



Universidade do Estado do Amazonas  
Escola Superior de Ciências da Saúde - ESA/UEA  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia

Laboratório de Tecnologia com Moléculas Bioativas.

**Claudenor de Souza Piedade**

**Estudo da estrutura - atividade da norharmana, DHM-cumarina  
e riparinas I, II, III usando espectroscopia eletrônica e cálculos  
teóricos.**

**Manaus – AM  
2009**

*Claudenor de Souza Piedade*

Estudo da estrutura - atividade da norharmana, DHM-cumarina e riparinas I, II, III usando Espectroscopia eletrônica e cálculos teóricos.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia da Universidade do estado do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia (Físico-Química).

Orientador: Prof. Dr. Alberto dos Santos Marques

Manaus – AM  
2009

P613e Piedade, Claudenor de Souza.  
Estudo da estrutura-atividade da norharmana, DHM-cumarina e riparinas I, II, III usando espectroscopia eletrônica e cálculos teóricos. / Claudenor de Souza Piedade ; orientação Alberto dos Santos Marques. – Manaus: UEA, 2009.

121 f. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado). – Universidade do Estado do Amazonas, 2009.

1. Fotoquímica. 2. Fotofísica. I. Marques, Alberto dos Santos (Orient.). II. Título.

CDU(1997) 544.52

Claudenor de Souza Piedade

**Estudo da estrutura - atividade da norharmana, DHM-cumarina e riparinas I, II, III usando Espectroscopia eletrônica e cálculos teóricos.**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e recursos Naturais da Amazônia da Universidade do estado do Amazonas – UEA, como parte do requisito para a obtenção do título de mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia.

Aprovado em 04 de novembro de 2009.

Banca Examinadora

---

**Prof. Dr. Alberto dos Santos Marques (Orientador)**  
*Universidade do Estado do Amazonas – UEA*

---

**Profa. Dra. Maria da Paz Lima**  
*Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA*

---

**Profa. Dra. Sandra Patrícia Zanotto**  
*Universidade do estado do Amazonas – UEA*

*Dedico a Deus*

*Aos meus pais: **Caetano e Alcimar,***

*pelo vida e apoio!*

*Aos meus irmãos pelo apoio  
nos momentos que mais precisei!*

*E em especial:*

*A minha esposa **Aldelene,**  
pelo apoio, compreensão e pela força  
em todos os momentos.*

*e a meus filhos*

**Ana Victoria e Claubert Caetano e Alberth**

*que são a razão da minha vida!*

## AGRADECIMENTOS

- ✓ A Deus pela oportunidade da conquista de mais uma luta empreendida.
- ✓ A meu orientador, Prof.Dr.Alberto dos Santos Marques, pela confiança e apoio;
- ✓ Ao Prof. Dr Yuji Takahata pela contribuição nos resultados e instruções nos cálculos;
- ✓ A Profa. Dra. Luiza Gabriel Pereira, pelas sugestões e discussões que foram de grande contribuição para a realização deste trabalho, além do apoio moral;
- ✓ A Profa. Dra. Angela Maria Imakawa, pelas sugestões, correções e apoio;
- ✓ Ao Prof. Dr. Jorge Luiz Lopes Lozano pela solidariedade e acolhida;
- ✓ A Profa. Dra. Margarida Souza, pela força e contribuição;
- ✓ Aos meus amigos de ontem, hoje e sempre, aqui todos aqueles que direto ou indiretamente contribuíram para o desfecho desse trabalho, pela amizade e apoio;
- ✓ Aos colegas, funcionários e professores da UEA e do LTMB, pela saudável convivência, pelo companheirismo e sugestões;
- ✓ Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, pelos ensinamentos;
- ✓ A Capes pela bolsa concedida.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b>	iv
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	v
<b>LISTAS DE ABREVIATURAS</b>	viii
<b>RESUMO</b>	xi
<b>ABSTRACT</b>	xiii
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1. A Biodiversidade Amazônica e a Biotecnologia.....	1
1.2. Revisão Bibliográfica.....	3
1.2.1. Norharmana.....	3
1.2.2. Riparina I, II e III .....	5
1.2.3. DHMC.....	8
1.3. As Bases Teóricas.....	10
1.3.1. Propriedades Espectroscópicas.....	10
1.3.1.1. Espectroscopia de Absorção U.V. Visível.....	10
1.3.1.2. Espectroscopia de Emissão.....	11
1.3.1.2.1. O Diagrama de Jablonski e os caminhos da energia em moléculas excitadas eletronicamente.....	11
1.3.1.2.2. Os processos emissivos de fluorescência e fosforescência.....	15
1.3.1.2.3. Processos de desativação não radiativa: Conversão interna.....	15
1.3.1.2.4. Processo de desativação não radiativa: Cruzamento intersistemas.....	17
1.3.2. Uma análise comparativa entre os espectros de absorção e emissão...	19

1.3.3. As transições eletrônicas de sistemas moleculares.....	21
1.3.3.1. As transições eletrônicas $\sigma \rightarrow \sigma^*$ .....	21
1.3.3.2. As transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ .....	22
1.3.3.3. As transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$ .....	23
1.3.4. O efeito do solvente nos processos fotofísicos.....	24
1.3.5. O Princípio Franck-Condon.....	27
1.4. O Programa SPARTAN '06.....	30
1.5. Métodos de Orbitais Moleculares.....	31
1.5.1. Métodos Semi-empíricos.....	32
1.5.1.1. Métodos Semi-empíricos AM1, PM3 e RM1 do SPARTAN '06.....	33
1.5.1.2 - O método Semi-empírico ZINDO/S-CI.....	34
1.5.1.2. O método Semi-empírico HAM/3-CI.....	35
1.5.2. O Método Abinitio do SPARTAN '06. ....	38
1.5.3. O Método TFD do SPARTAN '06.....	39
<b>2. TÉCNICA EXPERIMENTAL.....</b>	<b>42</b>
2.1. Moléculas utilizadas no trabalho.....	42
2.1.1. Norharmana, DHMC e Riparinas I, II, III.....	42
2.2. As técnicas espectroscópicas.....	43
2.2.1. A espectroscopia de absorção e emissão a 77 K.....	43
2.2.2. O cálculo do tempo de vida.....	46
2.3. Os métodos de orbitais moleculares.....	47
2.3.1. Os cálculos Semi-empíricos HAM/3-CI e ZINDO/S-CI. ....	47
2.3.2. O cálculo Abinitio (RHF/6-31G*) do programa SPARTAN '06.....	47
2.3.4. O cálculo TFD do programa SPARTAN '06.....	48
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>49</b>

3.1. Norharmana.....	49
3.1.1. Espectroscopia de Absorção.....	49
3.1.2. Espectroscopia de Emissão a 77 K para a NH.....	52
3.1.3. O cálculo Semi-empírico HAM/3-CI.....	55
3.1.4. O cálculo TFD para a NH.....	61
3.2. Riparina R-I; R-II; R-III.....	71
3.3.1. O cálculo TFD para as riparinas.....	72
3.3. DHMC.....	77
3.3.1. Espectro infravermelho do DHMC.....	77
3.3.2. Os espectros de absorção das espécies do DHMC.....	78
3.3.3. Espectro de emissão para o DHMC.....	81
3.3.4. Solubilização das espécies do DHMC em soluções micelares neutra e com cargas.....	84
3.3.4. Cálculos de orbitais moleculares para o DHMC.....	89
3.2.4. A TFD para a DHMC.....	95
<b>4. CONCLUSÕES.....</b>	<b>107</b>
4.1. Sugestões de Futuros trabalhos.....	111
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>112</b>

## LISTA DE TABELAS

	Pág
Tabela 1 – Resultados do cálculo HAM/3-CI e experimental para o NH base livre, por ligação hidrogênio (etanol) e monoprotionada .....	57
Tabela 2 - Resultados do cálculo TFD (6_311+G**) e experimental para o NH base livre, por ligação hidrogênio (etanol) e monoprotionada.....	62
Tabela 3 - Resultados do cálculo TFD (6-311+G**) para RI, RII e RIII ..	73
Tabela 4 - Cargas atômicas das Riparinas calculadas por TFD/6-311+G** .....	76
Tabela 5 - Coordenadas internas das Riparinas calculados por RHF/6-31G* .....	77
Tabela 6 - Resultados do cálculo ZINDO e experimental (dissolvido em etanol e água) para o DHMC Base livre, ligação hidrogênio (etanol) e monocation (água).....	90
Tabela 7 - Resultados do cálculo TFD/6_31+G* e experimental (dissolvido em etanol e água) para o DHMC Base livre, ligação hidrogênio (etanol) e monocation (água).....	96

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág</b>
Figura 1. Estrutura molecular da Norharmana (NH).....	4
Figura 2. Estrutura molecular da riparina: (a) R-I; (b) R-II e (c) R-III.....	6
Figura 3. Estrutura molecular da DHMC.....	9
Figura 4. O diagrama de Jablonski para as transições eletrônicas.....	14
Figura 5. A conversão interna.....	17
Figura 6. O cruzamento intersistemas.....	19
Figura 7. A relação entre a absorção e a emissão.....	20
Figura 8. Os tipos de orbitais moleculares e as transições eletrônicas.....	24
Figura 9. Perturbações do solvente nas transições eletrônicas.....	27
Figura 10. O princípio Franck-Condon e sua influência na determinação da forma da banda de absorção. (A) e (B) São configurações com equilíbrio internuclear.....	29
Figura 11. Esquema ilustrativo das atividades que é permitida com a utilização do programa SPARTAN `06.....	30
Figura 12. Esquema do sistema de espectroscopia de luminescência a 77 K.....	45
Figura 13. O gráfico da intensidade vs. Tempo, da NH em etanol, $1 \times 10^{-4} \text{M}$ a 77K.....	46
Figura 14. Norharmana $10^{-4} \text{M}$ : (a) monocatión (sal em água), (b) base livre em etanol e (c) base livre em metilciclohexano.....	50
Figura 15. Espectros de emissão da NH dissolvido em: (a) MCH a $1 \times 10^{-5} \text{M}$ , (b) etanol a $1 \times 10^{-6} \text{M}$ e (c) 2,2,2, trifluoretanol(TFE) a $1 \times 10^{-5} \text{M}$ e (d) sal	

em água a $1 \times 10^{-5} \text{M}$ .....	55
Figura 16. Orbitais moleculares para NH base livre, (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO+1, (e) HOMO -2 e (f) LUMO +2, calculado por TFD (6-311+G**)......	64
Figura 17. Orbitais moleculares para NH ligação hidrogênio (etanol), (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO+1, (e) HOMO -2 e (f) LUMO +2, calculado por TFD (6-311+G**)......	66
Figura 18. Orbitais moleculares para NH monoprotionada, (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO+1, (e) HOMO -2 e (f) LUMO +2, calculado por TFD (6-311+G**)......	68
Figura 19. Gráficos simulados das energias de excitação calculadas pelo HAM/3 CI-10, TFD (B3LYP 6-311+G**) e comparados com dados do espectro de absorção (Observado) em (a) monômero da NH; (b) NH por ligação de hidrogênio (etanol) e (c) NH+ monoprotionada.....	70
Figura 20. Gráficos simulados com energias de excitação (eV) e força do oscilador (f) calculada por TFD (B3LYP 6-311+G**), comparado com dados observados do espectro de absorção em MCH, para: (a) Riparina I, (b) Riparina II e (c) Riparina III.....	75
Figura 21. Espectro Infravermelho em KBr: (a) cumarina (1,2-Benzopirona) e (b) a DHMC monoprotionada.....	78
Figura 22 - Espectro de absorção do DHMC: (a) etanol e (b) água, Todos na concentração de $1 \times 10^{-4} \text{M}$ .....	79
Figura 23. Espectro de emissão da DHMC base livre a 77 K em: (a) etanol a $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ; (b) etanol + um gota de 2,2,2-trifluoretanol a $1 \times 10^{-4} \text{M}$ e (c) água $1 \times 10^{-3} \text{M}$ .....	82
Figura 24. Espectros de emissão a 77K para o DHMC+: (a) solução	

tampão aquosa com pH=7,0; em soluções micelares: (b) em triton X-100, micela neutra; (c) em LS, micela aniônica e (d) em HAD, micela catiônica. Todas na concentração $1 \times 10^{-4}$ M.....	86
Figura 25. Espectro de absorção simulado Usando as energias de transição calculadas e o f-valor do DHMC-H.....	92
Figura 26. Espectro de emissão simulado do DHMC+ baseado nos resultados dos cálculos ZINDO para o DHMC+.....	94
Figura 27. Orbitais moleculares para DHMC base livre, (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO+1, (e) HOMO -2 e (f) LUMO +2, calculado por TFD (6-31+G**)......	99
Figura 28. Orbitais moleculares para DHMC em ligação de hidrogênio (etanol), (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO+1, (e) HOMO -2 e (f) LUMO +2, calculado por TFD (6-31+G**)......	101
Figura 29. Orbitais moleculares para DHMC Monocátion, (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO+1, (e) HOMO -2 e (f) LUMO +2, calculado por TFD (6-31+G**)......	103
Figura 30. Gráficos simulados das energias de excitação calculadas pelo ZINDO e TFD (6-31+G*), comparados com espectro de absorção (observado) do DHMC: (a) Base livre, (b) dissolvido em etanol e (c) monocátion.....	105

## LISTA DE ABREVIATURAS

AM1 – Austin Model 1;

C.P.T. – Contribuição principal para transição;

CI – Configuração de interação;

CMC - Concentração micelar crítica;

Cs – assimétrico.

d-hb – di-hidroxibenzeno;

DHMC - (3-[2-(diethylamina)etil]-7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona);

En. – Energia;

EtOH – Etanol;

eV – Elétron-volt;

Exp. – Experimental;

FRC – Função de repulsão do caroço;

HAM/3 – Hydrogenic atoms in molecules - versão 3

HB – Hidroxibenzeno;

HOMO – Orbital desocupado de menor energia;

IQ – 2-amino-3-metilimidazo[4,5-f]quinolina;

KBr – Brometo de potássio.

LTMB - Laboratório de Tecnologia com Moléculas Bioativas.

LUMO – Orbital ocupado de maior energia;

MAO – Monoamineoxidase;

MCH – Metilciclohexano;

MNDO - Modified Neglect of Diatomic Overlap;

NDDO - Neglect of Differential Diatomic Overlap;

NH – Norharmana, (*9H-pirido*[3,4-*b*]indol);

**OH-b – Hidroxibenzeno;**  
**OM – orbital molecular;**  
**pH – potencial hidrogeniônico;**  
**PM3 - Parameterized Model 3;**  
**p-mb – p-metoxibenzeno;**  
**R-I (Riparina I) – *Metil éter N-benzoil tiramina;***  
**R-II (Riparina II) – *N-hidroxibenzoil tiramina;***  
**R-III (Riparina III) – *N-(1,6-dihidroxibenzoil) tiramina;***  
**RM1 - Recife Model 1;**  
**TC – Transferência de carga;**  
**TFD – Teoria do Funcional da Densidade;**  
**TFE – 2,2,2, trifluoroetanol;**  
**TOM – Teoria de orbital molecular;**  
**ZINDO - Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap.**

*Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a influência libertadora da beleza do reino do espírito, para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer.*

*Albert Einstein*

## Resumo

A norharmana, riparina I, II, III e DHMC, moléculas que podem ser encontradas em produtos naturais da Amazônia, foram estudadas com a espectroscopia de emissão a 77 K, no estado estacionário e resolvida pelo tempo, espectroscopia UV/Visível, espectroscopia infravermelho e cálculos de orbitais moleculares: Semi-empíricos, HAM/3-CI, ZINDO/S-CI, PM3, AM1, RM1; Abinitio RHF/6-31G\* e Teoria do Funcional da Densidade. Com os resultados obtidos, se tentou fazer uma relação entre a estrutura química e a atividade de cada molécula, considerando os efeitos do solvente e do substituinte e correlacionando os resultados experimentais com os teóricos. Para a NH e a DHMC foram obtidas entre outras, as propriedades fotofísicas, as espécies ativas nas vizinhanças hidrofóbicas, região fotoativa, natureza dos estados eletrônicos excitados de menores energias, solubilização de espécies em micelas, a espécie em ação no interior da micela. Para as riparinas foi feito um estudo teórico com a TFD através do qual concluiu-se que a potência do efeito anti-hipertensão e de relaxação muscular dessas moléculas, tem maior contribuição da estrutura eletrônica do que da estrutura molecular. Observou-se também que a TFD em todos os casos em que foi utilizada produziu resultados mais próximos dos resultados experimentais do que os cálculos Semi-empíricos.

O uso das técnicas espectroscópicas em associação com os cálculos teóricos utilizados neste trabalho, demonstrou ser uma ferramenta muito útil

para o estudo da relação entre a estrutura e atividade de moléculas bioativas. A espectroscopia de emissão a 77 K é claramente sensível, para atuar como um meio direto para a caracterização das espécies ativas e sítios de solubilização em modelos de membranas.

**Palavras Chave:** norharmana, DHMC, riparina, fotofísica, estados excitados, ligação de hidrogênio, espectroscopia de emissão e absorção e cálculos de orbitais moleculares.

## ABSTRACT

Norharman, Riparin I, II, III, and DHMC, molecules which can be found in natural products of the Amazon, have been studied with the spectroscopy of emission at 77K in the stationary state and resolved by the time, UV/visible spectroscopy, infrared spectroscopy, and calculations of the molecular orbital: Semi-empiric, HAM/3-CI, ZINDO/S-CI, PM3, AM1, RM1; Abinitio RHF/6-31G \* and Density Functional Theory. Based on the results, it has been tried to make a relation between the chemical structure and the activity of each molecule, pondering the effects of the solvent and substitutes, and making the correlation between experimental and theoretical results. For NH and DHMC it was obtained, among others, its photophysical properties, and active species on the hydrophobic and hydrophilic vicinities, photoactive region, and nature of the excited electronic state of the lowest energy, solubility of species on micelles, and the species on action in the micelle interior. For the riparins, it was done a theoretical study with the TFD, by which it was concluded that the potency of the anti-hypertension effect and the muscle relaxation of these molecules have greatest contribution of the electronic structure than the molecular one. It was also observed that the TFD, in every case when it was used, produced results more close to experimental results than the semi-empiric calculation. The use of spectroscopic techniques in association with the theoretical calculations used in this work showed to be a very useful tool to the study of the relationship between the structure and the

activity of bioactive molecules. The spectroscopy of emission at 77K is clearly sensible for being a direct way for characterization of active species and sites of solubility in membranes models.

**Keywords:** Norharman, DHMC, riparin, photophysics, excited states, hydrogen bond, emission and absorption spectroscopy and molecular orbital calculations.

## **1 – Introdução**

### **1.1 - A Biodiversidade Amazônica e a Biotecnologia.**

O Brasil possui uma diversidade de ecossistemas que agrega inúmeras espécies vegetais e animais. Em relação à biodiversidade o país conta com a maior riqueza de animais e vegetais do mundo: entre 10 a 20% de 1,5 milhão de espécies já catalogadas. A estatística indica que existam 55 mil espécies de plantas (aproximadamente 22% do total mundial), 524 espécies de mamíferos, 1.622 de aves, 517 de anfíbios e 3.000 de peixes (SALATI *et al.*, 2006; LEWINSOHN & PRADO, 2002). A biodiversidade do Brasil é considerada uma fonte de substâncias biologicamente ativas e sua preservação é fundamental tanto pelo valor intrínseco dessa imensa riqueza biológica como pelo seu enorme potencial como fonte de novos fármacos (BARREIRO & FRAGA, 1999; COSTA, 2002). O valor econômico da nossa diversidade biológica é de difícil mensuração. Uma estimativa é de que seja próximo de quatro trilhões de dólares (VOGT, 2009). No Brasil, a participação desse mercado ainda é pequena, atingindo 500 milhões de dólares por ano (ARNT, 2001).

A Biotecnologia deve ser entendida como o conjunto de conhecimentos capaz de propiciar a conservação dos recursos, como: a utilização dos seres vivos (vegetais, animais e microrganismos) ou dos seus produtos (enzimas, células, organelas, moléculas) no processamento de materiais para produzir bens de consumo ou serviços, incluindo-se para tal, as aplicações dos atuais métodos científicos, das técnicas de modificação, de melhoramento e de conservação dos sistemas biológicos. Milhares de animais, plantas, microrganismos e derivados da Amazônia ainda precisam ser estudados

(MANTELL *et al.*, 1994). É um patrimônio, no qual o potencial farmacêutico de espécies da Amazônia é pouco explorado e também é grande o contrabando de espécies (biopirataria) (VAL *et al.*, 2003).

Estudar moléculas procedentes da biodiversidade amazônica é contribuir para o crescimento do suporte de informações, fornecer subsídios para uma melhor qualidade de vida das populações.

As moléculas de nosso estudo, além de serem encontradas em plantas da Amazônia, também fazem parte do cotidiano da população da região, como em cigarros, bebidas, entre outras. E são as seguintes:

1. O *9H-pirido[3,4-b]indol*, Norharmana (NH) é um alcalóide pertencente à família das  $\beta$ -carbolinas, com propriedades alucinógenas, farmacológicas (SAKUROVS & GHIGGINO, 1982), dentre outras; em conjunto com seus derivados podem ser encontradas em plantas da Amazônia como o cipó caapi, *Banisteriopsis caapi* (Spruce ex Griseb.) C.V. Morton e nas folhas da chacrona, *Psychotria viridis* Ruiz & Pavón usados em rituais religiosos da região (COHEN, 1979; HADLEY *et al.*, 1974).

2. O *O-metil-N-(2,6 dihidroxibenzoil)tiramina*, uma das riparinas foi isolada de uma planta da Amazônia conhecida como louro, *Aniba riparia* (Nees) Mez; sua principal ação farmacológica é de um potente relaxante muscular e anti-hipertensivo (BARBOSA FILHO *et al.*, 1990).

3. O *3-[2-(dietilamina)etil]-7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona*, DHMC, da família das cumarinas, cuja molécula mãe é *1,2-benzopirona* (cumarina), pode ser encontrada em vegetais, dentre eles destaca-se o cumaru, *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd, uma árvore típica da Amazônia. O seu uso relaciona-se a problemas ligados a causa de câncer, e possui papel antioxidante, dentre outras aplicações (COHEN, 1979; EDENHARDER *et al.*, 1995).

O objetivo geral deste trabalho é estudar a estrutura-atividade das moléculas: NH, riparinas (R-I, R-II, R-III) e DHMC. Fazendo um estudo comparativo da estrutura eletrônica e molecular usando a espectroscopia eletrônica e cálculos teóricos, relacionado à proximidade de seus resultados.

Os objetivos específicos são: 1- Estudar e determinar as espécies da NH, observando o comportamento da estrutura eletrônica das espécies em diferentes solventes, usando a espectroscopia eletrônica de emissão a 77K e absorção. A interpretação dos resultados será auxiliada por comparação com os cálculos HAM/3 e Teoria do Funcional da Densidade (TFD 6-311+G\*\*); 2- Estudar as espécies de riparinas, fazendo um estudo teórico da R-I, R-II e R-III, e a relação de suas potências como relaxantes musculares, usando a Teoria do Funcional da Densidade (TFD 6-311 + G\*\*); 3- Estudar e determinar as espécies da DHMC com o objetivo de esclarecer e correlacionar as propriedades luminescentes, a natureza dos estados eletrônicos de cada espécie, e propor uma idéia sobre suas propriedades eletrônicas e a atividade biológica usando a espectroscopia eletrônica de emissão a 77K e absorção. A interpretação dos resultados será feita com a ajuda de cálculos ZINDO e Teoria do Funcional da Densidade (TFD 6-31+G\*).

## **1.2 - Revisão Bibliográfica**

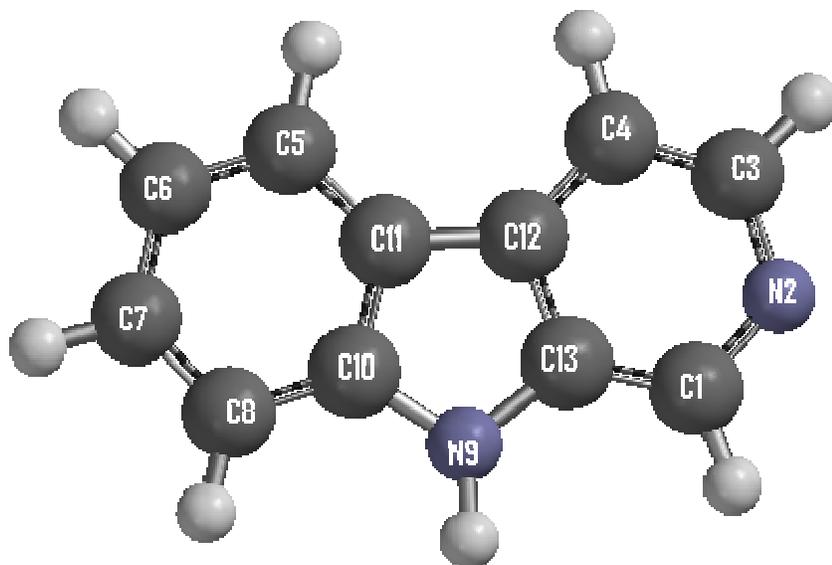
### **1.2.1 - Norharmana.**

Os alcalóides  $\beta$ -carbolinas inicialmente conhecidos por sua potente ação psicoativa e alucinógena, têm mostrado uma grande variedade de propriedades biológicas e farmacológicas, incluindo atividades antimicrobiais, antivirais, anticonvulsivas, hipnóticas, vasorelaxantes, anti-HIV e antitumorais (CAO &

CHEN *et al.*, 2004). Apresentam-se também como inibidor da monoamineoxidase (MAO) e recentemente foi observada sua atuação como co-mutagênico e tem sido usado como sondas fluorescentes (BIONDIC & ERRA-BALSELLS, 1997; MALLICK & CHATTOPADHYAY, 2004).

Embora pouco se saiba sobre o mecanismo de transporte das  $\beta$ -carbolinas (harmina, harmana, norharmana e outras), através da membrana celular, o seu nível de fototoxicidade pode ter uma relação direta com a permeabilidade da droga na membrana (MARQUES *et al.*, 2000).

Observou-se que a NH é muitas vezes denominada como a própria  $\beta$ -carbolina (Figura 1) devido à completa ausência de substituintes (OKAMOTO *et al.*, 2005). É formada a partir da condensação do anel piridínico com um benzopirrol. A sua estrutura é planar e tem grupo pontual Cs. É encontrada nas formas neutra (NH) e monoprotionada (NH<sup>+</sup>) e a protonação acontece no N da piridina (MARQUES *et al.*, 2000). As propriedades espectroscópicas da NH têm sido estudadas devido à exposição do ser humano a ela em várias situações e por ser um inibidor da MAO (KATZUNG, 1994).



**Figura 1** - Estrutura molecular da Norharmana (NH).

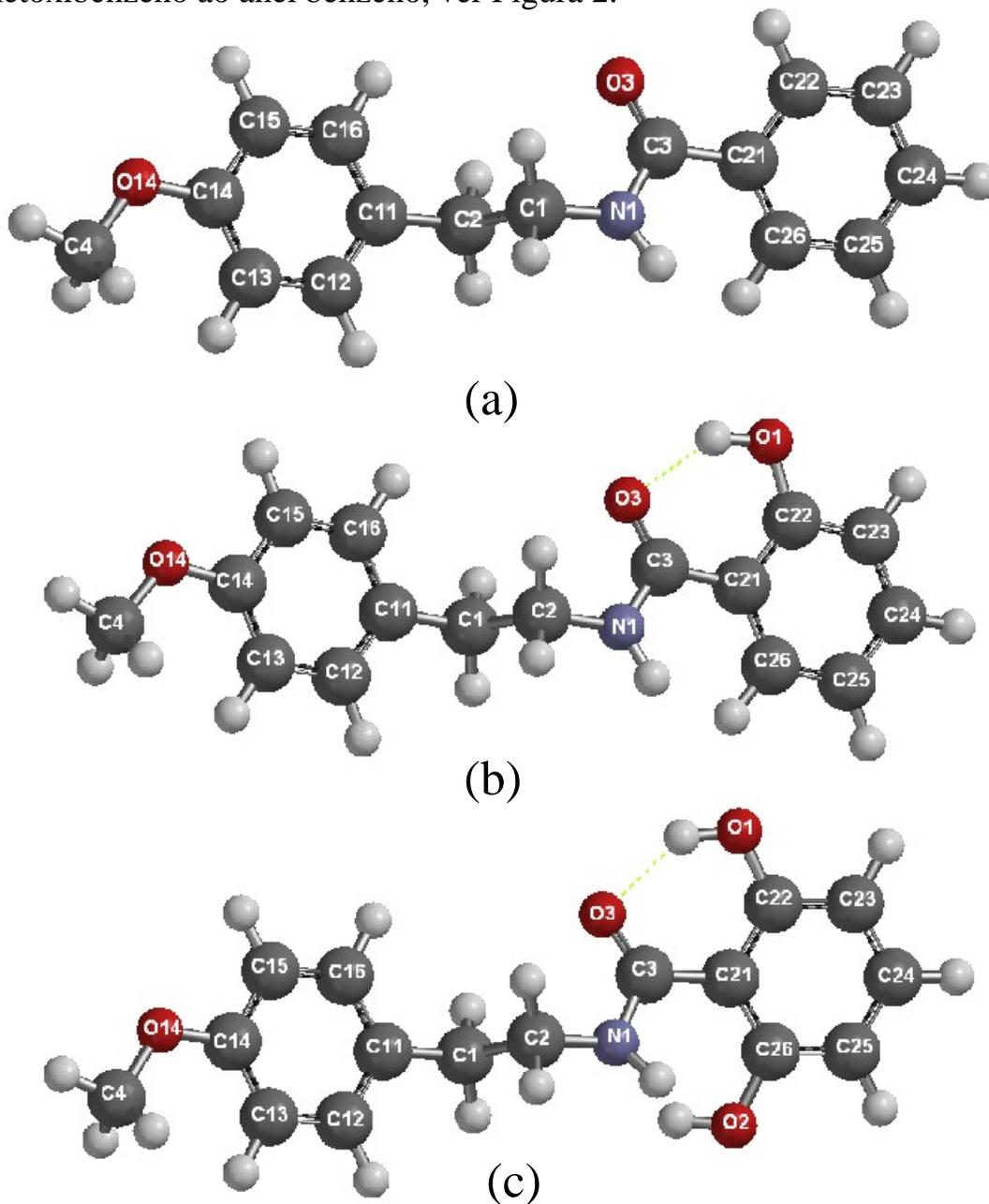
OKAMOTO *et al.* (2005) estudou a NH usando a espectroscopia de emissão a 77 K e a 298 K. BALON *et al.* (1993) fez um estudo espectroscópico da NH variando o pH e correlacionando com as intensidades das bandas do espectro de emissão.

As propriedades ácido/base das  $\beta$ -carbolinas são modificadas consideravelmente no primeiro estado excitado singlete ( $S_1$ ) (REYMAN *et al.*, 2003). Sob excitação, a densidade de carga nos átomos de nitrogênio muda de anel, o nitrogênio piridínico se torna muito mais básico e o nitrogênio do pirrol mais ácido que no estado inicial. O pKa estimado da maioria delas é aproximadamente 7 para o estado eletrônico fundamental e  $\cong$  13 para o primeiro estado eletrônico excitado ( $S_1$ ). Isto é explicado teoricamente pelo aumento da basicidade do nitrogênio piridínico quando excitado com fonte convencional (TAPIA *et al.*, 2003).

### 1.2.2 - Riparina I, II e III.

As alcalmidas naturais constituem uma classe especial de alcalóides, contendo uma função amida restrita a poucos representantes na natureza (ARAÚJO & BARBOSA-FILHO, 2000). Com a descoberta de atividade antimicrobiana de amidas isoladas de *Aniba riparia*, uma Lauraceae popularmente conhecida como louro que cresce na região de Humaitá no Estado do Amazonas. Foram obtidos extratos dos frutos e dos cálices, sendo que do fruto verde desta planta foram isoladas alguns alcalóides, do tipo alcalmidas, e chamadas de riparinas (Figura 2), sendo (a) riparina I (R-I) (éter metílico de *N*-benzoil tiramina), (b) riparina II (R-II) (éter metílico de *N*-2-hidroxibenzoil tiramina) e (c) riparina III (R-III) (éter metílico de *N*-2,6-

dihidroxi-benzoil tiramina), nome dado em homenagem a planta que as contém (BARBOSA FILHO *et al.*, 1990; THOMAS *et al.*, 1994; CASTELO BRANCO *et al.*, 2000). Essa molécula é constituída do p-metoxibenzeno (p-mb), uma cadeia alifática de hidrocarbonetos com N e carbonila, que liga o p-metoxibenzeno ao anel benzeno, ver Figura 2.



**Figura 2** - Estrutura molecular da riparina: (a) R-I; (b) R-II e (c) R-III.

A principal ação farmacológica dessas moléculas é de potente relaxante muscular, pois produzem relaxamento no músculo liso e esquelético. O músculo esquelético é controlado pelo sistema nervoso central e trabalha através de impulsos elétricos que saem do cérebro ou “spinal Cord”. O mecanismo de contração do músculo esquelético é menos sensível à ação de medicamentos que os músculos lisos. Os músculos lisos são encontrados nos órgãos internos do corpo humano e uma de suas funções é controlar o diâmetro das veias. Sabe-se que as substâncias que relaxam o músculo liso, reduzem a pressão sanguínea o que nos leva a deduzir que as riparinas podem ser úteis no tratamento da hipertensão e arteriosclerose (SOUSA *et al.*, 2004).

As riparinas foram testadas e suas potências foram determinadas como: R-III >R-II >R-I, sendo que a potência da R-III é dependente da presença exclusivamente de dois grupos hidroxilas, no segundo anel benzênico (THOMAS *et al.*, 1994). A R-I é diferente das demais por não apresentar, no anel benzênico, nenhum grupo substituinte (SEIXAS, 1996). As riparinas I, II e III apresentaram resultados semelhantes com relação ao efeito ansiolítico, portanto, com menos efeitos colaterais que os benzodiazepínicos clássicos (SOUSA, 2008).

Estudo espectroscópico de R-I comparada com R-III encontrado na literatura, onde foram usadas espectroscopia de difração de Raios-X, espectroscopia eletrônica, infravermelho, RMN e cálculos semi-empíricos. Os resultados demonstraram que a estrutura planar da R-III e o deslocamento dos elétrons para o benzeno di-hidroxilado comparado com R-I podem ter um papel importante na ação farmacológica e na potência como relaxante muscular comparado com R-I (MARQUES *et al.*, 2005).

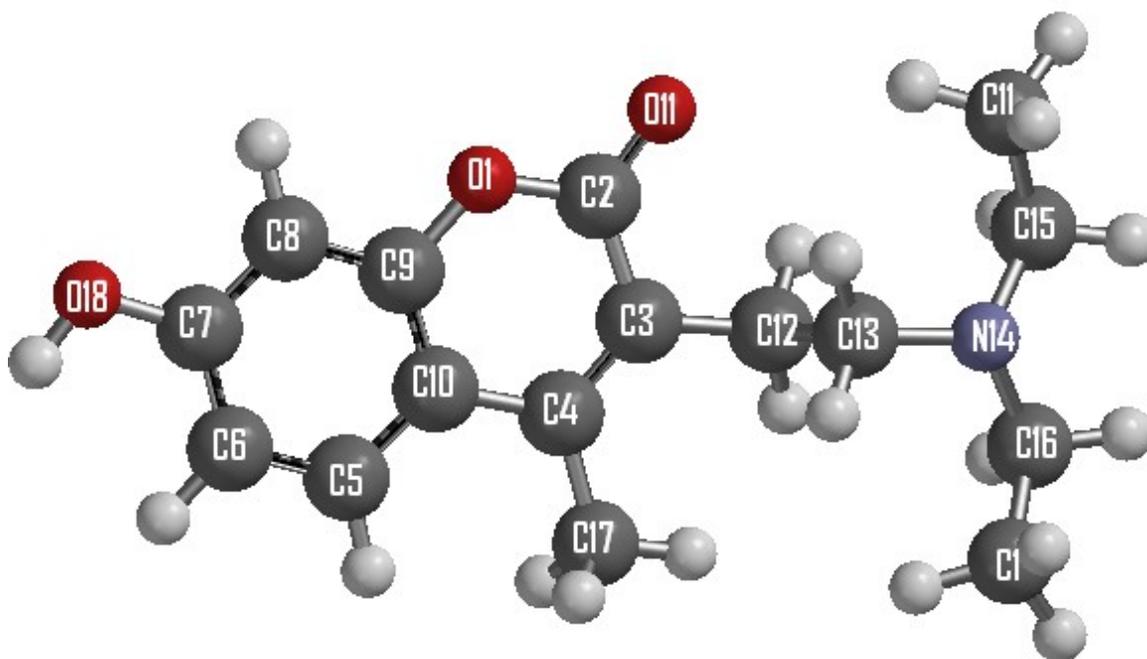
Aqui será mostrado um estudo teórico das moléculas suscitadas com a Teoria do Funcional da Densidade (TFD). Os resultados poderão dar uma idéia da correlação das propriedades eletrônicas e estruturais das moléculas com a atividade biológica.

### 1.2.3 – DHMC

As propriedades espectroscópicas das cumarinas foram estudadas por muitos autores devido a sua importância para os sistemas biológicos e seu uso no tratamento de doenças de pele tais como o vitiligo e psorises. Elas têm aparentemente propriedades carcinogênicas e mutagênicas quando são usadas em alta concentração. Quando usadas em baixas concentrações foi observado que tem benéfico efeito anti-mutagênico (SONG & GORDON, 1970; MAENPÄÄ *et al.*, 1994; KNOX *et al.*, 1986; PARSON, 1980; EDENHARDER *et al.*, 1995). Recentemente um total de 51 cumarinas simples, sintéticas e naturais, além de furanocumarinas, cromamonas e furanocromamonas foram testadas, para se verificar suas potências anti-mutagenicas em relação a 3-amino-3-metil imidazo[4,5-f]quinolina(IQ) em *Salmonella typhimurium* TA 98 (EDENHARDER *et al.*, 1995). Somente sete desses compostos foram inativos e um deles foi o 3-[2(dietilamino)etil]-7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona, (DHMC), cuja a estrutura é mostrada na Figura 3. Ela existe na forma de monocatión que consiste de um análogo da cumarina com uma hidroxila na posição-7, um grupo metil na posição-4, e uma amina terciária protonada na posição-3.

O DHMC é solúvel em solventes hidrofílicos e produz espécies diferentes em cada um desses solventes. O equilíbrio entre essas espécies depende fortemente do pH e do solvente usado. Uma investigação das

propriedades fotofísicas das espécies do DHMC poderia permitir o esclarecimento e a correlação das propriedades luminescentes e a natureza dos estados eletrônicos de cada uma das espécies e poderia dar uma ideia da relação entre as propriedades eletrônicas e a atividade biológica. Estudos de alta resolução nas temperaturas de 12K e 77K e a análise vibracional da fosforescência de várias cumarinas (MATULIN & SONG, 1973) encontraram que o estado emissor  $^3(\pi,\pi^*)$  está parcialmente localizado na ligação  $C_3 = C_4$  no anel da pirona. Estudos espectroscópicos da cumarina, “molécula mãe” em micelas (MARQUES & MARQUES, 1994) concluíram que a espécie em “ação” interage com a região molecular  $C_3 = C_4$  da cumarina no interior da micela.



**Figura 3** - Estrutura molecular da DHMC

Não foi encontrada na literatura nenhum estudo espectroscópico com a DHMC e sobre as propriedades fotofísicas do DHMC. Devido a isso, aqui se realizou um estudo detalhado das propriedades fotofísicas do DHMC em diferentes solventes usando as técnicas espectroscópicas de emissão no estado

estacionário e resolvida pelo tempo a 77K, espectroscopia de absorção e cálculos de orbitais moleculares usando o método semi-empírico ZINDO (ZERNER, 1991) e o AM1-MOPAC-93 (DEWAR, 1985). Nesses estudos foram usadas micelas como uma imitação das vizinhanças da membrana biológica, para se ter uma ideia sobre os mecanismos de transporte do DHMC através da membrana (MARQUES & MARQUES, 1994; MUTHURAMA & RAMAMURTHY, 1982).

### **1.3 - As Bases Teóricas.**

#### **1.3.1 - Propriedades Espectroscópicas**

A absorção ou emissão da radiação eletromagnética pelos átomos ou moléculas componentes de um sistema pode ser utilizada para se obter informações sobre a disposição dos níveis de energia existentes e os processos envolvidos na relaxação de seu estado fundamental. Nas seções a seguir serão descritos os tipos de fenômenos analisados, a instrumentação utilizada em cada caso e os resultados obtidos, ressaltando-se as investigações das transições eletrônicas envolvidas nos processos de absorção e emissão de energia.

##### **1.3.1.1 - Espectroscopia de Absorção U.V. Visível.**

Quando uma molécula é exposta à radiação eletromagnética de frequência na região do ultravioleta ou visível pode ocorrer uma transição eletrônica, pela qual a molécula absorve certa quantidade de energia e um dos seus elétrons é excitado do orbital que ocupa no estado eletrônico fundamental

para outro orbital situado no estado eletrônico excitado de maior energia. Modos rotacionais e vibracionais estão associados às transições eletrônicas. A forma das bandas dos espectros depende da extensão do acoplamento vibrônico. Um espectro de bandas largas de máximos arredondados indica um grande acoplamento vibrônico. O espectro de absorção é uma função de toda molécula, no entanto os estados eletrônicos excitados podem estar localizados em grupos cromóforos específicos existentes em sua estrutura.

### **1.3.1.2 - Espectroscopia de Emissão**

#### **1.3.1.2.1 - O Diagrama de Jablonski e os caminhos da energia em moléculas excitadas eletronicamente.**

Em geral, a disposição da energia que ocorre nos processos fotofísicos intramoleculares, pode ser ilustrada pelo diagrama de Jablonski (TURRO, 1978; WELLS, 1972) (Figura 4), considerando somente os dois elétrons de maior valência. Os retângulos posicionados próximos dos níveis eletrônicos de energia descrevem a configuração eletrônica do orbital molecular (OM), que melhor representam aquele nível. Os retângulos pequenos dentro dos maiores representam os níveis de maior energia do OM, sendo o retângulo pequeno inferior, os níveis de maior energia ocupado do OM, do estado eletrônico fundamental singlete ( $S_0$ ). Os níveis de maior energia dos OM estão subsequentemente arranjados verticalmente com os elétrons emparelhados de modo que o seu momento angular de spin total seja zero (um estado eletrônico excitado singlete). Na Figura 4, são mostrados os componentes spins dos dois elétrons de maior energia da molécula, e os elétrons remanescentes foram

considerados supostamente arranjados de forma que o momento angular de spin é zero (um estado eletrônico excitado singleto).

No lado direito (Figura 4), os retângulos grandes em conjunção com os pequenos representam os vários níveis de energia do OM do estado eletrônico excitado tripleto. A notação usada é tal, que o estado tripleto,  $T_j$ , tem a mesma configuração do estado singleto,  $S_i$ . Com estado eletrônico excitado tripleto de menor energia sendo descrito como estado  $T_1$ . Os estados singleto e tripleto diferem entre si somente na orientação relativa do eixo-spin dos dois elétrons, no estado tripleto o momento angular total é diferente de zero. Na prática, o estado tripleto é sempre representado como o de menor energia em relação ao estado singleto de mesma configuração do OM. Este arranjo está correto para os níveis de energia dos estados eletrônicos excitados de menor energia de muitas moléculas orgânicas, sendo uma consequência da regra de Hund, a qual estabelece que o estado singleto seja invariavelmente de maior energia que o estado tripleto correspondente, por causa da maior repulsão eletrônica.

Adotaremos as seguintes convenções para descrever as transições eletrônicas:

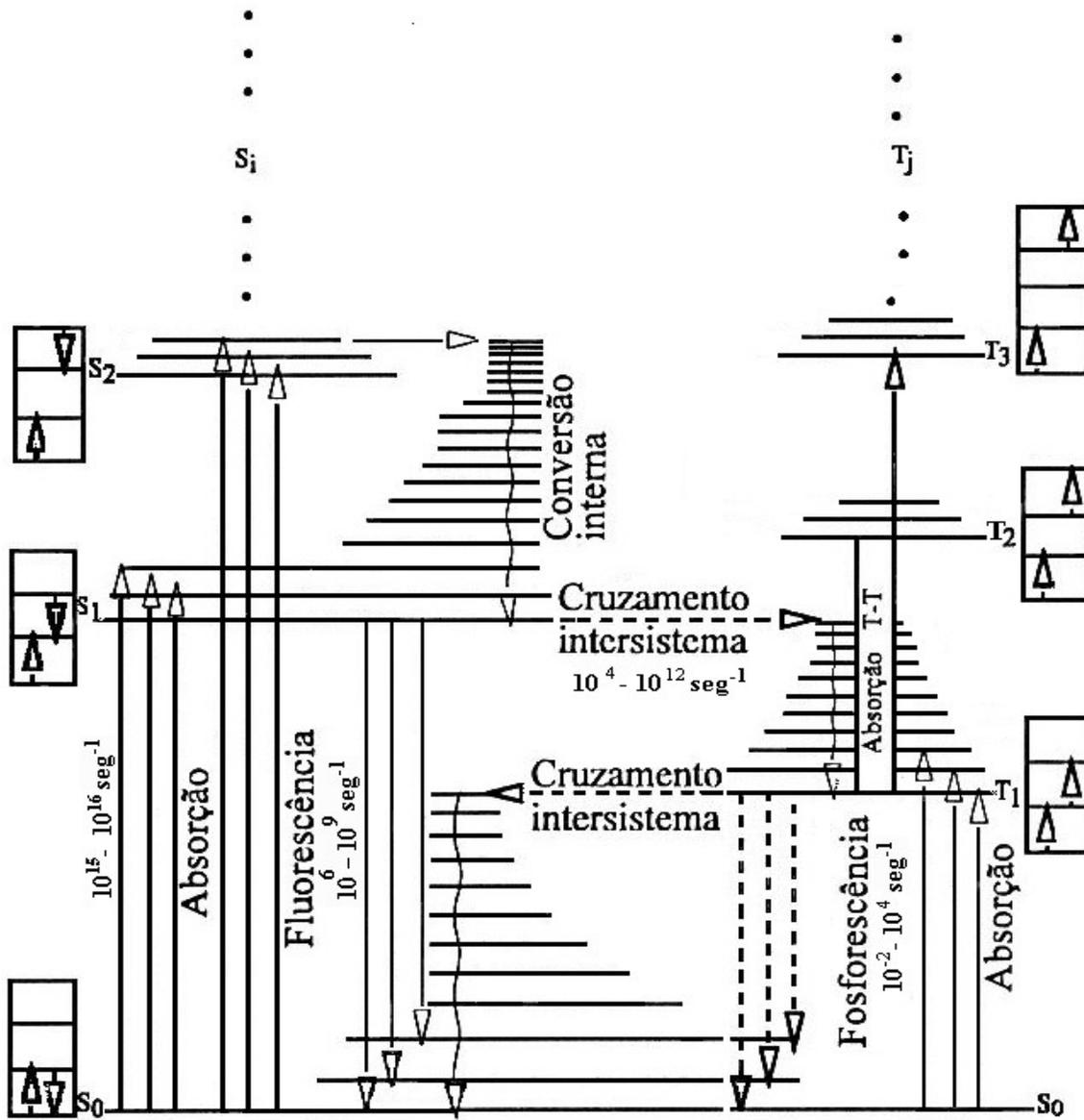
i) As transições eletrônicas entre os diferentes estados de energia serão representadas por símbolos: à esquerda ficará o estado de maior energia e à direita, o de menor energia, por exemplo:  $T_j \leftarrow T_1$ ,  $S_1 \leftarrow S_0$ ,  $T_1 \leftarrow S_0$  representam eventos de absorção de energia;  $T_1 \rightarrow S_0$ ,  $S_1 \rightarrow S_0$ ,  $S_i \rightarrow S_0$ , etc., representam eventos de emissão de energia.

ii) Uma transição não radiativa será representada por uma flecha ondulada, por exemplo,  $S_1 \sim\sim \rightarrow \sim S_0$ ,  $S_1 \sim\sim \rightarrow \sim T_1$ ,  $T_1 \sim\sim \rightarrow \sim S_0$ , etc., que representam desativação da energia de forma não radiativa.

iii) Para os diagramas, adotaremos que todas as transições entre estados com spins de diferentes multiplicidades, serão representadas por flechas, desta

forma, uma flecha ondulada vertical, representa um evento não radiativo entre os estados de mesma multiplicidade, uma flecha vertical, representa uma intercomunicação de eventos radiativos, absorção ou emissão; uma flecha horizontal representa a transferência de energia entre estados singlete ou triplete de energias semelhantes, ou melhor, os estados quase degenerados.

Na temperatura ambiente, a maioria das moléculas está no menor nível vibracional do estado eletrônico fundamental  $S_0$ . Através da absorção de um fóton, o processo fotofísico molecular pode se estender na direção de uma hipersuperfície com uma energia potencial “pura” (exemplo:  $S_2 \leftarrow S_0$  ou  $S_1 \leftarrow S_0$ ) e/ou para estados eletrônicos vibracionais, que estão superpostos na hipersuperfície de energia potencial “pura”. A molécula eletronicamente excitada pode dissipar sua energia através de dois tipos de processos emissivos: radiativos e não radiativos. Este processo será discutido nas seções seguintes.



**Figura 4** - O diagrama de Jablonski para as transições eletrônicas.

### 1.3.1.2.2 - Os processos emissivos de fluorescência e fosforescência

Uma molécula ao popular o estado eletrônico excitado de menor energia,  $S_1$ , pode retornar para o estado eletrônico fundamental,  $S_0$ , através de emissão de radiação. Na Figura 4, somente dois processos emissivos (fluorescência e fosforescência) podem ocorrer provenientes dos estados singletes e tripletes. Estes processos são conseqüências da regra de Kasha (McGLYNN *et al.*, 1969), que pode ser estabelecida da seguinte forma: para moléculas orgânicas no estado líquido, o estado emissor para uma determinada multiplicidade é o estado excitado de menor energia, daquela multiplicidade. Portanto a emissão de radiação provém do estado eletrônico excitado singlete de menor energia, e seu tempo de vida é da ordem de  $10^{-6}$  a  $10^{-9}$  segundos, sendo identificado como fluorescência ( $S_1 \rightarrow S_0$ ), a fosforescência é emitida do estado eletrônico excitado de menor energia triplete ( $T_1 \rightarrow S_0$ ) com um tempo de vida da ordem de  $10^2$  a  $10^4$  segundos (McGLYNN *et al.*, 1969).

Um sistema molecular adequado pode ser submetido à fotoluminescência. Inicialmente ele encontra-se no seu estado fundamental singlete,  $S_0$ , e sob a absorção de fóton os processos fotofísicos da molécula podem se estender na direção de uma hipersuperfície de energia potencial pura. Após a absorção do fóton, o sistema molecular excitado passa por um processo conhecido como conversão interna (Figura 5).

### 1.3.1.2.3 - Processos de desativação não radiativa: Conversão interna

A conversão interna é definida como uma passagem não radiativa de um estado eletrônico excitado de maior energia para um estado eletrônico

excitado de menor energia, onde ambos os estados excitados possuem a mesma multiplicidade, ou seja, conversão interna é a passagem não radiativa entre dois estados eletrônicos excitados diferentes, porém com spins de mesma multiplicidade ( $S_2 \rightsquigarrow S_1$  ou  $T_2 \rightsquigarrow T_1$ ). O excesso de energia é transferido para os estados vibracionais e rotacionais da molécula, ocorrendo assim uma desativação não radiativa.

O processo de passagem não radiativa da conversão interna entre as hipersuperfícies de energias potenciais superiores ( $S_2, S_3, \dots, S_i$ ) e a menor hipersuperfície de energia potencial ( $S_1$ ) consiste de dois passos: (1) a energia é deslocada de alguma posição da hipersuperfície do estado  $S_2$ , ou estados subsequentes maiores, para alguma posição na hipersuperfície de energia potencial  $S_1$ , que é quase degenerada; (2) a energia vibracional excessiva que está associada à localização do quase degenerado  $S_1$  é diminuída através da relaxação vibracional intermolecular por uma população de moléculas termicamente equilibrada no estado eletrônico  $S_1$ . A população de moléculas no  $S_1$  é relativa ao mínimo de energia potencial da hipersuperfície  $S_1$ .

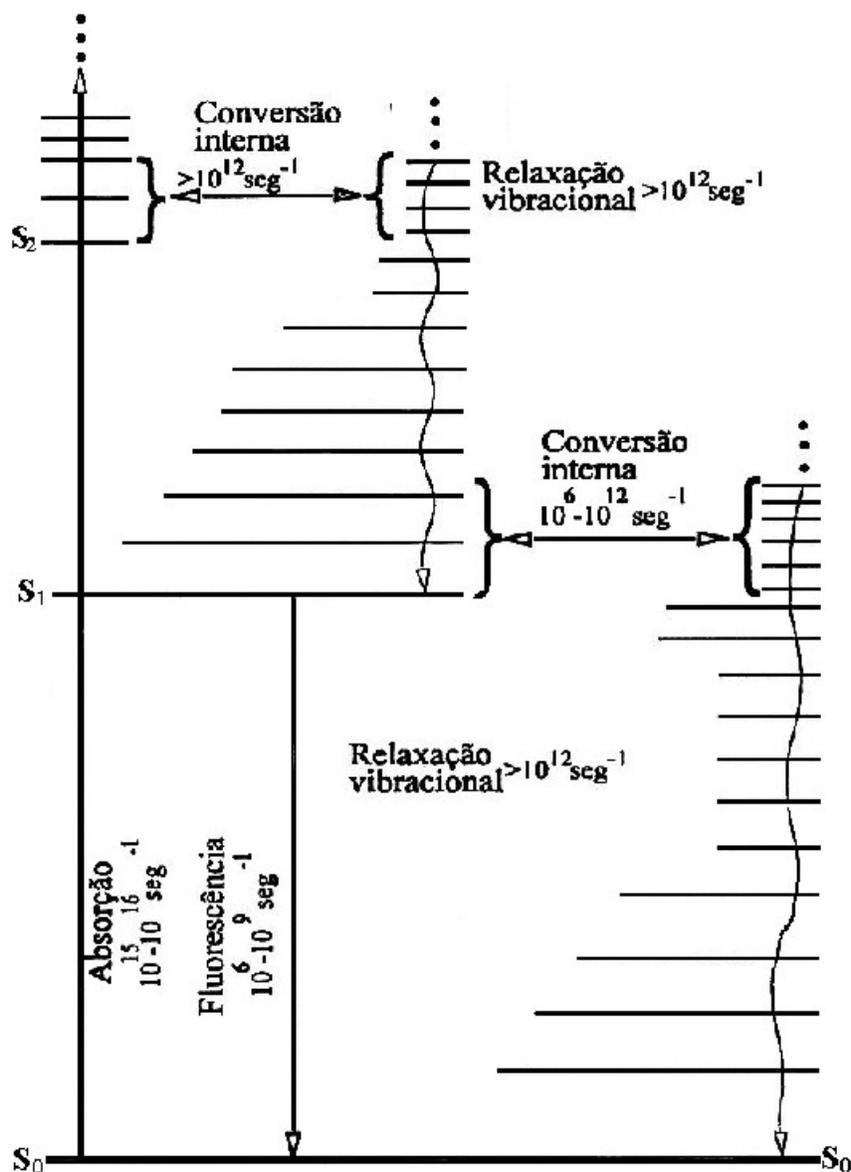


Figura 5 - A conversão interna.

#### 1.3.1.2.4 - Processo de desativação não radiativa: Cruzamento intersistemas.

O cruzamento intersistemas é definido como uma passagem não radiativa de um estado eletrônico excitado de maior energia para um estado

eletrônico excitado de menor energia, onde os estados excitados possuem spins de diferentes multiplicidades, como pode ser visualizado na Figura 6. O cruzamento intersistemas ocorre através do acoplamento spin orbital ( $H_{SO}$ ) entre os estados excitados. As regras de seleção das transições não radiativas para moléculas grandes em meio rígido foram estabelecidas por El Sayed (EL-SAYED, 1963; LOWER & EL-SAYED, 1966). As transições não radiativas tipo cruzamento intersistemas  $^1(n,\pi^*) \leftrightarrow ^3(\pi,\pi^*)$  ou  $^1(\pi,\pi^*) \leftrightarrow ^3(n,\pi^*)$  podem ser até 100 vezes mais rápidas que aquelas entre estados do mesmo tipo, ou seja,  $^1(n,\pi^*) \leftrightarrow ^3(n,\pi^*)$  ou  $^1(\pi,\pi^*) \leftrightarrow ^3(\pi,\pi^*)$ . O acoplamento spin orbital de primeira ordem é proibido entre estados de mesma configuração, então as regras de seleção para as transições não radiativas de primeira ordem singlete-triplete de acordo com El Sayed são:

- **Não ocorre o cruzamento intersistemas**

$$\langle S_{n\pi^*} / H_{SO} / T_{n\pi^*} \rangle = 0$$

$$\langle S_{\pi\pi^*} / H_{SO} / T_{\pi\pi^*} \rangle = 0$$

- **Ocorre o cruzamento intersistemas**

$$\langle S_{n\pi^*} / H_{SO} / T_{\pi\pi^*} \rangle \neq 0$$

$$\langle S_{\pi\pi^*} / H_{SO} / T_{n\pi^*} \rangle \neq 0$$

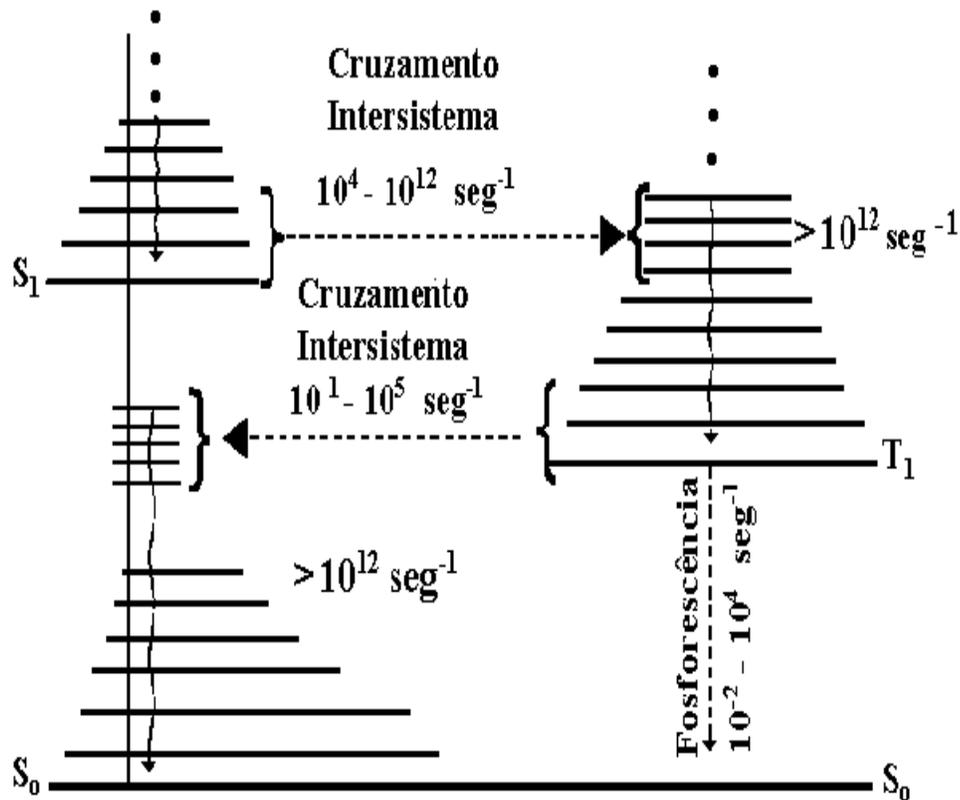
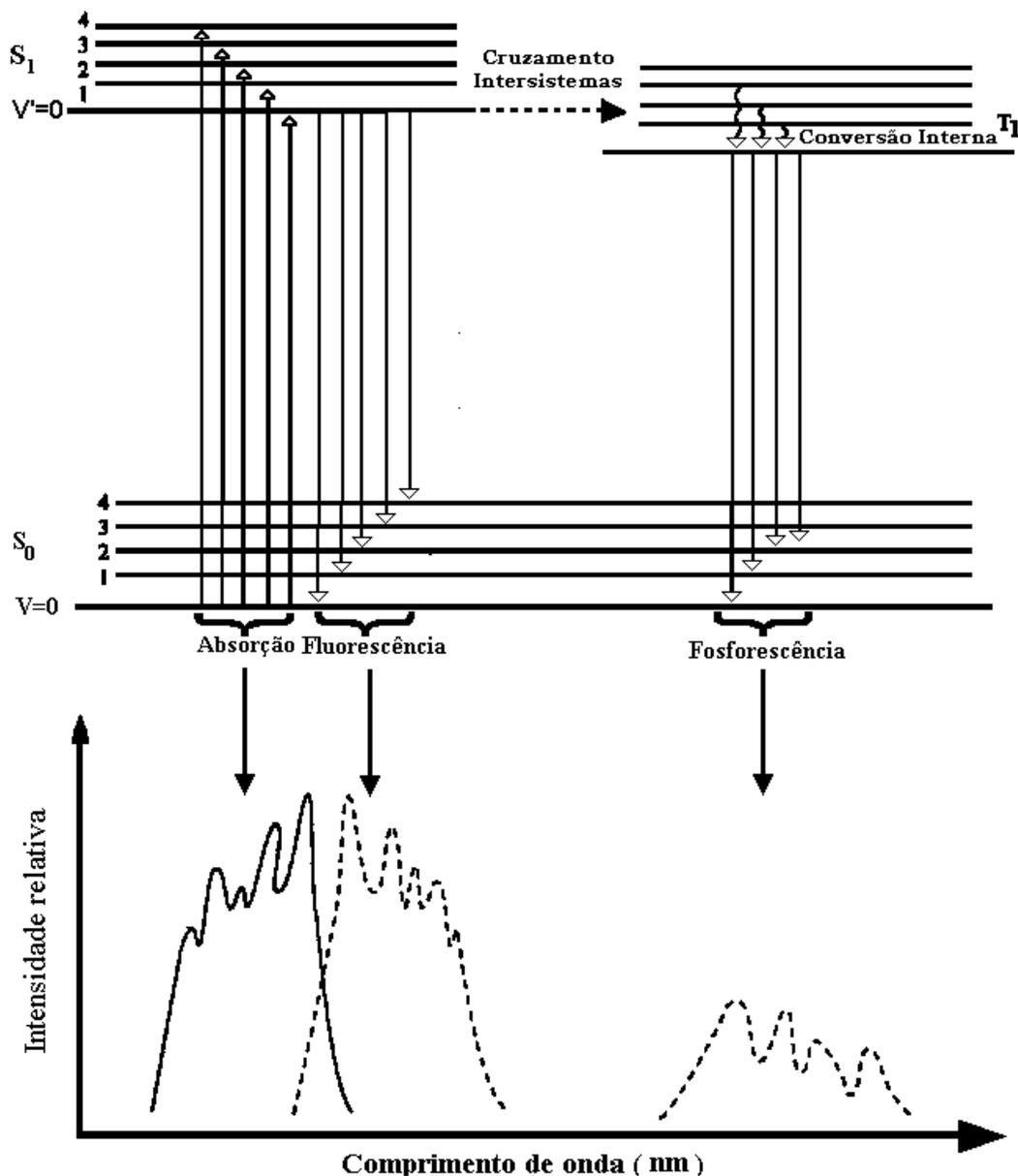


Figura 6 - O cruzamento intersistemas

### 1.3.2 - Uma análise comparativa entre os espectros de absorção e emissão

A relação entre os espectros de absorção de uma molécula com o espectro de emissão em seu estado fundamental é mostrada na Figura 7. O espectro de emissão da fluorescência é uma imagem no espelho aproximada da banda de absorção  $S_1 \rightarrow S_0$ , e se prolongará para menores energias. Este resultado vem do fato que a fluorescência é emitida do menor nível vibracional do estado  $S_1$  para vários níveis vibracionais do estado  $S_0$ , enquanto que, na absorção de radiação, a molécula pode ser excitada para níveis vibracionais acima do estado  $S_0$ . O espectro da fosforescência é observado em comprimentos de ondas maiores do que os da fluorescência, devido a energia

do estado  $T_1$  ser menor do que o estado  $S_1$ . Geralmente a intensidade da fosforescência é menor por causa das transições da fosforescência entre estados de diferentes multiplicidades serem proibidas.



**Figura 7 - A relação entre a absorção e a emissão.**

### 1.3.3 - As transições eletrônicas de sistemas moleculares

A energia necessária para mudar as distribuições dos elétrons da molécula orgânica é da ordem de alguns elétronvolts. A consequência disso, é que os fótons emitidos ou absorvidos quando tais mudanças ocorrem encontram-se na região ultravioleta ou visível do espectro, na qual vai de aproximadamente 190 nm na região ultravioleta a 820 nm na região do vermelho. O resultado da estrutura vibracional das transições eletrônicas numa amostra gasosa pode ser resolvido, mas num líquido ou sólido as linhas usualmente unem-se e resultam em uma banda.

Em alguns casos a modificação na distribuição dos elétrons deve ser tão extensa, que resulta no rompimento da ligação e conseqüentemente a dissociação da molécula. Portanto, o espectro de absorção eletrônica pode ser usado para acessar os campos de forças e energias de dissociação de moléculas eletronicamente excitadas (EL-SAYED, 1965).

#### 1.3.3.1 - As transições eletrônicas $\sigma \rightarrow \sigma^*$

O orbital ( $\sigma$ ) consiste de um par de elétrons que forma uma simples e simétrica ligação ao longo do eixo entre dois átomos, neste orbital está concentrada a densidade eletrônica (Figura 8). Através da absorção de um fóton, em um comprimento de onda de aproximadamente 200 nm, um elétron do par de elétrons que participa desta ligação é promovido para o orbital  $\sigma^*$ , onde existe um nó em um plano perpendicular ao eixo da ligação. Desta forma a transição ( $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ) produz uma função de onda composta de duas partes: um orbital ligante e outro antiligante.

A transição  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  representa a transição de menor energia dos compostos saturados. Subsequentemente, a relaxação molecular é produzida por esta transição e não é fluorescente.

### 1.3.3.2 - As transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$

Um sistema eletrônico com orbitais pi ( $\pi$ ), dos derivados do etileno, está representado na Figura 8, onde um par de elétrons forma uma ligação simples originando um orbital  $\sigma$  (não mostrado). Outro par de elétrons ocupa um orbital  $\pi$ , o qual é de maior energia e é assimétrico com respeito ao nó que corta o plano dos grupos R. Devido a absorção do fóton, um dos dois elétrons  $\pi$  é excitado para o orbital de maior energia  $\pi^*$ , onde outro plano nodal é produzido. A densidade de carga zero neste nó está posicionada em ângulo reto na direção da ligação. Uma vez que os derivados insaturados do etileno não possuem átomos com pares de elétrons livres (O, N, S), o estado eletrônico de menor energia será de natureza  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

Quando temos uma ligação dupla do tipo C=C, a absorção de um fóton faz com que um dos elétrons do orbital ligante  $\pi$  vá para um orbital antiligante de maior energia  $\pi^*$ . A energia de uma transição  $\pi, \pi^*$  para o caso de uma ligação dupla é de aproximadamente 7 eV (180 nm – região ultravioleta) (EL-SAYED, 1963). A diferença de energia entre os estados  $\pi$  e  $\pi^*$  é afetada quando temos duplas ligações conjugadas, estas conjugações ocasionam um espalhamento na carga eletrônica através do sistema conjugado, onde a densidade eletrônica pode ser deslocalizada por todo o sistema molecular no estado fundamental, ou seja, as energias dos orbitais moleculares tornam-se mais próximas e a transição  $\pi, \pi^*$  muda para a região do visível. As transições

$\pi, \pi^*$  são muito fortes, em relação às transições  $n \rightarrow \pi^*$ , a menos que sejam parcialmente proibidas por condições de simetria e na ausência de transições singlete-singlete de menor energia, elas produzem emissão de fluorescência.

### 1.3.3.3 - As transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$

Na figura 8, os derivados dos compostos carbonílicos representam um sistema molecular insaturado contendo átomos com pares de elétrons livres (O, N, S). Além disso, na carbonila estão presentes vários elétrons que ocupam diferentes orbitais moleculares, que consistem de um par de elétrons ocupando um orbital  $\sigma$ , outro par de elétrons ocupando um orbital  $\pi$  da ligação dupla e dois pares de elétrons não compartilhados no oxigênio. Um desses elétrons pertencentes aos pares não compartilhados pode ser excitado para um orbital  $\pi^*$  vazio do grupo carbonila, resultando assim numa transição  $n \rightarrow \pi^*$  com energias de absorções típicas, que são aproximadamente iguais a 4 eV (290 nm) (ATKINS, 1994; ATKINS & PAULA, 2002). As transições  $n \rightarrow \pi^*$  nos grupos carbonílicos são simetricamente proibidas (regras de seleção), as absorções são fracas (força do oscilador (f), em torno de  $2 \times 10^{-4}$  a  $6 \times 10^{-4}$ ).

As transições  $n, \pi^*$  são, geralmente, transições singlete-singlete de menor energia e produzem emissão de fluorescência. Além disso, as energias das transições  $n, \pi^*$  são menores do que as das transições  $\pi, \pi^*$ . O tempo de vida da fluorescência do estado excitado  $n, \pi^*$  é comparativamente mais longo e sensível à desativação não radiativa do que o estado excitado  $\pi, \pi^*$ . Entretanto a emissão de fluorescência para o estado excitado  $\pi, \pi^*$  é mais fraca.

Tipos de ligação	Transições de menor energia	Forma do orbital	
		estado excitado	estado fundamental
$\text{H}_3\text{C-H}$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$		
$\text{R}_2\text{C=CR}_2$	$\pi \rightarrow \pi^*$		
$\text{R}_2\text{C=O}$	$n \rightarrow \pi^*$		

**Figura 8** - Os tipos de orbitais moleculares e as transições eletrônicas.

### 1.3.4 - O efeito do solvente nos processos fotofísicos

Alguns estudos sobre o efeito do solvente foram realizados por SCHEIBE *et al.* (1926), SCHEIBE *et al.* (1927) e KOHN & SHAM (1965) mostram que devido à observação de deslocamentos anômalos para menores comprimentos de ondas, que ocorriam nas bandas de absorção de certas moléculas insaturadas, quando se mudava o solvente de baixa constante dielétrica para um de alta constante, ou seja, quando se fazia a troca de um solvente apolar para um polar. Burawoy (1939; 1941; 1958) verificou que as

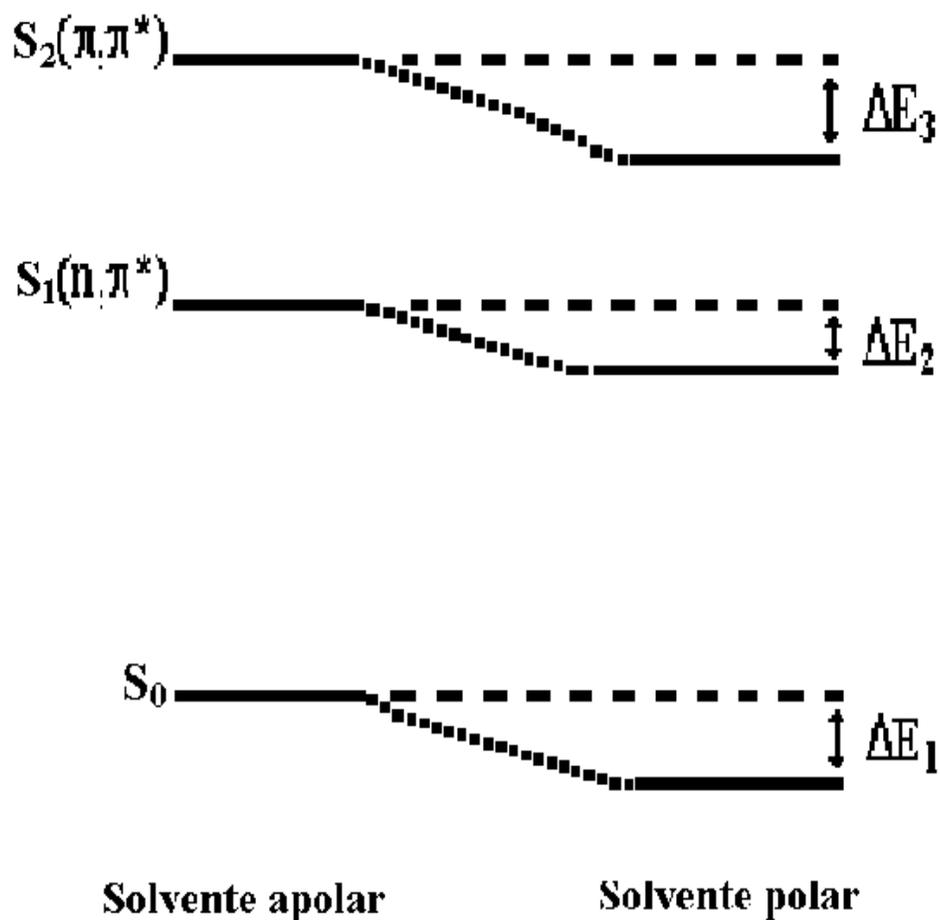
cetonas, aldeídos, tiocetonas e compostos nitrogenados, mostravam uma banda de absorção fraca, que se deslocava para menores comprimentos de onda quando mudava-se o solvente de n-hexano para etanol. Esse deslocamento para o azul, foi posteriormente associado definitivamente aos compostos contendo carbonila, tiocarbonila e nitrogênio. Em seguida essas bandas de absorção foram reconhecidas por Kasha (1950) e Platt (1961) como sendo, geralmente, originárias das transições singlete-singlete ( $n,\pi^*$ ). Como consequência, o fenômeno do deslocamento para o azul foi usado para caracterizar as transições  $n,\pi^*$  e distingui-las das transições  $\pi,\pi^*$ .

McConnell (1952) estudou 17 compostos em solventes: hidrocarboneto, etanol e água, e concluiu que o deslocamento para o azul do máximo da banda de absorção, estaria relacionado com a orientação das moléculas do solvente em volta da molécula do soluto e a distribuição de cargas no estado fundamental dessa molécula. Na excitação, se a distribuição de carga muda muito, as moléculas do solvente não têm a posição e a orientação necessárias para se ligarem fortemente à molécula excitada. Isso deu origem ao deslocamento para o azul das bandas de absorção, comparando uma molécula dissolvida em um solvente apolar em relação a um solvente polar, e observou-se que a energia de solvatação para o estado fundamental é maior que para o estado excitado.

Brealey & Kasha (1955), concluíram a importância da ligação de hidrogênio entre soluto e solvente, com relação ao deslocamento para o azul. Eles justificaram que a causa do deslocamento para o azul, quando se mudava o solvente de hidrocarboneto para um solvente hidroxilado, seria a ligação de hidrogênio, que ocorria via orbital  $n$  do soluto, comprovado experimentalmente. A ligação de hidrogênio estabiliza mais o estado fundamental do que o estado excitado e como resultado, a excitação

envolvendo a remoção de um dos elétrons da ligação, necessitará de mais energia (deslocamento para o azul) do que se o soluto estivesse em meio apolar.

Os estados excitados  $\pi\pi^*$  são pouco afetados pela ligação de hidrogênio (SIDMAN, 1958). O  $S_1$  de alguns compostos nitrogenados e compostos carbonílicos é  $n\pi^*$ , neste caso não observa-se a emissão de fluorescência. Outros hidrocarbonetos aromáticos com  ${}^1(n,\pi^*)_1$ , fluorescem. No primeiro caso, a ligação de hidrogênio pode deslocar, para maiores energias o estado  ${}^1(n,\pi^*)$ , passando o estado de menor energia a ser  ${}^1(\pi,\pi^*)$ , ou seja, o solvente estabiliza os estados fundamental e excitado, sendo que os estados excitados de maiores energias são mais estabilizados do que o estado excitado de menor energia, como mostra a Figura 9. Na qual é mostrado a mudança do solvente de um hidrocarboneto para um solvente polar hidroxílico e a perturbação produzida nas transições eletrônicas ( $\Delta E_3 > \Delta E_1 > \Delta E_2$ ) (TURRO, 1978; WELLS, 1972).



**Figura 9** – Perturbações do solvente nas transições eletrônicas.

### 1.3.5 - O Princípio Franck-Condon.

O tempo que uma molécula precisa para absorver um quantum de luz no estado fundamental, e passar para o estado eletrônico excitado é de  $\approx 10^{-15}$ s, ou seja, as transições eletrônicas ocorrem rapidamente. As transições vibracionais necessitam de um rearranjo das posições do núcleo atômico e levam  $\approx 10^{-12}$ s. O princípio Franck-Condon estabelece que as transições eletrônicas ocorrem sem mudança nas posições dos núcleos. O espectro de absorção contribui para a

definição da forma e estrutura das bandas e na definição dos orbitais envolvidos na transição, como mostra a Figura 10.

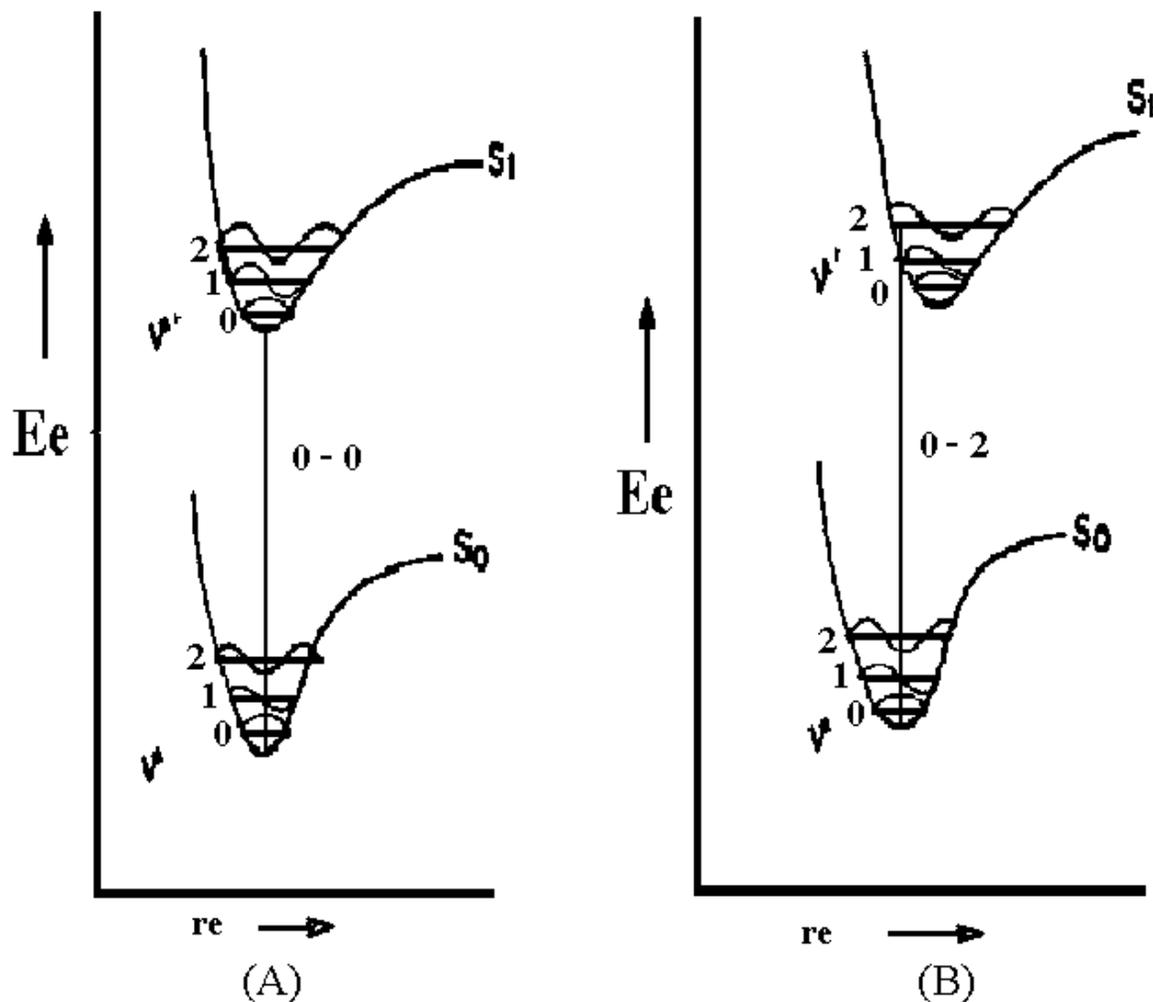
Na emissão, a baixas temperaturas, as bandas vibrônicas são governadas pelo princípio Franck-Condon. Os níveis  $v=0$  são altamente populados nos estados fundamental e excitado, e se a posição de equilíbrio das configurações nucleares dos estados fundamental e excitado são semelhantes, a banda 0-0 é o máximo da banda de emissão. Se a posição de equilíbrio é um pouco diferente, a transição vibrônica mais provável será  $\Delta v=1$ ,  $\Delta v=2$  ou outro valor de  $\Delta v$ , dependendo do grau de deslocamento.

A baixas temperaturas, quase todas as transições originam-se do nível  $v=0$ , sendo que o número de transições é muito menor, nas emissões ou absorções, do que na temperatura ambiente. A baixas temperaturas se obtém espectros com melhor resolução para a estrutura vibracional, devido os processos de difusão, colisão e vibração serem mais lentos. Como consequência, há menor grau de competição entre fluorescência e conversão interna, supressão por difusão e desativação por colisão, em comparação com a temperatura ambiente.

O contorno Franck-Condon é a distribuição da intensidade espectral, que juntamente com a frequência vibracional, contribui para a designação do estado luminescente. E foi concluído que grandes diferenças no equilíbrio internuclear dos estados excitado e fundamental, podem ocorrer quando o estado emissor é  $n, \pi^*$  (EL-SAYED, 1963; LOWER & EL-SAYED, 1966). Por sua vez, podem ocorrer pequenas diferenças no equilíbrio internuclear entre os estados excitado e fundamental quando o estado emissor é  $\pi, \pi^*$ .

O objetivo da espectroscopia de emissão a 77K é determinar a natureza dos estados emissores das moléculas, se são  $n$ ,  $\pi^*$  ou  $\pi, \pi^*$ , e as propriedades

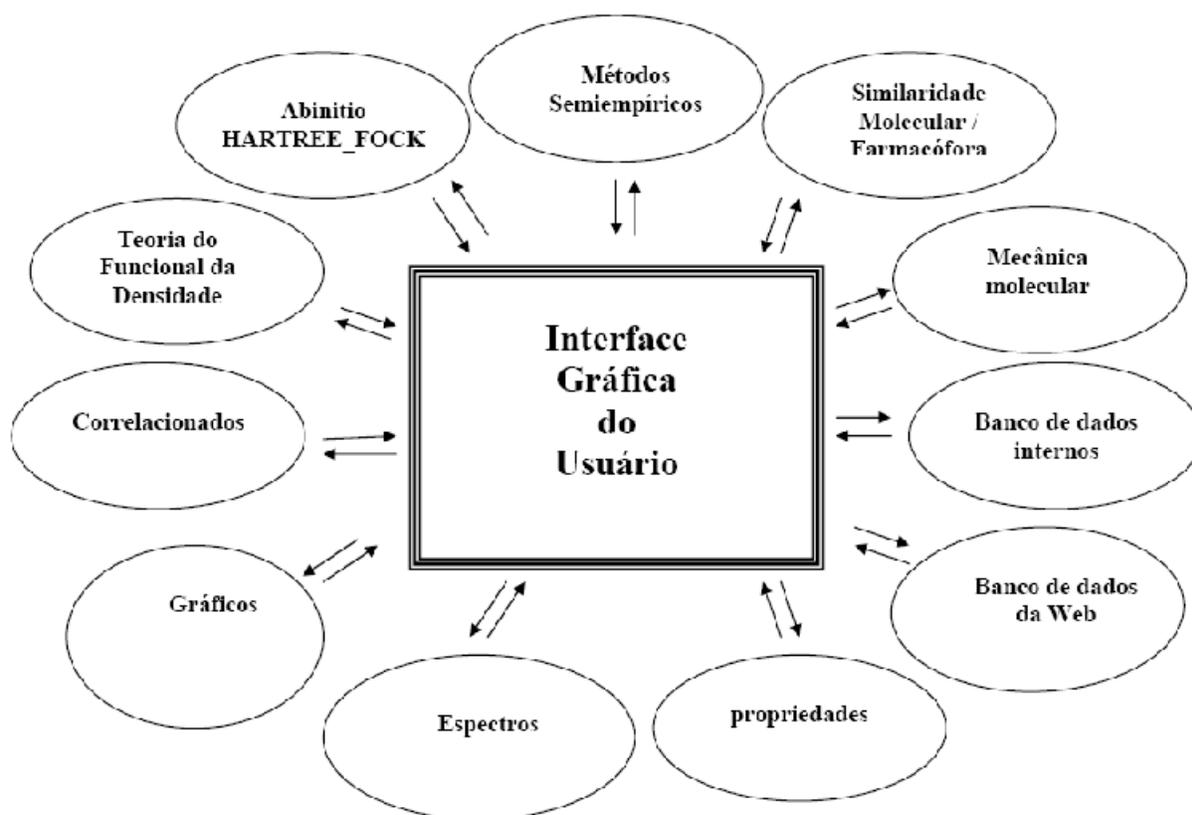
fotofísicas da molécula (TRIBONI *et al.*, 2005). O contorno Franck-Condon é um parâmetro que pode ajudar a elucidar essas questões. Para os compostos orgânicos aromáticos e de importância biológica, esses estudos possibilitam o estabelecimento de uma correlação entre atividades fotoquímicas e fotobiológicas dessas moléculas.



**Figura 10** - O princípio Franck-Condon e sua influência na determinação da forma da banda de absorção. (A) e (B) são configurações com equilíbrio internuclear.

## 1.4 - O Programa SPARTAN `06.

É um software que agrupa um conjunto de métodos de cálculos (Figura 11) que proporcionam um alcance bem definido de aproximação computacional usando a Teoria de Orbital Molecular (TOM). SPARTAN é usado para cálculos com moléculas orgânicas e estudo de suas conformações. Tem se mostrado uma ferramenta útil e rápida para análise conformacional de moléculas, não havendo limite de átomo para cálculos de orbitais moleculares. Uma série de opções foi parametrizada para reproduzir geometrias e conformações de moléculas orgânicas e biopolímeros. Para a realização dos trabalhos foi utilizada a versão SPARTAN `06 (PC SPARTAN MOLECULAR DATABASE).



**Figura 11** - Esquema ilustrativo das atividades que é permitida com a utilização do programa SPARTAN `06.

## 1.5 - Métodos de Orbitais Moleculares

Nos métodos computacionais baseados na TOM, os elétrons são distribuídos em volta do núcleo atômico até atingirem um estado de campo autoconsistente onde as forças atrativas e repulsivas entre as partículas (elétrons e núcleo) estejam num estado de equilíbrio, e a energia seja tão baixa quanto possível. A energia pode ser computadorizada para diferentes configurações nucleares (geometrias moleculares), permitindo o processo chamado de otimização geométrica (SCHLEYER, 1986). Existem três implementações da TOM: métodos Semi-empírico, Abinitio e TFD. Os métodos Semi-empíricos empregam parâmetros determinados empiricamente e são assim menos atrativos do que os métodos puramente teóricos, mesmo sendo bastante rápidos e precisos para aplicações em rotinas de sistemas moleculares maiores. Alguns são parametrizados para mais de cem átomos e os resultados apresentam boa concordância com os resultados experimentais; os denominados Abinitio são métodos que resolvem a equação de Schrödinger sem excluir nenhum elétron das camadas internas e de valência. O método Abinitio não inclui nenhum parâmetro determinado empiricamente, pode-se dizer que ele é teoricamente puro, contudo, é dispendioso quando se refere à memória e ao tempo exigido nos cálculos, sendo, aplicado a sistemas moleculares pequenos; a TFD, além de possibilitar calcular as energias de excitação, de equilíbrio, de geometrias, de estado de transição e frequências, fornece as cargas atômicas baseadas em ajustes para potenciais eletrostáticos, propriedades termodinâmicas como entalpia, entropia, energias de orbitais HOMO e LUMO, espectros, dentre outras funções.

### 1.5.1 - Os Métodos Semi-empíricos

Os métodos Semi-empíricos mais empregados consideram que os elétrons de valência movem-se no potencial gerado pelos núcleos e elétrons das camadas internas (aproximação do caroço). Estes métodos utilizam uma base mínima formada por funções de Slater para descrever os orbitais de valência. Desprezam muitas integrais surgidas no cálculo e empregam parâmetros determinados empiricamente para substituir as outras integrais não desprezadas. Naturalmente, todas estas simplificações realizadas no método Semi-empírico com relação ao Abinitio resultam, de imediato, numa redução acentuada do tempo computacional gasto no cálculo das propriedades de uma dada molécula. Contudo, vale salientar que o preço destas simplificações, geralmente, aparece na limitação dos Semi-empíricos em prever quantitativamente determinadas propriedades moleculares de interesse. Usar um ou outro método depende da natureza e da precisão desejadas da propriedade molecular de interesse, e das facilidades computacionais disponíveis (memória RAM, espaço em disco e velocidade da CPU).

Os Semi-empíricos mais populares se baseiam na aproximação NDDO (Neglect of Differential Diatomic Overlap) (POPLE *et al.*, 1965). O primeiro de uma série foi o MNDO (Modified Neglect of Diatomic Overlap) (DEWAR & THIEL, 1977). Este se mostrou significativamente melhor que os Semi-empíricos antecedentes, no entanto, ele apresenta várias deficiências, em particular, reproduz muito mal as propriedades relacionadas com ligação de hidrogênio, prevê uma energia muito instável para moléculas com impedimento estérico e costuma superestimar a energia de ativação.

Um grande esforço foi dedicado na busca de métodos para a introdução de parâmetros empíricos ou previamente calculados na resolução da equação

de Schrödinger que permitissem a eliminação do cálculo de algumas dessas integrais (POPLE *et al.*, 1965; POPLE *et al.*, 1993). Os cálculos Semi-empíricos são os mais simples, úteis para cálculos equilíbrio, estrutura de estado de transição de energia e entalpia de formação ( $\Delta H_f^\circ$ ).

A parametrização para estes métodos foi desenvolvida para reproduzir uma série de dados experimentais, incluindo geometrias de equilíbrio, calores de formação, momentos de dipolo e energias de ionização.

#### **1.5.1.1 - Métodos Semi-empíricos AM1, PM3 e RM1 do SPARTAN '06.**

O método AM1 (Austin Model 1) (DEWAR *et al.*, 1985) é o segundo método mais popular da série. Implementado para reparar as falhas do MNDO (DEWAR & THIEL, 1977) adicionou-se à função de repulsão do caroço as funções gaussianas atrativas e repulsivas, bem como, desenvolveu-se um novo procedimento de otimização, o qual diminui o tempo computacional necessário para a otimização dos parâmetros, tornando possível o uso de um conjunto maior de dados experimentais, possibilitando assim a otimização conjunta de (C,H,N,O) e, finalmente, utilizou-se uma técnica de busca em grade na tentativa de encontrar o mínimo global da hipersuperfície de parâmetros.

O método PM3 (Parameterized Model 3) (STEWART, 1989) é um método Semi-empírico para o cálculo do quantum da estrutura eletrônica molecular em química computacional. É baseado na aproximação NDDO, integral de aproximação (POPLE & BEVERIDGE, 1970). O PM3 usa o mesmo formalismo e equações como do AM1. As diferenças são: 1) PM3 usa duas funções gaussianas para a função de repulsão do núcleo, em vez do número variável utilizada por AM1 (que utiliza entre um e quatro gaussianas

por elemento); 2) os valores numéricos dos parâmetros são diferentes. As outras diferenças encontram-se na filosofia e metodologia utilizada durante a parametrização: enquanto no AM1 leva alguns dos valores dos parâmetros a partir de medições espectroscópicas e no PM3 são tratados como valores otimizáveis. PM3 é implementado no programa MOPAC (as versões mais antigas são de domínio público).

O Método RM1 (Recife Model 1) (ROCHA, *et al.*, 2006) é uma reparametrização do AM1 usando uma formação muito maior de conjunto de moléculas que era provisionalmente praticada. Para os elementos (H, C, N, O, F, P, S, Cl, Br e I) os rendimentos do RM1 apresentam um erro médio absoluto menor do que qualquer dos métodos AM1 e PM3 para comprimentos de ligação, calor de formação, momentos dipolo e os potenciais de ionização (comparações com MNDO não foram fornecidos). Apenas o erro médio absoluto para os ângulos de ligação era, ligeiramente, maior do que para AM1 (muito menor do que para PM3). RM1 adicionado ao sistema de orbitais moleculares Semi-empíricos com procedimentos disponíveis no SPARTAN.

Os hamiltonianos Semi-empíricos AM1, PM3 e RM1 são usados na parte eletrônica dos cálculos para obtenção dos orbitais moleculares, calor de formação ( $\Delta H_f$ ) e otimização da geometria molecular.

#### **1.5.1.2 - O método Semi-empírico ZINDO/S-CI**

O programa ZINDO (Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap) (ZERNER *et al.*, 1976) tem em seu núcleo, dois procedimentos semi-empíricos diferentes: um método pode calcular as propriedades espectroscópicas e um outro método pode calcular as propriedades geométricas. Além disso, ele dispõe de um grande número de opções de

cálculos Semi-empíricos. Desta forma dependendo do tipo de cálculo desejado, o ZINDO pode dar informações sobre: distribuição de carga, momento dipolar, energia dos orbitais, energia relativa da molécula no estado fundamental, configuração de interação (CI), entre outras (ZERNER & RIDLEY, 1976; ZERNER *et al.*, 1991).

### 1.5.1.3 - O método Semi-empírico HAM/3-CI

As teorias dos métodos semi-empíricos usados na Química, devido a problemas com o manuseio de energia de correlação, em geral mostram bons resultados para cálculos de apenas uma propriedade da molécula. O método HAM/3 devido a sua parametrização, na qual o importante é obter as energias precisas e, não função de onda melhorada, mostrou resultados satisfatórios não somente para uma propriedade das moléculas, mas para algumas como: energias de ionização, afinidades eletrônicas, energias de excitação e configuração de interação (CI) entre configurações excitadas (ASBRINK *et al.*, 1977). HAM/3 gerou resultados aproximados para energias ESCA (energia de ionização, calor de formação, momento dipolar e intensidade dos processos de excitação). O sistema manuseia os seguintes átomos: H, C, N, O, F (LINDHOLM & ÅSBRINK, 1985). Tem capacidade para executar cálculos para um máximo de 60 átomos e 122 orbitais, podendo ser expandido conforme o tamanho da molécula, sem limite até a capacidade máxima do computador.

A energia total do método é a expressão da energia de Hartree-Fock transformada, de modo a incorporar-lhe as energias de correlação, essa última desaparece e não há necessidade de inclusão nos cálculos de grande número de CI, cujo tempo do cálculo é pequeno.

$$E_{TOTAL}^{HAM} = E^{HF=} + E^{CORA}$$

$$E_{TOTAL}^{HAM} = E_{ATOMO(a,b)} + E_{ligação(A-B)} + E_{REPULSÃO(RA-RB)}$$

Para resolver a equação de energia do átomo RAM, deve-se considerar que o método HAM/3 foi baseado no estudo dos átomos que compõem uma molécula. Os átomos foram tratados de acordo com a ideia introduzida por Slater (1930). Ele calculou a energia total do átomo por meio da carga nuclear efetiva para cada um de seus elétrons. Com o uso de certas constantes de blindagem, a energia de um elétron  $E_\mu$  no  $\mu$ -ésimo orbital atômico em um átomo é:

$$E_\mu = -\vartheta\mu$$

Onde  $\mu$  significa o expoente do orbital

$$\mu = (Z_A - S_\mu) / n_\mu$$

$Z_A$  é a carga nuclear,  $S_\mu$  a blindagem e  $\mu$  o número quântico principal. A energia total de um átomo calculada por Slater utilizando as constantes de blindagem apresentava bons resultados, mas poucos esforços foram feitos para melhorar as constantes e a solução usada pela teoria de HAM para o problema, foi então denominar as constantes de blindagem como função da natureza do átomo. A função utilizada foi:

$$\tau_{v\mu} = a_{v\mu} - (b_{v\mu} + c_{v\mu} \cdot Z_A) / \vartheta\mu$$

Onde a, b e c são constantes,  $\vartheta\mu$  é o expoente do orbital do elétron blindado, e  $\tau_{v\mu}$  a eficiência da blindagem. A constante de blindagem é dada por:

$$S_\mu = (N_\mu - 1) \delta_{\mu\mu} - \sum_{\nu=\mu}^A N_\nu \cdot \tau_{v\mu}$$

E significa que a blindagem é dependente do número de elétrons de blindagem e sua eficiência de blindagem é o número de elétrons no  $\mu$ -ésimo orbital atômico.

Os parâmetros  $a$ ,  $b$  e  $c$ , foram determinados da espectroscopia atômica para 311 configurações de H até Ne. A energia total do átomo HAM/3, comparada com a energia experimental mostrou erro de 0,6 eV.

Dessa descrição e usando essas constantes de blindagem foi construído um método de campo autoconsistente de orbital molecular. Foi constatado que essas constantes de blindagem davam resultados com boa concordância com o experimental, não só para os átomos em seu estado fundamental e ionizado, como também para as moléculas.

A diferença do método HAM/3 para com outros métodos é que no cálculo, além de energia total  $E_{TOTAL}^{HAM}$ , a energia do orbital  $E_i$ , o HAM/3 fornece o melhor valor de  $\partial\mu$ , o expoente do orbital.

Para obter-se no método HAM/3, os parâmetros para construção de moléculas partindo dos átomos H, C, N, O e F, foram usadas simultaneamente 562 energias de orbitais ocupados (energias de ionização do espectro fotoelétrico) em 80 moléculas e 38 energias de orbitais desocupados (oriundas de excitação estudada principalmente por espectroscopia eletrônica) em 34 moléculas e finalmente 17 energias de orbitais desocupados (provenientes de afinidades eletrônicas, estudadas principalmente por transmissão eletrônica) em 13 moléculas.

A precisão do cálculo HAM/3 para determinação de energias de ionização, excitação e afinidade eletrônica, está relacionada com a quantidade de parâmetros experimentais usados na parametrização do método.

### 1.5.2 - O Método Abinitio do SPARTAN '06.

O método Abinitio, dentre outras utilidades é aplicado para otimização, para prever estrutura, energia e outras propriedades, em particular para moléculas orgânicas. Os programas Abinitio não incluem aproximações e representam os orbitais através dos chamados conjuntos de base (CRAMER, 2002; WIEST & SCHLEYER, 1998). Um conjunto de base mínimo contém apenas um número de funções necessário para acomodar todos os elétrons de um átomo, por exemplo, uma função 1s para os átomos de hidrogênio e hélio, funções 1s e 2s para o lítio e o berílio e assim por diante. O maior problema do conjunto de base mínimo é a impossibilidade de se expandir ou contrair os orbitais para que se ajustem ao ambiente molecular.

Uma maior flexibilidade na descrição dos elétrons é conseguida com os chamados conjuntos de base de valência dividida, nos quais as funções que representam os elétrons de valência são divididas em dois componentes, um mais interno e compacto e outro mais externo e difuso. A introdução de funções de número quântico secundário maior (funções do tipo p para átomos de hidrogênio e funções do tipo d para os demais) nos chamados conjuntos de base de polarização permite que pequenos deslocamentos do centro de carga eletrônica em relação às posições nucleares sejam possíveis. Os conjuntos de bases contendo funções difusas representam melhores sistemas aniônicos e estados excitados.

Estes conjuntos são obtidos pela adição de orbitais s e p muito difusos para melhorar a descrição de pares de elétrons de alta energia. Há programas gratuitos que permitem cálculos Abinitio com essas e outras funções de base, como o GAMESS12.

O método Abinitio mais simples baseia-se na aproximação Hartree-Fock, o operador hamiltoniano, para obter-se a energia total de um sistema qualquer, e pode ser separado em duas partes: a primeira de natureza eletrônica, enquanto que a segunda é de natureza nuclear.

### **1.5.3 - O Método TFD do SPARTAN '06**

A TFD (DFT, do inglês Density Functional Theory) implementada pelo Dr. Walter Kohn (prêmio Nobel na área da Química em 1998) (HOHENBERG & KOHN, 1964; HOHENBERG & KOHN, 2004) tornou-se destaque, sendo investigado por muitos pesquisadores a fim de desenvolver tanto o aspecto teórico como prático. Atualmente, a TFD está sendo empregada, pela maioria dos pesquisadores, em cálculos quânticos.

No início, a TFD poderia ser empregada para calcular apenas as energias do estado fundamental de átomos e moléculas (PARR & YANG, 1989). Mas recentemente, energia de estados excitados de sistemas pode ser calculada pelo método TFD dependente do tempo (TFDDT; Time-Dependent Density Functional Theory) (CASIDA & CHONG, 1995). TFDDT ampliou a aplicabilidade de TFD em investigar maior variedade de fenômenos, especialmente contribuindo para a espectroscopia ótica. Desenvolvimento recente de programas computacionais para cálculos TFD facilitou para os químicos a obtenção de informações valiosas de espectro óptico de moléculas e sólidos, além de aspecto vibracional, rotacional, Ressonância Magnética Nuclear (LIU *et al.*, 2004). Assim, as propriedades de um sistema de muitos elétrons podem ser determinadas usando-se os funcionais, que são funções de outra função, o qual neste caso é a espacialmente dependente densidade eletrônica. Por isso o nome Teoria do Funcional da Densidade advém do uso

de funcionais da densidade eletrônica (BECKE, 1993). A TFD está entre os mais populares e versáteis métodos disponíveis em física da matéria condensada, física computacional, e química computacional (KOCH & HOLTHAUSEN, 2002).

Neste modelo, considera-se que a energia de um conjunto de elétrons sob influência de um campo externo é um funcional único da densidade eletrônica. Esta dependência aparece em dois termos da energia eletrônica, chamados funcional de troca e funcional de correlação. Como a energia é expressa como uma função de uma única “variável”, a densidade eletrônica (que é função das três coordenadas cartesianas), as equações que resultam da aplicação deste modelo são mais simples do que as resultantes da teoria de Hartree-Fock, onde as “variáveis” são o conjunto de funções de onda de um elétron (que são funções de  $3N$  variáveis, onde  $N$  é o número de átomos do sistema).

Alguns funcionais foram desenvolvidos a partir da mecânica quântica fundamental e outros a partir da parametrização de funções que melhor reproduzem resultados experimentais (LEVINE, 2000). Desse modo, pode-se dizer que há versões Abinitio e Semi-empíricas do modelo TFD.

Atualmente, um dos modelos mais utilizados é o modelo do funcional de troca híbrido de três parâmetros (BECKE, 1993) e do funcional de correlação e (B3LYP) (LEE *et al.*, 1988), devido à qualidade dos seus resultados, particularmente para moléculas orgânicas.

Em muitos casos os resultados de cálculos em TFD para sistemas de estado sólido concordam satisfatoriamente com dados experimentais. Além disto, os custos computacionais são relativamente baixos quando comparados a métodos tradicionais os quais são baseados sobre as complicadas funções de onda de muitos elétrons, tais como a teoria de Hartree-Fock e suas

descendentes. Apesar das melhorias em TFD, existem ainda dificuldades em usá-la para adequadamente descrever interações intermoleculares, especialmente a dispersão de forças de van der Waals; excitações de transferência de cargas; estados de transição; energia potencial global de superfícies e alguns outros sistemas fortemente correlacionados (STEPHENS *et al.*, 1994). Este pobre tratamento da dispersão torna a TFD imprópria (pelo menos quando usada sozinha) para tratamento de sistemas os quais são dominados por dispersão (átomos de gás nobre interagindo) ou onde a dispersão compete significativamente com outros efeitos (em biomoléculas).

## 2 - Técnica Experimental

### 2.1 – Moléculas utilizadas no trabalho.

#### 2.1.1 – Norharmana, DHMC e Riparinas I, II, III.

Os cristais da NH base livre e cloridrato de NH foram adquiridos da Sigma Chemical Company (St. Louis, Mo). A NH existe de duas formas a neutra e monoprotionada. Os cristais do cloridrato de DHMC foram adquiridos da Aldrich Chemical Company. Todos os solventes usados são para espectroscopia e foram comprados da Aldrich Chemical Co. (St Louis, Mo), exceto o etanol desidratado proof 200 absoluto, adquirido da Sigma-Aldrich Company e o álcool 2,2,2 trifluoretanol (99%) da Jansen Chemica. A água duplamente destilada e deionizada foi utilizada na preparação de todas as soluções aquosas.

O cloreto de sódio 99+%, American Chemical Society (ACS); fosfato de sódio monobásico 98+% A.C.S. e o fosfato de sódio di-básico 98+% A.C.S. foram comprados da Aldrich Co, (Milwaukee). O triton X-100 (surfactante neutro), dodecil sulfato de lítio (surfactante aniônico) e o brometo de hexa decil trimetil amônio (surfactante catiônico) foram comprados da Sigma Chemical Co, (St. Louis, Mo).

As soluções tampões foram preparadas usando misturas do  $\text{NaHPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e o  $\text{NaCl}$  foi adicionado para ajustar a força aniônica (I);  $\text{pH}=7,0$ ,  $0,005 \text{ M}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4/0,032 \text{ M}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $I = 0,1 \text{ M}$ , tris (hidroximetil) metano amina ( $\text{pH}=8,5$ ,  $0,1 \text{ M}/0,1 \text{ M}$ ,  $\text{HCl}$ ,  $I=0,25 \text{ M}$ ) e  $\text{pH}= 5,5$ ,  $1,10 \text{ M}$   $\text{NaH}_2\text{PO}_4/0,002 \text{ M}$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $I= 0,1 \text{ M}$ . As formas micelares foram obtidas preparando o surfactante dentro da solução da solução tampão  $\text{pH}= 7,0$ , com o

surfactante numa concentração 10 vezes maior que os valores da concentração micelar crítica (CMC). A CMC dos surfactantes neutro, aniônico e catiônico em solução aquosa são: 3, 0,89 e 9,5 nM, respectivamente (MURKERJEE & MYSELS, 1971). As soluções dos surfactantes na forma micelar foram usados para preparar as amostras das soluções do DHMC monocátion na concentração  $1 \times 10^{-4}$  M. As soluções micelares foram ultassonicamente agitadas por uma hora a 45°C usando um “Bransonic ultrasonic cleaner”, modelo 8200 (Aldrich Company Co.).

As amostras de todos os espectros foram originárias de soluções frescas e foram colocadas em tubos de quartzo fundidos e selados com Parafilm transparente e rapidamente congelados em nitrogênio líquido.

## **2.2 – As técnicas espectroscópicas.**

### **2.2.1 - A espectroscopia de absorção e emissão a 77 K.**

Os espectros de absorção e emissão foram obtidos com o sistema espectroscópico mostrado na Figura 12. As medidas experimentais foram feitas no Laboratório de Tecnologia com Moléculas Bioativas - UEA/EST, utilizando o sistema espectroscópico mostrado na Figura 12, seguindo o seguinte procedimento:

#### **a) Espectroscopia de Absorção UV/Visível.**

I - Preparo da solução;

II - As soluções foram agitadas no ultrassom por aproximadamente 60 minutos;

III - Foram transferidas alíquotas destas soluções, uma a uma, para cubetas de quartzo com cerca de 3 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro;

IV - Foi feita a varredura para obtenção do espectro na região de 200 a 400 nm e obtem-se o espectro de absorção UV/Visível.

b) Espectro de emissão a 77 K.

I - Preparo da solução;

II - As soluções foram agitadas no ultra-som por aproximadamente 60 minutos;

III - Foram transferidas alíquotas destas soluções, uma a uma, para tubos de quartzo com cerca de 3 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro;

IV - O tubo de quartzo contendo a solução foi colocado num Dewar óptico com nitrogênio líquido;

V - O sistema óptico foi alinhado com o objetivo de se obter a maior intensidade de emissão da amostra;

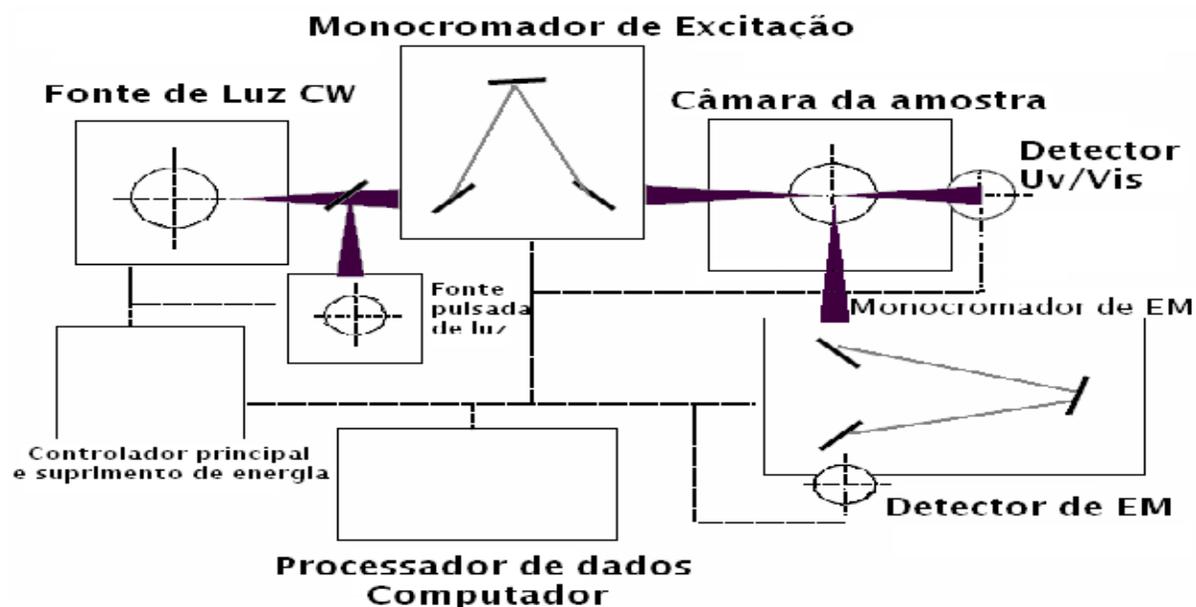
VI - Foi feita a varredura do espectro na região de 350 a 600 nm e obteve-se o espectro de emissão.

O sistema espectroscópico abrange uma faixa completa para um Laboratório de Química. O sistema mede espectros de absorção, emissão, excitação e tempo de vida de fosforescência. Ele consiste de duas fontes de luz, dois monocromadores e dois detectores. As partes espectroscópicas são controladas com equipamento eletrônico apropriado e os dados são coletados com um computador. Os dados espectrais coletados ficam estocados, são calculados e transformados por outros programas.

O sistema espectroscópico é constituído de uma lâmpada de Xe de alta pressão que fica dentro de uma casa de lâmpada, que é mantida por um alimentador de energia. A luz emitida pela lâmpada incide na amostra contida em uma cubeta de quartzo, que fica dentro de uma câmara de amostras. A

linha absorvida é enviada para um detector de UV/visível e o espectro de absorção aparece na tela do computador.

O espectro de emissão a 77 K é obtido, colocando a amostra dentro de um tubo de quartzo selado que é adicionado em um Dewar óptico com nitrogênio líquido. Nesse caso a linha 313 nm selecionada incide na amostra, a luz é absorvida e a amostra emite fazendo um ângulo de noventa graus. A emissão incide na fenda do monocromador detector e é detectada na fotomultiplicadora presa ao monocromador e ela transmite o sinal para o processador de dados no computador e o espectro de emissão aparece na tela do computador. A medida de tempo de vida da fosforescência foi feita usando um cortador eletromecânico, que fecha em menos de 1ms e é dirigido por um gerador de função. O fechamento do cortador e varredura do “signal averager” são sincronizados com a eletrônica necessária, ver Figura 12.



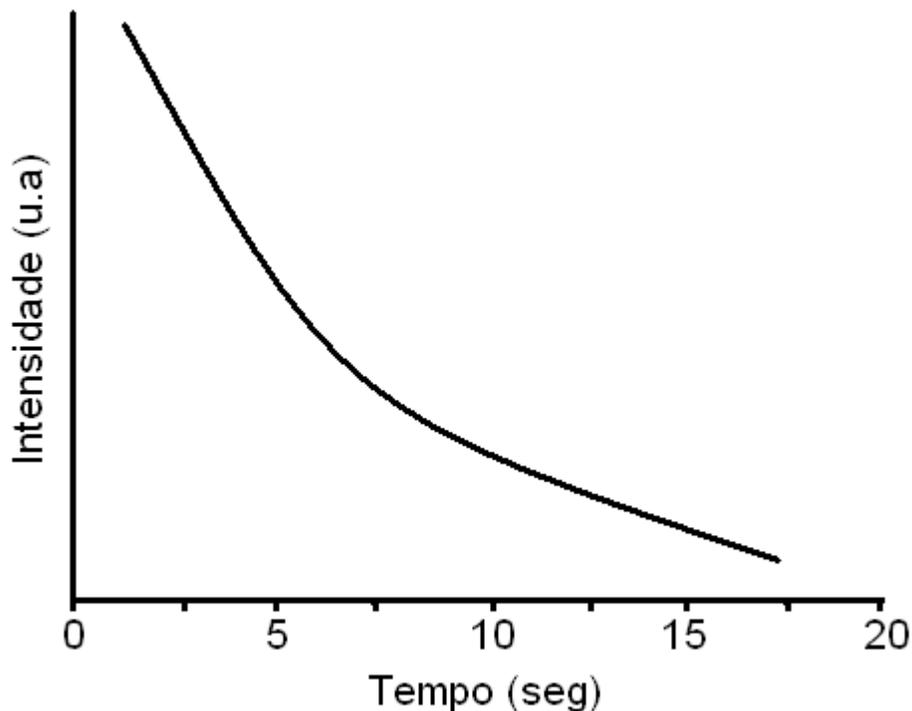
**Figura 12** - Esquema do sistema de espectroscopia de luminescência a 77 K.

### 2.2.2. O cálculo do tempo de vida

A curva de decaimento do tempo de vida da fosforescência, por exemplo, da norharmana em etanol é mostrada na Figura 13, onde pode ser visto que a intensidade da fosforescência decai com o corte da excitação, de acordo com a equação de velocidade de primeira ordem que é exponencial com relação ao tempo. Uma expressão matemática (equação 1) pode ser usada para calcular o tempo de vida:

$$I_t = I_0 e^{-t/\tau} \quad (1)$$

Onde  $I_0$  é a intensidade inicial em um tempo inicial arbitrário  $t$  zero,  $I$  é a intensidade em um tempo  $t$  final e  $K$  representa o inverso do tempo de vida da fosforescência  $1/\tau$ . Assim, quando o tempo  $t$  sobre o qual o decaimento é medido, for igual a  $\tau$ , a intensidade  $I_t$  terá decaimento para  $I_0/e$  do valor inicial.



**Figura 13** - O gráfico da intensidade vs. Tempo, da NH em etanol,  $1,1 \times 10^{-4} M$  a 77K.

## **2.3 - Os métodos de orbitais moleculares.**

### **2.3.1 – Os cálculos Semi-empíricos HAM/3-CI e ZINDO/S-CI.**

Os cálculos de energia de excitação foram feitos usando como dados de entrada a estrutura molecular das moléculas DHMC, R-I, R-II, R-III e NH. Quando não foi possível obter os dados experimentais da estrutura molecular, ela foi obtida através do cálculo de otimização da geometria molecular usando o programa adequado contido no SPARTAN '06. Os cálculos de energias de excitação foram feitos usando as estruturas moleculares otimizadas, como dados de entrada, para o programa HAM/3-CI, ZINDO/S-CI e TFD existentes no programa SPARTAN '06. As otimizações das geometrias moleculares foram feitas com o Abinitio usando a função de base 6-31G\*.

### **2.3.2 – O cálculo Abinitio (RHF/6-31G\*) do programa SPARTAN '06.**

O Programa Abinitio faz parte do pacote SPARTAN '06, instalado num computador modelo ASUS TEK, Intel Pentium (R), CPU 3,37 GB de memória RAM. Na interface principal do programa SPARTAN é feita a modelagem molecular das espécies da NH, da DHMC e das riparinas (R-I, R-II e R-III) de acordo com a estrutura cristalográfica. Selecionando as opções: Hartree-Fock, função de base 6-31G\*, o cálculo Abinitio é processado para promover a otimização da geometria molecular. As estruturas moleculares do R-II e R-III, foram otimizadas a partir da estrutura molecular do R-I.

#### 2.3.4 – O cálculo TFD do programa SPARTAN '06.

Após a otimização da estrutura molecular das espécies da NH, DHMC e riparinas (R-I, R-II e R-III) pelo método Hartree-Fock/6-31G\*, utilizou-se os resultados dos cálculos para calcular com o TFD/B3LYP/6-311+G\*\* as energias de excitação da NH, DHMC e das riparinas. Para a DHMC a função de base utilizada para calcular as energias de excitação foi 6-31+G\*. Com a inserção dos dados o cálculo foi submetido e o tempo de execução, variou dependendo da quantidade de átomos na molécula e as opções selecionadas. Como resultados obtivemos as energias de excitação (eV) (singlete e triplete), a força do oscilador (f-valor), as origens das transições, os átomos envolvidos e os assinalamentos, como também os orbitais HOMO e LUMO. A obtenção dos espectros simulados foi feita com todos os dados organizados em tabelas e convertidos para gráficos de simulação de modo comparativo, usando o programa ORIGEN 08.

Os dados extraídos dos resultados dos cálculos foram organizados em tabela e selecionou-se os valores de energia (eV) e força do oscilador (f-valor) que foram tratados no Excel para conversão das energias, aplicando os comandos de execução em documento no bloco de notas e usando software específico (RSP e SPECTRUM) (SOPER, DUPONT, 1997), organizou-se a escala e os espectros foram gerados utilizando o software ORIGEN 08.

### 3 - Resultados e Discussões.

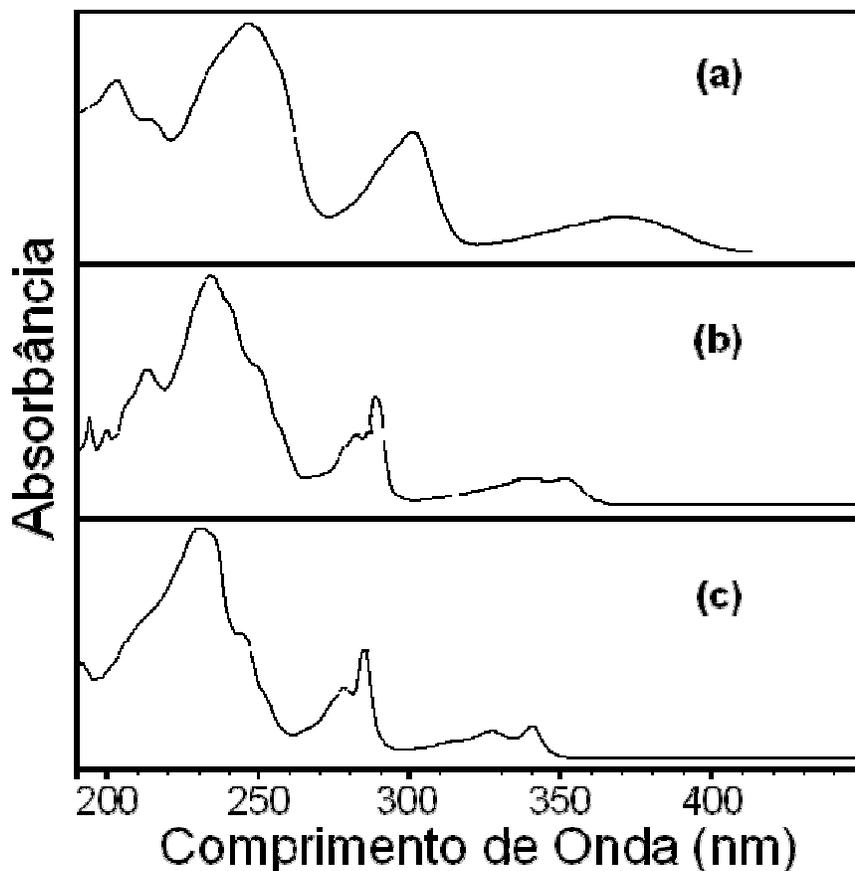
#### 3.1 – Norharmana

##### 3.1.1 – Espectroscopia de Absorção

Os espectros de absorção (UV/ Visível) da NH, à temperatura ambiente, foram obtidos em diferentes meios: NH base livre dissolvida em metilciclohexano (MCH) e etanol (EtOH); e o monócation  $\text{NH}^+$  dissolvido em água, todos na concentração  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  (Figura 14). A NH apresenta dois cromóforos, o anel piridínico deficiente de elétrons  $\pi$  e o benzopirrol com excesso de elétrons  $\pi$ . O par de elétrons solitários do N do pirrol está localizado fora do plano.

Para o espectro do cloridrato de norharmana  $\text{NH}^+$  (Figura 14 a) foram observados cinco picos, que apresentaram máximos de absorção em 203, 214, 247, 301 e 370 nm. Para o espectro da NH base livre em etanol (Figura 14b) observou-se sete picos, situados em: 213, 235, 255, 282, 289, 338 e 351 nm. Para o espectro da NH, base livre em MCH (Figura 14c) notou-se a presença de sete picos, com máximos em 230, 235, 247, 279, 285, 326 e 340 nm.

Quando comparados os dois últimos picos do espectro em MCH com os respectivos picos do espectro em EtOH, observamos que no espectro do etanol ocorreu um deslocamento de 11 nm para maiores comprimentos de onda. A justificativa para tal deslocamento com base na polaridade do solvente, que é descrito no “efeito do solvente”, visto em seções anteriores deste trabalho, pode estar relacionada com a formação de ligação de hidrogênio.



**Figura 14** - Norharmana  $10^{-4}$ M: (a) monocation (sal em água), (b) base livre em etanol e (c) base livre em metilciclohexano.

Comparando o espectro 14(a) com (b) e (c), podemos ver que houve mudanças, tanto no número quanto na localização dos picos. Os espectros se apresentaram deslocados para maiores comprimentos de onda. A última banda (Figura 14a) possui um máximo localizado em 370 nm (3,3510 eV), ao contrário do etanol e MCH, que apresentaram uma banda com dois picos, Relacionando esse máximo (370 nm), com o último pico obtido em MCH a 340 nm (3,6466 eV), temos um deslocamento de 30 nm, para o vermelho, então podemos afirmar que quando a NH sofre uma protonação como é o caso

do monocatión, sua estrutura eletrônica é drasticamente modificada devido a protonação de um dos cromóforos absorptivos.

Os cromóforos absorptivos dos espectros 14 (b) e (c) parecem ser os mesmos devido os espectros de absorção serem parecidos. O deslocamento para o vermelho de (b) em relação a (c) indica que as transições eletrônicas podem estar relacionadas com os orbitais situados na região molecular onde ocorreu a formação de ligação de hidrogênio entre o solvente e o soluto. O espectro (a) é diferente de (b) e (c); ele está deslocado para o vermelho cerca de 30 nm, comparando apenas a banda situada em maiores comprimentos de onda com a mesma banda do espectro (c). O cromóforo absorptivo do espectro (a) talvez seja diferente daqueles dos espectros (b) e (c).

Os deslocamentos para o vermelho das bandas de (b) comparados com as bandas de (c) indicaram que essas transições são  $\pi \rightarrow \pi^*$  e estão situadas no anel aromático. A banda situada em maiores comprimentos de onda do espectro (b) foi a mais sensível ao efeito da ligação de hidrogênio. A fraca transição  $n \rightarrow \pi^*$  não foi identificada, mas provavelmente está situada nessa banda, porém escondida pela maior intensidade da banda  $\pi \rightarrow \pi^*$  e situada em menores energias.

O espectro (a) é deslocado para o vermelho e a banda situada em menores energias quando comparada com a mesma banda de (c) mostrou uma mudança estrutural na qual, quando a NH foi dissolvida em meio hidrofóbico, a banda apresentou dois picos, enquanto que a NH na forma da espécie  $\text{NH}^+$  em meio aquoso, a banda apresentou apenas um máximo. Esta drástica mudança estrutural da banda é uma indicação de que ocorre uma forte mudança eletrônica na espécie  $\text{NH}^+$ . Apesar dos deslocamentos das bandas apresentadas pelos espectros (b) e (c) comparados com (a) e os espectros de absorção terem aparências quase similares, leva a interpretar que

provavelmente o cromóforo absorptivo das três espécies é o mesmo e pode envolver o átomo de nitrogênio da piridina.

Por outro lado, a diminuição da intensidade do pico pertencente a banda situada em maiores comprimentos de onda de (c) para (a) na Figura 14, pode ser interpretado como se a fraca transição  $n \rightarrow \pi^*$  estivesse localizada ao lado da transição de menor energia  $\pi \rightarrow \pi^*$  forte, a qual adiciona uma intensificação do pico da banda  $\cong 340$  nm (3,6466 eV) da NH em MCH.

Sob ligação de hidrogênio, no espectro da Figura 14(b), a transição  $n \rightarrow \pi^*$  é deslocada para o azul e a intensidade do pico  $\cong 351$  nm (3,5323 eV) é reduzida. No monócation, no espectro da Figura 14(a), a transição  $n \rightarrow \pi^*$  é presumivelmente deslocada para o azul e para maiores energias do que a transição  $\pi \rightarrow \pi^*$ , como mostrado em um aparente decréscimo na intensidade do pico absorção a 370 nm (3,3510 eV). Esses resultados concordam com os resultados dos cálculos Semi-empíricos e da Teoria do Funcional da Densidade onde as transições  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$  estão próximas, e serão mostrados em seção adequada deste trabalho.

### 3.1.2 – Espectroscopia de Emissão a 77 K para a NH.

Os espectros de emissão obtidos a 77K da NH estão na Figura 15, sendo em (a) MCH a  $1 \times 10^{-5}$  M, (b) etanol a  $1 \times 10^{-6}$  M, (c) 2,2,2, trifluoroetanol (TFE) a  $1 \times 10^{-5}$  M e (d)  $\text{NH}^+$  em água a  $1 \times 10^{-5}$  M.

O espectro da NH base livre em MCH que aparece na Figura 15(a), tem a coloração azul esverdeada e apresenta uma fluorescência e uma fosforescência com os máximos em  $\cong 420$  nm (2,9520 eV) e  $\cong 480$  nm (2,5830 eV). O tempo de vida da fosforescência é de 1 segundo e o espectro foi assinalado como sendo do monômero do NH.

Na Figura 15(b) a emissão mostrou uma banda desestruturada, o que é comum no caso de emissões de agregado molecular, e as características espectrais permanecem, mesmo quando a solução está a uma concentração de  $1 \times 10^{-6} \text{M}$ , indicando que o agregado molecular é estável.

Visualizar a desagregação da NH base livre em etanol, na concentração  $1 \times 10^{-6} \text{M}$ , não foi possível, e em menores concentrações a intensidade da emissão diminuiu, porém as características do espectro de emissão permaneceram as mesmas, por isso trocou-se o solvente etanol por outro solvente com uma polaridade maior, como é o caso do 2,2,2, trifluoretanol (TFE), Figura 15(c).

Observamos que, com a troca do solvente e dissolvendo o NH em TFE, Figura 15(c), apareceram duas bandas com máximos em 400 nm (3,0996 eV) e 480 nm (2,5830 eV), que nitidamente caracterizam fluorescência e fosforescência. O tempo de vida foi obtido sintonizando o sistema de espectroscopia em 480 nm, sendo  $t \cong 4$  segundos. A cor da emissão é violeta e, com base nessas características pode-se dizer que a NH base livre em TFE, se desagrega e forma um complexo monomérico com o TFE, por ligação de hidrogênio com a hidroxila presente no referido álcool. A emissão foi assinalada como proveniente do monômero do complexo formado entre a base livre e o TFE por ligação de hidrogênio intermolecular.

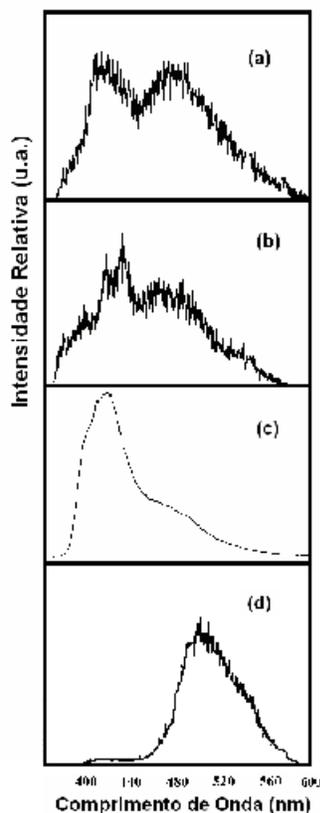
A análise dos espectros mostrou que em meio hidrofóbico, a espécie emissora é o monômero da NH base livre, com tempo de vida da fosforescência(t) igual a 1s, em etanol, e a espécie emissora é o agregado molecular, com  $t=4\text{s}$ . O agregado molecular é provavelmente formado pela auto-associação do NH através de forte ligação de hidrogênio. Com o TFE, a espécie emissora é o monômero do complexo NH-TFE formado por ligação de hidrogênio intermolecular, com  $t=4\text{s}$ .

O espectro da Figura 15(a) apresentou a emissão do monômero do NH e sua fosforescência é  $\pi,\pi^*$  e a fluorescência provavelmente também é  $\pi,\pi^*$ , com o estado  $n,\pi^*$  próximo. A emissão do complexo formado entre o NH e o TFE, Figura 15(c) apresentou uma fosforescência  $\pi,\pi^*$  e uma fluorescência  $\pi,\pi^*$ .

O espectro mostrado na Figura 15(b) indica que em meio etanol o NH prefere se auto-associar via ligação de hidrogênio do que formar um complexo intermolecular ligado através de ligação de hidrogênio com o etanol. Por isso o espectro da Figura 15(b) é assinalado como uma agregação molecular forte.

O espectro da Figura 15(d) apresentou uma banda com máximo em  $\cong 500$  nm, e a emissão apresentou coloração esverdeada. O tempo de vida foi obtido sintonizando o sistema espectroscópico em 500 nm, com  $t=0,30$ s. A emissão foi assinalada como sendo da espécie monocátion.

Em resumo o NH tem quatro espécies emissoras: o monômero da base livre; o complexo molecular entre NH-TFE, formado por forte ligação de hidrogênio; o agregado molecular forte e o monocátion.



**Figura 15** - Espectros de emissão da NH dissolvido em: (a) MCH a  $1 \times 10^{-5} \text{M}$ , (b) etanol a  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  e (c) 2,2,2, trifluoretanol(TFE) a  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  e (d) sal em água a  $1 \times 10^{-5} \text{M}$ .

### 3.1.3 – O cálculo Semi-empírico HAM/3-CI

O método Semi-empírico de orbitais moleculares HAM/3, foi utilizado para determinar as energias de excitação para o NH base livre, associada por ligação de hidrogênio e da espécie monoprotonada. Os resultados obtidos por esse método foram comparados com os espectros de absorção, através de uma aproximação da molécula isolada, onde o monômero da NH representa a NH em MCH, a monoprotonada representa a  $\text{NH}^+$  em água com o próton ligado

diretamente no nitrogênio da piridina. E o complexo entre NH e o etanol representa o NH dissolvido em meio alcoólico.

A estrutura cristalográfica da NH foi obtida através de dados cristalográficos de raios X (HIDALGO *et al.*, 1990). A introdução dos átomos de hidrogênio na estrutura molecular foi feita com a otimização da geometria usando os métodos AM1, PM3, RM1 (HIDALGO *et al.*, 1990; CARMONA *et al.*, 1990). Por comparação a melhor geometria obtida foi calculada pelo RM1 que apresentou  $\Delta H_f = 235,220$  Kcal/mol.

Na tabela 1, para o monômero da NH, os melhores resultados foram obtidos com CI = 10, pois apresentou um erro médio absoluto de 0,18 eV entre os valores observados experimentalmente para a NH em MCH, visto na Figura 14(c), e os valores calculados pelo método. Este valor está dentro dos padrões do cálculo de HAM/3 que permite um erro da ordem de 0,5 eV (McGLYNN, *et al.*, 1969).

Tabela 1 – Resultados do cálculo HAM/3-CI e experimental para o NH base livre, por ligação hidrogênio (etanol) e monoprotionada.

Base Livre					Ligação de hidrogênio (Etanol)					Monoprotionada				
Trans.	En. (eV)	C.P.T	f-valor	Exp.(eV)	Trans.	En.(eV)	C.P.T	f-valor	Exp.(eV)	Trans.	En. (eV)	C.P.T	f-valor	Exp.(eV)
Singlete					Singlete					Singlete				
S <sub>1</sub> (ππ*)	3,801	N <sub>9</sub> →N <sub>2</sub>	1,079684	3,625 3,815	S <sub>1</sub> (ππ*)	3,812	N <sub>9</sub> →N <sub>2</sub>	0,18479	3,532 3,668	S <sub>1</sub> (ππ*)	2,797	C <sub>7</sub> →N <sub>2</sub>	0,15694	3,306
S <sub>2</sub> (nπ*)	4,218	N <sub>2</sub> →N <sub>2</sub>	0,409605		S <sub>2</sub> (nπ*)	4,133	N <sub>2</sub> →N <sub>2</sub>	0,05141		S <sub>2</sub> (ππ*)	3,347	N <sub>9</sub> →N <sub>2</sub>	0,29638	
S <sub>3</sub> (ππ*)	4,395	C <sub>7</sub> →N <sub>2</sub>	0,015660	4,350	S <sub>3</sub> (ππ*)	4,408	C <sub>7</sub> →N <sub>2</sub>	0,09034	4,289	S <sub>3</sub> (ππ*)	4,352	N <sub>9</sub> →C <sub>3</sub>	0,63167	4,118
S <sub>4</sub> (ππ*)	4,818	C <sub>5</sub> →N <sub>2</sub>	0,020361	4,444	S <sub>4</sub> (ππ*)	4,838	C <sub>5</sub> →N <sub>2</sub>	0,00765	4,396 4,861 5,276	S <sub>4</sub> (nπ*)	4,464	N <sub>2</sub> →N <sub>2</sub>	0,59152	-----
S <sub>5</sub> (ππ*)	5,158	N <sub>9</sub> →C <sub>3</sub>	0,224204	5,019 5,276	S <sub>5</sub> (nπ*)	4,844	O <sub>1</sub> →N <sub>2</sub>	0,00491		-----	S <sub>5</sub> (ππ*)	4,684	C <sub>7</sub> →N <sub>2</sub>	0,16495
S <sub>6</sub> (nπ*)	5,193	N <sub>2</sub> →C <sub>5</sub>	0,000446		-----	S <sub>6</sub> (nπ*)	5,125	N <sub>2</sub> →C <sub>7</sub>	0,06611	-----	S <sub>6</sub> (ππ*)	5,252	C <sub>5</sub> →N <sub>2</sub>	0,08130
Triplete					Triplete					Triplete				
T <sub>1</sub> (ππ*)	2,817	N <sub>9</sub> →N <sub>2</sub>			T <sub>1</sub> (ππ*)	2,815	N <sub>9</sub> →N <sub>2</sub>			T <sub>1</sub> (ππ*)	1,875	C <sub>7</sub> →N <sub>2</sub>		
T <sub>2</sub> (ππ*)	3,248	C <sub>7</sub> →N <sub>2</sub>			T <sub>2</sub> (ππ*)	3,341	C <sub>7</sub> →N <sub>2</sub>			T <sub>2</sub> (ππ*)	2,274	N <sub>9</sub> →N <sub>2</sub>		
T <sub>3</sub> (ππ*)	3,601	C <sub>5</sub> →N <sub>2</sub>			T <sub>3</sub> (ππ*)	3,621	C <sub>5</sub> →N <sub>2</sub>			T <sub>3</sub> (nπ*)	3,153			
T <sub>4</sub> (nπ*)	3,963				T <sub>4</sub> (ππ*)	3,903				T <sub>4</sub> (ππ*)	3,220			
T <sub>5</sub> (nπ*)	4,097				T <sub>5</sub> (ππ*)	4,044				T <sub>5</sub> (ππ*)	3,971			
T <sub>6</sub> (nπ*)	4,315				T <sub>6</sub> (ππ*)	4,338				T <sub>6</sub> (ππ*)	4,194			

\*Trans. – Transição; En. – Energia; C.P.T. – Contribuição Principal para Transição; Exp. – Experimental

Analisando a natureza das transições eletrônicas podemos observar os seguintes assinalamentos: para o estado singlete de menor energia  $S_1$ , ocorre uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) proveniente do orbital  $\pi$  (par de elétron solitário  $\pi$ ) (HIDALGO et al., 1990) do nitrogênio do pirrol ( $N_9$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  (antiligante) do nitrogênio da piridina ( $N_2$ ). Relacionamos essa transição como relativa aos picos a 340 nm (3,625 eV) e 326 nm (3,815 eV) do espectro da Figura 14(c); para o segundo estado singlete de menor energia  $S_2$ , uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  do nitrogênio ( $N_2$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  do mesmo átomo ( $N_2$ ), a energia relativa a essa transição não está visível no espectro; para  $S_3$ , a transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_7$ ) do benzeno indo para  $\pi^*$  do nitrogênio ( $N_2$ ), relativa ao pico 285 nm (4,350 eV); para  $S_4$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_5$ ) para o orbital  $\pi^*$  do ( $N_2$ ), relativa ao pico 279 nm (4,444 eV); para  $S_5$ , uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do  $N_9$ , para um orbital  $\pi^*$  do carbono ( $C_6$ ) do benzeno, relativa aos picos 247 nm (5,019 eV) e 235 nm (5,276 eV); para  $S_6$ , temos uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  de  $N_2$  para o orbital  $\pi^*$  do carbono ( $C_5$ ), cuja energia relativa a essa transição não está visível no espectro. Esses resultados sugerem que a região fotoativa da base livre está concentrada nos átomos  $C_7$ ,  $C_5$ ,  $C_3$ ,  $N_2$ , e  $N_9$ , sendo maior a atividade para o  $N_2$  (nitrogênio da piridina). A transição do nitrogênio do pirrol ( $N_9$ ) para o  $N_2$  da piridina no estado singlete  $S_1(\pi, \pi^*)$  foi assinalada como uma transferência de carga.

Os resultados de HAM/3 (CI=10) para a NH com ligação de hidrogênio podem ser vistas na Tabela 1. Comparados com os obtidos experimentalmente para base livre em etanol  $10^{-4}M$ , Figura 14(b), apresentou um erro médio absoluto de 0,30 eV, uma margem de erro aceitável. Analisando a natureza das transições eletrônicas podemos observar os seguintes assinalamentos: para o

estado singlete de menor energia ( $S_1$ ) ocorre uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) partindo do orbital  $\pi$  do nitrogênio do pirrol ( $N_9$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  (antiligante) do nitrogênio da piridina ( $N_2$ ), relacionamos esta transição como relativa aos picos 351nm (3,532 eV) e 338 nm (3,668 eV); para  $S_2$ , uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  ( $N_2$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  ( $N_2$ ) da piridina, a energia relativa a essa transição não está visível no espectro; para  $S_3$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_7$ ) do benzeno indo para  $\pi^*$  de  $N_2$ , relativa ao pico 289 nm (4,289 eV); para  $S_4$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_5$ ) para o orbital  $\pi^*$  de  $N_2$ , relativa aos picos 282 nm (4,396 eV), 255 nm (4,861 eV) e 235 nm (5,276 eV); para o quinto estado singlete de menor energia ( $S_5$ ), uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  do  $O_1$  (oxigênio do EtOH), para um orbital  $\pi^*$  de  $N_2$ , a energia relativa a essa transição não está visível no espectro; para  $S_6$ , temos uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  de  $N_2$  para o orbital  $\pi^*$  do carbono ( $C_3$ ), cuja energia relativa a essa transição não está visível no espectro. Os resultados sugerem que a região fotoativa da molécula NH, devido à ligação de hidrogênio com etanol, está concentrada nos átomos,  $C_7$ ,  $C_5$ ,  $C_3$ ,  $O_1$ ,  $N_2$  e  $N_9$ , sendo novamente a maior atividade para o  $N_2$  (nitrogênio da piridina).

Ainda na Tabela 1, para a NH espécie monoprotonada, usando HAM/3 com CI=10, apresentou um erro médio absoluto de 0,15 eV quando comparado com os valores observados experimentalmente para a NH sal em água, vistos na Figura 14(a). Os valores calculados pelo método, estão novamente dentro dos padrões permitidos. Analisando a natureza das transições eletrônicas podemos observar que para o estado Singlete de menor energia  $S_1$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_7$ ) do benzeno indo para o orbital  $\pi^*$  do  $N_2$ , relativa ao pico 370 nm (3,306 eV); para  $S_2$ , ocorre uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) partindo do orbital  $\pi$  (não ligante) do nitrogênio do pirrol  $N_9$

indo para o orbital  $\pi^*$  (antiligante) do nitrogênio da piridina  $N_2$ , relativa ao pico 370 nm (3,306 eV); para  $S_3$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do nitrogênio ( $N_9$ ) para o orbital  $\pi^*$  do  $C_3$  da piridina, relativa ao pico 301 nm (4,118 eV); para  $S_4$ , uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  do  $N_2$  para o orbital  $\pi^*$  do mesmo átomo, relativa a um pico que foi sobreposto por um outro de energia próxima; para  $S_5$ , uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  de  $C_7$  para um orbital  $\pi^*$  de  $N_2$ , relativa ao pico 247 nm (5,019 eV); para  $S_6$ , uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  de  $C_5$ , para um orbital  $\pi^*$  de  $N_2$ , relativa ao pico 214 nm (5,793 eV). Estes resultados sugerem que a região fotoativa da  $NH^+$  está concentrada nos átomos  $C_7$ ,  $C_5$ ,  $C_3$ ,  $N_2$ ,  $N_9$ , sendo maior a atividade no  $N_2$  (nitrogênio da piridina). A afirmação feita anteriormente com relação à modificação da estrutura eletrônica de que está associada à adição do próton pode ser aqui confirmada, sendo que para o estado emissor de menor energia  $S_1$  a natureza da transição eletrônica é  $\pi, \pi^*$ . Os cálculos HAM/3 mostram que o N da piridina, o N do pirrol e os carbonos  $C_5$ ,  $C_7$  são as regiões moleculares mais importantes e influenciam nas propriedades fotofísicas da NH nas três vizinhanças estudadas.

De acordo com os cálculos HAM/3-CI para o NH em MCH, a fosforescência é oriunda de um estado  $^3(\pi, \pi^*)_1$ , e a fluorescência é originária de um estado  $(\pi, \pi^*)$ . Ambos os estados  $S_1$  e  $T_1$  são oriundos da transição entre os orbitais dos átomos  $N_9 \rightarrow N_2$ , do pirrol para a piridina. Isto sugere que uma transição de longa distância pode ser essencial para a fototoxicidade, transporte da droga através da membrana e mecanismos de ações alucinógenas.

A emissão da fosforescência origina-se de um mecanismo de acoplamento spin-orbital de segunda-ordem envolvendo:  $^1(\pi, \pi^*)_3 \cong ^1(n, \pi^*)_2 \cong ^3(\pi, \pi^*)_3 \cong ^3(\pi, \pi^*)_2 \cong ^3(\pi, \pi^*)_1$  ou seja, há um estado  $^1(n, \pi^*)_2$  que acopla com o

estado  $^3(\pi, \pi^*)_3$ , o que está em concordância com a interpretação do espectro de emissão do NH em MCH, deste trabalho, ver Figura 15(a).

Para o complexo NH e TFE, usou-se o cálculo feito com o complexo por ligação de hidrogênio, entre o NH e etanol, cujo estado  $S_1$  é  $(\pi, \pi^*)$ .

### 3.1.4 – O cálculo da TFD para NH

O cálculo da TFD foi utilizado para determinar as energias de excitação e força do oscilador para a NH base livre, associada por ligação de hidrogênio e a espécie monoprotonada, Os resultados obtidos por esse método foram comparados com os espectros de absorção, através da mesma aproximação usada para os cálculos HAM/3 são mostrados na Tabela 2.

A estrutura cristalográfica da NH foi obtida através de dados cristalográficos de raios X (HIDALGO *et al.*, 1990) e, na interface do Software SPARTAN '06, foi feita a modelagem molecular, após pré-otimização, utilizando-se o método RHF/6-31G\* para a otimização da geometria molecular, e a partir dos dados otimizados o cálculo TFD foi processado utilizando a função de base 6-311+G\*\*.

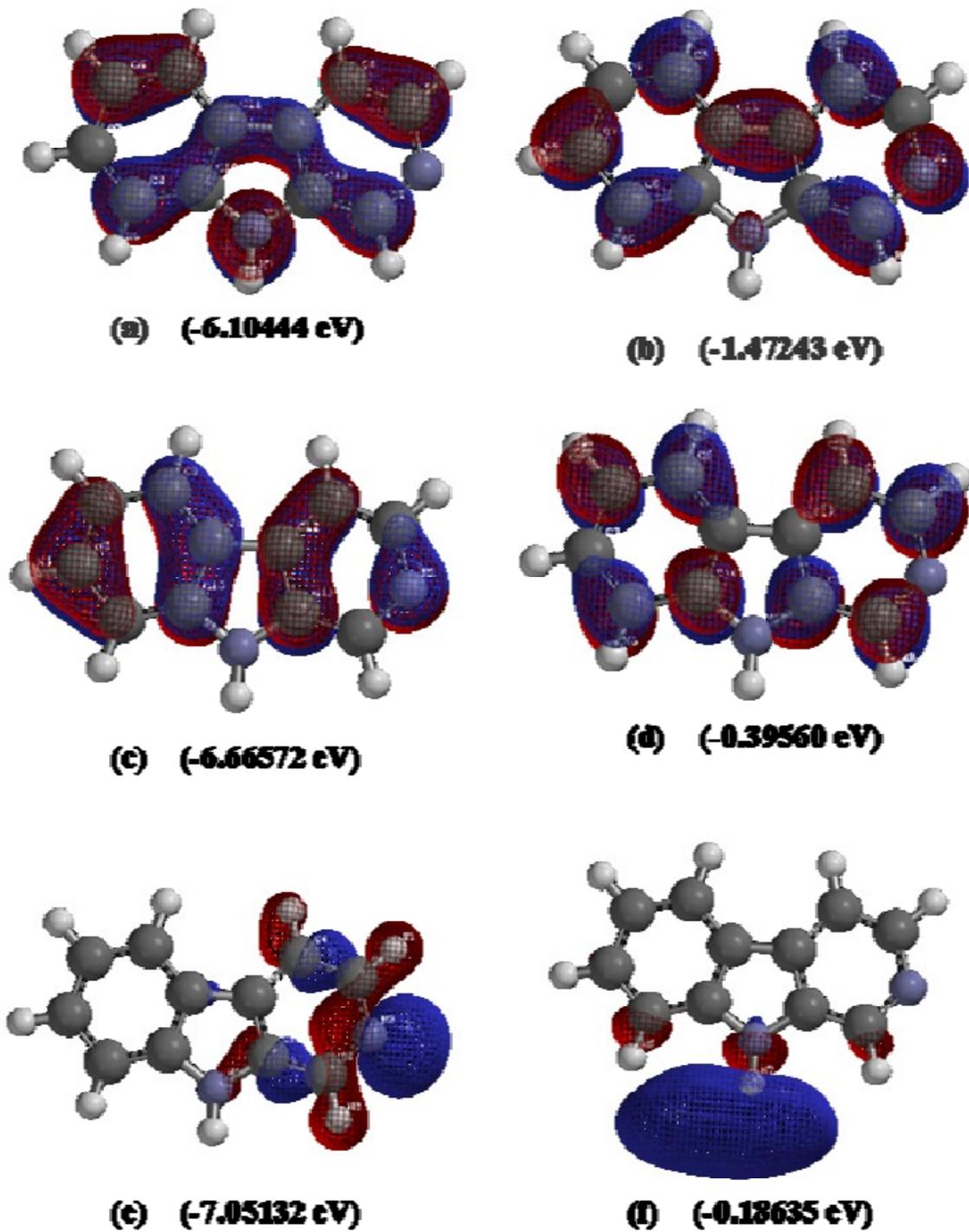
Tabela 2 - Resultados do cálculo TFD (6\_311+G\*\*) e experimental para o NH base livre, por ligação de hidrogênio (etanol) e monoprotionada.

Base Livre					Ligação de hidrogênio (Etanol)					Monoprotionada				
Trans.	En. (eV)	C.P.T	f-valor	Exp.(eV)	Trans.	En. (eV)	C.P.T	f-valor	Exp.(eV)	Trans.	En. (eV)	C.P.T	f-valor	Exp.(eV)
Singlete					Singlete					Singlete				
S <sub>1</sub> (ππ*)	4,1241	N <sub>9</sub> →C <sub>12</sub>	0,0568	3,625 3,815 -----	S <sub>1</sub> (ππ*)	4,0917	N <sub>9</sub> →C <sub>12</sub>	0,0565	3,532 3,668 4,289 4,396	S <sub>1</sub> (ππ*)	3,2819	N <sub>9</sub> →C <sub>1</sub>	0,0433	3,306
S <sub>2</sub> (nπ*)	4,5623	N <sub>2</sub> →C <sub>12</sub>	0,0028		S <sub>2</sub> (nπ*)	4,7047	O <sub>1</sub> →C <sub>12</sub>	0,0410		S <sub>2</sub> (ππ*)	4,0383	C <sub>7</sub> →C <sub>1</sub>	0,1637	4,118
S <sub>3</sub> (ππ*)	4,7309	C <sub>7</sub> →C <sub>12</sub>	0,0985	4,350	S <sub>3</sub> (nπ*)	4,7175	O <sub>1</sub> →C <sub>12</sub>	0,0475	-----	S <sub>3</sub> (ππ*)	4,9097	N <sub>9</sub> →C <sub>3</sub>	0,3955	5,019
S <sub>4</sub> (ππ*)	5,1269	N <sub>9</sub> →C <sub>7</sub>	0,0000	4,444	S <sub>4</sub> (nπ*)	4,7482	N <sub>2</sub> →C <sub>12</sub>	0,0023		S <sub>4</sub> (ππ*)	5,0054	C <sub>7</sub> →C <sub>3</sub>	0,1593	
S <sub>5</sub> (ππ*)	5,4014	C <sub>4</sub> →C <sub>12</sub>	0,1248	5,019	S <sub>5</sub> (ππ*)	5,2439	N <sub>9</sub> →C <sub>7</sub>	0,0005	4,861	S <sub>5</sub> (ππ*)	5,3508	C <sub>1</sub> →C <sub>1</sub>	0,0902	
S <sub>6</sub> (ππ*)	5,4014	N <sub>9</sub> →C <sub>10</sub>	0,3372	5,276	S <sub>6</sub> (ππ*)	5,3754	C <sub>5</sub> →C <sub>12</sub>	0,0057	5,276	S <sub>6</sub> (ππ*)	5,5781	N <sub>9</sub> →C <sub>3</sub>	0,0001	5,793
Triplete					Triplete					Triplete				
T <sub>1</sub> (ππ*)	3,3345	N <sub>9</sub> → C <sub>12</sub>			T <sub>1</sub> (ππ*)	3,3030	N <sub>9</sub> → C <sub>12</sub>			T <sub>1</sub> (ππ*)	2,5735	N <sub>9</sub> →C <sub>1</sub>		
T <sub>2</sub> ( π π*)	3,6362	C <sub>7</sub> → C <sub>12</sub>			T <sub>2</sub> ( π π*)	3,6126	C <sub>7</sub> → C <sub>12</sub>			T <sub>2</sub> (π π*)	3,0385	C <sub>7</sub> →C <sub>1</sub>		
T <sub>3</sub> (nπ*)	4,0478	N <sub>2</sub> →C <sub>12</sub>			T <sub>3</sub> (ππ*)	4,1501	N <sub>9</sub> → C <sub>10</sub>			T <sub>3</sub> (ππ*)	3,9155	C <sub>1</sub> →C <sub>1</sub>		
T <sub>4</sub> (ππ*)	4,1355	N <sub>9</sub> → C <sub>10</sub>			T <sub>4</sub> (nπ*)	4,2652	N <sub>2</sub> → C <sub>12</sub>			T <sub>4</sub> (ππ*)	3,9821	N <sub>9</sub> →C <sub>3</sub>		
T <sub>5</sub> (ππ*)	4,4450	N <sub>9</sub> → C <sub>5</sub>			T <sub>5</sub> (ππ*)	4,4063	N <sub>9</sub> → C <sub>5</sub>			T <sub>5</sub> (ππ*)	4,5124	N <sub>9</sub> →C <sub>5</sub>		
T <sub>6</sub> (ππ*)	4,5751	C <sub>4</sub> →C <sub>12</sub>			T <sub>6</sub> (ππ*)	4,5531	C <sub>5</sub> → C <sub>12</sub>			T <sub>6</sub> (ππ*)	4,5627	C <sub>7</sub> →C <sub>3</sub>		

\* Trans. – Transição; En. – Energia; C.P.T. – Contribuição Principal para Transição; Exp. - Experimental

Na Tabela 2, temos os resultados do cálculo TFD/6-311+G\*\*, para o monômero da NH base livre, e os valores observados experimentalmente para a NH em MCH, visto na Figura 14(c). Analisando a natureza das transições eletrônicas podemos observar os seguintes assinalamentos: para o estado singlete de menor energia  $S_1$ , ocorre uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) partindo do orbital  $\pi$  do nitrogênio do pirrol ( $N_9$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  (antiligante) do carbono  $C_{12}$  do pirrol, relativo aos picos 340 nm (3,625 eV) e 326 nm (3,815 eV); para o segundo estado singlete de menor energia  $S_2$ , uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  ( $N_2$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  ( $C_{12}$ ), a energia relativa a essa transição não está visível no espectro; para  $S_3$ , a transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_7$ ) do benzeno indo para  $\pi^*$  do  $C_{12}$ , relativo ao pico 285 nm (4,350 eV); para  $S_4$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do nitrogênio ( $N_9$ ) para o orbital  $\pi^*$  do  $C_7$ , relativo ao pico 279 nm (4,444 eV); para  $S_5$ , uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do  $C_4$ , para um orbital  $\pi^*$  do carbono ( $C_{12}$ ) do pirrol, relativo ao pico 247 nm (5,019 eV); para  $S_6$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  de  $N_9$  para o orbital  $\pi^*$  do carbono ( $C_{10}$ ) no pirrol, relativo ao pico 235 nm (5,276 eV). Esses resultados sugerem que a região fotoativa da NH base livre está concentrada nos átomos  $C_4$ ,  $C_7$ ,  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $N_2$ , e  $N_9$ , sendo maior a atividade para o  $C_{12}$  (do pirrol).

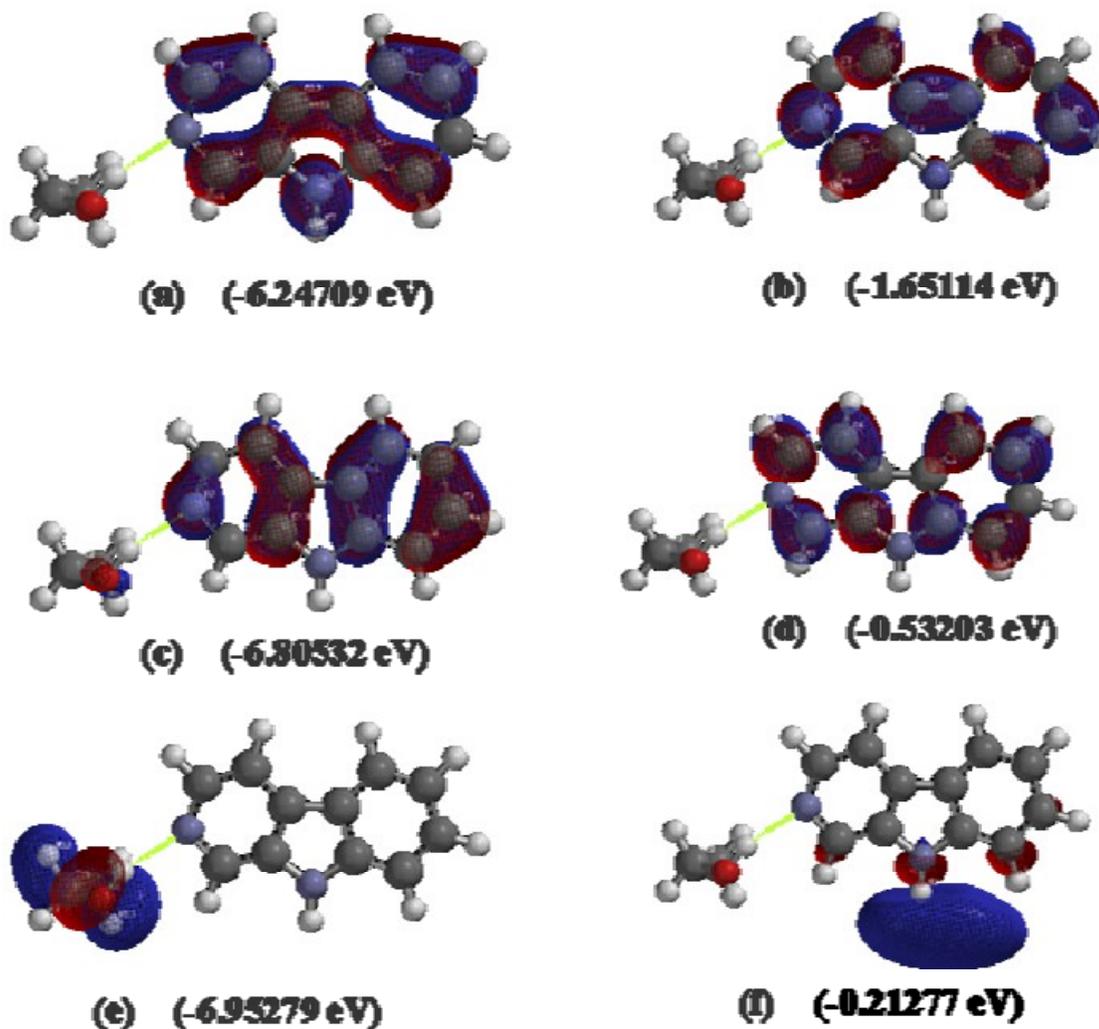
Os orbitais HOMO e LUMO, calculados pela TFD para a NH base livre (MCH), podem ser visualizados na Figura 16, mostrando que a região mais fotoativa da NH base livre se estende na faixa central da molécula para o orbital desocupado de menor energia (HOMO)



**Figura 16** - Orbitais moleculares para NH base livre, (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO - 1, (d) LUMO + 1, (e) HOMO - 2 e (f) LUMO +2, calculado por TFD (6-311+G\*\*).

Os resultados de TFD para a NH por ligação de hidrogênio com etanol podem ser vistas na Tabela 2, comparados com os obtidos experimentalmente para base livre em etanol  $10^{-4}\text{M}$ , Figura 14(b). Analisando a natureza das transições eletrônicas podemos observar os seguintes assinalamentos: para o estado singlete de menor energia ( $S_1$ ), ocorre uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) partindo do orbital  $\pi$  do nitrogênio do pirrol ( $N_9$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  do carbono ( $C_{12}$ ) do pirrol, relativa aos picos 351 nm (3,532 eV), 338 nm (3,668 eV), 289 nm (4,289 eV) e 282 nm (4,396 eV); para  $S_2$ , uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  ( $O_1$ ) do EtOH indo para o orbital  $\pi^*$  ( $C_{12}$ ), relativa a um pico que foi sobreposto por um outro de energia próxima; para  $S_3$ , temos uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  do oxigênio ( $O_1$ ) do EtOH indo para  $\pi^*$  de  $C_{12}$ , relativa a um pico que foi sobreposto por um outro de energia próxima; para  $S_4$ , temos uma transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $n$  do nitrogênio ( $N_2$ ) para o orbital  $\pi^*$  de  $C_{12}$ , relativa a um pico que foi sobreposto por um outro de energia próxima; para o quinto estado singlete de menor energia ( $S_5$ ), uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do  $N_9$  (nitrogênio com elétrons livre no pirrol), para um orbital  $\pi^*$  de  $C_7$ , relativo ao pico 255 nm (4,861 eV); para  $S_6$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  de  $C_5$  para o orbital  $\pi^*$  de  $C_{12}$ , relativo ao pico 235 nm (5,276 eV). Esses resultados sugerem que a região fotoativa da molécula por ligação hidrogênio com etanol, está concentrada nos átomos  $C_5$ ,  $C_7$ ,  $C_{12}$ ,  $O_1$ ,  $N_2$  e  $N_9$ , sendo novamente a maior atividade para o  $C_{12}$  do pirrol.

Os orbitais HOMO e LUMO, calculados pela TFD para a NH por ligação de hidrogênio (etanol), podem ser visualizados na Figura 17, mostrando que a região mais fotoativa da NH base livre se estende na faixa central da molécula para o orbital desocupado de menor energia (HOMO).



**Figura 17** - Orbitais moleculares para NH ligação hidrogênio (etanol), (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO + 1, (e) HOMO – 2 e (f) LUMO + 2, calculado por TFD (6-311+G\*\*).

Comparando as Figuras 16 (a, b, c, d) e a Figura 17 (a, b, c, d), os orbitais moleculares HOMO e LUMO são parecidos, indicando que o efeito do solvente não perturba muito a estrutura eletrônica das espécies da NH.

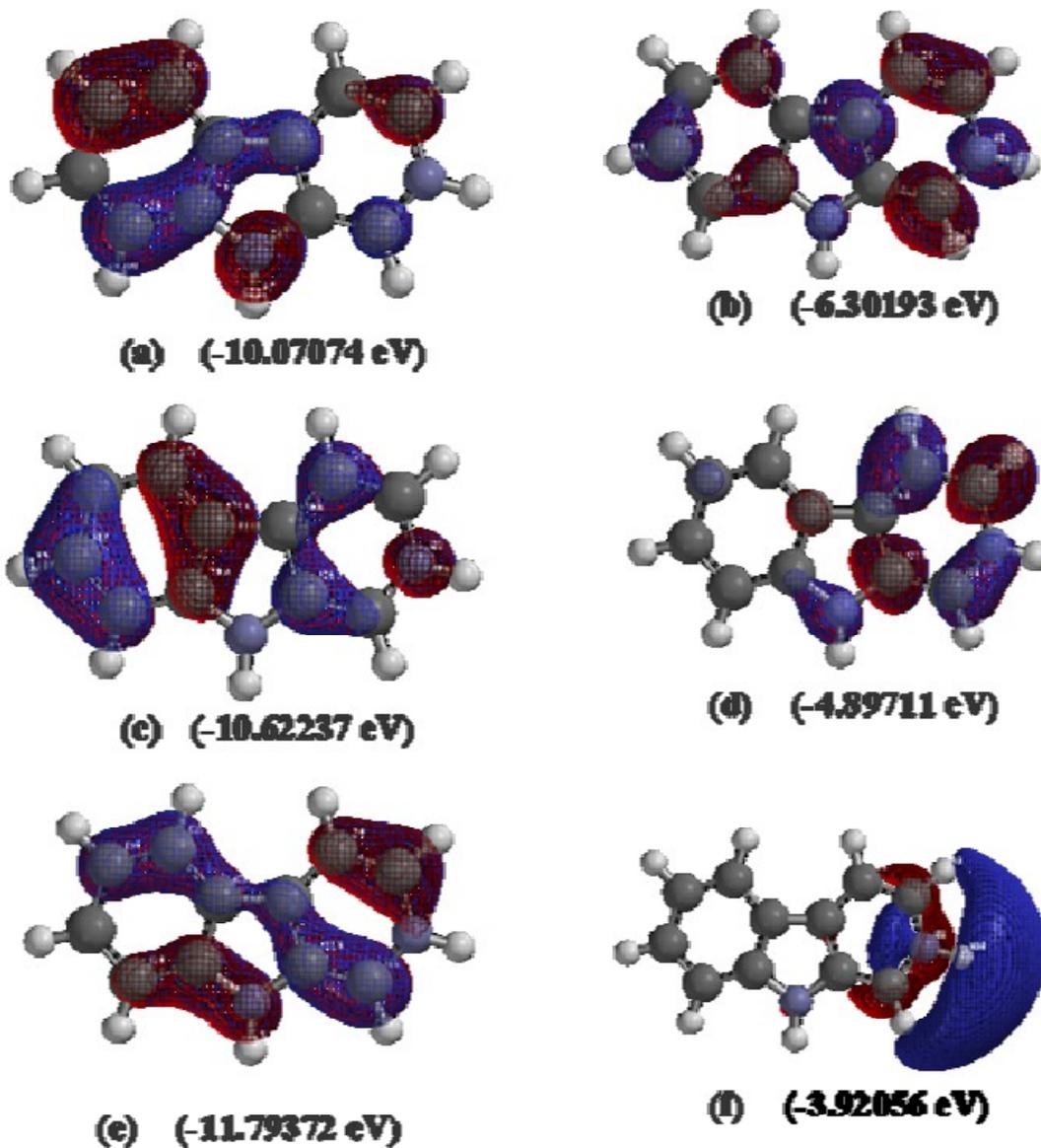
Na Tabela 2, está a NH espécie monoprotionada, calculada com o TFD. Analisando a natureza das transições eletrônicas podemos observar para o estado singlete de menor energia  $S_1$ , uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital

$\pi$  do nitrogênio do pirrol ( $N_9$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  do  $C_1$  da piridina, relativo ao pico 370 nm (3,306 eV); para  $S_2$ , ocorre uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) partindo do orbital  $\pi$  do carbono  $C_7$  do benzeno indo para o orbital  $\pi^*$  do  $C_1$  da piridina, relativo ao pico 301 nm (4,118 eV); para  $S_3$ , temos uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do nitrogênio ( $N_9$ ) para o orbital  $\pi^*$  do  $C_3$  da piridina, a energia referente a essa transição não está visível; para  $S_4$ , uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do  $C_7$  do benzeno para o orbital  $\pi^*$  do  $C_3$  da piridina, relativa ao pico 247 nm (5,019 eV); para  $S_5$ , uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  de  $C_1$  para um orbital  $\pi^*$  do mesmo átomo  $C_1$ , a energia referente a essa transição não está visível; para  $S_6$ , uma transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) que parte do orbital  $\pi$  do  $N_9$ , para um orbital  $\pi^*$  de  $C_3$ , relativa ao pico 214 nm (5,793 eV). Estes resultados sugerem que a região fotoativa da molécula monoprotonada está concentrada nos átomos  $C_1$ ,  $C_3$ ,  $C_7$  e  $N_9$ , sendo maior a atividade no  $N_9$  (nitrogênio do pirrol) e  $C_3$  (carbono da piridina).

O singlete  $S_1$  era uma transição entre o pirrol  $\rightarrow$  pirrol tanto para o monômero, como para a ligação de hidrogênio e quando monoprotona torna-se pirrol  $\rightarrow$  piridina.

No tripleto acontece o mesmo fenômeno. Esses resultados da TFD indicam que a fotoatividade da NH na forma monomérica e por ligação de hidrogênio está concentrada no anel do pirrol. A espécie monoprotonada mostra um deslocamento das transições, nas quais o anel pirrol interage eletronicamente com o anel da piridina. Os dois anéis formam a região fotoativa da  $NH^+$ .

Os orbitais HOMO e LUMO, calculados pela TFD para a NH monoprotonada, podem ser visualizados na Figura 18, mostrando que a região mais fotoativa da NH monoprotonada está concentrada no ( $N_9$ ) para o orbital desocupado de menor energia (HOMO).



**Figura 18** - Orbitais moleculares para NH monoprotonada, (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO - 1, (d) LUMO + 1, (e) HOMO - 2 e (f) LUMO + 2, calculado por TFD (6-311+G\*\*).

Comparando as Figuras 16, 17 e 18, temos que os orbitais HOMO e LUMO de (a, b, c, d) das Figuras 16 e 17, são similares, mas diferentes dos mesmos orbitais da Figura 18. Isso mostra o efeito da monoprotonação da NH

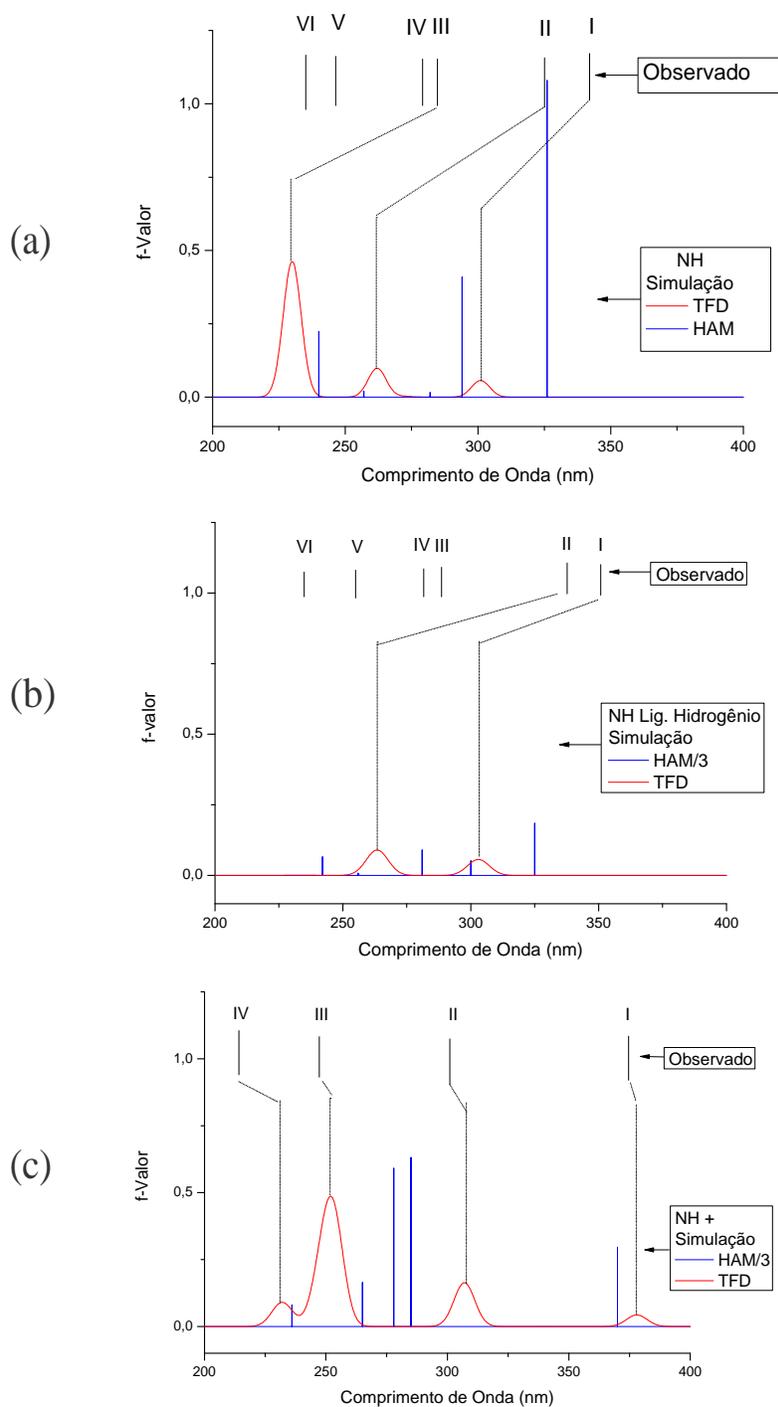
na sua estrutura eletrônica, o que pode justificar as mudanças nas características espectrais observadas nos espectros de absorção e emissão.

A precisão dos cálculos HAM/3 e TFD, foram testadas através da construção dos espectros de absorção simulados usando as energias de transição calculadas pelos dois métodos. Os espectros simulados foram feitos com o programa ORIGIN 8.0.

O gráfico simulando o espectro da NH base livre, Figura 19(a), mostrou seis picos onde podemos observar que a NH apresenta diferença nos resultados quando se tratam dos cálculos HAM/3 e TFD, mostrando um deslocamento para menores comprimentos de onda, quando comparados com os dados observados. Para o cálculo TFD usando a funcional B3LYP apresentou um comportamento a comprimentos de onda abaixo do cálculo HAM/3, apresentando três picos.

O gráfico simulando o espectro da NH por ligação de hidrogênio com etanol, Figura 19(b) mostrou seis picos e podemos observar que a NH apresentou resultado bastante deslocado para os cálculos HAM/3 e TFD. Para a NH no cálculo TFD apresentou dois máximos bastante deslocados para menores comprimentos de onda em relação aos dados observados.

O gráfico simulando o espectro da  $\text{NH}^+$  monoprotônica, Figura 19(c), mostrou quatro picos e observamos que a NH apresentou melhor resultado, para ambos os métodos HAM/3 e TFD, quando comparados com os dados observados. Observou-se que o resultado do método HAM/3 apresentou um pequeno deslocamento para menores comprimentos de onda, comparados com os dados experimentais, enquanto que o TFD se apresentou muito próximo ao observado, estando um pouco deslocado para maiores comprimentos de onda.



**Figura 19** - Gráficos simulados das energias de excitação calculadas pelo HAM/3 CI-10, TFD (B3LYP 6-311+G\*\*) e comparados com dados do espectro de absorção (Observado) em (a) monômero da NH; (b) NH por ligação de hidrogênio (etanol) e (c) NH<sup>+</sup> monoprotionada.

Podemos analisar o comportamento diferenciado da NH frente a distintas situações, seja em MHC (base livre), fazendo ligação de hidrogênio (etanol) e a espécie monoprotonada. Tendo como base os dados observados, verificou-se um deslocamento para menores comprimentos de onda nos resultados gerados pelos cálculos TFD e HAM/3, o que mostra uma distorção no dado comparativo dos resultados. Entretanto a frequência de picos reproduz os picos de referência (observados), e a que melhor se apresentou foi a espécie monoprotonada para ambos os cálculos, e houve uma maior aproximação aos dados de referência. Com a manipulação das opções de entrada no cálculo TFD, podemos atingir resultados mais satisfatórios, como corrigir o uso das funcionais.

### **3.2 - Riparina R-I; R-II; R-III.**

Há um único trabalho espectroscópico das riparinas (I) e (III), encontrados na literatura (MARQUES *et al.*, 2005), no qual foram obtidos os espectros de absorção, emissão a 77K, infravermelho, cálculos Semi-empíricos e Abinitio. Neste trabalho a estrutura molecular da riparina I foi determinada experimentalmente usando difração de raios-X e a estrutura molecular da riparina III foi determinada com cálculos abinitio RHF/6-31G\* a partir da estrutura cristalográfica da riparina I, foi incluído nessa estrutura as duas hidroxilas. A conclusão obtida foi que a riparina III era mais potente como relaxante muscular do que a riparina II e I, devido a planaridade da riparina III e a deslocalização eletrônica extensiva na riparina III em relação a riparina I (MARQUES *et al.*, 2005).

### 3.3.1 – O cálculo TFD para as riparinas.

Neste trabalho foi feito um estudo teórico usando a TFD com as riparinas I, II, III, comparando os resultados dos cálculos com os resultados publicados anteriormente (MARQUES *et al.*, 2005)

A geometria molecular da riparina I foi obtida por difração de raios X e foi usada em todos os cálculos aqui realizados. As estruturas moleculares da riparina II e riparina III, foram otimizadas a partir da estrutura molecular experimental da riparina I, usando Abinitio RHF/6-31G\* e as energias de excitação foram obtidas usando a TFD (6-311+G\*\*).

**Tabela 3** - Resultados do cálculo TFD (6-311+G\*\*) para RI, RII e RIII .

Riparina I					Riparina II				Riparina III				
Trans.	En. (eV)	C.P.T	f-valor	Exp.(eV)	Trans.	En .(eV)	C.P.T	f-valor	Trans.	En. (eV)	C.P.T	f-valor	Exp.(eV)
Singlete					Singlete				Singlete				
S <sub>1</sub> (n,π*)	4,4641	O14→C23	0,0230		S <sub>1</sub> (nπ*)	4,4136	O14→C23	0,0502	S <sub>1</sub> (n,π*)	4,3271	O14→C24	0,0680	-----
S <sub>2</sub> (n,π*)	4,7542	O3→C23	0,0100		S <sub>2</sub> (ππ*)	4,5725	C2→C23	0,1238	S <sub>2</sub> (π,π*)	4,4748	C2→C24	0,0212	4,015
S <sub>3</sub> (n,π*)	5,0223	O14→N1	0,0207	{ 4,356 4,491 5,467 6,122	S <sub>3</sub> (nπ*)	5,0341	O14→C23	0,0255	S <sub>3</sub> (n,π*)	5,0435	O14→C12	0,0338	-----
S <sub>4</sub> (n,π*)	5,0469	O14→C12	0,0192		S <sub>4</sub> (ππ*)	5,0364	C3→C23	0,0139	S <sub>4</sub> (π,π*)	5,1285	C21→C24	0,1421	4,379
S <sub>5</sub> (π,π*)	5,2049	C22→C23	0,0048		S <sub>5</sub> (nπ*)	5,2352	O14→C23	0,0020	S <sub>5</sub> (n,π*)	5,1708	O14→C14	0,0000	-----
S <sub>6</sub> (n,π*)	5,2534	O14→C24	0,0073		S <sub>6</sub> (ππ*)	5,3933	C2→C23	0,0144	S <sub>6</sub> (π,π*)	5,2652	C2→C14	0,0172	4,474
S <sub>7</sub> (n,π*)	5,4502	O14→C14	0,0061		S <sub>7</sub> (ππ*)	5,4092	C16→C23	0,0008	S <sub>7</sub> (π,π*)	5,3104	C21→C24	0,2063	4,977
S <sub>5</sub> (n,π*)	5,4552	O3→C23	0,0030		S <sub>8</sub> (n,π*)	5,4475	O14→C14	0,0170	S <sub>8</sub> (π,π*)	5,3498	C2→C12	0,0003	5,632
S <sub>6</sub> (n,π*)	5,5204	N1→C23	0,1677		S <sub>9</sub> (n,π*)	5,5092	O14→C144	0,2172	S <sub>9</sub> (π,π*)	5,4552	C16→C24	0,0018	5,632
S <sub>7</sub> (n,π*)	5,6476	O3→N1	0,0029	S <sub>10</sub> (n,π*)	5,5424	N1→C23	0,0366	S <sub>10</sub> (nπ*)	5,5010	O14→C12	0,0114	-----	
Triplete					Triplete				Triplete				
T <sub>1</sub> (nπ*)	3,9900	O3→C23			T <sub>1</sub> (π,π*)	3,6070	C2→C23		T <sub>1</sub> (ππ*)	3,4922	C2→C24		
T <sub>2</sub> (nπ*)	4,0149	O14→C12			T <sub>2</sub> (n,π*)	3,9747	N1→C23		T <sub>2</sub> (ππ*)	3,8652	C21→C24		
T <sub>3</sub> (nπ*)	4,1692	O14→C12			T <sub>3</sub> (n,π*)	4,0134	O14→C23		T <sub>3</sub> (nπ*)	4,0134	O14→C12		
T <sub>4</sub> (nπ*)	4,3314	O14→C23			T <sub>4</sub> (n,π*)	4,1666	O14→C23		T <sub>4</sub> (ππ*)	4,1732	C14→C12		
T <sub>5</sub> (nπ*)	4,4640	O14→C23			T <sub>5</sub> (n,π*)	4,3479	O14→C23		T <sub>5</sub> (ππ*)	4,3694	C2→C14		
T <sub>6</sub> (ππ*)	4,5592	C22→C23			T <sub>6</sub> (n,π*)	4,4278	N1→C23		T <sub>6</sub> (nπ*)	4,4536	O14→C24		
T <sub>7</sub> (n,π*)	4,6597	O3→C12			T <sub>7</sub> (π,π*)	4,6594	C16→C23		T <sub>7</sub> (π,π*)	4,6627	C2→C2		
T <sub>8</sub> (ππ*)	4,6970	C22→N1			T <sub>8</sub> (π,π*)	4,7313	C3→C23		T <sub>8</sub> (π,π*)	4,8393	C3→C24		
T <sub>9</sub> (nπ*)	4,7528	N1→C23			T <sub>9</sub> (n,π*)	4,8306	N16→C23		T <sub>9</sub> (nπ*)	5,0466	N1→C24		
T <sub>10</sub> (nπ*)	4,9858	O14→N1			T <sub>10</sub> (n,π*)	5,2169	O14→C23		T <sub>10</sub> (nπ*)	5,1374	O14→C14		

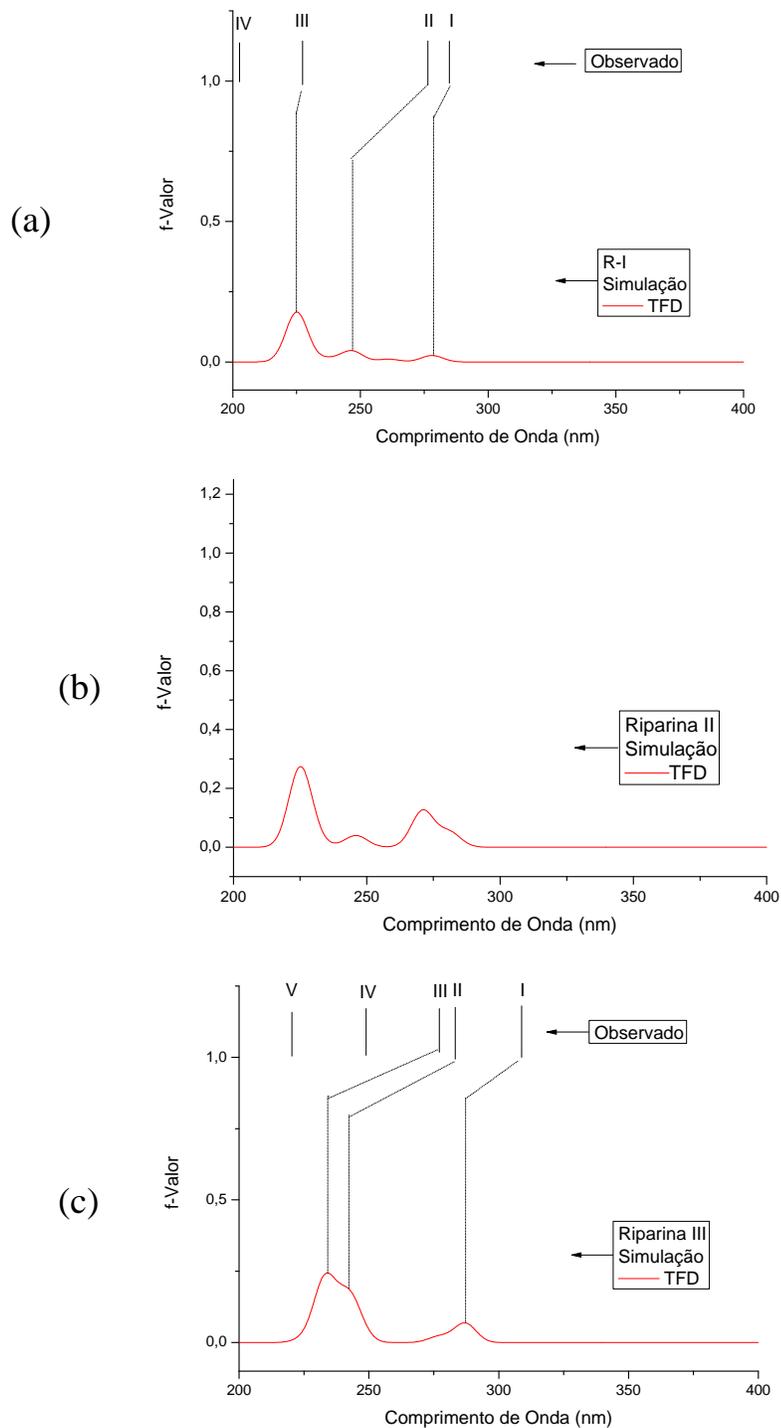
\* Trans. – Transição; En. – Energia; C.P.T. - Contribuição Principal para Transição; Exp. – Experimental.

Na tabela 3, temos os resultados do cálculo TFD/6-311+G\*\*, para as três espécies de riparina (I, II e III), e os valores observados experimentalmente (absorção) para as riparinas I e III. Os estados excitados  $S_1$  de R-I e R-II são originados da transição entre o  $O_{14} \rightarrow C_{23}$ , que forma um estado eletrônico excitado  $(n, \pi^*)$ . O estado  $S_1$  do R-III é originário da transição  $O_{14} \rightarrow C_{24}$  e também forma um estado eletrônico excitado  $(n, \pi^*)$  de menor energia. O estado  $T_1$  do R-I é um estado  $(n, \pi^*)$  originário da transição  $O_3 \rightarrow C_{23}$ , no R-II e R-III o estado  $T_1$  é originário de transições envolvendo o  $C_2 \rightarrow C_{23}$  e o  $C_2 \rightarrow C_{24}$ , respectivamente.

Observa-se que os estados  $S_1$  do R-I, R-II e R-III são originários de transições na mesma região molecular e tem a mesma natureza. Por outro lado os estados  $T_1$  da R-I têm natureza diferente do R-II e R-III. O R-I é  ${}^3(n, \pi^*)_1$  e a R-II e R-III são  ${}^3(\pi, \pi^*)$ . A origem dos estados  $T_1$  para a R-I é completamente diferente de R-II e R-III, porém as transições que formam os estados envolvem a parte alifática e o benzeno hidroxilado. Enquanto que as transições  $S_1$  para as três riparinas envolvem o oxigênio do para-metoxibenzeno (p-mb) com o benzeno que recebe as hidroxilas. Esses resultados podem significar que a atividade das três riparinas está mais associada ao anel benzeno do p-metoxibenzeno.

O gráfico simulando o espectro da R-I, Figura 20(a) mostrou quatro picos para o observado, quando comparados com os resultados dos cálculos TFD, que apresentou três picos com um deslocamento para menores comprimentos de onda.

O gráfico simulando o espectro da R-II, Figura 20(b) mostra quatro picos para a TFD, para essa espécie da riparina não foi possível comparar com o observado por falta de dados devido a problemas na obtenção do cristal.



**Figura 20** - Gráficos simulados com energias de excitação (eV) e força do oscilador (f) calculada por TFD (B3LYP 6-311+G\*\*), comparado com dados observados do espectro de absorção em MCH para: (a)R- I, (b) R- II e (c) R- III.

O gráfico simulando o espectro da R-III, Figura 20(c) mostrou cinco picos para o observado, quando comparados com os resultados do cálculo TFD, apresentou três picos com um deslocamento para menor comprimento de onda.

Por outro lado, na Tabela 4, verificou-se que as cargas atômicas calculadas usando TFD (6-311+G\*\*), aumentaram do p-metoxibenzeno(p-mb) para o anel benzeno hidroxilado de forma gradual e de acordo com o aumento da potência das drogas.

**Tabela 4** - Cargas atômicas das Riparinas calculadas por TFD/6-311+G\*\* do Spartan '06.

Grupos	Átomos	RIPARINA I	RIPARINA II	RIPARINA III
p-mb*	C11	-0.008005	-0.012228	0.063432
	C12	-0.162789	-0.160167	-0.196661
	C13	-0.415204	-0.406922	-0.402148
	C14	0.696831	0.679753	0.678190
	C15	-0.579821	-0.562865	-0.561537
	C16	-0.003392	0.000553	-0.034390
OH-b*	C21	0.048956	-0.297070	-0.754107
	C22	-0.166502	0.556367	0.698647
	C23	-0.108607	-0.344667	-0.485433
	C24	-0.138195	-0.068147	0.014126
	C25	-0.126018	-0.222946	-0.518746
	C26	-0.194109	-0.118749	0.694102

\*p-mb (p-metoxibenzeno); OH-b (Hidroxibenzeno).

Os cálculos das coordenadas internas das riparinas indicaram que a R-III tem estrutura planar, porém ocorre a formação de ligação de hidrogênio intermolecular entre o hidrogênio da hidroxila e o oxigênio da carbonila, mas não ocorre a ligação de hidrogênio intermolecular entre o hidrogênio da hidroxila e o N da amina secundária. Os ângulos diedrais N<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>21</sub>-C<sub>6</sub> e O<sub>3</sub>-

C<sub>3</sub>-C<sub>21</sub>-C<sub>22</sub>, são 25,33° e 25,27°, ficando menos planar que a R-II que os ângulos são 17,88° e 16,58° respectivamente (Tabela 5).

**Tabela 5** - Coordenadas internas das Riparinas calculados por RHF/6-31G\*.

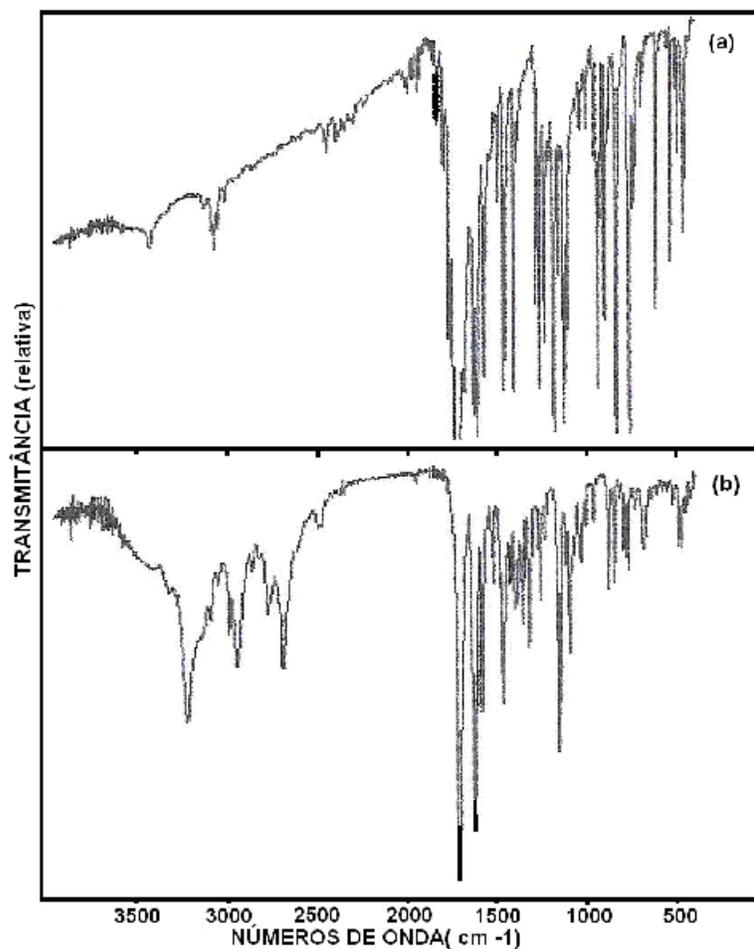
Moléculas	Ângulo diedral N1- C3-C21-C26	Ângulo diedral O3 -C3- C21-C22
R-I	26,94	25,26
R-II	17,88	16,58
R-III	25,33	25,27

De acordo com o cálculo das coordenadas internas das riparinas há a indicação que a R-II é a estrutura mais planar. Os ângulos diedrais N<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>21</sub>-C<sub>6</sub> e O<sub>3</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>21</sub>-C<sub>22</sub>, ambos do anel benzeno hidroxilado, são 17,88° e 16,58° para a R-II e 25,33° e 25,27° para a R-III, a mais potente.

### 3.3– DHMC

#### 3.3.1 – Espectro Infravermelho do DHMC.

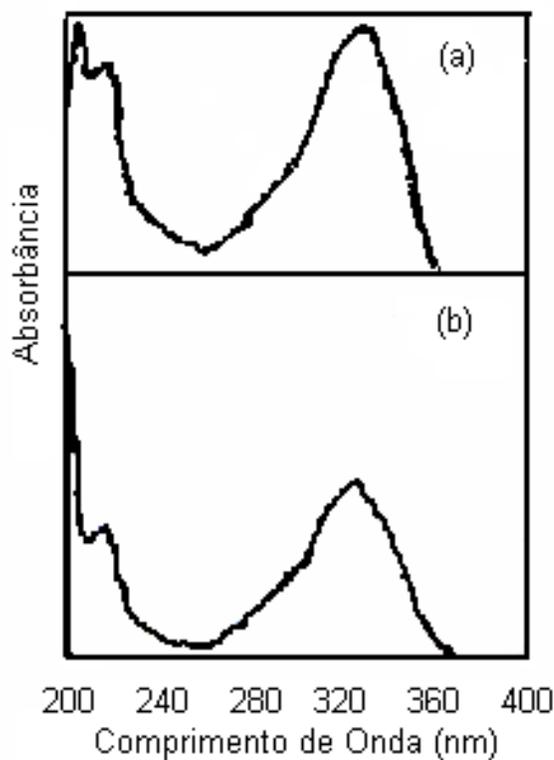
A DHMC existe na forma de monocatión no qual o nitrogênio da amina terciária é protonado. Na figura 21, está o espectro Infravermelho: (a) cumarina (1,2-Benzopirona) e (b) a DHMC monoprotionada. Comparando os dois espectros verifica-se que há muitas diferenças entre os dois espectros, mas a principal está na faixa espectral 2500 - 2800 cm<sup>-1</sup>, esta banda corresponde ao (≡NH<sup>+</sup>), amina protonada (LIN *et al.*, 1987; DOLPHIN & WICK, 1977), que é a banda ausente no espectro da cumarina. Esta observação indica que a mono protonação da DHMC ocorre realmente no N da amina terciária.



**Figura 21** - Espectro Infravermelho em KBr: (a) cumarina (1,2-Benzopirona) e (b) a DHMC monoprotonada.

### 3.3.2 – Os espectros de Absorção das espécies do DHMC

Os espectros de absorção do DHMC foram obtidos a 298K e as amostras foram preparadas na concentração de  $1 \times 10^{-4}$ M dissolvidas em: (a) etanol e (b) água, Figura 22.



**Figura 22** - Espectro de absorção do DHMC: (a) etanol e (b) água, Todos na concentração de  $1 \times 10^{-4}$  M.

A Figura 22(a) mostra o espectro do DHMC dissolvido em etanol, e apresentou três bandas I, II, III. Há duas bandas fortes (I) e (III). A banda (I) tem um máximo em 327,96 nm (2,0367). A banda (III) tem dois picos situados em 220,15nm (1,709, banda IIIa), e um outro situado em 207,05 nm (absorbância, au, 2,0539, banda IIIb). Observou-se um pico pequeno na banda II situado entre as bandas I e III em 254,91nm (0,29040). Esse espectro foi assinalado como proveniente da espécie ligada por ligação de hidrogênio intermolecular formada entre o DHMC base livre (desprotonado) e o solvente etanol, envolvendo o grupo carbonila do DHMC e o grupo hidroxila do etanol (DHMC-H). A Figura 22(b) mostra o espectro do DHMC dissolvido em água. Ele apresenta duas bandas fortes (I) e (III). A banda (I) tem um pico em 323,93nm (0,94535). A banda (III) tem dois picos, o primeiro situado em

218,14nm (0,73744), banda (IIIa) e o segundo situado em 201,51nm (1,9913), banda IIIb. Há um pequeno pico na banda II entre as bandas I e III em 252,39nm (0,092801). Este espectro foi considerado como resultante da espécie monoprotonada (DHMC<sup>+</sup>). Todas as bandas observadas foram assinaladas como originárias de transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  e nenhuma banda foi identificada como resultante das transições  $n \rightarrow \pi^*$ . Provavelmente, essas fracas transições  $n \rightarrow \pi^*$  estão situadas em menores energias na banda I.

As características espectrais são similares nos espectros da figura 22(a) e (b), entretanto, pode-se observar que na figura 22(a) todos os picos da banda III, e o máximo da banda I têm suas intensidades relativas aumentadas e todas as bandas são deslocadas para o vermelho quando comparada com a Figura 22(b). O máximo da banda (I) está deslocado para o vermelho cerca de 4,03 nm. O pico IIIa está deslocado para o vermelho 2,01 nm e o pico da banda IIIb está deslocado para o vermelho 5,54 nm. O deslocamento para o vermelho do espectro e a mudança das intensidades relativas observada na Figura 22(a) são características das transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  do anel aromático e são devido aos efeitos da ligação de hidrogênio intermolecular entre o DHMC e o etanol. Por outro lado, as características espectrais mostradas na Figura 22(b) sugerem que uma forte mudança eletrônica ocorre na espécie DHMC<sup>+</sup> dando maior importância a amina terciária do que a carbonila em relação a fotoatividade no DHMC<sup>+</sup>. Finalmente, as pequenas diferenças entre os espectros das Fig. 22(a) e (b) levam a acreditar que ambas as espécies tem o mesmo cromóforo absorptivo. Os espectros de absorção do DHMC dissolvido em etanol e em água a uma concentração de  $1 \times 10^{-5}M$  (não mostrado) tem características espectrais similares a aqueles das Figuras 22(a) e (b), porém com intensidade relativa menor.

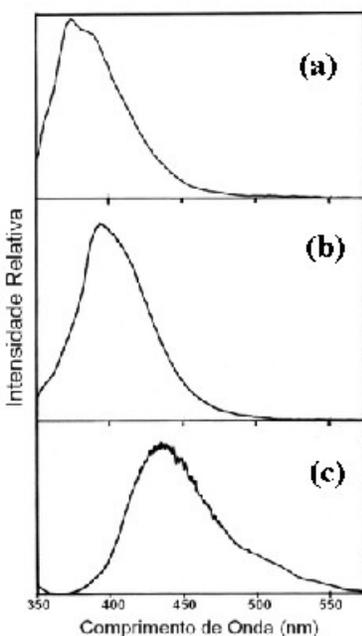
### 3.3.3 – Espectro de emissão para o DHMC.

A Figura 23 mostra o espectro de emissão do DHMC em etanol (a), etanol mais TFE (b), ambos na concentração  $1 \times 10^{-4}$  M e água (c) na concentração  $1 \times 10^{-3}$  M.

O espectro da Figura 23(a) mostra uma emissão fraca azul-violeta constituída de uma banda de fluorescência com dois máximos: uma a 373nm e 388nm e uma banda de fosforescência muito fraca com uma banda 0-0 situada provavelmente em  $\approx 480$ nm. A intensidade da fluorescência é maior que a da fosforescência. O tempo de vida da fosforescência com o sistema espectroscópico sintonizado em 480nm foi de  $t = 1,7$ s, que é um tempo de vida longo e emitido pelo estado  $^3(\pi,\pi^*)$ . A emissão não é forte e foi assinalada como originária de duas espécies que coexistem em equilíbrio, o DHMC-H e o  $\text{DHMC}^+$ . Essas observações sugerem que quando a espécie  $\text{DHMC}^+$  está dissolvida em etanol, ela desprotona um pouco e as duas espécies  $\text{DHMC}^+$  e DHMC-H são mantidas em equilíbrio na solução mesmo em concentrações pequenas.

A Figura 23 (b) mostra um espectro de emissão do DHMC dissolvido em etanol a uma concentração de  $1 \times 10^{-4}$  M com a adição de algumas gotas de TFE, este espectro mostrou uma forte emissão azul e as características espectroscópicas são somente um pouco diferente das observadas no espectro da Figura 23(a). A banda da fluorescência tem somente um máximo situado em 390 nm e ele está deslocado para o vermelho 17nm em relação aos dois máximos da banda de fluorescência mostrado na Figura 23(a). Sua forma espectral e a intensidade forte da emissão, indicaram que a emissão é provavelmente proveniente de um estado emissor  $S_1 (\pi,\pi^*)$ . A banda da fosforescência é muito fraca e tem uma banda 0-0 provavelmente situada em  $\approx$

500nm. O tempo de vida da fosforescência foi medido com o sistema espectroscópico situado em 500 nm com  $t=2,0s$ , indicando que a fosforescência deriva de um estado emissor  $T_1 (\pi,\pi^*)$ . Essas observações sugerem que o equilíbrio entre o  $DHMC^+$  e o  $DHMC-H$  foi deslocado para a espécie  $DHMC-H$ , devido o TFE ( $pK_a = 12,4$ ) (LIN *et al.*, 1981) ser mais ácido do que o etanol ( $pK_a = 16$ ) (LIN *et al.*, 1981). Então essa emissão foi assinalada como resultante do monômero do  $DHMC-H$ .



**Figura 23** - Espectro de emissão da DHMC base livre a 77 K em: (a) etanol a  $1 \times 10^{-4}$  M; (b) etanol + um gota de 2,2,2-trifluoretanol a  $1 \times 10^{-4}$  M e (c) água  $1 \times 10^{-3}$  M.

A Figura 23(c) mostra os espectros de emissão do DHMC dissolvido em água na concentração de  $1 \times 10^{-3}$  M a emissão e de cor azul. Suas características espectrais comparadas com o espectro da Figura 23(b) são diferentes. Foi observada uma banda larga de fluorescência, mais intensa do que a banda de fosforescência. O máximo da banda de fluorescência esta

situado em 435nm e está deslocado para o vermelho cerca de 45 nm em relação ao máximo da banda fluorescência mostrado na Figura 23(b). Provavelmente a emissão da fluorescência origina-se de um estado emissor ( $\pi, \pi^*$ ). A banda de fosforescência muito fraca tem uma banda 0-0 situada provavelmente em  $\approx 517\text{nm}$  e o tempo de vida da fosforescência, obtido com o sistema espectroscópico sintonizado em 517 nm com  $t = 0,3\text{s}$ , indicando que a emissão da fosforescência é proveniente de um estado emissor  $^3(\pi, \pi^*)$ . Essas evidências experimentais indicam que a monoproteção do N da amina terciária, interrompe um acoplamento eletrônico forte que está presente na espécie DHMC-H, modificando o comportamento fotofísico da espécie.

Geralmente as cumarinas têm uma emissão de fosforescência com uma estrutura vibrônica bem resolvida e mais intensa que a fluorescência. Estudos de alta resolução e a análise vibracional da banda fosforescência de algumas cumarinas, furo-cumarinas concluíram que o estado emissor  $^3(\pi, \pi^*)$  está parcialmente localizado na dupla ligação etilênica  $C_3 = C_4$  do anel da pirona. A estrutura vibracional é resultante do modo vibracional fora do plano da ligação C-H que está associada à dupla ligação etilênica do anel da pirona (MATULIN & SONG, 1973; MARQUES & MARQUES, 1994). Os espectros de emissão das Figuras 23(a) e (b) mostraram que as espécies do DHMC, têm características espectrais e propriedades fotofísicas diferentes das cumarinas, embora seja uma cumarina. As principais diferenças são: a banda de fluorescência é mais intensa do que a banda da fosforescência e que a banda da fosforescência aparentemente não apresenta estrutura vibracional. Isto significa que os dois substituintes nas posições  $C_3 = C_4$ , existentes na molécula DHMC devem ser o motivo dessas diferenças e provoca o desaparecimento do modo vibracional fora do plano do C-H, observado nas cumarinas comuns que não tem esses tipos de substituições em suas estruturas moleculares.

A identificação das espécies do DHMC nas vizinhanças aquosa e alcoólica foi feita através de um cuidadoso e detalhado estudo espectroscópico. Todos os espectros foram consistentes, claros e reprodutíveis. Observou-se que o DHMC tem duas espécies ativas no meio alcoólico, o DHMC-H e o DHMC<sup>+</sup> em equilíbrio quando o álcool era o etanol, porém quando o álcool era o TFE, foi observada apenas uma espécie, o DHMC-H, e no meio aquoso foi observado a espécie DHMC<sup>+</sup>. Todas as espécies ativas mostraram distintas e bem caracterizadas propriedades fotofísicas em cada vizinhança. Não foi observada nenhuma espécie do tipo agregação molecular.

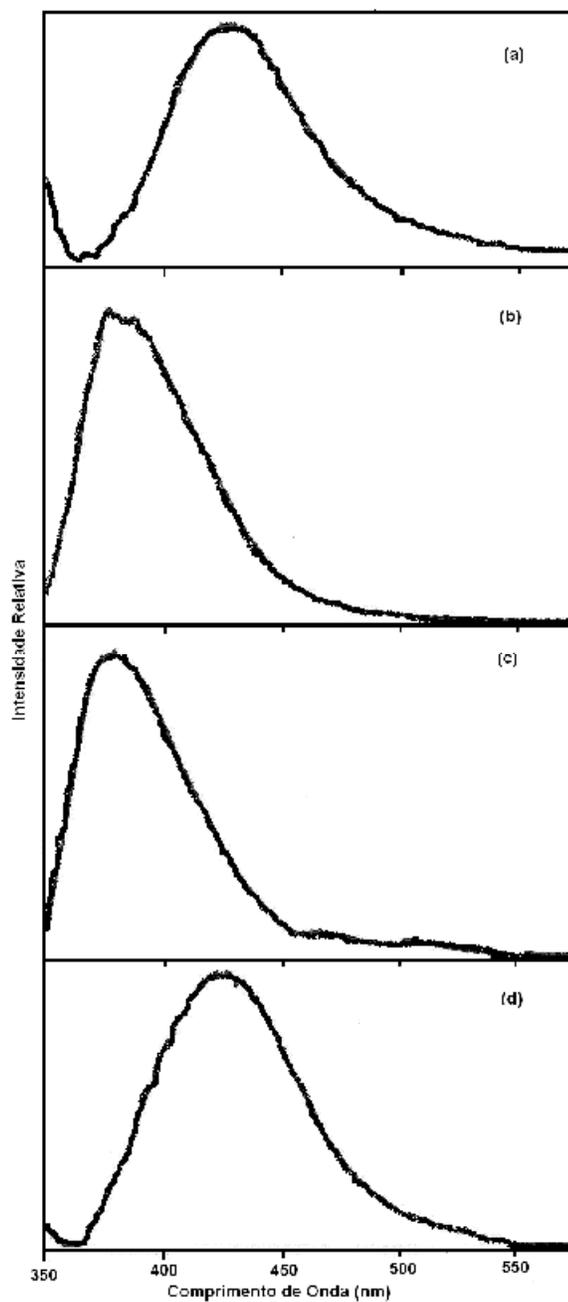
### **3.3.4 - Solubilização das espécies do DHMC em soluções micelares neutra e com cargas.**

O DHMC apresentou duas espécies: DHMC-H e DHMC<sup>+</sup>. Como elas foram bem caracterizadas através da espectroscopia de emissão a 77K é possível identificar as espécies que interagem com a membrana e determinar se a espécie está localizada no interior da membrana. Aqui usamos as micelas neutra, catiônica e aniônica para imitar uma membrana biológica. As micelas são conhecidas por orientar moléculas orgânicas dentro de caroço do hidrocarboneto ((MUTHURAMA & RAMAMURTHY, 1982; MERTZ & LIN, 1991; MENGER, 1979; MENGER *et al.*, 1980). Elas foram produzidas dentro de uma solução tampão com pH fisiológico e força iônica controlada. O DHMC foi adicionado nesses sistemas nano-estruturados e as medidas espectroscópicas de emissão foram usadas para sondar o comportamento das espécies no ambiente micelar a 77K. Várias investigações indicam que a integridade das estruturas moleculares das micelas são mantida a 77K (MENGER *et al.*, 1980; MARQUES *et al.*, 2000; MARQUES *et al.*, 2002; LIN

*et al.*, 1992; NARAYANA, 1981) e mesmo sob a temperatura de 4,2 K as estruturas das micelas ficaram intactas (GLOSH *et al.*, 1986). Os resultados experimentais obtidos neste estudo foram consistentes e reprodutíveis sem considerar se o congelamento das amostras com micelas foram rápidas ou lentas. Os resultados obtidos no LTMB deram evidência indireta de que há retenção da integridade estrutural das micelas durante o processo de congelamento.

O estudo do DHMC com micelas à temperatura ambiente não foi possível devido a fluorescência ser muito fraca para ser detectada em todos os solventes usados aqui com nosso equipamento. Devido a importância da emissão da fosforescência na fotoatividade das cumarinas, estudamos o comportamento do DHMC em soluções micelares a 77K. Na Figura 24(a) são mostrados os espectros de emissão a 77K para o DHMC<sup>+</sup> adicionado dentro de uma solução tampão aquosa com pH=7,0, com uma concentração de  $1 \times 10^{-4}$  M e na Figura 24(b), (c) e (d), são mostrados medidos a 77K para o DHMC<sup>+</sup> dissolvido em soluções micelares, todas elas na concentração  $1 \times 10^{-4}$ M: (b) em triton X-100, micela neutra, (c) em LS, micela aniônica e em (d) em HAD, micela catiônica.

O espectro de emissão da Figura 24 (a) tem uma brilhante emissão azul que mostra o máximo da fluorescência situado em 428nm e uma fosforescência com a banda 0-0 provavelmente situada em 533nm. O tempo de vida da fosforescência obtido com o sistema espectroscópico situado em 533nm foi  $t = 0,2$ s. Observou-se que a emissão tem característica similar ao da espécie DHMC<sup>+</sup> mostrada na Figura 23(c). Comparando ambos os espectros notou-se que apresentaram pequena diferença um do outro; na Figura 24(a) a emissão é um pouco deslocada para o azul e o tempo de vida da fosforescência é menor, provavelmente, este fato se deve as diferenças do DHMC<sup>+</sup> dissolvido em água.



**Figura 24** - Espectros de emissão a 77K para o DHMC<sup>+</sup>: (a) solução tampão aquosa com pH=7,0; em soluções micelares: (b) em triton X-100, micela neutra; (c) em LS, micela aniônica e (d) em HAD, micela catiônica. Todas na concentração  $1 \times 10^{-4}$ M.

Na Figura 24(b), o DHMC<sup>+</sup> foi estudado em soluções micelares neutra, aniônica e catiônica. Nas soluções micelares neutra e aniônica, os dois espectros de emissão mostraram a banda de fluorescência com um máximo em 377nm e quando dissolvido em solução de micelas catiônicas o máximo da banda de fluorescência esteve em 423nm. Todos os espectros mostraram uma fosforescência muito fraca, e somente na solução com micelas aniônicas a banda de fosforescência mostrou uma fraca estrutura vibrônica com a banda 0-0 provavelmente situada em 467nm. Este é um comprimento de onda muito similar àquele observado para a banda 0-0 da fosforescência oriunda da emissão da cumarina dissolvida em metilciclohexano e etanol, na concentração  $1 \times 10^{-4}$  M, (465,7nm) obtida a 77K (MARQUES & MARQUES, 1994). As micelas aniônicas têm altas cargas negativas na interface do lado de fora da estrutura micelar. Esta situação provoca uma atração entre o DHMC<sup>+</sup> carregado positivamente e a interface carregada negativamente do surfactante. Então quando o DHMC<sup>+</sup> penetra no interior da estrutura micelar a espécie é mantida orientada no interior da micela aniônica no rabo do surfactante hidratado (MENGER & BOYER, 1980). O tempo de vida da fosforescência é  $t = 3,2$ s em micelas neutra,  $t = 1,8$ s em micelas aniônicas, e  $t = 0,2$ s em micelas catiônicas.

As características espectrais do espectro de emissão da Figura 24(b) e (c), foram similares ao espectro de emissão do DHMC-H dissolvido em TFE. O espectro foi somente um pouco deslocado para o azul, devido, não haver a formação de um complexo através de forte ligação de hidrogênio, como foi observado na Figura 23(b). Os tempos de vida da fosforescência são diferentes entre eles. Isto é devido a espécie DHMC<sup>+</sup> estar dissolvida em meio micelar sugerindo que as propriedades fotofísicas das espécies do DHMC serem sensíveis a vizinhança. Os espectros das Figuras 24(b) e (c) indicaram que em ambos os meios, o DHMC<sup>+</sup> desprotona e penetra no interior da micela e a

espécie solubilizada fica ancorada na região aquosa. A espécie solubilizada forma um complexo por ligação de hidrogênio intermolecular com a vizinhança micelar. As características do espectro na Figura 24(d) sugerem que o  $\text{DHMC}^+$  não penetra no interior da micela provavelmente devido à alta concentração de carga positiva na interface do lado de fora da micela, provocando uma repulsão entre o  $\text{DHMC}^+$  e micela catiônica. Comparando a Figura 24(a) e (d) pode-se notar que na Figura 24(d), o máximo da banda de fluorescência está situada em 423nm, muito próximo ao máximo da banda de fluorescência no espectro mostrado na Figura 24(a). Na Figura 24(d) o tempo de vida da fosforescência é  $t = 0,2\text{s}$ , o que é muito próximo daquele do espectro da Figura 24(a). As características espectrais entre os dois espectros de emissão são muito similares. Isto leva a assinalar que a emissão obtida do  $\text{DHMC}^+$  dissolvida em micelas catiônicas é originária da mesma espécie emissora assinalada na Figura 24(a), isto é, a espécie  $\text{DHMC}^+$ .

Pode-se justificar a formação da estrutura micelar dentro das soluções de duas maneiras. Primeiro, devido a mudança nas características espectrais observadas em todos os espectros (Figura 24(b), (c) e (d) quando comparados com as características espectrais do  $\text{DHMC}$  dissolvido em solução tampão(Figura 24(a)). Segundo, os espectros de emissão do  $\text{DHMC}^+$  em vizinhanças micelares são deslocadas para o azul em micelas neutra e aniônica. Em micela aniônica, uma fraca estrutura vibracional aparece na banda da fosforescência. O  $\text{DHMC}^+$  adicionado em micelas catiônicas mostra um espectro similar ao espectro do  $\text{DHMC}^+$  em solução tampão.

É concebível que as forças diretoras da espécie  $\text{DHMC-H}$  para a solubilização em micelas com cargas são diferentes daquela em micelas neutra. Em micelas aniônica e neutra, o  $\text{DHMC-H}$  está ancorado no interior da região micelar hidrofílica. Nas micelas catiônicas, a espécie  $\text{DHMC}^+$  não penetra no

interior das micelas e a espécie DHMC-H não é formada. A espécie DHMC<sup>+</sup> fica ancorada do lado externo da estrutura micelar.

### **3.3.5 - Cálculos de orbitais moleculares para o DHMC.**

Primeiramente foi otimizada a geometria do DHMC base livre com o método Semi-empírico AM1. Os dados de entrada para o cálculo com o método AM1 foram preparados a partir da estrutura cristalográfica da cumarina “molécula mãe” (CSORECH, 1976) e otimizou-se a inclusão dos substituintes hidroxil, metil e amina terciária, nas posições 7, 4 e 3. A molécula isolada foi considerada para simular a molécula em meio hidrofóbico não-polar. Logo após o complexo intermolecular entre o DHMC e o etanol foi otimizado. Neste trabalho esse sistema molecular foi expresso como DHMC-H, o complexo é considerado para simular a molécula em meio etanólico. Finalmente foi otimizado o monocatión do DHMC que aqui está expresso como DHMC<sup>+</sup>. A molécula do monocatión representa o DHMC dissolvido em água. As estruturas moleculares otimizadas foram usadas como dados de entrada para os cálculos de energia de excitação e força do oscilador dessas três espécies do DHMC, usando o método ZINDO e os resultados estão na Tabela 6.

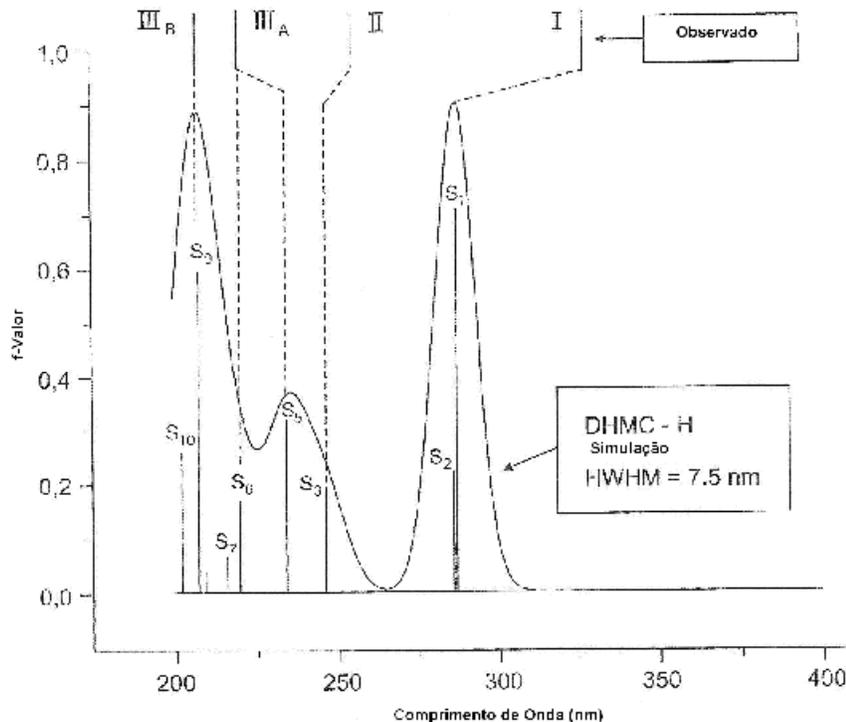
**Tabela 6** - Resultados do cálculo ZINDO e experimental (dissolvido em etanol e água) para o DHMC Base livre, ligação hidrogênio (etanol) e monocátion (água).

Base Livre				Ligação Hidrogênio				Monocátion					
Trans,	En, (eV)	C,P,T	f-valor	Trans,	En,(eV)	C, P,T	f-valor	Exp, (eV) (etanol)	Trans,	En,(eV)	C,P, T,	f-valor	Exp, (eV) (H <sub>2</sub> O)
Singlete				Singlet				Singlet					
S <sub>1</sub> (nπ*)	4,327	N14→C4	0,3097	S <sub>1</sub> (ππ*)	4,323	C3→C4	0,6773	3,780	S <sub>1</sub> (ππ*)	3,941	C5→C4	0,8103	3,827
S <sub>2</sub> (nπ*)	4,362	N14→C4	0,5794	S <sub>2</sub> (nπ*)	4,336	N14→C4	0,2224	----	S <sub>2</sub> (ππ*)	4,657	C9→C4	0,1109	4,912
S <sub>3</sub> (ππ*)	5,176	C9→C4	0,1909	S <sub>3</sub> (ππ*)	5,038	C9→C4	0,1828	4,864	S <sub>3</sub> (nπ*)	5,090	O11→C4	0,0007	-----
S <sub>4</sub> (nπ*)	5,235	O11→C4	0,0601	S <sub>4</sub> (nπ*)	5,072	O11→C4	0,0010	----	S <sub>4</sub> (ππ*)	5,238	C5→C10	0,4647	} 5,683
S <sub>5</sub> (nπ*)	5,385	N14→C10	0,2460	S <sub>5</sub> (ππ*)	5,289	C3→C10	0,3179	} 5,631	S <sub>5</sub> (ππ*)	5,772	C5→C9	0,0986	
S <sub>6</sub> (nπ*)	5,702	N14→C10	0,0843	S <sub>6</sub> (ππ*)	5,642	C3→C2	0,1692		----	S <sub>6</sub> (ππ*)	5,903	C9→C10	0,5590
S <sub>7</sub> (nπ*)	5,712	N14→C2	0,1736	S <sub>7</sub> (nπ*)	5,777	N14→C10	0,0647	----	S <sub>7</sub> (πδ*)	5,961	C5→N14	0,0702	-----
S <sub>8</sub> (nπ*)	5,787	N14→C2	0,0712	S <sub>8</sub> (nπ*)	5,913	N14→C2	0,0416	----	S <sub>8</sub> (ππ*)	6,179	C4→C4	0,3927	} 6,152
S <sub>9</sub> (ππ*)	5,986	C4→C4	0,2315	S <sub>9</sub> (ππ*)	5,971	C9→C10	0,5923	5,988	S <sub>9</sub> (πδ*)	6,419	C5→C4	0,0027	
S <sub>10</sub> (ππ*)	6,135	C9→C10	0,5464	S <sub>10</sub> (ππ*)	6,120	C9→C2	0,2566		S <sub>10</sub> (ππ*)	6,694	C5→C2	0,0013	
Triplet				Triplet				Triplet					
T <sub>1</sub> (nπ*)	3,265	N14→C4		T <sub>1</sub> (ππ*)	3,076	C3→C4			T <sub>1</sub> (ππ*)	2,674	C5→C4		
T <sub>2</sub> (ππ*)	3,600	C9→C10		T <sub>2</sub> (ππ*)	3,607	C9→C10			T <sub>2</sub> (ππ*)	3,923	C5→C10		
T <sub>3</sub> (nπ*)	3,857	N14→C4		T <sub>3</sub> (nπ*)	4,018	N14→C4			T <sub>3</sub> (ππ*)	3,977	C9→C4		
T <sub>4</sub> (ππ*)	4,281	C9→C4		T <sub>4</sub> (ππ*)	4,217	C9→C4			T <sub>4</sub> (ππ*)	4,328	C9→C10		
T <sub>5</sub> (nπ*)	4,594	N14→C10		T <sub>5</sub> (ππ*)	4,318	C3→C10			T <sub>5</sub> (ππ*)	4,464	C4→C4		
T <sub>6</sub> (nπ*)	4,696	N14→C2		T <sub>6</sub> (ππ*)	4,583	C3→C2			T <sub>6</sub> (ππ*)	4,804	C5→C9		
T <sub>7</sub> (ππ*)	4,811	C4→C4		T <sub>7</sub> (ππ*)	4,741	C4→C4			T <sub>7</sub> (nπ*)	4,960	O11→C4		
T <sub>8</sub> (nπ*)	4,812	O11→C4		T <sub>8</sub> (nπ*)	4,935	O11→C4			T <sub>8</sub> (ππ*)	5,401	C9→C9		
T <sub>9</sub> (ππ*)	5,352	C9→C2		T <sub>9</sub> (ππ*)	5,029	C9→C2			T <sub>9</sub> (πδ*)	5,610	C5→N14		
T <sub>10</sub> (nπ*)	5,4223	N14→C2		T <sub>10</sub> (nπ*)	5,604	N14→C10			T <sub>10</sub> (ππ*)	6,007	C5→C2		

\* Trans. – Transição; En. – Energia; C.P.T. – Contribuição Principal para Transição; Exp. – Experimental

Os resultados concordaram razoavelmente bem com os espectros de absorção mostrados nas Figuras 22(a) e (b). Nos cálculos de energias de excitação para o DHMC base livre o  $S_1$  e  $S_2$ , foram assinalados como uma transição  $n \rightarrow \pi^*$ . Esses estados são originários de transições que envolvem o  $N_{14}$  até o  $C_4$ , ver Figura 3. Ela é uma transição do tipo longa-faixa envolvendo o orbital  $n$  da amina terciária que está presa ao  $C_3$  e o orbital  $\pi^*$  da dupla ligação  $C_3 = C_4$ .

Usando as energias de transição calculadas e o  $f$ -valor do DHMC-H, um espectro de absorção foi simulado, Figura 25. O espectro simulado pode ser comparado com o espectro de absorção observado na Figura 22(a). As posições dos picos observados obtidos da Figura 22(a) estão indicadas no topo da Figura 25. A banda forte I observada em 327,96 nm é composta de duas transições localizadas muito próximas,  $S_1 (\pi, \pi^*)$  e  $S_2 (n, \pi^*)$  (Figura 25 e Tabela 6). A banda II muito fraca é devido à formação do estado  $S_3 (\pi, \pi^*)$ . No espectro simulado, o  $S_3 (\pi, \pi^*)$  está debaixo do ombro de uma banda. A banda III<sub>A</sub> observada é provavelmente composta de  $S_5 (\pi, \pi^*)$  e  $S_6 (\pi, \pi^*)$ . A banda III<sub>B</sub> forte observada consiste muito provavelmente de  $S_9 (\pi, \pi^*)$  e  $S_{10} (\pi, \pi^*)$ . Se  $S_5$  está localizado próximo de  $S_6$  e a intensidade do  $S_3$  é um pouco menor, o espectro simulado reproduziria as características do espectro observado do que está sendo mostrado na Figura 24. De acordo com os cálculos ZINDO para o DHMC-H, a emissão da fluorescência é devido aos estados  $S_1 (\pi, \pi^*)$   $S_2 (n, \pi^*)$ . Os dois estados estão localizados muito próximos. A separação é de somente 0,013 eV ( $104 \text{ cm}^{-1}$ ). Eles são quase degenerados.



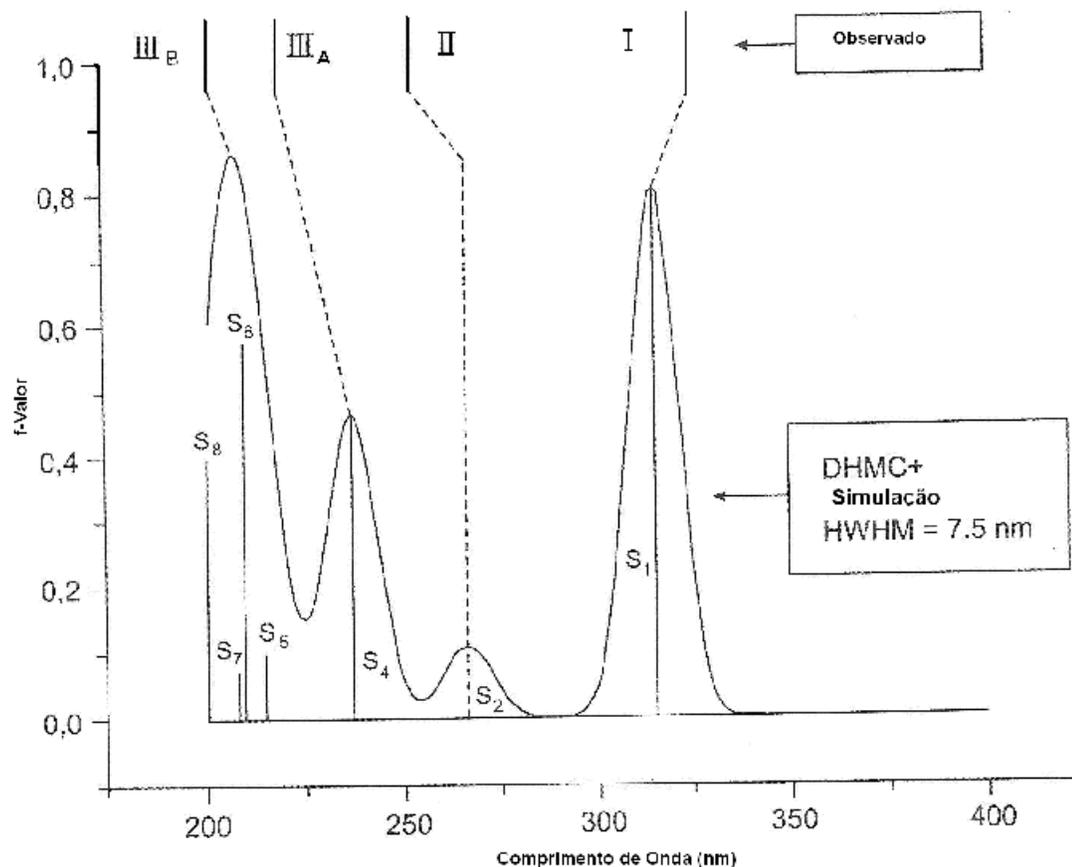
**Figura 25** - Espectro de absorção simulado Usando as energias de transição calculadas e o f-valor do DHMC-H.

Esses resultados teóricos estão de acordo com as observações experimentais e justificam a emissão fraca observada quando o DHMC está dissolvido em etanol e a emissão forte observada no TFE. A emissão do DHMC-H depende fortemente da natureza do solvente. Os efeitos do solvente nas propriedades fotofísicas do DHMC-H provavelmente são devido a proximidade dos dois estados  $S_2$  ( $n,\pi^*$ )  $S_1$  ( $\pi,\pi^*$ ) (LAI *et al.*, 1982). Os dois picos observados na banda da fluorescência do DHMC-H dissolvido em etanol, Figura 23(a), seria resultante do equilíbrio entre as espécies do DHMC base livre e o DHMC-H cujo os estados emissores são  $^1(n,\pi^*)$   $^1(\pi,\pi^*)$ , respectivamente. A banda de fosforescência mais fraca observada na emissão do DHMC-H dissolvido em etanol provavelmente é devido a um mecanismo de acoplamento spin-orbital de segunda ordem:  $^1(n,\pi^*)_2 \approx ^1(\pi,\pi^*)_1, \approx ^3(n,\pi^*)_4 \approx$

$^3(n,\pi^*)_3, \approx ^3(\pi,\pi^*)_2, \approx ^3(\pi,\pi^*)_1$ . A emissão fraca da fosforescência poderia ser justificada pela perturbação devido a proximidade entre  $S_2$  e  $S_1$ . O efeito da proximidade diminui a velocidade do acoplamento spin-orbital.

Por outro lado, o DHMC-H dissolvido no TFE, Figura. 23(b), mostrou um espectro com emissão forte que se origina do monômero do DHMC-H formado por uma ligação de hidrogênio forte. A emissão de fluorescência seria originária do estado  $^1(\pi,\pi^*)_1$  devido ao efeito da ligação de hidrogênio. A ligação de hidrogênio forte separaria os estados  $^1(n,\pi^*)$  e  $^1(\pi,\pi^*)$ . Isto pode ser confirmado pelos cálculos ZINDO. A forte ligação de hidrogênio provoca um aumento na diferença de energia entre os estados  $^1(n,\pi^*)$  e  $^3(\pi,\pi^*)$ . Isto causa a diminuição da velocidade do acoplamento spin-orbital. Como consequência, a emissão de fosforescência é muito fraca.

A Figura 26 é um espectro de emissão simulado do  $\text{DHMC}^+$  baseado nos resultados dos cálculos ZINDO para o  $\text{DHMC}^+$ , Tabela 6. O espectro simulado reproduz razoavelmente bem as características principais daquele observado na Figura 22(b). O espectro simulado ajuda o assinalamento do espectro observado. A banda I menor observada é devido a uma única transição. A protonação no N da amina terciária causa uma grande separação entre os estados  $^1(\pi,\pi^*)$  e  $^1(n,\pi^*)$ . A transição faixa-longa entre o N da amina terciária e  $C_4$  desaparece e devido a isso, o espectro de absorção do  $\text{DHMC}^+$  tornou-se um pouco diferente do espectro de absorção do DHMC-H, ver Figura 22(a) e (b). Observou-se que todas as bandas estavam deslocadas para o azul no espectro do  $\text{DHMC}^+$  e a banda III do espectro  $\text{DHMC}^+$  mostrou dois picos  $\text{III}_A$  e  $\text{III}_B$  com diferentes intensidades. O pico observado  $\text{III}_A$  pode ser assinalado como  $S_4$ . A mais forte banda  $\text{III}_A$  pode ser assinalada como composta de no mínimo quatro transições  $S_5, S_6, S_7$  e  $S_8$ . A baixa intensidade da banda II pode ser assinalada como  $S_2$ .



**Figura 26** - Espectro de emissão simulado do  $\text{DHMC}^+$  baseado nos resultados dos cálculos ZINDO para o  $\text{DHMC}^+$ .

O espectro de emissão do  $\text{DHMC}^+$  na Figura 23(c) é substancialmente diferente daquele do  $\text{DHMC-H}$  mostrado na Figura 23(a) e (b). A protonação provoca uma drástica mudança nas propriedades fotofísicas. No caso do  $\text{DHMC}^+$ , os estados  $S_1$  e o  $T_1$  foram assinalados como  $(\pi, \pi^*)$ . Os estados  $S_1$  e  $T_1$  são resultantes da transição  $\pi C_5=C_6 \rightarrow \pi^* C_3=C_4$ . O estado  $(n, \pi^*)$  é originário do N da amina terciária para o  $\pi^*$  do  $C_3 = C_4$  no anel da pirona e desaparece completamente no  $\text{DHMC}^+$ . As emissões de fluorescência e fosforescência apresentaram-se deslocadas para o vermelho e a emissão da fosforescência é muito fraca. Essas observações podem ser justificadas pelos cálculos ZINDO que prediz um acoplamento spin-orbital quase ineficiente e

$^1(n,\pi^*)_1 \approx ^3(\pi,\pi^*)_1$  . Há só uma possibilidade de acoplamento spin-orbital envolvendo o estado  $S_3$  ( $n,\pi^*$ ) e o estado  $T_6$  ( $\pi,\pi^*$ ). Finalmente os cálculos ZINDO mostraram que o anel da pirona junto com o N da amina terciária é a mais importante região molecular em termos de fotoativação. O mesmo foi observado na cumarina “molécula mãe” (MARQUES & MARQUES, 1994). A diferença é que o grupo carbonila não é importante na espécie DHMC. Os cálculos sugerem que a mais importante região molecular, em termos de fotoativação, é  $N_{14}$  e  $C_4$  no DHMC base livre,  $C_3$  e  $C_4$  e  $N_{14}$  no DHMC-H e  $C_5$ ,  $C_4$ ,  $C_9$  e  $C_{10}$  no DHMC<sup>+</sup>.

### 3.3.5.1 – A TFD para a DHMC.

Os dados de entrada do Cálculo TFD para a DHMC foram obtidos a partir da otimização da estrutura molecular com HF/6-31G\*. Para a DHMC nas espécies: base livre, por ligação de hidrogênio (etanol) e monocatión, foram calculados os valores de energia de excitação (eV) e a força do oscilador (f-valor) dos estados excitados singlete e triplete, pelo método TFD (6\_31+G\*) e são apresentados na tabela 7.

**Tabela 7** - Resultados do cálculo TFD/6\_31+G\* e experimental (dissolvido em etanol e água) para o DHMC Base livre, ligação hidrogênio (etanol) e monocátion (água).

Base Livre				Ligação Hidrogênio				Monocátion					
Trans.	En. (eV)	C.P.T	f-valor	Trans.	En.(eV)	C. P.T	f-valor	Exp.[Abs.(AU)	Trans.	En.(eV)	C.P. T.	f-valor	Exp.[Abs.(AU)
Singlete				Singlete				Singlete					
S <sub>1</sub> (nπ*)	3,4612	N14→C3	0,1363	S <sub>1</sub> (nπ*)	3,8222	N14→C3	0,1798	-----	S <sub>1</sub> (ππ*)	4,1620	C10→C3	0,4153	3,826
S <sub>2</sub> (nπ*)	4,4525	N14→C6	0,0481	S <sub>2</sub> (nπ*)	4,5218	N14→C3	0,2468	-----	S <sub>2</sub> (ππ*)	4,4856	C8→C3	0,0340	4,912
S <sub>3</sub> (ππ*)	4,5606	C10→C3	0,3273	S <sub>3</sub> (nπ*)	4,7085	N14→C6	0,0900	-----	S <sub>3</sub> (nπ*)	5,2426	O11→C3	0,0006	-----
S <sub>4</sub> (nπ*)	4,7284	N14→C6	0,0033	S <sub>4</sub> (nπ*)	4,8642	O2→C3	0,0000	-----	S <sub>4</sub> (ππ*)	5,3219	C10→C13	0,1331	} 5,683
S <sub>5</sub> (ππ*)	4,8307	C8→C3	0,0074	S <sub>5</sub> (nπ*)	4,8749	O11→C3	0,0012	-----	S <sub>5</sub> (ππ*)	5,4459	C10→C8	0,0029	
S <sub>6</sub> (nπ*)	4,8592	N14→C8	0,0034	S <sub>6</sub> (nπ*)	4,9895	N14→C6	0,0234	-----	S <sub>6</sub> (ππ*)	5,7146	C10→C8	0,0407	} 6,152
S <sub>7</sub> (nπ*)	4,8732	O11→C3	0,0008	S <sub>7</sub> (nπ*)	5,0332	N14→C6	0,0020	-----	S <sub>7</sub> (ππ*)	5,8686	C10→C8	0,0021	
S <sub>8</sub> (nπ*)	5,0374	N14→C4	0,0338	S <sub>8</sub> (nπ*)	5,1802	N14→C8	0,0039	-----	S <sub>8</sub> (ππ*)	5,9499	C10→C8	0,0056	
S <sub>9</sub> (nπ*)	5,1916	N14→C7	0,0103	S <sub>9</sub> (nπ*)	5,3556	N14→C4	0,0116	-----	S <sub>9</sub> (ππ*)	6,0178	C10→C11	0,0018	
S <sub>10</sub> (nπ*)	5,3064	N14→C3	0,0135	S <sub>10</sub> (nπ*)	5,4855	N14→C6	0,0827	-----	S <sub>10</sub> (ππ*)	6,0642	C10→C11	0,0005	
Triplet				Triplet				Triplet					
T <sub>1</sub> (nπ*)	2,9662	N14→C3		T <sub>1</sub> (nπ*)	3,0491	N14→C3			T <sub>1</sub> (ππ*)	3,0087	C10→C3		
T <sub>2</sub> (nπ*)	3,5694	C10→C3		T <sub>2</sub> (nπ*)	3,8696	N14→C3			T <sub>2</sub> ππ*)	3,8246	C8→C3		
T <sub>3</sub> (ππ*)	4,0218	C8→C3		T <sub>3</sub> (ππ*)	4,0197	C8→C3			T <sub>3</sub> (ππ*)	4,2954	C10→C13		
T <sub>4</sub> (nπ*)	4,1179	N14→C6		T <sub>4</sub> (nπ*)	4,1739	N14→C6			T <sub>4</sub> (ππ*)	4,4208	C4→C3		
T <sub>5</sub> (nπ*)	4,4845	C13→C3		T <sub>5</sub> (nπ*)	4,5072	O11→C3			T <sub>5</sub> (ππ*)	4,5943	C8→C13		
T <sub>6</sub> (nπ*)	4,5376	O11→C3		T <sub>6</sub> (nπ*)	4,5553	O11→C3			T <sub>6</sub> (nπ*)	4,9228	O11→C3		
T <sub>7</sub> (nπ*)	4,6196	N14→C6		T <sub>3</sub> (ππ*)	4,6873	C8→C6			T <sub>7</sub> (nπ*)	4,9392	O11→C3		
T <sub>8</sub> (nπ*)	4,7001	N14→C6		T <sub>4</sub> (nπ*)	4,8640	O2→C3			T <sub>8</sub> (ππ*)	5,4124	C10→C8		
T <sub>9</sub> (ππ*)	4,7609	C8→C6		T <sub>5</sub> (nπ*)	5,0010	N14→C6			T <sub>9</sub> (ππ*)	5,4636	C8→C8		
T <sub>10</sub> (nπ*)	4,8261	N14→C6		T <sub>6</sub> (nπ*)	5,0409	N14→C6			T <sub>10</sub> (ππ*)	5,8189	C10→C11		

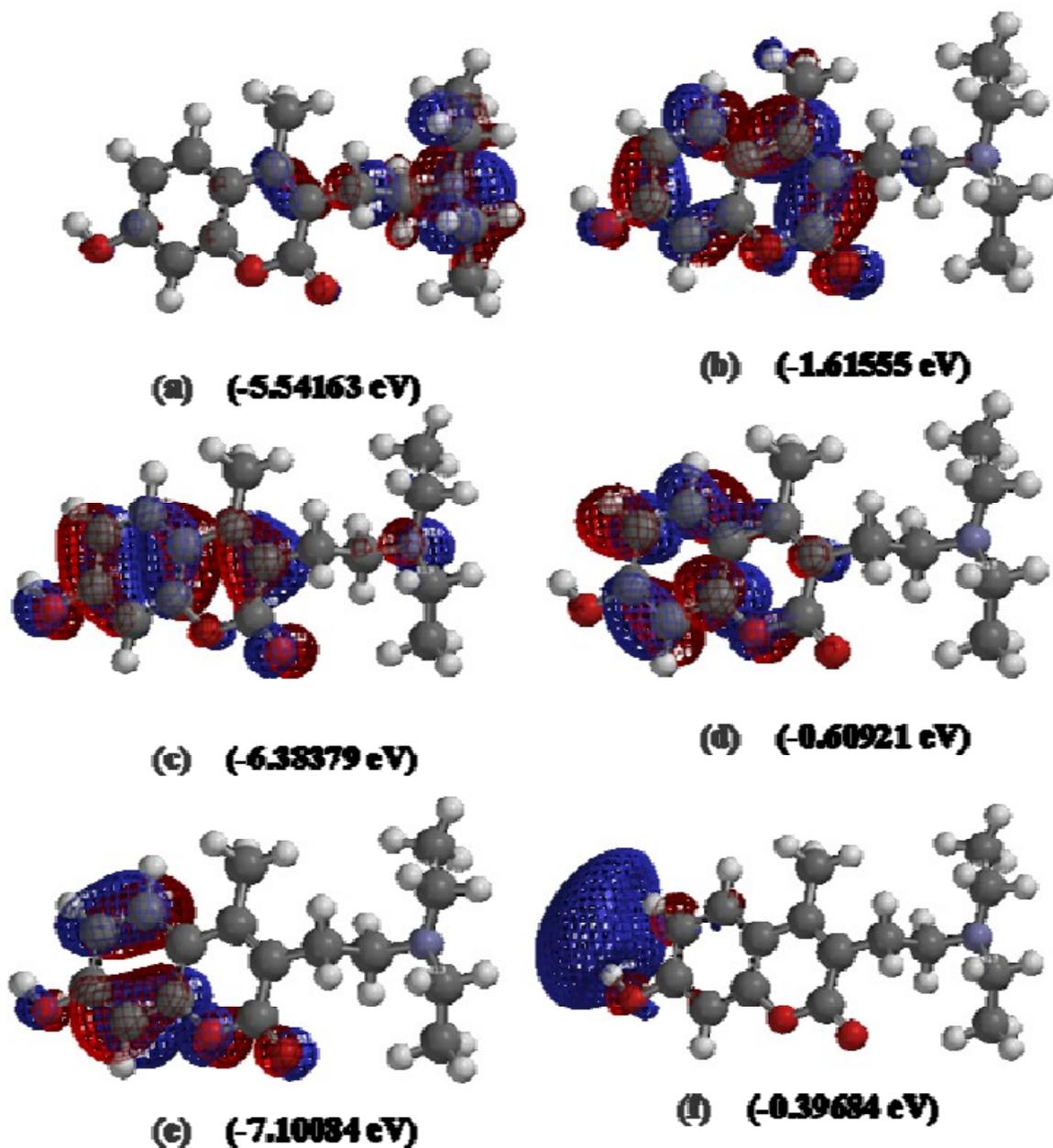
\* Trans. – Transição; En. – Energia; C.P.T. - Contribuição Principal para Transição; Exp. - Experimental

Na tabela 7, para a DHMC base livre, analisando a natureza das transições eletrônicas podemos observar os seguintes assinalamentos: para o estado singlete de menor energia  $S_1$ , ocorre uma transição partindo do orbital n (não ligante) do nitrogênio ( $N_{14}$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  (antiligante) do Carbono ( $C_3$ ); para o segundo estado singlete de menor energia  $S_2$ , uma transição que parte do orbital n ( $N_{14}$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  ( $C_6$ ); para  $S_3$ , a transição que parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_{10}$ ) indo para  $\pi^*$  do  $C_3$ ; para  $S_4$ , temos uma transição que parte do orbital n do nitrogênio ( $N_{14}$ ) para o orbital  $\pi^*$  do  $C_6$ ; para  $S_5$ , uma transição parte do orbital  $\pi$  do  $C_8$ , para um orbital  $\pi^*$  do carbono ( $C_3$ ); para  $S_6$ , temos uma transição que parte do orbital n do  $N_{14}$  para o orbital  $\pi^*$  do carbono ( $C_8$ ). Os resultados, de acordo com o método TFD, sugerem que a região fotoativa mais provável da espécie da DHMC base livre está situada nos átomos  $N_{14}$  e  $C_3$ , e a transição eletrônica proveniente do  $N_{14}$  para o carbono ( $C_3$ ) expressa no estado excitado de menor energia  $S_1$  mostra transição eletrônica do tipo  $n,\pi^*$ .

O monômero do DHMC e o complexo por ligação de hidrogênio mostrou que os estados  $S_1$  e  $T_1$  são formados por transições envolvendo o  $N_{14}$ , da amina terciária e o  $C_3$  da dupla ligação do anel pirona (amina terciária  $\rightarrow$  dupla ligação pirona). O monocátion apresentou os estados  $S_1$  e  $T_1$  como provenientes de transições envolvendo os átomos  $C_{10}$  e  $C_3$ , ambos do anel da pirona. Para as espécies: monômero e ligação de hidrogênio a região fotoativa é amina terciária e pirona. Para a espécie monocátion a região fotoativa fica concentrada no anel da pirona. O que justifica a drástica mudança nos espectros de absorção e emissão da espécie por ligação de hidrogênio e a espécie monocátion. Realmente a protonação do nitrogênio da amina terciária interrompe uma forte transição eletrônica que ligava a amina terciária ao anel da pirona.

Essas modificações na estrutura eletrônica das espécies do DHMC podem ser vistas nas representações dos orbitais HOMO e LUMO das Figuras 27, 28 e 29.

Os orbitais HOMO e LUMO, calculados pela TFD para a DHMC base livre, podem ser visualizados na Figura 27, mostrando que a região mais fotoativa da DHMC base livre é o grupo amida e substituintes ( $N_{14}$  e  $C_3$ ) para o orbital desocupado de menor energia (HOMO).

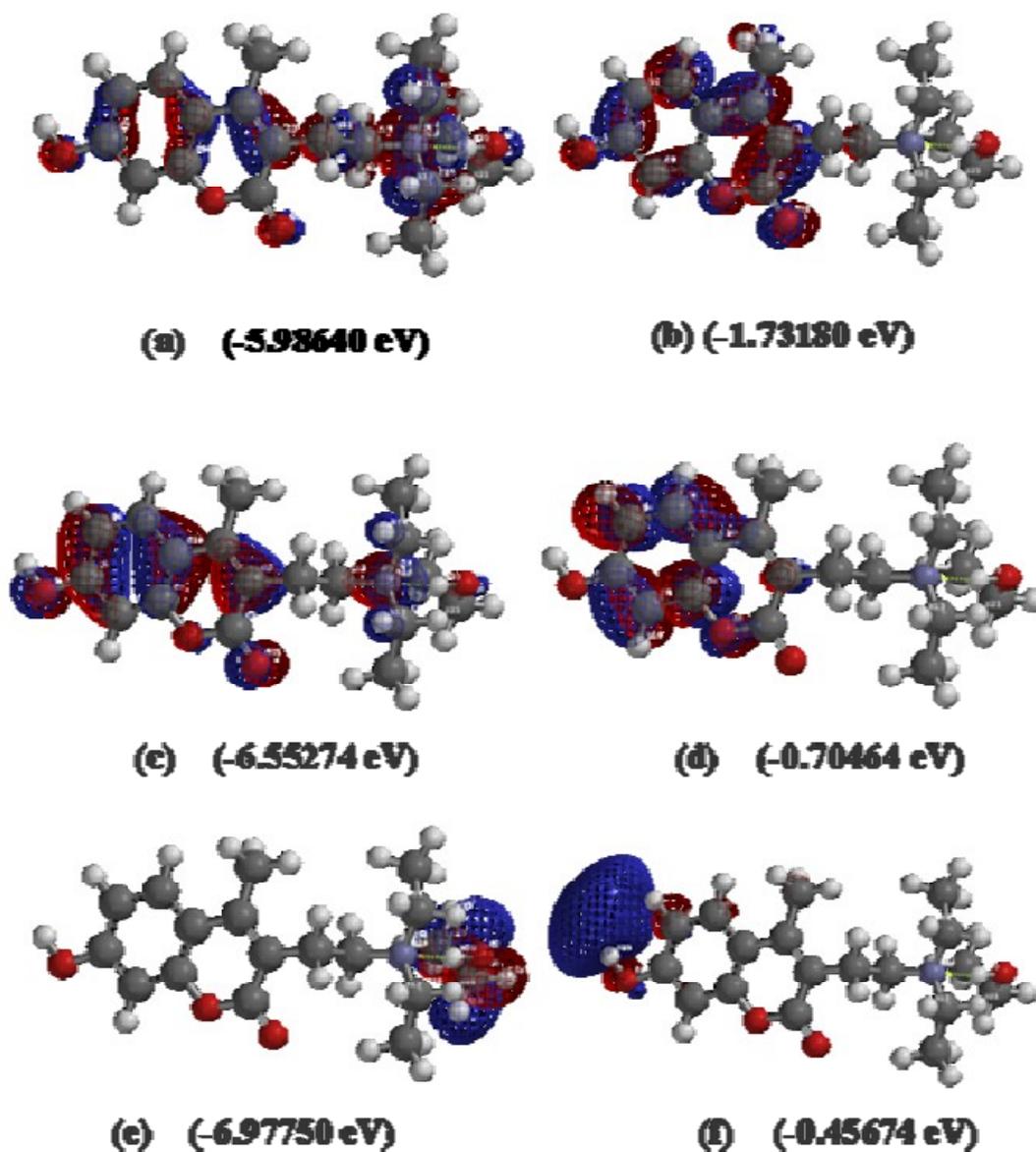


**Figura 27** – Orbitais moleculares para DHMC base livre, (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO + 1, (e) HOMO -2 e (f) LUMO +2, calculado por TFD (6-31+G\*\*).

Os resultados da TFD para a DHMC com ligação hidrogênio (etanol) podem ser vistas na Tabela 7. Analisando a natureza das transições eletrônicas podemos observar os seguintes assinalamentos: para o estado singlete de menor energia ( $S_1$ ) ocorre uma transição partindo do orbital n ( $N_{14}$ ) indo para o orbital

$\pi^*$  do carbono ( $C_3$ ) relacionamos esta transição como relativa ao pico 328 nm (3,780 eV); para  $S_2$ , uma transição que parte do orbital n ( $N_{14}$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  ( $C_3$ ), o pico relativo a esta energia não é visualizado no espectro; para  $S_3$ , temos uma transição que parte do orbital n do nitrogênio ( $N_{14}$ ) indo para  $\pi^*$  de  $C_6$ , relativa ao pico 255 nm (4,864 eV); para  $S_4$ , temos uma transição que parte do orbital n do oxigênio ( $O_2$ ) (EtOH) para o orbital  $\pi^*$  de  $C_3$ , o pico relativo a esta energia não é visualizado no espectro, para o quinto estado singlete de menor energia ( $S_5$ ), uma transição parte do orbital n do oxigênio ( $O_{11}$ ), para um orbital  $\pi^*$  de  $C_3$ , relativa ao pico 210 nm (5,631 eV); para  $S_6$ , temos uma transição que parte do orbital n do nitrogênio  $N_{14}$  para o orbital  $\pi^*$  de  $C_6$ , relativa ao pico 210 nm (5,631 eV). Os resultados sugerem que a região fotoativa da molécula por ligação hidrogênio com etanol, está concentrada nos átomos,  $C_3$ ,  $C_6$ ,  $O_2$ ,  $O_{11}$  e  $N_{14}$ , sendo a maior atividade para os átomos  $N_{14}$  e  $C_3$ . O estado excitado de menor energia  $S_1$  apresentou transição eletrônica proveniente dos átomos  $N_{14}$  para  $C_3$  do tipo  $n,\pi^*$ , da amina terciária para o anel aromático.

Os orbitais HOMO e LUMO, calculados pela TFD para a DHMC por ligação de hidrogênio (etanol) podem ser visualizados na Figura 28, mostrando que a região mais fotoativa da DHMC ligação hidrogênio é o grupo amida e substituintes ( $N_{14}$  e  $C_3$ ) para o orbital desocupado de menor energia (HOMO).



**Figura 28** – Orbitais moleculares para DHMC em ligação de hidrogênio (etanol), (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO – 1, (d) LUMO + 1, (e) HOMO – 2 e (f) LUMO + 2, calculado por TFD (6-31+G\*\*).

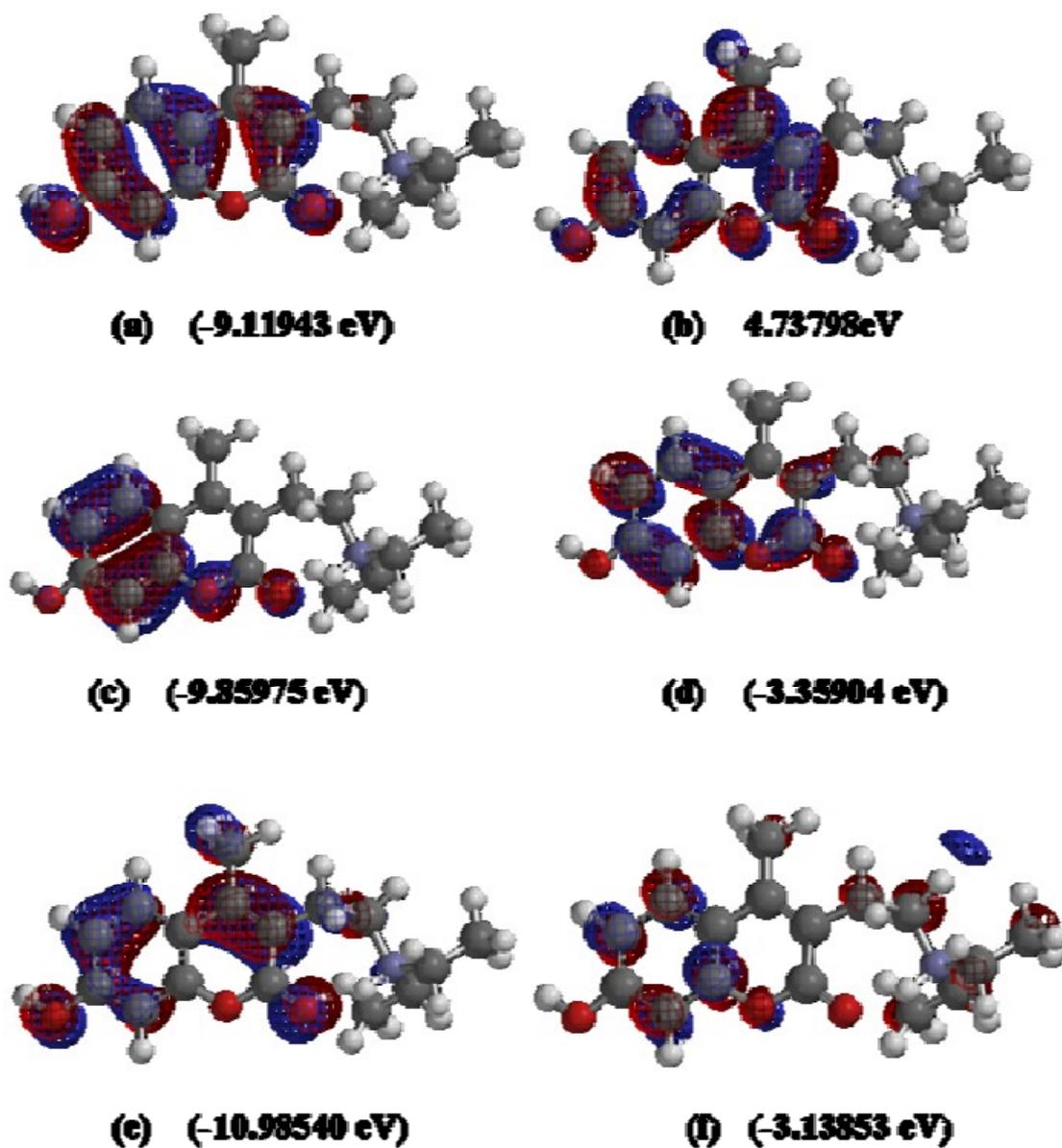
Para a DHMC monocátion, analisando a natureza das transições eletrônicas podemos descrever os seguintes assinalamentos: para o estado singlete de menor energia  $S_1$ , temos uma transição que parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_{10}$ ) indo para o orbital  $\pi^*$  do  $C_3$ , relacionando ao pico 324 nm (3,827

eV); para  $S_2$ , ocorre uma transição partindo do orbital  $\pi$  do  $C_8$  indo para o orbital  $\pi^*$  do Carbono  $C_3$ , relativa ao pico 252 nm (4,912 eV); para  $S_3$ , temos uma transição que parte do orbital  $n$  do oxigênio ( $O_{11}$ ) para o orbital  $\pi^*$  do  $C_3$ , o pico relativo a esta energia não é visualizado no espectro; para  $S_4$ , uma transição parte do orbital  $\pi$  do carbono  $C_{10}$  para o orbital  $\pi^*$  do carbono  $C_{13}$ , relativa ao pico 218 nm (5,683 eV); para  $S_5$ , uma transição parte do orbital  $\pi$  do carbono ( $C_{10}$ ) para um orbital  $\pi^*$  do Carbono ( $C_8$ ), relativa ao pico 218 nm (5,683 eV); para  $S_6$ , uma transição parte do orbital  $\pi$  de  $C_{10}$ , para um orbital  $\pi^*$  do carbono  $C_8$ , relativa ao pico 218 nm (5,683 eV). Os resultados sugerem que a região fotoativa da espécie monocátion da DHMC está concentrada nos átomos  $C_3$ ,  $C_8$ ,  $C_{10}$ ,  $C_{13}$ ,  $O_{11}$ , sendo maior a atividade nos átomos  $C_{10}$ ,  $C_3$  e  $C_8$ , onde o cromóforo absorptivo da molécula monoprotonada está situado nos átomos  $C_{10}$  e  $C_3$  do anel pirona. O estado excitado de menor energia para a  $DHMC^+$ , proveniente dos átomos  $C_{10}$  para  $C_3$ , apresenta transição do tipo  $\pi, \pi^*$ .

De acordo com a TFD, a região fotoativa mais provável da espécie DHMC base livre está situadas nos átomos  $N_{14}$  e  $C_3$  partindo da amina terciária para o anel pirona, indicando que as transições para os estados excitados  $S_1$  e  $T_1$  têm caráter  $n, \pi^*$ ; para a espécie por ligação de hidrogênio (etanol) as transições dos estados excitados  $S_1$  e  $T_1$  têm caráter  $n, \pi^*$ , com origem do  $N_{14}$  e  $C_3$ . O cromóforo absorptivo da molécula por ligação hidrogênio está situado nos átomos  $N_{14}$  e  $C_3$  prevalecendo a origem da amina terciária para o anel pirona. Para a espécie monocátion as transições dos estados excitados  $S_1$  e  $T_1$  têm caráter  $\pi, \pi^*$ , com origem do  $C_{10}$  para o  $C_3$ . O cromóforo absorptivo da molécula monocátion está concentrado no esqueleto da pirona.

Os orbitais HOMO e LUMO, calculados pela TFD para a DHMC monocátion e podem ser visualizados na Figura 29, mostrando que a região

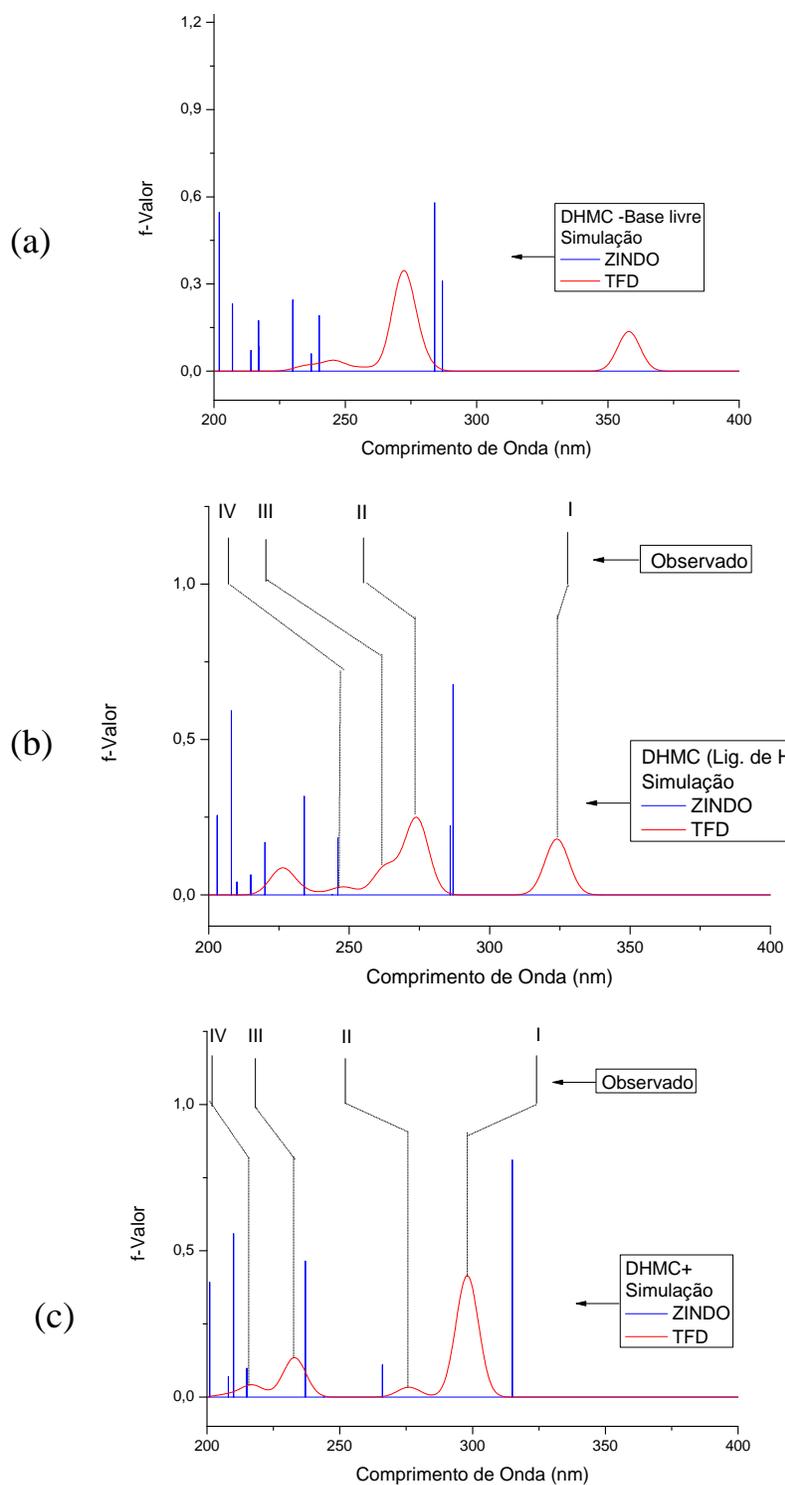
mais fotoativa da DHMC<sup>+</sup> está situado no anel benzopirona, para o orbital desocupado de menor energia (HOMO).



**Figura 29** – Orbitais moleculares para DHMC Monocátion, (a) orbital HOMO, (b) LUMO, (c) HOMO - 1, (d) LUMO + 1, (e) HOMO - 2 e (f) LUMO + 2, calculado por TFD (6-31+G\*\*).

Para melhor compreensão dos resultados foi simulado gráficos usando o software ORIGEN 8.0, objetivando a comparação entre a eficácia dos cálculos discutidos acima e os dados observados (espectro de absorção).

O gráfico simulando o espectro da DHMC base livre, Figura 30(a) para a TFD mostrou três picos e comparado com o cálculo ZINDO, apresentou um pico a maiores comprimentos de onda, para este caso não há dados observados, pois a molécula não solubiliza em meio hidrofóbico. O gráfico simulando o espectro da DHMC dissolvida em etanol (ligação hidrogênio), Figura 30(b) mostrou quatro picos e se observou-se que a DHMC apresenta o resultado bastante aproximado, quando se trata dos cálculos ZINDO e TFD, mostrando um deslocamento para menores comprimentos de onda, quando comparados com os dados experimentais. O cálculo TFD para esta situação mostrou maior aproximação com o observado. Para a DHMC monocátion, Figura 30(c) mostrou quatro picos e se observou-se que a DHMC apresentou o resultado bastante aproximado, quando se trata dos cálculos ZINDO e para TFD um pouco deslocado para menores comprimentos de onda, quando comparados com os dados observados.



**Figura 30** - Gráficos simulados das energias de excitação calculadas pelo ZINDO e TFD (6-31+G\*), comparados com espectro de absorção (observado) do DHMC: (a) Base livre, (b) dissolvido em etanol e (c) monocátion.

O  $\text{DHMC}^+$  tem sido cuidadosamente examinada experimentalmente e teoricamente. A partir do espectro de emissão e foram identificadas as seguintes espécies: Complexo de ligação de hidrogênio, monocátion. A protonação do  $\text{DHMC}^+$  deve ocorrer no N da amina terciária preferencialmente do que no oxigênio da carbonila. As propriedades fotofísicas de cada espécie foram bem estabelecidas, e podem ser usadas como provas diretas para compreender o mecanismo de interação da  $\text{DHMC}^+$ -membrana. Os cálculos semi-empíricos indicaram que em todas as espécies de  $\text{DHMC}$ , o estado eletrônico excitado Singlete de menor energia é uma transição de carga intermolecular, que foi confirmada pelos resultados de espectroscopia de emissão. Este aspecto poderia ser importante na relação entre a estrutura eletrônica e a atividade farmacológica porque nas espécies de ligação de hidrogênio, a amina terciária é eletronicamente associada com o anel pirona através da dupla ligação etilênica. Por outro lado, na espécie monocátion em que a transição é parcialmente localizada na carbonila e a dupla ligação de etileno do anel pirona.

Finalmente, a transferência de energia envolve o substituinte carbonila e o esqueleto da pirona. Há evidências de que a transição em todas as espécies de  $\text{DHMC}$  poderia ser a principal diferença entre as cumarinas que apresentam potencial antimutagênico.

## 4 – Conclusões

### Norharmana

1) Norharmana nas formas neutra e monocation foram cuidadosamente examinadas experimental e teoricamente, e verificou-se que as duas formas da norharmana, dependendo da vizinhança, mostraram algumas espécies com propriedades fotofísicas distintas uma da outra, podendo essas espécies serem usadas como sondas fluorescentes. Foram encontradas as seguintes espécies: (i) em MCH, o monômero da NH; (ii) em etanol, o agregado molecular auto-associado; (iii) em TFE, o monômero do complexo formado pelo NH e TFE ligado através de ligação de hidrogênio intermolecular; (iv) em água, o monocation, com a monoproteção no nitrogênio da piridina.

2) Em meio hidrofóbico (MCH), a NH não formou agregados moleculares e em meio hidrofílico (etanol) formou um forte agregado molecular. Esse é um comportamento paradoxal da NH em comparação com a harmana, harmalina e outros membros da família das  $\beta$ -carbolinas.

3) Os cálculos Semi-empíricos HAM/3 feitos para as espécies da NH indicaram que a região fotoativa da molécula envolve o benzeno, os nitrogênios do pirrol e da piridina. Os estados  $T_1$  e  $S_1$  do monômero e do complexo NH e álcool, foram assinalados como originários de transição de transferência de carga entre o  $N_9$  do pirrol para o  $N_2$  da piridina. Por outro lado, a espécie monoproteada apresentou os estados  $T_1$  e  $S_1$  como originários de transição de longa distância envolvendo o  $C_7$  do benzeno e o nitrogênio da piridina. A monoproteção interrompe a transição eletrônica que liga eletronicamente o  $N_9$  do pirrol e o  $N_2$  da piridina.

Os cálculos usando a TFD mostraram para o monômero e o complexo por ligação de hidrogênio que os estados  $T_1$  e  $S_1$  são originários de transição envolvendo apenas o anel do pirrol. Para a espécie monoprotonada os estados  $T_1$  e  $S_1$  são originários de transição entre o  $N_9$  do pirrol e o carbono da piridina, indicando que para as espécies da NH a região mais ativa está situada no pirrol.

4) Comparando os espectros simulados de absorção concluímos que os cálculos com a TFD são mais realísticos que os feitos com Semi-empíricos.

5) Todas as observações podem ser úteis para o entendimento, a nível molecular, do transporte da NH através da membrana e podem dar uma ideia de qual é a base molecular de ação farmacológica da NH.

Riparina I, II e III.

1) As propriedades eletrônicas e estruturais das R-I, R-II e R-III foram estudadas teoricamente usando a TFD e cálculo Abinitio para o estado fundamental e excitado. Os estados  $S_1$  e  $T_1$  da R-I são originários do oxigênio do p-metoxibenzeno para o carbono do benzeno, uma transição de longa distância entre o p-metoxibenzeno→benzeno para  $S_1$  e carbonila→benzeno para  $T_1$ ; para as R-II e R-III, os estados  $S_1$  e  $T_1$  são formados por transições p-metoxibenzeno→hidroxibenzeno e hidrocarboneto alifático→hidroxibenzeno, respectivamente. Essas transições foram assinaladas como transferência de carga envolvendo grupos funcionais ativos como C=O, N—H, O—H nos dois anéis benzênicos.

Essas propriedades eletrônicas podem atuar como forças diretoras para a ação farmacológica e atividade biológica das riparinas.

2) A estrutura molecular da R-I foi determinada por raio-X e mostrou que o grupo C=O fica 34° fora do plano em relação ao anel da benzoila. Os

cálculos de otimização da geometria das R-II e R-III usando cálculo RHF/6-31G\* mostrou que no R-III o grupo C=O é quase coplanar ao anel dihidroxibenzeno. Neste caso, ocorreu a formação de ligação de hidrogênio intra-molecular entre o grupo O—H do anel di-hidroxibenzeno e o grupo carbonila. Para a R-II a coplanaridade é maior que a R-III conforme a Tabela 5, na qual estão os cálculos Abinitio.

3) Apesar da R-II ser mais planar que R-III e R-I, o mais potente relaxante muscular é o R-III, então esse fato pode indicar que a estrutura eletrônica é mais importante que a estrutura molecular para a potência das três riparinas. Comparando as três riparinas verificou-se que há mais átomos eletronegativos no anel do di-hidroxibenzeno da R-III do que nas outras duas. Provavelmente isso pode facilitar a permeabilidade da R-III na membrana biológica e aumentar sua atividade.

## DHMC

1) As propriedades fotofísicas do DHMC foram investigadas experimentalmente e teoricamente. Os espectros de absorção mostraram que o DHMC dissolvido em etanol e água tem o mesmo cromóforo absorptivo e está situado no anel da pirona.

2) Os espectros de emissão mostraram que existem espécies predominantes dependendo da vizinhança. Em etanol, o DHMC-H e o DHMC<sup>+</sup>, coexistem em equilíbrio; em TFE, o DHMC-H é o predominante. As duas espécies apresentaram propriedades fotofísicas distintas uma da outra e podem ser usadas como sondas fluorescentes. Não foi observada a espécie agregado molecular em nenhum solvente usado neste trabalho. Os estados S<sub>1</sub> e

$T_1$  são  $\pi,\pi^*$  e a banda da fluorescência é mais intensa que a banda da fosforescência, para as espécies do DHMC.

3) A espécie DHMC-H tem como região molecular ativa, a dupla ligação do anel da pirona, e na espécie  $\text{DHMC}^+$  e o  $\text{N}_{14}$ , envolvendo os átomos  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_9$  e  $\text{C}_{10}$  situados no benzeno e na pirona, isso segundo os cálculos ZINDO. Os cálculos TFD indicaram que o monômero e o DHMC-H têm estados  $S_1$  e  $T_1$  originários da transição de transferência de carga a longa distância entre  $\text{N}_{14}$  da amina terciária e o  $\text{C}_3$  da dupla ligação etilênica da pirona. Na espécie  $\text{DHMC}^+$  os estados  $S_1$  e  $T_1$  são originários da transição localizada no anel da pirona, indicando que as espécies do DHMC têm como região molecular mais reativa o anel da pirona, mais especificamente a dupla ligação etilênica  $\text{C}_3=\text{C}_4$ .

4) Os resultados obtidos mostraram que as micelas seguem um modelo como “porous-cluster” como uma parte de seu interior hidratado (MENGER & BOYER, 1980) nas vizinhanças das micelas neutra e aniônica. O  $\text{DHMC}^+$  desprotona e penetra no interior da estrutura da micela e fica ancorado na sua região hidrofílica formando ligação de hidrogênio intermolecular com a água. Esta é a espécie em ação do DHMC.

5) O DHMC tem propriedades eletrônicas e interações com as micelas completamente diferentes da observada para a cumarina. As propriedades eletrônicas e o mecanismo de transporte do DHMC através da membrana podem atuar como uma força diretora para a ação farmacológica e provavelmente para sua atividade biológica. Esses resultados poderão ser usados para dar luz sobre a razão pela qual a molécula “mãe” (cumarina) e o DHMC tem comportamentos diferentes com relação as suas potências anti-mutagênicas para o IQ em *Salmonella typhimurim* TA98.

#### **4.1 - Sugestões para Trabalhos Futuros.**

- Estudo das funcionais para aplicação do método TFD em moléculas bioativas e simulação dos gráficos comparados com os espectros experimentais .
- Estudo do transporte da Norharmana e DHMC através da membrana biológica.
- Estudo da dinâmica de protonação e desprotonação da norharmana e DHMC.
- Estudo da interação entre as espécies da norharmana com a monoaminoxidase (MAO).
- Estudo espectroscópico da R-II para comprovação das determinações feitas com os cálculos TFD.

## 5 – Referências Bibliográficas

Araújo, C.C.; Barbosa-Filho, J.M.; *Acta Farm. Bonaerense* **2000**, 19, 197.

Arnt, R.; *Exame*, **2001**, ano 35, n. 9.

Åsbrink, L.; Fridh, C.; Lindholm, E.; *Chem. Phys. Lett.* **1977**, 52, 63.

Atkins, P. W. *Physical Chemistry*, 5ª ed., Oxford University Press: New York 1994.

Atkins, P. W.; Paula, J. *Físico – Química*, 7ª ed., LTC: Rio de Janeiro, 2002.

Balón, M.; Hidalgo, J.; Guardado, P.; Muñoz, M.A.; Carmona, C.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1993**, 2, 99.

Barbosa Filho, J.M.; Yoshida, M.; Gottlieb, O.R.; *Latinoamer. Quim.* **1990**, 21, 5.

Barreiro, E.J.; Fraga, C.A.M.; *Quim. Nova* **1999**, 22, 744.

Becke, A.D. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648.

Biondic, M.C.; Erra-Balsells, R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1997**, 2, 1323.

Brealey, G.J.; Kasha, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 4462.

Burawoy, A.; *J. Chem. Soc.* **1941**, 20.

Burawoy, A.; *Tetrahedron* **1958**, 2, 122.

Burawoy, A.; *J. Chem. Soc.* **1939**, 20, 1177.

Cao, R.; Chen, Q.; Hou, X.; Chen, H.; Guan, H.; Ma, Y.; Peng, W. e Xu, A.; *Bio. Med. Chem.* **2004**, 12, 4613.

Carmona, C.; Hidalgo, J.; Sánchez Marcos, E.; Pappalardo, R.R.; Muñoz, M.; Balón, M.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1990**, 2, 1881.

Casida, M.E.; Chong, D.P.: *Recent Advances in Density Functional Methods. Part I.* World Scientific Publishing Company: Singapore 1995, p. 155.

Castelo-Branco, U.V.; Castelo-Branco, U.J.V.; Thomas, G.; Araújo, C.C.; Barbosa-Filho, J.M.; *Acta Farm. Bonaerense* **2000**, 19, 197.

Cohen, A.J.; *Food Chem. Toxicol.* **1979**, 17, 277.

Costa, P.R.R.; *Quim. Nova* **2002**, 25, 74.

Cramer, C. J.; *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*, John Wiley & Sons: West Sussex, 2002.

Csorech, I.; *Chem. Commun.* **1976**, 5, 1-21.

Dewar, M. J. S.; Thiel, W.; *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 4899.

Dewar, M.J.S.; Zoebisch, E.G.; Healy, E.F.; Stewart, J.J.P. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3902.

Dolphin, D.; Wick, A.; *Tabulation of Infrared Spectra Data*, Wiley-Interscience: New York, **1977**.

Edenharder , R.; Speth, C.; Decker, M.; Kolodziej, H.; Kayser, O.; Platt, K.L.; *Mut. Res.* **1995**, *345*, 57.

El-Sayed, M.A.; *J. Chem. Phys.* **1963**, *38*, 2834.

El-Sayed, M.A.; *J. Chem. Phys.* **1963**, *39*, 1899.

El-Sayed, M.A.; *J. Chem. Phys.* **1965**, *43*, 2864.

Glosh, S.; Petrin, M.; Mak, A.H.; *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 5206.

Hadley, S.G.; Murak, A.S.; Spitzer, K.; *J. Forensic Sci.* **1974**, *19*, 657.

Hidalgo, J.; Balon, M.; Carmona, C.; Munoz, M. Pappalardo, R.R.; *J. Chem. Soc. Perkin Trans* **1990**, *2*, 65.

Hohenberg, P.; Kohn, W.; *Int. J. Quantum Chem.* **2004**, *100*, 20.

Hohenberg, P.; Kohn, W.; *J. Phys. Rev.* **1964**, *136*, 864.

Kasha, M.; *J. Discuss. Faraday Soc.* **1950**, 9, 14.

Katzung, B. G. *Farmacologia Básica & Clínica*, Guanabara: Rio de Janeiro 1994, p. 332.

Knox, C.N.; Land, E.J.; Truscott, T.G.; *J. Photochem. Photobiol.* **1986**, 43, 359.

Koch, W.; Holthausen, M.C.; *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, 2<sup>a</sup> ed., Wiley-VCH: Weinheim, 2002.

Kohn, W.; Sham, L.; *J. Phys. Ver.* **1965**, 140, 1133.

Lai, B. T. I; Lim, B.T.; Lim, E.C.T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, 104, 7631.

Lee, C.; Yang, W.; Parr, R.G.; *Phys. Rev.* **1988**, 37, 785.

Levine, I. N.; *Quantum Chemistry*, 5<sup>th</sup> ed., Prentice-Hall: New Jersey, 2000, p. 423-425.

Lewinsohn, T.; Prado, P.I.; *Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual do conhecimento*, 1<sup>a</sup> ed., Pinsky: São Paulo, **2002**, cap. 1, p. 17-25.

Lin, C. T.; Malak, M.; Vanderkoooi, G.; Mason, W. R.; *Photochem. Photobiol.* **1987**, 45, 749.

Lin, C.T.; Mertz, C.J. Bitting, H.C.; El-Sayed, M.A. *J. Photochem. Photobiol.* **1992**, *13*, 169.

Lindholm, E.; Åsbrink, L.; *Lecture Notes in Chemistry*, Springer: Berlin 1985, p. 38.

Liu, T, Han, W-G.; Himo, F.; Ullmann, G. M.; Bashford, D. Touthkine, A.; Hahn, K. M.; Noodleman, L.; *J. Phys. Chem.* **2004**, *108*, 3545.

Lower, S.K.; El-Sayed, M.A.; *Chem. Rev.* **1966**, *66*, 199.

Mäenpää, J.; Juvonen, R., Raunio, H., Rautio A., Pelkonen, O. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 1363.

Mallick, A.; Chattopadhyay, N.; *Biophys. Chem.* **2004**, *109*, 261.

Mantell, S. H.; Matthews, J. A.; Mckee, R. A.; *Sociedade Brasileira de Genética*, SBG: Ribeirão Preto, 1994.

Marques A.D.S.; Souza, H.F.; Costa, I.C.; Azevedo, W.M.; *J. Mol. Struct.* **2000**, *520*, 179.

Marques, A.D.S., Marques, G.S.S.; *Photochem. Photobiol.* **1994**, *59*, 153.

Marques, A.D.S.; Takahata, Y.; Lucena, J J. R.; Souza, M. C.; Simões, S. S.; Azevedo, W. M.; Sá, G. F.; *J. Lumin.* **2002**, *97*, 237.

Marques, A.D.S.; Zheng, C.; Lin, C.T.; Takahata, Y.; Barbosa-Filho, J.M.; Gutierrez, S.J.C.; *J. Mol. Struct.* **2005**, 753, 13.

Matulin, W.W.; Song, P.S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 5122.

Mcconnell, H.; *J. Chem. Phys.* **1952**, 20, 700.

Mcglynn, S.P.; Azumi, T.; Kinoshita, M.; *Spectroscopy of the Triplet State*; Prentice-Hall: Englewood Cliffs, 1969, p. 261.

Menger, F.M., Boyer, B.J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 5936.

Menger, F.M.; *Chem. Res.* **1979**, 12, 111.

Mertz, C.J.; Lin, C.T.; *Photochem. Photobiol.* **1991**, 53, 307.

Murkerjee, P.; Mysels, K.J. *Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant system*; NSRDS: Washington DC, 1971.

Muthurama, K. Ramamurthy, V.; *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 3976.

Narayana, G.C.; *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 3603.

Okamoto, A.K.; Gaudio, A.C.; Marques, A.D.S.; Takahata, Y.; *J. Mol. Struct.: Theochem.* **2005**, 25, 231.

Parr, R. G.; Yang, W. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*; Oxford University Press: New York, 1989.

Parson, B.J.; *Photochem. Photobiol.* **1980**, 32, 813.

PC Spartan version Wavefunction, Inc. 18401 Von Karman Ave. Suite 370, Irvine CA 92612, USA, 2006.

Platt, J. R.; *J. Chem. Phys.* **1961**, 34, 862.

Pople, J. A.; Beveridge, D.; *Approximate Molecular Orbital Theory*. McGraw-Hill: New York, 1970.

Pople, J. A.; Scott, A. P.; Wong, M. W.; Radom L.; *J. Chem.* **1993**, 345, 350.

Pople, J.A.; Santry, D.P.; Segal, G.A.; *J. Chem. Phys.* **1965**, 43, 129.

Reyman, D.; Tapia, M.J.; Carcedo, C.; Vinãs, M.H. *Biophys. Chem.* **2003**, 104, 683.

Rocha, G. B.; Freire, R. O.L.; Simas, A. M.; Stewart, J J. P.; *J. Comput. Chem.* **2006**, 27, 1101.

Sakurovs, R.; Ghiggino, K.P.; *J. Photochem.* **1982**, 18, 1-8.

Salati, E.; Santos, A.A.; Klabin, I.; *Est. Avanç.* **2006**, 20, 56.

Scheibe, G.; Felgor, E.; Rossler, G.; *Ber.* **1926**, 59, 2619.

Scheibe, G.; Felgor, E.; Rossler, G.; *Ber.* **1927**, 60, 1406.

Schleyer, P. R.; *The Encyclopedia of Computational Chemistry*. John Willey & Sons: New York, 1986, p. 801.

Seixas, S. R. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, 1996.

Sidman, J.; *Chem. Rev.* **1958**, 58, 689.

Slater, J. C.; *Phys. Rev.* **1930**, 36, 57.

Song, P.S; Gordon, W.H. III.; *J Phys Chem.* **1970**, 74, 4234.

Soper, P D.; *Dupont, Central Research & Development*, E328/123, DUCOM, ESVAX: SOPERPD, **1997**, p. 695-1757.

Sousa, F.C.F.; Melo, C.T.V.; Citó, M.C.O.; Félix, F.H.C.; Vasconcelos, S.M.M.; Fonteles, M.M.F.; Barbosa Filho, J. M.; Viana, G.S.B.; *Ver. Bras. Pharmacognosy* **2008**, 18, 642.

Sousa, F.C.F.; Melo, C.T.V.; Monteiro, A.P.; Lima, V.T.M.; Gutierrez, S.J.C.; Pereira, B.A.; Barbosa-Filho, J.M.; Vasconcelos, S.M.M.; Fonteles, M.F. ; Viana, G.S.B.; *J. Pharmacol. Biochem. Behavior* **2004**, 78, 27.

Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Chabalowski, C. F. and Frisch, M. J.; *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 11623.

Stewart, J. J. P.; *J. Comput. Chem.* **1989**, *10*, 209.

Tapia, M.J.; Reyman, D.; Viñas, M.H.; Arroyo, A.; Poyato J.M.L. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2003**, *156*, 1–7.

Thomas, G.; Castelo-Branco, U.J.V.; Barbosa-Filho, J.M.; Bachelet, M.; Vargaftig, B.B.; *J. Pharm. Pharmacol.* **1994**, *46*, 103.

Triboni, E. R.; Berci filho, P.; Politi, M. J.; Demets, G. J. F.; *Resumos do 28º Encontro Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 2005.

Turro, N.J.; *Modern Molecular Photochemistry*, Benjamin Cummings: Menlo Park, 1978.

Val, A. L.; Almeida-Val, V. M. F.; *Revista ComCiência* **2003**, ano 42, n. 10.

Vogt, C.; *Biodiversidade: a vida e seus semelhantes*, disponível em [www.comciencia.br/reportagens/biodiversidade/bio01](http://www.comciencia.br/reportagens/biodiversidade/bio01), acessada em 12/11/2009.

Wells, C.H.J.; *Introduction to Photochemistry*, Chapman and Hall: London, 1972.

Wiest, O.; Schleyer, P. R.; *The Encyclopedia of Computational Chemistry*, John Wiley & Sons: Athens, 1998.

Zerner, C.M.; Ridley, J.; *Theoret. Chem. Act.* **1976**, 42, 223.

Zerner, M.C.; Lipkowitz, K.B.; Boyd, D.B.; *Reviews in Computational Chemistry*, VCH Publishing: New York, 1991.

Zerner, M.C., *A users guide to ZINDO comprehensive semi-empirical SCF/CI*; University of Florida, USA, 1976.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.