



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS DA AMAZÔNIA

DIEGO DOS SANTOS FREITAS

ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL DOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO
UV/VIS E ALGUMAS PROPRIEDADES MOLECULARES DA BERGENINA

MANAUS
2013

DIEGO DOS SANTOS FREITAS

**ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL DOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO
UV/VIS E ALGUMAS PROPRIEDADES MOLECULARES DA BERGENINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas (UEA), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia.

Orientador: Prof Dr. Yuji Takahata

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Luiza Gabriel Pereira

MANAUS

2013

DIEGO DOS SANTOS FREITAS

**ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL DOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO
UV/VIS E ALGUMAS PROPRIEDADES MOLECULARES DA BERGENINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos naturais da Amazônia da Universidade do Estado do Amazonas (UEA), como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia.

Data da aprovação ___/___/___

Banca Examinadora:

Dr. Yuji Takahata
Universidade Do Estado do Amazonas - UEA

Dr^a. Sandra P. Zanotto
Universidade do Estado do Amazonas - UEA

Dr^a. Elba Vieira Mustafa
Instituto Federal de Ciência, Educação e Tecnologia do Amazonas - IFAM

MANAUS

2013

F866e	<p data-bbox="722 1350 1485 1554">Freitas, Diego dos Santos Estudo teórico e experimental dos espectros de absorção UV/VIS e algumas propriedades moleculares da bergenina. / Diego dos Santos Freitas -- Manaus: Universidade do Estado do Amazonas, 2013. xviii, 77f. : il.</p> <p data-bbox="699 1592 1485 1727">Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado Amazonas - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, 2013. Orientador: Prof. Dr. Yuji Takahata. Co-orientadora: Profa. Dra. Luiza Gabriel Pereira.</p> <p data-bbox="699 1765 1485 1832">1. Bergenina 2. Espectros de absorção UV I. Takahata, Yuji. II. Título.</p> <p data-bbox="1326 1832 1458 1861">CDU: 604</p>
-------	--

Dedico este trabalho inteiramente à minha mãe, M^a. Goreti Rocha dos Santos (in memorian), pois seu infinito amor dispensado a mim e todos os seus ensinamentos foram e continuam sendo fonte de inspiração em minha vida acadêmica e motivação para uma busca incessante pelo conhecimento.

“O conhecimento nos faz responsáveis”.

Che Guevara

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha mãe, por ter investido tudo o que pôde em minha formação e por ter acreditado e sonhado junto a mim na construção de minha carreira.

A toda minha família por me apoiar, respeitar minhas decisões e torcer pelas conquistas, sempre me dando força para que eu não desista desta longa caminhada que é a busca pelo saber.

Às minhas primas Ticiane Carioca e Brenda Carioca, pela amizade, pelo apoio dado e por sempre sonhar comigo.

Ao meu orientador, Dr. Yuji Takahata, por todo o apoio e orientação neste trabalho, que mesmo de longe, não mediu esforços para me acompanhar neste trabalho, sempre preocupado e respondendo de forma ágil as mensagens de dúvidas e pedidos de “socorro”! Sou feliz por ter recebido sua orientação! Você foi um ótimo “pai”!

À minha co-orientadora, Dra. Luiza Gabriel Pereira, pelo apoio e acompanhamento neste trabalho. Sua personalidade hospitaleira e extrovertida me ajudaram a me manter confiante diante deste desafio.

Ao Dr. Alberto dos Santos Marques pelo acompanhamento dado na primeira etapa deste trabalho. Sua ajuda foi crucial para as definições deste projeto. Sou eternamente grato pelo voto de confiança ao me introduzir nesta linha de pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Tecnologia em Moléculas Bioativas por ter me acolhido.

À Dra. Sandra Zanotto, pelas amostras cedidas de bergenina e pelos apontamentos feitos durante a qualificação, os quais me auxiliaram a fornecer mais qualidade ao trabalho.

Ao Dr. Sérgio Duvoisin, pelo apoio e, principalmente, por ter abdicado durante dois meses de realizar seus cálculos teóricos no supercomputador para permitir que eu finalizasse os cálculos do meu trabalho.

À minha amiga Lorena Lima, pois sem a sua ajuda não teria conseguido obter os espectros de absorção UV/Vis com qualidade.

À Gisele Franco de Castro, colega direta de bancada, pela confiança, pela imensa paciência, pela parceria e principalmente pela amizade durante estes dois anos de trabalho.

À Márcia Mesquita, pela amizade, pelo apoio dado para que eu seguisse neste desafio, pela confiança e por todos os ensinamentos durante os cinco anos que trabalhamos juntos.

À Adriana Tatikawa pelos anos de amizade que tivemos e pela coragem em me acompanhar, largando tudo para entrar neste programa de mestrado e dar um “up!” na carreira.

À Marciana Lima, pela amizade e por toda ajuda profissional e moral que tem me dado durante esses anos, pelos ensinamentos e por ser um exemplo de profissional competente.

Ao Rafael Costa, por toda força, atenção e companheirismo que dispensou a mim no primeiro ano de Mestrado. Sou grato por ter conhecido você e ter recebido o auxílio que precisava durante esta etapa da minha vida.

À Simone Maciel, Dorothy Ivila, Soraya Félix e Elisama Franco pela amizade, carinho e confiança, e por me acompanhar não só nos momentos felizes da vida, mas também nos mais difíceis e árduos. Sou feliz por ter conhecido vocês. Somos mais que amigos!

À minha amiga Débora Guimarães pela paciência, pela loucura, pela ajuda e por toda confiança em mim. Os anos se passam e desejo que nossa amizade cresça cada vez mais!

Aos meus amigos Rodrigo Kiyuna e José Lima, pela amizade, confiança e momentos de descontração. Vocês foram presentes que ganhei de Deus.

Ao meu amigo Erick Berenguel, pela credibilidade e pelas caminhadas terapêuticas que me ajudaram e ajudam a manter o foco de vida. Sua amizade foi uma grata surpresa em minha vida.

À turma da EMD12/22/32, que tem sido uma família durante estes 10 anos de amizade que não se apagaram e que se mantém tão certa quanto o ar que respiramos.

Aos meus amigos Tafarel Brayan, Cássia Fernandes, Karoline Melo, Karen Reis e Jonathan Aguiar, pelos anos de amizade e pelo apoio.

Aos colegas do Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia.

Ao Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, em especial ao coordenador Dr. Cleiton Fantin, pela paciência e auxílio com os reagentes nas fases decisivas dos meus experimentos.

À FAPEAM pelo auxílio financeiro.

Por sim, a todos que não foram citados e que contribuíram de modo direto ou indireto à realização deste sonho!

VALEU!!!!



GOVERNO DO ESTADO DO AMAZONAS

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA – PROPESP
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – ESA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
DA AMAZÔNIA – MBT

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA
 DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO
 ALUNO DIEGO DOS SANTOS FREITAS
 EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS
 NATURAIS DA AMAZÔNIA.

Aos vinte dias do mês de março do ano de dois mil e treze às quatorze horas e trinta minutos, realizou-se no Miniauditório do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, localizado no 4º andar do prédio anexo da Escola Superior de Ciências da Saúde ESA, situado na Avenida Carvalho Leal, n.º 1.777, Cachoeirinha, a Defesa Pública da dissertação de mestrado de Diego dos Santos Freitas, sob o título “Estudo teórico e experimental dos espectros de absorção UV/VIS e algumas propriedades moleculares da Bergenina”, requisito exigido para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, tendo como orientador o Dr. Yuji Takahata, segundo encaminhamento da documentação à Coordenação do Curso e de acordo com os registros constantes na Secretaria Geral da Universidade do Estado do Amazonas UEA. A banca examinadora foi constituída pelos seguintes professores: Dr. Yuji Takahata (Presidente), Dra. Sandra Patrícia Zanotto (membro), e Dra. Elba Vieira Mustafa (membro). Após as arguições e encerrada a sessão de defesa, os referidos membros da banca emitiram o parecer final sobre a defesa da dissertação de mestrado, tendo o aluno sido Aprovado.

Dr. Yuji Takahata
 CPF: 965.114.438-68

Dra. Sandra Patrícia Zanotto
 CPF: 933.160.389-49

Dra. Elba Vieira Mustafa
 CPF: 371862212-20

RESUMO

A bergenina é uma isocumarina encontrada tipicamente em espécies de florestas tropicais, como é o caso da espécie amazônica Uchi-amarelo (*Endopleura uchi*), no qual a substância está distribuída em suas folhas, casca e frutos. A literatura relata diversas atividades biológicas para a bergenina, dentre as quais citamos como principais as atividades: antioxidante, hepatoprotetora, anti-inflamatória e antiulcerogênica. No presente trabalho, os espectros UV/Visível da bergenina em água e em etanol foram estudados através de espectroscopia UV e por métodos computacionais. Foram calculadas as energias de excitação, força do oscilador utilizando a Teoria Funcional da Densidade-Dependente do Tempo (TFD-DT) usando o funcional B3LYP e o conjunto de bases 6-31G*. Além disso, o efeito do solvente sobre a molécula foi discutido com base nos cálculos *ab initio* HF/6-31G* realizados para determinação da estrutura molecular e de algumas propriedades moleculares. Os estudos computacionais para a molécula evidenciaram que a estrutura química da bergenina não é planar, apresentando uma conformação tipo cadeira no Anel D-glicopirranose a $-148,99^\circ$ para fora do plano, momento dipolar de 0,94D, energia do gap (ϵ_{gap}) de 11,14 e logP de -1,40. Os espectros UV/Vis simulados mostraram-se compatíveis com os espectros experimentais. Após os cálculos computacionais simulando a molécula em solvente etanol e em água, separadamente, foi observado que a conformação estrutural da bergenina não sofreu grandes variações, no entanto, seu momento dipolar variou para 2,80D e 1,33D, respectivamente, assim como a energia do gap para 11eV e 10,97V. Não foi observado alteração no logP durante o estudo do efeito do solvente. Os resultados indicaram que a bergenina interage muito mais com o etanol do que com a água, no entanto, os solventes utilizados para a simulação não alteraram a lipofilicidade da molécula. Além disso, os resultados obtivos através dos métodos computacionais, após comparação com os resultados obtidos por métodos experimentais neste trabalho e com os resultados encontrados na literatura, apresentaram-se compatíveis, indicando que a região cromófora ou fotoativa da molécula é localizada no Anel fenílico, sendo esta a região que mais contribui para a atividade biológica da bergenina.

Palavras chaves: Bergenina, Espectros de absorção UV, Teoria Funcional da Densidade Dependente do tempo- TFDDT, Métodos *ab initio*.

ABSTRACT

Bergenin is an isocoumarin typically found in tropical forest species, such as the Amazonian species Uchi-amarelo (*Endopleura uchi*), in which the substance is distributed in its leaves, bark and fruits. The literature reports several biological activities for bergenin, among which we mention the following main activities: antioxidant, hepatoprotective, anti-inflammatory and antiulcer. In this work, the spectra UV / Visible bergenin of water and ethanol were studied by UV spectroscopy and computational methods. Were calculated excitation energies, oscillator strength using the Density Functional Theory of Time-Dependent (TD-DFT) using the B3LYP functional and the basis set 6-31G*. Furthermore, the effect of solvent on the molecule has been discussed based on the HF/6-31G* ab initio calculations performed to determine the molecular structure and properties of some molecules. The computational studies for the molecule showed that the chemical structure of bergenin is not planar, with a kind chair conformation in ring D-glucopyranose to -148.99° out of the plane, the dipole moment of 0,94D, the energy gap (ϵ_{gap}) of 11.14 and logP of -1.40. The UV / Vis simulated were compatible with the experimental spectra. After the computations molecule simulating the ethanol solvent and water separately, it was observed that the structural conformation of bergenin not suffer large variations, however, its dipole moment changed to 2.80D and 1.33D, respectively, as well as gap energy to 11eV and 10.97eV. There was no change in logP during the study the effect of solvent. The results indicated that bergenin interacts with more ethanol than water, however, the solvent used for the simulation did not alter the lipophilicity of the molecule. In addition, results using the computational methods obtivos, after comparison with the results obtained by experimental methods in this study and the results reported in the literature were compatible, indicating that the photoactive region or chromophoric molecule is localized on the phenyl ring, this being the region that contributes to the biological activity of bergenin.

Keywords: Bergenin, absorption UV spectra, Density Functional Theory Time-Dependent – DFTTD, *ab initio* methods.

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1	Dados dos espectros de UV-Vis da Bergenina já relatados	5
Tabela 2	Dados dos espectros de IV da Bergenina já relatados	5
Tabela 3	Características típicas de alguns cromóforos	18

CAPÍTULO I

Tabela 1	Comparação entre as distâncias interatômicas dos átomos de bergenina descritas por Caldas et al(2002) e as obtidas através de otimização por HF/6-31G*	36
Tabela 2	Comparação entre os ângulos de ligação da molécula de bergenina descritos por Caldas et al (2002) e os obtidos através de otimização por HF/6-31G*	37
Tabela 3	Cargas da molécula de bergenina calculados por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken, e Natural utilizando função de onda no nível HF/6-31G*	38

LISTA DE QUADROS

INTRODUÇÃO

Quadro 1	Plantas no qual a bergenina foi isolada e elucidada por RMN	6
Quadro 2	Atividades Biológicas da bergenina descritas na literatura	9

CAPÍTULO I

Quadro 1	Dados espectroscópicos da Bergenina 10^{-4} M em água e Energias de excitação calculadas pelo método TFDĐT B3LYP/6-31G* em água, onde D(86)= HOMO e V(1)= LUMO são orbitais moleculares relacionados.	43
Quadro 2	Dados espectroscópicos da Bergenina 10^{-4} M em etanol e Energias de excitação calculadas pelo método TFDĐT B3LYP/6-31G* em etanol, onde D(86)= HOMO e V(1)= LUMO são orbitais moleculares relacionados.	46
Quadro 3	O efeito solvente na (a) energia de excitação singlete relativa, e (b) intensidade relativa das bandas, para a bergenina em três solventes: vácuo, etanol e água.	49
Quadro 4	Algumas Propriedades moleculares calculadas	52

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

Figura 1	(a) Estrutura molecular proposta para a bergenina por Tschitschibabin e colaboradores em 1929 e (b) estrutura molecular alterada por Shimokoriyama em 1950	4
Figura 2	Representação da estrutura Bergenina monohidratada com esquema de numeração atômica. (Caldas et al., 2002)	7
Figura 3	Estrutura Química da molécula de bergenina com átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio enumerados de acordo com Dittrich et al (2009) – Ligações de Hidrogênio	
Figura 3	Espectro eletromagnético (MASTERTON; HURLEY, 2010)	13
Figura 4	Processo de Transição	14
Figura 5	Níveis de Energia Eletrônica e Transições Eletrônicas	15
Figura 6	Energias de transição mais comuns	15

CAPÍTULO I

Figura 1	Estrutura molecular da bergenina	32
Figura 2	Estrutura química da molécula de bergenina com átomos de carbono e oxigênio enumerados de acordo com Caldas et al (2002)	35
Figura 3	Estrutura geométrica da bergenina no vácuo otimizada pelo método HF/6-31G*	36
Figura 4	Cargas atômicas dos carbonos da Bergenina calculadas por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural	40
Figura 5	Cargas atômicas dos oxigênios da Bergenina calculadas por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural	41
Figura 6	Mapa de Potencial Eletrostático da molécula de bergenina no vácuo sobre uma superfície de 0,002 eV/ua ³ .	42
Figura 7	(a) Espectro experimental da Bergenina em água 10 ⁻⁴ M; (b) Espectro UV/Vis teórico da Bergenina, calculado pelo método TFDDT B3LYP/6-31G* no solvente água	42

Figura 8	Orbitais moleculares para a bergenina em água calculados pelo método TFD B3LYP/6-31G*	44
Figura 9	(a) Espectro experimental da Bergenina em etanol 10^{-4} M; (b) Espectro UV/Vis teórico da Bergenina, método TFDDT B3LYP/6-31G*	45
Figura 10	Orbitais moleculares para a bergenina em etanol calculados pelo método TFD B3LYP/6-31G* em etanol	47
Figura 11	Comparação dos espectros teóricos de absorção UV/Vis da bergenina em água, etanol e no vácuo	48
Figura 12	Cargas atômicas dos carbonos e oxigênios da Bergenina calculadas por três métodos diferentes: (a) Eletrostática, (b) Mulliken e (c) Natural	50
Figura 13	Mapa de Potencial Eletrostático da molécula de bergenina em (a) etanol sobre uma superfície de $0,002 \text{ eV/ua}^3$ e em (b) água sobre uma superfície de $0,002 \text{ eV/ua}^3$.	51

LISTA DE ABREVIATURAS

INTRODUÇÃO

B3LYP	Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr
COSY	Correlation Spectroscopy
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
HF	Hartree-Fock
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
IC₅₀	Inhibitory Concentration 50
IV	Infravermelho
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
P.F	Ponto de Fusão
pH	Potencial hidrogeniônico
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SCF	Self-Consistent <i>Field</i> Method
TFD	Teoria do Funcional da Densidade
TFD-DT	Teoria do Funcional da Densidade - Dependente do Tempo
TLC	Thin Layer Chromatography
UAHF/PCM	United Atoms Hartree-Fock/Polarizable Continuum Method
UV/VIS	Ultravioleta/Visível
UR	Umidade Relativa

CAPITULO I

B3LYP	Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr
D	Debye
HD	Hard Disk
HF	Hartree-Fock
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital

HWHM	Half Width at Half Maximum
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Intelectual
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
OM	Orbital Molecular
UV/VIS	Ultravioleta/Visível
SO	Sistema Operacional

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. BERGENINA	
2.1 Molécula	4
2.2 Dados Estruturais e Espectroscópicos	4
2.3 Propriedades Físico-Químicas	7
2.4 Atividades Biológicas	9
2.5 Cálculos Teóricos	10
3. AS BASES TEÓRICAS	
3.1 Espectroscopia de Absorção UV/Visível	12
3.1.1 As transições eletrônicas de sistemas moleculares	14
3.1.2 O efeito do solvente nos processos fotofísicos	17
3.2 Mecânica Quântica	18
3.2.1 O Método Hartree-Fock (HF)	19
3.2.2 Teoria do Funcional da Densidade (TDF)	19
3.2.3 Teoria do Funcional da Densidade - Dependente do Tempo (TFD-DT)	20
3.2.4 Orbital atômico e orbital molecular	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
CAPÍTULO I	29

1. INTRODUÇÃO

O uso e aproveitamento de espécies vegetais com propriedades terapêuticas (conhecidas popularmente pelo jargão *plantas medicinais*) têm sido durante muitos séculos difundido em vários lugares. Essas plantas representaram durante muito tempo a fonte de acesso à cura para os grupos mais carentes da população (RATES, 2001). De acordo com Springfield et al (2005), a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que 80% da população depende da medicina tradicional, indicando que estas fontes naturais com atividade biológica, comprovada ou não, continuam sendo valorizadas pelo mundo inteiro, principalmente quando os tratamentos habituais da medicina não atingem seu objetivo pleno, a cura do paciente.

Uma classe de compostos químicos, as *isocumarinas*, tem se destacado em relação às suas propriedades terapêuticas, tais como: antialérgica, antimicrobiana, imunomoduladora, antifúngica, antiinflamatória, anticâncer, etc; e são produzidas naturalmente por plantas, fungos, bactérias, e líquens (BARRY, 1964; QADEER, RAMA, e SHAHA, 2007). Fazendo parte dessa classe, uma substância conhecida como **Bergenina** tem despertado interesse devido a essas propriedades citadas anteriormente e outras mais descritas na literatura (RASTOGI e RAWAT, 2008; PATEL et al, 2012).

A Bergenina foi descoberta por Garreau e Machelart (1880), sendo extraída inicialmente da espécie *Saxifraga crassifolia* (sinonímia, *Bergenia crassifolia*) e de outras espécies da própria família (Saxifragaceae). Sua aplicação inicial na medicina tradicional visava combater males que afetavam e enfraqueciam a “resistência vital”, atuando como um poderoso tônico do sistema nervoso. Anos mais tarde, outros pesquisadores conseguiram isolar esta substância em espécies de outras famílias. Desde então, estudos com a Bergenina vem sendo realizados atestando suas atividades biológicas (OKADA et al, 1973; ABE et al, 1980; PIEGEN, 1980; JAHROMI, CHANSOURIA e RAY, 1992; PIACENTE, 1996; GOEL et al, 1997; KIM et al, 2000; PU et al, 2002; NYASSE et al, 2004; MADUKA e OKOYE, 2006). Magalhães et al (2007) identificaram esta isocumarina em uma espécie amazônica conhecida comumente pelos nomes de Uxi, uchi, uchi-amarelo ou uchi-pucu

(*Endopleura uchi*), da família Humiriaceae. Dois anos mais tarde, Nunomura et al (2009) e Silva et al (2009) relataram, respectivamente, a atividade antioxidante e a atividade antimicrobiana em extratos desta mesma espécie. Através destes resultados e dos resultados de outros pesquisadores, a Bergenina apresenta-se como uma substância química potencial para a produção de um novo medicamento para o tratamento de hepatite C, tripanossomos, artrite, úlcera pépticas e males do trato gastrointestinal e urinário e etc., além de atuar como agente antioxidante e antiinflamatório (RASTOGI e RAWAT, 2008; PATEL et al, 2012).

No que tange o desenvolvimento de novos medicamentos, Adams e Brantner (2010) estimam que para a descoberta de um novo fármaco, considerando o processo de sua cadeia inovativa (ensaios químicos, ensaios clínicos, regulamentação e disponibilização nas prateleiras das farmácias), a indústria farmacêutica investe em média \$1,214 milhões. Barreiro e Pinto (2010) estimam que a cada 10.000 moléculas pesquisadas, apenas uma transforma-se em medicamento, logo, o valor exorbitante citado contabiliza também os insucessos das moléculas pesquisadas que não chegaram a ser comercializadas.

Com o intuito de minimizar os gastos que a indústria farmacêutica tem com o lançamento de novos medicamentos é que a Espectroscopia eletrônica aliada à Química computacional se apresentam como uma das ferramentas no estudo da relação entre estrutura química e atividade biológica de espécies químicas. Através da Espectroscopia eletrônica torna-se possível estudar os grupos cromóforos (parte da molécula que contém os elétrons envolvidos na transição eletrônica que dá origem a uma absorção), comportamento solvatocrômico (efeito relacionado à dependência dos espectros de absorção e emissão de acordo com a polaridade do solvente) e as transições eletrônicas de uma substância. Além disso, pode-se determinar na substância, os níveis de energias de orbitais moleculares ocupados e desocupados, e as diferenças das energias entre si, especialmente a diferença entre os os orbitais moleculares de fronteira HOMO (Orbital Molecular Ocupado Mais Alto) e LUMO (Orbital Molecular Desocupado Mais Baixo), o qual desempenham papel fundamental na reatividade dos compostos em muitos tipos de reações químicas e biológicas (ANDERSON, BENDELL e GROUNDWATER, 2004; ALBUQUERQUE, 2008). Por outro lado, a Química Computacional, através dos cálculos quânticos é capaz

de expressar muitos parâmetros moleculares de uma substância, tais como: estrutura geométrica molecular, estrutura eletrônica, distribuição de cargas de substâncias químicas e suas interações, etc; e relacioná-los com suas atividades biológicas (ARROIO; HONÓRIO e SILVA, 2010). O avanço tecnológico computacional contínuo (ALCÁCER, 2007) e o surgimento e aprimoramento de pacotes computacionais como Gaussian (Gaussian, Inc.) e Spartan (Wavefunction, Inc.) tem permitido o estudo de moléculas e sistemas moleculares cada vez mais complexos e com precisão, em prazos de tempo cada vez menores, e com menor utilização de memória de processamento, como é o caso dos cálculos teóricos baseados na Teoria do Funcional da Densidade - TFD (MORGON e CUSTÓDIO, 1994), tornando viável o estudo teórico de uma substância.

Sendo assim, pode-se ressaltar a importância do estudo teórico e espectroscópico da Bergenina, visto que poderá contribuir não somente para a determinação das propriedades moleculares e fotofísicas desta substância, mas também, em princípio, serão capazes de ajudar no entendimento da relação entre a estrutura química desta molécula e suas atividades biológicas, e como consequência disto, o entendimento de seu mecanismo de ação e o aperfeiçoamento da molécula. Além disso, este trabalho fornecerá dados importantes que poderão ser utilizados em estudos futuros com a substância.

2. BERGENINA

2.1. Molécula

A Bergenina é um derivado da família das cumarinas intitulado formalmente como uma δ -lactona do ácido 4-metóxi-2[(1S,2R,3S,4S,5R)-3,4,5,6-tetrahidro-3,4,5-trihidroxi-6 (hidroximetil)-2H-pirano-2-il]-alfa-resorcílico (RASTOGI; RAWAT, 2008).

Após sua descoberta por Garreau e Machelart em 1880, foi estudada principalmente por Tschitschibabin et al (1929), no qual forneceram a seguinte fórmula molecular, na sua forma monohidratada: $C_{14}H_{16}O_9 \cdot H_2O$, e propuseram a primeira estrutura química para a substância (Figura 1a). Anos mais tarde, em 1950, a estrutura foi alterada por Shimokoriyama (Figura 1b).

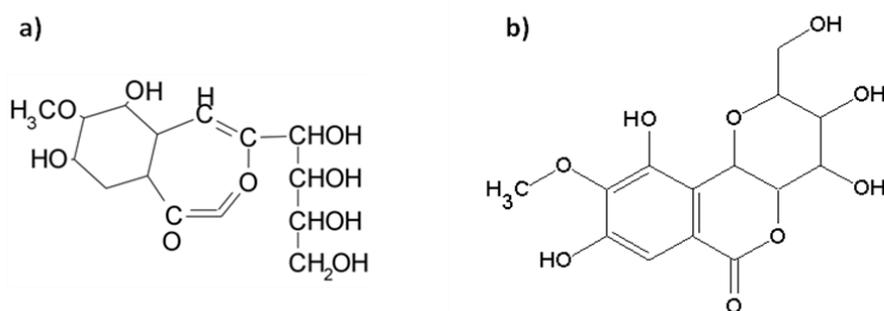


Figura 1 - (a) Estrutura molecular proposta para a bergenina por Tschitschibabin e colaboradores em 1929 e (b) estrutura molecular alterada por Shimokoriyama em 1950

Comumente isolada, especificamente da raiz da *Bergenia crassifolia*, esta substância é um derivado C-glicopiranosil do ácido 4-O-metilgálico, tendo aparência cristalina incolor (HAY; HAYNES, 1958).

2.2. Dados Espectroscópicos e Estruturais

Posternak e Dürr (1958) definiram esta substância hidratada como sendo uma isocumarina que contém 01 grupo lactona, 01 grupo metóxi e 06 grupos hidroxilas, sendo que 02 delas são fenólicas e 01 correspondente à molécula de água. Além disso, os ensaios espectroscópicos de absorção no UV-Vis relatados pelos autores apresentaram bandas com máximo de absorção nos comprimentos de onda 272nm e 213nm, e 241nm. Posteriormente, outros pesquisadores também analisaram o

espectro de absorção UV-Vis concordando com as absorções descritas por Posternak e Dürr, as quais são citados alguns destes na Tabela 1.

Tabela 1 – Dados dos espectros de UV-Vis da Bergenina já relatados

REFERÊNCIA	SOLVENTE UTILIZADO	BANDAS DE ABSORÇÃO UV-VIS
Posternak e Dürr, 1958	Etanol	272nm; 241nm; 213nm
Fujise et al., 1959	Etanol	220nm; 275nm
Ogan, 1971	Metanol	225nm; 275nm; 310nm
Faparusi e Bassir, 1972	Etanol	275nm
Qin et al., 2010	Água	220nm; 275nm

A literatura registra também dados a respeito das bandas de absorção no Infravermelho (IV) da Bergenina. Alguns destes dados são encontrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados dos espectros de IV da Bergenina já relatados

REFERÊNCIA	BANDAS DE ABSORÇÃO IV
Fujise et al., 1959	1703 cm ⁻¹ (C=O)
Ogan, 1971	3350 cm ⁻¹ e 3200 cm ⁻¹ (OH) 1700 cm ⁻¹ (C=O), 1610 cm ⁻¹ (C=C) Seis bandas: 1040-1100 cm ⁻¹ , com máximo em 1090 cm ⁻¹ (C—O)
Magalhães et al., 2007	3400 cm ⁻¹ e 3291cm ⁻¹ (OH) 1706 cm ⁻¹ (C=O) 1609 cm ⁻¹ , 1587 cm ⁻¹ e 1493 cm ⁻¹ (C=C)
Abreu et al., 2008	3450 cm ⁻¹ e 3200 cm ⁻¹ (OH) 1702 cm ⁻¹ (C=O) 1612 cm ⁻¹ , 1528 cm ⁻¹ , 1460 cm ⁻¹ e 1375 cm ⁻¹ (C—C) 1090 cm ⁻¹ a 1070 cm ⁻¹ (C—O)
Qin et al., 2010	1713 cm ⁻¹ (C=O), 1695 cm ⁻¹ (C=O)

A literatura também registra o uso de espectroscopia de RMN (^{13}C e ^1H , HMBC, COSY e outros) como ferramenta para elucidação estrutural da Bergenina. Dentre as espécies das quais a substância já fora isolada e teve sua estrutura elucidada, destacamos algumas no Quadro 1.

Quadro 1 – Plantas no qual a bergenina foi isolada e elucidada por RMN

FAMÍLIA	ESPÉCIE	REFERENCIA
Humiriaceae	<i>Endopleura uchi</i>	MAGALHÃES et al., 2007; SILVA et al., 2009; NUNOMURA et al., 2009
Saxifragaceae	<i>Saxifraga stolonifera</i>	TANEYAMA et al., 1983
	<i>Astilbe chinensis</i>	YE, SUM e PAN, 2004
	<i>Rodgersia podophylla</i>	CHIN e KIM, 2006
	<i>Rodgersia sambucifolia</i>	DENG et al., 2010
	<i>Bergenia stracheyi</i>	NAZIR et al., 2011
Leguminosae	<i>Peltophorum interme</i>	JOSHI e KAMAT, 1969
Euphorbiaceae	<i>Macaranga roxburghii</i>	RAMAIAH et al., 1979
Dipetrocarpaceae	<i>Vatica diospyroides</i>	SEO et al., 1999
	<i>Hopea sangal</i>	NASSER et al., 2009
Myrtaceae	<i>Syzygium cumini</i>	KOPANSKI e SCHNELLE, 1988
Myrsinaceae	<i>Ardisia japonica</i>	PIACENTE, 1996
	<i>Ardisia corolata</i>	SUMINO et al., 2002
	<i>Ardisia crenata</i>	DENG et al., 2010
Fabaceae	<i>Caesalpinia mimosoides</i>	YODSAOUE et al., 2010

Caldas et al (2002) declararam que dados espectroscópicos (NMR, UV e IV) não permitiam a definição sem ambiguidades da estereoquímica de uma substância e, por este motivo, determinaram a estrutura de Raio-X da Bergenina a 120K, enquanto Ye et al (2004) determinaram a estrutura cristalográfica à temperatura de

288K objetivando confirmar a estrutura química elucidada por Zhou et al (1999) através de RMN 2D. Posteriormente, Dittrich e colaboradores (2009) elucidaram também a estrutura da bergenina por difração de Raio-X, à temperatura de 293K, baseando-se nos parâmetros atômicos relatados por Ye et al (2004), designando a bergenina em seu trabalho como sendo uma substância que consiste de um sistema tricíclico formado por um anel D-glicopiranoose (III) na conformação 4C_1 , um anel δ -lactona (II) e um anel aromático (I) fundido ao anel δ -lactona, conforme visto na Figura 1:

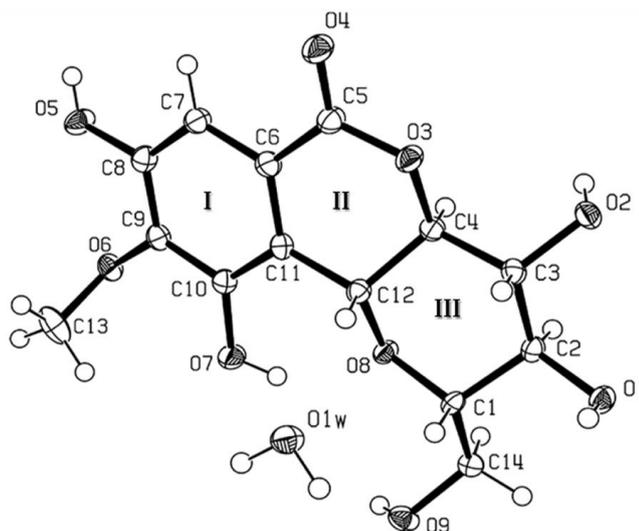


Figura 2 - Representação da estrutura Bergenina monohidratada com esquema de numeração atômica. (Caldas et al., 2002)

2.3. Propriedades Físico-químicas

A bergenina foi descrita por Ssadikow e GÜthner (1927) como uma substância insolúvel em água fria e pouco álcool e facilmente solúvel em álcool quente, cujos cristais pertencem ao sistema ortorrômbico com ângulo do prisma de $91^{\circ}15'$ e faces laterais a $126^{\circ}22'$. Além disso, os autores relataram em seu trabalho que a bergenina apresentou ponto de fusão a 230°C . Vários outros autores relataram também esta característica físico-química da substância definindo valores próximos ao valor descrito acima, dentre os quais citamos: Dean e Walker (1958) e Maduka e Okoye (2008) com p.f. a 238°C , Nasser et al (2009) com p.f. a 235°C e QIN et al (2010) com p.f. a $240,7^{\circ}\text{C}$. Sendo assim, pode-se definir que a bergenina possui ponto de fusão que varia de 230°C a $240,7^{\circ}\text{C}$.

Zhou et al (2008) realizaram um estudo que visava determinar as propriedades da bergenina como forma de fornecer dados para a melhoria da biodisponibilidade da droga e do desenvolvimento de novas formas de dosagem oral. Os autores determinaram as características do estado sólido, estabilidade da solução, constante de dissociação (pKa), solubilidade e coeficiente de partição octanol/água (log P). Os autores relataram os seguintes resultados: 1) O acréscimo de peso em uma amostra armazenada a 57,5%~98% UR (a 25°C) foi suave variando de 0,39% a 0,43% m/m, mesmo enquanto em umidades elevadas, evidenciando baixa higroscopicidade; 2) O efeito da umidade e aquecimento a 75% UR e 40°C revelou boa estabilidade por parte da bergenina; 3) A bergenina sofre degradação em pH neutros a alcalinos, podendo sofrer degradação de até 82,7% neste primeiro. Em contrapartida a substância é estável em pH ácido (1.0, 3.0 e 5.0); 4) A bergenina é fracamente solúvel a 25°C (pH 1.0=1,29 ±0,044 mg/mL, pH 3.0=1,08 ±0,057 mg/mL e pH 5.0=1,22 ±0,058 mg/mL) e altamente solúvel em temperatura elevada de 60°C (pH 1.0=8,76 ±0,039 mg/mL, pH 3.0=6,75 ±0,095 mg/mL e pH 5.0=7,80 ±0,075 mg/mL); 5) A constantes de dissociação obtidas foram pKa1=5,46 ±0,13 e pKa2=5,74 ±0,18, o que indica propriedades de um ácido fraco; 6) O log P encontrado foi -1,19 ± 0.044 em pH variando de 1 a 6, a 37°C. Os autores concluem que, de acordo com os valores de solubilidade e de coeficiente de partição, a bergenina não é nem altamente hidrofílica nem altamente lipofílica, e por ser instável em solução aquosa explicaria sua baixa biodisponibilidade.

Chen et al (2007), estudaram o comportamento eletroquímico da bergenina com o objetivo de desenvolver um método para determinação voltamétrica de pulso da substância presente em comprimidos e em urina sem tratamento preliminar. Este método, segundo os autores possui baixo limite de detecção, resposta rápida, baixo custo e simplicidade frente à outros métodos. Fazendo uso de um eletrodo de carbono vítreo modificado com uma película do polímero Poli(4-(2-piridilazo)-resorcinol), um pequeno volume de bergenina a $1,0 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹ foi adicionado a um tampão fosfato com pH 6.0, onde permaneceu em circuito aberto (-0.40 a 0.80V) por 3 minutos. Um pico em 0,595 V após a adição de bergenina na célula eletroquímica indicou que o filme polimérico aumentou significativamente o pico de oxidação da substância. As taxas de recuperação das amostras fortificadas de bergenina em comprimidos e em urina alcançaram, respectivamente, 99,7 a 102,8%

e 96,2 a 107,3%, o que indica reprodutibilidade frente à outros métodos, como espectroscopia UV-Vis. Os autores concluem a partir dos resultados obtidos que há a possibilidade de criação de um eletrodo modificado quimicamente por 4-(2-piridilazo)-resorcinol, pois a película do polímero evidenciou a acumulação altamente eficaz no que diz respeito à bergenina, apresentando pico significativo de corrente de oxidação desta. Além disso, a modificação no eletrodo de carbono vítreo conferiu uma melhoria significativa na sensibilidade e a possibilidade de sua aplicação em produtos farmacêuticos.

2.4. Atividades Biológicas

Ao longo dos anos, a bergenina vem sendo extraída de folhas, cascas e raízes de diversas plantas tropicais para uso na medicina popular e aplicada principalmente no tratamento de males gastrointestinais. Garreau e Machelart (1880) descreveram a bergenina como uma substância com propriedades terapêuticas possuindo a “arte de cura”. Desde sua descoberta, diversos estudos têm sido realizados relatando suas atividades biológicas, as quais podem ser vistas no Quadro 2.

Quadro 2 – Atividades Biológicas da bergenina descritas na literatura

ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERENCIA
Bacteriostática	FAPARUSSI e BASSIR, 1972
Antiulcerogênica	OKADA et al., 1973 ABE, SAKAI e UCHIDA, 1980 ARFAN, 2011
Gastroprotetora contra úlceras	ABE, SAKAI e UCHIDA, 1980 GOEL et al., 1997 ZHANG et al., 2003 QIN et al., 2010
Antioxidante	EKONG e EJIKE, 1974 TAKAHASHI et al., 2003 MADUKA e OKOYE, 2006

	SRINIVASAN et al., 2007 ABREU et al., 2008
Antitussígena	PIEGEN, 1980
Anti-inflamatória	SWARNALAKSHMI et al., 1984 NUNOMURA et al., 2009
Hepatoprotetora	HIKINO et al., 1985 KIM et al., 2000
Hipolipidêmica	JAHROMI, CHANSOURIA e RAY, 1992
Antimicrobiana	PRITHIVIRAJ et al., 1997 SILVA et al., 2009
Antiarrítmica	PU et al., 2002
Tripanocida	NYASSE et al., 2004
Anti-artrite	NAZIR et al., 2007
Anti-narcótico à dependência a morfina	JUNG et al., 2011

Com relação ao efeito antioxidante, Maduka e Okoye (2005), fazendo uso dos conceitos mecanísticos, discutiram em seu trabalho que esta propriedade da bergenina extraída da casca do tronco da *Sacoglottis gabonensis* (usada na Nigéria como aditivo nutricional e para o tratamento de doenças hepatotóxicas) está relacionado com a capacidade antioxidante das hidroxilas ligadas aos átomos C₁₀, C₈, C₂ e C₃ (Figura 1). Os autores ressaltam ainda que os grupos –OH ligados aos átomos C₁₀ e C₈ são mais fortes em propriedades antioxidantes do que aqueles grupos ligados aos átomos C₂ e C₃.

2.5. Cálculos Teóricos

Em 2008, Abreu et al publicaram um estudo que tinha como foco investigar a atividade antioxidante da bergenina na presença do radical hidroxila (-OH). Após obter a substância a partir extratos da casca da *Sacoglottis uchi* (Humiriaceae) preparados com etanol e com hexano, o produto foi submetido a ensaios espectroscópicos (RMN e IV) e cromatográfico para identificação da bergenina. Foram realizados testes de atividade antioxidante qualitativo (TLC, usando β -caroteno e DPPH) e quantitativo (UV-Vis, leitura de absorção em um comprimento de onda de 545nm) misturando a bergenina com peróxido de hidrogênio (H₂O₂),

magnetita, solução metanólica de azul de metileno e metanol, os quais revelaram que a bergenina é um ótimo eliminador de radicais livres e possui excelente atividade antioxidante. Além deste ensaio, os autores realizaram cálculos teóricos através do pacote computacional Gaussian 03 (Gaussian, Inc.). Para a otimização da geometria em fase gasosa foi utilizada a função de base PBE/6-311++G(d,p) para obtenção das frequências harmônicas; Para os cálculos que visavam a atividade oxidante, foram tomadas as espécies $\cdot\text{H}$, $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{CH}_3$ e $\cdot\text{CCl}_3$ como radicais iniciadores na oxidação da bergenina, resultando na formação de radicais derivados. Para isto, as geometrias otimizadas foram submetidas a cálculos UAHF/PCM [no nível da teoria HF/6-31+G(d,p)]. Os autores relataram com base na análise dos orbitais de fronteira que, pelo fato de o LUMO estar completamente localizado na porção aromática da molécula (**I**) (Figura 1) significa que esta região é responsável pela atividade antioxidante e que modificações na sua estrutura molecular poderiam potencializar essa propriedade nesta região da molécula.

Em um estudo feito por Dittrich et al (2009), intitulado “*How to easily replace the independent atom model – the example of bergenin, a potencial anti-HIV agent of traditional Asian medicine*”, foram realizados ensaios experimentais e teóricos com a molécula da bergenina, como forma de aprovar o uso do formalismo *invariom* em substituição ao modelo atômico independente (IAM, *Independent Atomic Model*). Inicialmente, a estrutura cristalográfica da amostra de bergenina foi obtida através de um difratômetro de Raio-X, o qual foram aplicados dois refinamentos, fornecendo inicialmente o modelo E1 e, a partir deste, o modelo E2. Foi utilizada a geometria molecular do modelo E1 como ponto de partida para os cálculos feitos através dos métodos HF e DFT, no nível HF/6-311+G(d,p) e B3LYP/6-311+G(d,p) da teoria, com o programa AIM 2000, o que permitiu a comparação com os resultados experimentais. Os autores relatam que não houveram grandes diferenças entre os modelos E1 e E2 quanto à análise de carga e volume (0,05 e 0,06 Å, respectivamente), propriedades topológicas das ligações e densidade eletrônica (sendo que regiões negativas foram mais pronunciadas no modelo E2). O formalismo *invariom* foi capaz de reproduzir propriedades da estrutura química muito além daquelas obtidas a partir do IAM, demonstrando que o formalismo *invariom* está devidamente adequado para posterior aplicação não só na medicina tradicional, mas também como uma ferramenta acessível na pesquisa de drogas em geral. Além

disso, foi evidenciado a presença de 07 ligações de hidrogênio na estrutura cristalina da bergenina, sendo que uma delas ($O_4 - H_1 \cdots O_3$, Figura 1) é intramolecular. As ligações de hidrogênio restantes são intermoleculares, e a mais forte é formada entre o grupo hidroxila doador O_6-H_2 e o grupo aceptor O_{10} da água, onde a distância $H_2 \cdots O_{10}$ é igual a 1,65 Å e a energia da ligação maior que $60 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

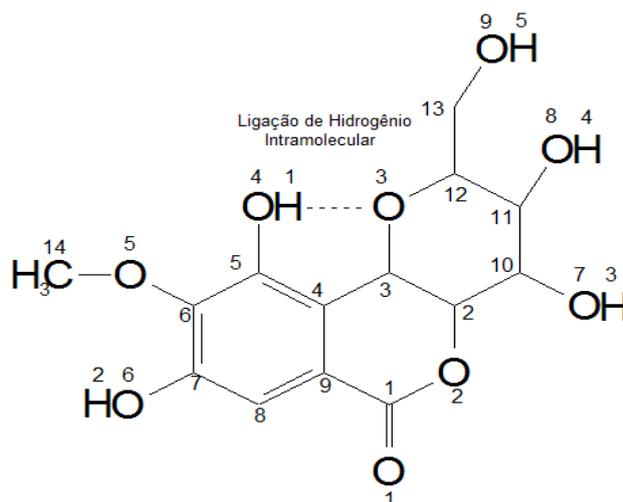


Figura 3 - Estrutura Química da molécula de bergenia com átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio enumerados de acordo com Dittrich et al (2009) – Ligações de Hidrogênio

Arfan et al (2011) realizaram um estudo que visou explorar o papel da bergenia na inibição de urease liberada por patógenos, especialmente a *H. pylori*. Conforme relatado, foi realizado primeiramente um ensaio experimental de inibição de urease misturando à 25mL dessa enzima (proveniente da *Bacillus pasteurii*) um volume de 55mL de tampão (2-24 mM de urease) contendo uréia e 5mL de bergenia por 15 minutos. Em paralelo, os autores realizaram simulações de *docking* molecular através do programa AutoDock 3.0.5 - pacote computacional para modelagem molecular desenvolvido inicialmente para uso em simulações pelo método Monte Carlo (Morris et al, 1998) - juntamente com AutoDockTools e Algoritmo Genético Lamarckiano. Como resultados, os autores descreveram que a bergenia apresentou um alto potencial inibitório, sendo capaz de inibir até 78% da urease de *Bacillus pasteurii*, em uma IC_{50} . Com relação aos resultados teóricos, foi relatado que a bergenia penetra profundamente no sítio ativo da enzima, sendo que as principais ligações de hidrogênio que a molécula manteve foram com a Lisina, Alanina, Arginina, Glicina e Aspartato e algumas ligações hidrofóbicas que estabilizaram a bergenia no sítio da enzima.

3. AS BASES TEÓRICAS

3.1. Espectroscopia de Absorção UV Visível

Segundo Burnett e Crocker (2005), pode-se definir espectroscopia como sendo o estudo das interações da radiação eletromagnética com a matéria. A espectroscopia é uma ferramenta de grande utilidade no estudo de estruturas moleculares, composição e frequências de vibração de uma dada substância, sendo possível também localizar prováveis produtos intermediários de uma reação através dos diferentes métodos espectroscópicos.

A distribuição de radiação eletromagnética de acordo com a energia (ou frequência ou comprimento de onda equivalente) é chamada de espectro eletromagnético (Figura 3), o qual é arbitrariamente dividido em regiões, incluindo a visível (NAJID, 2007). Os tipos de radiação, como os raios γ ou ondas de rádio, diferem da luz visível somente com relação à energia (frequência) dos seus fótons. (SKOOG et al., 2006).

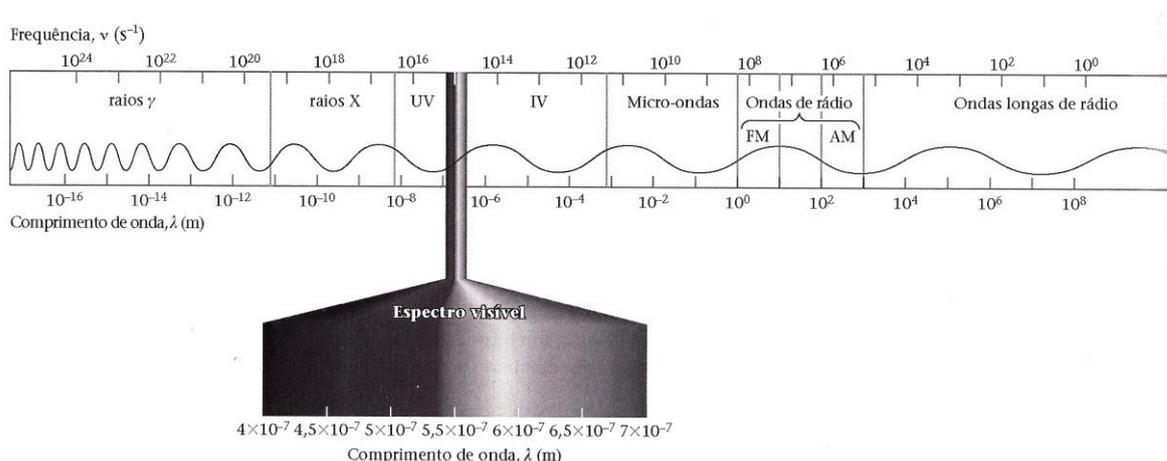


Figura 4 - Espectro eletromagnético (MASTERTON; HURLEY, 2010)

Neste âmbito, existem diferentes tipos de espectroscopia, o qual tratam das diferentes regiões do espectro eletromagnético (por exemplo: Raio-X, luz ultravioleta, radiação infravermelha, etc), das propriedades da matéria com o qual ocorrem interações (vibração molecular, por exemplo) e das interações físicas envolvidas

(espalhamento, absorção ou emissão da radiação, etc) (BURNETT e CROCKER, 2005). Para cada região do espectro eletromagnético existem diferentes tipos de transições atômicas e moleculares que resultam das interações da radiação com a amostra.

Ao passar por um material transparente, uma porção da radiação contínua pode ser absorvida. Se isto ocorrer, a radiação residual produz um espectro com disparidades chamado de espectro de absorção. Como resultado da energia de absorção, átomos e moléculas passam de um estado de baixa energia (estado inicial ou fundamental) para um estado de alta energia (estado excitado). Este processo de excitação pelo qual a molécula passa é quantizado (Figura 4) e a radiação eletromagnética que é absorvida tem energia exatamente igual à diferença entre o estado excitado e o estado fundamental (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010).

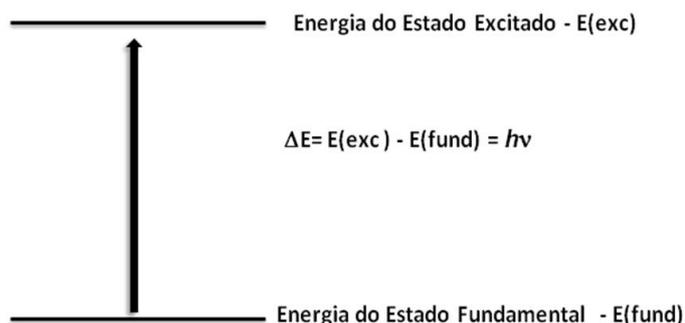


Figura 5 - Processo de Transição

Os tipos de interações mais interessantes em espectroscopia envolvem transições entre diferentes níveis energéticos das espécies químicas. Outros tipos de interações como a reflexão, refração, espalhamento elástico, interferência e difração, são freqüentemente mais relacionados com alterações das propriedades globais dos materiais do que com os níveis energéticos de moléculas ou átomos específicos (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010).

Dentre os diferentes tipos de espectroscopia, destacamos a Espectroscopia de UV/Vis, o qual tem sido aplicada de forma ampla como uma ferramenta para a análise quantitativa, caracterização e controle de qualidade nos campos agrícolas, farmacêutico e biomédico (ROJAS; OJEDA, 2009).

Em vários compostos os elétrons podem sofrer várias transições possíveis de diferentes energias. Algumas das transições mais importantes podem ser vistas na Figura 6.

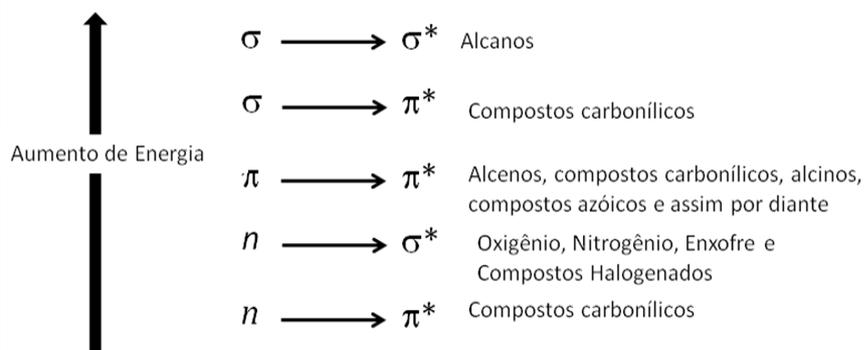


Figura 7 - Energias de transição mais comuns

A energia necessária para promover transições de um HOMO no estado fundamental para LUMO é menor que a energia necessária para provocar a transição de um nível ocupado de baixa energia. Assim, na figura acima uma transição $n \rightarrow \pi^*$ pode ter energia mais baixa que uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$. Geralmente, a transição de baixa energia é a mais importante (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010).

Nem todas as transições possíveis que ocorrem em uma espécie molecular podem ser observadas. Isto ocorre pelo fato de estarem sujeitas a restrições, o qual são chamadas de **regras de seleção**. Wardle (2009) descreve em sua obra duas importantes restrições: Regra de seleção SPIN e Regra de Seleção Simetria de Orbital. A *primeira regra de seleção* trata que uma transição eletrônica toma lugar com nenhuma mudança no spin eletrônico total – que é $\Delta S=0$ – portanto transições singlete \leftrightarrow triplete são proibidas ou permitidas bastante fracas. Isto provém de cálculos da mecânica quântica, não levando em conta as interações dos elétrons ou núcleo na molécula, e definindo que resultados do acoplamento spin-orbital no spin de um elétron são afetados pelo movimento do orbital. Como consequência disto, um estado singlete adquire alguma característica triplete e um estado triplete alguma característica singlete. Já a *segunda regra de seleção* define que, de acordo com a teoria quântica, a intensidade da absorção pelas moléculas é explicada considerando as funções de onda dos estados inicial e final (Ψ e Ψ^* , respectivamente). Uma transição eletrônica irá prosseguir mais rapidamente quando Ψ e Ψ^* se assemelham mais de perto, ou seja, quando o acoplamento entre os

estados inicial e final são fortes. Uma vez que o coeficiente de absorção molar ϵ , é maior quando a transição eletrônica é mais provável (isto é, quando a taxa de absorção é maior), os maiores valores para ϵ também ocorrem quando as funções de onda Ψ e Ψ^* se assemelham umas às outras. A fraca absorção da transição $n \rightarrow \pi^*$ comparada com a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ é uma consequência da regra de seleção de simetria de orbital. Enquanto a sobreposição de orbitais em uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$ é tão grande quanto possível, a sobreposição de orbitais em transições $n \rightarrow \pi^*$ são muito menores, uma vez que esses orbitais encontram-se perpendiculares um ao outro. Em geral, transições envolvendo uma grande mudança na região do espaço em que o elétron ocupa são proibidas. De acordo com a segunda regra descrita acima, determina-se que transições $n \rightarrow \pi^*$ são proibidas, no entanto, são transições fracamente permitidas devido ao acoplamento dos movimentos vibracional e eletrônico, chamado de acoplamento vibrônico, e resulta de um desarranjo da aproximação de Born-Oppenheimer.

Por existirem tantas transições possíveis, cada uma diferindo de outras através somente de uma pequena quantidade, cada transição eletrônica consiste de um vasto número de linhas espaçadas como um invólucro sobre todo o padrão. O que é observado destes tipos de transições combinadas é que o espectro UV de uma molécula usualmente consiste de uma larga banda de absorção localizada próxima ao comprimento de onda de maior transição (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010).

3.1.2. O efeito do solvente nos processos fotofísicos

As interações entre o soluto e o solvente são capazes de modificar algumas características nas bandas de absorção UV/Vis de uma dada substância, tais como: posição, intensidade e formato das bandas. (BORGES, 1994) A este efeito se dá o nome de efeito do solvente. A natureza do solvente pode gerar deslocamentos no espectro de absorção devido a interações físicas intermoleculares, onde citamos: ligações de hidrogênio, interações íon-dipolo, dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido, etc, onde os deslocamentos observados no espectro de absorção UV/Vis fornecem

informações importantes que podem auxiliar na determinação do tipo de transição eletrônica ($n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$) que está ocorrendo. (ROUESSAC & ROUESSAC, 2007)

O efeito do solvente está intimamente relacionado às propriedades dos grupos cromóforos, ou seja, grupos de átomos ou átomos que são responsáveis pela absorção da radiação eletromagnética em uma. O uso de solventes com polaridades diferentes à polaridade do soluto tende a aumentar ou diminuir a separação entre os níveis π e π^* , podendo deslocar algumas ou todas as bandas de absorção de uma substância para o vermelho (deslocamento batocrômico) ou para o azul (deslocamento hipsocrômico). Tipicamente, transições $n \rightarrow \pi^*$ sofrem deslocamento para o azul devido à interação de um elétron no orbital n com o solvente através de efeitos eletrostáticos, sendo que o deslocamento aumenta à medida que se aumenta a polaridade do solvente. Esta interação é mais forte que a interação de um elétron do orbital π^* , aumentando a separação de energia entre estes dois orbitais. Por outro lado, transições $\pi \rightarrow \pi^*$ sofrem o inverso. Devido à estabilidade que o solvente fornece ao soluto no estado excitado, ocorre um deslocamento para o vermelho, favorecendo esta transição. (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010)

Na Tabela 5 é possível observar alguns grupos cromóforos e suas principais características:

Tabela 3 – Características típicas de alguns cromóforos

Cromóforo	Transição	λ_{\max}	$\log \epsilon_{\max}$
C-C	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<180	3,0
C-H	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<180	3,0
C=C	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	4,0
C=C-C=C	$\pi \rightarrow \pi^*$	220	4,3
<i>Benzeno</i>	$\pi \rightarrow \pi^*$	260	2,3
<i>Naftaleno</i>	$\pi \rightarrow \pi^*$	310	2,3
<i>Antraceno</i>	$\pi \rightarrow \pi^*$	380	4,0
C=O	$n \rightarrow \pi^*$	280	1,3
C=C-C=O	$n \rightarrow \pi^*$	350	1,5
C=C-C=O	$\pi \rightarrow \pi^*$	220	4,3
R-OH	$n \rightarrow \sigma^*$	180	2,5
R-O-R	$n \rightarrow \sigma^*$	180	3,5
R ₂ C=CR ₂	$\pi \rightarrow \pi^*$	175	3,0
R-C≡C-R	$\pi \rightarrow \pi^*$	170	3,0
R ₂ CO	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	3,0
R ₂ CO	$n \rightarrow \pi^*$	280	1,5

3.2. Mecânica Quântica

A Mecânica Quântica tem sido empregada para o estudo das propriedades de átomos, moléculas e outros objetos de tamanho e massa extremamente pequenos. Segundo postulados de Mecânica Quântica: (I) O estado físico de um sistema é descrito tão completamente quanto possível, por uma função de onda complexa Ψ . (II) O valor esperado de qualquer quantidade que seja fisicamente observável pode ser calculado com uma função de onda Ψ . (III) a função de onda Ψ é uma solução de equação de Schrödinger. Por isso, a primeira e principal tarefa de aplicação de Mecânica Quântica num sistema atômico e molecular é resolver a equação de Schrödinger do sistema. A equação de Schrödinger pode ser resolvida exatamente para um sistema mono-eletrônico, tais como átomos hidrogenóides H, He⁺, Li²⁺, ou uma molécula H₂⁺ e semelhantes. A função de onda monoelétrica é conhecida como um orbital. Por outro lado, a equação de Schrödinger não pode ser resolvida exatamente para um sistema de multi-elétron devido às repulsões eletrônicas entre si. Existem dois métodos de aproximação muito populares capazes de resolver a equação de Schrödinger para um sistema formado por átomos e/ou moléculas com multi-elétrons. O primeiro é o método Hartree-Fock, e o segundo é a Teoria do Funcional da Densidade (TFD). Os dois métodos adotam uma aproximação de Born-Oppenheimer, no qual o movimento de elétrons e o movimento de núcleos podem ser separados.

3.2.1. O Método Hartree-Fock (HF)

O Método *Hartree-Fock* assume um modelo no qual todos os elétrons menos um no sistema fazem um campo elétrico estático (SZABO & OSTLUND, 1989). Portanto neste modelo, apenas um elétron se movimenta no campo elétrico estático. Este modelo é conhecido como uma aproximação de partícula independente e assim, a equação de Schrödinger pode ser resolvida para este modelo. No início, é assumida uma função de onda aproximada, com o qual o campo elétrico é calculado. Resolvida a equação de Schrödinger com este campo uma nova função de onda melhor do que a anterior será obtida. O processo é repetido até que o campo elétrico não apresente alterações. Este processo é conhecido como o método de campo

auto-consistente (*SCF-Self Consistent Field method*). Historicamente, o Método *Hartree-Fock* é o primeiro método desenvolvido para resolver a equação de Schrödinger de sistema multieletrônico. O principal problema do Método *Hartree-Fock* é que a energia de correlação não está incluído na energia total do sistema calculado. Este método foi muito popular até o surgimento da Teoria do Funcional da Densidade, o qual inclui a energia de correlação na energia total calculada do sistema.

3.2.2. Teoria do Funcional da Densidade (TFD)

Hohenberg e Kohn (1964) mostraram que propriedades de um sistema de multieletrônico no estado fundamental podem ser determinadas unicamente por uma densidade eletrônica, $\rho(r)$, e que a energia total, $E(\rho)$, do estado fundamental do sistema usando a densidade eletrônica, $\rho(r)$ torna mínima quando a densidade $\rho(r)$ representa corretamente o estado fundamental do sistema. Kohn e Sham (1965) ofereceram uma implementação prática para a solução da equação de Schrodinger usando orbitais para a construção da densidade eletrônica e levando a um conjunto de equações. Os artigos destes cientistas formam a base da Teoria do Funcional da Densidade -TFD (Density Functional Theory). A resolução das equações de Kohn-Sham exige o conhecimento do funcional de troca e correlação. Um exemplo muito conhecido é o funcional híbrido de troca e correlação B3LYP (Becke, de três parâmetros, Lee-Yang-Parr) (LEE, YANG e PARR, 1988).

3.2.3. Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TFD-DT)

A Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TFD-DT) pode ser empregada para estudo das propriedades e dinâmica de sistemas de multi-eletrônico na presença de potenciais que dependem do tempo, tais como campo elétrico e magnético oscilante, ou seja, a luz. As energias de excitação, propriedades de resposta que dependem de frequência, e espectros de foto absorção, por exemplo, podem ser calculados com TDF-DT. A fundação formal da TFD-DT é o teorema desenvolvido por Runge-Gross (RG) (1984). O teorema RG mostrou que

existe mapeamento único entre o potencial externo que depende do tempo do sistema com a densidade que depende do tempo. Isto implica que a densidade eletrônica, que depende apenas de três variáveis, é equivalente à função de onda de multi-corpo, que depende de $3N$ variáveis. Uma etapa é determinar um sistema fictício que não interage, porém o sistema tem a mesma densidade de um sistema físico no qual existe interação. Este sistema pode ser obtido como um ponto estacional de função de ação definido no formalismo de Keldysh (Van LEEUWEN,1998) . Os cálculos de energias de excitação de um sistema de multi-eletrônico são baseados no fato de que a função de resposta linear tem pólos nas energias de excitações exatas do sistema. Tais cálculos requerem, além de potencial de troca-correlação, o núcleo de troca-correlação, que é derivado de potencial de troca-correlação com a densidade (CASIDA et al., 1996). TDF-DT está sendo utilizada largamente e está ficando cada vez mais popular na comunidade científica, como pode ser visto no artigo publicado por Burke, Werschnik e Gross (2005). Recentemente, Takahata e Chong (2012) empregaram TFD-DT para cálculos de energias de excitação eletrônica tanto de camada de valência como de camadas internas de uma serie de moléculas, e simularam teoricamente os espectros de absorção de UV e de raios-X. A comparação entre os espectros simulados e os observados mostra que os métodos desenvolvidos no trabalho são promissores.

3.2.4. Orbital atômico e Orbital molecular

Nos dois métodos citados anteriormente, adota-se uma aproximação no qual os elétrons, tanto em átomos ou moléculas com multi-elétrons, estão acomodados em orbitais. Um orbital num sistema atômico com multi-elétrons pode ser aproximado por uma função do tipo Slater ou tipo Gaussiana. A função do tipo Slater possui melhor qualidade do que Gaussiana para um orbital atômico. Porém, a função Gaussiana possui a vantagem de simplificar significativamente o cálculo de energia de repulsão eletrônica. Portanto, muitos pacotes computacionais tais como SPARTAN e Gaussian utilizam a função Gaussiana. Um orbital atômico numa sistema atômico com multi-elétrons é denominado como "base". Um orbital molecular é construído combinando os orbitais atômicos linearmente. A principal

tarefa dos pacotes computacionais é resolver a equação de Schrödinger de átomos e moléculas com multi-elétrons.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, K.; SAKAI, K.; UCHIDA, M. Effects of bergenin on experimental ulcers - prevention of stress induced ulcers in rats. **General Pharmacology**. v.11, p.361-368, 1980.
- ABREU, H. A.; LAGO, I. A. S.; SOUZA, G. P.; PILÓ-VELOSO, D.; DUARTE, H. A.; ALCÂNTARA, A. F. C. Antioxidant activity of (+)-bergenin - a phytoconstituent isolated from the bark of *Sacoglottis uchi* Huber (Humireaceae). **Organic e Biomolecular Chemistry**. v.6, p. 2713-2718, 2008.
- ADAMS, C. P.; BRANTNER, V. V. Spending on new drug development. **Health Economics**. v. 19, n.2, p. 130–141, 2010.
- ALCÁCER, L. **Introdução à Química Quântica Computacional**. (Coleção: Ensino da Ciência e Tecnologia). Lisboa: Press, 2007. 304p.
- ANDERSON, R. J.; BENDELL, D. J.; GROUNDWATER, P. W. **Organic Spectroscopic Analysis**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004.
- ARFAN, M.; AMIN, H.; KHAN, I.; SHAH, M. R.; SHAH, H.; KHAN, A. Z.; HALIMI, S. M. A.; KHAN, N.; KALEEM, W. A.; QAYUM, M.; SHAHIDULLAH, A.; KHAN, M. A. Molecular simulations of bergbenin as a new urease inhibitor. **Medicinal Chemistry Research**. p. 1-4, 2011.
- ARROIO; HONÓRIO; SILVA. Propriedades Químico-quânticas empregadas em Estudos das Relações Estrutura-atividade. **Química Nova**. v.33, n.3, p. 694-699, 2010.
- BARREIRO, E. J. L.; PINTO, A. C. Como chegar aos fármacos verde-amarelos? **Journal of the Brazilian Chemistry Society**. v.21, n.12, p.775, 2010
- BARRY, R. D. Isocoumarins. Development since 1950. **Chemical Reviews**. v.64, n.3, p. 229–260, 1964.
- BORGES, C.P.F. **Estudos espectroscópicos da interação de derivados do dipiridamol com sistemas biofísicos**. 1994. 146f. Tese (Doutorado em Físico-Química) – Departamento de Química e Física Molecular, Centro Técnico Científico, Universidade de São Carlos, Brasil. 1994.
- BURKE, K.; WERSCHNIK, J.; GROSS, E. K. Time-dependent density functional theory: past, present and future. **The Journal of Chemical Physics**, v.123, p. 062206-9, 2005.
- BURNETT, D; CROCKER, J. **The Science of Laboratory Diagnosis**. 2ª edição. Chinchester: John Wiley e Sons, 2005.
- CALDAS, C. S.; SIMONE, C. A.; PEREIRA, M. A.; MALTA, V. R. S.; CARVALHO, R. L. P.; DA SILVA, T. B. C.; SANT'ANA, A. E. G.; CONSERVA, L. M. Bergenin monohydrate, a constituent of *Humiria balsamifera*, at 120K. **Acta Crystallographica**. E58, p. 609-611, 2002.

CHEN, J., ZHANG, J., ZHUANG, Q., ZHANG, S., e LIN, X. Eletrochemical study of bergenin on a poly (4-(2-pyredylazo)-resorcinol) modified glassy carbon eletrode and its determination in tablets and urine. **Talanta** , v.72, p. 1805-1810, 2007.

CHIN, Y.-W.; KIM, J.. Three New Flavonol Glycosides from the Aerial Parts of Rodgersia podophylla. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v.54, n.2, p. 234-236, 2006.

DEAN, B. M.; WALKER, J. A New Source of Bergenin. **Chemistry and Industry**. v.51, p.1696-1697 ,1958.

DENG, J.; XIAO, X.; TONG, X. LI, G. Preparation of bergenin from Ardisia crenata sims and Rodgersis sambucifolia hemsl based on microwave-assisted extraction/high-speed counter-current chromatography. **Separation and Purification Technology**. v.74, p. 155-159, 2010.

DITTRICH, B.; WEBER, M.; KALINOWSKI, R.; GRABOWSKY, S.; HÜBSCHLE, C. B.; LUGER, P. How to easily replace the independent atom model – the example of bergenin, a potencial anti-HIV agent of tradicional Asian medicine. **Acta Crystallographica**. B65, p. 749-756, 2009.

EKONG, D. E.; EJIKE, C. Antioxidant principles from the bark of Spondianthus preussi and Sacoglottis gabonensis (Family Humiriaceae). **Journal of West African Science Association**. v.19, n.1, p. 63-68, 1974.

FAPARUSI, S. I.; BASSIR, O. Effect of Extracts of the Bark of Saccoglottis gabonensis on the Microflora of Palm Wine. **Applied Microbiology**. v.24, n.6, p. 853-856, 1972.

FUJISE, Si.; SUZUKI, M.; WATANABE, Y.; MATSUEDA, S. Studies of the Structure of Bergenin. **Annual Meeting of Chemical Society of Japan**. v.32, n.1, p. 97-98, 1959.

GARREAU, M. M; MACHELART. 1880 Nouvelles recherches sur les Saxifrages. Applications de leurs produits aux arls et à la thérapeutique. Experiéence sur leur culture. **Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences**, v.91, p. 942-945, 1880.

GAUSSIAN 3.0, Gaussiaan, Inc., Pittsburg, USA, Copyrighte 2000-2003.

GOEL, R. K.; MAITI, R.N.; MANICKAM, M.; RAY, A. B. Antiulcer activity of naturally occurring pyrano-coumarin and isocoumarins and their effect on prostanoid synthesis using human colonic mucosa. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.35, p. 1080-1083, 1997.

HAY, J. E.; HAYNES, L. J. Bergenin, a C-glucopyranosyl Derivated of 4-O-Methylgallic Acid. **Journal of the Chemical Society**. v.453, p. 221-238, 1958.

HIKINO, H.; KISO, Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Antihepatotoxic Actions of Tannins. **Journal of Ethnopharmacology**. v.14, p. 19-29, 1985.

HOHENBERG, P., KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas, **Physical Review**. v.136, n.3B, p. B864-B871, 1964.

JAHROMI, M. A.F.; CHANSOURIA, J. P. N.; RAY, A. B. Hypolipidaemic activity in rats of bergenin, the major constituent of *Flueggea microcarpa*. **Phytotherapy Research**. v.6, p. 180-183, 1992.

JOSHI, B. S.; KAMAT, V. N. Identify of Peltophorin with Bergenin. **Naturwissenschaften**. v.56, n.2, p. 89-90, 1969.

JUNG, J.-C.; LIM, E.; KIM, S. H.; KIM, N. S.; JUNG, M.; OH, S. Practical Synthesis and Biological Evaluation of Bergenin Analogs. **Chemical Biology e Drug Design**. v.78, p. 725-729, 2011.

KIM, H.-S.; LIM, H.-K.; CHUNG, M.-W.; KIM, Y. C. Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated hepatocytes. **Journal of Ethnopharmacology**. v.69, p. 79-83, 2000.

KIM, H.-S.; LIM, H.-K.; CHUNG, M.-W.; KIM, Y. C. Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated hepatocytes. **Journal of Ethnopharmacology**. v.69, p. 79-83, 2000.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**. v.140, n.4A, p. 1133-1138 1965.

KOPANSKI, L; SCHNELLE, G. Isolation of Bergenin from Barks of *Syzygium cumini*. **Planta Medica**. v.54, n.6, p. 572, 1988.

LEE, C.; YANG, W. PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. **Physical Review B**. v.37, 785-789, 1988.

MADUKA, H. C. C. The Theoretical Mechanistic Concept of Sacogolottis Gabonensis, a Nigerian Alcoholic Beverage Additive as an Antioxidant Protector Against Hepatotoxicity. **The Internet Journal of Gastroenterology**. v.3, n.2, p.10, 2005.

MADUKA, H. C. C.; OKOYE, Z. S. C. Bergenin, A Nigerian alcoholic beverage additive from *Sacoglottis gabonensis* as an antioxidant protector of mammalian cells against 2,4-dinitrophenyl hydrazine-induced lipid peroxidation. **Journal of Toxicology**. v.3, n.1, 2006.

MAGALHÃES, L. A. M.; LIMA, M. P.; MARINHO, H. A.; FERREIRA, A. G. Identificação de Bergenin e carotenóides no fruto de uchi (*Endopleura uchi*, Humiriaceae). **Acta Amazonica**. v.37, n.3, p. 447-450, 2007.

MASTERTON, W. L; HURLEY, C. N. **Química: Princípios e Reações**. 6ª edição. LUGAR: LTC, 2010. p.128.

MORGON, N. H.; CUSTODIO, R. Teoria do Funcional da Densidade. **Quimica Nova**. v.18, n.1, p. 44-55, 1995.

NAJID, M. **Application of Infrared Waveguides and High-temperatures Storage Units**. 2007. 159 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica e Engenharia de Computação) – Faculté des Sciences et de Génie, Université Laval Québec, Canada, 2007.

NASSER, J. A. YAACOB, W. A.; DIN, L. B.; YAMIN, B. M.; LATIP, J. Isolation of Antranorin, Bergenin and Goniiothalamine from *Hopea sangal*. **Journal of Engineering and Applied Sciences**. v.4, n.1, p. 92-95, 2009.

NAZIR, N.; KOUL, S.; QURISHI, M. A.; NAJAR, M. H.; ZARGAR, M. I. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Bergenin and its derivatives obtained by chemoenzymatic synthesis. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.46, p. 2415-2420, 2011.

NAZIR, N.; KOUL, S.; QURISHI, M. A.; TANEJA, S. C.; AHMAD, S. F.; BANI, S.; QAZI, G. N. Immunomodulatory effect of bergenin and norbergenin against adjuvant-induced arthritis - A flow cytometric study. **Journal of Ethnopharmacology**. v.112, p. 401-405, 2007.

NUNOMURA, R. C. S.; OLIVEIRA, V. G.; SILVA, S. L.; NUNOMURA, S. M. Characterization of Bergenin in *Endopleura uchi* Bark and its Anti-inflammatory Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.20, n.6, p. 1060-1064, 2009.

NYASSE, B.; NONO, J.; SONKE, B.; DENIER, C.; FONTAINE, C. Trypanocidal activity of bergenin, the major constituent of *Flueggea virosa*, on *Trypanosoma brucei*. **Pharmazie**. v.59, p. 492-494, 2004.

OGAN, A. U. An Isocoumarin from the bark of *Sacoglottis gabonensis*. **Phytochemical Reports**. v.10, p. 2832-2833, 1971.

OKADA, T.; SUZUKI, T.; HASOBE, S.; KISARA, K. Studies on Bergenin (Report I). Antiulcerogenic activities of Bergenin. **Folia Pharmacologica Japonica**. v.69, p.369-378, 1973.

PATEL, D. K.; PATEL, K.; KUMAR, R.; GADEWAR, M.; TAHILYANI, V. Pharmacological and analytical aspects of bergenin: a concise report. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v.2, n2, p 163-167, 2012.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introdução à Espectroscopia**. 4ª Edição. Canadá: Thomson Learning, 2010, p. 365 – 398.

PIACENTE, S.; PIZZA, C.; TOMMASI, N.; MAHMOOD, N. Constituents of *Ardisia japonica* and Their in Vitro Anti-HIV Activity. **Journal of Natural Products**. v. 59, n.6, p. 565-569, 1996.

PIEGEN, X. Traditional experience of chinese herb medicine and its application in drug research, new drug searching. In: BEAL, J.L. REINHARD, E., editors. **Natural products as medicinal agents**. Hippokrates Verlag: Stuttgart, Germany, p.351-394, 1981.

POSTERNAK, T.; DÜRR, K. Sur la constitution de la bergénine. **Helvetica Chimica Acta**. v.14, n.4, p. 1159-1162, 1958.

PRITHIVIRAJ, B.; SINGH, U. P.; MANICKAM, M.; SRIVASTAVA, J. S.; RAY, A. B. Antifungal activity of bergenin, a constituent of *Flueggea microcarpa*. **Plant Pathology**. v. 46, p. 224-228, 1997.

PU, H.-L.; HUANG, X.; ZHAO, J.-H.; HONG, A. Bergenin is the Antiarrhythmic Principle of *Flugguea virosa*. **Planta Medica**. v.68, p. 372-374, 2002.

QADEER, G.; RAMA, N. H.; SHAHA, S. J. H. A new total synthesis of natural isocoumarin, thunberginol B. **ARKIVOC**. v. 2007, n.14, p.12-19, 2007.

QIN, X.; YANG, Y.; FAN, Tt.; GONG, T.; ZHANG, Xn.; HUANG, Y. Preparation, characterization and in vivo evaluation of bergenin-phospholipid complex. **Acta Pharmacologica Sinica**. v.31, p. 127-136, 2010.

RAMAIAH, P. A.; ROW, L. R.; REDDY, D. S.; ANJANEYULU, A. S. R.; WARD, R. S.; PELTER, A. Isolation and Characterisation of Bergenin Derivatives from *Macaranga peltata*. **Journal of the Chemical Society**. v. 1, p. 2313-2316, 1979.

RASTOGI, S.; RAWAT, A. K. S. A comprehensive review on bergenin, a potential hepatoprotective and antioxidative phytoconstituent. **Herba polonica**. v.54, n.2, p. 66-79, 2008.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**. v.39, p. 603-613, 2009.

ROJAS, F. S.; OJEDA, C. B. Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004–2008. **Analytica Chimica Acta**. v.635, p. 22-44, 2009.

ROUESSAC, F.; ROUESSAC, A. **Chemical Analysis: Modern Instrumentation Methods and Techniques**. 2ª Edição. John Wiley & Sons, 2007. 574p.

RUNGE, E.; GROSS, E. K. U. Density-Functional Theory for Time-Dependent Systems. **Physical Review Letters**. v.52, n.12, p.997–1000, 1984.

SEO, E.-K.; CHAI, H.; CONSTANT, H. L.; SANTISUK, T.; REUTRAKUL, V.; BEECHER, C. W. W.; FARNSWORTH, N. R.; CORDELL, G. A.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Resveratrol Tetramers from *Vatica diospyroides*. **Journal of Organic Chemistry**. v.64, p. 6976-6983, 1999.

SILVA, S. L.; OLIVEIRA, V. G.; YANO, T.; NUNOMURA, R. C. S. Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. **Acta Amazonica**. v.39, n.1, p. 187-192, 2009.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª Edição. São Paulo-SP: Thomson, 2006. 1124p.

SPARTAN: Wavefunction, Inc. 18401 Von Karman, Suite 370, Irvine. (CA 92612, USA).

SPRINGFIELD, E. P.; EAGLES, P. K. F.; SCOTT, G. Quality assessment of South African herbal medicines by means of HPLC fingerprinting. **Journal of Ethnopharmacology**. v.101, p. 75-83, 2005.

SRINIVASAN, R.; CHANDRASEKAR, M. J. N.; NANJAN, M. J.; SURESH, B. Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root. **Journal Ethnopharmacology**. v.113, p. 284-291, 2007.

SSADIKOW, W. S; GUTHNER, R. Zur Kenntnis des Bergenin, 1. **Biochemie Zeitung**, v. 190, p. 340-351, 1927.

SUMINO, M; EKINE, T. S.; RUANGRUNGSI, N.; IGARASHI, K.; IKEGAMI, F. Ardisiphenols and Other Antioxidant Principles from the Fruits of *Ardisia colorata*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. v.50, n.11, p. 1484-1487, 2002.

SWARNALAKSHMI, T.; SETHURAMAN, M. G.; SULOCHANA, N.; ARIVUDAINAMBI, R. A Note on The Antiinflammatory Activity of Bergenin. **Current Science**. v.53, n.17, p. 917, 1984.

SZABO, A.; OSTLUND, N.S. **Modern Quantum Chemistry**, McGraw-Hill Publishing Company, New York, 1989.

TAKAHASHI, H.; KOSAKA, M.; WATANABE, Y.; NAKADE, K.; FUKUYAMA, Y. Synthesis and Neuroprotective Activity of Bergenin Derivatives with Antioxidant Activity. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**. v.11, p. 1781–1788, 2003.

TAKAHATA, Y.; CHONG, D.P. DFT calculation of core- and valence-shell electron excitation and ionization energies of 2,1,3-benzothiadiazole $C_6H_4SN_2$, 1,3,2,4-benzodithiadiazine $C_6H_4S_2N_2$, and 1,3,5,2,4-benzotrithiadiazepine $C_6H_4S_3N_2$. **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**. v.185, p.475-485, 2012.

TANEYAMA, M.; YOSHIDA, S.; KOBAYASHI, M.; HASEGAWA, M.; Isolation of Norbergenin from *Saxifraga stolonifera*. **Phytochemistry**. v.22, n.4, p. 1053-1054, 1983.

TSCHITSCHIBABIN, A. E.; KIRSSANOW, A. W.; KOROLEW, A. J.; WOROSCHZOW, N.N. Über nichtgerbende Substanzen des Extraktes aus dem Wurzelstock des Badans (*Saxifraga crassifolia*). 1. Bergenin. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**. v. 469 n.1, p. 93-127, 1929.

VAN LEEUWEN, R. "Causality and Symmetry in Time-Dependent Density-Functional Theory". **Physical Review Letters**. v.80, n.6, p.1280–283, 1998.

WARDLE, B. **Principles and Applications of Photochemistry**. 1^a Edição, Maschester-UK: Wiley, 2009. 250p.

YE, Y.-P; SUN, H.-X.; PAN, Y.-J. Bergenin monohydrate from the rhizomae of *Astilbe chinensis*. *Acta Crystallographica*. C60, p. 397-398, 2004.

YODSAOUE, O.; KARALAI, C.; PONGLIMANONT, C.; TEWTRAKUL, S.; CHANTRAPROMMA, S. Potential anti-inflammatory diterpenoids from the roots of *Caesalpinia mimosoides* Lamk. **Phytochemistry**. v.71, p. 1756–1764, 2010.

ZHANG, Y.-H.; FANG, L.-H.; LEE, M.-K.; KU, B.-S. In vitro Inhibitory Effects of Bergenin and Norbergenin on Bovine Adrenal Tyrosine Hydroxylase. **Phytotherapy Research**. v.17, p. 967–969, 2003.

ZHOU, D.; QIN, X.; ZHANG, Z.-R.; HUANG, Y. Physicochemical properties of bergenin. **Die Pharmazie**. v.68, n.5, p.366-371, 2008.

ZHOU, X.; CHEN, Z.; YE, J.; CHEN, Z.; HUANG, P.; WU, Q. 2D NMR Study on the Chemical Structure of Natural Product Bergenin. **Journal of Xiamen University (Natural Science)**. v. 38, n.6, p. 947-950, 1999.

CAPÍTULO I

Espectros Teóricos e Experimentais de Absorção UV/VIS da Bergenina em três solventes diferentes: Vácuo, Etanol e Água

**Espectros Teóricos e Experimentais de Absorção UV/VIS da
Bergenina em três solventes diferentes: Vácuo, Etanol e Água**

Diego dos Santos Freitas* – diego.liciard@live.com Universidade do
Estado do Amazonas - UEA

Luiza Pereira Gabriel – luiza_gaby@yahoo.com Secretaria de
Educação - SEDUC

Yuji Takahata – taka@iqm.unicamp.br Universidade do Estado do
Amazonas – UEA e Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

*diego.liciard@live.com

Theoretical and Experimental UV/Visible Absorption Spectra of Bergenin in three different solvents: Vacuum, Ethanol and Water

Abstract

Excitation energies and oscillator strength (f-value) of bergenin were calculated with Time-Dependent-Density Functional Theory (TDDFT) using B3LYP functional and 6-31G* basis set in three different solvents: vacuum, ethanol and water. Theoretical spectra of molecule of bergenin in the three different solvents were simulated. Solvent effects on the excitation energies and the spectras were studied. UV/Visible spectra of bergenin in ethanol and in water were observed at room temperature. The observed spectras were analyzed using the simulated spectras. Solvent effect on atomic charges calculated by different methods was also investigated. Furthermore, some molecular properties were studied for the molecule through theoretical calculations.

Key words: Bergenin, UV/Vis absorption spectra, solvent effect, TD-DFT

1. INTRODUÇÃO

A Bergenina, uma δ -lactona do ácido 4-metóxi-2[(1S,2R,3S,4S,5R)-3,4,5,6-tetrahidro-3,4,5-trihidroxi-6 (hidroximetil)-2H-pirano-2-il]-alfa-resorcílico¹, é uma isocumarina cuja estrutura molecular é composta por três anéis: Anel A (anel aromático), o Anel B (Anel δ -lactona) e Anel C (D-glicopiranoose), conforme Figura 1.

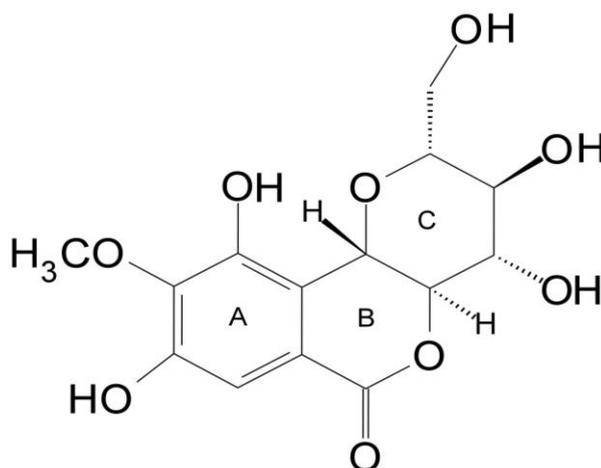


Figura 1 - Estrutura molecular da bergenina.

Diversos estudos realizados comprovaram que a bergenina possui diversas atividades biológicas, tais como: bacteriostática², antiulcerogênica e antigastrite^{3,4}, gastroprotetora contra úlceras^{3,5,6,7}, antioxidante⁸⁻¹², antitussígena¹³, antiinflamatória^{14,15}, hepatoprotetora^{16,17}, hipolipidêmica¹⁸, antimicrobiana^{19,20}, antiarrítmica²¹, anti-artrite²², entre outras. Poucos estudos teóricos computacionais são encontrados na literatura para a molécula, dentre eles destacamos: o estudo realizado por Abreu et al (2008) o qual testaram os radicais \bullet H, \bullet OH, \bullet CH₃ e \bullet CCl₃ como radicais iniciadores na oxidação da bergenina e indicaram que a porção aromática da molécula é a região responsável pela atividade antioxidante da mesma; e o estudo de Arfan et al (2011) o qual se concentraram em investigar a ação inibitória promovida pela bergenina frente à urease liberada por patógenos, especialmente *H.pylori*. Na escassez de estudos teóricos da molécula de bergenina relacionados à determinação das propriedades moleculares e ao efeito do solvente sobre as energias de excitação eletrônica é que foram traçados os seguintes objetivos para este estudo: 1) Realizar cálculos computacionais usando método ab

início Hartree-Fock e a Teoria do Funcional da Densidade (TFD) para obter as seguintes informações: orbitais moleculares, geometria molecular, propriedades físico-químicas e termodinâmicas, energias de excitação eletrônica e espectros UV-VIS; 2) Realizar estudo teórico e espectroscópico do efeito do solvente na estrutura eletrônica da bergenina em três solventes distintos: vácuo, água e etanol; 3) Interpretar os espectros experimentais UV/Vis da bergenina em água e em etanol de acordo com os cálculos teóricos computacionais; 4) Estudar a correlação entre os resultados experimentais e teóricos a fim de verificar se os métodos computacionais utilizados neste trabalho são úteis para o entender a relação estrutura química e atividade biológica da bergenina.

2. METODOLOGIA

Para atingir os objetivos descritos na introdução, empregamos principalmente os métodos teóricos computacionais. Alguns espectros UV/Visível experimentais foram obtidos também.

2.1 Métodos Computacionais

Os cálculos teóricos foram realizados usando como dados de entrada os dados cristalográficos da estrutura molecular da Bergenina descritos por Caldas et al (2002). As geometrias das moléculas foram otimizadas em três solventes distintos: vácuo, etanol e água, usando o Método de Hartree-Fock^{25,26} com a função de base 6-31G*. Após a otimização das estruturas moleculares, foram calculadas as energias de excitação (singlete) e as forças do oscilador (f-valor), utilizando a Teoria do Funcional da Densidade-Dependente do Tempo-TFDDT^{27,28} com o funcional B3LYP²⁹, e função de base 6-31G* para os três solventes anteriormente citados. O efeito do solvente sobre as energias de excitação foi investigado usando o modelo de solvatação SM8³⁰. O pacote computacional SPARTAN 10³¹ para SO Windows foi usado em todos os cálculos teóricos.

As simulações dos valores para a confecção dos espectros para os três solventes a partir das energias de excitação e força do oscilador calculadas foram feitas através do programa SPECTRUM.C³², usando função Gaussiana, valor do

HWHM (Half Width at Half Maximum; Metade de Largura a Metade de Altura) de 9,3 nm. Com base nos dados gerados pelo programa citado, os espectros UV/Vis teóricos foram confeccionados utilizando o software ORIGIN 08³³.

Os cálculos foram realizados em um computador com processador Intel® Xeon®, com o Sistema Operacional Windows 7 (64-bits), HD com capacidade de armazenamento de 931GB e 16GB de memória RAM.

2.2 Métodos experimentais

Uma amostra contendo 90,2mg de Bergenina foi gentilmente cedida pela Dr^a Sandra Zanotto e fora anteriormente extraída pelo grupo de pesquisa a partir da casca da espécie *Endopleura uchi*, conforme registro de patente junto ao INPI N° BR102013002190-3. Os solventes Metanol 99,9% (grau espectrofotométrico) e o Etanol desidratado 200proof Absoluto, foram adquiridos da Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Os espectros de absorção UV/Vis foram gravados em um Espectrofotômetro de Absorção UV/Vísivel Nova Spectrophotometer, modelo 2102UVPC.

A amostra de Bergenina foi purificada através de um processo de recristalização em Metanol a 45°C. Após dissolução em metanol, a solução foi filtrada e mantida em repouso em um Erlenmeyer de 50mL e selado com parafilme, onde foram feitos pequenos furos para que o solvente evaporasse lentamente. Após conclusão do processo de recristalização obteve-se aproximadamente 76mg de Bergenina.

Foram preparadas duas soluções de Bergenina em água ultrapura do sistema Millipore Milli-Q em duas concentrações diferentes, 10⁻³M e 10⁻⁴M, onde foram solubilizadas utilizando-se o equipamento Ultrasonic Cleaner (ultrassom) da Unique® a uma temperatura de 45°C.

Foram preparadas ainda outras duas soluções de Bergenina em Etanol 200 proof Absoluto em duas concentrações diferentes, 10⁻³M e 10⁻⁴M, executando-se o mesmo procedimento descrito anteriormente.

As soluções preparadas foram analisadas em um Espectrofotômetro de Absorção UV/VIS, e foram gravados somente os espectros de absorção referentes às soluções de concentração 10^{-4} M.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os átomos da bergenina foram enumerados conforme dados cristalográficos descritos por Caldas et al (2002) com a finalidade de facilitar a análise e discussão dos resultados obtidos nos cálculos e comparações com os dados experimentais (Figura 2).

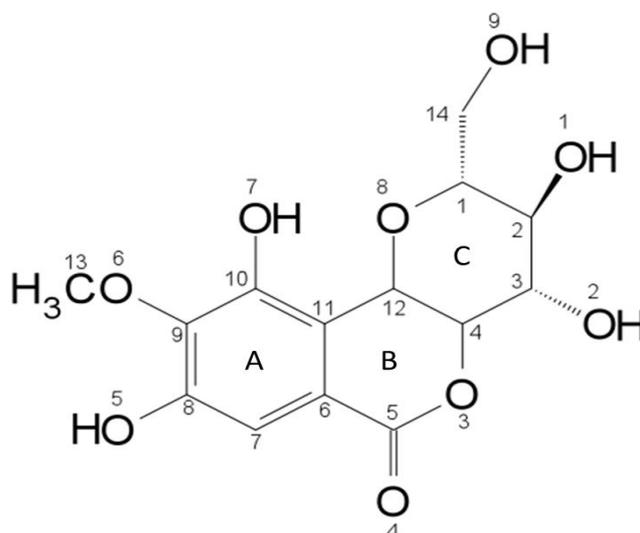


Figura 2 - Estrutura química da molécula de bergenina com átomos de carbono e oxigênio enumerados de acordo com Caldas et al (2002).

3.1. Estrutura Molecular e Cargas Atômicas

A estrutura molecular da bergenina já é conhecida (Caldas et al, 2002). Os cálculos de otimização geométrica no vácuo no nível HF/6-31G* mostraram que a molécula da bergenina não é planar, isto é, considerando o anel A (Figura 3), correspondente ao anel aromático da molécula, e tendo como base o diedro formado pelos átomos $C_2C_1O_8C_{12}$, o anel C (anel D-glicopirranose) encontra-se $-148,99^\circ$ para fora do plano. Este mesmo anel apresentou uma conformação de cadeira 4C_1 , sendo

esta a conformação mais estável para *hidroxi* e *hidroximetil* rotâmeros da β -D-glicopiranosose³⁴, concordando com os resultados de Ye et al (2004).

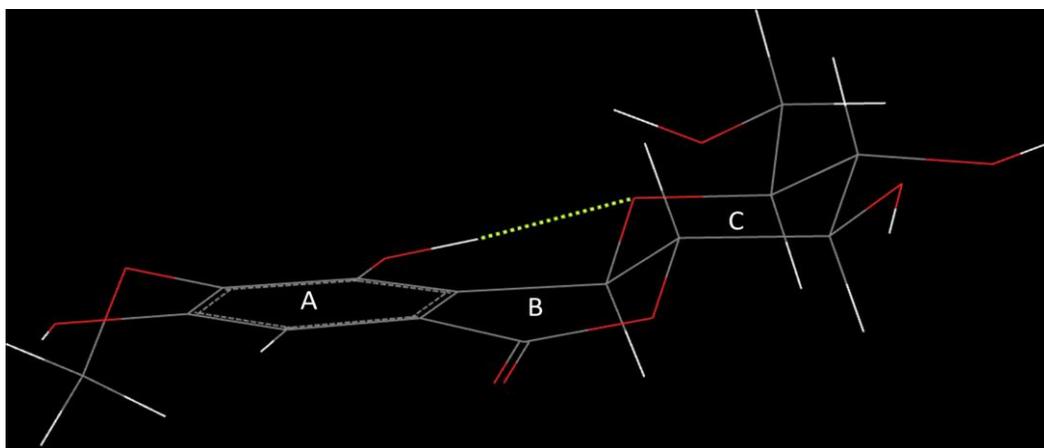


Figura 3 Estrutura geométrica da bergenina no vácuo otimizada pelo método HF/6-31G*

As distâncias interatômicas calculadas a partir da otimização da molécula no vácuo pelo método *ab initio* HF/6-31G* apresentaram boa concordância com os dados descritos por Caldas et al (2002). Pode-se observar na **Tabela 1** que os valores calculados estão próximos aos valores experimentais observados pelo autor citado, sendo que a maior diferença refere-se à distância entre os átomos O₃-C₄, com um valor de -0,035Å (-2,42%), e a menor diferença refere-se à distância entre os átomos C₃-C₄ e C₄-C₁₂, onde ambas apresentaram um valor de -0,001Å (-0,07%).

Tabela 1 – Comparação entre as distâncias interatômicas dos átomos de bergenina descritas por Caldas et al(2002) e as obtidas através de otimização por HF/6-31G*

Ligações Interatômicas	Observado ¹ (Å)	HF/6-31G* (Å)	Diferença Absoluta (Å)	Diferença Percentual
O1 — C2	1,429	1,396	-0,0330	-2,31%
O2 — C3	1,428	1,398	-0,030	-2,10%
O3 — C5	1,353	1,342	-0,011	-0,81%
O3 — C4	1,447	1,412	-0,035	-2,42%
O6 — C9	1,372	1,349	-0,023	-1,68%
O6 — C13	1,434	1,411	-0,023	-1,60%
O8 — C12	1,438	1,406	-0,032	-2,23%

O8 — C1	1,447	1,418	-0,029	-2,00%
O9 — C14	1,429	1,400	-0,029	-2,03%
C1 — C14	1,516	1,519	0,003	0,20%
C1 — C2	1,539	1,529	-0,010	-0,65%
C2 — C3	1,529	1,525	-0,004	-0,26%
C3 — C4	1,515	1,514	-0,001	-0,07%
C4 — C12	1,517	1,516	-0,001	-0,07%
C5 — C6	1,480	1,496	0,016	1,08%

¹Valores observados descritos por Caldas et al (2002)

Com relação aos ângulos de ligação da molécula, pode-se observar na **Tabela 2** a comparação entre os valores experimentais descritos por Caldas et al (2002) e os obtidos a partir do cálculo de otimização geométrica no vácuo pelo método citado anteriormente. O cálculo teórico apresentou valores muito próximos aos valores descritos na literatura, sendo que a maior diferença refere-se ao ângulo formado entre os átomos C₁₂-O₈-C₁ é de 3,410° (3,09%) e a menor diferença é representada pelo ângulo formado pelos átomos O₈-C₁₂-C₄ com um valor de -0,040° (-0,04%).

Tabela 2 – Comparação entre os os ângulos de ligação da molécula de bergenina descritos por Caldas et al (2002) e os obtidos através de otimização por HF/6-31G*

Ligações Interatômicas	Observado¹ (°)	HF/6-31G* (°)	Diferença Absoluta (°)	Diferença Percentual
C5 — O3 — C4	117,700	118,78	1,080	0,92%
C9 — O6 — C13	112,800	115,89	3,090	2,74%
C12 — O8 — C1	110,520	113,93	3,410	3,09%
O8 — C1 — C14	107,500	107,35	-0,150	-0,14%
O8 — C1 — C2	109,500	109,43	-0,070	-0,06%
O3 — C4 — C3	107,200	108,77	1,570	1,46%

O3 — C4 — C12	110,700	110,83	0,130	0,12%
O4 — C5 — O3	116,600	119,62	3,020	2,59%
O6 — C9 — C8	118,500	120,07	1,570	1,32%
O8 — C12 — C11	110,900	111,96	1,060	0,96%
O8 — C12 — C4	107,700	107,66	-0,040	-0,04%
O9 — C14 — C1	111,800	111,53	-0,270	-0,24%

[†]Valores observados descritos por Caldas et al (2002)

A energia de otimização e o momento dipolar calculados para a molécula são, respectivamente, -318,52 kJ/mol e 0,94 Debye. As cargas atômicas calculadas da molécula utilizando a função de onda no nível HF/6-31G* encontram-se na **Tabela 3**.

Tabela 3 – Cargas da molécula de bergenina calculados por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken, e Natural utilizando função de onda no nível HF/6-31G*

Átomo	Eletrostática	Mulliken	Natural	Átomo	Eletrostática	Mulliken	Natural
C1	+0,255	+0,135	+0,101	C11	-0,342	-0,105	-0,148
C2	+0,084	+0,150	+0,114	O3	-0,535	-0,684	-0,653
C3	+0,334	+0,134	+0,116	O4	-0,572	-0,536	-0,658
C4	+0,096	+0,126	+0,096	C7	-0,516	-0,279	-0,289
C12	+0,343	+0,188	+0,121	C8	+0,461	+0,384	+0,368
C14	+0,178	-0,001	-0,036	C9	-0,018	+0,334	+0,260
O1	-0,734	-0,765	-0,804	C10	+0,406	+0,360	+0,385
O2	-0,729	-0,775	-0,810	C13	-0,290	-0,171	-0,218
O8	-0,551	-0,729	-0,684	O5	-0,601	-0,742	-0,737
O9	-0,696	-0,743	-0,796	O6	-0,229	-0,646	-0,612
C5	+0,882	+0,866	+0,989	O7	-0,594	-0,779	-0,757
C6	-0,050	-0,168	-0,165				

A Figura 4 mostra a variação de cargas atômicas dos 14 átomos de carbonos na Bergenina calculadas pelos três métodos diferentes: Eletrostático, Mulliken e Natural. As cargas calculadas pelos três métodos oscilam de maneiras semelhantes. Todos os três métodos resultam que a maior carga atômica na figura pertence a C₅ que está ligado diretamente com o átomo de oxigênio O₄ em dupla ligação (Figura 2). O átomo C₅ sofre o efeito indutivo da atração de elétrons* do oxigênio na carbonila, ou seja, o átomo do oxigênio O₄ puxa elétron do carbono C₅ fazendo com que a carga do átomo torne a um valor altamente positivo. Entretanto, todos os três métodos resultam que a menor carga atômica pertence ao átomo C₇, que fica no anel aromático (anel A) da Bergenina (Figura 2). No átomo C₇, não existe substituinte. Nos átomos C₈ e C₁₀ está presente o substituinte -OH e no átomo C₉ o substituinte -OMe. Tanto -OH como -OMe doam elétrons para o anel aromático e os elétrons se acumulam no átomo C₇. Não há, na molécula, outro carbono com ligação química igual ou semelhante a C₇. Por este motivo, a carga atômica no C₇ se torna a menor de todas. A variação de carga atômica calculado por o método Eletrostática é mais acentuado do que os outros. As cargas atômicas de C₁ a C₄ (átomos presentes no Anel C da molécula) calculadas pelo método Natural não variam quase nada, enquanto as cargas calculadas pelos métodos Eletrostática e Mulliken apresentam variação. Estes quatro átomos fazem ligações com átomos de oxigênio.

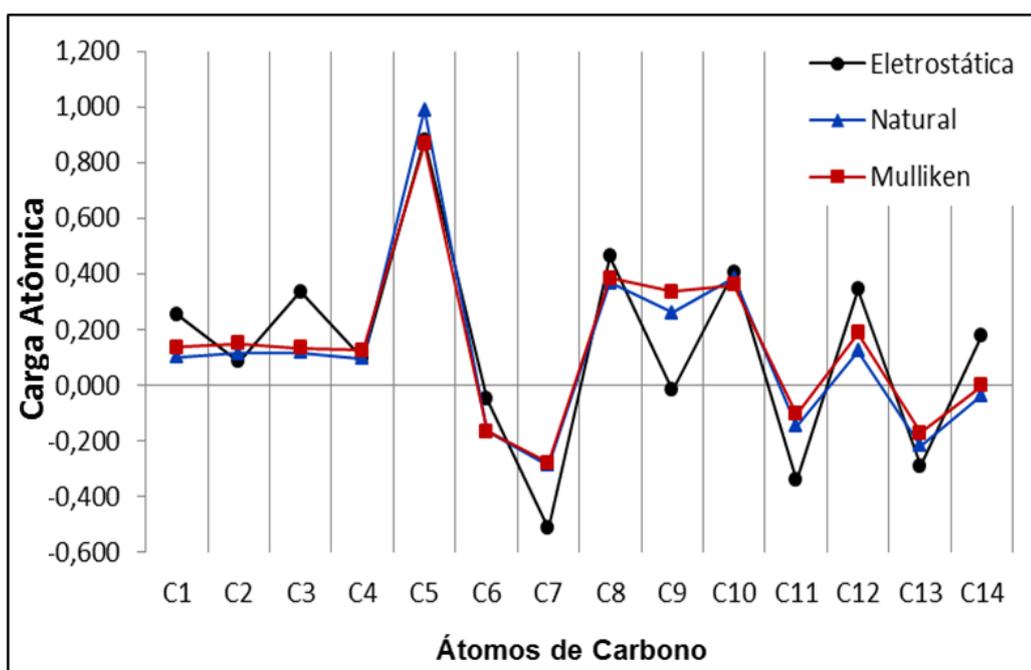


Figura 4 - Cargas atômicas dos carbonos da Bergenina calculadas por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural.

A Figura 5 mostra cargas atômicas dos nove átomos de oxigênios na Bergenina calculados por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural. As três curvas correspondendo às variações das cargas atômicas calculadas pelos três métodos diferentes oscilam de maneiras semelhantes. Todos os três métodos resultaram que a *maior* carga atômica fica no átomo O₆, que é o átomo oxigênio do substituinte metóxi no anel aromático (-OCH₃ no anel A, ver Figura 2). Tanto o método Eletrostático como o Natural resultou que as *menores* cargas atômicas encontram-se nos átomos O₁, O₂ e O₉, e todos eles são átomos de oxigênio das hidroxilas do anel D-glicopirranose (-OH, no anel C, ver Figura 2). Mas no caso do método Mulliken, as menores cargas atômicas ficam nos átomos O₇ e O₂, que são os átomos oxigênios nas hidroxilas do anel aromático (-OH no anel A na Figura 2) e do Anel D-glicopirranose (-OH do Anel C na Figura 2), respectivamente.

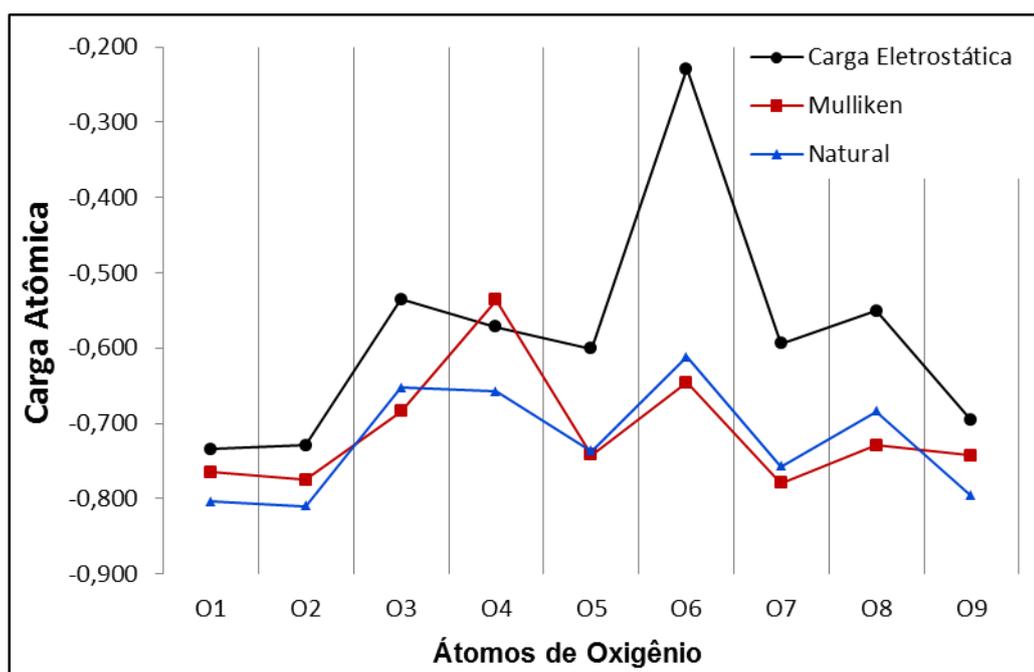


Figura 5 - Cargas atômicas dos oxigênios da Bergenina calculadas por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural.

O Mapa de Potencial Eletrostático da molécula de bergenina no vácuo é apresentado na Figura 6, onde o mapa à esquerda é uma visão de um lado da molécula, enquanto o mapa à direita é uma visão do outro lado da mesma molécula. A cor vermelha e as cores próximas a esta indicam valores elevados de potencial

negativo, enquanto a cor azul e as cores próximas representam altos valores de potencial positivo. Os valores de potencial intermediário são representados pelas cores laranja, amarela e verde. O mapa mostra que a densidade eletrônica na molécula está concentrada principalmente em duas regiões: região da carbonila no Anel B (à esquerda) e em uma “baía carregada” no Anel A (anel fenílico) compreendida pela região de proximidade entre os oxigênios O₇ da hidroxila ligada ao C₁₀, O₆ do grupo metoxila ligado ao C₉ e O₅ da hidroxila ligada ao C₈. Essa “baía” altamente carregada mais por cargas negativas que positivas pode ser uma característica eletrônica importante para aumentar o perfil de interação da bergenina com receptores biológicos, e, além disso, corrobora com a proposta de Maduka e Okoye (2005) com relação ao efeito antioxidante, onde declararam que os grupos hidroxila ligados aos átomos C₁₀ e C₈ são mais fortes em propriedades antioxidantes do que aqueles grupos ligados aos átomos C₂ e C₃.

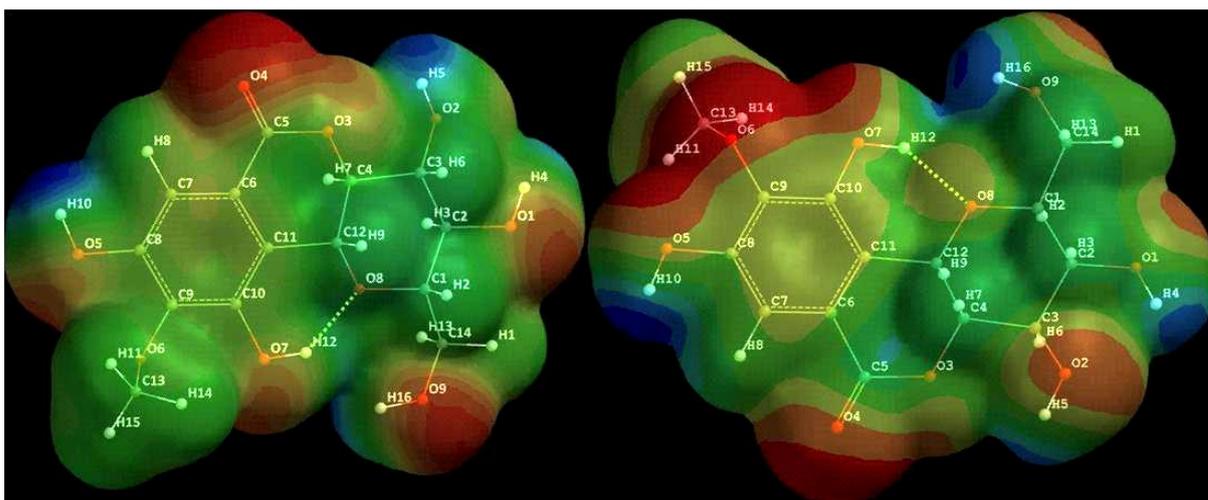


Figura 6 - Mapa de Potencial Eletrostático da molécula de bergenina no vácuo sobre uma superfície de 0,002 eV/ua³.

3.2. Espectros de Absorção UV/Vis Experimental e Teórico

3.2.1 Bergenia em água

Para o espectro experimental da bergenia dissolvida em água (Figura 7a) são observadas três bandas de absorção UV/Vis: 307nm (A), 270nm (B) e 222nm (C). Estes valores são muito próximos aos valores das bandas de absorção de 220nm e 275nm indicados no espectro experimental de bergenia também dissolvida em água descrito por Qin et al (2010).

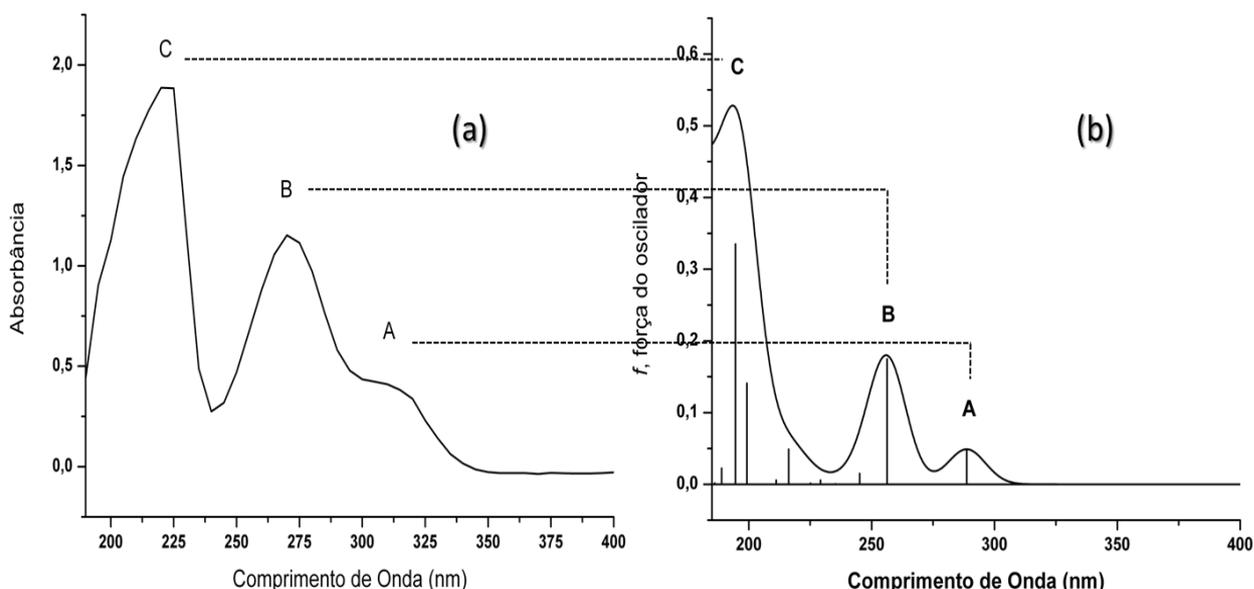


Figura 7 - (a) Espectro experimental da Bergenina em água $10^{-4}M$; (b) Espectro UV/Vis teórico da Bergenina, calculado pelo método TFDDT B3LYP/6-31G* no solvente água.

A Figura 7b apresenta o espectro teórico gerado a partir dos dados das energias de excitação e força do oscilador obtidos dos cálculos teóricos TFDDT B3LYP/6-31G* no solvente água. O espectro teórico (Figura 7b) reproduz muito bem as características gerais do espectro experimental (Figura 7a). Os valores numéricos dos dados calculados estão listados no Quadro 1. As posições dos picos das bandas A, B, e C no espectro teórico ficam em: 289nm (A), 256nm (B) e 195nm (C). Comparando o espectro experimental (Figura 7a) e o teórico (Figura 7b), é possível analisar as três bandas A, B, e C observadas.

Quadro 1 Dados espectroscópicos da Bergenina $10^{-4}M$ em água e Energias de excitação calculadas pelo método TFDDT B3LYP/6-31G* em água, onde D(86)= HOMO e V(1)= LUMO são orbitais moleculares relacionados.

Banda de Absorção UV/Vis	Estado Eletrônico Excitado	Experimental		Teórico				
		E (eV)	λ (nm)	E (eV)	λ (nm)	f-valor	Transição	Amplitude
A	S ₁	4,039	307	4,295	289	0,0488	D(86) → V(1)	0,9374
B	S ₂	4,592	270	4,838	256	0,1746	D(85) → V(1)	0,9232
C	S ₁₀	5,585	222	6,373	195	0,3350	D(86) → V(2)	0,8427

Na banda A da bergenina em água, ocorre uma excitação eletrônica de estado fundamental S₀ para o primeiro estado eletrônico excitado S₁, que pode ser

principalmente considerada como proveniente da transição, D(86)→V(1), correspondente à transição HOMO, $\pi \rightarrow$ LUMO, π^* ($f=0,0488$), pois a amplitude dessa transição tem o valor predominante de 0,9374 (Quadro 1). A intensidade da banda A calculada é relativamente fraca. Na banda B ocorre uma excitação eletrônica do estado fundamental S_0 para o segundo estado eletrônico excitado S_2 ($\pi\pi^*$), com intensidade maior que a da banda A. Essa excitação é composta principalmente da transição, D(85) \rightarrow V(1), correspondente à transição HOMO -1, $\pi \rightarrow$ LUMO, π^* ($f=0,1746$), com amplitude de 0,9232. Além das bandas A e B, o espectro teórico mostra outra banda C de grande intensidade na região entre 180nm a 250 nm: a banda C representa a excitação eletrônica S_{10} ($\pi\pi^*$) composta principalmente pela transição D(86) \rightarrow V(2), correspondente à transição HOMO, $\pi \rightarrow$ LUMO +1, π^* ($f=0,3350$), com amplitude de 0,8427.

Analisando os orbitais moleculares (OM) das três transições presentes no espectro teórico da molécula em água, observamos que a 1ª transição envolve os orbitais moleculares HOMO e LUMO (Figura 8a), onde o orbital HOMO abrange alguns orbitais não ligantes dos oxigênios e majoritariamente ligações de carbono do anel A (anel aromático), tendo uma contribuição maior dos carbonos C_7 e C_{11} . Sendo assim, classificamos este orbital como sendo do tipo π . Já o orbital LUMO, perpendicular ao plano da molécula, está deslocalizado entre os Anéis A e B, com contribuições principais dos átomos de carbono C_6 e C_9 , e C_5 , respectivamente. Além disso, notamos contribuições dos oxigênios O_6 do radical metóxi, O_3 do Anel B e no O_4 do grupo carbonila para a formação deste orbital virtual. Portanto, dado essas características classificamos este OM tipo π^* . Assim, a 1ª transição é identificada como $\pi \rightarrow \pi^*$ ($\pi\pi^*$).

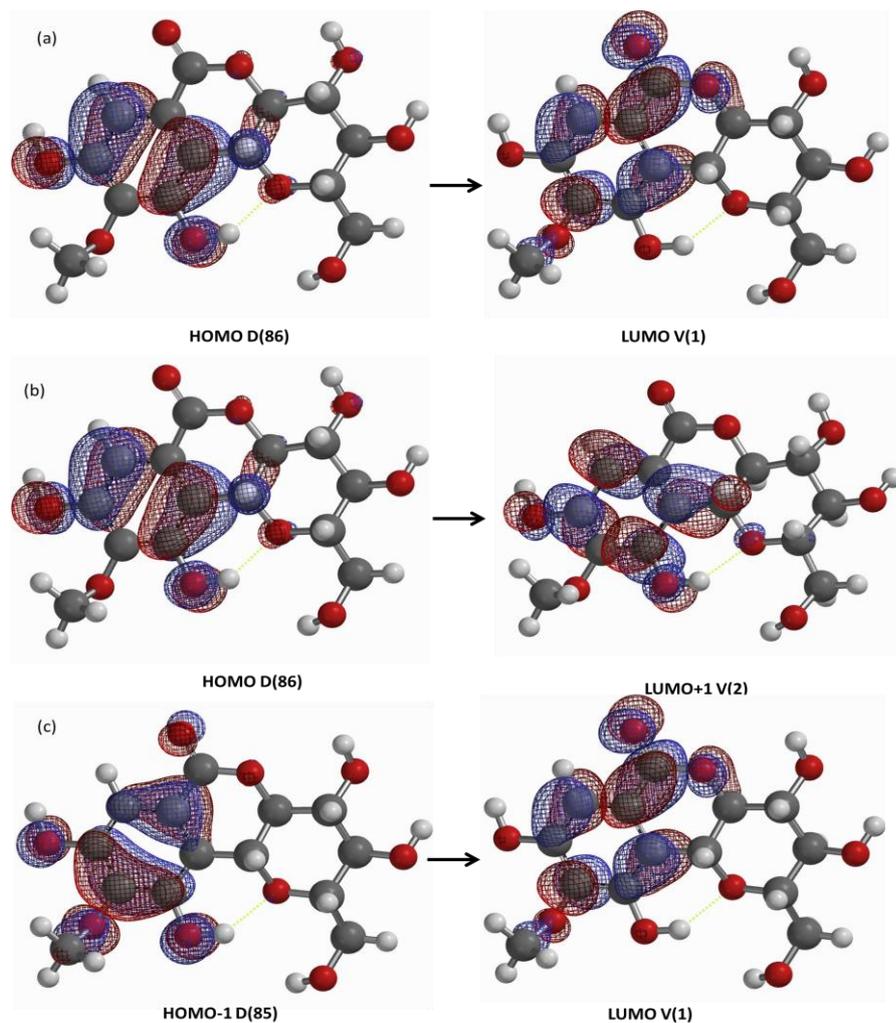


Figura 8 - Orbitais moleculares para a bergenia em água calculados pelo método TFD B3LYP/6-31G*

As demais transições mostradas no Quadro 1 envolvem orbitais moleculares HOMO-1 e LUMO+1, perpendiculares ao plano da molécula, e são apresentadas na Figura 8, onde percebemos que em grande parte estão localizados nos Anéis A (anel fenílico) e Anel B.

3.2.2 Bergenina em etanol

Para o espectro experimental da bergenia dissolvida em etanol (**Figura 9a**) são observadas três bandas de absorção UV/Vis: 312nm (A), 275nm (B) e 220nm (C). A banda A apresentou menor intensidade em relação às demais bandas e aparece no espectro como um ombro discreto. Os valores de absorção

apresentados no espectro experimental são muito similares aos valores das bandas de absorção descritos por Ogan (1971): 310nm, 275nm e 225nm.

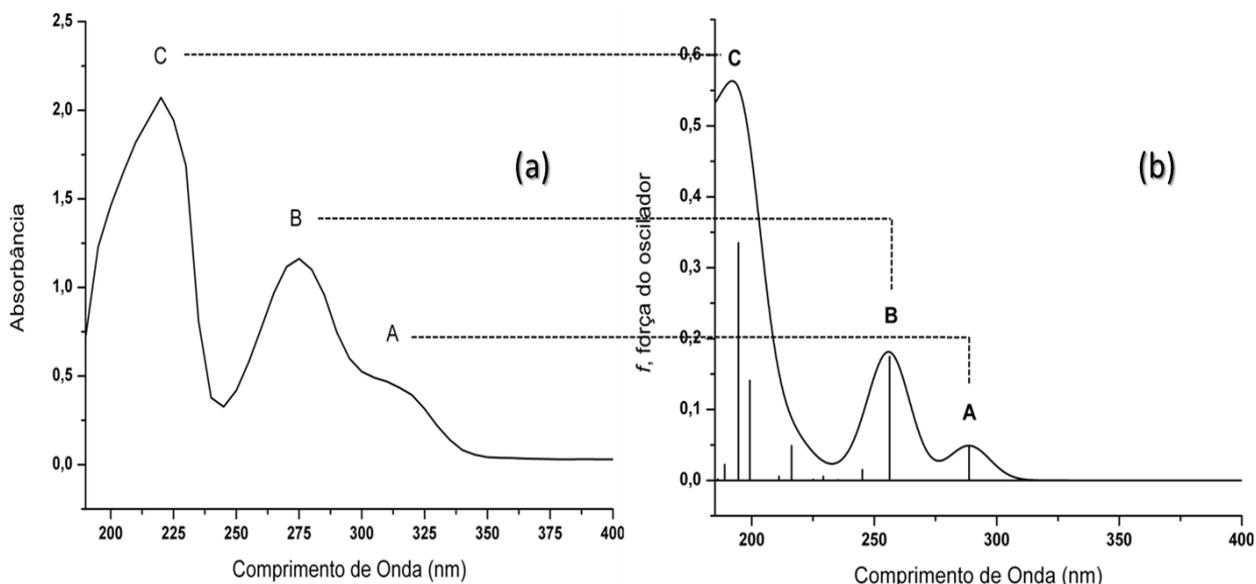


Figura 9 - (a) Espectro experimental da Bergenina em etanol 10^{-4} M; (b) Espectro UV/Vis teórico da Bergenina, método TFDFT B3LYP/6-31G*.

A **Figura 9b** representa o espectro teórico gerado a partir dos dados das energias de excitação e força do oscilador obtidos dos cálculos teóricos TFDFT B3LYP/6-31G* em etanol. O espectro teórico (Figura 9b) reproduz as características gerais do espectro experimental (Figura 9a) muito bem. Os valores numéricos dos dados calculados estão listados no Quadro 2. As posições dos picos das bandas A, B, e C no espectro teórico ficam em: 287nm (A), 256nm (B) e 194nm (C). Comparando o espectro experimental (Figura 9a) e o teórico (Figura 9b), é possível analisar as três bandas A, B, e C observadas. Na banda A, ocorre uma excitação eletrônica de estado fundamental S_0 para o primeiro estado eletrônico excitado S_1 , que pode ser principalmente considerada como proveniente da transição, D(86)→V(1), correspondente à transição HOMO, $\pi \rightarrow$ LUMO, π^* ($f=0,0482$), pois a amplitude dessa transição tem o valor predominante de 0,9347 (Quadro 2). Na banda B ocorre uma excitação eletrônica do estado fundamental S_0 para o segundo estado eletrônico excitado S_2 ($\pi\pi^*$), com intensidade maior que a da banda A. Essa excitação é composta principalmente da transição, D(85)→V(1), correspondente à transição HOMO-1, $\pi \rightarrow$ LUMO, π^* ($f= 0,1673$), com amplitude de 0,9133. A banda C, de grande intensidade na região entre 180nm a 250 nm representa a excitação

eletrônica S_{10} ($\pi\pi^*$), $D(86)\rightarrow V(2)$, correspondente à transição HOMO, $\pi \rightarrow$ LUMO+1, π^* ($f= 0,3518$) cuja amplitude é de 0,8289. No Quadro 2, estão contidas as principais transições eletrônicas que representam o espectro teórico, com seus respectivos valores das energias de excitação e força do oscilador.

Quadro 2 - Dados espectroscópicos da Bergenina 10^{-4} M em etanol e Energias de excitação calculadas pelo método TFDDT B3LYP/6-31G* em etanol, onde $D(86)=$ HOMO e $V(1)=$ LUMO são orbitais moleculares relacionados.

Banda de Absorção UV/Vis	Estado Eletrônico Excitado	Experimental		Teórico				
		E (eV)	λ (nm)	E (eV)	λ (nm)	f-valor	Transição	Amplitude
A	S_1	3,974	312	4,322	287	0,0482	$D(86) \rightarrow V(1)$	0,9347
B	S_2	4,509	275	4,847	256	0,1673	$D(85) \rightarrow V(1)$	0,9133
C	S_{10}	5,636	220	6,380	194	0,3518	$D(86) \rightarrow V(2)$	0,8289

Com relação aos orbitais moleculares (OM) das três transições discutidas anteriormente, a 1ª transição envolve os orbitais moleculares HOMO e LUMO (Figura 10a). De modo semelhante aos OM's calculados para a bergenina em água, o orbital HOMO da bergenina em etanol abrange alguns orbitais não ligantes dos oxigênios e principalmente ligações de carbono do anel A (anel fenílico), tendo uma contribuição maior dos carbonos C_7 e C_{11} , sendo classificado como orbital do tipo π . Também de modo semelhante aos OM's calculados para a bergenina em água, o orbital LUMO, perpendicular ao plano da molécula, está deslocalizado entre os Anéis A e B da molécula, com contribuições principais dos átomos de carbono C_6 e C_9 , e C_5 , respectivamente, e contribuições dos oxigênios O_3 do Anel B e O_4 do grupo carbonila para a formação deste orbital virtual. Portanto, dado essas características classificamos este OM do tipo π^* . Assim, a 1ª transição é identificada como $\pi\rightarrow\pi^*$ ($\pi\pi^*$).

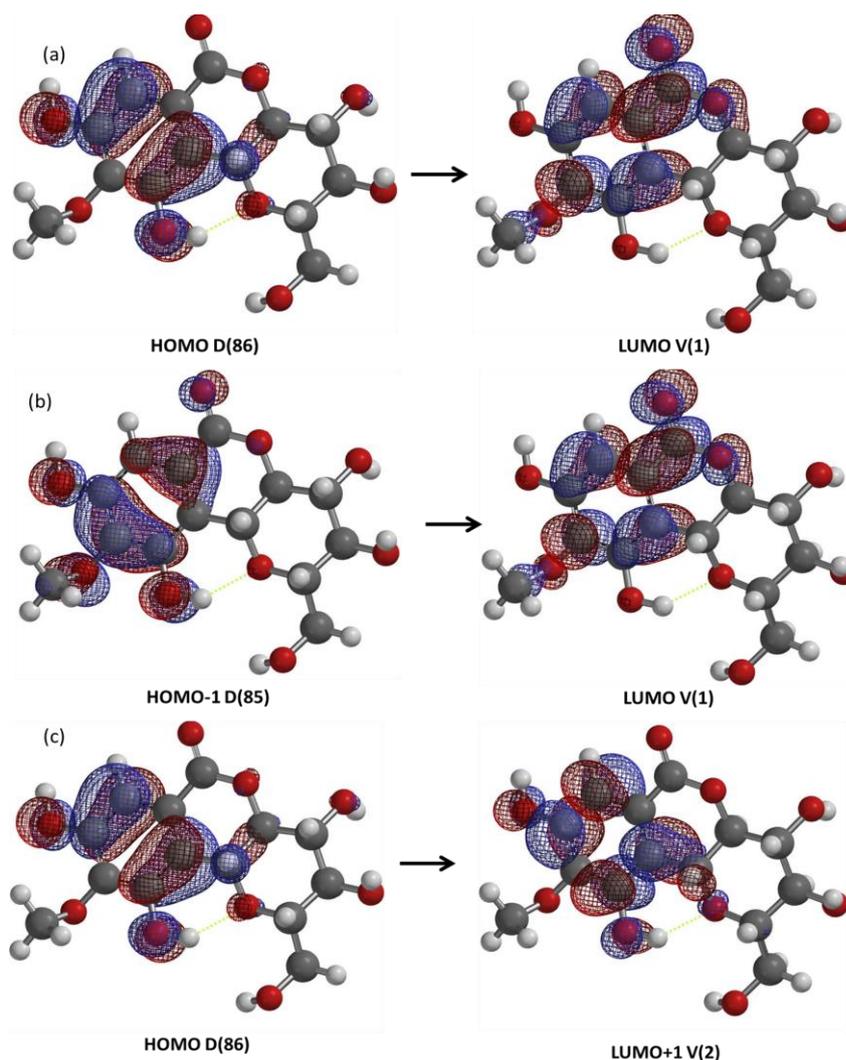


Figura 10 - Orbitais moleculares para a bergenia em etanol calculados pelo método TFD B3LYP/6-31G* em etanol

As demais transições mostradas no Quadro 2 envolvem orbitais moleculares HOMO-1 e LUMO+1, perpendiculares ao plano da molécula, e são apresentadas na Figura 10, onde percebemos que em grande parte estão localizados nos Anéis A (anel fenílico) e Anel B.

3.2.3 Efeito do Solvente

Para estudar o efeito do solvente, foram comparados entre si os três espectros teóricos da bergenia nos três solventes: vácuo, etanol, e água (Figura 11).

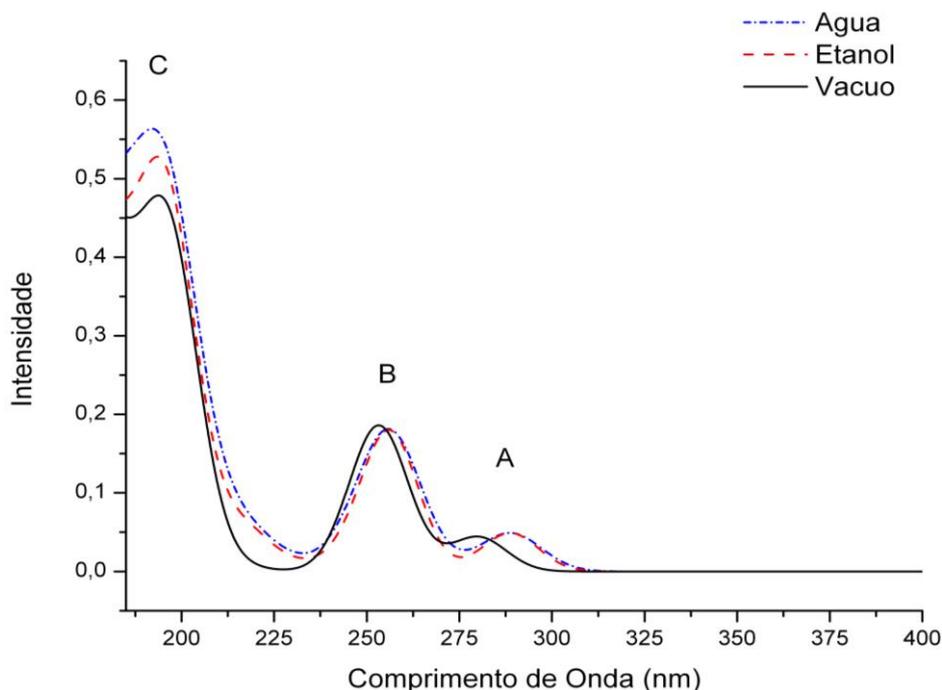


Figura 11 - Comparação dos espectros teóricos de absorção UV/Vis da bergenina em água, etanol e no vácuo.

Os espectros teóricos em etanol e água calculados pelo método TDFDT B3LYP/HF6-31G* são bem similares. As variações numéricas das energias de excitação e das intensidades devido aos solventes diferentes estão listadas no Quadro 3. Os valores calculados da molécula no vácuo foram adotados como referências, portanto os valores citados nas colunas dos solventes etanol e água são valores relativos aos valores da molécula no vácuo. As energias de excitação referentes às bandas A e B nos solventes etanol e água, são menores do que aquelas no vácuo (Quadro 3a), mostrando um deslocamento das bandas na direção do maior comprimento de onda (o efeito *batocrômico*). O efeito *batocrômico* de uma banda é geralmente devido à transição eletrônica tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. As transições eletrônicas dominantes nas bandas A e B são de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$.

Quadro 3 - O efeito solvente na (a) energia de excitação singlete relativa, e (b) intensidade relativa das bandas, para a bergenina em três solventes: vácuo, etanol e água.

(a) Energia de excitação relativa (eV)			
Banda	A	B	C
Vácuo	0	0	0
Água	-0,134	-0,034	0,050
Etanol	-0,106	-0,026	0,058

(b) Intensidade Relativa			
Banda	A	B	C
Vácuo	0	0	0
Água	0,005	0,042	0,094
Etanol	0,004	0,035	0,110

Nas bandas A e B, as magnitudes do deslocamento em etanol são próximas daqueles em água. As energias de excitação referentes às bandas C nos solventes etanol e água são maiores do que aquelas no vácuo (Quadro 3a), mostrando um deslocamento das bandas na direção do menor comprimento de onda (efeito hipsocrômico). O efeito solvente de banda C é oposto das bandas A e B. O efeito hipsocrômico é geralmente devido à transição eletrônica tipo $n \rightarrow \pi^*$, portanto as transições eletrônicas dominantes na banda C devem ser do tipo $n \rightarrow \pi^*$. Os valores numéricos do efeito solvente sobre as intensidades das bandas estão listados em Quadro 3b. As intensidades das três bandas, A, B e C, em etanol e água são maiores do que as intensidades da molécula no vácuo. De um modo geral, os três espectros da bergenina nos três solventes diferentes são similares (Figura 11).

Na Figura 12 é possível observar a comparação entre as cargas atômicas da molécula calculada pelos métodos Eletrostática, Natural e Mulliken, nos três solventes diferentes: vácuo, água e etanol. As curvas das cargas dos átomos de carbono e oxigênio no vácuo foram tomadas como a referência para a avaliação das cargas.

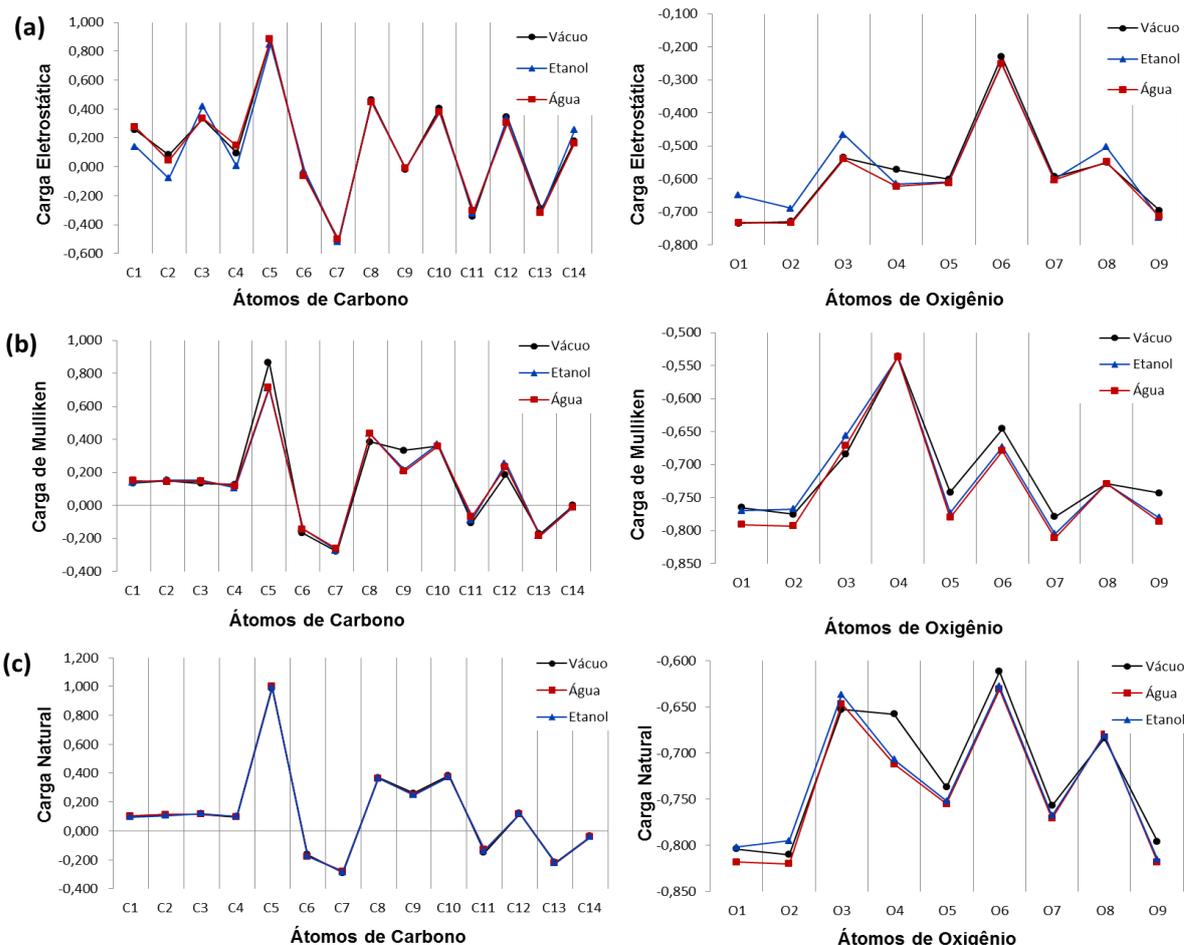


Figura 12 - Cargas atômicas dos carbonos e oxigênios da Bergenina calculadas por três métodos diferentes: (a) Eletrostática, (b) Mulliken e (c) Natural.

Para o método das cargas eletrostáticas (Figura 12a) nos três solventes a maior carga atômica entre os átomos de carbono fica no átomo C₅, que é o carbono da carbonila do Anel B, e a menor carga para o átomo C₇ do Anel A (anel aromático). Especificamente para a molécula em etanol houve aumento de carga no átomo C₃ e redução de carga para os átomos C₁, C₂ (ambos ligados a grupos hidroxila no Anel C) e C₄ (ligado ao O₃ do Anel B). Além disso, os cálculos para os três solventes resultaram que a maior carga atômica entre os oxigênios está no átomo O₆. Considerando os solventes água e etanol, em ambos, a menor carga encontra-se no átomo O₁ da hidroxila presente no Anel C (Anel D-glicopirranose).

Semelhantemente ao método de Carga Eletrostática, o método das Cargas de Mulliken (Figura 12b) para os três solventes resultou em maior carga atômica para o átomo C₅ (carbonila no Anel B) e menor para o átomo C₇ (Anel A). Houve aumento de carga atômica para o átomo C₈ em solvente água e redução para o átomo C₉

tanto em água quanto em etanol. Além disso, para os três solventes, entre os átomos de oxigênio o O₄ (oxigênio da carbonila no Anel B) apresentou maior carga atômica, enquanto que para os solventes água e etanol o átomo O₇ (hidroxila ligada ao Anel A) apresentou a menor carga atômica.

Na Figura 12c é possível observar que não houveram mudanças significativas de cargas atômicas para os átomo de carbono através do método de Carga Natural. Por outro lado, com relação aos átomos de oxigênio, para os três solventes, a maior carga atômica é a do átomo O₆ do grupo metoxi (-OMe do Anel A), enquanto a menor carga atômica está presente no átomo O₂ (hidroxila ligada ao Anel C) em água. Houve um aumento de cargas atômicas para os átomos O₂ e O₃ em etanol, e diminuição de cargas nos átomos O₁ e O₂ (ambos pertencentes a grupos hidroxila no Anel C) e O₄ (oxigênio do anel B) em água e O₅, O₆, O₇ e O₉ tanto para água quanto para etanol.

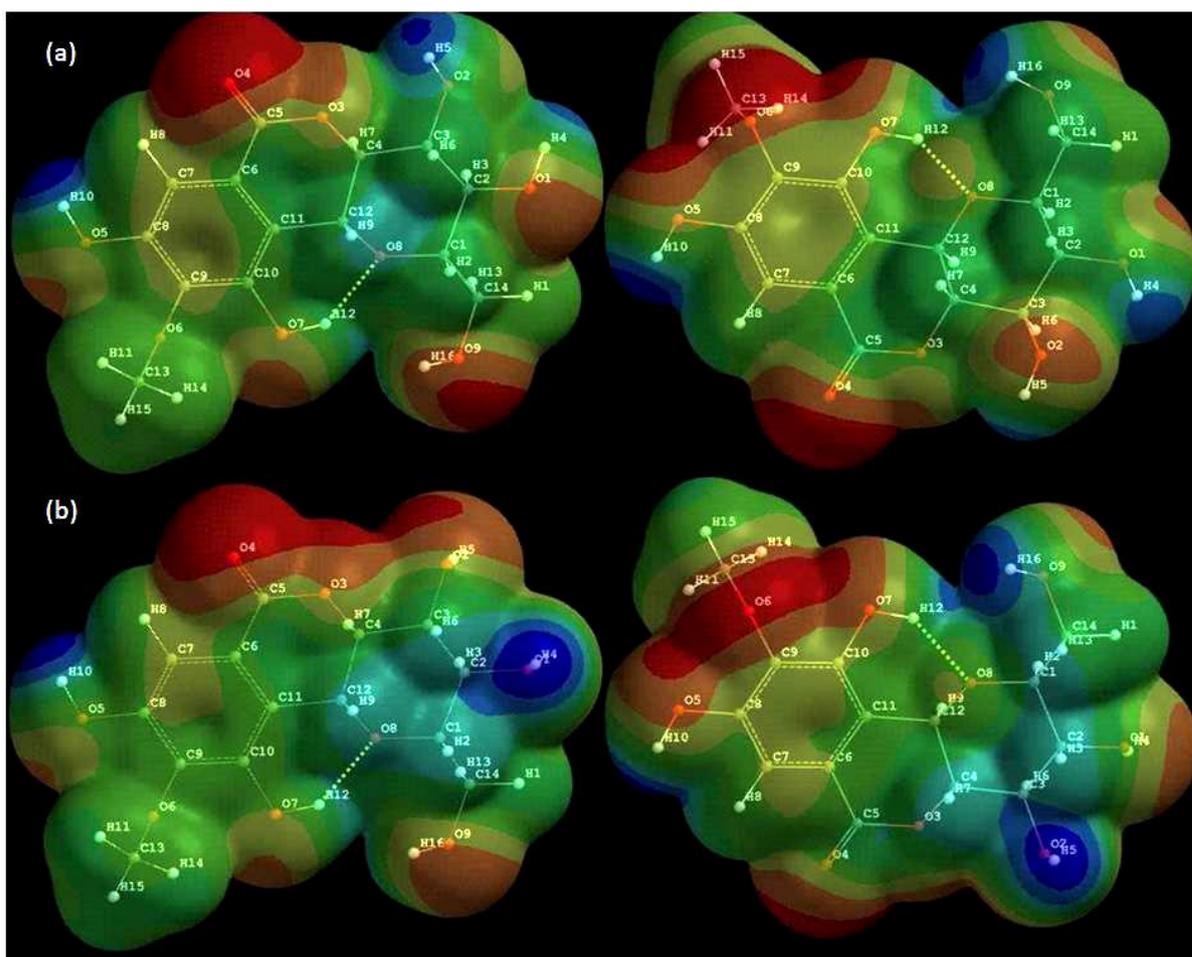


Figura 13 – Mapa de Potencial Eletrostático da molécula de bergenia em (a) água sobre uma superfície de 0,002 eV/ua³ e em (b) etanol sobre uma superfície de 0,002 eV/ua³.

O Mapa de Potencial Eletrostático da molécula de bergenina no vácuo (Figura 6) e em água (Figura 13a) são semelhantes, indicando que em meio aquoso não ocorre dispersão de cargas e a concentração de cargas negativas continua compreendida no oxigênio O₄ da carbonila (Anel B) e pela proximidade entre os oxigênios O₇ da hidroxila ligada ao C₁₀, O₆ do grupo metoxi ligado ao C₉ e O₅ da hidroxila ligada ao C₈, ambos do Anel A (Anel fenílico). No entanto, ao observarmos o mapa de potencial eletrostático da bergenina em etanol (Figura 13b), nota-se a formação de duas “baías carregadas”. Essas baías são áreas carregadas negativamente. Uma delas é a região O₄O₃O₂, compreendida pela proximidade entre os oxigênios O₄ da carbonila e O₃ ligado tanto ao átomo C₄ quanto ao átomo C₅, ambos os três oxigênios pertencentes ao Anel B (δ-lactona) e O₂ da hidroxila ligada ao C₃ do Anel C (Anel D-glicopirranose). A outra baía carregada é a região O₅O₆O₇, compreendida pela proximidade entre o oxigênio O₅ do grupo hidroxila ligada C₈, O₆ do grupo metóxi ligado ao C₉ e o O₇ do grupo hidroxila ligada ao C₁₀, ambos pertencentes ao Anel A (Anel fenílico). A formação destas duas áreas carregadas negativamente deve-se à mudança da orientação rotacional do grupo hidroxila OH ligada ao C₃ do Anel C, sendo a justificativa para a mudança considerável do momento dipolo da molécula, conforme observamos no Quadro 4. Esta mudança confere à molécula alta atividade nucleofílica.

O Quadro 4 lista algumas propriedades moleculares calculadas, tais como: momento de dipolar, energias de orbitais de fronteiras, polarizabilidade e Log P para a bergenina nos três solventes citados. As propriedades moleculares foram calculadas com TFD, funcional B3LYP e função de base 6-31G*.

Quadro 4 - Algumas Propriedades moleculares calculadas.

Parâmetro	Simulação (função de base 6-31G*/		
	Funcional B3LYP)		
	Vácuo	Etanol	Água
Mom. Dipolo (Debye)	0,94	2,80	1,33
ϵ_{Homo} (eV)	-8,86	-8,83	-8,90
ϵ_{Lumo} (eV)	2,28	2,17	2,07
ϵ_{gap} (eV)	11,14	11,00	10,97
Polarizabilidade:	61,63	61,72	61,72
Log P:	-1,40	-1,40	-1,40

O Log P da bergenina para os três solventes apresentaram o mesmo valor (-1,40), indicando que os solventes aplicados não influenciaram na lipofilicidade da molécula em estudo. Este valor calculado é muito próximo ao valor experimental de Log P de -1,19 descrito por Zhou et al (2008). A polarizabilidade da molécula em etanol e água permaneceu com o mesmo valor (61,72), no entanto com relação ao momento dipolar, a bergenina em etanol apresentou um valor de 2,80D, contrastando com o valor de 1,33D para o solvente água. Isto indica que em meio etanólico, a bergenina tende a interagir mais com o solvente. Isto é evidenciado pelo *gap* (ϵ_{gap}), diferença entre as energias do LUMO e HOMO ($\epsilon_{\text{Lumo}} - \epsilon_{\text{Homo}}$) da molécula, o qual é um importante índice de estabilidade química. Quanto maior o *gap* maior estabilidade a molécula e menos reativa ela será, por outro lado, quanto menor o *gap* mais reativa. O *gap* para a molécula em água é de 10,97eV, enquanto que para o etanol o *gap* assume um valor ligeiramente maior de 11,00eV, indicando que em meio aquoso a bergenina possui menor estabilidade e em meio etanólico ela apresenta-se mais estável.

4. CONCLUSÃO

A geometria molecular da bergenina foi determinada usando o método HF/6-31G* e observou-se que a molécula não é planar. Considerando o diedro formado pelos átomos C₂C₁O₈C₁₂, o Anel C (Figura 2), correspondente ao Anel D-glicopirranose, está -148,99° para fora do plano em relação ao Anel A (Anel aromático). A introdução do solvente nos cálculos não causou alterações significativas para a geometria da molécula, com exceção da mudança de orientação das duas hidroxilas presentes no Anel C.

O estudo teórico da molécula nos permitiu observar que a energia do *gap* (ϵ_{gap}) da molécula em etanol (11eV) é ligeiramente menor que a energia do *gap* da molécula em água (10,97eV). Isto revela que a bergenina é mais estável em meio etanólico do que em meio aquoso. A simulação em água promoveu um aumento do momento dipolo de 0,94D (no vácuo) para 1,33D. Já na simulação da molécula em etanol, devido à mudança orientacional observada das duas hidroxilas do Anel C citado anteriormente, ocorreu um aumento considerável no momento dipolo para

2,80D, revelando que a molécula interage muito mais com o etanol do que com a água. Além disso, não houve alteração no valor do log P, o que indica que os solventes não influenciaram na lipofilicidade da bergenina.

Comparando os espectros experimentais da bergenina, nos dois solventes, concentração 10^{-4} M, com os respectivos espectros simulados, pelo método TFDDT B3LYP/6-31G*, foi possível interpretar cada banda de absorção. Os comprimentos de onda calculados de cada máximo das bandas de absorção dos espectros teóricos diferiram em algumas unidades dos espectros experimentais, sempre se mostrando ligeiramente menores. De um modo geral, os espectros teóricos foram compatíveis e reproduziram razoavelmente bem as características dos espectros experimentais.

Os resultados obtidos a partir dos cálculos teóricos pelos métodos *ab initio* no nível HF/6-31G* e TFD-DT no nível B3LYP/6-31G* indicaram, para os três solventes, que a região cromófora ou fotoativa da molécula encontra-se na região do Anel A (Anel fenílico), sendo esta a região que mais contribui para a atividade biológica da molécula. Além disso, os cálculos teóricos mostraram-se compatíveis com os dados obtidos experimentalmente e com os descritos na literatura. Desta forma, concluímos que os métodos computacionais adotados foram eficientes para o estudo teórico das propriedades estruturais e espectroscópicas da bergenina, bem como na investigação dos efeitos do solvente sobre a molécula.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (MCT/CNPq) pelo apoio financeiro vindo dos editais (553292/2005-6, CT/AMAZÔNIA/MCT/CNPq) e (MCT/CNPq/FNDCT No. 19/2009, 556853/2009-1), à FAPEAM-Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas pela bolsa de estudos cedida de acordo com o Edital N°008/2011-POSGRAD, ao Prof. Alberto Marques pelo suporte dado nas etapas iniciais e à Prof^a. Sandra Zanotto por fornecer a amostra de bergenina para realização da etapa experimental deste estudo. YT agradece a Bolsa de Pesquisador Visitante Sênior - PVS da FAPEAM.

5. REFERÊNCIAS

1. RASTOGI, S.; RAWAT, A. K. S. A comprehensive review on bergenin, a potencial hepatoprotective and antioxidative phytoconstituent. **Herba polonica**. v.54, n.2, p. 66-79, 2008.
2. FAPARUSI, S. I.; BASSIR, O. Effect of Extracts of the Bark of *Saccoglottis gabonensis* on the Microflora of Palm Wine. **Applied Microbiology**. v.24, n.6, p. 853-856, 1972.
3. OKADA, T.; SUZUKI, T.; HASOBE, S.; KISARA, K. Studies on Bergenin (Report I). Antiulcerogenic activities of Bergenin. **Folia Pharmacologica Japonica**. v. 69, p. 369-378, 1973.
4. ABE, K.; SAKAI, K.; UCHIDA, M. Effects of bergenin on experimental ulcers -prevention of stress induced ulcers in rats. **General Pharmacology**. v.11, p.361-368, 1980.
5. GOEL, R. K.; MAITI, R.N.; MANICKAM, M.; RAY, A. B. Antiulcer activity of naturally occurring pyrano-coumarin and isocoumarins and their effect on prostanoïd synthesis using human colonic mucosa. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.35, p. 1080-1083, 1997.
6. ZHANG, Y.-H.; FANG, L.-H.; LEE, M.-K.; KU, B.-S. In vitro Inhibitory Effects of Bergenin and Norbergenin on Bovine Adrenal Tyrosine Hydroxylase. **Phytotherapy Research**. v.17, p. 967–969, 2003.
7. QIN, X.; YANG, Y.; FAN, Tt.; GONG, T.; ZHANG, Xn.; HUANG, Y. Preparation, characterization and in vivo evaluation of bergenin-phospholipid complex. **Acta Pharmacologica Sinica**. v.31, p. 127-136, 2010.
8. EKONG, D. E.; EJIKE, C. Antioxidant principles from the bark of *Spondianthus preussi* and *Sacoglottis gabonensis* (Family Humiriaceae). **Journal of West African Science Association**. v.19, n.1, p. 63-68, 1974.
9. TAKAHASHI, H.; KOSAKA, M.; WATANABE, Y.; NAKADE, K.; FUKUYAMA, Y. Synthesis and Neuroprotective Activity of Bergenin Derivatives with Antioxidant Activity. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**. v.11, p. 1781–1788, 2003.

10. MADUKA, H. C. C.; OKOYE, Z. S. C. Bergenin, A Nigerian alcoholic beverage additive from *Sacoglottis gabonensis* as an antioxidant protector of mammalian cells against 2,4-dinitrophenyl hydrazine-induced lipid peroxidation. **Journal of Toxicology**. v.3, n.1, 2006.
11. SRINIVASAN, R.; CHANDRASEKAR, M. J. N.; NANJAN, M. J.; SURESH, B. Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root. **Journal Ethnopharmacology**. v.113, p. 284-291, 2007.
12. ABREU, H. A.; LAGO, I. A. S.; SOUZA, G. P.; PILÓ-VELOSO, D.; DUARTE, H. A.; ALCÂNTARA, A. F. C. Antioxidant activity of (+)-bergenin - a phytoconstituent isolated from the bark of *Sacoglottis uchi* Huber (Humireaceae). **Organic e Biomolecular Chemistry**. v.6, p. 2713-2718, 2008.
13. PIEGEN, X. Traditional experience of chinese herb medicine and its application in drug research, new drug searching. In: BEAL, J.L. REINHARD, E., editors. **Natural products as medicinal agents**. Hippokrates Verlag: Stuttgart, Germany, p.351-394, 1981.
14. SWARNALAKSHMI, T.; SETHURAMAN, M. G.; SULOCHANA, N.; ARIVUDAINAMBI, R. A Note on The Antiinflammatory Activity of Bergenin. **Current Science**. v.53, n.17, p. 917, 1984.
15. NUNOMURA, R. C. S.; OLIVEIRA, V. G.; SILVA, S. L.; NUNOMURA, S. M. Characterization of Bergenin in *Endopleura uchi* Bark and its Anti-inflammatory Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.20, n.6, p. 1060-1064, 2009.
16. HIKINO, H.; KISO, Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Antihepatotoxic Actions of Tannins. **Journal of Ethnopharmacology**. v.14, p. 19-29, 1985.
17. KIM, H.-S.; LIM, H.-K.; CHUNG, M.-W; KIM, Y. C. Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated hepatocytes. **Journal of Ethnopharmacology**. v.69, p. 79-83, 2000.

18. JAHROMI, M. A.F.; CHANSOURIA, J. P. N.; RAY, A. B. Hypolipidaemic activity in rats of bergenin, the major constituent of *Flueggea microcarpa*. **Phytotherapy Research**. v.6, p. 180-183, 1992.
19. PRITHIVIRAJ, B.; SINGH, U. P.; MANICKAM, M.; SRIVASTAVA, J. S.; RAY, A. B. Antifungal activity of bergenin, a constituent of *Flueggea microcarpa*. **Plant Pathology**. v. 46, p. 224-228, 1997.
20. SILVA, S. L.; OLIVEIRA, V. G.; YANO, T.; NUNOMURA, R. C. S. Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. **Acta Amazonica**. v.39, n.1, p. 187-192, 2009.
21. PU, H.-L.; HUANG, X.; ZHAO, J.-H.; HONG, A. Bergenin is the Antiarrhythmic Principle of *Flueggea virosa*. **Planta Medica**. v.68, p. 372-374, 2002.
22. NAZIR, N.; KOUL, S.; QURISHI, M. A.; TANEJA, S. C.; AHMAD, S. F.; BANI, S.; QAZI, G. N. Immunomodulatory effect of bergenin and norbergenin against adjuvant-induced arthritis - A flow cytometric study. **Journal of Ethnopharmacology**. v.112, p. 401–405, 2007.
23. ARFAN, M.; AMIN, H.; KHAN, I.; SHAH, M. R.; SHAH, H.; KHAN, A. Z.; HALIMI, S. M. A.; KHAN, N.; KALEEM, W. A.; QAYUM, M.; SHAHIDULLAH, A.; KHAN, M. A. Molecular simulations of bergbenin as a new urease inhibitor. **Medicinal Chemistry Research**. p. 1-4, 2011.
24. CALDAS, C. S.; SIMONE, C. A.; PEREIRA, M. A.; MALTA, V. R. S.; CARVALHO, R. L. P.; DA SILVA, T. B. C.; SANT'ANA, A. E. G.; CONSERVA, L. M. Bergenin monohydrate, a constituent of *Humiria balsamifera*, at 120K. **Acta Crystallographica**. E58, p. 609-611, 2002.
25. HARTREE, D. R. **The calculation of atomic structure**. New York: Wiley, 1957.
26. FISHER, F. C. **The Hartree-Fock method for atoms**. New York: John Wiley. 1977.
27. HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electrons gas. **Physical Review**. v.13, n.3B, p.864-871, 1964.
28. CASIDA, M.E.; CHONG, D.P.(Ed.) **Recent Advances in Density Functional Methods. Part I**. World Scientific Publishing Company, Singapore. 155p., 1995.

29. LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. **Physical Review B**. v.37, 785-789, 1988.
30. MARENICH, A. V.; OLSON, R. M.; KELLY, C. P.; CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Self-Consistent Reaction Field Model for Aqueous and Nonaqueous Solutions Based on Accurate Polarized Partial Charges. **Journal of Chemical Theory and Computation**. v. 3, n.6, p. 2011-2033, 2007.
31. SPARTAN: Wavefunction, Inc. 18401 Von Karman, Suite 370, Irvine. (CA 92612, USA).
32. SOPER, P D.; Initio Calculation of Vibrational - SPECTRUM. **Dupont Central Research & Development**. E328/123, DUCOM, ESVAX: SOPERPD, p. 695-1757, 1997.
33. ORIGINLAB, OriginPro, versão 8.0724. Northampton, USA: Originlab Corporation, 2007.
34. CSONKA, G.I.; ELIAS, K.; CSIZMADIA, I. G. Relative stability of ¹C₄ and ⁴C₁ chair forms of beta-d-glucose: a density functional study. **Chemical Physics Letters**. v.257, n.1, p. 49-60, 1996.
35. YE, Y.-P; SUN, H.-X.; PAN, Y.-J. Bergenin monohydrate from the rhizomae of *Astilbe chinensis*. **Acta Crystallographica**. C60, p. 397-398, 2004.
36. OGAN, A. U. An Isocoumarin from the bark of *Sacoglottis gabonensis*. **Phytochemical Reports**. v.10, p. 2832-2833, 1971.
37. ZHOU, D.; QIN, X.; ZHANG, Z.-R.; HUANG, Y. Physicochemical properties of bergenin. **Die Pharmazie**. v.68, n.5, p.366-371, 2008.