



Universidade de Brasília
Faculdade de Ceilândia
Curso de Graduação em Farmácia

Felipe Randall's Silva Pereira

Utilização de UV/H₂O₂ na Avaliação da Fotodegradação da Melatonina.

Brasília, 2017



Universidade de Brasília
Faculdade de Ceilândia
Curso de Graduação em Farmácia

Felipe Randall's Silva Pereira

Utilização de UV/H₂O₂ na Avaliação da Fotodegradação da Melatonina

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia pela Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientador: Prof. Dr. Anderson de Jesus Gomes
Coorientadora: Profa. Dra. Claire Nain Lunardi Gomes

Brasília, 2017

Felipe Randall's Silva Pereira

Utilização de UV/H₂O₂ na Avaliação da Fotodegradação da Melatonina

Prof. Dr. Anderson de Jesus Gomes (Orientador)
(FCE/Universidade de Brasília)

Profa. Dra. Claire Nain Lunardi Gomes (Coorientadora)
(FCE/Universidade de Brasília)

Brasília, 2017

Felipe Randall's Silva Pereira

Utilização de UV/H₂O₂ na Avaliação da Fotodegradação da Melatonina

Banca Examinadora

Prof. Dr. Anderson de Jesus Gomes (Orientador)
(FCE/Universidade de Brasília)

Prof. Dra. Vivian da Silva Santos
(FCE/Universidade de Brasília)

Prof. Dr. Marcelo Henrique de Sousa
(FCE/Universidade de Brasília)

Brasília, 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus por ter possibilitado o término desta longa caminhada e propiciado a continuidade da minha vida acadêmica nesta grande Universidade.

Por seguinte, quero agradecer a minha família, de um modo especial, aos meus pais e irmãos que partilharam grande parte de minha trajetória dentro da Universidade de Brasília. Desde a aprovação até alguns momentos de tensão por causa de algumas provas.

Não posso esquecer da minha esposa e companheira de estrada acadêmica, de concurso público e de vida, que sempre se manteve firme ao meu lado e nunca me deixou desistir do meu sonho de me formar farmacêutico pela UnB. Obrigado Keyla Oliveira por ser essa pessoa maravilhosa e esposa dedicada.

Agradeço a oportunidade concedida pelo Prof. Anderson e pela Profa. Claire de fazer parte desse ótimo grupo de pesquisa, que é mais que uma família. Considero esses dois professores e pesquisadores “pais científicos”, pois me acolheram quando ainda era apenas um feto da ciência. Obrigado.

Meus sinceros agradecimentos aos colegas do grupo da fotoquímica em especial ao colaborador Vinícius Ricardo e aos IC's Pedro e Beatriz.

Agradeço ainda, aos diversos setores da Universidade de Brasília – Faculdade Ceilândia por possibilitarem a execução e a continuidade da pesquisa e as agências de fomento FAP-DF e CNPq.

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT: 5-hidroxitriptamina

AANAT: Aril-alquil-N-acetil-transferase

AMFK: *N*¹-acetil-*N*²-formil-metoxiquinuramina

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Bax: Gene "Bcl-2-associated X"

Bcl-2: Gene "B-cell lymphoma 2"

ECO 92: Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento

EROs: Espécies Reativas de Oxigênio

H₂O₂: Peróxido de hidrogênio

HIOMT: Hidroxi-indol-O-metil-transferase

LAAD: Descarboxilase de *L*-aminoácido aromático

LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

OASc: Oxidação em água supercrítica

POAs: Processos Oxidativos Avançados

TPH: Triptofano hidroxilase

TRF-1^a: Tribunal Regional Federal da 1^a Região

UV: Radiação ultravioleta

UV-vis: Ultravioleta visível

RESUMO

A utilização de novas tecnologias para a eliminação de efluentes industriais tem sido uma grande preocupação atual. Os processos oxidativos avançados têm se mostrado como uma ótima alternativa para esse procedimento. O presente estudo foi realizado utilizando um dos principais processos oxidativos de caráter homogêneo, o UV/H₂O₂, para a eliminação do fármaco melatonina, por meio da fotodegradação. Utilizou-se também a tecnologia *LASER – “light amplification by stimulated emission of radiation”* – para realizar a excitação da amostra no comprimento de ondas de 370nm. Os testes foram realizados com concentrações variadas de peróxido de hidrogênio, com variações entre 25mM e 125mM, e por tempos predeterminados, variando de 0 a 100 min de estimulação luminosa. Os resultados obtidos nos testes apontaram o comportamento já esperado do sistema. Foi testado o comportamento do fármaco apenas na presença da luz e nas diversas concentrações do peróxido de hidrogênio e em comparação com um dos medicamentos comercializados fora do Brasil.

Palavras-chave: Processos oxidativos avançados, melatonina, fotodegradação, LASER.

ABSTRACT

The use of new technologies for the disposal of industrial effluents has been a major concern today. Advanced oxidative processes are a great alternative to this procedure. UV / H₂O₂, for the elimination of the drug melatonin, by means of photodegradation. A LASER technology was also used - "light amplification and stimulated energy emission" - to perform sample excitation without a 370nm wavelength. The tests were performed with varying concentrations of hydrogen peroxide, varying between 25mM at 125mM, and for predetermined times ranging from 0 to 100 min of light stimulation. The results obtained in the tests pointed out the already expected behavior of the system. The behavior of the drug was tested only in the presence of light and in the various concentrations of hydrogen peroxide and in comparisons with the drugs marketed in Brazil.

Key words: Advanced oxidative processes, melatonin, photodegradation, LASER.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da melatonina

Figura 2. Via de biossíntese da Melatonina, esquema mostrando a estrutura e nomes das moléculas envolvidas na reação e as respectivas enzimas.

Figura 3. Principais funções da melatonina no organismo. Modificada de NASCIMENTO, D M. Melatonina: o mais potente antioxidante natural. 2014. Disponível em: <<http://eternajuventudeblog.blogspot.com.br/2014/06/melatonina-o-mais-potente-antioxidante.html>>. Acesso em: 14 jun. 2017.

Figura 4. Tipos de processos oxidativos avançados. Adaptado de HUANG, C.P.; DONG, Chengdi; TANG, Zhonghung. Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, [s.l.], v. 13, n. 5-7, p.361-377, jan. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0956-053x\(93\)90070-d](http://dx.doi.org/10.1016/0956-053x(93)90070-d)

Figura 5. Degradação e formação de metabólitos da melatonina. HARDELAND, R. Melatonin in Plants – Diversity of Levels and Multiplicity of Functions. *Frontiers In Plant Science*, [s.l.], v. 7, p.1-14, 19 fev. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00198>.

Figura 6. Esquema Laser diodo semiconductor. LOPES, Luciana Almeida. Laser semiconductor. Disponível em: <http://www.nupen.com.br/Revista_port/fund_fisicos2.php>. Acesso em: 16 jun. 2017.

Figura 7. Espectros normalizados da Melatonina Comercial (A) e Melatonina Padrão (B).

Figura 8. Espectros normalizados da Melatonina padrão na presença das diferentes concentrações de H₂O₂. (A) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 25mM (B) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 30mM (C) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 40mM (D) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 50mM (E) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 75mM (F) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 100mM (G) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 125mM.

Figura 9. Análise de média ± desvio padrão das absorções em duplicata da Melatonina padrão na presença das diferentes concentrações de H₂O₂ em 278nm. (A) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 25mM (B) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 30mM (C) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 40mM (D) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 50mM (E) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 75mM (F) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 100mM (G) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 125mM.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
1.1. Melatonina.....	11
1.2. Processos Oxidativos Avançados – POAs	13
1.3. <i>LASER</i>	15
2. Justificativa	18
3. Objetivos.....	19
3.1. Gerais.....	19
3.2. Específicos	19
4. Materiais e Métodos.....	20
4.1. Materiais.....	20
4.2. Preparo das Soluções Analisadas.....	20
4.2.1. Solução Melatonina Padrão	20
4.2.2. Solução Melatonina Comercial.....	20
4.2.3. Soluções de Peróxido de Hidrogênio (H ₂ O ₂).....	20
4.3. Excitação da Amostra com <i>LASER</i>	21
4.4. Espectrofotometria no UV-Vis	21
4.5. Dados e Estatística.....	21
5. Resultados e Discussão	22
6. Considerações Finais	31
7. Referências Bibliográficas	32

1. Introdução

1.1. Melatonina

A melatonina foi descoberta em 1958 pelo pesquisador da Universidade de Yale, Aaron Lerner, enquanto realizava buscas sobre substâncias capazes de tratar doenças de pele. O nome melatonina é derivado do grego “*melas*”, que quer dizer escuro e serotonina, um dos compostos de sua via biossintética. Esse hormônio é sintetizado a partir do aminoácido essencial triptofano que após diversas reações enzimáticas de descarboxilação produz a serotina e por fim a melatonina.

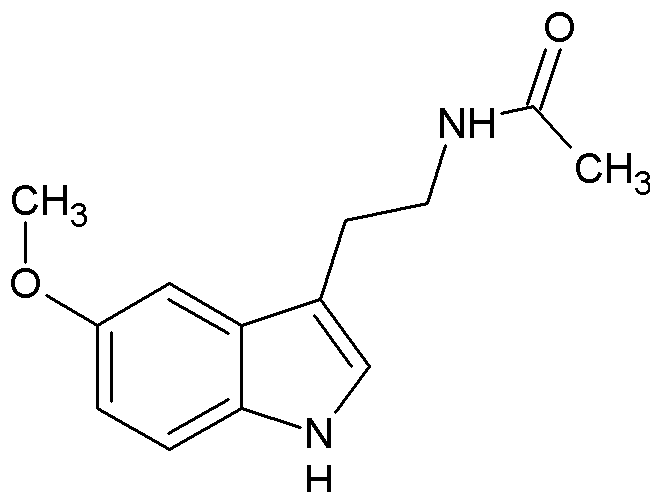


Figura 1. Estrutura química da melatonina

AN-acetil-5-metoxitriptamina, ou simplesmente melatonina é um hormônio pertencente a classe das indolaminas, produzido pela glândula pineal, e que exerce funções regulatórias do ciclo circadiano e que tem a sua produção estimulada no escuro e inibida na presença de luz (ALI et. al,2007). Sua concentração plasmática é extremamente baixa ficando, em indivíduos adultos, na média de 20 pmol/L (BOTELHO, 2009; CAPITELLI, 2007; SANTOS, 2003; HE et. al, 2005). Esses níveis se mantêm baixos durante o dia, por volta 21h00 elevam-se as 03h00 da manhã eles atingem o pico máximo permanecendo elevados até as 09h00 da manhã. Por não existir estocagem de melatonina na glândula pineal, a concentração plasmática reflete fielmente a concentração do hormônio e a atividade da referida

glândula. Apesar de a maior parte de sua síntese ocorrer na glândula pineal, ela também acontece em pequena quantidade na retina, ossos, pele, intestino, plaquetas e bile (CAPITELLI, 2007).

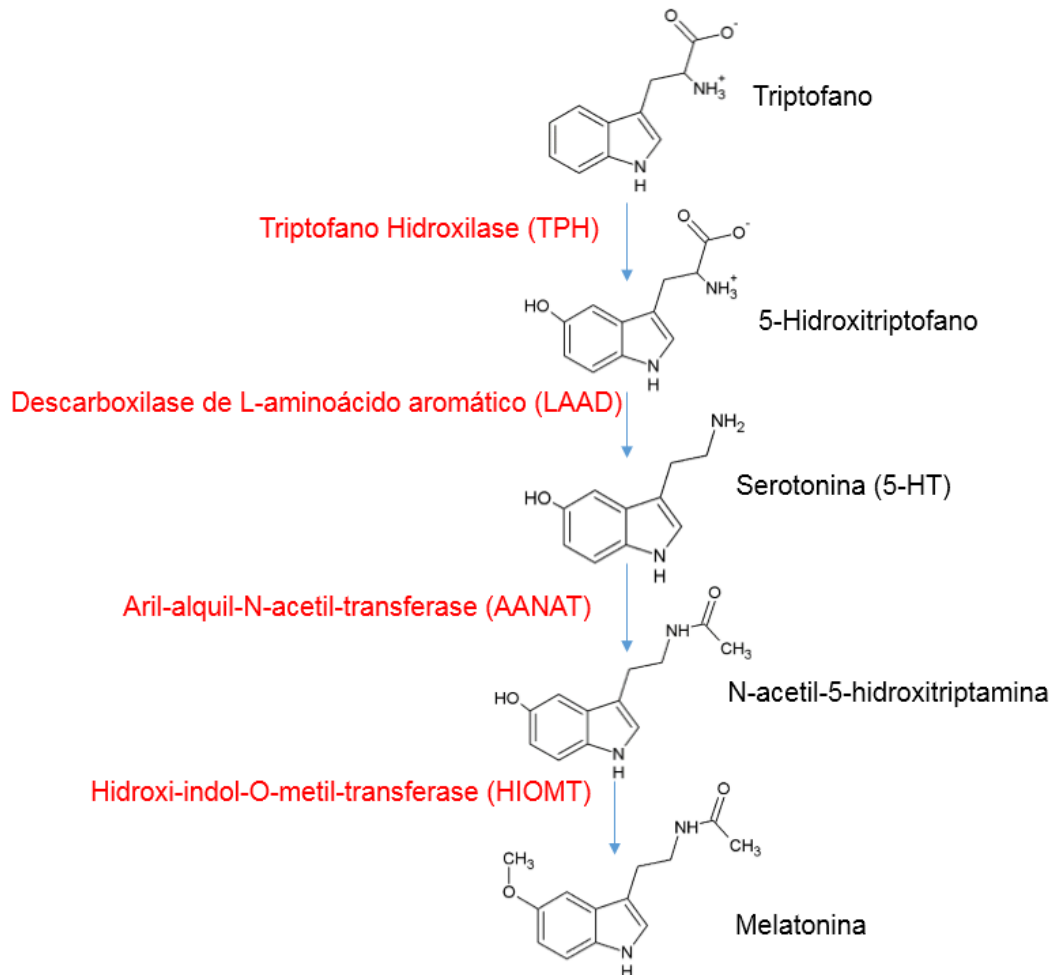


Figura 2. Via de biossíntese da Melatonina, esquema mostrando a estrutura e nomes das moléculas envolvidas na reação e as respectivas enzimas.

Esse hormônio é metabolizado no fígado e tem como produto principal a 6-sulfatoxymelatonina. Usada em diversos tipos de tratamentos entre eles, distúrbios do sono, baixo apetite, redução da eficiência psicomotora (ALI et. al,2007).

A melatonina possui ação principal sobre a regulação do sono, porém estudos mais recentes demonstram que essa molécula apresenta grande atividade imunomoduladora. Diversos estudos apontam como um ótimo retardante do envelhecimento e está relacionada com o fortalecimento do

sistema imunológico e com a redução das espécies reativas de oxigênio (EROs) (ALI et. al, 2007).

Essa molécula possui propriedade antioxidante dupla, além de atuar diretamente como antioxidante atua sobre a expressão gênica de enzimas antioxidantes. Sua capacidade antioxidante é superior a da vitamina E, manitol e glutatona (GOSWAMI e HALDAR, 2015; ZHU et. al 2009).

Como se pronunciam ainda Santos e Constantino (2015) esse hormônio atua na modulação tanto da apoptose quanto da necrose da célula tumoral controlando assim a expressão dos genes *Bax* e *Bcl-2*. Os mesmos autores citam que a melatonina tem um papel importante na prevenção dos processos metastáticos.

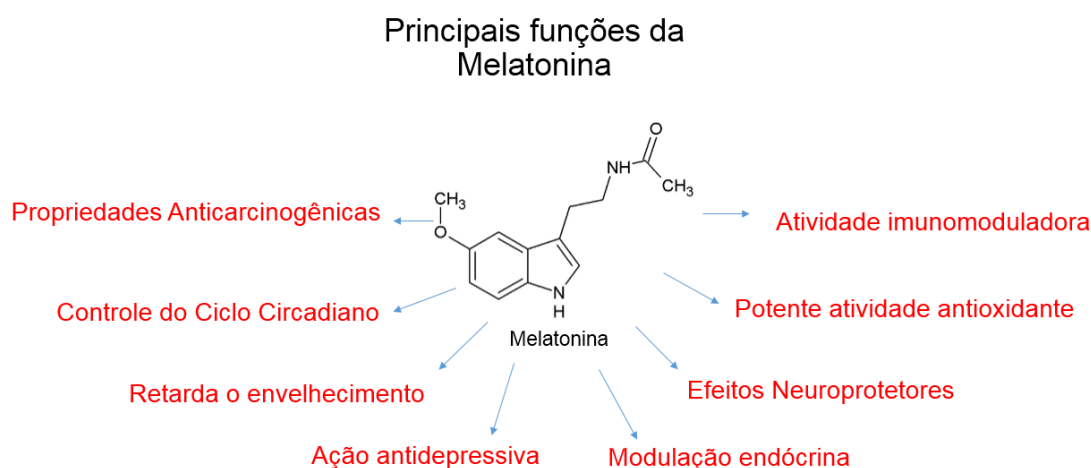


Figura 3. Principais funções da melatonina no organismo. Modificada de NASCIMENTO, D M. Melatonina: o mais potente antioxidante natural. 2014. Disponível em: <<http://eternajuventudeblog.blogspot.com.br/2014/06/melatonina-o-mais-potente-antioxidante.html>>. Acesso em: 14 jun. 2017.

1.2. Processos Oxidativos Avançados – POAs

Diversas legislações brasileiras regulamentam o descarte de efluentes no meio ambiente sendo que desde a década de 90 essas normatizações tem se mostrado mais rígidas, visto que a preocupação com os recursos naturais têm crescido desde a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento - também conhecida como ECO 92 – ocorrida no Rio de Janeiro (ARAÚJO, 2014).

No entanto, resíduos tecnológicos vem sendo encarado na última década como potenciais agentes poluidores ambientais. Assim, no sentido de eliminar tais resíduos farmacêuticos, processos oxidativos avançados (POAs) têm sido avaliados para a remoção destes produtos em vários sistemas aquosos. Os POAs podem ser amplamente definidos como métodos de oxidação em fase aquosa com base no intermédio das espécies altamente reativas, tais como os radicais hidroxila nos mecanismos que conduzem à destruição do poluente alvo e fornecem bons resultados por reagirem não seletivamente (CAVALCANTE, 2012).

Partem do princípio da transformação dos contaminantes orgânicos em dióxido de carbono, água e ânions inorgânicos por meio de reações de degradação baseada na liberação de espécies reativas de oxigênio (MARTINS et. al, 2011).

Esses processos podem ser divididos basicamente em dois tipos de sistemas, os homogêneos, que não utilizam catalisadores sólidos em suas reações e podem estar ou não na presença de irradiação, e os heterogêneos que necessitam da utilização de substâncias catalisadoras sólidas e podem ou não estar na presença de irradiação luminosa.

Os principais POAs incluem: fotocatalise heterogênea e homogênea baseada na radiação ultravioleta (UV) próxima ou por irradiação visível solar; eletrólise; ozonização; reações de Fenton; ultrassom; oxidação em ar úmido; e oxidação em água subcrítica ou supercrítica (OASc) (NOGUEIRA, 2007; MARTINS, 2011).

Sistema	Com irradiação	Sem Irradiação
Homogêneo	O ₃ /H ₂ O ₂ /UV	
	O ₃ /UV	O ₃ /H ₂ O ₂
	H ₂ O ₂ /UV	Fe(II)/H ₂ O ₂ (Reação de Fenton)
	Fe(II)/H ₂ O ₂ /UV (Foto-Fenton)	
Heterogêneo	Semicondutor/UV	
	Semicondutor/ H ₂ O ₂ /UV	

Figura 4. Tipos de processos oxidativos avançados. Adaptado de HUANG, C.P.; DONG, Chengdi; TANG, Zhonghung. Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, [s.l.], v. 13,

Os POAs também têm encontrado aplicações diversas, tais como o tratamento de águas subterrâneas, remediação do solo, lodo de esgoto municipal condicionado, produção de água ultrapura, tratamento de compostos orgânicos voláteis e controle de odor (SANTOS, 2003; SANTOS e CONSTANTINO, 2015)

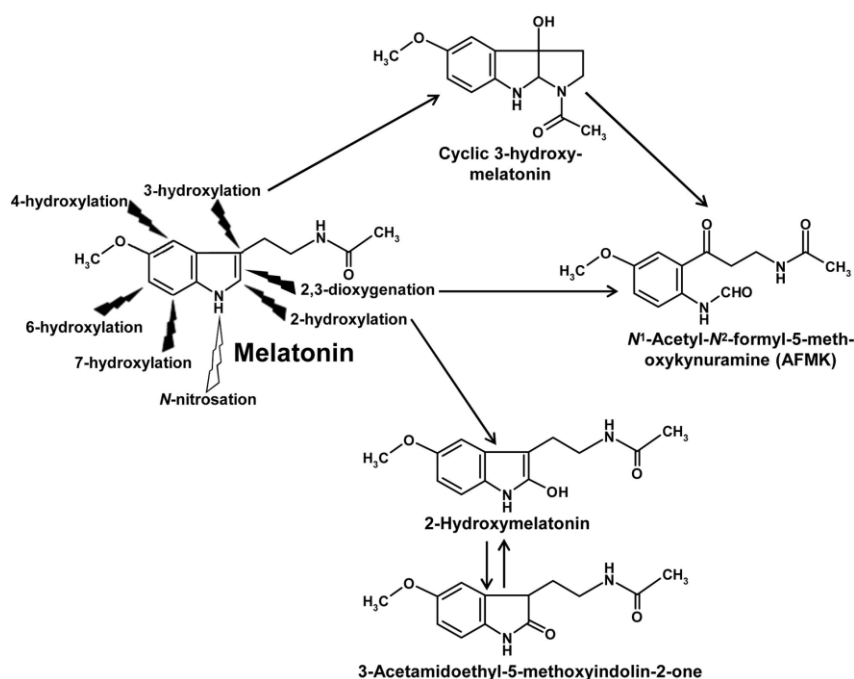


Figura 5. Degradação e formação de metabólitos da melatonina. HARDELAND, R. Melatonin in Plants – Diversity of Levels and Multiplicity of Functions. *Frontiers In Plant Science*, [s.l.], v. 7, p.1-14, 19 fev. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00198>.

1.3. LASER

Laser é um acrônimo que significa "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation", ou amplificação da luz por emissão estimulada de radiação (REINISCH, L., 1996). Esse acrônimo descreve o princípio da ação do laser. Einstein, em 1917, em seu artigo na revista *Physikalische Zeitschrift*, "Zur Quantentheorie der Strahlung", postulou, através de cálculos matemáticos, que porções do campo eletromagnético poderiam ser estimuladas para emitir luz amplificada. Pesquisas seguindo

essa proposição sucederam-se, até que, em 1960, Theodore Mainman demonstrou, pela primeira vez, na prática, essa teoria, a partir da excitação de um cristal de rubi, por uma lâmpada flash fotográfica, produzindo luz amplificada na região do vermelho do espectro eletromagnético (694 nm) (REINISCH,L.,1996); (BAGNATO,V.S.,2001).

O *LASER* parte do princípio de um dispositivo que produz uma luz com características monocromática, coerente, colimada e de alta intensidade. A luz comum apresenta diversos espectros de emissão já o laser emite a sua luminosidade em um comprimento de ondas específico, sem sofrer alteração. Essa tecnologia luminosa se propaga sempre em ondas de mesma fase e mesmo plano (forma polarizada) fazendo com que ela seja uma luz coerente. A luz colimada e de alta intensidade apresenta um foco maior que a luz convencional.

Em outras palavras, as principais diferenças entre a luz comum e a luz laser são: luz convencional emite fótons em diversos comprimentos de onda e que se propagam de forma desordenada sendo assim uma luz não polarizada; luz laser fótons idênticos com trajetórias paralelas sendo então uma luz polarizada.

Desde sua concepção, sistemas baseados em laser têm sido utilizados em muitos campos, na indústria automotiva, aeroespacial, no dia-a-dia, como na leitura de códigos de barra em supermercados, leitores de CD, sistemas de segurança, etc. Na área médica, o emprego do laser para fins terapêuticos ou como seu coadjuvante, já é uma realidade de fato por mais de uma década, em especialidades cirúrgicas de oftalmologia, ginecologia, ortopedia, otorrinolaringologia, urologia, cirurgia plástica, gastroenterologia, dermatologia, cardiologia e, mais recentemente, em estudos da fisiologia da circulação, da imunologia e, até mesmo, no diagnóstico de alguns tipos de câncer (BAGNATO,V.S.,2001).

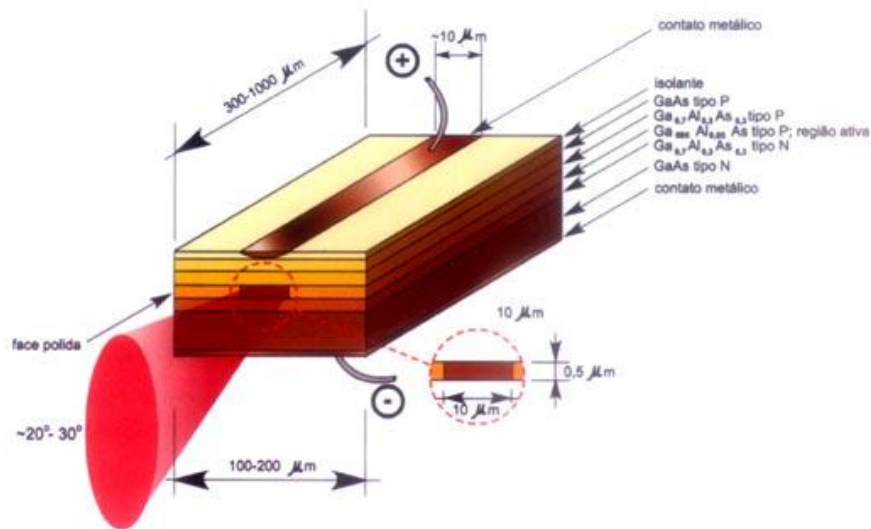


Figura 6.Esquema Laser diodo semiconductor. LOPES, Luciana Almeida. Laser semiconductor. Disponível em: <http://www.nupen.com.br/Revista_port/fund_fisicos2.php>. Acesso em: 16 jun. 2017.

2. Justificativa

Nos últimos anos, produtos farmacêuticos tornaram-se contaminantes emergentes em ecossistemas aquáticos o que atraiu preocupação crescente de diversos pesquisadores e autoridades sanitárias mundiais. A presença de tais produtos no ambiente, mesmo em concentrações traço, pode representar uma ameaça potencial para a saúde pública.

A excreção por seres humanos e animais, a eliminação de medicamentos não utilizados, sejam eles com prazos de validade expirados ou por decurso de tratamento, efluentes hospitalares, efluentes de pecuária, aquicultura e efluentes de indústrias farmacêuticas têm sido apontados como representantes de fontes de entrada contínua desses contaminantes no ambiente. Assim a destruição de tais contaminantes tem se mostrado de extrema importância. Além disso, os processos clássicos utilizados podem não ser capazes de realizar a remoção do composto analisado.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, órgão fiscalizador e responsável pelo registro de medicamentos e produtos de interesse de saúde no Brasil, essa substância não possui registro no Brasil, porém desde outubro de 2015 tramita uma solicitação de registro. Apesar disso a sua importação com indicação médica não é proibida, porém a sua comercialização é proibida seja por lojas físicas ou virtuais (BRASIL, 2017).

No entanto, em outubro de 2016 a empresa Active Pharmaceutica obteve a autorização judicial concedida pela juíza da 3ª Vara Federal do Tribunal Regional Federal da 1ª Região (TRF-1ª) para realizar a importação do princípio-ativo melatonina como insumo farmacêutico para manipulação, sendo assim o teor de contaminação por esse produto farmacêutico tem a tendência em aumentar (BRASIL, 2016).

3. Objetivos

3.1. Gerais

Realizar experimentos controle para avaliar o comportamento de degradação do hormônio Melatonina diante da exposição a luz LASER e a presença de peróxido de hidrogênio na utilização do processo oxidativo avançado UV/H₂O₂.

3.2. Específicos

- Comparar o perfil de fotodegradação da melatonina comercial com o do padrão analítico.
- Analisar a degradação fotoquímica das amostras problema em meio aquoso e avaliar a eficiência do sistema de irradiação na presença de H₂O₂.

4. Materiais e Métodos

4.1. Materiais

Melatonina (lote SLBQ9501V) da Sigma-Aldrich® (St Louis, MO, EUA). Peróxido de hidrogênio 50% P.A. da Dinâmica® (Diadema, SP, Brasil). Melatonina Comercial 3mg (lote 13A946B) da Contry Life® (Hauppauge, NY, EUA). Álcool Metílico P.A.-A.C.S. (Metanol) 100% da Labsynth ® (Diadema, SP, Brasil).

4.2. Preparo das Soluções Analisadas

4.2.1. Solução Melatonina Padrão

A solução contendo o fármaco Melatonina adquirido da Sigma-Aldrich® (St Louis, MO, EUA) foi preparada na concentração de 0,05 mg/ml em metanol. Reservada em vidro âmbar e mantida sob refrigeração para posterior a realização das análises.

4.2.2. Solução Melatonina Comercial

A solução contendo a Melatonina Comercial adquirido da Country Life® (Hauppauge, NY, EUA) foi preparada na concentração de 0,06 mg/ml em metanol. Durante a preparação da solução, por se tratar de uma formulação farmacêutica que contém diversos excipientes, foi necessário realizar filtração a vácuo com funil de vidro sinterizado com porosidade de 1 a 4 para a retirada do material particulado. Em seguida, a solução estoque foi reservada em vidro âmbar e mantida sob refrigeração para posterior realização das análises.

4.2.3. Soluções de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂)

As soluções de peróxido de hidrogênio foram preparadas nas seguintes concentrações 25mM, 30mM, 40mM, 50mM, 75mM, 100mM e 125mM, a partir da solução concentrada de 200 volumes da Dinâmica® (Diadema, SP, Brasil). Em seguida, foram acondicionadas em frascos âmbar e mantidas sob refrigeração.

4.3. Excitação da Amostra com LASER

Os frascos de quartzo contendo o fármaco Melatonina das soluções previamente preparadas e que estavam em estoque foram excitados no Conjunto LASER 370nm CUBE Coherent® (Santa Clara, CA, EUA) por tempos pré-determinados de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 min de irradiação sob agitação. Sendo que após cada coleta, as amostras foram analisadas por espectrofotometria, com cubetas de quartzo (1 cm de caminho óptico).

O mesmo procedimento ocorreu com as amostras contendo Melatonina comercial e Melatonina somada as diversas concentrações de peróxido de hidrogênio utilizadas.

Durante o período de excitação das amostras pelo LASER, a iluminação ambiente foi mantida desligada para que o sistema fármaco- H_2O_2 não sofresse influência externa.

4.4. Espectrofotometria no UV-Vis

As varreduras espectrofotométricas foram realizadas utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (ultravioleta-visível) de duplo feixe, duplo monocromador, com fotomultiplicador da marca PerkinElmer®, modelo Lambda 25. Foram adotadas nas medidas fendas para passagem de luz de 1,0 nm cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm e temperatura ambiente. A linha de base foi corrigida com água deionizada. As medidas de absorbância foram realizadas no modo de varredura dentro da faixa espectral de 200 a 700nm, com velocidade de escaneamento de 240 nm/min. Os dados obtidos foram tratados com o software UV Solutions® 3.0 e transferidos para o programa de construção gráfica PrismGraphpad 6.0®.

4.5. Dados e Estatística

Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. Quando possível foi realizada regressão linear. Todas as análises estatísticas foram

realizadas por meio dos softwares GraphPadPrism® 6.0 e Microsoft® Excel 2013.

5. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos durante os experimentos podem ser sumarizados nas figuras a seguir.

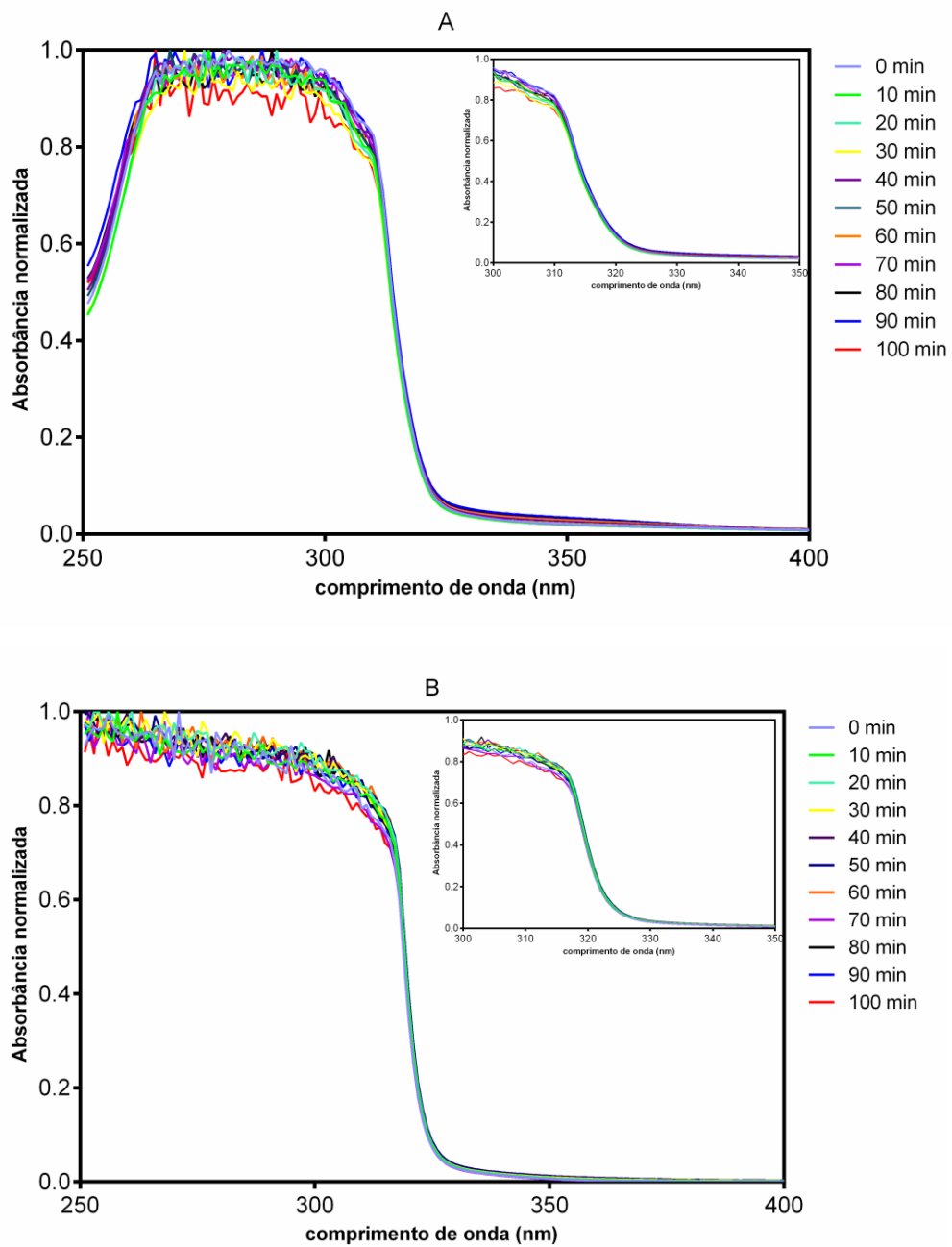
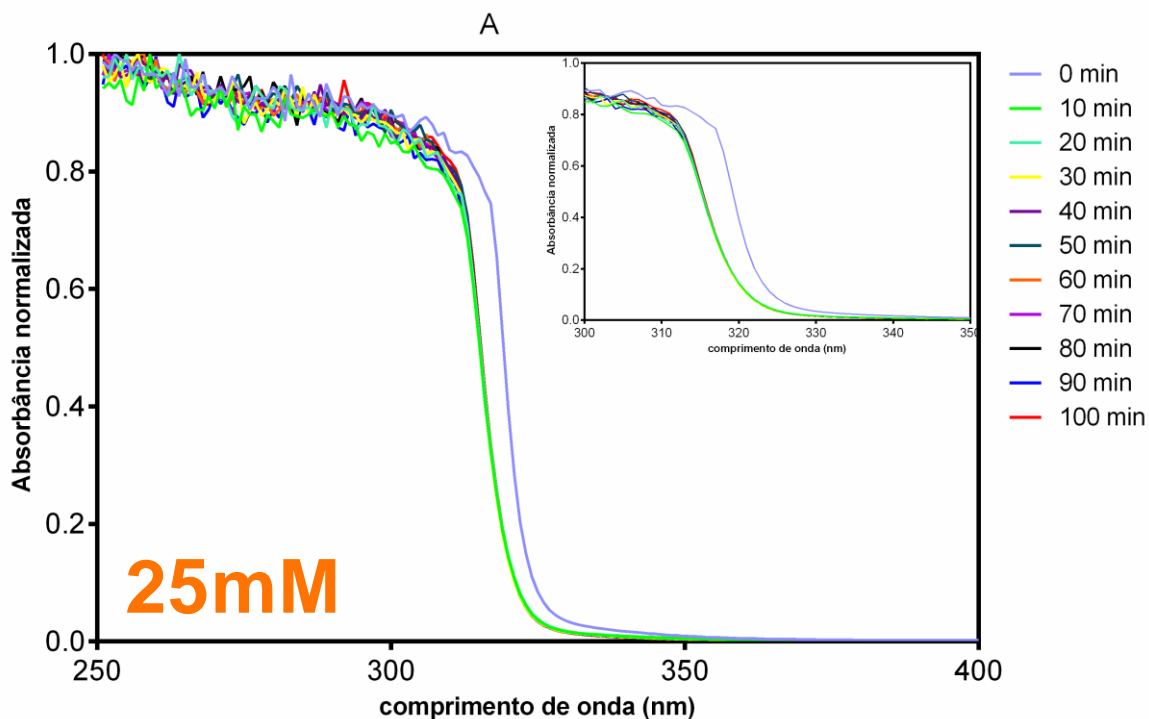


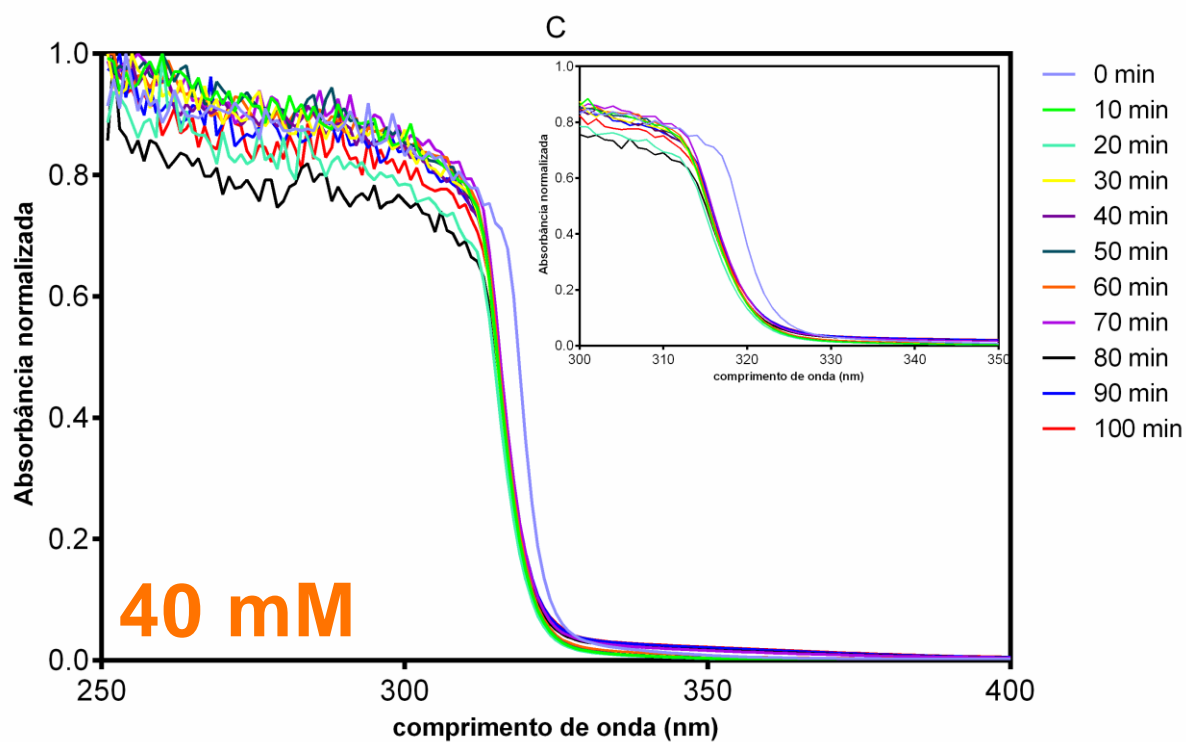
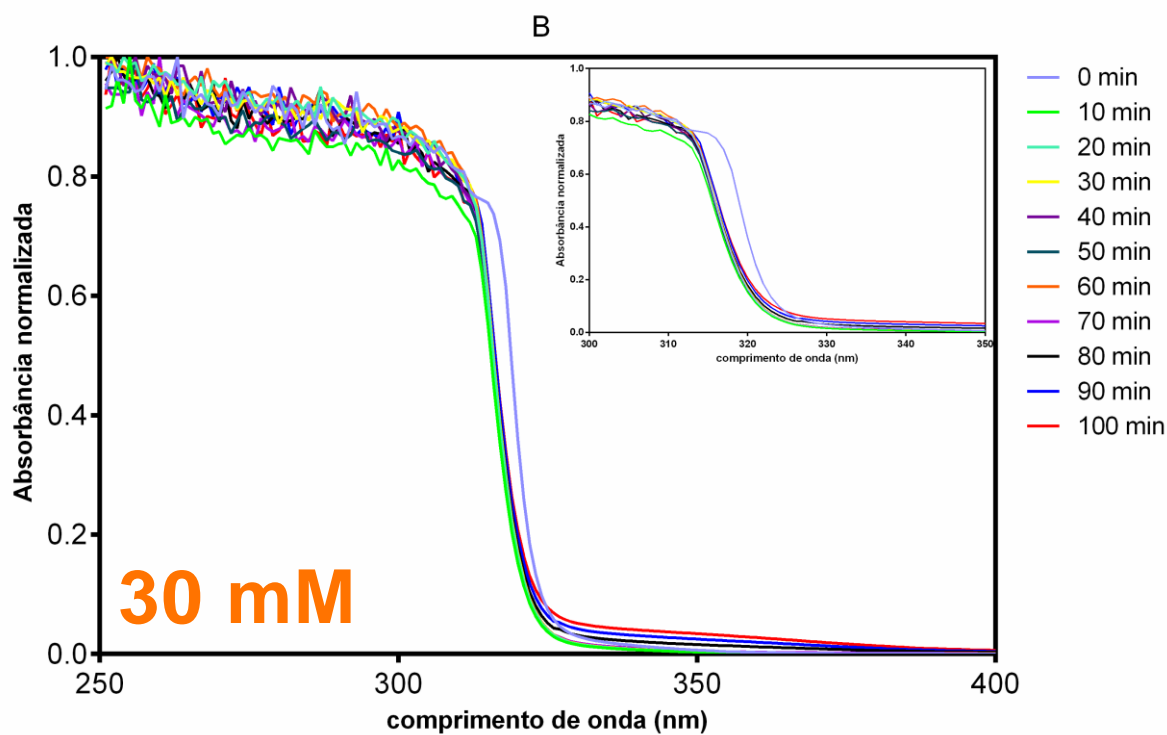
Figura 7. Espectros normalizados da Melatonina Comercial (A) e Melatonina Padrão (B)

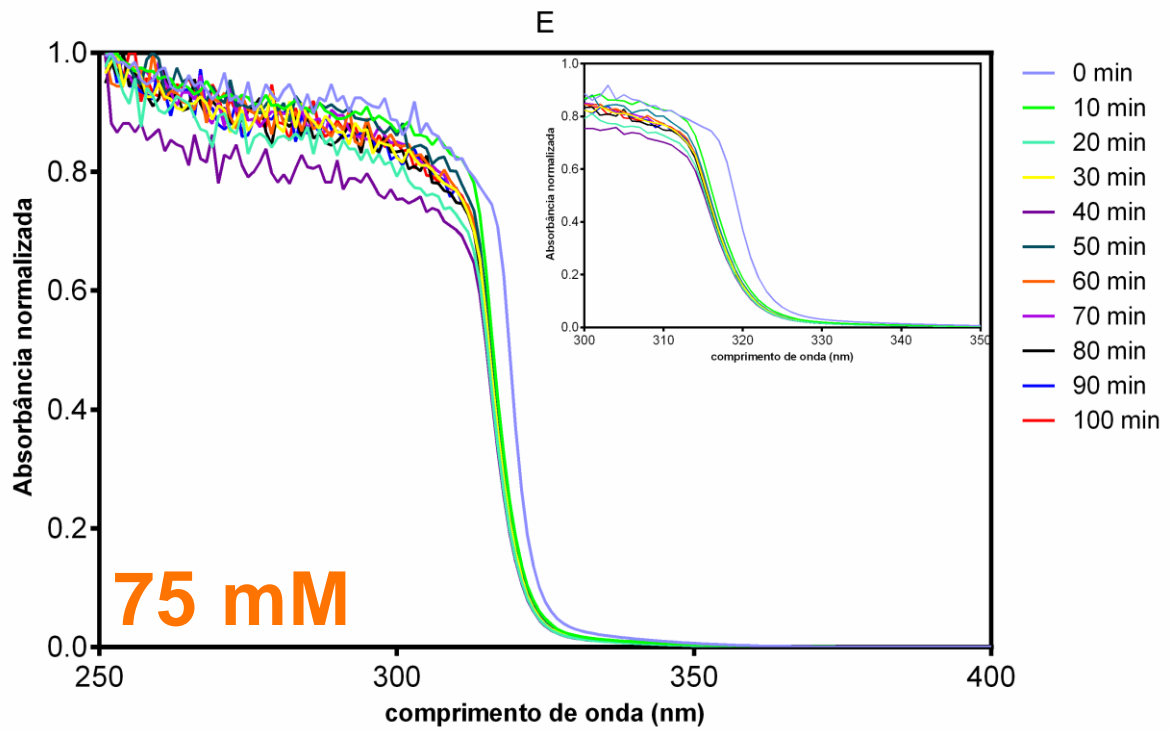
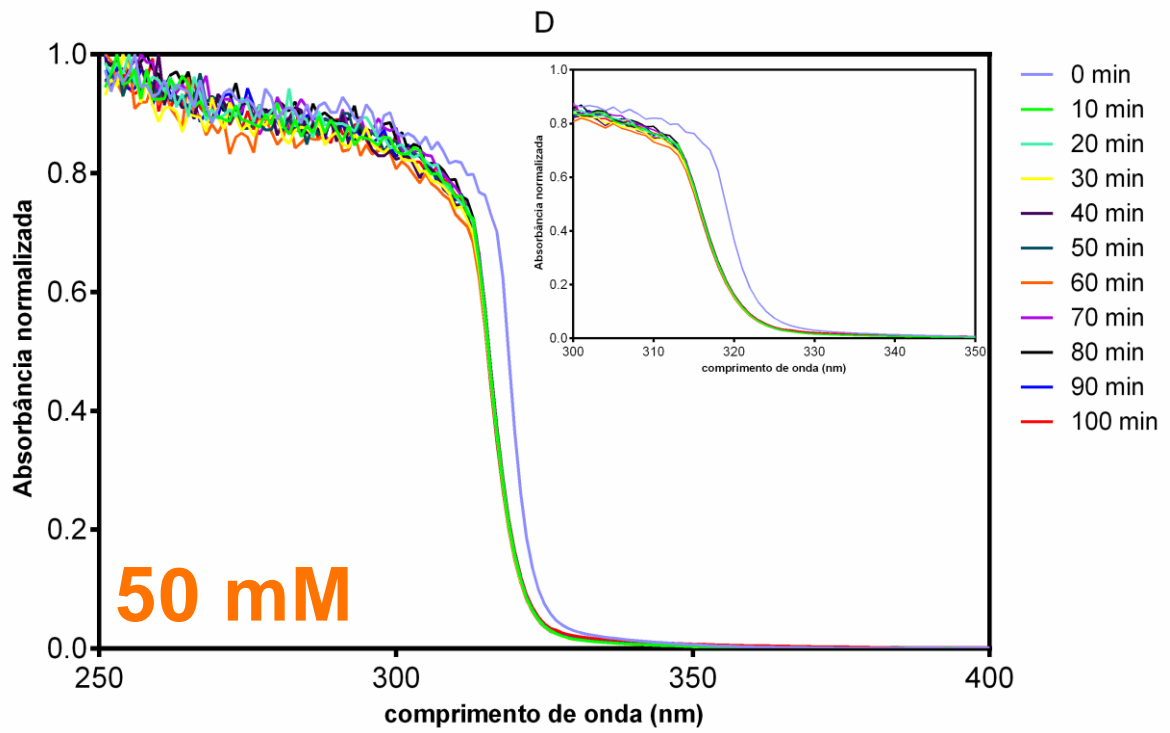
De acordo com os espectros de absorção acima observa-se que o comportamento apresentado pelo medicamento comercial é o mesmo apresentado pelo padrão adquirido da Sigma-Aldrich® (St Louis, MO, EUA), indicando que há no medicamento a presença do fármaco em questão.

Os tempos mencionados na figura são de exposição da solução ao feixe de luz LASER 370nm CUBE Coherent® (Santa Clara, CA, EUA) que foram previamente estabelecidos de acordo com a revisão da literatura.

Por seguinte, foram medidos os espectros de absorção da melatonina padrão em conjunto com o peróxido de hidrogênio sob efeito da luz LASER, formando assim o sistema homogêneo UV/H₂O₂ – Fármaco. E seus espectros estão dispostos na próxima figura.







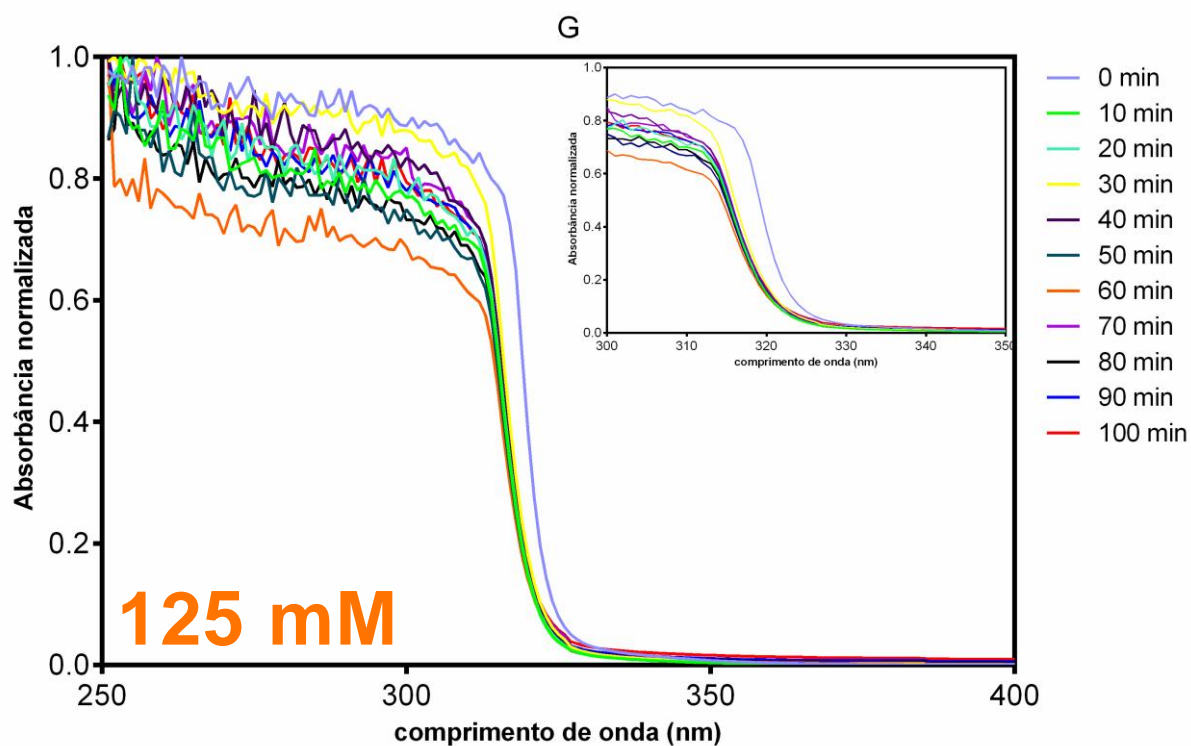
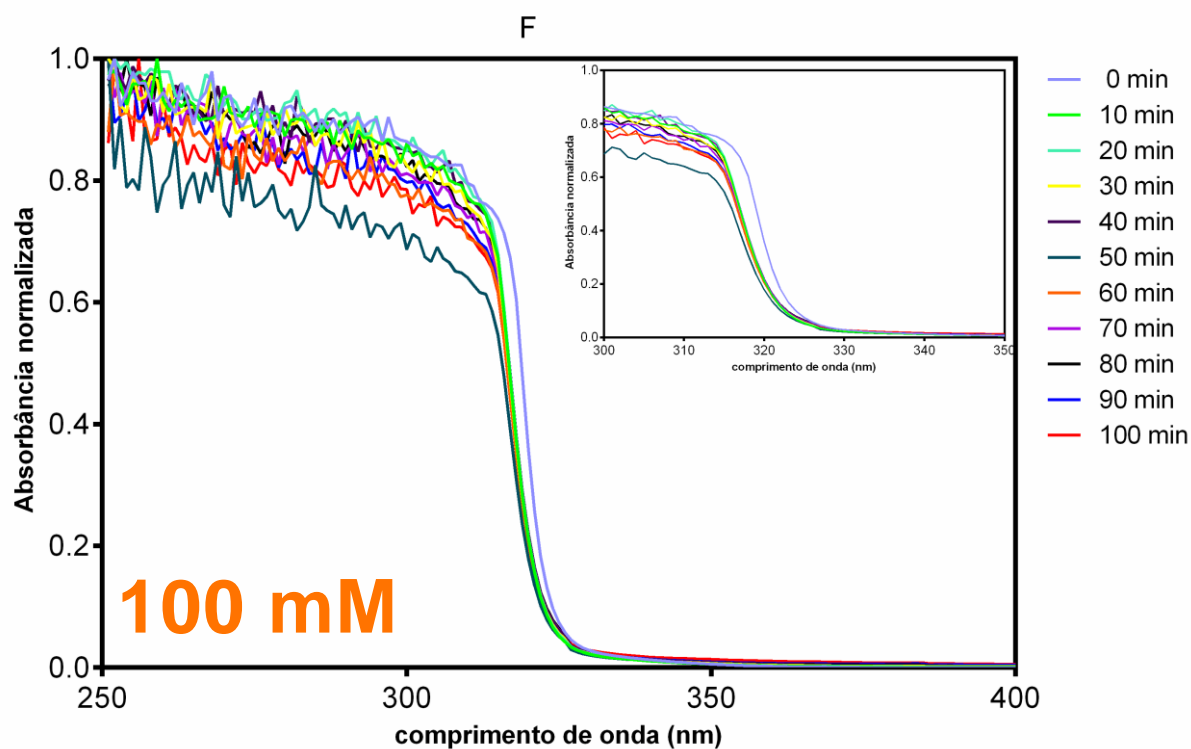


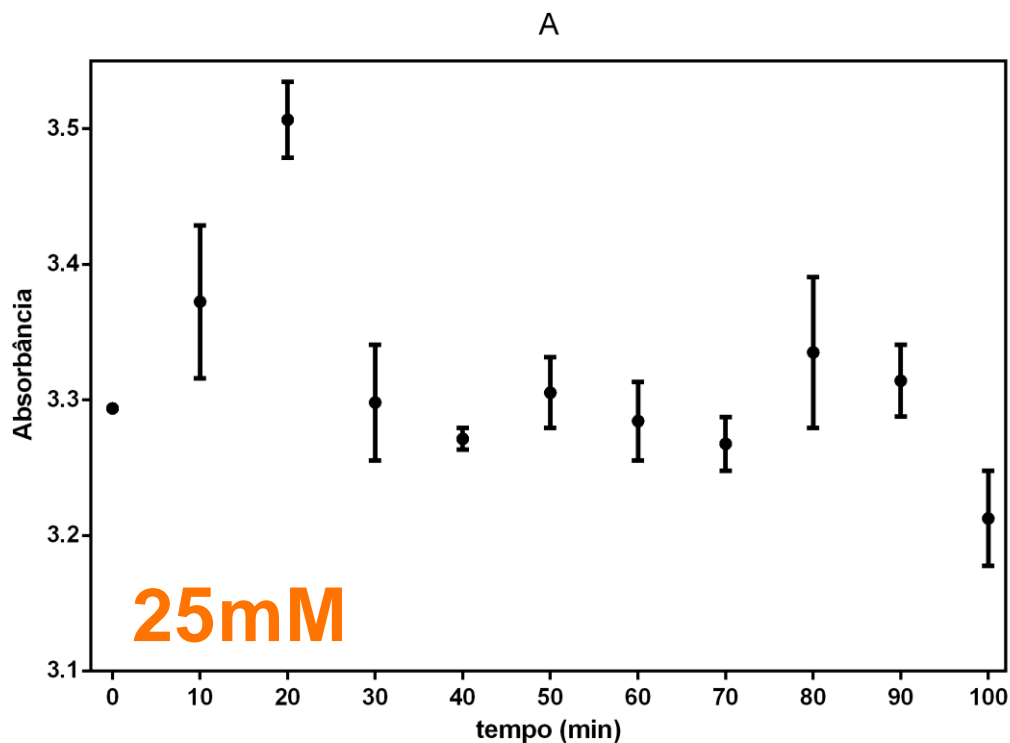
Figura 8. Espectros normalizados da Melatonina padrão na presença das diferentes concentrações de H_2O_2 . (A) Melatonina Padrão + UV/ H_2O_2 25mM (B) Melatonina Padrão + UV/ H_2O_2 30mM (C) Melatonina Padrão + UV/ H_2O_2 40mM (D) Melatonina Padrão + UV/ H_2O_2 50mM (E) Melatonina Padrão + UV/ H_2O_2 75mM (F) Melatonina Padrão + UV/ H_2O_2 100mM (G) Melatonina Padrão + UV/ H_2O_2 125mM.

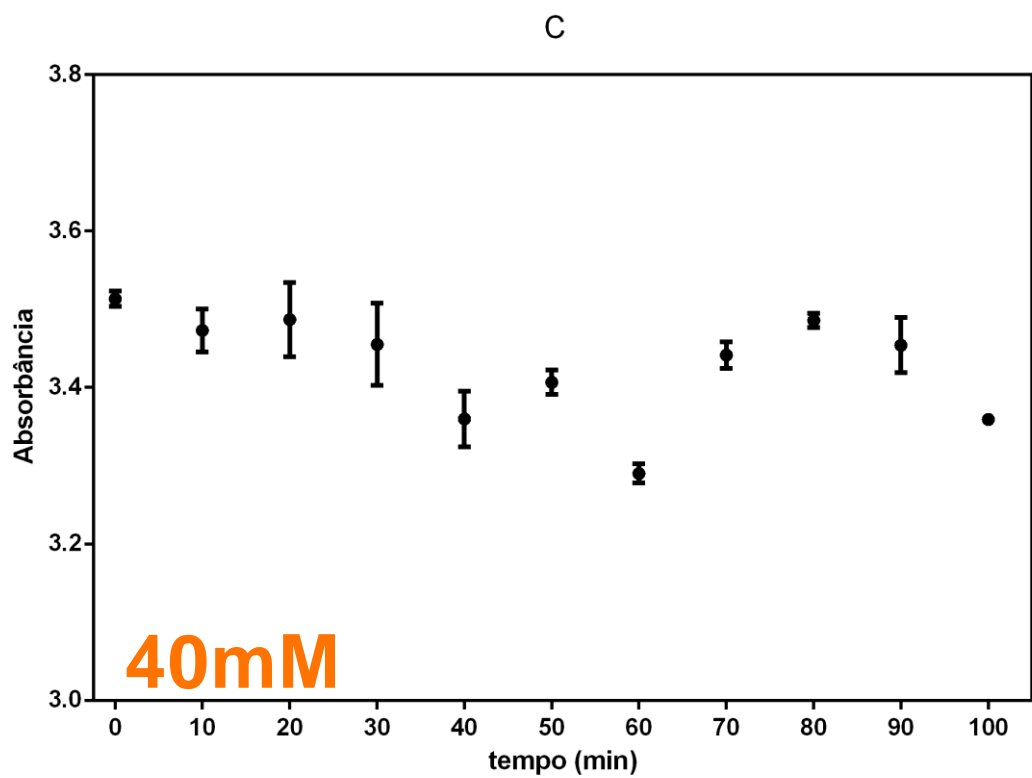
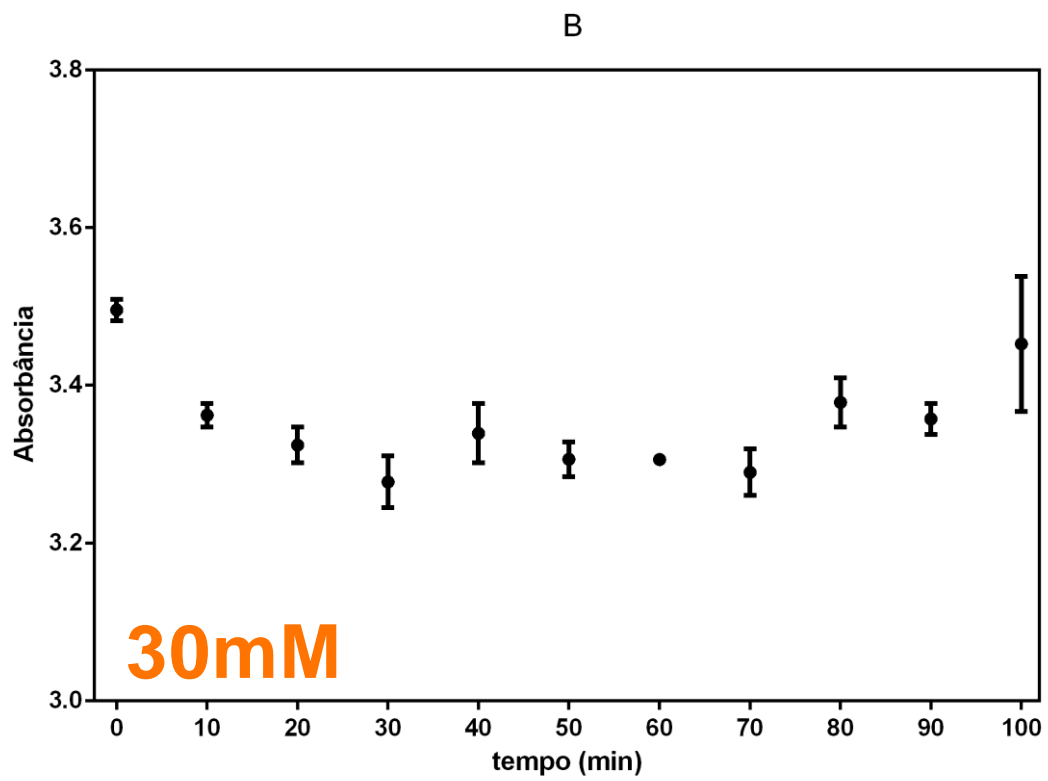
Apesar de a concentração de 125 mM apresentar um bom decaimento na concentração da molécula, foi refutado o uso dessa concentração como padrão, pois existe uma inviabilidade econômica deixando o processo extremamente oneroso para os gestores de industriais que optem por ele.

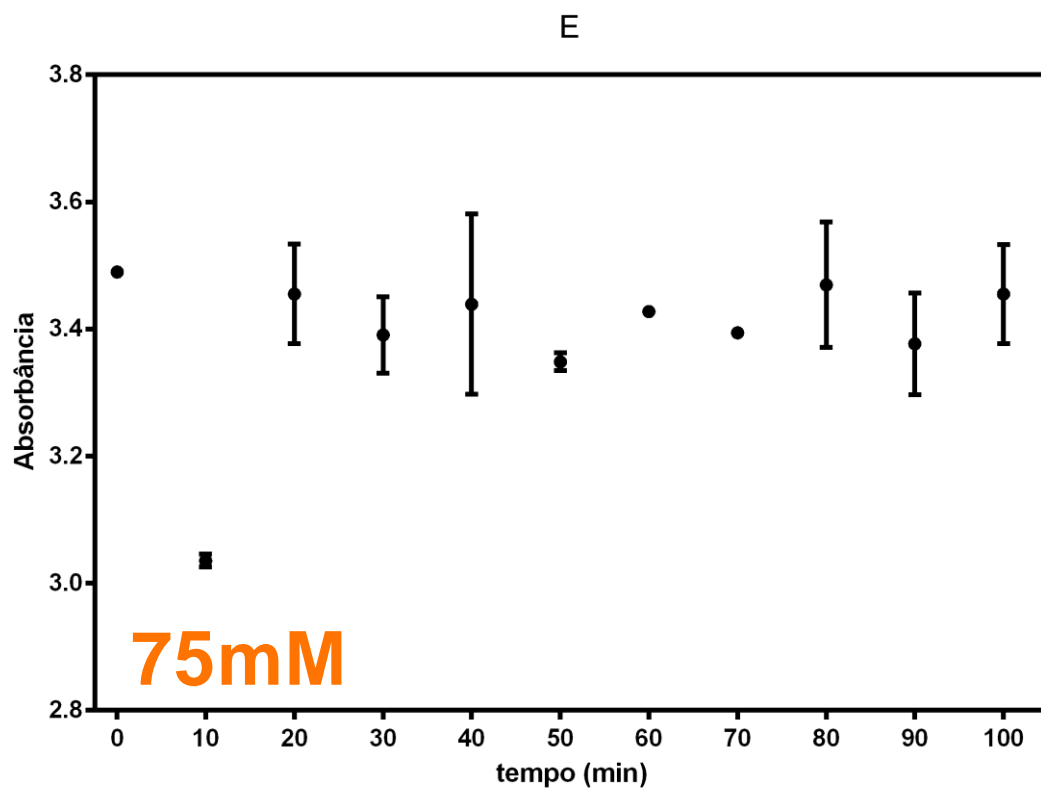
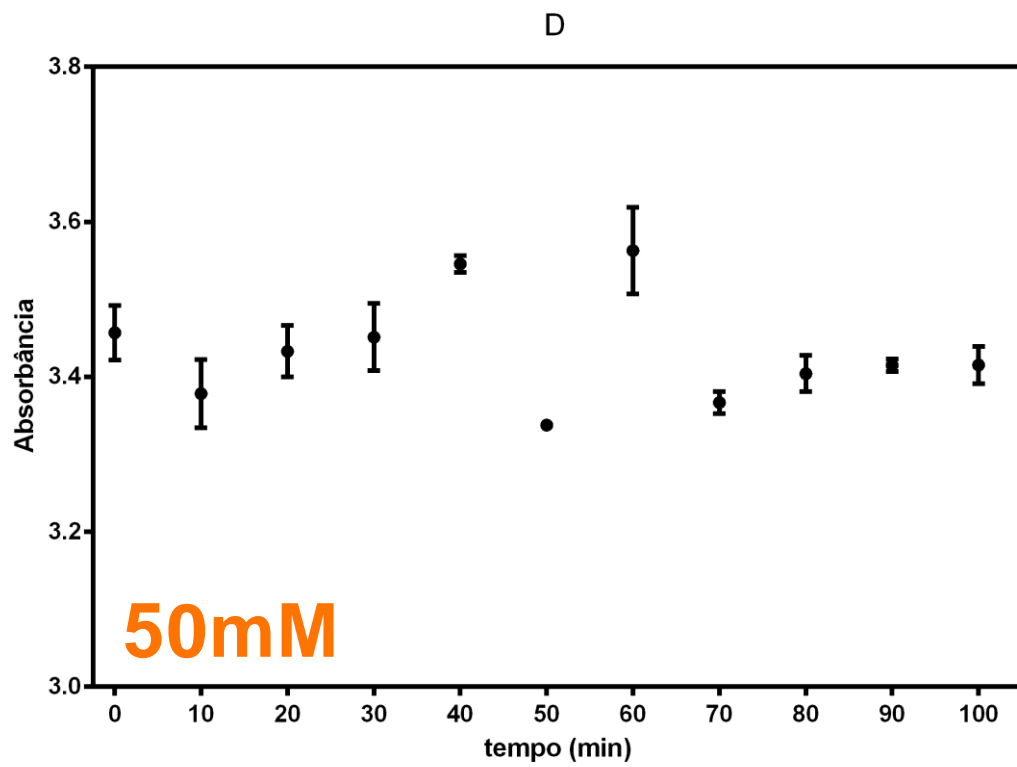
De acordo com a literatura já consolidada a melatonina apresenta espectro de absorção específica em 278nm, onde nos espectros acima não se observa alteração significativa em sua concentração.

Os testes foram realizados com um laser em comprimento de ondas de 370nm porque o objetivo era avaliar o processo sem a presença de um fotossensibilizador ou íon metálico. Os fotossensibilizadores usuais possuem absorção específica próximo dessa faixa emissão.

A figura abaixo possibilita observar que não há linearidade na apresentação das absorções em 278nm, que é a absorção específica da melatonina, restando observado o que já era esperado no início, pois esse trabalho foi encaminhado como um estudo controle para utilização como base para a continuação da pesquisa de mestrado.







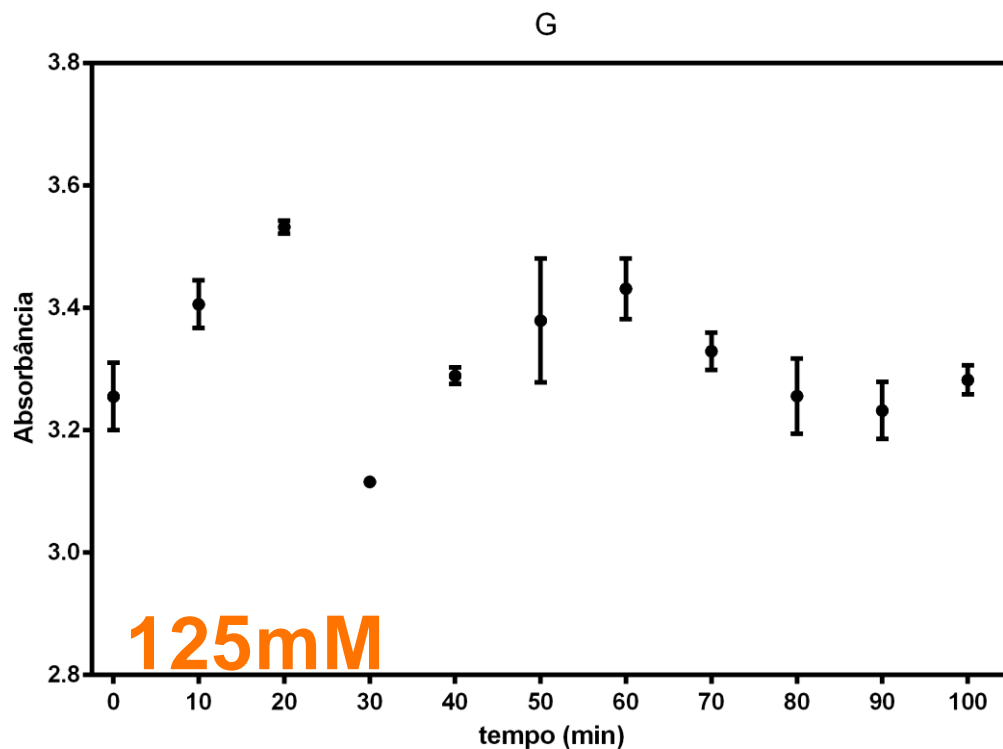
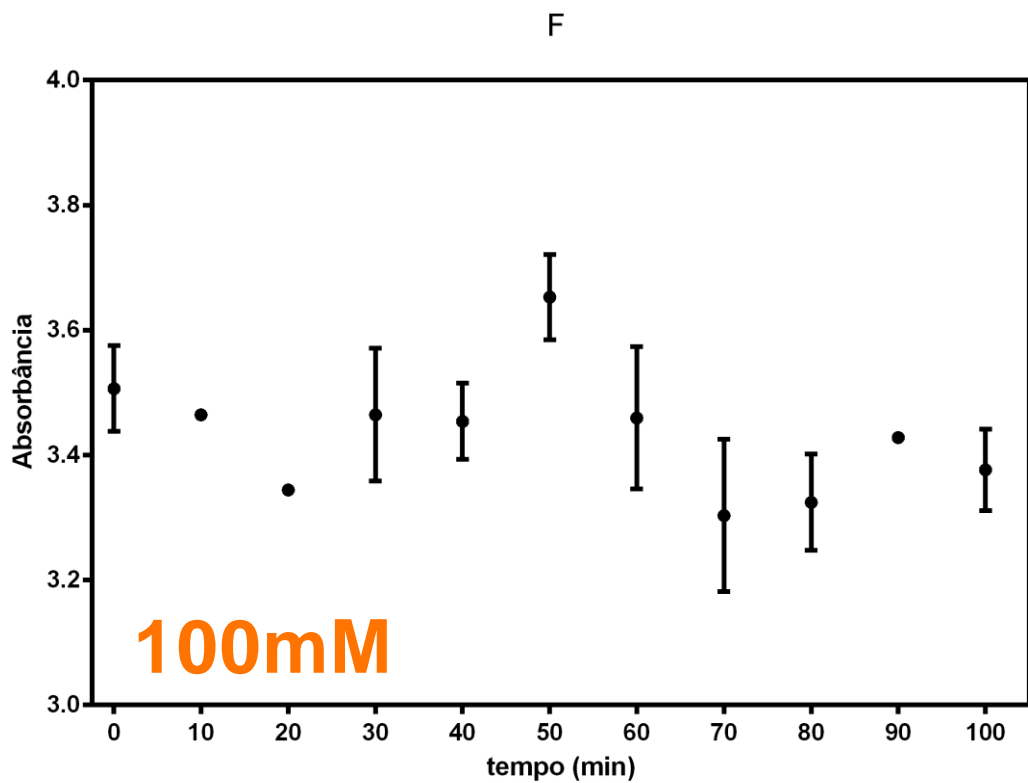


Figura 9. Análise de média \pm desvio padrão das absorções em duplicata da Melatonina padrão na presença das diferentes concentrações de H₂O₂ em 278nm. (A) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 25mM (B) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 30mM (C) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 40mM (D) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 50mM (E) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 75mM (F) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 100mM (G) Melatonina Padrão + UV/H₂O₂ 125mM.

Ao analisar os resultados foi possível estabelecer que o sistema LASER, no tempo de irradiação avaliado, não foi capaz de degradar totalmente o fármaco melatonina.

6. Considerações Finais

Diversos estudos apontam a eficiência dos processos oxidativos avançados na remoção de rejeitos industriais do meio ambiente. Com o aumento da preocupação com os recursos naturais esses processos se tornam alternativa limpa, pois ao seu final, na maior parte das vezes o contaminante é eliminado por completo deixando apenas substâncias inofensivas ao ambiente.

Os experimentos foram realizados de forma preliminar e controle e visaram elucidar um perfil inicial da melatonina, pois outros testes serão realizados em um futuro próximo de forma complementar para compor a pesquisa de mestrado que já se encontra em andamento e utilizará o mesmo fármaco como elemento de pesquisa.

Com o presente trabalho foi possível estabelecer um aprendizado aprofundado das técnicas e utilização do sistema LASER, estudos de padronização e realização de revisão bibliográfica.

7. Referências Bibliográficas

ALI, Imran; ABOUL-ENEIN, Hassan Y.; GUPTA, V. K.. Analysis of Melatonin in Dosage Formulation by Capillary Electrophoresis. **Journal Of Liquid Chromatography & Related Technologies**, [s.l.], v. 30, n. 4, p.545-556, mar. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10826070601093861>.

ALMEIDA, L. L. de et al. Efeito protetor da melatonina sobre intoxicações por herbicidas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s.l.], v. 36, n. 3, p.174-180, mar. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2016000300005>.

ANDRISANO, V. et al. Photostability of drugs: photodegradation of melatonin and its determination in commercial formulations. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, Estados Unidos, v. 1, n. 23, p.15-23, jan. 2000.

ARAÚJO, F. V. da F. **Estudo do processo Fenton Heterogêneo utilizando hematita (Fe_2O_3) como catalisador na descoloração de soluções de corante reativo**. 2008. 183 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado Tecnologia dos Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

ARAÚJO, K. S. de et al. PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS: FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES NO TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS E EFLUENTES INDUSTRIAIS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 5., 2014, Belo Horizonte. **Resumo**. Belo Horizonte: Instituto Brasileiro de Estudos Ambientais, 2014. p. 1 - 9.

ARAÚJO, K. S. de et al. Advanced oxidation processes: a review regarding the fundamentals and applications in wastewater treatment and industrial wastewater. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal Of Applied Science**, [s.l.], v. 11, n. 2, p.387-401, 15 abr. 2016. Instituto de Pesquisas Ambientais em Bacias Hidrograficas (IPABHi). <http://dx.doi.org/10.4136/ambiente-agua.1862>.

BAGNATO, V. S.. **Os fundamentos da luz LASER**. 2001. Disponível em: <<http://www.cepa.if.usp.br/e-fisica/apoio/textos/a02.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2017

BOTELHO, A. do C. F. **AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DA MELATONINA NAS INTERAÇÕES ENTRE TROFOZOÍTOS DE *Entamoebahistolytica* E *Entamoebadispar* COM CÉLULAS SANGUÍNEAS**. 2009. 117 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Parasitologia, Departamento de Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BRASIL. Tribunal Regional Federal 1ª Região. AÇÃO ORDINÁRIA/Outras nº 0003510-16.2015.4.01.3400. ACTIVE PHARMACEUTICA LTDA ME. AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA - ANVISA. Relator: Juíza KÁTIA BALBINO DE CARVALHO FERREIRA. **Dju**. Brasília, 2016.

BRASIL. Assessoria de Imprensa da Anvisa. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Melatonina**. 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=/asset_publisher/view_content&_101_assetEntryId=2863907&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=melatonina&redirect=http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=3&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_3_groupId=0&_3_keywords=melatonina&_3_cur=1&_3_struts_action=%2Fsearch%2Fsearch&_3_format=&_3_formDate=1441824476958&inheritRedirect=true>. Acesso em: 04 jun. 2017.

BRÖMME, Hans-jürgen; PESCHKE, E; ISRAEL, G. Photo-degradation of melatonin: influence of argon, hydrogen peroxide, and ethanol. **Journal Of Pineal Research**, [s.l.], v. 44, n. 4, p.366-372, maio 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079x.2007.00536.x>.

CAPITELLI, C. S. **EFEITO DA MELATONINA EM MODELO ANIMAL DE PARKINSONISMO INDUZIDO PELO MPTP**. 2007. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

CAVALCANTE, R. P. **AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DO AGENTE ANTINEOPLÁSICO MITOXANTRONA POR PROCESSOS H_2O_2 /UV, FOTO-FENTON E FOTO-FENTON SOLAR**. 2012. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Centro de Exatas e Tecnologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2012.

COLLINS, A. et al. Overexpression of the MT1 melatonin receptor in MCF-7 human breast cancer cells inhibits mammary tumor formation in nude mice. **Cancer Letters**, Limerick, v. 189, n. 1, p. 49-57, jan. 2003.

COS, S. et al. Estrogen-signaling pathway: A link between breast cancer and melatonin oncostatic actions. **Cancer Detection and Prevention**, London, v. 30, n. 2, p. 118-128, 2006.

CUNHA, G. M. de A. et al. USO DO PROCESSO FOTO-FENTON NO TRATAMENTO DE ÁGUAS PRODUZIDAS EM CAMPOS DE PETRÓLEO. **Abpg**, Campinas, v. 6, n. 2, p.1-10, out. 2007.

FIGUEIREDO, M.; SANTOS, E. P. dos; SCHMACHTENBERG, N.. PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS: FUNDAMENTOS E APLICAÇÃO AMBIENTAL. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia**

Ambiental, [s.l.], v. 18, n. 1, p.79-91, 7 abr. 2014. Universidade Federal de Santa Maria. <http://dx.doi.org/10.5902/2236117010662>.

GALANO, A. et al. Melatonin and its metabolites as copper chelating agents and their role in inhibiting oxidative stress: a physicochemical analysis. **Journal Of Pineal Research**, [s.l.], v. 58, n. 1, p.107-116, 12 dez. 2014. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jpi.12196>.

GOSWAMI, S.; HALDAR, C.. UVB irradiation severely induces systemic tissue injury by augmenting oxidative load in a tropical rodent: Efficacy of melatonin as an antioxidant. **Journal Of Photochemistry And Photobiology B: Biology**, [s.l.], v. 141, p.84-92, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.08.027>.

GOSWAMI, S.; HALDAR, C. Melatonin as a possible antidote to UV radiation induced cutaneous damages and immune-suppression: An overview. **Journal Of Photochemistry And Photobiology B: Biology**, [s.l.], v. 153, p.281-288, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.10.006>.

HARDELAND, R. Melatonin in Plants – Diversity of Levels and Multiplicity of Functions. **Frontiers In Plant Science**, [s.l.], v. 7, p.1-14, 19 fev. 2016. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00198>.

HE, Hui et al. **THE FORMATION AND PROPERTIES OF THE MELATONIN RADICAL: A PHOTOLYSIS STUDY OF MELATONIN WITH 248 NM LASER LIGHT**. **Organic & Biomolecular Chemistry**, [s.l.], v. 3, n. 8, p.1568-1574, 2005. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b501202c>.

HUANG, C.P.; DONG, Chengdi; TANG, Zhonghung. Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. **Waste Management**, [s.l.], v. 13, n. 5-7, p.361-377, jan. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0956-053x\(93\)90070-d](http://dx.doi.org/10.1016/0956-053x(93)90070-d)

JARDIM, W. F.; CANELA, M. C. Volume 01: Fundamentos da Oxidação Química no Tratamento de Efluentes e Remediação de Solos. In: CAMPINAS. Laboratório de Química Ambiental. Unicamp. **Caderno Temático**. Campinas: Unicamp, 2004. p. 1-10.

LI, Y. et al. Melatonin for the prevention and treatment of cancer. **Oncotarget**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.1-26, mar. 2017.

LOPES, L. A. **Laser semiconductor**. Disponível em: <http://www.nupen.com.br/Revista_port/fund_fisicos2.php>. Acesso em: 16 jun. 2017.

MAGANHIN, C. C. et al. EFEITOS DA MELATONINA NO SISTEMA GENITAL FEMININO: Breve Revisão. **RevAssocMedBras**, São Paulo, v. 54, n. 3, p.267-271, jan. 2008.

MARCELINO, R. B. P. **APLICAÇÃO DE PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS PARA O TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE ANTIBIÓTICOS**. 2014. 148 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

MAHARAJ D. S. et al. THE IDENTIFICATION OF THE UV DEGRADANTS OF MELATONIN AND THEIR ABILITY TO SCAVENGE FREE RADICALS. **J. Pineal Res.** 2002; 32:257–261.

MAHARAJ, D. S. et al. Melatonin generates singlet oxygen on laser irradiation but acts as a quencher when irradiated by lamp photolysis. **Journal Of Pineal Research**, [s.l.], v. 38, n. 3, p.153-156, abr. 2005. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-079x.2004.00185.x>.

MAHARAJ, D. S.; GLASS, B. D.; DAYA, S. Melatonin: New Places in Therapy. **Bioscience Reports**, [s.l.], v. 27, n. 6, p.299-320, 7 set. 2007. Portland Press Ltd..<http://dx.doi.org/10.1007/s10540-007-9052-1>.

MARTINS, L. M. **ESTUDO DA APLICAÇÃO DE PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES TÊXTEIS VISANDO O SEU REÚSO**. 2011. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Desenvolvimento e Meio Ambiente, Núcleo de Referência em Ciências Ambientais do Trópico Ecotonal do Nordeste, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

MARTINS, L. M. et al. Aplicação de Fenton, foto-Fenton e UV/H_2O_2 no tratamento de efluente têxtil sintético contendo o corante Preto Biozol UC. **EngSanitAmbient**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 3, p.261-270, jul. 2011.

MATUSZAK, Z. et al. Interaction of Singlet Molecular Oxygen with Melatonin and Related Indoles. **Journal Of Photochemistry And Photobiology B: Biology**, [s.i.], v. 78, n. 5, p.449-455, ago. 2003.

MONTEIRO, L. M. M. **Os recetores da melatonina como novos alvos de fármacos antidepressivos**. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2014.

NASCIMENTO, D. M. **Melatonina: o mais potente antioxidante natural**. 2014. Disponível em: <<http://eternajuventudeblog.blogspot.com.br/2014/06/melatonina-o-mais-potente-antioxidante.html>>. Acesso em: 14 jun. 2017.

NOGUEIRA, R. F. P. et al. **FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES AMBIENTAIS DOS PROCESSOS FENTON E FOTO-FENTON**. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p.400-408, jan. 2007.

Reinisch, L. Laser physics and tissue interactions. **OtolaryngolClin North Am.**, [s.i.], v. 6, n. 29, p.893-914, dez. 1996.

REITER, R. J. et al. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. **Journal Of Pineal Research**, [s.l.], v. 61, n. 3, p.253-278, 1 set. 2016. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jpi.12360>.

RODRIGUES, R. V. **O EFEITO DA MELATONINA NA ANGIOGÊNESE E METÁSTASE DE LINHAGENS DE CARCINOMA EPIDERMÓIDE BUCAL**. 2013. 86 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Genética, Universidade Estadual de São Paulo - Unesp, São José do Rio Preto, 2013.

ROMÃO, J. et al. High throughput screening of photocatalytic conversion of pharmaceutical contaminants in water. **Environmental Pollution**, [s.l.], v. 220, p.1199-1207, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.015>.

SÁNCHEZ, A; CALPENA, A; CLARES, B. Evaluating the Oxidative Stress in Inflammation: Role of Melatonin. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 16, n. 8, p.16981-17004, 27 jul. 2015. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms160816981>.

SANTOS, D. M. dos e CONSTANTINO, D. H. J. **EFEITO DO TRATAMENTO COM MELATONINA SOBRE A PRODUÇÃO DE METÁSTASES NEOPLÁSSICAS**. *SALUSVITA*, Bauru, v. 34, n. 1, p. 71-86, 2015.

SANTOS, G. V. da F. **DEGRADAÇÃO DO ÁCIDO DICLOROACÉTICO VIA TECNOLOGIA DE OXIDAÇÃO AVANÇADA OZÔNIO/UV: um estudo cinético**. 2003. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

SINGH, G. et al. Vibrational and electronic spectroscopic studies of melatonin. **SpectrochimicaActa Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s.l.], v. 118, p.73-81, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.08.077>.

TEIXEIRA, C. P. A. B; JARDIM, W. F. Volume 03: Processos Oxidativos Avançados: conceitos básicos. In: CAMPINAS. Laboratório de Química Ambiental. Unicamp. **Caderno Temático**. Campinas: Unicamp, 2004.

TURSILLI, R. et al. Enhancement of melatonin photostability by encapsulation in lipospheres. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, [s.l.], v. 40, n. 4, p.910-914, mar. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2005.08.025>.

XU, C. et al. Melatonin is involved in the apoptosis and necrosis of pancreatic cancer cell line SW-1990 via modulating of Bcl-2/Bax balance. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 67, n. 2, p. 133- 139, mar. 2013.

XU, X. R. et al. Degradation of melatonin by UV, UV/H₂O₂, Fe²⁺/H₂O₂ and UV/Fe²⁺/H₂O₂ processes. **Separation And Purification Technology**, [s.l.], v. 68, n. 2, p.261-266, ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2009.05.013>.

YADAV, T. et al. Anticedants and natural prevention of environmental toxicants induced accelerated aging of skin. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, [s.l.], v. 39, n. 1, p.384-391, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2014.11.003>.

ZHU, H. et al. Protective effect of melatonin on photo-damage to lysozyme. **Journal Of Photochemistry And Photobiology B: Biology**, [s.l.], v. 94, n. 2, p.125-130, fev. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2008.11.004>.