

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 22/07/2017.

**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<sup>ª</sup>. 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<sup>ª</sup>. 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.

À 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.

À 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.

À 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,  $^1\text{H}$  quando for de hidrogênios e  $^{13}\text{C}$  quando for de carbono.

**RUV:** radiação ultra violeta

**Sn2:** substituição nucleofílica do tipo

## Lista de figuras:

|                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1:</b> Diagrama que demonstra a capacidade de penetração na pele bem como a indução de danos causados pela incidência das radiações UVA e UVB. ....                                                   | 13 |
| <b>Figura 2:</b> Geração de dano no DNA induzido pela radiação UVA.....                                                                                                                                         | 16 |
| <b>Figura 3:</b> Dano causado pela RUV e a resposta celular da pele.....                                                                                                                                        | 17 |
| <b>Figura 4:</b> Estratificação esquemática da pele humana.....                                                                                                                                                 | 21 |
| <b>Figura 5:</b> Fotos mostrando 3 exemplos de carcinomas basocelulares: a) na forma nódulo-ulcerativo, b) na forma plano-superficial e c) na forma pigmentada.....                                             | 23 |
| <b>Figura 6:</b> Exemplo de melanoma nodular .....                                                                                                                                                              | 23 |
| <b>Figura 7:</b> 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 |
| <b>Figura 8:</b> Penetração da radiação ultravioleta na pele .....                                                                                                                                              | 25 |
| <b>Figura 9:</b> trans isomerização do ácido urocânico.....                                                                                                                                                     | 27 |
| <b>Figura 10:</b> Mecanismo de absorção da radiação UV.....                                                                                                                                                     | 29 |
| <b>Figura 11:</b> 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 |
| <b>Figura 12:</b> mecanismo de ação dos filtros solares inorgânicos. ....                                                                                                                                       | 30 |
| <b>Figura 13:</b> ácidos orgânicos com atividade antioxidante.....                                                                                                                                              | 33 |
| <b>Figura 14:</b> imagem óptica de corte sagital de cérebro de rato e sobreposição de imagens de clozapina depositada nos tecidos cerebrais. ....                                                               | 38 |
| <b>Figura 15:</b> .Esquema do funcionamento da técnica de espectrometria de massas Desorption EletroSpray Ionization (DESI-MS). ....                                                                            | 39 |
| <b>Figura 16:</b> Planejamento estrutural das estruturas da série LAPDESF – BZF, desenvolvidas no projeto.....                                                                                                  | 41 |
| <b>Figura 17:</b> método sintético 1 utilizando agentes acoplantes (EDC e DIC) e benzofenona-3. ....                                                                                                            | 42 |
| <b>Figura 18:</b> 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 |
| <b>Figura 19:</b> esquema de aplicação das amostras na placa contendo microcírculos de PTFE..                                                                                                                   | 47 |
| <b>Figura 20:</b> esquema de exposição utilizando-se a câmara de brozeamento artificial, e exposição controlada por intervalos de tempo de 15'.....                                                             | 48 |
| <b>Figura 21:</b> forma tautomérica da benzofenona-3 .....                                                                                                                                                      | 50 |
| <b>Figura 22:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto 4-bromometil-benzofenona.....                                                                                                                        | 51 |
| <b>Figura 23:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto 4-hidroximetil-benzofenona .....                                                                                                                     | 52 |
| <b>Figura 24:</b> esquema reacional da síntese dos compostos LAPDESF-BZF-4 e BZF-5 .....                                                                                                                        | 53 |
| <b>Figura 25:</b> RMN $^1\text{H}$ do composto LAPDESF- BZF-4, DMSO $d_6$ , 300 MHz .....                                                                                                                       | 54 |
| <b>Figura 26:</b> Ampliação da região entre $\delta$ 7,9 – 6,4 ppm do espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto LAPDESF- BZF-4.....                                                                              | 55 |
| <b>Figura 27:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do composto LAPDESF- BZF-4, $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz .....                                                                                                    | 55 |
| <b>Figura 28:</b> Ampliação da região $\delta$ 145,55 – 113,01 ppm do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do composto LAPDESF- BZF4 .....                                                                           | 56 |
| <b>Figura 29:</b> RMN $^1\text{H}$ do composto LAPDESF- BZF-5, $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz.....                                                                                                                   | 59 |

|                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 30:</b> Ampliação da $\delta$ região 7,9 – 6,3 ppm do espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto LAPDESF- BZF-5, $\text{CDCl}_3$ , 300 mHz.....                                                                                    | 59 |
| <b>Figura 31:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do composto LAPDESF- BZF-5.....                                                                                                                                                          | 60 |
| <b>Figura 32:</b> Ampliação da região $\delta$ 145,31 -114,37 ppm do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do composto LAPDESF- BZF-5. ....                                                                                                      | 60 |
| <b>Figura 33:</b> Espectro de UV do padrão 3-metoxicinâmico e Lapdesf bzf -4 .....                                                                                                                                                         | 62 |
| <b>Figura 34:</b> Espectro UV do composto ácido 4 metoxicinâmico e Lapsdef BZF- 5 .....                                                                                                                                                    | 63 |
| <b>Figura 35:</b> Esquema reacional de estabilização do radical DPPH. ....                                                                                                                                                                 | 64 |
| <b>Figura 36:</b> 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 |
| <b>Figura 37:</b> 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 |
| <b>Figura 38:</b> esquema de fotodegradação utilizando-se de lâmpada UVA de 4Watts. ....                                                                                                                                                   | 71 |
| <b>Figura 39:</b> esquema utilizando lus de xenônio de 40 Watts para induzir fotodegradação .....                                                                                                                                          | 71 |
| <b>Figura 40:</b> espectro de massas do material PTFE sem substâncias aplicadas a superfície, correspondente método de análise 4. ....                                                                                                     | 74 |
| <b>Figura 41:</b> Espectro de massas dos compostos benzofenona-3, metoxicinamato de octila e avobenzona, no tempo zero, antes da submissão à radiação UV. ....                                                                             | 75 |
| <b>Figura 42:</b> Espectro de massas obtido após 45 min sob efeito da radiação UV ( <b>Figura 43:</b> espectro de massas do material PTFE sem substâncias aplicadas a superfície, correspondente método de análise 4. ....                 | 76 |
| <b>Figura 44:</b> Espectro de massas destacando os íons encontrados na amostra analisada do experimento tentativo 3 no tempo 120'. ....                                                                                                    | 77 |
| <b>Figura 45:</b> espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4. ....                                                                                   | 78 |
| <b>Figura 46:</b> espectro de massas do padrão benzofenona-3 no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4.....                                                                                 | 79 |
| <b>Figura 47:</b> espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4.....                                                                                  | 80 |
| <b>Figura 48:</b> espectro de massas do padrão avobenzona no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4. ....                                                                                 | 81 |
| <b>Figura 49:</b> espectro de massas do padrão metoxicinamato de octila no tempo 0' no modo positivo de visualização de íons, correspondente método de análise 4 .....                                                                     | 82 |
| <b>Figura 50:</b> espectro de massas do padrão metoxicinamato de octila no tempo 120' no modo positivo de visualização de íons. ....                                                                                                       | 83 |
| <b>Figura 51:</b> 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 |
| <b>Figura 52:</b> Íons obtidos do composto 4-brometilbenzofenona (m/z 277, 213 e 197) utilizando a técnica de DESI-MS para aquisição das imagens.....                                                                                      | 86 |
| <b>Figura 53:</b> imagens dos fragmentos observados no modo positivo do composto benzofenona-3 utilizando-se do método-3 .....                                                                                                             | 87 |
| <b>Figura 54:</b> íons correspondentes aos possíveis fragmentos do composto metoxicinamato de octila utilizando-se do método -3 de análise.....                                                                                            | 88 |

## Lista de tabelas

|                                                                                                                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1:</b> propriedades gerais dos diferentes comprimentos de onda da radiação UV .....                                                                                                                    | 14 |
| <b>Tabela 2:</b> estiramentos de infravermelho dos compostos obtidos e os respectivos padrões 50                                                                                                                 |    |
| <b>Tabela 3.</b> Atribuições dos Hidrogênios verificados nos espectros de RMN $^1\text{H}$ dos compostos 4-bromometil-benzofenona e 4-hidroximetil-benzofenona. ....                                             | 52 |
| <b>Tabela 4.</b> Representação dos deslocamentos químicos do composto LAPDESF-BZF-4 apresentados nos espectros de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ . ....                                                  | 57 |
| <b>Tabela 5:</b> representação dos deslocamentos químicos do composto LAPDESF-BZF-5 apresentados nos espectros de RMN $^1\text{H}$ e RMN $^{13}\text{C}$ . ....                                                  | 61 |
| Tabela 6: valores de absorvância críticos dos compostos avaliados.....                                                                                                                                           | 63 |
| <b>Tabela 7:</b> <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 |
| <b>Tabela 8</b> :tabela com os possíveis íons pais a serem visualizados nos espectros de massa das figuras 39 a 49. ....                                                                                         | 73 |
| <b>Tabela 9:</b> 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.

## 6. Conclusões

Os compostos derivados de ácido cinâmicos (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 a 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 a fotodegradação pode estar relacionada a quantidade de ligações  $\pi$  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, The**, 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 TiO<sub>2</sub> 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 TiO<sub>2</sub> 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. p.53 and the pathogenesis of skin cancer. **Toxicol Appl Pharmacol** 2007; 224: 241–248.