década.

Na **figura 6**, podemos observar também o número de publicações no decorrer dos anos, que envolvem o uso da quercetina e de seus derivados em protetores solares. O primeiro trabalho relacionado ao assunto foi publicado em 1980, uma patente da empresa *Sansho Seiyaku Co.* do Japão, que tratava sobre a utilização de ésteres de ácidos graxos quercetina como absorvedores UV. Mas o primeiro trabalho que retrata o uso da molécula de quercetina como filtro solar aconteceu dois anos mais tarde (1982), uma patente da empresa *Kanebo Ltd.* do Japão. Ao longo dos anos o número de publicações sobre o assunto começou a crescer. Em 2010, Scalia e Mezzena estudaram o efeito do antioxidante quercetina na fotoestabilidade de uma formulação contendo os filtros Butilmetoxidibenzoilmetano e octilmetoxicinamato. Eles verificaram que a presença da quercetina na formulação contribui favoravelmente para com a sua fotoestabilidade.

Não foram encontrados trabalhos envolvendo a utilização de complexos metálicos de quercetina como filtros solares em formulações.

Assim, através desse levantamento foi possível verificar que a pesquisa envolvendo compostos antioxidantes como a quercetina, em formulações de protetores solares é bastante recente apesar de ter uma relevância já conhecida, o que nos instiga a focar nossos estudos em complexos metálicos de quercetina a fim de verificar seu potencial como filtros solares antioxidantes.

2-OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é o estudo de novos complexos metálicos de Zn^{2+} , Ce^{3+} e heterobimetálicos de Zn^{2+} e Ce^{3+} utilizando produto natural (quercetina) como ligante, com ênfase na caracterização espectroscópica para explorar a viabilidade destes na composição de formulações de protetores solares.

Como etapas necessárias têm-se:

- Obtenção de complexos metálicos de Zn^{2+} e de Ce^{3+} com quercetina;
- Obtenção de complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina;
- Caracterização, estudo e comparação das propriedades ópticas e atividade antioxidante dos complexos obtidos;
- Obtenção de protetores solares utilizando cada um dos complexos obtidos, analisando a estabilidade coloidal e a viabilidade desses materiais nas formulações.

3- EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes

Durante todo o trabalho foram utilizados os reagentes identificados na **tabela 1**.

Tabela 1: *Relação de reagentes utilizados.*

REAGENTE	ORIGEM	PUREZA
Quercetina	Sigma	99,9%
Rutina	Sigma	99,9%
Glutathiona reduzida	Sigma	---
Etanol	---	---
Metanol	---	HPLC
Hidróxido de amônio	Synth	P.A
Hidróxido de sódio	Synth	P.A
Acetato de Zinco	Synth	P.A.
Cloreto de zinco	---	---
Nitrato de Cério	Synth	99,999%
Óxido de zinco	Galena	95,7%
EDTA	Merck	P.A
Persulfato de potássio	Sigma	P.A
Persulfato de sódio	Sigma	P.A
2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico) (ABTS)	Sigma	---
Metassulfato de fenazina (PMS)	Sigma	---
Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH)	Sigma	---
Azul de nitrotetrazólio (NBT)	Sigma	---
3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB)	Sigma	---
2,2'-difetil-1-picrilhidrazil (DPPH)	Sigma	---
ácido 5-tio-2- nitrobenzóico (TNB)	Sigma	---
Dimetilformamida	Synth	P.A
Dimetilsulfóxido (DMSO)	Synth	P.A
Ácido acético glacial	Merck	P.A
Iodeto de potássio	Merck	P.A
Catalase	---	---
Peróxido de hidrogênio	Merck	---

3.2. Obtenção dos compostos de coordenação

3.2.1 Complexo de Zn^{2+} com quercetina

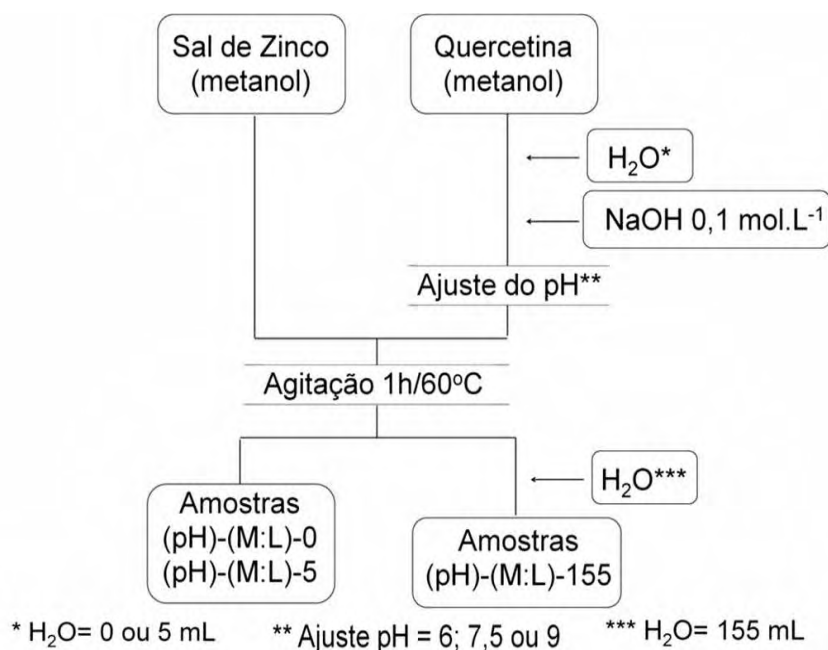
Devido às dificuldades encontradas em projetos anteriores na obtenção do complexo de Zn^{2+} com quercetina, e baseado em trabalhos encontrados na Literatura

(DEHGHAN; KHOSHKAM, 2012; BUKHARI et al., 2009; LEKKA et al., 2009; HYNES et al., 2008; TORREGGIANI et al., 2005; SOUZA; DE GIOVANI et al., 2005), optou-se por variar as condições reacionais para obtenção do complexo, como o sal de zinco de partida (acetato de zinco diidratado ou cloreto de zinco), o pH da solução metanólica do ligante (6 / 7,5 / 9), a quantidade de água destilada adicionada (0 / 5 / 155 mL) e a proporção estequiométrica de Metal: Ligante (1:1 / 1:2 / 2:1), a fim de determinar as melhores condições para obtenção dos mesmos. Vale salientar que foram escolhidos os valores de pH 6, 7,5 e 9 com o intuito de estudar o efeito da desprotonação dos grupos fenólicos presentes na quercetina na formação do complexo.

Desta forma, partiu-se de solução metanólica de quercetina e com adição de base (solução metanólica de NaOH 0,1 mol/L) ajustou-se o pH (6 / 7,5 / 9). Adicionou-se a esta, solução de sal de zinco (acetato ou cloreto de zinco), mantendo a mistura resultante em aquecimento e agitação a 60 °C por 1 h. Após este tempo, houve a adição (ou não) de água destilada. A mistura foi mantida novamente sob aquecimento e agitação por mais 30 min, seguido de repouso por alguns dias. Após o período, o precipitado foi filtrado, lavado com mistura de água e etanol na proporção 50 : 50, e seco em dessecador.

Na **figura 7** está representado o procedimento experimental geral de obtenção das amostras.

Figura 7. Procedimento experimental de obtenção dos complexos de Zn^{2+} .



Como variou-se as condições reacionais, foram obtidas 54 amostras no total. A **tabela 2** resume as condições experimentais utilizadas e as respectivas amostras obtidas.

Tabela 2: Condições experimentais e amostras obtidas.

pH da solução de quercetina	Sal de Zinco	Proporção	H ₂ O (mL)	Amostra	Proporção	H ₂ O (mL)	Amostra	Proporção	H ₂ O (mL)	Amostra
6,0	Acetato de zinco (a)	1Zn ²⁺ : 1 Q (0)	0	6-a-0-0	1Zn ²⁺ : 2 Q (1)	0	6-a-1-0	2Zn ²⁺ : 1 Q (2)	0	6-a-2-0
			5	6-a-0-5		5	6-a-1-5		5	6-a-2-5
			155	6-a-0-155		155	6-a-1-155		155	6-a-2-155
0			7-a-0-0	0		7-a-1-0	0		7-a-2-0	
5			7-a-0-5	5		7-a-1-5	5		7-a-2-5	
155			7-a-0-155	155		7-a-1-155	155		7-a-2-155	
0			9-a-0-0	0		9-a-1-0	0		9-a-2-0	
5			9-a-0-5	5		9-a-1-5	5		9-a-2-5	
155			9-a-1-155	155		9-a-1-155	155		9-a-2-155	
7,5	Cloreto de zinco (b)	1Zn ²⁺ : 1 Q (0)	0	6-b-0-0	1Zn ²⁺ : 2 Q (1)	0	6-b-1-0	2Zn ²⁺ : 1 Q (2)	0	6-b-2-0
			5	6-b-0-5		5	6-b-1-5		5	6-b-2-5
			155	6-b-0-155		155	6-b-1-155		155	6-b-2-155
0			7-b-0-0	0		7-b-1-0	0		7-b-2-0	
5			7-b-0-5	5		7-b-1-5	5		7-b-2-5	
155			7-b-0-155	155		7-b-1-155	155		7-b-2-155	
0			9-b-0-0	0		9-b-1-0	0		9-b-2-0	
5			9-b-0-5	5		9-b-1-5	5		9-b-2-5	
155			9-b-0-155	155		9-b-1-155	155		9-b-2-155	

Vale comentar que a nomenclatura escolhida para cada amostra resume as condições experimentais de sua obtenção, por exemplo, a amostra 6-a-1-5 foi a amostra obtida em pH 6, partindo-se de acetato de zinco (a), na proporção M:L de 1:1 (0) e na presença de 5 mL de água destilada.

As 54 amostras foram caracterizadas inicialmente por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR) e espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS por reflectância difusa (ERD). Por meio das medidas iniciais, foi possível verificar 3 perfis espectrais distintos, que foram denominados *complexo 1*, *complexo 2* e *complexo 3* respectivamente. A fim de melhor investigar os compostos obtidos, estes foram posteriormente caracterizados por difração de Raios X (DRX), análise térmica, análise elementar, titulação complexométrica, espectroscopia de fotoluminescência com excitação UV (EFL), índice de cor.

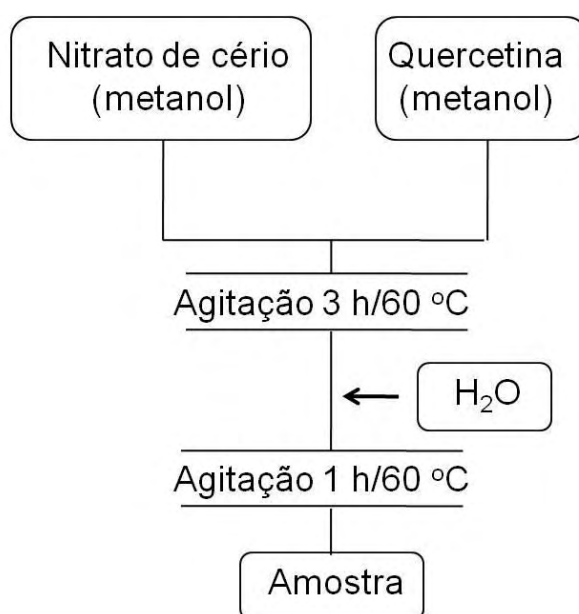
3.2.2 Complexo de Ce³⁺ com quercetina

Para síntese do complexo de Ce³⁺ com quercetina, partiu-se de soluções metanólicas de quercetina com pH~6 e de nitrato de cério hexahidratado. O sistema foi

mantido sob agitação e aquecimento por 3 h a 60 °C. Posteriormente, adicionou-se 150 mL de água destilada. O sistema resultante foi novamente mantido sob agitação e aquecimento por 1 h a 60 °C, observando a precipitação. Ao final, a mistura resultante foi reservada por alguns dias. Após o período, a mistura foi filtrada e o precipitado lavado com uma mistura dos solventes água e etanol na proporção 50 : 50 a fim de eliminar o excesso de ligante. O precipitado foi seco em dessecador, resultando em amostra amarelo-esverdeada. Foram utilizadas as proporções Metal : Ligante (M:L) de 1:4 e 1:8.

Na **figura 8** encontra-se o procedimento experimental geral de obtenção das amostras.

Figura 8. Procedimento experimental de obtenção do complexo de Ce^{3+} .



Vale salientar que foi escolhido pH~6 para a solução do ligante pois maiores concentrações de OH⁻, favorecem a formação de hidróxidos, induzindo assim a precipitação de Ce(OH)₃. Além disso, foi encontrado na literatura (MALESEV; KUNTIC, 2007) e pode ser comprovado nos experimentos utilizados anteriormente (obtenção de complexo de Zn²⁺ com quercetina com condições reacionais variadas) neste trabalho, que tal valor é um pH ótimo para complexação de flavonóides como é o caso do ligante quercetina (MALESEV; KUNTIC, 2007).

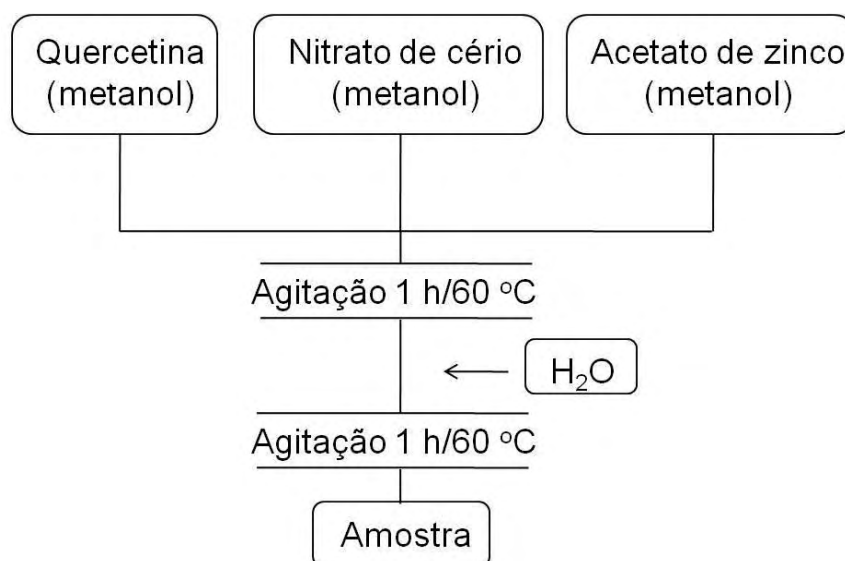
As amostras obtidas, denominadas de *complexo 4* (proporção 1:4) e *complexo 5* (proporção 1:8), foram caracterizadas por FTIR, ERD, DRX, análise térmica, análise elementar, titulação complexométrica, EFL e índice de cor.

3.2.3 Obtenção do complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina

Para síntese do complexo de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina foram utilizados dois métodos. No primeiro, partiu-se inicialmente de soluções metanólicas de quercetina com $pH \sim 6$, de acetato de zinco dihidratado e nitrato de cério hexahidratado nas proporções de $Zn^{2+} : Ce^{3+} : \text{Ligante}$ de 1:1:2, 1:1:4, 1:1:6 e 1:1:8. A solução resultante foi mantida sob agitação e aquecimento por 1 h a 60 °C. Posteriormente, adicionou-se 150 mL de água destilada, sendo mantida a agitação e aquecimento por mais 1 h a 60 °C observando a precipitação. A mistura resultante foi reservada por alguns dias. Após o período, foi filtrada e lavada com água, sendo o precipitado seco em dessecador, resultando numa amostra de coloração esverdeada independente da proporção estequiométrica utilizada, que foi denominada inicialmente de *Amostra 1*.

Abaixo (**figura 9**) encontra-se o fluxograma com o procedimento experimental realizado na obtenção da *amostra 1*.

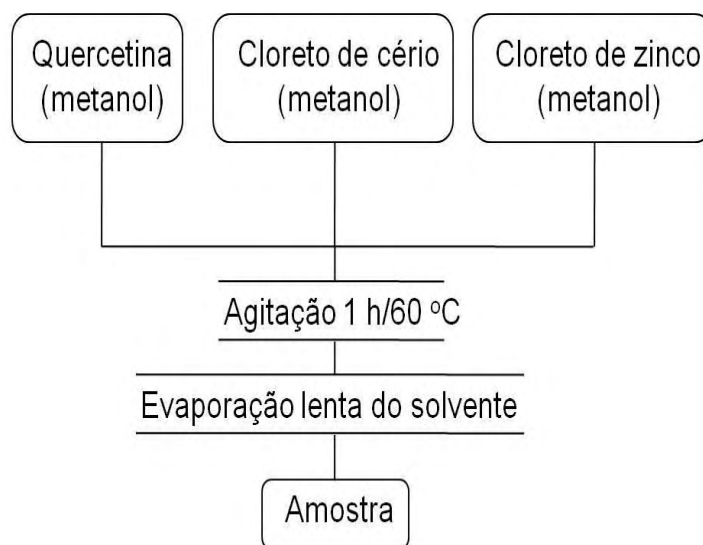
Figura 9. Procedimento experimental de obtenção do complexo de Zn^{2+} e Ce^{3+} , método 1.



No segundo método utilizado, partiu-se de solução metanólica do ligante e dos cloretos de Zn^{2+} e de Ce^{3+} na proporção de $Zn^{2+} : Ce^{3+} : \text{Ligante}$ de 1:1:2. A solução foi mantida sob agitação e aquecimento por 1 h a 60 °C. Posteriormente, a solução resultante foi reservada para evaporação lenta do solvente e consequente precipitação da amostra. Tal amostra, denominada de *amostra 2*, foi lavada com mistura de água e etanol na proporção 30:70 respectivamente, e seca em dessecador.

Na **figura 10** encontra-se o procedimento experimental utilizado na obtenção da *amostra 2*.

Figura 10. Procedimento experimental de obtenção do complexo de Zn^{2+} e Ce^{3+} , método 2.



As amostras obtidas em ambos os métodos foram caracterizadas por FTIR, ERD e DRX. Como apenas a *amostra 2* apresentou resultados promissores, esta foi melhor caracterizada por análise térmica, elementar, EFL e índice de cor.

3.3. Preparação dos protetores solares

As formulações dos protetores solares foram preparadas em amostras de 50 g, contendo como filtros solares os complexos que obtiveram bons resultados. Formulações utilizando quercetina ou ZnO como filtro solar também foram preparadas para posterior comparação. As porcentagens de filtro utilizadas em cada uma das formulações foram de 1, 3 e 5%. Vale destacar que a formulação base utilizada na preparação dos protetores solares foi escolhida com a colaboração do Prof. Dr. Marco Antonio Correa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP-CAR, que desenvolve projetos de pesquisa na área de cosméticos.

Em um béquer, pesou-se a fase oleosa composta por álcool cetosteárilico etoxilado, monoestearato de glicerila, cosmowax J. (mistura formada por álcool cetosteárilico e álcool cetosteárilico etoxilado), adipato de diisopropila, triglicerides de ácido cáprico e caprílico (em cinza na **tabela 3**). Em outro béquer pesou-se a fase aquosa composta por propilenoglicol, metilparabeno, probilparabeno, água destilada e edta (**negrito na tabela 3**). As duas fases, aquosa e oleosa foram aquecidas separadamente a 70-75 °C. Ao atingir essa temperatura, a fase aquosa foi vertida sobre a fase oleosa. Sob agitação vigorosa, a mistura foi resfriada em banho com água até formar um creme com

alta viscosidade. Após a formação do creme foi adicionado a este uma suspensão de água, filtro solar e Tween 20 (monolaurato de Sorbitan Etoxilado 20) (itálico na **tabela 3**). A suspensão foi feita pra evitar a aglomeração de filtro no produto final.

Desta forma, foram preparadas as seguintes formulações: Base (sem filtro); Q1%, Q3%, Q5% (quercetina como filtro); ZnO 1%, ZnO 3%, ZnO 5% (ZnO como filtro); C₁ 1%, C₁ 3%, C₁ 5% (*complexo 1* como filtro); C₂ 1%, C₂ 3%, C₂ 5% (*complexo 2* como filtro); C₄ 1%, C₄ 3%, C₄ 5% (*complexo 4* como filtro) e C_H 1%, C_H 3%, C_H 5% (*complexo heterobimetálico* como filtro). Estas formulações foram caracterizadas por ERD e medidas de viscosidade.

Na **Tabela 3** estão apresentadas as quantidades em massa de cada reagente para preparar 50 g dos protetores com as respectivas porcentagens de filtro solar.

Tabela 3: Condições experimentais e amostras obtidas.

Componente	Função	Formulação			
		Base	1%	3%	5%
Álcool cetosteárilico	Emoliente, deslizante	1,0	1,0	1,0	1,0
Monoestereato de glicerila	Emulsionante	1,0	1,0	1,0	1,0
Cosmowax J.	Emulsionante	4,0	4,0	4,0	4,0
Adipato de diisopropila	Emoliente	0,75	0,75	0,75	0,75
Triglicerides do ácido capríco e caprílico	Emoliente, deslizante	0,75	0,75	0,75	0,75
Propilenogilcol	Umectante, solubilizante para parabenos	2,0	2,0	2,0	2,0
Metilparabeno	Conservante	0,09	0,09	0,09	0,09
Propilparabeno	Conservante	0,01	0,01	0,01	0,01
Edta	Agente complexante	0,025	0,025	0,025	0,025
Água	Solvente	40,375	38,71	35,375	32,041
<i>Tween 20</i>	Suspensão	-	0,017	0,05	0,084
<i>Filtro</i>	Filtro solar	-	0,5	1,5	2,5
<i>Água</i>	Solvente	-	1,15	3,45	5,75

3.4. Caracterizações

3.4.1 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros no infravermelho na região entre 370 a 4000 cm^{-1} das amostras e da quercetina na forma de pó, foram registrados no espectrômetro Perkin Elmer FT-IR Spectrum 2000, utilizando pastilhas das amostras em KBr (aproximadamente 1:90, com pressão de cerca de 10 kbar no pastilhador).

3.4.2 Espectroscopia eletrônica de absorção na região do UV-VIS por reflectância difusa (ERD)

Os espectros ERD foram registrados no espectrofotômetro Cary UV-VIS NIR na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm. Como padrão de reflectância difusa foi utilizado óxido de magnésio (MgO). Foi utilizado também o espectrofotômetro Colorímetro KONICA MINOLTA, modelo CM-2500 d, utilizando os padrões do próprio equipamento como 0 (zero) e 100% de reflectância difusa e aquisição dos espectros na faixa de comprimento de onda de 360 a 740 nm.

Os espectros de absorção no UV-VIS foram obtidos a partir do espectro de reflectância difusa usando a aproximação de Kubelka-Munk (LOYALKA; RIGGS, 1995).

A função de Kubelka-Munk é definida por $F(R)$ segundo,

$$f(R_{\infty}') = \frac{(1 - R_{\infty}')^2}{4R_{\infty}'} = \frac{k}{s}, \quad (\text{equação 1})$$

na qual R é a reflectância difusa. A função de Kubelka-Munk é igual à razão entre os coeficientes de absorção (k) e espalhamento (s), isto é $F(R) = k/s$ e se conhecida a natureza do espalhamento de luz da amostra, representa o espectro real de absorção.

A pele é um órgão do corpo humano que em sua superfície externa apresenta irregularidades que causam o espalhamento em todas as direções da luz que a atingem (reflexão difusa). Como a sua espessura (e) é superior a 1,0 mm; essa estrutura torna-se ideal para a aplicação das equações de Kubelka-Munk. Para isso, deve haver propagação da luz do ar para a pele, espalhamento sem direção preferencial e um caminho óptico suficientemente grande a fim de se evitar transmissão ($e \rightarrow \infty$). Todas essas condições são verificadas quando se trabalha com a irradiação de luz UV e visível na pele.

Foram calculados também a energia de gap (E_g) das amostras pelo método de Tauc (CEBIM, 2008; VIANNA et al., 2004), comprimento de onda crítico (λ_c) (DIFFEY et al., 2000) e razão UVA/UVB (VELASCO et al., 2008b).

O bandgap (E_g) é definido pelo tamanho da banda proibida, isto é, o espaçamento em unidades de energia entre a banda de valência (BV) e a banda de condução (BC). No caso de sólidos compostos por moléculas orgânicas, o nível π deve contribuir em maior porcentagem em BV e π^* em maior porcentagem para BC. Deste modo a transição $BV \rightarrow BC$ é essencialmente de natureza $\pi \rightarrow \pi^*$. O *bandgap* do material pode ser calculado através da aproximação de Tauc. A partir da função remissão, obtêm-se os coeficientes de absorção (α) e segundo a linearização de Tauc, um gráfico de $(\alpha \times E)^n$ em função de E, onde E é a energia em eV, apresenta uma região linear, na qual, se ajustada uma reta, seu intercepto com o eixo das abscissas coincide com a posição da borda da banda de absorção, ou seja, o *bandgap*. O valor de n depende do tipo de transição $BV \rightarrow BC$ do material. Se a transição $BV \rightarrow BC$ ocorrer sem mudança da zona de Brillouin (VIANNA et al., 2004), ou seja, o material apresenta *bandgap* direto, o coeficiente é $n = 0,50$. Caso contrário, se na transição $BV \rightarrow BC$ houver mudança da zona de Brillouin, então $n = 2,0$. (CEBIM, 2008).

O comprimento de onda crítico (λ_c) é um método que mede a quantidade de proteção UVA para um filtro solar específico, em relação ao seu grau de proteção geral. Esse comprimento de onda é definido como sendo o comprimento no qual a área corresponde a 90% da área total (A290-400). Quanto maior for o λ_c de um filtro específico, melhor será seu desempenho na região do UVA (DIFFEY et al., 2000).

Para o cálculo da razão UVA/UVB foram consideradas as regiões espectrais ($\Delta\lambda$) UVC, UVB e UVA como compreendidas entre 190-280, 290-320 e 320-400 nm respectivamente (VELASCO et al., 2008b). A área compreendida nas regiões UVA e UVB é numericamente igual à área dos retângulos delimitados por $\Delta\lambda$ (no UVA = 80 nm e no UVB = 30 nm) e pela variação da reflectância difusa (ΔRD), que em ambos os casos é igual a 100%. Assim, na região do UVA a área total é numericamente igual a 8000 e enquanto que no UVB igual a 3000. A área coberta pelo espectro de reflectância difusa de uma determinada amostra na região do UVA ou UVB é a diferença entre a área total e a área abaixo do espectro de RD no intervalo $\Delta\lambda$ considerado. A razão UVA/UVB ($R_{UVA/UVB}$) é definida como o quociente entre a áreas cobertas pelos espectros de RD no UVA e UVB e a área total de cada região (VELASCO et al., 2008b), isto é,

$$\frac{\int_{320}^{400} A(\lambda) d\lambda}{\int_{290}^{320} A(\lambda) d\lambda} = \text{Razão} \frac{UVA}{UVB} \quad , \quad (\text{equação 2})$$

na qual RD (λ) é a reflectância difusa no comprimento de onda λ .

A relação UVA/UVB define o desempenho de um filtro solar na faixa do UVA em relação ao UVB e é calculado pelo quociente entre as áreas definidas da proteção UVA e da UVB, sendo que as áreas são normalizadas com relação à faixa de comprimento de onda envolvido: UVA (320-400 nm) e UVB (290-320 nm). A relação igual a 1 indica um filtro que absorve igualmente no UVA e UVB (OSTERWALDER et al., 2000).

A classificação para um filtro ter um bom desempenho contra a radiação UVA pelo método da razão UVA/UVB é descrito conforme a **Tabela 4**.

Tabela 4: Classificação do desempenho de um filtro contra a radiação UVA calculado pela razão UVA/UVB.

UVA/UVB	Estrelas	Classificação
0 a 0,2	---	Sem proteção
0,21 a 0,4	*	mínimo
0,41 a 0,6	**	moderado
0,61 a 0,8	***	bom
0,81 a 0,9	****	superior
0,91 a 1,0	*****	ultra

Fonte: Adaptado de SPRINGSTEEN, et al., 1999.

3.4.3 Espectroscopia de Fotoluminescência com excitação de radiação UV (EFL)

Os complexos bem como o ligante quercetina foram caracterizados por EFL a temperatura ambiente ($\sim 20^\circ\text{C}$) utilizando um espectrofluorímetro Fluorolog Horiba Jobin Yvon com lâmpada de xenônio contínua de 450 W e fotomultiplicadora Hamamatsu R928, com excitação realizada na região UV do espectro eletromagnético. Os espectros de emissão e de excitação das amostras foram obtidos com passo de propagação de 0,5 nm,

tempo de integração de 1,0 s., com a fenda de excitação de 1,0 mm e fenda de emissão de 2,0 mm. Foi utilizado filtro óptico de 370 nm.

3.4.4 Difração de Raios X (DRX)

Para análise estrutural das amostras baseada no DRX utilizou-se o difratômetro de raios X modelo D 5000 da SIEMENS, variando o ângulo de incidência de 4° a 70°, sob radiação $K\alpha$ do cobre e monocromador de grafite, com passo de 0,02°/3s.

3.4.5 Análise Térmica (TG/DTA)

A Análise térmica das amostras foi realizada utilizando um equipamento TA Instruments, Modelo SDT2960 DSC-TGA, realizada em atmosfera de ar sintético, na razão de aquecimento de 10°C/min com aquecimento em 1000°C.

3.4.6 Análise elementar

A análise elementar das amostras foi realizada no equipamento CE Instruments, Modelo EA 1110 – CHNS.

3.4.7 Titulação complexométrica

Para determinação da quantidade de metal presente nos complexos, foi utilizado o método de titulação complexométrica utilizando solução de EDTA 0,01 mol L⁻¹. Para determinação de Ce³⁺ foi utilizado tampão acetato de sódio/ácido acético, com pH 5,5 e alaranjado de xilenol como indicador, e para determinação de Zn²⁺ foi utilizado tampão de cloreto de amônio/hidróxido de amônio, com pH=10 e como indicador negro de ériocromo T.

3.4.8 Índice de Cor

Medidas de índice de cor das amostras obtidas foram registradas em um espectrofotômetro Colorímetro KONICA MINOLTA, modelo CM-2500 d, com observador a 10° e fonte de iluminação D65, de acordo com o sistema CIE (*Comission Internationale de l'Eclairage, ou International Commission on Illumination* – Comissão Internacional de Iluminação). As medidas foram feitas em torno das coordenadas colorimétricas L*, a* e b* (CIEL*a*b*), onde: L* é a luminosidade e varia do branco ao

preto; a* do verde ao vermelho e o b* do azul ao amarelo, utilizando o programa próprio do equipamento.

3.4.9 Viscosidade

As formulações dos protetores foram caracterizadas por medidas reológicas através do viscosímetro Brookfield, modelo LVDV-E. Foram realizadas primeiramente medidas de viscosidade variando-se a velocidade de cisalhamento nas temperaturas de 25, 40 e 60 °C.

Para isso, foram utilizadas as velocidades 0,3; 0,5; 0,6; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0 rpm. Além disso, escolheu-se a menor velocidade de cisalhamento (0,3 rpm) e mediu-se a viscosidade dos protetores em função do tempo (total de 20 minutos), ou seja, a cada 1 min foi realizada a leitura da viscosidade.

3.4.10 Medida da Capacidade antioxidante dos complexos

Foram utilizados sistemas-modelo *in vitro*, geradores de espécies reativas e/ou radicalares para ABTS^{•+}, DPPH[•], O₂^{•-}, HOCl / OCl⁻ e H₂O₂. Os estudos nestes sistemas foram realizados com diferentes concentrações das amostras “padrões” quercetina, rutina e glutathione e dos complexos 1, 2, 4 e H.

Os experimentos foram realizados em triplicata, e as porcentagens de inibição para os ensaios frente às espécies ABTS^{•+}, DPPH[•], O₂^{•-}, HOCl / OCl⁻, foram calculadas usando a fórmula:

$$\% \text{ Inibição} = (1 - A_a / A_t) \times 100 \quad (\text{equação 3})$$

Onde, **A_a** é absorbância do radical ou cromóforo na presença da amostra e **A_t** é a absorbância do radical ou cromóforo na ausência de amostras.

Desta forma, considerando que se obtêm a porcentagem de inibição via equação de uma reta (**equação 3**), os resultados nesse trabalho estão apresentados conforme esta relação, sendo possível encontrar o valor de IC₅₀ da amostra analisada, ou seja, a concentração da amostra na qual há inibição de 50% do radical ou espécie oxidante.

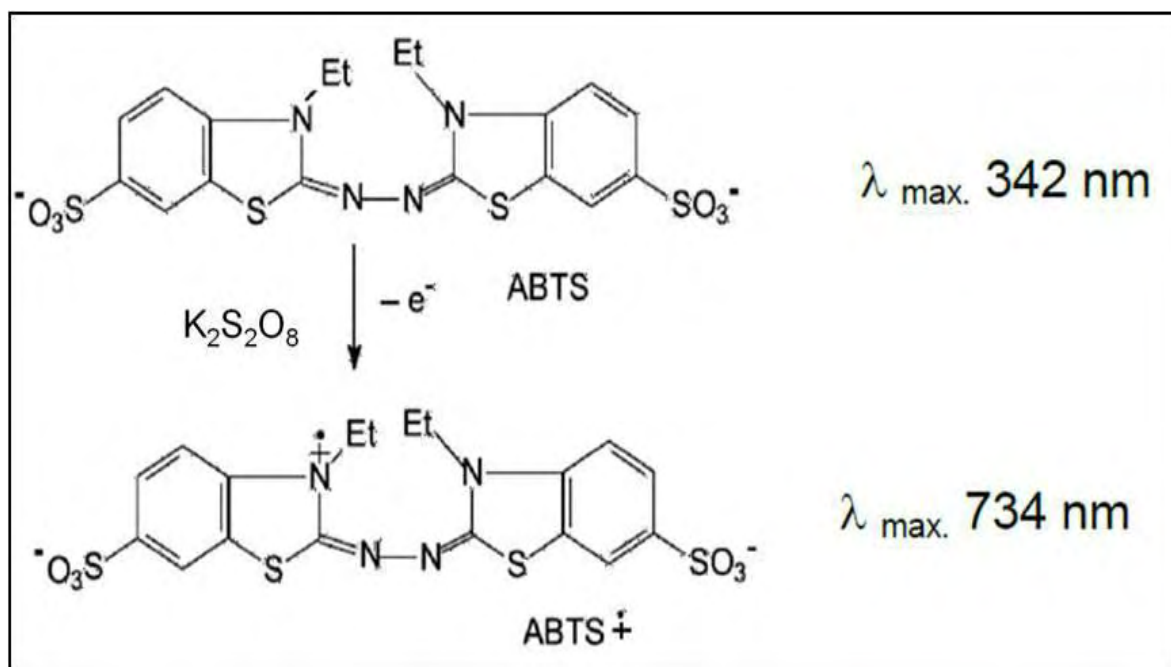
Para a realização da leitura das absorbâncias dos ensaios antioxidantes foram utilizados os espectrofotômetros, de placas Biotek (Power Wave XS2) e com cubetas: OceanOptics USB 4000 com agitação magnética e termostatização com peltier e Femto 600 Plus.

Capacidade de captura sobre o ABTS^{•+}

Para a atividade antioxidante pelo método do ABTS foi utilizada a metodologia descrita por Re et al. (1999), com algumas modificações. O cátion radical ABTS^{•+} foi gerado pela oxidação do ABTS (7 mmol/L) com persulfato de potássio (140 mmol/L) (**Figura 11**), na ausência de luz, e a temperatura ambiente, por ≈ 16 horas. O ABTS^{•+} é um radical de coloração azul/verde que possui bandas de absorção a 645 nm, 734 nm e 815 nm (RE et al.,1999). Depois de formado, o radical foi diluído em tampão fosfato de sódio (pH 7,4) até obter-se a absorbância de $\approx 0,750 \pm 0,020$, em 734 nm. Utilizou-se espectrofotômetro de placa para realização das leituras das absorbâncias a 734 nm. O volume total da reação foi de 300 μ L, sendo 100 μ L fixo para o ABTS^{•+}. Os volumes das amostras e do tampão variaram entre si, totalizando um volume de 200 μ L.

O ensaio foi realizado segundo Pellegrini et al. (1999), monitorando-se o decréscimo da absorbância em 734 nm, após 15 minutos de incubação na ausência de luz do ABTS^{•+} à temperatura ambiente, na ausência e na presença dos complexos ou dos “padrões”, em diferentes concentrações. Neste ensaio os complexos e os “padrões” foram dissolvidos em dmso. Os resultados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média (EPM) das porcentagens de inibição (IC₅₀).

Figura 11. Reação de oxidação do ABTS.

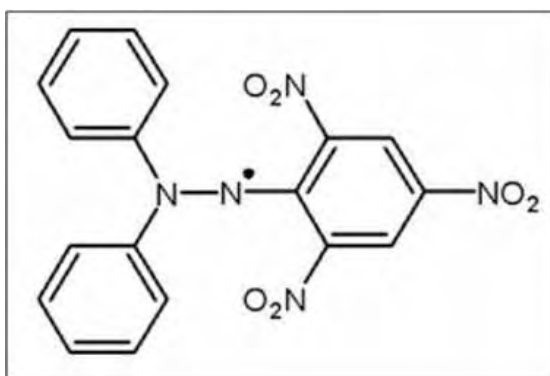


Fonte: Adaptado de RE et al.,1999.

Capacidade de captura sobre o DPPH[•]

O DPPH[•] cuja estrutura está apresentada na **figura 12**, é um radical estável quando dissolvido em etanol e utilizado nos ensaios em concentração final de 62 µmol/L. Os ensaios foram realizados segundo Soares, et.al. (1997), monitorando-se o decréscimo da absorbância em 517 nm do DPPH[•], após 20 minutos de incubação no escuro, a 25 °C, na presença e na ausência dos complexos ou dos “padrões” dissolvidos em dmso, em diferentes concentrações. Os resultados foram expressos em média ± (EPM) das porcentagens de inibição (IC₅₀).

Figura 12. Estrutura molecular do DPPH[•]



Capacidade de captura sobre o Ânion Radical Superóxido (O₂^{•-})

De acordo com Kakkar et al. (1984), neste ensaio o ânion superóxido gerado pela reação entre Metassulfato de fenazina (PMS) e a Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH), reage com o azul de nitrotetrazólio (NBT), reduzindo-o, para gerar uma formazana, onde a intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração do radical (**Figura 13**).

O ensaio foi realizado em tampão pirofosfato de sódio (pH 8,3 – 25 mmol/L), contendo PMS (372 µmol/L), NBT (600 µmol/L), NADH (1560 µmol/L), diferentes concentrações dos complexos e padrões, em um volume final de reação de 900 µL. Após incubação de 7 minutos a temperatura ambiente, foi monitorada a absorbância em 560 nm, a fim de determinar a quantidade de formazana gerada (HAZRA; BISWAS; MANDAL, 2008). O monitoramento da formazana é espectrofotométrico com a mudança da coloração amarelo pálido do NBT para uma coloração púrpura da formazana; as moléculas que atuam como antioxidantes interagem com o O₂^{•-} inibindo a produção da formazana (ALVES et al., 2010). Neste ensaio os complexos e os “padrões” foram dissolvidos em

dimetilformamida visto que o solvente dmso mostrou-se um interferente nesse caso. Os resultados foram expressos em média $\pm$ (EPM) das porcentagens de inibição (IC_{50}).

Abaixo encontra-se o esquema das reações utilizadas nesse ensaio:

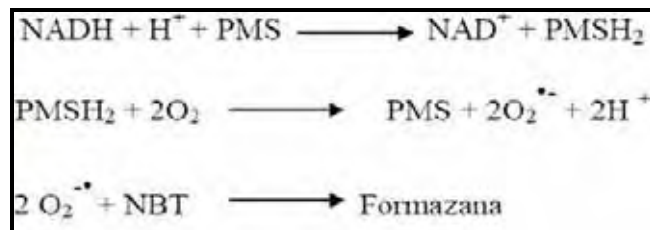
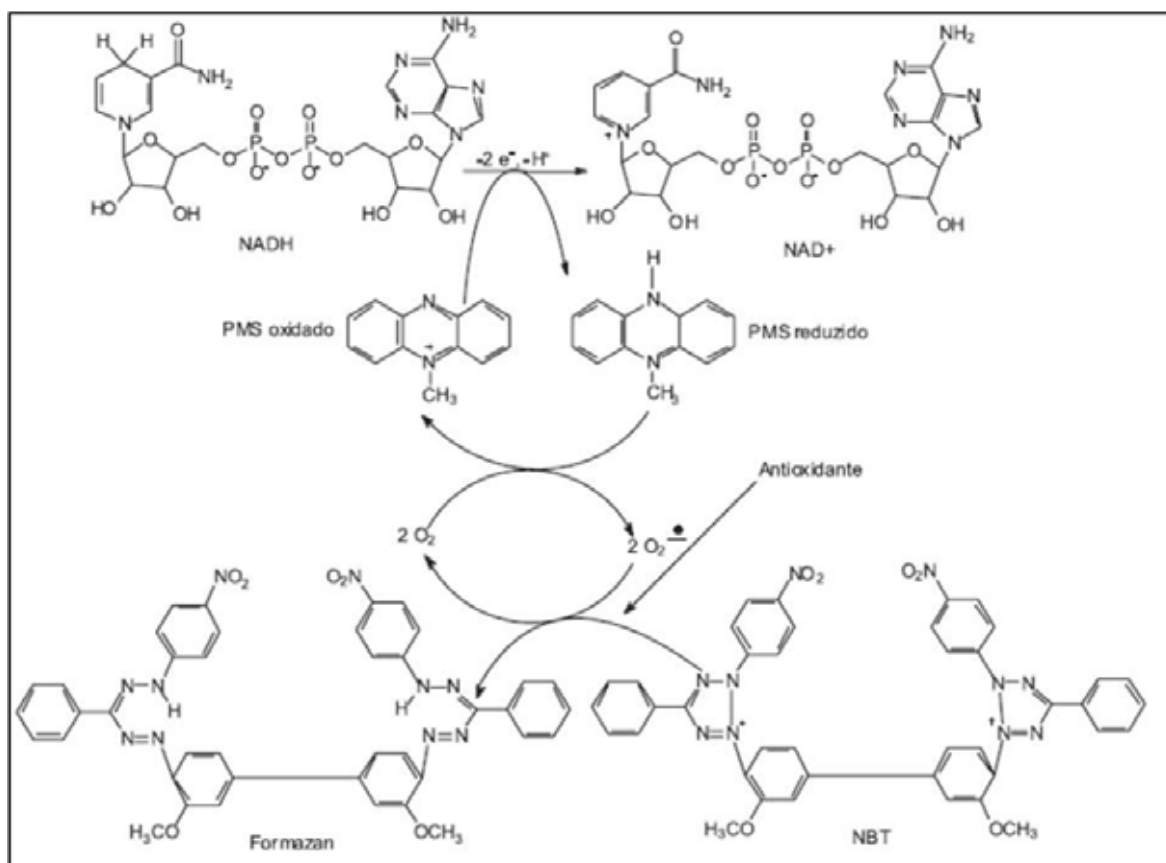


Figura 13. Representação da geração do ânion superóxido em presença de um antioxidante.



Fonte: OLIVEIRA et al., 2009.

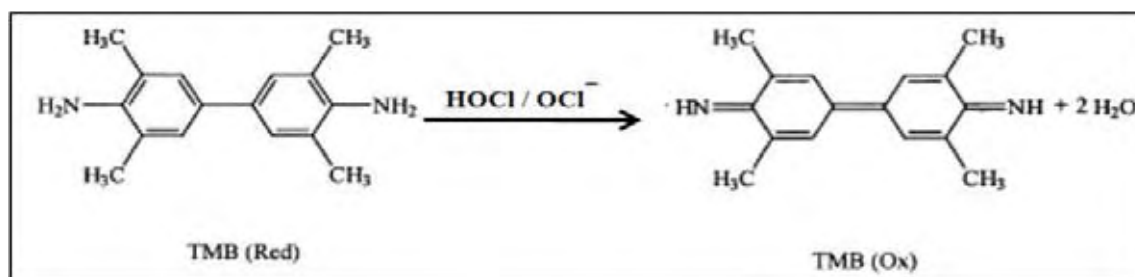
Capacidade de captura sobre HOCl / OCl⁻

A mieloperoxidase (MPO) uma hemoproteína presente nos neutrófilos e também encontrada em monócitos, é a única enzima da classe das peroxidases que possui a propriedade de catalisar a conversão do H_2O_2 a ácido hipocloroso (HOCl) (ZUURBIER et.

al., 1992). O HOCl, por sua vez, é um poderoso oxidante, com potente ação antimicrobiana; por ser extremamente reativo, também oxida outras biomoléculas, provocando muitos danos celulares (HAMPTON; KETTLE; WINTERBOURN, 1998; WINTERBOURN; KETTLE, 1994).

Este ensaio foi realizado segundo Ching et al. (1994), com algumas modificações, onde a capacidade antioxidante depende da habilidade da amostra em capturar o HOCl, impedindo-o de oxidar a 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) (**Figura 14**). Com a oxidação do TMB é gerado um cromóforo azul com máximo de absorbância em 655 nm e com grande sensibilidade para determinar-se a capacidade de captura do HOCl / OCl⁻ pela amostra a ser analisada.

Figura 14. Representação da oxidação do TMB pelo HOCl / OCl⁻.



Para obter o agente oxidante padrão foi feita diluição do NaOCl 12% em NaOH 10 mmol/L. A concentração do HOCl foi determinada espectrofotometricamente através de seu coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 350 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ a 292 nm, ZGLICZYNSKI et al., 1971).

O teste foi realizado em tubos de ensaio, com diferentes concentrações dos complexos em meio com tampão fosfato de sódio pH 7,4; 50 mmol/L, HOCl (30 $\mu\text{mol/L}$), incubação de 10 minutos e por último adicionou-se o TMB (2,8 mmol/L) (dissolvido em dimetilformamida 50%, ácido acético 0,8 mol/L com iodeto de potássio 0,01 mol/L) em um volume final de reação de 2 mL; as incubações foram realizadas em temperatura ambiente por 5 minutos e na ausência de luz, e a leitura da absorbância em 655 nm. Neste ensaio os complexos e os “padrões” foram dissolvidos em dmso. Os resultados foram expressos em média $\pm$ (EPM) das porcentagens de inibição (IC₅₀).

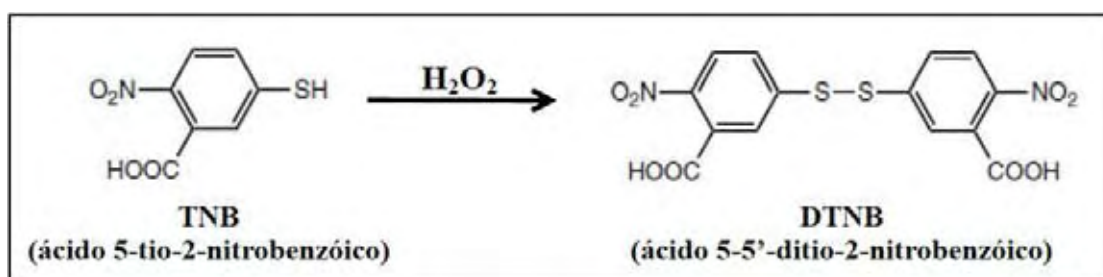
Capacidade de captura sobre o H₂O₂

A capacidade de captura do H₂O₂ foi determinada segundo Ching et al. (1994) pelo ensaio em que o H₂O₂ oxida o ácido 5-tio-2-nitrobenzóico (TNB) à ácido 5-5'-ditio-2-nitrobenzóico (DTNB), com diminuição da absorbância em 412 nm e o aumento em 325

nm (**figura 15**). O TNB foi preparado segundo Ching et al. (1994) e sua concentração foi determinada com o coeficiente de extinção molar em 412 nm de $13600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (CHING et al., 1994), e a concentração do H_2O_2 foi determinada de acordo com Brestel (1985), ($\epsilon=80 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, a 230 nm).

Realizou-se o ensaio em tampão fosfato de potássio 50 mmol/L, pH 7,4; com diferentes concentrações dos complexos e dos “padrões” em dmso, H_2O_2 (0,3 mmol/L) e incubação por 30 minutos a 37°C ; adicionou-se TNB (53 $\mu\text{mol/L}$), e incubou-se por mais 1 hora a 37°C . A leitura de absorbância foi realizada a 412 nm.

Figura 15. Representação da oxidação do TNB à DTNB pelo H_2O_2 .



Fonte: LANDINO et al., 2008.

A porcentagem de inibição da oxidação do TNB (% de captura do H_2O_2) é calculada da seguinte forma:

$$\% \text{ Inibição} = \frac{1 - (\text{Abs Máx.} - \text{Abs Amostra}) \times 100}{(\text{Abs Máx} - \text{Abs Min.})}$$

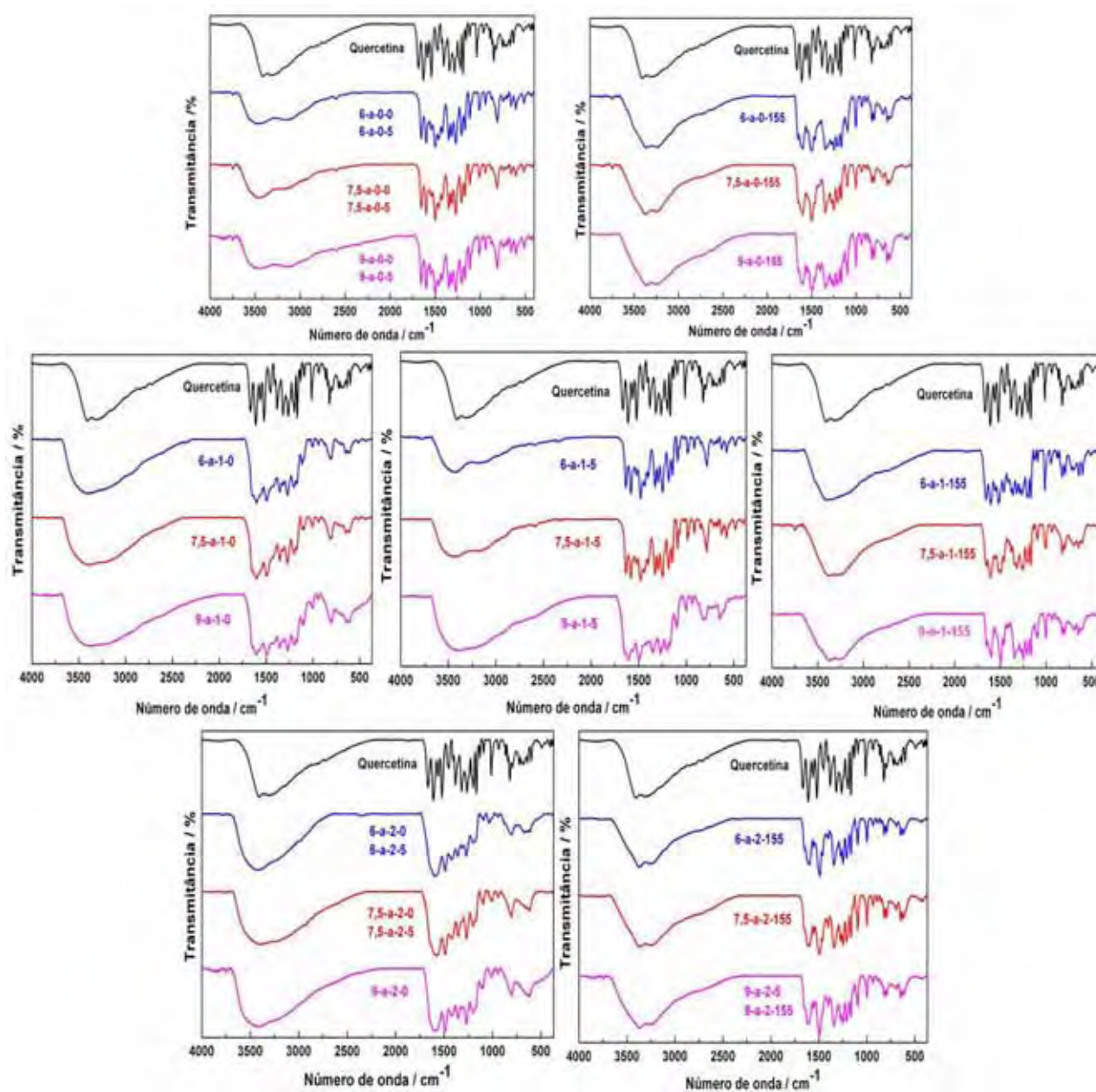
Onde: Abs Máx., representa a absorbância na ausência do agente oxidante (H_2O_2) e da amostra; Abs Amostra é a absorbância na presença do agente oxidante e da amostra; e Abs Min. é a absorbância na presença do agente oxidante e na ausência da amostra.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Complexo de Zn^{2+} com quercetina

Na **figura 16** estão representados os espectros no IV das amostras obtidas a partir de acetato de zinco diidratado (sal de partida) variando-se o pH da solução do ligante (6/7,5/9), a proporção estequiométrica M:L (1:1/1:2/2:1) e a quantidade de água presente no meio reacional. As amostras obtidas a partir de cloreto de zinco não estão apresentadas aqui visto que os resultados foram semelhantes às amostras de acetato de zinco.

Figura 16. Espectros no IV do ligante quercetina e das amostras obtidas a partir de acetato de zinco.



Primeiramente, foi observado que as amostras obtidas nas proporções 1:2 e 2:1 (M:L) com pequena quantidade de água no meio reacional (0 e 5 mL), nas três condições de pH resultaram em produtos escuros, devido à degradação da quercetina, indicando que o excesso de metal ou de ligante na presença de pequena quantidade de água, ou seja, um meio reacional onde metal ou ligante encontram-se mais concentrados, independente do pH reacional, pode contribuir para degradação da molécula orgânica natural. Tal processo pode estar relacionado com a oxidação da quercetina e redução dos íons Zn^{2+} , cujos potenciais podem depender da água.

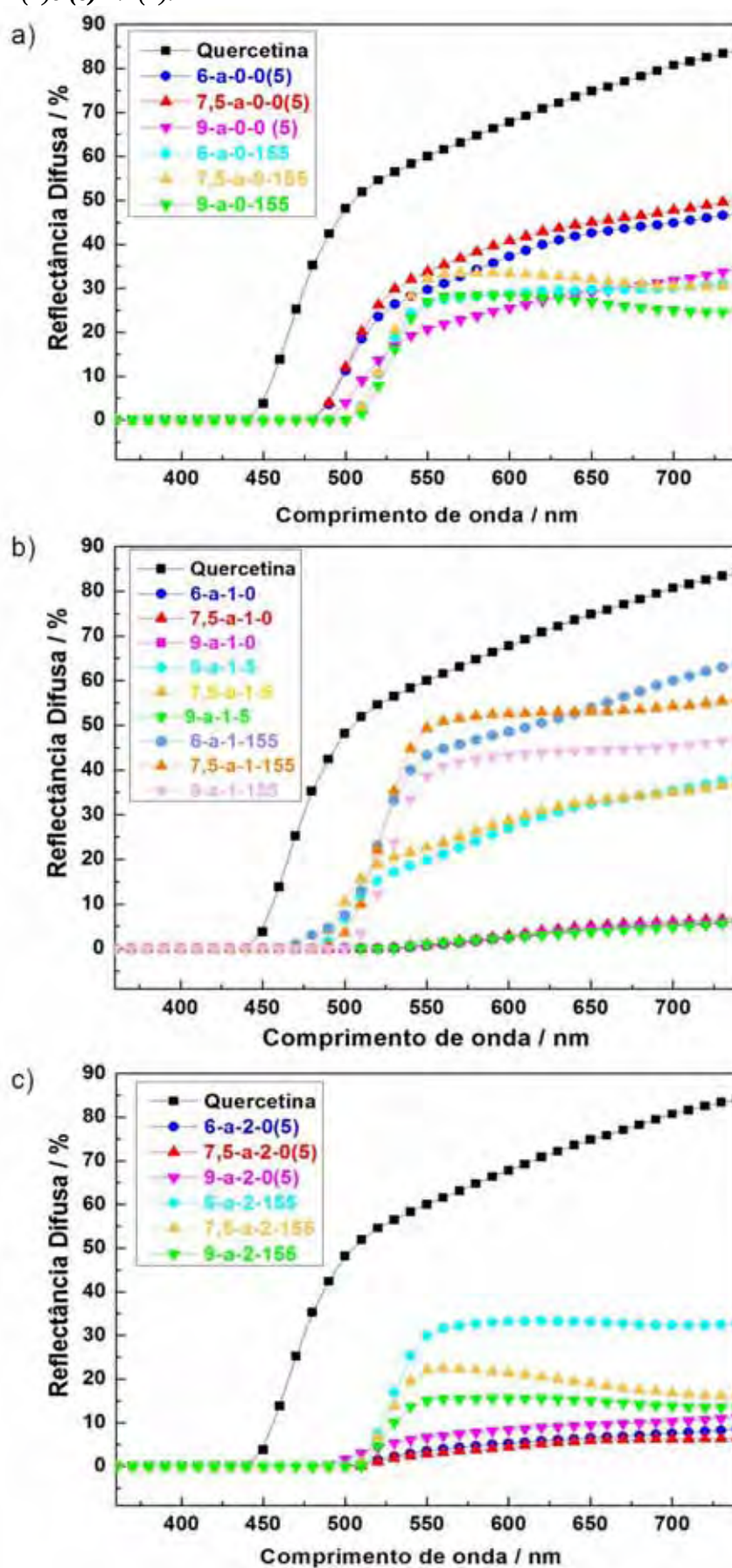
Já as demais amostras, apresentaram coloração amarela intensa, sendo que amostras obtidas a partir de pHs mais elevados apresentaram-se mais escuras que as amostras obtidas em pH~6, indicando também, que além da maior concentração de ligante ou metal, pHs mais elevados também favorecem a oxidação da quercetina levando à degradação do produto formado.

De acordo com os espectros no infravermelho é possível distinguir três perfis espectrais distintos: 1) amostras obtidas com adição de pequena quantidade de água (0 e 5 mL) nas quais a $[\text{Zn}^{2+}] \sim 0,0100 \text{ mol/L}$; 2) amostras obtidas com adição de grande quantidade água (155 mL) nas quais a $[\text{Zn}^{2+}] \sim 0,0044 \text{ mol/L}$; e 3) amostras degradadas. As bandas presentes nestes três perfis dos espectros IV e suas respectivas atribuições serão discutidas posteriormente.

Na **figura 17** encontram-se os espectros ERD das amostras obtidas a partir de acetato de zinco.

É possível observar primeiramente que estas amostras apresentam deslocamento da borda de absorção para maior comprimento de onda (λ), quando comparados com a quercetina, que pode indicar complexação, com exceção das amostras degradadas. Este deslocamento é ainda maior para amostras obtidas a partir de pHs mais elevados e maiores quantidades de água adicionadas. Desta forma, é possível afirmar que o aumento do pH reacional e a presença de maior quantidade de água contribuem para com o deslocamento da banda de absorção dos complexos formados para maiores λ quando comparados com a quercetina. Esse deslocamento batocrômico evidenciado pelo aumento do pH pode ser explicado pela formação de um mesmo complexo, porém com a quercetina em diferentes estágios de desprotonação. Esse resultado é interessante, pois torna os complexos bons candidatos para utilização como filtros solares de amplo espectro (UVA/UVB).

Figura 17. Espectros ERD do ligante quercetina e das amostras obtidas na proporção M:L de (a) 1:1 (O), (b) 1:2 (1) e (c) 2:1(2).



Diante destes resultados de FTIR e ERD preliminares e das observações, é possível agrupar as 54 amostras em três perfis distintos:

- *Complexo 1*- corresponde às amostras obtidas com adição de pequena quantidade de água (0 e 5 mL) independentemente do pH do ligante, na proporção M:L 1:1 utilizada, onde a $[Zn^{2+}] \sim 0,0100$ mol/L ; apresentaram coloração amarelo-alaranjada e mostraram-se insolúveis em água destilada, metanol, etanol, acetona e pouco solúvel em DMSO.

- *Complexo 2*- Corresponde às amostras obtidas com adição de grande quantidade de água (155 mL), onde a $[Zn^{2+}] \sim 0,0044$ mol/L, independentemente do pH do ligante e da proporção M:L utilizada, apresentaram coloração alaranjada e mostraram-se pouco solúveis em metanol e etanol, solúveis em dmsol e insolúveis em água destilada.

- *Complexo 3*- Corresponde às amostras degradadas, obtidas com excesso de ligante ou de metal na presença de pequena quantidade de água, ou seja, amostras obtidas a partir de concentrações de metal ou de ligante elevadas. Tais amostras apresentaram coloração marrom transformada em preta após uns minutos.

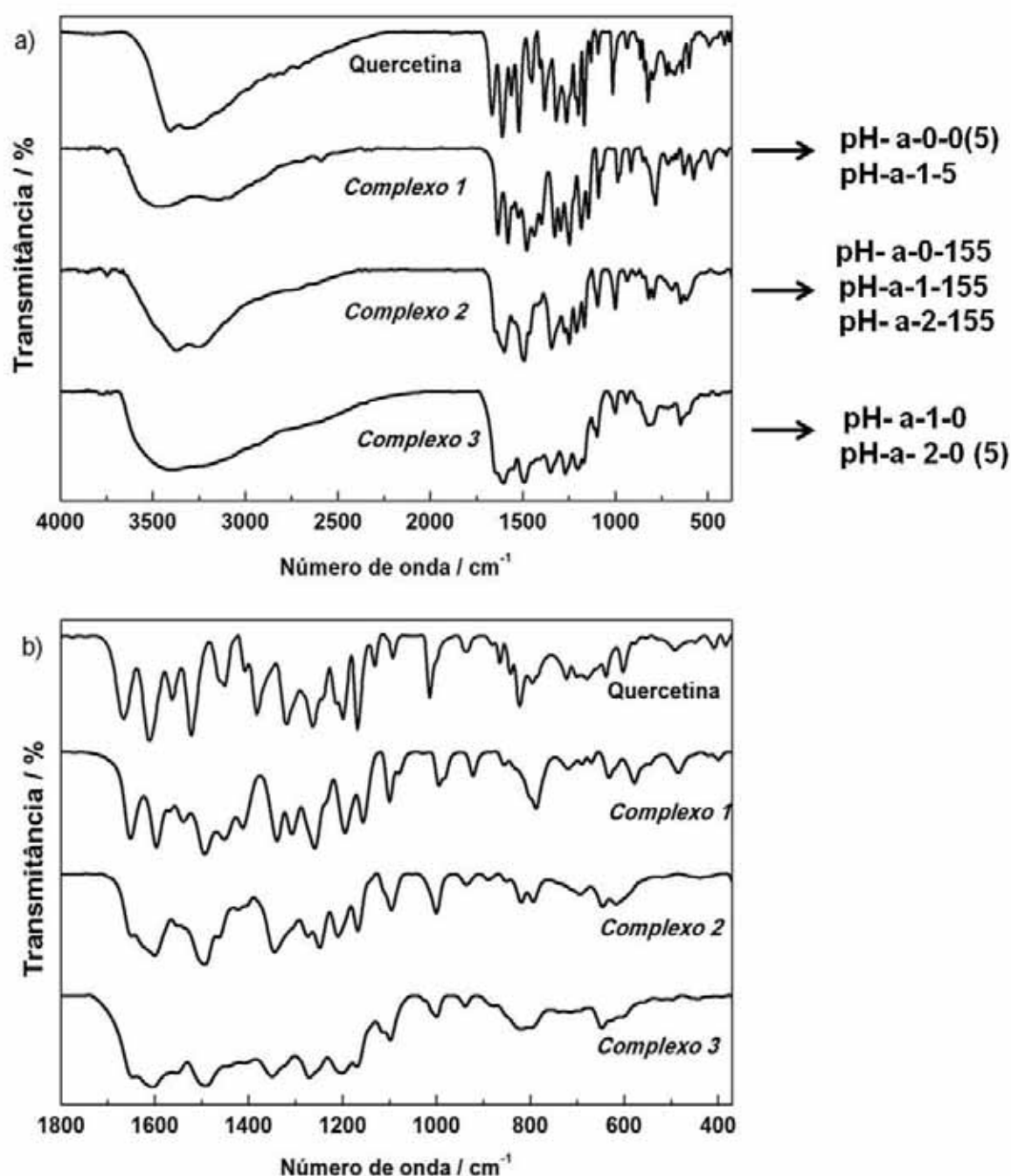
A fim de estudar os diferentes complexos obtidos, amostras representativas dos três perfis espectrais foram posteriormente caracterizadas por DRX, análise térmica, análise elementar, titulação complexométrica, EFL e índice de cor.

A **figura 18** mostra o espectro FT-IR do ligante e dos três perfis espectrais gerais obtidos que estão aqui denominados de *complexo 1*, *complexo 2* e *complexo 3*.

Em ambos os espectros, tanto do ligante quanto dos complexos, é possível observar uma banda intensa e larga na região de $3400-3000\text{ cm}^{-1}$ correspondente ao estiramento da ligação O-H indicando a presença de grupos O-H formando ligações de hidrogênio intra e intermolecular. Para os complexos, a banda referente ao $\nu(\text{O-H})$ encontra-se mais alargada ($3400-2800\text{ cm}^{-1}$), indicando que além da presença de grupos O-H formando ligações de hidrogênio, há indícios da presença de água coordenada na estrutura dos complexos. Compostos orgânicos apresentam nesta mesma região, bandas mais finas referentes ao estiramento da ligação C-H. Tais bandas provavelmente estão encobertas pela banda larga referente ao $\nu(\text{O-H})$. Além disso, ambos os complexos apresentam algumas bandas características do ligante quercetina deslocadas para menores energias, como as bandas na região de 1666 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{C=O})$, que no *complexo 1* aparece em 1644 cm^{-1} , e nos *complexo 2* e *3* aparece sobreposta à banda já existente atribuída à deformação da água que ocorre em 1610 cm^{-1} . Esse deslocamento para menores energias indica que a

coordenação do metal com o ligante envolve o oxigênio da carbonila e provavelmente o grupo fenólico 3-OH ou 5-OH. Trabalhos da literatura mostram que metais de transição, como é o caso do Zn^{2+} , tendem a interagir preferencialmente com o grupo fenólico 3-OH da quercetina em detrimento ao grupo 5-OH (DEHGHAN; KHOSHKAM, 2012; BUKHARI et al., 2009; SOUZA; SUSSUCHI; DE GIOVANI, 2003).

Figura 18. Espectros FT-IR da quercetina e dos complexos nas regiões de (a) 4000-370 cm^{-1} e (b) 1800-370 cm^{-1} .



Na **tabela 5** estão as principais bandas encontradas nos espectros FT-IR da quercetina e dos complexos e suas respectivas atribuições.

Tabela 5: Atribuição das principais bandas encontradas no espectro IV da quercetina e dos complexos 1, 2 e 3.

Quercetina	Complexo 1	Complexo 2	Complexo 3	Atribuição
3400	3460	3370	3390	$\nu(\text{O-H})$
3295	3140	3230	3160	$\nu(\text{O-H})$
1666	1644	---*	---*	$\nu(\text{C=O})$
1610	1601	1600	1604	$\nu(\text{C=C})_{\text{anel A e B}}$
1560	1518	1493	1491	$\nu(\text{C=C})$
1384	1349	1345	1350	$\nu(\text{C-O}) + \varpi(\text{O-H})_{\text{fenol}}$
1263	1270	1250	1268	$\nu(\text{C-O-C})$
825	812	818	811	$\varpi(\text{C-H})_{\text{fora do plano}}$

* Nos complexos 2 e 3, a banda na região de 1666 cm^{-1} encontra-se sobreposta a banda na região de 1600 cm^{-1} .

Fonte: Adaptado de BARBOSA, 2007; DEGHAN; KHOSHKAM, 2012; BUKHARI et al., 2009; SILVERSTEIN, 1994).

É possível observar também que as bandas na região de 1380 cm^{-1} e de 1560 cm^{-1} referentes respectivamente à combinação entre deformação angular O-H e estiramento C-O dos grupos fenólicos, e ao $\nu(\text{C=C})$ de anel aromático presentes na estrutura da quercetina encontram-se deslocadas para menor energia nos complexos confirmando a interação do centro metálico com o grupo fenol também.

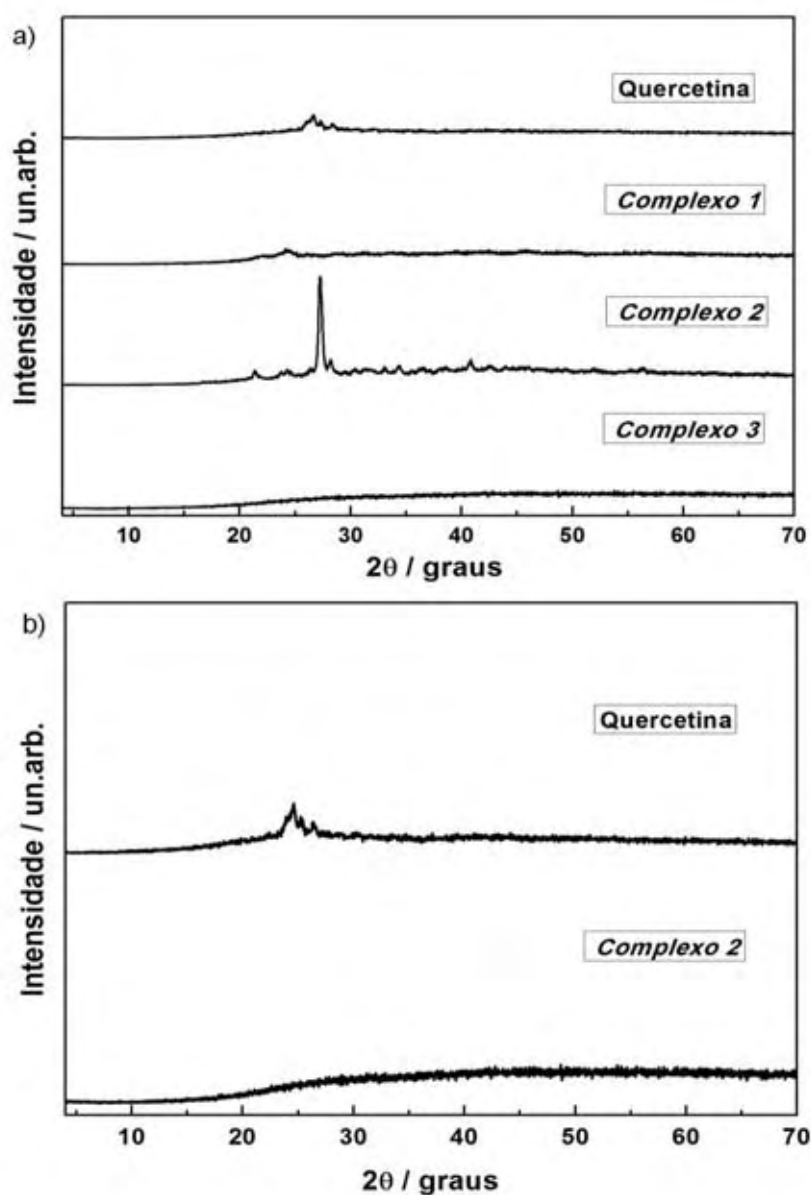
Além disso, as bandas em 1610 e 1262 cm^{-1} referentes respectivamente aos $\nu(\text{C=C})$ e $\nu(\text{C-O-C})$ encontram-se pouco deslocadas nos complexos, indicando que a complexação não envolve o oxigênio (heteroátomo) do anel C da quercetina. Na região de 500 cm^{-1} , observa-se uma banda pouco intensa, mas não é possível atribuir esta banda sendo ela referente ao estiramento da ligação Zn-O, pois nesta região a quercetina também apresenta bandas pouco intensas características de sua estrutura. A ligação Zn-O possui caráter iônico grande, e conseqüentemente aparecerá em valores de número de onda baixos. Para o ZnO, a banda está centrada em torno de 446 e 486 cm^{-1} . A possível ausência da banda pode ser explicada por seu deslocamento para números de onda inferiores a 400 cm^{-1} (NAKAMOTO, 1997).

É importante comentar que os espectros FTIR dos *complexos 1* e *2* apresentaram perfis distintos indicando a formação de complexos diferentes, apesar de apresentarem deslocamentos que indicam que em ambos os casos a coordenação do metal com a quercetina se dá pelos grupos C=O e 3-OH ou 5-OH. Acredita-se que no *complexo 2*, a interação entre o centro metálico e o ligante é mais efetiva visto que foi observado um maior deslocamento do estiramento da ligação C=O, quando comparado ao *complexo 1*. Além disso, o *complexo 1* apresenta-se insolúvel frente aos solventes testados, diferentemente do *complexo 2*, corroborando com os resultados de IV que indicam a formação de complexos distintos. Já o *complexo 3*, apesar de apresentar indícios da interação da quercetina com o metal, não será discutido aqui já que apresenta degradação, não sendo interessante sua posterior utilização com filtro em formulações de protetores solares.

Os complexos foram caracterizados por difração de raios X (DRX). A análise do DRX (**figura 19**) dos *complexos 1*, *3*, bem como da quercetina utilizada nas sínteses, indica que estes não são cristalinos a nível de detecção da técnica, já o *complexo 2* apresentou-se cristalino. Em seu DRX há um pico de difração bastante intenso em 27,40° (indicado na **figura 19(a)**) e alguns outros de menor intensidade. No *complexo 2* não se observa difrações com baixo ângulo Bragg, ou seja, aquelas relacionadas a distâncias interplanares grandes presentes em compostos orgânicos. De acordo com a literatura (WU et al., 2008; KAKRAN et al., 2012) quercetina em escala nanométrica apresenta-se cristalina com picos de difração em 10,73°; 12,33°; 15,87°; 24,41°; 26,50° e 27,40°. Como o *complexo 2* apresentou um pico de difração na região de 27,40°, este pode ser um indício de que a cristalinidade observada refere-se a possível presença de cristais de quercetina no complexo.

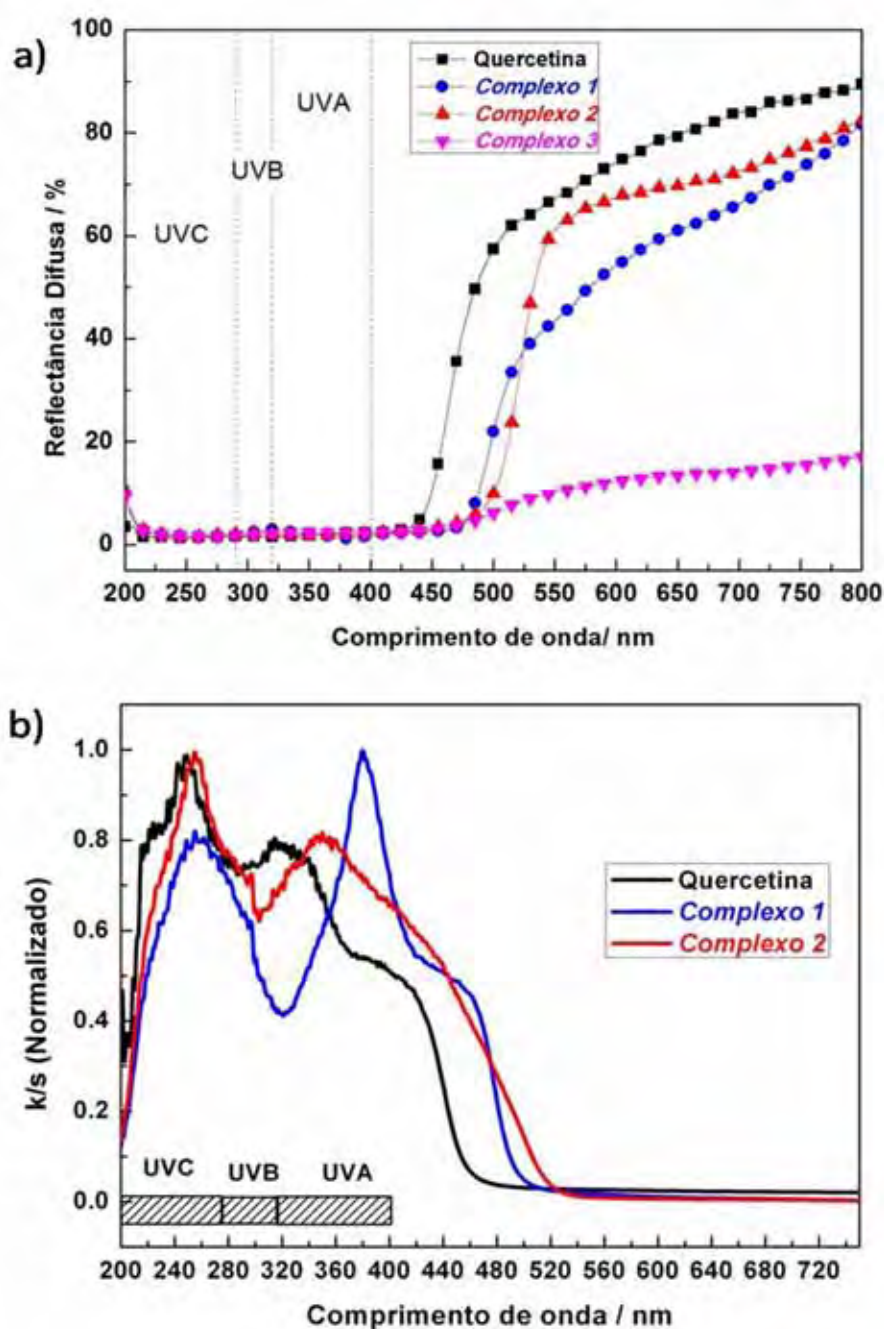
Assim, para eliminar o excesso de quercetina observada no DRX, o *complexo 2* foi submetido a várias lavagens utilizando a mistura de água e etanol na proporção 30:70, proporção esta diferente da utilizada inicialmente (50:50) quando o complexo foi obtido. Após as lavagens, o complexo foi submetido à análise por DRX [**Figura 19(b)**] novamente, onde foi possível verificar a ausência dos picos de difração de quercetina nanométrica não ligada ao metal, indicando assim que houve a eliminação deste interferente, pelo menos considerando o alcance de detecção da técnica de difração de raios X utilizada.

Figura 19. DRX (a) da quercetina e dos complexos e (b) do complexo 2 após as lavagens.



A seguir (**figura 20**) estão representados os espectros de reflectância difusa (a) e de absorção (b) da quercetina e dos complexos.

Figura 20. Espectros eletrônicos UV-VIS da quercetina e dos complexos 1, 2, 3. (a) ERD (b) Espectros de absorção calculados através da relação de Kubelka-Munk.

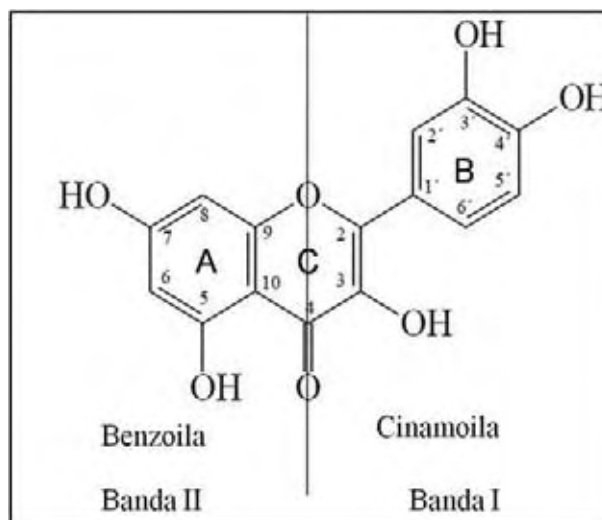


Através dos espectros de reflectância difusa dos *complexos 1* e *2* [figura 20(a)] é possível verificar que houve um deslocamento da borda de absorção para maiores λ (efeito batocrômico) quando comparados com o espectro da quercetina. Tal deslocamento cobre todo o UVA (limite superior a λ de 400 nm), o que contribui para que os complexos se comportem como absorvedores espectrais amplos, sendo bons candidatos como filtros solares em formulações. Além disso, o deslocamento é mais um indício de que houve a complexação.

Em contrapartida, o *complexo 3* com coloração escura apresentou perfil espectral distinto dos demais, sendo considerado não satisfatório para sua utilização como filtro em formulações de protetores solares. Por este motivo, seu espectro de absorção não está representado na **figura 20(b)**.

A absorção da radiação UV pela quercetina envolve transições $\pi \rightarrow \pi^*$. Seu espectro [**figura 20(b)**] apresenta duas bandas principais de absorção: Banda I (grupo cinamoila) localizada na faixa de comprimento de onda de 300-450 nm relacionada ao sistema conjugado entre anel B e a carbonila do anel C, e banda II (grupo benzoila) localizada na faixa de comprimento de onda de 240-300 nm, relacionada ao sistema conjugado entre o anel A e a carbonila do anel C (**Figura 21**). Correlacionando esta informação com os espectros ERD e de absorção obtidos para os *complexos 1* e *2*, podemos observar que há um deslocamento da banda I para regiões de maior λ . Este pode ser um bom indício de que a complexação do metal na quercetina esteja ocorrendo de forma bidentada pelos grupos C=O e 3-OH, já que a banda I é aquela relacionada com o sistema conjugado do anel B e a carbonila do anel C.

Figura 21. Estrutura da quercetina e divisão das bandas I e II relatadas acima.



Fonte: Adaptado de DEGHAN e KHOSHKAM, 2012.

Foram calculados valores de bandgap (E_g) para os complexos obtidos (**tabela 6**). Os valores encontrados foram 2,57; 2,41 e 2,28 eV para quercetina, *complexo 1* e *complexo 2* respectivamente. Desta forma, os bandgaps dos complexos apresentam valores menores que o bandgap da quercetina. Quanto menor o valor do bandgap, maior o deslocamento da absorção para maiores comprimentos de onda, ou seja, para região do

visível, indicando a eficiência na absorção da radiação UV dos complexos e do ligante (quercetina) em questão.

Vale ressaltar que os valores encontrados referem-se à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo cinamoila (banda I).

Tabela 6: Resultados de bandgap (E_g), comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB da quercetina e dos complexos 1 e 2.

Amostra	E_g (eV)	λ_c (nm)	UVA	UVB	UVA/UVB	Classificação
Quercetina	2,57	391	0,981	0,984	0,996	Ultra
Complexo 1	2,41	385	0,981	0,975	1,000	Ultra
Complexo 2	2,28	390	0,980	0,978	1,000	Ultra

Foi calculado o comprimento de onda crítico (λ_c) da quercetina e dos complexos obtidos. Os valores encontrados foram 391, 385 e 390 nm respectivamente. Estes resultados indicam que tanto o ligante quercetina como os complexos apresentam ótimo desempenho como filtros orgânicos na absorção da radiação UVA, já que este valor está muito próximo de 400 nm, o que corrobora com os espectros ERD do ligante e das amostras, que mostram a absorção de toda região do UVA.

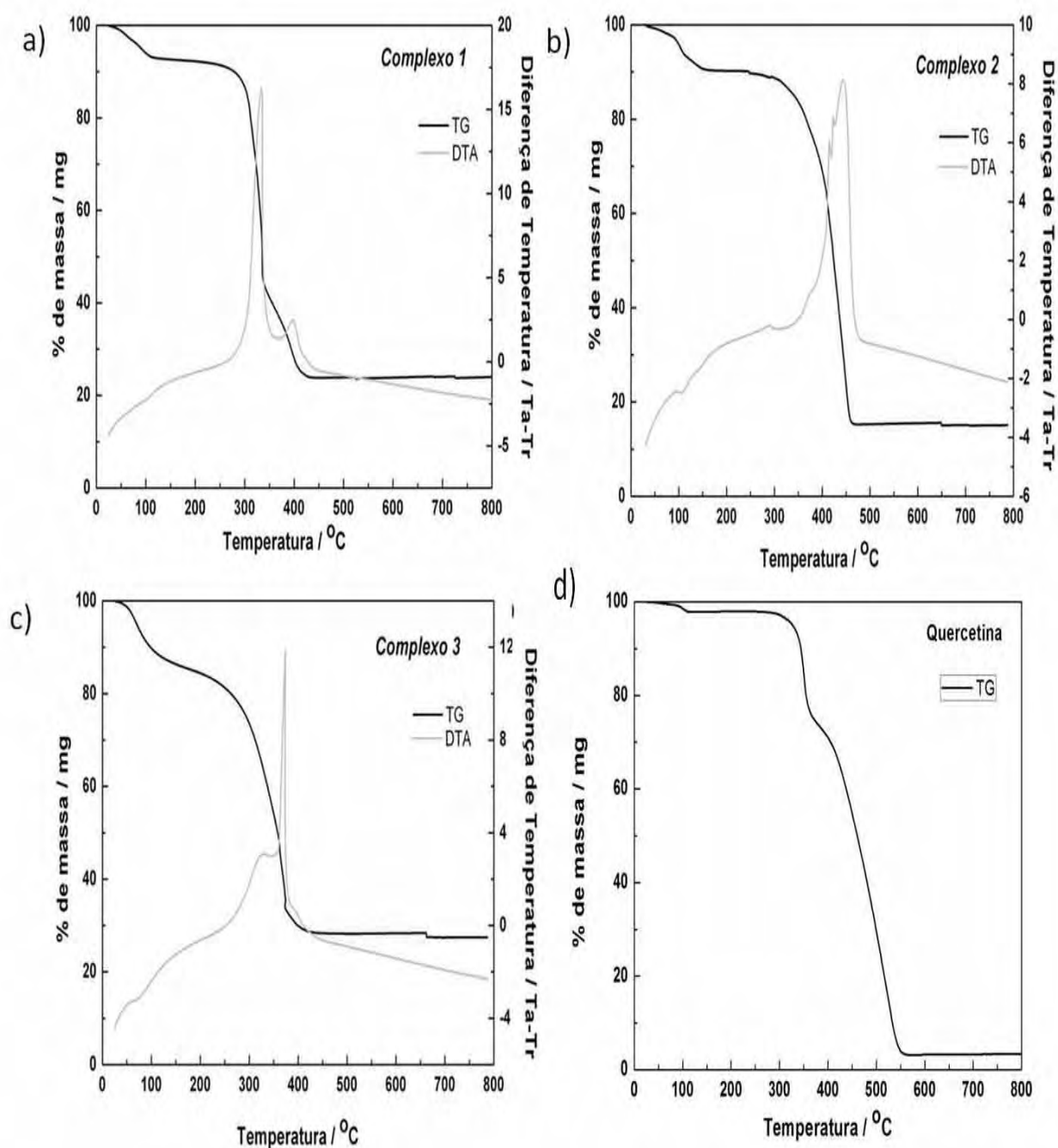
A partir dos espectros ERD, também foram calculadas as razões UVA/UVB dos complexos e da quercetina. A razão UVA/UVB indica o desempenho relativo dos filtros solares diante do UVA e UVB, sendo um parâmetro amplamente utilizado na descrição da eficiência dos filtros e protetores solares.

Os valores de razão UVA/UVB calculados para os complexos estão na **Tabela 6**. Todos os filtros apresentaram valores satisfatórios (classificação ultra) para a razão UVA/UVB, tornando-os candidatos em potencial para a aplicação em formulações de protetores solares.

Foram realizadas medidas de análise térmica (TG/DTA) sob atmosfera de ar artificial (**figura 22**) e análise elementar dos *complexos 1, 2 e 3*. Na mesma figura, encontra-se a curva TG da quercetina utilizada nas sínteses.

Os resultados indicam que a decomposição térmica dos complexos apresenta duas etapas principais de decomposição. A primeira etapa pode ser atribuída à perda de moléculas de água que podem estar coordenadas e/ou presentes na forma de ligação de hidrogênio com a molécula de quercetina presente nos complexos. O segundo estágio de decomposição pode ser atribuído à decomposição da quercetina. Por fim, o resíduo final pode ser atribuído ao óxido de zinco (ZnO).

Figura 22. Curvas TG e DTA do (a) complexo 1, (b) complexo 2 e (c) complexo 3, e (d) Curva TG da quercetina.



A **tabela 7** reúne os resultados de análise térmica: valores de temperatura máxima de decomposição das espécies presentes em cada complexo, suas respectivas porcentagens de perda de massa calculadas a partir dos resultados experimentais ou da fórmula proposta, e análise elementar.

Vale destacar que a porcentagem de Zn^{2+} experimental (presente na **tabela 7**) foi determinada através da titulação complexométrica dos complexos com EDTA 0,01 mol/L.

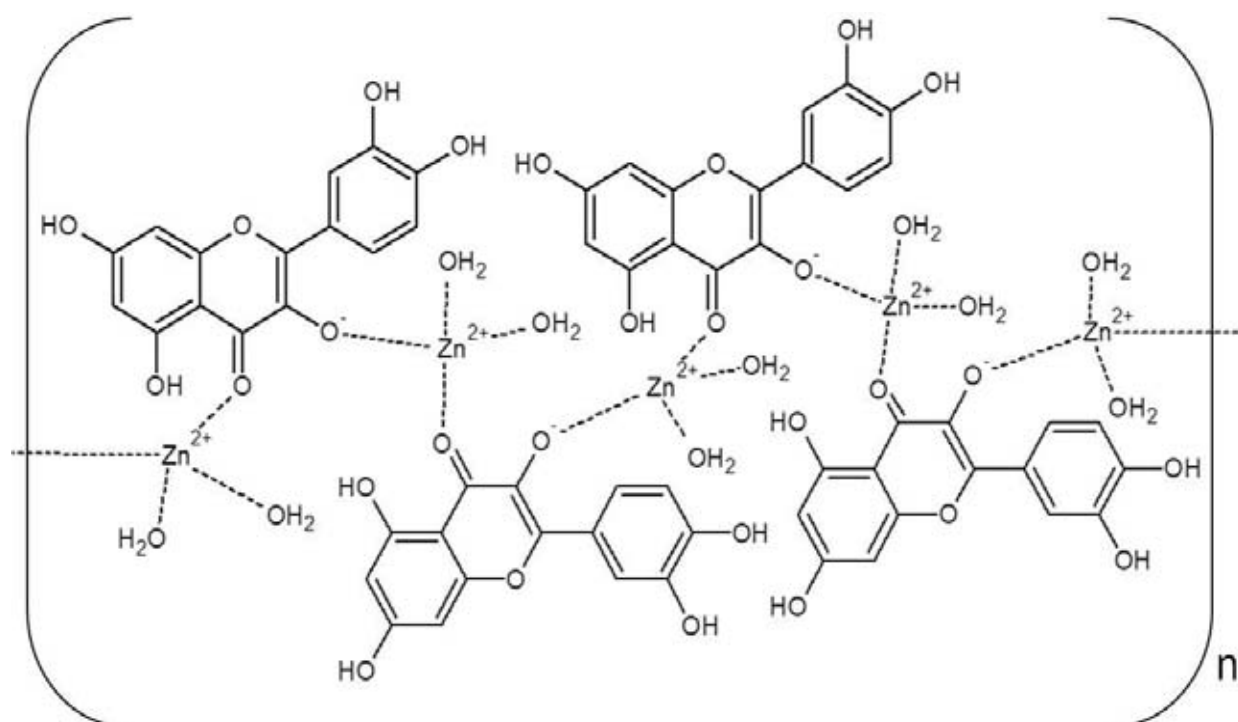
Tabela 7: Resultados encontrados na análise térmica e elementar.

Complexo	Etapas	Perda de massa		Análise elementar		
		% Cal.	% Exp.		%Calc.	% Exp.
Complexo 1	2 H ₂ O	8,90	8,20	C	44,97	44,53
	1 Quercetina	70,1	69,6	H	2,76	1,82
	1 ZnO	21,0	22,4	Zn²⁺	16,32	16,08
Complexo 2	2 H ₂ O	7,50	9,00	C	51,19	49,7
	2 Quercetina	80,5	77,0	H	3,15	2,81
	1 ZnO	12,0	14,0	Zn²⁺	9,29	9,42
Complexo 3*	4 H ₂ O	14,3	14,5	C	32,50	33,16
	1 Quercetina	59,8	57,0	H	1,70	1,90
	2 ZnO	25,9	28,5	Zn²⁺	44,18	42,87

*Valores da análise elementar calculados utilizando a fórmula [Zn₂(Q)_{1/2}], fórmula esta que não concorda com os resultados obtidos na análise térmica.

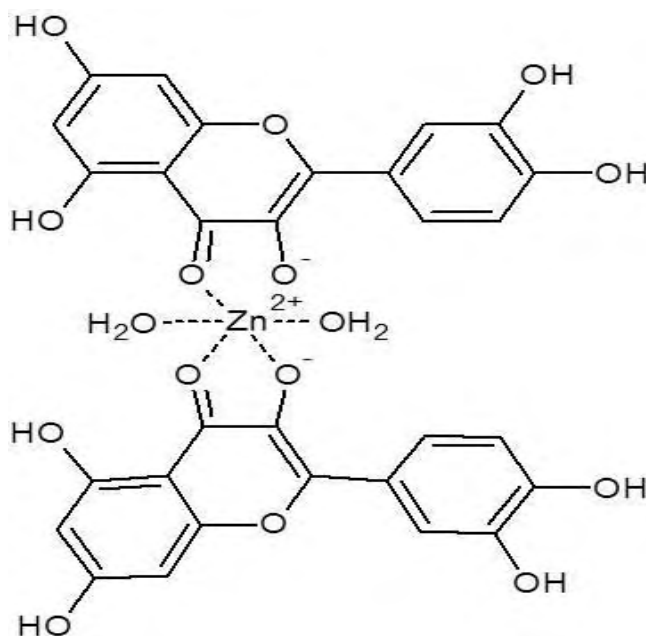
Os resultados de análise térmica e elementar indicam que o *complexo 1* apresenta a fórmula mínima [Zn(Q)(H₂O)₂]. Na **figura 23**, está a estrutura proposta para o mesmo. Acredita-se que a estrutura polimérica seja a mais provável, pois o complexo é bastante insolúvel em alguns solventes testados.

Figura 23. Provável estrutura para o complexo 1.



De acordo com as análises térmica e elementar, o *complexo 2* apresenta fórmula mínima $[\text{Zn}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$. Para tal fórmula foi proposta a estrutura representada na **figura 24**. Tal proposta é condizente com dados encontrados na literatura (JUN; BOCHU; LIANCAI, 2007).

Figura 24. Provável estrutura para o complexo 2.



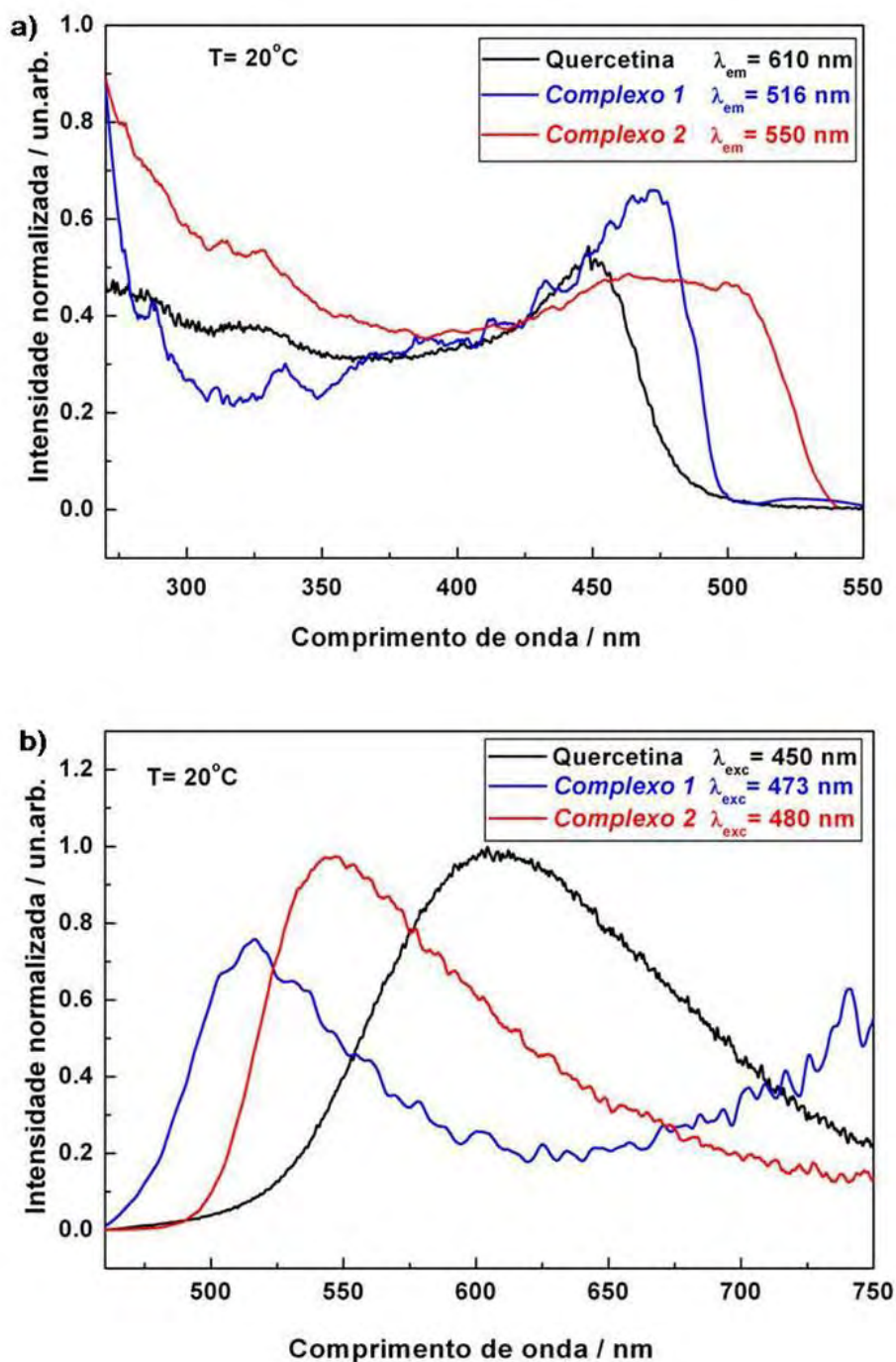
Para o *complexo 3*, degradado, não foi possível calcular os valores de porcentagens de C e H de análise elementar com base na proporção encontrada pela análise térmica, este composto aproxima-se mais de uma estrutura que possui dois Zn^{2+} interagindo com uma molécula cuja fórmula é menor que a da quercetina ($[\text{Zn}_2(\text{Q})_{1/2}]$). Essa degradação provavelmente ocorre devido à oxidação da quercetina, que é favorecida em pHs elevados e/ou excesso de metal ou de ligante.

Quercetina e os *complexos 1* e *2* foram caracterizados por espectroscopia de fotoluminescência (EFL).

Na **figura 25** está o espectro de excitação (**a**) e de emissão (**b**) das amostras. No espectro de excitação da quercetina [**figura 25(a)**] é possível observar duas bandas, uma na região de 300-350 nm de menor intensidade, referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo benzoila (banda II), e outra mais intensa na região de 400-450 nm, referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo cinamoila (banda I). No espectro de emissão [**figura 25(b)**] é possível

observar uma banda intensa entre 500-750 nm referente à transição $\pi^* \rightarrow \pi$ do grupo cinamoila.

Figura 25. Espectros de luminescência da quercetina e dos complexos 1 e 2 na temperatura de 20°C: (a) de excitação e (b) de emissão.



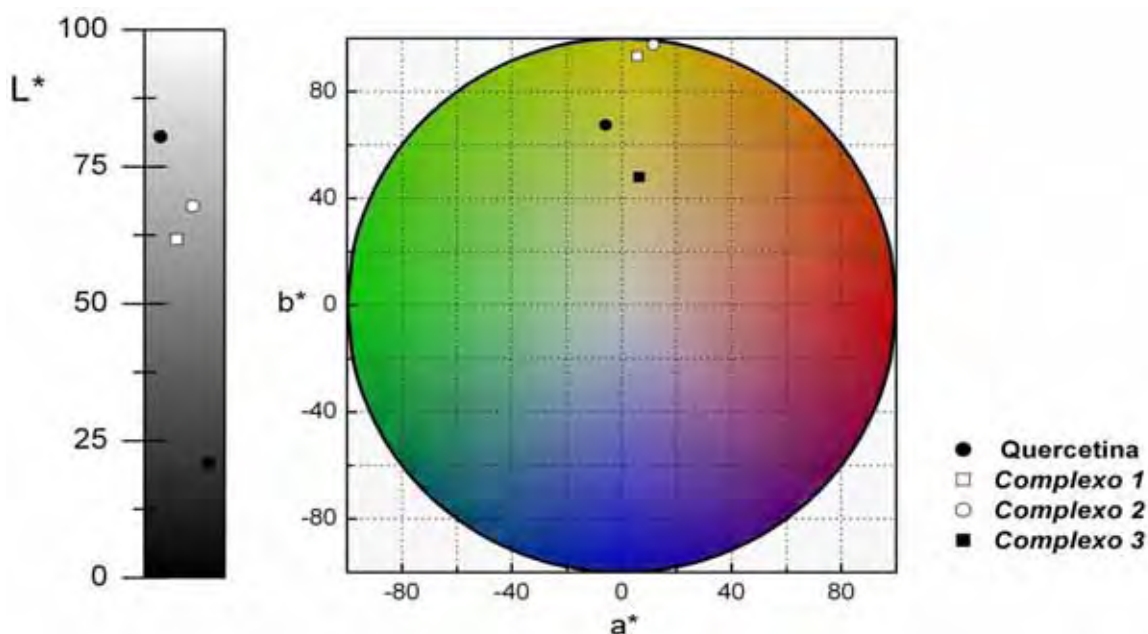
Comparando os espectros de emissão e de excitação da quercetina com o dos complexos é possível observar que apesar de apresentarem mesmo perfil, os espectros de excitação dos complexos encontram-se deslocados para maiores λ . Os espectros de emissão dos complexos também encontram-se deslocados, neste caso para menores λ

quando comparados à quercetina. Esses deslocamentos corroboram com os resultados anteriores de que houve formação de complexos de Zn^{2+} com quercetina na qual a interação do metal com o ligante ocorre através do $\text{C}=\text{O}$ e 3-OH pertencente ao grupo cinamoila do mesmo. Através do espectro de emissão, é possível observar ainda que a quercetina emite na região de cor laranja, o *complexo 1* e *complexo 2* na região do Verde.

Além disso, foi calculado o deslocamento Stokes da quercetina e dos complexos. Tal deslocamento é a diferença entre o máximo da emissão e o da excitação (ou absorção). Os valores encontrados foram $5,90 \times 10^3$; $1,78 \times 10^3$ e $2,55 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ para quercetina, *complexo 1* e *complexo 2* respectivamente, indicando que a complexação do Zn^{2+} com quercetina diminui o deslocamento Stokes.

Para finalizar os complexos de Zn^{2+} , foram realizadas medidas de cor dos *complexos* e do ligante quercetina. Pelo diagrama de cores e escada de brilho (L^*) (**figura 26**), é possível observar que os *complexos 1* e *2* apresentam coloração amarela (parâmetros a^* e b^*) mais intensa (parâmetro L^*) quando comparadas com a quercetina. Tal resultado é interessante, pois torna-se viável o seu uso como filtros solares em formulações de protetores solares, não comprometendo a estética do produto. Já o *complexo 3*, que sofreu processo de degradação, apresentou coloração próxima do marrom intenso, inutilizando o seu uso como filtro solar em formulações de protetores.

Figura 26. Índice de cor da quercetina e dos complexos de Zn^{2+} .

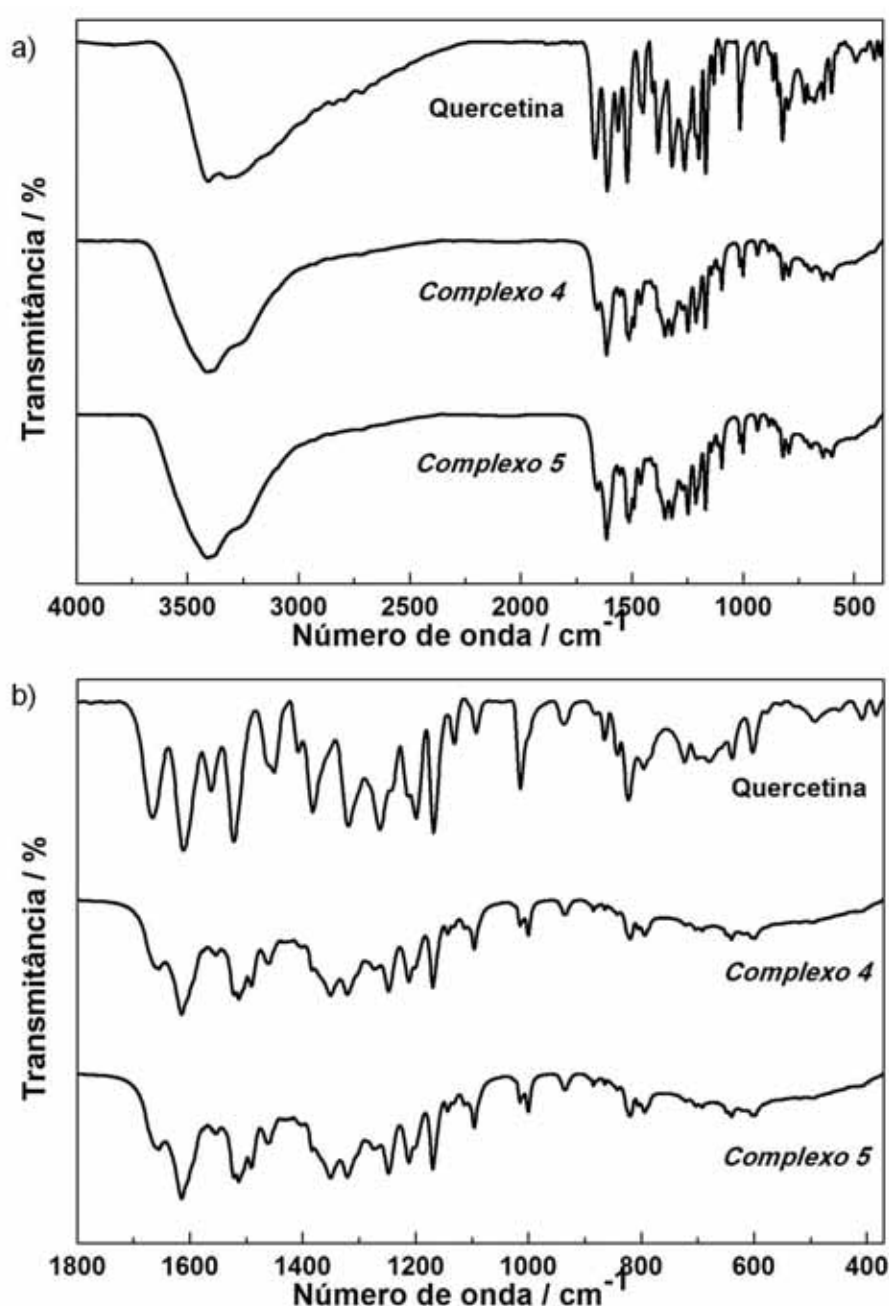


4.2. Complexo de Ce^{3+} com quercetina

Para obtenção do complexo de Ce^{3+} utilizando quercetina como ligante foram utilizadas as proporções M:L de 1:4 e 1:8. As amostras obtidas foram nomeadas respectivamente de *complexo 4* e *complexo 5*.

A **figura 27** apresenta o espectro FTIR do ligante e dos *complexos 4* e *5*. É possível observar inicialmente que as duas amostras possuem mesmo perfil espectral, indicando a formação de um mesmo complexo. Desta forma, continuaremos chamando o complexo formado de *complexo 4*.

Figura 27. Espectros FTIR da quercetina e das amostras iniciais denominadas, *complexo 4* e *complexo 5* nas regiões de (a) 4000-370 cm^{-1} (b) 1800-370 cm^{-1} .



Na **tabela 8** encontra-se as principais bandas observadas no espectro da quercetina, do *complexo 4* e suas respectivas atribuições.

Tabela 8: Atribuição das principais bandas presentes no espectro FT-IR da quercetina e do *complexo 4*.

Quercetina	Complexo 4	Atribuição
3400	3412	$\nu(\text{O-H})$
3295	3240	$\nu(\text{O-H})$
1666	---*	$\nu(\text{C=O})$
1610	1614	$\nu(\text{C=C})_{\text{anel A e B}}$
1560	1519	$\nu(\text{C=C})$
1384	1350	$\nu(\text{Anel C, 3-OH})$
1263	1248	$\nu(\text{C-O-C})$
825	819	$\omega(\text{C-H})_{\text{fora do plano}}$

* No *complexo 4*, a banda na região de 1666 cm^{-1} encontra-se praticamente sobreposta a banda na região de 1600 cm^{-1} .

Fonte: Adaptado de BARBOSA, 2007; DEGHAN; KHOSHKAM, 2012; BUKHARI et al., 2009; SILVERSTEIN, 1994).

Em ambos os espectros, tanto do ligante quanto do complexo, observa-se uma banda intensa e larga na região de $3400\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ referente ao estiramento da ligação O-H, indicando a presença de ligação de hidrogênio intermolecular. O O-H pode estar entre as moléculas do ligante e/ou entre o ligante e moléculas de água, não descartando a presença de bandas mais finas nesta região referentes ao estiramento da ligação C-H. Tais bandas provavelmente encontram-se encobertas pela banda larga referente ao $\nu(\text{O-H})$. Além disso, o *complexo 4* apresenta bandas características do ligante quercetina deslocadas para menores energias, como as bandas na região de 1666 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{C=O})$, que aparece sobreposta à banda já existente em 1610 cm^{-1} e a banda em 1560 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{C=C})$ de anel aromático, que se sobrepõe a banda 1517 cm^{-1} . Esse deslocamento para menores energias indica que a coordenação do metal com ligante envolve o oxigênio da carbonila e provavelmente o grupo fenólico 3-OH ou 5-OH.

É possível observar também que as bandas na região de 1380 cm^{-1} referente à combinação entre deformação angular O-H e estiramento C-O dos grupos fenólicos presentes na estrutura da quercetina encontram-se deslocadas para menor energia nos complexos confirmando a interação do centro metálico com o grupo fenol também. Já as

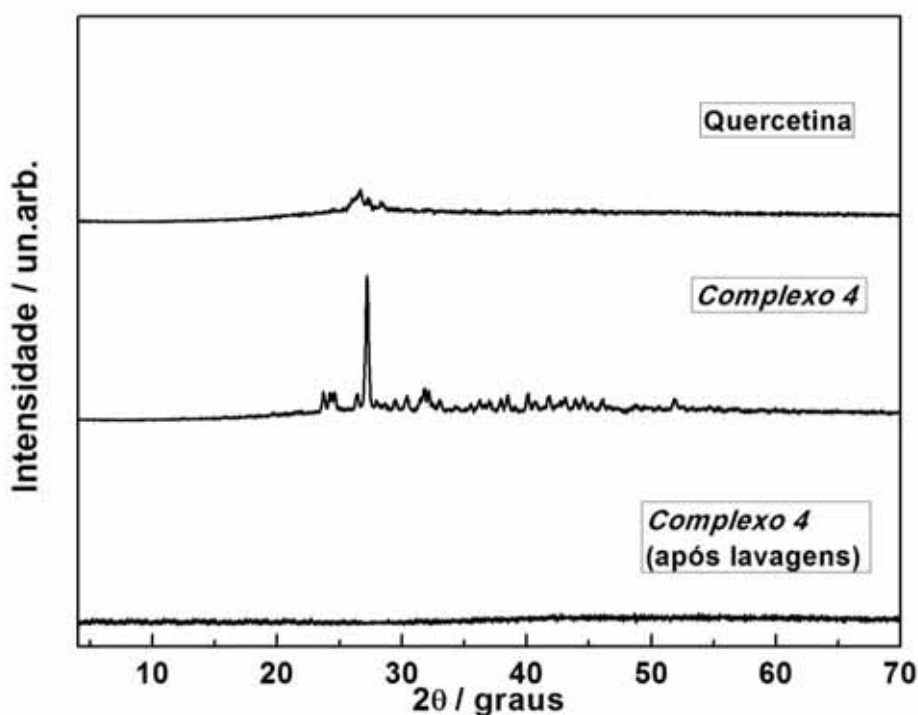
bandas localizadas em 1610 e 1262 cm^{-1} referentes respectivamente aos $\nu(\text{C}=\text{C})$ e $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$ encontram-se pouco deslocadas nos complexos, indicando que a complexação não envolve o oxigênio (heteroátomo) do anel C da quercetina.

Na região de 500 cm^{-1} não se observa banda referente ao $\nu(\text{Ce}-\text{O})$ já que nesta região a quercetina apresenta bandas pouco intensas características de sua estrutura, dificultando uma possível atribuição da banda (Ce-O). Uma possível ausência da banda pode ser também explicada por seu deslocamento para números de onda inferiores a 400 cm^{-1} .

A análise do DRX do *complexo 4* (**figura 28**) indica a princípio que este é cristalino, diferentemente da quercetina de partida, que se mostra pouco cristalina. No entanto observa-se a presença do mesmo pico de difração ($27,40^\circ$) presente no *complexo 2*. Isso indica que provavelmente temos cristais de quercetina não ligada juntamente com o complexo formado. Assim, o perfil cristalino observado no *complexo 4* (complexo de Ce^{3+}) trata-se provavelmente de excesso de quercetina presente nos complexos que foram obtidos na presença de grande quantidade de água, indicando assim que a água favorece a precipitação de cristais de quercetina juntamente com os complexos.

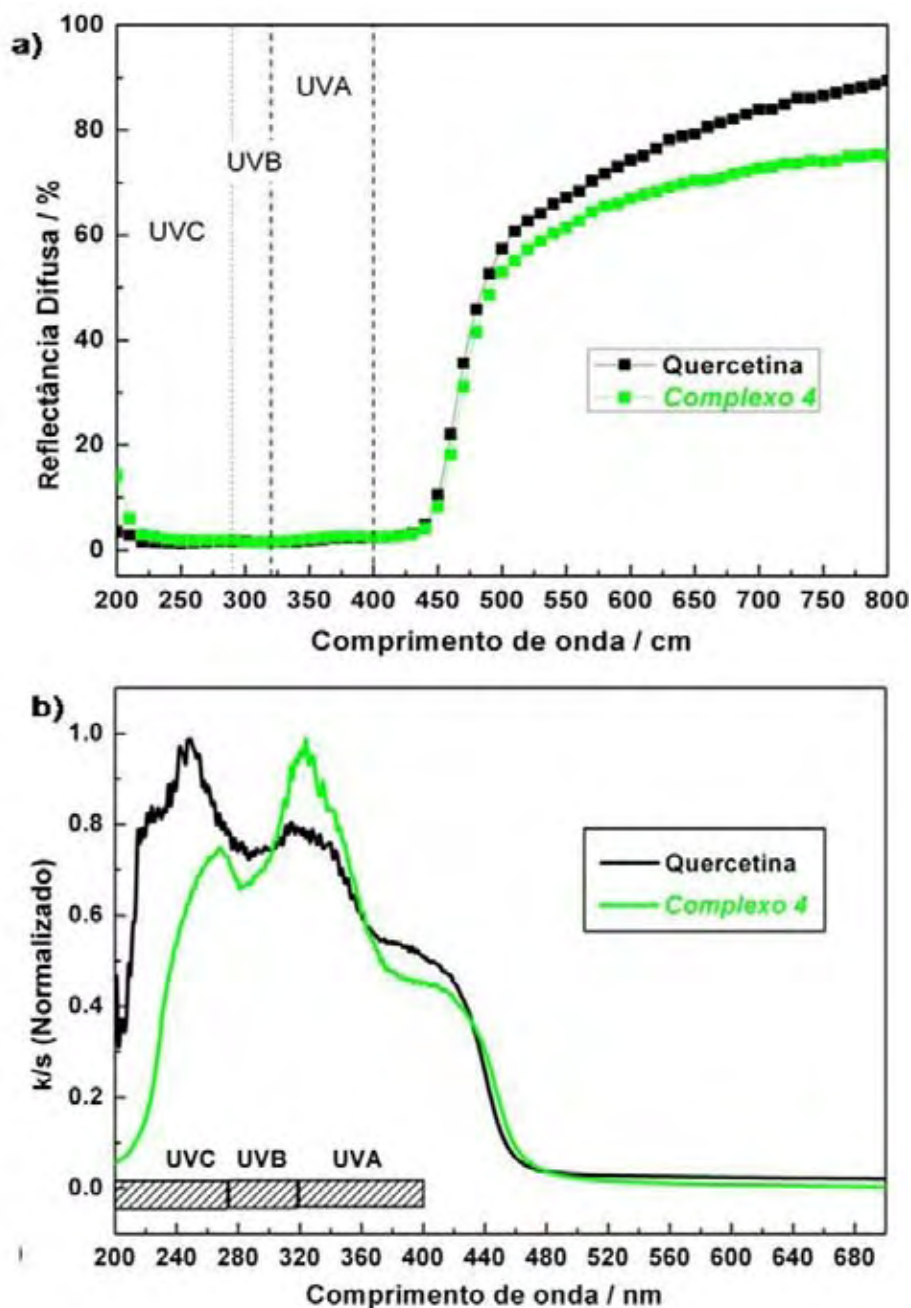
Assim, seguindo a mesma metodologia utilizada anteriormente no *complexo 2*, os DRX (**Figura 28**) indicam a purificação da amostra.

Figura 28. DRX da quercetina e do complexo 4 antes e após as lavagens.



Na **figura 29** está o espectro de reflectância difusa (a) e de absorção (b) da quercetina e do *complexo 4* obtidos pela relação de Kubelka-Munk (LOYALKA; RIGGS, 1995).

Figura 29. Espectros eletrônicos UV-VIS da quercetina e do *complexo 4* (a) ERD (b) Espectro de absorção calculado através da relação de Kubelka-Munk.



O espectro de reflectância do *complexo 4* [figura 29 (a)] apresenta borda de absorção pouco deslocada para região do visível quando comparado ao espectro da quercetina. Esse deslocamento é um indício de que houve interação entre o centro metálico

e o ligante sendo esta diferente da observada para os complexos de Zn^{2+} , já que o deslocamento observado foi diferente.

Como foi discutido anteriormente, a absorção da radiação UV pela quercetina envolve transições $\pi \rightarrow \pi^*$, e seu espectro apresenta duas bandas principais: Banda I (grupo cinamoila) e banda II (grupo benzoila). Correlacionando esta informação com os espectros RD e de absorção obtidos para o complexo em questão, podemos observar que há um deslocamento da banda II (~ 25 nm), referente ao grupo benzoila da quercetina, para regiões de maior λ . Esse pequeno deslocamento indica uma provável complexação do metal de forma bidentada pelos grupos C=O e 5-OH da quercetina já que este grupo fenol pertence ao grupo benzoila, diferentemente do grupo 3-OH que pertence ao sistema cinamoila. Caso a complexação ocorresse através dos grupos C=O e 3-OH, como é o caso dos complexos de zinco, a banda I, deveria ter deslocado considerável, o que não foi observado neste caso.

Assim, acredita-se que a complexação do Ce^{3+} com a quercetina esteja envolvendo o grupo carbonila e o grupo 5-OH. Isso pode ser explicado pelo fato de que o Ce^{3+} com seu raio iônico grande (1,14 Å), tende a se complexar pelos grupos 5-OH e carbonila formando um anel de seis membros altamente estável. Diferentemente do Ce^{3+} , o Zn^{2+} , com seu menor raio iônico (0,74 Å), é capaz de se complexar pelos grupos carbonila e 3-OH formando um anel de cinco membros, estável para este caso onde o íon metálico possui menor tamanho, mas menos provável para íon volumoso, Ce^{3+} .

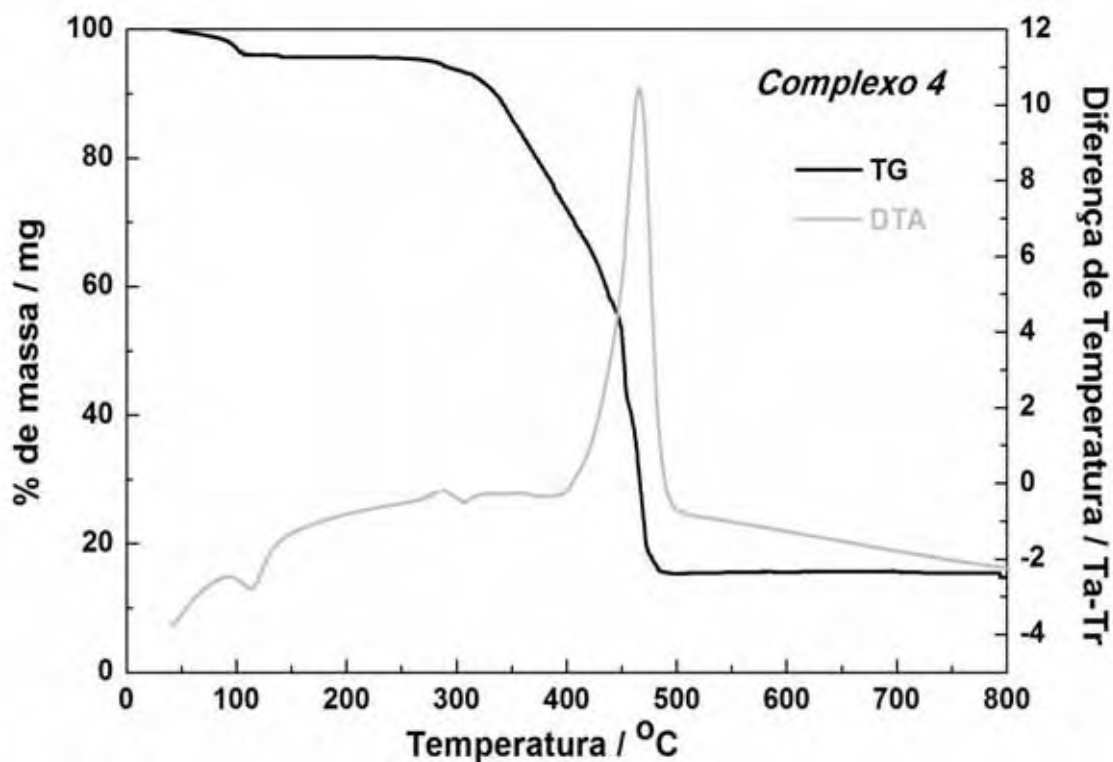
Foi calculado o valor de bandgap para a banda I do *complexo 4*, λ_c e razão UVA/UVB (**Tabela 9**). O valor de E_g encontrado foi de 2,49 eV, indicando deslocamento da absorção para maiores comprimentos de onda. O valor de λ_c calculado para o *complexo 4* foi de 392 nm, indicando sua eficiência na absorção da radiação UVA. O complexo em questão apresentou valor satisfatório (classificação ultra) para a razão UVA/UVB, tornando-o candidato em potencial para a aplicação em formulações de protetores solares.

Tabela 9: Resultados de bandgap (E_g), comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB da quercetina e dos complexos 1 e 2.

Amostra	E_g (eV)	λ_c (nm)	UVA	UVB	UVA/UVB	Classificação
Quercetina	2,57	391	0,981	0,984	0,996	Ultra
Complexo 4	2,49	392	0,966	0,978	0,988	Ultra

Foram realizadas medidas de análise térmica (TG/DTA) sob atmosfera de ar artificial (**figura 30**) e análise elementar para o *complexo 4* (após as lavagens).

Figura 30. Curvas TG e DTA para *complexo 4*.



A análise térmica (**figura 30**) indica que o *complexo 4* é termicamente estável na faixa de 25-65 °C. Sua decomposição térmica apresentou 2 etapas principais. A primeira etapa com temperatura máxima de 119 °C, pode ser atribuída a perda de duas moléculas de água que podem estar coordenadas ao metal. A segunda etapa de decomposição ocorreu em temperatura máxima de 490°C e pode ser atribuída à perda de 2 moléculas de quercetina que no complexo encontram-se ligadas ao metal. Por fim, o resíduo final pode ser atribuída ao óxido do metal (CeO_2).

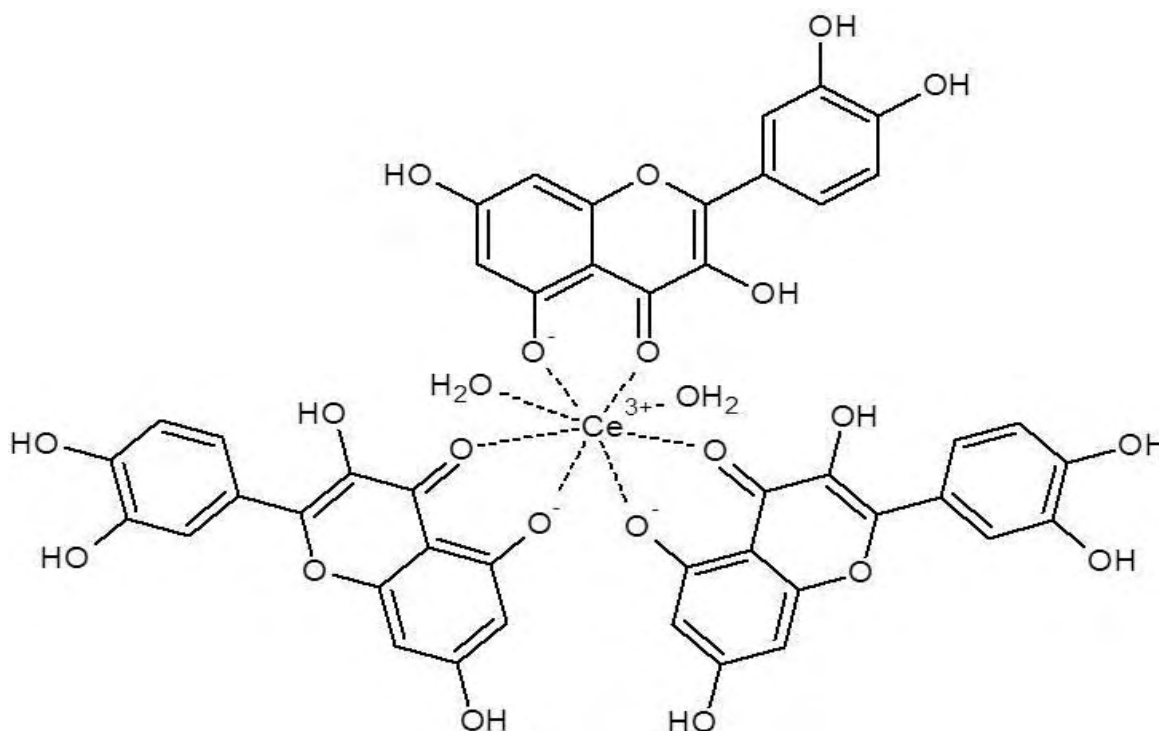
A **tabela 10** reúne os resultados da análise térmica: valores de temperatura máxima de decomposição das espécies presentes no complexo suas respectivas porcentagens de perda de massa calculadas a partir dos resultados experimentais ou da fórmula proposta, e análise elementar.

Vale destacar que a porcentagem de Ce^{3+} obtida experimentalmente (presente na **tabela 10**) foi determinada através da titulação complexométrica do complexo com EDTA 0,01 mol/L.

Tabela 10: Resultados encontrados na análise térmica e elementar.

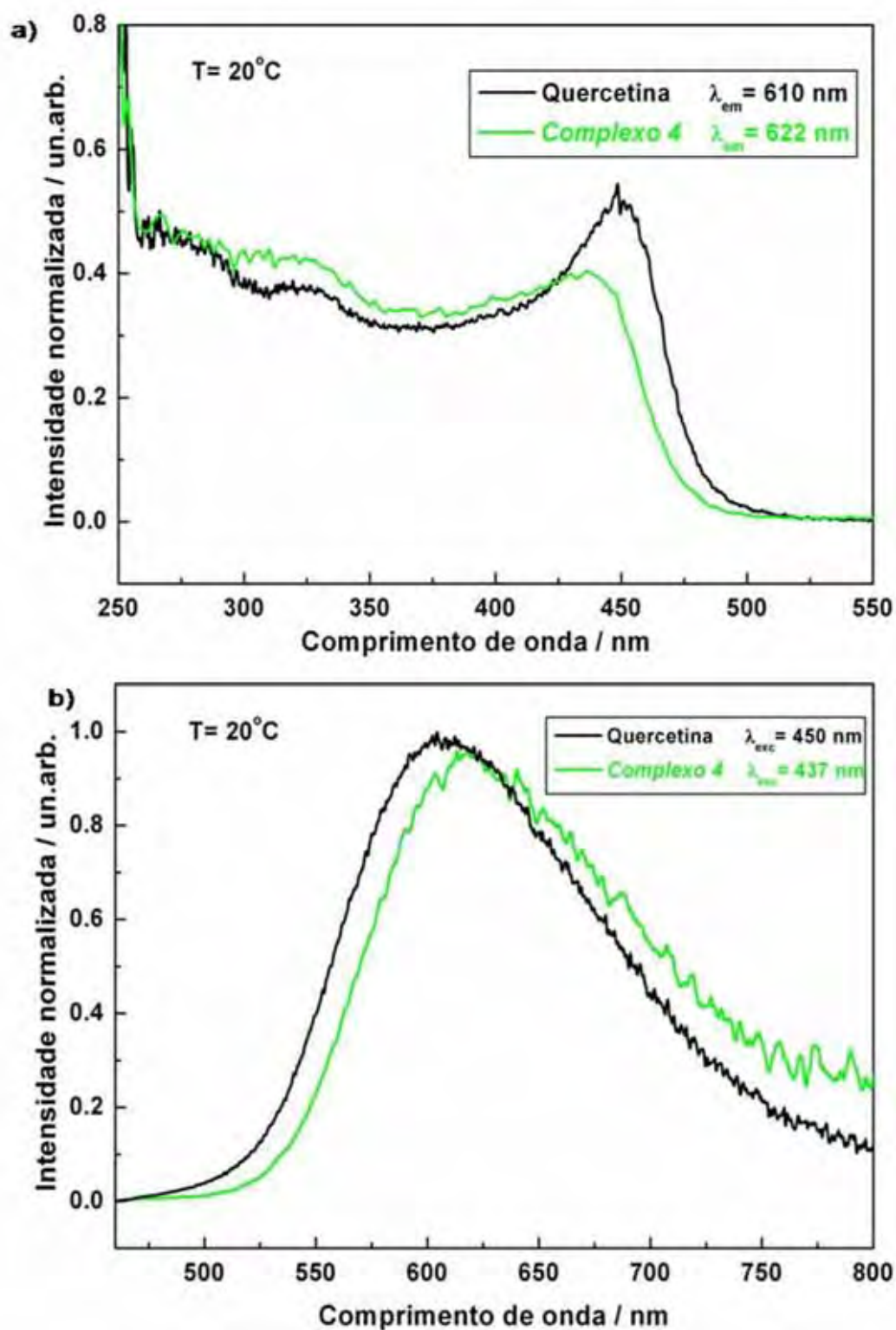
Complexo	Etapas	Perda de massa		Análise elementar		
		% Cal.	% Exp.		% Calc.	% Exp.
Complexo 4	2 H ₂ O	3,23	3,50	C	50,01	49,53
	3 Quercetina	81,33	80,90	H	2,98	3,02
	1 CeO ₂	15,44	15,60	Ce³⁺	12,96	13,10

Desta forma, através dos resultados obtidos na análise térmica e elementar é possível propor a fórmula mínima [Ce(Q)₃(H₂O)₂] para o complexo 4. Para tal fórmula foi proposta a estrutura representada na **figura 31**.

Figura 31. Provável estrutura para o complexo 4.

O *complexo 4* também foi caracterizado por espectroscopia de fotoluminescência (EFL). Na **figura 32** encontra-se o espectro de excitação (**a**) e de emissão (**b**) desta amostra e da quercetina.

Figura 32. Espectros de luminescência da quercetina e do complexo 4 na temperatura de 20 °C **(a)** excitação e **(b)** emissão.



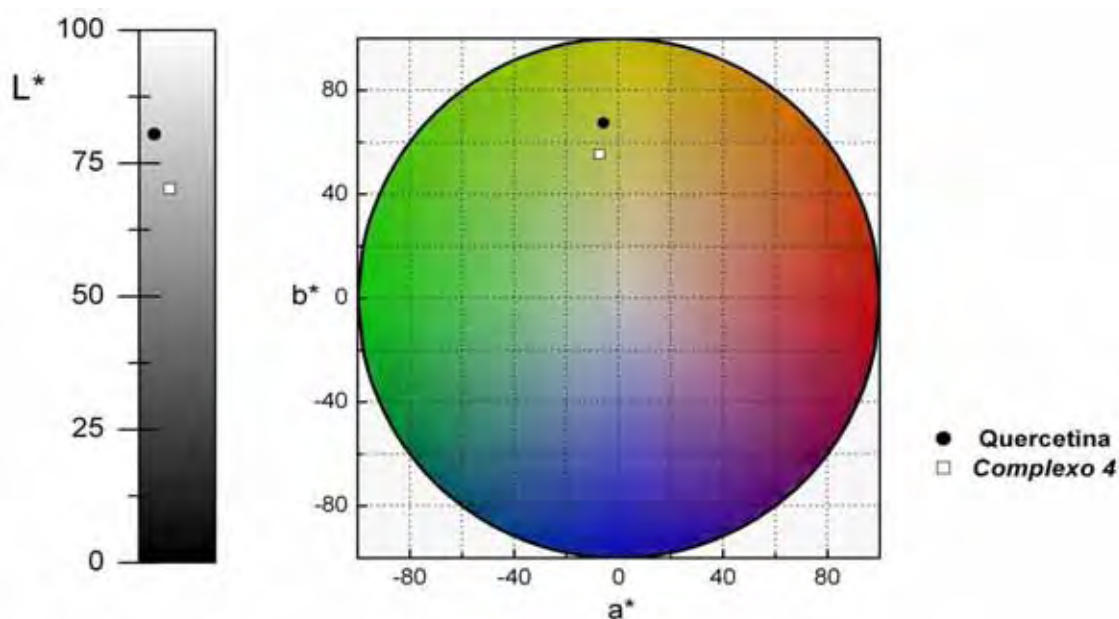
Comparando os espectros de emissão e de excitação da quercetina com o do complexo (figura 32) é possível observar que apesar de apresentarem mesmo perfil, a banda larga no espectro de excitação do *complexo 4* encontra-se deslocada para λ menores.

Da mesma forma, a banda larga no espectro de emissão também se encontra deslocada para região do vermelho, quando comparada com a quercetina. É possível observar ainda que o *complexo 4* emite na região do laranja, apresenta deslocamento Stokes no valor de $6,96 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$, indicando que diferentemente dos complexos de Zn^{2+} , o complexo de Ce^{3+} com quercetina apresenta deslocamento Stokes maior que o do ligante ($5,90 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$).

Essa diferença no deslocamento corrobora com os resultados anteriores de que houve formação de complexo de Ce^{3+} com quercetina e que a interação do metal com o ligante é diferente da interação que ocorre entre o Zn^{2+} e a quercetina.

Também pode ser citado que sob determinadas condições de simetria e especialmente de força de ligação, Ce^{3+} pode apresentar luminescência. No entanto, no *complexo 4* não se observa nenhuma transição que pudesse indubitavelmente ser atribuída às transições do Ce^{3+} . A diferença de energia entre o estado fundamental e o estado excitado do cério é função das interações do ligante com o metal e, no complexo pode assumir valores nos quais as transições d-f podem ocorrer fora da região visível ou estarem encobertas pela emissão do ligante. Acredita-se que a excitação feita através da transição f-d do cério possibilita a transferência de energia para níveis emissores da quercetina. Desta forma só é observada a emissão do ligante.

Por fim, foram realizadas medidas de cor do *complexo 4*. Pelo diagrama de cores e escada de brilho (L^*) (**figura 33**), é possível observar que este apresenta coloração amarelo-esverdeada (parâmetros a^* e b^*) sendo mais intensa (parâmetro $*L$) quando comparada com a quercetina. Tal resultado torna viável o seu uso como filtros solares em formulações de protetores solares, não comprometendo a estética do produto.

Figura 33. Índice de cor da quercetina e do complexo 4.

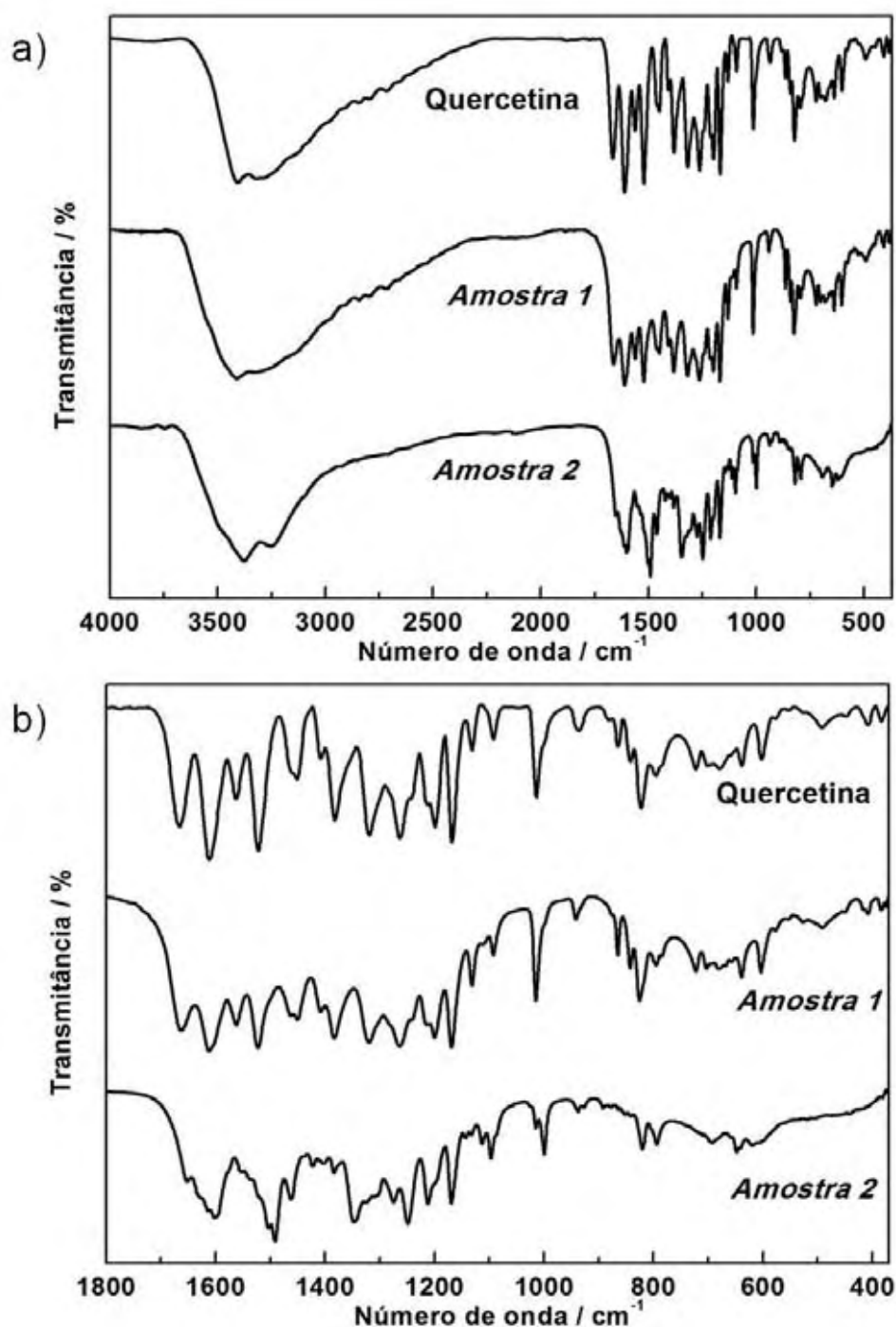
4.3. Complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina

Foram utilizados dois métodos na tentativa de obtenção do complexo heterobimetálico. No primeiro método, as amostras foram obtidas a partir de acetato de zinco e nitrato de cério nas proporções 1:1:2, 1:1:4, 1:1:6, 1:1:8 com adição de água destilada ao final para favorecer a precipitação. Independentemente da proporção, as amostras apresentaram coloração esverdeada, sendo analisadas preliminarmente por FT-IR onde foi possível observar a formação de um mesmo composto que foi denominada aqui de *amostra 1*.

No segundo método utilizado, partiu-se de soluções metanólicas do ligante e dos cloretos de Zn^{2+} e de Ce^{3+} na proporção de $\text{Zn}^{2+}:\text{Ce}^{3+}:\text{ligante}$ de 1:1:2, resultando numa amostra de coloração alaranjada denominada inicialmente de *amostra 2*.

As amostras 1 e 2 foram caracterizadas inicialmente por FTIR, ERD e DRX. Na **figura 34** estão representados os espectros FT-IR do ligante quercetina e das tentativas de obtenção do complexo heterobimetálico, aqui denominadas de *amostra 1* e *2*.

Figura 34. Espectros FTIR da quercetina e das amostras nas regiões de (a) 4000-370 cm^{-1} e (b) 1800-370 cm^{-1} .



Primeiramente é possível observar em todos os espectros uma banda larga na região de 3400-3000 cm^{-1} correspondente ao $\nu(\text{O-H})$, indicando a presença de ligação de hidrogênio intermolecular entre as moléculas do ligante e/ou entre o ligante e moléculas de água. Além disso, nas *amostras 1* e *2* essa banda encontra-se mais alargada e deslocada para menor energia sendo um indício da presença de água coordenada. Não se descarta a

presença do $\nu(\text{C-H})$ nesta região, provavelmente encoberto pela banda larga de O-H. No espectro da *amostra 1* não se observa grandes deslocamentos quando comparados a quercetina, indicando a provável presença de quercetina juntamente com o complexo formado. Já a *amostra 2* apresenta algumas bandas características do ligante quercetina deslocadas para menores energias, como a banda em 1560 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{C=C})$ de anel aromático e a banda na região de 1666 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{C=O})$ que aparece sobreposta à banda já existente na região de 1610 cm^{-1} . Esse deslocamento para menores energias indica que a coordenação dos metais com ligante envolve o oxigênio da carbonila presente na quercetina. É possível observar também que as bandas na região de 1380 cm^{-1} referente à combinação entre deformação angular (O-H) e estiramento (C-O) dos grupos fenólicos presentes na estrutura da quercetina encontram-se deslocadas para menor energia na *amostra 2* indicando uma possível interação dos centros metálicos com grupos fenólicos (3-OH, 5-OH, 3'-OH e 4'-OH) presentes na quercetina. Além disso, a banda localizada em 1262 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{C-O-C})$ encontra-se pouca deslocada nessas amostras, indicando que provavelmente não há interação do metal com esta região do anel C da quercetina.

Na região de 500 cm^{-1} , observa-se uma banda pouco intensa, mas não é possível atribuir esta banda sendo ela referente ao estiramento da ligação Metal-O, pelo motivo já exposto anteriormente.

Na **tabela 11** estão as principais bandas encontradas nos espectros FT-IR da quercetina e dos complexos e suas respectivas atribuições.

Tabela 11: Atribuição das principais bandas do espectro FT-IR da quercetina e das amostras.

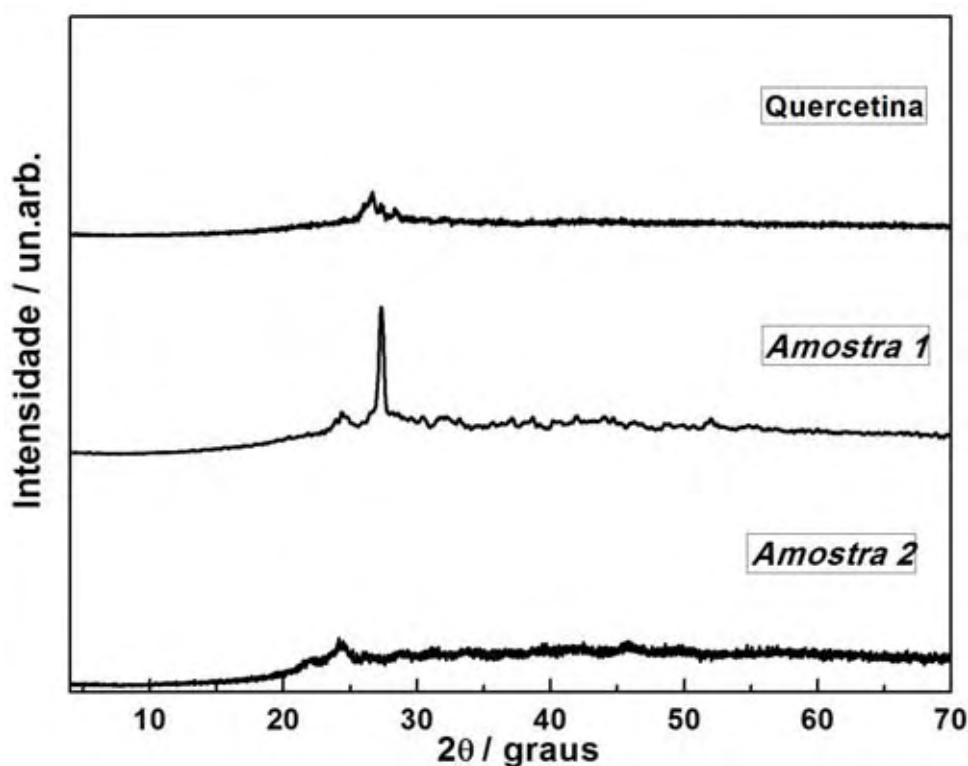
Quercetina	Amostra 1	Amostra 2	Atribuição
3400	3416	3376	$\nu(\text{O-H})$
3295	3240	3242	$\nu(\text{O-H})$
1666	1663	---*	$\nu(\text{C=O})$
1610	1612	1602	$\nu(\text{C=C})_{\text{anel A e B}}$
1560	1563	1491	$\nu(\text{C=C})$
1384	1383	1343	$\nu(\text{C-O}) + \varpi(\text{O-H})_{\text{fenol}}$
1263	1264	1248	$\nu(\text{C-O-C})$
825	824	820	$\varpi(\text{C-H})_{\text{fora do plano}}$

* Na *amostra 2*, a banda na região de 1666 cm^{-1} encontra-se sobreposta a banda na região de 1600 cm^{-1} .

Fonte: Adaptado de BARBOSA, 2007; SILVERSTEIN, 1994.

As amostras foram caracterizadas por difração de raios X (DRX). A análise do DRX (**figura 35**) da *amostra 2*, bem como da quercetina utilizada nas sínteses, indica que estes não são cristalinos no nível de detecção da técnica, já a *amostra 1* apresentou-se cristalina. No entanto observa-se a presença do mesmo pico de difração ($27,40^\circ$) presente no *complexo 2* e *complexo 4*. Isso indica que provavelmente temos cristais de quercetina juntamente com o complexo formado. Assim, tal perfil cristalino observado deve-se provavelmente ao excesso de quercetina presente nos complexos que foram obtidos na presença de grande quantidade de água.

Figura 35. DRX da quercetina e das amostras 1 e 2.

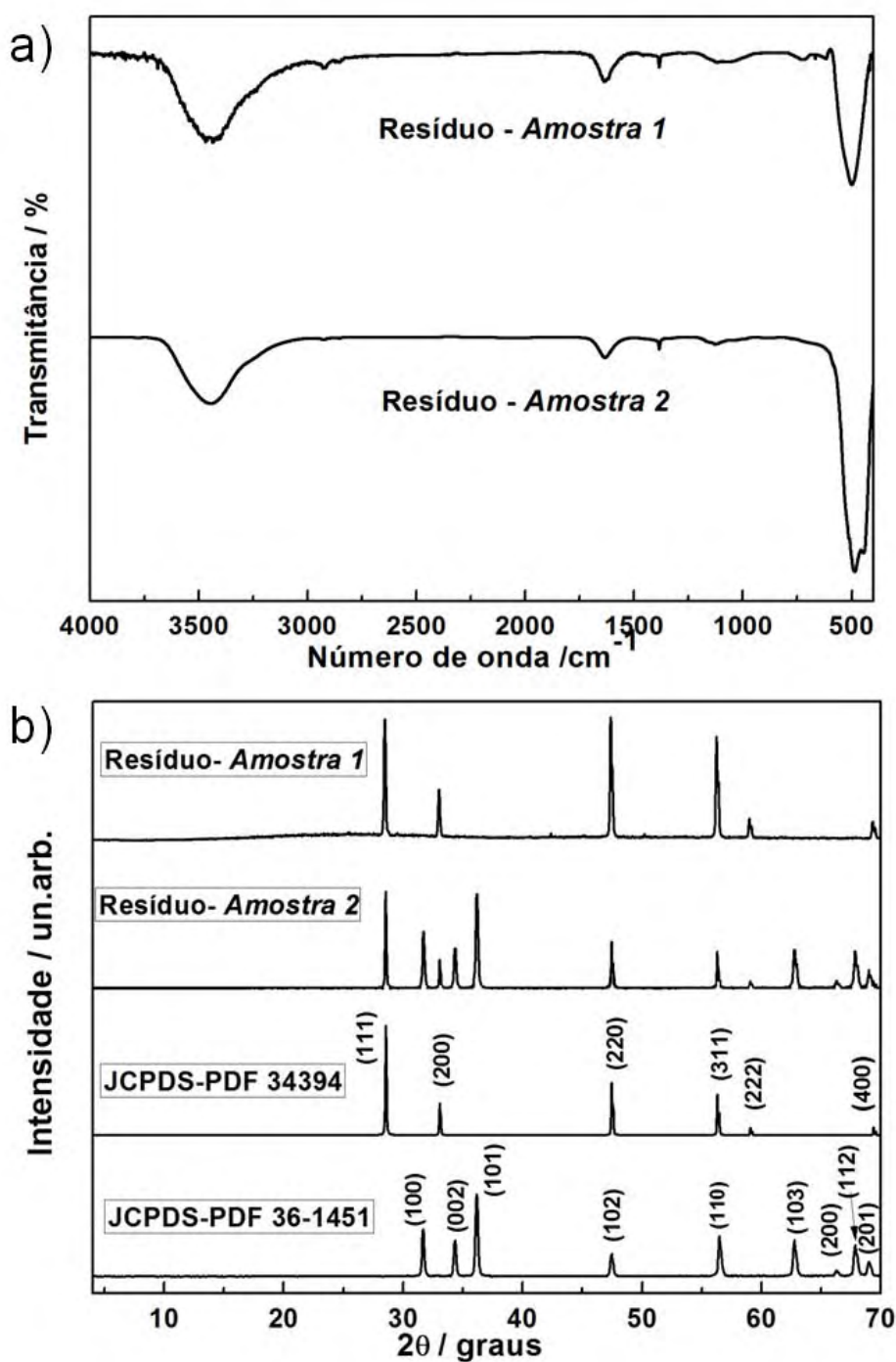


Afim de melhor investigar as amostras, estas foram calcinadas na temperatura de 1200°C por 4 h a fim de verificar ou não a presença de um óxido metálico ou uma mistura de óxidos (no caso do complexo heterobimetálico). Após a calcinação, os resíduos provenientes das amostras foram caracterizados por FTIR e DRX (**figura 36**).

Através dos espectros FTIR dos resíduos [**figura 36(a)**] é possível observar em ambos uma banda intensa na região de 500 cm^{-1} característica do estiramento Metal-O, indicando a presença de um óxido metálico. No entanto não é possível determinar se o estiramento observado refere-se a ligação Zn-O e/ou Ce-O. Assim, analisando o DRX dos resíduos [**figura 36(b)**] é possível observar que o resíduo da *amostra 1* é condizente com a

fase cerianita do CeO_2 (JCPDS-PDF 34394) indicando assim que trata-se de CeO_2 . Já o resíduo da *amostra 2* apresentou picos referentes a fase cerianita do CeO_2 e picos referentes a fase wurtzita do ZnO (JCPDS-PDF 36-1451) indicando assim a presença de uma mistura dos óxidos ZnO e CeO_2 . Isso é um indicio de que na *amostra 1* provavelmente há a formação de um complexo de Ce^{3+} , enquanto que na *amostra 2* há provável formação de um complexo heterobimetalico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina.

Figura 36. (a) Espectro FTIR e (b) DRX dos resíduos das amostras 1 e 2.



As amostras também foram caracterizadas por ERD, onde foi possível obter os espectros de Absorção no UV-VIS que se encontram abaixo (**Figura 37**).

O espectro de reflectância e de absorção da *amostra 1* (**figura 37**) apresenta um pequeno deslocamento (~ 11 nm) da banda II referente ao grupo benzoila para maiores λ . Esse deslocamento pode ser um indício de que está havendo alguma interação dos metais, ou de um deles com o grupo benzoila da quercetina. Já a banda I referente ao grupo cinamoila não sofreu deslocamento nesta amostra. Note que este espectro é semelhante ao espectro do complexo de cério com quercetina (*complexo 4*), indicando possivelmente a formação do mesmo complexo que apresenta excesso de quercetina não ligada, observada no DRX. Além disso, esta amostra quando calcinada apresentou como resíduo CeO_2 , indicando que não há presença de Zinco e portanto não houve a formação do complexo heterobimetálico pelo método utilizado na obtenção da *amostra 1*.

Em contrapartida os espectros RD e de absorção da *amostra 2* apresentaram-se bastante deslocados para maiores λ quando comparados com a quercetina. Pelo seu espectro de absorção [**figura 37(b)**] observa-se que as duas bandas principais referentes às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos grupos benzoila e cinamoila encontram-se deslocadas consideravelmente. Este resultado indica uma provável interação dos centros metálicos Zn^{2+} e Ce^{3+} com os dois grupos presentes na quercetina. Acredita-se que neste caso o íon Ce^{3+} esteja ligado de forma bidentada na quercetina pelos grupos 4-oxo e 5-OH, que pertencem ao grupo benzoila e o Zn^{2+} esteja ligado também de forma bidentada pelos grupos 4'-OH e 5'-OH que pertencem ao grupo cinamoila.

Foram calculados os valores de bandgap para a banda I (grupo cinamoila), λ_c e razão UVA/UVB das *amostras 1* e *2*. Os valores de E_g encontrados foram 2,40 e 2,33 eV. Estes valores (**Tabela 12**) são menores que o bandgap da quercetina (2,57 eV) indicando maior deslocamento da absorção do grupo cinamoila para maiores comprimentos de onda, ou seja, para região do visível.

Os valores de λ_c encontrados para as *amostras 1* e *2* foi de 392 e 391 nm, e as razões UVA/UVB calculadas apresentaram valores satisfatórios (classificação ultra), tornando-os candidatos em potencial para a aplicação em formulações de protetores solares.

Figura 37. Espectros eletrônicos UV-Vis da quercetina e das amostras 1e 2 (a) ERD (b) Espectro de absorção calculado através da relação de Kubelka-Munk.

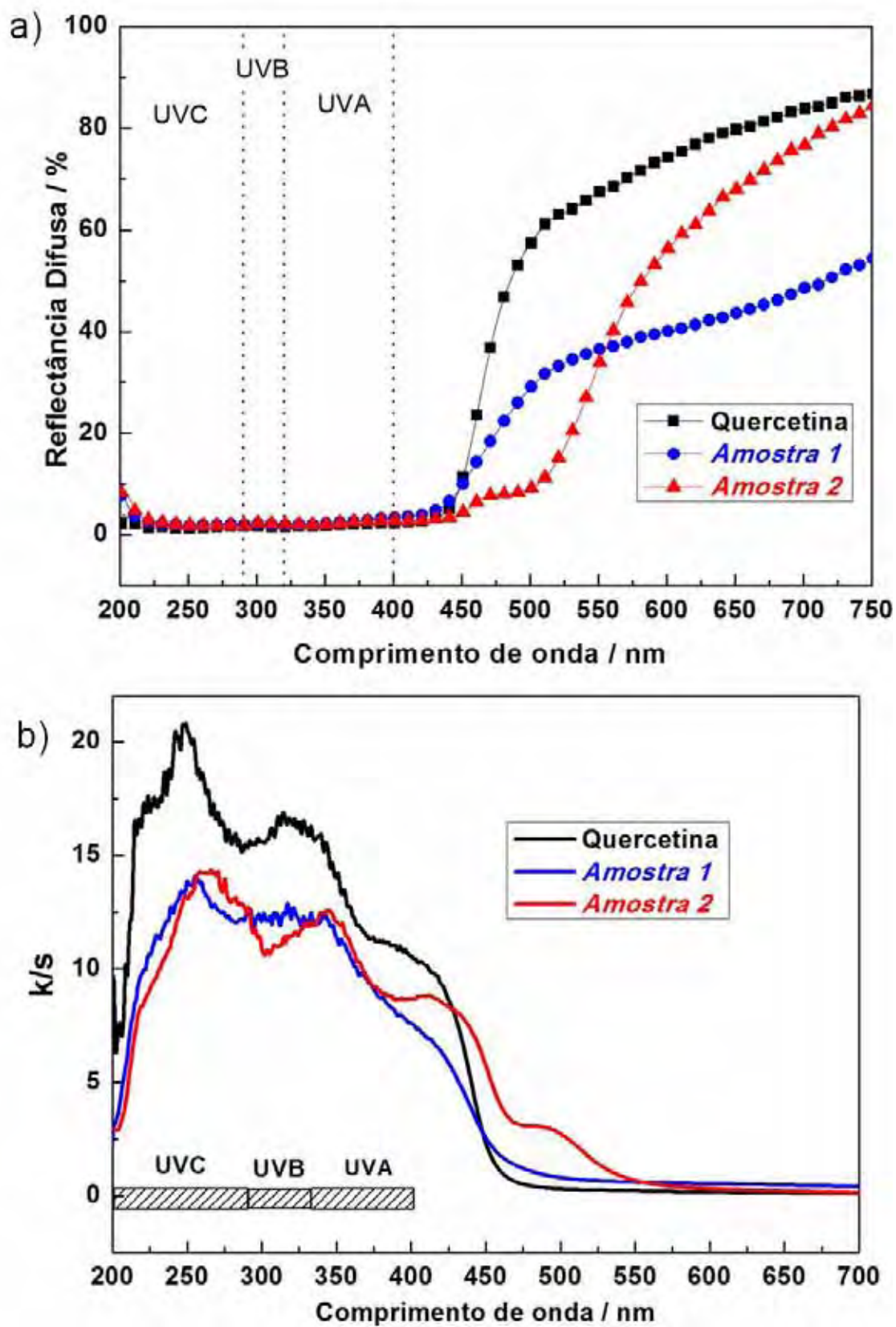


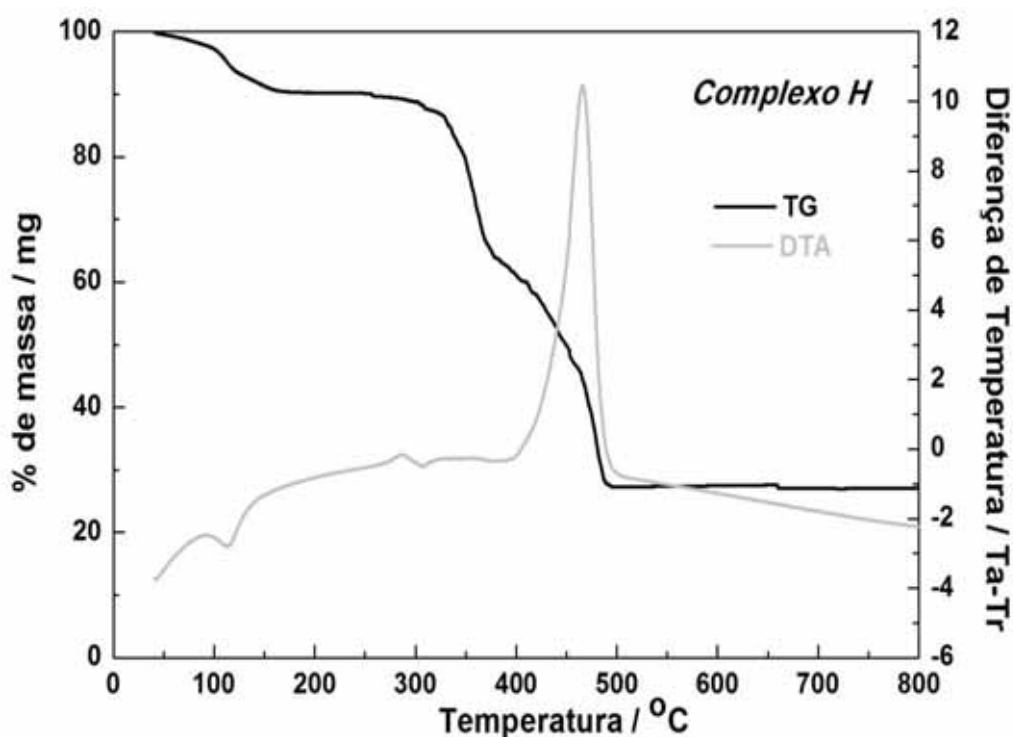
Tabela 12: Resultados de bandgap (E_g), comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB da quercetina e amostras 1, 2 e 3.

Amostra	E_g (eV)	λ_c (nm)	UVA	UVB	UVA/UVB	Classificação
Quercetina	2,57	391	0,981	0,984	0,996	Ultra
Amostra 1	2,40	392	0,975	0,980	0,995	Ultra
Amostra 2	2,33	391	0,976	0,978	1,000	Ultra

Diante desses resultados de FTIR, ERD e DRX, acredita-se que a *amostra 1* não é um complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} como se esperava inicialmente, mas trata-se provavelmente de um complexo de Ce^{3+} com quercetina, que apresenta excesso de ligante. Em contrapartida, a *amostra 2*, apresentou resultados que indicam interações distintas de todos os complexos obtidos até o presente momento com vários indícios de formação do complexo heterobimetálico. Assim, para obter maiores informações a respeito do complexo formado, tal amostra foi caracterizada por análise térmica, elemental, EFL e índice de cor. A partir do presente momento a *amostra 2* passará a ser denominada de *Complexo H* (complexo heterobimetálico).

Na **figura 38** estão representadas as curvas TG e DTA com temperatura máxima de para o *complexo H*.

Figura 38. Curvas TG e DTA do complexo heterobimetálico H.



Os dados obtidos indicam que a decomposição térmica do complexo apresentou 3 etapas principais de decomposição. A primeira etapa, com temperatura máxima de 160 °C pode ser atribuída a perda de 4 moléculas de água que podem estar coordenadas no complexo. A segunda etapa e terceira etapa com temperatura máxima total de 480 °C podem ser atribuídas à decomposição de 2 moléculas do ligante quercetina. Por fim, o resíduo final pode ser atribuído a uma mistura de óxidos metálicos ZnO e CeO₂, comprovada por DRX.

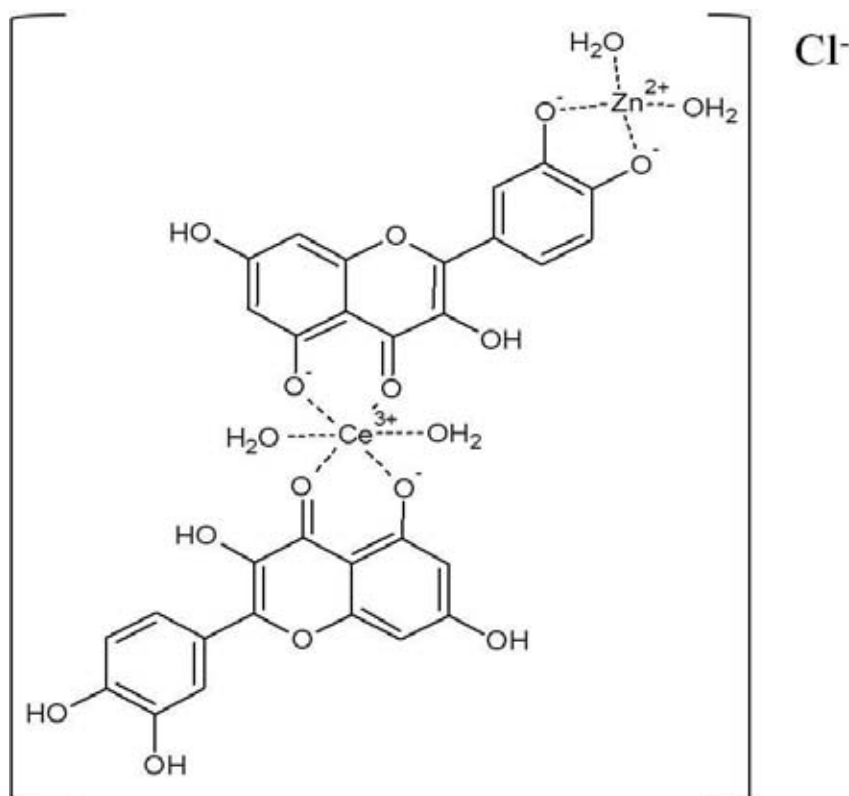
A **tabela 13** reúne os resultados da análise térmica: valores de temperatura máxima de decomposição das espécies presentes no complexo suas respectivas porcentagens de perda de massa calculadas a partir dos resultados experimentais ou da fórmula proposta, e análise elementar.

Vale destacar que a porcentagem de Zn²⁺ e de Ce³⁺ obtida experimentalmente (presente na **tabela 13**) foi determinada através da titulação complexométrica dos complexos com EDTA 0,01 mol/L realizada para cada um dos metais separadamente.

Tabela 13: Resultados de análise térmica e elementar do complexo H.

Complexo	Etapas	Perda de massa		Análise elementar		
		% Cal.	% Exp.		%Calc.	% Exp.
Complexo H	4 H ₂ O	7,75	9,00	C	41,04	40,65
	2 Quercetinas	65,03	63,50	H	2,76	3,02
				Ce³⁺	15,96	14,92
	1 CeO ₂ + 1ZnO	27,22	27,50	Zn²⁺	7,44	8,10

Os resultados de análise térmica e elementar indicam que o *complexo H* apresenta a fórmula mínima [CeZn(Q)₂(H₂O)₄]Cl. Na **figura 39**, podemos observar uma proposta de estrutura para tal complexo.

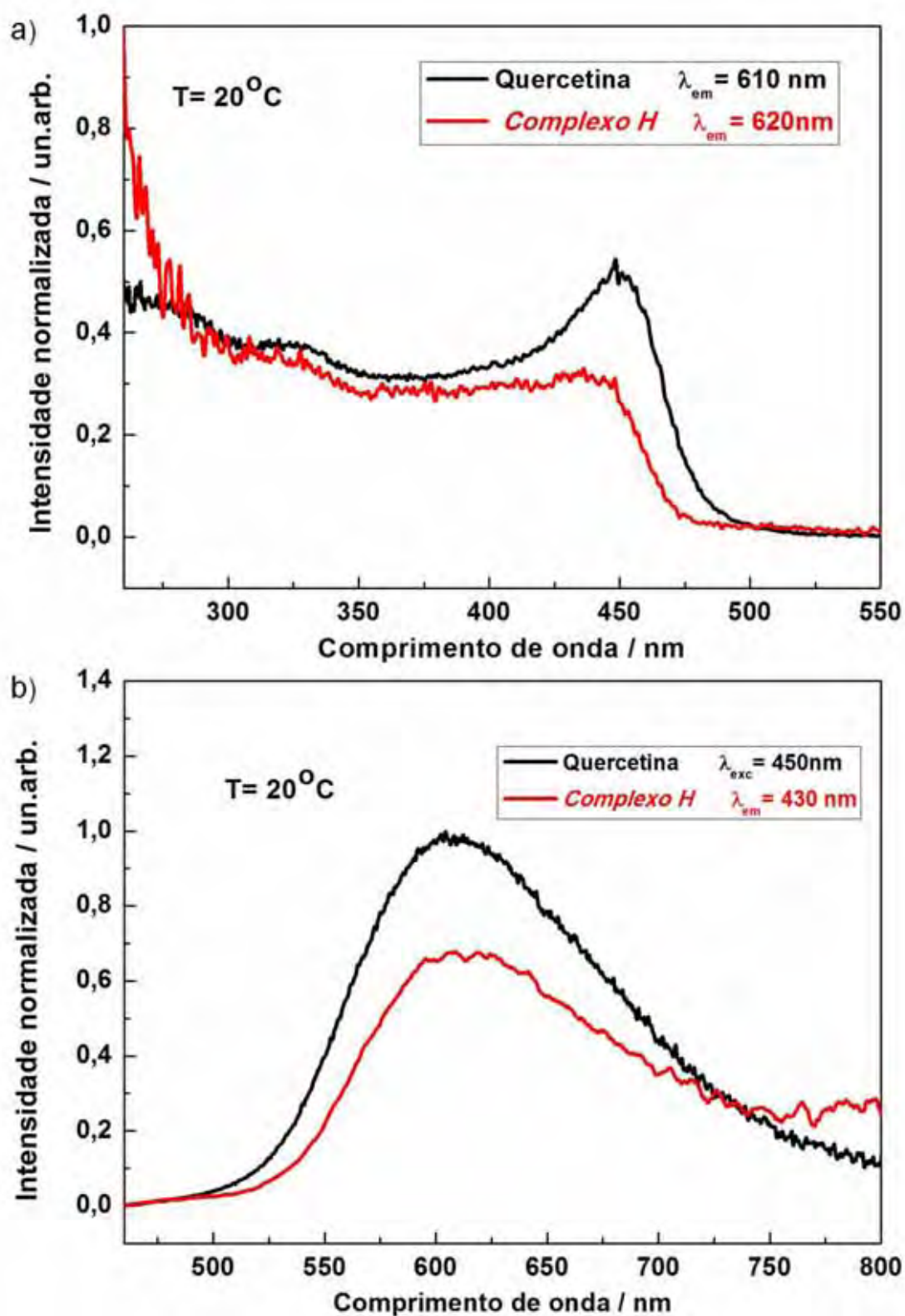
Figura 39. Proposta de estrutura para o complexo *H*.

Na **figura 40** encontra-se o espectro de excitação (**a**) e de emissão (**b**) da quercetina e do *complexo H*.

Comparando os espectros de emissão e de excitação da quercetina com o do *complexo H* (**figura 40**) é possível observar que a banda larga no espectro de excitação do *complexo H* encontra-se deslocada para λ menores. Já a banda larga no espectro de emissão também se encontra deslocada, neste caso para λ maior quando comparado à quercetina. Esse deslocamento corrobora com os resultados anteriores de que alguma interação está ocorrendo entre os centros metálicos e a quercetina. Além disso, no caso das amostras em questão, com as medidas realizadas não se observa nenhuma transição referente ao íon Ce^{3+} , da mesma forma que o complexo de Ce^{3+} obtido (*complexo 4*).

O valor calculado do deslocamento Stokes do *complexo H* foi $6,6 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$. Desta forma, tal complexo, assim como o *complexo 4* (complexo de Ce^{3+} com quercetina) apresenta deslocamento Stokes maior que o do ligante ($5,90 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$).

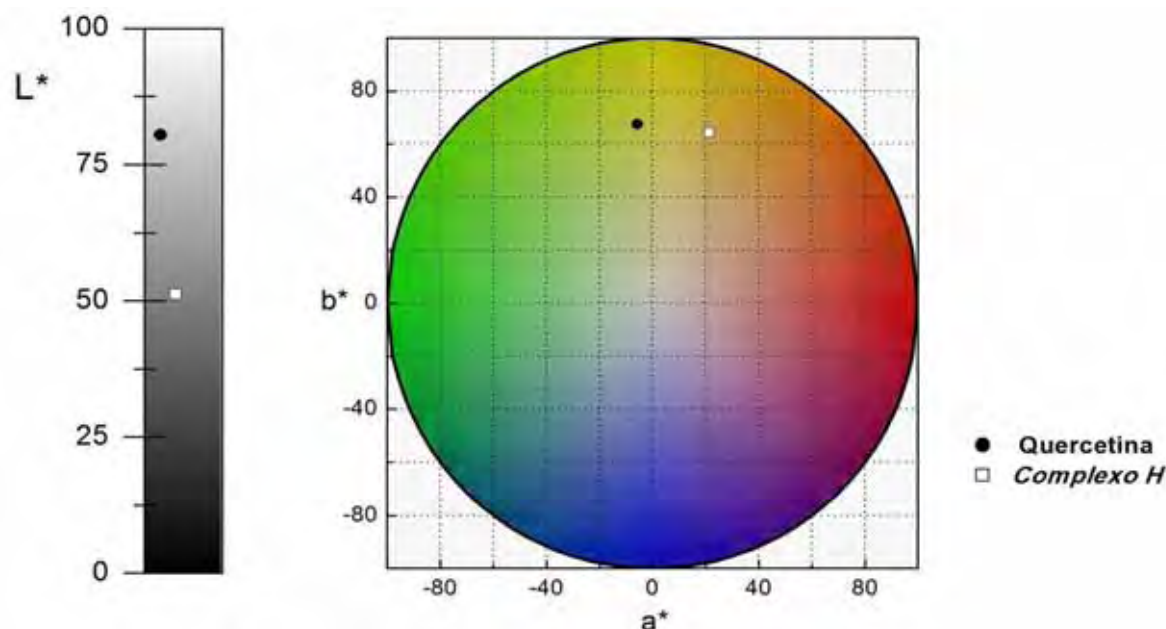
Figura 40. Espectros de luminescência da quercetina e do complexo heterobimetálico *H* na temperatura de 20 °C (a) excitação e (b) emissão.



Por fim, foram realizadas medidas de cor do *complexo 4*. Pelo diagrama de cores e escada de brilho (L^*) (figura 41), é possível observar que este apresenta coloração

alaranjada (parâmetros a^* e b^*) sendo mais intensa (parâmetro L^*) quando comparada com a quercetina. Tal resultado torna viável o seu uso como filtros solares em formulações de protetores solares, não comprometendo a estética do produto.

Figura 41. Índice de cor da quercetina e do complexo H.



4.4. Capacidade antioxidante

Para expressão dos resultados obtidos nos ensaios, foi calculado o IC_{50} , que é a quantidade de determinada amostra capaz de sequestrar metade dos radicais livres ou espécies reativas presentes na solução. Quanto menor o valor do IC_{50} apresentado, menor a quantidade da amostra necessária para reduzir em 50% a espécie reativa a ser inibida. Todas análises foram feitas em triplicata, e os resultados são médias das inibições.

Capacidade de captura sobre o $ABTS^{\bullet+}$

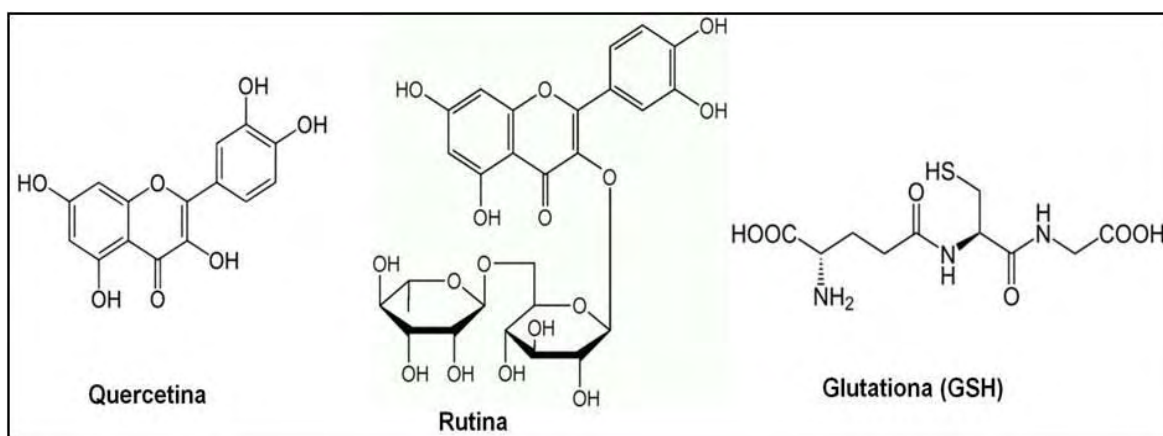
Nos estudos da interação de vários compostos com radicais livres, é comum utilizar radicais-modelos, não biológicos, para se avaliar o potencial desta interação. Destaca-se dentre esses radicais, o ABTS (**figura 11**)(PRABHU et al., 2011; RE et al., 1999).

Este método é um ensaio de descoloração, no qual depois da adição de um antioxidante, observa-se redução da absorbância em 734 nm, que por sua vez, é proporcional à concentração e atividade antioxidante (PELLEGRINI et al., 1999). É considerado um ensaio de triagem laboratorial com várias vantagens porque, além de ser

um ensaio simples, colorimétrico, não requer equipamentos analíticos sofisticados, e pode fornecer uma boa estimativa de atividade antioxidante de compostos puros ou de misturas complexas (KHALIL; PEPATO; BRUNETTI, 2008; PELLEGRINI et al., 1999).

A quercetina (**figura 42**), ligante utilizado neste trabalho, tem mostrado uma importante atividade antioxidante e efeitos benéficos contra danos oxidativos mediante os processos de lipoperoxidação. Assim como ela, o flavonóide glicosilado Rutina (**figura 42**), que difere da quercetina pela presença do açúcar na posição 3-OH, também vem apresentando relevante atividade antioxidante. Além desses compostos encontrados em vegetais, daremos destaque para a Glutathiona reduzida (GSH) (**figura 42**), um antioxidante muito importante em sistemas vivos, encontrado na maioria das células estando em sua maior quantidade no fígado.

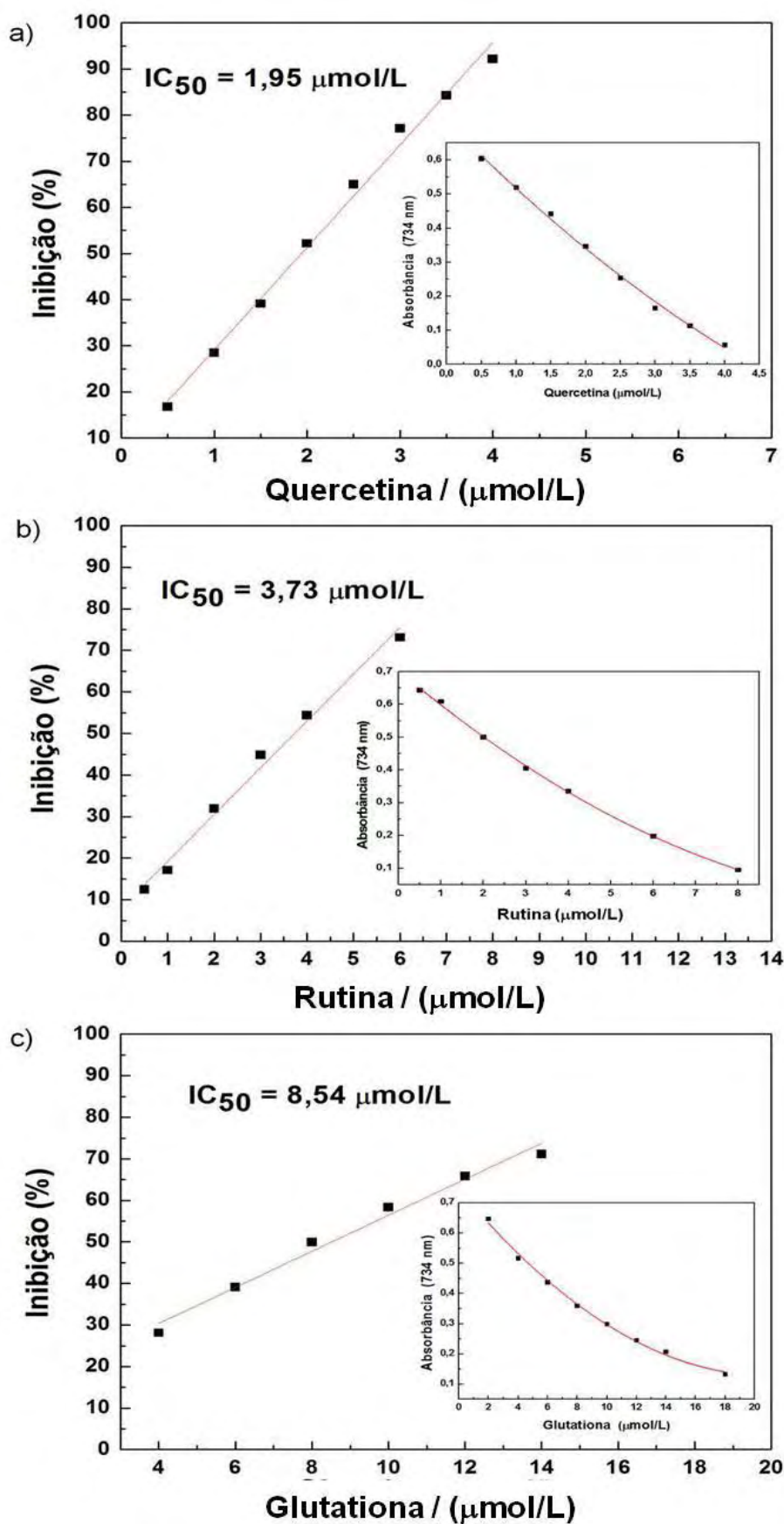
Figura 42. Estrutura da quercetina, rutina e glutathiona reduzida (GSH).



Assim, dentro desse contexto, elegeu-se a quercetina, rutina e glutathiona como “padrões” para validar os ensaios. As amostras testadas foram os *complexos 1* e *2* (complexos de Zn^{2+} com quercetina), *complexo 4* (complexo de Ce^{3+} com quercetina) e o *complexo H* (complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina).

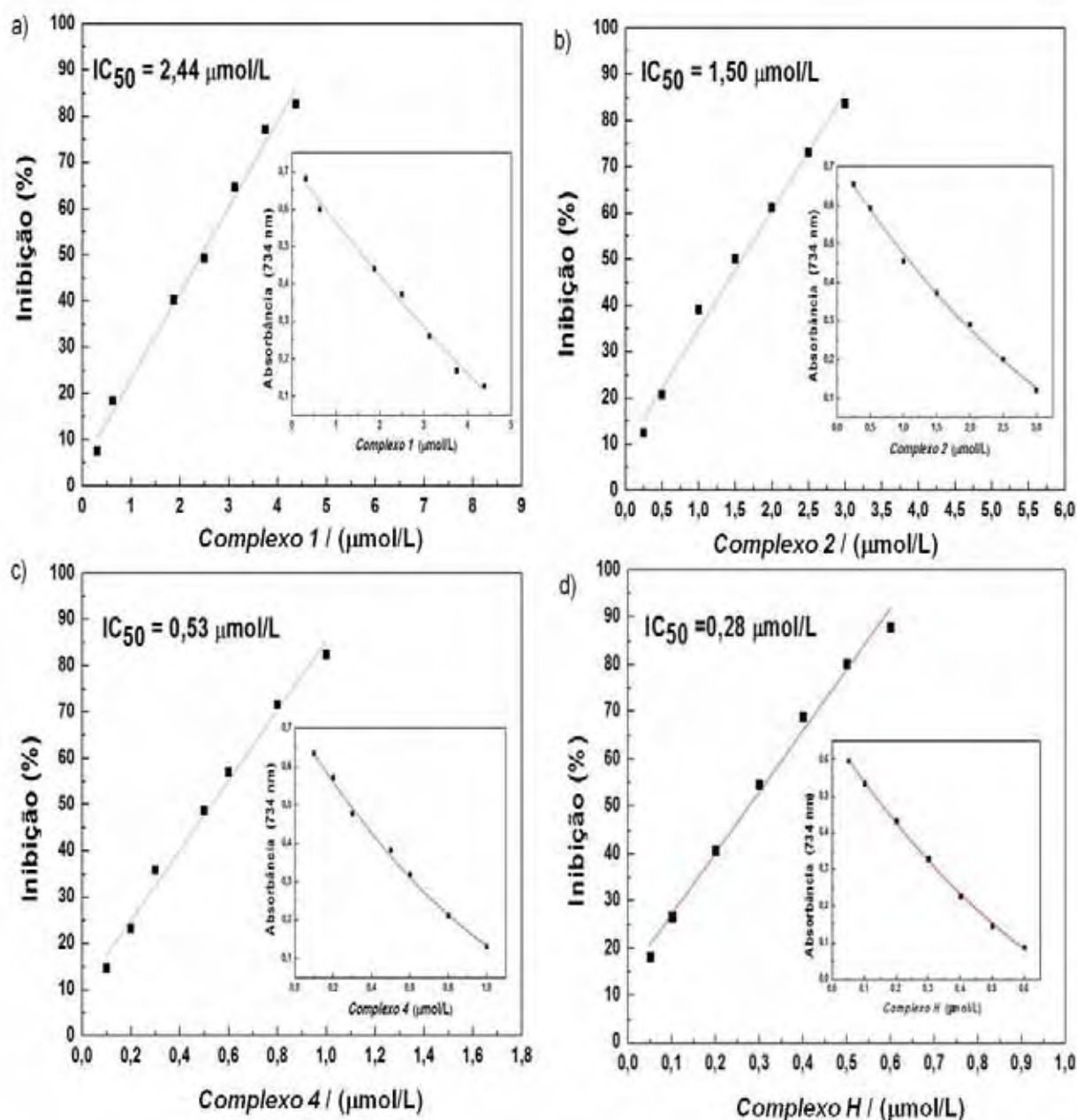
Na **figura 43** são apresentados os valores de IC_{50} dos “padrões” quercetina, rutina e glutathiona frente o radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$.

Figura 43. Inibição (captura) do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ pelos padrões (a) quercetina, (b) rutina e (c) glutatona, em tampão fosfato de sódio 10 mmol/L, pH 7,4; $\lambda = 734 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorvâncias do $\text{ABTS}^{\bullet+}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.



Na **figura 44** estão apresentados os valores de IC_{50} frente ao $ABTS^{\bullet+}$ determinados para os complexos obtidos neste trabalho.

Figura 44. Inibição (captura) do $ABTS^{\bullet+}$ pelo (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 4 e (d) complexo H, em tampão fosfato de sódio 10 mmol/L, pH 7,4; $\lambda = 734$ nm. A figura inserida apresenta a média das absorvâncias do $ABTS^{\bullet+}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos complexos.



Na **tabela 14** são apresentados os valores em $\mu\text{mol/L}$ do IC_{50} das amostras em ordem crescente, o que representa uma ordem decrescente na eficiência da captura do radical $ABTS^{\bullet+}$.

Tabela 14: Capacidade de captura do ABTS^{•+}, expressa em porcentagem de inibição (IC₅₀).

AMOSTRA	IC ₅₀ ± EPM*/(μmol/L)
<i>Complexo H</i>	0,28 ± 0,01
<i>Complexo 4</i>	0,53 ± 0,01
<i>Complexo 2</i>	1,50 ± 0,02
Quercetina	1,95 ± 0,03
<i>Complexo 1</i>	2,44 ± 0,05
Rutina	3,73 ± 0,04
Glutaciona	8,54 ± 0,09

*EPM (Erro Padrão da Média)

Através das **figuras 43 e 44** é possível observar a seguinte ordem crescente do IC₅₀: *complexo H* < *complexo 4* < *complexo 2* < quercetina < *complexo 1* < rutina < glutaciona, o que representa uma ordem decrescente na eficiência para a captura do ABTS^{•+}.

De acordo com os resultados obtidos observa-se primeiramente que os “padrões” quercetina e rutina e os complexos testados apresentam valores de IC₅₀ entre 1 a 4 μmol/L. Já a glutaciona apresentou valor maior, portanto menos eficiente frente ao radical testado. De forma geral, todas as amostras testadas mostram-se eficientes na captura do radical testado. Além disso, os *complexos H*, *4* e *2* apresentaram-se mais eficientes que o ligante quercetina, indicando que a complexação com estes metais potencializa sua propriedade antioxidante frente ao radical ABTS^{•+}, especialmente quando há Ce³⁺ ligado a quercetina (*complexo H* e *complexo 4*). Diferente dos demais, o *complexo 1* e a rutina, apesar de apresentarem atividade antioxidante relevante, apresentam valores de IC₅₀ maiores que os demais complexos e quercetina, isso se deve a possíveis problemas de solubilidade dessas amostras frente ao solvente utilizado (dmso). Também há que se considerar que os grupos 3', 4' e 7 estão provavelmente mais envolvidos em ligação hidrogênio, o que pode impedir a interação efetiva desses grupos com o radical.

Foram encontrados alguns trabalhos na literatura que relatam o potencial antioxidante do ligante quercetina em relação ao radical testado.

Nunes e seus colaboradores (2012) avaliaram a atividade antioxidante de alguns compostos isolados da planta *C. lineatifolia*, dentre eles a quercetina e obteve como valor de IC₅₀ 4,18 ± 0,35 μmol/L. Já Orlandi et al. (2012), com o objetivo de avaliaram o

potencial antioxidante da curcumina em sistemas-modelo *in vitro*, utilizaram como padrão a quercetina e encontraram o valor de $3,27 \pm 0,05 \mu\text{mol/L}$.

Dehgham e Khoshkam (2012) sintetizaram um complexo de estanho com quercetina e verificaram a atividade antioxidante deste complexo e do seu ligante frente aos radicais $\text{ABTS}^{\bullet+}$ e $\text{DPPH}^{\bullet}$. Os resultados frente ao radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ mostraram que a presença do metal diminuiu a atividade antioxidante da quercetina.

Não há relatos da obtenção e nem da atividade antioxidante dos complexos obtidos frente ao radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, visto que os complexos são inéditos.

Capacidade de captura sobre o $\text{DPPH}^{\bullet}$

O $\text{DPPH}^{\bullet}$ é um radical modelo, não biológico, bastante estável e sua captura foi monitorada observando-se o decréscimo da absorbância em 517nm. As **figuras 45 e 46** apresentam as curvas resultantes destas medidas.

Na **tabela 15** são apresentados os valores em $\mu\text{mol/L}$ do IC_{50} das amostras em ordem crescente, o que representa uma ordem decrescente na eficiência da captura do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$.

Os valores de IC_{50} dos “padrões” e dos complexos para a captura do $\text{DPPH}^{\bullet}$ indicam a seguinte ordem crescente de IC_{50} : *complexo H < complexo 4 < quercetina < complexo 2 < complexo 1 < rutina < glutathione*, o que representa uma ordem decrescente na eficiência para a captura do $\text{DPPH}^{\bullet}$.

Figura 45. Inibição (captura) do DPPH[•] pelos padrões (a) quercetina, (b) rutina, e (c) glutathiona, em $\lambda = 517$ nm. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do DPPH[•] na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.

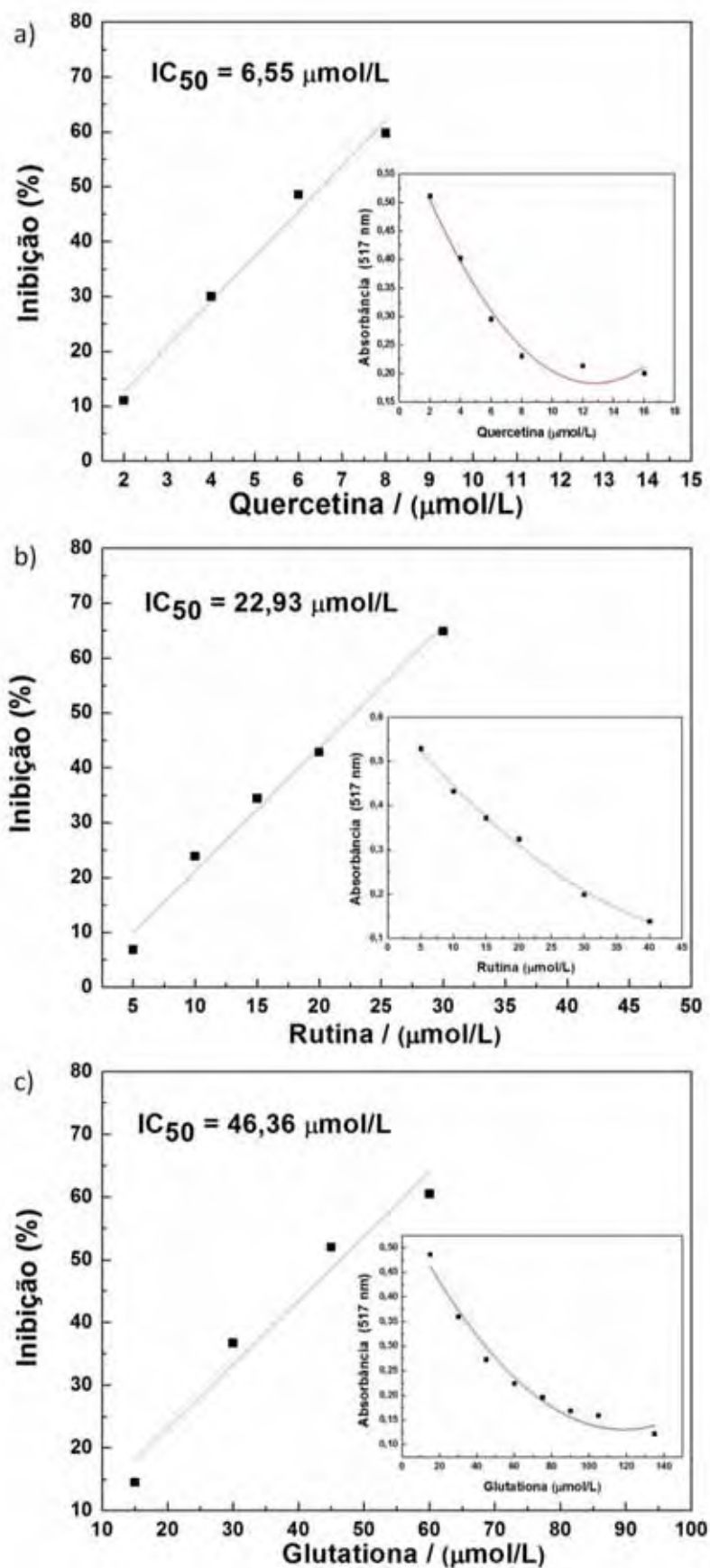


Figura 46. Inibição (captura) do DPPH[•] pelo (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 4 e (d) complexo H, em $\lambda = 517$ nm. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do DPPH[•] na presença de diferentes concentrações dos respectivos complexos.

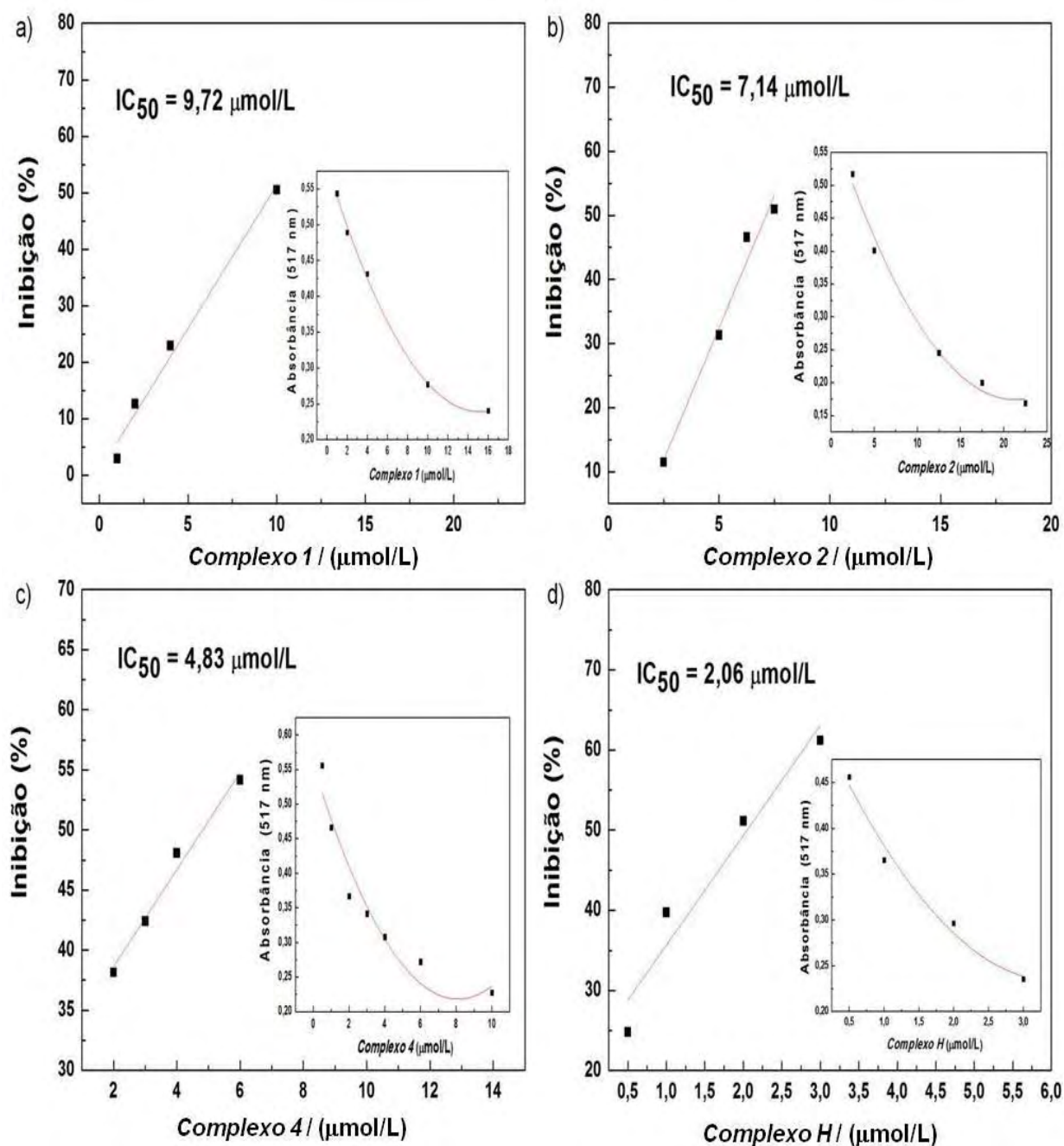


Tabela 15: Capacidade de captura do DPPH[•], expressa em porcentagem de inibição (IC₅₀).

AMOSTRA	IC ₅₀ ± EPM*/(μmol/L)
<i>Complexo H</i>	2,06 ± 0,20
<i>Complexo 4</i>	4,83 ± 0,35
Quercetina	6,55 ± 0,12
<i>Complexo 2</i>	7,14 ± 0,28
<i>Complexo 1</i>	9,72 ± 0,45
Rutina	22,93 ± 1,14
Glutaciona	46,36 ± 3,25

*EPM (Erro Padrão da Média)

Através dos resultados é possível observar que o complexo heterobimetálico (*complexo H*) mais uma vez apresenta o melhor desempenho, seguido do complexo de cério (*complexo 4*). Já os complexos de Zn²⁺, apesar de apresentarem atividade antioxidante relevante frente ao radical DPPH[•], apresentam atividade antioxidante inferior ao ligante quercetina. Os demais padrões não foram tão eficientes quanto às amostras relatadas. Esse resultado mostra que a atividade de um antioxidante além de depender da sua estrutura dependerá do radical a ser inibido.

Como os compostos obtidos no trabalho são inéditos, a pesquisa na literatura resultou em alguns trabalhos envolvendo quercetina e outros complexos metálicos com DPPH[•] a seguir comentados.

A fim de avaliar a atividade antioxidante de flavonoides, Masuoka et al. (2012) pelo método do DPPH[•] obtiveram para quercetina o IC₅₀ no valor de 9,53 ± 0,36 μmol/L, valor este próximo ao encontrado neste trabalho (6,55 ± 0,12 μmol/L).

Aguiar et. al. (2009) estudaram a relação estrutura atividade antioxidante da quercetina e dos seus derivados glicosilados. Eles encontraram o valor de IC₅₀ para quercetina que foi de 22,22 μmol/L. Além disso, eles concluíram que a ação antioxidante dos flavonóides depende da estabilidade do radical flavonoil formado, dado a sua habilidade em deslocalizar o elétron desemparelhado. Para eles, os fatores que auxiliam na estabilização do radical flavonoil da quercetina são a presença de hidroxilas *orto* no anel B, insaturação e hidroxila na posição 3 do anel C. A presença de grupos glicosídeos

interferem na planaridade do radical e deslocalização do elétron, o que diminui a possibilidade de transferência de elétrons para o radical DPPH[•].

Vale destacar aqui que os complexos com cério (*complexo 4* e *complexo H*) deixam livre o grupo 3-OH do anel C para a atuação como antioxidante, o que pode justificar os melhores resultados de atividade antioxidante destes frente as demais amostras.

Bukhari et al. (2009) sintetizaram, caracterizaram e investigaram a atividade antioxidante de complexos de cobre com quercetina frente ao radical em questão. Segundo este trabalho, a capacidade do flavonoide de agir como antioxidante depende da sua estrutura molecular. A maior atividade antioxidante da quercetina pode ser atribuída à contribuição altamente significativa dos grupos 3'-OH e 4'-OH do anel B. Além disso, eles verificaram que a atividade antioxidante do complexo Cu-quercetina (Cu ligado aos grupos 3'-OH e 4'-OH, e 4-oxo e 3-OH) frente ao radical DPPH[•] era maior do que a quercetina livre.

Dehghan e Khoshkam (2012) sintetizaram um complexo de estanho com quercetina e verificaram que a atividade antioxidante deste complexo frente ao radical DPPH[•] foi menor que a atividade da quercetina pura.

Capacidade de captura sobre o Ânion Radical Superóxido (O₂^{•-})

O O₂^{•-} é formado após a redução monoeletrônica do oxigênio à água, a partir do qual poderá ocorrer a formação das demais ERO. Ocorre em quase todas as células aeróbicas e é uma ERO produzida constantemente no organismo humano em processos fisiológicos. Em diversas etapas da via mitocondrial de redução do oxigênio à água, observa-se a produção de radicais livres altamente reativos, sendo que tais espécies podem danificar células e tecidos. O radical ânion superóxido é um exemplo representativo, pois é altamente reativo e sua formação também leva à produção do HO[•], que é ainda mais reativo. Estas ERO podem provocar sérios danos, reagindo com proteínas, lipídeos de membranas e ácidos nucleicos (NELSON; COX, 2011).

Neste ensaio, o ânion superóxido gerado pela reação entre PMS e NADH, reage com NBT para formar uma formazana. Os complexos foram testados em concentrações crescentes e foram utilizados como “padrões” a quercetina, rutina e glutathione. Todas as amostras foram solubilizadas em dimetilformamida visto que se verificou experimentalmente que o solvente dmso utilizado nos demais testes apresentou-se como um interferente, reagindo com os componentes geradores do ânion superóxido.

As **figuras 47 e 48** apresentam os valores de IC_{50} dos “padrões” e dos complexos para a captura do $O_2^{\bullet-}$. Note que tanto os complexos quanto os padrões atingiram o IC_{50} para este radical.

Figura 47. Inibição (captura) do $O_2^{\bullet-}$ pelos padrões (a) quercetina, (b) rutina, e (c) glutathiona, em tampão pirofosfato de sódio 25 mmol/L, pH 8,3, $\lambda = 560$ nm. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do $O_2^{\bullet-}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.

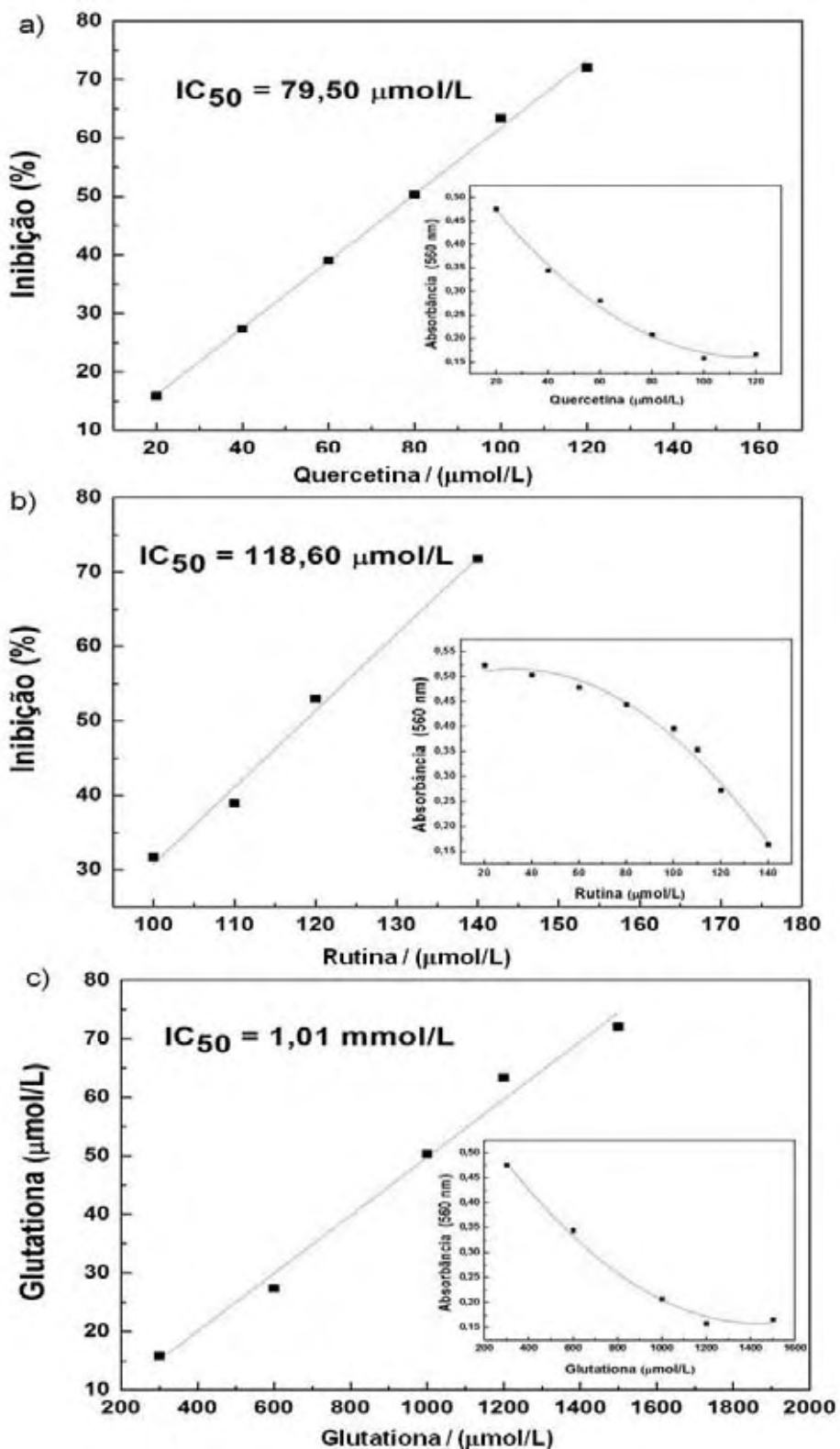
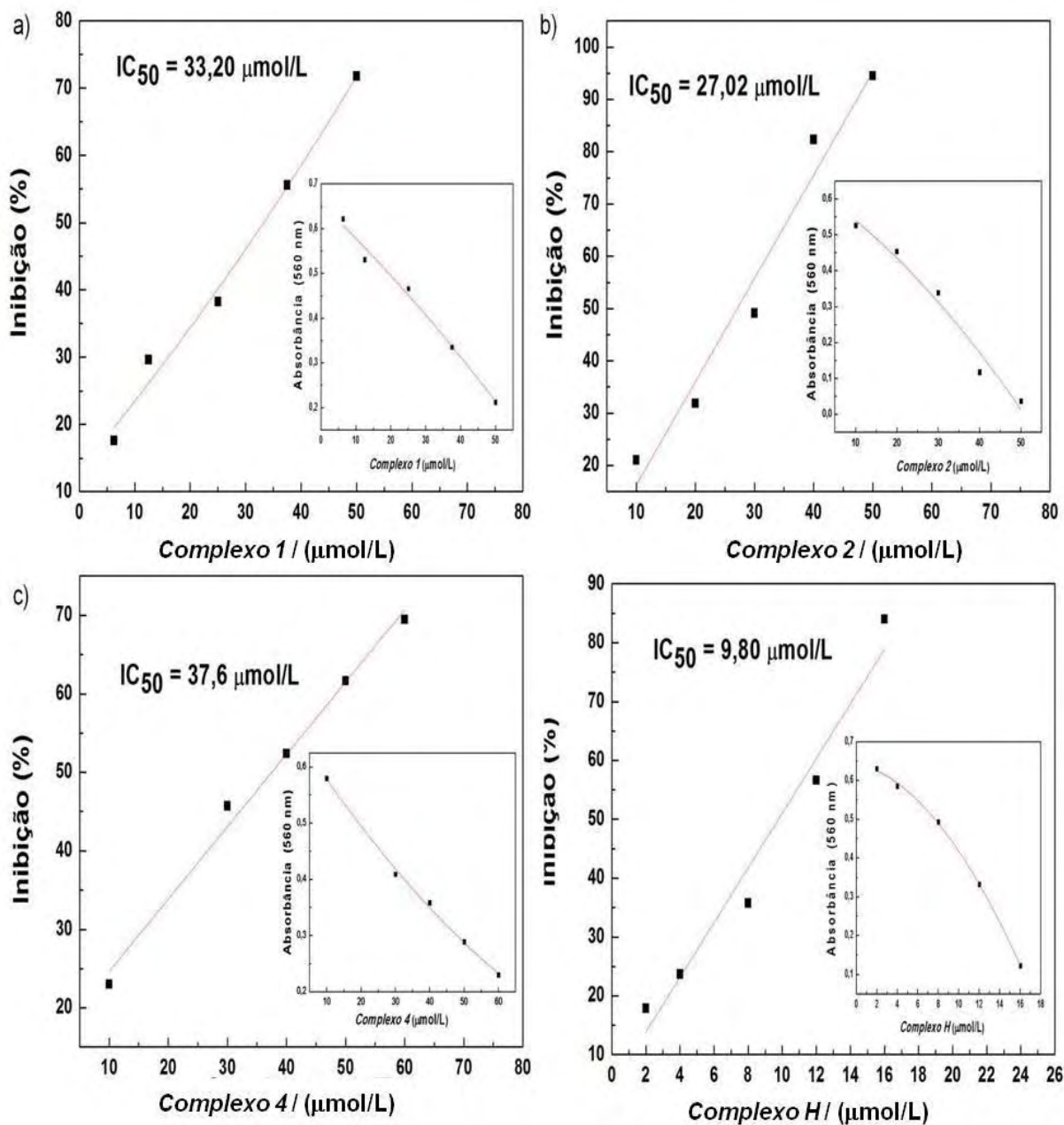


Figura 48. Inibição (captura) do $O_2^{\bullet-}$ pelo (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 4 e (d) complexo H em tampão pirofosfato de sódio 25 mmol/L, pH 8,3, $\lambda = 560$ nm. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do $O_2^{\bullet-}$ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.



É possível observar a seguinte ordem crescente de IC_{50} : *complexo H* < *complexo 2* < *complexo 1* < *complexo 4* < *quercetina* < *rutina* < *glutathiona*, o que representa uma ordem decrescente na eficiência para a captura deste radical.

Na **tabela 16** são apresentados os valores em $\mu\text{mol/L}$ do IC_{50} das amostras em ordem crescente, o que representa uma ordem decrescente na eficiência da captura do radical $ABTS^{\bullet+}$.

Tabela 16: Capacidade de captura do ânion superóxido expressa em porcentagem de inibição (IC_{50}).

AMOSTRA	$IC_{50} \pm EPM^*/(\mu\text{mol/L})$
<i>Complexo H</i>	$9,80 \pm 0,56$
<i>Complexo 2</i>	$27,02 \pm 0,32$
<i>Complexo 1</i>	$33,2 \pm 0,75$
<i>Complexo 4</i>	$37,6 \pm 0,55$
Quercetina	$79,50 \pm 1,12$
Rutina	$118,60 \pm 2,34$
Glutationa	$1010,02 \pm 11,25$

*EPM (Erro Padrão da Média)

Através dos resultados é possível observar que o complexo heterobimetálico (*complexo H*) mais uma vez apresenta o melhor desempenho, seguido dos complexos de zinco (*complexo 2 e complexo 1*) e do complexo de cério (*complexo 4*). De forma geral os complexos apresentaram valores no mínimo duas vezes menores que o ligante quercetina. Os demais padrões não foram tão eficientes quanto às amostras relatadas anteriormente. Mais uma vez, os resultados mostram que a atividade de um antioxidante além de depender da sua estrutura dependerá do tipo de interação com o radical a ser inibido.

Vale comentar que o *complexo 4* pode ter tido comportamento diferente com o radical superóxido porque o superóxido pode estar oxidando o Ce^{3+} a Ce^{4+} e os compostos de decomposição apresentarem comportamento diferente. No caso do complexo heterobimetálico, o zinco como redutor pode estar protegendo essa oxidação.

Masuoka et al. (2012), a fim de avaliar a atividade antioxidante de flavonoides, pelo método do ânion superóxido obtido pela reação do PMS com NADH, obtiveram para quercetina o IC_{50} no valor de $60,0 \pm 5,0 \mu\text{mol/L}$, valor este próximo ao encontrado neste trabalho ($79,5 \pm 1,12 \mu\text{mol/L}$).

Não foram encontrados trabalhos envolvendo a investigação da atividade antioxidante frente ao radical superóxido de complexos metálicos de quercetina.

Capacidade de captura sobre o HOCl / OCl⁻

O HOCl é formado pela ação da mieloperoxidase (MPO) sobre o H_2O_2 e Cl^- . A MPO é uma enzima armazenada nos grânulos azurófilos de leucócitos polimorfonucleares, a qual utiliza o H_2O_2 , para oxidar o íon cloreto (Cl^-), e gerar o HOCl, um potente oxidante

e agente bactericida (WINTERBOURN et al., 2000). A produção de HOCl por este sistema constitui um importante mecanismo de defesa contra micro-organismos, entretanto, sua produção excessiva pode levar a danos nos tecidos, contribuindo para o desenvolvimento de doenças.

Na **figura 49** observa-se que a os “padrões” atingiram o IC_{50} para o HOCl/OCl⁻, cujos valores apresentaram-se entre 1,23 a 5,03 $\mu\text{mol/L}$.

Figura 49. Inibição (captura) do HOCl /OCl⁻ pelos padrões (a) quercetina, (b) rutina, e (c) glutathiona, em tampão fosfato de sódio 50 mmol/L, pH 7,4; $\lambda = 655 \text{ nm}$. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do HOCl /OCl⁻ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.

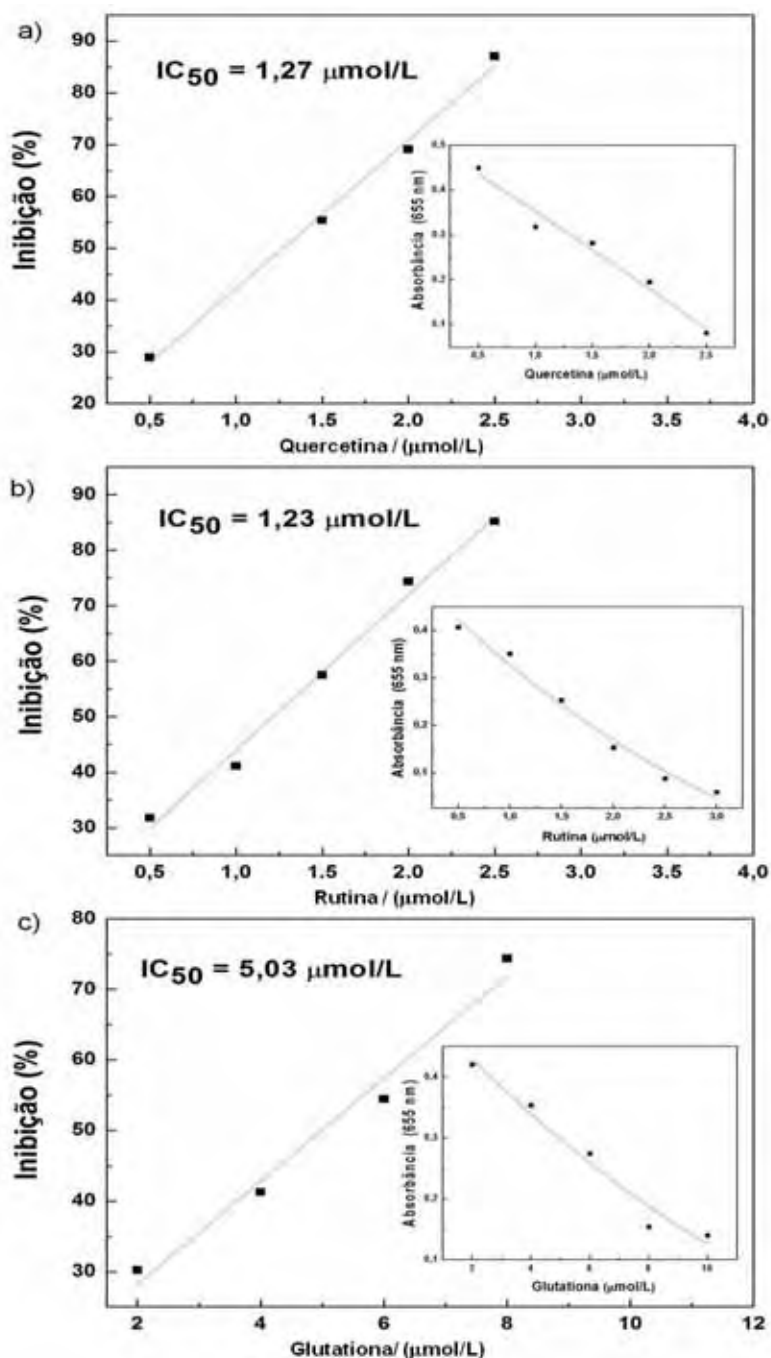
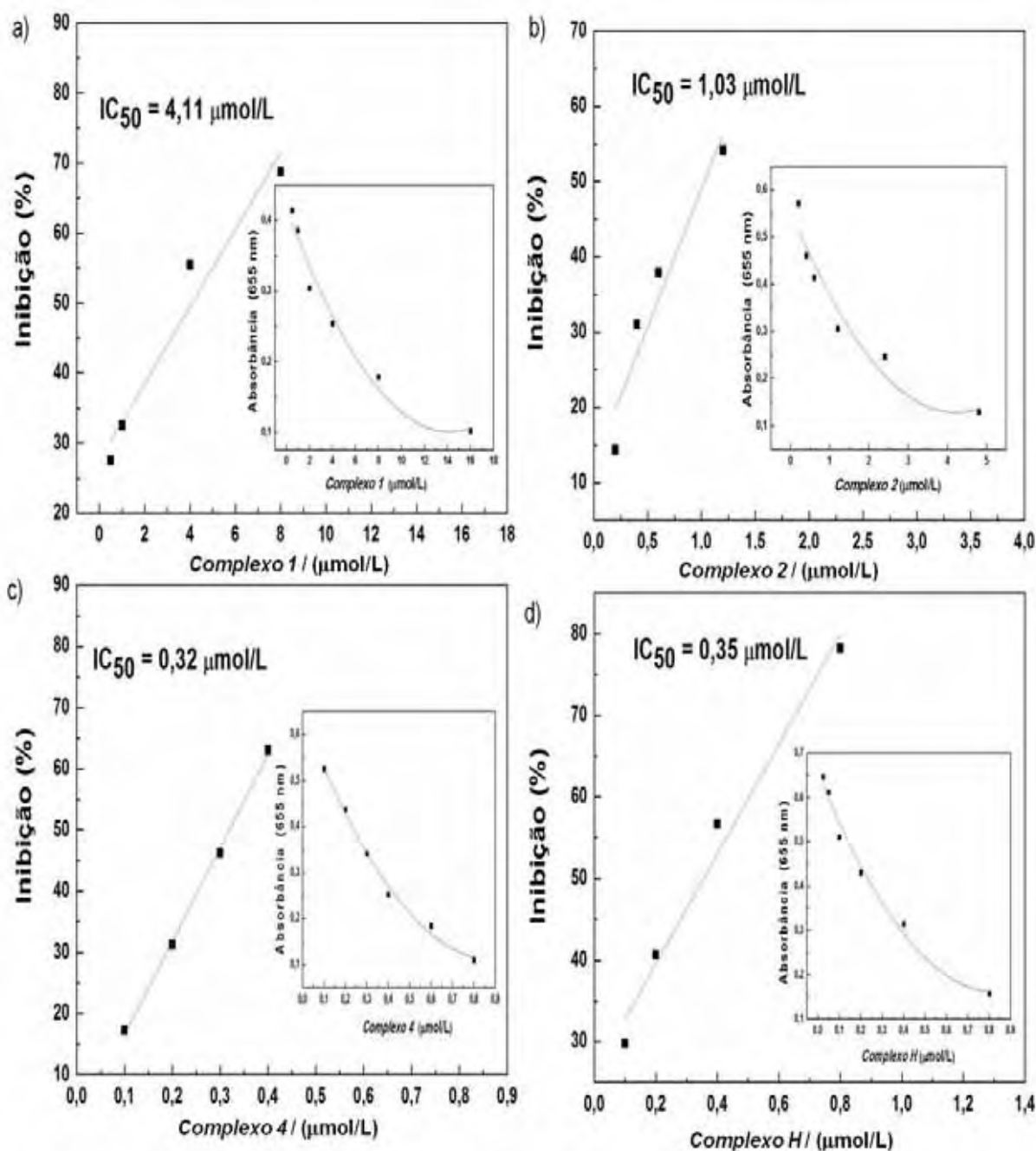


Figura 50. Inibição (captura) do HOCl /OCl⁻ pelo (a) complexo 1, (b) complexo 2, (c) complexo 4, e (d) complexo H, em tampão fosfato de sódio 50 mmol/L, pH 7,4; $\lambda = 655$ nm. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do HOCl /OCl⁻ na presença de diferentes concentrações dos respectivos padrões.



Na **tabela 17**, são apresentados os valores em $\mu\text{mol/L}$ do IC_{50} das amostras para o HOCl/OCl⁻.

Tabela 17: Capacidade de captura do HOCl/OCl⁻, expressa como a porcentagem de inibição (IC₅₀) da oxidação do TMB.

AMOSTRA	IC ₅₀ ± EPM*/(μmol/L)
Complexo 4	0,32 ± 0,02
Complexo H	0,35 ± 0,01
Complexo 2	1,03 ± 0,09
Rutina	1,23 ± 0,03
Quercetina	1,27 ± 0,01
Complexo 1	4,11 ± 0,13
Glutaciona	5,03 ± 0,21

*EPM (Erro Padrão da Média)

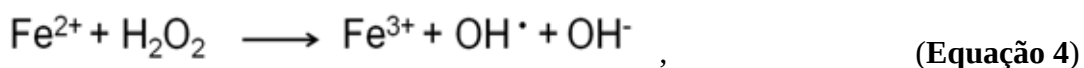
De uma forma geral, os complexos apresentam resultados melhores que a quercetina, com exceção do *complexo 1*. Mais uma vez os *complexos 4* e *H* que contém em sua estrutura o íon Ce³⁺ foram os complexos com os menores valores de IC₅₀, indicando que a presença desse íon que se coordena de forma diferente interfere de maneira positiva na atividade antioxidante do ligante quercetina.

Não há relatos na literatura que trazem informação a respeito da atividade antioxidante de complexos metálicos com quercetina frente ao ácido hipocloroso utilizando o método testado nesse trabalho.

Capacidade de captura sobre o H₂O₂

O H₂O₂ é o segundo intermediário do processo de redução monoeletrônica do O₂; não é um radical livre por definição, porém exerce um papel importante no estresse oxidativo por ser capaz de permear membranas celulares facilmente, gerando o radical hidroxila (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

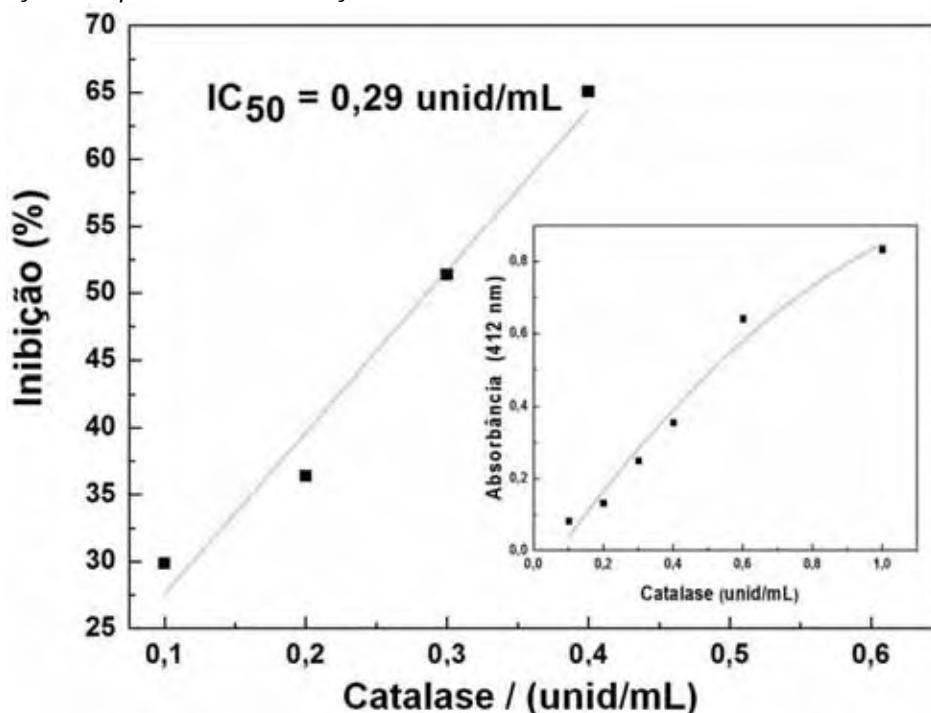
O peróxido de hidrogênio é gerado *in vivo* pela dismutação do radical ânion superóxido (O₂^{•-}) ou é produzido por enzimas oxidases e pela oxidação de ácidos graxos. O efeito deletério do H₂O₂ vem de sua fácil conversão para o radical hidroxila, por exposição à luz ultravioleta ou por interação com metais de transição como o ferro, através da reação abaixo, conhecida como reação de Fenton (ALVES et. al, 2010).



A capacidade de captura foi determinada segundo Ching et al. (1994) pelo ensaio com o TNB. Antes de utilizar as amostras (complexos e padrões), foi utilizada a catalase para validar o método, pois a catalase é reconhecidamente eficaz na conversão do H_2O_2 em água e oxigênio (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2010).

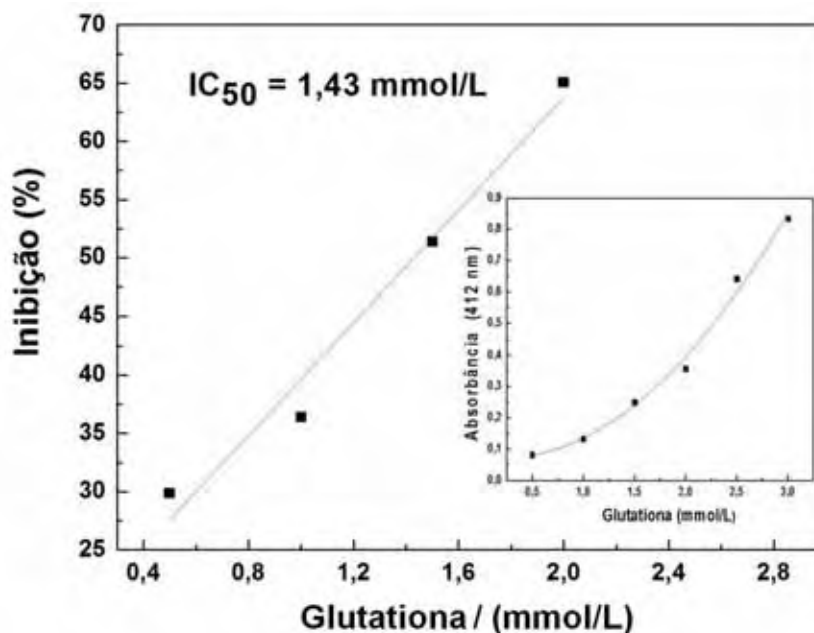
Com a concentração da catalase comercial expressa em unid/mg de sólidos (2950 unidades/mg de sólidos), preparou-se uma solução de 20 unidades/mL para a realização do ensaio. Assumindo que a massa de sólido pesada estivesse pura, ou seja, somente catalase e ainda considerando a sua massa molecular de 240.000 Da (BUDAVARI et al., 2006), pode-se converter o valor obtido do IC_{50} de 0,29 unid/mL (**figura 51**) para 0,983 ng/mL ou 40,9 nmol/L.

Figura 51. Inibição (captura) do H_2O_2 pela catalase; em tampão fosfato de potássio 50 mmol/L, H_2O_2 0,3 mM, pH 6,6; $\lambda = 412$ nm. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do TNB na presença de diferentes concentrações da catalase.



Nesse ensaio, a maioria das amostras não atingiu o IC_{50} nas concentrações utilizadas, apenas o padrão Glutathione conseguiu atingi-lo (**figura 52**).

Figura 52. Inibição (captura) do H_2O_2 pela glutatona; em tampão fosfato de potássio 50 mmol/L, H_2O_2 0,3 mM, pH 6,6; $\lambda = 412$ nm. A figura inserida apresenta a média das absorbâncias do TNB na presença de diferentes concentrações da catalase.



A quercetina e seus complexos foram testados até a concentração de 0,1 mmol/L dissolvidos em dmso e rutina foi testada até a concentração de 1 mmol/L, ambos dissolvidos em dmso, no entanto acima dessas concentrações a absorbância impossibilitou a realização do ensaio, pois ambos absorvem com eficiência (tem um coeficiente de extinção molar muito alto) em λ próximo a 412 nm.

Orlandi et al. (2012), também utilizaram o método do H_2O_2 para avaliar o potencial antioxidante da curcumina em sistemas-modelo *in vitro*. Usaram como padrão a quercetina e também verificaram que a absorbância elevada na região de 412 nm impossibilitou determinar o valor de IC_{50} para este composto.

Não foram encontrados na literatura, trabalhos que investiguem a atividade antioxidante de complexos metálicos com quercetina obtidos frente ao H_2O_2 .

4.5. Formulação de protetores solares

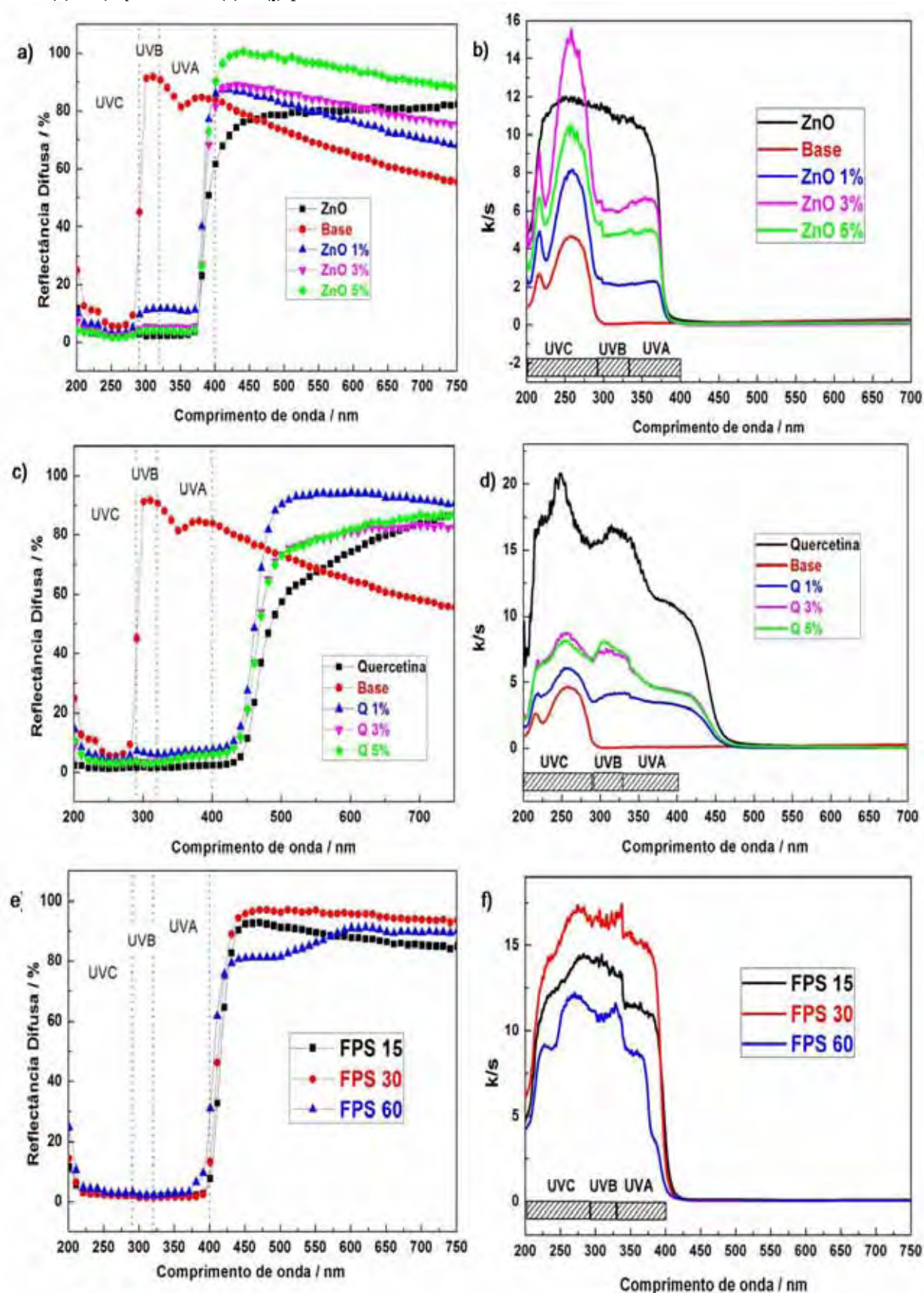
Foram preparadas uma formulação base (sem filtro) e protetores contendo isoladamente ZnO, quercetina, *complexo 1*, *complexo 2*, *complexo 4* e *complexo H* como filtros nas porcentagens de 1, 3 e 5 % a fim de verificar a quantidade mínima de cada um dos complexos capaz de se obter a proteção de todo o UVA e UVB. Para comparar a eficiência dos complexos de Zn^{2+} (*Complexo 1* e *2*), do complexo de Ce^{3+} (*Complexo 4*) e

do complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} (*Complexo H*) como filtros solares em formulações de protetores, formulações comerciais com FPS 15, 30 e 60 também foram caracterizadas por ERD e medidas reológicas.

Os espectros ERD e de absorção no UV-VIS obtidos através da relação de Kubelka-Munk (LOYALKA, RIGGS, 1995) para as formulações preparadas com ZnO, Quercetina (Q) e os protetores solares comerciais (FPS 15,30 e 60) encontram-se na **figura 53**.

É possível observar primeiramente que as formulações que contém ZnO como filtro solar [**figura 53 (a) e (b)**] apresentam absorção da radiação UV a partir de 375 nm, comportamento este semelhante ao filtro ZnO isolado, demonstrando assim que estas formulações são eficientes na absorção da radiação UVB e de parte da radiação UVA. As formulações contendo quercetina como filtro [**figura 53 (c) e (d)**] apresentam absorção a partir de 450 nm, podendo então ser denominados de protetores solares de amplo espectro já que absorvem radiação UVA e UVB. Já as formulações comerciais [**figura 53 (e) e (f)**], independente do FPS, apresentam absorção a partir de 400 nm, sendo classificadas também como formulações de amplo espectro.

Figura 53. Espectros no UV-VIS de reflectância e de absorção respectivamente dos: (a) e (b) ZnO, (c) e (d) quercetina (e) e (f) protetores comerciais.



Na **figura 54** encontram-se os espectros ERD e de absorção no UV-VIS para as formulações contendo o *complexo 1*, *2*, *4* ou *H* como filtro. Independente da porcentagem de filtro solar utilizado é possível observar a presença do mesmo na formulação e sua consequente absorção da radiação UVA e UVB.

Através dos espectros de absorção nota-se diferenças na intensidade da absorção da radiação UV de acordo com a porcentagem de filtro utilizado nas formulações. Em todos os casos, observa-se que o espectro do filtro solar isolado é mais intenso que os espectros das suas respectivas formulações e a medida que a porcentagem de filtro aumenta de 1 a 3% na formulação a intensidade de absorção também aumenta, como já era de se esperar, já que a concentração de filtro na formulação aumenta. No entanto, quando as porcentagens de filtro aumentam de 3 para 5 %, não se observa aumento na intensidade. Assim, para a formulação base escolhida, 3% de filtro solar é o suficiente para a finalidade desejada e acima desta porcentagem algo acontece na formulação de modo que uma maior porcentagem de filtro não causa mudanças significativas na intensidade da absorção da radiação.

Acredita-se que a partir de 3 % esteja ocorrendo à formação de agregados de partículas do filtro que podem espalhar radiação.

A partir dos espectros de ERD foram calculados o bandgap referente ao grupo cinamoila, comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB para todas as formulações. Os resultados obtidos encontram-se na **tabela 18**. É possível observar que as formulações apresentaram valores muito próximos quando comparados ao filtro solar de partida, indicando que até mesmo as formulações com 1% de filtro apresentaram resultados satisfatórios, com grande potencial para aplicação como protetores solares de amplo espectro.

Figura 54. Espectros no UV-VIS de reflectância e de absorção respectivamente dos: (a) e (b) complexo 1, (c) e (d) complexo 2, (e) e (f) complexo 4, (g) e (h) complexo H.

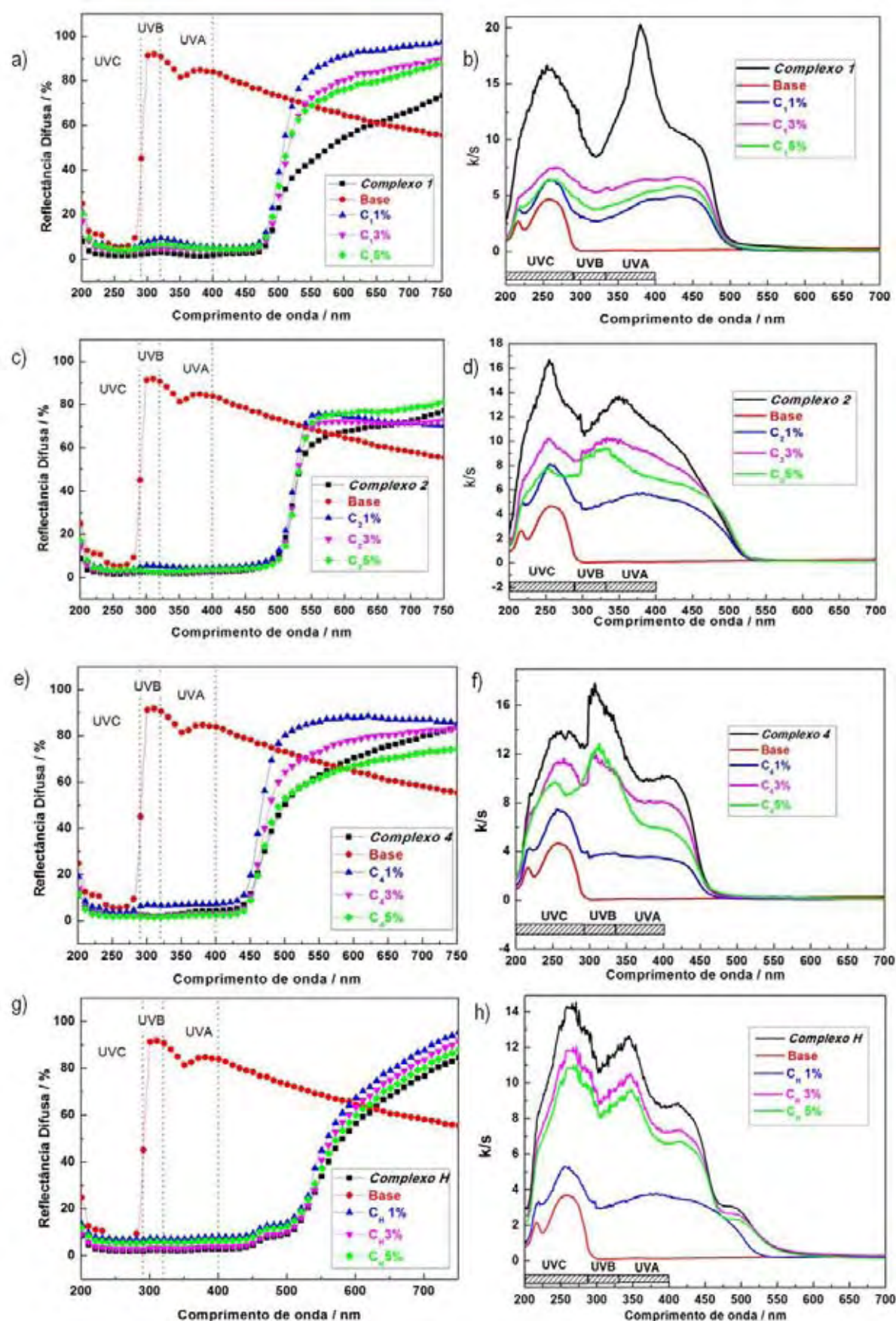


Tabela 18: Resultados de bandgap (E_g), comprimento de onda crítico e razão UVA/UVB para as formulações.

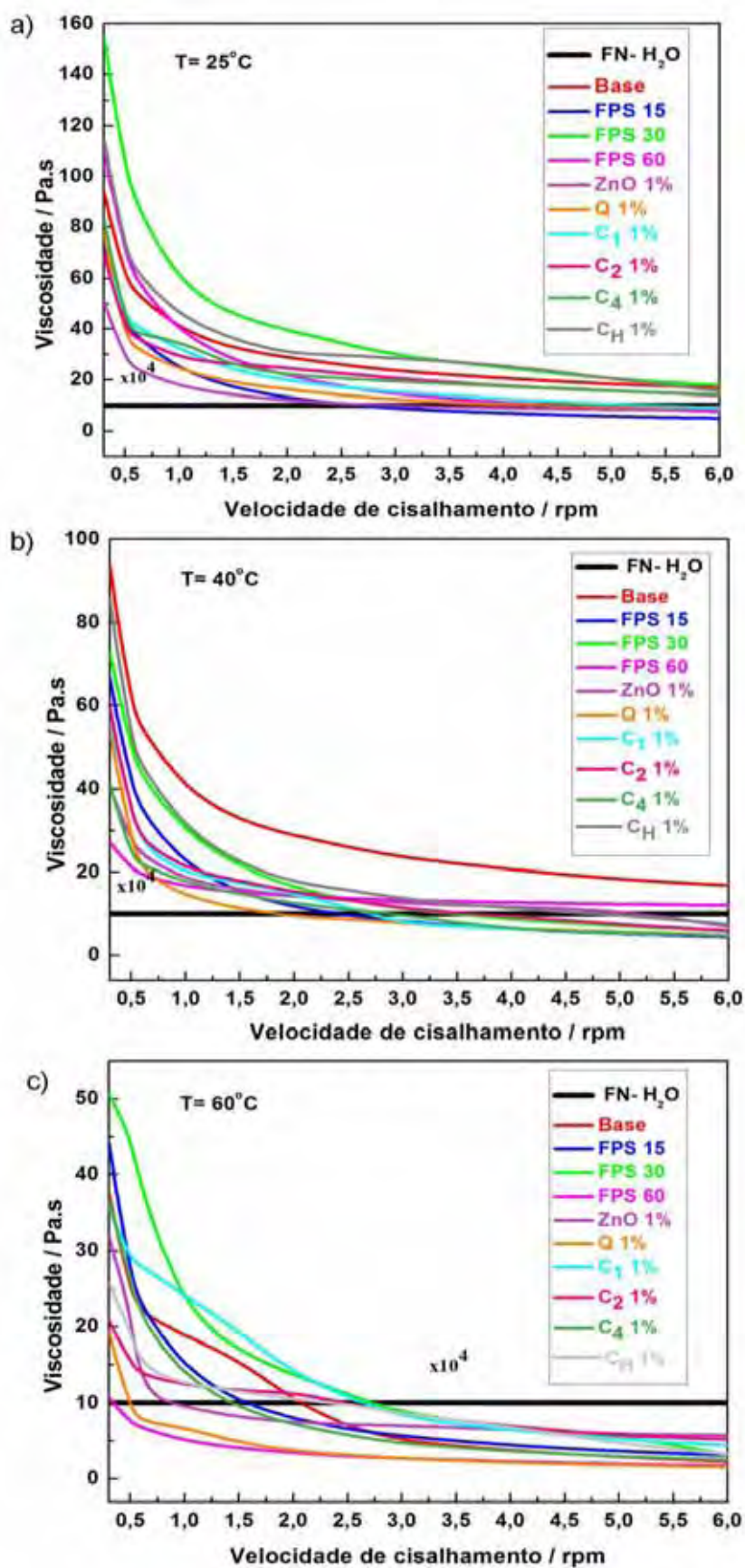
Amostra	E_g (eV)	λ_c (nm)	UVA	UVB	UVA/UVB	Classificação
FPS 15	2,95	398	0,943	0,978	0,964	Ultra
FPS 30	2,99	398	0,979	0,983	0,996	Ultra
FPS 60	2,95	398	0,949	0,978	0,964	Ultra
ZnO (filtro)	3,19	397	0,859	0,976	0,880	Superior
ZnO 1%	3,16	396	0,850	0,967	0,880	Superior
ZnO 3%	3,18	397	0,860	0,976	0,881	Superior
ZnO 5%	3,17	396	0,849	0,967	0,878	Superior
Q (filtro)	2,57	391	0,981	0,984	0,996	Ultra
Q 1%	2,52	390	0,932	0,967	0,964	Ultra
Q 3%	2,54	391	0,952	0,965	0,986	Ultra
Q 5%	2,54	393	0,952	0,967	0,985	Ultra
Complexo 1 (filtro)	2,41	385	0,981	0,975	1,00	Ultra
C ₁ 1%	2,38	390	0,930	0,918	1,00	Ultra
C ₁ 3%	2,38	388	0,958	0,956	1,00	Ultra
C ₁ 5%	2,35	387	0,945	0,941	1,00	Ultra
Complexo 2 (filtro)	2,28	390	0,980	0,978	1,00	Ultra
C ₂ 1%	2,27	388	0,953	0,972	0,98	Ultra
C ₂ 3%	2,27	389	0,974	0,946	1,00	Ultra
C ₂ 5%	2,25	391	0,969	0,970	1,00	Ultra
Complexo 4 (filtro)	2,49	392	0,966	0,978	0,988	Ultra
C ₄ 1%	2,54	391	0,957	0,978	0,978	Ultra
C ₄ 3%	2,55	392	0,974	0,985	0,989	Ultra
C ₄ 5%	2,53	390	0,960	0,98	0,986	Ultra
Complexo H (filtro)	2,33	391	0,976	0,978	1,00	Ultra
C _H 1%	2,28	388	0,953	0,972	0,98	Ultra
C _H 3%	2,32	390	0,974	0,976	1,00	Ultra
C _H 5%	2,30	389	0,970	0,981	0,988	Ultra

É interessante ressaltar que os protetores comerciais analisados apresentam em sua formulação uma mistura de filtros solares para que possam ser eficientes absorvendo toda a região UVA e UVB. Esta mistura além de em alguns casos permear a pele causando irritabilidade, eleva o preço do produto final. Desta forma, acredita-se que os complexos obtidos e até mesmo a própria quercetina apresentam grande potencial como filtros em formulações de protetores já que seus resultados indicam grande eficiência na absorção da radiação UVA e UVB, além de que a adição de apenas um filtro solar na formulação pode

reduzir o risco de irritações e até mesmo o custo do produto final. Além do que o uso de filtros com propriedades biológicas, como é o caso da quercetina e possivelmente dos complexos obtidos, torna o protetor um produto cosmético multifuncional.

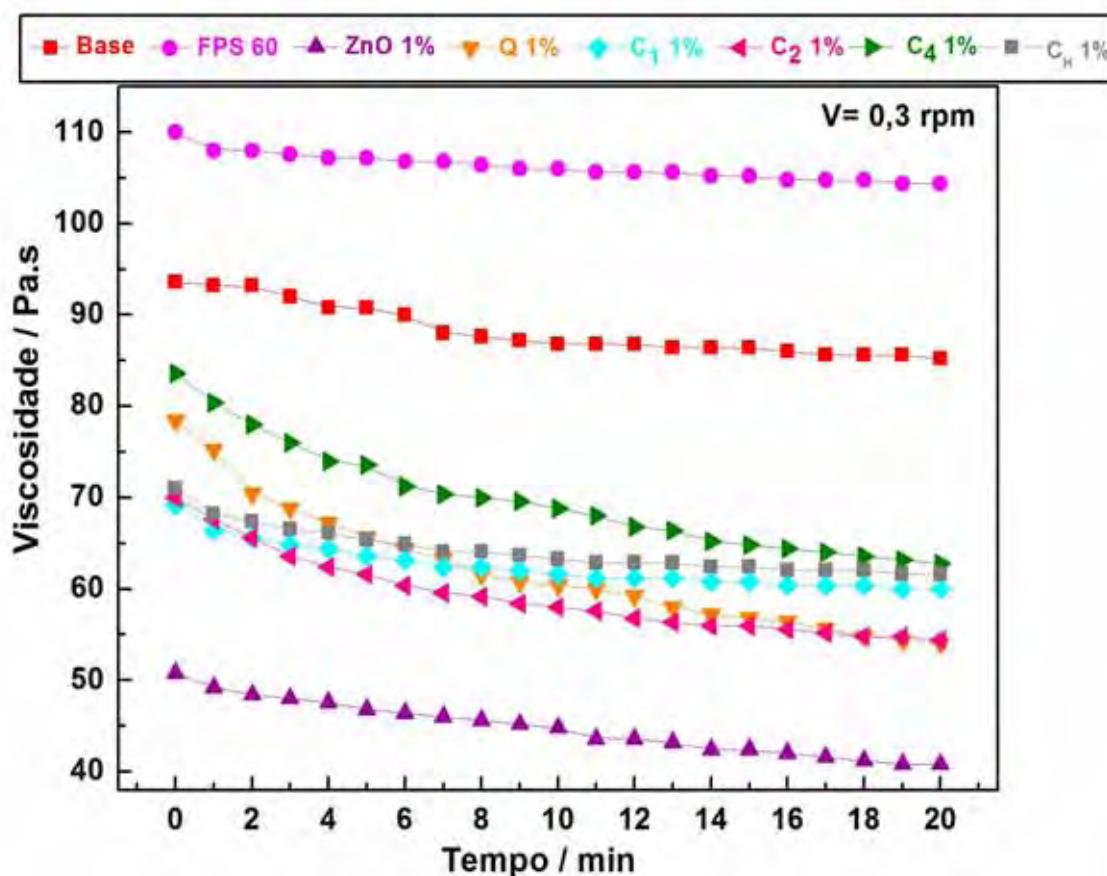
Na **figura 55** estão os reogramas dos protetores solares obtidos no laboratório com as porcentagens de filtro de 1%. Vale destacar que os protetores com maior porcentagem de filtro apresentaram resultados semelhantes, por isso não estão aqui representados. Analisando a **figura 55 (a)**, pode-se observar primeiramente que os valores de viscosidade das formulações obtidas no laboratório apresentaram-se comparáveis aos protetores comerciais analisados. Além disso, em todas as formulações, inclusive nas comerciais, à medida que a velocidade de cisalhamento aumenta a viscosidade diminui. Tal comportamento, que foi observado também nas temperaturas de 40 [b] **figura 55 (b)**] e 60°C [b] **figura 55 (c)**] é definido como cisalhamento restrito, ou seja, a resistência do material a escoar diminui e a energia requerida para sustentar o escoamento a altas razões de cisalhamento é reduzida. Dessa forma, pode-se afirmar que os protetores solares não possuem comportamento Newtoniano. Em contrapartida, a água é um exemplo de fluido newtoniano (FN), já que sua viscosidade permanece constante independente da velocidade de cisalhamento.

Figura 55. Curva da viscosidade em função da velocidade de cisalhamento dos protetores solares nas temperaturas (a) 25 °C, (b) 40 °C e (c) 60 °C.



Além de serem considerados como fluidos não newtonianos, as formulações analisadas apresentam como característica principal a diminuição da viscosidade com o tempo quando submetidos a uma velocidade de cisalhamento constante. Tal comportamento é definido como Tixotropia e pode ser observado na **figura 56**. Essa característica é essencial para um protetor solar, pois a viscosidade diminui com o tempo quando se aplica uma determinada força, facilitando a sua aplicação sobre a pele. E quando essa força é retirada, o protetor solar retorna ao seu estado inicial permitindo a formação de um filme homogêneo na pele.

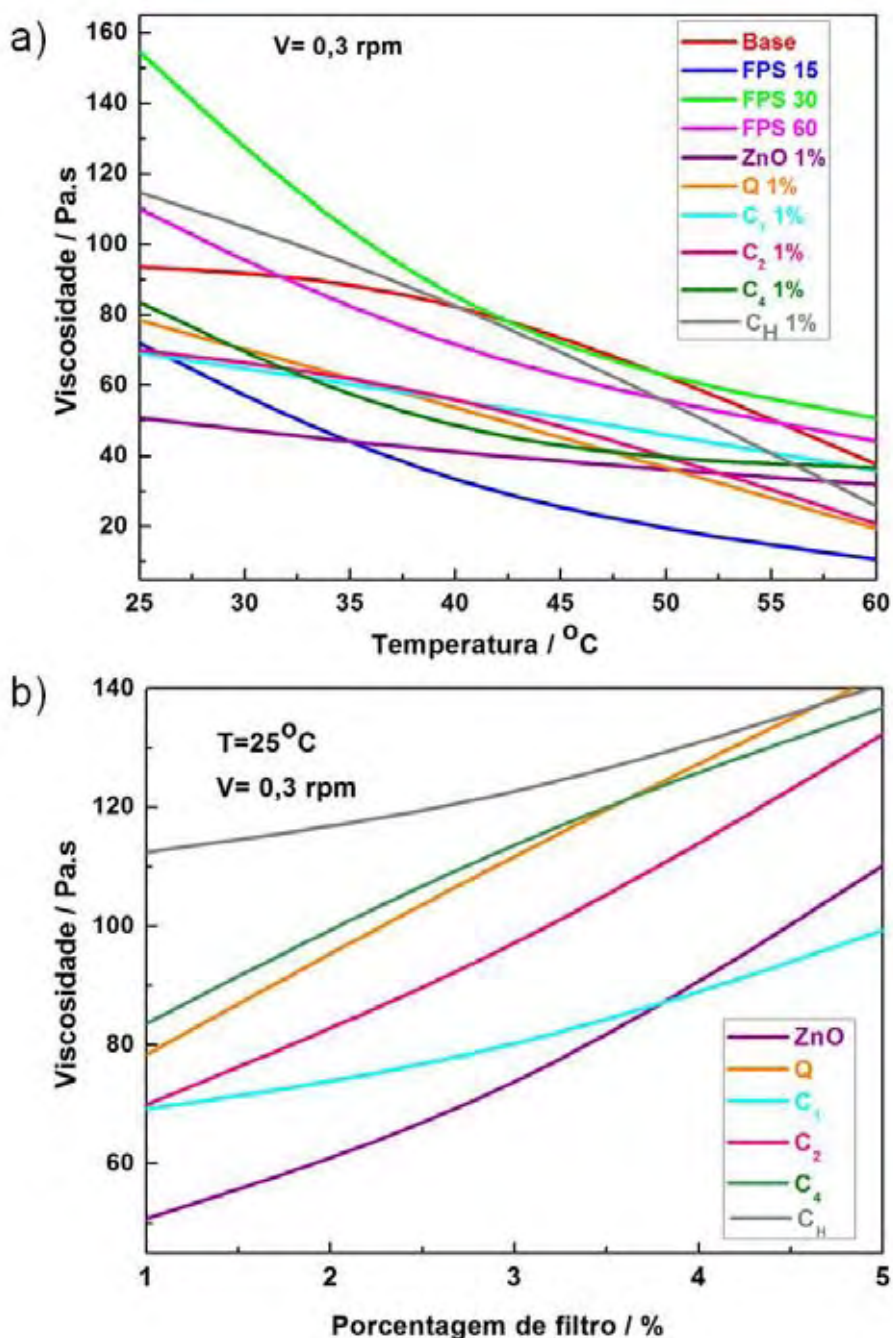
Figura 56. Curva da viscosidade em função do tempo dos protetores solares com 1% de filtro, submetidos à mesma velocidade de cisalhamento ($V = 0,3 \text{ rpm}$).



Outro parâmetro a ser analisado foi como a viscosidade das formulações se comporta de acordo com a temperatura. Através da **figura 57 (a)** é possível observar que a medida que a temperatura aumenta a viscosidade diminui acentuadamente. Isso acontece porque à medida que aumentamos a temperatura, as forças coesivas diminuem, diminuindo também a resistência do fluido ao movimento.

Pode-se notar também através da **figura 57 (b)** que o aumento da concentração dos filtros proporciona o aumento da viscosidade dos protetores solares. Este aumento está associado à interação entre os filtros e os demais componentes da formulação alterando a viscosidade e favorecendo a estabilidade coloidal. Não se descarta a probabilidade de formação de agregados entre as partículas de filtro, devido à quantidade de partículas presentes o que resulta na modificação do valor da viscosidade.

Figura 57. (a) Curva da viscosidade em função da temperatura e **(b)** Curva da viscosidade em função da porcentagem de filtro para os protetores solares com 1% de filtro, submetidos à mesma velocidade de cisalhamento ($V = 0,3 \text{ rpm}$).



5- CONCLUSÕES

As tentativas de obtenção do complexo de Zn^{2+} com quercetina, variando-se as condições reacionais (sal de partida, pH da solução de quercetina, proporção M:L e quantidade água reacional- concentração da solução) foram eficientes levando à obtenção de 54 amostras iniciais, que de acordo com resultados de FTIR e ERD foram agrupadas em três perfis espectrais distintos denominados de *complexo 1*, *complexo 2* e *complexo 3*.

- O *complexo 1* representa as amostras obtidas a partir de pequena quantidade de água no meio reacional (0-5 mL) na proporção M:L de 1:1, independente do pH e do sal de partida. Através das caracterizações utilizadas, foi possível verificar que tal complexo não é cristalino, apresenta fórmula mínima $[Zn(Q)(H_2O)_2]$, com provável estrutura polimérica, e a interação do metal com a quercetina ocorre provavelmente pelos grupos carbonila e 3-OH, causando deslocamento da absorção do grupo cinamoila (banda II) para maiores comprimento de onda.

- O *complexo 2* representa as amostras obtidas a partir de grande quantidade de água no meio reacional (155 mL) independente da proporção M:L, do pH e do sal de partida. Os resultados indicam que a interação do metal com a quercetina ocorre pelos grupos carbonila e 3-OH, já que este apresentou absorção referente ao grupo cinamoila deslocada para maiores comprimentos de onda. Diferentemente do *complexo 1*, análises térmica e elementar indicam provável formação de um complexo com fórmula mínima $[Zn(Q)_2(H_2O)_2]$.

- O *complexo 3* representa as amostras obtidas na proporção M:L de 1:2 e 2:1 na presença de pequena quantidade de água (0-5 mL). Tais amostras apresentam-se não cristalinas, com coloração marrom sendo levadas à degradação quando expostas a luz ambiente. Tal resultado é um indício de que o excesso de metal ou de ligante na presença de pequena quantidade de água, independente do pH reacional, pode estar contribuindo para a oxidação da quercetina e escurecimento do produto formado. Isso pode ser explicado pelo fato de a quercetina, como agente antioxidante, ser capaz de agir como redutora do Zn^{2+} .

As tentativas de obtenção de complexos de Ce^{3+} com quercetina nas proporções de 1:4 (*complexo 4*) e 1:8 (*complexo 5*) levam à formação de um mesmo complexo com fórmula mínima $[Ce(Q)_3(H_2O)_2]$, um complexo com número de coordenação maior, como esperado para o Ce^{3+} . Através das técnicas de caracterização utilizadas foi possível

verificar deslocamento da absorção do grupo benzoila (banda II) para maiores λ , o que justifica o fato da interação do Ce^{3+} com a quercetina se dar neste caso pelos grupos carbonila e 5-OH, já que Ce^{3+} , com seu raio iônico grande, tende a se complexar pelos grupos 5-OH e carbonila formando um anel de seis membros altamente estável. Diferentemente do Ce^{3+} , o Zn^{2+} , com seu menor raio iônico, é capaz de se ligar pelos grupos carbonila e 3-OH formando um anel de cinco membros, estável para este caso onde o íon metálico possui menor tamanho, mas instável e menos provável então para íon volumoso, Ce^{3+} . Este resultado corrobora com os de EFL, indicando interações diferentes das observados para os complexos de Zn^{2+} . No espectro EFL não são observadas bandas que podem ser indubitavelmente atribuídas às transições do Ce^{3+} .

As tentativas de obtenção de complexos heterobimetálicos de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina apresentam resultados distintos. A *amostra 1* apresenta resultados que indicam a formação de um complexo de cério com quercetina. Já a *amostra 2*, denominada de *complexo H*, apresenta resultados bastante promissores, com indícios de interação da quercetina com os dois centros metálicos, Ce^{3+} e Zn^{2+} . De acordo com as análises térmica e elementar este complexo apresenta a fórmula mínima $[\text{CeZn}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})_4]\text{Cl}$.

Foram utilizados sistemas-modelo *in vitro*, geradores de espécies reativas e/ou radicalares para o $\text{ABTS}^{\bullet+}$; $\text{DPPH}^{\bullet}$; $\text{O}_2^{\bullet-}$; $\text{HOCl} / \text{OCl}^-$ e H_2O_2 , a fim de verificar a atividade antioxidante dos complexos sintetizados neste trabalho. De uma forma geral os complexos apresentam atividade superior ao ligante quercetina indicando que a complexação deste com metais potencializa a atividade antioxidante do ligante e que os pontos de coordenação são muito importantes. Além disso, estes ensaios demonstraram ser ferramentas poderosas para confirmação das interações entre os metais e o ligante quercetina.

Por fim, foram preparadas formulações de protetores solares utilizando quercetina e os complexos de Zn^{2+} (*complexo 1* e *complexo 2*), de complexo de Ce^{3+} (*complexo 4*) e complexo heterobimetálico de Zn^{2+} e Ce^{3+} com quercetina (*complexo H*), como filtros solares, nas porcentagens de 1, 3 e 5%. Tais formulações, independente da porcentagem de filtro utilizada, apresentam absorção condizente com o filtro solar de partida, sendo que para formulação base utilizada, 3% de filtro é o suficiente para se ter uma absorção intensa no UV. Acima desta porcentagem não se observa grandes diferenças na intensidade da absorção. Além disso, todas as formulações apresentam como característica principal a tixotropia, característica essa essencial para um protetor solar, pois a viscosidade diminui

sob uma força, facilitando a sua aplicação sobre a pele e retorna à viscosidade inicial cessada a aplicação da força permitindo a formação de um filme homogêneo na pele.

Assim, os complexos obtidos neste trabalho apresentam grande eficiência na absorção da radiação UVA e UVB quando utilizados isoladamente em uma formulação base, sendo esta eficiência comparável a dos protetores comerciais que utilizam uma mistura de filtros, o que encarece o produto final. Além disso, o uso de filtros que apresentem propriedades biológicas, em especial atividade antioxidante elevada, como é o caso dos complexos obtidos, torna o protetor um produto cosmético multifuncional.

6-PERSPECTIVAS

Como perspectivas desse trabalho têm-se:

- Realização de medidas complementares para a comprovação da estrutura dos complexos obtidos tais como medidas de RMN de hidrogênio e carbono nos complexos de zinco;
- Ensaaios para cristalização dos complexos e determinação de estrutura cristalina dos complexos;
- Estudo da fotoestabilidade dos complexos como filtros nas formulações de protetores solares;
- Previsão do FPS dos protetores solares através dos espectros de absorbância;
- Estudo do poder antioxidante da formulação;
- Otimização de formulações mais simples.

7-REFERÊNCIAS

- AGUIAR, R. M. et al. Relação estrutura-atividade antioxidante de quercetina e seus derivados glicosilados. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32., 2009, Fortaleza. **Resumos...** São Paulo: SBQ, 2009.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para a determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química dos alimentos: teoria e prática**. 4. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2008.
- BANOV, D. et al. Caracterização do extrato seco de *Ginkgo biloba* L. em formulações de uso tópico. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 25, p. 219-224, 2006.
- BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BECHERI, A. et al. Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: application to textiles as UV-absorbers. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 10, n. 4, p. 679-689, 2008.
- BEHLING, E. B. et al. Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- BIRD, J. C. Ultraviolet absorption of surface anesthetics. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 31, p. 151-154, 1942.
- BRESTEL, E. P. Co-oxidation of luminol and hydrogen peroxide. Implications for neutrophil chemiluminescence. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 126, p. 482-488, 1985.
- BUDAVARI, S. (Ed.). **The Merck index**. 12th ed. White House Station: Merck, 1996.
- BUKHARI, S. B. et al. Synthesis, characterization and antioxidant activity copper-quercetin complex. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 7, p. 1901-1906, 2009.
- CEBIM, M. A. **Parâmetros espectroscópicos teóricos e experimentais do cintilador $Gd_2O_2S:Ce^{3+}, Pr^{3+}$** . 2008. 265 f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.
- CHING, T.; JONG, J.; BAST, A. A method for screening hypochlorous acid scavengers by inhibition of the oxidation of 5-thio-2-nitrobenzoic acid: application to antiasthmatic drugs. **Analytical Biochemistry**, v. 218, p. 377-381, 1994.
- COTTON, F. A.; WILKINSON, G. **Advanced inorganic chemistry**. 5th ed. New York: Wiley-Interscience, 1988.

- CROTEAU, R. et al. **Biochemistry and molecular biology of plants**. New York: Elsevier, 2000. Cap. 24, p. 1308.
- DE PAOLA, M. V. R. V. et al. Interação entre filtros solares. **Cosmetics and Toiletries (Edição em Português)**, v. 10, n. 5, p. 41-50, 1998.
- DEHGHAN, G.; KHOSHKAM, Z. Tin(II)–quercetin complex: synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 131, p. 422-426, 2012.
- DIFFEY, B. L. et al. *In vitro* assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 43, n. 6, p. 1024-1035, 2000.
- DRANSFIELD, G. P. Inorganic sunscreens. **Radiation Protection Dosimetry**, v. 91, p. 271-273, 2000.
- DUNFORD, R. et al. Chemical oxidation and DNA damage catalysed by inorganic sunscreen ingredients. **FEBS Letters**, v. 418, n. 1/2, p. 87-90, 1997.
- DURACKOVÁ, Z. Some current insights into oxidative stress. **Physiological Research**, v. 59, p. 459-469, 2010.
- FERRETTI, F. H. et al. Effects of the solvent and temperature on 2:1 catecol-Al(III)-complex. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 68, p. 387-393, 2007.
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, p. 239-247, 2000.
- FLOR, J. et al. Protetores solares. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.
- GOMATHI, K. et al. Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rat. **Biomaterials**, v. 24, p. 2767-2772, 2003.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 1-85, 1990.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. C. **Free radical in biology and medicine**. 3th ed. Oxford: Clarendon Press, 2000.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 4th ed. Oxford: Clarendon Press, 2010.
- HAMPTON, M. B.; KETTLE, A. J.; WINTERBOURN, C. C. Inside the neutrophils phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. **Blood**, v. 92, p. 3007- 3017, 1998.
- HARBONE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2001.
- HAZRA, B.; BISWAS, S.; MANDAL, N. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 8, n. 63, p. 1-10, 2008.

- HEINRICH, U. et al. Comparison of sun protection factors determined by an *in vivo* methodologies: a study with 58 different commercially available sunscreen products. **International Journal Cosmetic Science**, v. 26, p. 79-89, 2004.
- HYNES, M. J.; RYAN, P. The kinetics and mechanisms of the reactions of iron(III) with quercetin and morin. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, n. 1, p. 127-136, 2008.
- INAL, M. E.; KAHRAMAN, A. The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet a induced oxidative stress in rats. **Toxicology**, v. 154, p. 21-29, 2000.
- JUN, T.; BOCHU, W.; LIANCAI, Z. Hydrolytic cleavage of DNA by quercetin zinc(II) complex. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, p. 1197-1199, 2007.
- KAKKAR, P.; DAS, B.; VISWANATHAN, P. N. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase. **Journal of Biochemistry and Biophysics**, v. 21, p. 130-132, 1984.
- KAKRAN, M. et al. Fabrication of quercetin nanocrystals: comparison of different methods. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, p. 113-121, 2012.
- KANEBO (Japan). G. Okuyama; T. Matsui; Y. Shimoyama. **Sunscreens containing rutin and/or quercetin**. JP 1984-64371, 31 Mar. 1984, 21 Oct. 1985.
- KHALIL, N. M.; PEPATO, M. T.; BRUNETTI, I. L. Free radical scavenging profile and myeloperoxidase inhibition of extracts from antidiabetic plants: *Bauhinia forficata* and *Cissus sicyoides*. **Biological Research**, v. 41, p. 165-171, 2008.
- LANDINO, L. M. et al. Oxidation of 5-thio-2-nitrobenzoic acid, by the biologically-relevant oxidants peroxynitrite anion, hydrogen peroxide and hypochlorous acid. **Nitric Oxide**, v. 18, p. 11-18, 2008.
- LEKKA, Ch. E. et al. Structural, electronic, and optical properties of representative Cu-flavonoid complexes. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 113, p. 6478-6483, 2009.
- LEVER, A. B. P. **Inorganic electronic spectroscopy**. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 1984.
- LOYALKA, S. K.; RIGGS, C. A. Inverse problem in diffuse reflectance spectroscopy: accuracy of the kubelka-munk equations. **Applied Spectroscopy**, v. 49, n. 8, p. 1107-1110, 1995.
- MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 1, p. 79-87, 2004.
- MALESEV, D.; KUNTIC, V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. **Journal of the Servian Chemistry Society**, v. 72, n. 10, p. 921-939, 2007.
- MASSON, P. et al. Fotoproteção: um desafio para a cosmetologia. **Cosmetics and Toiletries (Edição em Português)**, v. 15, n. 4, p. 42-53, 2003.
- MASUOKA, N.; MATSUDA, M.; KUBO, I. Characterisation of the antioxidant activity of flavonoids. **Food Chemistry**, v. 131, p. 541-545, 2012.
- MENEHINI, R. A. A toxicidade do oxigênio. **Ciência Hoje**, v. 5, p. 57-63, 1987.

- MIDDLETON, E. Jr.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoid on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, v. 52, n. 4, p. 673-751, 2000.
- MUELLER, W. Evaluation of sunscreens. **Proceedings of the Scientific Section of the Toilet Goods Association**, v. 1, p. 12-17, 1944.
- NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic compounds**. 5th ed. New York: John Wiley & Sons, 1997.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. Cap. 19; 22, p. 707-721.
- NIKI, E. et al. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 338, p. 668-676, 2005.
- NUNES, J. N. et al. Identificação fitoquímica e análise da atividade antioxidante e toxicológica do extrato hexânico da *Campomanesia lineatifolia*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 64., 2012, São Luís. **Resumos...**São Paulo: SBPC, 2012.
- OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.
- ORLANDI, A. M. **Avaliação das propriedades antioxidantes da Curcumina em sistemas-modelo in vitro**. 2012. 84 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia e Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.
- OSTERWALDER, U. et al. Novo protetor UVA. **Cosmetics and Toiletries (Edição em Português)**, v. 12, n. 4, p. 52-59, 2000.
- ÖZGÜR, Ü. et al. A comprehensive review of ZnO materials and devices. **Journal of Applied Physics**, v. 98, p. 041301/1-041301/103, 2005.
- PELLEGRINI, N. et al. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6 sulfonic acid radical cation decolorization assay. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 379-389, 1999.
- PINNELL, S. R. et al. Microfine zinc oxide is a superior sunscreen ingredient to microfine titanium dioxide. **Dermatologic Surgery**, v. 26, n. 4, p. 309-313, 2000.
- PRABHU P, R. et al. Scavenging potential of reactive oxygen species by Tetra-hydrocurcumin. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 5, p. 114-118, 2011.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.
- RODRIGUES, A. P. **Oxidação de compostos β -dicarbonílicos por peroxidase**. 2007. 141 f. Tese (Doutorado em Análises Clínicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

- ROLIM, A. et al. Validation assay for total flavonoids (as rutin equivalents) from *Trichilia catigua* Adr. Juss (Meliaceae) (and) *Ptychopetalum olacoides* Benth (Olacaceae) commercial extract. **Journal of AOAC International**, v. 88, p. 1015-1019, 2005.
- ROLIM, A. et al. Total flavonoids quantification from O/W emulsion with extract of Brazilian plants. **International Journal of Pharmaceutical Science**, v. 308, p. 107-114, 2006.
- SANSHO SEIYAKU CO (Japan). KOHO, K. T. **Quercetin fatty acid esters**. JP 1979-65302, 25 May 1979, 8 Dec. 1980.
- SCALIA, S.; MEZZENA, M. Photostabilization effect of quercetin on the UV filter combination, butyl methoxydibenzoylmethane-octyl methoxycinnamate. **Photochemistry and Photobiology**, v. 86, n. 2, p. 273-278, 2010.
- SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 314-318, 2004.
- SCHUELLER, R. et al. Introdução aos produtos fotoprotetores. **Cosmetics and Toiletries (Edição em Português)**, v. 12, p. 60-67, 2000.
- SEITÉ, S. et al. Accumulated p53 protein and UVA protection level of sunscreens. **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v. 16, p. 3-9, 2000.
- SERPONE, N.; DONDI, D.; ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: their role and efficacy in sunscreens and suncare product. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, n. 3, p. 794-802, 2007.
- SILVERSTEIN, R. M. et al. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.
- SOARES, J. R. et al. Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. **Free Radical Research**, v. 26, p. 469-478, 1997.
- SOUZA, R. F. V.; GIOVANI, W. F. de. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. **Spectrochimica Acta. Part A: Molecular Spectroscopy**, v. 61, p. 1985-1990, 2005.
- SOUZA, R. F. V. de. ; SUSSUCHI, E. M.; GIOVANI, W. F. de. Syntheses, electrochemical, spectral and antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. **Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry**, v. 33, n. 7, p. 1125-1144, 2003.
- STEINER, D. Envelhecimento cutâneo. **Cosmetics and Toiletries (Edição em Português)**, v. 10, n. 4, p. 29-32, 1995.
- STREILEIN, J. W. et al. Immune surveillance and sunlight induced skin cancer. **Immunology Today**, v. 15, p. 174-179, 1994.
- SPRINGSTEEN, A. et al. *In vitro* measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. **Analytica Chimica Acta**, v. 380, p. 155-164, 1999.

- TORREGGIANI, A. et al. Copper(II)–Quercetin complexes in aqueous solutions: spectroscopic and kinetic properties. **Journal of Molecular Structure**, v. 744/747, p. 759-766, 2005.
- TRABIZI, H.; MORTAZAVI, S. A.; KAMALINEJAD, M. An *in vitro* evaluation of various Rosa damascena flower extracts as natural antisolar agent. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 25, p. 259-265, 2003.
- VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico- Biological Interactions**, v. 160, p. 1-40, 2006.
- VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.
- VELASCO, M. R. V. et al. Associação da rutina com p-metoxicinamato de octila e benzofenona-3: avaliação *in vitro* da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de reflectância. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 23-27, 2008a.
- VELASCO, M. V. R. et al. Broad spectrum bioactive sunscreens. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, p. 50-57, 2008b.
- VIANNA, J. D. M.; FAZZIO, A.; CANUTO, S. **Teoria quântica de moléculas e sólidos: simulação computacional**. São Paulo: Livraria da Física, 2004. p.401.
- VIELHABER, G. et al. Sunscreens with an absorption maximum of ≥ 360 nm provide optimal protection against UVA1-induced expression of matrix metalloproteinase-1, interleukin-1, and interleukin-6 in human dermal fibroblast. **Photochemical and Photobiological Science**, v. 5, p. 275-282, 2006.
- WANG, S. P.; HUANG, K. J. Determination of flavonoids by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v.1032, p. 273-279, 2004.
- WINTERBOURN, C. C.; KETTLE, A. J. Assays for the chlorination activity of myeloperoxidase. **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 502-512, 1994.
- WU, T-H. et.al. Preparation, physicochemical characterization, and antioxidant effects of quercetin nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 346, p. 160-168, 2008.
- XIE, D. Y.; DIXON, R. A. Proanthocyanidin biosynthesis – still more questions than answers? **Phytochemistry**, v. 66, p. 2127-2144, 2005.
- ZUURBIER, K. W. et al. Hemi-myeloperoxidase. Initial chlorinating activity at neutral pH, compound II and III formation, and stability towards hypochlorous acid and high temperature. **European Journal of Biochemistry**, v. 205, p. 737-742, 1992.
- ZGLICZYNSKI, T. J. M. et al. Chloramines as intermediates of oxidation reaction of amino acids by myeloperoxidase. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 235, p. 419-424, 1971.