

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE DERIVADOS DE BENZOFENONAS: ESTUDOS
DE FOTOPROTEÇÃO E FOTODEGRADAÇÃO *IN VITRO***

Aluno: **PAULO RENATO YAMASAKI**

ORIENTADOR: Prof^ª. Dra.

CHUNG MAN CHIN

CO-ORIENTADOR prof.Dr.

MARCOS ANTÔNIO CORREA

ARARAQUARA – SP

2016

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

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE DERIVADOS DE BENZOFENONAS: ESTUDOS DE
FOTOPROTEÇÃO E FOTODEGRADAÇÃO *IN VITRO***

Aluno: **PAULO RENATO YAMASAKI**

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

ORIENTADOR: Prof^ª. Dra. Chung Man Chin

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcos Antonio Corrêa

ARARAQUARA – SP

2016

Ficha Catalográfica

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

Y197p

Yamasaki, Paulo Renato

Planejamento e síntese de derivados de benzofenonas: estudos de fotoproteção e fotodegradação *in vitro* / Paulo Renato Yamasaki. — Araraquara, 20146
101 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Chung Man Chin

1. Fotoproteção. 2. Antioxidante. 3. Filtros solares. 4. Radiação UV. 5. Câncer de pele 6. Fotoenvelhecimento . I. Chung, Man Chin, orient. II. Título.

CAPES: 40300005

Dedicatória

“Dedico este trabalho aos meus avós que mesmo em meio a todas as dificuldades que a vida me ofereceu, me ensinaram a sorrir e a lutar pelos meus sonhos, sempre me ensinado, educando e acreditando que um dia eu poderia me tornar doutor. Em igual proporção de gratidão à minha querida e amada mãe que sempre foi um espelho de garra e força de vontade.”

“Para ser grande sê inteiro, nada teu exagera ou exclui,
Sê todo em cada coisa, põe o quanto és no mínimo que fazes,
Assim em cada lagoa a lua toda brilha, porque alta vive.”

Ricardo Reis (Fernando Pessoa)

Agradecimentos

Em primeiro lugar a minha família, minha mãe, meus tios, meus avós, minha irmã e sobrinho, que sempre serão o alicerce do meu caráter e das minhas virtudes.

Á minha orientadora Chung Man Chin que nunca deixou de acreditar e incentivar meu trabalho, e por todos os esforços que ela fez para que eu conseguisse conquistar meus objetivos.

Á minha noiva Bruna Pagliarini Pisani e a toda a sua família, em especial a sua mãe Gema Pagliarini e a irmã Marina Pagliarini Pisani, pelo carinho, apoio, paciência e suporte durante este árduo período.

Ao meu co-Orientador, professor Marcos Antonio Correa, pelas palavras de sabedoria e por me ensinar o valor e o respeito profissional na área acadêmica.

Ao meu orientador, amigo e conselheiro, professor Dr. Demian Ifa, por todo o conhecimento profissional e toda a receptividade e colaboração durante todo o período de sanduíche no Canadá, bem como aos amigos da Cannam Bioresearch, pela credibilidade e confiança.

Ao meu querido e grande amigo Diego Eidy Chiba, que foi e continuará sendo um irmão de coração, por todo o auxílio e prestatividade nos momentos mais tensos de todo o trabalho.

Aos grandes amigos do laboratório Rafael Consolin Chelucci, Mateus Scontri, Guilherme Fernandes e Cauê Benito, que me ajudaram e também proporcionaram bons momentos de risadas nas horas tensas.

Á todos os amigos do LAPDESF, Thaís, Dani, Maria, Esther, Aline, Karina, Aylime, José Ricardo, Priscilla, Marcella, Jeová e Ben 10, Juliana e Juliano, espero não ter esquecido de ninguém (rs). Por continuarem ao meu lado mesmo quando tudo parecia difícil ou mesmo impossível.

Aos membros da banca, Gustavo, Renato, Nailton, Eduardo, Vera e André, primeiro por aceitarem o convite e segundo por serem considerados amigos e quiçá colegas de trabalho.

Aos amigos distantes, Shoiti, Melão, Ivo, Renato, Guinho, Shodji, Kodji, Yuh, por serem minha fortaleza durante toda a minha vida e pessoas extraordinárias que sempre me aconselharam e acudiram das peripécias da vida.

Ao setor de pós-graduação da UNESP, pela paciência e prestatividade sempre.

A CAPES, pelo incentivo e apoio financeiro durante todo o período do trabalho sobretudo ao doutorado sanduíche.

Sumário

Capítulo 1

Abreviaturas:.....	7
Resumo:	11
Abstract:	12
1. Revisão bibliográfica:.....	12
2. Objetivo	39
3. Planejamento estrutural:	40
4. Materiais e métodos	42
5. Resultados e discussão	48
6. Conclusões	90
7. Referências bibliográficas:	93

Abreviaturas:

ACN: acetonitrila

BZF-3: benzofenona - 3

DCM: diclorometano

DCM: diclorometano

DESI-MS : Desorption EletroSpray Ionization – Mass Spectrometry

DIC: diisopropilcarbodiimida

DMAP: dimetilaminopiridina

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

EDC: 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida

ERNS: espécies reativas de nitrogênio

EROs: espécies reativas de oxigênio

FPS: fator de proteção solar

HOMO Highest Occupied Molecular Orbital

LUMO Lowest Unoccupied Molecular Orbital

IV : infra-vermelho

MeOH: metanol

PTFE: politetrafluoroetileno

RL: radicais livres

RMN : ressonância magnética nuclear, ^1H quando for de hidrogênios e ^{13}C quando for de carbono.

RUV: radiação ultra violeta

Sn2: substituição nucleofílica do tipo

Lista de figuras:

Figura 1: Diagrama que demonstra a capacidade de penetração na pele bem como a indução de danos causados pela incidência das radiações UVA e UVB.	13
Figura 2: Geração de dano no DNA induzido pela radiação UVA.....	16
Figura 3: Dano causado pela RUV e a resposta celular da pele.....	17
Figura 4: Estratificação esquemática da pele humana.....	21
Figura 5: Fotos mostrando 3 exemplos de carcinomas basocelulares: a) na forma nódulo-ulcerativo, b) na forma plano-superficial e c) na forma pigmentada.....	23
Figura 6: Exemplo de melanoma nodular	23
Figura 7: Pele de um caminhoneiro de 69, que teve apenas um lado do rosto exposto à radiação UV por 25 anos, a imagem mostra os efeitos causados pela exposição excessiva.	24
Figura 8: Penetração da radiação ultravioleta na pele	25
Figura 9: trans isomerização do ácido urocânico.....	27
Figura 10: Mecanismo de absorção da radiação UV.....	29
Figura 11: Estrutura dos derivados de benzofenona. a) Benzofenona-1; b) benzofenona-2; c) benzofenona-3; d) benzofenona-4; e) benzofenona-5; f) benzofenona-6; g) benzofenonas-7 e h) benzofenona-9.....	30
Figura 12: mecanismo de ação dos filtros solares inorgânicos.	30
Figura 13: ácidos orgânicos com atividade antioxidante.....	33
Figura 14: imagem óptica de corte sagital de cérebro de rato e sobreposição de imagens de clozapina depositada nos tecidos cerebrais.	38
Figura 15: .Esquema do funcionamento da técnica de espectrometria de massas Desorption EletroSpray Ionization (DESI-MS).	39
Figura 16: Planejamento estrutural das estruturas da série LAPDESF – BZF, desenvolvidas no projeto.....	41
Figura 17: método sintético 1 utilizando agentes acoplantes (EDC e DIC) e benzofenona-3.	42
Figura 18: metodologia sintética da substituição do bromo do composto 4-bromo-metil-benzofenona, por uma hidroxila, utilizando o par de agentes acoplantes DMAP e EDC.....	43
Figura 19: esquema de aplicação das amostras na placa contendo microcírculos de PTFE..	47
Figura 20: esquema de exposição utilizando-se a câmara de brozeamento artificial, e exposição controlada por intervalos de tempo de 15'.....	48
Figura 21: forma tautomérica da benzofenona-3	50
Figura 22: Espectro de RMN ^1H do composto 4-bromometil-benzofenona.....	51
Figura 23: Espectro de RMN ^1H do composto 4-hidroximetil-benzofenona	52
Figura 24: esquema reacional da síntese dos compostos LAPDESF-BZF-4 e BZF-5	53
Figura 25: RMN ^1H do composto LAPDESF- BZF-4, DMSO d_6 , 300 MHz	54
Figura 26: Ampliação da região entre δ 7,9 – 6,4 ppm do espectro de RMN ^1H do composto LAPDESF- BZF-4.....	55
Figura 27: Espectro de RMN ^{13}C do composto LAPDESF- BZF-4, CDCl_3 , 75 MHz	55
Figura 28: Ampliação da região δ 145,55 – 113,01 ppm do espectro de RMN ^{13}C do composto LAPDESF- BZF4	56
Figura 29: RMN ^1H do composto LAPDESF- BZF-5, CDCl_3 , 300 MHz.....	59

Figura 30: Ampliação da δ região 7,9 – 6,3 ppm do espectro de RMN ^1H do composto LAPDESF- BZF-5, CDCl_3 , 300 mHz.....	59
Figura 31: Espectro de RMN ^{13}C do composto LAPDESF- BZF-5.....	60
Figura 32: Ampliação da região δ 145,31 -114,37 ppm do espectro de RMN ^{13}C do composto LAPDESF- BZF-5.	60
Figura 33: Espectro de UV do padrão 3-metoxicinâmico e Lapdesf bzf -4	62
Figura 34: Espectro UV do composto ácido 4 metoxicinâmico e Lapsdef BZF- 5	63
Figura 35: Esquema reacional de estabilização do radical DPPH.	64
Figura 36: Modelos matemáticos do composto LAPDESF-BZF-4feito por modelagem molecular. Confômero de menor energia, mapa de HOMO e LUMO respectivamente, em seguida mapa de potencial eletrostático e de densidade eletrônica.	68
Figura 37: Modelos matemáticos do composto LAPDESF-BZF-5 feito por modelagem molecular. Confômero de menor energia, mapa de HOMO e LUMO respectivamente, em seguida mapa de potencial eletrostático e de densidade eletrônica.	69
Figura 38: esquema de fotodegradação utilizando-se de lâmpada UVA de 4Watts.	71
Figura 39: esquema utilizando lus de xenônio de 40 Watts para induzir fotodegradação	71
Figura 40: espectro de massas do material PTFE sem substâncias aplicadas a superfície, correspondente método de análise 4.	74
Figura 41: Espectro de massas dos compostos benzofenona-3, metoxicinamato de octila e avobenzona, no tempo zero, antes da submissão à radiação UV.	75
Figura 42: Espectro de massas obtido após 45 min sob efeito da radiação UV (Figura 43: espectro de massas do material PTFE sem substâncias aplicadas a superfície, correspondente método de análise 4.	76
Figura 44: Espectro de massas destacando os íons encontrados na amostra analisada do experimento tentativo 3 no tempo 120'.	77
Figura 45: espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4.	78
Figura 46: espectro de massas do padrão benzofenona-3 no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4.....	79
Figura 47: espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4.....	80
Figura 48: espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4.	81
Figura 49: espectro de massas do padrão metoxicinamato de octila no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4	82
Figura 50: espectro de massas do padrão metoxicinamato de octila no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons.	83
Figura 51: Ions obtidos dos compostos benzofenona-3 (m/z 229 e 151); Avobenzona (m/z 311, 180, 161 e 135) utilizando a técnica de DESI-MS para aquisição das imagens.	85
Figura 52: Íons obtidos do composto 4-brometilbenzofenona (m/z 277, 213 e 197) utilizando a técnica de DESI-MS para aquisição das imagens.....	86
Figura 53: imagens dos fragmentos observados no modo positivo do composto benzofenona-3 utilizando-se do método-3	87
Figura 54: íons correspondentes aos possíveis fragmentos do composto metoxicinamato de octila utilizando-se do método -3 de análise.....	88

Lista de tabelas

Tabela 1: propriedades gerais dos diferentes comprimentos de onda da radiação UV	14
Tabela 2: estiramentos de infravermelho dos compostos obtidos e os respectivos padrões 50	
Tabela 3. Atribuições dos Hidrogênios verificados nos espectros de RMN ^1H dos compostos 4-bromometil-benzofenona e 4-hidroximetil-benzofenona.	52
Tabela 4. Representação dos deslocamentos químicos do composto LAPDESF-BZF-4 apresentados nos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C	57
Tabela 5: representação dos deslocamentos químicos do composto LAPDESF-BZF-5 apresentados nos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C	61
Tabela 6: valores de absorvância críticos dos compostos avaliados.....	63
Tabela 7: <i>Tabela contendo os resultados obtidos dos experimentos de DPPH e determinação de FPS pelo método de Mansur (UVB) e pelo método Optometrics (UVA).</i>	65
Tabela 8 :tabela com os possíveis íons pais a serem visualizados nos espectros de massa das figuras 39 a 49.	73
Tabela 9: As estruturas químicas dos padrões analisados, bem como os possíveis íons dos fragmentos obtidos na aquisição dos espectros de massas dos compostos avaliados.(GAGO-FERRERO et al., 2012)	89

Resumo:

Eritemas, inflamação, fotoenvelhecimento e câncer de pele são os problemas mais comuns causadas por radiação UV, estratificada em 3 regiões do espectro de luz: UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm) e UVC (200-280 nm). As radiações UVA e UVB são as mais nocivas à pele, visto que a radiação UVC é retida pela camada de ozônio e só é utilizada artificialmente como germicida. A incidência da radiação UVA sobre a pele induz a formação de EROS (espécies reativas de oxigênio) que afeta de forma indireta o DNA humano podendo provocar câncer de pele. A radiação UVB afeta diretamente as bases pirimidínicas das moléculas de DNA dificultando o seu reparo, aumentando a chances do indivíduo desenvolver o câncer de pele. Para minimizar e prevenir os danos causados pela radiação UV à pele foram desenvolvidos os filtros solares, dividido entre orgânicos e inorgânicos que apresentam capacidade de bloquear (inorgânicos) ou absorver (orgânicos) a radiação UV incidente na pele. Entre os filtros orgânicos estão as benzofenonas e os cinamatos. Para auxiliar no efeito fotoprotetor dos filtros, a associação com moléculas antioxidantes têm sido recomendada. O objetivo deste trabalho foi planejar e desenvolver novos compostos híbridos de benzofenonas com ácidos cinâmicos com propriedades incrementais antioxidante, analisando a fotodegradação utilizando-se de espectrometria de massas por imagem, e verificando os efeitos da modificação molecular na absortividade no espectro de UV dos compostos. Os novos híbridos foram avaliados quanto ao potencial de fotoproteção, fotodegradação e capacidade antioxidante, apresentando resultados promissores, pois, mantiveram a capacidade fotoprotetora bem como, a atividade antioxidante, além de apresentarem relativa estabilidade frente a radiação UV e um incremento de absortividade na região do UVA.

Abstract:

Erythema, inflammation, photoaging and skin cancer are the most common problems caused by UV radiation. Stratified into 3 regions of the light spectrum: UVA (320-400 nm), UVB (280-320 nm) and UVC (200-280 nm). The UVA and UVB radiations are the most harmful to the skin, because the UVC radiation is retained by the ozone layer and is only used as a germicide artificially. The incidence of UVA radiation on the skin induces the formation of ROS (reactive oxygen species) that affects indirectly the human DNA and can induce skin cancer. UVB radiation directly affects the pyrimidine bases of DNA molecules making it difficult to repair, increasing the chances of the individual developing skin cancer. To minimize and prevent damage caused by UV radiation to the skin sunscreens have been developed. Divided into organic and inorganic, presenting ability to block (inorganic) or absorbing (organic) incident UV radiation on the skin. Among the organic filters are benzophenones and cinnamates. To assist in the photoprotective effect of the filters, the combination with antioxidant molecules have been recommended. The objective of this study was to plan and develop new hybrid compounds of benzophenone with cinnamic acids with antioxidant incremental properties, analyzing photodegradation using imaging mass spectrometry techniques, and checking the effects of molecular change in absorptivity in the UV spectrum of the compounds. The new hybrids were evaluated for potential photoprotection, photodegradation and antioxidant capacity, with promising results, therefore, kept the photoprotective capacity as well, antioxidant activity, in addition to having relative stability against UV radiation and absorptivity increase in UVA region.

1. Revisão bibliográfica:

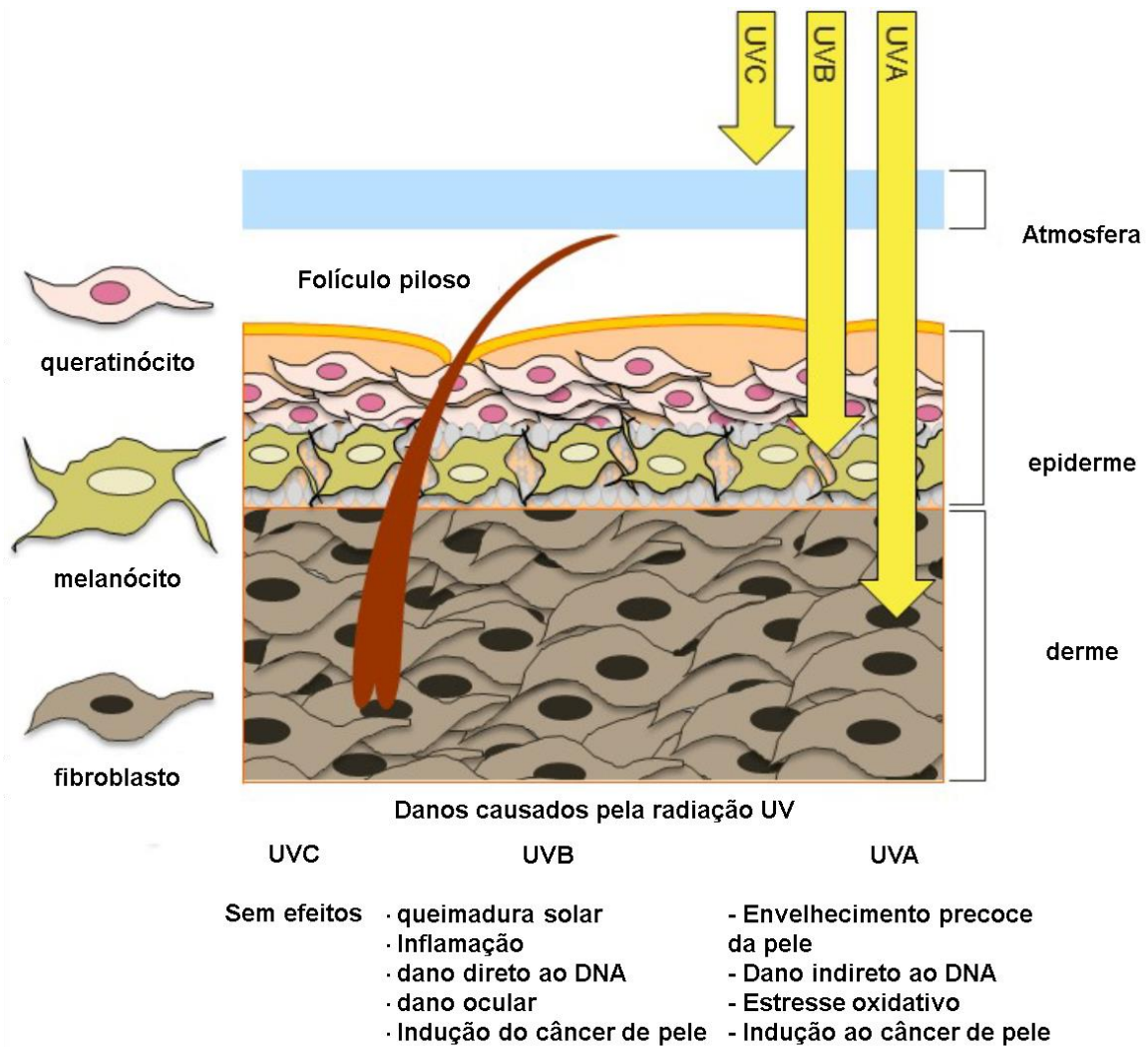
Radiação ultravioleta

A luz solar é composta por uma fração do espectro de radiação eletromagnética, o qual é dividida em diferentes comprimentos de onda. Desta forma a luz solar compreende os espectros de infravermelho (IR), luz visível e ultravioleta (UV). (Narayanan, D., 2010)

A radiação UV que apresenta os menores comprimentos de onda da radiação solar comparada a radiação infravermelha e luz visível é consequentemente a mais energética e está subdividida em 3 faixas diferentes e específicas: UVA (320-400 nm), UVB (280-315 nm) e UVC (200-280 nm) (BRENNER; HEARING, 2008). Dentre, as mais relevantes à pele são: UVA e UVB. A radiação UVC embora mais nociva é retida pela camada de ozônio. (GAO; GARCIA-PICHEL, 2011; GASPARRO; MITCHNICK; NASH, 1998; NASH; TANNER, 2014)

Aproximadamente 90-99% da radiação UV que alcança a superfície terrestre é UVA os demais 1-10% são radiação UVB, a figura 2. E a tabela 1. Correlacionam a capacidade de penetração das radiações UVA e UVB e as potenciais alterações cutâneas ocasionadas pela exposição da pele a estes tipos de radiação. Estudos realizados por Glanz, Buller e Saraiya, 2007 indicou que cerca de 65-95% de todos os melanomas são causados pela exposição a radiação UV. (Glanz, 2007; Narayanan, 2010).

Figura 1: Diagrama que demonstra a capacidade de penetração na pele bem como a indução de danos causados pela incidência das radiações UVA e UVB.



Fonte: adaptado de (AMARO-ORTIZ; YAN; D'ORAZIO, 2014).

Tabela 1: propriedades gerais dos diferentes comprimentos de onda da radiação UV

Tipo de radiação UV	Propriedades gerais
UVA	Aproximadamente 90-99% alcança a superfície terrestre Não é filtrada pela camada de ozônio atmosférica Alto comprimento de onda e baixa energia; pode penetrar profundamente na pele. Considerada inofensiva no passado, hoje é considerada a principal responsável pelos danos a longo prazo causados pela exposição a RUV Causa fotoenvelhecimento, induz pigmentação imediata e persistente (bronzado) Capacidade de atravessar o vidro
UVB	Aproximadamente 1-10% alcança a superfície terrestre Filtrada em até 90% pela camada de ozônio atmosférica Atravessa camada superiores da epiderme por ter uma faixa de comprimento de onda menor ser mais energética do que a da radiação UVA Responsável por causar, Eritemas, Bronzeamento (escurecimento da pele), fotoenvelhecimento, induzir a formação de rugas e câncer de pele. Cem vezes mais efetiva em gerar queimaduras do que a radiação UVA Não atravessa o vidro
UVC	100% retida pela camada de ozônio atmosférico Produzida artificialmente tem grande aplicação como lâmpada germicida Queima superficialmente a Derme e pode induzir ao câncer de pele.

Fonte. Narayanan, 2010.

Por mecanismos diferentes, as radiações UVA e UVB podem levar a lesões cutâneas, que podem acarretar em indução da formação de câncer de pele e fotoenvelhecimento (BRENNER; HEARING, 2008). Estes danos estão relacionados

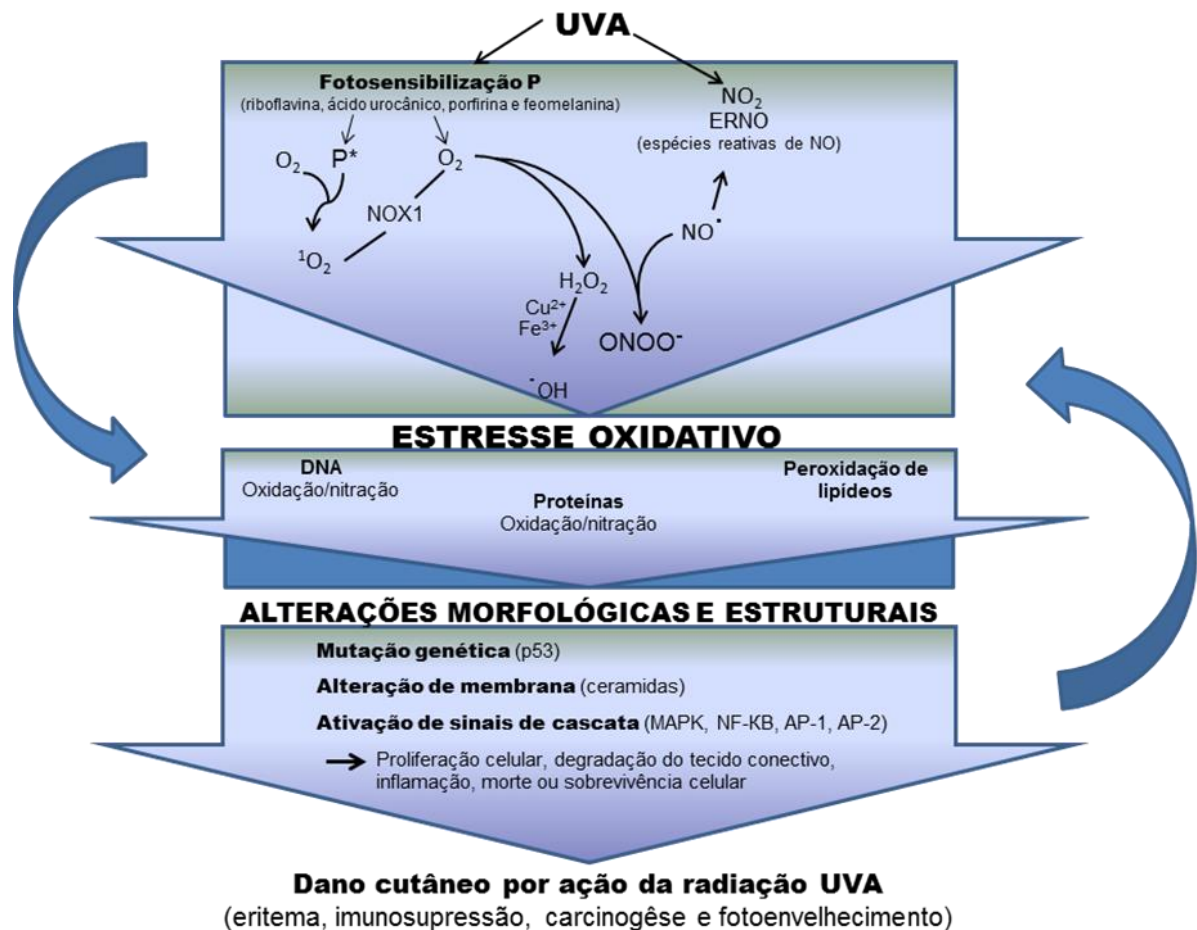
à absorção da luz solar pelos cromóforos da pele (principalmente melanócitos) e a subsequente transformação dessa energia em reações químicas. (KOHL et al., 2011).

Os danos causados pela radiação UV na pele, são causados por meio de dano celular direto e alterações nas funções imunológicas. A RUV causa danos ao DNA (formação de dímeros de pirimidina-ciclobutano; figura 1), mutações nos genes, imunossupressão, estresse oxidativo e respostas inflamatórias. Todas estas alterações apresentam um importante papel no fotoenvelhecimento e indução do câncer de pele. A RUV também gera mutações no gene supressor de tumor p53, que são genes envolvidos no sistema de reparo do DNA e apoptose em células com DNA danificado. Desta forma se o gene p53 estiver mutado, consequentemente não poderá participar do processo de reparo de DNA resultando em uma disfunção da apoptose celular e por conseguinte um aumento no número de queratinócitos mutantes, iniciando o processo de formação do câncer de pele. (Meeran, 2008; Ananthaswamy, 2007)

A radiação UVA, considerada a maior causa de fotoenvelhecimento e apresenta um importante papel na indução do câncer em células tronco da pele. Devido a sua capacidade de penetração na derme, epiderme e camada subcutânea, pode ainda causar eritemas leves, fotosensibilidade e espessamento da pele. O mecanismo de indução do câncer na pele inclui além da mutação do gene p53, a oxidação das bases pirimidínicas do DNA, formando dímeros de timina-ciclobutano conforme ilustrado na figura 1, que também demonstra a estrutura oxidada do aminoácido guanina formando a 8-hidroxi-2'-desoxiguanina (timina). Esta alteração é um ponto crucial no entendimento do mecanismo de formação e indução do câncer de pele pela RUV, pois, a mudança na estrutura da guanina, altera o pareamento das bases

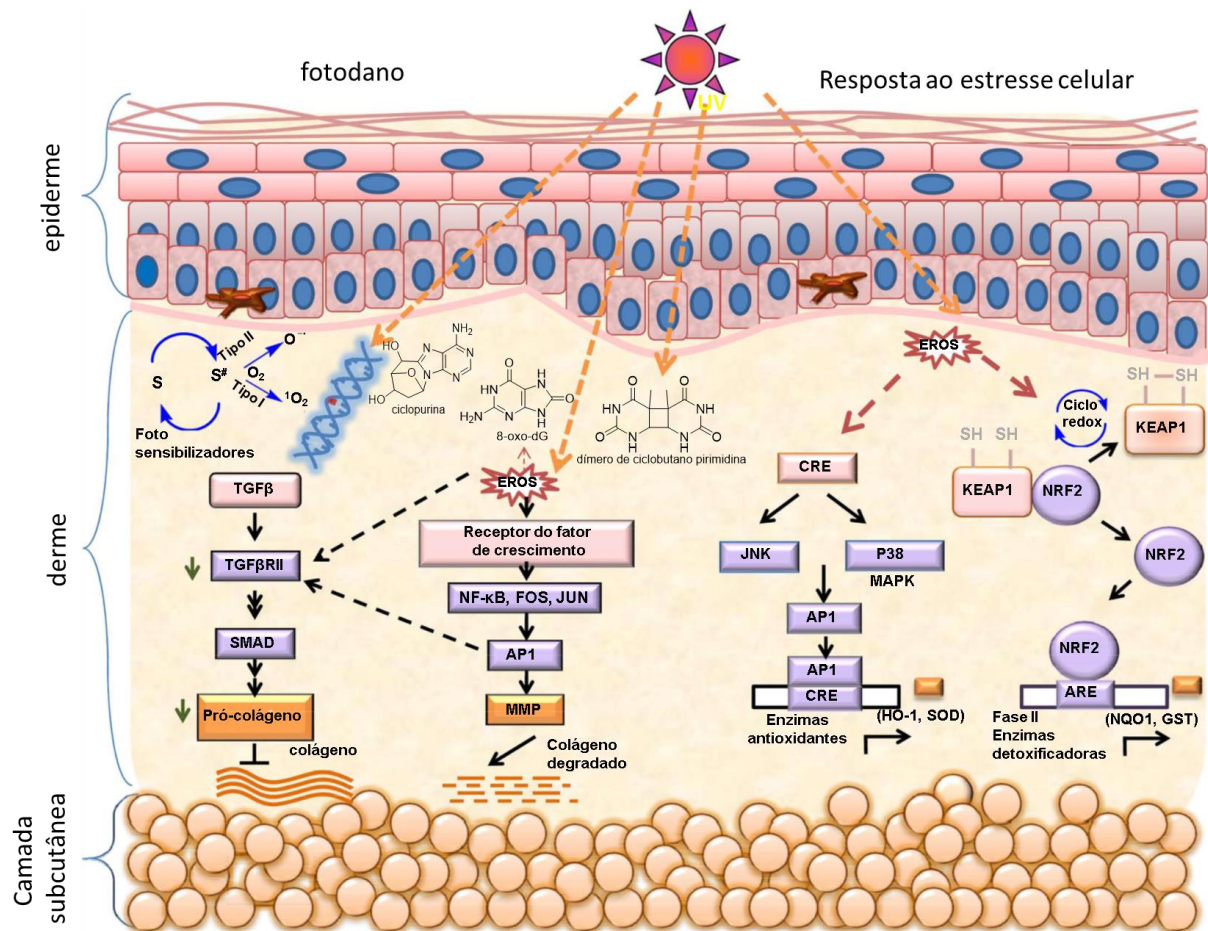
do DNA. A guanina tende a parear com a citosina formando o par G/C em contrapartida a timina (guanina alterada) tende a parear com adenina na formação dos pares de bases do DNA, formando o par de bases A/T, esta alteração no DNA foi isolada de tumores de pele, corroborando e sugerindo a carcinogenicidade desta mutação induzida por RUV. (FOURTANIER; MOYAL; SEITE, 2012; PFEIFER; BESARATINIA, 2012; SEITÉ; FOURTANIER, 2008) D'Orázio, 2013.

Figura 2: Geração de dano no DNA induzido pela radiação UVA



Fonte: adaptado de e disponível em www.tetrahedron.com, 2009).

Figura 3: Dano causado pela RUV e a resposta celular da pele.



Fonte: adaptado de (LANGHALS; FUCHS, 2004).Natarajan, 2014. Pode-se observar o dano na estrutura do DNA induzido pela formação de EROs na derme; em contrapartida a resposta e reparo celular feito pelas enzimas CRE, SOD e HO-1 e pelo ciclo redox finalizado pelas enzimas NQO1 e GST.

A radiação UVA causa ainda, dano sobre as moléculas de DNA pela ação das ERO (incluindo o radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e oxigênio singlete) (CADET; DOUKI; RAVANAT, 2015; FISHER et al., 2002; KANG et al., 2003) resultando em quebra da simples fita e de proteínas cruzadas, além de induzir resposta imune inflamatória através da ativação da ligação do fator pró inflamatório NF-κB (molécula capaz de aumentar a melanogênese) e induzir peroxidação lipídica.(BRENNER; HEARING, 2008; CADET; DOUKI; RAVANAT, 2015; CROVARA

et al., 2012; DINKOVA-KOSTOVA et al., 2006; HAYWOOD et al., 2003; LAZAR et al., 1997; NASH; TANNER; MATTS, 2006).

A radiação UVB afeta diretamente a epiderme, induzindo lesões no DNA, células apoptóticas por queimadura solar e modificação dos queratinócitos (principal tipo celular afetado por esta radiação), também responsável por causar alterações nas junções dermo-epidérmicas, observadas no processo de fotoenvelhecimento, contribuindo diretamente para o aparecimento precoce de sinais na pele reconhecidos como rugas. Pode ser considerada a principal responsável pela reação eritematosa da pele, também pode afetar de forma mais direta a estrutura do DNA. Esta alteração é uma clivagem que ocorre na ligação do tipo 5-6 das bases pirimidínicas, formando ligações covalentes que alteram a estrutura tridimensional da dupla hélice do DNA. Afetando os mecanismos de reparos celular e apoptose. (D'Orázio, 2013.) A Radiação UVB ainda pode causar reações inflamatórias locais e induzir ao espessamento cutâneo.(DIFFEY; FARR, 1991; GASPARRO; MITCHNICK; NASH, 1998; MCVEAN; LIEBLER, 1997; OSTERWALDER; HERZOG, 2009; WIDEL et al., 2014) . O espessamento cutâneo ocorre pela proliferação exacerbada do queratinócitos na pele mediado por fatores de crescimento epidérmicos. O aumento de produção de queratinócitos após a exposição a RUV leva ao acúmulo deste tipo celular na pele aumentando o espessamento cutâneo. (SCOTT, 2012.)

A radiação UVC, mais nociva e energética, não é detectada na superfície terrestre por ser retida pela camada de ozônio atmosférico; contudo, esta pode ser obtida artificialmente e é utilizada como agente esterilizante de microorganismos em processos laboratoriais. (PFEIFER; BESARATINIA, 2012)

Os danos causados direta ou indiretamente pela RUV são cumulativos, ou seja, apresentam-se como o acúmulo dos danos causados pela exposição a RUV durante o tempo de vida dos indivíduos. Desta forma a prevenção e os cuidados com a pele devem ser constantes. (Correa, 2012)

A estimativa de Câncer no Brasil para 2016 apresenta uma projeção de aproximadamente 576 mil novos casos de Câncer, dos quais o câncer de pele (melanoma e não melanoma), o mais incidente, com estimativa de incidência de aproximadamente 182 mil novos casos, para o ano de 2016 no Brasil. (INCA, 2016)

Estudos realizados por Hanson e cols. comprovaram que existe uma relação direta entre o aumento da incidência de radiação UV sobre a pele com o aumento da ocorrência de doenças cutâneas no mundo.(HANSON; GRATTON; BARDEEN, 2006).

O uso incorreto de filtros solares, bem como o comportamento das pessoas ante a exposição a RUV também influenciam o aumento dos casos de câncer de pele no mundo. Desta forma medidas preventivas tornam-se necessárias. Dentre as medidas preventivas, destaca-se o uso de fotoprotetores. (Gonzales, 2008).

1.1. Pele Humana:

A pele humana é um órgão complexo e dinâmico, com grande superfície de contato, formada por diferentes tipos celulares (fisiologia-Guyton). Basicamente a pele pode ser dividida em três principais camadas; epiderme (mais externa, composta por 4 subcamadas celulares; camada basal, camada espinhosa, camada granulosa e camada de queratina) derme (localizada abaixo da epiderme servindo como suporte estrutural e nutricional para a epiderme e é composta por vasos sanguíneos, células nervosas, folículos pilosos, músculo piloerector, glândulas

sebáceas e sudoríparas) e tecido subcutâneo (formado por células gordurosas ou tecido adiposo e também por colágeno) como mostra a figura 5. (TANG; BHUSHAN, 2010).

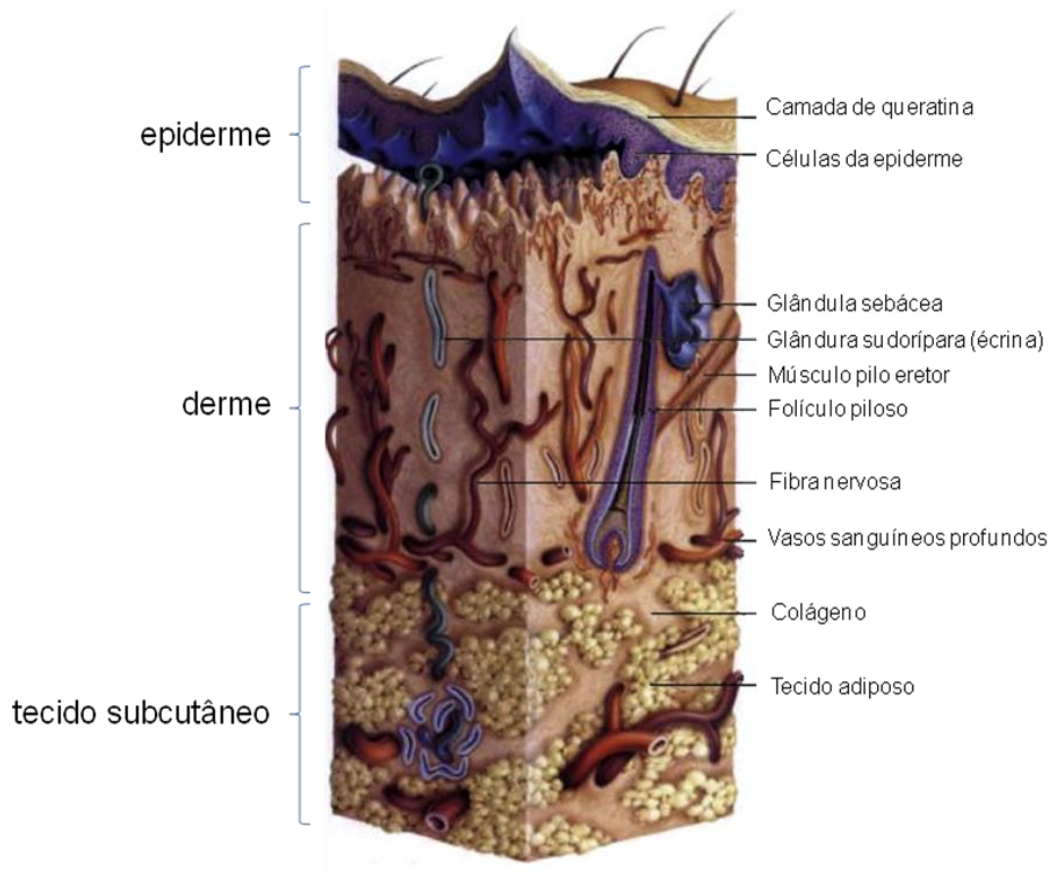
A pele humana é considerada o maior órgão do corpo humano, consiste de várias camadas de tecido epitelial que variam entre 0,5 a 2mm e apresenta funções vitais como barreira de proteção mecânica e química contra danos físicos causados por lesões e impactos, além de servir como proteção contra agentes externos químicos e microbiológicos.(STIEFEL; SCHWACK, 2015).

Localizados na camada basal da pele entre a derme e a epiderme, os melanócitos, células capazes de produzir o pigmento polimérico, melanina. A melanina apresenta-se em 2 subtipos, a eumelanina (pigmento preto) e a feomelanina (pigmento avermelhado). Este pigmento (EUMELANINA) está intimamente relacionado ao sistema de fotoproteção natural da pele, pois, quando os melanócitos são fotosensibilizados pela radiação UV, aumentam a produção de melanina, responsável pela conversão da radiação UV em dissipação na forma de calor. Este tipo celular também é o mais suscetível a sofrer alterações no processo de replicação do seu DNA, se tornando moléculas com maior probabilidade de formar câncer (melanoma) (AMARO-ORTIZ; YAN; D'ORAZIO, 2014; BAKOS et al., 2002; JI; FLAHERTY; TSAO, 2010; MITCHELL; FERNANDEZ, 2012; WU et al., 2013).

A radiação UV exerce diferentes efeitos sobre a pele humana, estes podem ser divididos entre efeitos benéficos e efeitos danosos. Dentre os efeitos pode-se destacar a síntese de vitamina D, vitamina considerada essencial para absorção intestinal de cálcio e fósforo além de contribuir para um bom crescimento dos ossos.

Os efeitos danosos causados pela radiação UV podem ser separados por danos causados pela radiação UVA e danos causados pela radiação UVB. A (STIEFEL; SCHWACK, 2015)

Figura 4: Estratificação esquemática da pele humana.



Fonte: adaptado de (TANG; BHUSHAN, 2010)

A pele exerce diversas funções importantes, proteção, absorção, sensação de calor e frio, sensibilidade à dor, excreção e manutenção da temperatura em mamíferos. Por ter uma extensa superfície de contato à pele humana também se torna suscetível a doenças e alterações fisiológicas como fotoenvelhecimento e câncer de pele, ambas podem ser provocadas por intensa exposição à radiação UV.(AMARO-ORTIZ; YAN; D'ORAZIO, 2014; ARMSTRONG; KRICKER, 2001; MARESCA; FLORI; PICARDO, 2015).

1.2. Câncer de Pele:

“Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores malignos, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo. As causas para a formação do câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, ou inter-relacionadas” (INCA, 2015).

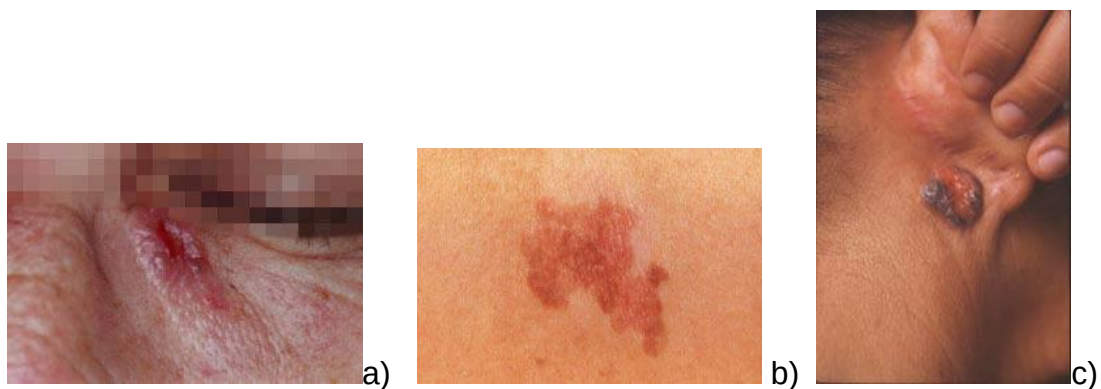
A pele humana pode sofrer alterações com o passar dos anos, como, a perda de elasticidade pela diminuição da produção de elastina, aparecimento de sinais (rugos), aparecimento de manchas e indução ao câncer de pele.

O câncer de pele é uma doença com alta incidência mundial, e principalmente em países tropicais onde a exposição à radiação UV é maior. Segundo o INCA o câncer de pele é o câncer mais diagnosticado no Brasil, correspondendo a 25% do total de diagnósticos de cânceres. Os fatores de risco incluem a sensibilidade ao sol (queimadura pelo sol e não bronzeamento), pele clara, exposição excessiva à radiação UVA e UVB, história prévia de câncer de pele, história familiar de melanoma, nevo congênito (“pinta”), idade, xeroderma pigmentoso (doença congênita caracterizada pela intolerância total da pele ao sol, com queimaduras externas, lesões crônicas e tumores múltiplos) e nevo displásico (lesões da pele com alterações celulares pré-cancerosas) (INCA. 2015).

Existem três tipos básicos de câncer de pele, o basocelular (aparece em forma de mancha na pele e pode ser consequência da exposição cumulativa ao sol durante a vida) considerado o tipo menos grave, o carcinoma epidermóide ou

espinocelular (apresenta-se sobre a forma de feridas com secreções e coceira, tem capacidade de entrar em metástase, podendo espalhar-se para vários órgãos rapidamente) e o câncer tipo melanoma, considerado o mais grave e com letalidade de até 75% dos casos.(BAKOS et al., 2002, 2009; CASTILHO et al., 2010; INCA, 2012).

Figura 5: Fotos mostrando 3 exemplos de carcinomas basocelulares: a) na forma nódulo-ulcerativo, b) na forma plano-superficial e c) na forma pigmentada.



Fonte: (extraídas de INCA, 2015).

Figura 6: Exemplo de melanoma nodular



Fonte: (foto extraída de INCA 2012).

1.3. Fotoenvelhecimento

Processo biológico complexo e ainda não totalmente descrito e explicado. Uma das formas para se tentar explicar o fotoenvelhecimento é pela sobreposição dos efeitos gerados pelo envelhecimento cronológico (fator intrínseco) e pelo LAPDES-2016 Paulo Renato Yamasaki

envelhecimento mediado pela radiação UV (fator extrínseco)(KURDYKOWSKI et al., 2011). As principais consequências deste conjunto de fatores associados sobre a pele são: a perda da elasticidade e formação de rugas pela estimulação ou inibição de metaloproteinases (MMP's), (proteínas responsáveis pela degradação de macromoléculas da matriz celular, incluindo o colágeno intersticial, a fibronectina, a laminina e a proteoglicana. Coletivamente as MMP's são capazes de degradar todas as proteínas componentes da matriz extracelular e das membranas basais). (RIBEIRO et al., 2008), ressecamento da pele (alteração dermo-epidérmica que resulta em diminuição da absorção de água na derme e epiderme), e formação de câncer de pele (alterações nas estruturas das moléculas de DNA)(CHO et al., 2010; KOHL et al., 2011; MAGDUM et al., 2012; MASNEC; PODUJE, 2008; RAMIEN; WONG; KEYSTONE, 2011).

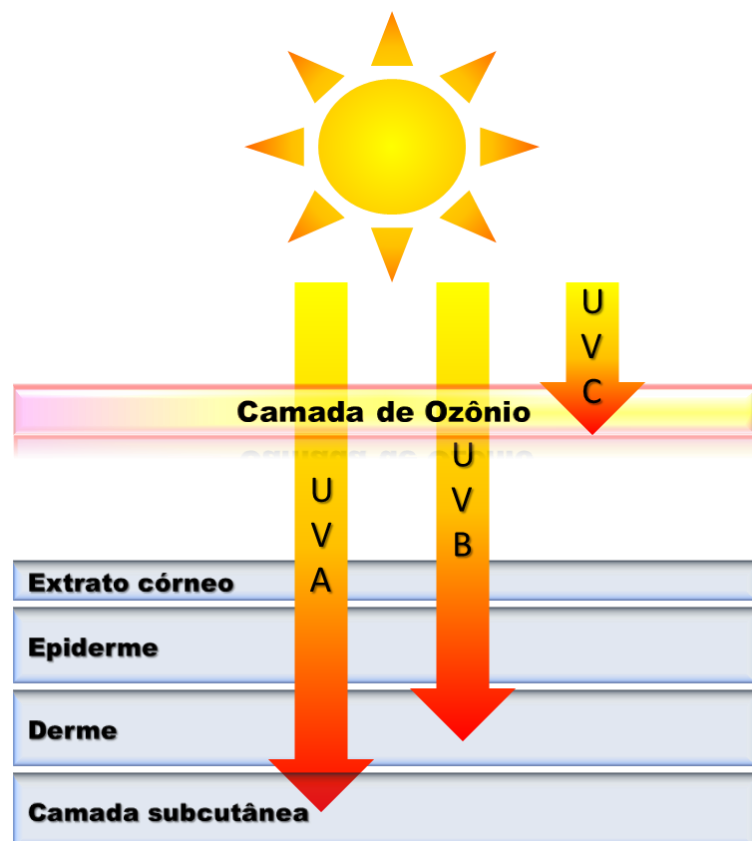
Figura 7: Pele de um caminhoneiro de 69, que teve apenas um lado do rosto exposto à radiação UV por 25 anos, a imagem mostra os efeitos causados pela exposição excessiva.



Fonte: (GORDON; BRIEVA, 2012)

A contribuição da radiação UVA para o fotoenvelhecimento está intimamente relacionada à maior penetrabilidade nas camadas cutâneas (figura 9), devido ao fato das ondas serem maiores do que as outras frações da radiação UV, podem afetar estruturas presentes no tecido subcutâneo, induzindo principalmente a formação de radicais livres de oxigênio e como consequência destruição de proteínas formadoras de colágeno, resultando em um enrugamento precoce da pele.(GASPARRO; MITCHNICK; NASH, 1998; RAMIEN; WONG; KEYSTONE, 2011).

Figura 8: Penetração da radiação ultravioleta na pele



Fonte: adaptado de (WONG; WU; BENZIE, 2011)

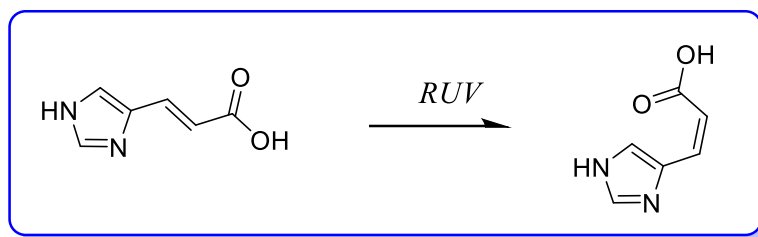
Um dos principais efeitos responsáveis pelo fotoenvelhecimento é a geração de ERO, que causam danos no extrato córneo da pele, afetando a regeneração do tecido conectivo e a distribuição de melanina na pele, gerando marcas e sinais de expressão. Além dessas modificações as ERO, ainda, alteram a replicação de novo

DNA aumentando a probabilidade de se desenvolver câncer de pele (MONTAGNER; COSTA, 2009).

Existem mecanismos naturais de defesa do organismo contra os danos deletérios causados pela RUV, dentre estes mecanismos pode-se destacar o espessamento da epiderme, o reparo das moléculas de DNA, ação de enzimas antioxidantes, hiperpigmentação cutânea induzida pela produção de melanina e o processo de apoptose. (BRENNER; HEARING, 2008).

A radiação UVB, apresenta menor capacidade de penetração na pele quando comparada a radiação UVA, contudo, não pode ser considerada menos nociva, pois, pode causar sérios danos, principalmente na epiderme. As lesões frequentemente relacionadas à exposição à radiação UVB são: Dano direto à molécula de DNA (rompimento de ligações de bases pirimidínicas), eritemia severa, interação com aminoácidos aromáticos e formação de fotoprodutos genotóxicos bem como, alteração da atividade de proteínas de DNA e induz a danos indiretos em macromoléculas celulares, também pela formação de radicais livres, reduzindo a quantidade de antioxidantes naturais da pele. A radiação UVB ainda pode causar no período de pós-exposição ao sol, fotoisomerização do ácido *trans*-urocânico para ácido *cis*-urocânico, indução atividade da enzima ornitina descarboxilase o que consequentemente gera parada do ciclo celular levando ao comprometimento da síntese de DNA na pele. Tanto a radiação UVA quanto a radiação a radiação UVB alteram o ciclo do gene p53, acarretando em falha na reprodução da sequência de DNA, além de impedir apoptose e induzir a formação de células potencialmente carcinogênicas. (DAMIANI et al., 2006; MOURET, S; FORESTIER; T., 2012; SOLOVCHENKO; MERZLYAK, 2008; SVOBODOVÁ; PSOTOVÁ; WALTEROVÁ, 2003).

Figura 9: trans isomerização do ácido urocânico



Fonte: adaptado de (AGELIS; RESVANI; THEODORE, 2011; FINLAY-JONES; HART, 1998; TIWARI; CHAND MISHRA, 2011)

1.4. Fotoprotetores

Podem ser considerados fotoprotetor todo aparato usado para evitar ou reduzir o contato da pele com a radiação UV. Desde roupas, chapéus, óculos de sol, até o uso de produtos industrializados, os filtros solares. (lautenschlager, 2007)

O conceito de filtro solar foi introduzido no mercado norte-americano em meados dos anos de 1930 com o desenvolvimento de filtros UVB, principalmente, os derivados do ácido para-aminobenzoico e os bloqueadores solares como o TiO_2 . Nos anos de 1980, as primeiras loções contendo filtros solares chegaram ao mercado norte-americano e em meados dos anos 1990, ocorreu um grande crescimento mundial na indústria de filtros solares e sua consequente popularização. (CORREA, 2012-livro, Rigel, 2202, gonzales, 2008,.). Os filtros solares são substâncias químicas capazes de bloquear ou absorver e transformar a radiação UV em outras formas de energia como luz visível e infravermelho (IV). (Jansen, 2013)

Os filtros solares podem ser classificados em filtros físicos ou inorgânicos e filtros químicos ou orgânicos. Os filtros inorgânicos, como por exemplo o TiO_2 e o ZnO apresentam-se como uma barreira física frente a radiação UV; desta forma atuam como bloqueadores da radiação, refletindo a radiação incidida e dispersando-a em forma de luz visível figura 3. Os filtros químicos possuem a capacidade de

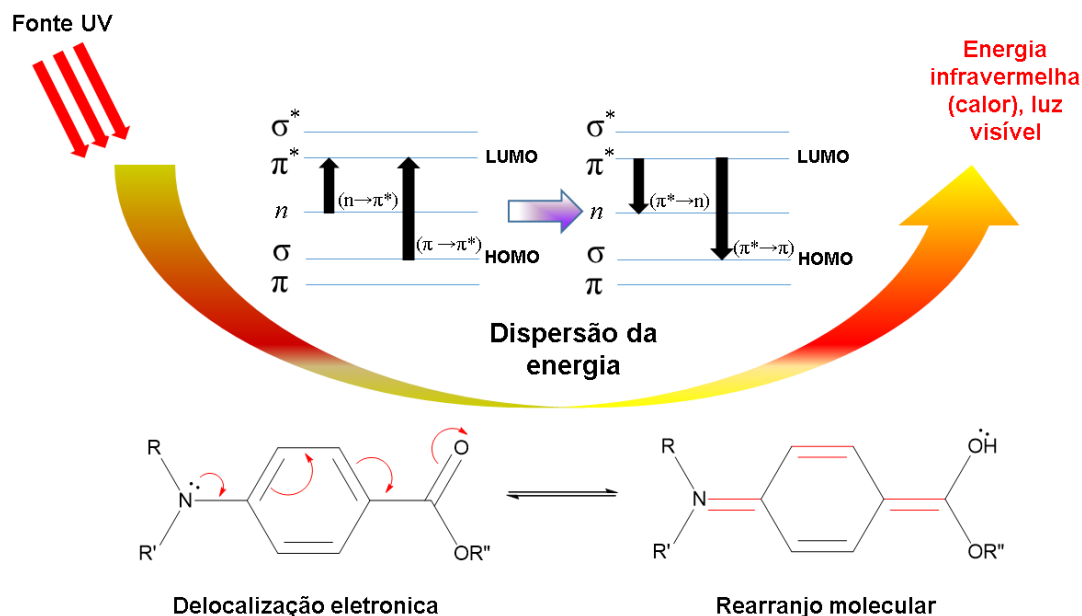
absorver a luz UV e transformá-la em outro tipo de energia, principalmente em calor. Dentre os filtros químicos mais comumente utilizados estão as benzofenonas, os cinamatos e os derivados do PABA (ácido *p*-aminobenzóico). Em geral os filtros solares foram desenvolvidos para absorver a radiação UVB, devido aos efeitos imediatos causados na pele, contudo, a partir dos anos de 1990, passou-se a desenvolver filtros solares que também fossem eficazes contra a radiação UVA. Devido a evidências de que a excessiva exposição a este tipo de radiação acarretava em danos ao ser humano, dos quais, destaca-se a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), moléculas capazes de induzir o fotoenvelhecimento.(MAGDUM et al., 2012; MITCHELL; FERNANDEZ, 2012; SAMBANDAN; RATNER, 2011).

Os filtros inorgânicos formam uma barreira física contra a radiação UV, bloqueando-a e agem como agentes dispersores da mesma. Os principais representantes desta classe de filtros são: óxido de zinco (ZnO) e dióxido de titânio (TiO₂). Uma importante característica recentemente estudada é o tamanho das partículas, pois, embora muito eficientes, os filtros inorgânicos apresentam o inconveniente estético de formar um filme branco sobre a pele (em geral branco, devido ao TiO₂ principalmente), problema solucionado pela micronização das moléculas desses filtros (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; KOSHY et al., 2010)

Os filtros solares orgânicos têm a propriedade de absorver a energia dos fótons da radiação UV em sua estrutura molecular, evitando a ação nociva dessa radiação sobre as camadas da pele. Independente da dissipação, uma parte da radiação UV continua sendo absorvida pela pele, entretanto com intensidade muito baixa evitando os efeitos nocivos da radiação UV(FERNANDEZ et al., 2002;

MAGDUM et al., 2012; MITCHELL; FERNANDEZ, 2012; NOHYNEK; SCHAEFER, 2001) conforme mecanismo na figura 10.

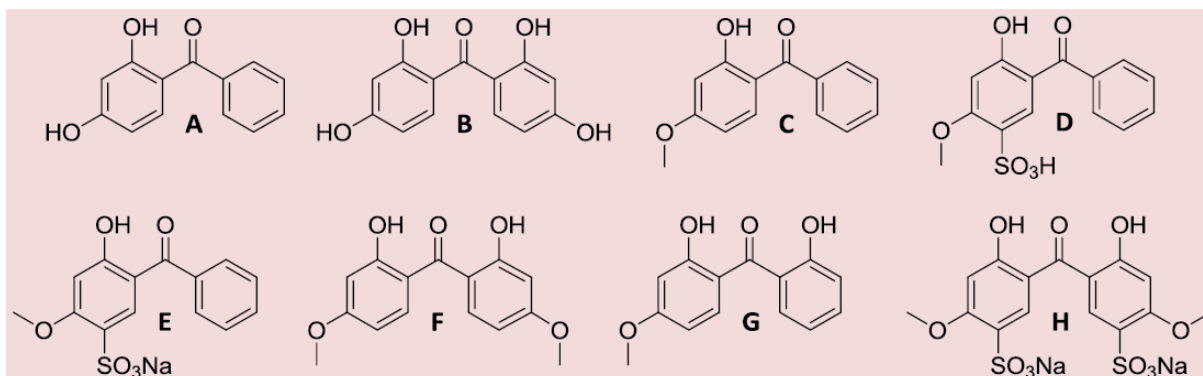
Figura 10: Mecanismo de absorção da radiação UV.



Fonte: (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICOLA, 2007; OSTERWALDER et al., 2010). Pode-se observar pela delocalização de elétrons das moléculas dos filtros solares, o provável mecanismo de deslocalização nos orbitais HOMO e LUMO dos compostos, que acomodam a energia absorvida pela radiação UV dispersando-a em energia infravermelha e calor principalmente.

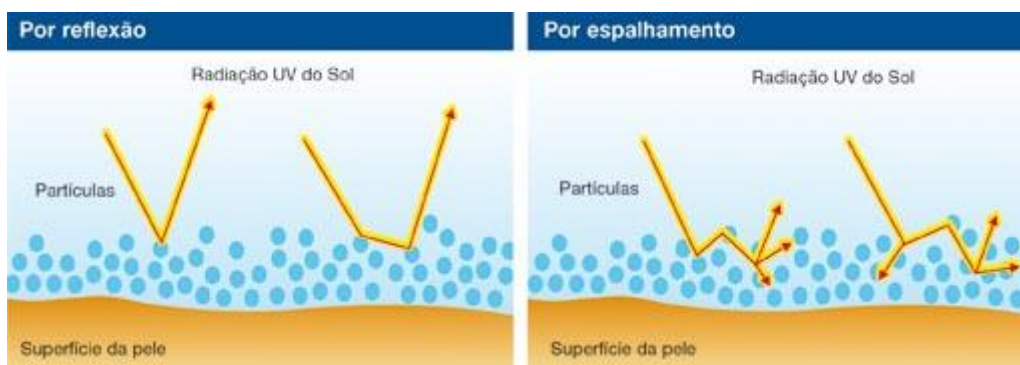
Dentre os filtros orgânicos os derivados de benzofenonas (BZF) são muito utilizados mundialmente. Devido a estabilidade de sua estrutura, bem como, o espectro de absorvância que abrange as regiões UVA e UVB (284-340 nm). Figura X. Contudo as benzofenonas podem, a longo prazo, induzir a reações alérgicas tópicas ou sistêmicas quando absorvidas. (Gonzales, 2002; Hughes e Stones, 2007; Fernandez, 2001; Nascimento, 2014).

Figura 11: Estrutura dos derivados de benzofenona. a) Benzofenona-1; b) benzofenona-2; c) benzofenona-3; d) benzofenona-4; e) benzofenona-5; f) benzofenona-6; g) benzofenonas-7 e h) benzofenona-9



Fonte: Nascimento, 2014

Figura 12: mecanismo de ação dos filtros solares inorgânicos.



Fonte: extraído e adaptado de (BORGES, 2014)

O desenvolvimento dos filtros solares deve levar em consideração alguns aspectos importantes como: Prover proteção à exposição aguda e prolongada frente à radiação UV, apresentar estabilidade ao calor e a radiação UV, ser de fácil aplicação, estimulando o seu uso frequente além de apresentar uma boa relação custo-benefício. Considera-se também à região do espectro UV o qual este absorve (FORESTIER, 2008). Os filtros solares orgânicos foram originalmente desenvolvidos para absorver a radiação UVB, considerada até meados dos anos 1980, a principal

causa dos danos causados pela radiação UV, contudo no início da década 1990, vários estudos conduziram à descoberta da contribuição da radiação UVA para os efeitos deletérios gerados principalmente sobre as estruturas de DNA e a formação de espécies radicalares, que potencialmente poderiam induzir ao fotoenvelhecimento e ao câncer de pele. Atualmente, a grande maioria dos filtros utilizados absorve radiação UVA, UVB ou UVA/UVB, neste último caso se encontram as descobertas mais recentes, como os filtros Bemotrizinol e Bisotrizol (Tinosorb® S e M), com capacidade UVA/UVB, com ampla proteção na região UVA. (COLE, 2001; GASPARRO; MITCHNICK; NASH, 1998; GURISH et al., 1981; LHIAUBET-VALLET et al., 2010; MAHÉ et al., 2011; NOHYNEK; SCHAEFER, 2001; SCHAUDER; IPPEN, 1997; TUCHINDA et al., 2006).

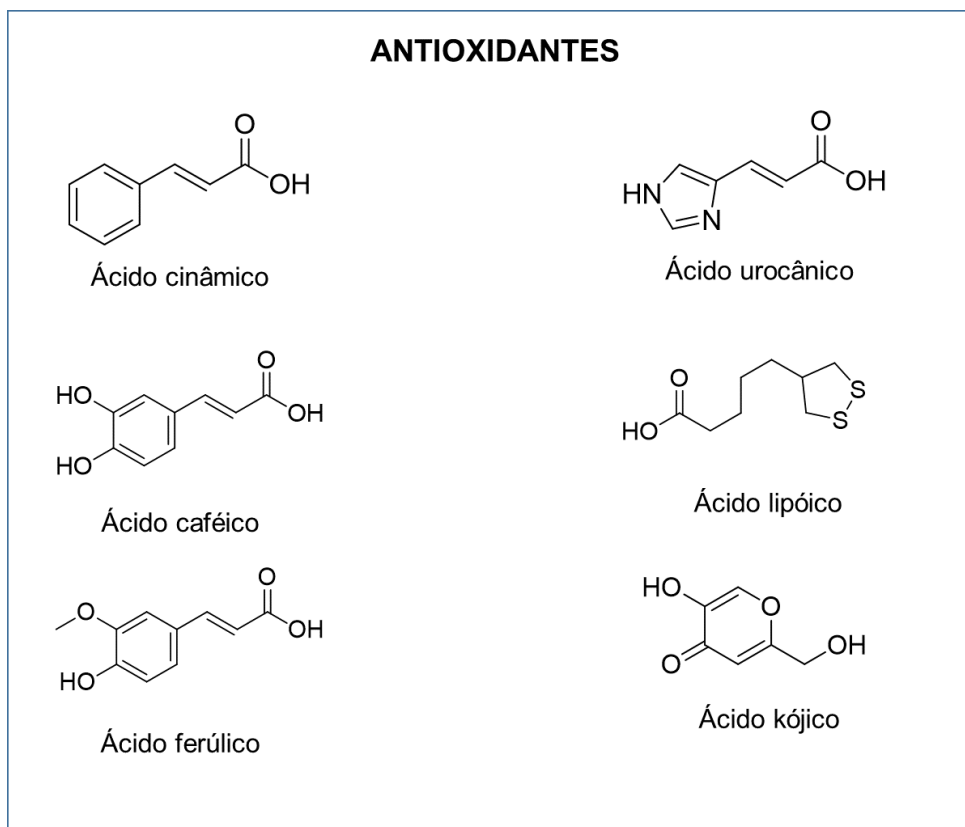
O crescimento do uso dos filtros solares levou às autoridades norte-americanas por meio da agência de controle de medicamentos e cosméticos o “FDA” (Foods and Drugs Association) a desenvolverem medidas de segurança para se medir a eficácia e capacidade de absorção das formulações contendo filtros solares, a esta medida deu-se o nome de Fator de Proteção Solar (Fator de Proteção Solar). O FPS representa a razão entre a quantidade tempo de exposição à radiação UVB, mínima para causar eritema na pele protegida, dividida pelo tempo de exposição da pele não protegida. (COLIPA, 2009, Bernerd, 2003, Ou-Yang, 2013). De acordo com a COLIPA (Committee de Liaison des Associations Europeans de L’Industries de la Parfumerie, de Produits Cosmetiques et de Toilette) agência de controle europeia e o FDA, o FPS pode ser considerado seguro a partir do valor 15. Este valor deve levar em consideração o tempo e as condições da exposição solar. (COLIPA, 2009; DONDI; ALBINI; SERPONE, 2006; SERPONE; DONDI; ALBINI, 2007).

O método de avaliação de filtros solares por transmitância, verifica o valor de FPS *in vitro* na região UVA, e o método de Mansur, 1986, apresenta os resultados relativos de FPS *in vitro* dos compostos na região UVB, ambos os métodos apresentam boa correlação com ensaios *in vivo* e portanto são utilizados para a determinação prévia dos valores de FPS. (Nascimento, 2014; Mansur, 1986 e Moyal, 2013).

1.5. Antioxidantes e formação de radicais livres

Os radicais livres, são compostos químicos que apresentam em sua estrutura básica pelo menos um elétron desemparelhado, o que consequentemente torna estas espécies altamente reativas e oxidantes. (GUARATINI; MEDEIROS; COLEPICOLO, 2007; HALLIWELL et al., 1995; MASNEC; PODUJE, 2008).

O envelhecimento humano é um processo natural, mas, que pode ser acelerado por condições e fatores externos como a radiação UV, esta por sua vez acelera o processo de apoptose e a formação de sinais de expressão, pois, induz a formação das EROs responsáveis pela degradação do colágeno e alterações irreversíveis nas estruturas de DNA. O uso de antioxidantes endógenos tem minimizado os efeitos deletérios induzidos por estas moléculas, atuando de forma preventiva ao dano. Entre os antioxidantes mais estudados, estão, a vitamina C (ácido ascórbico) e os ácidos lipóico e ferúlico mostrados na figura 4. (COUTEAU et al., 2007; RIJKEN; BRUIJNZEEL-KOOMEN, 2009).

Figura 13: ácidos orgânicos com atividade antioxidante

Fonte: adaptado de (GODIC et al., 2014; GONZÁLEZ; FERNÁNDEZ-LORENTE; GILABERTE-CALZADA, 2008; RIJNKELS et al., 2003)

A importância dos antioxidantes endógenos, bem como, o uso de preparações tópicas contendo-os, ressalta a importância do uso dessas moléculas em cosmetologia, como por exemplo na associação com filtros solares, ou no desenvolvimento de pró-fármacos recíprocos.

1.6. Modelagem molecular

Modelagem molecular, segundo a IUPAC, é a investigação das estruturas e das propriedades moleculares pelo uso de química computacional e técnicas de visualização gráfica, visando fornecer uma representação tridimensional, sob um dado conjunto de circunstância. Além disso a modelagem molecular também pode

auxiliar na previsão de rendimento de diferentes rotas sintéticas, por meio da avaliação de todas as variáveis físico-químicas das estruturas envolvidas na reação da formação de um produto, tal característica permite indicar de forma indireta qual a melhor metodologia sintética a ser utilizada, de acordo com os resultados obtidos, além do que a modelagem molecular permite um estudo de fotodegradação ambiental de filtros solares hidrossolúveis. (BARREIRO, 2002; TROSSINI et al., 2010; ZHANG et al., 2012).

Acredita-se que a capacidade de absorção e transformação energética dos filtros solares esteja relacionada com a quantidade de duplas ligações conjugadas de suas respectivas estruturas químicas, formando um sistema de ressonância capaz de absorver e dispersar a energia fornecida pela radiação UV, utilizando-se das ferramentas fornecidas pelas técnicas de química computacional, é possível analisar o mapa de densidade eletrostático, bem como, os mapas de HOMO e LUMO das estruturas estudadas, com a finalidade de avaliar e estudar possíveis mecanismos de fotodegradação e fotoproteção.(BLAU et al., 2013; SHAAT, 1986)

1.7. Desenvolvimento de novos fármacos e estratégias de modificação molecular

Com o objetivo de modificar, parâmetros estruturais de fármacos, O planejamento racional de fármacos tem como objetivo desenvolver novos compostos com características otimizadas, de forma a reduzir a toxicidade, potencializar o efeito terapêutico e/ou ambos.(VIEGAS-JUNIOR, 2007) (Chung, 2004).

Podem-se observar quatro maneiras distintas na busca de novos compostos, com a finalidade de se obter melhorias dos efeitos terapêuticos e/ou redução dos efeitos adversos. A primeira é a modificação de fármacos conhecidos, buscando melhoria na eficácia e/ou segurança. A segunda consiste em uma busca sistemática de conjuntos de compostos escolhidos por meio de ensaios biológicos. O terceiro consiste na exploração retroativa de informações de novas descobertas da medicina e biologia ou de observações casuais. E a quarta estratégia é o planejamento racional baseado no conhecimento molecular da causa da patologia (WERMUTH, 2004).

Dentre as modificações estruturais pode-se destacar o desenvolvimento de pró-fármacos recíprocos, uma estrutura composta por duas estruturas químicas que apresentam atividade biológica distintas, que por meio de uma modificação estrutural são unidas em uma única estrutura formando um novo composto. Este novo composto após sofrer clivagem por ação química ou enzimática, libera o fármaco no sítio específico para ação e da mesma forma o carreador biológico ligado. Outra modificação estrutural relevante é formação dos híbridos estruturais, que consiste na ligação de duas moléculas com efeito farmacológico distintos ou não e que após administrados ao organismo não necessitam sofrer ação química ou enzimática para apresentar os efeitos de ambos os ligantes. (ETTMAYER et al., 2004) Santos, 2014; Chung, 2004.

1.8. Espectrometria de massas

A espectrometria de massas é considerada uma ciência analítica em constante expansão, sendo cada vez mais utilizada para análises e identificação de alta precisão. Versátil, pode-se trabalhar com amostras líquidas, sólidas ou gasosas.

Dentre as metodologias de espectrometria de massas utilizadas atualmente, podemos destacar a ionização por dissorção de eletrospray (DESI-MS).que consiste na análise de uma amostra em condições ambientes, onde aplica-se a amostra sobre uma superfície (PTFE, vidro ou acrílico por exemplo) e um spray de alta pressão contendo partículas pré-ionizadas, bombardeiam a amostra, esta amostra é “lançada” ao ambiente e posteriormente dissorvida ao analisador de massas, que converte o material dissorvido em dados no formato de espectro de massas (TAKÁTS; WISEMAN; COOKS, 2005; WISEMAN et al., 2008) o qual foi utilizada para os estudos contidos neste trabalho

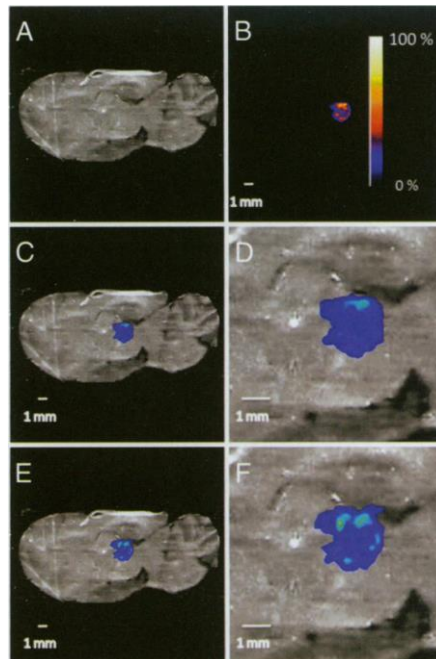
A espectrometria de massas (MS) utiliza o movimento de íons em campos eletromagnéticos para separá-los de acordo com sua relação massa/carga (m/z). Desta forma, a espectrometria de massas é uma técnica analítica por meio da qual as substâncias químicas são identificadas de acordo com a fragmentação e separação dos fragmentos por diferenciação de sua massa atômica. O espectrômetro de massas é o dispositivo que realiza esta operação, convertendo os sinais eletromagnéticos detectados em espectros de massas.(AWAD; KHAMIS; EL-ANEED, 2014; RUBAKHIN et al., 2005)

A espectrometria de massas é uma técnica analítica em constante ampliação tanto nas aplicações quanto em novas tecnologias e metodologias desenvolvidas, sobretudo pode-se destacar a técnica de formação de imagens por sobreposição de espectros de massas “*Imaging mass spectrometry*”, técnicas por meio dos quais se consegue reproduzir a localização exata de íons específicos em amostras biológicas como cérebro de camundongos por exemplo.(LANEKOFF et al., 2014; WISEMAN et al., 2008).

Muitos estudos sobre fotodegradação de compostos químicos foram conduzidos utilizando-se a técnica de espectrometria de massas acoplado ao HPLC, neste contexto ressalta-se a importância de se utilizar desta ferramenta analítica ao se estudar a fotodegradação dos filtros solares, pois pode-se identificar o padrão de fragmentação, bem como, estimar o tempo de fotodegradação dos compostos avaliados. (BRATKOVICS; SAPOZHNIKOVA, 2011; HIMMELSBACH; WASER; KLAMPFL, 2014; LÉVÊQUE et al., 2005).

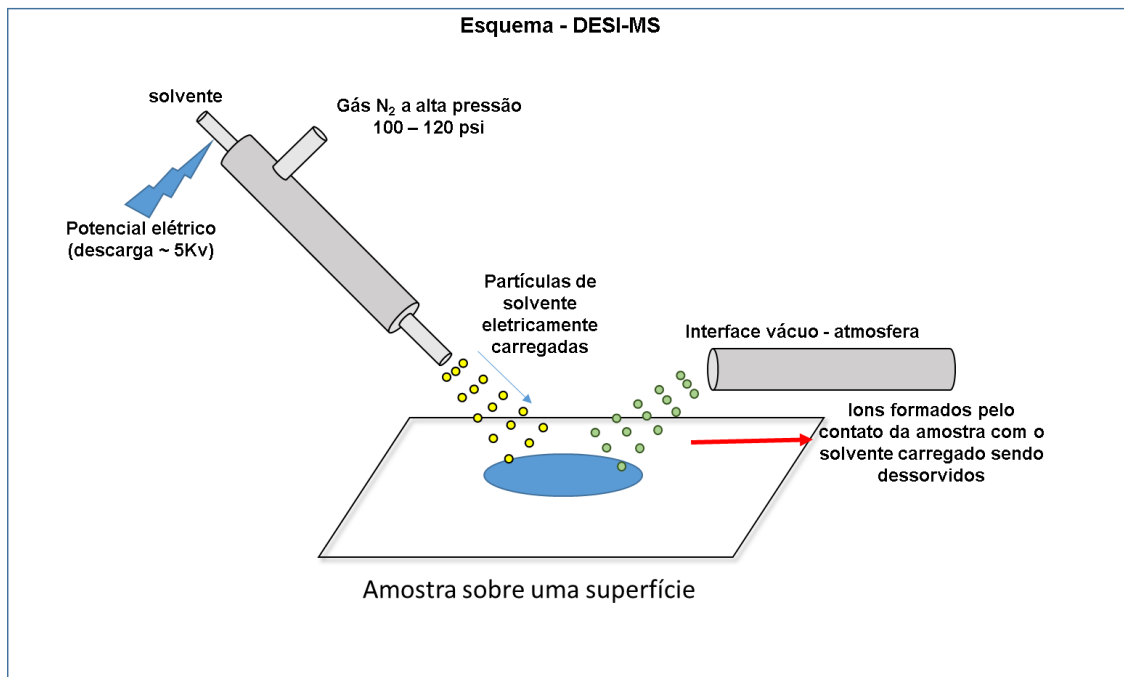
Dentre as técnicas de imagem por espectrometria de massas a desorção da ionização por eletrospray (DESI-MS) considerada versátil e que pode ser realizada em condições de atmosfera ambiente, tem como principal característica a possibilidade de se analisar amostras de tecidos animais e vegetais sobre uma superfície rígida, que pode ser uma lâmina de vidro, acrílico ou um material antiaderente como o PTFE, sem a necessidade de tratamento ou preparação das amostras a condições específicas de pressão ou temperatura. A ionização é feita por meio de indução elétrica e catalisada por um spray de gás inerte (N_2) de alta pressão sobre o solvente que se utilizará para a análise, o solvente com as partículas ionizadas incide sobre a amostra formando novos íons com a mesma, estes íons são desorvidos e inseridos ao analisador de massas por um sistema de vácuo figura 12. (BODZON-KULAKOWSKA et al., 2014; IFA et al., 2007)

Figura 14: imagem óptica de corte sagital de cérebro de rato e sobreposição de imagens de clozapina depositada nos tecidos cerebrais.



Fonte: Adaptado de (WISEMAN et al., 2008). (A) imagem óptica. (B) imagem de DESI-MS interpolada de 1uL de uma solução de 20ng/uL de clozapina em acetonitrila depositada sobre uma região do tecido analisado. Imagem de tamanho 245um x 245um mostrando a escala de intensidade do íon (C) sobreposição das imagens A e B mostradas na mesma escala. (D) imagem 3x ampliada de C com escala de 1mm. (E) segundo scan da imagem sobreposta de A e B (F) ampliação da sobreposição do segundo scan com escala de 1mm.

Figura 15: .Esquema do funcionamento da técnica de espectrometria de massas Desorption EletroSpray Ionization (DESI-MS).



Fonte: Adaptado de (AWAD; KHAMIS; EL-ANEED, 2014).

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar as propriedades funcionais de novos pró-fármacos derivados de benzofenonas.

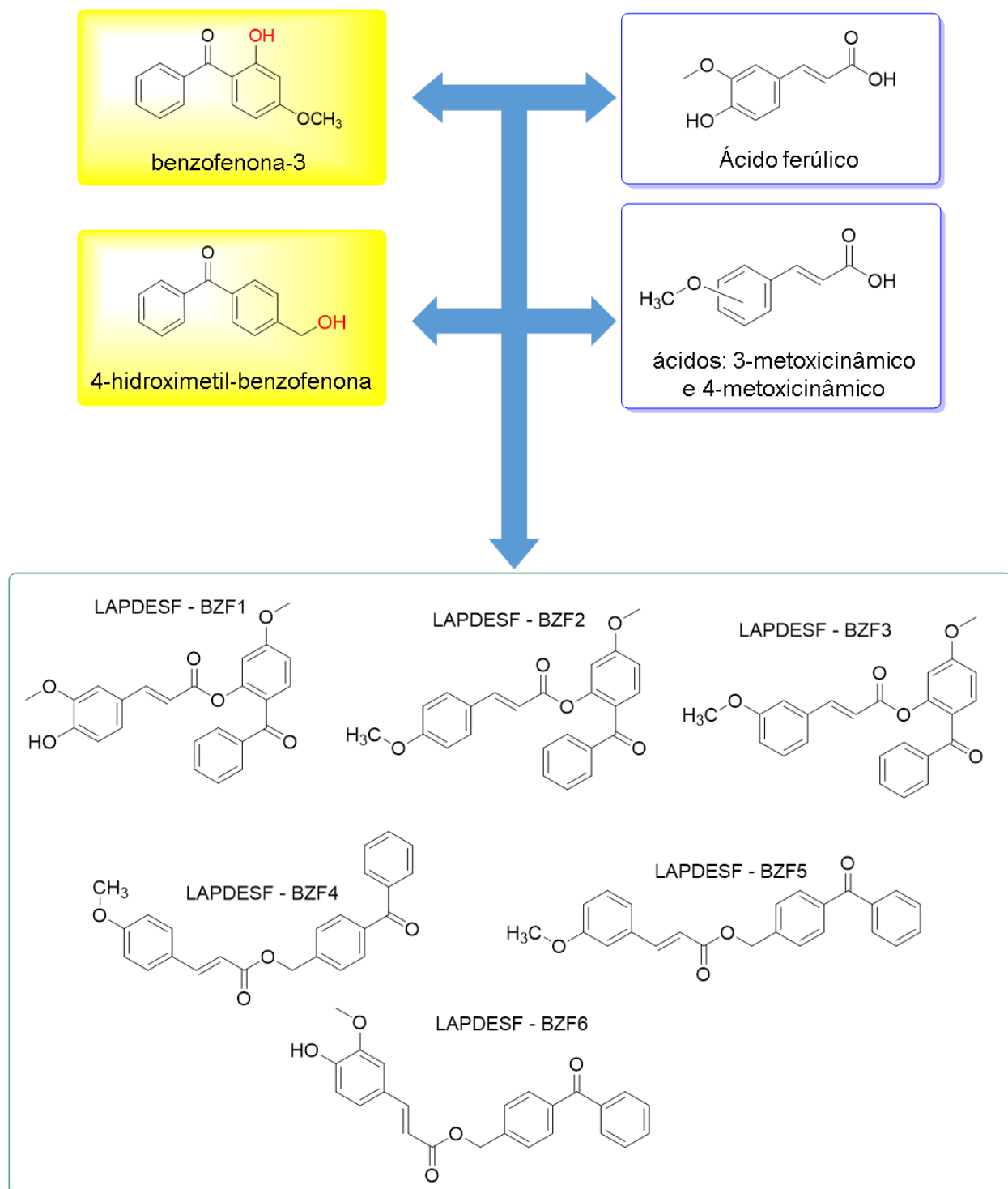
2.1. Objetivos específicos

- Síntese da série LAPDESF de pró-fármacos recíprocos derivados de benzofenonas com atividade antioxidante (Figura 1)
- Determinação de atividade antioxidante pelo método de DPPH
- Determinação da capacidade fotoprotetora FPS, pelos métodos de Mansur e por reflectância
- Determinação de uma nova metodologia para análise da fotodegradação de filtros solares *in vitro*, utilizando espectrometria de massas por imagem.

3. Planejamento estrutural:

O Planejamento estrutural dos compostos da série LAPDES-F-BZF, foi baseado na reação clássica de esterificação utilizando um ácido orgânico (derivados do ácido cinâmico) com um álcool (derivados de benzofenona) para a formação de pró-fármacos recíprocos derivados das benzofenonas, que apresentem capacidade fotoprotetora e antioxidante

Figura 16: Planejamento estrutural das estruturas da série LAPDESF – BZF, desenvolvidas no projeto



Fonte: dados da pesquisa.

4. Materiais e métodos

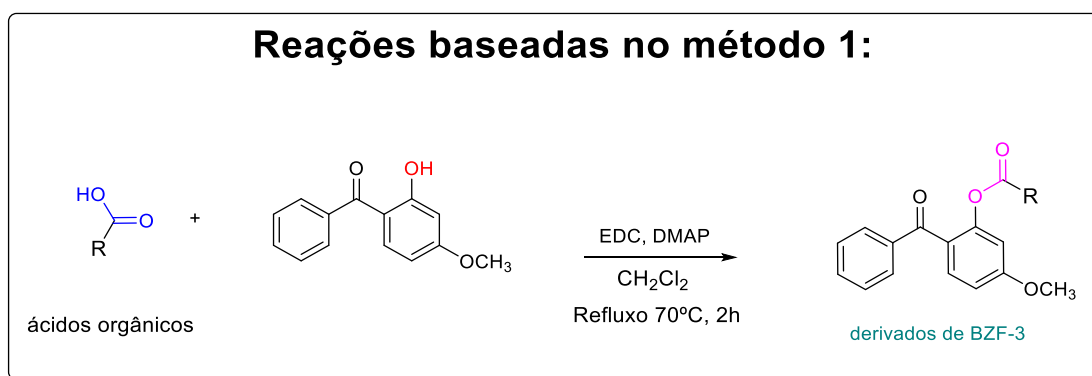
4.1. Materiais

ácido ferúlico (Sigma-Aldrich, p.a), 4 – bromo-metil-benzofenona (Sigma-Aldrich); metanol para espectrometria de massas (Sigma-Aldrich); octil-metoxicinamato (Sigma-Aldrich); avobenzona (Sigma-Aldrich); 3 metoxibenzofenona (Sigma-Aldrich, p.a), ácido 3-metoxi cinâmico (Sigma-Aldrich, p.a), ácido 4-metoxi cinâmico (Sigma-Aldrich, p.a), p.a), diclorometano (DCM) (Sinth, p.a), metanol (Sinth, p.a); 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC); (Sigma-Aldrich, p.a), diisopropilcarbodiimida (DIC) (Sigma-Aldrich, p.a), dimetilaminopiridina (DMAP) (Sigma-Aldrich, p.a, microplacas de 96 orifícios Sigma-Aldrich; dimetilsulfóxido (DMSO) - (Sigma-Aldrich)..

4.2. Metodologia sintética:

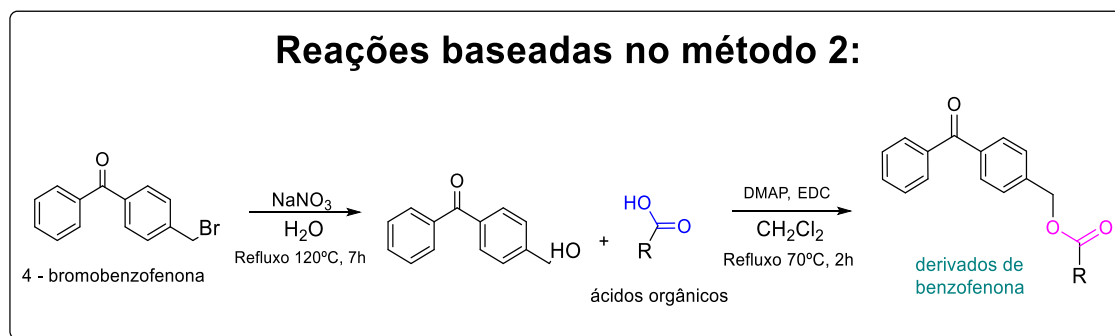
Os compostos serão sintetizados com base nas reações esquematizadas nas figuras 4 e 5.

Figura 17: método sintético 1 utilizando agentes acoplantes (EDC e DIC) e benzofenona-3.



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 18: metodologia sintética da substituição do bromo do composto 4-bromo-metil-benzofenona, por uma hidroxila, utilizando o par de agentes acoplantes DMAP e EDC.



Fonte: dados da pesquisa

4.3. Procedimento experimental :

A rota sintética consiste em trabalhar diretamente com um par de agentes acoplantes EDC/DMAP, em solução de diclorometano, seguindo metodologia adaptada de WIPF e cols, 2005. O segundo método proposto foi baseado na metodologia sintética adaptada de Blau, 2009. Será realizada a substituição do átomo de bromo da 4-bromometil-benzofenona por uma hidroxila com auxílio de nitrato de sódio em uma reação de refluxo e utilizando o DCM como solvente, em seguida serão adicionados à reação os agentes acoplantes DMAP e EDC. Ao final espera-se obter a formação dos compostos da série LAPDESF - UV (BLAU, 2009; VOGUEL, 1989) .

4.4. Ensaio de fotodegradação por espectrometria de massas utilização ionização por dissorção de eletrospray à pressão ambiente (DESI-MS)

O teste de fotodegradação foi realizado no centro de pesquisa em espectrometria de massas da universidade de York em Toronto- Canadá e foi determinada utilizando a metodologia DESI-MS no espectrômetro de massas da

Thermo Fisher Scientific LTQ (San Jose, CA, USA) utilizando metanol e DMSO como solventes. O experimento foi realizado de acordo com a metodologia adaptada de Hojerova, 2011 e adaptada para DESI-MS. (HOJEROVÁ; MEDOVČÍKOVÁ; MIKULA, 2011).

4.4.1. método tentativo para estudo de fotodegradação de compostos derivados de benzofenonas, utilizando a técnica de espectrometria de massas em ambiente de ionização por dissorção por eletrospray – DESI-MS.

A técnica de ionização por dissorção por eletrospray, consiste na aplicação de uma amostra sobre uma superfície de um suporte constituído de um material conhecido, a amostra é então submetida a um sistema integrado de spray de alta pressão (100 psi) contendo um solvente ionizado por descarga elétrica de alta corrente (5Kv), provocando a posterior ionização da amostra e consequente dissorção da mesma para o tubo coletor, que por mecanismo de vácuo adsorve a amostra para o sensor do analisador de massas, que converte os sinais recebidos em espectro de massas.

A técnica de DESI-MS, utiliza-se de um acoplamento de uma base móvel (“moving stage”) onde as amostras são fixadas e os dados das análises de espectrometria de massas são coletados por toda uma área determinada previamente, por meio de programação do movimento da base nos eixos x e y.

Foram utilizados: O espectrômetro de massas da Thermo Fisher Scientific LTQ (San Jose, CA, USA) – do centro de pesquisa em espectrometria de massas da York University-Toronto, Canadá. Foram selecionados 3 diferentes materiais como substratos para aplicação das amostras analisadas; PTFE, Sílica e vidro, por serem

os materiais que apresentam menor interferências na adsorção dos íons e posterior ablação dos mesmos para o detector de massas. (COOKS et al., 2006; IFA et al., 2008; TAKÁTS; WISEMAN; COOKS, 2005). Como padrões analíticos da mesma forma como referência para desenvolvimento do método foram escolhidos os compostos, 4-bromometil-bezofenona, benzofenona-3, octil-metoxicinamato, ácido ferúlico, ácidos 3-metoxicinâmico e 4-metoxicinâmico, ácido lipóico e avobenzona. Metanol, água e diclorometano, puros e em mistura (metanol/água – água/metanol) nas proporções (90/10; 80/20; 70/30), foram utilizados como solventes.

Para os experimentos foram utilizadas fragmentos de PTFE com aproximadamente 0,7cm x 4,5cm cada dispostos de forma paralela (figura 25) .Estes fragmentos de PTFE foram mergulhados em soluções de 10mg/mL de cada composto avaliado, o mesmo procedimento foi realizado para cromatofolhas de alumínio 20x20 cm Sílica gel 60 F254 0,2 mm de espessura – Merck. Inicialmente feito com os compostos utilizados como padrões BZF-3, octil-metoxicinamato e avobenzona (filtros UVA/UVB, UVB e UVA respectivamente) estes fragmentos foram expostos à luz UV de 150W por intervalos de tempo determinados 0', 30', 60', 90' e 120' (tempo necessário para aquisição dos espectros que formaram as imagens obtidas). As amostras foram analisadas no espectrômetro de massas LTQ da Thermo –Fischer Scientific,(San Jose, CA, EUA), formando uma imagem dos íons obtidos de acordo com o tempo de aquisição/exposição à fonte de radiação UV. os dados adquiridos foram processados usando o software Xcalibur 2.0 (Thermo-Fischer Scientific), e posteriormente tratados no software Biomap Novartis Institute for Biomedical Resources, Basel, Suíça, para formatação e construção das imagens. Os parâmetros usados para as análises foram: voltagem (carga aplicada sobre o capilar de saída do solvente/amostra) 5Kv, a temperatura do capilar de entrada

(inlet) foi de 275°C; todas as soluções foram feitas com metanol 100% mantendo um fluxo constante de 1,5µL/min sobre a amostra. Os espectros foram obtidos em modo íons positivos com a faixa de detecção de massas de 50 – 450 m/z. a distância entre a saída do spray até a amostra variou entre 1,0mm a 1,5mm e a distância da amostra para o coletor (inlet) variou entre 10 a 13mm; o ângulo de incidência do spray foi de 52°.e o ângulo de coleta foi de 12°.

Método 1: Para o primeiro experimento foram utilizados todos os compostos padrões: avobenzona, 4-bromometil-benzofenona e benzofenona-3, octil-metoxicinamato, ácido ferúlico, ácidos 3-metoxicinâmico e 4-metoxicinâmico e ácido lipóico para determinação e seleção do melhor método de visualização dos íons (positivo ou negativo) bem como, para determinar qual o melhor material de suporte para aplicação das amostras de filtros. Foram utilizados como superfície de aplicação dos padrões analisados: PTFE, Sílica (C.C.D) e vidro. Os solventes testados foram metanol, DCM e água, todos numa concentração de 100%, e foram testadas uma mistura contendo metanol e água nas proporções de 20/80, 30/70, 50/50 – MeOH/H₂O, H₂O/MeOH. Os materiais foram aplicados sobre a superfície dos materiais selecionados como substratos e em seguida foram expostos à radiação UV de 2 formas: diretamente durante todo o tempo necessário para aquisição da imagem da intensidade dos íons e com exposição prévia controlada (intervalos regulares de 30').

Método 2: Para o segundo experimento foram utilizados os compostos padrões: avobenzona, octil-metoxicinamato (metoxicinamato de octila) e benzofenona-3, para visualização dos íons em modo positivo utilizando-se lâminas de PTFE 0,7 x 5,0 cm cada, como material substrato para aplicação das amostras e

Metodo 4: Utilizando-se das lâminas de vidro com microcírculos de PTFE, e seguindo o mesmo procedimento de aplicação das amostras do método 3. Substituindo-se a fonte de radiação por lâmpadas de UVA contidas na câmara de bronzamento artificial Ergoline, utilizando lâmpadas Voltarc GT Series Bronser FR71/HO 100-120 W de potência. Seguiu-se o esquema de exposição controlada por intervalos de tempo regulares de 15' para as amostras que foram dispostas na câmara conforme figura 20.

Figura 20: esquema de exposição utilizando-se a câmara de bronzamento artificial, e exposição controlada por intervalos de tempo de 15'



Fonte: dados da pesquisa

5. Resultados e discussão

Baseado no trabalho de Yamasaki, 2012, 6 compostos derivados de benzofenonas, foram planejados:

LAPDESF – BZF-1 ((*E*)-2-benzoil-5-metoxifenil 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil) acrilato),
 LAPDESF – BZF-2: ((*E*)-2-benzoil-5-metoxifenil 3-(4-metoxibenzil)acrilato),
 LAPDESF – BZF-3: ((*E*)-2-benzoil-5-metoxifenil 3-(3-metoxibenzil)acrilato),

LAPDESF – BZF-4: ((*E*)-4-benzoilbenzil 3(4-metoxifenil)acrilato), LAPDESF – BZF-5: ((*E*)-4-benzoilbenzil 3(3-metoxifenil)acrilato). Buscando ao final, derivados com o incremento da atividade de fotoproteção contra a radiação UV, associando à molécula, uma propriedade antioxidante. As sínteses dos compostos partindo-se BZF-3 não obtiveram êxito, mesmo utilizando-se as tentativas de reação com o uso do agente acoplante DIC combinado ao catalisador DMAP em solução de DCM ou utilizando o Cloreto de oxalila como agente clorificante dos ácidos orgânicos utilizados e por fim a substituição do agente acoplante DIC por EDC com adição feita em banho de gelo. Os produtos formados foram submetidos à análise de IV, demonstrando o aparecimento da carbonila do éster, diferentemente da carbonila do ácido (tabela 2). Porém, os resultados de RMN ^1H e ^{13}C dos compostos LAPDESF-BZF-1, 2, 3 e 6, não confirmaram a formação do produto puro. Além disso, a reação ocorreu com baixo rendimento, inviabilizando a purificação.

Os valores de Rf em análise por CCD, faixa de fusão e/ou rendimento das reações foram:

Lapdesf BZF 1: Rf: 0,64 (fase móvel: 97% DCM e 03 % metanol)

Lapdesf BZF 2: impuro

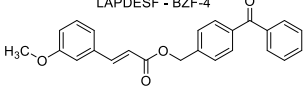
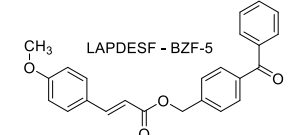
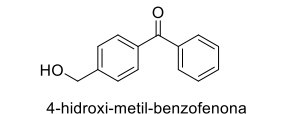
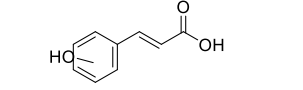
Lapdesf BZ 3: impuro

Lapdesf BZF 4: Rf: 0,59; sólido branco, (fase móvel: 75% Hexano e 25 % Acetato de etila)

Lapdesf BZF 5: Rf: 0,65; sólido branco, (fase móvel: 75% Hexano e 25 % Acetato de etila)

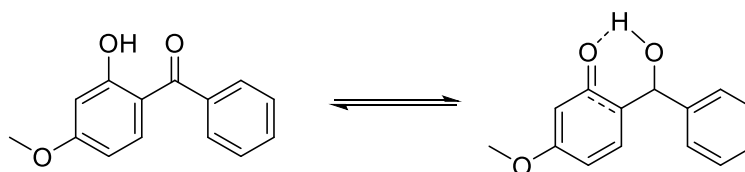
Lapdesf BZF 6: impuro

Tabela 2: estiramentos de infravermelho dos compostos obtidos e os respectivos padrões

compostos	abs teórico (cm ⁻¹)	abs observada (cm ⁻¹)	grupamento
 LAPDES F - BZF-4	920	923,90	OH (δ)
	1300-1250 e 1200-1050	1274,94 e 1155,36	C-O (éster)
	1750-1740	1705,07	C=O (éster)
	~1420	1429,25	CH ₂ adjacente à carbonila
 LAPDES F - BZF-5	920	923,80	OH (δ)
	1300-1250 e 1200-1050	1278,80 e 1176,58	C-O (éster)
	1750-1740	1655,06	C=O (éster)
	~1420	1413,82	CH ₂ adjacente à carbonila
 4-hidroxi-metil-benzofenona	~920	923,90	OH (δ)
	1760-1710	1652,90	C=O (cetona)
 ácidos 3 e 4-metoxicinâmico	~920	947,05	OH (δ)
	1760-1710	3439,07	C-O (éster)
	~1420	1691,57	C=O (ácido carbox.)

Fonte: dados da pesquisa.

A dificuldade encontrada deve-se à escolha da benzofenona como reagente, o qual possui tautomerismo entre a cetona e a hidroxila fenólica (tautomeria ceto-enólica), formando possível ligação H intramolecular, o qual dificulta qualquer reação nesta posição (Figura 21). Sugere-se que esta conformação e consequente mecanismo tautomérico, seja responsável pela estabilidade frente à radiação UV.

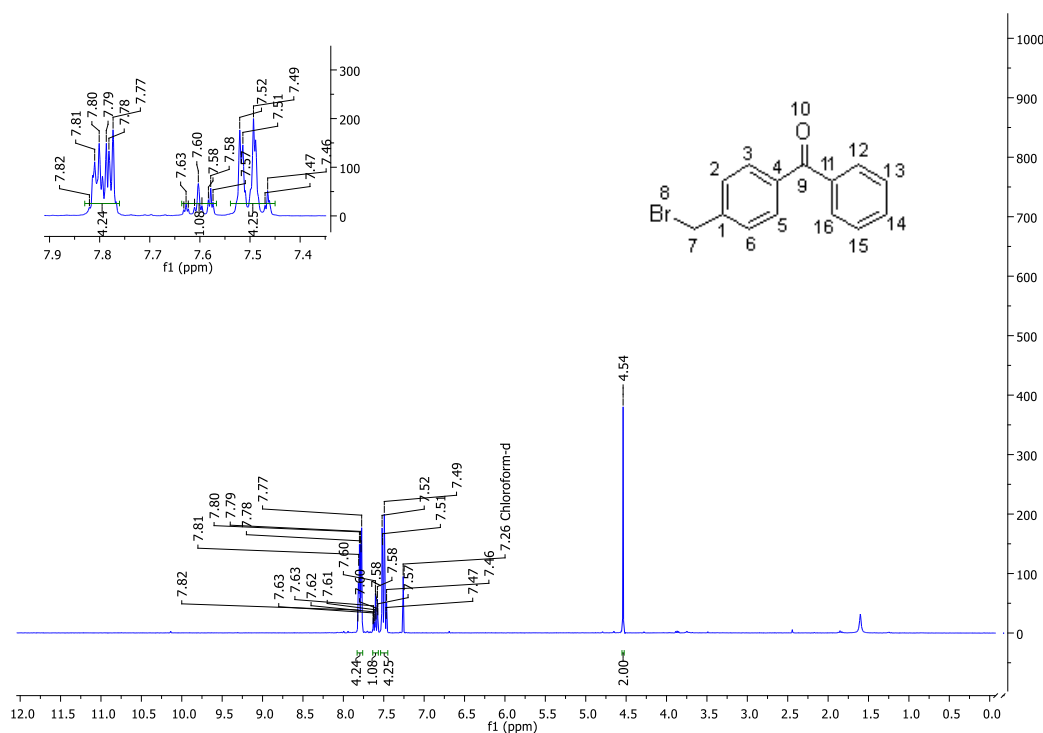
Figura 21: forma tautomérica da benzofenona-3

Fonte: Clayden, 2004; Mturi, 2008 e Beel, 2013

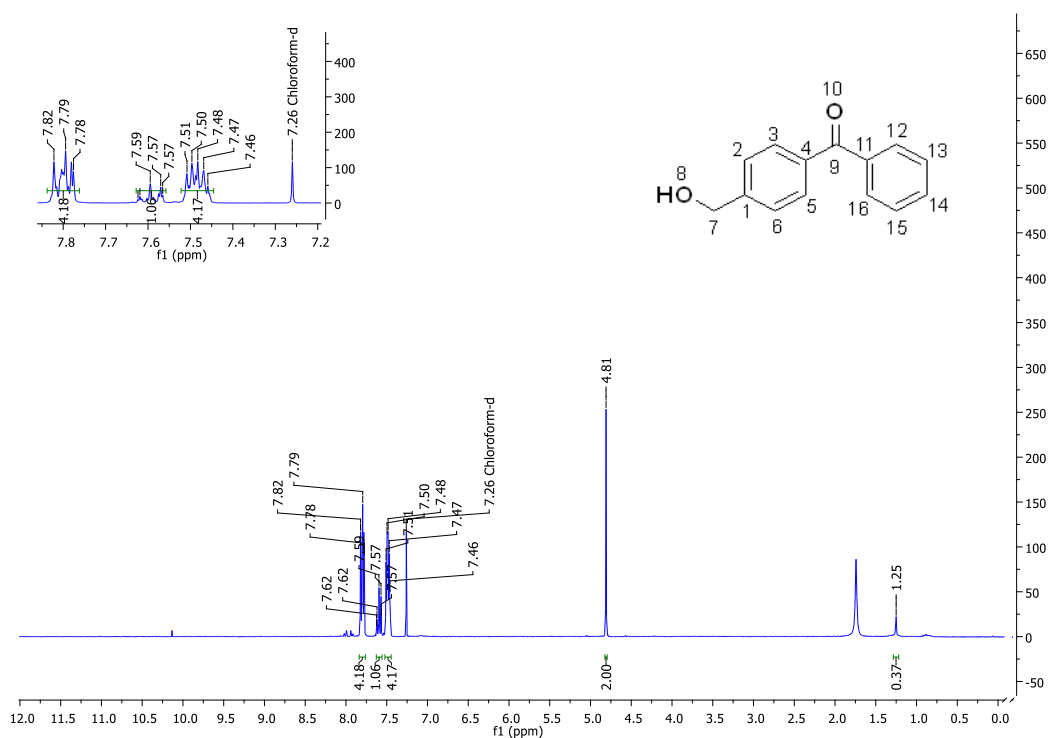
O compostos da série LAPDES F BZF-4 e BZF-5, inéditos, foram obtidos a partir da 4-hidroximetilbenzofenona, preparado a partir da 4-bromometilbenzofenona. A formação do produto pode ser observada no RMN ¹H pela mudança no deslocamento químico dos hidrogênios da metila na posição 7. Na figura 22, refere-se ao espectro de RMN ¹H do reagente 4-bromometil-benzofenona, no qual observa-se um deslocamento químico de δ 4,54 ppm para os hidrogênios da

metila na posição 7. A figura 23, refere-se ao espectro de RMN ^1H do composto hidroxilado correspondente formado, sendo observado um deslocamento de δ 4,81 ppm para os hidrogênios da mesma posição. Os diferentes deslocamentos ocorrem devido a substituição do bromo pelo grupamento hidroxila. A Tabela 1 apresenta todos os deslocamentos e multiplicidade do reagente e intermediário.

Figura 22. Espectro de RMN ^1H do composto 4-bromometil-benzofenona



Fonte: dados da pesquisa

Figura 23. Espectro de RMN ^1H do composto 4-hidroximetil-benzofenona

Fonte: dados da pesquisa

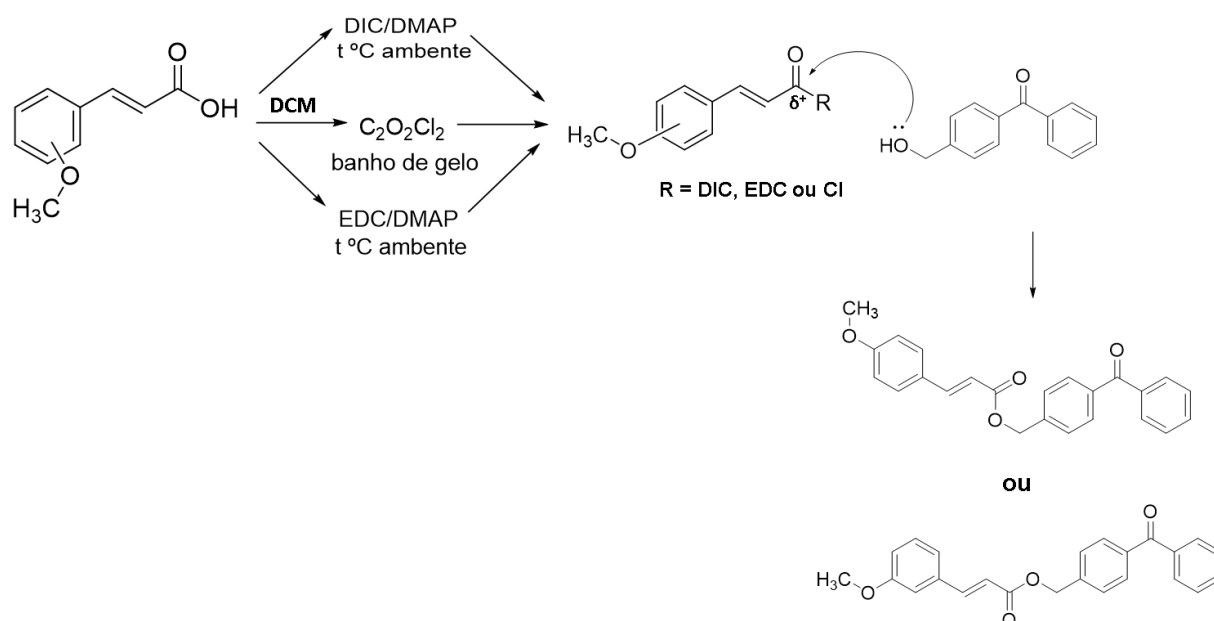
Tabela 3. Atribuições dos Hidrogênios verificados nos espectros de RMN ^1H dos compostos 4-bromometil-benzofenona e 4-hidroximetil-benzofenona.

Posição	δ ^1H (ppm)	M / J^0 (Hz)	δ ^1H (ppm)	M / J^0 (Hz)
2	7,46 – 7,52	m	7,46 – 7,51	m
3	7,77 – 7,82	m	7,78 – 7,82	m
5	7,77 – 7,82	m	7,78 – 7,82	m
6	7,46 – 7,52	m	7,46 – 7,51	m
7	4,54	s	4,81	s
8	-	-	1,25	s
12	7,77 – 7,82	m	7,78 – 7,82	m
13	7,46 – 7,52	m	7,46 – 7,51	m
14	7,57 – 7,63	m	7,57 – 7,62	m
15	7,46 – 7,52	m	7,46 – 7,51	m
16	7,77 – 7,82	m	7,78 – 7,82	m

Fonte: dados da pesquisa

As sínteses dos compostos **LAPDESF – BZF-4 ((E)-4-benzoilbenzil 3(4-metoxifenil)acrilato)** e **LAPDESF-BZF-5 ((E)-4-benzoilbenzil 3(3-metoxifenil)acrilato)** ocorreram a partir da reação dos ácidos 3 e 4-metocinâmicos em meio contendo o agente acoplante EDC ou DIC, ou substituindo a hidroxila do ácido por cloro utilizando o agente clorante cloreto de oxalila. Após a preparação do meio reacional contendo o ácido adicionou-se ao meio reacional o reagente 4-hidroximetil benzofenona e manteve-se a reação em refluxo por 24h de acordo com o mecanismo da figura 4.

Figura 24: esquema reacional da síntese dos compostos LAPDESF-BZF-4 e BZF-5



Fonte: dados da pesquisa.

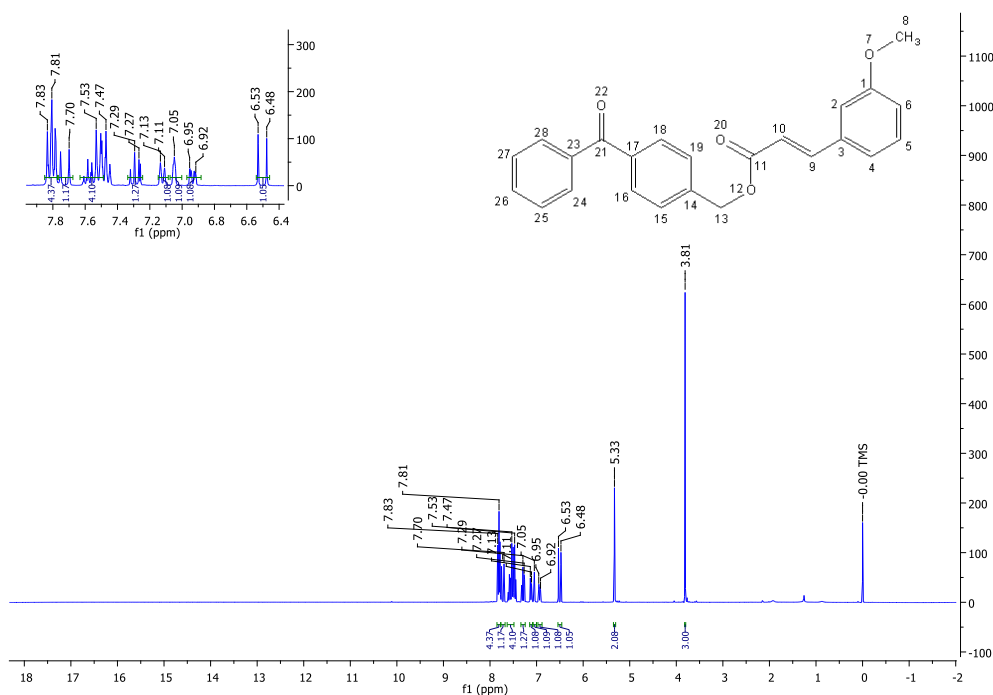
A partir da análise espectrométrica do composto LAPDESF- BZF-4 comparada aos seus padrões, pode-se sugerir que o referido composto foi obtido. Nos espectros de RMN 1H , representados nas figuras 25 e 26, pode-se destacar o deslocamento em $\delta 3,81$ ppm (singleto) que integra para 3H referente aos hidrogênios presentes na metoxila da posição 8 e também o singleto em $\delta 5,33$ ppm que integra para dois H referente a metila na posição 13. Os dupletos em $\delta 6,50$ ppm e $\delta 7,73$ ppm referem-se aos hidrogênios das posições 9 e 10 e integram para 1H cada. Também foram atribuídos os deslocamentos referentes ao anel aromático do ácido cinâmico

LAPDESF-2016 Paulo Renato Yamasaki

(posições 1, 2, 4, 5 e 6) e dos anéis da benzofenona (posições 15, 16, 18, 19, 24, 25, 26, 27 e 28) e estão dispostos na tabela 2.

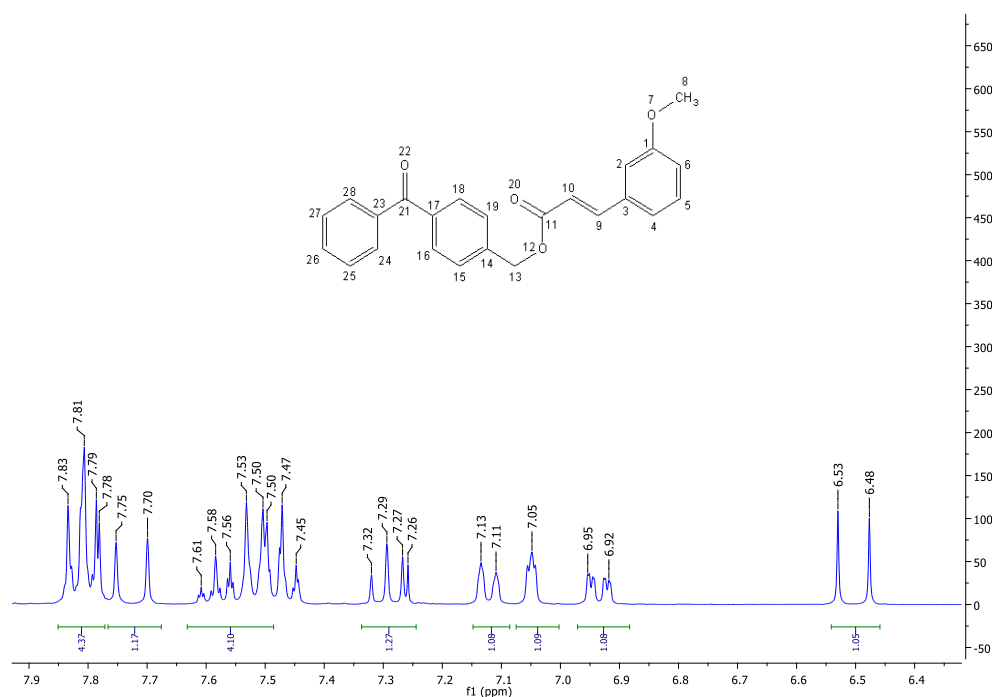
As figuras 27 e 28 referem-se à espectrometria de RMN ^{13}C , demonstrando a presença dos carbonos referentes ao composto obtido. Destacam-se os carbonos carbonílicos da posição 11 e 21, com deslocamento químico em $\delta 166,54$ ppm e $\delta 196,18$ ppm respectivamente, sendo o primeiro referente a carbonila da ligação éster e o segundo da carbonila presente nas benzofenonas. Também são observados os deslocamentos dos carbonos da dupla ligação (posição 9 e 10) presente no ácido metoxicinâmico, em $\delta 117,73$ ppm e $\delta 145,51$ ppm, respectivamente. Os demais deslocamentos químicos dos carbonos estão atribuídos na tabela 2.

Figura 25. RMN ^1H do composto LAPDES- BZF-4, DMSO d_6 , 300 MHz



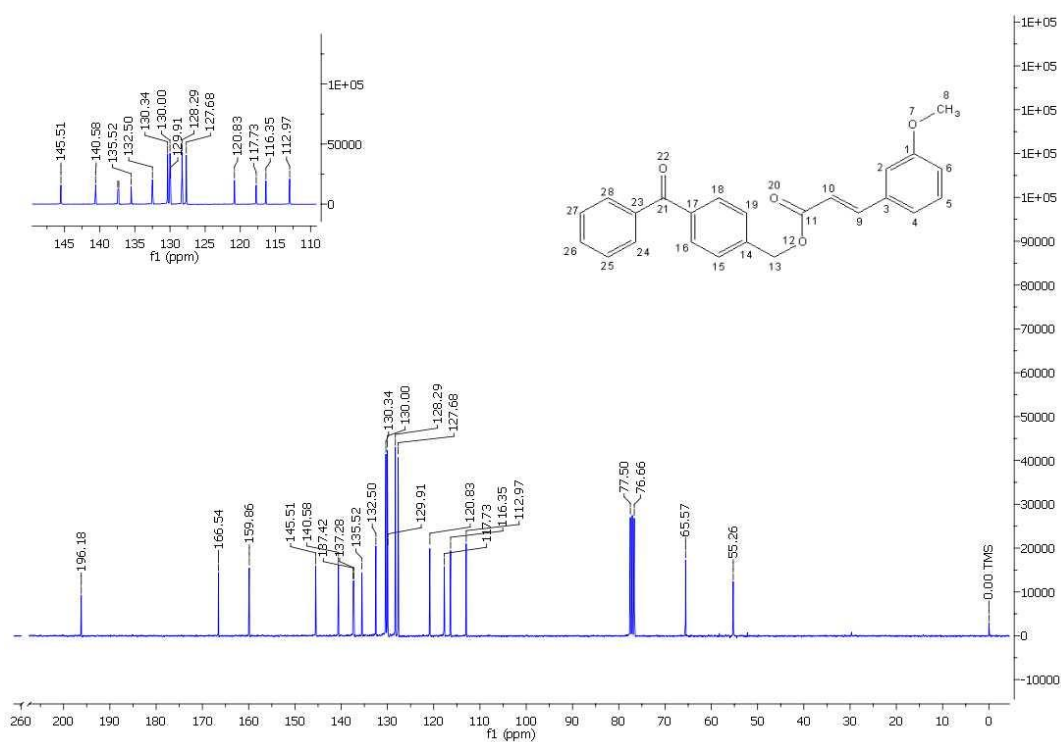
Fonte: Dados da pesquisa

Figura 26. Ampliação da região entre δ 7,9 – 6,4 ppm do espectro de RMN ^1H do composto LAPDESF- BZF-4.



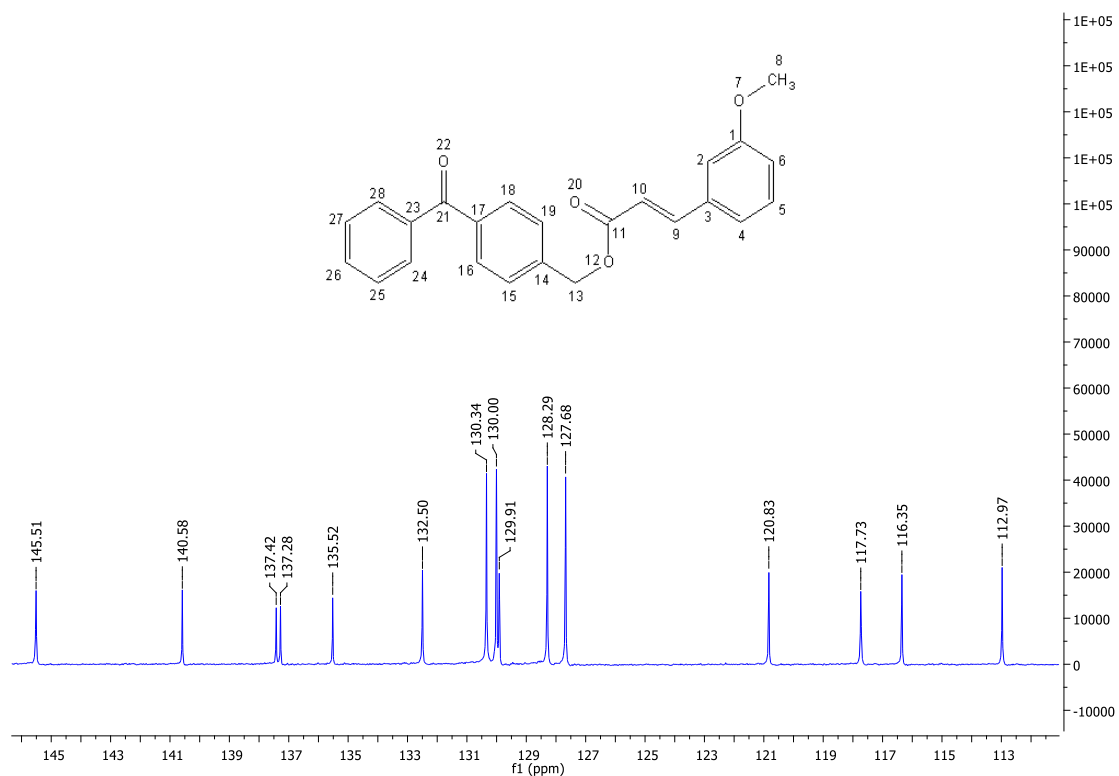
Fonte: dados da pesquisa

Figura 27. Espectro de RMN ^{13}C do composto LAPDESF- BZF-4, CDCl₃, 75 MHz



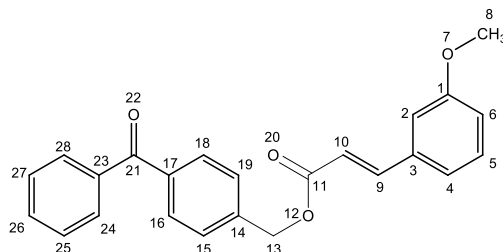
Fonte: dados da pesquisa

Figura 28: Ampliação da região δ 145,55 – 113,01 ppm do espectro de RMN ^{13}C do composto LAPDESF- BZF4



Fonte: dados da pesquisa .

Tabela 4. Representação dos deslocamentos químicos do composto LAPDESF-BZF-4 apresentados nos espectros de RMN¹H e RMN¹³C.



Posição	δ ¹ H (ppm)	M / J ⁰ (Hz)	δ ¹³ C (ppm)
1	-	-	159,86
2	7,13	m	112,97
3	-	-	135,52
4	7,29	m	120,83
5	7,53	m	129,91
6	6,92 – 6,95	dd 7,9 – 2,5	116,35
8	3,81	s	55,26
9	6,50	d / 16,0	117,73
10	7,73	d / 16,0	145,51
11	-	-	166,54
13	5,33	s	65,57
14	-	-	140,58
15	7,50	m	128,29
16	7,78	m	130,34
17	-	-	137,28
18	7,79	m	130,34
19	7,50	m	128,29
21	-	-	196,18
23	-	-	137,42
24	7,70 – 7,75	m	130,00
25	7,83	m	127,68
26	7,61 – 7,58	s	132,50
27	7,81	m	127,68
28	7,70 – 7,75	m	130,34

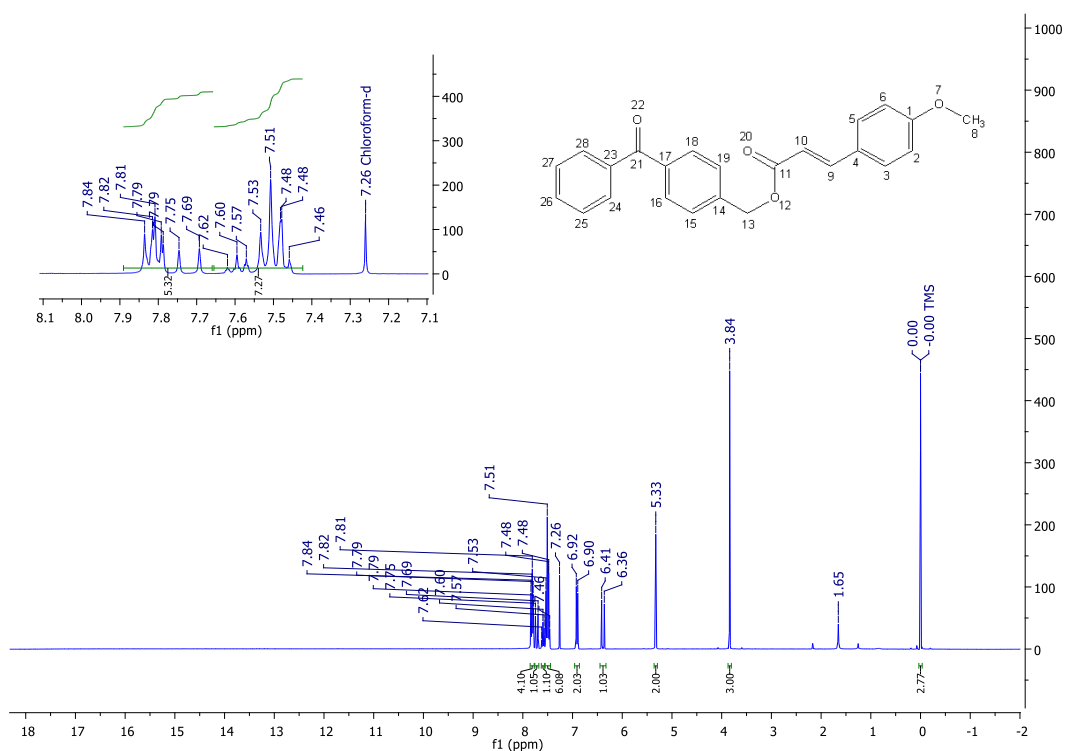
Fonte: dados da pesquisa.

A Síntese do composto LAPDESF – BZF-5: ((*E*)-4-benzoilbenzil 3(3-metoxifenil)acrilato) baseou na reação do ácido 4 – metoxicinâmico e benzofenona-3.

As figuras 29 e 30 são referentes aos espectros completo e ampliado de RMN ^1H do composto LAPDESF-BZF-5. Pode-se destacar os seguintes deslocamentos do ácido 4-metoxicinâmico: um singlete da posição 8, integrando para 3H em δ 3,84 ppm referente aos hidrogênios da metoxila; um singlete, integrando para 2H em δ 5,33 ppm que corresponde a metileno na posição 13; os dupletos em δ 7,72 ppm e δ 7,79 ambos integrando cada um para ^1H , correspondentes aos hidrogênios das posições 9 e 10 respectivamente. Também foram observados os deslocamentos referentes aos anéis aromáticos do ácido 4-metoxicinâmico (posições 2, 4, 5 e 6) e do 4-hidroximetil-benzofenona (posições 15, 16, 18, 19, 24, 25, 26, 27 e 28) que estão dispostos na tabela 3.

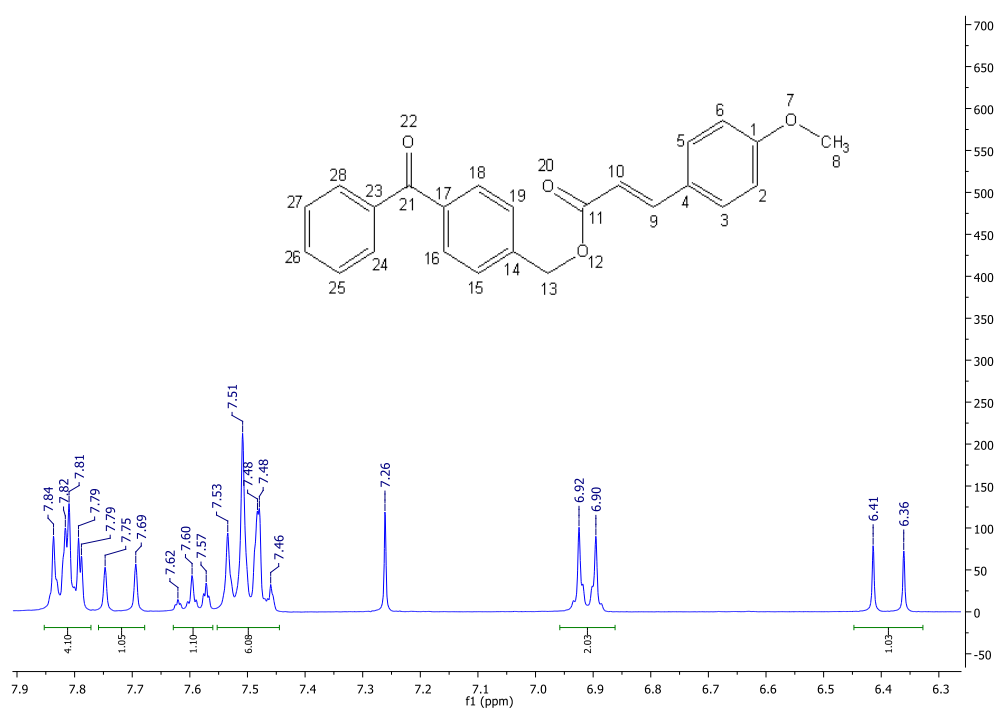
Na espectrometria de RMN ^{13}C , nas figuras 31 e 32 correspondentes aos espectros completo e ampliado do composto LAPDESF-BZF-5 demonstram a presença de todos os carbonos. Destacam-se os carbonos carbonílicos da posição 11 e 21, com deslocamento químico em δ 166,99 ppm e δ 196,29 ppm respectivamente, sendo o primeiro referente a carbonila da ligação ester e o segundo da carbonila presente nas benzofenonas. Também são observados os deslocamentos dos carbonos da dupla ligação (posição 9 e 10) presente no ácido metoxicinâmico, em δ 114,89 ppm e δ 145,31 ppm, respectivamente. Os demais deslocamentos químicos dos carbonos estão atribuídos na tabela 3.

Figura 29: RMN ^1H do composto LAPDESF- BZF-5, CDCl_3 , 300 mHz



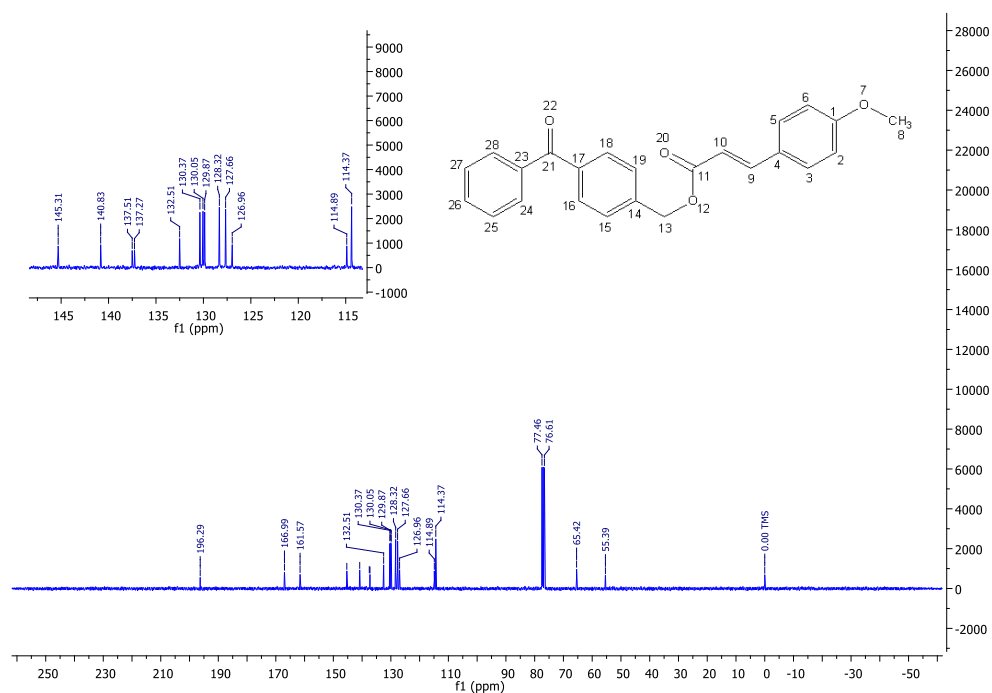
Fonte: dados da pesquisa

Figura 30: Ampliação da δ região 7,9 – 6,3 ppm do espectro de RMN ^1H do composto LAPDESF- BZF-5, CDCl_3 , 300 mHz



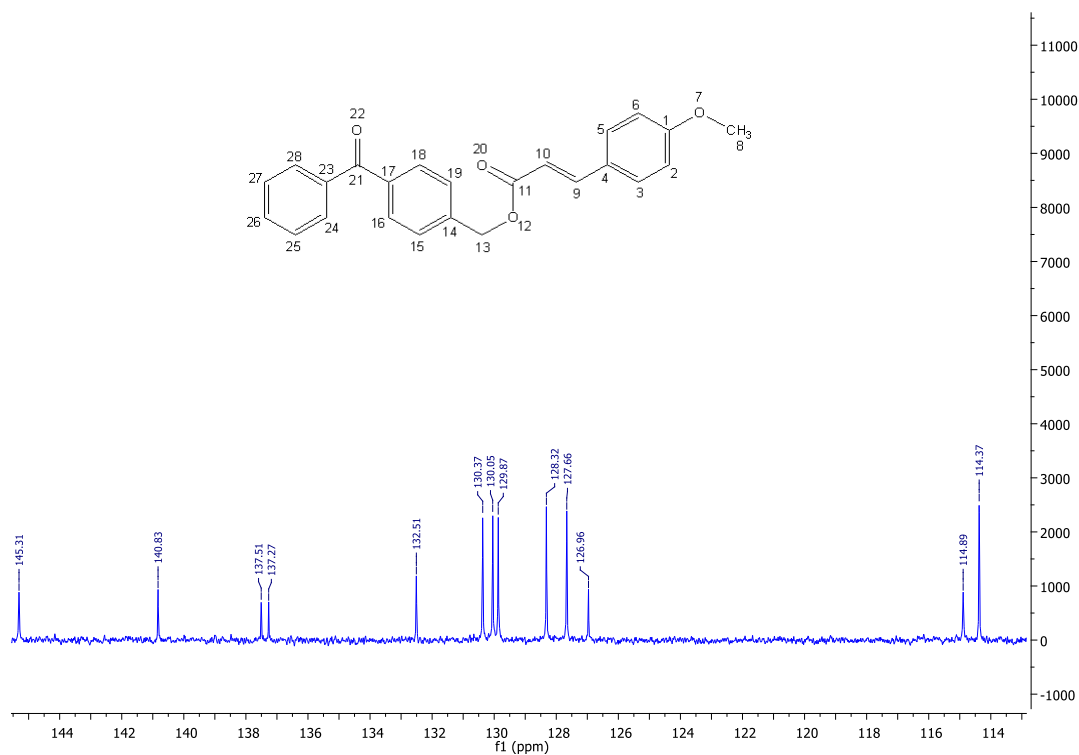
Fonte: dados da pesquisa

Figura 31: Espectro de RMN ^{13}C do composto LAPDES- BZF-5



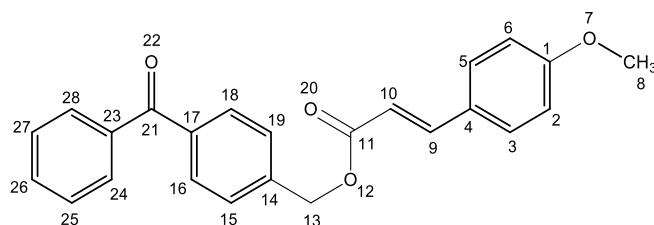
Fonte: dados da pesquisa

Figura 32: Ampliação da região δ 145,31 -114,37 ppm do espectro de RMN ^{13}C do composto LAPDES- BZF-5.



Fonte: dados da pesquisa

Tabela 5: representação dos deslocamentos químicos do composto LAPDESF-BZF-5 apresentados nos espectros de RMN¹H e RMN¹³C.



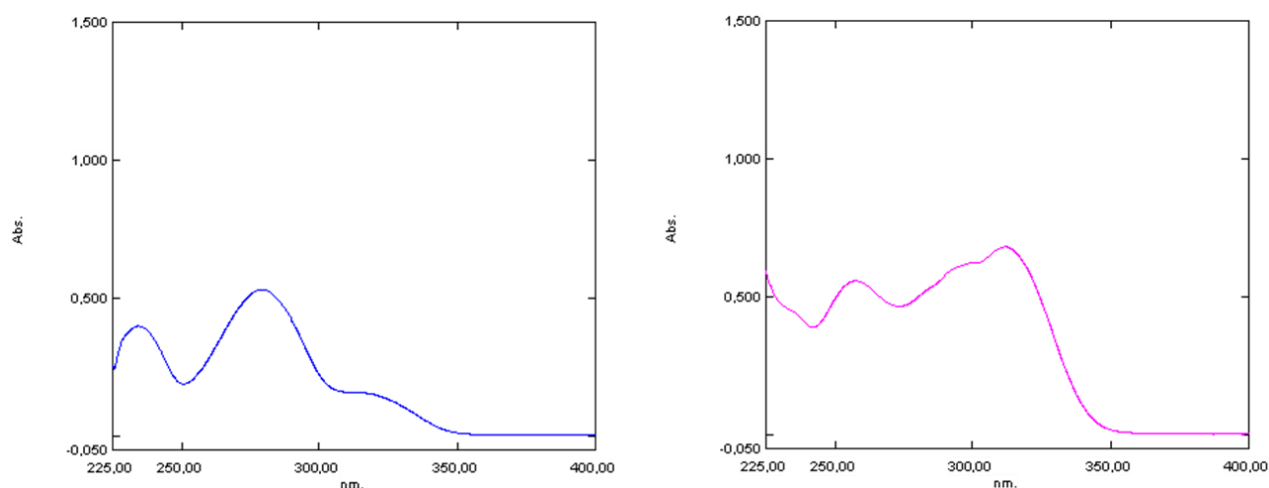
Posição	δ ¹ H (ppm)	M / J ⁰ (Hz)	δ ¹³ C (ppm)
1	-	-	161,57
2	6,92	d /16,0	114,37
3	7,53	m	129,87
4	-	-	126,96
5	7,53	m	129,87
6	-	-	114,37
8	3,84	s	55,39
9	7,72	d/16,0	114,89
10	7,79	d/15,9	145,31
11	-	-	166,99
13	5,33	s	65,42
14	-	-	140,83
15	7,48	m	127,66
16	7,69	m	130,37
17	-	-	137,27
18	7,62	m	130,37
19	7,46	m	127,66
21	-	-	196,29
23	-	-	137,51
24	7,81	m	130,05
25	7,51	m	128,32
26	7,62	m	132,51
27	7,57	m	128,32
28	7,84	m	130,05

Fonte: dados da pesquisa

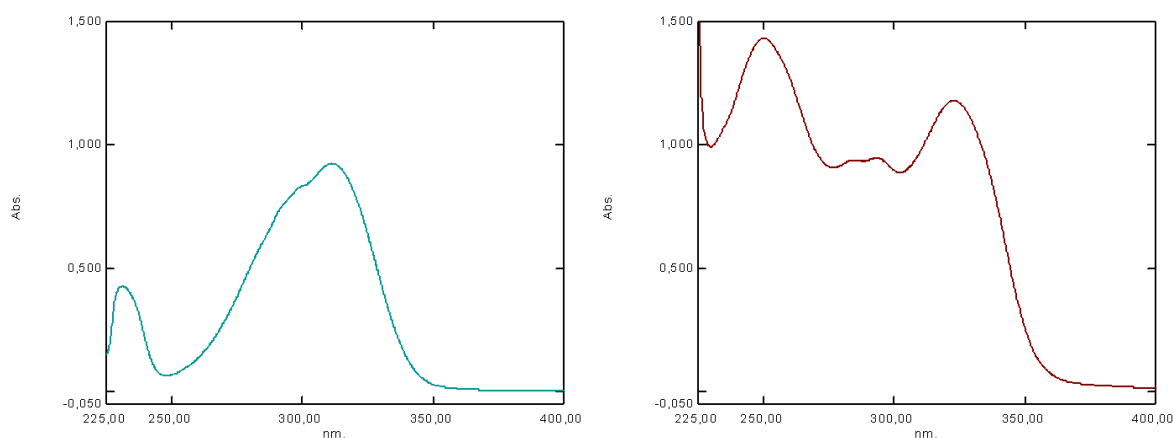
5.1. Resultados obtidos das análises de absorbância no espectro UV, utilizando-se a concentração de 2µg/mL para cada composto avaliado.

Os espectros de ultravioleta foram obtidos após a purificação dos compostos . A análise dos perfis de absorção dos compostos apresenta uma prerrogativa da possível capacidade fotoprotetora dos mesmos, principalmente, indicando a região do espectro UV ótima. (BERNERD et al., 2003; SEITÉ; FOURTANIER, 2008; SOLOVCHENKO; MERZLYAK, 2008; STIEFEL; SCHWACK, 2015)

Figura 33: Espectro de UV do padrão 3-metoxicinâmico e Lapdesf bzf -4



Fonte: dados da pesquisa

Figura 34: Espectro UV do composto ácido 4 metoxicinâmico e Lapsdef BZF- 5

Fonte: dados da pesquisa

Tabela 6: valores de absorvância críticos dos compostos avaliados

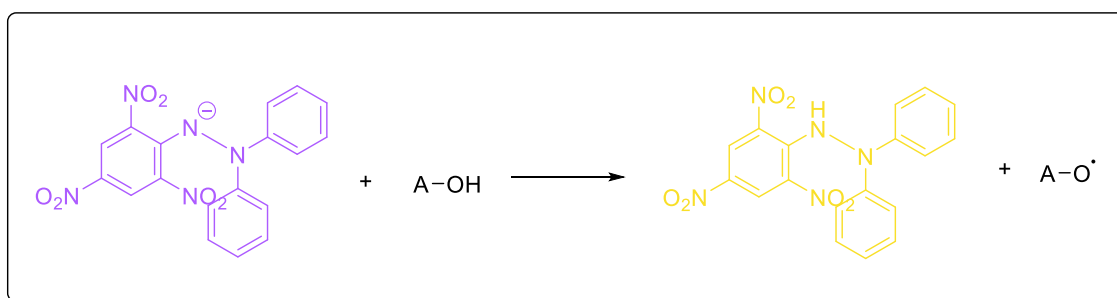
compostos	λ crítico nm	faixa de absorvância UV (nm)
ácido 3-metoxicinâmico	275	230 e 270-315
ácido 4-metoxicinâmico	275	230 e 270-315
4-hidroximetil benzofenona	260	210-270
LAPDESF-BZF-4	260/320	210-385
LAPDESF-BZF-5	252/335	220-385

Fonte: dados da pesquisa

A partir da análise dos espectros de UV obtidos, pode-se observar que há uma nítida diferença no perfil de absorvância dos padrões analisados comparados ao dos compostos obtidos, contudo houve incremento na faixa de absorção dos novos filtros, principalmente na região de UVA, o qual o filtro padrão 4-hidroximetil-benzofenona não apresentou absorvância significativa, demonstrando que a planejaemento para obtenção dos novos compostos foi bem-sucedida.

Os ensaios de DPPH determinam a capacidade antioxidante do composto. O método, indireto, avalia a capacidade antioxidante dos compostos, por meio da neutralização do radical DPPH conforme ilustrado na figura 35.

Figura 35: Esquema reacional de estabilização do radical DPPH.



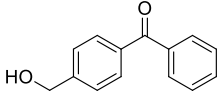
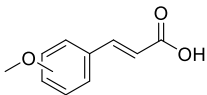
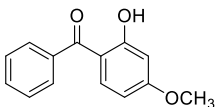
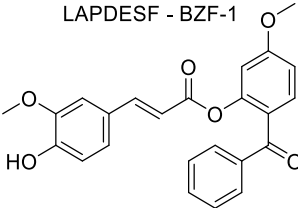
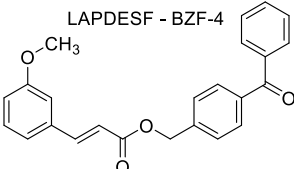
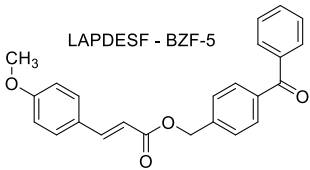
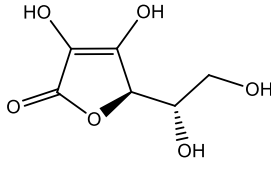
Fonte: dados da pesquisa. esquema ilustrando a alteração colorimétrica ocorrida quando o radical DPPH é neutralizado por ação de uma molécula antioxidante.

A vitamina C é considerada o padrão para estes ensaios, tendo em vista possui atividade antioxidante potente (REF). Os resultados demonstraram que os reagentes utilizados como padrões; benzofenonas-3 e 4 hidroximetil-benzofenona são destituídos ou apresentam muito pouca atividade antioxidante. Os compostos derivados do ácido cinâmico apresentaram atividade antioxidante (IC 50 para o teste de DPPH < 0,50 mg/mL), além de apresentarem atividade fotoprotetora próxima ao padrão benzofenona-3 (FPS 2,09 e 2,95 comparados aos FPS 1,23 e 3,58, obtidos pelos métodos de transmitância e Mansur dos ácidos 3 e 4-metoxicinâmicos e benzofenona-3 respectivamente). A análise das atividades fotoprotetora e antioxidante dos produtos obtidos, demonstraram que a estratégia de modificação estrutural proposta é promissora, pois, todos os compostos obtidos mantiveram a capacidade antioxidante, demonstrada pelos resultados dos testes de DPPH conforme dados da tabela 4, os valores obtidos foram próximos aos padrões usados

para comparação () da mesma forma pode-se observar t os resultados de fotoproteção dos compostos pelos métodos de Mansur e transmitância, que evidenciaram o incremento de fotoproteção dos produtos na região do UVA em comparação com a benzofenona-3, e manteve a atividade fotoprotetora na região do UVB similar ao mesmo padrão.

Os resultados obtidos para o ensaio de DPPH e FPS *in vitro* método de Mansur e Optometrics- transmitância encontram-se na tabela 6.

Tabela 7: Tabela contendo os resultados obtidos dos experimentos de DPPH e determinação de FPS pelo método de Mansur (UVB) e pelo método Optometrics (UVA).

Composto	FPS Optometrics [0,1mg/ml]	FPS Mansur [0,1mg/ml]	DPPH IC50 (mg/ml)	λ crítico (nm)
 4-hidroxi-metil-benzofenona	3,93	1,85	180,00	369,20
 ácidos 3 e 4-metoxicinâmico	2,09	2,95	<0,50	352,7
 benzofenona-3	1,23	3,58	ND	371,10
LAPDES - BZF-1 	2,23	3,06	5,98	354,00
LAPDES - BZF-4 	2,75	2,38	6,62	379,80
LAPDES - BZF-5 	2,69	2,59	6,62	381,05
 Vitamina C	ND	ND	0,08	0

Fonte: dados da pesquisa.

Os compostos foram submetidos a um estudo computacional na tentativa de simular observar o possível perfil de absorvância dos compostos à radiação UV. Trabalhos de (WAHAB; BREDOW; ALIWI, 2008b) demonstram que existe similaridade no perfil de absorvância calculado por métodos computacionais, comparados com resultados obtidos por métodos experimentais. Por meio do uso de ferramentas de modelagem molecular computacional foi possível determinar os pontos críticos na conformação espacial dos compostos propostos neste trabalho (BLAU et al., 2013; TROSSINI et al., 2009) e assim prever a fotodegradação e também nortear o planejamento de novas substâncias promissoras como filtros solares.

As figuras 17 e 18 apresentam a conformação espacial de menor energia dos compostos LAPDESF-BZF-3 e LAPDESF-BZF-4, e os mapas dos orbitais moleculares Highest Occupied Molecular Orbital (HOMO) e Lowest Unoccupied Molecular Orbital (LUMO) e também apresenta o mapa de potencial eletrostático (MEP), o conjunto destes resultados demonstraram a estabilidade estrutural dos compostos pela análise da distribuição eletrônica dos mesmos, o qual a intensidade das cores indicam a maior ou menor densidade de elétrons (azul= menor intensidade; vermelho= maior intensidade)

Composto LAPDESF- BZF-4

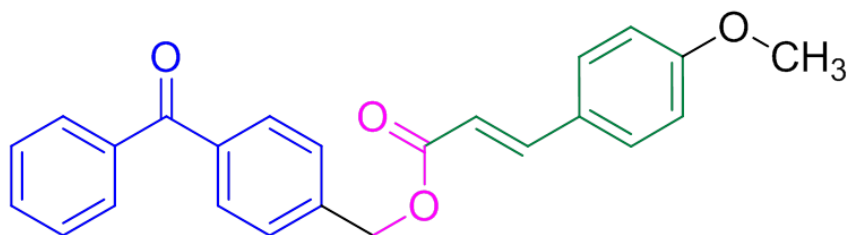
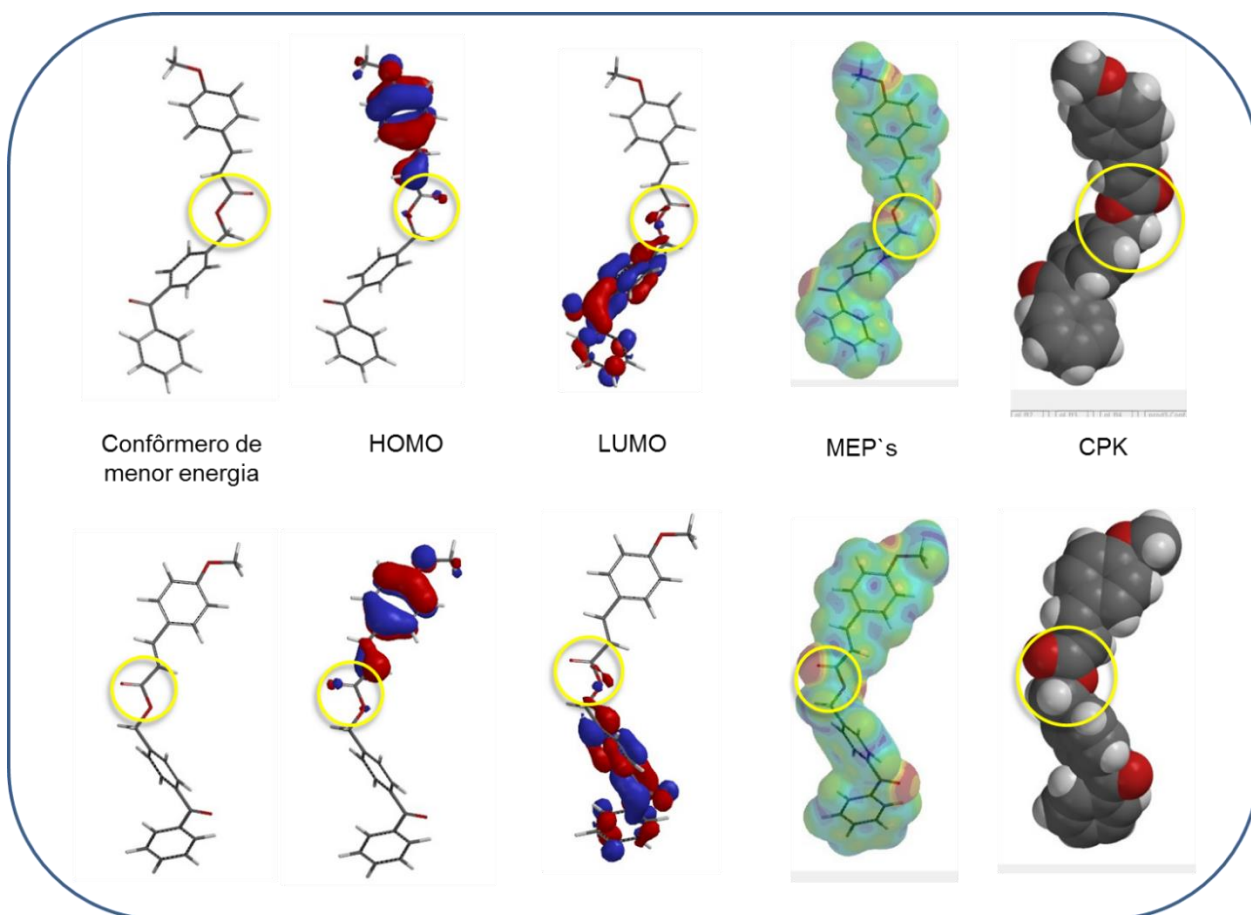


Figura 36: Modelos matemáticos do composto LAPDESF-BZF-4 feito por modelagem molecular. Confômero de menor energia, mapa de HOMO e LUMO respectivamente, em seguida mapa de potencial eletrostático e de densidade eletrônica.



Fonte: dados da pesquisa.

Composto LAPDESF BZF-5

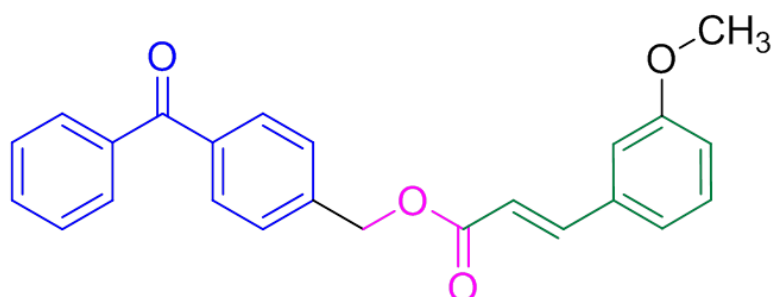
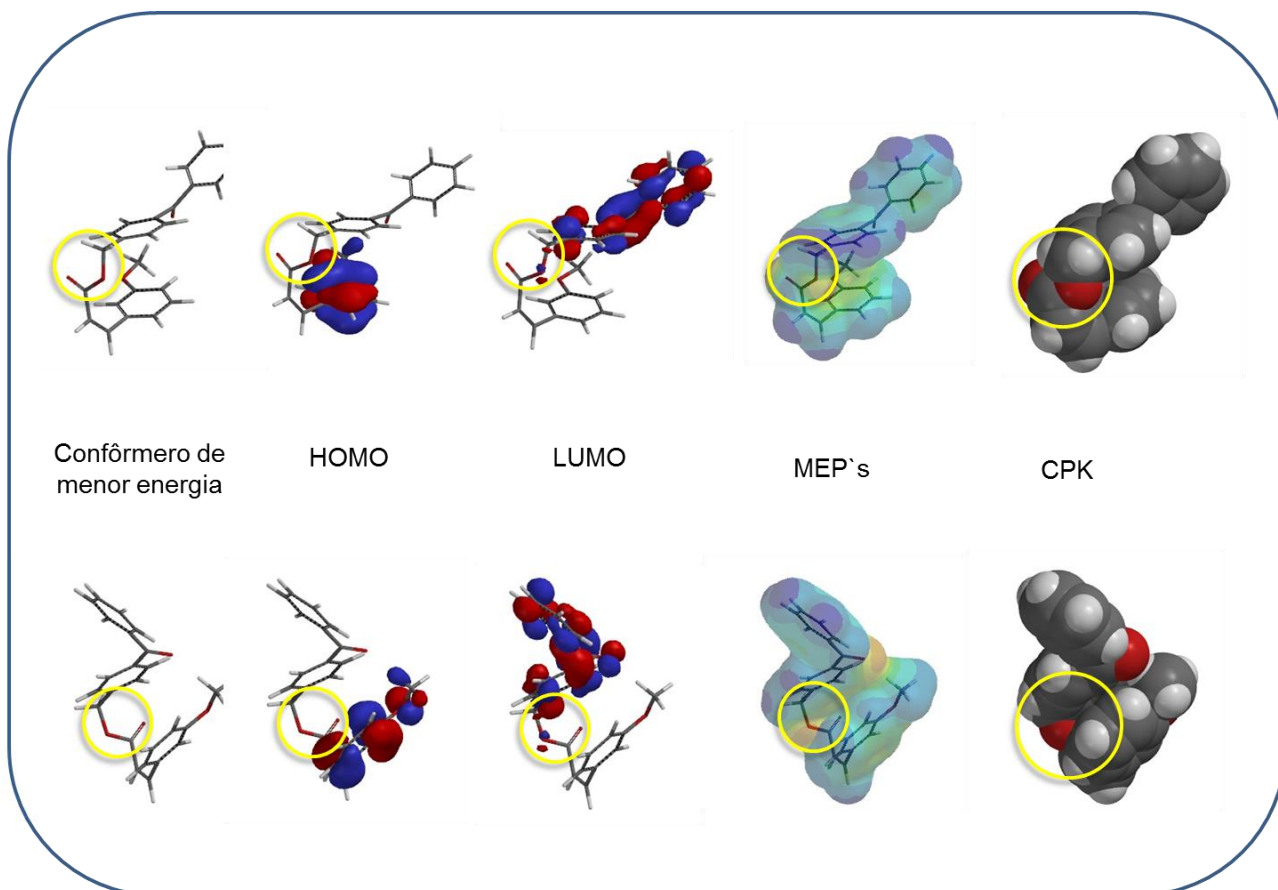


Figura 37: Modelos matemáticos do composto LAPDESF-BZF-5 feito por modelagem molecular. Confôrmoro de menor energia, mapa de HOMO e LUMO respectivamente, em seguida mapa de potencial eletrostático e de densidade eletrônica.



Fonte: dados da pesquisa.

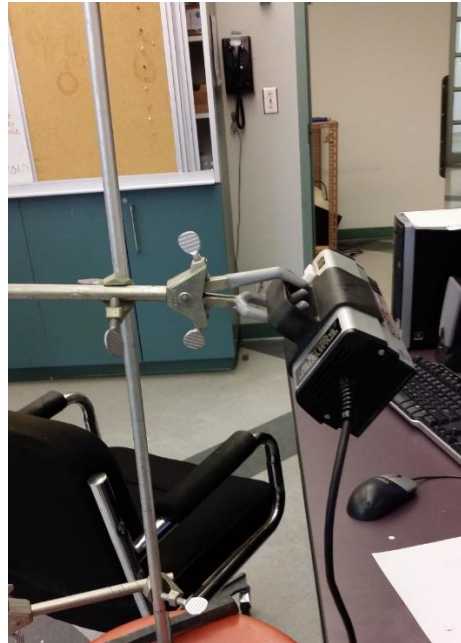
Os resultados apresentados pelo estudo de conformação estrutural dos compostos permite-nos observar que a partir da visualização do mapa de densidade eletrônico (MEP) há uma visível estabilidade eletrônica, com poucas diferenças de cargas de forma geral, contudo ao visualizarmos os mapas de HOMO e LUMO dos compostos percebemos que existem duas regiões distintas na estrutura o que possivelmente auxiliaria na acomodação da energia UV absorvida, desta forma, é possível supor que a estratégia molecular apresenta-se promissora, e que provavelmente os novos compostos propostos apresentem maior estabilidade frente a radiação UV.(SANTANNA, 2009; WAHAB; BREDOW; ALIWI, 2008a, 2008b)

4. Fotodegradação *in vitro* por espectrometria de massas por imagem (DESI)

Para a padronização do método, inicialmente foi utilizado Lâmpada de UVA 320-365 nm com potência de 4 Watts modelo SE-140 dual bulb spectroline CM series, Uvman, UK, em sistema fechado e isolado de luz externa e em um sistema chamado de “real time photodegradation”, o qual as amostras ficavam expostas à radiação UV durante o tempo necessário para aquisição de dados para formação da imagem (em média 130 minutos). Porém, a energia fornecida pela lâmpada às amostras não demonstrou ser eficiente ao ponto de provocar a fotodegradação dos compostos mesmo após 4 horas de exposição, desta forma foi buscada uma outra alternativa como fonte de luz. Foi utilizada uma lâmpada de xenônio conforme ilustrado na figura XX com potência de 40w, na tentativa de induzir a fotodegradação dos compostos, a luz de xenônio foi selecionada por simular o espectro de radiação

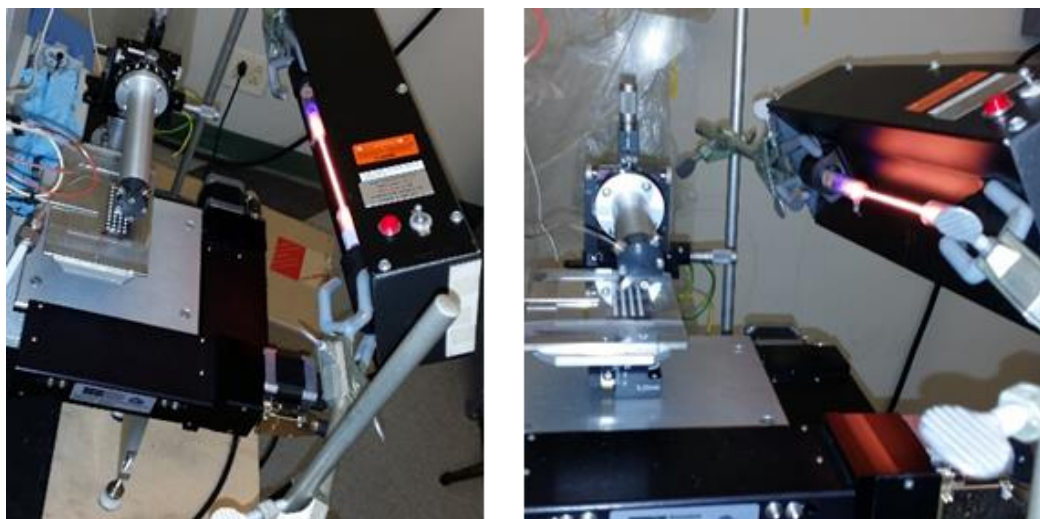
UV solar. (LOWE, 1988; WEINGARTEN; WORTZMAN, [s.d.]; MAS; TAULER; DE JUAN, 2011)

Figura 38: esquema de fotodegradação utilizando-se de lâmpada UVA de 4Watts.



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 39: esquema utilizando lus de xenônio de 40 Watts para induzir fotodegradação



Fonte: dados da pesquisa.

A tentativa com a luz de xenônio demonstrou baixa eficácia para observação de fotodegradação dos padrões, na condição “real time photodegradation”, contudo, apresentou resultados promissores quando foi feita a exposição prévia das amostras à radiação UV em intervalos de tempo controlados, conforme ilustrado na figura 39. O método utilizando-se da lâmpada de xenônio embora tenha demonstrado resultados promissores, não permitiu uma identificação dos possíveis fragmentos dos filtros solares padrão observados, dificultando a validação do método. Estes resultados demonstraram que é possível observar a fotodegradação por espectrometria de massas em atmosfera ambiente, sem a necessidade do uso de um equipamento de Cromatografia Líquida de alta performance acoplado (MAS; TAULER; DE JUAN, 2011; ZHOU et al., 2013).

Os dados obtidos pelos métodos anteriores, conduziu os estudos a uma outra alternativa de fonte de radiação UV, neste sentido foi tentado observar a fotodegradação dos filtros solares utilizando-se de uma câmara de bronzamento artificial Ergoline, utilizando lâmpadas Voltarc GT Series Bronser FR71/HO 100-120 W de potência.

Dentre os métodos utilizados para obter uma fotodegradação forçada o que apresentou melhores os resultados foi o método 3, o qual as amostras foram expostas previamente em decorrência de controle de tempo de exposição e posteriormente submetidas à leitura no espectrômetro de massas e análise das imagens dos íons detectados, pelo programa Biomap Novartis Institute for Biomedical Resources, Basel, Suíça.

De acordo com as análises realizadas, foi possível observar que a utilização do material PTFE, foi o que apresentou os melhores resultados para as possíveis

análises de fotodegradação, pois, demonstrou boa intensidade de íons “pais” dos padrões utilizados conforme mostrado nos espectros representados nas figuras 38 e 40 tanto no método de visualização de íons positivos quanto no método de visualização de íons negativos, o uso de água e da mistura de metanol e água não apresentou condições mínimas para análise do espectro de massas, para o experimento proposto, desta forma só estão expostos os resultados obtidos utilizando MeOH 100% como solvente e o material PTFE como substrato de aplicação das amostras.

Para a tentativa de validação de métodos

Pode-se observar nos espectros obtidos uma alteração no perfil de intensidade dos íons, que apresentaram uma significativa redução dos “íons pais” em decorrência do tempo de exposição à radiação UV, bem como o aparecimento de íons correspondentes aos fragmentos de decomposição dos filtros padrão analisados.

Tabela 8 :tabela com os possíveis íons pais a serem visualizados nos espectros de massa das figuras 39 a 49.

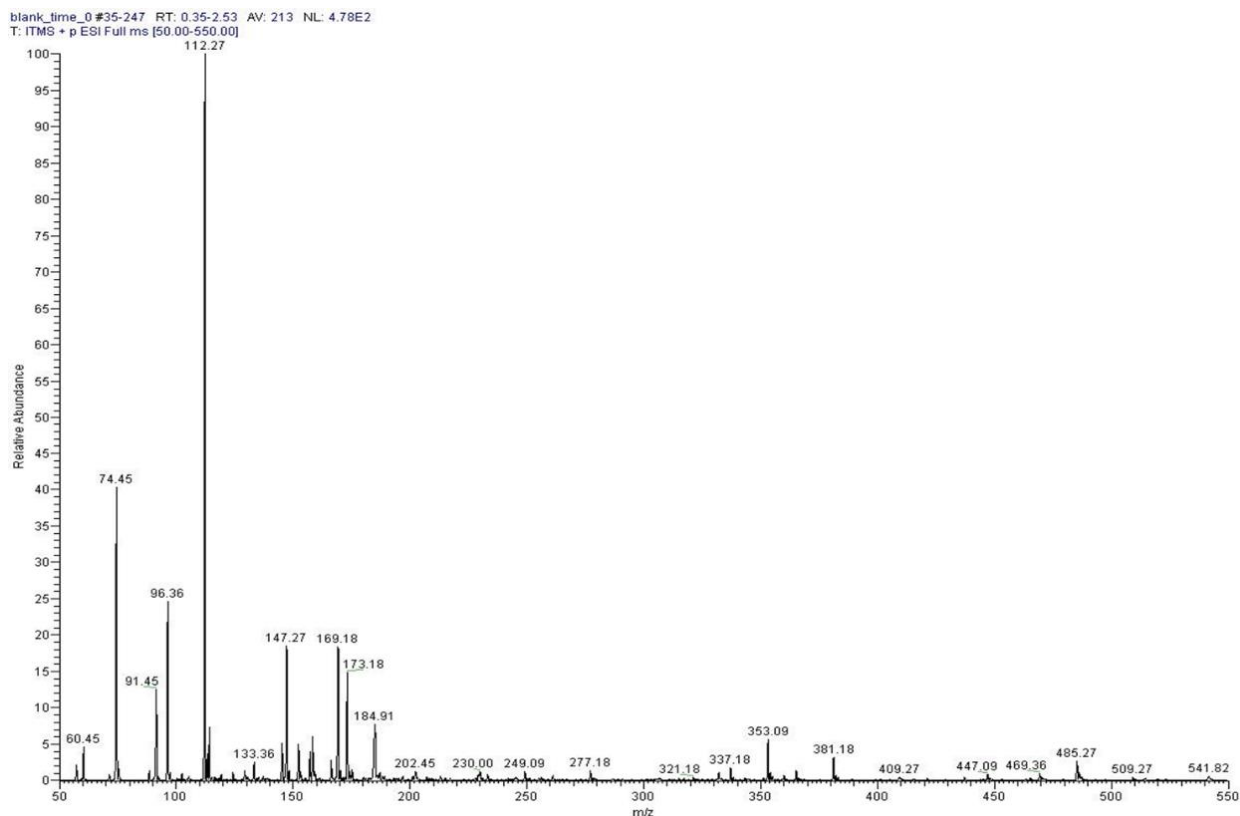
Possíveis íons a serem observados				
nome dos íons	+H⁺	+ NH₄	+ Na⁺	+ K⁺
metoxicinamato de octila	291	307	313	329
avobenzona	311	327	333	349
benzofenona-3	229	245	251	267
4-bromometilbenzofenona	276	292	298	314

Fonte: dados da pesquisa

A figura 40 representa o resultado de espectro de massas dos compostos. Como o equipamento realiza a varredura horizontalmente nas placas

individualmente (contendo um composto/placa), os resultados aparecem em um único espectro. Reescrever para explicar o porquê de um espectro apenas

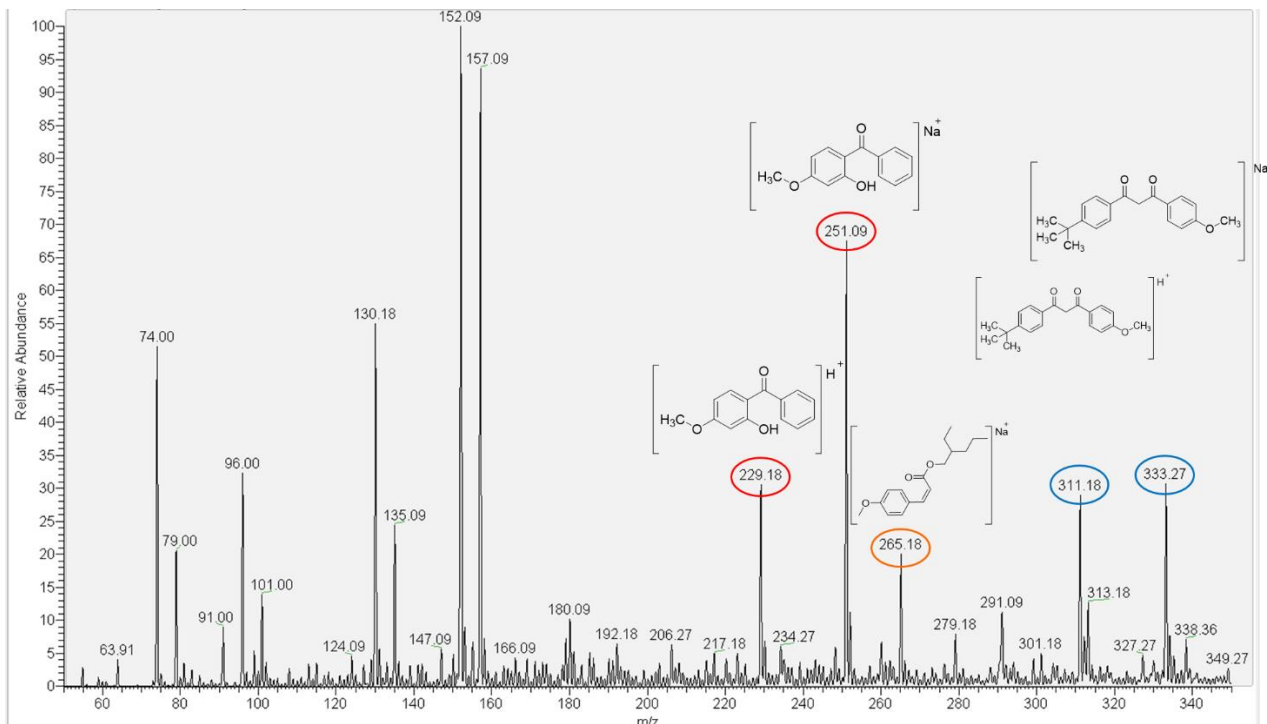
Figura 40: espectro de massas do material PTFE sem substâncias aplicadas a superfície, correspondente método de análise 4.



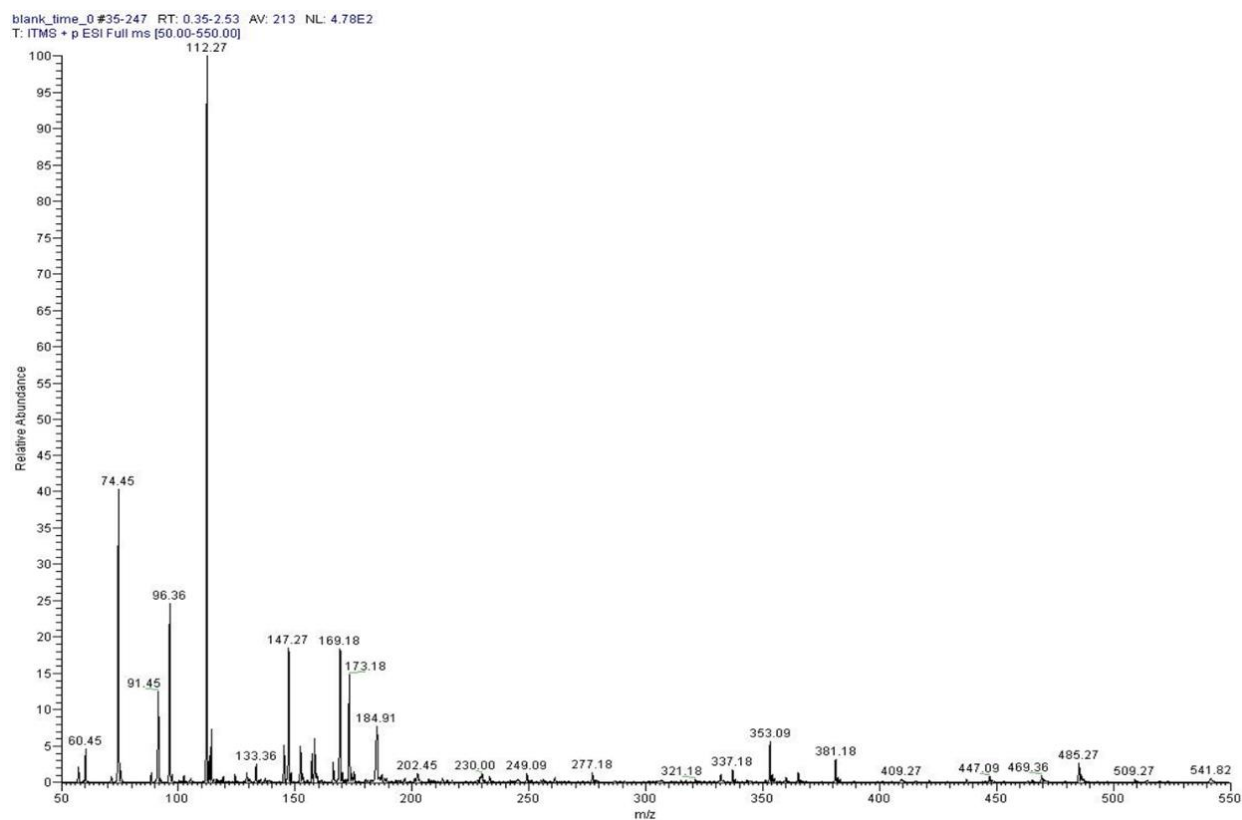
Fonte: dados da pesquisa. Principais íons correspondentes ao material PTFE, utilizado como parâmetro de base (fingerprint) para as análises posteriores em solução de 100% de MeOH.

A figura espectro contendo os picos correspondentes aos íons “pais”, pode-se observar a presença destes íons correspondentes aos dos compostos padrão analisados na condição de tempo 0’ na situação inicial, o qual as amostras não foram expostas a radiação UV.

Figura 41: Espectro de massas dos compostos benzofenona-3, metoxicinamato de octila e avobenzona, no tempo zero, antes da submissão à radiação UV.

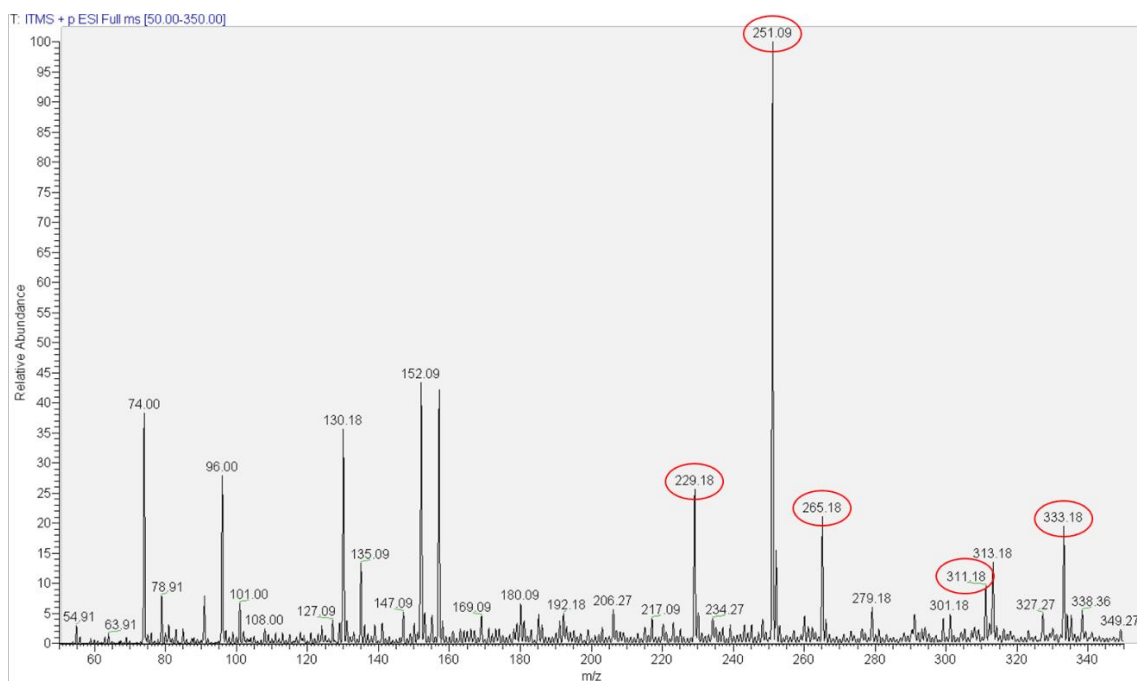


Fonte: dados da pesquisa. Em vermelho possíveis íons da benzofenona-3 protonada m/z 229,18 e com formando um aduto de sódio m/z 265,18, o destaque com m/z 265,18, corresponde ao metoxicinamato de octila também formando um aduto de sódio e por fim os destaques circutados em azul correspondentes aos íons da avobenzona protonada m/z 311,18 e formando aduto com sódio m/z 333,27.

Figura 42: Espectro de massas obtido após 45 min sob efeito da radiação UV

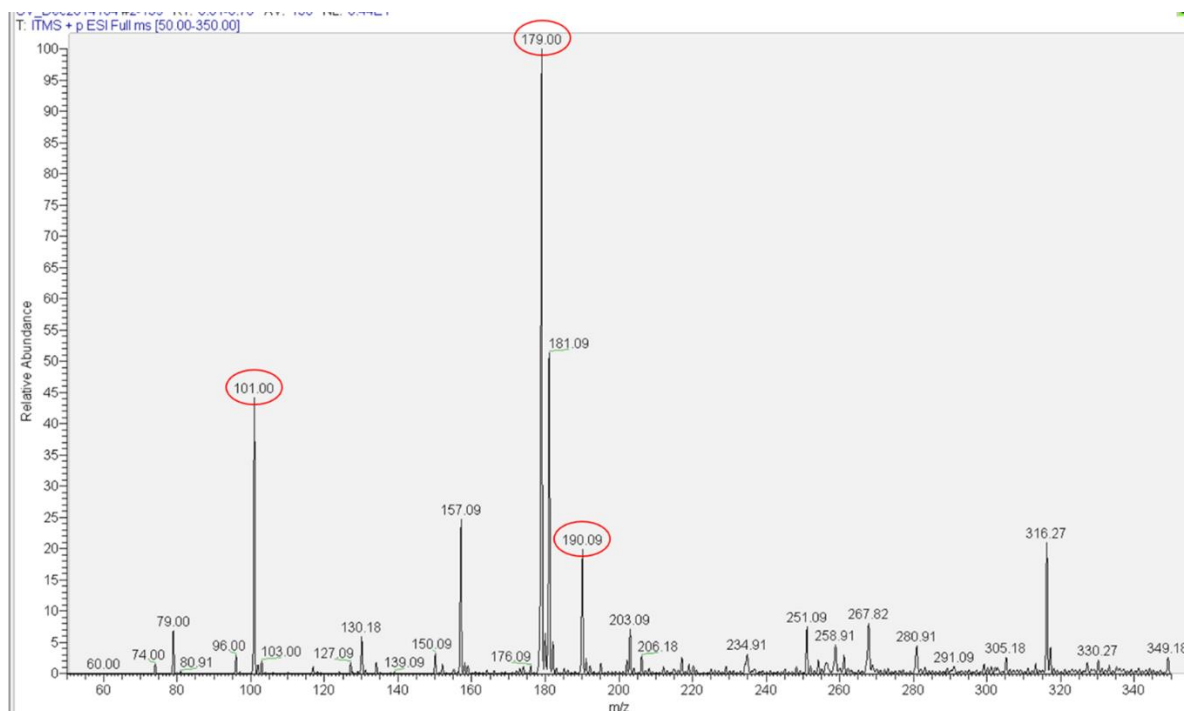
Fonte: dados da pesquisa. Principais íons correspondentes ao material PTFE e solução de 100% de MeOH.

Figura 43: espectro de massas do material PTFE sem substâncias aplicadas a superfície, correspondente método de análise 4.



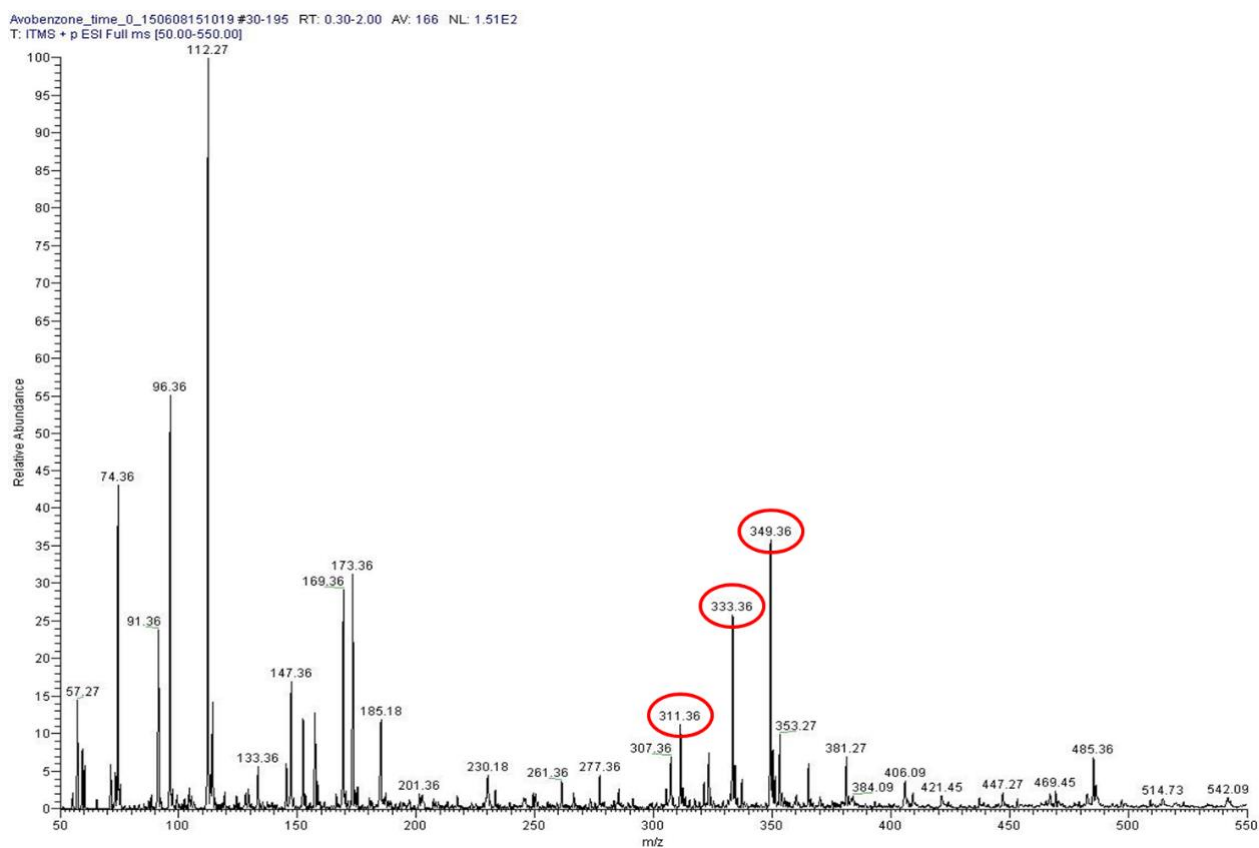
Fonte: dados da pesquisa.

Figura 44: Espectro de massas destacando os íons encontrados na amostra analisada do experimento tentativo 3 no tempo 120'.



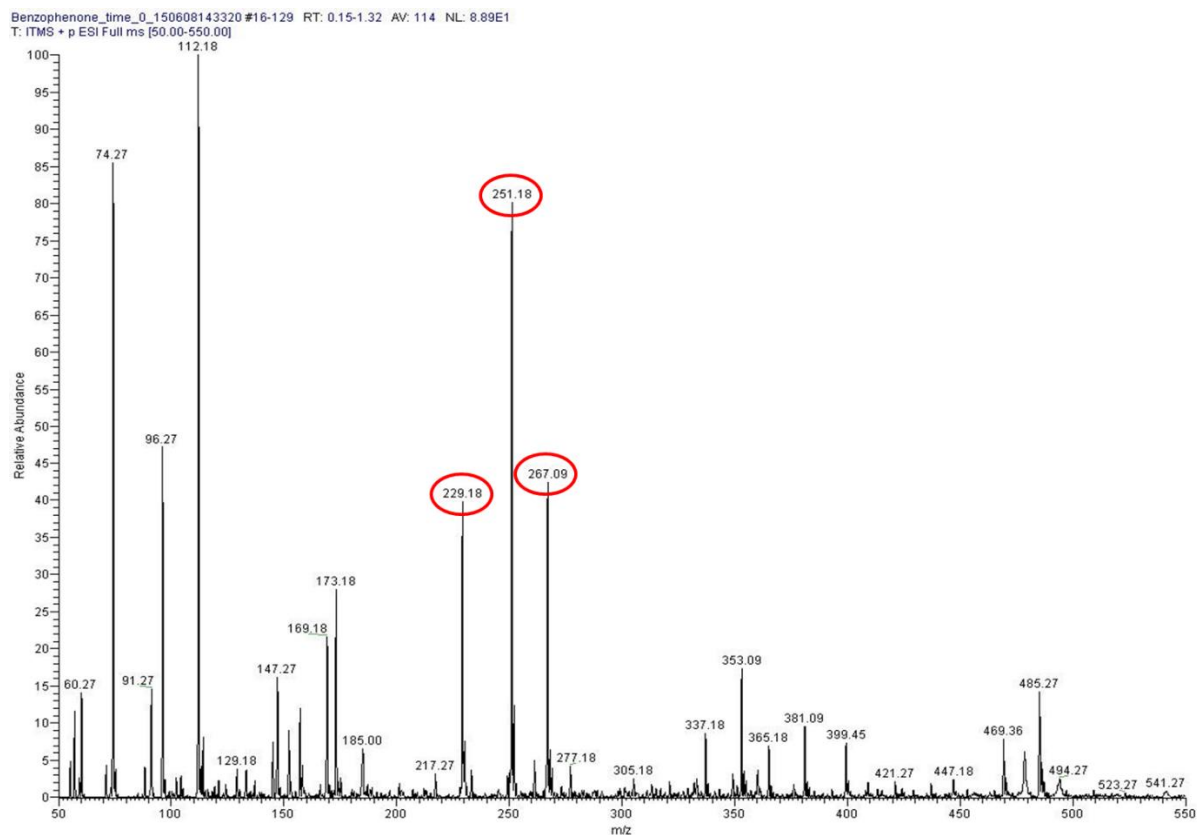
Fonte: dados da pesquisa.

Figura 45: espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4.



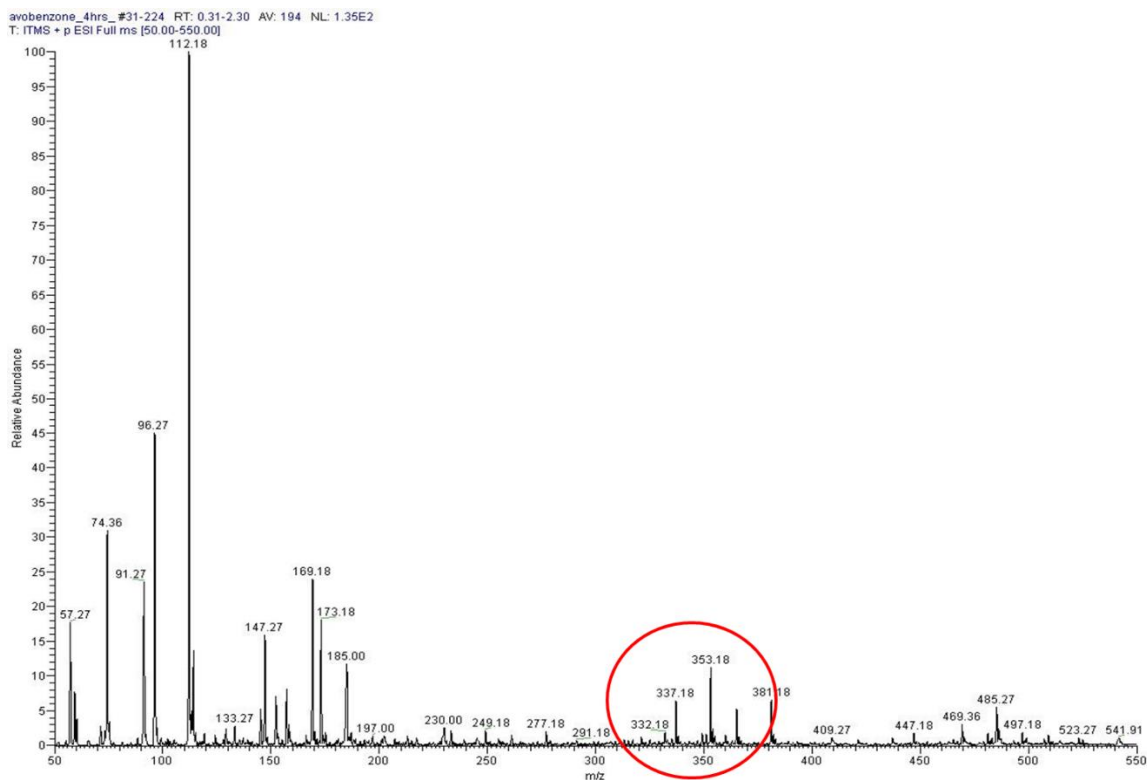
Fonte: dados da pesquisa. Destaque para os íons pais correspondentes a avobenzona protonada em 311,36; acrescida de sódio em 333,36 e acrescida de potássio em 349,36.

Figura 46: espectro de massas do padrão benzofenona-3 no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4



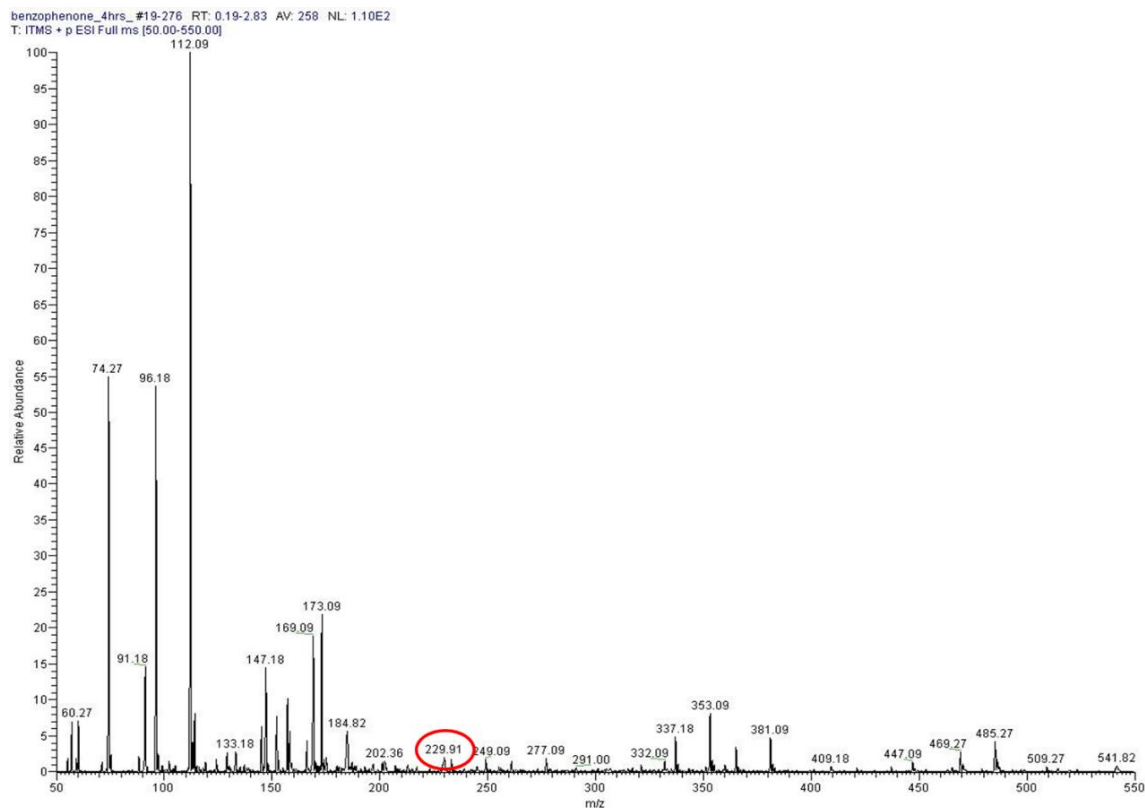
Fonte: dados da pesquisa. Destaque para os íons pais correspondentes a benzofenona-3 protonada em 229,18; acrescida de sódio em 251,18 e acrescida de potássio em 267,09.

Figura 47: espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4



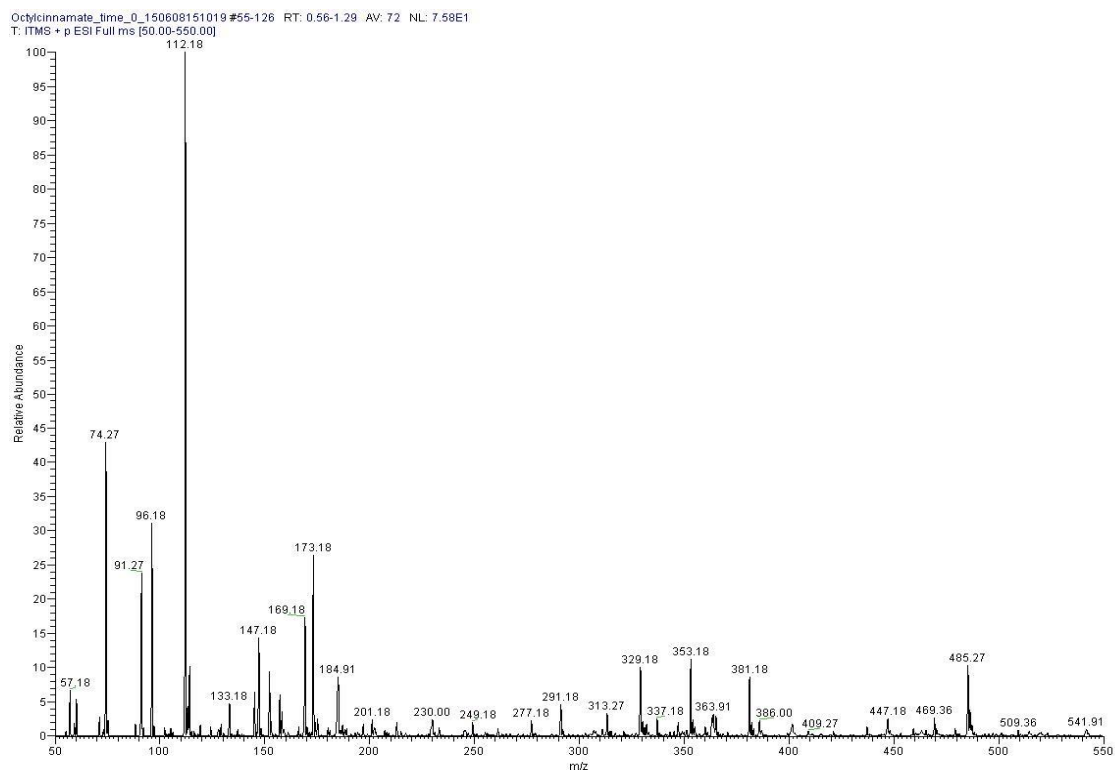
Fonte: dados da pesquisa. Após 120' de exposição pode-se observar a diminuição significativa dos íons pais, contudo sem a visualização dos possíveis fragmentos de fotodegradação.

Figura 48: espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4.



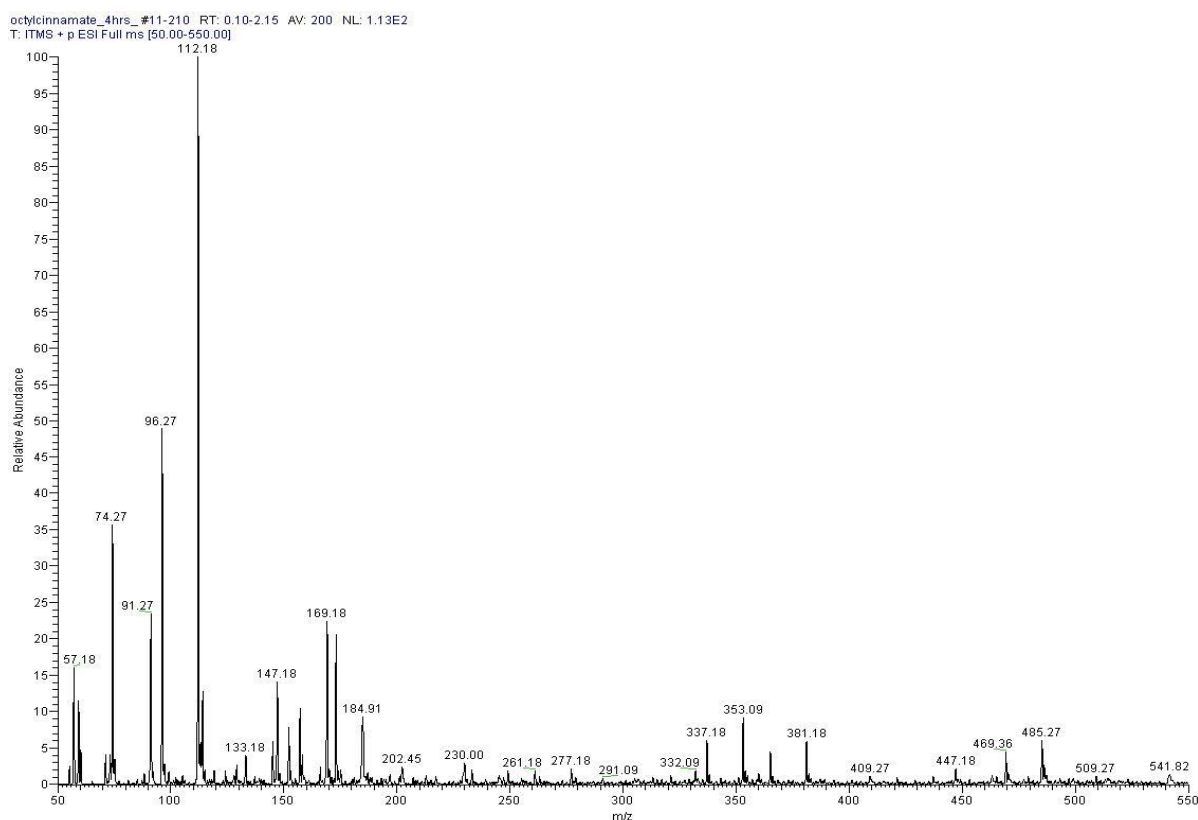
Fonte: dados da pesquisa. Após 120' de exposição pode-se observar a diminuição significativa dos íons pais, contudo sem a visualização dos possíveis fragmentos de fotodegradação.

Figura 49: espectro de massas do padrão metoxicinamato de octila no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4



Fonte: dados da pesquisa. Não houve mudança significativa na observação do espectro deste composto.

Figura 50: espectro de massas do padrão metoxicinamato de octila no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons.



Fonte: dados da pesquisa. Não houve mudança significativa na observação do espectro deste composto.

De acordo com os resultados analisados, pode-se observar a fotodegradação dos produtos nos tempos extremos de 120', o espectro do composto PTFE que serviu de substrato para aplicação das amostras mostrado na figura 42, indica os principais íons do "branco", utilizado como referência para as análises posteriores.

Nos espectros das figuras 39, 40 e 41, pode-se notar a mudança do perfil dos espectros de massas em relação ao tempo de exposição ao mesmo tempo em que se observa a ocorrência de novos íons, referentes aos possíveis produtos de fotodegradação dos compostos avaliados. Neste caso foi utilizado o método do experimento 3 o qual consistia em uma avaliação dos compostos padrão em uma

lâmina de vidro contendo microcírculos de PTFE, os quais as amostras foram aplicadas na quantidade de 0,5µL em concentração de 10mg/mL.

Não foi possível realizar uma análise de massa/massa dos padrões no experimento 3, pois os mesmos estavam aplicados no mesmo substrato o que acarretou na verificação da primeira limitação da técnica para este experimento, conforme se efetuava a leitura de determinada região da lâmina a mesma era “lavada” pelo spray além de formar uma mistura com as linhas subjacentes acarretando em impurezas e dificuldade para seleção dos íons da região analisada. Houve uma tentativa de efetuar a análise de cada composto individualizado, que foi interrompido devido a um acidente ocorrido no laboratório de espectrometria de massas da universidade de York em Toronto-Canadá.

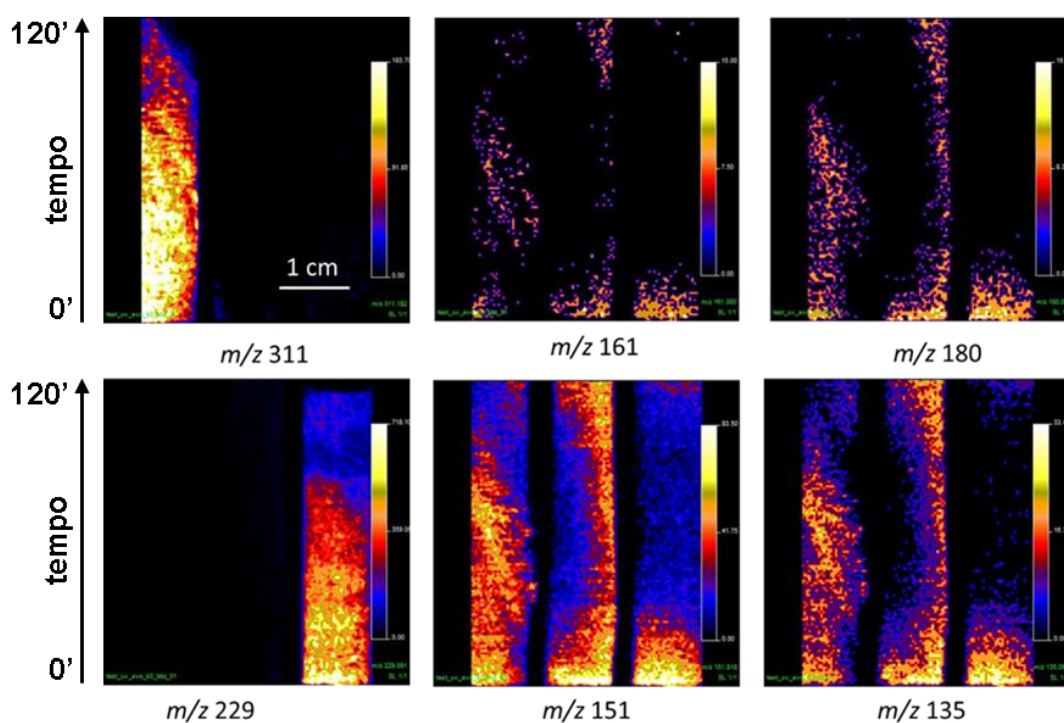
O experimento 4 foi realizado com simuladores solares utilizados para bronzeamento artificial, com o intuito de simular a radiação UV incidente de forma mais incisiva sobre as amostras, os resultados foram obtidos após o período de doutorado sanduíche, desta forma a preparação e envio dos dados ficou a cargo de um estudante de pós-graduação do laboratório que acompanhou todo o experimento inicial.

A análise dos dados obtidos pelo experimento 4 representados nas figuras 43 a 49, indicaram que ocorre fotodegradação dos compostos após 120' de exposição, contudo não se pode observar a formação de íons referentes aos possíveis fragmentos, apresentando uma limitação da técnica.

Para o experimento 2 foi possível observar apenas os íons pais no tempo 0' presentes na figura 42 e de forma similar aos demais experimentos, algumas limitações foram observadas: o tempo de exposição e a fonte de luz não se

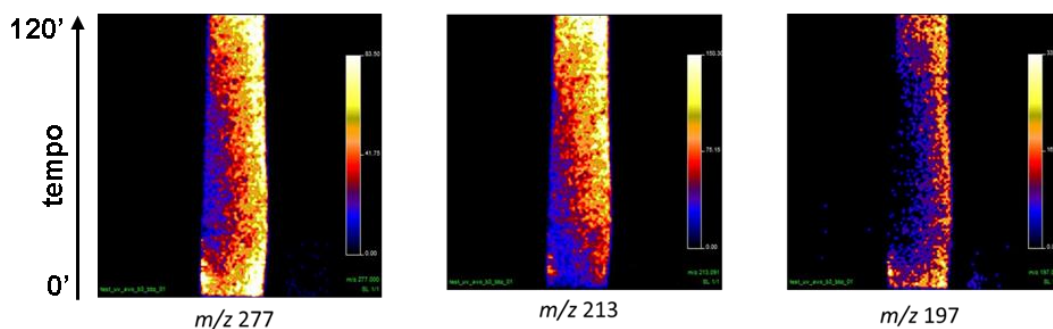
mostraram adequadas, a forma que o equipamento executava a leitura para aquisição de imagens também representou uma séria limitação, acarretando em misturas de compostos observadas nas imagens adquiridas, dificultando a interpretação e visualização da fotodegradação por imagem.

Figura 51: Íons obtidos dos compostos benzofenona-3 (m/z 229 e 151); Avobenzona (m/z 311, 180, 161 e 135) utilizando a técnica de DESI-MS para aquisição das imagens.



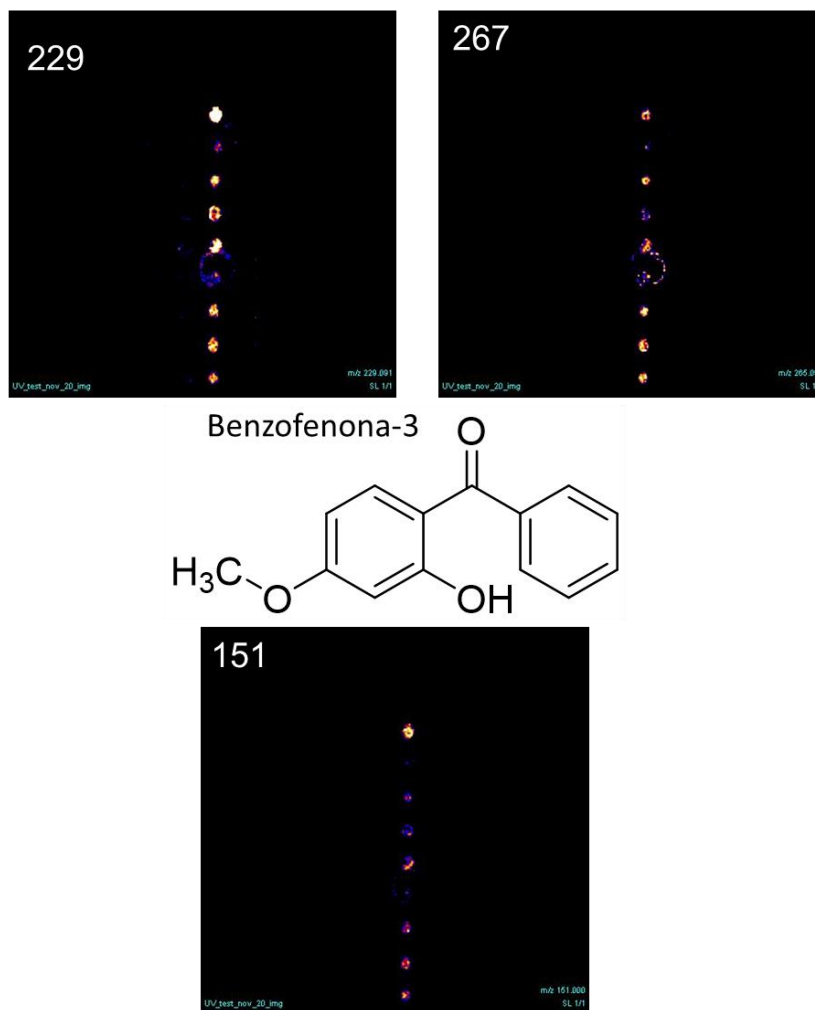
Fonte: dados da pesquisa. Imagens formadas pela intensidade dos íons encontrados e formado pela compilação no programa biomap.. Os íons com m/z 311, 161 e 180 de acordo com as imagens apresentadas correspondem ao composto avobenzona. Os íons m/z 229, 151 e 135, provavelmente oriundos da fragmentação do composto benzofenonas-3.

Figura 52: Íons obtidos do composto 4-brometilbenzofenona (m/z 277, 213 e 197) utilizando a técnica de DESI-MS para aquisição das imagens.



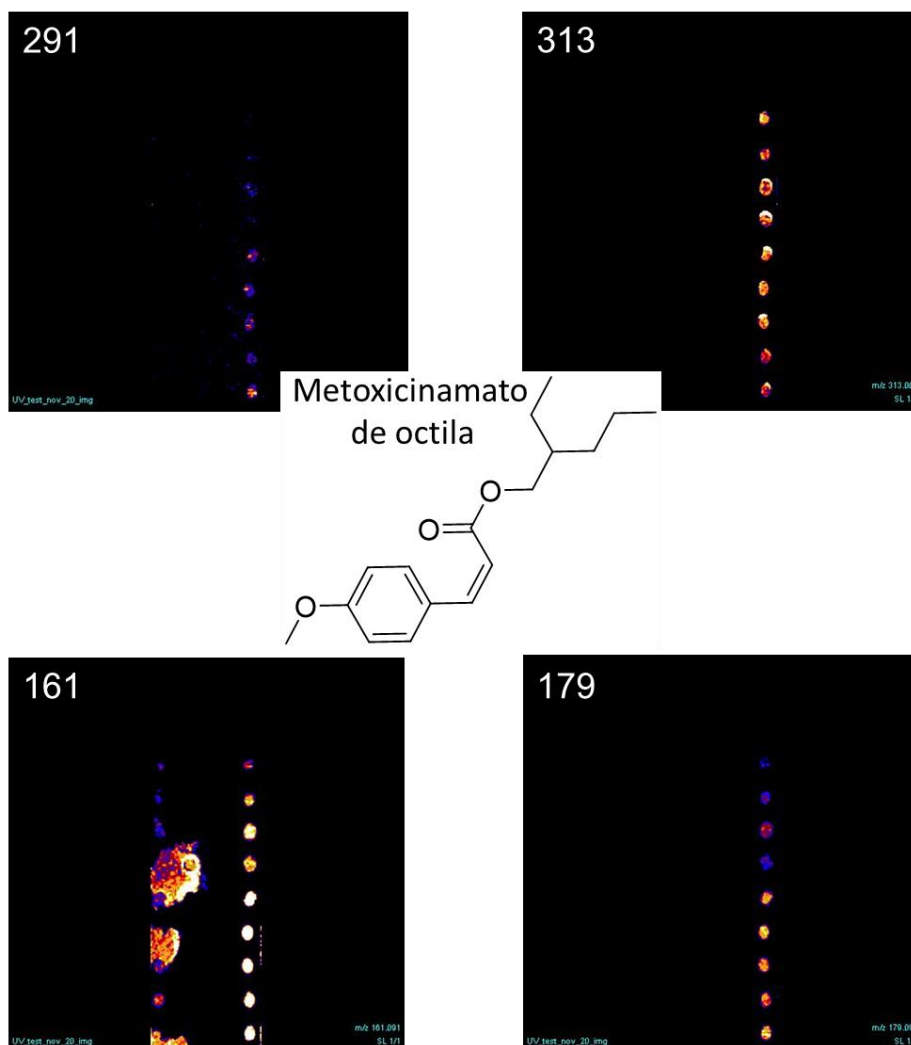
Fonte: dados da pesquisa . Possíveis íons da degradação do composto 4-brometilbenzofenona m/z 277, 213 e 197.

Figura 53: imagens dos fragmentos observados no modo positivo do composto benzofenona-3 utilizando-se do método-3



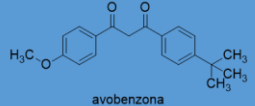
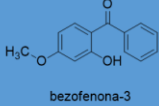
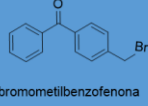
Fonte: dados da pesquisa. Íons encontrados nas imagens obtidas utilizando-se o método – 3 do composto benzofenona-3

Figura 54: íons correspondentes aos possíveis fragmentos do composto metoxicinamato de octila utilizando-se do método -3 de análise.



Fonte: dados da pesquisa. Íons encontrados nas imagens obtidas utilizando-se o método – 3 do composto metoxicinamato de octila.

Tabela 9: As estruturas químicas dos padrões analisados, bem como os possíveis íons dos fragmentos obtidos na aquisição dos espectros de massas dos compostos avaliados.(GAGO-FERRERO et al., 2012)

 avobenzona	 bezofenona-3	 bromometilbenzofenona
Íon do composto m/z 311	Íon do composto m/z 229	Ion do composto m/z 276
m/z 180	m/z 151	m/z 277
m/z 161	-	m/z 213
m/z 135	-	m/z 197

Fonte: dados da pesquisa

Os resultados apresentados nas imagens das figuras 50 e 51, demonstraram que existe a possibilidade de visualização dos íons dos filtros solares (dos compostos padrão), pode-se observar os íons apresentados na tabela 5 que representam os possíveis fragmentos dos filtros solares avobenzona (íons 180; 161 e 135, benzofenona-3 (íon 151) e 4-brometil-benzofenona (íons 213 e 197) (posteriormente substituído por metoxicinamato de octila – um filtro exclusivamente UVB). Em todos os métodos tentativos os principais íons foram observados: os íons parentais, bem como, os potenciais íons de fotodegradação, contudo, não foi possível isolá-los para posterior identificação e confirmação dos fragmentos, este viés, dificultou a padronização e validação dos métodos tentados, comprovando a necessidade de modificações nas condições de análises.

Estes resultados foram posteriormente utilizados para preparação e tentativa de novas aquisições de imagens que não foram bem-sucedidas, pois, em todas as demais aquisições não foi possível isolar os íons de fotodegradação. Da mesma forma também não foi determinada a fotoestabilidade dos padrões. Este conjunto de resultados obtidos, impediu a posterior análise dos compostos obtidos sinteticamente, pois, sem uma metodologia válida, os dados obtidos não apresentariam o critério analítico necessário para comprovação do tempo de fotodegradação dos compostos utilizando-se a técnica de espectrometria de massas por imagem em atmosfera ambiente.

6. Conclusões

Os compostos derivados de ácido cinâmico (ácidos 3 e 4-metoxicinâmicos) apresentaram resultados promissores nos testes de capacidade antioxidante pelo método de DPPH, com IC_{50} em concentrações abaixo de 6,9 mg/ml, comparados ao padrão utilizado vitamina C (< 0,50 mg/ml) e aos reagentes iniciais, os ácidos 3 e 4-metoxicinâmicos (0,50 mg/ml). Com relação à caracterização os dados de RMN bem como os resultados preliminares obtidos por espectrometria de massas demonstraram que a estratégia de obtenção de composto foi correta e que todos os compostos planejados foram obtidos, pois todas as informações dos compostos foram caracterizadas, os principais núcleos de H foram registrados, igualmente a quantidade de átomos de carbono e os respectivos sinais foram identificados. Os resultados obtidos por modelagem molecular demonstraram que a estabilidade dos filtros quanto à fotodegradação pode estar relacionada à quantidade de ligações π em ressonância, pois pela análise dos estudos de superfície eletrônica e da densidade eletrônica, observou-se que os compostos apresentam uma distribuição

eletrônica praticamente homogênea, demonstrando que os compostos são eletronicamente estáveis na conformação de menor energia. De maneira similar, a análise dos mapas de HOMO e LUMO de cada composto demonstraram que além da boa distribuição eletrônica os compostos também apresentam um grande potencial de acomodação de energia nestes orbitais. Para a obtenção dos compostos derivados diretamente do ácido ferúlico, foram observadas severas dificuldades em se formar a ligação éster entre o ácido e o álcool das benzofenonas, estes que foram substituídos pelos ácidos 3 e 4 - metoxicinâmicos, da mesma forma o álcool da benzofenona – 3 demonstrou grande dificuldade para reagir, devido em grande parte a isomeria ceto-enólica intramolecular presente na estrutura química da benzofenonas-3. Esta reação apresentou rendimento reacional abaixo de 10%, sendo posteriormente substituída pela 4-hidroximetil-benzofenona, que foi obtida da bromometil-benzofenona. Este conjunto de fatores foi crucial para a substituição dos compostos utilizados nas rotas sintéticas apresentadas na qualificação de doutoramento, da mesma forma que foram importantes para definir e nortear o trabalho para a metodologia final utilizada.

A partir das análises tentativas de espectrometria de massas, foi possível concluir que os compostos apresentaram relativa estabilidade por até 30 minutos, não demonstrando alteração nos espectros apresentados, contudo os dados não foram conclusivos, pois, pela técnica de DESI-MS utilizada só se pode inferir a respeito da concentração de íons detectados e não da quantidade exata, sendo assim, a técnica permitiu avaliar qualitativamente a fotodegradação, contudo não foi possível identificar os fragmentos formados após a incidência da radiação UV sobre os compostos, pois, não foi possível isolar os íons encontrados inicialmente nos espectros dado que dificultou a validação dos métodos. Dentre as tentativas de

análises realizadas, o material utilizado como substrato para aplicação das análises que apresentou as melhores condições de análises foi o PTFE em combinação com o solvente metanol (100%) para identificação dos compostos em modo de visualização do íons positivos que apresentou boa intensidade dos íons dos fragmentos prováveis esperados, como mostrado nas figuras 50 e 51 formando as imagens visualizadas, contudo cabe a ressalva de que o método de análise DESI-MS não foi conclusivo para o teste de fotodegradação demonstrando algumas limitações para aquisição das imagens planejadas posteriormente, desta forma, a espectrometria de massas foi importante apenas para observar a possível fotodegradação dos compostos padrões, sem contudo obter a validação dos métodos tentados, sendo assim, os compostos sintetizados não foram avaliados. Importante ressaltar que o professor Dr. Demian IFA colaborador do estágio sanduíche orientou e auxiliou o trabalho e as tentativas de análise que inicialmente se mostraram simples, mas, com o desenvolvimento do trabalho ficaram evidentes as dificuldades em determinar as condições ideais para análise. Por fim foram utilizados os espectros totais adquiridos nos intervalos de tempos regulares, onde foi possível observar a ocorrência de íons importantes dos fragmentos dos compostos padrão analisados, sem a aquisição das imagens para localização exata dos íons no substrato e mesmo estes dados não foram suficientes para determinar uma metodologia de trabalho de avaliação de fotodegradação ideal

Desta forma, pode-se concluir que de acordo com os resultados apresentados, os compostos obtidos demonstraram que a nova série de compostos LAPDESF – BZF, é bastante promissora, embora os compostos não tenham demonstrado atividade superior aos compostos padrão, a nova série LAPDESF-BZF manteve tanto a atividade fotoprotetora quanto a atividade antioxidante, apresentando um

incremento de absorvância na região do UVA, além de apresentar uma perspectiva positiva quanto ao teste de fotodegradação utilizando a técnica de espectrometria de massas em atmosfera ambiente.

7. Referências bibliográficas:

AGELIS, G.; RESVANI, A.; THEODORE, M. M. Towards non-peptide ANG II AT1 receptor antagonists based on urocanic acid : rational design , synthesis and biological evaluation. p. 411–420, 2011.

AMARO-ORTIZ, A.; YAN, B.; D’ORAZIO, J. A. Ultraviolet radiation, aging and the skin: Prevention of damage by topical cAMP manipulation. **Molecules**, v. 19, n. 5, p. 6202–6219, 2014.

ARMSTRONG, B. K.; KRICKER, A. The epidemiology of UV induced skin cancer. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 63, n. 1-3, p. 8–18, 2001.

AWAD, H.; KHAMIS, M. M.; EL-ANEED, A. Mass Spectrometry, Review of the Basics: Ionization. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 50, n. 2, p. 158–175, 2014.

BAKOS, L. et al. Sunburn, sunscreens, and phenotypes: some risk factors for cutaneous melanoma in southern Brazil. **International journal of dermatology**, v. 41, n. 9, p. 557–62, set. 2002.

BAKOS, L. et al. European ancestry and cutaneous melanoma in Southern Brazil. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, v. 23, n. 3, p. 304–7, mar. 2009.

BERNERD, F. et al. The sun protection factor (SPF) inadequately defines broad

spectrum photoprotection: demonstration using skin reconstructed in vitro exposed to UVA, UVB or UV-solar simulated radiation. **European journal of dermatology : EJD**, v. 13, n. 3, p. 242–9, 2003.

BLAU, L. **Obtenção de nanoanticorpos e síntese de compostos antichagásicos derivados de tiossemicarbazona**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2009.

BLAU, L. et al. European Journal of Medicinal Chemistry Design , synthesis and biological evaluation of new aryl thiosemicarbazone as antichagasic candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 67, p. 142–151, 2013.

BODZON-KULAKOWSKA, A. et al. Desorption electrospray ionisation (DESI) for beginners--how to adjust settings for tissue imaging. **Rapid communications in mass spectrometry : RCM**, v. 28, n. 1, p. 1–9, 2014.

BORGES, E. K. E. Protetores Solares. **RBM Revista Brasileira de Medicina**, v. 68, n. especial Dermatologia e cosmiatria 4, p. 4 –18, 2014.

BRATKOVICS, S.; SAPOZHNIKOVA, Y. Determination of seven commonly used organic UV filters in fresh and saline waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Methods**, v. 3, n. 12, p. 2943, 2011.

BRENNER, M.; HEARING, V. J. The protective role of melanin against UV damage in human skin. **Photochemistry and Photobiology**, v. 84, n. 3, p. 539–549, 2008.

CADET, J.; DOUKI, T.; RAVANAT, J. Oxidatively Generated Damage to DNA and Biomarkers. **photochemistry and photobiology**, v. 3, n. 25, p. 140–155, 2015.

CASTILHO, I. G.; SOUSA, M. A A; LEITE, R. M. S. Fotoexposição e fatores de risco para câncer da pele: Uma avaliação de hábitos e conhecimentos entre estudantes universitários. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 2, p. 173–178, 2010.

CHO, S. et al. Differential effects of low-dose and high-dose beta-carotene supplementation on the signs of photoaging and type I procollagen gene expression in human skin in vivo. **Dermatology (Basel, Switzerland)**, v. 221, n. 2, p. 160–71, 2010.

COLE, C. Sunscreen protection i the ultraviolet A region: how to measure the effectiveness. **PhotoDermatol. Photoimmunol. PhotoMed.**, v. 17, p. 2–10, 2001.

COLIPA, T. E. C. A. **Colipa Guidelines on the Product Information File**. [s.l.: s.n.].

COOKS, R. G. et al. Ambient Mass Spectrometry. **Science**, v. 311, n. 5767, p. 1566–1570, 2006.

COUTEAU, C. et al. Study of the photostability of 18 sunscreens in creams by measuring the SPF in vitro. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 44, n. 1, p. 270–273, 9 maio 2007.

CROVARA, A. et al. On the assessment of photostability of sunscreens exposed to UVA irradiation : From glass plates to pig / human skin , which is best ? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 427, n. 2, p. 217–223, 2012.

DAMIANI, E. et al. Changes in ultraviolet absorbance and hence in protective efficacy against lipid peroxidation of organic sunscreens after UVA irradiation. **Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology**, v. 82, n. 3, p. 204–13, 1 mar. 2006.

DIFFEY, B. L.; FARR, P. M. Tanning with UVB or UVA: an appraisal of risks. **Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology**, v. 8, p. 219–223, 1991.

DINKOVA-KOSTOVA, A. T. et al. Protection against UV-light-induced skin carcinogenesis in SKH-1 high-risk mice by sulforaphane-containing broccoli sprout extracts. **Cancer letters**, v. 240, n. 2, p. 243–52, 2006.

DONDI, D.; ALBINI, A.; SERPONE, N. Interactions between different solar UVB/UVA filters contained in commercial suncreams and consequent loss of UV protection. **Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology**, v. 5, n. 9, p. 835–843, 2006.

ETTMAYER, P. et al. Lessons Learned from Marketed and Investigational Prodrugs. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 2393–2404, 2004.

FERNANDEZ, C. et al. Benzophenone-3: rapid prediction and evaluation using non-invasive methods of in vivo human penetration. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 28, n. 1, p. 57–63, 2002.

FINLAY-JONES, J. J.; HART, P. H. Photoprotection: sunscreens and the immunomodulatory effects of UV radiation. **Mutation Research**, v. 422, p. 155–159, 1998.

FISHER, G. J. et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. **Archives of dermatology**, v. 138, n. 11, p. 1462–1470, 2002.

FORESTIER, S. Rationale for sunscreen development. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, n. 5 SUPPL. 2, p. 133–138, 2008.

FOURTANIER, A.; MOYAL, D.; SEITE, S. UVA filters in sun-protection products: regulatory and biological aspects. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 11, n. 1, p. 81, 2012.

GAGO-FERRERO, P. et al. Science of the Total Environment Evaluation of fungal- and photo-degradation as potential treatments for the removal of sunscreens BP3 and BP1. **Science of the Total Environment**, v. 427-428, p. 355–363, 2012.

GAO, Q.; GARCIA-PICHEL, F. Microbial ultraviolet sunscreens. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 11, p. 791–802, 2011.

GASPARRO, F. P.; MITCHNICK, M.; NASH, J. F. A review of sunscreen safety and efficacy. **Photochemistry and photobiology**, v. 68, n. 3, p. 243–256, 1998.

GODIC, A. et al. The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, 2014.

GONZÁLEZ, S.; FERNÁNDEZ-LORENTE, M.; GILABERTE-CALZADA, Y. The latest on skin photoprotection. **Clinics in dermatology**, v. 26, p. 614–626, 2008.

GORDON, J. R. S.; BRIEVA, J. C. Unilateral Dermatoheliosis. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 16, p. e25, 2012.

GUARATINI, T.; MEDEIROS, M. H. G.; COLEPICOLA, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: Uso e avaliação de sua eficácia. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 206–213, 2007.

GURISH, M. F. et al. The Effect of Various Sunscreen Agents on Skin Damage and the Induction of Tumor Susceptibility in Mice Subjected to Ultraviolet Irradiation. **The Journal of investigative dermatology**, v. 76, n. 4, p. 246–251, 1981.

HALLIWELL, B. et al. **The characterization of antioxidants** *Food and Chemical Toxicology*, 1995.

HANSON, K. M.; GRATTON, E.; BARDEEN, C. J. Sunscreen enhancement of UV-induced reactive oxygen species in the skin. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 8, p. 1205–1212, 2006.

HAYWOOD, R. et al. Sunscreens inadequately protect against ultraviolet-A-induced free radicals in skin: implications for skin aging and melanoma? **The Journal of investigative dermatology**, v. 121, n. 4, p. 862–8, 2003.

HIMMELSBACH, M.; WASER, M.; KLAMPFL, C. W. Thin layer chromatography-spray mass spectrometry: a method for easy identification of synthesis products and UV filters from TLC aluminum foils. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 406, n. 15, p. 3647–56, jun. 2014.

HOJEROVÁ, J.; MEDOVČÍKOVÁ, A.; MIKULA, M. Photoprotective efficacy and photostability of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, n. 1-2, p. 27–38, 2011.

IFA, D. R. et al. Development of capabilities for imaging mass spectrometry under ambient conditions with desorption electrospray ionization (DESI). **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 259, n. 1-3, p. 8–15, jan. 2007.

IFA, D. R. et al. Latest Fingerprint Chemical Imaging by Mass Spectrometry. **science**, v. 321, n. August, p. 805, 2008.

JI, Z.; FLAHERTY, K. T.; TSAO, H. Molecular Aspects of Medicine Molecular therapeutic approaches to melanoma. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 31, n. 2, p. 194–204, 2010.

KANG, S. et al. Topical N-acetyl cysteine and genistein prevent ultraviolet-light-induced signaling that leads to photoaging in human skin in vivo. **The Journal of investigative dermatology**, v. 120, n. 5, p. 835–41, 2003.

KOHL, E. et al. Skin ageing. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 25, n. 8, p. 873–884, 2011.

KOSHY, J. C. et al. Sunscreens: Evolving aspects of sun protection. **Journal of Pediatric Health Care**, v. 24, n. 5, p. 343–346, 2010.

KURDYKOWSKI, S. et al. Ultraviolet-B irradiation induces differential regulations of

hyaluronidase expression and activity in normal human keratinocytes.

Photochemistry and Photobiology, v. 87, n. 5, p. 1105–1112, 2011.

LANEKOFF, I. et al. Matrix effects in biological mass spectrometry imaging: identification and compensation. **The Analyst**, v. 139, n. 14, p. 33–35, 2014.

LANGHALS, H.; FUCHS, K. Sonnenstrahlung, Hautreaktionen und Sonnenschutz: Chemie am Strand. **Chemie in unserer Zeit**, v. 38, n. 2, p. 98–112, abr. 2004.

LAZAR, G. M. et al. Sunscreens' photochemical behaviour: in vivo evaluation by the stripping method. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 19, n. 2, p. 87–101, 1997.

LÉVÊQUE, N. et al. Evaluation of a sunscreen photoprotective effect by ascorbic acid assessment in human dermis using microdialysis and gas chromatography mass spectrometry. **Experimental Dermatology**, v. 14, n. 3, p. 176–181, 2005.

LHIAUBET-VALLET, V. et al. Filter-filter interactions. Photostabilization, triplet quenching and reactivity with singlet oxygen. **Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology**, v. 9, n. 4, p. 552–558, 2010.

LOWE, N. J.; WEINGARTEN, D.; WORTZMAN, M. Sunscreens and phototesting. **Clinics in dermatology**, v. 6, p. 40–49, [s.d.].

MAGDUM, A. et al. Sun protection e Do we know enough ? **British Journal of Plastic Surgery**, v. 44, p. 1–6, 2012.

MAHÉ, E. et al. Are sunscreens luxury products? **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 65, n. 3, p. e73–e79, 2011.

MARESCA, V.; FLORI, E.; PICARDO, M. Skin Phototype: a new perspective. **Pigment Cell & Melanoma Research**, p. n/a–n/a, 2015.

MAS, S.; TAULER, R.; DE JUAN, A. Chromatographic and spectroscopic data fusion analysis for interpretation of photodegradation processes. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 51, p. 9260–9268, 2011.

MASNEC, I. S.; PODUJE, S. Photoaging. **Coll. Antropol.**, v. 32, n. Suppl, 2, p. 177–180, 2008.

MCVEAN, M.; LIEBLER, D. C. Inhibition of UVB induced DNA photodamage in mouse epidermis by topically applied ??-tocopherol. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 8, p. 1617–1622, 1997.

MITCHELL, D.; FERNANDEZ, A. The photobiology of melanocytes modulates the impact of UVA on sunlight-induced melanoma. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 11, n. 1, p. 69, 2012.

MONTAGNER, S.; COSTA, A. Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 263–269, 2009.

MOURET, S; FORESTIER, A. AND; T., D. The specificity of UVA-induced DNA damage in human melanocytes. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v.

11, p. 155–162, 2012.

NASH, J. F.; TANNER, P. R. Relevance of UV filter/sunscreen product photostability to human safety. **Photodermatology, photoimmunology & photomedicine**, v. 30, n. 2-3, p. 88–95, 2014.

NASH, J. F.; TANNER, P. R.; MATTS, P. J. Ultraviolet a radiation: Testing and labeling for sunscreen products. **Dermatologic Clinics**, v. 24, n. 1, p. 63–74, 2006.

NOHYNEK, G. J.; SCHAEFER, H. Benefit and risk of organic ultraviolet filters. **Regulatory toxicology and pharmacology : RTP**, v. 33, n. 3, p. 285–99, 2001.

OSTERWALDER, U.; HERZOG, B. Sun protection factors: world wide confusion. **The British journal of dermatology**, v. 161 Suppl , p. 13–24, nov. 2009.

OSTERWALDER, U.; HERZOG, B. The long way towards the ideal sunscreen-- where we stand and what still needs to be done. **Photochemical & photobiological sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology**, v. 9, n. 4, p. 470–481, 2010.

PFEIFER, G. P.; BESARATINIA, A. **UV wavelength-dependent DNA damage and human non-melanoma and melanoma skin cancer** *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2012.

RAMIEN, M. L.; WONG, A.; KEYSTONE, J. S. Severe refractory erythema nodosum leprosum successfully treated with the tumor necrosis factor inhibitor etanercept. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 52, n. 5, p. e133–5, 2011.

RIBEIRO, R. I. M. DE A. et al. Expressão de metaloproteinases de matriz e de seus inibidores teciduais em carcinomas basocelulares. **J. Bras. Patol. Med. Lab**, v. 44, n. 2, p. 115–121, 2008.

RIJKEN, F.; BRUIJNZEEL-KOOMEN, C. Photoaged Skin : The Role of Neutrophils , Preventive Measures , and Potential Pharmacological Targets. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 89, n. 1, p. 120–124, 2009.

RIJNKELS, J. M. et al. Photoprotection by antioxidants against UVB-radiation-induced damage in pig skin organ culture. **Radiation research**, v. 159, n. 2, p. 210–7, 2003.

RUBAKHIN, S. S. et al. Imaging mass spectrometry : fundamentals and applications to drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 10, n. 12, p. 823–837, 2005.

SAMBANDAN, D. R.; RATNER, D. Sunscreens: An overview and update. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 64, n. 4, p. 748–758, 2011.

SANTANNA, C. M. R. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos : Uma introdução Resumo Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos : Uma introdução. **Rev. Virtual Quim.**, v. 1, n. 1, p. 49–57, 2009.

SCHAUDER, S.; IPPEN, H. Contact and photocontact sensitivity to sunscreens. Review of a 15-year experience and of the literature. **Contact dermatitis**, v. 37, p.

221–232, 1997.

SEITÉ, S.; FOURTANIER, A. M. A. The benefit of daily photoprotection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, p. 160–166, 2008.

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

SOLOVCHENKO, A. E.; MERZLYAK, M. N. Screening of visible and UV radiation as a photoprotective mechanism in plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 55, n. 6, p. 719–737, 31 out. 2008.

STIEFEL, C.; SCHWACK, W. Photoprotection in changing times - UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 37, p. 2–30, 2015.

SVOBODOVÁ, A.; PSOTOVÁ, J.; WALTEROVÁ, D. Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia**, v. 147, n. 2, p. 137–145, 2003.

TAKÁTS, Z.; WISEMAN, J. M.; COOKS, R. G. Ambient mass spectrometry using desorption electrospray ionization (DESI): instrumentation, mechanisms and applications in forensics, chemistry, and biology. **Journal of mass spectrometry : JMS**, v. 40, n. 10, p. 1261–75, out. 2005.

TANG, W.; BHUSHAN, B. Adhesion, friction and wear characterization of skin and skin cream using atomic force microscope. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 76, n. 1, p. 1–15, 2010.

TIWARI, S.; CHAND MISHRA, P. Urocanic acid as an efficient hydroxyl radical scavenger: A quantum theoretical study. **Journal of Molecular Modeling**, v. 17, n. 1, p. 59–72, 2011.

TROSSINI, G. H. G. et al. **Journal of Molecular Graphics and Modelling Quantitative structure** – activity relationships for a series of inhibitors of cruzain from *Trypanosoma cruzi* : Molecular modeling , CoMFA and CoMSIA studies. v. 28, p. 3–11, 2009.

TROSSINI, G. H. G. et al. Cruzain inhibition by hydroxymethylnitrofurazone and nitrofurazone: investigation of a new target in *Trypanosoma cruzi*. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 25, n. 1, p. 62–7, 2010.

TUCHINDA, C. et al. Novel emerging sunscreen technologies. **Dermatologic clinics**, v. 24, n. 1, p. 105–17, 2006.

WAHAB, H. S.; BREDOW, T.; ALIWI, S. M. Computational modeling of the adsorption and photodegradation of 4-chlorophenol on anatase TiO₂ particles. **Journal of Molecular Structure : THEOCHEM**, v. 863, p. 84–90, 2008a.

WAHAB, H. S.; BREDOW, T.; ALIWI, S. M. Computational modeling of the adsorption and photodegradation of 4-chlorophenol on anatase TiO₂ particles. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 863, n. 1-3, p. 84–90, ago. 2008b.

WIDEL, M. et al. Induction of bystander effects by UVA, UVB, and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species. **Free radical biology & medicine**, v. 68, p. 278–87, mar. 2014.

WISEMAN, J. M. et al. Desorption electrospray ionization mass spectrometry: Imaging drugs and metabolites in tissues. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 47, p. 18120–5, 25 nov. 2008.

WONG, W. C.; WU, J. Y.; BENZIE, I. F. F. Photoprotective potential of Cordyceps polysaccharides against ultraviolet B radiation-induced DNA damage to human skin cells. **The British journal of dermatology**, v. 164, n. 5, p. 980–6, 2011.

WU, Y. et al. Resveratrate protects human skin from damage due to repetitive ultraviolet irradiation. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV**, v. 27, n. 3, p. 345–50, 2013.

ZHANG, S. et al. Humic acids decrease the photodegradation of the sunscreen UV filter 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid in natural waters. **Environmental Chemistry Letters**, v. 10, p. 389–394, 2012.

ZHOU, L. et al. Aquatic photodegradation of sunscreen agent p-aminobenzoic acid in the presence of dissolved organic matter. **Water research**, v. 47, n. 1, p. 153–62, 1 jan. 2013.

Meeran, S.M; Punathil. T; Katiyar SK. Interleukin-12- deficiency exacerbates inflammatory responses in UV- irradiated skin and skin tumors. **J Invest Dermatol** 2008; 128: 2716–2727.

Benjamin, C.L; Ananthaswamy, H.N. p53 and the pathogenesis of skin cancer. **Toxicol Appl Pharmacol** 2007; 224: 241–248.