

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E HUMANAS

ESTUDO TEÓRICO DAS PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS DE  
DERIVADOS DE XANTENOS

Mateus M. Zanotto de  
Toledo

Santo André  
2019

MATEUS M. ZANOTTO DE TOLEDO

ESTUDO TEÓRICO DAS PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS DE  
DERIVADOS DE XANTENOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como  
exigência para obtenção do grau de Bacharel em  
Química, ao Centro de Ciências Naturais e Humanas  
da Universidade Federal do ABC- Santo André

Orientador: Profa. Dra. Paula Homem de Mello

Santo André  
2019

Estudo teórico das propriedades fotofísicas de derivados de xantenos / Mateus M. Zanotto de Toledo – Santo André, 2019.  
35f.: il.; 30 cm

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência para obtenção do grau de Bacharel em Química, ao Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade Federal do ABC-Santo André

Profa. Dra. Paula Homem de Mello

1. Terapia Fotodinâmica. 2. DFT. 3. Estrutura Eletrônica. 4. Xantenos.

**LINHA DE PESQUISA:**

**Grande Área:** 1.06.00.00-0 Química

**Área:** 1.06.03.00-0 Fisico-Química

**Subárea:** 1.06.03.07-7 Química Teórica

Mateus M. Zanotto de Toledo

## ESTUDO TEÓRICO DAS PROPRIEDADES FOTOFÍSICAS DE DERIVADOS DE XANTENOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como  
exigência para obtenção do grau de Bacharel em  
Química, ao Centro de Ciências Naturais e Huma-  
nas da Universidade Federal do ABC- Santo André

---

Profa. Dra. Paula Homem de Mello

---

Prof. Dr. Mauricio D. Countinho Neto

---

Profa. Dra. Amedea Barozzi Seabra

Santo André, 25 de julho de 2019

## **RESUMO**

A terapia fotodinâmica(PDT) é baseada na aplicação de fotossensibilizadores(PS) que se concentram nos tecidos e, quando irradiados por luz, são excitados e geram oxigênio singuleto e espécies reativas de oxigênio. Embora a PDT seja aplicada clinicamente desde 1993, é possível aprimorar a terapia com o estudo de novos PS que possuam maior seletividade por células tumorais, baixa toxicidade no escuro, alto rendimento de oxigênio singuleto, entre outras propriedades. Neste estudo foram empregados métodos computacionais de primeiros-princípios para investigar as propriedades eletrônicas de derivados do xanteno, propondo a viabilidade destes como fármacos na terapia fotodinâmica. Foi observado que xantenos substituídos no ácido benzoico ligado aos anéis do xanteno base alteram por volta de 20 nm o espectro de absorção. Substituintes aromáticos que aumentam a conjugação do sistema alteram os orbitais participantes das transições e também a interação da molécula com a bicamada fosfolipídica, sendo estes compostos mais promissores para a PDT.

**Palavras-chave:**

Terapia Fotodinâmica, DFT, Estrutura Eletrônica, Xantenos

## ABSTRACT

The photodynamic therapy (PDT) is made by applying a photosensitizer (PS) in the area of interest and irradiating it with specific wavelength light for each PS utilized. The PS is excited, transferring energy to the oxygen. Then it forms Reactive Oxygen species (ROS). Although the PDT has been clinically applied since 1993, it is possible to enhance the therapy by studying PSs with more selectivity to cancer cell, low light toxicity and high singlet oxygen yield. The purpose of this project is to study the ground states of xanthene molecules and derivatives using first principle methods, to evaluate the viability of new molecules to the photodynamic therapy. It was shown in this study that the substituents on the benzoic acid modify in around 20 nm the absorption spectrum. Substituents which increase the conjugated system alter the molecular orbitals participating on the electronic transitions and increases the interaction between the molecule and the phospholipid bilayer. The aromatic substituents on xanthenes tend to be the most promissory to its usage on PDT.

**Keywords:**

Photodynamic Therapy, DFT, Electronic Structure, Xanthenes

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Xanteno base e Fluoresceína. As substituições propostas foram feitas no ácido benzoico presente na Fluoresceína. . . . .	12
FIGURA 2 – Fluoresceína base contendo R1 ao R4 = H. O grupo Halogênio possui substituições nas posições R1, R2, R3 e R4 com Flúor, Cloro, Bromo e Iodo conforme a tabela. . . . .	16
FIGURA 3 – Grupo Metil com substituições metil e tercbutil no ácido benzoico presente na fluoresceína base . . . . .	16
FIGURA 4 – O grupo Aromático possui substituições de anéis aromáticos ligados por um ou dois carbonos. As moléculas BenzBr e BenzBr_2 diferem espacialmente. . . . .	17
FIGURA 5 – O grupo Carboxílico possui grupos carboxila, éter e hidroxila substituídos ao ácido benzoico da fluoresceína. . . . .	17
FIGURA 6 – Fluoresceína base nas formas protonada, desprotonada e lactona. Os pKas da fluoresceína são 5,00 para a forma aniónica e 6,10 para a forma desprotonada (dianiônica) . . . . .	18
FIGURA 7 – Distância (d) entre o Carbono e o Oxigênio da lactona. A estrutura desprotonada não possui essa ligação, tendo uma distância de aproximadamente 2,4 Å, enquanto que na forma lactona a distância é próxima de 1,6 Å. . . . .	19
FIGURA 8 – Transições verticais de energia com F.Osc.> 0,1 para todas as moléculas. A maior parte das transições está compreendida entre 420 e 440 nm. . . . .	20
FIGURA 9 – Transição Tipo 1: Orbitais HOMO (esquerda) → LUMO+1 (direita) do AcidCarb. . . . .	21
FIGURA 10 – Transição Tipo 2: Orbitais HOMO (esquerda) → LUMO+5 (direita) do Benz6. . . . .	22
FIGURA 11 – Mapa de potencial eletrostático com isovalor de 0.0004 a.u. e escala de -0,260 (vermelho) até 0,260 (azul). . . . .	24

FIGURA A1 – Espectros de absorção do grupo Aromático. . . . .	31
FIGURA A2 – Espectros de absorção do grupo Carboxílico. . . . .	31
FIGURA A3 – Espectros de absorção do grupo Halogênios. . . . .	32
FIGURA A4 – Espectros de absorção do grupo Halogênios. . . . .	32
FIGURA A5 – Espectros de absorção do grupo Metil. . . . .	33

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Coeficiente de partição teórico entre água e n-octanol calculado com solvatação implícita para as moléculas que apresentam transições Tipo 2 . . . . .	23
TABELA A1 – Distâncias d em n-octanol, água e vácuo; Carbono - Oxigênio formando o anel lactona . . . . .	30
TABELA A2 – Transições eletrônicas no visível com $\lambda > 400$ nm e F.Osc. $> 0,1$ . As transições em vermelho são de Tipo 1, em azul são de Tipo 2 e em preto não são bem definidas ou são misturadas . . . . .	34
TABELA A3 – Coeficientes de partição em agua/vacuo para moléculas protonadas . . . . .	35

## **LISTA DE SIGLAS**

PDT – Terapia Fotodinâmica (*Photodynamic Therapy*)

PS – Fotosensibilizador (*Photosensitizer*)

ROS – Espécie Reativa de Oxigênio (*Reactive Oxygen Species*)

DFT – Teoria do Funcional da Densidade (*Density Functional Theory*)

MEP – Superfície de potencial eletrostático molecular (*Molecular Electrostatic Potential*)

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO . . . . .</b>	<b>12</b>
<b>1.1 Objetivos . . . . .</b>	<b>13</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA . . . . .</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Problema de muitos corpos . . . . .</b>	<b>14</b>
<b>3 METODOLOGIA . . . . .</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Derivados de xantenos . . . . .</b>	<b>16</b>
<b>3.2 Cálculos computacionais . . . . .</b>	<b>18</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO . . . . .</b>	<b>19</b>
<b>4.1 Coeficiente de partição . . . . .</b>	<b>22</b>
<b>5 CONCLUSÕES . . . . .</b>	<b>25</b>
<b>REFERÊNCIAS . . . . .</b>	<b>26</b>
<b>ANEXO . . . . .</b>	<b>30</b>

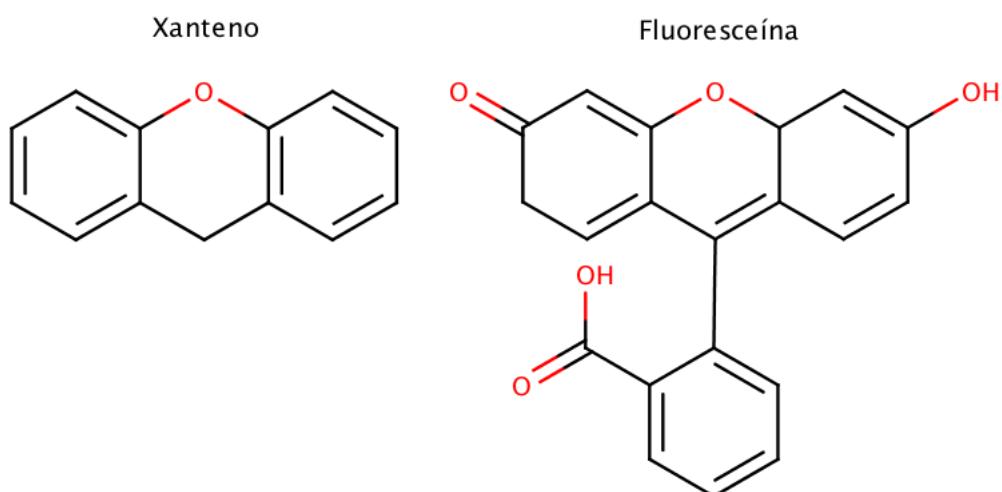
## 1 INTRODUÇÃO

A terapia fotodinâmica (PDT) tem como principal mecanismo a excitação de um fotosensibilizador (PS) do estado fundamental para o estado excitado, que faz a transferência de energia para o oxigênio molecular excitando-o, por sua vez, para o estado singuleto e iniciando a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS). Estas espécies reagem com diversos tipos de estrutura celular, resultando na morte da célula por necrose e/ou apoptose (BONNETT, 2014; ORMOND; FREEMAN, 2013).

Quando se considera um PS ideal, algumas características são preferíveis, sendo algumas delas (PUSHPAN et al., 2002):

- a) quimicamente puro e rota sintética conhecida
- b) alto rendimento de oxigênio singuleto
- c) absorção entre 550-800 nm
- d) estável e permeável nos tecidos do corpo

O xanteno é uma base para corantes como o Rosa de Bengala, a Eosina Y, a Fluoresceína e a Eritrosina B, sendo estes alguns dos derivados mais conhecidos e estudados, tendo diversas aplicações médicas e bioquímicas (GANDIN; LION; VORST, 1983; BUCK et al., 2017).



**Figura 1 – Xanteno base e Fluoresceína.** As substituições propostas foram feitas no ácido benzoico presente na Fluoresceína.

O Rose de Bengala é o corante baseado em xanteno mais promissor para a PDT. Seu mecanismo na morte celular é bem elucidado na literatura e há estudos mostrando formas de otimizar sua estabilidade e seletividade em meio biológico (MOUSAVID et al., 2009; BUCK et al., 2017; GIANOTTI et al., 2014; PANZARINI; INGUSCIO; DINI, 2011).

## 1.1 Objetivos

Os corantes baseados no xanteno possuem características desejadas para a PDT como o alto rendimento de oxigênio singuleto, a absorção acima de 500 nm e a rota sintética conhecida. O desafio para usar esta classe de compostos na PDT é aumentar a sua seletividade uma vez que a maioria dos derivados são lipofóbicos (BONNETT, 2014; GIANOTTI et al., 2014).

O objetivo deste estudo é, utilizando cálculos computacionais com base na Teoria do Funcional da Densidade (DFT) e a Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TD-DFT), analisar moléculas baseadas no xanteno com substituições no anel aromático e propor a viabilidade destas na PDT e orientar novos substituintes para o design de novos fármacos.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Problema de muitos corpos

A descrição de um sistema de muitos corpos é feita pela função de onda obtida da solução da equação de Schrödinger independente do tempo. Em um sistema de  $n$  elétrons e  $n$  prótons, esta equação se dá da seguinte forma:

$$\widehat{H}\Psi[(\vec{r}_i), (\vec{R}_j)] = E\Psi[(\vec{r}_i), (\vec{R}_j)] \quad (2.1)$$

Onde  $\vec{r}_i = \{\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n\}$  e  $\vec{R}_j = \{\vec{R}_1, \vec{R}_2, \dots, \vec{R}_n\}$  são as posições dos elétrons e dos núcleos, respectivamente. Nesta equação, a função de onda depende tanto da posição dos elétrons quanto dos prótons, fazendo com que a equação não tenha solução analítica. A aproximação de Born-Oppenheimer (BO) assume que o movimento dos núcleos e dos elétrons podem ser tratados de forma separada, podendo então escrever a função de onda como:

$$\Psi[(\vec{r}_i), (\vec{R}_j)] = \psi_e(\vec{r}_i) * \psi_N(\vec{R}_j) \quad (2.2)$$

Neste caso, o Hamiltoniano eletrônico  $\widehat{H}_e$  é descrito por:

$$\left[ \sum_i^N \left( -\frac{\hbar^2}{2m_i} \nabla_i^2 \right) + \sum_i^N V(\vec{r}_i) + \sum_{i < j}^N U(\vec{r}_i, \vec{r}_j) \right] \psi_e(r) = \epsilon_e(r) \psi_e \quad (2.3)$$

Em que o primeiro termo é o operador de energia cinética do elétron, o segundo é o operador de energia potencial que os núcleos exercem sobre os elétrons e o terceiro é o operador de energia potencial da interação elétron-elétron.

Outra aproximação tomada para resolver o problema de muitos corpos é pelo produto de Hartree, que consiste em transformar um problema de  $n$  elétrons em  $n$  problemas de um elétron, conforme a seguinte equação:

$$\psi_e(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_n) = \psi(\vec{r}_1) * \psi(\vec{r}_2) * \dots * \psi(\vec{r}_n) \quad (2.4)$$

Já DFT tem como base dois teoremas propostos por Hohenberg e Kohn (HK) em 1964 (HOHENBERG; KOHN, 1964):

**Teorema 1.** O potencial externo  $v_{ext}(r)$  e a energia total são funcionais únicos da densidade eletrônica  $n(r)$ .

**Teorema 2.** A função que descreve a energia do estado fundamental fornece um mínimo de energia quando  $n(r)$  é a densidade do estado fundamental.

Em 1965, Kohn e Sham (KOHN; SHAM, 1965) publicaram uma forma de resolver este problema. Pelos teoremas de HK, o funcional de energia  $E[n(r)]$  pode ser escrito da seguinte forma

$$E[n(r)] = \int n(r)v_{ext}(r)dr + \int \int \frac{n(r)n(r')}{|r - r'|} dr dr' + G[n(r)] \quad (2.5)$$

Em que  $G[n(r)]$  é um funcional universal da densidade. Escrevendo  $G[n(r)]$  como:

$$G[n(r)] \equiv T_s[n(r)] + E_{xc}[n(r)] \quad (2.6)$$

Com as equações 2.5 e 2.6 temos que a energia do sistema depende do potencial externo ( $v_{ext}$ ), a interação elétron-elétron (2º termo de eq. 2.5), da energia cinética dos elétrons ( $T_s$ ) e da energia de troca e correlação ( $E_{xc}$ ). O potencial efetivo de Kohn-Sham é escrito como:

$$v_{KS}[n(r)] = \int \frac{n(r)}{|r - r'|} d^3r + v_{ext}(r) + v_{xc}[n(r)] \quad (2.7)$$

em que

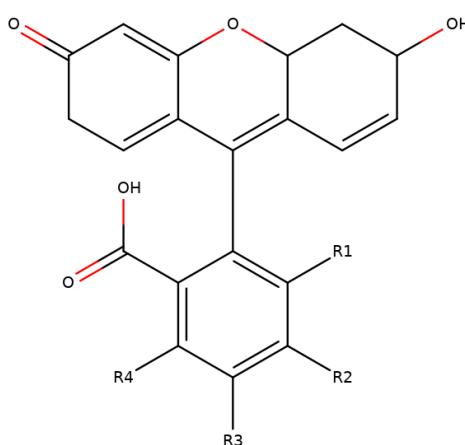
$$v_{xc}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{xc}[n(r)]}{\delta n(r)} ; \quad n(r) = \sum_i^N \psi_i^*(r)\psi_i(r) \quad (2.8)$$

Propondo uma densidade inicial  $n_i(r)$ , é possível resolver a equação de 2.7 de forma autoconsistente, obtendo um  $\psi_i(r)$  e calculando uma nova densidade até que a diferença entre as densidades seja mínima, como mostra o esquema de Kohn-Sham:

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Derivados de xantenos

Foram discutidos derivados de xanteno que pudessem ser sintetizados facilmente a partir de reagentes comerciais (A.O. Ribeiro, comunicação pessoal, 14 de maio de 2018). Foram propostas 33 moléculas para este projeto, sendo estas separadas em 4 grupos segundo as substituições no ácido benzoico da fluoresceína base.



- F1:** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = H ; R<sub>3</sub> = F  
**F1\_1:** R<sub>1</sub> = F ; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = H  
**F1\_2:** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H ; R<sub>4</sub> = F  
**F2:** R<sub>1</sub> = R<sub>4</sub> = H ; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = F  
**F2\_1:** R<sub>1</sub> = R<sub>4</sub> = F ; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H  
**F4:** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = F  
**Cl1:** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = H ; R<sub>3</sub> = Cl  
**Cl1\_1:** R<sub>1</sub> = Cl ; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = H  
**Cl1\_2:** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H ; R<sub>4</sub> = Cl  
**Cl2:** R<sub>1</sub> = R<sub>4</sub> = H ; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = Cl  
**Cl2\_1:** R<sub>1</sub> = R<sub>4</sub> = Cl ; R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H  
**Cl4:** R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = Cl  
**Br4:** R<sub>1</sub> = Br ; R<sub>2</sub> = Br ; R<sub>3</sub> = Br ; R<sub>4</sub> = Br  
**I4:** R<sub>1</sub> = I ; R<sub>2</sub> = I ; R<sub>3</sub> = I ; R<sub>4</sub> = I

Figura 2 – Fluoresceína base contendo R<sub>1</sub> ao R<sub>4</sub> = H. O grupo Halogênio possui substituições nas posições R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> com Flúor, Cloro, Bromo e Iodo conforme a tabela.

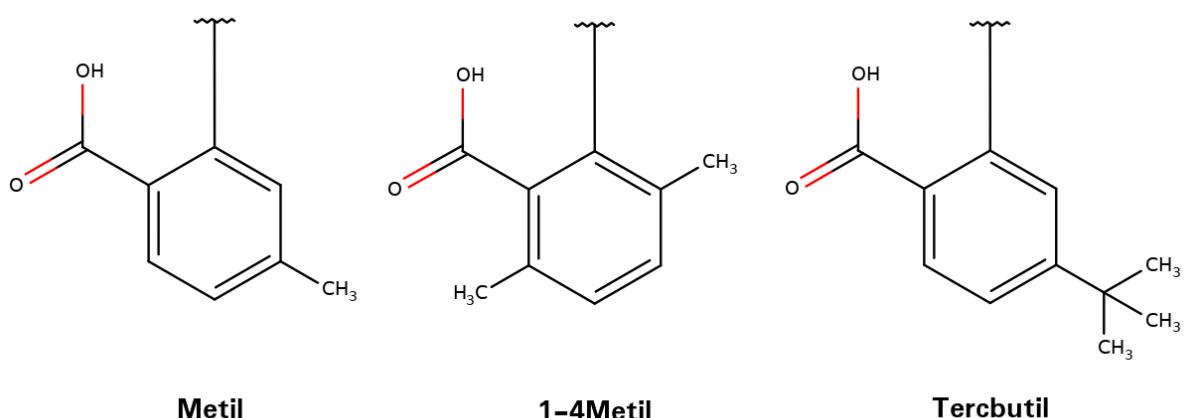


Figura 3 – Grupo Metil com substituições metil e tercbutil no ácido benzoico presente na fluoresceína base

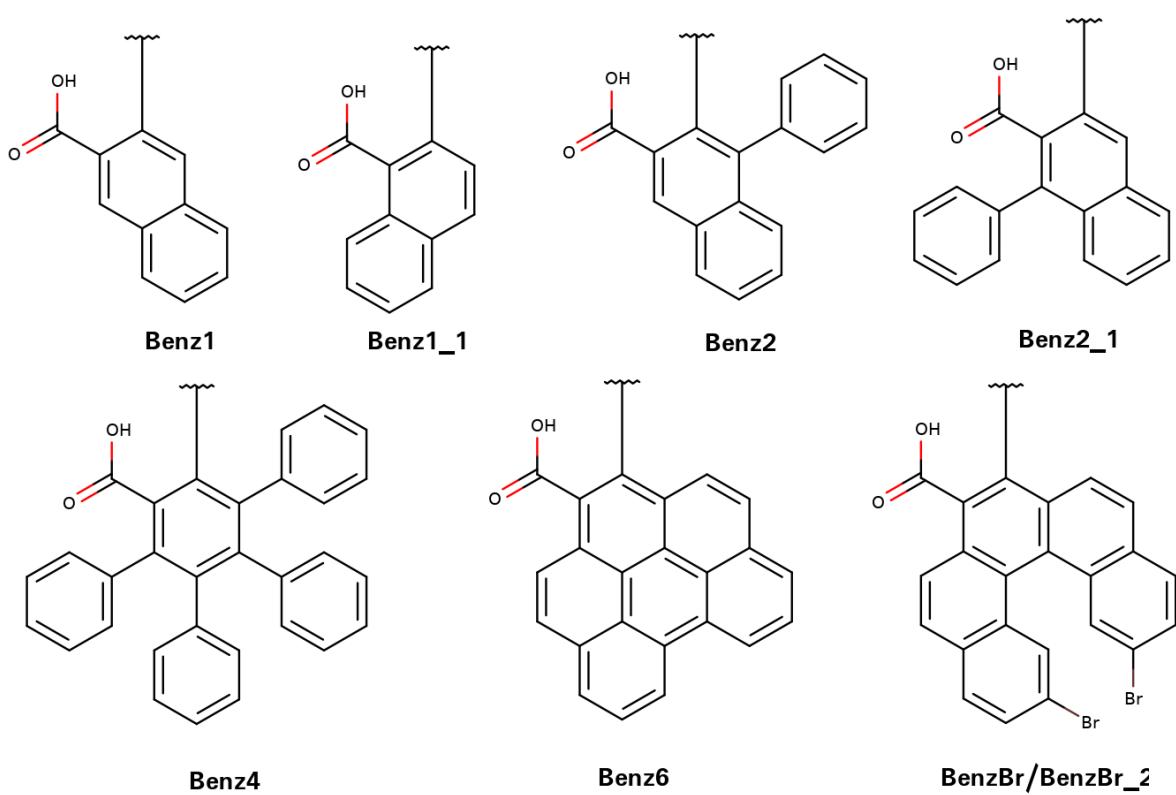


Figura 4 – O grupo Aromático possui substituições de anéis aromáticos ligados por um ou dois carbonos. As moléculas BenzBr e BenzBr\_2 diferem espacialmente.

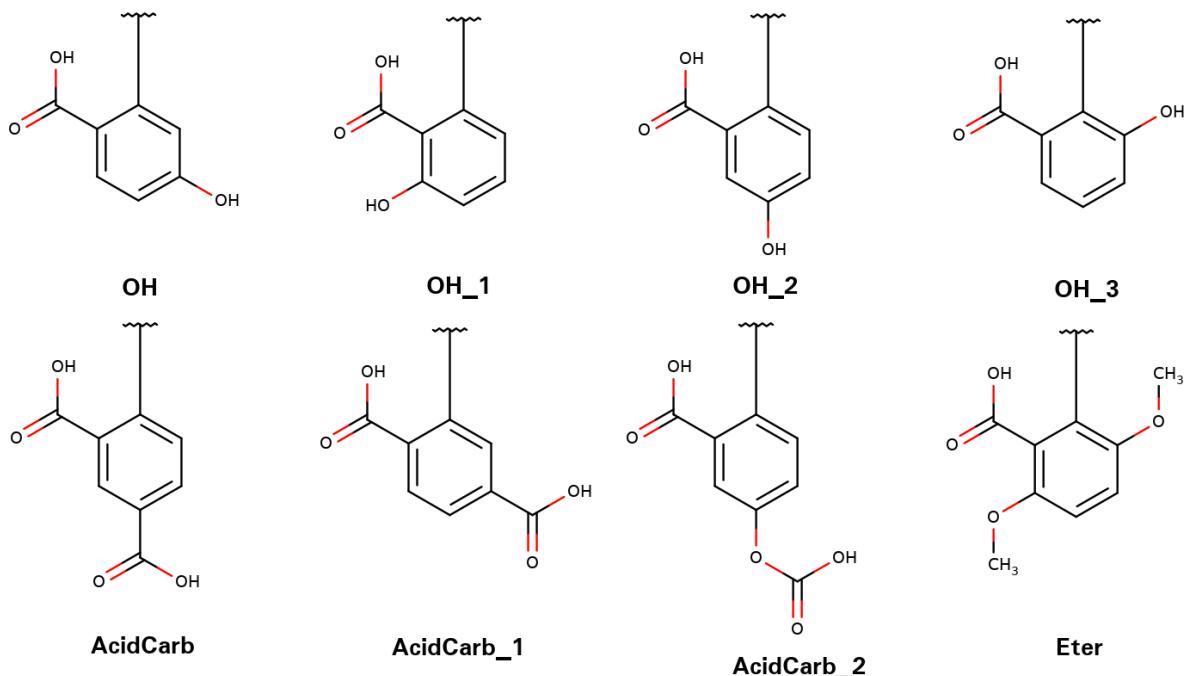
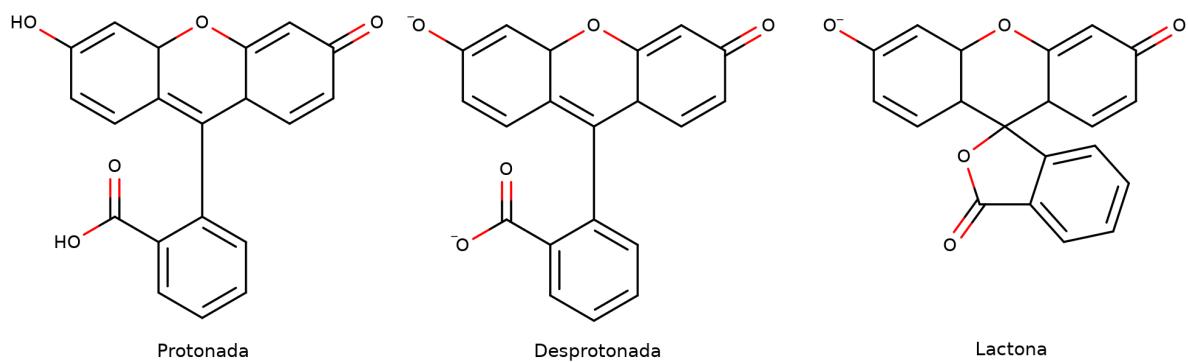


Figura 5 – O grupo Carboxílico possui grupos carboxila, éter e hidroxila substituídos ao ácido benzoico da fluoresceína.

### 3.2 Cálculos computacionais

Os xantenos estudados foram investigados com base na DFT e na TD-DFT implementadas no pacote Gaussian 09 (FRISCH et al., 2009). As geometrias e frequências foram otimizadas usando o funcional B3LYP (BECKE, 1993; LEE; YANG; PARR, 1988) e a base cc-pVDZ (JR, 1989), sendo apenas o iodo descrito pela base aug-cc-pVDZ-PP (PETERSON et al., 2006). O efeito do solvente, quando se fez necessário, foi tratado com o método IEFPCM (MENNucci; CANCES; TOMASI, 1997; CANCES; MENNucci; TOMASI, 1997; CANCÈS; MENNucci, 1998) simulando ambientes com água e n-octanol. Os espectros de absorção foram obtidos com os cálculos de TD-DFT para 40 estados utilizando a mesma base e funcional do cálculo de otimização e frequência.



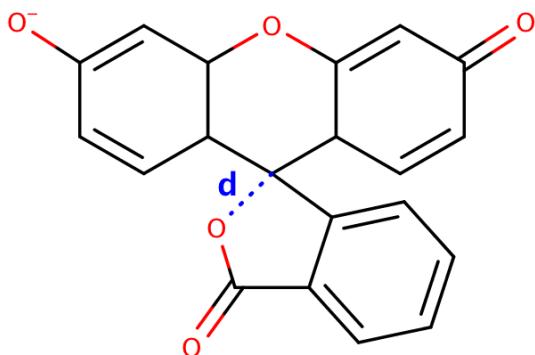
**Figura 6 – Fluoresceína base nas formas protonada, desprotonada e lactona. Os pKas da fluoresceína são 5,00 para a forma aniónica e 6,10 para a forma desprotonada (dianiônica) .**

Os cálculos de todas as moléculas foram feitos para as formas protonada, desprotonada e lactona mostradas na Figura 6. Tendo em vista que o pH de células tumorais é em torno de 6,5 e que o pKa da fluoresceína, eosina, eritrosina e rosa de bengala são, respectivamente, 6,10, 3,80, 3,79 e 3,93, é esperado que, em meio biológico, os xantenos estejam na forma desprotonada ou lactona (BATISTELA et al., 2011). Segundo a literatura, os xantenos na forma desprotonada são estáveis em solventes próticos polares devido às ligações de hidrogênio formada no grupo carboxila enquanto a lactona é estável em solventes apolares apróticos (PEDONE; BARONE, 2010). Sendo assim, é esperado que os xantenos estejam na forma desprotonada fora da bicamada e na forma lactona dentro na bicamada.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, são apresentados os principais resultados obtidos para a forma desprotonada ou lactona separando-os nas seções Otimização, Espectros de absorção, Orbitais de fronteira, Coeficiente de Partição e MEP.

Ao otimizar a forma lactona em fase gasosa foi observado que a distância d, mostrada na Figura 7, entre o carbono e o oxigênio é maior que 2,4 Å em todas as moléculas (*vide Anexo*).



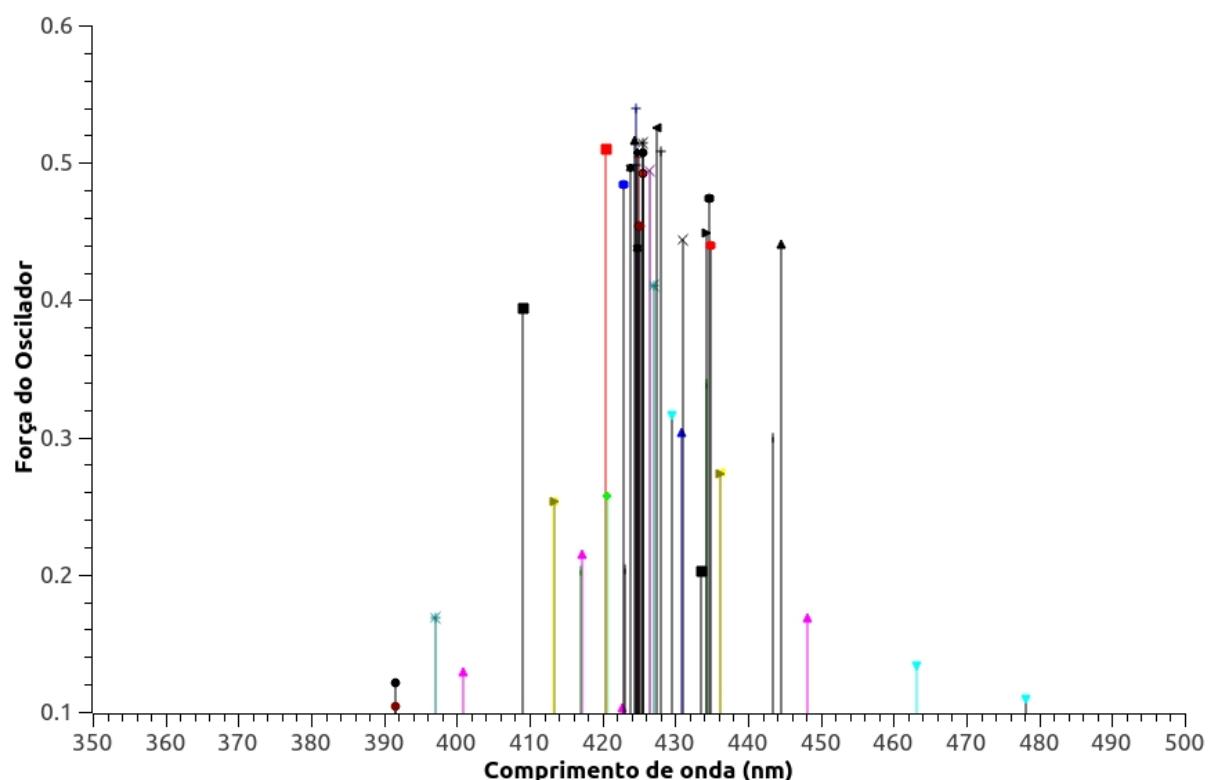
**Figura 7 – Distância (d) entre o Carbono e o Oxigênio da lactona.** A estrutura desprotonada não possui essa ligação, tendo uma distância de aproximadamente 2,4 Å, enquanto que na forma lactona a distância é próxima de 1,6 Å.

Para investigar mais afundo foi feita a otimização da forma lactona em água e n-octanol, sendo observado que a distância d para 14 das 33 moléculas diminuiu para  $1,60 \pm 0,02$  Å em ambos os solventes. Para 16 das 33 moléculas, as distâncias foram próximas de  $2,74 \pm 0,02$  Å. Para 3 moléculas as distâncias mudaram conforme o solvente, sendo de  $2,9 \pm 0,4$  Å em n-octanol e  $1,61 \pm 0,02$  Å em água. Análises das cargas atômicas e das estruturas de ressonância serão conduzidas para esclarecer estes achados.

Segundo a literatura, os xantenos na forma desprotonada são estáveis em solventes próticos polares como a água devido às ligações de hidrogênio formadas, enquanto que a lactona é estável em solventes apolares apróticos, como o n-octanol (PEDONE; BARONE, 2010). O método de solvatação implícita descreve a cavidade do soluto a partir do raio de Van der Waals, indicando que algumas das moléculas têm a estabilidade da forma lactona ligada principalmente a forças intermoleculares fracas, enquanto outras dependem

de interação explícita com o solvente, e que não pode ser descrito com solvatação implícita, o método empregado aqui.

A partir das geometrias obtidas, foi conduzido o cálculo usando a TD-DFT para obter valores de energia das transições verticais e as respectivas forças de oscilador. No Anexo são apresentados os espectros dos xantenos desprotonados na forma de convoluções para todas as transições encontradas entre 350 e 500 nm juntamente às transições verticais com força do oscilador maior que 0,1. As substituições propostas alteram pouco a região de absorção do espectro, apresentando a maior parte das transições entre 420 e 440 nm<sup>8</sup>.

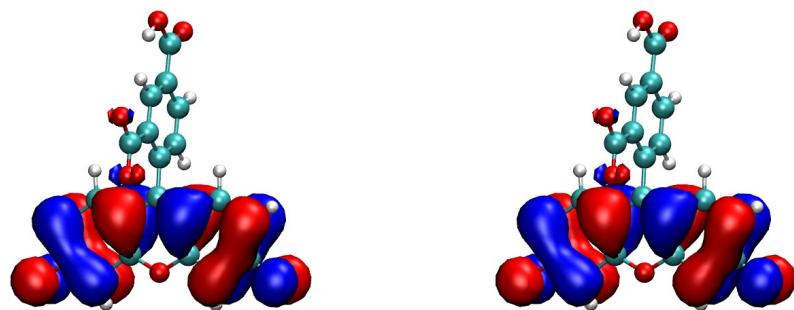


**Figura 8 – Transições verticais de energia com F.Osc.> 0,1 para todas as moléculas. A maior parte das transições está compreendida entre 420 e 440 nm.**

Pela literatura, o cálculo de TD-DFT fornece espectros de absorção deslocados para comprimentos de onda menores tanto para xantenos como para outras classes de fotossensibilizadores(BUCK et al., 2017; SOUZA et al., 2018; BETTANIN et al., 2017). É esperado então que os espectros experimentais tenham um deslocamento para o vermelho (comprimentos de onda maiores) se comparados com os calculados. Mesmo com esse deslocamento, a faixa de absorção ainda não ficaria na janela terapêutica (entre 550 e 800nm). Para deslocar a faixa de absorção para comprimentos de onda maiores propõe-se

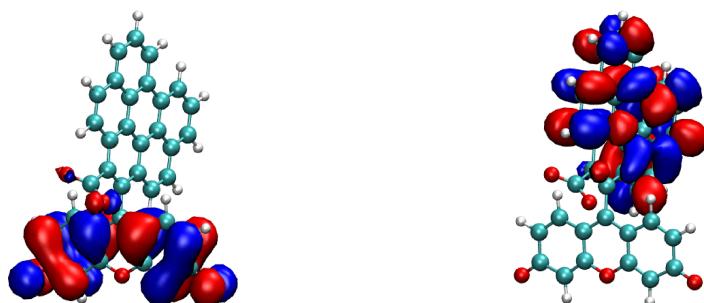
adicionar halogênios ligados aos anéis do xanteno base visto que para a Eosina, Eritrosina e Rosa de Bengala estas adições deslocam a absorção para a região do vermelho (JHONSI; SRINIVASAN; KATHIRAVAN, 2014).

As transições que ocorrem no visível envolvem principalmente os orbitais de fronteira HOMO, LUMO e LUMO+1 (*vide Anexo*). As transições foram classificadas em dois tipos segundo as suas contribuições atômicas para os orbitais moleculares. A primeira transição observada envolve os orbitais localizados nos anéis fundidos, como ocorre na transição HOMO $\rightarrow$ LUMO+1 do AcidCarb desprotonadas (Figura 9). Esta transição será chamada de Tipo 1 neste estudo.



**Figura 9 – Transição Tipo 1: Orbitais HOMO (esquerda)  $\rightarrow$  LUMO+1 (direita) do AcidCarb.**

A segunda transição observada envolve a transferência da densidade eletrônica dos orbitais nos anéis fundidos para os orbitais do anel fenílico substituído, como é o caso da transição HOMO $\rightarrow$ LUMO+5 do Benz6 na forma desprotonada na Figura 10. Esta transição é a de Tipo 2.



**Figura 10 – Transição Tipo 2: Orbitais HOMO (esquerda) → LUMO+5 (direita) do Benz6.**

Para classificar as transições eletrônicas foram escolhidas as transições com comprimento de onda maior que 400nm e força do oscilador maior que 0,1. Foi observado que as moléculas desprotonadas apresentam principalmente transições do Tipo 1, sendo que apenas as moléculas *Benz2*, *Benz4*, *Benz6*, *BenzBr* e *BenzBr\_2* apresentam tanto transições de Tipo 1 quanto de Tipo 2. Já as moléculas na forma lactona apresentam transições de Tipo 1 e 2 para todas as moléculas.

#### 4.1 Coeficiente de partição

O Coeficiente de Partição ( $P$ ) é definido como a razão da concentração de soluto entre dois solventes bifásicos (normalmente água e n-octanol), e sua razão logarítmica é denotada por  $\log P$ . Esta é uma grandeza que reflete na lipossolubilidade do soluto e é um parâmetro que pode ser relacionado com a interação da molécula com o organismo. (VLAHOVIĆ et al., 2017).

Moléculas com  $\log P < 0$  mostram características lipofóbicas, e as com  $\log P > 1,5$  mostram características lipofílicas. A região entre 0 e 1,5 mostra características anfifílicas. (PELLOSI et al., 2012).

Para o cálculo teórico do  $\log P$  foi utilizada a seguinte equação (VLAHOVIĆ et al.,

2017; MICHALÍK; LUKEŠ, 2016):

$$\log P = \frac{\Delta G_{\text{água}} - \Delta G_{\text{n-octanol}}}{RT \ln(10)} \quad (4.1)$$

Onde  $\Delta G_{\text{água}}$  e  $\Delta G_{\text{n-octanol}}$  são os valores de energia eletrônica com a correção da energia livre, em eV, obtidos nos cálculo de otimização com solvatação implícita em água e n-octanol e o  $\Delta\Delta G$  é a diferença entre elas. O valor de  $R = 8,62 \times 10^{-5}$  eV· K<sup>-1</sup> e  $T = 298$  K.

Inicialmente foram utilizados os valores de  $\Delta G$  em água e fase gasosa (sem solvatação) para calcular o log P das formas protonadas dos 33 xantenos, onde os valores variaram de -9,98 até -15,05, sendo todas lipofóbicas. Todos os valores podem ser encontrados no Anexo.

Os valores de log P apresentados na Tabela a seguir foram os obtidos para as moléculas citadas anteriormente, nas formas desprotonadas e lactona, e substituindo o  $\Delta G_{\text{vacuo}}$  pelo  $\Delta G_{\text{n-octanol}}$ .

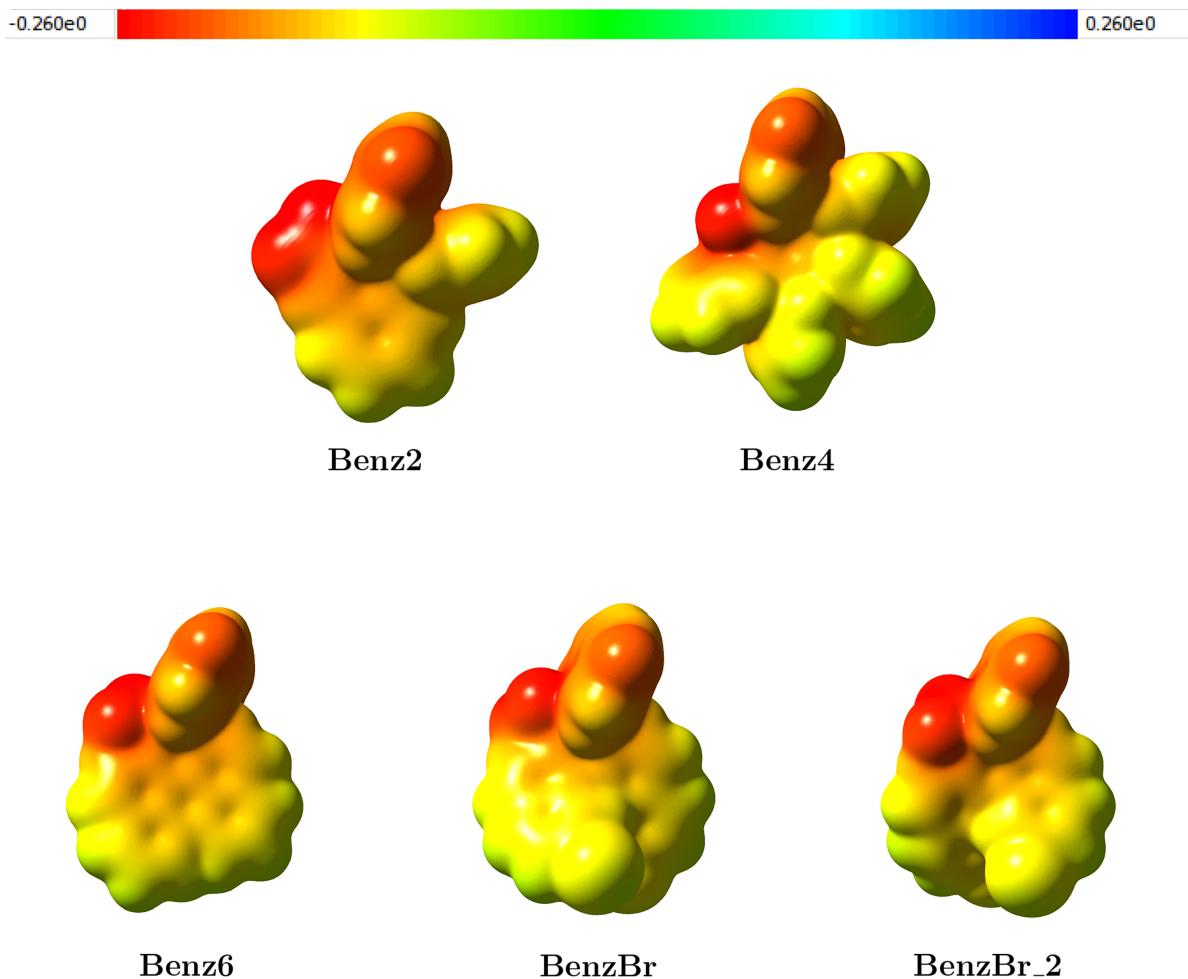
**Tabela 1 – Coeficiente de partição teórico entre água e n-octanol calculado com solvatação implícita para as moléculas que apresentam transições Tipo 2**

	Molécula	$\Delta\Delta G$	log P
<b>Desprotonado</b>	Benz2	-0,02596	-11,94076035
	Benz4	-0,027676	-12,73006485
	Benz6	-0,024556	-11,29496576
	BenzBr	-0,023052	-10,6031744
	BenzBr_2	-0,023052	-10,6031744
<b>Lactona</b>	Benz2	-0,024516	-11,27656705
	Benz4	-0,026935	-12,38922881
	Benz6	-0,023859	-10,9743683
	BenzBr	-0,023424	-10,77428237
	BenzBr_2	-0,023423	-10,77382241

Os resultados sugerem que os xantenos tratados são bastante hidrofílicas, mesmo que os resultados sejam qualitativos tendo em vista que as interações entre o solvente e a molécula não são consideradas neste cálculo. Assim, as moléculas tendem a não entrar completamente na bicamada. Dessa forma, aquelas que possuem substituições lipofílicas e transições do Tipo 2, seriam melhores candidatos, pois poderiam interagir com a bicamada fosfolipídica e transferir carga para o oxigênio singuleto, dando início ao mecanismo da PDT.

A fim de identificar as regiões mais polares e apolares das moléculas com transição de Tipo 2 foram geradas as superfícies de potencial eletrostático molecular (MEP, do inglês

Molecular Electrostatic Potential) das formas desprotonadas, que são as mais presentes em meio aquoso. As regiões polares são as regiões vermelhas (negativo) e azuis (positivo) (GUPTA, 2016).



**Figura 11 – Mapa de potencial eletrostático com isovalor de 0.0004 a.u. e escala de -0,260 (vermelho) até 0,260 (azul).**

As moléculas *Benz2* e *Benz4* apresentam maiores contrastes de cargar positivas e negativas, enquanto que as moléculas *BenzBr*, *BenzBr2* e *Benz6* apresentam regiões um pouco mais neutras nos anéis substituídos, com uma concentração de cargas negativas no grupo carboxílico. Vale ressaltar que todas as moléculas desprotonadas possuem carga negativa, por isso não há regiões muito positivas (azuis) nos MEPs apresentados.

## 5 CONCLUSÕES

Neste estudo, foram investigadas as propriedades físico-químicas e fotofísicas de 33 moléculas baseadas no xanteno utilizando métodos *ab initio* de química quântica. As substituições propostas alteram as regiões dos orbitais de fronteira sem alterar significativamente o espectro de absorção na região do visível. O presente estudo sugere que substituir o anel fenílico dos xantenos por grupos que aumentam a conjugação tendem a apresentar transições eletrônicas em que há a passagem da densidade dos anéis do xanteno base para o ácido carboxílico substituído.

As substituições por grupos aromáticos conjugados tendem a distribuir as cargas parciais, possivelmente aumentando a interação da região do substituinte com moléculas apolares e possivelmente a bicamada fosfolipídica. Esse efeito junto com a transferência da densidade eletrônica para o substituinte possibilita uma transferência de energia para a bicamada onde há mais oxigênio.

Tendo em vista estes efeitos, as moléculas mais promissoras presentes neste estudo para o uso na terapia fotodinâmica são as *BenzBr*, *BenzBr\_2* e *Benz6*.

Para entender melhor as conformações, serão avaliadas as cargas atômicas e realizadas novas tentativas de otimização em outros solventes. Ainda para avaliar mais explicitamente a interação destas moléculas com diferentes solventes é necessário estudos utilizando Dinâmica Molecular.

## REFERÊNCIAS

- AGUNBIADE, R. Y. et al. Isolation, characterization, crystal structure, free radical scavenging-and computational studies of 9-[4-(propan-2-yl) phenyl]-3, 4, 5, 6, 7, 9-hexahydro-1h-xanthene-1, 8 (2h)-dione from garcinia kola seeds. *Journal of Molecular Structure*, Elsevier, v. 1144, p. 396–405, 2017.
- AIHARA, J.-i. Reduced homo- lumo gap as an index of kinetic stability for polycyclic aromatic hydrocarbons. *The Journal of Physical Chemistry A*, ACS Publications, v. 103, n. 37, p. 7487–7495, 1999.
- ALEXIADES-ARMENAKAS, M. Laser-mediated photodynamic therapy. *Clinics in dermatology*, Elsevier, v. 24, n. 1, p. 16–25, 2006.
- BATISTELA, V. R. et al. pka determinations of xanthene derivates in aqueous solutions by multivariate analysis applied to uv-vis spectrophotometric data. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Elsevier, v. 79, n. 5, p. 889–897, 2011.
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. iii. the role of exact exchange. *The Journal of chemical physics*, AIP, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1993.
- BETTANIN, F. et al. Quantum-chemistry descriptors for photosensitizers based on macrocycles. *Chemical biology & drug design*, Wiley Online Library, v. 89, n. 2, p. 207–220, 2017.
- BONNETT, R. *Chemical aspects of photodynamic therapy*. [S.l.]: CRC Press, 2014.
- BOTTIROLI, G. et al. Enzyme-assisted cell photosensitization: a proposal for an efficient approach to tumor therapy and diagnosis. the rose bengal fluorogenic substrate. *Photochemistry and photobiology*, Wiley Online Library, v. 66, n. 3, p. 374–383, 1997.
- BUCK, S. T. et al. Photodynamic efficiency of xanthene dyes and their phototoxicity against a carcinoma cell line: a computational and experimental study. *Journal of Chemistry*, Hindawi, v. 2017, 2017.

- CANCES, E.; MENNUCCI, B. New applications of integral equations methods for solvation continuum models: ionic solutions and liquid crystals. *Journal of mathematical chemistry*, Springer, v. 23, n. 3-4, p. 309–326, 1998.
- CANCES, E.; MENNUCCI, B.; TOMASI, J. A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. *The Journal of chemical physics*, AIP, v. 107, n. 8, p. 3032–3041, 1997.
- DOUGHERTY, T. J. Activated dyes as antitumor agents. *Journal of the National Cancer Institute*, Oxford University Press, v. 52, n. 4, p. 1333–1336, 1974.
- FRISCH, M. J. et al. *Gaussian09 Revision E.01*. 2009. Gaussian Inc. Wallingford CT.
- GANDIN, E.; LION, Y.; VORST, A. Van de. Quantum yield of singlet oxygen production by xanthene derivatives. *Photochemistry and photobiology*, Wiley Online Library, v. 37, n. 3, p. 271–278, 1983.
- GIANOTTI, E. et al. An efficient rose bengal based nanoplatform for photodynamic therapy. *Chemistry—A European Journal*, Wiley Online Library, v. 20, n. 35, p. 10921–10925, 2014.
- GUPTA, V. Chapter 6 - electron density analysis and electrostatic potential. In: GUPTA, V. (Ed.). *Principles and Applications of Quantum Chemistry*. Boston: Academic Press, 2016. p. 195 – 214. ISBN 978-0-12-803478-1. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128034781000066>>.
- GUPTA, V. et al. Ab initio and experimental studies on structure and vibrational spectra of some partially reduced benzo [c] phenanthrenes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Elsevier, v. 72, n. 1, p. 82–101, 2009.
- HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. *Physical review*, APS, v. 136, n. 3B, p. B864, 1964.
- JHONSI, M. A.; SRINIVASAN, V.; KATHIRAVAN, A. Light induced behavior of xanthene dyes with benzyl viologen. *Synthetic Metals*, Elsevier, v. 196, p. 131–138, 2014.

- JR, T. H. D. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. i. the atoms boron through neon and hydrogen. *The Journal of chemical physics*, AIP, v. 90, n. 2, p. 1007–1023, 1989.
- KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Physical review*, APS, v. 140, n. 4A, p. A1133, 1965.
- LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the colle-salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical review B*, APS, v. 37, n. 2, p. 785, 1988.
- LEE, D. H. et al. In vitro bioassay of endotoxin using fluorescein as a ph indicator in a macrophage cell culture system. *Yonsei medical journal*, v. 46, n. 2, p. 268–274, 2005.
- MANOLOPOULOS, D. E.; MAY, J. C.; DOWN, S. E. Theoretical studies of the fullerenes: C<sub>34</sub> to c<sub>70</sub>. *Chemical Physics Letters*, Elsevier, v. 181, n. 2-3, p. 105–111, 1991.
- MARENICH, A. V.; CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *The Journal of Physical Chemistry B*, ACS Publications, v. 113, n. 18, p. 6378–6396, 2009.
- MENNUCCI, B.; CANCES, E.; TOMASI, J. Evaluation of solvent effects in isotropic and anisotropic dielectrics and in ionic solutions with a unified integral equation method: theoretical bases, computational implementation, and numerical applications. *The Journal of Physical Chemistry B*, ACS Publications, v. 101, n. 49, p. 10506–10517, 1997.
- MICHALÍK, M.; LUKEŠ, V. The validation of quantum chemical lipophilicity prediction of alcohols. *Acta Chimica Slovaca*, De Gruyter Open, v. 9, n. 2, p. 89–94, 2016.
- MOUSAJI, S. H. et al. Direct toxicity of rose bengal in mcf-7 cell line: role of apoptosis. *Food and chemical toxicology*, Elsevier, v. 47, n. 4, p. 855–859, 2009.
- ORMOND, A. B.; FREEMAN, H. S. Dye sensitizers for photodynamic therapy. *Materials*, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 6, n. 3, p. 817–840, 2013.

- PANZARINI, E.; INGUSCIO, V.; DINI, L. Overview of cell death mechanisms induced by rose bengal acetate-photodynamic therapy. *International Journal of Photoenergy*, Hindawi, v. 2011, 2011.
- PEDONE, A.; BARONE, V. Unraveling solvent effects on the electronic absorption spectra of tritc fluorophore in solution: a theoretical td-dft/pcm study. *Physical Chemistry Chemical Physics*, Royal Society of Chemistry, v. 12, n. 11, p. 2722–2729, 2010.
- PELLOSI, D. S. et al. Photophysical properties and interactions of xanthene dyes in aqueous micelles. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, Elsevier, v. 247, p. 8–15, 2012.
- PETERSON, K. A. et al. On the spectroscopic and thermochemical properties of clo, bro, io, and their anions. *The Journal of Physical Chemistry A*, ACS Publications, v. 110, n. 51, p. 13877–13883, 2006.
- PLAETZER, K. et al. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. *Lasers in medical science*, Springer, v. 24, n. 2, p. 259–268, 2009.
- PUSHPAN, S. et al. Porphyrins in photodynamic therapy-a search for ideal photosensitizers. *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, Bentham Science Publishers, v. 2, n. 2, p. 187–207, 2002.
- SOUZA, T. F. de et al. Photophysical and photochemical properties and aggregation behavior of phthalocyanine and naphthalocyanine derivatives. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, SciELO Brasil, v. 29, n. 6, p. 1199–1209, 2018.
- VLAHOVIĆ, F. Ž. et al. Density functional theory calculation of lipophilicity for organophosphate type pesticides. *J. Serb. Chem. Soc.*, v. 82, n. 12, p. 1369–1378, 2017.

---

## ANEXO

**Tabela A1 – Distâncias d em n-octanol, água e vácuo; Carbono - Oxigênio formando o anel lactona**

Molécula	d (n-octanol; Å)	d (água; Å)	d (gas; Å)
Benz1	2,68	2,68	2,68
Benz1_1	1,60	1,59	2,48
Benz2	2,66	—	2,64
Benz2_2	1,62	1,60	2,57
Benz4	1,59	1,58	3,48
Benz6	1,61	1,59	2,42
BenzBr	1,61	1,60	2,90
BenzBr_2	1,61	1,60	2,90
AcidCarb	2,72	2,71	2,75
AcidCarb_2	2,69	2,70	2,70
AcidCarb_3	2,71	2,70	2,72
Eter	1,57	1,57	3,51
OH	1,62	1,61	2,68
OH_1	2,70	2,70	2,72
OH_2	2,73	2,73	2,75
OH_3	2,67	2,67	2,67
Br4	1,60	1,59	2,42
Cl1	2,69	2,70	2,70
Cl1_1	2,67	2,66	2,67
Cl1_2	1,62	1,60	2,46
Cl2	2,71	2,71	2,72
Cl2_1	1,63	1,60	3,52
Cl4	3,34	1,61	2,47
F1	2,70	2,71	2,70
F1_1	2,70	2,69	2,70
F1_2	1,63	1,62	2,53
F2	2,69	2,70	2,71
F2_1	3,23	2,58	3,56
F4	3,21	3,19	3,52
I4	1,60	1,58	3,45
1-4 metil	1,60	1,59	2,44
metil	2,68	1,63	2,68
tetbutyl	2,71	1,63	2,69

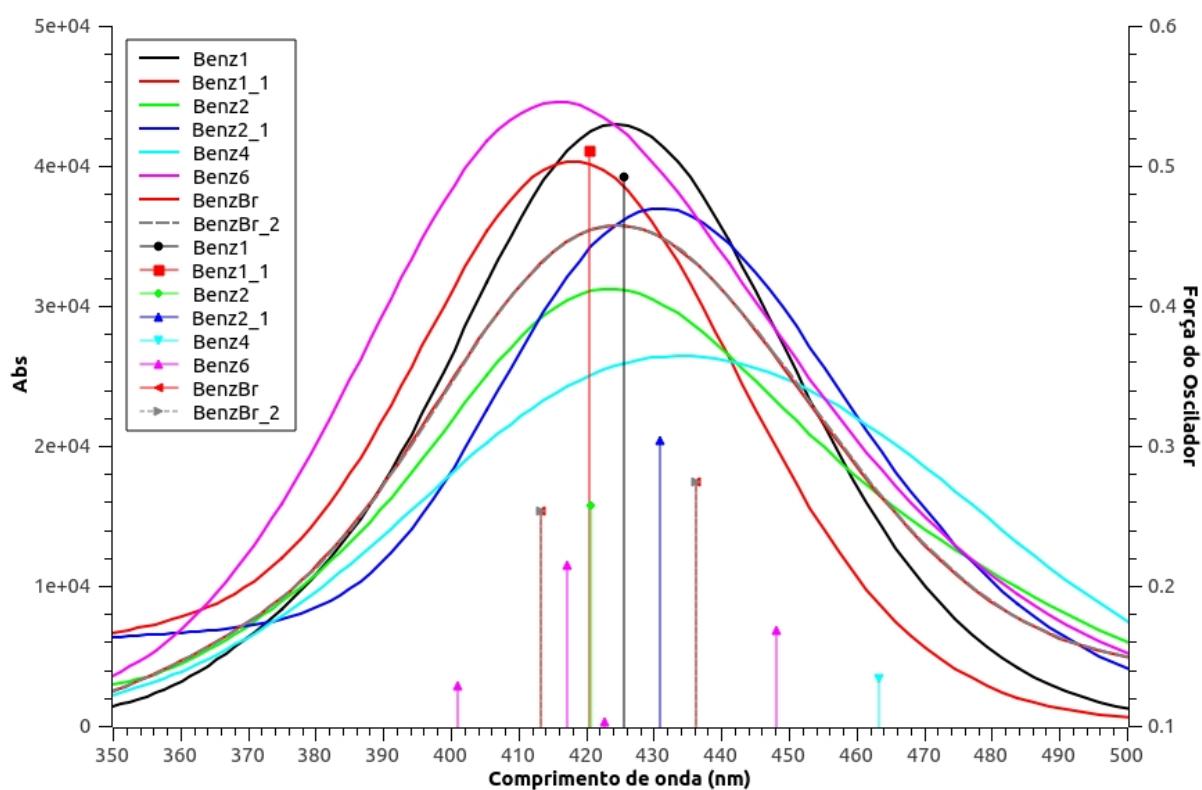


Figura A1 – Espectros de absorção do grupo Aromático.

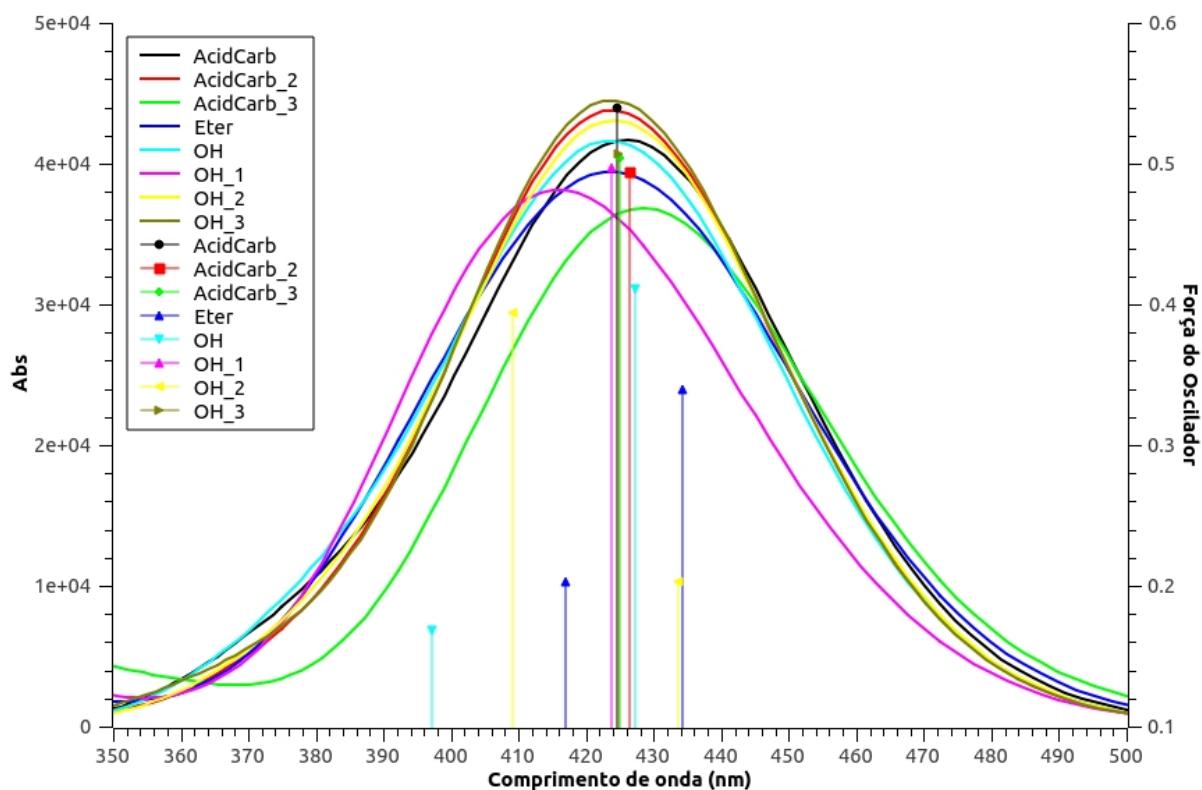


Figura A2 – Espectros de absorção do grupo Carboxílico.

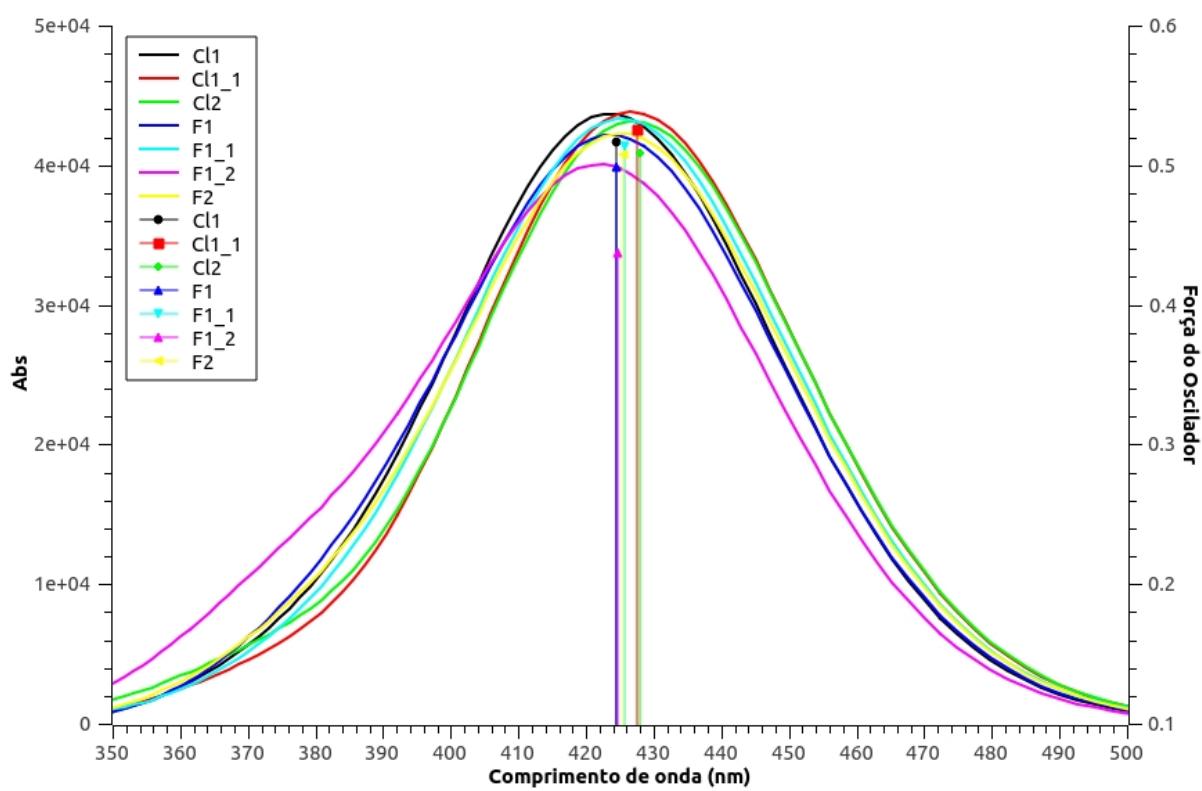


Figura A3 – Espectros de absorção do grupo Halogênios.

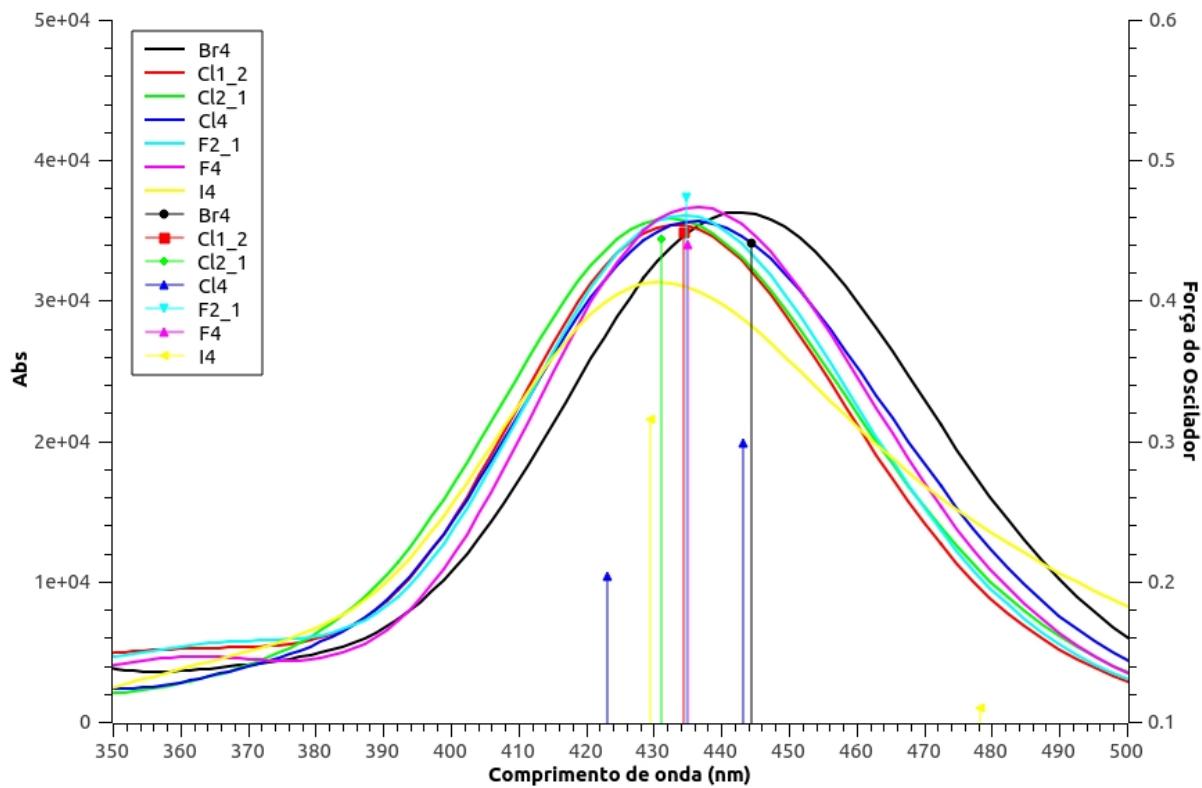
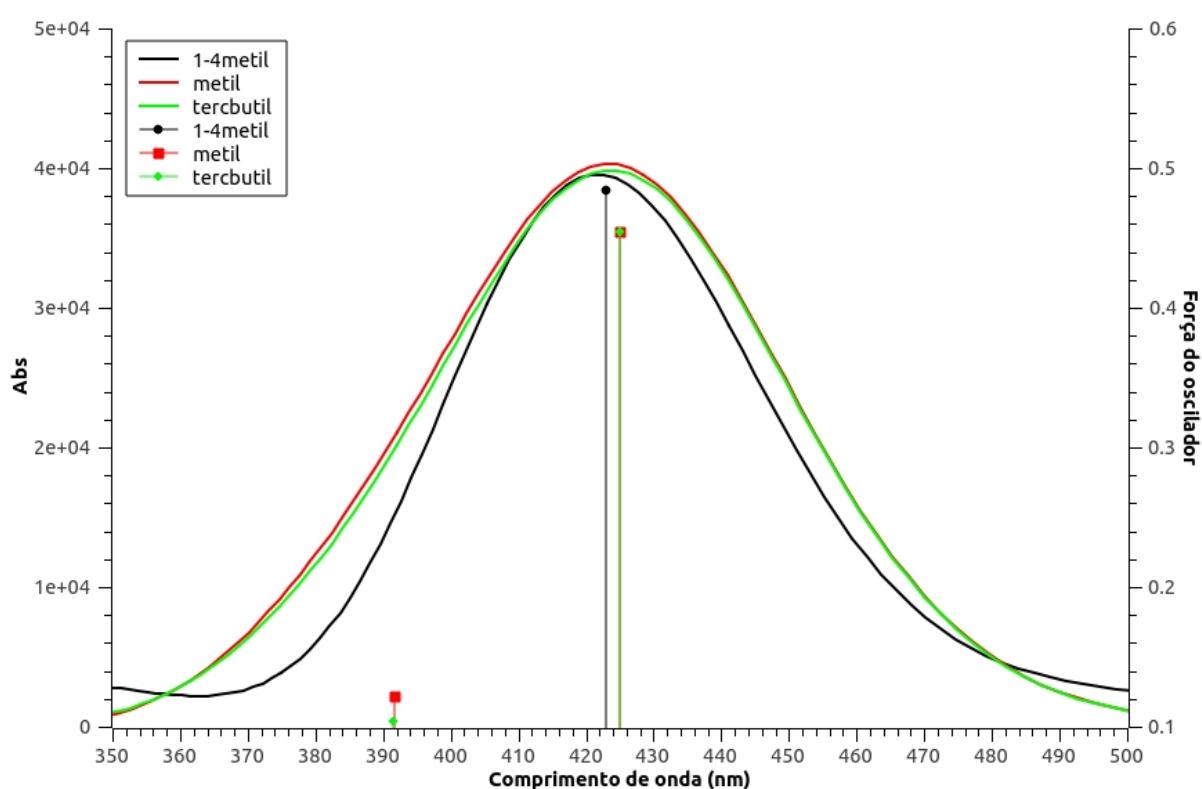


Figura A4 – Espectros de absorção do grupo Halogênios.



**Figura A5 – Espectros de absorção do grupo Metil.**

**Tabela A2 – Transições eletrônicas no visível com  $\lambda > 400$  nm e F.Osc.  $> 0,1$ . As transições em vermelho são de Tipo 1, em azul são de Tipo 2 e em preto não são bem definidas ou são misturadas**

Molécula	$\lambda$ (nm)	F. Osc	Contribuições principais
Benz1	425,54	0,4921	HOMO->L+1 (91%)
Benz1_1	420,41	0,5107	HOMO->L+1 (93%)
Benz2	471,57	0,0918	HOMO->L+1 (55%), HOMO->L+3 (45%)
Benz2_2	430,89	0,3037	H-2->L+1 (23%), H-1->L+1 (14%), HOMO->L+1 (54%)
Benz4	463,25	0,1334	H-1->L+1 (15%), H-1->L+2 (10%), HOMO->L+2 (53%), HOMO->L+5 (14%)
Benz6	448,18	0,1683	H-1->L+2 (32%), H-1->L+3 (15%), HOMO->L+2 (26%), HOMO->L+3 (16%)
BenzBr	436,18	0,2741	H-1->L+3 (21%), HOMO->L+3 (29%), HOMO->L+4 (11%), HOMO->L+6 (18%)
BenzBr_2	436,20	0,2738	H-1->L+3 (22%), HOMO->L+3 (29%), HOMO->L+4 (11%), HOMO->L+6 (18%)
AcidCarb	424,65	0,54	HOMO->L+1 (95%)
AcidCarb_2	426,50	0,4937	HOMO->L+1 (91%)
AcidCarb_3	425,05	0,504	HOMO->LUMO (91%)
Eter	434,33	0,3392	H-3->LUMO (28%), HOMO->LUMO (63%)
OH	427,18	0,4105	H-3->LUMO (18%), HOMO->LUMO (81%)
OH_1	423,85	0,4966	HOMO->LUMO (91%)
OH_2	433,63	0,2027	H-1->LUMO (51%), HOMO->LUMO (48%)
OH_3	424,81	0,5071	HOMO->LUMO (92%)
Br4	444,55	0,441	H-1->L+1 (10%), HOMO->L+1 (87%)
Cl1	424,44	0,5167	HOMO->LUMO (93%)
Cl1_1	427,52	0,5259	HOMO->LUMO (94%)
Cl1_2	434,33	0,4491	HOMO->LUMO (82%)
Cl2	427,99	0,5083	HOMO->LUMO (93%)
Cl2_1	431,07	0,4436	H-1->LUMO (22%), HOMO->LUMO (72%)
Cl4	443,34	0,2991	H-1->LUMO (30%), HOMO->LUMO (57%)
F1	424,55	0,4984	HOMO->LUMO (91%)
F1_1	425,64	0,5141	HOMO->LUMO (92%)
F1_2	424,76	0,4377	HOMO->LUMO (83%)
F2	425,54	0,5076	HOMO->LUMO (92%)
F2_1	434,74	0,474	HOMO->LUMO (85%)
F4	434,96	0,4401	H-2->LUMO (11%), HOMO->LUMO (77%)
I4	478,22	0,1094	HOMO->L+2 (24%), HOMO->L+3 (42%), HOMO->L+5 (32%)
1-4 metil	422,88	0,4838	H-1->LUMO (20%), HOMO->LUMO (68%)
metil	425,04	0,454	H-3->LUMO (11%), HOMO->LUMO (87%)
tetbutyl	425,10	0,4541	H-3->LUMO (10%), HOMO->LUMO (88%)

**Tabela A3 – Coeficientes de partição em agua/vacuo para moléculas protonadas**

Molécula	log P	Molécula	log P
<i>Benz1</i>	-11,803	<i>AcidCarb</i>	-15,032
<i>Benz1_1</i>	-10,842	<i>AcidCarb_2</i>	-14,904
<i>Benz2</i>	-12,322	<i>AcidCarb_3</i>	-14,317
<i>Benz2_2</i>	-11,192	<i>Eter</i>	-13,774
<i>Benz4</i>	-13,565	<i>OH</i>	-13,187
<i>Benz6</i>	-11,365	<i>OH_1</i>	-13,333
<i>BenzBr</i>	-11,401	<i>OH_2</i>	-11,402
<i>BenzBr_2</i>	-12,191	<i>OH_3</i>	-13,548
<i>Cl1</i>	-11,410	<i>Br4</i>	-10,611
<i>Cl1_1</i>	-11,560	<i>F1</i>	-11,481253
<i>Cl1_2</i>	-10,890	<i>F1_1</i>	-11,635342
<i>Cl2</i>	-11,492	<i>F1_2</i>	-11,181354
<i>Cl2_1</i>	-10,450	<i>F2</i>	-11,516670
<i>Cl4</i>	-9,982	<i>F2_1</i>	-11,017
<i>1-4 metil</i>	-10,026	<i>F4</i>	-10,704
<i>metil</i>	-11,871	<i>I4</i>	-10,634
<i>tertbutyl</i>	-11,690538	–	–