

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento de novos filtros solares derivados de benzofenona-3:
estudo da fotoestabilidade, fototoxicidade e atividade antioxidante**

MARÍA TERESA PÁEZ GONZÁLEZ

Ribeirão Preto

2014

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento de novos filtros solares derivados de benzofenona-3:
estudo da fotoestabilidade, fototoxicidade e atividade antioxidante**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e
Cosméticos

Orientado(a): María Teresa Páez González
Orientador(a): Profa. Dra. Lorena Rigo
Gaspar Cordeiro

Versão corrigida da dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP em 20/08/2014. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP

Ribeirão Preto

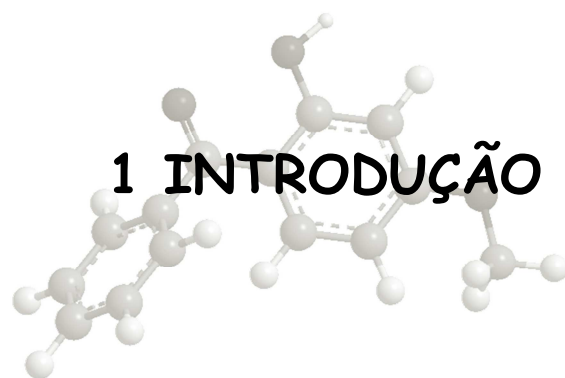
2014

RESUMO

GONZÁLEZ, M.T.P. **Desenvolvimento de novos filtros solares derivados de benzofenona-3: estudo da fotoestabilidade, fototoxicidade e atividade antioxidante.** 2014. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

O aumento do conhecimento em relação aos danos provocados pela radiação solar, tanto na faixa do UVB quanto na faixa do UVA, o avanço nas tecnologias relacionadas ao produto e às formas de avaliação bem como a disponibilização de novas moléculas no mercado levaram ao aumento da qualidade da proteção proporcionada pelos fotoprotetores. Entretanto, ainda há preocupações em relação à segurança de alguns filtros solares devido a sua fotoinstabilidade e penetração cutânea. Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de novos filtros solares mais efetivos e seguros, que apresentem relevância científica e potencial de inovação. Assim, a presente pesquisa teve como objetivo desenvolver novos análogos ao filtro solar benzofenona-3 e determinar o seu potencial fotoprotetor por meio da avaliação da absorção UV e avaliação da fotoestabilidade, fototoxicidade e atividade antioxidante. Para tal, inicialmente seis análogos ao filtro solar químico benzofenona-3 foram sintetizados visando aumentar o tamanho da molécula e aumentar a sua absorção no UVA longo (340-400nm). Foram avaliados os espectros de absorção no UV e a fotodegradação dessas substâncias. A fototoxicidade das substâncias selecionadas foi avaliada por meio do uso de cultura de fibroblastos 3T3, para a determinação da viabilidade celular na presença e ausência da radiação. A atividade antioxidante das substâncias foi avaliada por meio da quimioluminescência gerada pela reação HRP-H₂O₂-luminol. Os resultados permitiram demonstrar a importância da relação entre a estrutura molecular dos compostos e sua absorção no UV. As moléculas benzofenona-3 fenil amino (B5) e o carbazol da benzofenona-3 fenil amino (B6) apresentaram maior absorção no UVA, longo e curto, e no UVB, quando comparadas com a molécula de partida (benzofenona-3). Apenas as substâncias que apresentavam ponte de hidrogênio intramolecular (B5 e B6) foram consideradas fotoestáveis. Somente a molécula B5 não apresentou potencial para fototoxicidade aguda. Além disso, essa molécula apresentou atividade antioxidante, o que sugere o seu grande potencial para utilização com filtro solar.

Palavras chave: filtros solares, radiação UV, fotoestabilidade, fototoxicidade, benzofenona-3.



O nível de qualidade da proteção proporcionada pelos fotoprotetores melhorou consideravelmente nas últimas décadas. Esse aumento ocorreu devido ao aumento do conhecimento em relação aos danos provocados pela radiação solar, tanto na faixa do ultravioleta B quanto na faixa do ultravioleta A, ao avanço nas tecnologias relacionadas ao produto e às formas de avaliação bem como devido à disponibilização de novas moléculas e tecnologias no mercado (Osterwalder e Herzog, 2010; Jansen *et al.*, 2013).

Em relação ao conhecimento sobre os efeitos da radiação solar, atualmente, sabe-se que a radiação ultravioleta (UV) emitida pelo sol é responsável por diversos efeitos danosos sobre a pele, os quais se manifestam sob a forma de eritema ou queimadura solar, fotoenvelhecimento, lesões cancerosas e pré-cancerosas, entre outras (Litvinov *et al.*, 2010).

O espectro solar da radiação UV compreende os comprimentos onda que variam entre 200 e 400 nm, sendo que a faixa de 290 e 320 nm corresponde à radiação UVB e a faixa 320 e 400 nm à UVA. A radiação UVB é capaz de induzir efeitos biológicos adversos direta e indiretamente, incluindo estresse oxidativo, danos ao DNA, envelhecimento precoce da pele e múltiplos efeitos sobre o sistema imune, que juntos têm importante papel na geração e manutenção de neoplasmas induzidos por raios UV (Nichols e Katiyar, 2010).

Os raios UVA são capazes de penetrar profundamente a derme, sendo que a exposição ao UVA induz à geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e radicais hidroxil livres, o que pode causar danos às macromoléculas celulares, como proteínas, lipídeos e DNA. Ele ainda é relatado como um agente genotóxico capaz de produzir mutações em células humanas normais, sendo que deve ser considerado um potencial agente cancerígeno, além de estar relacionado ao fotoenvelhecimento e à diminuição da hidratação e elasticidade da pele (Nichols e Katiyar, 2010).

Os eventos cutâneos induzidos pela exposição aos raios UV são consequências diretas da absorção de fótons pelo DNA celular, e do estresse oxidativo provocado por várias reações indiretas ligadas à absorção de radiação UV pelos cromóforos celulares. O estresse oxidativo ocorre devido à produção de EROs, os quais levam à lipoperoxidação de membranas e também à formação de produtos de fotooxidação dentro do DNA (Césarini *et al.*, 2003).

Tendo em vista os fatos citados acima, bem como a crescente incidência de casos de câncer de pele na população e de outras manifestações decorrentes dos efeitos dos raios UV sobre a pele, o uso de filtros solares tem se tornado cada vez mais importante e necessário para prevenir ou reduzir a extensão dos danos provocados pela exposição à radiação UV. Além disso, uma vez que o UVA produz EROs por meio da interação com agentes fotossensibilizantes exógenos (Fourtanier, Moyal e Seite, 2008), torna-se de grande

importância o desenvolvimento de fotoprotetores de amplo espectro e com alta proteção não somente contra a radiação UVB mas também contra a radiação UVA.

Inicialmente, os fotoprotetores desenvolvidos levavam em consideração apenas a proteção contra a radiação UVB, uma vez que ela é a responsável pela queimadura solar. Isso levava a população a permanecer mais tempo no sol e à falsa afirmação de que o aumento do uso de fotoprotetores promovia, ao invés de reduzir, os casos de câncer de pele (Haywood *et al.*, 2003; Osterwalder e Herzog, 2010).

Apesar dos formuladores contarem com um grande número de filtros solares UVB, há poucos filtros solares UVA disponíveis no mercado, sendo que a avobenzona, também conhecida como butilmetoxi dibenzoilmetano, tem sido o mais utilizado. Um aspecto importante relacionado à avobenzona é que essa molécula apresenta tautomerização ceto-enólica. Em uma solução, há um equilíbrio entre os dois tautômeros, entretanto ao sofrer irradiação, o equilíbrio é deslocado em favor da formação da forma ceto. A forma enólica da avobenzona possui uma alta absorção na faixa de 340 a 350 nm, entretanto, a forma ceto, apresenta alta absorção na faixa do UVC e baixo efeito protetor frente ao UVA e ainda pode sofrer processos de fotodegradação irreversíveis, tais como fragmentação e formação de fotoprodutos (Damiani *et al.*, 2006; Mturi e Martincigh, 2008; Paris *et al.*, 2009).

Há ainda vários questionamentos relacionados à segurança de uso de fotoprotetores, relacionados a absorção sistêmica dos filtros solares, acúmulo dessas moléculas no organismo e efeito estrogênico, uma vez que, quando utilizados em atividades recreacionais, os fotoprotetores são aplicados em uma grande extensão do corpo e, ainda, estão presentes em uma grande parte de produtos hidratantes e anti-envelhecimento de uso diário (Gustavsson Gonzalez, Farbrot e Larko, 2002; Nash, 2006).

Nos últimos anos, vários estudos relacionados ao efeito estrogênico de alguns filtros solares têm sido publicados, o que tem aumentado a preocupação com o risco à saúde humana. Alguns estudos *in vitro* e *in vivo* sugerem uma baixa atividade estrogênica de alguns filtros solares (Schlumpf *et al.*, 2004; Koda *et al.*, 2005).

Dentre os filtros solares disponíveis no mercado, a benzofenona-3 tem sido a responsável pela maior incidência de fotodermatites (Nash, 2006). Numerosos estudos vêm avaliando a absorção, distribuição, metabolismo e excreção da benzofenona-3 em ratos e em humanos após a sua aplicação tópica; tais estudos mostraram que esse filtro solar tem uma penetração cutânea estimada em 10% da dose aplicada, possui absorção sistêmica e até mesmo excreção nas fezes e urina (Okereke, Abdel-Rhman e Friedman, 1994; Hayden, Roberts e Benson, 1997; Gustavsson Gonzalez, Farbrot e Larko, 2002; Janjua *et al.*, 2004;

Nash, 2006; Gonzalez, 2010). Em relação à excreção na urina, tem sido relatado que 0,5 a 9% da dose aplicada de benzofenona-3 tem sido encontrada na urina (Hayden, Roberts e Benson, 1997; Gustavsson Gonzalez, Farbroth e Larko, 2002; Gonzalez, 2010).

A benzofenona-3 é uma molécula altamente lipofílica e é metabolizada em diidroxibenzofenona que, por sua vez é excretada principalmente na urina. Acredita-se que absorção sistêmica da benzofenona-3 não tenha tanta relevância toxicológica, entretanto, a glucuronidação hepática para diversos fármacos em crianças menores de 2 anos não é tão alta como nos adultos, dessa forma, torna-se prudente não utilizar esse filtro solar em crianças menores que 2 anos, devido a esse risco de acúmulo no organismo (Strassburg *et al.*, 2002; Gonzalez, 2010). Apesar da benzofenona-3 não ser considerada tóxica, a sua absorção sistêmica merece atenção para alguns alvos toxicológicos sistêmicos (Benson, 2000), tais como toxicidade na reprodução de desenvolvimento e toxicidade cumulativa.

Outros estudos relataram que as benzofenonas apresentam um leve efeito anti-androgênico *in vitro*, entretanto estudos *in vivo* praticamente não mostraram efeitos adversos em roedores e em humanos (Jiang *et al.*, 1999; Nash, 2006). O Comitê Científico Europeu (*Scientific Committee on Consumer Products - SCCP*) concluiu que os filtros solares não apresentam efeito estrogênico que influenciariam a saúde humana (2001) e que a benzofenona-3, se utilizada até a 3%, apesar de seu alto potencial alérgico e fotoalérgico, não representa risco para a saúde do consumidor (2008). No entanto, a possibilidade de algumas substâncias apresentarem efeitos endócrinos ainda gera muitas discussões (Gonzalez, 2010).

Em resumo, a benzofenona-3 pode provocar uma leve irritação quando aplicada topicamente. Ela também possui absorção cutânea e sistêmica, até mesmo com sua detecção no sangue e urina, porém apresenta rápida metabolização. Além disso, vem sendo observada uma redução do seu uso na Europa, uma vez que é o fotossensibilizante mais comum em dermatites de contato e em fotodermatites, entretanto nos EUA e na Austrália, ela ainda é considerada bastante popular, devido à sua fotoestabilidade e ampla proteção (Gonzalez, 2010).

Os filtros solares exercem seus efeitos na superfície da pele, por isso é desejável que fiquem retidos no estrato córneo, a camada mais externa da pele, para que atinjam a maior proteção contra os raios UV com o menor grau possível de penetração transdérmica.

Nos últimos anos, novos filtros solares têm sido disponibilizados no mercado visando à redução de sua penetração cutânea, pois, conforme apresentado anteriormente, alguns filtros solares podem provocar reações de irritação e de fotoirritação, uma vez que a radiação UVA produz EROs por meio da interação agentes fotossensibilizantes exógenos, como é o caso de alguns filtros solares (Nash, 2006; Fourtanier, Moyal e Seite, 2008; Gonzalez, 2010; Shaath,

2010). Tais moléculas possuem alto peso molecular (maior que 500 Dalton) e possuem múltiplos cromóforos que levam a um alto coeficiente de extinção e um amplo espectro de proteção, dentre elas, podemos citar Etilxiltriazona, Polisilicone-15, Ecamsule, Bisdisulizol Dissódico, Drometrizol Trisiloxano, Bisoctrizol e Bemotrizinol (Shaath, 2010).

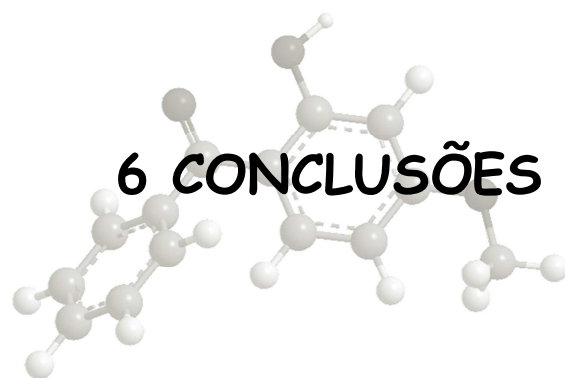
Por outro lado, varias substâncias tem sido associadas a filtros solares em formulações anti-envelhecimento e fotoprotetoras sendo que a vitamina E tem sido descrita como o principal antioxidante da epiderme humana, e um marcador sensível para o dano oxidativo relacionado à exposição solar (Thiele e Ekanayake-Mudiyanselage, 2007). O éster da vitamina E (acetato de alfa-tocoferila), forma mais estável da vitamina E, tem sido bastante utilizado em formulações cosméticas devido as suas propriedades anti-radicaís livres, hidratantes e fotoprotetoras (Gehring, Fluhr e Gloor, 1998; Mcvean e Liebler, 1999; Gaspar e Campos, 2007). Essa substância absorve radiação UV na faixa de 300 a 350nm (Fryer, 1993; Antille *et al.*, 2003) Outros autores mostram que a vitamina E, quando em associação com a avobenzona, aumenta a fotoestabilidade desse filtro solar, sendo usando como um antioxidante e emoliente nas formulações estudadas (Meyer e Beasley, 2009). Entretanto, até o momento, não há relato de nenhum estudo realizado onde tenha sido proposta uma modificação estrutural dos filtros solares utilizando a vitamina E.

Assim, a presente pesquisa teve como metas desenvolver novos compostos análogos ao filtro solar benzofenona-3, visando, principalmente, aumentar o tamanho da molécula e ampliar sua absorção na faixa do UVA, bem como avaliá-los quanto a atividade antioxidante, fotoestabilidade e segurança.

Para o desenvolvimento de um novo filtro solar de alta performance, é necessário que este tenha um amplo espectro de absorção da radiação UVA e UVB, que seja estável, fotoestável e principalmente, seguro. Dentre os testes de segurança necessários para cosméticos de uso tópico podemos citar irritação, sensibilização, toxicidade e carcinogenicidade. De acordo com a região e horário de aplicação da formulação cosmética, deve ser considerada, ainda, uma potencial interação com a radiação UV e a produção de irritação, sensibilização, toxicidade ou carcinogenicidade fotoinduzidas (Hayden, Roberts e Benson, 1997).

Finalizando, apesar de algumas preocupações relacionadas aos riscos proporcionados pelo uso de alguns filtros solares, tais como a fotodegradação, atividade hormonal, absorção sistêmica, há várias evidências que mostram que seu uso é seguro. Estudos indicam que os benefícios proporcionados pelo uso de fotoprotetores superam os riscos ressaltados em alguns estudos (Nash, Tanner e Matts, 2006; Gonzalez, 2010). Entretanto, propostas de novos filtros

solares que não apresentem esses efeitos, tais como a apresentada no presente projeto, devem ser encorajadas para que seja possível a utilização de filtros solares cada vez mais eficazes e que, ao invés de apresentarem baixo risco e alguns relatos de fotodermatites, que não apresentem nenhum risco à população.



6 CONCLUSÕES

Foram sintetizadas, com sucesso, seis moléculas derivadas de benzofenona-3 das quais duas apresentaram absorção na faixa do UVA. As estruturas dos derivados obtidos são apresentadas embaixo:

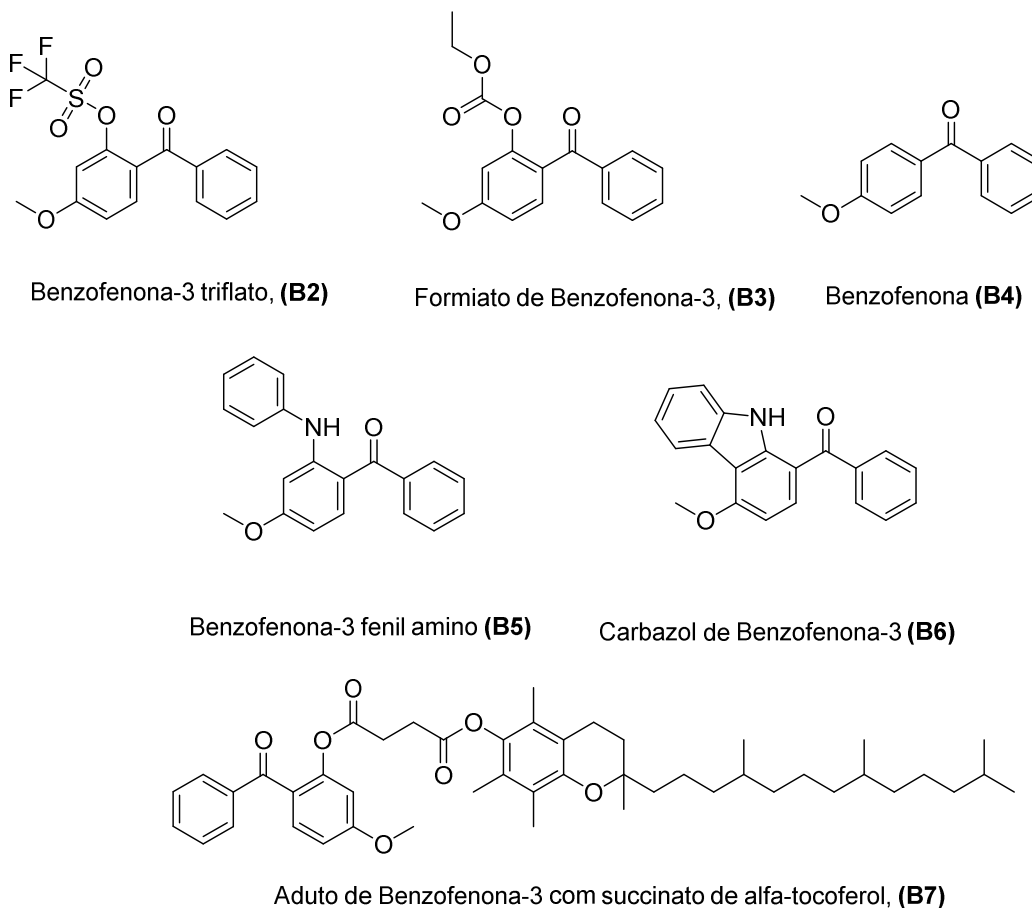


Figura 21. Moléculas obtidas no desenvolvimento do projeto

Os resultados permitiram demonstrar a importância da relação entre a estrutura molecular dos compostos e sua absorção no UV.

Dessa forma, as moléculas benzofenona-3 fenil amino (B5) e o carbazol da benzofenona-3 fenil amino (B6) apresentaram maior absorção no UVA, longo e curto, e no UVB, quando comparadas com a molécula de partida (benzofenona-3) devido ao efeito doador de elétron do grupamento amino nas duas moléculas e ainda pela presença do anel carbazol em **B6**. Assim, esses fatores contribuíram para que tais moléculas fossem classificadas com nível de ultra proteção UVA, de acordo com o Boot Star Rating System.

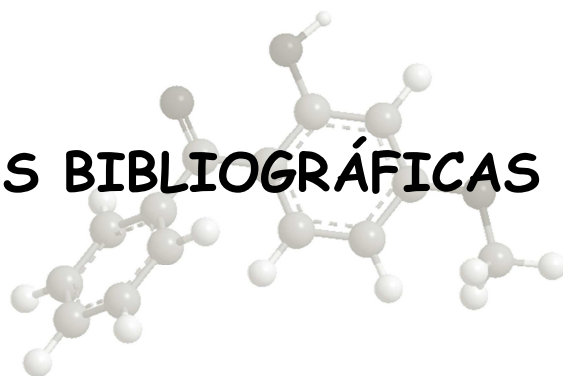
No ensaio de fotoestabilidade, assim como na avaliação do espectro no UV, somente as substâncias que apresentavam ponte de hidrogênio intramolecular foram consideradas fotoestáveis.

Em relação ao teste de fototoxicidade (3T3 NRU), somente a molécula **B5** não apresentou potencial para fototoxicidade aguda, enquanto que as moléculas **B2**, **B3** e **B6** foram consideradas fototóxicas.

Na avaliação da atividade antioxidante, somente as moléculas **B5** e **B1** (Benzofenona-3 Fenil amino e benzofenona- 3, respectivamente) apresentaram tal atividade. No entanto, a atividade antioxidante de **B5** foi menor que a de **B1**, provavelmente devido ao impedimento estérico em **B5** sobre o grupamento doador de prótons.

Na análise geral dos resultados, pode-se concluir que a molécula **B5** (Benzofenona-3 Fenil amino) apresentou absorção no UVA longo e também foi classificada com nível de ultra de proteção UV. A molécula ainda foi considerada fotoestável e não apresentou potencial fototóxico, o que sugere o seu grande potencial para utilização com filtro solar.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



ALSANTE, K. M. et al. The role of degradant profiling in active pharmaceutical ingredients and drug products. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 1, p. 29-37, 1/10/ 2007. ISSN 0169-409X.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X06002730> >.

ANTILLE, C. et al. Vitamin A exerts a photoprotective action in skin by absorbing ultraviolet B radiation. **J Invest Dermatol**, v. 121, n. 5, p. 1163-7, Nov 2003. ISSN 0022-202X (Print)0022-202x.

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1747.2003.12519.x> >.

ANVISA. (ANVISA, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária, RESOLUÇÃO RDC Nº 30, DE 01 de JUNHO de 2012**). Brasil: 18 p..

AVANAKI, M. R. N.; HOJJATOLESLAMI, A. Skin layer detection of optical coherence tomography images. **Optik - International Journal for Light and Electron Optics**, v. 124, n. 22, p. 5665-5668, 11// 2013. ISSN 0030-4026.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030402613005196> >.

BALOGH, T. S. et al. Proteção da radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 732-742, 08/2011 2011. ISSN 0365-0596.

Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0365-05962011000400016&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >.

BELLUTI, F. et al. Fluorinated benzophenone derivatives: balanced multipotent agents for Alzheimer's disease. **Eur J Med Chem**, v. 78, p. 157-66, May 6 2014. ISSN 0223-5234. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.03.042> >.

BENSON, H. A. Assessment and clinical implications of absorption of sunscreens across skin. **Am J Clin Dermatol**, v. 1, n. 4, p. 217-24, Jul-Aug 2000. ISSN 1175-0561 (Print)1175-0561. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

BIANCHI, M. D. L. P. et al. Free radicals and the main dietary antioxidants. **Rev. Nutr.**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 08/1999 1999. ISSN 1415-5273.

Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1415-52731999000200001&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >.

BONDA, C. A.; PAVLOVIC, A. Photostabilizing electronic excited state energy particularly singlet state energy from UV-absorbing molecule has been found to be readily transferred to alpha-cyanodiphenylacrylate compounds having an alkoxy radical in four position on phenyl

rings; increases UV absorbing life of sunscreen agent. United States Patent, US7597825 B2, 200, outubro 6.

BOWMAN, A. et al. The simultaneous detection of mitochondrial DNA damage from sun-exposed skin of three whale species and its association with UV-induced microscopic lesions and apoptosis. **Mitochondrion**, v. 13, n. 4, p. 342-349, 7// 2013. ISSN 1567-7249. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567724913000664> >.

CASTRO, G. T.; BLANCO, S. E.; GIORDANO, O. S. UV Spectral Properties of Benzophenone. Influence of Solvents and Substituents. **Moleucles**, 2000, V5, Disponível em: < <http://core.kmi.open.ac.uk/display/17456356> >.

CASTRO, I. A. **Expressão da proteína P53 em diferentes níveis de fotoenvelhecimento da pele**. 2007. 75 (Mestrado). Programa de Pos-Graduação em Medicina:Ciências medicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

CHEN, L.; HU, J. Y.; WANG, S. Q. The role of antioxidants in photoprotection: A critical review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 67, n. 5, p. 1013-1024, 01/11/2012 2012. ISSN 0190-9622.

Disponível em: < <http://www.jaad.org/article/S0190962212001314/abstract> >

COUFALOVA, L. et al. New propanoyloxy derivatives of 5beta-cholan-24-oic acid as drug absorption modifiers. **Steroids**, v. 78, n. 5, p. 435-53, May 2013. ISSN 0039-128x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2013.02.001> >.

CRIADO, C.; MOYA, M. **Vitaminas y Antioxidantes**. Madrid: Sanidad y Ediciones, 2009.

CÉSARINI, J. P. et al. Immediate effects of UV radiation on the skin: modification by an antioxidant complex containing carotenoids. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 19, n. 4, p. 182-189, 2003. ISSN 1600-0781.

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0781.2003.00044.x> >.

DAMIANI, E. et al. Changes in ultraviolet absorbance and hence in protective efficacy against lipid peroxidation of organic sunscreens after UVA irradiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 82, n. 3, p. 204-213, 3/1/ 2006. ISSN 1011-1344.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134405002381> >.

DE LAURENTIIS, E. et al. Photochemical processes involving the UV absorber benzophenone-4 (2-hydroxy-4-methoxybenzophenone-5-sulphonic acid) in aqueous solution: Reaction pathways and implications for surface waters. **Water Research**, v. 47, n. 15, p. 5943-5953, 10/1/ 2013. ISSN 0043-1354.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135413005897> >.

DEFLANDRE, A.; LANG, G. Photostability assessment of sunscreens. Benzylidene camphor and dibenzoylmethane derivatives. **Int J Cosmet Sci**, v. 10, n. 2, p. 53-62, Apr 1988. ISSN 0142-5463 (Print)0142-5463. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-2494.1988.tb00002.x> >.

DIFFEY, B. L. A method for broad spectrum classification of sunscreens. **Int J Cosmet Sci**, v. 16, n. 2, p. 47-52, Apr 1994. ISSN 0142-5463 Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-2494.1994.tb00082.x> >.

DURE, L. S.; CORMIER, M. J. Studies on the bioluminescence of *balanoglossus biminiensis* extracts. 3. a kinetic comparison of luminescent and nonluminescent peroxidation reactions and a proposed mechanism for peroxidase action. **J Biol Chem**, v. 239, p. 2351-9, Jul 1964. ISSN 0021-9258 (Print)0021-9258. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

ECVAM. 3T3 Neutral Red Uptake (NRU) Phototoxicity Assay DB-ALM Protocol n° 78. 2014.

Disponível em: < http://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu/public_view_doc2.cfm?id=736F27E9E9F7A9D869FB48087878D2497180BB0BC12CB10496CDA74B54630A05A3291B895581F634 >.

FOURTANIER, A.; MOYAL, D.; SEITE, S. Sunscreens containing the broad-spectrum UVA absorber, Mexoryl SX, prevent the cutaneous detrimental effects of UV exposure: a review of clinical study results. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v. 24, n. 4, p. 164-74, Aug 2008. ISSN 0905-4383. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0781.2008.00365.x> >.

FRYER, M. J. EVIDENCE FOR THE PHOTOPROTECTIVE EFFECTS OF VITAMIN E. **Photochemistry and Photobiology**, v. 58, n. 2, p. 304-312, 1993. ISSN 1751-1097. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.1993.tb09566.x> >.

GASPAR, L. R.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Photostability and efficacy studies of topical formulations containing UV-filters combination and vitamins A, C and E. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 343, n. 1-2, p. 181-189, 10/1/ 2007. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517307004541> >.

GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 307, n. 2, p. 123-128, 1/13/ 2006. ISSN 0378-5173. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517305006496> >.

GASPAR, L. R. et al. Skin phototoxicity of cosmetic formulations containing photounstable and photostable UV-filters and vitamin A palmitate. **Toxicology in Vitro**, v. 27, n. 1, p. 418-425, 2// 2013. ISSN 0887-2333. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S088723331200210X> >.

GEHRING, W.; FLUHR, J.; GLOOR, M. Influence of vitamin E acetate on stratum corneum hydration. **Arzneimittelforschung**, v. 48, n. 7, p. 772-5, Jul 1998. ISSN 0004-4172 (Print)0004-4172. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

GONZALEZ, H. Percutaneous absorption with emphasis on sunscreens. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 9, n. 4, p. 482-488, 2010. ISSN 1474-905X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/B9PP00149B> >.

GUPTA, V. K.; ZATZ, J. L.; REREK, M. Percutaneous absorption of sunscreens through micro-yucatan pig skin in vitro. **Pharm Res**, v. 16, n. 10, p. 1602-7, Oct 1999. ISSN 0724-8741 (Print)0724-8741. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

GUSTAVSSON GONZALEZ, H.; FARBROT, A.; LARKO, O. Percutaneous absorption of benzophenone-3, a common component of topical sunscreens. **Clin Exp Dermatol**, v. 27, n. 8, p. 691-4, Nov 2002. ISSN 0307-6938 (Print)0307-6938. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

HAYDEN, C. G. J.; ROBERTS, M. S.; BENSON, H. A. E. Systemic absorption of sunscreen after topical application. **The Lancet**, v. 350, n. 9081, p. 863-864, 9/20/ 1997. ISSN 0140-6736.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673605620326> >.

HAYWOOD, R. et al. Sunscreens Inadequately Protect Against Ultraviolet-A-Induced Free Radicals in Skin: Implications for Skin Aging and Melanoma? , v. 121, n. 4, p. 862-868, 09/25/online 2003. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1747.2003.12498.x> >.

HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; SKOOG, D. A. **Análise Instrumental**. Bookman companhia editora LTDA, 1056 p, 2009.

HRDLOVIC, P.; BELLUS, D. Effect of Substituents on Ultraviolet Absorption Spectra of Derivatives of o-Hydroxybenzophenone. **CHEMICÉ ZVESTI**, v. 22, p. 508-513, 1968. Disponível em: < http://www.chempap.org/file_access.php?file=227a508.pdf >..

INFANTOZZI COSTA, V. A. **ANATOMIA HUMANA**. Ribeirão Preto: 2014. v25

Disponível em: < http://neurociencia.tripod.com/labs/lela/textos/APOSTILA_ANATOMIA_HUMANA.pdf >.

JANJUA, N. R. et al. Systemic Absorption of the Sunscreens Benzophenone-3, Octyl-Methoxycinnamate, and 3-(4-Methyl-Benzylidene) Camphor After Whole-Body Topical Application and Reproductive Hormone Levels in Humans. **J Investig Dermatol**, v. 123, n. 1, p. 57-61, 07//print 2004. ISSN 0022-202X.

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.0022-202X.2004.22725.x> >.

JANSEN, R. et al. Photoprotection: Part II. Sunscreen: Development, efficacy, and controversies. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 69, n. 6, p. 867.e1-867.e14, 12// 2013. ISSN 0190-9622.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962213008955> >.

JIANG, R. et al. Absorption of sunscreens across human skin: an evaluation of commercial products for children and adults. **Br J Clin Pharmacol**, v. 48, n. 4, p. 635-7, Oct 1999. ISSN 0306-5251 (Print)1365-2125 (Electronic).

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2125.1999.00056.x> >.

KEJLOVÁ, K. et al. Phototoxicity of bergamot oil assessed by in vitro techniques in combination with human patch tests. **Toxicology in Vitro**, v. 21, n. 7, p. 1298-1303, 10// 2007. ISSN 0887-2333.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233307001671> >.

KERDIVEL, G. et al. Estrogenic potency of benzophenone UV filters in breast cancer cells: proliferative and transcriptional activity substantiated by docking analysis. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e60567, 2013. ISSN 1932-6203.

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0060567> >.

KHDAIR, A. et al. Nanoparticle-mediated combination chemotherapy and photodynamic therapy overcomes tumor drug resistance. **Journal of Controlled Release**, v. 141, n. 2, p. 137-144, 1/25/ 2010. ISSN 0168-3659.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365909006208> >.

KHOZA, P.; ANTUNES, E.; NYOKONG, T. Synthesis and photophysicochemical properties of zinc phthalocyanine derivatized with benzothiazole or carbazole photosensitizers. **Polyhedron**, v. 61, n. 0, p. 119-125, 9/18/ 2013. ISSN 0277-5387. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277538713004312> >.

_____. Photophysicochemical behavior of carbazole derivatized zinc phthalocyanine in the presence of ZnO microparticles and when embedded in electrospun fibers. **Dyes and Pigments**, v. 104, n. 0, p. 57-66, 5// 2014. ISSN 0143-7208. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0143720813004968> >.

KOCKLER, J. et al. Photostability of sunscreens. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 13, n. 1, p. 91-110, 3// 2012. ISSN 1389-5567. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389556711001043> >.

KODA, T. et al. Uterotrophic effects of benzophenone derivatives and a p-hydroxybenzoate used in ultraviolet screens. **Environmental Research**, v. 98, n. 1, p. 40-45, 5// 2005. ISSN 0013-9351.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935104001008> >.

LEWICKA, Z. A. et al. Photochemical behavior of nanoscale TiO₂ and ZnO sunscreen ingredients. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 263, n. 0, p. 24-33, 7/1/ 2013. ISSN 1010-6030.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1010603013001810> >.

LIANG, M. et al. New organic photosensitizers incorporating carbazole and dimethylarylamine moieties for dye-sensitized solar cells. **Renewable Energy**, v. 36, n. 10, p. 2711-2716, 10// 2011. ISSN 0960-1481.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960148111001170> >.

LIEBSCH, M. et al. UV-induced effects. **Altern Lab Anim**, v. 33 Suppl 1, p. 131-46, Jul 2005. ISSN 0261-1929 (Print)0261-1929. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

LITVINOV, V. A. et al. SIMS investigation of the influence of ultraviolet irradiation on amino acids. **Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics**, v. 74, n. 2, p. 183-187, 2010/02/01 2010. ISSN 1062-8738. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3103/S1062873810020188> >.

MCMURRY, J. **Química orgânica**. Editora Cengage learning, 1280 p, 2004.

MCVEAN, M.; LIEBLER, D. C. Prevention of DNA photodamage by vitamin E compounds and sunscreens: roles of ultraviolet absorbance and cellular uptake. **Mol Carcinog**, v. 24, n. 3, p. 169-76, Mar 1999. ISSN 0899-1987 (Print)0899-1987. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

MENAA, F.; MENAA, A. Chapter 64 - Skin Photoprotection by Polyphenols in Animal Models and Humans. In: WATSON, R. R.; PREEDY, V. R., et al (Ed.). **Polyphenols in Human Health and Disease**. San Diego: Academic Press, 2014. p.831-838. ISBN 978-0-12-398456-2.

MEYER, T. A.; BEASLEY, D. G. Enhanced photostability of sun care compositions containing avobenzone, França, WO2009108653 A1, 2009, setembro,3.

MTURI, G. J.; MARTINCIGH, B. S. Photostability of the suncreening agent 4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane (avobenzone) in solvents of different polarity and proticity. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 200, n. 2-3, p. 410-420, 12/15/ 2008. ISSN 1010-6030.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1010603008003870> >.

NASH, J. F. Human Safety and Efficacy of Ultraviolet Filters and Sunscreen Products. **Dermatologic Clinics**, v. 24, n. 1, p. 35-51, 1// 2006. ISSN 0733-8635. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733863505001129> >.

NASH, J. F.; TANNER, P. R.; MATTS, P. J. Ultraviolet A Radiation: Testing and Labeling for Sunscreen Products. **Dermatologic Clinics**, v. 24, n. 1, p. 63-74, 1// 2006. ISSN 0733-8635.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733863505001038> >.

NICHOLS, J.; KATIYAR, S. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. **Archives of Dermatological Research**, v. 302, n. 2, p. 71-83, 2010/03/01 2010. ISSN 0340-3696.

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00403-009-1001-3> >.

OKEREKE, C. S.; ABDEL-RHAMAN, M. S.; FRIEDMAN, M. A. Disposition of benzophenone-3 after dermal administration in male rats. **Toxicology Letters**, v. 73, n. 2, p. 113-122, 8// 1994. ISSN 0378-4274.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378427494901015> >.

OSIPOV, A. N. et al. The formation of DNA single-strand breaks and alkali-labile sites in human blood lymphocytes exposed to 365-nm UVA radiation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 73, n. 0, p. 34-40, 8// 2014. ISSN 0891-5849.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584914001993> >.

OSTERWALDER, U.; HERZOG, Q. B. A Sunscreen's Labeled Sun Protection Factor May Overestimate Protection at Temperate Latitudes: A Human In Vivo Study. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 130, n. 10, p. 2457 - 2462, 2010.

Disponível em: < <http://www.skin-care-forum.basf.com/en/artikel/home/sustainable-sun-protection-with-sunscreens-requires-the-right-technology-and-good-compliance/2012/12/06?id=0c6a77ff-2f4c-44cf-ae77-faae9214ed0f&mode=Detail> >.

PAIVA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introdução a espectroscopia**. 4a Edição. Cenage learning, 2010.

PARIS, C. et al. A Blocked Diketo Form of Avobenzone: Photostability, Photosensitizing Properties and Triplet Quenching by a Triazine-derived UVB-filter. **Photochemistry and Photobiology**, v. 85, n. 1, p. 178-184, 2009. ISSN 1751-1097. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00414.x> >.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. F. L. **Purification of laboratory chemicals**. 3th. elsevier, 2014. 752 ISBN 978-1-85617-567-8.

Disponível em: < [http://www.pyrobin.com/files/purification%20of%20laboratory%20chemicals%206e%20\(elsevier,%202009\).pdf](http://www.pyrobin.com/files/purification%20of%20laboratory%20chemicals%206e%20(elsevier,%202009).pdf) >.

RIBEIRO, C. M. R.; SOUZA, N. Â. D. Esquema geral para elucidação de substâncias orgânicas usando métodos espectroscópico e espectrométrico. 2014.

Disponível em: < <http://www.readcube.com/articles/10.1590/S0100-40422007000400047?tab=summary> >.

SALVADOR, A.; CHISVERT, A. Sunscreen analysis: A critical survey on UV filters determination. **Analytica Chimica Acta**, v. 537, n. 1-2, p. 1-14, 4/29/ 2005. ISSN 0003-2670.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267005001169> >.

SCHLUMPF, M. et al. Endocrine activity and developmental toxicity of cosmetic UV filters—an update. **Toxicology**, v. 205, n. 1-2, p. 113-122, 12/1/ 2004. ISSN 0300-483X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X04003713> >.

SCHMIDT, A. W.; REDDY, K. R.; KNOLKER, H. J. Occurrence, biogenesis, and synthesis of biologically active carbazole alkaloids. **Chem Rev**, v. 112, n. 6, p. 3193-328, Jun 13 2012. ISSN 0009-2665. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/cr200447s> >.

SCHWACK, W.; RUDOLPH, T. Photochemistry of dibenzoyl methane UVA filters Part 1. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 28, n. 3, p. 229-234, 6// 1995. ISSN 1011-1344. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/101113449507118L> >.

SERPONE, N.; DONDI, D.; ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, n. 3, p. 794-802, 2/15/ 2007. ISSN 0020-1693.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020169306000259> >.

SHAATH, N. A. Ultraviolet filters. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 9, n. 4, p. 464-469, 2010. ISSN 1474-905X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/B9PP00174C> >.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Ed LTC, 2000.

SINGH, S.; KUMAR, S. Numerical study on triple layer skin tissue freezing using dual phase lag bio-heat model. **International Journal of Thermal Sciences**, v. 86, n. 0, p. 12-20, 12// 2014. ISSN 1290-0729.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S129007291400177X> >.

STAHL, W.; SIES, H. Chapter 29 Protection against solar radiation — protective properties of antioxidants. In: PAOLO, U. G. (Ed.). **Comprehensive Series in Photosciences**: Elsevier, v. Volume 3, 2001. p.561-572. ISBN 1568-461X.

STRASSBURG, C. P. et al. Developmental aspects of human hepatic drug glucuronidation in young children and adults. **Gut**, v. 50, n. 2, p. 259-65, Feb 2002. ISSN 0017-5749 (Print)1458-3288 (Electronic). Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

SUPPAN, P. Invited review solvatochromic shifts: The influence of the medium on the energy of electronic states. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 50, n. 3, p. 293-330, 1// 1990. ISSN 1010-6030. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/1010603090870213> >.

THIELE, J. J.; EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, S. Vitamin E in human skin: organ-specific physiology and considerations for its use in dermatology. **Mol Aspects Med**, v. 28, n. 5-6, p. 646-67, Oct-Dec 2007. ISSN 0098-2997 (Print)0098-2997. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2007.06.001> >.

THORPE, G. H. G.; KRICKA, L. J. [29] Enhanced chemiluminescent reactions catalyzed by horseradish peroxidase. In: MARLENE A. DELUCA, W. D. M. (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, v. Volume 133, 1986. p.331-353. ISBN 0076-6879.

TSEKHANSKII, R. S. Absorption spectra of benzophenone derivatives containing donor groups - Springer. **Journal of Applied Spectroscopy** v. 5, n. 3, p. 237-241, 1968. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1007/BF00605834> >.

TZANOVA, T. et al. Synthesis and antioxidant potential of novel synthetic benzophenone analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 6, p. 2724-2730, 6// 2009. ISSN 0223-5234.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523408004169> >.

TØNNESEN, H. H. **PHOTOSTABILITY OF DRUGS AND DRUG FORMULATIONS Second Edition - 52.pdf**. Second. London, England: 2014.

Disponível em: < http://ajprd.com/download/books_pdf/52.pdf >.

URBACH, F. The historical aspects of sunscreens. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 64, n. 2–3, p. 99-104, 11/15/ 2001. ISSN 1011-1344.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134401002020> >.

WATANABE, T. et al. Palladium-catalyzed direct synthesis of carbazoles via one-pot N-arylation and oxidative biaryl coupling: synthesis and mechanistic study. **J Org Chem**, v. 74, n. 13, p. 4720-6, Jul 3 2009. ISSN 0022-3263.

Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jo9003376> >.

WELSS, T.; BASKETTER, D. A.; SCHRÖDER, K. R. In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models. **Toxicology in Vitro**, v. 18, n. 3, p. 231-243, 6// 2004. ISSN 0887-2333.

Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233303001838> >.