

## Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético

Luciana Scotti<sup>1\*</sup>, Marcus Tullius Scotti<sup>2</sup>, Carmen Cardoso<sup>3</sup>, Patrícia Pauletti<sup>3</sup>,  
Ian Castro-Gamboa<sup>3</sup>, Vanderlan da Silva Bolzani<sup>3</sup>, Maria Valéria Robles Velasco<sup>1</sup>,  
Carla Maria de Souza Menezes<sup>1</sup>, Elizabeth Igne Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil,

<sup>2</sup>Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil, <sup>3</sup>Instituto de Química, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Araraquara-SP, Brasil

*Várias hipóteses e constantes estudos são realizados com o intuito de elucidar o envelhecimento cutâneo. Para prevenir e contornar este processo torna-se necessário reforçar nossas defesas naturais antioxidantes endógenas. Diversas substâncias antioxidantes exógenas, como vitaminas, extratos vegetais, dentre outras, são utilizadas pela Cosmetologia nos produtos antienvelhecimento. O objetivo deste artigo é apresentar de que forma a Modelagem Molecular pode ser uma ferramenta útil na pesquisa por novas substâncias cosméticas antioxidantes para combater o envelhecimento cutâneo.*

### Unitermos

- Antioxidante
- Cosmético
- Antienvelhecimento
- Modelagem molecular

### \*Correspondência:

L. Scotti  
Rua Laudelino de Abreu, 259  
05367-030 - São Paulo - SP, Brasil  
Email - lscotti@dialdata.com.br

## INTRODUÇÃO

Os estudos das propriedades antienvelhecimento das substâncias ativas vêm despertando muito interesse de pesquisadores, considerando o aumento da expectativa de tempo de vida observado nas últimas décadas e a busca da qualidade de vida durante o processo de envelhecimento (IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística, 2004).

A diminuição da elasticidade do epitélio era associada à rigidez protéica da matriz extracelular, resultante da polimerização do colágeno com a elastina. Porém, estudo recente *in vitro* recentemente realizado com o uso de microscopia atômica-AFM (*Atomic Force Microscopy*) atribuiu a rigidez excessiva das células epiteliais ao aumento da densidade das fibras do citoesqueleto com o decorrer da idade (Berdyeva *et al.*, 2005). Entretanto, um das principais razões apontadas pelos pesquisadores como responsável pelo processo de envelhecimento é o

desequilíbrio do mecanismo de defesa antioxidante de nosso organismo (Magalhães, 2000).

Antioxidantes referem-se a substâncias que têm por característica diminuir ou bloquear as reações de oxidação induzidas pelos radicais livres. Naturalmente, nosso organismo possui substâncias que têm por objetivo estabelecer um equilíbrio harmônico entre a presença das moléculas oxidantes, as antioxidantes e a pele. Esta última, por sua área extensa e função protetora do organismo ao meio, fica muito exposta ao ataque radicalar, sendo a defesa antioxidante constantemente requisitada. Desta forma, é preocupação constante da Cosmetologia prevenir e atenuar o envelhecimento cutâneo por meio da busca e do estudo de substâncias antioxidantes eficazes, que são oferecidas em produtos cosméticos aos consumidores (Magalhães, 2000). Os dermatologistas procuram formas alternativas de promover fotoproteção efetiva aos seus pacientes, principalmente contra o neoplasma cutâneo induzido pela ra-

dição ultravioleta (UV). Novas substâncias antioxidantes como polifenóis do chá verde, alfa-MSH, genisteína, oligonucleotídeos descodificados por NF-KB, vacinas pTpT e IL-12 encontram-se em pesquisa para este fim (Ting *et al.*, 2003).

Nesta pesquisa, a Modelagem Molecular foi associada a Cosmetologia como método de pesquisa inovador, possibilitando estudos avançados na descoberta por novas moléculas antioxidantes.

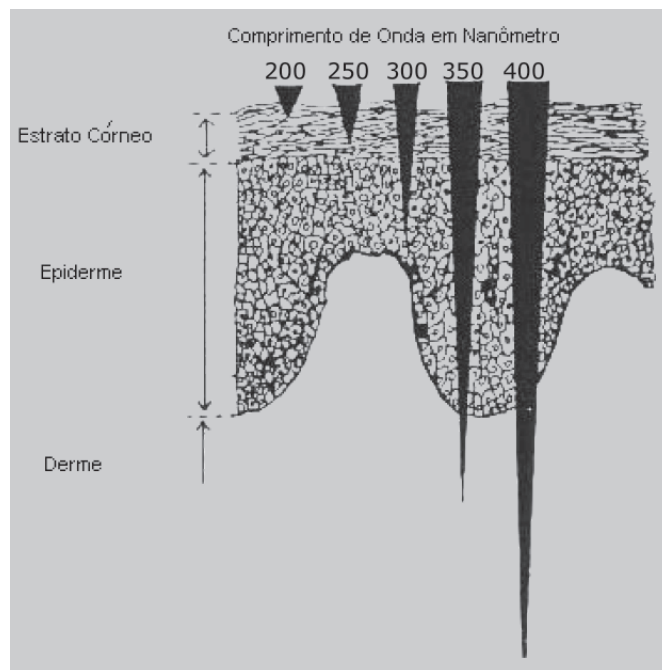
A modelagem molecular constitui-se em ferramenta do planejamento racional envolvendo a compreensão da interação ao nível molecular de uma substância com seu receptor, sob os pontos de vista quali e quantitativo. Permite que se analise profundamente, não só a estrutura molecular compreendida em determinado sistema biológico, como também fornece meios para prever a potencialidade de moléculas candidatas a compostos bioativos. De forma simplificada, pode ser considerada como conjunto de técnicas computadorizadas baseadas em métodos de química teórica e/ou dados experimentais (Cohen, 1996).

### Substâncias antioxidantes cosméticas

Uma das maiores causas do envelhecimento cutâneo é a desorganização do mecanismo de defesa antioxidante, provocando doenças na pele, resultado das condições causadas por esse desequilíbrio e que são conseqüências de danos a estruturas nela presentes, como lipídios, proteínas e DNA. Estima-se que cerca de 80% dos sinais visíveis causados no envelhecimento são provocados pelos raios ultravioletas e pelos radicais livres formados devido à exposição a estes (Buchli, 2002).

Os raios solares contêm a radiação ultravioleta A, B e C. Os raios UVC incidem num comprimento de onda entre 180 nm e 290 nm, os UVB entre 290 e 320 nm e os UVA entre 320 e 400 nm. A radiação UVC praticamente não atinge a superfície terrestre, sendo retida pela camada de ozônio, porém essa barreira natural está sendo destruída devido à poluição e a emissão de clorofluorcarbono. As radiações UVA e UVB estimulam a formação de radicais livres, ainda não se tem certeza qual das duas provoca mais o aparecimento destas moléculas. Sabe-se que juntas são mais danosas que isoladamente e que o estresse oxidativo provocado por elas nas camadas da pele depende da penetração dos raios, como exibido na Figura 1 (Shaath, 1997; Magalhães, 2000).

A aplicação tópica de antioxidantes reduz os danos oxidativos induzidos pela radiação UV. Porém, essa proteção será mais eficaz se ocorrer penetração destas substâncias antioxidantes em camadas mais profundas do estrato córneo. Dentre as substâncias ativas utilizadas atual-

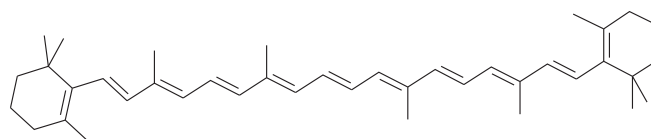


**FIGURA 1** - Representação de diferentes comprimentos de onda (nm) e a respectiva penetração na pele humana: estrato córneo, epiderme e derme (Shaath, 1997).

mente em produtos cosméticos com ação antienvhecimento, citamos:

### Carotenóides

Os carotenóides formam um grupo com mais de 600 compostos com aproximadamente 40 átomos de carbono (Fuchs, 1998; Cèsarini *et al.*, 2003).



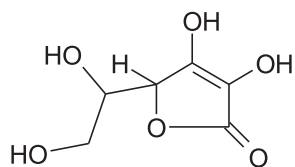
trans-beta-caroteno

Seu mecanismo de ação antioxidante ocorre com a neutralização do oxigênio singlete e formação do carotenóide triplete, reduzindo o estresse oxidativo. O oxigênio singlete é formado através da excitação do oxigênio do ar pelos raios ultravioletas e dá origem a outras espécies radiculares como o ânion superóxido e o radical hidroxila. O carotenóide triplete perde a energia na forma de calor, retornando ao seu estado original (Fuchs, 1998; Cèsarini *et al.*, 2003).

Muitos estudos demonstram os efeitos benéficos dos carotenóides, principalmente do  $\beta$ -caroteno, que é um precursor da vitamina A. Através da sua ingestão oral

ocorre redução das lesões celulares, aumentando a fotoproteção (Fuchs, 1998; Cèsarini *et al.*, 2003).

### Vitamina C



ácido ascórbico

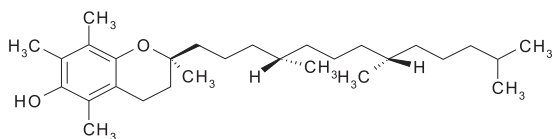
É um antioxidante hidrossolúvel, potente agente redutor e atua em inúmeras reações de hidroxilação. É capaz de reagir diretamente com os radicais peróxidos e regenerar a vitamina E da membrana oxidada, o tocoferoxil em tocoferol, oxidando-se e formando a molécula de diidroascorbato. Os níveis de vitamina C na epiderme atingem até cinco vezes ao da derme. Em adição, o ácido ascórbico possui a propriedade de estimular a síntese de colágeno (Fuchs, 1998).

A peroxidação lipídica do estrato córneo provocada por radiação UV foi mensurada e a ação antioxidante do ácido ascórbico inibitória desse processo foi detectada pelo desaparecimento de subprodutos por meio da espectroscopia de massa. Ocorreu diminuição da concentração de radicais livres hidroxila na presença de ácido ascórbico (Trommer *et al.*, 2002).

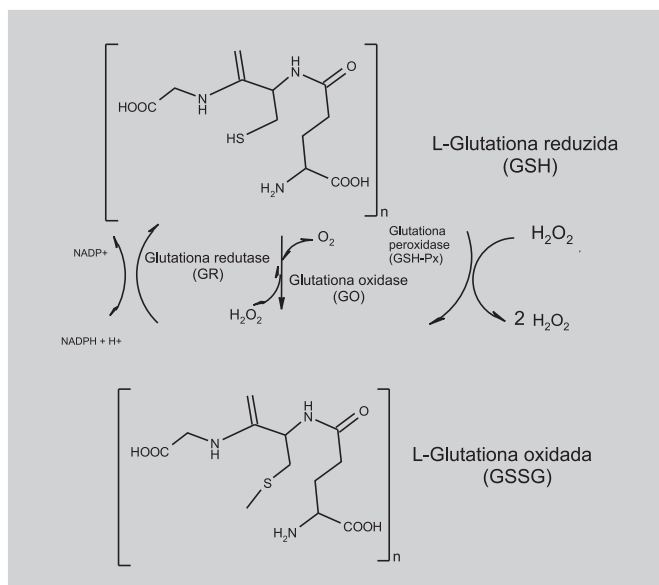
### Glutaciona

Na Figura 2 observamos as formas oxidada e reduzida da glutaciona, sob ação das enzimas glutaciona peroxidase, redutase e oxidase. A Glutaciona é um agente redutor de numerosas enzimas, entre elas, a glutaciona peroxidase e a fosfolípido hidroperóxido glutaciona peroxidase. Como agente antioxidante, atua por inibição direta de espécies moleculares contendo oxigênio reativo e age como doador de hidrogênio a outros antioxidantes. A cisteína, um dos substratos da  $\gamma$ -glutamilcisteína-sintetase, enzima que transforma este aminoácido em glutaciona (GSH), é freqüentemente o fator limitante neste processo (Júnior *et al.*, 2001).

A glutaciona é fracamente absorvida por via tópica,



$\alpha$ - tocoferol



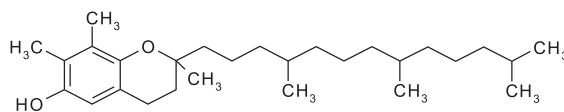
**FIGURA 2** – Interconversão da glutaciona nas formas oxidada e reduzida pela ação das enzimas glutaciona peroxidase, redutase e oxidase (JÚNIOR *et al.*, 2001).

sendo que os melhores resultados em produtos cosméticos antioxidantes têm sido obtidos quando empregados derivados da GSH, como GSH-metiléster, GSH-etiléster e GSH-isopropiléster (Okigami, 2001).

### Vitamina E

Existem 4 isômeros da molécula do tocoferol,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ , sendo que a forma de maior poder antioxidante é a  $\gamma$ . Entretanto, esta não se encontra disponível no mercado para a elaboração de produtos cosméticos e a forma utilizada é o  $\alpha$ -tocoferol, que é fotossensível (Fuchs, 1998).

Graças a sua cadeia isoprenóide lateral, os fosfolípidos se integram à membrana celular, com uma face em contato com a água e outra lipídica, e pode, dessa forma, captar o elétron excedente dos radicais livres, oxidando-se e protegendo a membrana celular. Com o objetivo de aumentar a estabilidade do  $\alpha$ -tocoferol, a molécula pode ser oxidada ou esterificada originando os derivados  $\alpha$ -tocoferol-quinona e  $\alpha$ -tocoferol-succinato. Posteriormente, estes derivados são biotransformados no fígado, disponibilizando seu caráter antioxidante e elevando a biodisponibilidade do  $\alpha$ -tocoferol *in vivo*. A ação anti-

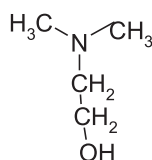


$\gamma$ - tocoferol

oxidante do  $\alpha$ -tocoferol se dá tanto por neutralização das formas radiculares, inibindo a peroxidação lipídica, como por inibição direta da peroxidação lipídica (Okigami, 2001).

O radical  $\alpha$ -tocoferoxil formado após a neutralização dos radicais livres pode, na presença de ubiquinol, se reconstituir à sua forma fenólica e retornar ao seu potencial antioxidante. O ubiquinol, por sua vez, se transforma em sua forma oxidada, a ubiquinona. Do mesmo modo, a molécula de  $\alpha$ -tocoferoxil, na presença de selênio ou enxofre, pode reagir com o ascorbato, que se transforma no radical ascorbil, e recuperar a forma antioxidante. O  $\alpha$ -tocoferoxil pode também ser neutralizado ao reagir com outra espécie radicalar, resultando em molécula não reativa (Okigami, 2001).

#### Dimetilaminoetanol (DMAE)



Dimetilaminoetanol (DMAE)

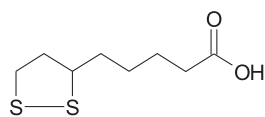
O dimetilaminoetanol (DMAE) confere resistência e estabilidade para a membrana das células plasmáticas, influência na síntese do ácido aracdônico e dos mediadores pró-inflamatórios. Inicialmente, foi usado como um suplemento alimentício (Cole *et al.*, 2002).

A ação do DMAE é controversa. Alguns autores acreditam se relacionar à produção de acetilcolina, a partir de colina e acetil-CoA por meio da ação da colina acetiltransferase. Com o aumento da produção e liberação de acetilcolina, acredita-se ocorrer aumento no tônus muscular. Na verdade, estudos devem ser realizados comprovando este efeito (Cole *et al.*, 2002).

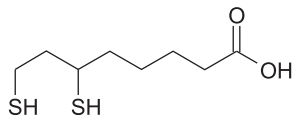
Na atualidade, muitos produtos cosméticos oferecem ao consumidor uma formulação mista com aminoácidos, ácido carboxipirrolidônico, ésteres de vitamina C, ácido  $\alpha$ -lipóico. Promovem firmeza da pele, atenuação de rugas, aparência jovial e suavidade (Cole *et al.*, 2002).

O aparecimento de leve irritação cutânea pode surgir durante as primeiras quatro semanas de uso tópico do DMAE (Cole *et al.*, 2002).

#### Ácido $\alpha$ -lipóico



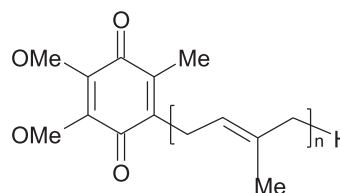
Ácido  $\alpha$ -lipóico



Ácido  $\alpha$ -lipóico reduzido

Encontrado em todas as células do organismo, o ácido  $\alpha$ -lipóico possui elevado poder antioxidante, sendo capaz de potencializar os efeitos antioxidantes de outras vitaminas, como o ácido ascórbico. Ação antiinflamatória é também registrada na literatura. O ácido  $\alpha$ -lipóico apresenta características hidro- e lipossolúveis, influenciando o metabolismo celular na eliminação de resíduos tóxicos. Auxilia na recuperação de lesões, na absorção de nutrientes, na quelação de metais de transição e na inibição da ativação do fator NFk-B (*Nuclear Factor Kappa Beta*), que induz à produção de citocinas e a quimiotaxia, inibindo a resposta inflamatória. Em adição, ainda impede e/ou reverte as reações entre o colágeno e a glicose (Magalhães, 2000).

#### Coenzima Q



coenzima Q

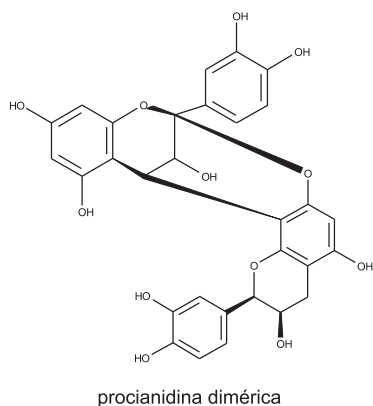
A coenzima Q é um derivado das quinonas, que apresentam natureza lipossolúvel e possuem de 1 a 12 unidades isoprenóides (n). A ubiquinona (quinona em que n=10) ou coenzima-Q é a mais comum em humanos e exerce sua atividade antioxidante através da transferência de prótons da membrana mitocondrial, neutralizando radicais reativos de oxigênio e prevenindo os danos nas biomoléculas (Magalhães, 2000).

#### Extratos Vegetais

Os vegetais são ricos em substâncias antioxidantes e atribui-se esta característica ao processo evolutivo destas espécies como proteção natural aos radicais livres formados pela radiação UV necessária à fotossíntese. Diversos extratos vegetais quando aplicados em modelos animais ou cultura de células neutralizam a reatividade radicalar, diminuindo lesões celulares, a proteínas, lipídeos, ácidos graxos. Alguns destes compostos encontrados e extraídos de vegetais são os polifenóis, os flavonóides, os organossulfídeos e os indóis. Os compostos fenólicos formam o maior grupo de antioxidante extraído de vegetais, neutralizando a reatividade radicalar através da doação de um átomo de hidrogênio; mecanismo explicado com maiores detalhes na seção sobre estrutura-atividade (F'Guyer *et al.*, 2003; Nikolic, 2006).

Os compostos fenólicos são polares e encontram-se

nos vegetais sob a forma de polímeros, na qual estão os taninos e as ligninas. Os taninos hidrolisáveis contêm um núcleo central de glicose ou um álcool poliídrico, esterificado com ácido gálico ou elágico, e são prontamente hidrolisáveis com ácidos, bases ou enzimas. Os taninos condensados, presentes no vinho tinto, são precursores das procianidinas, formando posteriormente dímeros (Soares, 2002).



O chá verde ou preto extraído da espécie *Camellia sinensis* consistiu um extrato vegetal rico em antioxidantes. Existe uma grande variação na sua composição, mas de forma geral apresentam catequinas (epigallocatequina, epigallocatequina-3-galato, epicatequina galato e galocatequina). Em adição, no chá também encontramos flavonóides (quercetina, kaempferol, myricantina), cafeína, teofilina, alcalóides (teobromina), ácido polifenólicos e ácido gálico (F'Guyer *et al.*, 2003).

Estudo recente em ratos após administração oral de chá verde e submetidos à radiação UV demonstrou redução dos danos oxidativos e menor indução de metalonoproteínas (MMPs), prevenindo danos oxidativos provocados pela radiação UV (Vayalil *et al.*, 2004).

Muitas espécies vegetais são utilizadas na terapêutica e possuem atividade comprovada cientificamente.

Podemos ainda citar *Ginkgoacea* (*Ginkgo biloba*), *Trifolium pretense*, *Allium sativum*, *Silybum marianum*, entre outros (F'Guyer *et al.*, 2003). Ervas usadas na culinária como alecrim, orégano, canela, sálvia e tomilho também apresentam concentração elevada de antioxidantes (Dragland *et al.*, 2003).

### Determinação experimental da atividade antioxidante

Vários métodos de análise da atividade antioxidante foram desenvolvidos para avaliação do potencial antioxidante de alimentos, fluidos biológicos e outros. São métodos descritos na literatura, que necessitam de equipamentos e técnicas específicas e que medem a atividade antiradicalar desenvolvida em contato com os radicais: 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), ânion superóxido, radical hidroxila, peróxido, dentre outros. O resultado da análise depende da especificidade do radical pelos reagentes da reação de cada método (Adom *et al.*, 2002).

Antioxidantes podem ser hidrossolúveis, lipossolúveis ou ambos; assim a escolha do método de análise deve ser feita conforme a natureza do composto investigado (Adom *et al.*, 2002). A seguir segue a descrição dos métodos mais utilizados na análise da atividade antiradicalar:

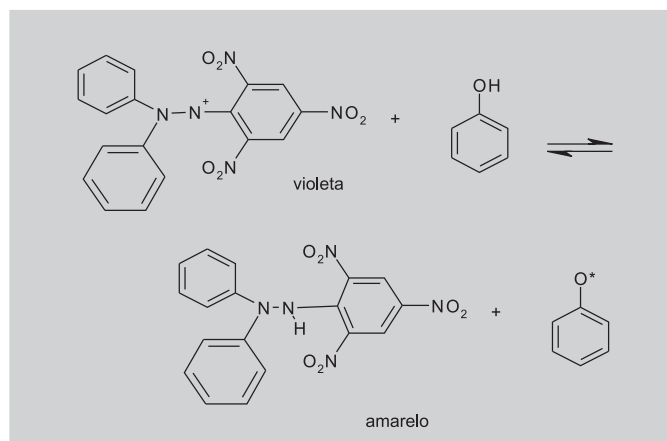
- Quimioluminescência - é amplamente utilizada para avaliar a atividade antioxidante baseando-se nos reagentes da reação de Fenton. Por meio da reação do ferro e EDTA, adicionando-se peróxido de hidrogênio, luminol,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e NaOH a 25 °C. Avalia-se o sinal CL (quimioluminescência). A medição deve iniciar imediatamente após o começo da reação (Cheng *et al.*, 2002; Cheng *et al.*, 2003).
- TBARS (método desoxirribose para avaliação da atividade antioxidante com tiobarbitúrico) - a reação ocorre entre cloreto de ferro II, EDTA, peróxido de hidrogênio, desoxi-ribose,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e NaOH em pH

**TABELA I** – Estruturas químicas de catequinas encontradas no chá (Tasdemir *et al.*, 2006).

	Nome	R	Posição do OH
<p style="text-align: center;">flavan-3-ol</p>	(+)-catequina (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> )	H	3,5,7,3',4'
	(-)-catequina (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	H	3,5,7,3',4'
	(+)-epicatequina (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> )	H	3,5,7,3',4'
	(-)-epicatequina (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> )	H	3,5,7,3',4'
	(-)-galocatequina (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )	H	3,5,7,3',4',5'
	(-)-epigallocatequina (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> )	H	3,5,7,3',4',5'
	(-)-epigallocatequingalato (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> )	'Galloyl'	3,5,7,3',4',5'

7,4. A reação é realizada a 25 °C e, posteriormente, adiciona-se o ácido tricloroacético e ácido tiobarbitúrico. A leitura do sinal de fluorescência depende da extração do cromóforo. Aquece-se a 80 °C por 15 minutos e efetua-se a leitura da absorvância a 532 nm. A grande desvantagem deste método reside na dependência da oxidação do substrato, influenciada pela temperatura, pressão, e outras características do meio (Cheng *et al.*, 2003).

- Reação com DPPH - método baseado na estabilização do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH), não necessitando extração. Como apresentado na Figura 3, a reação é determinada segundo mudança de cor de violeta ao amarelo (Zhang, 1999).



**FIGURA 3** – Reações com DPPH (Cheng *et al.*, 2003).

O procedimento deste ensaio foi descrito por Mensor e colaboradores em que cada solução amostra (2,5 mL) foi acondicionada com 1 mL de solução de DPPH (0,03 mM) nas diferentes concentrações (250-5 µg/mL). Após o tempo de reação de 30 minutos, a absorvância foi lida em 518 nm, segundo a Equação 1:

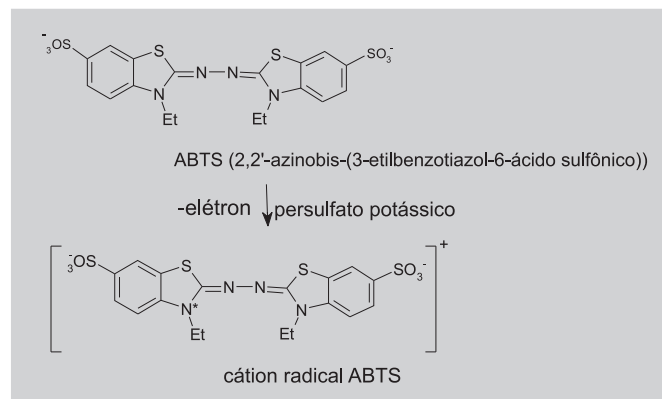
$$\text{Equação 1} \quad \% \text{Inibição} = [(A_B - A_A) / A_B] \times 100$$

onde:  $A_B$  – absorvância da amostra-branco ( $t = 0$  min);  $A_A$  – absorvância do extrato pesquisado ( $t = 30$  min).

Um controle negativo com 2,5 mL de etanol e 1 mL de DPPH e um branco foi realizado para o extrato (2,5 mL) e 1 mL de etanol, foram feitos para todas as concentrações. Os testes foram realizados em triplicata. Os valores das  $IC_{50}$  foram calculados por regressão linear e se obteve o gráfico no qual a abscissa representa a concentração do extrato testado e a ordenada à proporção da porcentagem da atividade antioxidante (Mensor *et al.*, 2001).

Reação com o cátion radicalar ABTS - É outro método espectrofotométrico muito aplicado para analisar

compostos hidrofílicos ou lipofílicos. Este método é bastante utilizado em compostos fenólicos por apresentar propriedades eletrônicas do cátion-radical em doar elétrons e formar ligações de hidrogênio.



**FIGURA 4** - Reações com cátion radical ABTS (Pannala *et al.* 2001).

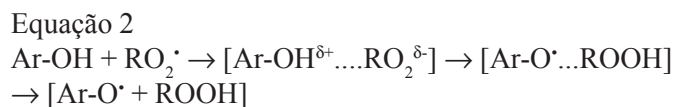
A reação é monitorada por ensaios espectrofotométricos medindo a absorvância a 734 nm, valor característico para detectar a reação do composto em estudo com o cátion ABTS (Pannala *et al.*, 2001). O esquema das reações envolvendo o cátion radicalar ABTS está representado na Figura 4 (Pannala *et al.* 2001).

## RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE (SAR)

O estudo das relações estrutura-atividade de um composto-protótipo e seus análogos auxilia na determinação de quais partes da molécula são responsáveis pela atividade biológica, ou seja, o grupo farmacóforo (Thomas, 2000).

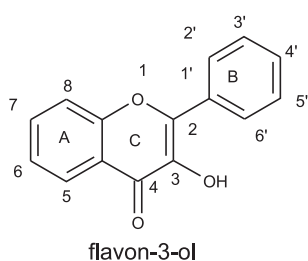
As relações estrutura-atividade geralmente são elaboradas alterando-se parte da estrutura química do protótipo e observando-se qual influência na atividade sob o ponto de vista quali e quantitativo. Pode-se alterar a dimensão e a conformação do esqueleto de carbono, a natureza e o grau de substituição, ou ainda a estereoquímica (Thomas, 2000).

A atividade antioxidante está altamente relacionada à capacidade de doação de elétrons. A etapa de transferência do hidrogênio tem se destacado, mas a atividade antioxidante não depende apenas força de energia da ligação O-H. A estabilização das espécies cátion-radicalar e radicalar formadas também deve ser considerada (Equação 2) (Wright *et al.*, 2001; Cao *et al.*, 2005).

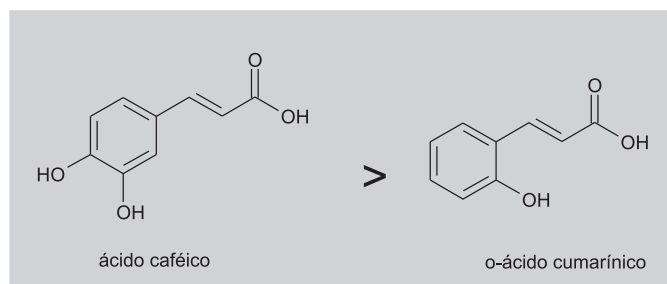


Muitos fatores influenciam a atividade antioxidante dos compostos de natureza fenólica, em especial a posição de substituição e o número de grupos hidroxila (OH), as propriedades de outros grupos substituintes e a possibilidade de formação de ligações de hidrogênio. A posição de substituição da hidroxila no anel fenólico, considerada em relação a uma posição fixa, influencia diretamente a atividade antioxidante. Compostos contendo a hidroxila em *para* (posição 4) são mais ativos do que aqueles substituídos em *orto* ou *meta* (posições 1 e 2, respectivamente) (Pannala *et al.* 2001; Cheng *et al.*, 2002, 2003).

Os flavonóides são os compostos de maior interesse científico entre os fenólicos. A seguir, está representada a fórmula estrutural de um flavonóide, o flavon-3-ol, com a numeração nos carbonos e nomenclatura dos anéis.



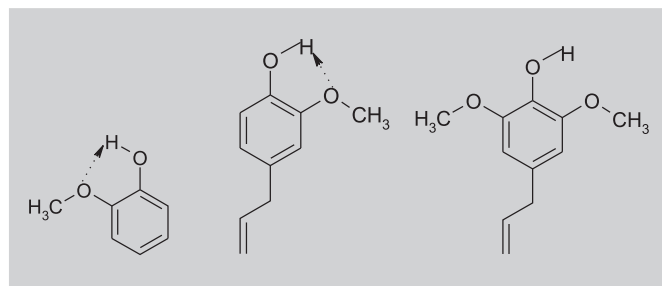
Compostos com dois (mais comum) ou três substituintes grupos hidroxilas no anel benzênico possuem maior atividade antioxidante do que os monohidroxilados, de acordo com a relação apresentada na Figura 5 (Pannala *et al.* 2001; Cheng *et al.*, 2002, 2003).



**FIGURA 5** – Relação da atividade antioxidante de acordo com o número e posições dos grupos hidroxilas (Cheng *et al.*, 2002).

Na presença de grupo hidroxila substituído em posição *orto* e/ou *para* em anel contendo heteroátomo nitrogênio ou oxigênio, a atividade antioxidante é potencializada por efeito de ressonância entre o par de elétrons do tipo p do heteroátomo e o radical fenóxi formado. As moléculas apresentadas na Figura 6 possuem atividade

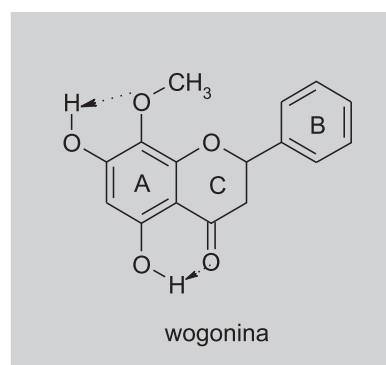
antioxidante comprovada por apresentarem heteroátomo oxigênio em *orto* (Zhang, 1999; Pannala *et al.*, 2001):



**FIGURA 6** – Ligações de hidrogênio na espécie neutra de substâncias contendo oxigênio em grupo substituinte (Zhang, 1999).

As ligações de hidrogênio no composto na forma neutra não aumentam a atividade antioxidante, mas após a abstração do hidrogênio fenólico, estabilizam o radical, favorecendo a ação.

A baixa atividade antioxidante na wogonina, molécula representada na Figura 7, que possui um OH resorcinólico, se deve à estabilização do composto que se encontra em equilíbrio químico estabelecido entre os anéis cromanóide conjugado e anel resorcinólico. De forma análoga, encontramos o equilíbrio entre os grupos OCH<sub>3</sub> e OH (Zhang, 1999; Cheng *et al.*, 2002, 2003).



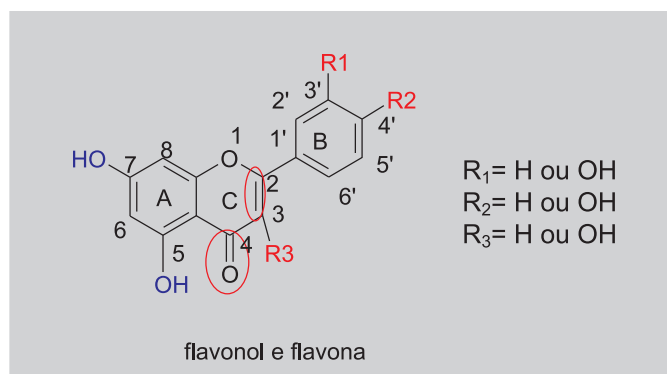
**FIGURA 7** – Estrutura química da wogonina e suas relações intramoleculares (Cheng *et al.*, 2003).

Em 2001, por meio de estudo cinético, Pannala e colaboradores (Pannala *et al.*, 2001) avaliaram a capacidade antioxidante de substâncias derivadas de flavonóides, verificando as seguintes características estruturais em relação à estrutura protótipo apresentada na Figura 8.

- A posição do grupo hidroxila no anel B tem papel importante na presença da atividade antioxidante. Assim,

a posição *para* (C<sub>4'</sub>) favorece essa ação, sendo que será reduzida ou ausente quando o grupo hidroxila estiver em posições *orto* e *meta*. A presença de um segundo grupo hidroxila no anel B potencializa a atividade antioxidante;

- A presença de dissubstituição *o*-diidroxila no anel B e da dupla ligação C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>, conjugada ao grupo 4-oxo (C<sub>4</sub>), no anel C (como observado nas flavonas) é essencial à atividade antioxidante;
- A presença de grupo hidroxila na posição 3 do anel heterocíclico C (C<sub>3</sub>) contribui na atividade antioxidante;
- Grupos hidroxila nas posições 5 e 7 do anel A são de menor importância;
- Compostos diidroxilados possuem maior atividade quando comparados com outros compostos monoidroxilados estudados, mostrando maior conjugação entre o grupo hidroxila da posição 4' e o presente na posição 3 do anel C;



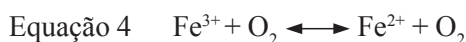
Legenda: Em azul -Substituintes menos importantes à atividade antioxidante; Em vermelho - Substituintes importantes à atividade antioxidante.

**FIGURA 8** – Relação estrutura-atividade de flavonol e flavona (Lien *et al.*; 1999; Pannala *et al.*, 2001).

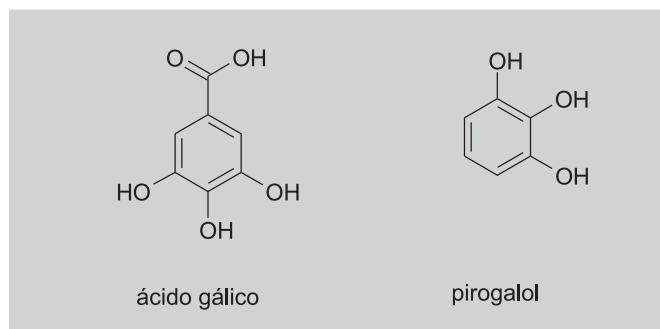
- Compostos com três grupos hidroxilas são mais ativos que os diidroxilados.

Cheng e colaboradores em trabalho que analisou comparativamente a atividade potencial antioxidante de 15 moléculas, por modelagem molecular, observaram a reatividade do ácido gálico e pirogalol (Figura 9). Entretanto, ressaltaram também a elevada atividade pró-oxidante em soluções de pirogalol e ácido gálico devido à pró-oxidação em espécies quinóides, como mostrado no Figura 10 (Pannala *et al.*, 2001; Cheng *et al.*, 2003).

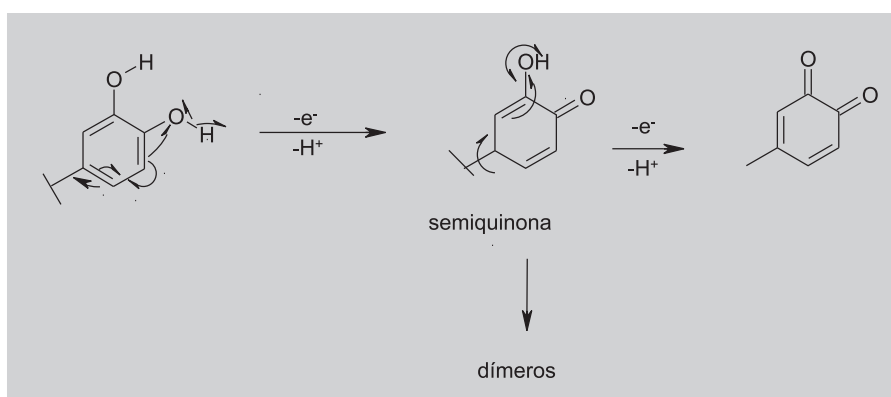
Reportaram a redução do Fe III ao Fe II provocada por estes compostos em incubação, influenciando na reação de Fenton (Equação 3) e formação de radicais OH•. Ocorre, também, auto-oxidação, produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, aumentando a concentração de radicais hidroxila segundo a reação de Fenton e ciclo Haber-Weiss (Equação 4):



Às propriedades eletrônicas soma-se a lipofilicidade (Cheng *et al.*, 2002; Ghose *et al.*, 1988), que representa a



**FIGURA 9** – Estruturas químicas do ácido gálico e pirogalol (Cheng *et al.*, 2002).



**FIGURA 10** - Reações de oxidação que geram espécies quinóides (Cheng *et al.*, 2003).



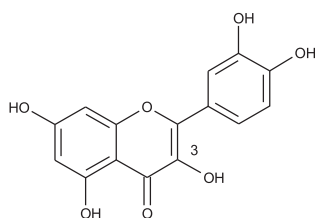
afinidade de uma molécula ou de um fragmento por ambiente lipofílico (Ghose *et al.*, 1988; Leach, 2001). O cálculo de propriedade lipofílica é adicional aos processos de cálculos de energia e análise conformacional. Esta propriedade está relacionada ao coeficiente de partição (LogP). Quanto maior o coeficiente de partição, maior a afinidade da substância pela fase orgânica e, conseqüentemente, a lipofilicidade do composto.

O coeficiente de partição é definido pela razão entre a concentração da substância na fase orgânica e sua concentração na fase aquosa em um sistema de dois compartimentos sob condições de equilíbrio, podendo ser obtido por método experimental, como por determinação por *shake-flask*, ou ainda por método teórico, como o desenvolvido por Ghose-Pritchett-Crippé, disponível nos programas de Modelagem Molecular (Ghose *et al.*, 1988).

A Modelagem Molecular pode ser utilizada como ferramenta, calculando propriedades físico-químicas de compostos em estudo, como a lipofilicidade, entalpia de formação, dentre outras. Assim, pode-se empregar programas de Modelagem para obtenção teórica do parâmetro de lipofilicidade de substâncias.

A aplicação tópica de antioxidantes reduz os danos oxidativos induzidos pela radiação UV. Em um estudo realizado, soluções aquosas de ácidos caféico e ferrúlico, em pH 3 e 7,2 foram testadas topicamente e foi observada a permeação cutânea. A lipofilicidade do ácido ferrúlico é maior que do ácido caféico e atribuiu-se este fato sua maior penetração através do estrato córneo, reduzindo o eritema induzido pelos raios UV (Saija *et al.*, 2000).

A quercetina é um excelente antioxidante e diminui a peroxidação lipídica induzida pelos raios UV. Porém, grande insolubilidade em meio aquoso dificulta sua biodisponibilidade e limita sua ação como agente fotoprotetor. Por meio de esterificação da hidroxila da posição 3 da molécula da quercetina com alcoóis de cadeias alifáticas de diferentes tamanhos foram obtidos os ésteres acetato (*Q-ac*), propionato (*Q-pr*) e palmitato (*Q-pal*) de 3-O-quercetina, que se apresentaram como eficazes agentes fotoprotetores (Saija *et al.*, 2003).



Quercetina

## MODELAGEM MOLECULAR

A Modelagem Molecular envolve cálculos de parâmetros selecionados para determinada molécula, fornecendo informações sobre suas propriedades (Cohen, 1996).

Os métodos de estimativa ou cálculo de propriedades moleculares podem ser divididos em (Cohen, 1996):

- Interpolação: a correlação é encontrada entre a propriedade ou característica desejada e outras propriedades ou características moleculares;
- Extrapolação: a correlação não inclui a molécula de interesse, mas extrapolando a correlação é possível estimar a propriedade desejada.
- Cálculos computacionais: cálculos das propriedades moleculares realizadas por computador, com níveis diversos de variáveis, que podem substituir as medidas experimentais quando o procedimento necessário é muito elaborado ou de difícil realização (Cohen, 1996).

Algumas propriedades como: energia de formação, energia de ativação, momento de dipolo, características de orbitais moleculares, eletrônicas, atômicas, de ligações, polarizabilidade, caráter hidrofóbico, e outras como coeficiente de partição (logP) e refratividade molar (MR) podem ser originados por através de cálculos computacionais que incluem mecânica molecular, métodos semi-empíricos, cálculos *ab initio* e outros métodos empíricos (Cohen, 1996; Sant'Anna, 2002).

Os três principais métodos teóricos para cálculos computacionais de propriedades podem ser classificados em métodos empíricos (mecânica molecular), métodos semi-empíricos e cálculos *ab initio* (Cohen, 1996).

Mecânica molecular e métodos semi-empíricos envolvem cálculos por meio de parametrizações e cálculos *ab initio* reproduzem um experimento sem utilizar parâmetros. Os melhores resultados obtidos nos dois primeiros métodos são aplicados em interpolações com dados experimentais (Cohen, 1996; Leach, 2001).

Cálculos semi-empíricos são baseados em mecânica quântica, envolvendo funções de onda que incluem orbitais de Slater (STO) e de Gaussian (GTO). Métodos semi-empíricos tratam linearmente combinações dos orbitais interagindo computacionalmente com um campo de força estável (SCF) e permitindo a minimização de energia do sistema (Cohen, 1996).

Os métodos semi-empíricos diferem entre si pelas aproximações ao considerar a repulsão dos elétrons de diferentes orbitais. Estas aproximações são realizadas com valores de parametrização correspondentes aos obtidos por cálculos *ab initio* e/ou experimentais. Os métodos recentes usam parametrizações oriundas de cálculos *ab*

*initio* baseados na teoria de Huckel estendida e no programa CNDO (*Complete Neglect of Differential Overlap*), que auxiliam nos cálculos de orbitais e cargas. A fim de obter dados mais seguros quanto à energia, métodos semi-empíricos aperfeiçoados foram introduzidos como MINDO-3 (*Modified Intermediate Neglect of Differential Overlap*), MNDO (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*) e AM1 (Austin Model 1) (Cohen, 1996; Sant'Anna, 2002).

Baseando-se nestas propriedades e em estudos prévios que correlacionam a estrutura química com a atividade biológica e o pesquisador em modelagem molecular analisa a série de moléculas para as quais efetuou os cálculos computacionais e pode prever a atividade esperada. As análises experimentais serão necessárias para a validação da hipótese aventada.

### Atividade antioxidante e parâmetros físico-químicos

A atividade antioxidante encontra-se diretamente relacionada às propriedades eletrônicas das substâncias, que podem ser representadas nos estudos de modelagem molecular, por meio de cálculos de parâmetros, mencionados a seguir:

- $\Delta H_f$ : diferença de energia de entalpia entre as espécies radicalar (obtida após a abstração do hidrogênio) e neutra (fenólica). Representa a força de ligação hidroxila (Zhang, 1999; Cheng *et al.*, 2002, 2003);
- $\Delta H_{ox}$  ou  $E_a$ : diferença de energia de entalpia entre as espécies catiônica e neutra. A espécie catiônica seria gerada a partir da transferência de um único elétron da espécie neutra (Cheng *et al.*, 2002, 2003);
- $E_{HOMO}$ : energia do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital*). Parâmetro representativo da capacidade de doar elétrons (Zhang, 1999; Cheng *et al.*, 2002, 2003);
- $E_{LUMO}$ : parâmetro relacionado à capacidade de receber elétrons de uma molécula, representada pela energia do orbital molecular desocupado de menor energia, (LUMO- *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) (Zhang, 1999; Cheng *et al.*, 2002, 2003);
- (H-L)Gap, que representa a reatividade do composto. Quanto mais reativo, menor o intervalo (Gap). É obtido pela diferença de energia entre os orbitais HOMO e LUMO (Cheng *et al.*, 2003);
- Distribuição de spin: quanto maior a capacidade de hiper-conjugação de spin no anel aromático da espécie radicalar intermediária formada, maior sua estabilização e maior seu efeito anti-radicalar (Cheng *et al.*, 2003).

Na literatura disponível sobre o estudo da atividade antioxidante empregando modelagem molecular encon-

tramos controvérsias: parâmetros representando a capacidade de doar elétron ( $E_{HOMO}$ ) indicam boa previsão da atividade antioxidante em tocoferóis, mas que pode ser incorreta quando aplicada aos flavonóides, resultado atribuído à formação de ligações de hidrogênio intramoleculares nestes últimos. Assim,  $E_{HOMO}$  pode indicar relativa previsão de atividade em moléculas de estruturas químicas diferentes/diversas, com e sem grupos metila em *meta*. Este fato não foi observado para o  $\Delta H_f$ , justificando o fato de alguns autores defenderem a previsão da atividade somente pelo parâmetro  $\Delta H_f$  afirmando ser o HOMO de capacidade superficial (Zhang, 1999; Cheng *et al.*, 2003).

De modo geral, tem-se observado em estudos de modelagem molecular que o aumento da cinética da reação entre os compostos fenólicos e radicais hidroxila aumenta com a capacidade de doar elétrons ( $E_{HOMO}$ ) e a entalpia de transferência de um único elétron ( $E_a$ ), mas é inversamente proporcional ao valor da energia de dissociação da ligação O-H ( $\Delta H_f$ ) e distribuição de spin após a abstração do H ( $Ds^r$ ) (Cheng *et al.*, 2003).

Scotti (2006) realizou estudo de Modelagem Molecular onde os parâmetros físico-químicos descritos acima foram calculados de compostos fenólicos com potencial antioxidante pertencentes à espécie *Chimarrhis turbinata* e *Arrabidea samydoides* (Figuras 11 e 12). Utilizou-se o programa HyperChem 6.0, otimização da geometria foi feita, adotando-se o método semi-empírico AM1 (Austin Model 1) (Dewar *et al.*, 1985). As estruturas otimizadas das espécies neutras foram submetidas à análise conformacional e o conformero de energia mínima no estado gasoso foi selecionado e utilizado para prosseguir no cálculo de parâmetros físico-químicos. Posteriormente foram submetidos à regressão linear, utilizando os programas BILIN e BuildQsar. A matriz de correlação é apresentada na Tabela II.

Preferencialmente usaram-se na mesma equação coeficientes de correlação  $\leq 0,5$ . A presença de duas ou mais variáveis na mesma equação não mostra acréscimo do valor de F, como é esperado quando aumenta o número de variáveis independentes. Levando em conta a definição do valor de F, concluímos que a somatória do resíduo não diminuiu suficientemente com relação aos graus de liberdade. As equações que correlacionam a atividade antioxidante com apenas uma variável foram mais significativas nessa análise.

A análise quantitativa, após o ajuste de pontos no plano valores preditos *versus* observados, indicou a remoção dos *outliers* (Mol 1, 3, 6 e 10f). Nestas moléculas existem características que não são explicadas pelo modelo encontrado. A grande diversidade estrutural na série de compostos estudados pode ser um dos motivos para serem *outliers*, sendo

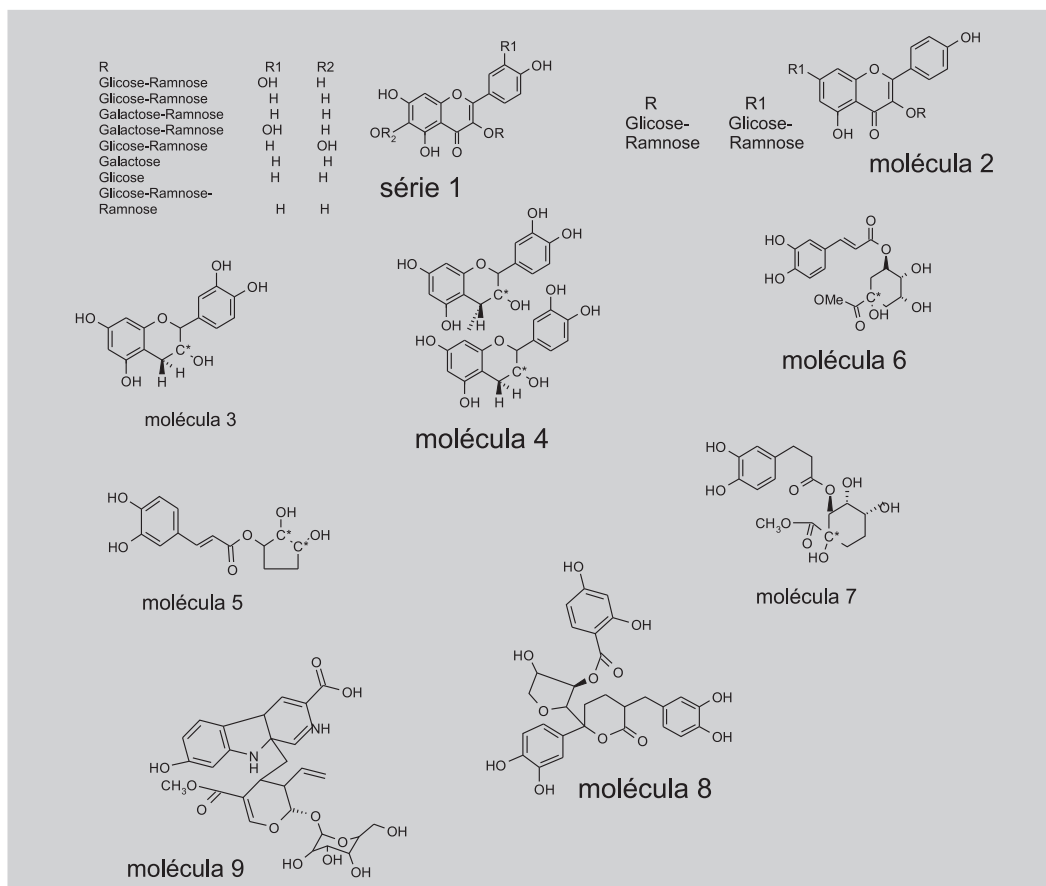


FIGURA 11 - Substâncias antioxidantes isoladas da espécie *Chimarrhis turbinata*.

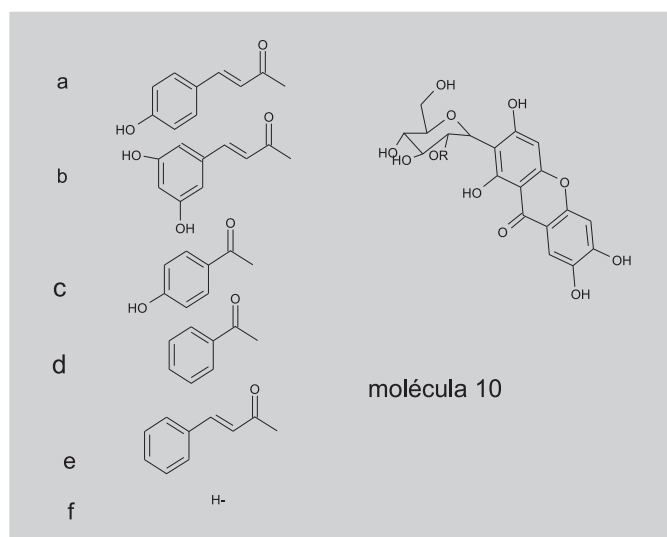


FIGURA 12 - Substâncias antioxidantes isoladas da espécie *Arrabidea samydoides*.

muito difícil obter um modelo que explique características de toda série. Após a retirada destas moléculas obteve-se correlação significativa com  $E_{HOMO}$  e com  $E_{LUMO}$  e menor com

$\Delta H_{OX}$ , como podemos observar nas equações que seguem:

Equação 5

$$pIC_{50} = +1,065 (\pm 0,42) E_{HOMO} + 14,24 (\pm 3,78)$$

(n=09; r=0,91; r<sup>2</sup>=0,83; s=0,09; F=33,71; Q<sup>2</sup>=0,19; S<sub>PRESS</sub>=0,25)

Equação 6

$$pIC_{50} = +0,52 (\pm 0,23) E_{LUMO} + 5,11 (\pm 0,19)$$

(n=09; r=0,89; r<sup>2</sup>=0,79; s=0,10; F=26,20; Q<sup>2</sup>=0,54; S<sub>PRESS</sub>=0,16)

Equação 7

$$pIC_{50} = -0,01 (\pm 0,01) \Delta H_{OX} + 7,41 (\pm 2,05)$$

(n=09; r=0,57; r<sup>2</sup>=0,32; s=0,15; F=9,14; Q<sup>2</sup>=0,18; S<sub>PRESS</sub>=0,25)

As melhores equações representam os parâmetros  $E_{HOMO}$  e, posteriormente,  $E_{LUMO}$ . Isto indica a estreita ligação entre atividade antioxidante exercida pelo composto e suas características eletrônicas calculadas por modelagem molecular. A capacidade de doar elétrons está direta-

**TABELA II** – Matriz de correlação

	CLogP	(H-L) <sub>GAP</sub>	$\Delta H_f$	$\Delta H_{OX}$	E <sub>LUMO</sub>	E <sub>HOMO</sub>
CLogP	1	0,094	0,049	0,024	0,289	0,113
(H-L) <sub>GAP</sub>		1	0,227	0,027	0,22	0,042
$\Delta H_f$			1	0,171	0,034	0,156
$\Delta H_{OX}$				1	0,249	0,685
E <sub>LUMO</sub>					1	0,31
E <sub>HOMO</sub>						1

mente ligada à reatividade da molécula na neutralização de radicais livres. A E<sub>LUMO</sub>, representando a facilidade do composto de receber elétrons, também influi, mas em menor proporção.

Pelas equações encontradas, notamos que tanto a E<sub>HOMO</sub> quanto a E<sub>LUMO</sub> contribuem, embora em proporções diferentes, em relação diretamente proporcional com a atividade antioxidante. Essas observações realizadas por meio da aplicação do modelo clássico de QSAR são concordantes com o raciocínio de que a atividade anti-radicalar de um composto é mais complexa que a abstração do hidrogênio do grupo hidroxila, aqui representado pelo parâmetro  $\Delta H_f$ .

#### 4. CONCLUSÃO

Por meio de cálculos dos parâmetros e do estudo das relações estrutura-atividade das moléculas potencialmente antioxidantes, pode-se determinar o grupo farmacofórico necessário à atividade e, posteriormente, seleção dos compostos de interesse dentro da série em questão.

A Modelagem Molecular é ferramenta inovadora que pode ser utilizada na área de Cosmetologia, possibilitando a identificação de moléculas antioxidantes protótipos, com vistas à aplicação na área antienvhecimento.

É importante ressaltar a importância da Modelagem Molecular como planejamento racional da pesquisa, não substituindo ensaios de avaliação de eficácia cosmetológica, mas sim alcançando resultados com menor intervalo de tempo e custo.

#### ABSTRACT

##### Molecular modeling applied to the development of molecules with antioxidant activity for cosmetic use

*Some hypotheses and constants studies are made with intention to elucidate the aging process. To prevent and to attenuate the cutaneous aging it becomes necessary to*

*strengthen our endogenous antioxidant natural defenses. Diverse exogenous antioxidant substances, as vitamins, vegetal extracts and others, have been used by the Cosmetology in antiaging products. The objective of this paper is to show how the Molecular Modeling can be an useful tool in the research for new antioxidant cosmetic substances to face the cutaneous aging.*

*UNITERMS: Antioxidant. Cosmetic. Antiaging. Molecular modeling.*

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADOM, K.K.; LIU, R.H. Antioxidant activity of grains. *J. Agric. Food Chem.*, v.50, n.21, p.6182-6187, 2002.
- BERDYEVA, T.K.; WOODWORTH, C.D.; SOKOLOV, I. Human epithelial cells increase their rigidity with aging *in vitro*: direct measurements. *Phys. Med. Biol.*, v.50, n.1, p.81-92, 2005.
- BUCHLI, L. Radicais livres e antioxidantes. *Cosmet. Toiletries, Ed. Port.*, São Paulo, v.14, n.2, p.54-57, 2002.
- CAO, H.; CHENG, W.-X.; LI, C.; PAN, X.-L.; XIE, X.-G.; LI, T.-H. DFT study on the antioxidant activity of rosmarinic acid. *J. Mol. Struct., THEOCHEM*, v.719, n.1, p.177-183, 2005.
- CÈSARINI, J.P.; MICHEL, L.; MAURETTE, J.M.; ADHOUE, H.; BÉJOT, M. Immediate effects of UV radiation on the skin: modification by an antioxidant complex containing carotenoids. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, v.19, n.2, p.182-189, 2003.
- CHENG, Z.; REN, J.; YAN, G.; LI, Y.; CHANG, W.; CHEN, Z. Quantitative elucidation of the molecular mechanisms of hydroxyl radical quenching reactivity of phenolic compounds. *Bioorg. Chem.*, v.31, n.2, p.149-162, 2003.

- CHENG, Z.; REN, J.; LI, Y.; CHANG, W.; CHEN, Z. Study on the multiple mechanisms underlying the reaction between hydroxyl radical and phenolic compounds by qualitative structure and activity relationship. *Bioorganic Med. Chem.*, v.10, n.12, p.4067-4073, 2002.
- COHEN, N.C. *Guidebook on molecular modeling in drug design*. San Diego: Academic Press, 1996. 361p.
- COLE, C.A.; GISOLDI, E.M.; GROISSMAN, R.M. A clinical evaluation of skin firming and anti-aging benefits with topical DMAE. In: 60th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ACADEMY OF DERMATOLOGY, 2002, New Orleans, 1. *Anais*. New Orleans: American Academy of Dermatology, 2002. p.1-11.
- DEWAR, M.J.S.E.; ZOEBISCH, G.; HEALY, E.F.; STEWART, J.J.P. AM1: A new general purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.*, v.107, n.13, p.3902-3909, 1985.
- DRAGLAND, S.; SENOO, H.; WAKE, K.; HOLTE, K.; BLOMHOFF, R. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *J. Nutr.*, v.133, n.5, p.1286-1290, 2003.
- FUCHS, J. Potentials and limitations of the natural antioxidants RRR- $\alpha$ -tocopherol, L-ascorbic acid and beta-carotene in cutaneous photoprotection. *Free Rad. Biol. Med.*, v.25, n.7, p.848-873, 1998.
- F'GUYER, S.; AFAQ, F.; MUKHTAR, H. Photochemoprevention of skin cancer by botanical agents. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, v.19, n.1, p.56-72, 2003.
- GHOSE, A.K.; PRITCHETT, A.; CRIPPEN, G.M. Atomic physicochemical parameters of three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships III: Modeling hydrophobic interactions. *J. Comput. Chem.*, v.9, n.1, p.80-90, 1988.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Brasil em síntese. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/brasil\\_em\\_sintese/populacao04.htm](http://www.ibge.gov.br/brasil_em_sintese/populacao04.htm)>. Acesso em: 22 maio 2004.
- JÚNIOR, L.R.; HÖEHR, N.F.; VELLASCO, A.P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Quim. Nova*, v.24, n.1, p.112-119, 2001.
- KUBINIY, H. *QSAR: Hansch analysis and related approaches*. Weinheim: VCH, 1993. p.91-100.
- LEACH, A. R. *Molecular Modeling: Principles and Applications*. 2.ed. London: Prentice Hall, 2001. p.774.
- LIEN, E.J.; REN, S.; BUI, H.H.; WANG, R. Quantitative structure- activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Rad. Biol. Med.*, v.26, n.3, p.285-294, 1999.
- MAGALHÃES, J. O uso de cosméticos através dos tempos, envelhecimento cutâneo. In: \_\_\_\_\_. *Cosmetologia: com questões de avaliação*. Rio de Janeiro: Rubio, 2000. p.33-42, 61-145.
- MAMBRO, V.M.DI; FONSECA, M.J.V. Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extrats. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v.37, n.1, p.287-295, 2005.
- MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.C.D.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.*, v.15, n.2, p.27-130, 2001.
- NIKOLIC, K.M. Theoretical study of phenolic antioxidants properties in reaction with oxygen-centered radicals. *J. Mol. Struct., THEOCHEM*, v.774, n.1, p.95-105, 2006.
- OKIGAMI, H. Radicais livres e pele. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE COSMETOLOGIA: CIÊNCIA E TECNOLOGIA: A COSMÉTICA DO FUTURO, 15, São Paulo, 2001. *Anais*. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 2001. 6p. [Apostila].
- PANNALA, A.S.; CHAN, S.T.; O'BRIEN, J.P.; RICE-EVANS, A.C. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.282, n.5, p.1161-1168, 2001.

- SANT'ANNA, C.M.R. Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (recomendações da IUPAC para 1997). *Quim. Nova*, v.25, n.3, p.505-512, 2002.
- SAIJA, A.; TOMAINO, A.; TROMBETTA, D.; PELLEGRINO, M.L.; TITA, B.; MESSINA, C.; BONINA, F.P.; ROCCO, C.; NICOLOSI, G.; CASTELLI, F. 'In vitro' antioxidant and photoprotective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.56, n.2, p.167-174, 2003.
- SAIJA, A.; TOMAINO, A.; TROMBETTA, D.; PASQUALE, A.D.; UCCELLA, N.; BARBUZZI T.; PAOLINO D.; BONINA F. *In vitro* and *in vivo* evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents. *Int. J. Pharm.*, v.199, n.1, p.39-47, 2000.
- SHAATH, N.A. The chemistry of sunscreens. In: LOWE, N.J.; SHAATH, N.A.; PATHAK, M.A. (Eds.) *Sunscreens, development, evaluation and regulatory aspects*. 2.ed.rev.exp. New York: Marcel Dekker, 1997. p.263-283. (Cosmetic science and technology series, v.15).
- SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev. Nutr.*, v.15, n.1, p.71-81, 2002.
- TASDEMIR, D.; KAISER, M.; BRUN, R.; YARDLEY, V.; SCHMIDT, T.J.; TOSUN, F.; RÜ, P. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of Flavonoids and their analogues: *In Vitro*, *In Vivo*, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.50, n.4, p.1352-1364, 2006.
- THOMAS, G. *Medicinal chemistry: aN introduction*. Chichester, New York: Wiley and Sons, 2000. p.23-48.
- TING, W.W.; VEST, C.D.; SONTHEIMER, R. Practical and experimental consideration of sun protection in dermatology. *Int. J. Dermatol.*, v.42, n.7, p.505-513, 2003.
- TROMMER, H.; BÖTTCHER, P.; HOENTSCH, J.; WARTEWIG, S.; NEUBERT, R.H.H. Role of ascorbic acid in stratum corneum lipid models exposed to UV irradiation. *Pharm. Res.*, v.19, n.7, p.982-990, 2002.
- VASILESCU, D.; GIRMA, R. Quantum molecular modeling of quercetin-simulation of the interaction with the free radical t-BuO. *Int. J. Quant. Chem.*, v.90, n.2, p.888-890, 2002.
- VAYA, J.; MAHEMOOD, S.; GOLDBLUM, A.; AVIRAM, M.; VOLKOVA, N.; SHAALAN, A.; MUSA, R.; TAMIR, S. Inhibition of LDL oxidation by flavonoids in relation to their structure and calculated enthalpy. *Phytochemistry*, v.62, n.1, p.89-99, 2003.
- VAYALIL, P.K.; MITTAL, A.; HARA, Y.; ELMETS, C.A.; KATIYAR, S.K. Green tea polyphenols prevent ultraviolet light-induced oxidative damage and matrix metalloproteinases expression in mouse skin. *J. Invest. Dermatol.*, v.122, n.6, p.1480-1487, 2004.
- ZHANG, Y. Theoretical methods used in elucidating activity differences of phenolic antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.76, n.6, p.745-748, 1999.
- WRIGHT, J.S.; JOHNSON, E.R.; DiLABIO, G.A. Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.*, v.123, n.6, p.1173-1183, 2001.

Recebido para publicação em 05 de outubro de 2006.

Aceito para publicação em 18 de maio de 2007.