

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BIANCA ALOISE MANEIRA CORRÊA

**MODELAGEM MOLECULAR, *DOCKING* E ESTUDOS TEÓRICOS DO ESPECTRO
ELETRÔNICO DE ABSORÇÃO DE DERIVADOS DA BENZOFENONA**

Orientadores: Prof. Dr. Carlos Rangel Rodrigues
Profa. Dra. Elisabete Pereira dos Santos

Rio de Janeiro
2010

BIANCA ALOISE MANEIRA CORRÊA

**MODELAGEM MOLECULAR, *DOCKING* E ESTUDOS TEÓRICOS DO ESPECTRO
ELETRÔNICO DE ABSORÇÃO DE DERIVADOS DA BENZOFENONA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadores: Prof. Dr. Carlos Rangel Rodrigues

Profa. Dra. Elisabete Pereira dos Santos

Rio de Janeiro

2010

Corrêa, Bianca Aloise Maneira

Modelagem molecular, docking e estudos teóricos do espectro eletrônico de absorção de derivados da benzofenona / Bianca Aloise Maneira Corrêa – Rio de Janeiro : UFRJ / Faculdade de Farmácia, 2010.

110 f. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Carlos Rangel Rodrigues e Elisabete Pereira dos Santos.

Dissertação (mestrado) – UFRJ / Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2010.

Referências bibliográficas: f. 104-110.

BIANCA ALOISE MANEIRA CORRÊA

**MODELAGEM MOLECULAR, DOCKING E ESTUDOS TEÓRICOS DO ESPECTRO
ELETRÔNICO DE ABSORÇÃO DE DERIVADOS DA BENZOFENONA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em _____ de _____ de 2010.

Prof. Dr. Carlos Rangel Rodrigues - Orientador
Faculdade de Farmácia – UFRJ (Presidente)

Profa. Dra. Elisabete Pereira dos Santos - Orientadora
Faculdade de Farmácia - UFRJ

Prof. Dr. Lucio Mendes Cabral
Faculdade de Farmácia - UFRJ

Prof. Dr. Arlan da Silva Gonçalves
Instituto Federal do Espírito Santo – IFES

Profa. Dra. Adriane Regina Todeschini
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - UFRJ

Profa. Dra. Rita de Cássia Elias Estrela Marins
Faculdade de Farmácia – UFRJ (suplente)

Profa. Dra. Magaly Girão Albuquerque
Instituto de Química – UFRJ (suplente)

Rio de Janeiro

2010

***Aos meus pais e irmãos pelo amor, confiança, apoio e compreensão.
Dedico-lhes esta conquista como gratidão.***

AGRADECIMENTOS

À minha família amada, Claudia, Wilson, Vitor e Fábio. Agradeço por acreditarem em mim e nos meus sonhos, por todo apoio, incentivo, e também pela compreensão. Obrigada por sempre estarem presentes, mesmo com a distância.

Ao Carlos Eduardo, meu companheiro de toda a vida, pelo apoio, paciência e presença constante nessa jornada. Obrigada por me trazer sempre felicidade.

À professora Elisabete Pereira dos Santos que me abriu as portas para essa etapa de vida na Universidade Federal do Rio de Janeiro e me apresentou ao professor Carlos Rangel Rodrigues, meu orientador.

Ao professor Carlos Rangel Rodrigues, por me aceitar como aluna e pela oportunidade, confiança e apoio. Obrigada por toda a atenção, tempo e esforço dedicados.

Aos meus tios, Kátia e Mauro, que me incentivaram e proporcionaram a oportunidade de estar aqui no Rio de Janeiro, e a minha tia amiga Shirley, sempre próxima e presente. Obrigada por todo apoio que me deram, não só nessa fase, mas também em todas da minha vida.

À todos os meus parentes, avós, tios e primos e às minhas amigas, que mesmo com a distância, continuaram participando da minha vida e estiveram sempre na torcida.

Aos alunos do Laboratório ModMolQSAR-3D da Faculdade de Farmácia da UFRJ pelo apoio. A Alessandra e ao Arlan pela essencial ajuda na elaboração do trabalho.

Aos professores e colaboradores do programa de pós-graduação pelos ensinamentos e orientações e em especial à professora Magaly G. Albuquerque que enriqueceu o trabalho com suas aulas e considerações.

Aos professores da banca por gentilmente aceitarem o convite e pelas contribuições.

Ao CNPq, CAPES e FAPERJ pelo apoio financeiro que foi fundamental para a realização deste trabalho.

“Minha doce donzela!

Enfrente a tempestade noturna, como os pássaros.

Ao amanhecer, mesmo com seus ninhos derrubados,

Eles cantam sem palco e platéia!

Para eles, a vida é uma grande festa!

Minha querida princesa!

Não tenha medo da vida,

Tenha medo de não viver;

Não tenha medo de cair,

Tenha medo de não caminhar.”

(Augusto Cury)

RESUMO

Corrêa, Bianca Aloise Maneira. **Modelagem molecular, *docking* e estudos teóricos do espectro eletrônico de absorção de derivados da benzofenona.** Rio de Janeiro, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

As benzofenonas possuem a habilidade de absorver e dissipar a radiação ultravioleta (UV) e, por isso, são muito utilizadas como filtros UV na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética. Diversas publicações apontam a presença sistêmica de benzofenonas após aplicação cutânea ou ingestão de alimentos que mantiveram contato direto com plásticos cuja composição apresenta benzofenonas. A benzofenona-3 é o principal alvo desses estudos, devido à sua elevada aplicação em formulações fotoprotetoras. Diversas publicações evidenciam absorção, bioacumulação, metabolização e excreção da benzofenona-3. Do ponto de vista toxicológico, diversos estudos avaliam a atividade das benzofenonas como desreguladores endócrinos. A atividade estrogênica das benzofenonas é identificada por uma série de estudos *in vitro* e *in vivo*. O objetivo desse trabalho é a aplicação de técnicas de modelagem molecular no estudo de derivados da benzofenona visando gerar informações estruturais e eletrônicas importantes que possam ser empregadas para o desenho racional de novos compostos com atividade fotoprotetora, mas que não apresentem atividade estrogênica evidenciada em muitos desses derivados. Para isso, utilizou-se uma série de derivados da benzofenona e buscou-se identificar parâmetros estruturais e eletrônicos que possam ser correlacionados com a atividade estrogênica, bem como o estudo de *docking* em receptor de estrogênio e o cálculo do espectro eletrônico de absorção UV visando obter uma metodologia robusta que possa avaliar a faixa de absorção no espectro UV desses derivados. Os resultados do estudo de SAR apontaram que a alta densidade eletrônica na posição *para* dos anéis A e B como uma característica importante para a interação com o receptor de estrogênio. No estudo de *docking* do derivado com maior atividade estrogênica foram identificadas três interações por ligação hidrogênio, duas com os mesmos resíduos que o 17 β -estradiol faz, Glu353 e Arg394, e uma com o resíduo Thr347. Observaram-se também interações hidrofóbicas. No estudo do espectro eletrônico teórico, método TD-DFT, foi possível

identificar as contribuições em termos de orbitais moleculares das principais transições eletrônicas. Os máximos teóricos estão de acordo com as faixas dos máximos de absorção obtidos experimentalmente. O presente trabalho compila informações estruturais e eletrônicas importantes sobre derivados da benzofenona, que podem ser racionalizadas em estudos posteriores visando o desenvolvimento de novos compostos utilizados como filtros UV, mas que não apresentem atividade estrogênica, portanto, eficazes e mais seguros.

ABSTRACT

The benzophenones have the ability to absorb and dissipate ultraviolet (UV) and therefore are widely used in pharmaceutical, food and cosmetics as UV filters. Several publications indicate the presence of systemic benzophenones after dermal application or ingestion of foods that have maintained their surface in contact with plastics whose composition has benzophenones. The benzophenone-3 is the main target of these studies, due to its high application in formulations sunscreens. Several publications show the absorption, bioaccumulation, metabolism and excretion of benzophenone-3. From the toxicological point of view, several studies evaluating the activity of benzophenones as endocrine disrupters. The estrogenic activity of the benzophenones is identified by a series of *in vitro* and *in vivo*. The aim of this work is the application of molecular modeling techniques in the study of benzophenone derivatives in order to generate structural and electronic information that may be employed for the rational design of new compounds with sunscreen activity, but that did not show estrogenic activity evident in many of these derivatives. For this, we used a series of derivatives of benzophenone and sought to identify structural and electronic parameters that can be correlated with estrogenic activity, as well as the study of estrogen receptor in docking and calculation of the electronic spectrum of UV absorption to obtain a robust methodology that can evaluate the range of UV absorption spectra of these derivatives. The results of the SAR indicated that the high electron density in para position for the rings A and B as an important feature for interaction with the estrogen receptor. In the study by docking the derivative with greater estrogenic activity by three hydrogen bond interactions, two with the same residues that 17 β -estradiol does, Glu353 Arg394, and one with the Thr347 residue, were identified. There were also hydrophobic and electrostatic interactions. In the theoretical study of the electronic spectrum, TD-DFT method, it was possible to identify the contributions in terms of molecular orbitals of the main electronic transitions. The theoretical maximum are in agreement with the bands of maximum absorption obtained experimentally. This work compiles structural and electronic information of benzophenones, which can be streamlined in future studies aimed at developing new compounds as UV absorbers, but that did not show estrogenic activity, therefore, more effective and safe.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do DDT, Bisfenol A, DES e Estradiol.....	23
Figura 2. Estrutura química geral dos ftalatos.	24
Figura 3. Estrutura comum dos hormônios esteroidais, representada pelo composto ciclopentaperhidrofenantreno. A numeração é IUPAC (SODERO, 2007).	25
Figura 4. Diagrama esquemático ilustrativo da distribuição de ER- α e ER- β no tecido de ratos machos e fêmeas (FITOESTROGÊNIOS, 2010).....	28
Figura 5. Comparação entre as seqüências de aminoácidos dos receptores de estrogênio α e β (SODERO, 2007). Entre parênteses estão indicados o percentual de identidade entre as seqüências dos domínios A/B, C, D, E e F.	29
Figura 6. Estruturas químicas dos estrogênios endógenos: 17 β -estradiol, estrona e estriol.....	29
Figura 7. Representação da estrutura tridimensional do LBD do ER- α complexado ao 17 β -estradiol obtida por difração de raios-X (código PDB: 1ERE): (A) principais estruturas secundárias ao redor do ligante; (B) interações por ligação hidrogênio do ligante com o LBD (SODERO, 2007).	30
Figura 8. Espectro eletromagnético e os tipos de transições (KLÀN & WIRZ, 2009)	31
Figura 9. Representação esquemática dos tipos de transições eletrônicas.	33
Figura 10. Diagrama de Jablónski: Os processos fotofísicos são representados por (1) absorção de luz, (2) conversão interna (IC), (3) fluorescência, (4) cruzamento entre sistemas (ISC) e (5) fosforescência (PAULA, 2003).	34
Figura 11. Estrutura química da benzofenona.....	35
Figura 12. Estrutura química da benzofenona-3.....	36
Figura 13. Tipos de transições eletrônicas presentes na excitação fotoquímica das benzofenonas (S_0 – estado fundamental, S_1 – primeiro estado excitado singlete, S_2 – segundo estado excitado singlete)	37
Figura 14. Processo de emissão de energia da benzofenona (Adaptado de BARTON <i>et al.</i> , 2010)	38

- Figura 15.** Rota de metabolização em ratos proposta para a benzofenona-3 (1. Formação dos produtos intermediários: (2) 2,2-Dihidróxi-4-metoxibenzofenona, (3) 2,4-Dihidroxibenzofenona e (4) 2,3,4-Trihidroxibenzofenona (JEON *et al.*, 2008). ...39
- Figura 16.** Erros médios da entalpia de formação, momento de dipolo, potencial de ionização e distância interatômica, os erros médios. Comparação entre os métodos RM1, AM1, PM3 e PM5 (ROCHA *et al.*, 2006).....45
- Figura 17.** Distribuição dos valores de atividade (pEC_{50}) dos 16 derivados da benzofenona selecionados para o estudo de SAR (SUZUKI *et al.*, 2005).55
- Figura 18.** Numeração dos átomos na benzofenona.....56
- Figura 19.** Fluxograma da metodologia.....60
- Figura 21.** (a) Estrutura da benzofenona não otimizada - Impedimento estérico, entre os átomos de hidrogênio destacados em amarelo, observado na estrutura da benzofenona que apresenta planaridade entre os anéis (Modelo CPK). (b) Estrutura da benzofenona otimizada (Modelo de varetas) (c) Estrutura da benzofenona otimizada em modelo CPK (Corey Pauling Koltum).62
- Figura 23.** Atividade estrogênica (pEC_{50}) dos derivados monohidroxilados: derivado *orto*-substituído (02), *meta*-substituído (03) e *para*-substituído (04).....66
- Figura 24.** Atividade estrogênica (pEC_{50}) dos derivados 4-Hidroxibenzofenona (04), 2,2'-Dihidroxibenzofenona (05), 2,4-Dihidroxibenzofenona (06) e 4,4'-Dihidroxibenzofenona (07).66
- Figura 25.** Atividade estrogênica (pEC_{50}) dos derivados mais potentes do estudo de SUZUKI *et al.*, 2005.68
- Figura 26.** Alinhamento e sobreposição dos compostos 07 e 09. Tracejado amarelo aponta a interação por ligação hidrogênio do grupo 2-hidroxil com a carbonila.....68
- Figura 27.** Estrutura dos compostos 06 ($pEC_{50}=-0,10$) e 08 ($pEC_{50}=-1,07$) e dos compostos 09 ($pEC_{50}=1,00$) e 11 ($pEC_{50}=-1,50$) em modelo CPK e área exposta (Å^2) dos átomos de oxigênio e hidrogênio dos substituintes *para*-hidroxila.....70
- Figura 28.** Correlação linear de Pearson: Energia de LUMO (E_{LUMO}) e atividade estrogênica (pEC_{50}) da série de derivados da benzofenona (01-16).....73

- Figura 29.** Distância entre os átomos de hidrogênio dos compostos 10 (esquerda) e 15 (direita) (modelo CPK).....74
- Figura 30.** Mapa de densidade do Orbital Molecular de Menor Energia Desocupado (LUMO) da série de derivados (01-16) codificado na faixa de vermelho profundo (0,00) a azul profundo (0,02) sobre uma superfície de densidade eletrônica constante de $0,002 \text{ eV/ua}^3$, as áreas azuis e vermelhas indicam menores e maiores valores de energia LUMO, respectivamente.75
- Figura 31.** Mapa de densidade do Orbital Molecular de Maior Energia Ocupado (HOMO), codificado na faixa de vermelho profundo (0.00) a azul profundo (0.02) sobre uma superfície de densidade eletrônica constante de $0,002 \text{ eV/ua}^3$, as áreas azuis e vermelhas indicam maiores e menores valores de energia de HOMO, respectivamente.76
- Figura 32.** Mapa do potencial eletrostático molecular (MEP) codificado na faixa de - 100 a 100 kJ/mol sobre uma superfície de densidade eletrônica constante de $0,002 \text{ eV/ua}^3$. Compostos destacados (07, 09, 10 e 12) apresentam maior atividade estrogênica.....78
- Figura 33.** Alinhamento e sobreposição das benzofenonas mais ativas (07, 09, 10 e 12 – em cinza) e do 17β -estradiol (em rosa).....80
- Figura 34.** Agrupamento em clusters (RMSD inferiores a 2.0 \AA) dos “poses” do derivado 09. Em vermelho, cluster de menor energia com 10 “poses”.81
- Figura 35.** Ligações de hidrogênio do derivado 09 com os resíduos de aminoácido Arg394, Glu353 e Thr347 do LBD do receptor de estrogênio (ER- α) (código do PDB: 1ERE).....82
- Figura 36.** Interações de *van der Waals* observadas entre o ligante (derivado 09) e o LBD do receptor de estrogênio (ER- α) (código do PDB: 1ERE).83
- Figura 37.** Modo de ligação da delfinidina no LBD do receptor de estrogênio (ER- α) (Adaptado de CHALOPIN *et al.*, 2010).....84
- Figura 38.** Estrutura química do DDT e o HPTE.....85
- Figura 39.** Ligação do (A) DDT, (B) HPTE (conformação 1) e (C) HPTE (conformação 2) no sítio de ligação do receptor de estrogênio (Adaptado de CELIK *et al.*, 2008).86

Figura 40. Comparação entre os espectros eletrônicos calculados da benzofenona (01).....	90
Figura 41. Coeficientes dos orbitais envolvidos na transição mais intensa ($\pi \rightarrow \pi^*$) para a benzofenona (01).	92
Figura 42. Coeficientes dos orbitais envolvidos na transição de menor energia para a benzofenona (01).	92
Figura 43. Comparação entre os espectros de absorção calculados e experimental da benzofenona-3 (derivado 13).	94
Figura 44. Coeficientes dos orbitais envolvidos nas transições eletrônicas do derivado 13.....	96
Figura 45. Representação esquemática da transferência de próton intramolecular no estado excitado (ESPT) (Adaptado de BAUGHMAN <i>et al.</i> , 2009).....	96
Figura 46. Comparação entre os espectros eletrônicos calculados para o derivado 14.	99
Figura 47. Coeficientes do orbitais de HOMO-2, HOMO e LUMO do derivado 14....	100
Figura 48. Representação esquemática da transferência de próton intramolecular no estado excitado (ESPT) da dioxibenzona (Adaptado de BAUGHMAN <i>et al.</i> , 2009).	101

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Características típicas de alguns cromóforos (PAULA, 2003).	32
Tabela 2. Estrutura química e valores de pEC ₅₀ (SUZUKI <i>et al.</i> , 2005) da série de 16 derivados da benzofenona	54
Tabela 3. Ângulos de inclinação para os confôrmers de menor energia da série de derivados da benzofenona (01-16). ($\omega_{A/B}$ = ângulo de inclinação (C ₇ C ₄ C ₁₀ C ₁₃) formado entre os planos contendo os anéis aromáticos A e B).	63
Tabela 4. Parâmetros calculados (volume, energia de HOMO e LUMO, dipolo molecular e cLogP) e atividade estrogênica (pEC ₅₀) experimental (SUZUKI <i>et al.</i> , 2005) dos derivados da benzofenona.	72
Tabela 5. Distância entre os átomos de oxigênio das hidroxilas da posição <i>para</i> dos compostos em estudo e das hidroxilas do 17 β -estradiol.....	79
Tabela 6. Medida experimental dos comprimentos de onda máximos ($\lambda_{\text{máx}}$ em nm) para a benzofenona (01), oxibenzona (13) e dioxibenzona (14) em diferentes solventes.	88
Tabela 7. Comprimentos de onda (λ) e força de oscilação (f) do derivado 01 (benzofenona). Transições calculadas utilizando o método TD-DFT (B3LYP/6-31G*) no vácuo e etanol, programa Spartan' 08 e apenas no vácuo, programa GAMESS US (Vácuo-G), e os comprimentos de onda máximos do espectro eletrônico experimental (etanol) ^a	89
Tabela 8. Transições calculadas (eV e nm) dos nove estados de menor energia, força de oscilação (f) e composição em termos dos orbitais moleculares (MO) das transições do derivado 01 (benzofenona).	91
Tabela 9. Comprimentos de onda (λ) e força de oscilação (f) do derivado 13 (oxibenzona). Transições calculadas utilizando o método TD-DFT (B3LYP/6-31G*) no vácuo e etanol, programa Spartan' 08 e apenas no vácuo, programa GAMESS US (Vácuo-G), e os comprimentos de onda máximos do espectro eletrônico experimental (etanol) ^a	93

Tabela 10. Transições calculadas (eV e nm) dos nove estados de menor energia, força de oscilação (f) e composição em termos dos orbitais moleculares (MO) das transições do derivado 13 (dioxibenzona).....95

Tabela 11. Comprimentos de onda (λ) e força de oscilação (f) do derivado 14 (dioxibenzona). Transições calculadas utilizando o método TD-DFT (B3LYP/6-31G*) no vácuo e etanol, programa Spartan' 08 e apenas no vácuo, programa GAMESS US (Vácuo-G).....98

Tabela 12. Transições calculadas (eV e nm) dos nove estados de menor energia, força de oscilação (f) e composição em termos dos orbitais moleculares (MO) do derivado 2,2'-Hidróxi-4-metoxibenzofenona (14).....100

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Mecanismos de alteração da homeostase de hormônios esteróides sexuais ¹	26
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AM1	Modelo Austin 1 (<i>Austin Model 1</i>)
BFs	Benzofenonas
BF-3	Benzofenona-3
BF-4	Benzofenona-4
BF-8	Benzofenona-8
BF-5	Benzofenona-5
CHELPG	Cargas de Potencial Eletrostático (<i>Charges from Electrostatic Potentials using Grid-Based Method</i>)
CSD	Banco de dados estrututais de Cambridge (<i>Cambridge Structural Database</i>)
DDT	Dicloro-difenil-tricloro
DDE	2,2-bis- <i>p</i> -clorofenil-1,1-dicloroetileno
DES	Dietilelbestrol
DFT	Teoria do Funcional da Densidade (<i>Density Functional Theory</i>)
DHHB	2-(4'-dietilamino-2'-hidroxibenzoil)-benzoato de hexila
ER	Receptores de estrogênio (<i>Estrogen receptor</i>)
ESPT	Transferência de próton no estado excitado (<i>Excited State Proton Transfer</i>)
hER α	Receptores de estrogênio α humano
HF	Teoria de Hartree-Fock
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia (<i>High Occupied Molecular Orbital</i>)

HPTE	2,2'-dihidroxifenil-1,1,1-tricloroetano
IC	Conversão interna (<i>Internal Conversion</i>)
ISC	Conversão intersistemas (<i>Intersystem Crossing</i>)
LBD	Domínio de ligação do ligante (<i>Ligand Binding Domain</i>)
LDA	Aproximação da densidade local (<i>Local Density Approximation</i>)
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energia (<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
MEP	Potencial eletrostático molecular (<i>Molecular Electrostatic Potential</i>)
MM	Mecânica molecular (<i>Molecular Mechanics</i>)
MMFF	Campo de forças molecular da Merck (<i>Merck Molecular Force Field</i>)
PDB	Banco de dados da proteína (<i>Protein Data Bank</i>)
PM3	Método Paramétrico 3 (<i>Parametric Method 3</i>)
PM5	Método Paramétrico 5 (<i>Parametric Method 5</i>)
PVC	Cloreto de polivinila
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMSD	Raiz do Quadrado Médio dos Desvios (<i>Root Mean Square Deviation</i>)
SAR	Relação estrutura-atividade (<i>Structure-Activity Relationship</i>)
StAR	Regulador da esteroidogênese aguda (<i>Steroidogenic Acute Regulator</i>)
TD-DFT	Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (<i>Time dependent Density-Functional Theory</i>)
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
1.1. DESREGULADORES ENDÓCRINOS	22
1.1.1. Sistema endócrino	24
1.1.2. Alteração da homeostase de hormônios esteróides sexuais	26
1.2. AGONISTAS NATURAIS DE RECEPTOR DE ESTROGÊNIO	27
1.2.1. Receptores de estrogênio	27
1.2.2. Estrogênios naturais	29
1.3. FOTOFÍSICA E FOTOQUÍMICA MOLECULAR	31
1.4. BENZOFENONAS	35
1.4.1. Mecanismo de absorção da radiação UV	37
1.4.2. Desregulação endócrina por derivados da benzofenona	38
1.5. MODELAGEM MOLECULAR	40
1.5.1. Mecânica molecular	41
1.5.2. Mecânica quântica	42
1.5.3. Teoria do Funcional da Densidade (DFT)	45
1.5.4. Análise conformacional	47
1.5.5. Descritores moleculares	48
1.5.5.1. Energia dos orbitais moleculares	48
1.5.5.2. Densidades de HOMO e LUMO	49
1.5.5.3. Coeficientes de HOMO e LUMO	49
1.5.5.4. Momento de dipolo molecular	49
1.5.5.5. Mapa do Potencial Eletrostático molecular	50
2. JUSTIFICATIVA	51
3. OBJETIVOS	52
3.1. OBJETIVO GERAL	52
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	52
4. METODOLOGIA	53
4.1. DADOS BIOLÓGICOS: SÉRIE DE DERIVADOS DA BENZOFENONA	53

4.2. ESTUDO DA RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE (SAR) DE UMA SÉRIE DE DERIVADOS DA BENZOFENONA (01-16) COM PERFIL DE ATIVIDADE ESTROGÊNICA.....	55
4.2.1. Construção e otimização das estruturas tridimensionais.....	55
4.2.2. Cálculo das propriedades eletrônicas.....	56
4.3. ESTUDO DE DOCKING DO COMPOSTO MAIS ATIVO (09) DA SÉRIE DE DERIVADOS DA BENZOFENONA.....	57
4.4. CÁLCULO DO ESPECTRO UV-VIS DOS COMPOSTOS (01, 13 e 14) DERIVADOS DA BENZOFENONAS	58
4.4.1. Estudo do espectro eletrônico de absorção UV-Vis realizado no programa Spartan' 08	58
4.4.2. Estudo do espectro eletrônico de absorção UV-Vis realizado no programa GAMESS US	59
4.5. FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA.....	59
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1. ESTUDO DA RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE DE DERIVADOS DA BENZOFENONA COM PERFIL ESTROGÊNICO.....	61
5.1.1. Análise conformacional.....	61
5.1.2. Análise dos dados de atividade estrogênica e dos dados obtidos a partir dos cálculos de modelagem molecular da série de derivados da benzofenona (01-16) 65	
5.1.2.1. Parâmetros estereoeletrônicos teóricos.....	71
5.1.2.2. Mapa da densidade LUMO	74
5.1.2.3. Mapa da densidade HOMO.....	75
5.1.2.4. Mapa de potencial eletrostático molecular (MEP)	77
5.1.2.5. Distâncias interatômicas	79
5.2. ESTUDO DE DOCKING DO COMPOSTO MAIS ATIVO (09).....	80
5.3. ESTUDO TEÓRICO DO ESPECTRO ELETRÔNICO DE ABSORÇÃO UV DE DERIVADOS DA BENZOFENONA.....	86
5.3.1. Estudo teórico do espectro eletrônico do derivado (01).....	88
5.3.1.1. Configuração das principais transições eletrônicas do derivado 01	91
5.3.2. Estudo teórico do espectro eletrônico do derivado 13	93
5.3.2.1. Configuração das principais transições eletrônicas do derivado 13	95

5.3.3. Estudo do espectro eletrônico teórico do derivado 14	97
5.3.3.1. Configuração das principais transições eletrônicas do derivado 14	99
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	102
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

1. INTRODUÇÃO

1.1. DESREGULADORES ENDÓCRINOS

Os desreguladores, disruptores ou interferentes endócrinos são substâncias exógenas, que atuam sobre as funções do sistema endócrino, resultando em efeitos adversos no desenvolvimento e nas funções reprodutivas de animais e seres humanos e seus descendentes. Essas alterações podem ocorrer por diferentes mecanismos, como pelo dano ou alteração de um órgão endócrino; interação com receptores hormonais atuando como agonista ou antagonista; e interferência na síntese, armazenamento, liberação, transporte, metabolismo e eliminação de hormônios endógenos (COM, 1999; BLAIR *et al.*, 2000; BILA, 2005; BILA & DEZOTTI, 2007; GHISELLI & JARDIM, 2007).

Os desreguladores endócrinos podem ser provenientes de diferentes fontes, incluindo pesticidas, substâncias químicas, farmacêuticas e fitoquímicas, e a exposição humana pode ser pelo ambiente de trabalho, produtos de consumo (alimentos, cosméticos, saneantes) ou pelo ar, água e solo, devido a poluentes ambientais (COM, 1999; GOLOUBKOVA; SPRITZER, 2000; SUZUKI *et al.*, 2005; BILA, 2005).

Inúmeros compostos, com diferentes funções químicas, podem atuar como desreguladores endócrinos, e por isso, torna-se mais difícil a predição dessa propriedade. São exemplos de xenoestrogênios, isto é xenobióticos com estrutura não esteróide que apresentam atividade similar aos estrogênios endócrinos, o organoclorado DDT (1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil) etano), um dos pesticidas mais utilizados em todo o mundo entre os anos de 1950 e 1960, e o Bisfenol A (4,4'-dihidróxi-2,2-difenilpropano), monômero de plástico policarbonato, muito utilizado em plásticos, revestimento de latas de alimentos, complexos dentários para obturações e embalagens de remédios (HESS, 2010).

O núcleo esteróide não é essencial para a atividade agonista sobre os receptores de estrogênio. O Bisfenol A e o DDT possuem pouca relação estrutural com o estradiol, estrogênio humano, porém, são semelhantes ao dietilestilbestrol

(DES), potente agonista de receptor de estrogênio (Figura 1) (COM, 1999; GOLOUBKOVA; SPRITZER, 2000; SODERO, 2007).

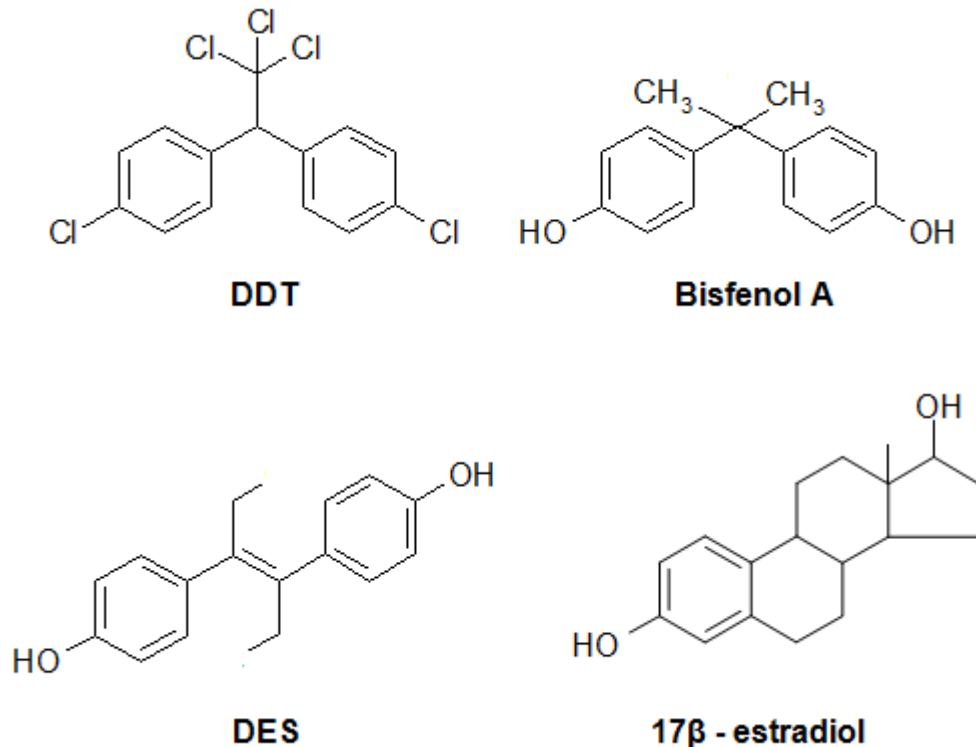


Figura 1. Estrutura química do DDT, Bisfenol A, DES e Estradiol.

O DES, potente estrogênio sintético, era prescrito para mulheres grávidas, com o intuito de evitar abortos e promover o crescimento fetal. Porém, atua como desregulador endócrino para o feto em desenvolvimento. No período intra-uterino, a exposição ao DES pode resultar em anomalias congênitas e na puberdade e fase adulta, redução na fertilidade, desordem no sistema imunológico, gravidez anormal ou algum tipo raro de câncer vaginal (COM, 1999; GOLOUBKOVA; SPRITZER, 2000; SUZUKI *et al.*, 2005; BILA, 2005).

Outro exemplo de desregulador com atividade estrogênica são os alquilfenóis, substâncias formadas por um grupo fenólico ligado a uma cadeia carbônica. Estes compostos são amplamente utilizados como componentes de detergentes, tintas, herbicidas, agentes humectantes, cosméticos, pesticidas e em muitos outros produtos domésticos e industriais (HESS, 2010).

Os ftalatos, estrutura química geral ilustrada na Figura 2, possuem aplicação em materiais de construção, móveis, roupas, plásticos PVC e, como solventes, em adesivos, tintas, cosméticos, ceras, inseticidas e produtos farmacêuticos e de uso

peçoal. São amplamente empregados, por isso a contaminação pode ocorrer de diversas formas, como ingestão, inalação, absorção cutâneas e até por administração intravenosa. Podem causar disfunções no trato reprodutivo masculino, resultante em parte de sua atividade anti-androgênica, pelo decréscimo na síntese de testosterona (BOTELHO, 2009; HESS, 2010).

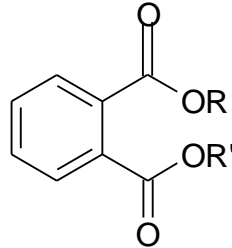


Figura 2. Estrutura química geral dos ftalatos.

1.1.1. Sistema endócrino

O sistema endócrino participa da regulação de diversas funções corporais. É constituído por diversas glândulas que secretam substâncias químicas, denominadas de hormônios, que atuam em receptores hormonais desencadeando uma cascata de reações na célula. São classificados em dois tipos principais segundo sua composição química: hormônios esteróides e hormônios peptídeos ou protéicos (GUYTON; HALL, 2002).

Os hormônios esteróides são derivados do colesterol e possuem uma estrutura geral, ilustrada na Figura 3, relacionada ao ciclopentaperhidrofenantreno, com 17 átomos de carbono dispostos em um anel de cinco membros (D) e um conjunto de três anéis (A, B e C) (SODERO, 2007).

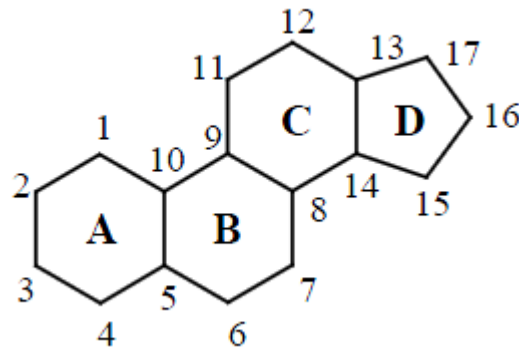


Figura 3. Estrutura comum dos hormônios esteroidais, representada pelo composto ciclopentaperhidrofenantreno. A numeração é IUPAC (SODERO, 2007).

Os hormônios esteróides são lipossolúveis e, por isso, atravessam facilmente as membranas plasmáticas para o interior das células alvo para regular a expressão gênica e a biossíntese de proteínas, via a formação de complexos esteróide-receptor (GUYTON & HALL, 2002; SODERO, 2007).

Os hormônios esteróides sexuais são responsáveis pela estimulação do desenvolvimento sexual e reprodutivo dos seres humanos. Os estrogênios e androgênios são exemplos de esteróides sexuais (GUYTON & HALL, 2002).

Os estrogênios são responsáveis pelas características sexuais femininas e a principal função é atuar na proliferação celular e crescimento dos tecidos dos órgãos sexuais e de outros tecidos relacionados com a reprodução. Possuem, também, efeitos sobre o esqueleto, aumentando a atividade osteoblástica, sobre a deposição protéica e de gordura, a distribuição de pêlos e sobre o equilíbrio eletrolítico. No plasma feminino estão presentes apenas três estrogênios: estrona, estriol e o 17β -estradiol.

Os androgênios, como testosterona e diidrotestosterona, são hormônios esteróides com efeitos masculinizantes. A testosterona além de atuar no desenvolvimento das características distintivas do corpo masculino, também apresenta efeitos na distribuição de pêlos no corpo, voz, desenvolvimento de acne, formação de proteínas e desenvolvimento muscular, crescimento ósseo, hemácias e equilíbrio hídrico-eletrolítico (GUYTON & HALL, 2002).

1.1.2. Alteração da homeostase de hormônios esteróides sexuais

Os desreguladores endócrinos que alteram o equilíbrio de hormônios esteróides podem acarretar danos no desenvolvimento sexual e reprodutivo dos seres humanos. Essas alterações podem ocorrer por diversos mecanismos, conforme Quadro 1 (MORAES *et al.*, 2008).

Quadro 1. Mecanismos de alteração da homeostase de hormônios esteróides sexuais¹.

Atividade	Mecanismo de ação		Desreguladores endócrinos (exemplos)
Anti-androgênica	Inibição da síntese de testosterona	Alteração da expressão da proteína esteroidogênica reguladora aguda (StAR) ^a	Praguicidas como dimetoato, glifosato e lindano
		Inibição da enzima desmolase ^b	Dimetoato, glifosato, 1,1,1-tricloro-2,2-bis (4-hidróxi-fenil) etano (metabólito do metoxiclor) e cetoconazol
	Interação com receptores esteroidais	Antagonista de receptor andrógeno	Fungicida vinclozolin, o DDT e DDE (principal metabólito do DDT)
	Aumento do metabolismo da testosterona	Indução da atividade das monoxigenases microsossomais, enzimas hepáticas que atuam na depuração de testosterona	Análogos do DDT
Anti-androgênica e estrogênica	Indução da conversão da testosterona a estrógeno	Indução da atividade da enzima aromatase ^c , e conseqüente aumento dos níveis de estrógeno e diminuição da testosterona	Herbicidas 2-cloro-tiazina, como a propazina, simazina e atrazina
Atividade estrogênica	Interação com receptores esteroidais	Agonista de receptor de estrogênio	DDT e metoxicloro
Anti-estrogênica e androgênica	Inibição da conversão da testosterona a estrógeno	Inibição da expressão da enzima aromatase ^c , e conseqüente diminuição dos níveis de estrógeno e aumento da testosterona	Fungicidas fenarimol e procloraz

¹ Adaptado de MORAES *et al.*, 2008.

^a A síntese dos hormônios esteroidais ocorre a partir do colesterol, que inicialmente é transportado para o interior da mitocôndria pela proteína esteroidogênica reguladora aguda (StAR). ^b Em seguida, o colesterol é convertido em pregnenolona, reação catalisada pela desmolase. ^c A conversão da testosterona a estrógeno é catalisada pela enzima aromatase.

A exposição aos desreguladores endócrinos que atuam como agonistas de receptor de estrogênio pode resultar, em mulheres, no desenvolvimento de

endometriose, câncer de mama e útero e, em homens, em ginecomastia (crescimento das mamas), diminuição da libido, impotência, diminuição dos níveis de andrógeno no sangue e diminuição da espermatogênese. A atividade agonista ocorre pelo encaixe de um ligante no domínio de ligação do ligante (*Ligand Binding Domain*, LBD) do receptor de estrogênio (HESS, 2010).

1.2. AGONISTAS NATURAIS DE RECEPTOR DE ESTROGÊNIO

1.2.1. Receptores de estrogênio

Os receptores de estrogênio (ER, do inglês *estrogen receptor*) pertencem a família dos receptores nucleares de fatores de transcrição e possuem uma organização estrutural modular, que apresenta quatro domínios de ligação (A/B, C, D, E/F), sendo que o domínio C apresenta a região de ligação do DNA e o domínio E é a seqüência específica para o domínio de ligação do ligante (PIKE *et al.*, 1999; SODERO, 2007).

Os ERs existem em duas formas distintas, denominadas α e β (ER- α e ER- β). A Figura 4 ilustra a distribuição dos dois subtipos, ER- α e ER- β , em tecidos de ratos machos e fêmeas. A expressão das duas formas é variada nos tecidos. Os ovários, por exemplo, expressam aproximadamente a mesma quantidade de ER- α e ER- β . O útero e os testículos expressam mais ER- α , enquanto que próstata e bexiga apresentam maior expressão do ER- β . Os rins e o fígado expressam apenas ER- α , enquanto que pulmão e cérebro expressam apenas ER- β (PIKE *et al.*, 1999; KATZENELLENBOGEN, 2000; SODERO, 2007).

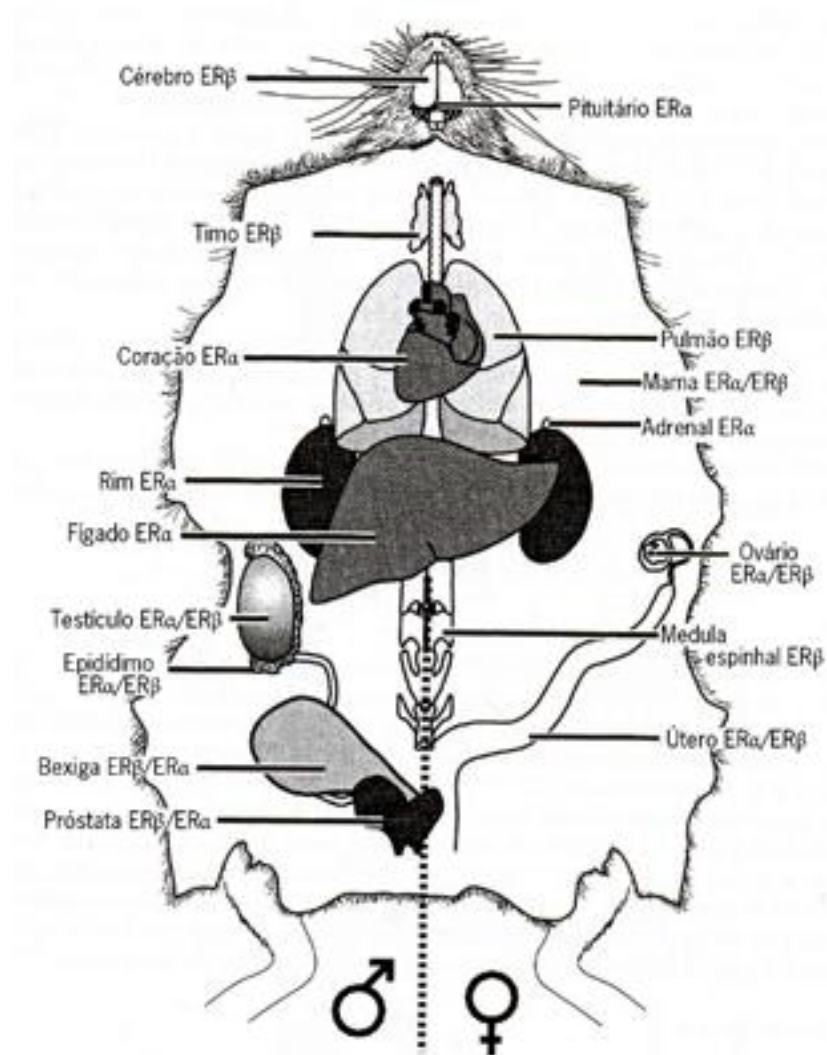


Figura 4. Diagrama esquemático ilustrativo da distribuição de ER-α e ER-β no tecido de ratos machos e fêmeas (FITOESTROGÊNIOS, 2010).

A Figura 5 apresenta a comparação dos dois subtipos (α e β). As duas formas apresentam uma modesta similaridade na seqüência global (47%). Para o LBD (domínio E) há uma divergência considerável (55%), no entanto no domínio de ligação do DNA (domínio C) são praticamente idênticos (97%) β (PIKE et al, 1999; KATZENELLENBOGEN, 2000; SODERO, 2007).

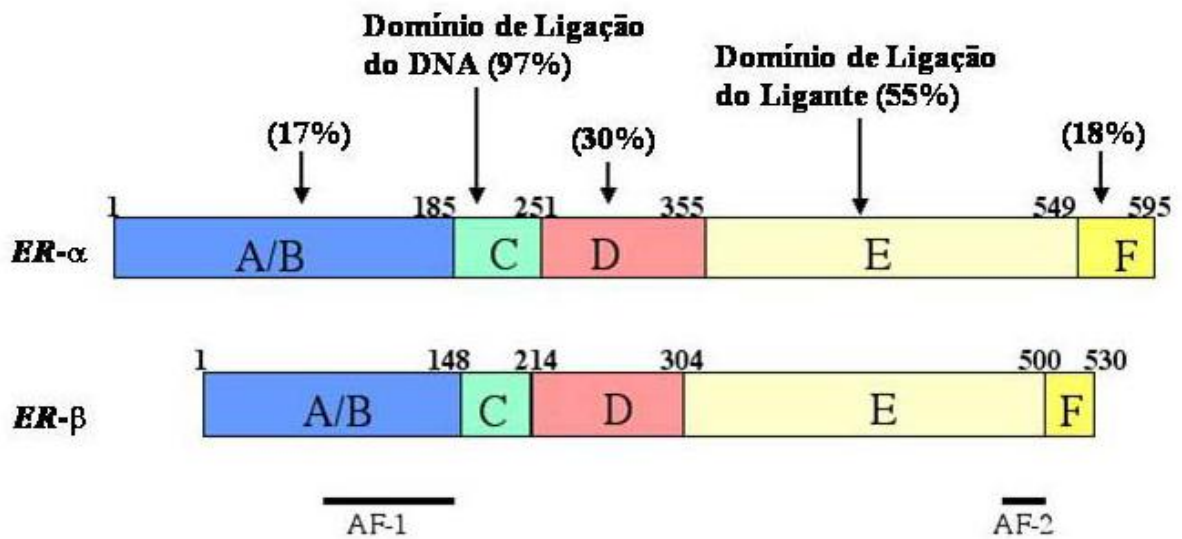


Figura 5. Comparação entre as seqüências de aminoácidos dos receptores de estrogênio α e β (SODERO, 2007). Entre parênteses estão indicados o percentual de identidade entre as seqüências dos domínios A/B, C, D, E e F.

No LBD (domínio E), a ligação ocorre majoritariamente na região C-terminal e diferentes ligantes podem ser reconhecidos, mesmo com grandes diferenças nas estruturas e massas moleculares, conformações e propriedades físico-químicas (SODERO, 2007).

1.2.2. Estrogênios naturais

Os estrogênios endógenos ou naturais (17β -estradiol, estrona e estriol; Figura 6) são hormônios esteroidais, sendo o estradiol o principal e mais potente estrogênio secretado pelos ovários (GUYTON & HALL, 2002).

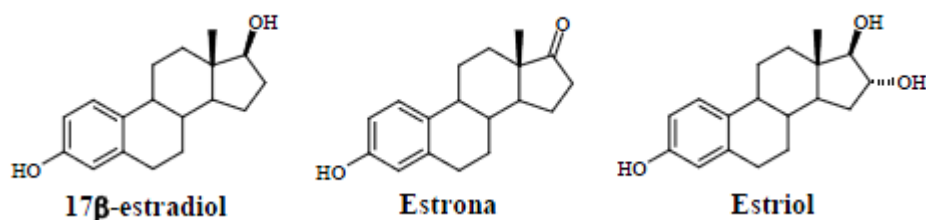


Figura 6. Estruturas químicas dos estrogênios endógenos: 17β -estradiol, estrona e estriol.

O estradiol interage no sítio do LBD (domínio E), uma cavidade predominantemente hidrofóbica, via um conjunto de interações, responsáveis pelo reconhecimento do estradiol em afinidade subnanomolar em relação a uma grande variedade de esteróides endógenos. A Figura 7 ilustra a estrutura tridimensional do LBD do ER- α complexado ao 17 β -estradiol obtida por difração de raios-X (código PDB: 1ERE).

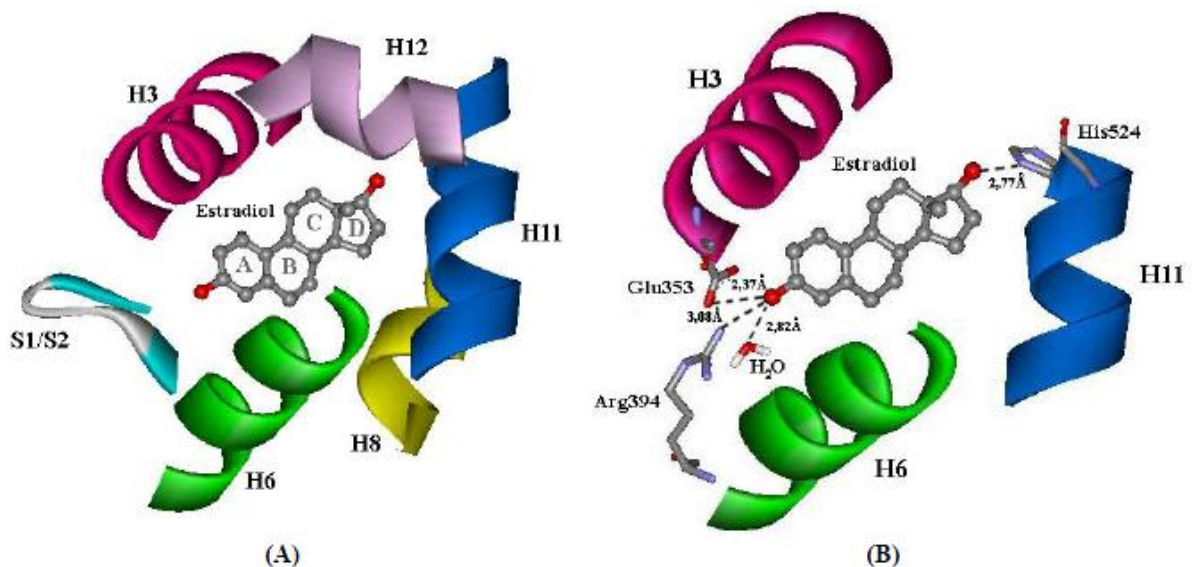


Figura 7. Representação da estrutura tridimensional do LBD do ER- α complexado ao 17 β -estradiol obtida por difração de raios-X (código PDB: 1ERE): (A) principais estruturas secundárias ao redor do ligante; (B) interações por ligação hidrogênio do ligante com o LBD (SODERO, 2007).

A interação da hidroxila fenólica do anel A por ligação hidrogênio com os resíduos Glu353 e Arg394 e uma molécula de água e é responsável pela alta afinidade de ligação aos receptores de estrogênio. A hidroxila 17 β do anel D também interage por ligação hidrogênio com o resíduo His524. Em complementaridade com as interações por ligação hidrogênio, o caráter apolar do estradiol fornece as interações com as regiões hidrofóbicas do receptor (SODERO, 2007).

1.3. FOTOFÍSICA E FOTOQUÍMICA MOLECULAR

O entendimento das propriedades fotofísicas e fotoquímicas de um composto é relacionado à interação da luz com a matéria e ao espectro eletrônico de absorção e o espectro de emissão de uma molécula (PAULA, 2003).

A partir do conhecimento dos processos de absorção e de emissão, um completo diagrama de estados pode ser deduzido e a dinâmica dos inúmeros processos que resultam a partir desses estados, fotoquímicos e/ou fotofísicos, pode, então, ser compreendida (PAULA, 2003).

As moléculas apresentam transições nos estados rotacionais, vibracionais e eletrônicos. A Figura 8 apresenta o espectro eletromagnético e os tipos de transições.

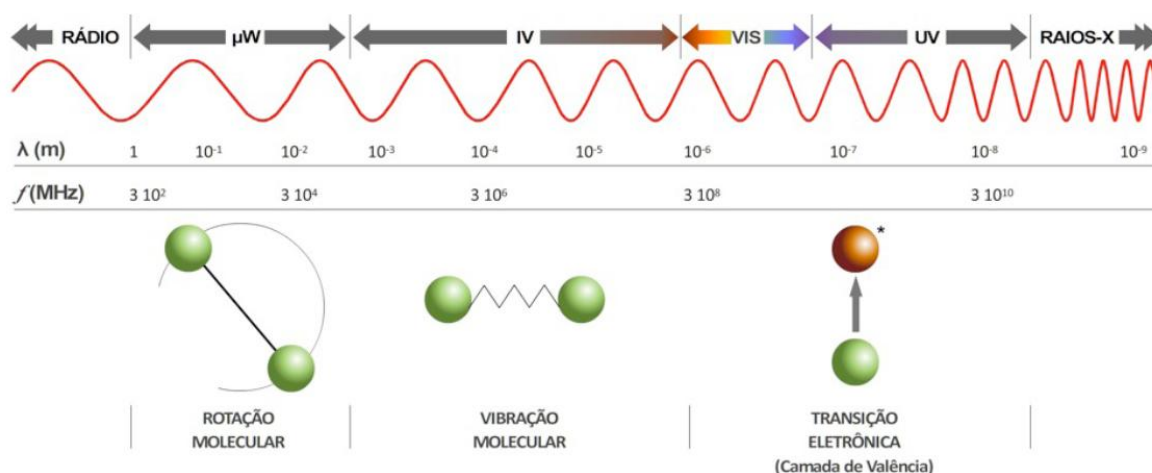


Figura 8. Espectro eletromagnético e os tipos de transições (KLÀN & WIRZ, 2009)

As transições eletrônicas situam-se nas regiões visível e ultravioleta (UV) do espectro eletromagnético e formam o espectro eletrônico de absorção e o espectro de emissão de uma molécula. Determinados comprimentos de onda, na faixa da radiação UV e visível, correspondem a energias capazes de promoverem a excitação eletrônica, isto é, a transição eletrônica de um estado de menor energia para um maior nível de energia.

A excitação eletrônica ocorre devido à absorção de fótons com energia suficiente para transferir elétrons situados no orbital HOMO (orbital molecular ocupado de maior energia) para o orbital LUMO (orbital molecular desocupado de

menor energia). Ao retornarem ao estado inicial, o excesso de energia é liberado. As transições eletrônicas que estão envolvidas no processo de absorção da luz UV envolvem a diferença de energia entre HOMO e LUMO. Observa-se que como o comprimento de onda é inversamente proporcional à energia, assim, a diminuição na diferença de energia HOMO-LUMO leva a um aumento no comprimento de onda de absorção (FLOR, DAVOLOS & CORREA, 2006).

Geralmente, quando a excitação ocorre, o elétron é promovido de HOMO para o orbital LUMO, embora as transições possam ocorrer de orbitais de menor energia que HOMO, como HOMO-1 ou HOMO-2, para orbitais de maior energia que LUMO, como LUMO+1.

As transições eletrônicas que ocorrem durante o processo de absorção de luz são de diferentes naturezas e determinadas pela estrutura molecular responsável pela absorção dessa energia em uma determinada faixa da radiação, denominada de cromóforo. Qualquer alteração na estrutura do cromóforo pode influenciar significativamente no comprimento de onda absorvido (FORESTIER, 2008).

A Tabela 1 apresenta as transições que os cromóforos envolvem.

Tabela 1. Características típicas de alguns cromóforos (PAULA, 2003).

Transições	Comprimento de onda (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$ ($\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	Cromóforo
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<180	1000	C-C e C-H
$n \rightarrow \sigma^*$	<250	-	O-H, N-H e C-O-C
$\pi \rightarrow \pi^*$	180	1000	C=C
$\pi \rightarrow \pi^*$	220	2000	C=C-C=C
$n \rightarrow \pi^*$	280	20	C=O
$n \rightarrow \pi^*$	350	100	N=N
$n \rightarrow \pi^*$	660	200	N=O
$n \rightarrow \pi^*$	350	30	C=C-C=O
$\pi \rightarrow \pi^*$	220	20000	C=C-C=O

A Figura 9 é uma representação esquemática dos tipos de transições eletrônicas existentes.

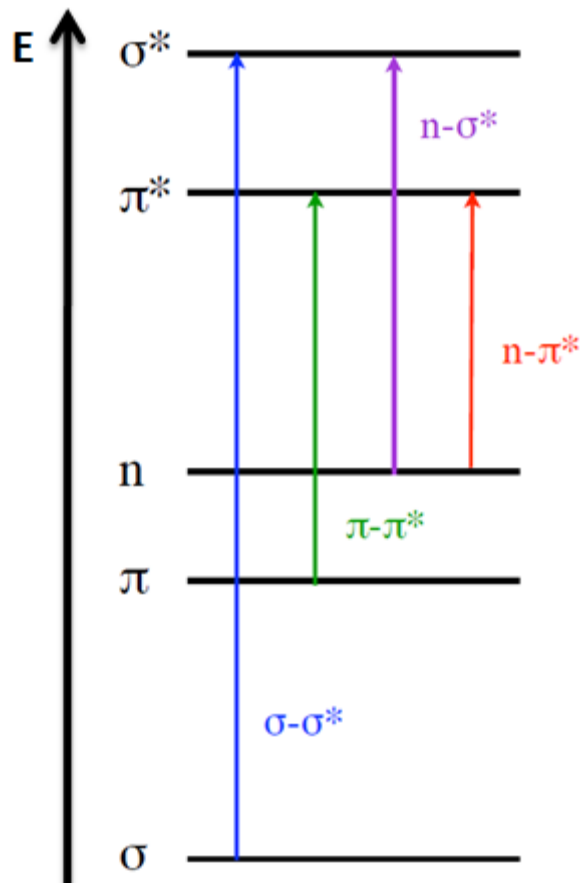


Figura 9. Representação esquemática dos tipos de transições eletrônicas.

A emissão de energia ocorre do nível eletrônico excitado de mais baixa energia (Regra de Kasha); observa-se então durante as transições processos de relaxamento vibracional: conversão interna (IC, do inglês *Internal Conversion*) entre *spins* de mesma multiplicidade (singleto (S_2) – singleto (S_1), tripleto (T_2) – tripleto (T_1)) ou conversão intersistemas (ISC, do inglês *Intersystem Crossing*) entre *spins* de diferentes multiplicidades (singleto – tripleto).

O diagrama de Jablónski (Figura 10) compreende os eventos que podem acontecer quando a radiação interage com a matéria e possibilita um entendimento melhor dos processos de absorção e emissão de energia.

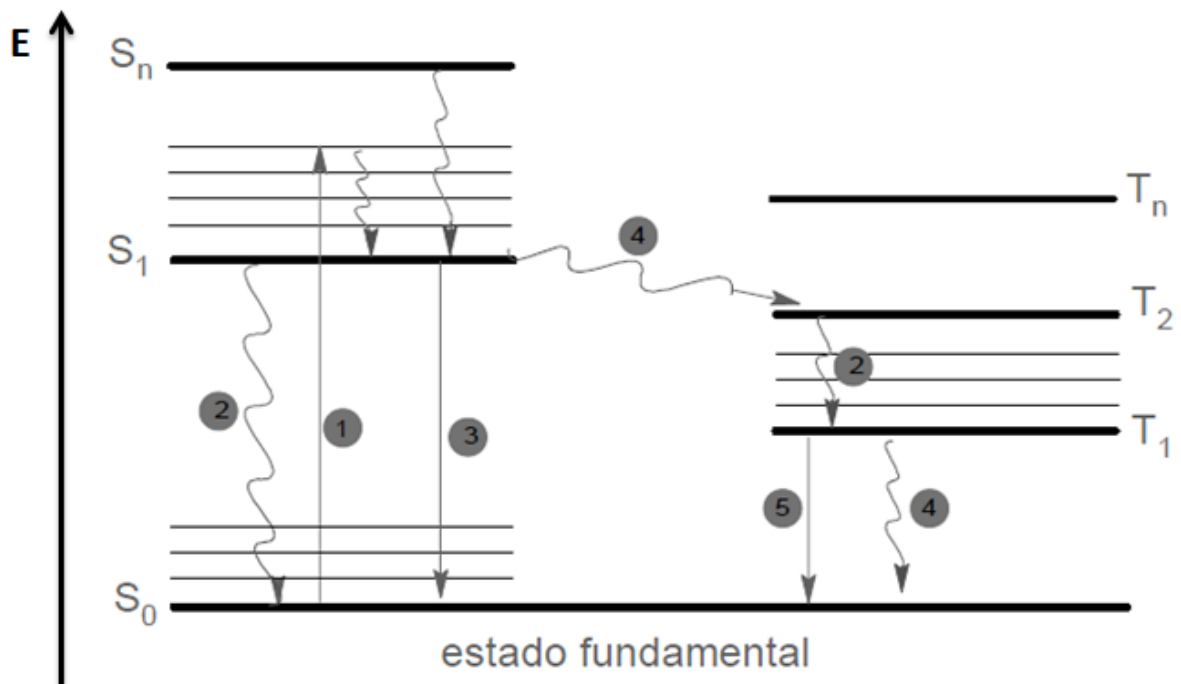


Figura 10. Diagrama de Jablónski: Os processos fotofísicos são representados por (1) absorção de luz, (2) conversão interna (IC), (3) fluorescência, (4) cruzamento entre sistemas (ISC) e (5) fosforescência (PAULA, 2003).

As transições eletrônicas entre estados são indicadas por linhas verticais. A absorção de energia promove a excitação eletrônica (1) da molécula para um estado eletrônico superior (**S**₂) e a tendência é o relaxamento vibracional por conversão interna (IC) até o primeiro estado singleto excitado (**S**₁). A partir do primeiro estado singleto excitado, a molécula poderá fluorescer (3) ou desativar-se por conversão interna (2). Ainda é possível, a partir daí, obter-se uma população de um estado tripleto, através do cruzamento entre sistemas (**ISC**), processo de desativação vibracional que envolve a mudança de multiplicidade do *spin* eletrônico. A partir do estado tripleto (**T**₂), a espécie excitada perde vibracionalmente parte do excesso de energia por conversão interna, até atingir o estado **T**₁. A partir desse estado, a molécula excitada pode desativar-se para o estado fundamental por dois caminhos: cruzamento entre sistemas (4) e fosforescência (5) (PAULA, 2003).

1.4. BENZOFENONAS

As benzofenonas (BFs) são cetonas aromáticas, naturais ou sintéticas, de grande interesse científico e com inúmeras aplicações devido à variedade de suas propriedades biológicas e físico-químicas. São formadas por dois anéis aromáticos ligados por um grupo carbonila (Figura 11), podendo apresentar diferentes substituintes que alteram as características estereoeletrônicas e, com isso, suas propriedades (MANTAS, BLANCO & FERRETI, 2004).

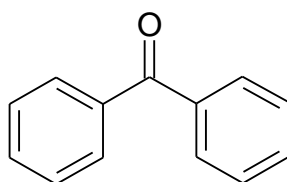


Figura 11. Estrutura química da benzofenona.

As BFs possuem a habilidade de absorver e dissipar a radiação UV e, por isso, são muito utilizadas como filtros UV na indústria farmacêutica, alimentícia e cosmética (COX, DIMITRIOS & KELLY, 2008).

Os filtros UV, também denominados de filtros solares, possuem a capacidade de absorver e/ou refletir e dissipar os raios UV protegendo a pele contra os riscos associados com a exposição cumulativa ou excessiva ao sol. Dependendo da sua estrutura química, são classificados com filtros orgânicos e inorgânicos (LOWE, 2006; FORESTIER, 2008).

Os filtros orgânicos são capazes de absorver a radiação UV, na faixa do UVA (320 a 400 nm), do UVB (280 a 320 nm) ou em ambas as faixas, denominados de filtros de amplo espectro (UVA e UVB) (LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2007; FORESTIER, 2008).

As benzofenonas se enquadram na classe dos filtros orgânicos de amplo espectro. A benzofenona-3 (Figura 12), atualmente muito utilizada, foi um dos primeiros filtros UV, de amplo espectro, empregado em formulações fotoprotetoras (SUZUKI *et al.*, 2005; MOLINA-MOLINA *et al.*, 2008).

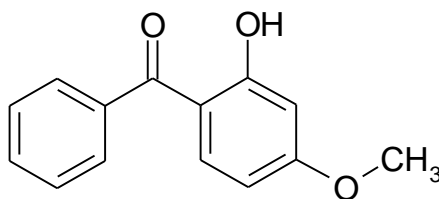


Figura 12. Estrutura química da benzofenona-3.

Estão incluídas na lista vigente de filtros ultravioleta permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 47 de 16 de março de 2006: benzofenona-3 (BF-3; 2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona; oxibenzona); benzofenona-8 (BF-8; 2,2'-Dihidróxi-4-metoxibenzofenona); benzofenona-4 (BF-4; ácido 2-hidróxi-4-metóxi-5-sulfônico; sulisobenzona) e seu sal sódico, benzofenona-5 (BZF-5; sulisobenzona sódica); e 2-(4'-dietilamino-2'-hidróxibenzoil)-benzoato de hexila (DHHB).

Os filtros UV também possuem aplicação na proteção de produtos contra a degradação frente à radiação UV. A 2,4-Dihidroxibenzofenona, 2,2',4,4'-tetrahidroxibenzofenona e 2,4,4'-Trihidroxibenzofenonas são empregadas, com esta finalidade, em produtos cosméticos e em embalagens plásticas de alimentos. (SUZUKI *et al.*, 2005; MOLINA-MOLINA *et al.*, 2008).

Diversas publicações apontam a presença sistêmica de benzofenonas após aplicação cutânea ou ingestão de alimentos que mantiveram em contato direto com plásticos cuja composição apresenta benzofenonas. A benzofenona-3 é o principal alvo desses estudos, devido à sua elevada aplicação em formulações fotoprotetoras. Diversas publicações evidenciam a absorção, bioacumulação, metabolização e excreção da benzofenona-3 (GONZALEZ, FARBROT & LARKÖ, 2002; JANJUA *et al.*, 2004; SCHLUMPF *et al.*, 2004; SUZUKI *et al.*, 2005; KAWAMURA *et al.*, 2005; GONZALEZ *et al.*, 2006; KUNZ & KENT, 2006; JEON *et al.*, 2008; MOLINA-MOLINA *et al.*, 2008).

1.4.1. Mecanismo de absorção da radiação UV

As benzofenonas possuem o grupo carbonila (função cetona) ligado a dois anéis aromáticos e apresentam transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (Figura 13), que resultam em dois picos na faixa do UV, geralmente um na faixa do UVA e outro na faixa do UVB, por isso são classificadas como filtros de amplo espectro.

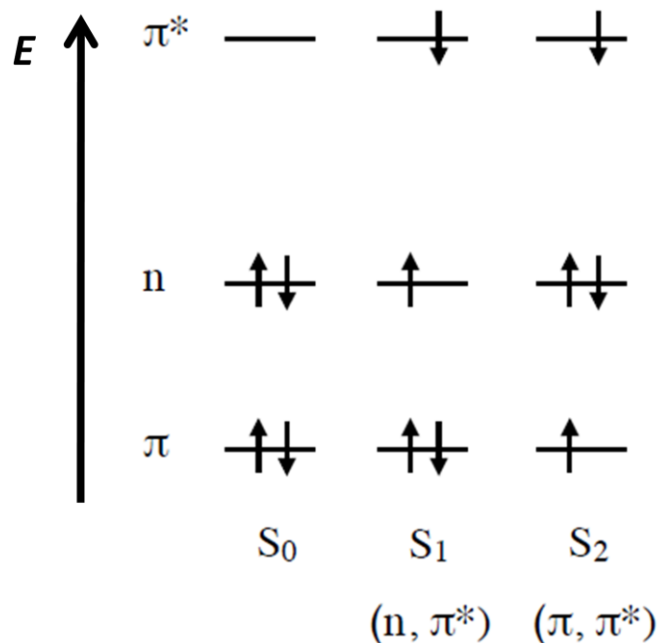


Figura 13. Tipos de transições eletrônicas presentes na excitação fotoquímica das benzofenonas (S_0 – estado fundamental, S_1 – primeiro estado excitado singleto, S_2 – segundo estado excitado singleto)

A Figura 14 apresenta o processo de emissão de energia da benzofenona.

Nas benzofenonas, as moléculas excitadas exibem ISC, por isso emitem energia na forma de fluorescência e fosforescência. Quando a emissão ocorre do estado singleto (S_1) é possível observar o efeito de fluorescência. Quando a emissão ocorre do estado excitado tripleto (T_1) observa-se fosforescência. A maioria das moléculas é excitada em singleto (S_1) é convertida em tripleto (T_1).

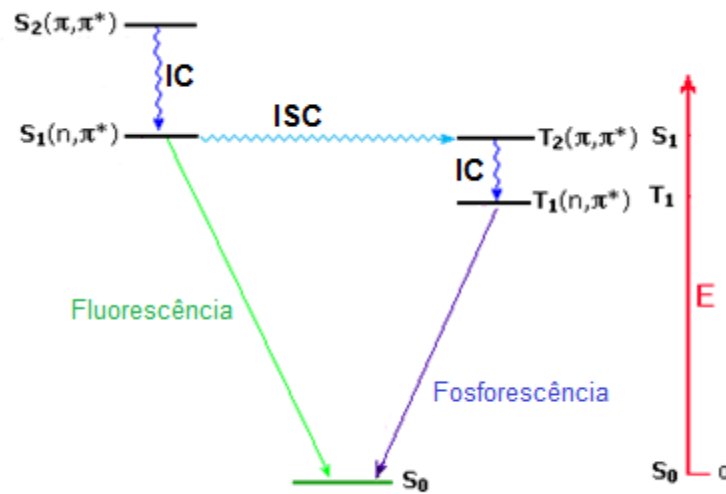


Figura 14. Processo de emissão de energia da benzofenona (Adaptado de BARTON *et al.*, 2010)

1.4.2. Desregulação endócrina por derivados da benzofenona

Estudo realizado por Janjua e colaboradores (2004) e conduzido em 32 voluntários, apontou a presença sistêmica, em uma concentração plasmática de 200 ng/mL, e detecção na urina, após a aplicação tópica (corpo inteiro) de uma formulação contendo 10% do filtro BF-3. Outras publicações corroboram os resultados de Janjua e colaboradores (2004).

A absorção percutânea de BF-3 foi avaliada em dois trabalhos de Gonzalez e colaboradores. No primeiro de 2002, 11 voluntários fizeram a aplicação tópica de um protetor solar comercial, com concentração conhecida de BF-3. Amostras de urina foram coletadas em um período de 48h após a aplicação de cada um. Na urina, foi encontrada aproximadamente 0,4% da concentração total de BF-3 aplicada na pele. No segundo de 2006 avaliou-se, também na urina, a concentração de BF-3 excretada. Neste estudo, 25 voluntários aplicaram topicamente uma formulação contendo 4% de BF-3 repetidas vezes (manhã e noite, durante 5 dias). Os voluntários excretaram em média 3,7% da BF-3 total aplicada. Com este estudo também pode ser observado a bioacumulação de BF-3, porque depois de 5 dias da

última aplicação tópica do protetor solar, os voluntários ainda excretavam a BF-3 (GONZALEZ, FARBROT & LARKÖ, 2002; GONZALEZ *et al.*, 2006).

Jeon e colaboradores (2008) observaram que após a administração oral de BF-3, em ratos, esta era convertida em 2,4-Dihidroxibenzofenona, 2,3,4-Trihidroxibenzofenona e 2,2-Dihidróxi-4-metoxibenzofenona (BF-8) e propuseram uma rota para esse processo (Figura 15).

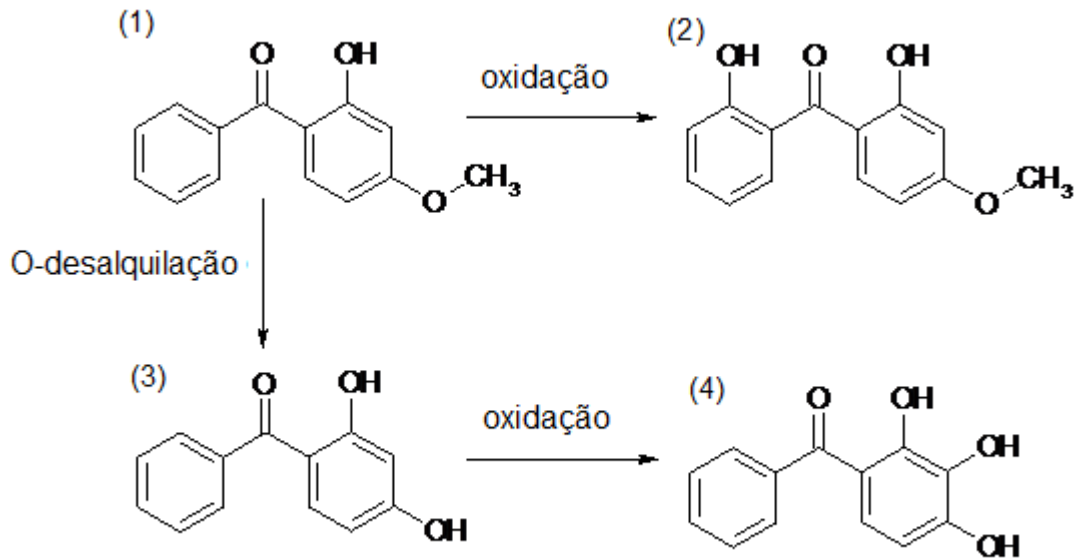


Figura 15. Rota de metabolização em ratos proposta para a benzofenona-3 (1. Formação dos produtos intermediários: (2) 2,2-Dihidroxi-4-metoxibenzofenona, (3) 2,4-Dihidroxibenzofenona e (4) 2,3,4-Trihidroxibenzofenona (JEON *et al.*, 2008).

Do ponto de vista toxicológico, diversos estudos avaliam a atividade das benzofenonas como desreguladores endócrinos. O foco principal para os estudos de desregulação endócrina é relacionado ao estímulo aos receptores de estrogênio (MOLINA-MOLINA *et al.*, 2008).

A atividade estrogênica das benzofenonas é identificada por uma série de estudos *in vitro*, como ensaios de gene “repórter” com várias linhagens de células, ensaios de ligação em receptores de estrogênio humano (hER α) e receptor de estrogênio de peixes, e estudos *in vivo*, em ratos (SCHLUMPF *et al.*, 2004; KAWAMURA *et al.*, 2005; SUZUKI *et al.*, 2005; KUNZ & KENT, 2006; MOLINA-MOLINA *et al.*, 2008;).

A aplicação tópica de 2mg/cm³ de um protetor solar contendo 10% de BF-3 não interferiu nos níveis endógenos de hormônios reprodutivos. Porém, o estudo foi realizado com 32 mulheres, voluntárias, sendo 15 com idade média de 26 anos e 17

estavam no período pós-menopausa, com idade média de 65 anos. No entanto, crianças em pré-puberdade são consideradas mais sensíveis devido ao baixo nível endógeno de hormônios reprodutivos. Crianças apresentam o sistema de eliminação de substâncias exógenas, menos desenvolvido e, além disso, possuem maior superfície corpórea em relação ao peso, quando comparadas a adultos. Esses fatores podem conduzir a uma maior concentração plasmática da BF-3 e também maior bioacumulação (JANJUA *et al.*, 2004)

Além da atividade estrogênica, estudos apontam que algumas benzofenonas também podem apresentar atividade antiandrogênica. Ambas as atividades podem ser observadas em benzofenonas hidroxiladas nas posições 2 e 4 (KAWAMURA *et al.*, 2005; SUZUKI *et al.*, 2005).

1.5. MODELAGEM MOLECULAR

A modelagem molecular é uma ferramenta de predição do comportamento de sistemas moleculares, por investigação de parâmetros geométricos e eletrônicos. Emprega-se um conjunto de ferramentas para a construção, edição e visualização, análise e armazenamento de sistemas moleculares e está associada a técnicas computacionais, que possibilitam o cálculo de sistemas mais complexos e, também, a representação tridimensional dos sistemas analisados (LEACH, 2001; RODRIGUES, 2001; SANTOS, 2001; ARROIO; HONÓRIO; SILVA, 2010).

A modelagem molecular pode ser aplicada em estratégias diretas e indiretas. Na abordagem direta, utiliza-se a estrutura do receptor conhecida, por exemplo, através de dados de difração de raios-X ou de ressonância magnética nuclear (RMN). Na abordagem indireta faz-se uma análise comparativa das estruturas e atividades em nível de um determinado receptor (BARREIRO *et al.*, 1997).

Para determinada estratégia de modelagem utiliza-se a química computacional que engloba a mecânica molecular e mecânica quântica (LEACH, 2001).

1.5.1. Mecânica molecular

Métodos de mecânica molecular (MM), também conhecidos como métodos de campo de forças, calculam a energia do sistema em função das posições nucleares. Considerando a aproximação de Born-Oppenheimer, em que os movimentos dos núcleos e dos elétrons podem ser tratados separadamente. A MM é caracterizada por considerar os movimentos nucleares e não tratar os movimentos eletrônicos explicitamente, pois assume que os elétrons se movimentam rapidamente e se adaptam a posição dos núcleos, por isso, a MM não pode fornecer propriedades que dependem da distribuição eletrônica da molécula (LEACH, 2001; RODRIGUES, 2001).

Na MM, a energia da molécula é descrita pela superfície de energia potencial em termos das posições nucleares. O cálculo da superfície de energia potencial, em função de coordenadas geométricas, usando um determinado campo de forças (COELHO *et al.*, 1999; LEACH, 2001; RODRIGUES, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003).

O modelo de mecânica molecular representa as moléculas como de esferas (átomos) interligadas por molas (ligações químicas), isto é, que os átomos são ligados por forças potenciais harmônicas. Essas forças ou interações são descritas por funções de energia potencial parametrizadas no campo de forças. As funções de energia potencial são calculadas independentemente e somadas para obter a energia total da molécula (COELHO *et al.*, 1999; LEACH, 2001; RODRIGUES, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003).

Os campos de força possibilitam calcular a energia relacionada com determinada conformação de uma molécula, e para isso se baseiam em parâmetros referentes a interações ligantes, como comprimento e ângulo de ligações e ângulos de torção (diedros), e interações não-ligantes, como eletrostáticas e de *van der Waals*. Os cálculos utilizam uma série de equações derivadas empiricamente para a superfície de energia potencial, cujo formalismo matemático está baseado num modelo de mecânica clássica de estrutura molecular (LEACH, 2001; RODRIGUES, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003).

Um campo de forças adequado a uma investigação em particular deve ser cuidadosamente selecionado. Dentre os campos de forças comumente presentes em programas de modelagem computacional, o MMFF (*Merck Molecular Force*

Field) é um desenvolvido pela empresa farmacêutica Merck e é direcionado para estudos de sistemas orgânicos e biopolímeros. A parametrização do MMFF94 foi baseada em dados experimentais e em cálculos quânticos acurados. Este campo de forças é capaz de gerar informações quantitativas sobre conformações e geometrias moleculares (HEHRE, 2003; HALGREN, 1996).

1.5.2. Mecânica quântica

Em 1926, a mecânica quântica teve seu início marcado pelo físico austríaco Erwin Schrödinger (1887-1961), com a publicação de uma equação que determina a função de onda quântica de um sistema. A equação de onda, ou equação de Schrödinger, considera a natureza ondulatória dos elétrons no cálculo da energia total do sistema (LEACH, 2001; HEHRE, 2003; MARQUES & BOTTI, 2010).

Cada função de onda, representada pela letra grega psi (ψ) corresponde a um estado diferente para o elétron. E, para cada estado há uma energia e uma posição particular, que pode ser calculada pela equação de onda. A função de onda ao quadrado (ψ^2) indica a densidade de probabilidade de um elétron, isto é, a probabilidade de se encontrar um elétron em uma localização (r) específica no espaço (LEACH, 2001; HEHRE, 2003; MARQUES; BOTTI, 2010).

Os métodos de mecânica quântica descrevem as moléculas em termos de interações entre o núcleo e os elétrons, e o ponto de partida para o estudo desses métodos é a equação de Schrödinger, que no caso do átomo de Hidrogênio (átomo com um elétron), pode ser resolvida exatamente (Eq. 1) (HEHRE, 2003).

- -

Equação 1

A primeira contribuição, entre colchetes, descreve a energia potencial e cinética de um elétron a uma distância r do núcleo de carga Z . E é a energia eletrônica e ψ a função de onda que descreve os movimentos eletrônicos tão plenamente quanto possível, em função das coordenada eletrônica (r) (LEACH, 2001; HEHRE, 2003; MARQUES; BOTTI, 2010).

Em um sistema multieletrônico e multinuclear, o número de termos aumenta e a função de onda fica com mais variáveis, com isso a dificuldade de se resolver a equação cresce exponencialmente. A Equação 2 apresenta uma forma simplificada da equação de Schrödinger para um sistema de muitos átomos (LEACH, 2001; HEHRE, 2003; MARQUES; BOTTI, 2010).

Equação 2

Onde, \hat{H} é o operador Hamiltoniano, que representa a energia potencial e cinética dos elétrons a uma distância r do núcleo. No \hat{H} , as unidades atômicas são dadas em função da carga e massa nuclear, da massa dos elétrons e da distância entre o núcleo e os elétrons (LEACH, 2001; HEHRE, 2003; MARQUES; BOTTI, 2010).

A equação de Schrödinger tem uma solução exata em poucos casos, como exemplo, para o átomo de hidrogênio. Na maioria dos casos, como em sistemas multieletrônicos e multinucleares, a solução da equação correspondente torna-se tão complexa e demorada, que, durante anos, físicos e químicos buscaram aproximações para resolver o problema de muitos corpos. Uma aproximação utilizada, conhecida como aproximação de Born-Oppenheimer, assume a disparidade entre a massa e o movimento dos núcleos e elétrons, para tratar os núcleos como partículas fixas e bem localizadas. Os núcleos possuem movimentos lentos quando comparados à velocidade dos elétrons. Com isso, para cada arranjo nuclear, r , fixado, tem-se uma densidade ou nuvem eletrônica associada. O arranjo nuclear é determinado pela geometria de equilíbrio, isto é, uma distância internuclear de equilíbrio (TOSTES, 1998; LEACH, 2001; HEHRE, 2003; MARQUES & BOTTI, 2010).

Dois métodos principais, *ab initio* e semi-empíricos, fornecem parâmetros quânticos e possuem aplicação em química computacional. Permitem a definição de um grande número de propriedades atômicas e moleculares, caracterizando propriedades relacionadas à reatividade, forma e modo de ligação de fragmentos e substituintes moleculares. Através desses métodos, uma série de descritores moleculares é obtida, possibilitando a identificação de muitas propriedades

geométricas e eletrônicas das moléculas e suas interações (ARROIO, HONÓRIO & SILVA, 2010).

Os métodos *ab initio* representam um tratamento teórico mais rigoroso e fornecem informações relativamente mais precisas sobre o comportamento eletrônico, porém exigem um custo computacional maior em comparação aos métodos semi-empíricos (ARROIO, HONÓRIO & SILVA, 2010).

Os métodos semi-empíricos são baseados no formalismo dos métodos *ab initio*, no entanto, possuem simplificação dos cálculos, pois utilizam parâmetros obtidos de dados experimentais. Com isso, consegue-se uma redução dos custos de memória e tempo computacional e elevação na velocidade de processamento dos cálculos (MORGON & COUTINHO, 2007).

Com o objetivo de se obter aproximações mais precisas, os métodos AM1 (*Austin Model 1* ou Modelo Austin 1) e PM3 (*Parametric Method 3* ou Método Paramétrico 3) foram desenvolvidos. Ambos os métodos incorporam aproximações muito semelhantes, mas diferem nas suas parametrizações. O aprimoramento da parametrização resultou no modelo PM5 (*Parametric Method 5* ou Método Paramétrico 5), que possui cerca de 40% de redução nos erros médios comparados aos outros métodos semi-empíricos (ROCHA *et al.*, 2006).

Recentemente, o método AM1 foi objeto de uma reparametrização para os átomos de H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br e I, resultando no método RM1 (*Recife Model 1*). Para entalpia de formação, momento de dipolo, potencial de ionização e distância interatômica, os erros médios foram menores do que os gerados pelos métodos AM1, PM3 e PM5 nas 1736 moléculas estudadas. Apenas o ângulo de ligação calculado por RM1 obteve resultados com erro médio levemente maior do que o obtido por AM1, mas, ainda, inferior ao erro médio nos valores obtidos por PM3 e PM5 (Figura 16) (ROCHA *et al.*, 2006).

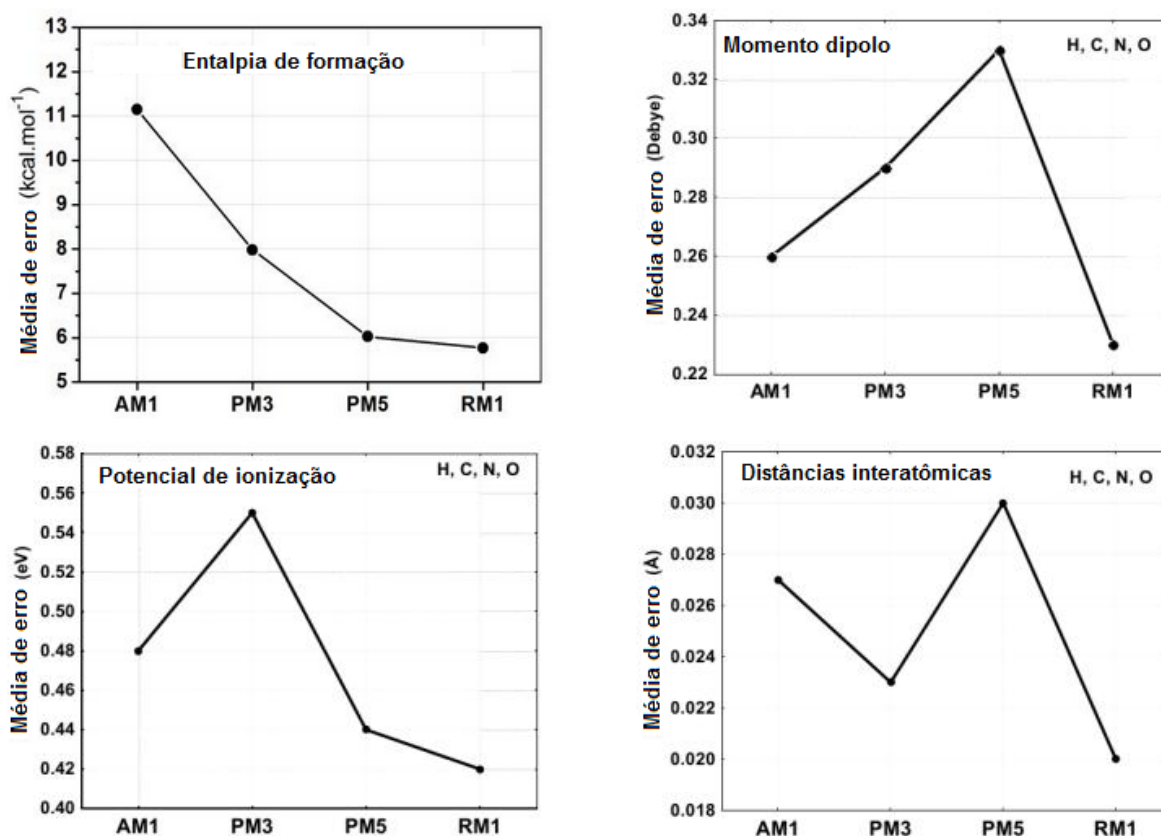


Figura 16. Erros médios da entalpia de formação, momento de dipolo, potencial de ionização e distância interatômica, os erros médios. Comparação entre os métodos RM1, AM1, PM3 e PM5 (ROCHA *et al.*, 2006).

Segundo Gonçalves e col. (2010) uma análise conformacional realizada pelo método RM1 apresenta maior acurácia quando comparada a outros métodos semi-empíricos, como AM1 e PM3, além de exigir menor tempo de cálculo quando comparado como a Teoria do Funcional da Densidade (DFT, do inglês *Density Functional Theory*).

1.5.3. Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

Em 1964, o norte americano de origem austríaca Walter Kohn e seu aluno francês Pierre Hohenberg publicaram um artigo com dois teoremas que reformulavam a mecânica quântica, baseando-se na densidade eletrônica ao invés das funções de onda. Os teoremas determinavam que todas as grandezas físicas medidas em um sistema são unicamente determinadas pela densidade eletrônica,

isto é, são funcionais de densidade. Porém, Hohenberg e Kohn apenas provavam que os funcionais existiam, mas não os determinavam na prática para um sistema real. No ano seguinte, outro artigo foi publicado por Kohn, agora com Lu Sham, trazendo a solução exata para se encontrar os funcionais e também a aproximação da densidade local (LDA, do inglês Local Density Approximation), que é baseada na densidade eletrônica, em que os núcleos são substituídos por uma carga positiva contínua e constante (MARQUES & BOTTI, 2010).

A teoria de Thomas-Fermi, desenvolvida no final de 1920, continha alguns desses elementos presentes na Teoria do Funcional da Densidade, porém foram esses dois artigos de Kohn que legitimaram os seus fundamentos (MORGON; COUTINHO, 2007; MARQUES & BOTTI, 2010).

Além dos desenvolvimentos teóricos, pode ser observado, nas últimas décadas, um grande avanço no desenvolvimento computacional. Com isso, atualmente é possível cálculos cada vez mais sofisticados de sistemas cada vez maiores (MARQUES & BOTTI, 2010).

Desta forma, o método DFT tornou-se importante para o estudo das propriedades estruturais e eletrônicas das moléculas, pois apresenta resultados com precisão química aceitável e boa correlação com resultados experimentais. Utiliza a densidade eletrônica como variável necessária para o cálculo das propriedades eletrônicas, diferente da Teoria de Hartree-Fock (HF), que utiliza a função de onda de N elétrons, em que N representa o número de elétrons de uma molécula (MORGON & COUTINHO, 2007).

Para o estudo de moléculas em estados excitados, como é o caso dos estudos em que são descritas transições eletrônicas, são utilizados recursos adicionais, como a Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TD-DFT, do inglês *Time Dependent Density Functional Theory*).

A TD-DFT se baseia em princípios da mecânica quântica dependente do tempo utilizando funcionais da densidade. Devido ao sucesso de aplicação da DFT em estados estacionários, a descrição de estados dependentes do tempo (excitados) em termos do funcional da densidade tem sido realizada e a fotoabsorção de átomos têm sido tratada com sucesso nessa abordagem (DAMASCENO, 2009).

O cálculo das intensidades de absorção é feito considerando-se as probabilidades de absorção entre os estados de energia envolvidos na transição.

Robert Sanderson Mülliken, um dos pioneiros no trabalho da teoria da Orbital molecular, relacionou a quantidade de absorção com uma medida de intensidade, à qual denominou força de oscilador (PAULA, 2003).

1.5.4. Análise conformacional

A estrutura tridimensional ou conformacional de uma molécula está intimamente relacionada com as suas propriedades físico-químicas e biológicas. A análise conformacional é o estudo dos diferentes arranjos espaciais em busca de uma conformação mais estável, a que determina o comportamento estereoeletrônico de uma molécula (LEACH, 2001; RODRIGUES, 2003).

A conformação de uma molécula é definida pelo arranjo rotacional dos ângulos de torção ou diedros e o equilíbrio conformacional é determinado por interações estéricas, relacionadas com a proximidade dos átomos; eletrônicas, provenientes de interações entre os orbitais; e eletrostáticas, resultante da interação entre dipolos e/ou íons de cargas opostas (DOMINGUES, 2007; LEACH, 2001; RODRIGUES, 2003).

A análise conformacional pode ser realizada por diferentes estratégias, como: busca sistemática; busca randômica (aleatória); simulação por dinâmica molecular ou Monte Carlo; construção da conformação molecular a partir de fragmentos moleculares, com estruturas tridimensionais previamente conhecidas; e sobreposição molecular (VERDI, 2010).

A busca sistemática é realizada pela identificação de todas as ligações rotáveis (graus de liberdade ou diedros livres) e utilização de um incremento pré-determinado (geralmente 30°), para a rotação desses diedros, de 0° a 360° . Cada conformação assim obtida é submetida à uma minimização de energia para a obtenção do calor de formação. O número de confôrmeros a serem obtidos cresce exponencialmente de acordo com o número de graus de liberdade a serem analisados (VERDI, 2010).

1.5.5. Descritores moleculares

Descritores moleculares são o resultado de um procedimento lógico e matemático que transforma informações químicas em uma importante ferramenta de predição das propriedades moleculares, fornecendo subsídios sobre a natureza físico-química da atividade em estudo. Os descritores traduzem propriedades estereoeletrônicas que possibilitam o estudo de relação estrutura-atividade de uma série de compostos (ARROIO; HONÓRIO; SILVA, 2010).

1.5.5.1. Energia dos orbitais moleculares

A energia dos orbitais de fronteira, que envolvem o orbital molecular ocupado de maior energia (*HOMO*, do inglês *Highest Occupied Molecular Orbital*) e o orbital molecular desocupado de menor energia (*LUMO*, do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*) são descritores químico-quânticos bastante utilizados que desempenham um papel importante nas reações químicas e na formação de diversos complexos de transferência de cargas (SANT'ANNA, 2002).

A energia de LUMO mede o caráter elétron-acceptor e está relacionada à afinidade eletrônica de uma molécula e à sua reatividade como eletrófilo. A energia de HOMO mede o caráter elétron-doador e está relacionada ao potencial de ionização de uma molécula e a sua reatividade como nucleófilo (ARROIO, HONÓRIO & SILVA, 2010).

A estabilidade molecular pode ser indicada pelo *gap* HOMO-LUMO, que representa a diferença entre as energias desses orbitais. Alto valor de *gap* indica alta estabilidade da molécula, no sentido de baixa reatividade nas reações químicas, enquanto moléculas com baixo valor de *gap* são geralmente mais reativas (ZHANG & MUSGRAVE, 2007).

1.5.5.2. *Densidades de HOMO e LUMO*

A densidade eletrônica dos orbitais de fronteira fornece uma caracterização detalhada das interações doador-aceptor. A maioria das reações químicas ocorre no local de maior densidade nos orbitais de fronteira, que são definidos de acordo com o tipo de reação: a densidade de HOMO representa áreas suscetíveis a ataques eletrofílicos, enquanto a densidade de LUMO representa as áreas mais suscetíveis a ataques nucleofílicos (GRANT & RICHARDS, 1996).

1.5.5.3. *Coefficientes de HOMO e LUMO*

Os coeficientes de HOMO e LUMO representam a contribuição do potencial de cada orbital atômico no orbital molecular. Aqueles orbitais atômicos que contribuem mais terão maiores coeficientes nos orbitais moleculares.

Um maior valor de coeficiente no LUMO está de certa forma relacionando a uma maior deficiência eletrônica nas vizinhanças do átomo em questão. Um maior valor de coeficiente no HOMO está de certa forma relacionando a uma maior densidade eletrônica nas vizinhanças do átomo em questão (BRAIBANTE & BRAIBANTE, 2010).

1.5.5.4. *Momento de dipolo molecular*

Esta propriedade é importante, pois a interação-fármaco receptor é dada também em função da complementaridade de cargas. O momento dipolo fornece a polaridade global da molécula.

É uma propriedade que mede a deslocalização de carga quando átomos de eletronegatividade diferentes estão interligados. A direção do momento dipolar de uma molécula é baseada nas eletronegatividades relativas dos átomos desta

molécula e o valor é obtido pelo vetor resultante dos momentos de dipolo de cada ligação presente na molécula (ARROIO; HONÓRIO & SILVA, 2010).

1.5.5.5. *Mapa do Potencial Eletrostático molecular*

O mapa do potencial eletrostático molecular (MEP, de *molecular electrostatic potential*) é calculado em uma grade de pontos localizados em diferentes camadas em torno da molécula. Essas camadas são construídas como uma sobreposição de esferas de *van der Waals* em cada átomo (RAMACHANDRAN; DEEPA; NAMBOORI, 2008).

O MEP pode ser utilizada com o intuito de compreender a contribuição eletrostática de uma série de derivados para a atividade.

As superfícies tridimensionais dos MEPs são geradas após a sobreposição na molécula de uma partícula carregada positivamente que percorre a superfície de contato de *van der Waals* e ao revelar uma região de repulsão, representa o potencial positivo, de coloração azul, e uma região de atração representa o potencial negativo de coloração vermelha.

2. JUSTIFICATIVA

As benzofenonas, por absorverem radiação UV, são empregadas como protetor solar e em embalagens de alimentos para prevenir a degradação ou mudança de qualidade dos mesmos. Porém, diversos estudos realizados, *in vivo* e *in vitro*, indicam a atividade estrogênica para diversos compostos dessa classe (BLAIR *et al.*, 2000; JANJUA *et al.*, 2004; SUZUKI *et al.*, 2005; MOLINA-MOLINA *et al.*, 2008).

A benzofenona-3 é alvo principal desses estudos por ser muito utilizada na proteção solar e por apresentar permeação cutânea, podendo ser identificada no sangue e urina pouco tempo depois de sua aplicação tópica, além de produzir metabólitos que podem apresentar atividade estrogênica.

Acredita-se que este trabalho possa gerar informações estruturais e eletrônicas importantes sobre os derivados da benzofenona para o desenvolvimento de novos compostos que possam ser utilizados como filtros UV, mas que não apresentem atividade estrogênica, portanto, eficazes e mais seguros.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Aplicar técnicas de modelagem molecular em uma série de derivados da benzofenona visando gerar informações importantes para o desenho racional de compostos com atividade fotoprotetora, mas que não apresentem atividade estrogênica evidenciada em muitos desses compostos. Avaliar fatores que contribuem com a atividade estrogênica indesejável e obter uma metodologia robusta para avaliar a faixa de absorção de novos composto.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar estudos teóricos através de métodos rápidos e precisos para a obtenção de parâmetros estruturais e eletrônicos que possam ser correlacionados com a atividade estrogênica de uma série de derivados da benzofenona.

Realizar um estudo de *docking* com o derivado mais ativo no receptor de estrogênio, visando observar os principais sítios de interação ligante-receptor.

Empregar a Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TD-DFT) no estudo teórico do espectro eletrônico de absorção e das transições eletrônicas de derivados da benzofenona. Comparar os resultados teóricos com dados experimentais do espectro UV em diferentes solventes e avaliar a capacidade de predição do espectro eletrônico de derivados da benzofenona.

4. METODOLOGIA

4.1. DADOS BIOLÓGICOS: SÉRIE DE DERIVADOS DA BENZOFENONA

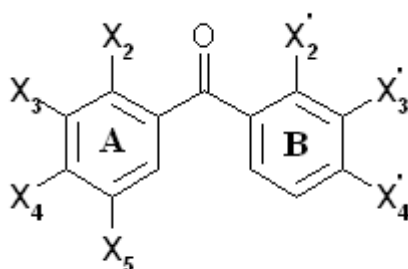
Suzuki e colaboradores (2005) avaliaram a atividade estrogênica de uma série de derivados da benzofenona, utilizados como estabilizadores e filtros UV. A série apresenta 16 compostos, incluindo a benzofenona (composto **01**), que foram utilizados para o estudo de SAR.

A Tabela 2 descreve a estrutura química dos 16 compostos e suas respectivas atividades, as quais são definidas pelos valores de pEC₅₀. Os valores de pEC₅₀ correspondem a $-\log EC_{50}$ (μM).

Para a determinação do EC₅₀, Suzuki e colaboradores (2005) utilizaram o ensaio “repórter” *in vitro* de ERE-luc com MCF-7. Este ensaio avalia a proliferação de células cancerígenas mamárias humanas, isto é, células de linhagem celular MCF-7, em resposta a exposição a substâncias estrogênicas cuja atividade é avaliada pela enzima luciferase (BILA, 2005). O valor de EC₅₀ representa a dose mínima capaz de estimular 50% da proliferação de células MCF-7.

A Figura 17 apresenta a distribuição dos compostos em relação à atividade estrogênica, em que se verifica que os valores de pEC₅₀ variam de 1,00 a -2,00, ou seja, uma faixa de três unidades logarítmicas.

Tabela 2. Estrutura química e valores de pEC50 (SUZUKI *et al.*, 2005) da série de 16 derivados da benzofenona



#	Nome	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X' ₂	X' ₃	X' ₄	pEC ₅₀ (M)
01	Benzofenona	H	H	H	H	H	H	H	1,70
02	2-Hidroxibenzofenona	OH	H	H	H	H	H	H	1,96
03	3-Hidroxibenzofenona	H	OH	H	H	H	H	H	2,42
04	4-Hidroxibenzofenona	H	H	OH	H	H	H	H	2,75
05	2,2'-Dihidroxibenzofenona	OH	H	H	H	OH	H	H	<0,61
06	2,4-Dihidroxibenzofenona	OH	H	OH	H	H	H	H	2,51
07	4,4'-Dihidroxibenzofenona	H	H	OH	H	H	H	OH	3,46
08	2,3,4-Trihidroxibenzofenona	OH	OH	OH	H	H	H	H	1,53
09	2,4,4'-Trihidroxibenzofenona	OH	H	OH	H	H	H	OH	3,61
10	2,2',4,4'-Tetrahidroxibenzofenona	OH	H	OH	H	OH	H	OH	3,13
11	2,3,4,4'-Tetrahidroxibenzofenona	OH	OH	OH	H	H	H	OH	1,11
12	2,3',4,4'-Tetrahidroxibenzofenona	OH	H	OH	H	H	OH	OH	3,46
13	2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona	OH	H	CH ₃ O	H	H	H	H	1,32
14	2,2'-Dihidróxi-4-metoxibenzofenona	OH	H	CH ₃ O	H	OH	H	H	<0,61
15	2,2'-Dihidróxi-4,4'-dimetoxibenzofenona	OH	H	CH ₃ O	H	OH	H	CH ₃ O	<0,61
16	Ácido 2-Hidróxi-4- metoxibenzofenone-5-sulfônico	OH	H	CH ₃ O	SO ₃ H	H	H	H	<0,61

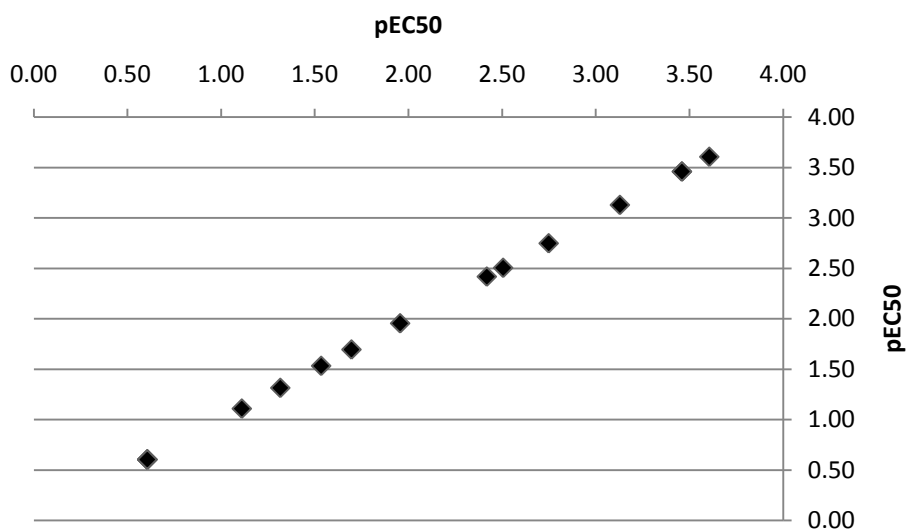


Figura 17. Distribuição dos valores de atividade (pEC_{50}) dos 16 derivados da benzofenona selecionados para o estudo de SAR (SUZUKI *et al.*, 2005).

4.2. ESTUDO DA RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE (SAR) DE UMA SÉRIE DE DERIVADOS DA BENZOFENONA (01-16) COM PERFIL DE ATIVIDADE ESTROGÊNICA

A primeira etapa do trabalho consistiu no estudo da relação estrutura-atividade (SAR) de uma série de derivados da benzofenona, pela avaliação da importância dos grupos substituintes e o efeito no perfil de atividade estrogênica.

Para o estudo da relação estrutura-atividade (SAR) foram necessários os cálculos dos descritores moleculares por técnicas de modelagem molecular. Para isso, utilizou-se o programa Spartan'08® (Wavefunction Inc., em ambiente Windows®) disponível no Laboratório de Modelagem Molecular & QSAR-3D (ModMolQSAR-3D) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

4.2.1. Construção e otimização das estruturas tridimensionais

Inicialmente, foi realizado o desenho e a minimização de energia das estruturas 3D de cada um dos 16 compostos da série.

Para a determinação da Superfície de Energia Potencial mínima das benzofenonas no vácuo realizou-se uma busca sistemática pelo método de mecânica molecular, utilizando o campo de forças *Merck Molecular Force Field* (MMFF) disponível no programa Spartan'08. As energias das estruturas moleculares foram calculadas em função dos principais ângulos de diedros usando incrementos de 120°.

Os confôrmeros de menor energia obtidos através da busca foram otimizados pelo método semi-empírico, modelo RM1 (*Recife Model 1*).

A Figura 18 ilustra o sistema de numeração dos átomos adotado para as benzofenonas neste estudo.

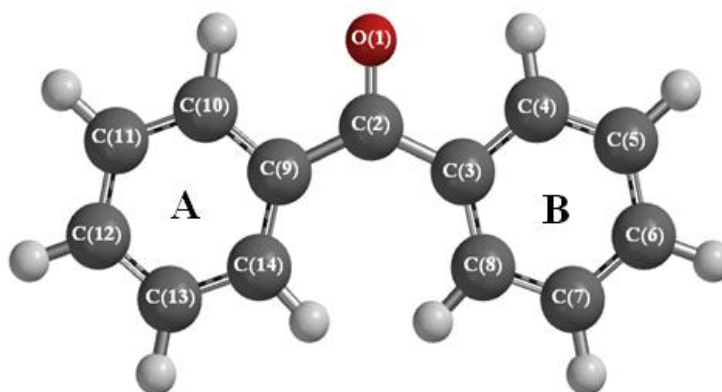


Figura 18. Numeração dos átomos na benzofenona.

4.2.2. Cálculo das propriedades eletrônicas

As estruturas otimizadas foram submetidas a cálculos de Teoria de Densidade Funcional (DFT, do inglês *Density Functional Theory*), em ponto único (*single point*), utilizando o funcional de correlação-troca B3LYP e conjunto de base 6-31G*.

Desta forma, foram obtidas propriedades empregadas como potenciais descritores moleculares: momento de dipolo molecular, mapa de potencial eletrostático molecular (MEP), mapa de densidade eletrônica HOMO, mapa de densidade eletrônica LUMO, energias e coeficientes dos orbitais HOMO e LUMO e

lipofilicidade. Os valores de lipofilicidade (cLogP) foram obtidos pelo modelo de Crippen, disponível também no pacote Spartan'08®.

4.3. ESTUDO DE *DOCKING* DO COMPOSTO MAIS ATIVO (09) DA SÉRIE DE DERIVADOS DA BENZOFENONA

Realizou-se um estudo de *docking* do composto mais ativo (09) no receptor de estrogênio (código PDB: 1ERE) para complementar ao estudo de SAR.

A estrutura tridimensional do ligante (derivado 09) otimizada no programa Spartan' 08 e salva no formato mol2 foi convertida para o arquivo de entrada do programa GAMESS US no programa Open Babel (ambos em ambiente Linux). Depois da preparação do arquivo de entrada para o GAMESS US (*.inp) obteve-se as cargas CHELPG (do inglês *Charge Electrostatic Potential Grid*).

O programa de interface gráfica AutoDockTools (ADT) foi utilizado para gerar arquivo de entrada da proteína, receptor de estrogênio (código PDB: 1ERE), e do ligante para o programa Autodock.

Para o *docking*, uma caixa de 60x60x60 Å foi construída centralizada no LBD. O espaçamento de grade de 0,375Å (aproximadamente ¼ da distância de uma ligação covalente C-C) e uma função da constante dielétrica dependente de distância foram utilizados para o cálculo dos mapas de energia.

Foram obtidas 20 “poses” para o ligante. O estudo de *docking* foi realizado aplicando-se o algoritmo genético de busca Lamarckiano e um protocolo padrão com uma população inicial de 150 indivíduos aleatórios, um número máximo de 2,5x10⁶ avaliações de energia e um máximo de 2,7 × 10⁴ gerações. Foram mantidas a taxa de mutação de 0,02 e a taxa de crossover de 0,8.

Resultados de *docking* que apresentaram um RMSD inferiores a 2.0 Å foram agrupados e o resultado da melhor energia de *docking* foi selecionado como o melhor complexo resultante (MORRIS *et al.*, 1998).

4.4. CÁLCULO DO ESPECTRO UV-VIS DOS COMPOSTOS (01, 13 e 14) DERIVADOS DA BENZOFENONAS

A última etapa é referente ao estudo teórico do espectro eletrônico de absorção do derivado **01** (benzofenona) e os derivados incluídos na lista de filtros solares permitidos pela ANVISA vigente (RDC nº 47 de 16 de março de 2006): composto **13** (BF-3; 2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona; oxibenzona) e composto **14** (BF-8; 2,2'-Dihidróxi-4-metoxibenzofenona; dioxibenzona).

Para o cálculo do espectro eletrônico UV-vis utilizaram-se os programas Spartan'08® (Wavefunction Inc., em ambiente Windows® - Microsoft Corporation) e GAMESS US (em ambiente Linux) disponíveis no Laboratório de Modelagem Molecular & QSAR-3D (ModMolQSAR-3D) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Em ambos os programas utilizou-se a Teoria de Densidade Funcional Dependente do Tempo (TD-DFT) com o funcional de correlação-troca B3LYP e conjunto de base 6-31G* para o estudo em estado excitado.

As mesmas conformações obtidas na análise conformacional realizada para o estudo de SAR, otimizadas pelos métodos de mecânica molecular (*MMFF*) e semi-empíricos (*RM1*), foram utilizadas nesta etapa do trabalho. Ambos os estudos do espectro eletrônico, usando os programas Spartan'08 e GAMESS US, foram realizados em *single point*.

4.4.1. Estudo do espectro eletrônico de absorção UV-Vis realizado no programa Spartan' 08

Para o estudo do espectro eletrônico de absorção realizado no programa Spartan'08, os cálculos em estado excitado foram realizados no vácuo e em etanol (modelo de solvatação implícito método SM8). No método de solvente implícito, o efeito do solvente é incluído simulando sua capacidade de modular as propriedades eletrostáticas do meio, isto é, considerando apenas a constante dielétrica (ϵ) do solvente.

Com esses cálculos, obtiveram-se os comprimentos de onda (λ) absorvidos e a respectiva força de oscilação (f). A força de oscilação é uma dimensão quantitativa utilizada para expressar a força de transição eletrônica de um estado para outro, em uma molécula, devido à absorção de luz.

4.4.2. Estudo do espectro eletrônico de absorção UV-Vis realizado no programa GAMESS US

A conformação de menor energia obtida na análise conformacional realizada no Spartan'08, na primeira etapa do trabalho, foi salva em formato mol2 e convertida para o arquivo de entrada do GAMESS US (*.inp) com o auxílio do programa Open Babel (em ambiente Linux). Depois da preparação do arquivo de entrada para o GAMESS US os cálculos no estado excitado, método TD-DFT/B3LYP/6-31G*, foram executados.

Com esses cálculos, obtiveram-se os comprimentos de onda (λ) absorvidos com a respectiva força de oscilação (f) e a contribuição dos orbitais moleculares que participam da excitação eletrônica.

O arquivo de saída do GAMESS US (*.out) foi lido com o auxílio do programa Chemission (ambiente Windows).

4.5. FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA

A Figura 19 ilustra o fluxograma da metodologia utilizada no estudo dos derivados da benzofenona.

METODOLOGIA

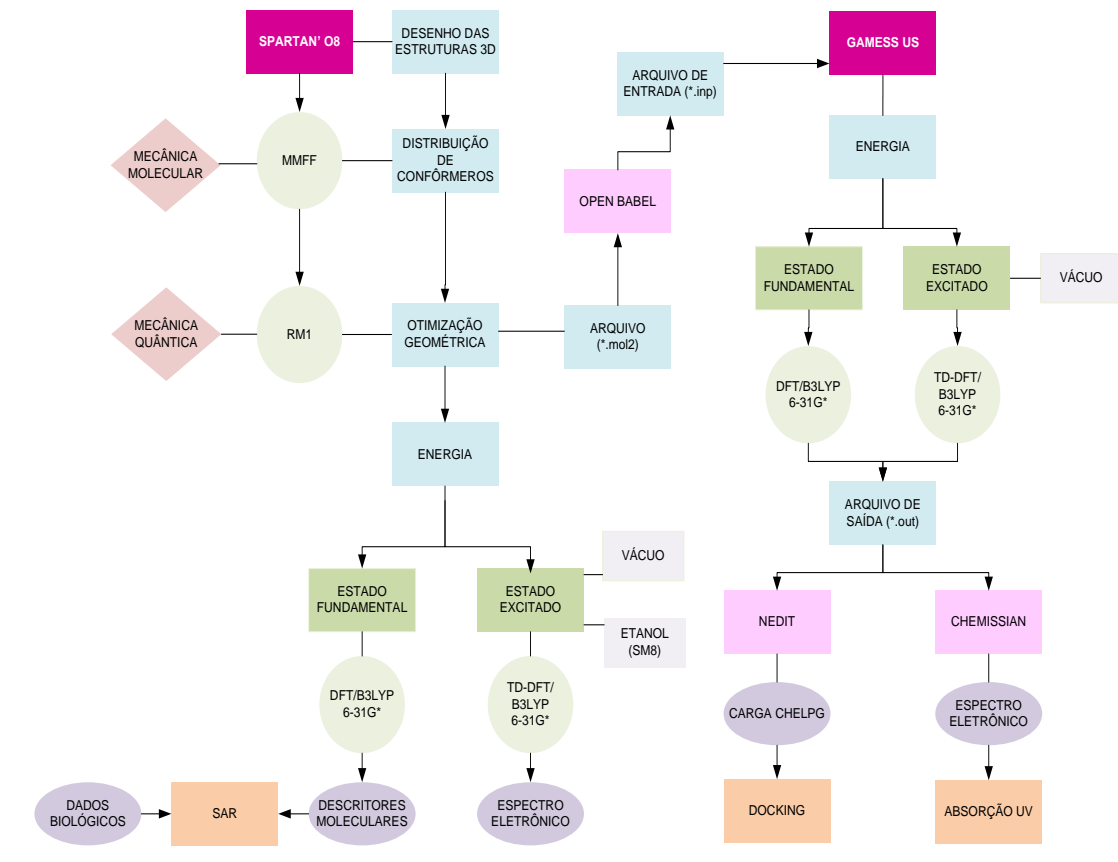


Figura 19. Fluxograma da metodologia.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ESTUDO DA RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE DE DERIVADOS DA BENZOFENONA COM PERFIL ESTROGÊNICO

5.1.1. Análise conformacional

A análise conformacional dos compostos em estudo foi realizada através de uma busca sistemática com variação de ângulos torsionais em incrementos regulares de 120°. Com a rotação dos ângulos que envolvem a ligação simples entre os anéis (A e B) e a função carbonila, obteve-se as conformações de menor energia que representam os possíveis mínimos de energia. Para isso, empregou-se a mecânica molecular como método de cálculo e o campo de forças *MMFF*. Os confôrmeros tiveram a sua geometria otimizada pelo método semi-empírico *RM1*.

O estudo foi realizado no vácuo e, por isso, as conformações encontradas são influenciadas apenas pelas características e propriedades químicas de seus substituintes.

Na Figura 20, estão ilustrados os confôrmeros de menor energia da série de derivados da benzofenona (**01-16**).

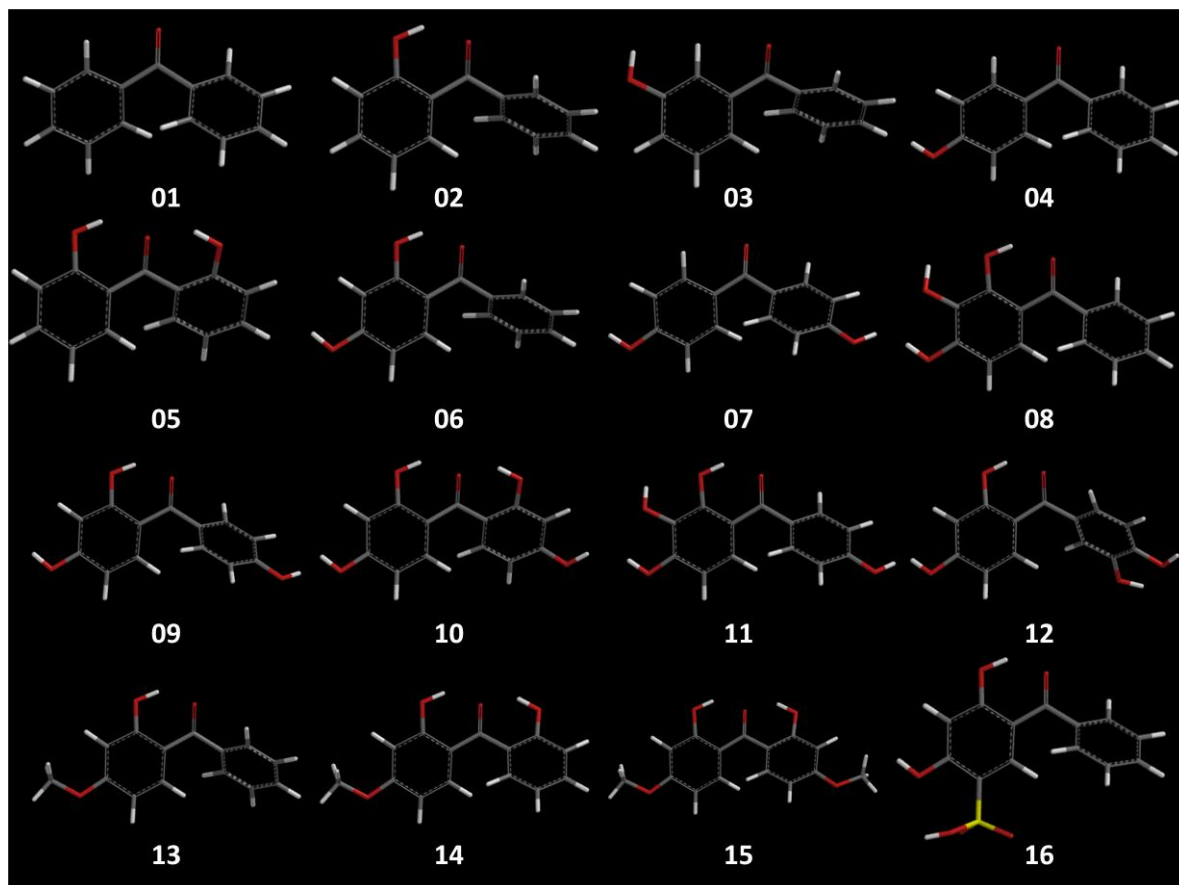


Figura 20. Confômero de menor energia de cada composto da série (01-16) obtido por cálculos de mecânica molecular (MMFF) e método semi-empírico RM1.

A estrutura geral das benzofenonas não é planar, pois o arranjo conformacional é influenciado pela interação estérica entre átomos de hidrogênio aromáticos *orto* (Figura 21) que impedem a co-planaridade entre os dois anéis ligados pelo grupo carbonila (COX *et al.*, 2008).

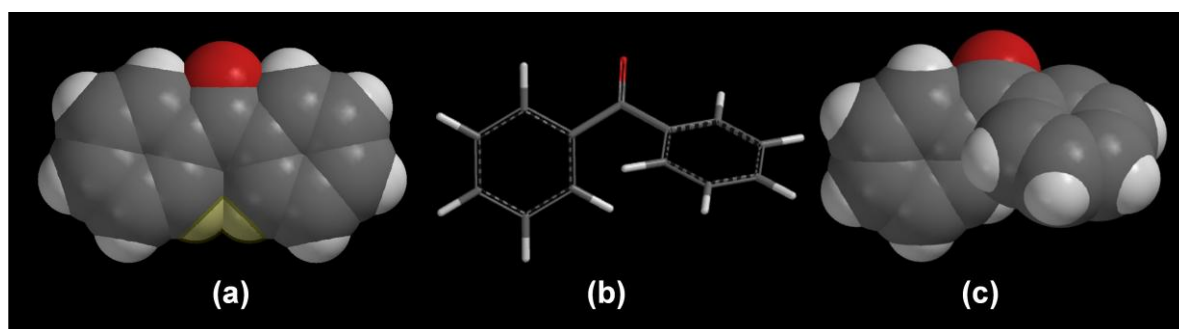


Figura 201. (a) Estrutura da benzofenona não otimizada - Impedimento estérico, entre os átomos de hidrogênio destacados em amarelo, observado na estrutura da benzofenona que apresenta planaridade entre os anéis (Modelo CPK). (b) Estrutura da benzofenona otimizada (Modelo de varetas) (c) Estrutura da benzofenona otimizada em modelo CPK (Corey Pauling Koltum).

A Tabela 3 apresenta os ângulos de inclinação entre os planos dos dois anéis (A e B) calculados para os confôrmeros de menor energia da série em estudo. Para medir o ângulo de inclinação entre os planos dos anéis ($\omega_{A/B}$) foram utilizados os átomos C₇C₄ e C₁₀C₁₃, de acordo com a numeração apresentada na Figura 18.

Tabela 3. Ângulos de inclinação para os confôrmeros de menor energia da série de derivados da benzofenona (**01-16**). ($\omega_{A/B}$ = ângulo de inclinação (C₇C₄C₁₀C₁₃) formado entre os planos contendo os anéis aromáticos A e B).

#	$\omega_{A/B}$ (°)
01	62,05
02	54,56
03	62,36
04	61,36
05	42,68
06	54,40
07	60,83
08	54,70
09	53,20
10	40,79
11	53,49
12	54,05
13	54,41
14	41,67
15	40,58
16	53,05

O ângulo entre os planos dos anéis A e B ($\omega_{A/B}$) variaram entre 40,58° (derivado **15**) e 62,36° (derivado **03**).

Mantas e colaboradores (2004) também estudaram a conformação de benzofenonas substituídas e observaram que a inclinação dos planos contendo os anéis aromáticos A e B dos compostos calculados por eles compreendiam a faixa de 49,7-51,1° (vácuo) e 49,7°-51,2° (água). A diferença de energia entre os compostos estudados no vácuo e em água era menor do que 1kcal/mol.

Realizou-se a comparação dos ângulos calculados com os ângulos de benzofenonas substituídas presentes no banco de dados estruturais de Cambridge (CSD, do inglês *Cambridge Structural Database*).

A estrutura cristal da benzofenona (derivado **01**) disponível no CSD apresenta um ângulo entre os planos dos dois anéis igual a 65° , próximo ao obtido na análise conformacional realizada ($62,05^\circ$).

A inserção de substituintes doadores de elétrons no derivado **01** (benzofenona) aumenta a planaridade dos confôrmeros (MANTAS *et al.*, 2004). Esse efeito pôde ser observado nos compostos substituídos da série analisada, exceto para o derivado **03**, que apresentou um ângulo um pouco maior do que o da benzofenona (**01**).

O ângulo calculado e o observado na estrutura cristal da 2,2',4,4'-Tetrahidroxibenzofenona (derivado **10**) são muito próximos, $40,79^\circ$ e 43° , respectivamente. Para o derivado **13** (2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona), também foi observada pequena variação, o ângulo calculado foi de $54,41^\circ$, aproximadamente 4° de desvio do ângulo disponível no CSD.

Os compostos (**05**, **10**, **14** e **15**) apresentam os menores ângulos entre os planos dos anéis ($< 50^\circ$). Todos esses derivados são substituídos por uma hidroxila em cada anel na posição *orto*. A formação simultânea de duas ligações hidrogênio intramoleculares envolvendo a carbonila favorece a co-planaridade entre os anéis (COX *et al.*, 2000).

Cox e colaboradores (2000) também observaram um ângulo menor entre os anéis do composto *di-orto*-substituído, 2,2'-Dihidróxi-4,4'-dimetoxibenzofenona, quando comparado aos ângulos dos outros compostos estudados por eles.

Os mínimos de energia encontrados para cada uma das estruturas dos derivados nas condições do estudo (vácuo) podem ser outros em diferentes ambientes, como no cristal da substância pura ou em solução aquosa. Contudo, os valores calculados apresentaram coerência quando comparados com os dados da estruturas cristal disponíveis no CSD.

As conformações de menor energia (mais estáveis) obtidas por cálculos de mecânica molecular e quântica foram utilizadas para os cálculos de energia em *single point*. Considerou-se que a conformação mais estável deve estar em maior número durante o processo de interação com o receptor. No entanto, deve-se ressaltar que não há uma relação direta entre a conformação mais estável e a

conformação bioativa, pois a primeira pode sofrer mudanças na sua conformação original no momento em que se aproxima do sítio receptor (RODRIGUES, 2001).

5.1.2. Análise dos dados de atividade estrogênica e dos dados obtidos a partir dos cálculos de modelagem molecular da série de derivados da benzofenona (01-16)

A atividade estrogênica da série de derivados da benzofenona (**01-16**) foi estudada por Suzuki e colaboradores (2005) com o intuito de avaliar a atividade das mesmas como desreguladores endócrinos.

A série totaliza 16 compostos, que possuem ao menos um grupo hidroxila como substituinte comum, exceto para a benzofenona (composto **01**). Todos os compostos exibiram atividade estrogênica no ensaio “repórter” *in vitro* de ERE-luc com MCF-7, com um amplo perfil de atividade.

Os derivados mono-hidroxilados (**02-04**), em que o composto (**02**) é *orto*-substituído (X_2), (**03**) é *meta*-substituído (X_3) e (**04**) é *para*-substituído (X_4) compreendem a faixa de atividade (pEC_{50}) 1,96 a 2,75, sendo o composto *para*-substituído (**04**) o que possui maior atividade entre eles (Figura 23). Segundo Suzuki e colaboradores (2005), o grupo 4-hidroxila da benzofenona é importante para a ligação com o sítio LBD do receptor de estrogênio, como o grupo 3-hidroxila do 17 β -estradiol.

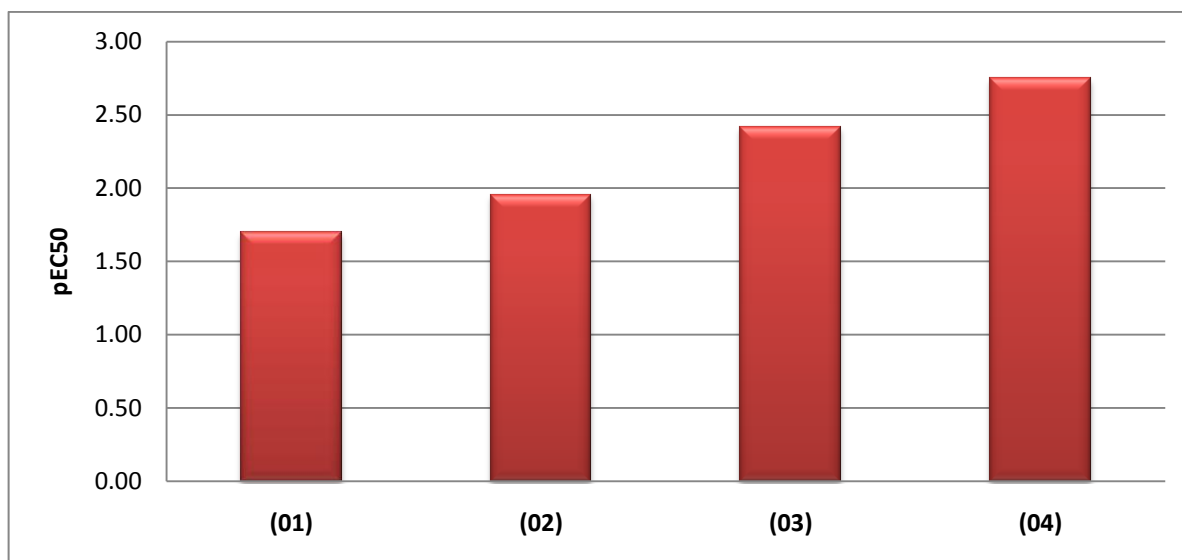


Figura 21. Atividade estrogênica (pEC₅₀) dos derivados monohidroxilados: derivado *orto*-substituído (**02**), *meta*-substituído (**03**) e *para*-substituído (**04**).

A substituição do grupo em *meta* (derivado **03**) não reduz a atividade tanto quanto a substituição em *orto* (derivado **02**). Segundo Kawamura e col. (2003), os anéis ligados a carbonila não são fixos, apresentam rotação livre referente ao ângulo de torção entre o plano da carbonila e do anel que permite a interação semelhante do grupo 3-hidroxila à do grupo 4-hidroxila no LBD do receptor de estrogênio.

Os compostos (**05-07**) di-hidroxilados apresentam a atividade estrogênica na ordem: 4,4'-Dihidroxibenzofenona (**07**) (pEC₅₀ = 3,46) > 2,4-Dihidroxibenzofenona (**06**) (pEC₅₀ = 2,51) > 2,2'-Dihidroxibenzofenona (**05**) (pEC₅₀ = 0,61) (Figura 24).

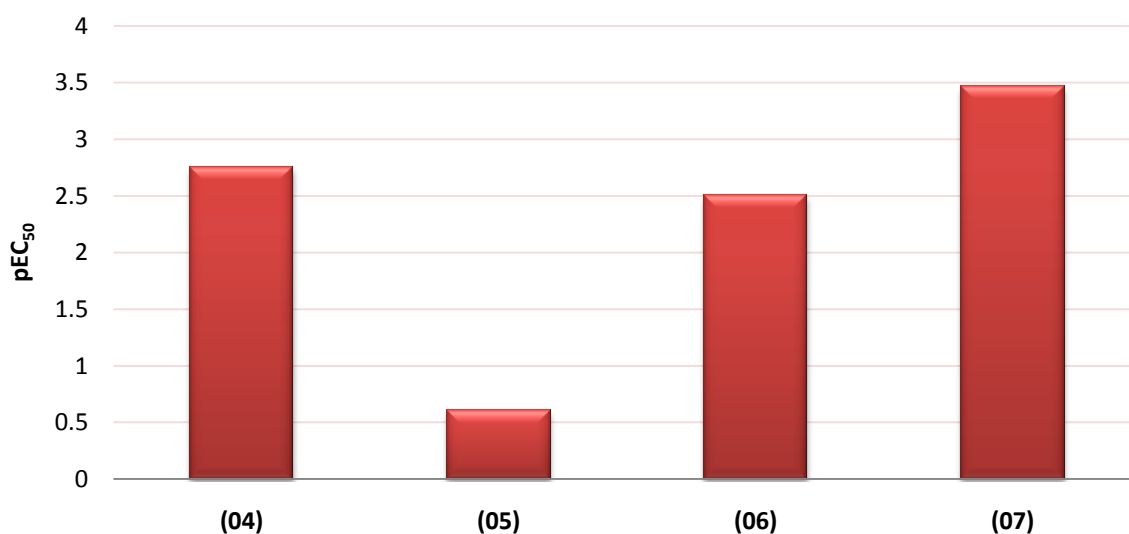


Figura 22. Atividade estrogênica (pEC₅₀) dos derivados 4-Hidroxibenzofenona (**04**), 2,2'-Dihidroxibenzofenona (**05**), 2,4-Dihidroxibenzofenona (**06**) e 4,4'-Dihidroxibenzofenona (**07**).

A adição do grupo 4'-hidroxila na 4-hidroxibenzofenona (**04**) resultou em um aumento da atividade estrogênica. Em ensaios realizados por Kawamura e col. (2003), a atividade estrogênica de benzofenonas não hidroxiladas na posição *para* também foi baixa. A baixa atividade da 2,2'-Dihidroxibenzofenona (composto **05**) reforça a importância do grupo 4-hidroxila para a atividade.

Os derivados (**08-09**) são tri-hidroxilados. O derivado (**09**), 2,4,4'-Trihidroxibenzofenona, foi o que apresentou maior atividade estrogênica ($pEC_{50} = 3,61$). Na série o derivado (**08**), 2,3,4-Trihidroxibenzofenona, apresentou baixa atividade ($pEC_{50} = 1,53$).

Dos compostos tetrahidroxilados (**10-12**), os derivados **10** e **12** exibiram elevada atividade estrogênica. A atividade de (**12**) 2,3',4,4'-Tetrahidroxibenzofenona ($pEC_{50} = 3,46$) foi maior que a de (**10**) 2,2',4,4'-Tetrahidroxibenzofenona ($pEC_{50} = 3,13$). Já o derivado **11**, 2,3,4,4'-Tetrahidroxibenzofenona, apresentou baixa atividade ($pEC_{50} = 1,11$).

Os derivados di-*para*-hidroxilados, exceto **11**, apresentaram os maiores valores de atividade estrogênica. A ordem crescente da atividade dos derivados mais ativos é: 2,2',4,4'-Tetrahidroxibenzofenona (**10**) < 4,4'-Dihidroxibenzofenona (**07**) e 2,3',4,4'-Tetrahidroxibenzofenona (**12**) < 2,4,4'-Trihidroxibenzofenona (**09**) (Figura 25).

Os resultados dos ensaios realizados por Kawamura e col. (2005) apontaram a 2,4,4'-Trihidroxibenzofenona (**09**) como responsável pela maior atividade estrogênica, corroborando a pesquisa de Suzuki e col. (2005).

A atividade estrogênica do derivado **09** foi confirmada *in vivo* por ensaio uterotrófico em ratas (SUZUKI *et al.*, 2005).

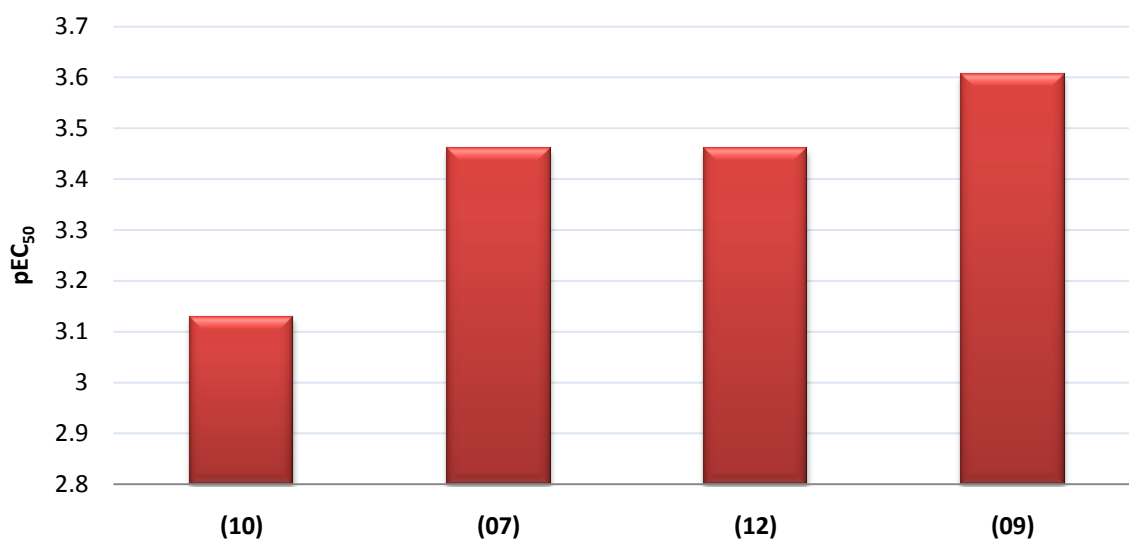


Figura 23. Atividade estrogênica (pEC₅₀) dos derivados mais potentes do estudo de SUZUKI *et al.*, 2005.

Pode ser observado entre os compostos **07** e **09** um aumento de atividade promovido pela presença do grupo 2-hidroxila na 4,4'-hidroxibenzofenona.

A Figura 26 apresenta o alinhamento e sobreposição dos compostos **07** e **09**. O composto **09** apresenta maior rigidez devido à ligação hidrogênio intramolecular entre o grupo 2-hidroxila e o átomo de oxigênio da carbonila, o que pode influenciar para uma melhor interação no LBD do receptor de estrogênio.

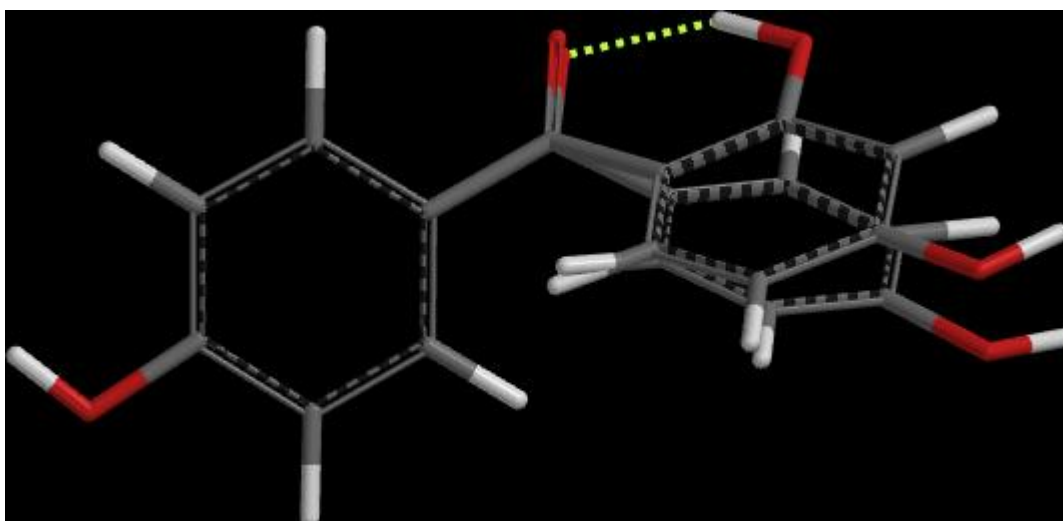


Figura 24. Alinhamento e sobreposição dos compostos **07** e **09**. Tracejado amarelo aponta a interação por ligação hidrogênio do grupo 2-hidroxil com a carbonila.

O anel 2,4-dihidroxiado do composto **09** apresenta menor ângulo de torção ($O_1C_2C_9C_{10}$) entre o plano do anel e da carbonila ($10,44^\circ$) do que o anel 4-hidroxiado do composto **07** que apresentou um ângulo diedro de $34,74^\circ$.

Segundo Kawamura e col. (2003; 2005), a presença do grupo 2-hidroxiol pode favorecer a atividade de benzofenonas 4,4'-dihidroxiadas por uma interação de ligação hidrogênio entre o grupo 2-hidroxiol e o grupo carbonila, que promove uma rigidez na estrutura, possibilitando uma melhor interação da região hidrofóbica no LBD do receptor de estrogênio.

Entre as benzofenonas *para*-dihidroxiadas, apenas o derivado **11** apresentou baixa atividade estrogênica.

Se comparada as atividades dos compostos **06** ($pEC_{50}=2,51$) e **08** ($pEC_{50}=1,53$) e dos compostos **09** ($pEC_{50}=3,61$) e **11** ($pEC_{50}=-1,11$), observa-se que a inserção do grupo 3-hidroxiol prejudica a atividade estrogênica.

Em ensaios realizados por Kawamura e colaboradores (2003), para a avaliação da atividade estrogênica, a presença do grupo 3-hidroxiol em benzofenonas 2,4-hidroxiadas também foi desfavorável para a atividade.

A Figura 27 ilustra, em modelo CPK, a estrutura dos compostos **06**, **08**, **09** e **11** e área exposta (Å^2) dos átomos de oxigênio e hidrogênio dos substituintes *para*-hidroxiol.

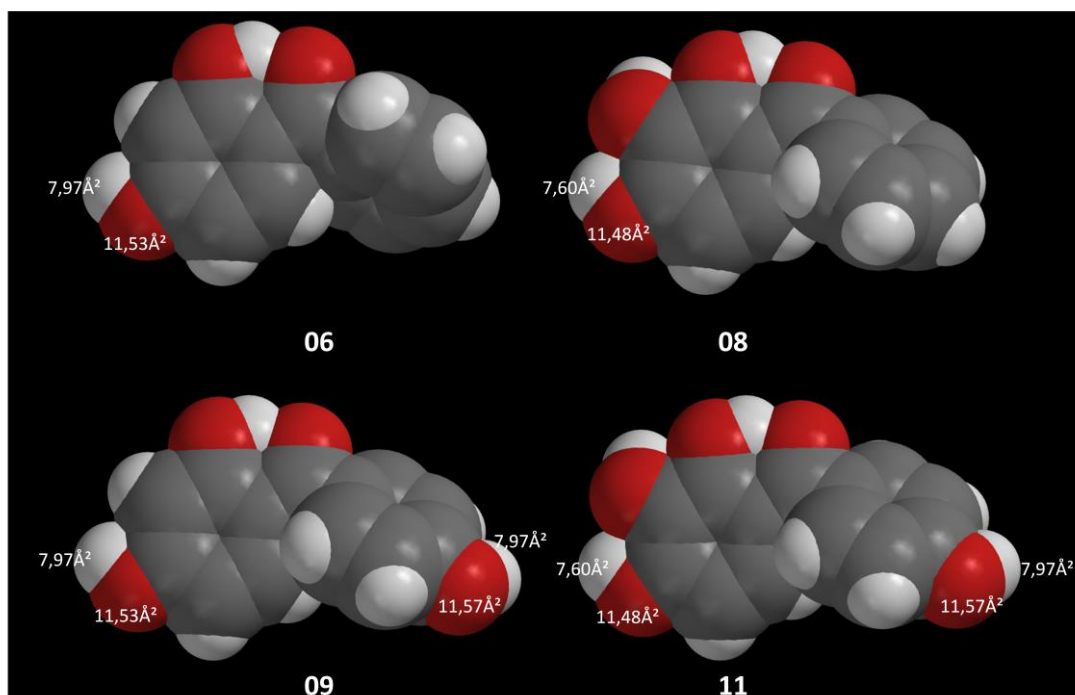


Figura 25. Estrutura dos compostos **06** ($pEC_{50}=-0,10$) e **08** ($pEC_{50}=-1,07$) e dos compostos **09** ($pEC_{50}=1,00$) e **11** ($pEC_{50}=-1,50$) em modelo CPK e área exposta (\AA^2) dos átomos de oxigênio e hidrogênio dos substituintes *para*-hidroxila.

É possível observar uma pequena diminuição na área exposta dos doadores e aceptores de ligação hidrogênio do grupo *para*-hidroxila. Segundo Suzuki e col. (2005), benzofenonas com três hidroxilas adjacentes (2,3,4-trihidroxiladas) podem apresentar atividade reduzida. Presume-se que as 3 hidroxilas adjacentes dificultam a ligação hidrogênio do derivado no sítio LBD do receptor.

Os derivados (**13-16**) possuem substituintes metoxila, além de hidroxila, sendo que o composto (**16**) é o único que apresenta também o grupo sulfônico (substituinte em X_5).

A benzofenona-3 (**13**) é o derivado mais utilizado em formulações para a proteção solar. No estudo de Suzuki e col. (2005), a BF-3 apresentou atividade estrogênica mais fraca no ensaio *in vitro* mais fraca ($pEC_{50} = 1,32$) do que os derivados substituídos apenas por hidroxila, exceto os compostos **05** e **11** (pouco ativos). No ensaio *in vivo* realizado por Suzuki e col. (2005) a BF-3 não exibiu atividade estrogênica. As benzofenonas (**14-16**) exibiram atividade muito fraca ($pEC_{50} = < 0,61$).

Segundo Kawamura e col. (2005), no ensaio com $hER\alpha$, 2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona (**13**), 2,2'-Dihidróxi-4-metoxibenzofenona (**14**) e 2,2'-Dihidróxi-

4,4'-dimetoxibenzofenona (**15**) apresentam baixa atividade estrogênica, e o ácido 2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona-5-sulfônico (**16**) não exibiu atividade.

5.1.2.1. *Parâmetros estereoeletrônicos teóricos*

Realizou-se um estudo dos principais parâmetros estereoeletrônicos teóricos dos derivados da benzofenona (**01-16**) com o intuito de obter informações importantes sobre a modulação da atividade estrogênica desses derivados.

A partir do confôrmero de menor energia de cada composto da série (**01-16**), os descritores moleculares foram calculados utilizando-se a Teoria do Funcional da Densidade (DFT). A Tabela 4 apresenta os parâmetros obtidos (volume molecular, energias de HOMO e LUMO (E_{HOMO} e E_{LUMO}), cLogP e momento de dipolo molecular) a partir dos cálculos de modelagem molecular de todos os derivados.

Tabela 4. Parâmetros calculados (volume, energia de HOMO e LUMO, dipolo molecular e cLogP) e atividade estrogênica (pEC₅₀) experimental (SUZUKI *et al.*, 2005) dos derivados da benzofenona.

#	Volume (Å ³)	E _{HOMO} (eV)	E _{LUMO} (eV)	Dipolo (Debye)	cLogP	pEC ₅₀
01	202,29	-6,54	-1,54	3,18	3,24	1,70
02	208,12	-6,10	-1,72	3,32	2,85	1,96
03	209,38	-6,20	-1,56	2,20	2,85	2,42
04	209,32	-6,19	-1,36	2,73	2,85	2,75
05	213,96	-6,19	-2,06	2,87	2,46	<0,61
06	215,12	-6,06	-1,49	2,21	2,46	2,51
07	216,37	-6,05	-1,18	1,64	2,46	3,46
08	222,14	-5,95	-1,53	1,64	2,07	1,53
09	222,13	-5,97	-1,37	2,17	2,07	3,61
10	227,86	-5,96	-1,69	1,31	1,69	3,13
11	229,15	-5,88	-1,40	2,49	1,69	1,11
12	229,19	-5,87	-1,31	3,08	1,69	3,46
13	235,10	-5,96	-1,46	2,52	2,72	1,32
14	240,90	-6,02	-1,84	2,95	2,34	<0,61
15	267,82	-5,84	-1,64	1,90	2,21	<0,61
16	252,78	-6,74	-1,99	3,35	1,62	<0,61

A correlação linear de Pearson dos derivados foi verificada para os parâmetros calculados e a atividade estrogênica. Observou-se uma correlação linear moderada positiva ($r= 0,7007$; $p=0,0025$) entre a energia de LUMO e a atividade estrogênica (pEC₅₀) da série de derivados (01-16). A Figura 28 apresenta o gráfico de dispersão entre a energia de LUMO (E_{LUMO}) e a atividade estrogênica (pEC₅₀).

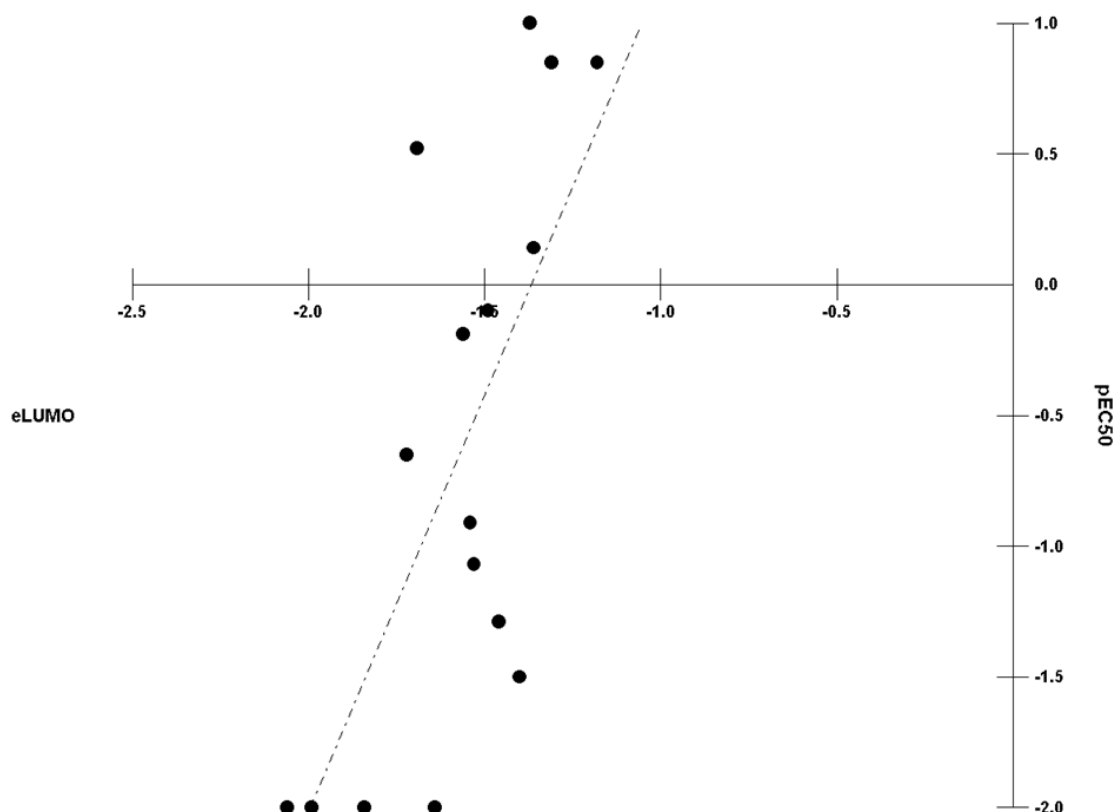


Figura 26. Correlação linear de Pearson: Energia de LUMO (E_{LUMO}) e atividade estrogênica (pEC_{50}) da série de derivados da benzofenona (01-16).

A reação entre um ácido de Lewis e uma base de Lewis consiste na transferência de elétrons, por interação entre os orbitais de HOMO e LUMO de dois compostos. O composto que reage via orbital HOMO é chamado de elétron-doador (base de Lewis) e aquele que reage via orbital LUMO é denominado de elétron-aceptor (ácido de Lewis). Quanto maior a energia do HOMO, maior a capacidade elétron-doadora. Quanto menor a energia do LUMO, menor será a resistência para aceitar elétrons.

A correlação da atividade estrogênica com a energia de LUMO, da série de derivados da benzofenona, pode estar relacionada com o mecanismo de interação com o LBD do receptor de estrogênio, em função da energia necessária para as interações que possam ocorrer entre orbitais HOMO do receptor e orbitais LUMO dos derivados.

Os compostos metoxilados (**13-16**) possuem os maiores volumes. O volume molecular pode interferir negativamente com o encaixe e as interações do ligante no sítio de ligação do receptor.

Foi possível observar, como ilustrado na Figura 29, um aumento do tamanho do composto de aproximadamente 2,3Å com a troca da hidroxila pela metoxila e o aumento do volume molecular, de 227,86 Å³ (composto **10**) para 267,82 Å³ (composto **15**).

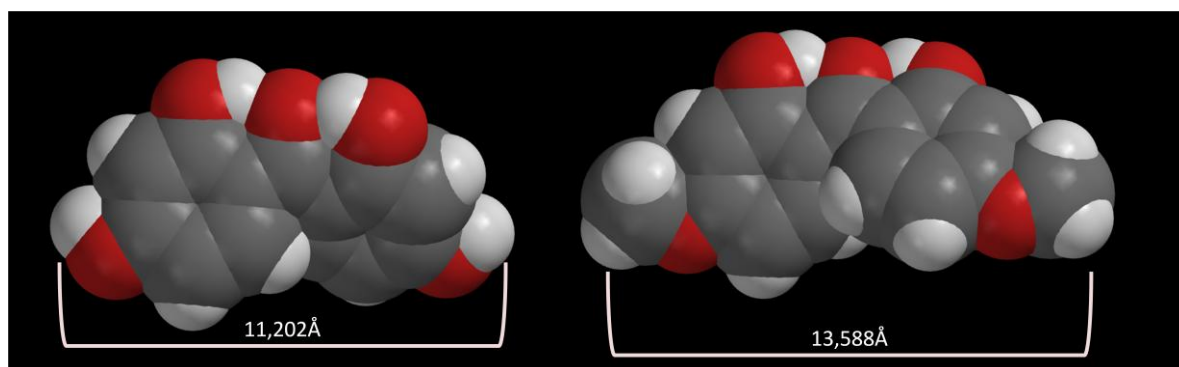


Figura 27. Distância entre os átomos de hidrogênio dos compostos **10** (esquerda) e **15** (direita) (modelo CPK).

Os outros parâmetros, como energia de HOMO, momento de dipolo molecular e cLogP, não forneceram, aparentemente, nenhuma correlação com a atividade estrogênica.

5.1.2.2. Mapa da densidade LUMO

O mapa da densidade LUMO descreve áreas deficientes em elétrons que podem ser suscetíveis à interação com regiões de alta densidade eletrônica do sítio LBD do receptor. A área deficiente em elétrons (cor azul) dos derivados da benzofenona está concentrada no átomo de carbono (C₂) da carbonila (Figura 18). A Figura 30 ilustra o mapa da densidade eletrônica de LUMO para todos os compostos da série.

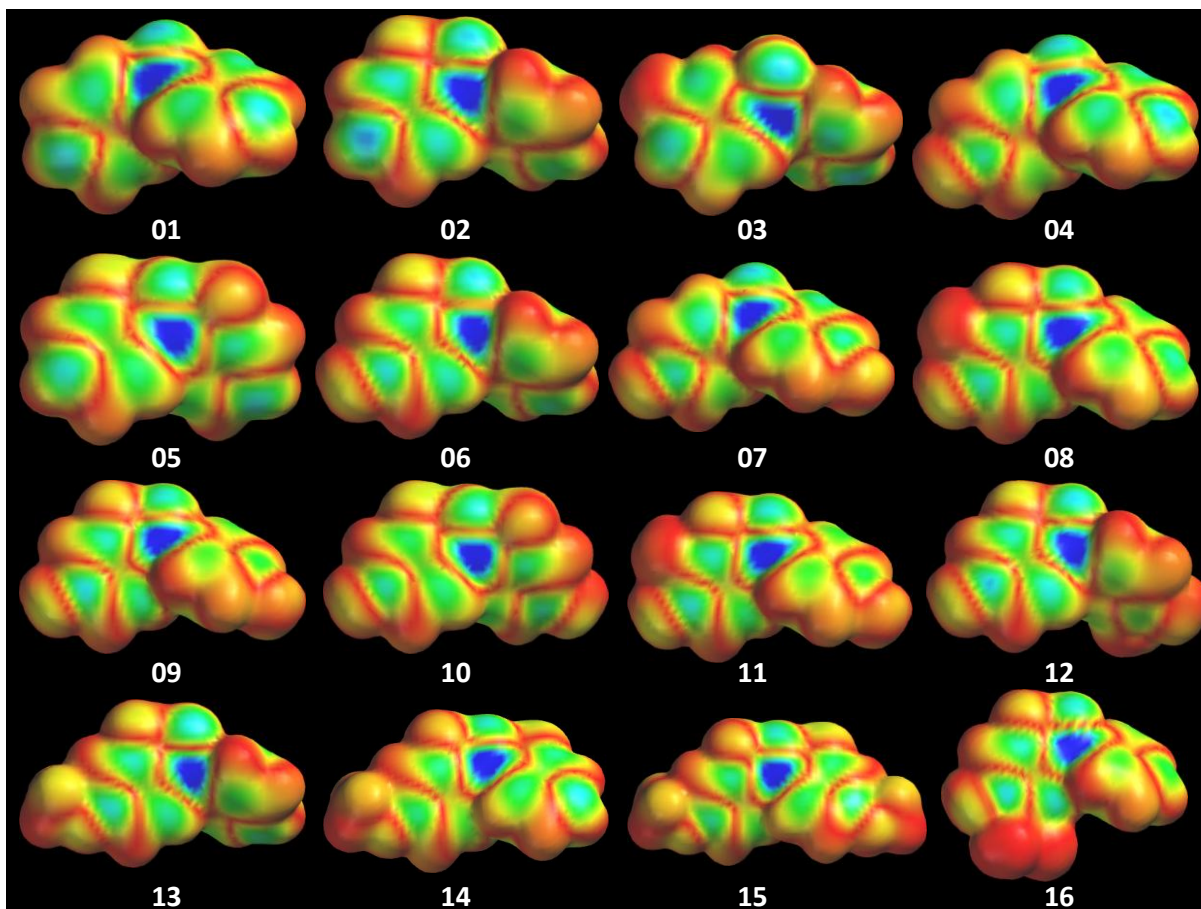


Figura 28. Mapa de densidade do Orbital Molecular de Menor Energia Desocupado (LUMO) da série de derivados (**01-16**) codificado na faixa de vermelho profundo (0,00) a azul profundo (0,02) sobre uma superfície de densidade eletrônica constante de $0,002 \text{ eV/ua}^3$, as áreas azuis e vermelhas indicam menores e maiores valores de energia LUMO, respectivamente.

Esta observação indica que a baixa densidade eletrônica LUMO sobre o átomo de carbono da carbonila dos derivados pode auxiliar, porém, não deve ser determinante para uma melhor interação entre a molécula e o sítio LBD, pois tanto os derivados mais ativos, quanto os menos ativos apresentaram a deficiência eletrônica na mesma região.

5.1.2.3. Mapa da densidade HOMO

A Figura 31 ilustra o mapa da densidade eletrônica de HOMO, que varia do vermelho (baixa densidade de HOMO) ao azul (alta densidade de HOMO), da série de derivados da benzofenona (**01-16**).

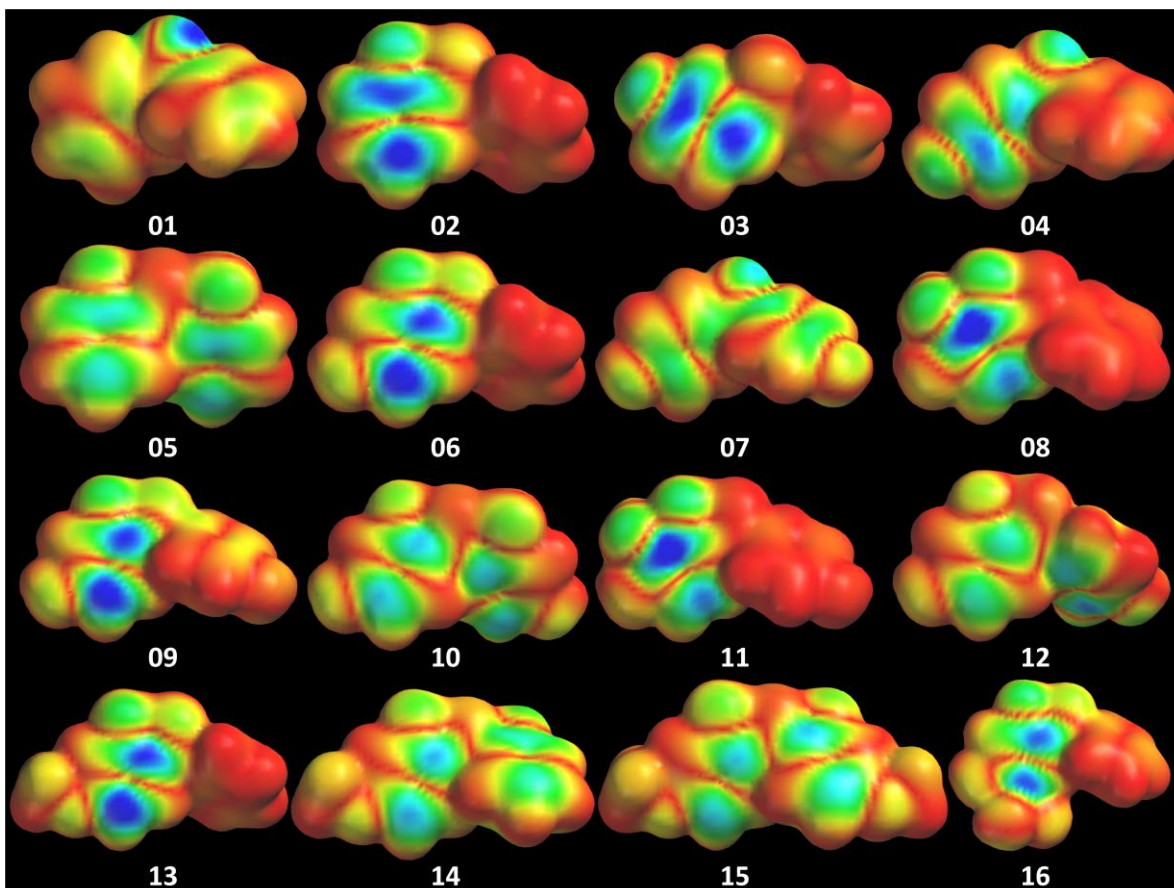


Figura 29. Mapa de densidade do Orbital Molecular de Maior Energia Ocupado (HOMO), codificado na faixa de vermelho profundo (0.00) a azul profundo (0.02) sobre uma superfície de densidade eletrônica constante de $0,002 \text{ eV/ua}^3$, as áreas azuis e vermelhas indicam maiores e menores valores de energia de HOMO, respectivamente.

Nos mapas de HOMO é possível observar dois perfis de distribuição da densidade eletrônica: densidade deslocalizada, isto é, distribuída uniformemente na estrutura (compostos **01**, **05**, **07**, **10**, **12**, **14** e **15**) e densidade localizada no anel com maior número de substituintes hidroxila e/ou metila (Compostos **02**, **03**, **04**, **06**, **08**, **09**, **11**, **13** e **16**).

Os compostos **01**, **05**, **07** e **15** apresentam simetria estrutural, o que explica a deslocalização eletrônica no mapa de HOMO. Sendo que, o composto **01**, por não possuir substituintes nos anéis, exibe alta densidade eletrônica no átomo de oxigênio da carbonila.

Essa deslocalização do mapa de HOMO pode ser observada também no composto **12**, que mesmo não possuindo simetria, apresenta a mesma quantidade de grupos hidroxila nos dois anéis, com diferença apenas nas suas posições.

O composto **15** também apresenta o mesmo número de grupos hidroxila nos anéis, porém possui adicionalmente uma metoxila em apenas um deles, lembrando que o grupo metoxila tem caráter doador de elétron.

A deslocalização da densidade eletrônica de HOMO não pode ser correlacionada com a atividade estrogênica, visto que os compostos **07**, **12** e **10** estão no grupo dos compostos mais ativos e os derivados **05**, **14** e **15** no grupo dos menos ativos.

Quando comparado com os compostos **07**, **10** e **12**, o composto **09**, derivado mais ativo, apresenta menor densidade eletrônica em HOMO no anel B, incluindo a hidroxila (posição *para*, X_4') e maior densidade no anel A. Esse efeito pode favorecer o caráter acceptor/doador de ligação hidrogênio do grupo hidroxila.

É importante destacar que o reconhecimento do ligante no sítio LBD do receptor de estrogênio é obtido por ligações hidrogênio (SODERO, 2007).

5.1.2.4. *Mapa de potencial eletrostático molecular (MEP)*

Os mapas de potencial eletrostático molecular (MEP) dos derivados (Figura 32) mostram uma densidade eletrônica similar, em todos os derivados, concentrada principalmente, nos grupos hidroxila e carbonila.

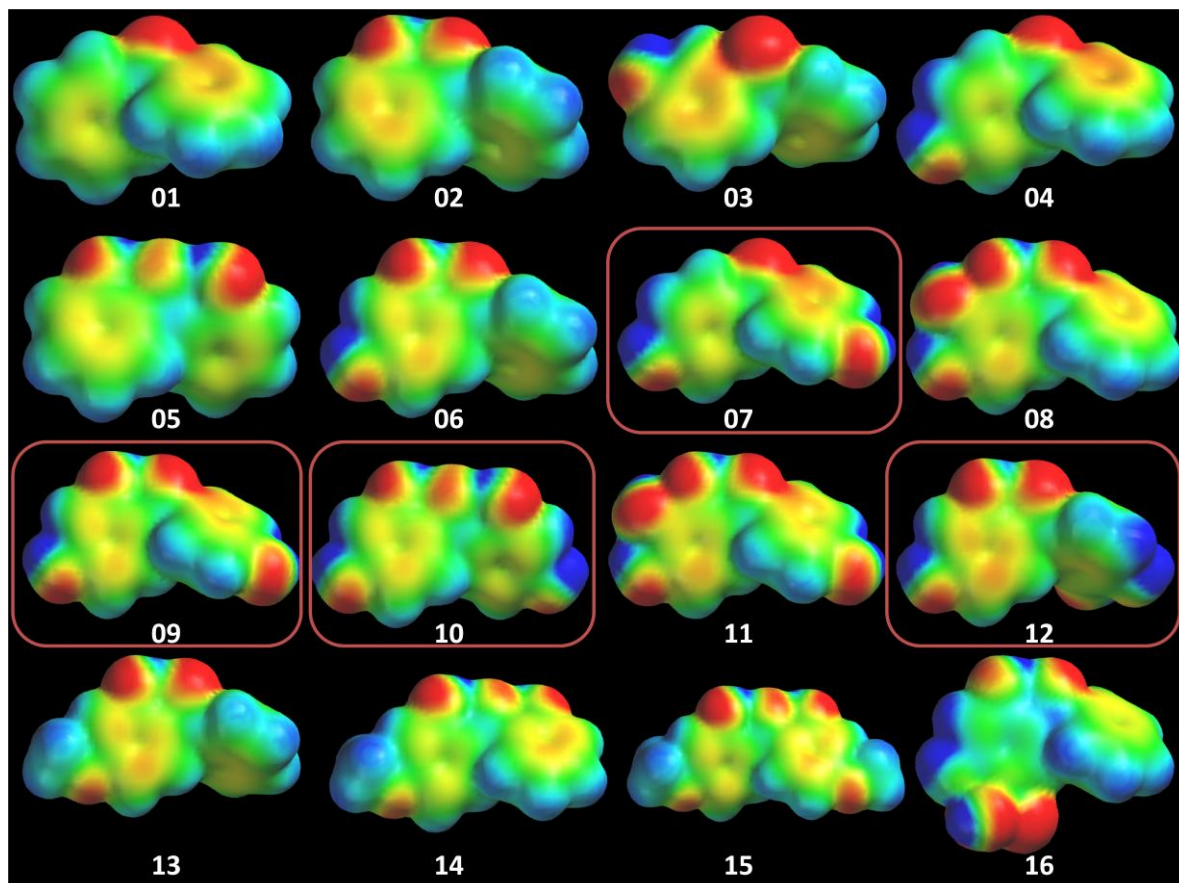


Figura 30. Mapa do potencial eletrostático molecular (MEP) codificado na faixa de -100 a 100 kJ/mol sobre uma superfície de densidade eletrônica constante de 0,002 eV/ua³. Compostos destacados (07, 09, 10 e 12) apresentam maior atividade estrogênica.

Os compostos mais ativos (07, 09, 10 e 12) são *di-para*-hidroxilados e por isso apresentam alta densidade eletrônica na posição *para* dos anéis A e B. Essa característica é muito importante para a interação com o sítio LBD receptor de estrogênio, que foi possível observar que os derivados menos ativos, exceto 11, não possuem alta densidade eletrônica na posição *para*.

O composto 11 também apresenta grupos hidroxila em X₄ e X₄', no entanto, possui um grupo 3-hidroxila em X₃ que desfavorece a interação no sítio de ligação, visto que o mesmo apresentou baixa atividade.

A troca do grupo hidroxila por metoxila em compostos *di-para*-substituídos resulta na diminuição da atividade estrogênica. É possível observar uma diminuição da densidade eletrônica no átomo de oxigênio ligado ao grupo metila. Sugere-se que essa redução da densidade eletrônica nas posições *para* de ambos os anéis desfavorece a interação de benzofenonas metoxiladas com o sítio LBD do receptor de estrogênio. Adicionalmente, o grupo metoxila pode dificultar as interações, principalmente das ligações de hidrogênio, entre o ligante e o sítio LBD, por

impedimento estérico, pois torna os átomos de oxigênio (aceptores de ligação hidrogênio) menos acessíveis. Além disso, o grupo metoxila é apenas acceptor de ligação hidrogênio, diferente do grupo hidroxila, que além de acceptor é também doador de ligação hidrogênio. A metilação exclui a capacidade de doação de ligação hidrogênio.

Contudo, estudos em ratos apontam que a 2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona (benzofenona-3), muito utilizada na proteção solar, pode ser convertida em metabólitos desmetilados e em função disso contribuir com a atividade estrogênica (JEON *et al.*, 2008).

5.1.2.5. Distâncias interatômicas

Realizou-se a comparação da distância entre os átomos de oxigênio das posições *para* dos derivados *di-para*-hidroxilados em estudo e do 17 β -estradiol. A estrutura do hormônio foi extraída do arquivo de raios-x do domínio de ligação do ligante do receptor de estrogênio humano complexado com o 17 β -estradiol (PDB: 1ERE). Na Tabela 5 estão agrupadas essas distâncias.

Tabela 5. Distância entre os átomos de oxigênio das hidroxilas da posição *para* dos compostos em estudo e das hidroxilas do 17 β -estradiol.

Composto	Distância (Å)
17β-estradiol	10,8
07	9,50
09	9,65
10	9,75
11	9,65
12	9,68

Observa-se uma proximidade das distâncias entre os átomos de oxigênio das hidroxilas dos compostos em estudo e do 17 β -estradiol. Sugere-se que as benzofenonas *di-para*-hidroxiladas apresentam interação com os mesmos resíduos de aminoácido que o 17 β -estradiol.

As hidroxilas *para* substituídas nos anéis **A** e **B** (X_4 e X_4') das 4,4'-hidroxibenzofenonas em analogia com a hidroxila fenólica do anel A do 17β -estradiol e a hidroxila do anel de cinco membros, anel D, podem interagir por ligação hidrogênio com os mesmos resíduos de aminoácidos do sítio LBD favorecendo a atividade.

A Figura 33 demonstra o alinhamento e sobreposição das benzofenonas mais ativas (**07**, **09**, **10** e **12**) e do 17β -estradiol, onde é possível observar que as 4,4'-hidroxilas ficam em posições semelhantes à hidroxila fenólica do anel A e a hidroxila do anel D de cinco membros.

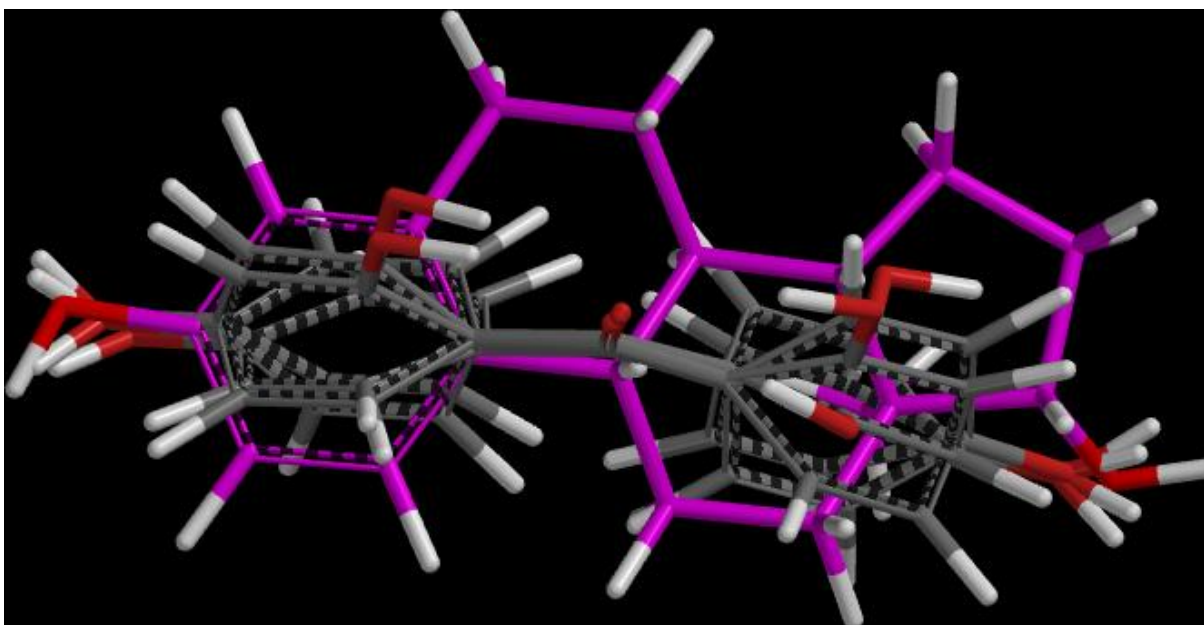


Figura 31. Alinhamento e sobreposição das benzofenonas mais ativas (**07**, **09**, **10** e **12** – em cinza) e do 17β -estradiol (em rosa).

5.2. ESTUDO DE *DOCKING* DO COMPOSTO MAIS ATIVO (**09**)

O estudo de *docking* foi realizado em colaboração com a aluna de doutorado Alessandra Mendonça Teles de Souza do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro (UFF - RJ).

Os estudos de encaixe molecular (*docking*) do derivado mais ativo (**09**) no LBD do receptor de estrogênio (código do PDB: 1ERE) obtido no banco de dados de proteínas, *Protein Data Bank*, usando o Autodock. Retirou-se o ligante complexado

(17 β -estradiol), excluiu-se as moléculas de água presentes na estrutura cristalográfica e fez-se a docagem do derivado (**09**) mais ativo do estudo.

Diversos “poses” foram gerados e agrupados em três clusters (RMSD inferiores a 2.0 Å) (Figura 34). O cluster de menor energia (-3,7 kcal/mol) apresenta 10 “poses”.

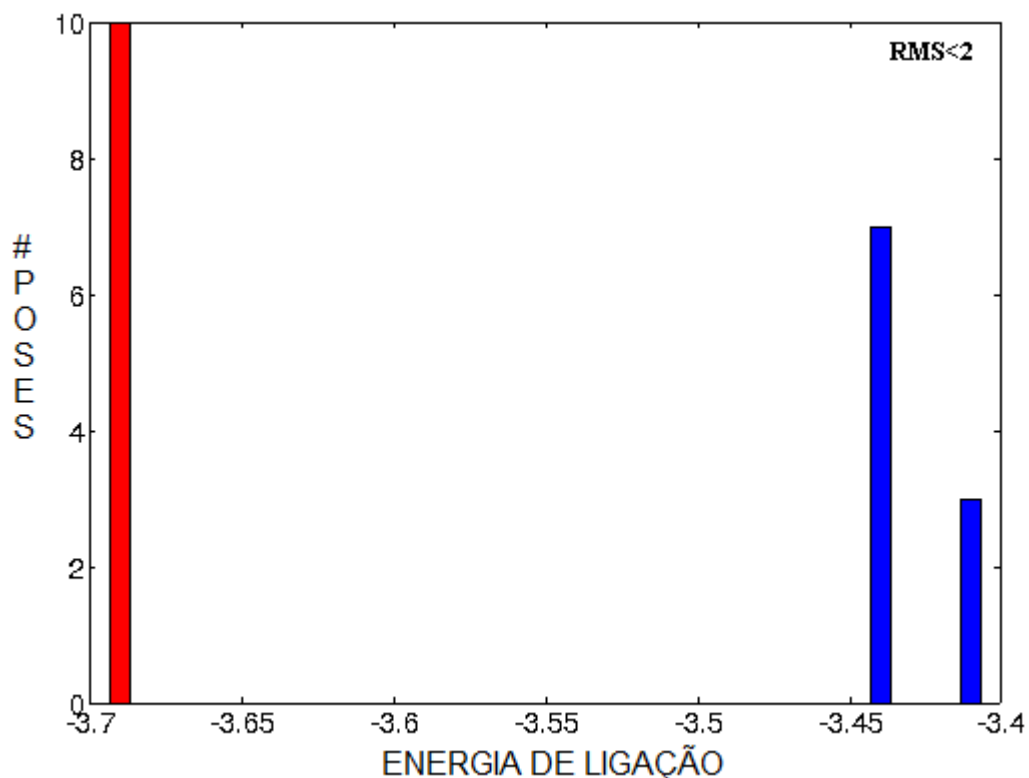


Figura 32. Agrupamento em clusters (RMSD inferiores a 2.0 Å) dos “poses” do derivado 09. Em vermelho, cluster de menor energia com 10 “poses”.

Na solução de menor energia (-3,7 kcal/mol) ocorrem três interações por ligação hidrogênio. A Figura 35 ilustra estas interações por ligação hidrogênio entre o ligante (derivado **09**) e o LBD do receptor de estrogênio.

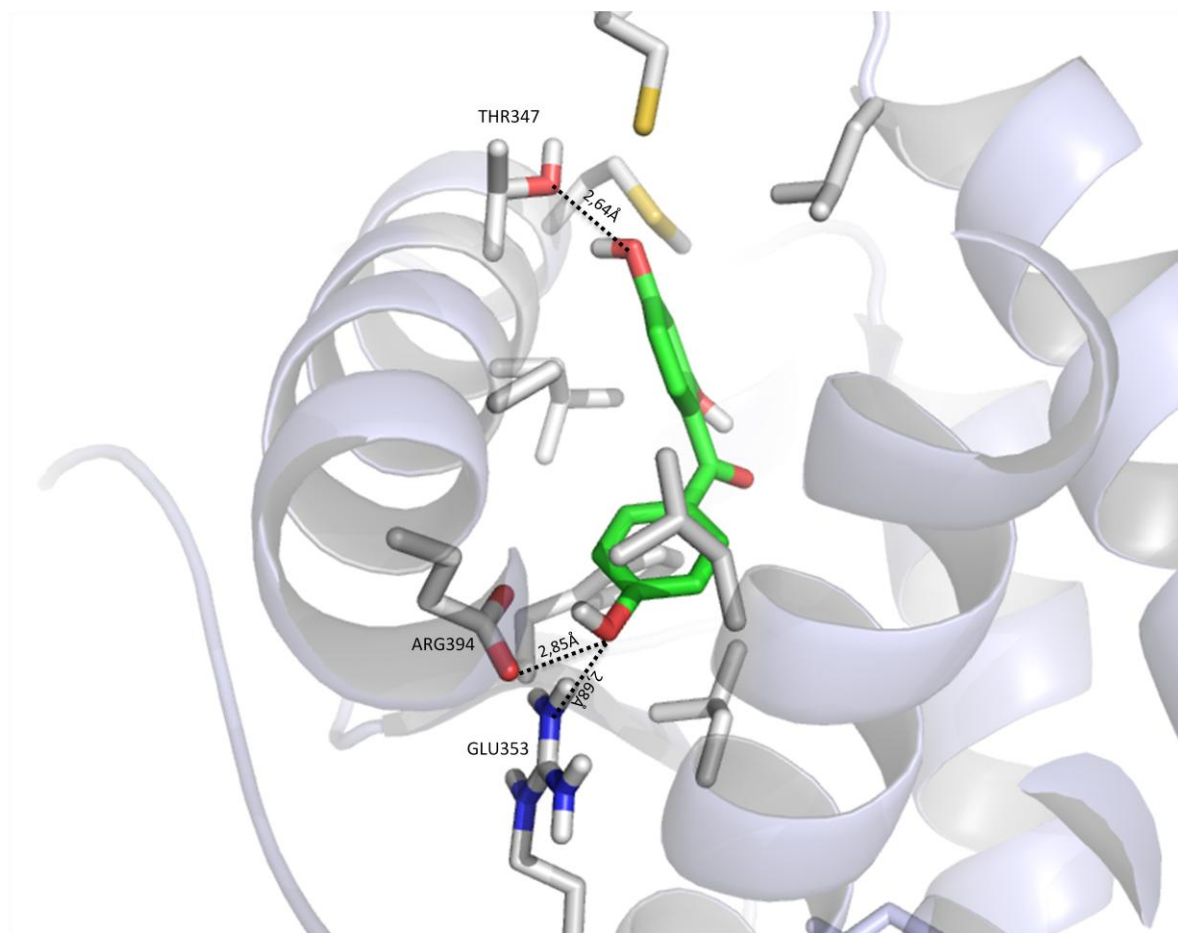


Figura 33. Ligações de hidrogênio do derivado **09** com os resíduos de aminoácido Arg394, Glu353 e Thr347 do LBD do receptor de estrogênio (ER- α) (código do PDB: 1ERE).

O estudo de *docking* com a 2,2',4-Tetrahidroxibenzofenona (**09**) demonstra que o anel **B** (mono-substituído) do derivado (**09**) está localizado, aproximadamente, no mesmo local que o anel **A** do estradiol se localiza, onde se observa duas interações por ligação hidrogênio entre a hidroxila fenólica (X_4') e os resíduos Glu353 e Arg394 (Figura 35). Essas mesmas interações são observadas na estrutura tridimensional do LBD do receptor de estrogênio complexado ao 17 β -estradiol (código do PDB: 1ERE) (Figura 7).

O anel **A** (di-substituído) faz uma interação por ligação hidrogênio entre a hidroxila fenólica substituída em *para* (X_4) e o resíduo Thr347 (Figura 35).

A hidroxila substituída em *orto* (X_2) faz interação intramolecular por ligação hidrogênio com a carbonila (Figura 36), diminuindo a liberdade conformacional, o que pode favorecer as interações hidrofóbicas entre o ligante e o receptor.

O anel **A** do derivado **09** realiza interações de *van der Waals* com os resíduos Leu525, Ala 350, Leu346 e Met343. O anel **B** realiza interações hidrofóbicas com os

resíduos Phe404, Leu387 e Leu391. A Figura 36 aponta as interações hidrofóbicas entre o ligante (derivado **09**) e o receptor de estrogênio.

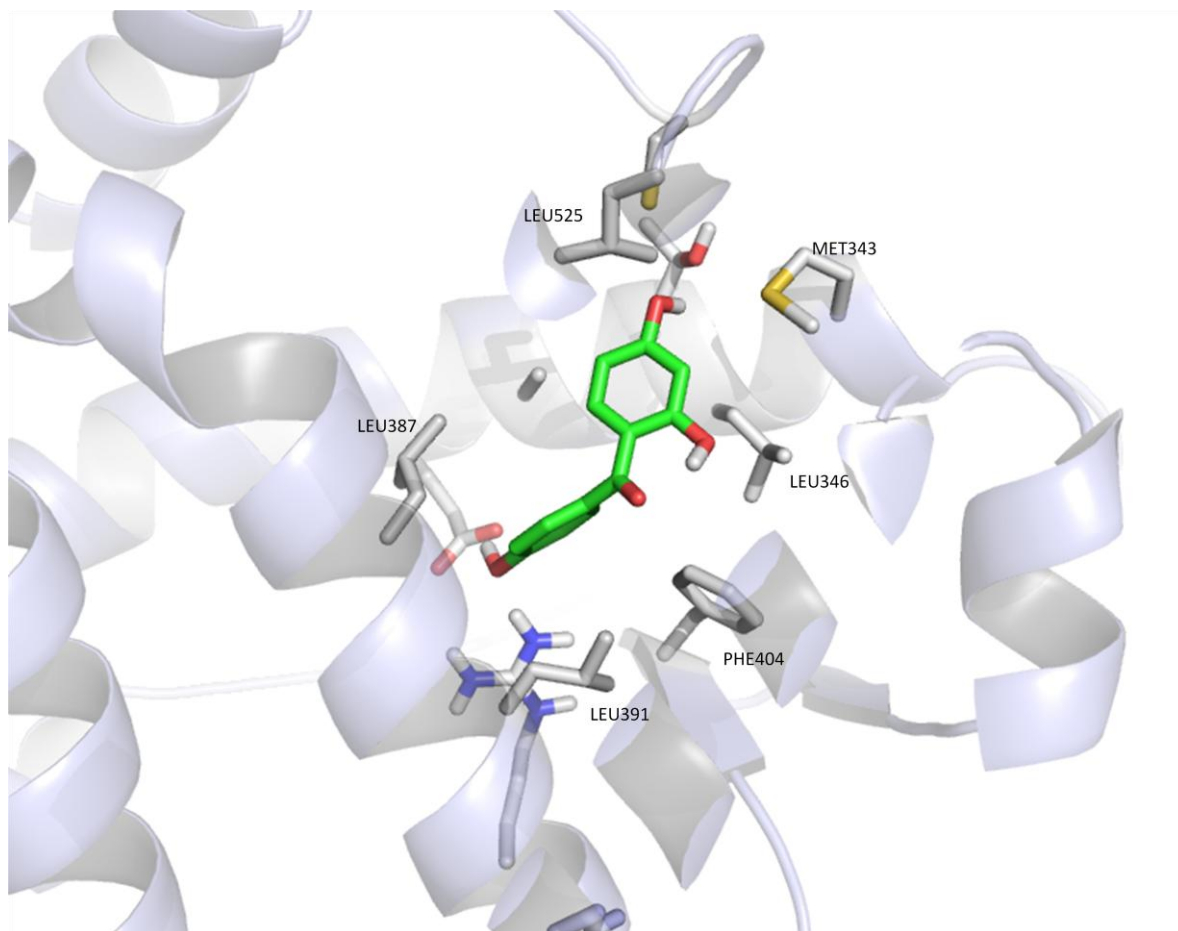


Figura 34. Interações de *van der Waals* observadas entre o ligante (derivado **09**) e o LBD do receptor de estrogênio (ER- α) (código do PDB: 1ERE).

O anel D do 17 β -estradiol realiza interações de *van der Waals* com os resíduos Leu525, Gly521 e Ile424.

De acordo com os resultados do estudo de *docking*, a interação do derivado **09** no LBD do receptor de estrogênio deve ocorrer, aproximadamente, no mesmo local em que o ligante natural, 17 β -estradiol, realiza suas interações específicas e inespecíficas.

O grupo hidroxila em **X₂**, como observado no estudo de SAR, promove uma rigidez na estrutura devido à ligação hidrogênio intramolecular da 2-hidroxila com a carbonila. Essa interação intramolecular foi observada na conformação que

apresentou melhor interação com o receptor de estrogênio e, por isso, presume-se que seja favorável para a interação do derivado **09** no LBD do receptor.

Foram observadas no derivado **09** interações semelhantes à delfinidina, antocianidina presente em plantas, que possui atividade agonista do receptor de estrogênio (ER- α). Segundo Chalopin e col. (2010), a delfinidina interage diretamente no receptor de estrogênio. O modo de ligação da delfinidina sobre o domínio de ligação do receptor de estrogênio (Figura 37) é relativamente semelhante aquele observado na estrutura de raios-X do estradiol com o receptor de estrogênio. Chalopin e col. (2010) observaram contatos apolares dos três anéis da delfinidina com resíduos hidrofóbicos (Leu346, Ala350, Leu384, Leu387, Met388, Leu391, Phe404, Met421, Ile424, Leu428, Leu525 e Phe404). Também foi observada a interação por ligação hidrogênio com o resíduo Glu353, no entanto, as interações com os resíduos Arg394 e His524, que o estradiol faz, foram perdidas e compensadas por ligação hidrogênio com a Leu346.

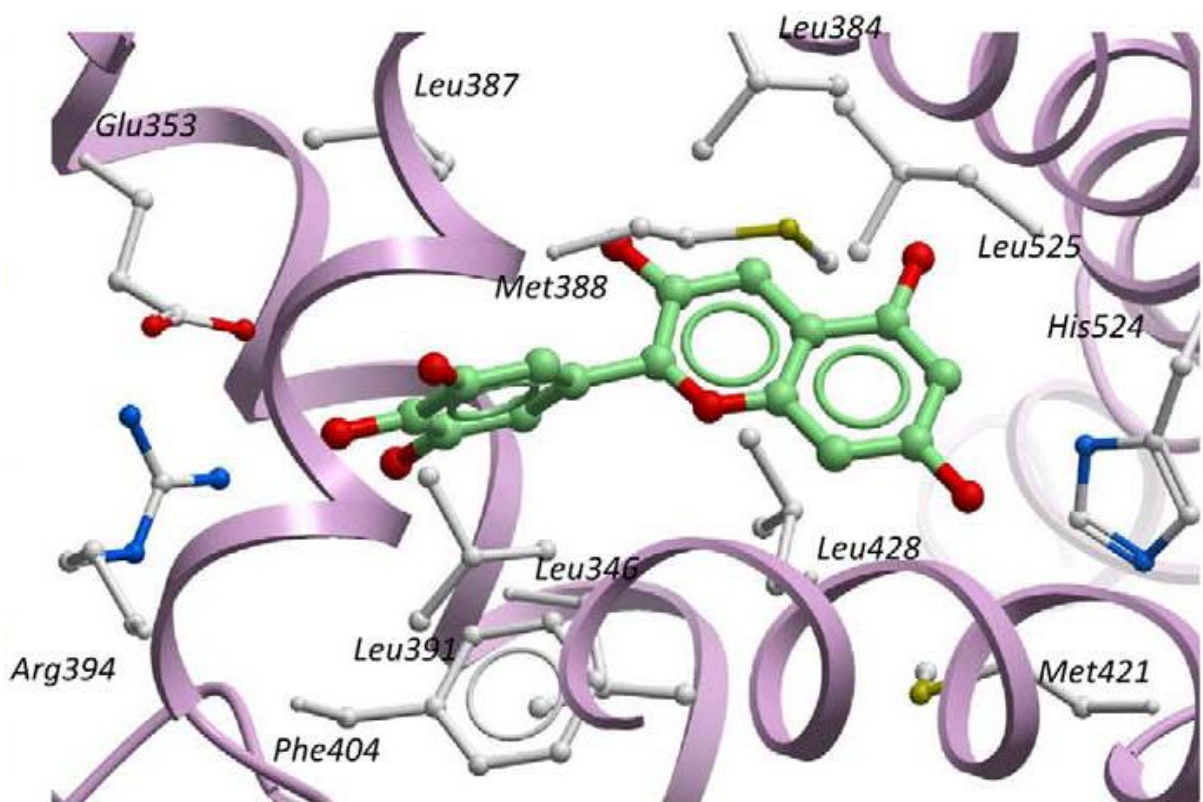


Figura 35. Modo de ligação da delfinidina no LBD do receptor de estrogênio (ER- α) (Adaptado de CHALOPIN *et al.*, 2010)

Celik e col. (2008) realizaram um estudo das possíveis interações entre desreguladores endócrinos e o receptor de estrogênio. Diversos desreguladores endócrinos apresentaram ligação no LBD do receptor de estrogênio, como o DDT e o HPTE (2,2'-dihidroxifenil-1,1,1-tricloroetano) (Figura 38), que ligam-se de maneira forte ao receptor.

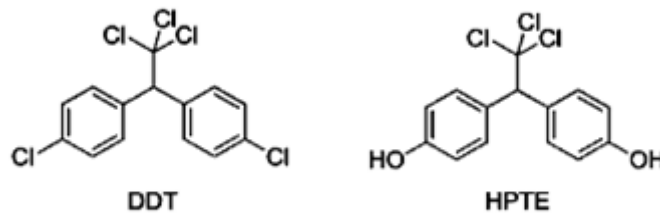


Figura 36. Estrutura química do DDT e o HPTE.

Para os compostos DDT e HPTE, um dos anéis fica posicionado na direção dos resíduos Glu353 e Arg394 enquanto o outro na direção do Thr347. A Figura 39 ilustra a ligação desses desreguladores endócrinos no LBD do receptor de estrogênio.

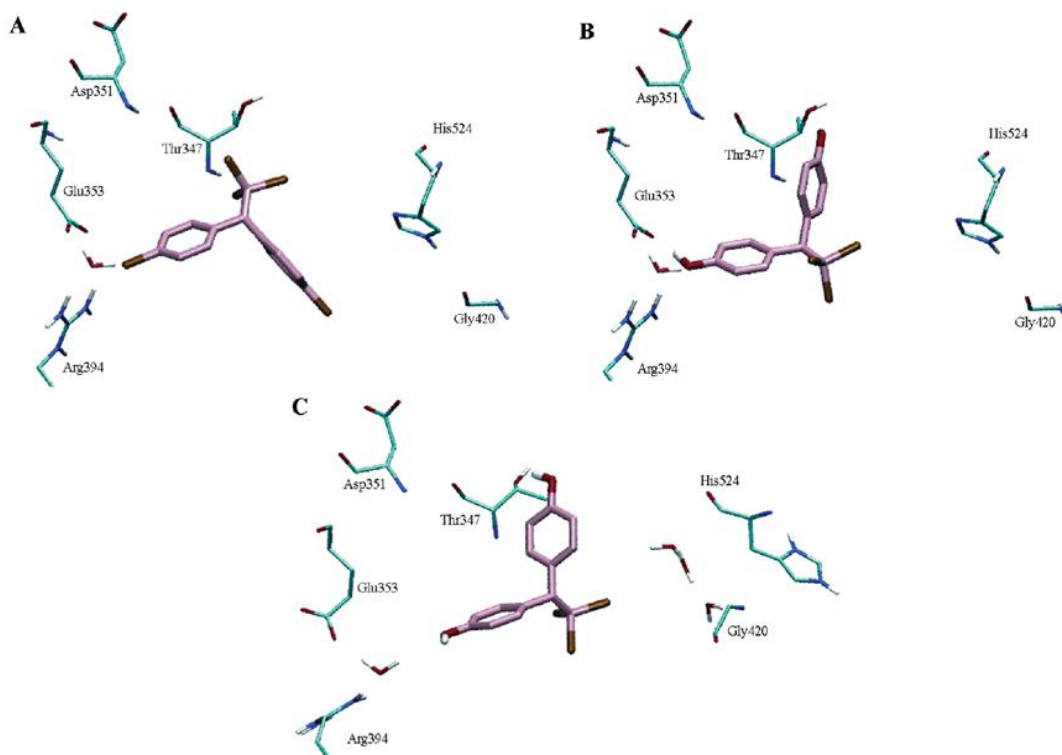


Figura 37. Ligação do (A) DDT, (B) HPTE (conformação 1) e (C) HPTE (conformação 2) no sítio de ligação do receptor de estrogênio (Adaptado de CELIK *et al.*, 2008).

O DDT, pesticida organoclorado que apresenta atividade similar aos estrogênios endócrinos, e o HPTE interagem no LBD de modo semelhante ao derivado **09**, realizando interações por ligação hidrogênio com os mesmo resíduos.

O estudo de *docking* realizado no presente trabalho é essencial para a racionalização de novos derivados que possam atuar como fotoprotetores, visto que esses não devem interagir da mesma forma que o estradiol e o derivado **09** no receptor de estrogênio.

5.3. ESTUDO TEÓRICO DO ESPECTRO ELETRÔNICO DE ABSORÇÃO UV DE DERIVADOS DA BENZOFENONA

Nesta terceira parte do trabalho utilizou-se apenas o derivado **01** (benzofenona) e os derivados incluídos na lista vigente de filtros solares permitidos pela ANVISA (RDC nº 47 de 16 de março de 2006): **13** (BF-3; 2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona; oxibenzona) e **14** (BF-8; 2,2'-Dihidróxi-4-metoxibenzofenona; dioxibenzona).

Com o intuito de comparar os espectros eletrônicos de absorção experimental e teórico desses derivados da benzofenona realizaram-se cálculos quânticos usando a Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TD-DTF/ B3LYP/6-31G*).

Para o estudo de SAR, realizado na primeira etapa do presente trabalho, já havia sido realizada a análise conformacional para a obtenção das geometrias otimizadas. Então, para essa segunda etapa, utilizaram-se as mesmas geometrias para os cálculos do espectro eletrônico em ponto único (*single point*) em dois programas, Spartan'08, simulando o vácuo e em etanol (solvente implícito, método SM8) e GAMESS US, simulando o vácuo.

Os máximos de absorção experimentais do derivado (**01**) foram obtidos por Dilling (1966) e dos derivados **13** e **14** por Baughman e colaboradores (2009), em diferentes solventes.

A Tabela 6 apresenta os máximos de absorção experimentais (nm) da benzofenona (**01**), oxibenzona (**13**) e dioxibenzona (**14**), em diferentes solventes.

Tabela 6. Medida experimental dos comprimentos de onda máximos ($\lambda_{\text{máx}}$ em nm) para a benzofenona (**01**), oxibenzona (**13**) e dioxibenzona (**14**) em diferentes solventes.

Solvente	01*		13**		14**	
	$\lambda_{\text{máx}}$ (1)	$\lambda_{\text{máx}}$ (2)	$\lambda_{\text{máx}}$ (1)	$\lambda_{\text{máx}}$ (2)	$\lambda_{\text{máx}}$ (1)	$\lambda_{\text{máx}}$ (2)
Diclorometano	-	-	287,96	326,94	297,92	351,98
Dietil éter	249	344	-	-	-	-
Clorofórmio	-	-	289,05	328,04	297,92	353,06
Tetracloroeto de carbono	-	-	286,94	327,96	296,04	353,06
Tolueno	-	-	287,96	328,05	299,02	354,93
Hexano	247,5	346,5	-	-	-	-
Ciclohexano	248,5	346,5	-	-	-	-
Acetonitrila	-	-	287,05	324,01	285,91	331,02
Tetraidrofurano	-	-	287,96	327,58	283,96	330,00
Metanol	252,5	331,5	287,01	323,98	284,03	326,03
Etanol	252	332,5	287,01	325,07	284,03	326,96
Propanol	252,5	333,5	287,96	326,01	284,03	328,99
Butanol	252,5	333,5	287,96	326,94	283,96	330,00

* Referência: DILLING, 1966. ** Referência: BAUGHMAN *et al.*, 2009.

5.3.1. Estudo teórico do espectro eletrônico do derivado (01)

O espectro de absorção UV das benzofenonas é caracterizado por duas bandas. Uma mais fraca, na faixa do UV próximo (300 – 400 nm), que corresponde a transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$, e outra mais forte e larga, na faixa do UV médio (200 – 300nm), do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ (URAHATA & CANUTO, 2000).

Nas medidas experimentais dos máximos de absorção, observou-se para as transições na faixa do UV médio (200-300 nm) um efeito solvatocrômico positivo pequeno (≈ 5 nm), isto é, com o aumento da polaridade do solvente houve um

deslocamento batocrômico (aumento do comprimento de onda), que caracteriza transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. No caso das transições de menor energia, na faixa de 300-400nm, ocorre um efeito solvatocrômico negativo (≈ 15 nm), isto é, com o aumento da polaridade do solvente ocorre uma diminuição do comprimento de onda (deslocamento hipsocrômico) que caracteriza transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$.

Na Tabela 7 estão agrupados os comprimentos de onda calculados com suas respectivas forças de oscilação e os máximos de absorção experimentais medidos em etanol (DILLING, 1966).

Tabela 7. Comprimentos de onda (λ) e força de oscilação (f) do derivado **01** (benzofenona). Transições calculadas utilizando o método TD-DFT (B3LYP/6-31G*) no vácuo e etanol, programa Spartan' 08 e apenas no vácuo, programa GAMESS US (Vácuo-G), e os comprimentos de onda máximos do espectro eletrônico experimental (etanol)^a

Vácuo		Etanol		Vácuo-G		Experimental Etanol
λ (nm)	f	λ (nm)	f	λ (nm)	f	λ (nm)
233,46	0,028405	222,05	0,003800	216,73	0,013	
239,05	0,038947	242,41	0,042622	216,96	0,002	
246,53	0,182513	252,47	0,244445	229,86	0,008	252,0
254,81	0,049770	261,40	0,050393	234,77	0,021	
261,46	0,017308	269,43	0,019611	245,35	0,034	
339,55	0,001622	316,81	0,001742	249,24	0,163	332,5
-	-	-	-	257,25	0,061	
-	-	-	-	264,03	0,018	
-	-	-	-	344,79	0,001	

^aReferência: DILLING, 1966

O comprimento de onda máximo calculado no Spartan' 08 foi de 246,53 nm (vácuo) e 252,47 nm (etanol) e no GAMESS US, 249,24 nm (vácuo). Valores muito próximos ao observado experimentalmente em etanol por Dilling (1966) (252 nm).

A absorção em 332,5 nm (experimental) também pode ser observada nos cálculos em 339,55 nm (Vácuo), 316,81 nm (Etanol) e 344,79 (Vácuo-G). A força de oscilação calculada extremamente baixa ($\approx 0,001$) para essas transições é consistente com o fato de que a transição experimental correspondente é muito fraca.

O efeito do solvente pôde ser caracterizado no espectro calculado no programa Spartan'08. A diferença entre os máximos de absorção dos cálculos realizados no vácuo (246,53 nm) e em etanol (252,47 nm), Spartan'08, foi de aproximadamente 6 nm. O efeito solvatocrômico observado experimentalmente é positivo (deslocamento batocrômico) e baixo (≈ 5 nm) para as transições de menor

energia (200-300 nm). A variação entre os espectros calculados no vácuo (339,55 nm) e em etanol (316,81 nm), programa Spartan'08, é de aproximadamente 23 nm. No espectro experimental, foi observado um deslocamento hipsocrômico (≈ 15 nm) para as transições de menor energia (300-400 nm).

A Figura 40 apresenta uma comparação entre os espectros teóricos normalizados da benzofenona (derivado **01**) calculados no presente trabalho (método TD-DFT) usando os programas Spartan' 08 (Vácuo e Etanol) e GAMESS US (Vácuo-G) e nos trabalhos de GEORG e col. (2006) e URAHATA e col. (2000) (método INDO/CIS).

A intensidade é a força de oscilação da transição calculada. A normalização do espectro é realizada em função do máximo de intensidade de cada espectro. Desta forma, eliminam-se as diferenças de intensidade devido as variações dos métodos, e os espectros podem ser comparados dentro e uma mesma ordem de grandeza, variando todos em intensidade de 0 a 1.

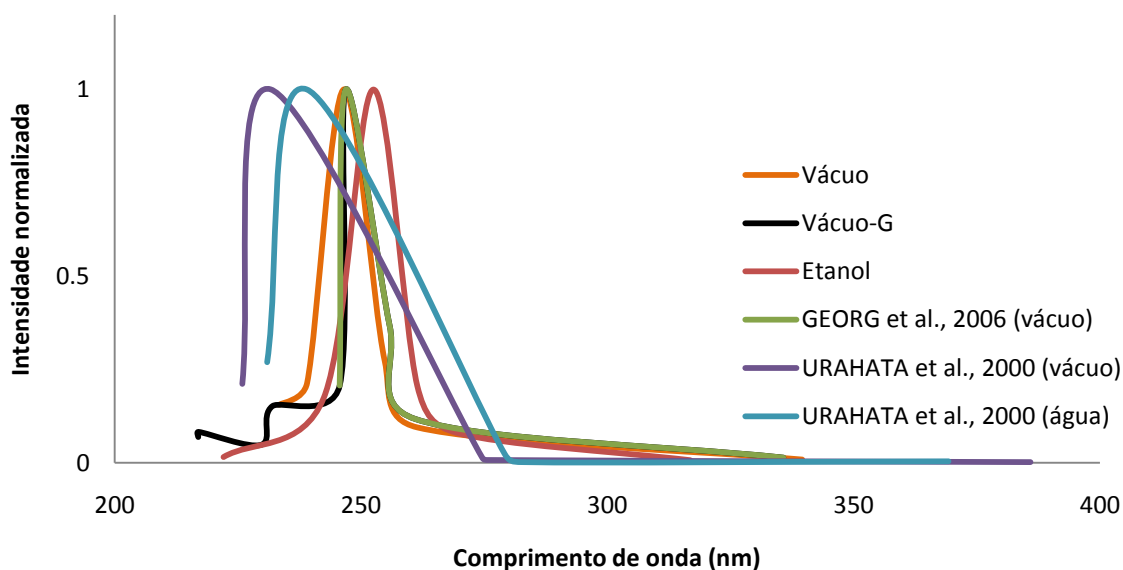


Figura 38. Comparação entre os espectros eletrônicos calculados da benzofenona (**01**).

Gráficos semelhantes foram obtidos comparando os cálculos realizados no presente trabalho e os cálculos realizados por GEORG e col. (2006) no vácuo usando o método INDO/CIS.

Os espectros obtidos por URAHATA e col. (2000), em água e no vácuo usando o método INDO/CIS, apresentaram-se deslocados para comprimentos de

onda menores, máximos de absorção em 231 nm (vácuo) e 238 nm (água), em relação aos calculados no presente trabalho.

O método teórico aplicado no presente trabalho para o estudo do espectro eletrônico de absorção da benzofenona (**01**) foi apresentou boa proximidade com os resultados experimentais para a absorção de maior energia (252 nm).

A presença de apenas uma banda intensa no espectro calculado é consequência da baixa absorção na faixa que compreende 332,5 nm, que corresponde a transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$. Esse tipo de transição é característico do grupo carbonila, cromóforo de baixa absorvidade.

5.3.1.1. Configuração das principais transições eletrônicas do derivado **01**

A configuração das transições eletrônicas observadas no espectro da benzofenona (**01**) obtido com o programa GAMESS US encontra-se na Tabela 8.

Tabela 8. Transições calculadas (eV e nm) dos nove estados de menor energia, força de oscilação (f) e composição em termos dos orbitais moleculares (MO) das transições do derivado **01** (benzofenona).

Estados	MO	E (eV)	λ (nm)	f
1	H \rightarrow L (88%)	3,62	344,79	0,001
2	H-1 \rightarrow L (86%)	4,70	264,03	0,018
3	H-2 \rightarrow L (86%)	4,82	257,25	0,061
4	H-4 \rightarrow L (83%)	4,98	249,24	0,163
5	H-3 \rightarrow L (79%)	5,00	245,35	0,034
6	H \rightarrow L+1 (88%)	5,28	234,77	0,021
7	H \rightarrow L+2 (92%)	5,40	229,86	0,008
8	H-1 \rightarrow L+2 (70%)	5,72	216,96	0,002
9	H \rightarrow L+3 (80%)	5,73	216,73	0,013

Na absorção máxima calculada, localizada em 249,24 nm e com força de oscilação de 0,163, predomina a transição HOMO-4 \rightarrow LUMO. Para a absorção em 344,79 nm, a principal transição é HOMO \rightarrow LUMO. As transições que apresentam comprimentos de onda maiores do que 240 nm envolvem transições para o orbital LUMO, que possui caráter π^* .

A Figura 41 ilustra os coeficientes dos orbitais de fronteira HOMO-4 e LUMO calculados no vácuo, programa Spartan'08 (DFT/B3LYP/6-31G*) para a benzofenona (**01**).

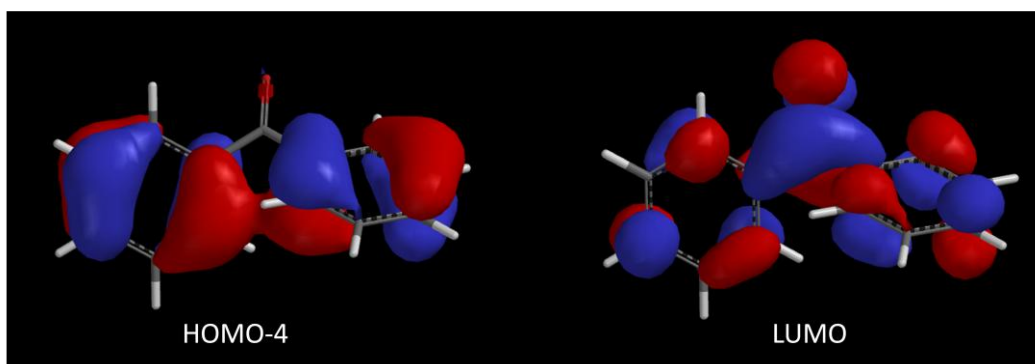


Figura 39. Coeficientes dos orbitais envolvidos na transição mais intensa ($\pi \rightarrow \pi^*$) para a benzofenona (**01**).

Nos dois orbitais moleculares, HOMO-4 e LUMO, observa-se a densidade eletrônica distribuída em ambos os anéis. A presença de superfícies nodais adicionais nos anéis é uma característica indicativa de transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

Na faixa do UV próximo (300 – 400 nm) observa-se apenas o comprimento de onda de 335,8 nm, que apresenta baixa intensidade de absorção. Essa transição envolve os orbitais de HOMO e LUMO (Figura 42).

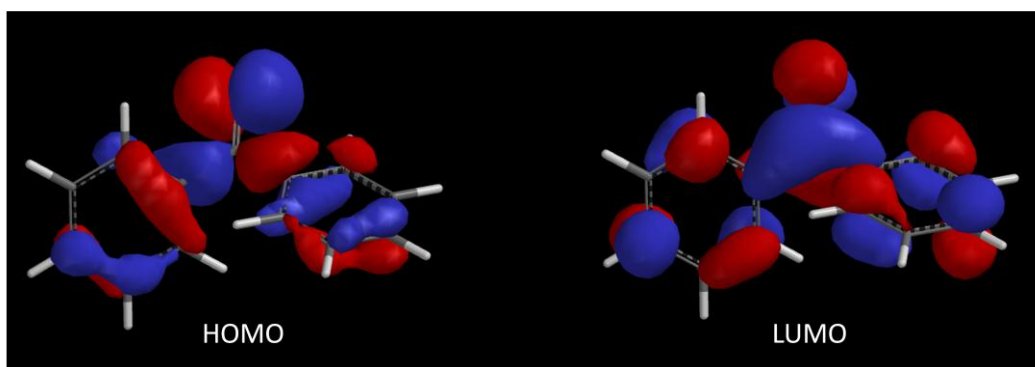


Figura 40. Coeficientes dos orbitais envolvidos na transição de menor energia para a benzofenona (**01**).

Empiricamente, as transições de menor energia são descritas como transições $n \rightarrow \pi^*$ do grupo carbonila. Contudo, no orbital ocupado (HOMO) observam-se orbitais n da carbonila combinados com orbitais π dos anéis fenila e, por isso, transições de HOMO \rightarrow LUMO possuem caráter $n \rightarrow \pi^*$ (carbonila) e caráter $\pi \rightarrow \pi^*$ (anéis).

5.3.2. Estudo teórico do espectro eletrônico do derivado 13

O espectro eletrônico experimental do derivado **13** (2-Hidróxi-4-metoxibenzofenona) possui um efeito solvatocrômico pequeno, pois o uso de solventes com diferentes polaridades e constantes dielétricas, hexano ($\epsilon = 1,88$) e acetonitrila ($\epsilon = 35,68$) (WINGET *et al.*, 1999), causou um deslocamento mínimo nos máximos de absorção (Tabela 6).

Na Tabela 9 estão agrupados os comprimentos de onda calculados com suas respectivas forças de oscilação e os máximos de absorção experimentais medidos em etanol (Baughman *et al.*, 2009).

Tabela 9. Comprimentos de onda (λ) e força de oscilação (f) do derivado **13** (oxibenzona). Transições calculadas utilizando o método TD-DFT (B3LYP/6-31G*) no vácuo e etanol, programa Spartan' 08 e apenas no vácuo, programa GAMESS US (Vácuo-G), e os comprimentos de onda máximos do espectro eletrônico experimental (etanol)^a

Vácuo		Etanol		Vácuo-G		Experimental Etanol
λ (nm)	f	λ (nm)	F	λ (nm)	f	λ (nm)
241,23	0,016019	234,81	0,067478	220,78	0,013	
247,09	0,100608	251,16	0,032955	221,92	0,004	
252,44	0,009292	261,1	0,018132	239,06	0,039	287,01
267,73	0,233318	270,74	0,29467	242,95	0,033	
301,05	0,166287	298,74	0,077746	249,44	0,090	325,07
311,24	0,013401	303,39	0,114832	253,99	0,009	
-	-	-	-	272,98	0,189	
-	-	-	-	310,07	0,133	
-	-	-	-	313,36	0,034	

^aReferência: BAUGHMAN *et al.*, 2009

No espectro calculado, usando o programa Spartan' 08, observou-se uma intensa absorção em 267,73 e 301,05 nm no vácuo e em 270,74 nm e 303,39 nm no etanol (método de solvatação implícita), variação aproximada de 2 nm entre os máximos no vácuo e no etanol.

Os máximos de absorção calculados no GAMESS US (Vácuo – G) foram em 272,98 e 310,07 nm.

Os espectro calculados estão de acordo com a absorção em 287 nm, no entanto, não abrangem a faixa que compreende o máximo em 325 nm, observado experimentalmente em etanol.

Além dos máximos de absorção obtidos por Baughman e col. (2009), utilizou-se uma varredura do espectro UV da benzofenona-3 realizada no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) pela a aluna de mestrado Débora Freitas do Nascimento do Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêuticas. O espectro foi obtido a partir de uma solução de benzofenona-3 em diclorometano, na concentração de 10 μ g/mL, em Espectrofotômetro V630 (Jasco).

A varredura do espectro UV, obtida no LADEG-UFRJ, apresenta os máximos de absorção em 288 nm e 324 nm. A Figura 43 apresenta uma comparação entre os espectros teóricos normalizados da oxibenzona (derivado **13**) calculados no presente trabalho (método TD-DFT), usando os programas Spartan' 08 (Vácuo e Etanol) e GAMESS US (Vácuo-G), e o experimental (obtido no LADEG-UFRJ).

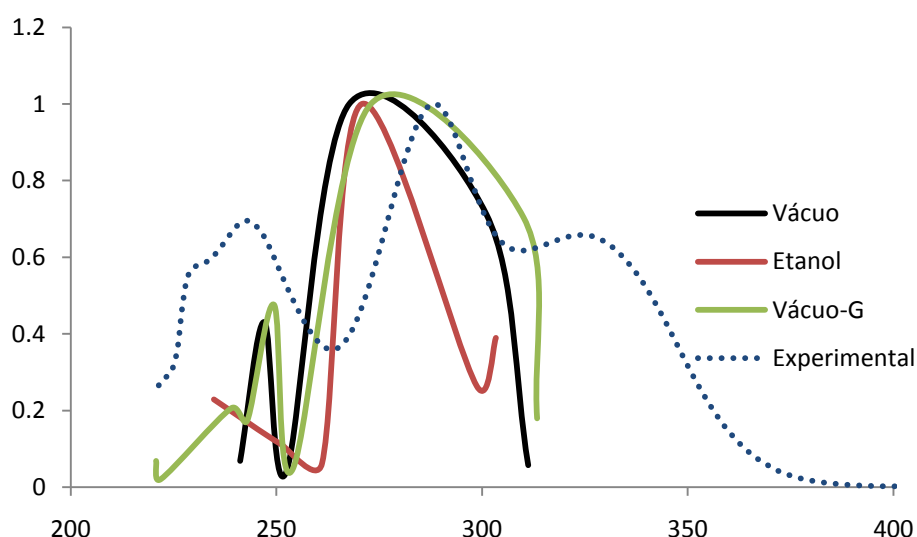


Figura 41. Comparação entre os espectros de absorção calculados e experimental da benzofenona-3 (derivado 13).

Nos espectros teóricos e experimental foi possível identificar absorção na faixa de 200-250 nm, que corresponde à radiação UVC. Para filtros UV utilizados na proteção solar, a absorção nessa faixa não é relevante, pois estes comprimentos de onda altamente danosos são absorvidos pela camada de ozônio e, por isso, não chegam à superfície da pele.

Nos espectros calculados no presente trabalho foi possível observar intensa absorção na faixa UVB (283-400). No entanto, não foi identificada absorção na faixa UVA (320-400 nm) nos cálculos realizados tanto no vácuo, como no etanol.

Baughman e col. (2009) calcularam os espectros de absorção da benzofenona-3 livre e complexada (1:1) com o metanol, tetraidrofurano e acetonitrila. Utilizaram dois métodos, TD-DFT e ZINDO. Observaram os máximos de absorção na faixa de 312 nm (BF-3 complexada com tetraidrofurano; método ZINDO) à 345 nm (BF-3 complexada com metanol; método TDDFT).

5.3.2.1. Configuração das principais transições eletrônicas do derivado **13**

A configuração das transições eletrônicas observadas no espectro da oxibenzona (**13**) obtido com o programa GAMESS US encontra-se na Tabela 10.

Tabela 10. Transições calculadas (eV e nm) dos nove estados de menor energia, força de oscilação (f) e composição em termos dos orbitais moleculares (MO) das transições do derivado **13** (dioxibenzona).

Estados	MO	E (eV)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	f
1	H-2 \rightarrow L (80%)	3,961	313,36	0,034
2	H \rightarrow L (83%)	4,003	310,07	0,133
3	H-1 \rightarrow L (82%)	4,547	272,98	0,189
4	H-3 \rightarrow L (91%)	4,887	253,99	0,009
5	H-4 \rightarrow L (71%)	4,976	249,44	0,090
6	H \rightarrow L+1 (77%)	5,109	242,95	0,033
7	H \rightarrow L+2 (88%)	5,192	239,06	0,039
8	H-2 \rightarrow L+1 (81%)	5,593	221,92	0,004
9	H \rightarrow L+3 (59%)	5,622	220,78	0,013

Os máximos de absorção calculados, localizados em 272,98 ($f= 0,189$) e 310,07 nm ($f= 0,189$), apresentam como principais transições HOMO-1 \rightarrow LUMO e HOMO \rightarrow LUMO, respectivamente. Para a absorção em 313,36 nm, a principal transição é de HOMO-2 \rightarrow LUMO. As transições que apresentam comprimentos de onda maiores que 245 nm envolvem transições para o orbital de LUMO, que possui caráter π^* .

A Figura 44 ilustra os coeficientes dos orbitais de fronteira HOMO, HOMO-1, HOMO-2 e LUMO calculados no vácuo, programa Spartan'08 (DFT/B3LYP/6-31G*) para a benzofenona (**01**).

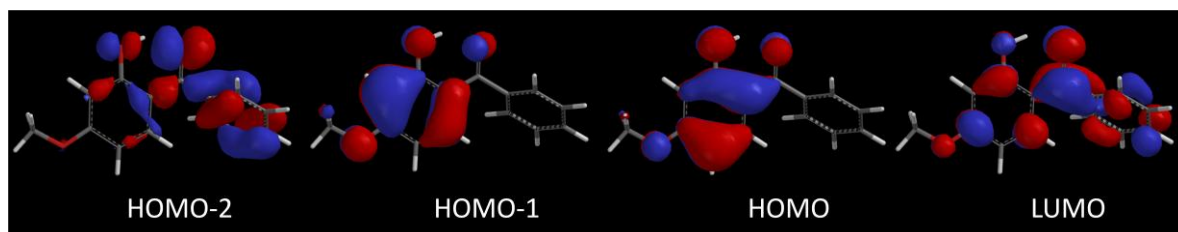


Figura 42. Coeficientes dos orbitais envolvidos nas transições eletrônicas do derivado **13**.

Os coeficientes dos orbitais indicam o envolvimento do anel **A** na transição HOMO \rightarrow LUMO e HOMO-1 \rightarrow LUMO e do anel **B** na transição HOMO-2 \rightarrow LUMO. As superfícies nodais adicionais observadas em LUMO, anel **A** e **B**, indicam transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$.

No orbital ocupado HOMO-2, observam-se orbitais n da carbonila e da hidroxila (X_2) combinados com orbitais π do anel fenila **B**. Transições HOMO-2 \rightarrow LUMO combinam caráter $n \rightarrow \pi^*$ (carbonila e hidroxila) e caráter $\pi \rightarrow \pi^*$ (anel).

Segundo Baughman e col. (2009), benzofenonas *o*-hidroxiladas não apresentam transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e transições de baixa energia são atribuídas ao processo denominado de transferência de próton no estado excitado (ESPT, do inglês *Excited State Proton Transfer*) que envolvem a hidroxila e a carbonila.

A Figura 45 apresenta uma ilustração esquemática do processo ESPT.

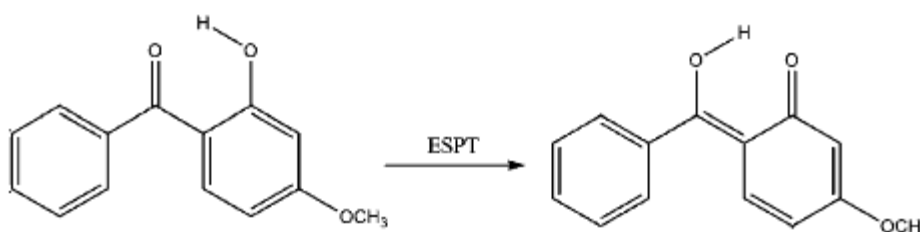


Figura 43. Representação esquemática da transferência de próton intramolecular no estado excitado (ESPT) (Adaptado de BAUGHMAN *et al.*, 2009).

Baughman e col. (2009) caracterizaram as principais transições da benzofenona-3 como sendo entre orbitais HOMO, HOMO-1 e LUMO e atribuíram a

transferência de próton intramolecular à transição HOMO \rightarrow LUMO, em função da diminuição da densidade eletrônica no átomo de oxigênio da hidroxila.

Os orbitais HOMO, HOMO-1 e LUMO calculados no presente trabalho são semelhantes aos calculados por Baughman e col (2009). É possível observar na transição HOMO \rightarrow LUMO essa mesma diminuição da densidade eletrônica na hidroxila. No entanto, eles não descreveram transições HOMO-2 \rightarrow LUMO, que segundo o presente estudo apresentou caráter $n \rightarrow \pi^*$.

Dilling (1966) avaliou o efeito dos solventes na energia das transições $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ de derivados da benzofenona hidroxilados e observaram que as bandas $n \rightarrow \pi^*$ não foram discerníveis, isto é, a absorção não foi suficientemente bem resolvida de outras bandas mais intensas. Em função disso, consideraram as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ como produto de dois cromóforos diferentes, o grupo benzoíla e o grupo benzoíla-hidroxila. Transições envolvendo o grupo benzoíla-hidroxila foram denominadas de transições ESPT.

Baseando-se no presente estudo sugere-se que as transições de menor energia da benzofenona-3 apresentam caráter $n \rightarrow \pi^*$ e ESPT. Contudo, as transições que envolvem o processo ESPT apresentam maior intensidade de absorção e envolvem energias maiores do que as de caráter $n \rightarrow \pi^*$.

5.3.3. Estudo do espectro eletrônico teórico do derivado 14

No espectro eletrônico de absorção experimental obtido por Baughman e col. (2009) (Tabela 6), foi possível observar efeito solvatocrômico em ambos os comprimentos de onda máximos do derivado **14** (2,2'-Hidróxi-4-metoxibenzofenona). Os máximos de absorção, nos diversos solventes, das transições de maior energia variaram em 15,06 nm, de 283,96 (em tetraidrofurano e butanol) nm a 299,02 (em tolueno), e de menor energia em 28,9 nm, de 326,03 nm (em metanol) a 354,93 (em tolueno).

O aumento da polaridade do solvente resultou em um deslocamento hipsocrômico (diminuição do comprimento de onda) denominado de

solvatocromismo negativo. A transição de menor energia é a que sofreu maior efeito hipsocrômico.

Na Tabela 11 estão agrupados os comprimentos de onda calculados com suas respectivas forças de oscilação e os máximos de absorção experimentais obtidos por Baughman e col. (2009) em etanol.

Tabela 11. Comprimentos de onda (λ) e força de oscilação (f) do derivado **14** (dioxibenzona). Transições calculadas utilizando o método TD-DFT (B3LYP/6-31G*) no vácuo e etanol, programa Spartan' 08 e apenas no vácuo, programa GAMESS US (Vácuo-G).

Vácuo		Etanol		Vácuo-G	
λ (nm)	f	λ (nm)	f	λ (nm)	f
235,96	0,06111	235,61	0,055594	217,60	0,004
252,09	0,085071	252,6	0,09707	222,96	0,012
281,71	0,19553	285,93	0,200855	237,74	0,097
305,46	0,002134	301,23	0,004222	241,30	0,041
319,69	0,024338	321,25	0,018597	257,09	0,075
335,87	0,31618	335,52	0,328909	286,86	0,147
-	-	-	-	308,23	0,003
-	-	-	-	327,67	0,019
-	-	-	-	344,88	0,262

No espectro calculado para o derivado **14** usando o programa Spartan' 08, os máximos de absorção foram em 281,71 e 335,87 nm, no vácuo, e 285,93 nm e 335,52 nm, em etanol. No GAMESS US (Vácuo-G) os máximos de absorção calculados foram em 286,86 nm e 344,88 nm.

O efeito do solvente não pôde ser caracterizado no espectro eletrônico teórico. No entanto, os máximos teóricos estão de acordo com as faixas dos máximos de absorção obtidos experimentalmente Baughman e col. (2009) nos diversos solventes, que foram de 283,96 (tetraidrofurano e butanol) a 299,02 (tolueno), para as absorções de maior energia, e 326,96 (metanol) a 354,93 (tolueno), para as absorções de menor energia.

A Figura 46 apresenta uma comparação entre os espectros teóricos normalizados da benzofenona (derivado **14**) calculados no presente trabalho (método TD-DFT), usando os programas Spartan' 08 (Vácuo e Etanol) e GAMESS US (Vácuo-G).

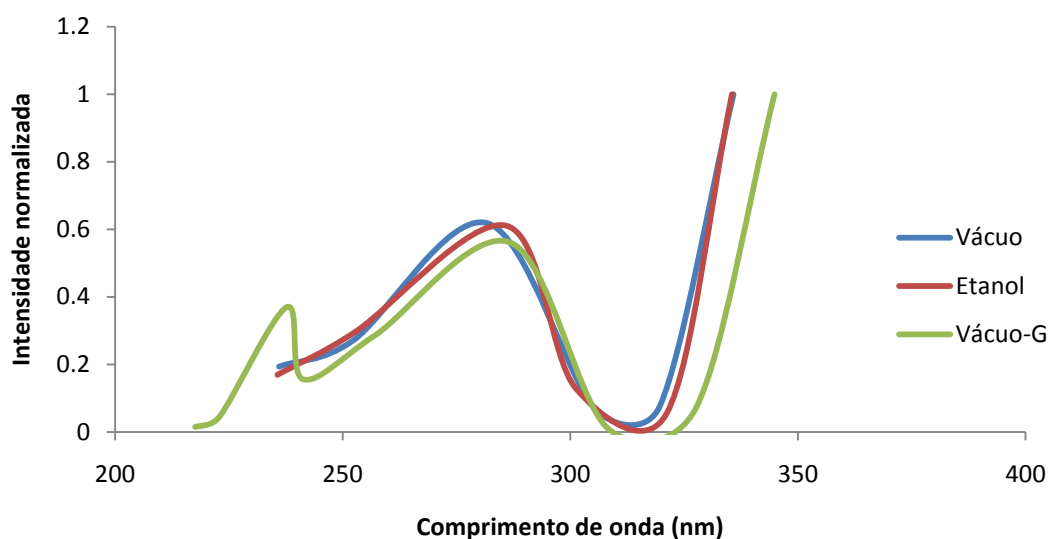


Figura 44. Comparação entre os espectros eletrônicos calculados para o derivado **14**.

Os espectros eletrônicos calculados, usando os programas Spartan'08 (Vácuo e Etanol) e GAMESS US (Vácuo-G), apresentaram o mesmo perfil de absorção. Observa-se uma banda larga e intensa na faixa do UVB, centrada entre 281-287 nm, e uma de maior intensidade na faixa do UVA, com absorção máxima na faixa de 335-345 nm.

5.3.3.1. Configuração das principais transições eletrônicas do derivado **14**

A Tabela 12 apresenta as configurações de transição calculadas usando o programa GAMESS US.

Tabela 12. Transições calculadas (eV e nm) dos nove estados de menor energia, força de oscilação (f) e composição em termos dos orbitais moleculares (MO) do derivado 2,2'-Hidróxi-4-metoxibenzofenona (**14**).

Estados	MO	E (eV)	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	f
1	H \rightarrow L (92%)	3,599	344,88	0,262
2	H-1 \rightarrow L (90%)	3,788	327,67	0,019
3	H-4 \rightarrow L (69%)	4,027	308,23	0,003
4	H-2 \rightarrow L (83%)	4,327	286,86	0,147
5	H-3 \rightarrow L (58%)	4,828	257,09	0,075
6	H \rightarrow L+1 (75%)	5,144	241,3	0,041
7	H-1 \rightarrow L+1 (87%)	5,221	237,74	0,097
8	H \rightarrow L+2 (74%)	5,567	222,96	0,012
9	H \rightarrow L+3 (61%)	5,704	217,6	0,004

Os máximos de absorção calculados, localizados em 286,86 ($f= 0,147$) e 344,88 nm ($f= 0,262$), apresentam as transições HOMO \rightarrow LUMO e HOMO-2 \rightarrow LUMO, respectivamente, como principais (Figura 47).

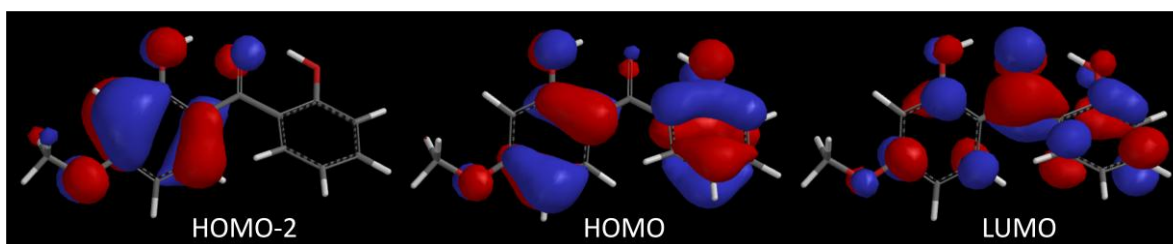


Figura 45. Coeficientes do orbitais de HOMO-2, HOMO e LUMO do derivado **14**.

Os coeficientes dos orbitais envolvidos nas transições eletrônicas indicam um envolvimento dos anéis **A** e **B** na transição HOMO \rightarrow LUMO, caracterizando transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. As transições entre HOMO-2 e LUMO envolvem apenas o anel **A**.

As transições de menor energia envolvem os orbitais de HOMO-LUMO. No espectro experimental, as transições de menor energia sofreram maior efeito hipsocrômico. O efeito hipsocrômico é indicativo de transições $n \rightarrow \pi^*$. No entanto, o átomo de oxigênio do grupo carbonila no HOMO apresenta baixa densidade eletrônica, devido a presença de grupos hidroxila na posição *orto* dos dois anéis.

Na comparação dos coeficientes de HOMO e LUMO, observou-se aumento na densidade no grupo carbonila e diminuição nos grupos hidroxila em LUMO. Segundo Baughman e col. (2009), essas alterações são devidas ao processo de

transferência de próton no estado excitado (ESPT), Figura 48, não à transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$.

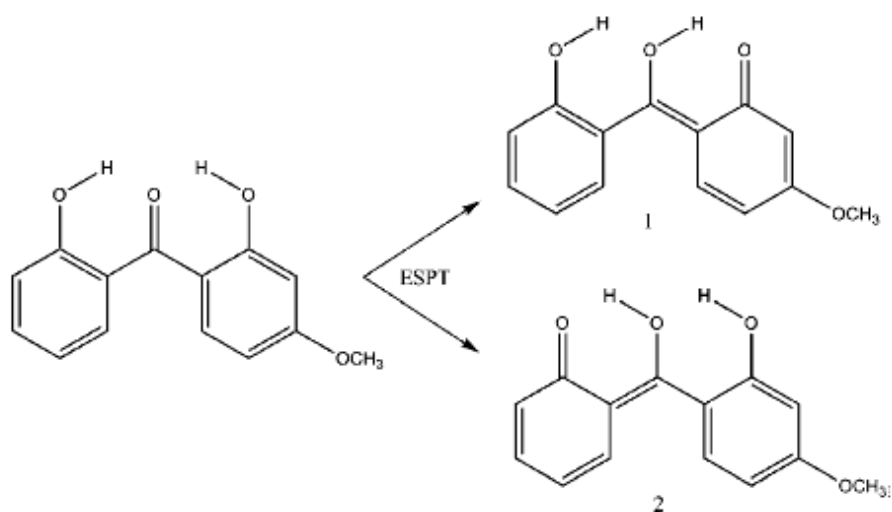


Figura 46. Representação esquemática da transferência de próton intramolecular no estado excitado (ESPT) da dioxibenzona (Adaptado de BAUGHMAN *et al.*, 2009).

Baughman e col. (2009) calcularam as transições eletrônicas da dioxibenzona (14) livre e complexada (1:1) com o metanol, tetraidrofurano e acetonitrila. Utilizaram dois métodos, TD-DFT e ZINDO. Observaram os máximos de absorção na faixa de 319 nm (dioxibenzona complexada com metanol; método ZINDO) à 369 nm (dioxibenzona livre; método TD-DFT) e caracterizaram as transições como sendo entre orbitais HOMO, HOMO-2 e LUMO.

Os orbitais de HOMO, HOMO-2 e LUMO calculados no presente trabalho são semelhantes aos calculados por Baughman e col (2009).

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A atividade estrogênica, indesejável para a fotoproteção, é favorecida em benzofenonas di-*para*-hidroxiladas (**X₄** e **X₄'**). A alta densidade eletrônica na posição *para* dos anéis **A** e **B** (**X₄** e **X₄'**) é uma característica importante para a interação com o receptor de estrogênio. O derivado **09** (2,4,4'-hidroxibenzofenona) possui maior atividade estrogênica entre os compostos estudados. A hidroxila substituída em **X₂** diminui a liberdade conformacional devido à ligação hidrogênio intramolecular e com isso favorece a atividade.

A atividade estrogênica é desfavorecida com a substituição do grupo hidroxila (-OH) pelo grupo metoxila (-OCH₃) (derivados **13-16**), pois além do aumento do volume molecular gerado pelo grupo metoxil, a metilação também exclui a capacidade de doação de ligação hidrogênio. Contudo, derivados metoxilados são metabolizados em derivados desmetilados.

No estudo de *docking* do composto **09**, a ligação hidrogênio intramolecular foi observada no confômero que apresentou melhor interação no sítio de ligação. O derivado **09** faz três interações por ligação hidrogênio, duas com os mesmos resíduos que o 17 β -estradiol faz, Glu353 e Arg394, e uma com o resíduo Thr347. Foram observadas também interações hidrofóbicas.

Na última etapa do trabalho avaliou-se o espectro eletrônico teórico da benzofenona (**01**) e seus derivados (**13** e **14**) utilizando um estudo por TD-DFT. Os cálculos permitiram observar as contribuições em termos de orbitais moleculares das principais transições eletrônicas. Os espectros eletrônicos teóricos foram comparados com os espectros experimentais. Para os três derivados, os máximos teóricos estão de acordo com as faixas dos máximos de absorção obtidos experimentalmente, exceto para o derivado **13** na faixa do UVA. Para o derivado **01**, o efeito do solvente pôde ser caracterizado no espectro eletrônico teórico.

O presente trabalho compila informações estruturais e eletrônicas importantes sobre as benzofenonas, que podem ser racionalizadas em estudos posteriores visando o desenvolvimento de novos compostos utilizados como absorvedores UV, mas que não apresentem atividade estrogênica, portanto, eficazes e mais seguros.

Julga-se importante a realização de novos cálculos com intuito de se conseguir resultados mais acurados para a absorção da oxibenzona na faixa do

UVA e destaca-se a necessidade de se avaliar o efeito dos substituintes no espectro eletrônico de absorção UV de derivados da benzofenona para a racionalização dos dados e proposta de novos derivados que apresentem absorção da radiação UV nas faixas do UVA e do UVB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMAT, A.; CLEMENTI, C.; ANGELIS, F.; SGAMELLOTTI, A.; FANTACCI, S. **Absorption de emission of apigenin and luteolin flavonoids: A TDDFT investigation.** J. Phys. Chem. A., 113, 15118-15126, 2009.

ARROIO, A.; HONÓRIO, K.M.; SILVA, A.B.F. **Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade.** Química Nova, São Paulo, v. 33, n. 3, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000300037&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 07 out. 2010.

BARREIRO, E.J.; RODRIGUES, C.R.; ALBUQUERQUE, M.G.; SANT'ANNA, C.M.R.; ALENCASTRO, R.B. Modelagem molecular: Uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. Quím. Nova, São Paulo, v. 20, n. 3, 1997.

BARTON, D.H.R.; BÜCHI, G.H.; CHAPMAN, O. MAYO, P.; HAMMOND, G.S.; LIU, R.S.; NECKERS, D.C. **Photochemistry.** Disponível em: <<http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/photchem.htm>> Acesso em: 19 nov 2010.

BAUGHMAN, B.M.; STENNETT, E.; LIPNER, R.E.; RUDAWSKY, A.C.; SCHMIDTKE, S.J. **Structural and spectroscopic studies of the photophysical properties of benzophenone derivatives.** J. Phys. Chem. A., 113, 8011-8019, 2009.

BENASSI, R.; FERRARI, E.; LAZZARI, S.; SPAGNOLO, F.; SALADINI, M. **Theoretical study on Curcumin: A comparison of calculated spectroscopic properties with NMR, UV-Vis and IR experimental data.** Journal of molecular structure, 168-176, 2008.

BILA, D.M. **Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17 β -Estradiol pelo Processo de Ozonização** Tese (Doutorado) – Engenharia química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2005.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. **Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências.** Quím. Nova, São Paulo, v. 30, n. 3, June 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000300027&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 21 Jul 2010

BLAIR, R.M.; FANG, H.; BRANHAM, W.S.; HASS, W.S.; DIAL, B.S.; MOLAND, C.L.; TONG, W.; SHI, L.; PERKINS, R.; SHEEHAN, D.M. **The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: Structural diversity of ligands.** *Toxicol. Sci.*, 54, 138-153, 2000.

BOTELHO, G.G.K. **Efeitos reprodutivos e endócrinos do di(2-ethyl)ftalato (DEHP) isolado e associado a antioxidantes em ratos wistar.** Tese (Doutorado) - Pós-Graduação em Farmacologia, Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. 2009

BRAIBANTE, H.; BRAIBANTE, M. **Orbitais moleculares.** Universidade Federal de Santa Maria, RS. Disponível em: <http://www.ufsm.br/quimica_organica/MOC=Oparte1.pdf>. Acesso em: 12 out 2010.

CARVALHO, I.; PUPO, M.T.; BORGES, A.D.L.; BERNARDE, L.S.C. **Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica.** *Química Nova*, v. 26, nº 3, 428-438, 2003.

CELIK, L.; LUND, J.D.D.; SCHIOTT, B. **Exploring Interactions of Endocrine-Disrupting Compounds with Different Conformations of the Human Estrogen Receptor α Ligand Binding Domain: A Molecular Docking Study.** *Chem. Res. Toxicol.*, 21, 2195–2206, 2008.

CHALOPIN, M.; TESSE, A.; MARTINEZ, M.C.; ROGNAN, D.; ARNAL, J-F.; ANDRIANTSITOHAINA, R. **Estrogen Receptor Alpha as a Key Target of Red Wine Polyphenols Action on the Endothelium.** *Plosone*, v.5, 1, 2010.

COELHO, L. W.; JUNQUEIRA, G.M.A.; HERRERA, J.O.M.; MACHADO, S.P. **Molecular mechanics application in inorganic Chemistry.** *Quím. Nova* [online]. vol.22, n.3, pp. 396-404, 1999.

COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS (COM). **Estratégia comunitária em matéria de desreguladores endócrinos substâncias suspeitas de interferir com os sistemas hormonais dos seres humanos e dos animais.** Bruxelas, 706, 1999.

COX, P.J.; DIMITRIOS, K.; KELLY, O. **Conformations of substituted benzophenones.** *Acta Cryst. B*64, 206–216, 2008.

DAMASCENO, M.V.A. **Estudos Teóricos dos Efeitos de Solvente no Espectro Eletrônico de Absorção da Molécula Óxido Mesityl.** Dissertação (Mestrado) – Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

DILLING, W.L. **The effect of solvent on the electronic transitions of benzophenone and its o- and p-hydroxy derivatives.** *J. Org. Chem.*, 31, 4, 1045-1050, 1966.

DOMINGUES, N.L.C. **Análise conformacional e aplicações sintéticas de algumas n-metóxi-n-metil-2-feniltiopropionamidas 4'-substituídas e suas formas**

mono- e di-oxigenadas. 2007. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2007.

FITOESTROGÊNIOS. Caderno de Tecnologia de Alimentos e Bebidas-Aditivos e Ingredientes, nº68, artigo 3, abril, 2010. Disponível em: http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/170.pdf. Acesso em: 03 nov 2010.

FLOR, J.; DAVOLOS, M.R.; CORRÊA, M.A. **Protetores solares.** Quim. Nova.; 30: 153-158. 2007.

FORESTIER, S. **Rationale for sunscreen development.** J Am Acad Dermatol; 58:133-8. 2008.

GEORG, H.C.; COUTINHO, K.; CANUTO, S. **Solvent effects on the UV-visible absorption spectrum of benzophenone in water: A combined Monte Carlo quantum mechanics study including solute polarization.** The journal of chemical physics, 126, 034507, 2007.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. **Interferentes endócrinos no ambiente,** Química Nova, São Paulo, v.30, n.3, p.695-706, 2007.

GOLOUBKOVA, T.; SPRITZER, P.M. **Xenoestrogênios: o exemplo do bisfenol-A.** Arq Bras Endocrinol Metab., v.44, n.4, pp. 323-330, 2000.

GONÇALVEZ, A.S.; FRANÇA, T.C.C.; FIGUEROA-VILLAR, J.D.; PASCUTTI, P.G. **Conformational Analysis of Toxogonine, TMB-4 and HI-6 using PM6 and RM1 Methods.** J. Braz. Chem. Soc., Vol. 21, No. 1, 179-184, 2010.

GONZALEZ, H.; FARBROT, A.; LARKÖ, O. **Percutaneous absorption of benzophenone-3, a common component of topical sunscreens.** Clinical and Experimental Dermatology, 27, 691–694, 2002.

GONZALEZ, H.; FARBROT, A.; LARKÖ, O.; WENNBERG, A-M. **Percutaneous absorption of the sunscreen benzophenone-3 after repeated whole-body applications, with and without ultraviolet irradiation.** British Journal of Dermatology, 154, p.337–340, 2006.

GRANT, G.H.; RICHARDS, W.G. **Computational Chemistry.** Oxford Science Publications. 1996.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Introdução à endocrinologia. In: Tratado de fisiologia médica.** 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c. 74, p. 782-790, 2002.

HALGREN, T. A. **Merck Molecular Force Field I. Basis, Form, Scope, Parameterization, and Performance of MMFF94.** J. Comp. Chem.: v. 17, 490-519, 1996.

HEHRE, W. J. **A Guide to Molecular Mechanisms and Quantum Chemical Calculations.** Wavefunction inc: 2003.

HESS, S.C. **Hormônios artificiais no ambiente: Riscos à saúde pública.** Disponível em: <<http://www.apromac.org.br/saicm20100516.htm>>. Acesso em: 22 jul 2010.

JANJUA, N.R.; MOGENSEN, B.; ANDERSSON, A-M.; PETERSEN, W. J. H. P.; HENRIKSEN, W.M.; SKAKKEBÆK, N.E., WULF, W.H.C. **Systemic Absorption of the Sunscreens Benzophenone-3, Octyl-Methoxycinnamate, and 3-(4-Methyl-Benzylidene) Camphor After Whole-Body Topical Application and Reproductive Hormone Levels in Humans.** J Invest Dermatol, 123:57 –61, 2004.

JEON, H-K.; SARMA, S.N.; KIM, Y.J.; RYU, J-C. **Toxicokinetics and metabolisms of benzophenone-type UV filters in rats.** Toxicology, 248, 89–95, 2008.

KATZENELLENBOGEN, B.S.; CHOI, I.; MOURROUX, R.D.; EDIGER, T.R.; MARTINI, P.G.V.; MONTANO, M.; SU, J.; WEIS, K.; KATZENELLENBOGEN, J.A. **Molecular mechanisms of estrogen action: selective ligands and receptor pharmacology.** Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 74, 279–285, 2000.

KAWAMURA, Y.; OGAWA, Y.; NISHIMURA, T.; KIKUCHI, Y.; NISHIKAWA, J.; NISHIHARA, T.; TANAKAMOTO, K. **Estrogenic activities of UV stabilizers used in food contact plastics and benzophenone derivatives tested by the yeast two-hybrid assay.** J. Health Sci., 49, 205-212, 2003.

KAWAMURA, Y.; MUTSUGA, M.; KATO, T.; IIDA, M.; TANAMOTO, K. **Estrogenic and anti-androgenic activities of benzophenones in human estrogen and androgen receptor mediated mammalian reporter gene assays.** Journal of Health Science, 51 (1), 48-54, 2005.

KLÀN, P.; WIRZ, J. **Photochemistry of Organic Compounds.** Chichester: Wiley, 2009

KUNZ, P. Y.; FENT, K. **Estrogenic activity of UV filter mixtures.** Toxicology and Applied Pharmacology, 217, 86–99, 2006.

LAUTENSCHLAGER, S.; WULF, H.C.; PITTELKOW, M.R. **Photoprotection.** Lancet; 370: 528–37. 2007.

LEACH, A. **Molecular Modelling: Principles and Applications**. Pearson Education Limited: 2^a ed., 2001.

LOWE, N. J. **An Overview of Ultraviolet Radiation, Sunscreens, and Photo-Induced Dermatoses**. *Dermatol Clin*; 24: 9 – 17. 2006.

MANTAS, A.; BLANCO, S.E.; FERRETI, F.H. **The Effects of Substituents and Solvents on the Conformation of Benzophenones**. *Internet Electronic Journal of Molecular Design*, 3, 387–399, 2004.

MARQUES, M.A.L.; BOTTI, S. **O que é e para que serve a Teoria dos Funcionais da Densidade?** *Gazeta de física*, v. 29, f. 4, 2006. Disponível em: < http://nautilus.fis.uc.pt/gazeta/revistas/29_4/vol29_4_Art02.pdf >. Acesso em: 7 out. 2010.

MOLINA-MOLINA, J.M.; ESCANDE, A.; PILLON, A.; GOMEZ, E.; PAKDEL, F.; CAVAILLES, V.; OLEA, N.; AIT-AISSA, S.; BALAGUER, P. **Profiling of benzophenone derivatives using fish and human estrogen receptor-specific in vitro bioassays**. *Toxicol Appl Pharmacol*. 232:384–395, 2008.

MORAES, N.V.; GRANDO, M.D.; VALERIO, D.A.R.; OLIVEIRA, D.P. **Exposição ambiental a desreguladores endócrinos: alterações na homeostase dos hormônios esteroidais e tireoideanos**. *Revista Brasileira de Toxicologia*, 21, n.1, 1 – 8, 2008.

MORGON, N.H.; COUTINHO, K. **Métodos de química teórica e modelagem molecular**. São Paulo: Editora Livraria de Física: 1^a Ed., 2007.

MORRIS, G.M.; GOODSELL, D.S.; HALLIDAY, R.S.; HUEY, R.; HART, W.E.; BELEW, R.K.; OLSON, A.J. **Automated docking using Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function**. *J Comput Chem.*, 19:1639–62, 1998.

PAULA, D.P. **Aplicação de uma cumarina como sonda fluorescente e caracterização fotofísica e espectroscópica de três análogos de psoraleno em meios homogêneo e microheterogêneo**. Dissertação (Mestrado) – Instituto de química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, 2003.

PIKE, A.C.; BRZOSOWSKI, A.M.; HUBBARD, R.E.; BONN, T.; THORSELL, A-N.; ENGSTRÖM, O.; LJUNGGREN, J.; GUSTAFSSON, J-A.; CARLQUIST, M. **Structure of the ligand-binding domain of oestrogen receptor beta in the presence of a partial agonist and full antagonist**. *The EMBO Journal*, v.18, n.17, p.4608-4618, 1999.

RAMACHANDRAN, K.I.; DEEPA, G.; NAMBOORI, K. **Computational Chemistry and Molecular Modeling. Principles and Applications.** Berlin Heidelberg: Springer, 2008.

ROCHA, G. B.; FREIRE, R. O.; SIMAS, A. M.; STEWART, J. J. P. **RM1: A Reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br and I.** J. Comp. Chem.:

RODRIGUES, A. **Análise conformacional de orto e meta-acetofenonas- α -fosfonatos e seus derivados: α -metilsulfinil; e α -metilsulfonil-substituídas e estudo da reatividade de α -haloacetofenonas orto e meta-substituídas com trietilfosfito.** Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2003.

RODRIGUES, C. R. **Processos Modernos no Desenvolvimento de Fármacos: Modelagem Molecular.** Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, nº 3, 43-49, 2001.

SANT'ANNA, C.M.R.; **Glossário de Termos Usados No Planejamento de Fármacos (Recomendações da IUPAC para 1997).** Quím. Nova, 25(3), 505-512. 2002.

SANTOS, H.F. **O conceito da modelagem molecular.** Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, Modelagem molecular, nº 4, 4-5, 2001.

SCHLUMPF, M.; SCHMID, P.; DURRER, S.; CONSCIENCE, M.; MAERKEL, K.; HENSELER, M.; GRUETTER, M.; HERZOG, I.; REOLON, S.; CECCATELLI, R.; FAASS, O.; STUTZ, E.; JARRY, H.; WUTTKE, W.; LICHTENSTEIGER, W. **Endocrine activity and developmental toxicity of cosmetic UV filters - an update.** Toxicology, 205, 113–122, 2004.

SHAATH, N.A. **The Encyclopedia of Ultraviolet Filters.** Allured Publishing Corporation. 2007.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W.; OVERTON, T. L.; ROURKE, J. P.; WELLER, M. T.; ARMSTRONG, F. A. **Química Inorgânica.** Bookman: 4ª ed., 2008.

SODERO, A.C.R. **Modelos de QSAR-4D de uma Série de Análogos do Raloxifeno: um Modulador Seletivo do Receptor de Estrogênio.** Dissertação: Mestrado em Ciências (Química Orgânica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, 2007.

SUKUKI, T.; KITAMURA, S.; KHOTA, R.; SUGIHARA, K.; FUJIMOTO, N.; OHTA, S. **Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used**

as **UV stabilizers and sunscreens**. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203, p. 9 – 17, 2005.

SUZUKI, T.; KITAMURA, S.; KHOTA, R.; SUGIHARA, K.; FUJIMOTO, N.; OHTA, S. **Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens**. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203, 9 – 17, 2005.

TABB, M.M.; BLUMBERG, B. **New Modes of Action for Endocrine-Disrupting Chemicals**. *Mol. Endocrinol*, 20: 475-482, 2006.

TOSTES, J.G. **Estrutura molecular: o conceito fundamental da química**. *Química Nova na Escola, Estrutura Molecular*, nº 7, 1998.

URAHATA, S.; CANUTO, S. **Monte Carlo–Quantum Mechanics Study of the UV–Visible Spectrum of Benzophenone in Water**. *J Quantum Chem*, 80: 1062–1067, 2000.

VERDI, H. **Métodos de análise conformacional**. Faculdade de Farmácia – UFRGS. Centro de biotecnologia. Grupo de bioinformática estrutural. Disponível em: <http://www.cbiot.ufrgs.br/bioinfo/modmol_3.pdf>. Acesso em: 10 out 2010.

WINGET, P.; DOLNEY, D.; GIESEN, D.; CRAMER, C.; TRUHLAR, D. G. **Minnesota solvent descriptor database**; Department of Chemistry and Supercomputer Institute, University of Minnesota: Minneapolis, MN, 1999.

XUE, Y.; GONG, X. **The conformational, eletronica and spectral properties of chalcones: A density functional theory study**. *Jornal of molecular structure: THEOCHEM*, 901, 226-231, 2009.

YIN, J.; CHEN, R-F.;ZHANG, S-L.; LING, Q-D.; HUANG, W. **Theoretical studies of the structural, electronic, and optical properties of phosphafluorenes**. *J. Phys. Chem A.*, 114, 3655-3677, 2010.

ZHANG, G.; MUSGRAVE, C.B. **Comparison of DFT Methods for Molecular Orbital Eigenvalue Calculations**. *J. Phys. Chem. A*, 111, 1554-1561, 2007.