

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

BRUNA MARIA BEVERVANSO GONÇALVES

INVESTIGAÇÃO *in silico* DO POTENCIAL DOS FITOQUÍMICOS FLAVONOIDES
KAEMPFEROL, QUERCETINA E MIRICETINA DA PLANTA *Clitoria ternatea* L. COMO
PROTETORES SOLARES

PONTA GROSSA
2026

BRUNA MARIA BEVERVANSO GONÇALVES

INVESTIGAÇÃO *in silico* DO POTENCIAL DOS FITOQUÍMICOS FLAVONOIDES
KAEMPFEROL, QUERCETINA E MIRICETINA DA PLANTA *Clitoria ternatea L.* COMO
PROTETORES SOLARES

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Química no Programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade Estadual
de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Ricardo de Lázaro

PONTA GROSSA
2026

G635 Gonçalves, Bruna Maria Bevervanso
Investigação (*in sillico*) do potencial dos fitoquímicos flavonoides
Kaempferol, Quercetina e Miricetina da planta *Clitoria ternatea* L. como
protetores solares. / Bruna Maria Bevervanso Gonçalves. Ponta Grossa, 2026.
133 f.

Dissertação (Mestrado em Química - Área de Concentração: Química),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Ricardo de Lázaro.

1. Teoria do Funcional da Densidade (DFT). 2. Flavonoides. 3. *Clitoria ternatea* L. 4. Filtros solares orgânicos. 5. Efeito solvente. I. Lázaro, Sérgio Ricardo de. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Química. III.T.

CDD: 547

TERMO DE APROVAÇÃO

BRUNA MARIA BEVERVANSO GONÇALVES

“INVESTIGAÇÃO *in silico* DO POTENCIAL DOS FITOQUÍMICOS FLAVONOIDES KAEMPFEROL, QUERCETINA E MIRICETINA DA PLANTA *Clitoria ternatea* L. COMO PROTETORES SOLARES”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Documento assinado digitalmente
 **SERGIO RICARDO DE LAZARO**
Data: 20/02/2026 16:13:52-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Orientador Prof. Dr. Sérgio Ricardo de Lázaro
UEPG/PR

Documento assinado digitalmente
 **ELSON LONGO DA SILVA**
Data: 19/02/2026 16:33:59-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Elson Longo
UFSCar/SP

Documento assinado digitalmente
 **ALEXANDRE CAMILO JUNIOR**
Data: 19/02/2026 21:53:55-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Alexandre Camilo Júnior
UEPG/PR

Ponta Grossa, 12 de fevereiro de 2026

Aos meus avós Maria Neusa e Luiz Fernando
(*in memoriam*) e minha mãe Débora Regina.
Por todo o apoio e ensinamentos que até hoje vivem em mim

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Sérgio Ricardo de Lázaro por ter me recebido como aluna, orientação, ensinamentos em Química Computacional, paciência e por acreditar no potencial deste trabalho.

Aos meus avós Maria Neusa e Luiz Fernando (*in memoriam*) pelo exemplo e por todo apoio e incentivo à minha educação. À minha mãe Débora Regina, também por todo apoio e compreensão.

À minha cachorrinha Luna, por estar sempre ao meu lado, pela companhia em longas noites de estudo, sempre feliz em me receber quando volto da universidade.

Aos meus amigos do Grupo de Simulação Química (GSQ) por terem me recebido, pela convivência, conversas e momentos felizes.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e ao Programa de Pós-Graduação em Química pela oportunidade e infraestrutura fornecida.

Ao apoio financeiro fornecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001.

E por fim, aos meus amigos de fora do ambiente acadêmico e a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

Meu mais sincero muito obrigada!

*"With understanding
You won't let it cast you down
A mind full of questions
A current to purify
Science and visions
Be near when I call your name
Or ask me a question."*

(CHVRCHES, Science and Visions)

RESUMO

As moléculas de origem natural são produzidas por diferentes organismos vivos e utilizadas no tratamento de doenças desde civilizações antigas. No reino vegetal se encontra a maior diversidade dessas moléculas, sendo conhecidas como fitoquímicos. Elas apresentam propriedades biológicas únicas, tanto na sua função nas plantas quanto efeitos benéficos à saúde humana, como por exemplo, atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e neuro protetoras. As indústrias exploram o uso dessas moléculas para o desenvolvimento de fármacos, cosméticos sustentáveis (*Clean Beauty*), corantes, aditivos alimentares e agroquímicos. Porém, o desenvolvimento de novos produtos envolve muitos testes experimentais (*in vitro* e *in vivo*), com custo e tempo de execução elevados. Neste aspecto, simulações computacionais baseadas na mecânica quântica, estatística ou clássica (experimentos *in silico*) estão ganhando destaque. A presente pesquisa apresenta simulações computacionais dos fitoquímicos flavonoides Kaempferol, Quercetina e Miricetina, empregando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) para estados moleculares fundamentais e a TD-DFT para estados moleculares excitados. Os funcionais utilizados foram o B3LYP, o M062X e o ω B97XD com o conjunto de base 6-31G(d). No estado fundamental, a Quercetina apresentou o menor valor para a excitação vertical HOMO-LUMO (ΔE_{vert}) de 3,688 eV. A análise dos Parâmetros de Reatividade global classificou as moléculas em ordem decrescente de desempenho de atividade antioxidante: Quercetina > Kaempferol > Miricetina. Os mapas de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) evidenciaram maior concentração da densidade eletrônica na carbonila presente no anel C e hidroxilas adjacentes e menor concentração da densidade eletrônica nos hidrogênios das hidroxilas. A análise conformacional do ângulo diedro (θ) existente entre os anéis C e B demonstrou que a planaridade entre os três anéis ($\theta = 0^\circ$ e 180°) é a conformação mais estável, favorecendo a formação de interações intramoleculares (ligações de hidrogênio), principalmente com a carbonila presente no anel C. Nos modelos de interação (PCM) com solventes polares próticos (água, etanol e 1,2-propanodiol), os parâmetros termoquímicos demonstraram espontaneidade de interação com todos os solventes. Os menores valores do momento de dipolo total ($\vec{\mu}$) foram observados para o 1,2-propanodiol, sugerindo maior interação com esse solvente. Nos estudos dos estados excitados (TD-DFT), os espectros de absorção UV simulados demonstraram forte absorção nas regiões UVA e UVC, com comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}) próximos dos dados experimentais. Sendo assim, a aplicação das três moléculas em formulações de protetores solares é promissora, podendo atuar em conjunto com filtros orgânicos sintéticos com ação fotoprotetora contra a radiação UVA, além de colaborar com o desempenho do produto na pele.

Palavras-chave: DFT. Flavonoides. *Clitoria ternatea* Linn. Filtros Solares Orgânicos. PCM. Simulação. Efeito solvente. Água. ODS3. ODS6. ODS12.

ABSTRACT

Natural products are produced by living organisms and have been used to treat diseases since ancient civilizations, with the greatest diversity found in the plant kingdom. These phytochemicals exhibit unique biological properties and, in addition to their function in plants, confer beneficial effects on human health, such as antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, and neuroprotective activities. Industries make extensive use of these molecules, including in the development of pharmaceuticals, sustainable cosmetics (Clean Beauty), dyes, food additives, and agrochemicals. However, developing new products requires extensive experimental testing (*in vitro/in vivo*), with high costs and long execution times. Therefore, theoretical studies (*in silico*) are gaining prominence. In this research, computational simulations of the flavonoid phytochemicals Kaempferol, Quercetin, and Myricetin were performed using Density Functional Theory (DFT) and its time-dependent version (TD-DFT). The levels of theory were B3LYP, M062X, and ω B97XD with the 6-31G(d) basis set. In the ground state, Quercetin exhibited the lowest energy gap (ΔE_{Vert} = 3.688 eV), indicating higher reactivity and ease of electronic transitions. The global reactivity parameters classified the molecules in descending order of antioxidant activity: Quercetin > Kaempferol > Myricetin. Molecular Electrostatic Potential (MEP) maps showed higher electron density at the carbonyl group of ring C and adjacent hydroxyl groups, while lower density was observed on the hydrogen atoms of the hydroxyls. Conformational analysis of the dihedral angle (θ) between rings C and B indicated that planarity among the three rings ($\theta = 0^\circ$ and 180°) is the most stable conformation, favoring the formation of intramolecular interactions (hydrogen bonds), primarily with the carbonyl of C ring. In interaction models (PCM) with protic polar solvents (water, ethanol, and 1,2-propanediol), thermochemical parameters demonstrated spontaneous interactions with all solvents. The lowest total dipole moment ($\vec{\mu}$) values were observed with 1,2-propanediol, suggesting stronger interaction with this solvent. In studies of excited states (TD-DFT), simulated UV absorption spectra showed strong absorption in the UVA and UVC regions, with typical bands of flavonoids and (λ_{MAX}) values that closely matched experimental literature data. Therefore, the application of these three molecules in sunscreen formulations is promising, with photoprotective action against UVA radiation, potentially acting synergistically with synthetic organic filters to broaden the absorption spectrum and enhance product performance on the skin.

Keywords: DFT. Flavonoids. *Clitoria ternatea* Linn. Organic Filters. PCM. Simulation. Solvent effect. Water. SDG3. SDG6. SDG12.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Diferentes partes da planta <i>Clitoria ternatea</i> Linn evidenciando seu crescimento como trepadeira com seus (A) Caules entrelaçados, suas (B) Sementes, suas (C) Folhas, suas (D) Flores e seus (E) Frutos (Vagens).	25
FIGURA 2 -	Variações de coloração nas flores da planta <i>Clitoria ternatea</i> Linn desde o (A) Branco, (B) Azul claro, (C) Roxo claro até os tons de (D) Azul escuro, (E) Roxo escuro e (F) Roxo escuro / Magenta.	26
FIGURA 3 -	Chá das flores da planta <i>Clitoria ternatea</i> Linn.....	27
FIGURA 4 -	Constituintes dos Flavonoides - γ -pironas e 1,4-Benzopirano.	31
FIGURA 5 -	Estrutura básica (esqueleto) dos Flavonoides - Núcleo Flavano.	31
FIGURA 6 -	Representação das estruturas das 7 subclasses dos Flavonoides, exemplos de algumas moléculas pertencentes à cada subclasse e das fontes de onde são extraídos.	33
FIGURA 7 -	Representação da (A) Estrutura 2D e da (B) Conformação 3D do Kaempferol..	34
FIGURA 8 -	Representação da (A) Estrutura 2D e da (B) Conformação 3D da Quercetina. ..	35
FIGURA 9 -	Representação da (A) Estrutura 2D e da (B) Conformação 3D da Miricetina. ...	36
FIGURA 10 -	Esquema representando as etapas envolvidas no Processo Iterativo para o cálculo de Otimização de Geometria e alcance de pontos estacionários (mínimos).	46
FIGURA 11 -	Aproximações para o Oscilador Harmônico com a Superfície de Energia Potencial (SEP) simples - Harmônica (linha vermelha), a curva azul representando os valores exatos do potencial e a curva verde que apresenta os termos polinomiais cúbicos - 3ª ordem.....	49
FIGURA 12 -	Representação de um Sistema de Múltiplos Corpos com a molécula de H ₂ contendo 2 núcleos e 2 elétrons e as interações atrativas e repulsivas existentes entre as partículas.....	52
FIGURA 13 -	Esquema representando as regiões de absorção UV, as faixas de comprimento de absorção de cada região e seu poder de penetração na pele.....	62
FIGURA 14 -	Aspectos visuais para identificação de manchas na pele características do Melanoma.	63
FIGURA 15 -	Representação da diferença nos mecanismos de desempenho da fotoproteção apresentados pelos Filtros Solares Físicos e pelos Filtros Solares Químicos.....	64
FIGURA 16 -	Imagem das flores abertas de <i>Spathodea campanulata</i> (Chama-da-Floresta)....	67
FIGURA 17 -	Imagem do Gengibre Chinês (<i>Boesenbergia rotunda</i>) e da estrutura de seu principal composto ativo (Panduratina A).	68
FIGURA 18 -	Imagem da planta <i>Camellia sinensis</i> , seu principal componente poli fenólico (Epigallocatechin Gallate - EGCG) e do chá feito das suas folhas e botões (Chá Verde).	69
FIGURA 19 -	Geometrias relaxadas das moléculas (A) Quercetina, (B) Kaempferol e (C) Miricetina obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.....	76
FIGURA 20 -	Confôrmeros utilizados nos cálculos para análise conformacional das hidroxilas das moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina, utilizando o nível de teoria B3LP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.....	82
FIGURA 21 -	Superfícies de Energia Potencial (SEP) com as estruturas utilizadas para análise conformacional do ângulo diedro (anéis C e B) da (A) Quercetina, (B)	

	Kaempferol e (C) Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	89
FIGURA 22 -	Diagramas de Energia para as moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina no vácuo, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	90
FIGURA 23 -	Comparação da distribuição de cargas ao longo dos átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio das hidroxilas entre as moléculas Kaempferol, Quercetina e Miricetina, obtidas utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	97
FIGURA 24 -	Mapas de Potencial Eletrostático (MEP) para as moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina no vácuo, utilizando o funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.	98
FIGURA 25 -	Comparação no tempo gasto para execução dos cálculos dos estados excitados e simulações dos espectros de absorção UV das moléculas Kaempferol, Quercetina e Miricetina, obtidos nos funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, no conjunto de base 6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.	104
FIGURA 26 -	Espectros de absorção UV das moléculas (a) Quercetina, (b) Kaempferol e (c) Miricetina, no vácuo e na presença dos solventes metanol e etanol, utilizando os funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, conjunto de base 6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.	106
FIGURA 27 -	Espectros de absorção UV das moléculas (A) Quercetina, (B) Kaempferol e (C) Miricetina no vácuo e na presença dos solventes metanol e etanol, obtidos através de TD-DFT, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.	107
FIGURA 28 -	Orbitais envolvidos nas principais transições eletrônicas dos estados excitados do Kaempferol presentes em seu espectro de absorção UV, obtido através de TD-DFT na presença do solvente metanol, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.	109
FIGURA 29 -	Orbitais envolvidos nas principais transições eletrônicas dos estados excitados da Quercetina presentes em seu espectro de absorção UV, obtido na presença do solvente etanol, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.	110
FIGURA 30 -	Orbitais envolvidos nas principais transições eletrônicas dos estados excitados da Miricetina presentes em seu espectro de absorção UV, obtido na presença do solvente etanol, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.	111
FIGURA 31 -	Densidade Parcial de Estados (PDOS) dos (A) átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e das hidroxilas presentes no (B) anel A, (C) anel C e (D) anel B da estrutura do Kaempferol, obtidos no funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	113
FIGURA 32 -	Densidade Parcial de Estados (PDOS) dos (A) átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e das hidroxilas presentes no (B) anel A, (C) anel C e (D) anel B da estrutura da Quercetina, obtidos no funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	116
FIGURA 33 -	Densidade Parcial de Estados (PDOS) dos (A) átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e das hidroxilas presentes no (B) anel A, (C) anel C e (D) anel B da estrutura da Miricetina, obtidos no funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	117

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Flavonoides estudados e suas respectivas estruturas 2D.	72
TABELA 2 -	Solventes utilizados nos estudos de interação (PCM) e suas respectivas estruturas 2D.	75
TABELA 3 -	Valores de energia dos orbitais de fronteira (HOMO/LUMO) e da diferença de energia (ΔE_{vert}) das moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina obtidos nos diferentes conjuntos de funções de base e utilizando o funcional B3LYP. Parâmetros obtidos para as moléculas no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	77
TABELA 4 -	Modos vibracionais com as respectivas frequências e valores de intensidade do IV para as geometrias relaxadas da Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	78
TABELA 5 -	Parâmetros Energéticos e Energias de Excitação Vertical (ΔE_{vert}) obtidos para as geometrias relaxadas de diferentes conformações da Quercetina, Kaempferol e Miricetina. Foi utilizado nível de teoria B3LYP/6-31G(d), vácuo e configuração eletrônica singleto.	84
TABELA 6 -	Comprimentos de ligação entre os átomos das hidroxilas (C-O e O-H) e ângulo diedro (C-C) obtidos para as geometrias relaxadas das moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto, em conjunto com valores de ângulos experimentais das estruturas cristalográficas (CSD).	86
TABELA 7 -	Ângulos de ligação das hidroxilas e ângulo diedro (anéis C e B) obtidos para as geometrias relaxadas das moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e configuração eletrônica singleto, em conjunto com valores de ângulos experimentais das estruturas cristalográficas (CSD).	87
TABELA 8 -	Valores de Energia Total (em Hartree) obtidos com a variação do ângulo diedro para as moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6 31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.	88
TABELA 9 -	Parâmetros de Reatividade Global - Potencial de Ionização (IP), Afinidade Eletrônica (EA), Energia de Excitação Vertical (ΔE_{vert}), Dureza (η), Maciez (S), Eletronegatividade de Mulliken-Parr (χ), Potencial Químico (μ) e Eletrofilicidade (ω) para as moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina no vácuo, nível de teoria B3LYP/6-31(g) e sob configuração eletrônica singleto.	94
TABELA 10 -	Valores do momento de dipolo total ($\vec{\mu}$) e energias de excitação vertical (ΔE_{vert}) obtidos para as geometrias relaxadas nos solventes (PCM) Água, Etanol e Propano-1,2-diol (Propileno Glicol) do Kaempferol, Quercetina e Miricetina. Foi empregado o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e configuração eletrônica singleto.	100
TABELA 11 -	Parâmetros termoquímicos com os valores de energia livre das moléculas no vácuo (G_{vacuo}), da energia livre das moléculas em interação com solventes (G_{Solv}) e das Energias de Solvatação (ΔG_{Solv}) para o Kaempferol, Quercetina e Miricetina. Parâmetros obtidos no	

	nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singlete.	102
TABELA 12 -	Parâmetros do estado fundamental obtidos para o Kaempferol, Quercetina e Miricetina nos funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, conjunto de base 6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singlete.	104
TABELA 13 -	Comprimentos de Absorção máximos teóricos e experimentais (λ_{MAX}) do Kaempferol, Quercetina e Miricetina no vácuo e na presença dos solventes metanol e etanol. Espectros UV simulados no nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e configuração eletrônica singlete, com erros associados.	105
TABELA 14 -	Comparação entre os parâmetros dos estados excitados (comprimentos de absorção máximos - λ_{MAX}) obtidos para o Kaempferol, Quercetina e Miricetina nos funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, conjunto de base 6-31G(d), solventes metanol/etanol e sob configuração eletrônica singlete.	105
TABELA 15 -	Estados excitados e transições eletrônicas da Quercetina, Kaempferol e Miricetina, com Comprimentos de Absorção Máximos (λ_{MAX}), Energias (eV) e Intensidades de Oscilação (f) associadas. Obtidos no nível de teoria B3LYP/6 31G(d), solventes metanol e etanol e configuração eletrônica singlete.	108

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,20-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic
AM1	Modelo AM1 (<i>Austin Model I</i>)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Trifosfato de Adenosina
BDE	Entalpia de Dissociação de Ligação (<i>Bond Dissociation Energy</i>)
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CASSCF	Método do Espaço do Campo Autoconsistente Completamente Ativo (<i>Complete Active Space Self-Consistent Field</i>)
CC	Cluster Acoplado (<i>Coupled Cluster</i>)
DFT	Teoria do Funcional da Densidade (<i>Density Functional Theory</i>)
DME	Dose Mínima Eritematosa
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	1,1-difenyl-2-picrylhydrazyl
EGCG	Epigallocatechin-3-gallate
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos (<i>Food and Drug Administration</i>)
FMO	Orbitais Moleculares de Fronteira (<i>Frontier Molecular Orbitals</i>)
FPS	Fator de Proteção Solar
FRAP	Poder Redutor Antioxidante Férrico
GTOs	Orbitais do tipo Gaussian (<i>Gaussian-type Orbitals</i>)
HAT	Transferência de Átomos de Hidrogênio
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HF	Hartree-Fock
HOMO	Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia (<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
HP	Produto de Hartree (<i>Hartree Product</i>)
IP	Potencial de Ionização (<i>Ionization Potential</i>)

IRC Coordenada de Reação Intrínseca (*Intrinsic Reaction Coordinate*)

IV Infravermelho

input Estrutura Tentativa Inicial

LDL Lipoproteína de Baixa Densidade

LUMO Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*)

MC Métodos Multiconfiguracionais

MNDO Método com Negligência da Sobreposição Diatômica (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*)

PCM Modelo Contínuo Polarizável (*Polarizable Continuum Model*)

PAMPs Padrão Molecular Associado a Patógenos

PCET Transferência Acoplada de Próton-Elétron

PM3 Método Parametrizado PM3 (*Parametric Method 3*)

PM6 Método Parametrizado PM6 (*Parametric Method 6*)

PM7 Método Parametrizado PM7 (*Parametric Method 7*)

PPD Escurecimento de Pigmentação Persistente

RAF Formação de Radicais Adutos

RAM Memória de Acesso Aleatório (*Random Access Memory*)

RDC Resolução da Diretoria Colegiada

RHF Hartree-Fock restrito

RM1 Modelo RM1 (*Recife Model 1*)

RMN Ressonância Magnética Nuclear

RMS Raiz Quadrada Média (*Root Mean Square*)

RNA Ácido Ribonucleico

ROHF Método Hartree-Fock de Camada Aberta Restrita

ROS Espécies Reativas de Oxigênio (*Reactive Oxygen Species*)

SCF Campo Auto-consistente (*Self-Consistent Field*)

SEP Superfície de Energia Potencial

SET Transferência de um Único Elétron (*Single Electron Transfer*)

SET-PT Transferência Sequencial de Perda de Próton-Elétron (*Single Electron Transfer-Proton Transfer*)

STOs Orbitais do tipo Slater (*Slater-type Orbitals*)

TD-DFT Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (*Time-Dependent Density Functional Theory*)

TEAC Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox

UHF Método Hartree-Fock de Camada Aberta Não-restrito

UV Ultravioleta

UVR Radiação Ultravioleta

ZINDO Negligência Intermediária da Sobreposição Diferencial de Zerner

output Estrutura Final

LISTA DE SÍMBOLOS

ArOH Fenol

$\text{ArO}^\cdot$ Radical Fenóxido

$\text{ArO}^{+\cdot}$ Radical Fenóxido Catiônico

$\text{NO}^\cdot$ Radical Óxido Nítrico

OH Grupo Hidroxila

$\text{OH}^\cdot$ Radical Hidróxido

$\text{O}^{-2\cdot}$ Radical Superóxido

$\text{R}^\cdot$ Espécie Radical

R^- Radical Aniônico

RH Radical Protonado

$\text{ROO}^\cdot$ Radical Peróxido

$\text{RO}^\cdot$ Radical Alcóxido

DME_{PNP} Dose Mínima Eritematosa na pele sem proteção

DME_{PP} Dose Mínima Eritematosa na pele foto protegida

$\hat{H}$ Operador Hamiltoniano

$\Psi(\mathbf{r})$ Função de Onda Eletrônica

Ψ Letra grega Psi Maiúsculo

ψ Letra grega Psi Minúsculo

χ Funções de Onda dos Orbitais Moleculares

∇ Operador Diferencial Vetorial Nabla

m_e Massa do Elétron

M_I Massa do Núcleo

e Carga do Elétron

π Letra grega Pi

ϵ_0 Constante de Permissividade Elétrica no Vácuo

v_{Coul} Potencial de Coulomb

Φ Função Tentativa

$\rho(r)$ Densidade Eletrônica

$\hat{f}$ Operador de Fock

E_T Energia Total

E_{HF} Energia Hartree-Fock

E_{XC} Energia de Troca e Correlação

ϵ_{Total} Energia Total da Molécula

ϵ_{Elet} Energia Eletrônica

ϵ_{Trans} Energia Cinética Translacional

ϵ_{Rot} Energia Cinética Rotacional

ϵ_{Vib} Energia Cinética Vibracional

μ Massas Reduzidas dos Átomos

H_{ij} Integrais de Ressonância

S_{ij} Integrais de Sobreposição

h_{aa} Energia de um Único Elétron

c_{vi} Coeficientes de Combinação Linear

φ_i Funções de Base

(d) Função de Polarização do tipo (d)

(d,p) Função de Polarização do tipo (d,p)

$g(\omega)$ Função Spin

α Letra grega Alfa

β Letra grega Beta

γ Letra grega Gama

A	Matriz Quadrada
H_i	Matriz Hessiana
g_i	Matriz Coluna Derivadas das Forças
k	Constante de Força
IP	Potencial de Ionização
EA	Afinidade Eletrônica
μ	Potencial Químico
η	Dureza Química
S	Maciez
ω	Índice de Eletrofilicidade de Parr
χ	Eletronegatividade de Mulliken-Parr
$\vec{\mu}$	Momento de Dipolo Total
ΔG_{Solv}	Energia de Solvatação
ΔE_{vert}	Energia de Excitação Vertical
λ_{MAX}	Comprimento de Absorção Máximo
f	Força de Oscilação (<i>Oscillator Strength</i>)
θ	Ângulo Diedro
q_i	Coordenada de Reação Inicial
q_0	Coordenada de Reação Final
Å	Unidade de Comprimento Ångström
K	Unidade de Temperatura Kelvin

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	20
1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
1.1	QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS	23
1.1.1	Definição	23
1.1.2	Plantas e Biodiversidade Brasileira	24
1.1.3	Família Fabaceae – <i>Clitoria ternatea</i> Linn	24
1.1.4	Fitoquímica e Metabólitos Secundários.....	27
1.1.5	Classes de Metabólitos Secundários	29
1.1.6	Fitoquímicos de Interesse – Flavonoides.....	31
1.1.7	Flavonóis – Kaempferol, Quercetina e Miricetina.....	34
1.1.8	Propriedades Funcionais e Atividade Biológica	36
1.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	37
1.2.1	Estresse Oxidativo e Espécies Reativas.....	37
1.2.2	Mecanismos de Neutralização de Radicais Livres	38
1.2.3	Radicais Livres e Doenças Correlacionadas (Câncer/Alzheimer/Pele)	39
1.3	MECÂNICA QUÂNTICA COMPUTACIONAL	41
1.3.1	Química Teórica e Química Computacional.....	41
1.3.2	Métodos em Química Computacional	42
1.3.3	Superfície de Energia Potencial (SEP)	44
1.3.4	Determinação de Pontos Estacionários na SEP	44
1.3.5	Cálculos de Relaxação de Geometria	45
1.3.6	Cálculos de Modo Normal.....	48
1.3.7	Função de Onda Eletrônica (Ψ)	50
1.3.8	Problema dos Três Corpos e Princípio Variacional.....	51
1.3.9	Hartree-Fock (HF)	53
1.3.10	Teoria do Funcional da Densidade (DFT)	56
1.3.11	Estados Excitados (TD-DFT)	58
1.3.12	Funcionais e Conjuntos de Funções e Base	59
1.3.13	Aplicação da DFT na avaliação de Propriedades Moleculares.....	60
1.4	PRODUTOS NATURAIS E FOTOPROTEÇÃO.....	61
1.4.1	UVR e Faixas de Absorção.....	61
1.4.2	Pele e Danos Causados pela Exposição Contínua à UVR	62

1.4.3	Cosméticos Funcionais – Filtros Solares	63
1.4.4	Regulação das Formulações de Filtros Solares no Brasil – ANVISA	65
1.4.5	Determinação do Fator de Proteção Solar – FPS.....	66
1.4.6	Moléculas Naturais e Fotoproteção	66
2	OBJETIVOS	70
2.1	OBJETIVO GERAL	70
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	70
3	METODOLOGIA COMPUTACIONAL.....	72
3.1	MOLÉCULAS ESTUDADAS	72
3.2	PROGRAMA, SOFTWARE DE VISUALIZAÇÃO E ESPECIFICAÇÕES.....	73
3.3	NÍVEL DE TEORIA (FUNCIONAIS E CONJUNTOS DE FUNÇÕES DE BASE) ..	73
3.4	METODOLOGIA	74
3.5	CÁLCULOS E SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS REALIZADOS	74
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
4.1	PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DO ESTADO FUNDAMENTAL (S_0).....	76
4.1.1	Relaxação de Geometrias	76
4.1.2	Estudos Conformacionais	82
4.1.3	Orbitais Moleculares de Fronteira (FMOs)	89
4.1.4	Cargas Atômicas de Mulliken das Hidroxilas.....	96
4.1.5	Mapas de Potencial Eletrostático Molecular (MEP).....	98
4.1.6	Simulações com solventes e Parâmetros Termoquímicos	99
4.2	ESTADOS EXCITADOS, ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV E REGIÕES DE ABSORÇÃO.....	102
4.2.1	Espectros de Absorção UV nos funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD	103
4.2.2	Espectros de Absorção UV no funcional B3LYP e Regiões de Absorção	106
4.3	PADRÃO DE REATIVIDADE HIDROXILAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	112
4.3.1	Densidade Parcial de Estados (PDOS) – Átomos e Hidroxilas	112
5	CONCLUSÕES.....	118
6	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	122
	REFERÊNCIAS.....	123

INTRODUÇÃO

O metabolismo dos organismos vivos uni ou multicelulares como microrganismos, animais e plantas são capazes de fabricar produtos naturais ativos para a sua sobrevivência. Tais moléculas foram utilizadas pelas primeiras civilizações com finalidades terapêuticas. Atualmente, essas moléculas bioativas de origem natural são utilizadas nas formas natural, sintética e semissintética e também servem como inspiração e modelo para o desenvolvimento de novas drogas ou rotas sintéticas. No reino vegetal existe uma ampla variedade de moléculas naturais com propriedades funcionais únicas que são sintetizadas pelo metabolismo secundário das plantas, denominadas de fitoquímicos. A sua finalidade nas plantas é proteger contra os danos causados pelo ambiente e/ou agentes patógenos. Esses fitoquímicos são pertencentes à diferentes classes de compostos químicos, como por exemplo, Flavonoides, Alcaloides, Terpenos e Saponinas. As suas propriedades são benéficas e específicas como atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, inibição enzimática, entre outras. Essas propriedades benéficas também possuem desempenho no organismo humano promovendo as indústrias farmacêutica, alimentícia e agroquímica na produção de fármacos, corantes alimentares e cosméticos, respectivamente.

A planta *Clitoria ternatea* Linn com nome popular de Ervilha-Borboleta é pertencente à família Fabaceae e possui fitoquímicos com atividade antioxidante promissora em sua composição, principalmente em suas flores. Além das antocianinas responsáveis por sua coloração azul intensa que varia de acordo com o pH do meio, os compostos Kaempferol, Quercetina e Miricetina são abundantes tanto na forma tradicional como substituídos com cadeias de açúcares (heterosídica). Essa classe de compostos Flavonoides é bastante diversa, formada por moléculas poli fenólicas aromáticas que possuem forte capacidade de absorção da radiação UV (UVR) devido aos efeitos de conjugação e deslocalização eletrônica existente entre os anéis e ligações duplas em sua estrutura. A capacidade de absorção da UVR aliada à emissão de radiação na região do espectro visível torna esses compostos geralmente coloridos. Portanto, essas moléculas atuam como corantes naturais presentes, principalmente, nas flores para atrair espécies polinizadoras.

A pele é o maior órgão do corpo humano. A sua exposição intensa e inadequada à UVR é extremamente prejudicial. A UVR na região entre 320 nm a 400 nm é denominada de região A, UVA. A sua principal característica é a capacidade de penetração em camadas mais internas da pele, a derme, sendo muito prejudicial e, em casos mais graves, desenvolve o câncer de pele, como o melanoma. Esse tipo de câncer atinge as células responsáveis pela produção do

pigmento da pele, os melanócitos, causando uma produção descontrolada do pigmento com o surgimento de manchas. Outra região prejudicial da UVR está entre 290 nm a 320 nm, a região B ou UVB, a qual causa danos intensos imediatos ou queimaduras à camada mais superficial da pele, a epiderme. Além disso, a grande exposição à UVR direciona a processos inflamatórios na pele e prejudica a manutenção de sua barreira cutânea protetora, responsável pela manutenção da hidratação e elasticidade, por meio da produção de colágeno. Além disso, a exposição intensa à UVR prejudica a manutenção das fibras de elastina, causando a degradação da pele com a formação de rugas e acelerando o processo de envelhecimento. A incidência da UVR na pele gera uma resposta molecular com a geração fotoquímica de espécies reativas e instáveis (radicais livres) como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila ($OH^{\cdot}$) e oxigênio singlete (O_2^1). Quando a UVR penetra na pele, atingindo as células levando à ocorrência de mutações, essas espécies radicais geradas de maneira descontrolada causam danos ao DNA, resultando em processos inflamatórios na pele e prejudicando a integridade da barreira cutânea. Os cosméticos funcionais possuem uma atuação específica para proteção da pele, como no caso dos protetores solares, sendo de extrema importância para a manutenção da integridade de sua barreira cutânea. Esses cosméticos necessitam de estudos e testes para o seu desenvolvimento, onde os papéis da fiscalização e regulamentação são essenciais. Em cada país existem órgãos de regulamentação e legislações específicas, como a *Cosmetics Europe* na Europa (antiga *Colipa*) e a ANVISA no Brasil, que exigem testes padronizados para verificação da sua eficácia, avaliação de toxicidade e/ou possíveis reações alérgicas na pele, determinação do Fator de Proteção (FPS), do espectro de atuação de acordo com as regiões de absorção (UVA/UVB/UVC) das moléculas que apresentam fotoproteção em sua formulação (filtros solares), podendo ser sintéticas, naturais ou uma combinação entre os dois. Por se tratarem de espécies aromáticas e poli fenólicas, muitas das moléculas que possuem capacidade de absorção da UVR também possuem sítios para doação de hidrogênios como os grupos hidroxilas que possuem capacidade de interceptar os ROS decorrentes de processos do estresse oxidativo no organismo, desempenhando uma atividade antioxidante.

A Mecânica Quântica com o método da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) utiliza simulações computacionais ou experimentos *in silico* para a obtenção de propriedades moleculares que indiquem uma melhor compreensão a respeito da estabilidade e reatividade molecular. Outras possibilidades são a predição da interação das moléculas com solventes, com outras espécies de interesse, e os estudos com estados excitados para simulação dos espectros de absorção UV. A simulação das propriedades moleculares auxilia na redução do custo e tempo

associados com o processo de desenvolvimento de novos fármacos e cosméticos, principalmente quando se trata de moléculas de origem natural. A etapa inicial é entender um conjunto de substâncias na forma de extratos, desde sua extração da planta até o isolamento e aplicação nas formulações. A atividade entre as moléculas de interesse com solventes e outros princípios ativos (formação de emulsões), além da avaliação de toxicidade para garantia de uma boa estabilidade e eficácia do produto final.

Sendo assim, esse trabalho visa contribuir com o desenvolvimento de cosméticos funcionais na forma de protetores solares, a partir da determinação de propriedades moleculares dos fitoquímicos flavonoides Kaempferol, Quercetina e Miricetina presentes na planta *C. ternatea*. Foram obtidos parâmetros energéticos para o estado fundamental desses flavonóis como, Energia de Excitação Vertical (ΔE_{Vert}) entre orbitais HOMO e LUMO, correlação desses parâmetros com descritores de reatividade, como Afinidade Eletrônica, Potencial de Ionização, Eletronegatividade de Mulliken, Potencial Químico, Dureza, Maciez e Índice de Eletrofilicidade de Parr. Outras análises realizadas foram sobre os momentos de dipolo total ($\vec{\mu}$), comprimentos de ligação, ângulos de ligação das hidroxilas, ângulo diedro (anéis C e B), distribuição e separação de cargas ao longo das estruturas (mapas de Potencial Eletrostático Molecular - MEP), análise conformacional e capacidade de formação de interações, predição do efeito de interação com solventes polares próticos como água, etanol e 1,2-propanodiol, empregando o modelo de solvatação implícita e contínua (PCM). Também foram realizados estudos a respeito dos estados excitados com a simulação dos espectros e determinação das regiões de absorção UV (UVA/UVB/UVC). Nesse trabalho não foram realizadas simulações a respeito da interação das moléculas com outras macromoléculas e alvos biológicos específicos (como enzimas), nem realizada a avaliação do desempenho de atividade antioxidante com a determinação de parâmetros cruciais nas etapas em seus diferentes mecanismos de ação (como a Energia de Dissociação de Ligação - BDE), sendo perspectivas para estudos futuros.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS

1.1.1 Definição

A investigação e utilização de plantas medicinais no tratamento de doenças e em cerimônias religiosas é feita pelo homem desde a antiguidade, com relatos presentes desde os papiros no antigo Egito até nas escrituras cristãs. Muitas evidências arqueológicas comprovam que o uso de drogas era amplo em diferentes civilizações antigas (Egípcios, Gregos, Indianos e Árabes) até nas civilizações mais modernas (Japoneses, Incas, Mayas e Astecas)^[1]. Porém, os produtos naturais não são produzidos apenas pelas plantas, eles também podem ser produzidos por outros organismos vivos como os animais, os organismos marinhos (algas) e os microrganismos (fungos). Geralmente os produtos naturais podem apresentar alguma atividade biológica e/ou farmacológica, o que acaba despertando o interesse das indústrias para sua aplicação no desenvolvimento de fármacos ou na utilização de suas propriedades funcionais em outros produtos^[2].

Diferentes áreas do conhecimento são dedicadas aos estudos a respeito da vida e metabolismo dos organismos vivos (nascimento, crescimento, reprodução, envelhecimento, doenças e morte), assim como das substâncias que eles originam (naturais). Mais especificamente, os estudos a respeito da extração de moléculas, investigação de suas propriedades bioativas, métodos de isolamento e de elucidação de suas estruturas é uma preocupação central das ciências (Química e Biologia) desde muito tempo. O metabolismo dos seres vivos está dividido em primário e secundário, sendo o metabolismo primário destinado ao desempenho das funções essenciais para a sobrevivência da espécie e o secundário um metabolismo com funções mais específicas e características de cada grupo taxonômico (família e gênero). A Bioquímica é a área da Química que se dedica ao estudo da Química de Produtos Naturais provenientes do Metabolismo Primário e as substâncias produzidas por esse metabolismo que estão amplamente distribuídas nos seres vivos: como os aminoácidos, lipídios, carboidratos e as macromoléculas - proteínas, ácidos nucleicos e polissacarídeos. Já os Químicos Orgânicos se dedicam ao estudo das substâncias produzidas pelo Metabolismo Secundário dos organismos vivos que são mais específicas e obtidas por diferentes rotas biossintéticas^{[3],[4]}.

Sendo assim, o potencial químico que os organismos vivos apresentam é imenso e a natureza produz a maioria das substâncias orgânicas conhecidas, sendo o reino vegetal o que contribui de forma mais significativa com os metabólitos secundários. Muitos desses metabólitos secundários possuem atividades biológicas únicas (propriedades funcionais), o que desperta o interesse das indústrias para sua utilização de diferentes formas que vão além do desenvolvimento de novos medicamentos: cosméticos^[5], alimentos (aditivos e corantes)^[6] e em agroquímicos^[7].

Muitas das substâncias presentes na natureza serviram como modelo para o desenvolvimento de rotas sintéticas e dos medicamentos modernos como o Taxol (Paclitaxel)^[8] que possui atividade antitumoral, a Vinblastina (Velban)^[9] utilizada no tratamento de um tipo de câncer que afeta as células do sistema linfático (linfoma) e os derivados da Camptotecina^[10] (alcaloide encontrado na árvore chinesa (*Camptotheca acuminata*), utilizados no tratamento de diferentes tipos de câncer, entre outros.

1.1.2 Plantas e Biodiversidade Brasileira

A fauna e a flora Brasileira é extremamente rica, com destaque por possuir a maior Floresta Tropical do mundo (Floresta Amazônica) e o repertório químico oferecido pelos organismos vivos é muito amplo, porém menos que 20% da biodiversidade brasileira^[11], principalmente das plantas, foram exploradas quanto ao seu potencial farmacológico e suas propriedades ainda permanecem desconhecidas.

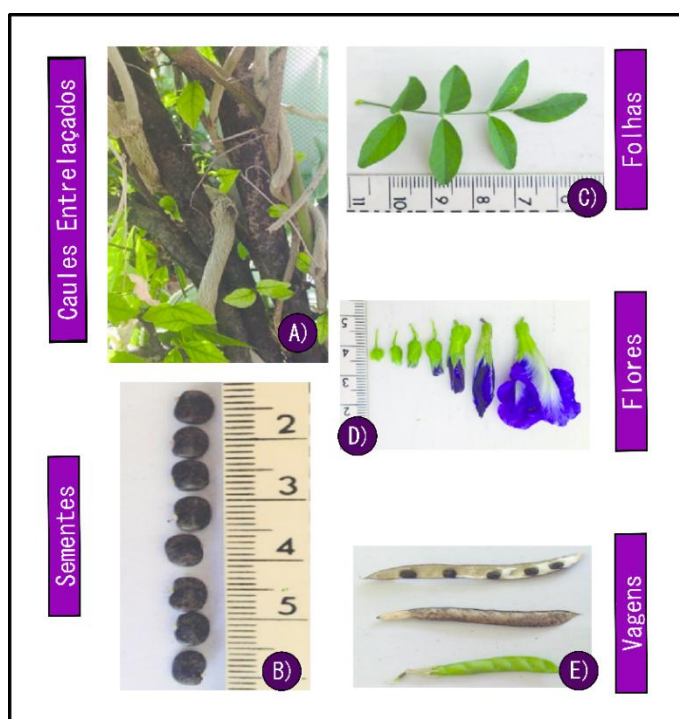
Com base na observação e imitação da diversidade estrutural existente na natureza as possibilidades para a descoberta de novas moléculas bioativas possíveis candidatas a serem aplicadas ou auxiliarem no desenvolvimento de novos fármacos é muito rica. Sendo assim, existem inúmeros estudos ainda a serem realizados a respeito dos produtos naturais, sendo uma área muito diversa e multidisciplinar, envolvendo áreas como a química, biologia, biotecnologia, biologia molecular, bioquímica, farmacologia, cosmetologia, entre outras engenharias e tecnologias.

1.1.3 Família Fabaceae – *Clitoria ternatea* Linn

A Figura 1 mostra os caules (Fig. 1A), as sementes (Fig. 1B), as folhas (Fig. 1C), as flores (Fig. 1D) e os frutos (Fig. 1E) da planta *Clitoria ternatea* Linn conhecida popularmente

como Ervilha de Darwin, Ervilha-Borboleta, Feijão-Borboleta, Asian Pigeonwings, Aparajita (Índia) ou Cunhã (Brasil). Ela é uma planta comestível originária da Índia e está distribuída ao redor do mundo em regiões que possuem climas tropicais e temperados como na região sul da Ásia, no Caribe, na América Central e na América do Sul sendo uma planta herbácea perene que cresce como uma trepadeira ou rastejante. Pertence à família Fabaceae, a mesma família da ervilha e do feijão^[12]. Sua característica mais marcante é a coloração intensa de suas flores que podem apresentar uma variação de cor desde o branco, até tons de azul, roxo e magenta (Figura 1). As antocianinas (derivados do delphinidin) e ternatinas presentes na composição de suas flores são as responsáveis por essa coloração. Devido ao aspecto visual agradável e chamativo, a planta é utilizada como ornamento e fonte de corante natural por diferentes povos ao longo do tempo^[13].

FIGURA 1 - Diferentes partes da planta *Clitoria ternatea* Linn evidenciando seu crescimento como trepadeira com seus (A) Caules entrelaçados, suas (B) Sementes, suas (C) Folhas, suas (D) Flores e seus (E) Frutos (Vagens).

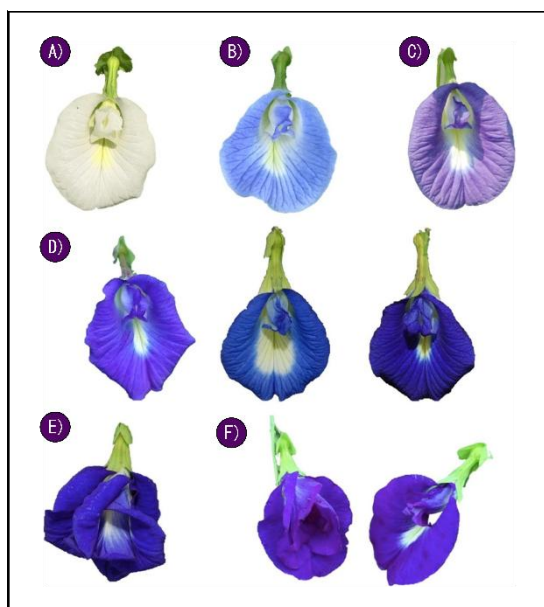


Fonte: Adaptado de Kosai e Colaboradores^[14].

O chá de suas flores (Figura 3) é muito consumido e ele também apresenta variação de coloração devido à presença das antocianinas que possuem sensibilidade à variação de pH do meio. Em soluções aquosas, as antocianinas comumente se encontram como uma mistura de 4 diferentes estruturas químicas em equilíbrio: cátion Flavílio (vermelho), base anidra quinoideal (azul), pseudo-base carbitol (incolor) e chalcona (incolor ou levemente amarelada)^[15].

Em meios ácidos, a forma catiônica prevalece e a antocianina possui coloração vermelha, porém com o aumento do pH a intensidade dessa coloração diminui. Em soluções alcalinas, ela possui uma coloração azul intensa, porém bastante instável e com o aumento da temperatura pode ocorrer uma perda dessa coloração até atingir uma cor amarelada^[16]. Além disso, os constituintes dessa planta apresentam atividades biológicas únicas, fazendo com que ela seja utilizada para o tratamento de diversas doenças desde tempos antigos e sistemas tradicionais de medicina (Ayurvédica e Chinesa). Na Índia, um dos primeiros usos dessa planta foi como tratamento alternativo de picadas de cobras ou escorpiões e na Tailândia suas flores eram utilizadas para estimular o crescimento ou para coloração do cabelo. O povo Tailandês também utilizou da sua coloração azul como uma fonte natural de corante alimentício utilizado em diferentes preparos, como por exemplo no arroz aromático - Arroz Jasmine. Já o chá feito com as flores secas de *C. ternatea* é uma bebida muito popular na região sul da Ásia^[17]. A sua composição é muito diversa sendo constituída por uma grande variedade de metabólitos secundários com componentes que apresentam grande potencial bioativo (fitoquímicos), tais como: proteínas, carboidratos, resinas, taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, esteroides, fenóis e glicosídeos^[18].

FIGURA 2 - Variações de coloração nas flores da planta *Clitoria ternatea* Linn desde o (A) Branco, (B) Azul claro, (C) Roxo claro até os tons de (D) Azul escuro, (E) Roxo escuro e (F) Roxo escuro / Magenta.



Fonte: Adaptado de Havananda e Colaboradores^[19].

Como principais constituintes dessa planta podemos citar o ácido fenólico - ácido cinâmico, as antocianinas responsáveis por sua coloração (Delphinidin-3,5-diglucoside), as espécies polifenólicas flavonoides com atividade antioxidante promissora na sua forma original

ou substituída com açúcares (Kaempferol, Kaempferol-3,7-diglucoside, Flavanol-3-O-D-glucoside, Quercetina, Miricetina e Genisteína)^[20]. Também estão presentes em sua composição a Clitorina - seu constituinte específico e que apresenta grande potencial neuro farmacológico, o triterpeno taraxerol e os ácidos graxos ácido linolênico, ácido palmítico e ácido oleico^[21]. Os extratos das flores de *C. ternatea* apresentaram Atividade Antioxidante em vários modelos de estudo e na literatura existem diversos métodos para avaliação dessa atividade através de ensaios experimentais (*in vitro*) onde diferentes metodologias são empregadas na realização desses testes como o DPPH (1,1-difenyl-2-picrylhydrazyl), o ácido ABTS (2,20-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) a capacidade antioxidante equivalente a trolox (TEAC), poder redutor antioxidante férrico (FRAP), entre outros^[22].

Além desses estudos experimentais, também existem outras perspectivas para a avaliação de atividade antioxidante dos compostos naturais, como aquelas através de investigações teóricas que permitem avaliar se a espécie formada após a neutralização dos radicais livres é uma espécie incapaz de danificar outros alvos biológicos como o DNA, proteínas e lipídios. Essas investigações teóricas também permitem avaliar qual mecanismo antioxidante é mais termodinamicamente favorável por meio da determinação de parâmetros como a entalpia de dissociação de ligação (*Bond Dissociation Energy* - BDE) e do potencial de ionização (*Ionization Potential* - IP)^[23]. Apesar da atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes nessa planta ser a atividade mais expressiva, seus constituintes também apresentam outras atividades biológicas promissoras como a atividade antidiabética e hipoglicemiante, com a inibição contra a enzima pancreática α - amilase e diminuição dos níveis de glicose no sangue, função hepatoprotetora, anti-bactericida e anti-cancerígena^[17].

FIGURA 3 - Chá das flores da planta *Clitoria ternatea* Linn.



Fonte: Banco de Imagens IStok^[24].

1.1.4 Fitoquímica e Metabólitos Secundários

A fitoquímica é uma ciência que estuda as moléculas (constituintes químicos) das plantas e seu estudo é de extrema importância para a descoberta de novas estruturas químicas e para uma melhor compreensão das relações ecológicas existentes entre as plantas e o meio, seja através da resposta da planta aos microrganismos, ao ambiente físico em que ela vive, entre os indivíduos da mesma espécie ou com indivíduos de espécies diferentes. As plantas lançam moléculas no ambiente que podem ser responsáveis pela sua comunicação com outras plantas, ter um efeito benéfico ou maléfico para outros organismos. Compostos derivados ou isolados a partir de plantas são chamados de fitoquímicos, existindo mais de 25.000 fitoquímicos conhecidos, podendo ser encontrados em diferentes partes das plantas, porém são mais comuns nas partes coloridas^[25]. Apesar dos inúmeros benefícios apresentados por esses compostos é preciso um certo cuidado quanto à sua toxicidade, pois alguns Fitoquímicos podem ser tóxicos aos seres humanos como, por exemplo, o ácido aristolóquico, responsável por ocasionar danos renais e ser um agente cancerígeno^[26].

Em uma planta, o metabolismo primário é a parte responsável pelas atividades fisiológicas essenciais da planta, ou seja, as atividades necessárias para a respiração, obtenção de energia para o seu crescimento e desenvolvimento, além da sua reprodução. A produção e o transporte de glicose para diferentes partes da planta através da fotossíntese participa desse metabolismo primário^[3]. Todavia, o Metabolismo Secundário é a parte não primordial para a sua fisiologia, tendo como produtos derivados desse metabolismo substâncias capazes de interagir com outros organismos ou que apresentam alguma função ecológica. O Metabolismo Secundário é proveniente do ácido chiquímico e do ciclo do ácido tricarboxílico, originando os aminoácidos aromáticos e os aminoácidos alifáticos, respectivamente, os quais são responsáveis pela geração dos compostos nitrogenados^[4]. Os metabólitos secundários são as moléculas que apresentam alguma função ecológica podendo ser utilizadas pelo homem para diversas finalidades. Existem inúmeros exemplos de estruturas carbônicas que até os dias atuais, o homem ainda não conseguiu sintetizar. A principal razão para o estudo do metabolismo secundário de plantas (ou a Fitoquímica) são as aplicações biotecnológicas na medicina (fármacos), inseticidas, repelentes, na indústria de alimentos (antioxidantes), aromatizantes, ação na agricultura, entre muitas outras finalidades^[4]. Os metabólitos secundários desempenham papel importante na polinização das plantas, pois as espécies polinizadoras são atraídas pela cor, geralmente produzida por flavonoides, antocianinas e carotenoides e pelo odor

da planta em contato com os receptores olfativos (quimiorreceptores) dos insetos (antenas), geralmente produzido pelos terpenos (compostos voláteis), aminas e fenilpropanóides^[27]. A biossíntese (produção), composição e concentração de metabólitos secundários nas plantas depende de estímulos externos variando conforme o dia, o estágio de desenvolvimento da planta, os fatores bióticos (infecção por microrganismos), as condições do solo (minerais) e os fatores abióticos (temperatura - luz solar, poluição, quantidade de nutrientes, quantidade de água - estresse hídrico, sazonalidade)^[28]. Também é proveniente da via metabólica do malonato (via principal), gerando os compostos fenólicos e da via do Mevalonato, derivada do Acetil CoA e da via do MEP, também gerando os compostos fenólicos e os terpenos. Os compostos nitrogenados (morfina, cocaína, compostos geralmente utilizados como drogas psicotrópicas), compostos fenólicos (flavonoides, fenilpropanoides e taninos) e os terpenos (classe muito diversa, possuindo várias subclasses) são as principais classes dos metabólitos secundários^[28].

As plantas apresentam as mais diversas colorações. Os flavonoides são os principais compostos responsáveis pela coloração nas flores porque possuem a ressonância de elétrons em sua estrutura molecular com a emissão de radiação no espectro visível. As antocianinas estão associadas às cores vermelha/azul/roxa em muitas frutas e flores. Algumas flores não emitem radiação apenas no espectro visível, mas também emitem radiação no ultravioleta próximo enxergada apenas pelos insetos e pássaros^[29]. A defesa das plantas contra herbívoros (Herbivoria) é feita através de defesas mecânicas (barreiras, cutículas, tricoma, partes duras) e também de forma química através da liberação de substâncias (metabólitos secundários) que inibem enzimas importantes e impedem o ataque pelos insetos ou liberam substâncias que atraem espécies predadoras dos insetos que estão atacando^[30]. Além disso, as plantas também possuem uma espécie de sistema imunológico de resposta contra patógenos através do reconhecimento de algumas moléculas que estão presentes na superfície desses patógenos chamadas de PAMP's (Padrão Molecular Associado a Patógenos) como aquelas presentes nos flagelos de bactérias, proteínas da parede celular de fungos, entre outros. Ao entrar em contato com essas substâncias a célula da planta ativa uma sinalização celular para ativação da síntese de moléculas com atividade antimicrobiana^[31]. Quando as plantas lançam alguma substância volátil e hidrossolúvel a partir de suas folhas ou raízes sendo espalhadas pela chuva elas apresentam um fenômeno chamado alelopatia. Esse fenômeno possui efeito benéfico ou maléfico para outra planta (impedindo seu crescimento vegetal) ou para outros seres vivos, eliminando a competição por recursos (água, nutrientes no solo) entre espécies^[32].

1.1.5 Classes de Metabólitos Secundários

Uma classe bastante diversa dos metabólitos secundários são os flavonoides que possuem ligações conjugadas em seus anéis aromáticos com a emissão de radiação visível e se apresentam na forma de compostos coloridos em diversas partes das flores e frutos, possuindo ação antioxidante e anti-inflamatória. Na próxima seção desse capítulo será discutido de forma mais aprofundada a respeito dessa classe de metabólitos secundários, a divisão de suas subclasses e seus efeitos benéficos na saúde humana (propriedades funcionais).

A classe dos alcaloides é uma das classes de metabólitos secundários mais diversas existente na natureza e a sua característica principal é a presença do nitrogênio em sua estrutura. Está presente em muitas plantas venenosas e muitos dos compostos dessa classe são formados por anéis por serem derivados de aminoácidos. A sua função nas plantas ainda não é muito bem compreendida e alguns possuem a função de defesa contra herbívoros ou função protetora das sementes^[33]. Os exemplos de alcaloides mais comuns são as drogas estimulantes do sistema nervoso central (dopamina), como a cocaína, também é possível citar o cacto mexicano (*Lophophora williamsii*) de onde é extraída a mescalina que é utilizada em tribos como substância alucinógena em cerimônias religiosas^[34].

Os terpenos são formados por unidades de isoprenos (unidades com 5 carbonos), são espécies muito voláteis sendo encontrados nos óleos essenciais (monoterpenos e sesquiterpenos) e na seiva (politerpenos). É a classe de metabólitos secundários que possui a maior diversidade de estruturas químicas. O isopreno é uma substância muito típica ao longo de vários reinos da natureza (vegetal, animal, fungos) e nos seres humanos ele é encontrado na respiração. Os monoterpenos (10 carbonos - duas unidades de isopreno) contribuem em muitas propriedades organolépticas (paladar e olfato) das ervas e especiarias, estando também presentes nas frutas cítricas e na fragrância das essências, sendo utilizados em perfumes e produtos de limpeza (limoneno), além de possuir papel alelopático, antimicrobiano e anti-herbivoria nas plantas, sendo responsáveis pela atração de polinizadores. A classe dos diterpenos é formada por 4 unidades de isopreno formando a base biológica para compostos como retinol e possuindo ação anti-inflamatória (principalmente devido às ligações conjugadas). Os sesquiterpenos consistem em 3 unidades de isopreno ($C_{15}H_{24}$), podem ser acíclicos ou conter anéis e são encontrados em plantas e insetos geralmente como agentes defensivos ou feromônios. Os politerpenos são os maiores terpenos de alto peso molecular (> 10.000 kDa) (C_5H_8)_n e o principal exemplo dessa classe é a seiva extraída da seringueira

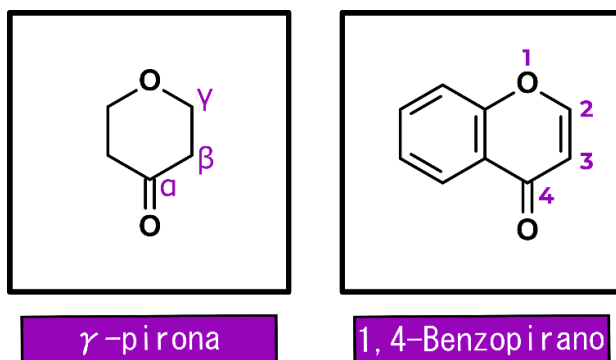
(látex)^[35]. Os triterpenos são compostos por 6 unidades de isopreno ($C_{30}H_{48}$) produzidos em fungos, plantas, animais e são precursores dos esteróis, possuindo uma rica diversidade de atividades farmacológicas (anti-inflamatória e citotóxica/anticancerígena). Existem muitos estudos na literatura a respeito da atividade promissora anticancerígena dos triterpenos inclusive ensaios clínicos (lupeol, ácido betulínico e ácido ursólico)^[36].

As saponinas são substâncias anfipáticas (capazes de interagir com a água e com a gordura) e devido à essa propriedade muitos compostos que possuem um alto teor de saponinas formam espumas ao serem agitados, servindo como auxílio para rápida identificação da presença dessa classe de metabólitos secundários em extratos vegetais. São caracterizadas por apresentarem uma parte polar com uma unidade glicona (açúcar) e uma parte apolar com um triterpeno ou esterol em sua estrutura. Nas plantas essa classe apresenta a função de diminuir sua palatabilidade por apresentarem um gosto adstringente (amargo) e serem venenosas^[37].

1.1.6 Fitoquímicos de interesse – Flavonoides

A palavra Flavonoide vem do latim "*flavus*" que significa amarelo, porém não são todos os Flavonoides que apresentam uma coloração amarela. A grande maioria dos compostos pertencentes à esse grupo são substâncias coloridas servindo como pigmentos naturais, pois apresentam uma extensão das duplas ligações presentes nos anéis aromáticos em sua estrutura, sendo capazes de absorver UVR e visível^[38]. Os flavonoides são constituídos por γ -pironas em um grupo 1,4-Benzopirano (Figura 4) que originam através de rotas Biossintéticas substâncias aromáticas, com a presença de ligações conjugadas (ligações duplas e simples alternadas), poli fenólicas, tricíclicas compostas por três anéis (A, B e C) e que recebem essa ordem de acordo com a sequência da Biossíntese para formação de sua estrutura química:

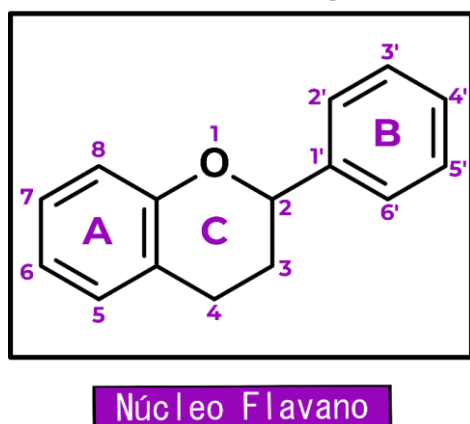
FIGURA 4 - Constituintes dos Flavonoides - γ -pironas e 1,4-Benzopirano.



Fonte: A Autora.

As chalconas são utilizadas como intermediárias (precursoras) para formação da estrutura básica (Figura 5) dos flavonoides (núcleo flavano) através de uma Biossíntese mista proveniente de duas diferentes rotas sintéticas: a rota do chiquimato via ácido chiquímico para formação da ponte de 3 carbonos central e do anel benzênico da extremidade direita (anel B) e a rota do acetato via acetil-CoA para formação do anel da extremidade esquerda (anel A)^[39].

FIGURA 5 - Estrutura básica (esqueleto) dos Flavonoides - Núcleo Flavano.



Fonte: A Autora.

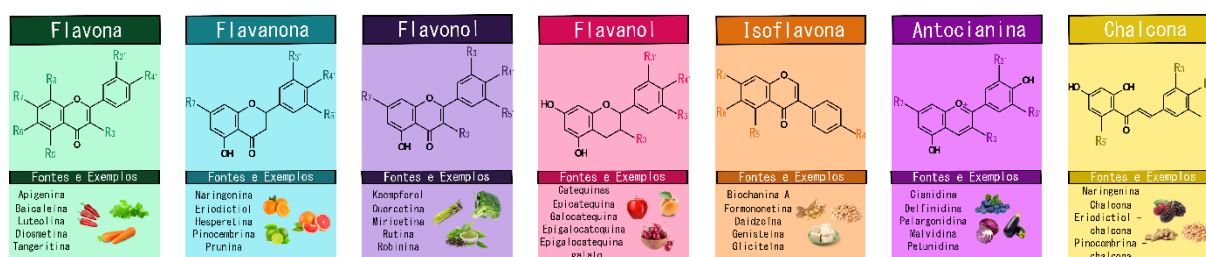
Essas espécies polifenólicas estão presentes de forma abundante no reino vegetal, geralmente encontradas nas partes aéreas das plantas (flores e folhas) na sua forma livre, na forma substituída com hidroxilas em diferentes posições ao longo dos três anéis ou substituída com açúcares (heterosídica) através de ligações C-C^[40]. Os Flavonoides apresentam grande diversidade estrutural e estão divididos em 6 classes químicas principais (Figura 6) de acordo com a presença ou ausência da dupla ligação entre o C2-C3 e a diferença na posição de substituição das hidroxilas nos anéis, do anel arila (anel B) e da presença de açúcares^[38].

1. **Flavonas:** Apresentam uma ligação dupla entre o C2-C3, estão presentes em vegetais como a cenoura e a pimenta;
2. **Flavanonas:** Redução (não apresentam) a ligação dupla entre o C2-C3, estão presentes nas frutas cítricas como a laranja e o limão;
3. **Flavonóis:** Apresentam uma ligação dupla entre o C2-C3 e uma hidroxila (-OH) substituída em C3, estão presentes no chá verde e no brócolis;
4. **Flavanóis:** Redução (não apresentam) a ligação dupla entre o C2-C3 e uma hidroxila (-OH) substituída em C3, estão presentes na maçã, na cereja e no pêssego;
5. **Chalconas:** Anel central (anel C) aberto (sem ciclização) na posição C1-C2, estão presentes no gengibre e nas amoras;

6. **Isoflavonas:** São responsáveis pela Atividade Estrogênica nas plantas (Fitoestrogênios) e possuem o anel arila (anel B) ligado em C3 ao invés de C2, estão presentes na soja e no tofu;
7. **Antocianinas:** São corantes naturais ("*anthos*" = cor) presentes nas cascas de frutas e nas pétalas das plantas (azul / roxo) altamente solúveis em água e sensíveis à variação de pH. Em valores de pH ácidos apresentam coloração violeta e em pHs básicos apresentam a coloração azul com maior intensidade de cor. Estão presentes como pigmento no repolho roxo, na casca da berinjela e no mirtilo. Apresentam açúcares (oses) ligados na posição C3 que conferem estabilidade à molécula. As **antocianidinas** apresentam uma hidroxila (-OH) substituída na posição C3. A classe das Antocianinas apresenta distribuição taxonômica restrita com predominância na família Fabaceae, principalmente na soja (*Glycine max*). Nas plantas os flavonoides apresentam a função de proteção contra microrganismos (ação antimicrobiana)^[12].

Do ponto de vista de suas propriedades químicas, os flavonoides podem sofrer hidrólise ácida e enzimática, reagir com bases levando à formação de fenóxidos e servindo como uma maneira de caracterizá-los por meio da desprotonação de suas hidroxilas. Em relação às suas propriedades físicas, os flavonoides se apresentam na forma de cristais sólidos e amarelados, solúveis em água, álcool ou soluções hidroalcólicas diluídas e são insolúveis em solventes orgânicos apolares. O número e a posição de seus substituintes, assim como o grau de insaturação e o número de açúcares (oses) substituídos e suas posições são fatores que influenciam diretamente a sua solubilidade^[42].

FIGURA 6 - Representação das estruturas das 7 subclasses dos Flavonoides, exemplos de algumas moléculas pertencentes à cada subclasse e das fontes de onde são extraídos.



Fonte: Traduzido, modificado e adaptado de Shen e Colaboradores^[41].

A extração e o isolamento são realizados em etapas a partir das diferentes partes da planta através de métodos cromatográficos e cristalográficos utilizando soluções de polaridade crescente. A primeira extração utiliza um solvente apolar (n-hexano) para remoção de óleos, gorduras, esteróis e pigmentos (carotenoides). Na segunda etapa ocorre a extração das agliconas (menor número de hidroxilas substituídas) pouco polares utilizando solventes imiscíveis em

água (clorofórmio, diclorometano, acetato de etila e éter etílico). As agliconas polihidroxiladas (flavonas, flavonóis e chalconas) são extraídas na terceira etapa com o auxílio de solventes polares (acetona, metanol e água). Na quarta e última etapa existe a obtenção das catequinas e flavanodióis (heterosídeos mais polares) utilizando água quente^[43]. Após tais etapas, os compostos químicos obtidos são submetidos a diferentes técnicas analíticas para elucidação da estrutura química como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Espectrometria de Massas, Cromatografia Gasosa e Espectroscopia de IV^[44].

Os flavonoides apresentam intensa fluorescência sob luz ultravioleta (UV) e na espectroscopia UV apresentam duas bandas de absorção características. A primeira banda (Banda 1) na região próxima de 300-400 nm referente ao Grupo Cinamoil (ponte de 3 carbonos com o anel B) e a segunda banda (Banda 2) na região de 240-280 nm referente ao Grupo Benzoil (anel A). A presença e a posição dos grupos substituintes podem gerar variação (deslocamento) dessas bandas^[45]. Por possuírem forte capacidade de absorção na região ultravioleta (UV) e de interceptar espécies reativas prejudiciais ao organismo (atividade antioxidante), os metabólitos secundários (fitoquímicos) flavonoides despertaram o interesse para seu uso em formulações de filtros solares e produtos fitoterápicos^[46]. Esses compostos também atuam como catalisadores na fotossíntese e/ou como reguladores dos canais de ferro envolvidos na fosforilação. A ingestão dos flavonoides é consideravelmente alta, com o vinho tinto e o chá possuindo níveis elevados de concentração desses compostos apresentando um teor de fenóis totais de aproximadamente 200 mg por copo^[47].

A reatividade estrutural está relacionada com o número de hidroxilas substituídas ao longo dos três anéis, modificando o desempenho das propriedades antioxidantes. Estudos demonstraram que a atividade de cada hidroxila é variável, com o principal sítio ativo sendo encontrado no anel localizado no anel B da estrutura molecular. As hidroxilas presentes no anel C também apresentam alguma atividade antioxidante. As hidroxilas no anel A possuem uma atividade fraca. Sendo assim, o número de hidroxilas substituídas no anel B é um parâmetro importante para avaliação da atividade antioxidante^[48].

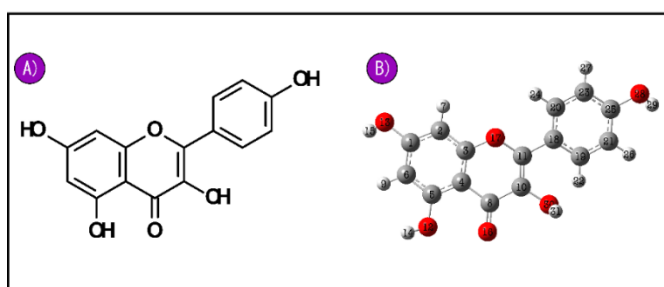
1.1.7 Flavonóis – Kaempferol, Quercetina e Miricetina

O Kaempferol é um flavonoide (tetrahidroxiflavona) de origem natural pertencente à subclasse dos flavonóis que foi isolado do gênero botânico *Delphinium* e de plantas como a Hamamélia (*Witch-hazel*), de frutas como a toranja e a maçã, de vegetais como brócolis, entre

outras plantas. Sua fórmula química é $C_{15}H_{10}O_6$ e ele possui 4 grupos hidroxila (OH^-) em sua estrutura localizadas nas posições 3, 5, 7 e 4' (Figura 7).

Do ponto de vista descritivo, o Kaempferol é uma substância que se apresenta como um sólido amarelo cristalino que possui um peso molecular de $286,24 \text{ g mol}^{-1}$ com ponto de fusão entre 276 e 278°C . Ele é parcialmente solúvel em água e apresenta boa solubilidade em etanol e éter dietílico. Possui capacidade de absorção da UVR com a presença de dois picos em seu espectro de absorção com comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}) em 265 e 365 nm (regiões UVC e UVA).

FIGURA 7 - Representação da (A) Estrutura 2D e da (B) Conformação 3D do Kaempferol.

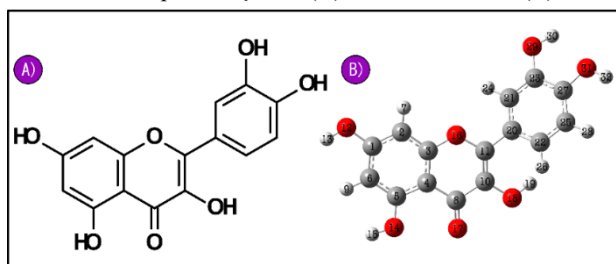


Fonte: A Autora.

É um dos constituintes mais importantes dos extratos de *Ginkgo biloba*, a árvore de origem chinesa muito utilizada na medicina para manutenção da integridade cognitiva do cérebro, auxiliando em doenças neurodegenerativas como a demência e o Alzheimer. Possui elevado poder antioxidante com a capacidade de neutralização de radicais livres e redução do estresse oxidativo, diminuindo o processo inflamatório neurodegenerativo. Existe o seu efeito inibitório contra células cancerígenas pancreáticas, sendo considerado sua utilização como terapia adjuvante no tratamento do câncer. Além de apresentar atividade antibactericida e ser encontrado em alguns metabólitos humanos (urina e sangue)^[49].

A Quercetina é uma pentahidroxi flavona com maior abundância da classe dos flavonoides e pertencente à subclasse dos flavonóis, estando presente em inúmeras frutas como na maçã, em vegetais (principalmente na cebola) e no vinho. Sua fórmula química é $C_{15}H_{10}O_7$ com 5 grupos hidroxilas (OH^-) substituídos nas posições 3, 3', 4', 5 e 7 (Figura 8).

FIGURA 8 - Representação da (A) Estrutura 2D e da (B) Conformação 3D da Quercetina.

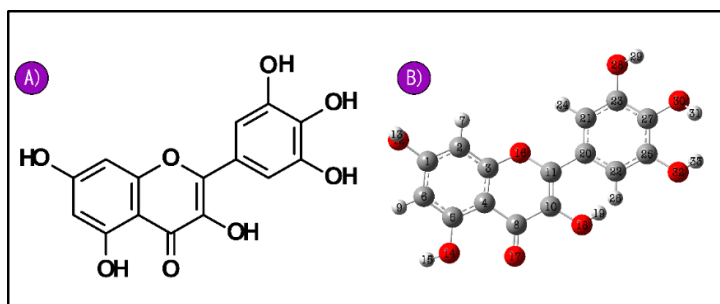


Fonte: A Autora.

A morfologia dos seus cristais é em forma de agulhas e um pó amarelo com ponto de fusão de 316,5°C e peso molecular de 302,23 g mol⁻¹. É praticamente insolúvel em água, muito solúvel em éter e metanol e solúvel em etanol, acetona, piridina e ácido acético. Apresenta 3 picos de absorção em seu espectro UV com comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}) em 256, 301 e 373 nm nas regiões UVC, UVB e UVA, respectivamente^[50]. É um metabólito secundário (fitoquímico) com alta atividade antioxidante, atividade antibactericida e inibição das proteínas quinases, as quais estão envolvidas com a proliferação de células cancerígenas. Além disso, a Quercetina auxilia no tratamento de doenças cardiovasculares através do controle dos níveis séricos e diminuição da concentração do colesterol (LDL). Outra forma molecular encontrada é a substituída com açúcares (glicosídea) como por exemplo, na Rutina^[51,52].

A Miricetina é uma hexahidroxi-flavona de fórmula molecular C₁₅H₁₀O₈ classificada na subclasse dos flavonóis e possui 6 hidroxilas (OH-) nas posições 3, 3', 4', 5, 5' e 7 (Figura 9). O seu isolamento ocorreu a partir das folhas de uma planta nativa da China e do Japão, a *Myrica rubra*, popularmente conhecida como Yangmei, Yamamomo ou Bayberry. É cultivada principalmente por suas frutas doces de cor vermelha-escura (parecidas com as amoras) que são usadas na indústria de alimentos. É um sólido amarelo com cristais no formato de agulhas e ponto de fusão de 357°C. O peso molecular é de 318,23 g mol⁻¹, sendo moderadamente solúvel em água quente, solúvel em álcool e praticamente insolúvel em clorofórmio e ácido acético. Apresenta capacidade de absorção da UVR com a presença de 2 picos em seu espectro de absorção nos comprimentos de onda máximos (λ_{MAX}) de 255 e 375 nm nas regiões UVC e UVA, respectivamente. Ela apresenta alto poder antioxidante, capacidade de regulação dos níveis séricos e existe a associação de seu consumo com a redução do risco de desenvolvimento do câncer de pâncreas^[53].

FIGURA 9 - Representação da (A) Estrutura 2D e da (B) Conformação 3D da Miricetina.



Fonte: A Autora.

1.1.8 Propriedades Funcionais e Atividade Biológica

Esses metabólitos secundários (Fitoquímicos) apresentam diferentes funções nas plantas, servindo como marcadores taxonômicos da especificidade da presença de certas substâncias apenas em famílias específicas (como no caso das Fabaceae), são responsáveis pela pigmentação das flores servindo como guia para as abelhas no processo de polinização e produção do mel, protegem os vegetais contra a UVR (UVA e UVB), atuam como antioxidantes naturais, participam no controle dos hormônios (fito estrogênios), facilitam a adaptação das plantas ao ambiente (substâncias alelopáticas), além de também atuarem como inibidores enzimáticos^[54].

As inúmeras funções benéficas desempenhadas no reino vegetal despertou a atenção do homem que começou a utilizar essas substâncias com as mais diversas finalidades, como por exemplo como pigmentos naturais, para fermentação de chás, os taninos para curtir o couro, na manufatura do cacau, para adicionar valor nutricional aos alimentos (nutracêuticos) e também para utilizar seu poder antioxidante e anti-inflamatório no desenvolvimento de suplementos em cápsula, utilizando principalmente a Quercetina e a Rutina^[55].

Com o uso dessas substâncias ficou evidente suas propriedades biológicas altamente benéficas à saúde humana atuando com suas mais diversas propriedades funcionais de acordo com fatores como sua estrutura química, concentração e seu efeito em combinação com outras substâncias (sinergismo). Nessas propriedades funcionais podemos destacar a presença dessas substâncias como fatores e cofatores de enzimas e vitaminas como, por exemplo, no auxílio da absorção da vitamina C pelo organismo e na modulação de receptores e marcadores de estresse oxidativo, além da inibição enzimática com a redução da proliferação tumoral e desempenho de atividade anticancerígena^[56].

Essas propriedades também podem proporcionar aumento da resistência capilar, atuam como coadjuvantes nos tratamentos de hipertensão e doenças circulatórias com a regulação do teor de lipídios séricos presentes no sangue (colesterol - LDL e HDL) e atenuação da pressão arterial além de auxiliar nas doenças cardiovasculares com a proteção do miocárdio contra lesões^[57]. Também se destacam a atividade anti-inflamatória (inibição de mediadores inflamatórios), anti-hemorrágica, antioxidante, antimicrobiana, hormonal, entre outras. São capazes de auxiliar no tratamento de doenças como diabetes (ação hipoglicemiante e hipolipidêmica por meio da atenuação da lesão das células β -pancreáticas produtoras de

insulina), obesidade (supressão da adipogênese, ativação da AMPK e regulação de proteínas quinases) e depressão^[58].

Algumas dessas substâncias de origem natural também podem apresentar função neuroprotetora se possuírem natureza lipofílica com capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (*Blood Brain Barrier* - BBB) desempenhando efeito positivo sobre o sistema nervoso central, retardando o processo da degeneração cognitiva (ação inibitória da enzima neurodegenerativa acetilcolinesterase - ação anticolinesterase), melhorando o aprendizado e causando a supressão do processo neuro-inflamatório em doenças como o Alzheimer^[59].

1.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

1.2.1 Estresse oxidativo e espécies reativas

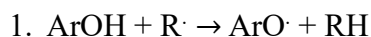
O processo de estresse oxidativo é uma parte essencial da vida aeróbica e do metabolismo. O oxigênio (O_2) é o principal aceptor de elétrons no sistema de produção de energia por meio do trifosfato de adenosina (ATP). Porém, esse fluxo de elétrons desemparelhados cria radicais livres como as Espécies Reativas de Oxigênio - ROS, nas formas de superóxidos - $O_2^{\cdot-}$, peróxido de hidrogênio - H_2O_2 , oxigênio singlete - O_2^1 , radical peróxido - $ROO^{\cdot}$, radical alcóxido - $RO^{\cdot}$, radical hidróxido $OH^{\cdot}$ e óxido nítrico - $NO^{\cdot}$). Essas espécies reativas produzem efeitos positivos no organismo como a produção de energia, auxiliam na fagocitose, na regulação do crescimento celular, na sinalização intracelular e na síntese de alguns compostos biológicos. Todavia, elas podem causar muitos danos ao organismo, fazendo com que as células do corpo humano sofram danos contínuos provenientes da respiração, de processos fisiológicos ou de agressões externas^[60]. Os efeitos negativos no organismo são o ataque aos lipídios (peroxidação lipídica) presentes nas membranas das células, às proteínas dos tecidos ou enzimas, aos carboidratos e ao DNA. Além disso, algumas alterações na célula causam a perda do potencial osmótico levando à morte celular e aos processos inflamatórios no organismo. Todos esses danos oxidativos estão diretamente ligados com o processo de envelhecimento e também podem causar diversas doenças degenerativas associadas ao coração, catarata, disfunções cognitivas e câncer^[61].

Como os flavonoides são espécies polifenólicas com muitos grupos hidroxila reativos em sua estrutura, eles são capazes de reagir com os radicais livres formando um composto estável que não apresenta nenhuma ação prejudicial à saúde das células e não ocasiona danos inflamatórios ao organismo e aos tecidos. A capacidade antioxidante dos compostos flavonoides

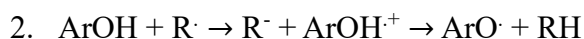
é muito maior em relação às vitaminas C e E. A capacidade de neutralização de radicais livres depende da disponibilidade de seus hidrogênios fenólicos e da estabilidade da espécie radical resultante. Essa estabilidade estrutural é influenciada diretamente pela capacidade de formação de ligações de hidrogênio ou pela extensão da deslocalização eletrônica de ligações duplas e anéis aromáticos. Logo, os aspectos estruturais dos Flavonoides são importantes para avaliação de sua capacidade antioxidante. Nesse sentido, as simulações das propriedades eletrônicas e moleculares são de grande relevância para compreensão a respeito de sua estabilidade e reatividade molecular, tornando possível a identificação do mecanismo para a atividade antioxidante de modo termodinamicamente favorável^[62].

1.2.2 Mecanismos de Neutralização de Radicais Livres

O mecanismo de ação para o desempenho da atividade antioxidante geralmente ocorre através de mecanismos de reação que envolvem de 1 a 2 etapas. A molécula bioativa que apresenta atividade antioxidante (compostos fenólicos) irá doar seus prótons (hidrogênios das hidroxilas) reagindo com a espécie reativa instável (radicais livres) e gerando um novo produto radicalar mais estável e que não ocasiona danos às células. Os mecanismos podem ocorrer de diferentes formas como através da transferência de átomos de hidrogênio (HAT), da transferência acoplada de próton-elétron (PCET), da formação de radicais adutos (RAF), da transferência de um único elétron (SET), da transferência sequencial de perda de próton-elétron (SET-PT), entre outros mecanismos. Um dos mecanismos mais simples é o da transferência de átomos de hidrogênio (HAT) e ele ocorre através da transferência do átomo de hidrogênio (próton) da molécula flavonoide contendo o grupo hidroxila (OH^-) ligado à um anel benzeno (ArOH) para a espécie radical instável e reativa (radical livre)^[63]:



Esse mecanismo será governado pela entalpia de dissociação de ligação (BDE), um parâmetro importante na avaliação da atividade antioxidante e quanto mais forte for essa atividade mais fraca será a ligação O-H. Outro mecanismo que pode ocorrer é a transferência sequencial de perda de próton-elétron (SET-PT) onde a espécie antioxidante (flavonoide) irá doar um elétron para o radical livre, se tornando ela mesma um radical catiônico:



O potencial de ionização (IP) é o parâmetro que governa a primeira etapa do mecanismo, onde ocorre a transferência do elétron, e quanto menor for o seu valor maior será

a atividade antioxidante. A estabilidade dos produtos radicalares formados ($\text{ArO}^\cdot$ e $\text{ArOH}^{+\cdot}$) é o que previne que a reação em cadeia dos radicais livres instáveis presentes no meio continue e essas novas espécies radicais irão lentamente reagir com moléculas próximas sem apresentar nenhum efeito tóxico ou dano oxidativo ao organismo^[64].

São precisos estudos a respeito da estabilidade desse produto formado, se ele realmente se torna uma espécie livre e reativa que não irá danificar outros alvos biológicos importantes para o bom funcionamento do organismo (DNA, proteínas e lipídios) e as investigações teóricas podem auxiliar muito nesses estudos. Essas investigações são extremamente úteis para avaliação se esse mecanismo antioxidante é termodinamicamente favorável, pois através dos cálculos computacionais e da análise das propriedades moleculares é possível obter esses parâmetros de entalpia de dissociação de ligação (BDE) e de potencial de ionização (IP).

1.2.3 Radicais Livres e Doenças Correlacionadas (Câncer/Alzheimer/Pele)

As espécies reativas instáveis (radicais livres), embora apresentem um papel importante na sinalização celular e na defesa do organismo contra patógenos, quando produzidas em excesso, são extremamente prejudiciais e causam diversos danos ao organismo. Essa produção de espécies livres e reativas pode ser decorrente dos processos internos metabólicos responsáveis pela manutenção do funcionamento do organismo (respiração celular - mitocôndria, reações enzimáticas, processos inflamatórios, metabolismo de ácidos graxos e lipídios, metabolismo do ferro e do cobre, processo de morte celular - apoptose) ou pode ser incentivada através de agentes externos (exposição à radiação, substâncias poluentes, fumo, álcool, estresse crônico, alimentação inadequada e rica em gorduras saturadas, alimentos ultraprocessados e açúcares - gerando inflamação no organismo)^[65].

Essas espécies são prejudiciais, pois causam a oxidação das bases nitrogenadas presentes no DNA e podem proporcionar a quebra da fita simples ou da fita dupla, além de também poderem causar mutações malignas que prejudicam o processo de replicação do DNA e interrompem o ciclo celular. Se os danos atingirem genes importantes ou se não forem reparados, isso pode acabar iniciando o processo de transformação das células normais em células cancerígenas com um crescimento e multiplicação de forma descontrolada (carcinogênese) e essas células podem acabar invadindo os órgãos e os tecidos se acumulando formando os tumores. Esse processo de estresse oxidativo causa impactos significativos principalmente no DNA mitocondrial e colabora com o processo de envelhecimento, além

dessas mutações também serem a causa de diferentes tipos de câncer e, quando esses danos afetam os neurônios, ocasionam o processo neurodegenerativo e desenvolvimento de doenças como o Alzheimer e a doença de Parkinson^[66].

O processo oxidativo causado por esses radicais livres também pode gerar danos nas proteínas com o ataque (oxidação) dos aminoácidos que apresentam grupos funcionais reativos, como no caso da cisteína, metionina, tirosina, triptofano, histidina e fenilalanina. Esses danos prejudicam a formação das pontes dissulfeto e levam à formação de grupos carbonila ($C=O$) em cadeias laterais, processo irreversível que marca a proteína para sua degradação, além de causar nitração e cloração dos resíduos de aminoácidos. Todas essas alterações levam à perda da função enzimática ou estrutural, causando a inativação de enzimas, desnaturação das proteínas e perda da sua estrutura tridimensional com a formação de agregados proteicos insolúveis que interferem na função celular. O acúmulo de proteínas oxidadas/mal dobradas pode ocasionar diferentes tipos de doenças como catarata, diabetes, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas^[67].

Um dos impactos mais significativos e a principal causa do estresse oxidativo no organismo é a peroxidação lipídica que consiste na oxidação dos lipídios (ácidos graxos insaturados) que estão presentes nas membranas celulares levando ao início de uma reação em cadeia que compromete a integridade e a fluidez da membrana (mitocondrial). Além disso, esse estresse pode aumentar a permeabilidade da membrana levando a um desequilíbrio iônico (entrada de cálcio e lise celular) e à formação de compostos tóxicos secundários (aldeídos, hidroperóxidos, cetonas, ácidos, álcoois e carbonilas). Esses compostos secundários também são prejudiciais ao DNA, às proteínas e às biomoléculas, levando à formação de mutações, perda de função e agregação das proteínas, inativação enzimática, desencadeando uma resposta inflamatória crônica no organismo, além de causar danos celulares^[61].

O efeito da indução pela UVR na geração de ROS no organismo humano é reconhecido como causa de ocorrência de danos na pele, resultando em rugas, hiperpigmentação e flacidez. As espécies reativas geradas promovem danos ao DNA e às células presentes na camada mais externa da pele (epiderme) responsáveis pela produção da queratina^[68]. Compostos pertencentes à classe dos flavonoides possuem atividade antioxidante muito promissora e desempenham essa atividade através de diferentes mecanismos, sendo um deles através da interação com proteínas ligadas ao processo de defesa contra radicais livres ou através de mecanismos de neutralização de radicais livres de forma direta. As espécies poli fenólicas presentes nas plantas, frutas e vegetais (fenóis, ácidos fenólicos, flavonoides, taninos e ligninas)

atuam como espécies antioxidantes de defesa do organismo e da pele contra as espécies reativas^[62].

1.3 MECÂNICA QUÂNTICA COMPUTACIONAL

1.3.1 Química Teórica e Química Computacional

A Química Teórica é um ramo da Química que utiliza modelos matemáticos e fundamentos físicos na descrição de sistemas moleculares e reações químicas para ser capaz de prever e compreender melhor suas propriedades. Através dela são desenvolvidos novos métodos para cálculos e resolução de problemas e fenômenos químicos. A Química Computacional aplica os métodos de aproximação para múltiplos corpos para, por exemplo, realizar cálculos de relaxação de geometrias moleculares e estimativa de propriedades termodinâmicas. Esses cálculos fornecem informações a respeito de interações intermoleculares que muitas vezes são de complexa compreensão, auxiliando no desenvolvimento de novas moléculas e materiais. Nas propriedades moleculares são avaliados parâmetros como energia de barreira de reação, obtenção da geometria molecular mais estável através dos pontos de mínimo de energia na superfície de energia potencial (SEP), análise conformacional, reatividade em termos da distribuição eletrônica nos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO), propriedades espectroscópicas (UV-Vis, IV, Raman, Ressonância Magnética Nuclear (RMN), entre outras), distribuição e separação de cargas (polarizabilidade) e momento de dipolo^[69]. Também é possível realizar estudos de dinâmica molecular que auxiliam na elucidação de velocidades e mecanismos de reação e desdobramento de proteínas, além de estudos quantitativos a respeito da relação estrutura-atividade – QSAR^[70]. Já nos materiais em estado sólido (Bulk) as propriedades que podem ser obtidas são a densidade, viscosidade, dureza, ponto de fusão, entre outras^[71].

1.3.2 Métodos em Química Computacional

Os métodos utilizados na realização dos cálculos são classificados de acordo com a teoria envolvida. Partindo dos princípios da Mecânica Clássica Newtoniana nos quais se baseiam os primeiros métodos da Mecânica Molecular denominados como Campos de Força (do inglês *Force Fields*) onde os átomos são considerados como "bolas" e a ligação existente

entre eles é tratada como uma "mola". Esse método apresenta problemas de precisão, pois ele negligencia (ignora) a estrutura eletrônica sendo útil apenas em recortes de sistemas muito grandes como no caso de proteínas, DNA e RNA^[72].

Para contornar os problemas de precisão observados nas resoluções utilizando a Mecânica Clássica surgem os métodos *ab initio* (do latim: desde o início) que têm como base os cálculos da estrutura eletrônica do sistema e da resolução da Função de Onda Eletrônica (Ψ) da Mecânica Quântica. O principal representante é o método Hartree-Fock (HF) onde a função de onda é construída através dos determinantes de Slater. Outros métodos são os pós-Hartree-Fock (post-HF) desenvolvidos na Teoria da Perturbação de Møller–Plesset (MP2, MP3, MP4)^[73], Configuração Interagente (CIS, CISD)^[74], os métodos de Cluster Acoplado (CC - *Coupled Cluster*) um dos mais precisos, porém com o custo computacional mais elevado (CCSD, CCSD(T))^[75] e os métodos CI Multireferência (MRCI)^[76]. Além dos métodos multiconfiguracionais (MC), como o método do Espaço do Campo Auto consistente Completamente Ativo (CASSCF)^[77], entre outros. Esses métodos foram inteiramente formados nos princípios da Mecânica Quântica e não possuem o ajuste com parâmetros empíricos, apresentando uma teoria sólida, são muito precisos e aplicáveis a qualquer tipo de molécula. Entretanto, existe a desvantagem do alto custo computacional em termos do tempo de cálculo.

O uso de aproximações e parâmetros ajustados experimentalmente para auxiliar na resolução do operador Hamiltoniano ($\hat{H}$) da função de onda eletrônica através da negligência, aproximação ou substituição de determinadas variáveis por parâmetros experimentais é conhecido como método semi-empírico. A principal mudança está na maior velocidade de simulação em relação aos métodos *ab initio* e se apresenta como uma alternativa na descrição das moléculas em termos de Orbitais Moleculares. O primeiro desses métodos foi o MNDO (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*) surgido nos anos 70 e servindo como base para muitos outros métodos como o AM1 (*Austin Model 1*) e os mais modernos e parametrizados PM3 (*Parametric Method 3*), PM6 (*Parametric Method 6*) e PM7 (*Parametric Method 7*) de maior precisão. Também existe um método desenvolvido em Pernambuco (UFPE) por pesquisadores brasileiros com foco em compostos orgânicos e melhorias no funcional, o RM1 (*Recife Model 1*)^[78], entre outros métodos híbridos^[79]. Apesar das vantagens, esses métodos possuem problemas de menor precisão, pois ignoram muitos efeitos eletrônicos e são limitados às parametrizações experimentais que muitas vezes são realizadas apenas para elementos ou moléculas conhecidas. São muito úteis para estudos pré-relaxações na triagem do número das moléculas a serem estudadas por métodos de maior custo.

Como uma alternativa aos métodos tradicionais de tratamento dos orbitais moleculares de forma individual, surge a DFT com um tratamento mecânico-quântico da função de onda em termos da Densidade Eletrônica $\rho(r)$ total da molécula ou sistema. Essa densidade representa a carga eletrônica distribuída no espaço, podendo ser utilizada para calcular todas as propriedades do sistema, incluindo a energia total. A DFT foi desenvolvida em 1964 com base em dois teoremas fundamentais estabelecidos por Hohenberg e Kohn onde a Energia Total do sistema é dependente de um funcional e decomposta em várias partes em termos da energia cinética, energia da interação dos Elétrons com o potencial externo, energia de interação dos elétrons entre si e da energia de troca e correlação. Esse método possui a vantagem de ser muito versátil na determinação de propriedades moleculares, boa performance para sistemas grandes e maior precisão com funcionais híbridos, apresentando desvantagens em sistemas fortemente correlacionados e não sendo ideal para estados excitados, onde sua variação dependente do tempo (TD-DFT) é utilizada^[80].

Todos os métodos citados calculam as propriedades do sistema baseados no cálculo de energia relacionado com a geometria da molécula e servem de fundamento para a realização das simulações de todas as propriedades. Essa relação estrutura-energia é utilizada para construção da superfície de energia potencial (SEP) e obtenção da estrutura mais estável (ponto de energia mínima na superfície). Os métodos que calculam propriedades específicas do sistema como as posições (mudanças de coordenadas) em termos da posição inicial e evolução Espaço-Temporal do sistema são os métodos de Dinâmica Molecular. Esses métodos também utilizam informações dos métodos baseados apenas no cálculo de energia, sendo muito utilizados na elucidação de mecanismos de reação com a determinação da estrutura e energia dos reagentes, produtos, estados de transição e Energias de Reação e Energias de Ativação^[70]. Além desses métodos também existe o tratamento Mecânico Estatístico para predição de Propriedades Termodinâmicas e Análises de Modo Normal na Aproximação Harmônica em termos de constantes de força e frequências vibracionais (espectros IV e Raman)^[81].

1.3.3 Superfície de Energia Potencial (SEP)

A relação estrutura-energia é descrita através da construção da Superfície de Energia Potencial (SEP) e o cálculo da Energia Total do sistema é dado segundo a separação dos movimentos do sistema molecular por meio da aproximação de Born-Oppenheimer. Essa simplificação permite tratar separadamente o movimento dos elétrons e dos núcleos. A

construção da SEP é realizada através da variação sistemática de parâmetros geométricos (variáveis como comprimentos e ângulos de ligação) com um passo (*step*) fixo e o cálculo de energia é feito primeiramente para os elétrons com os núcleos fixos e depois com a consideração do movimento nuclear. A função de onda total do sistema é descrita em termos de coordenadas eletrônicas (r) e coordenadas nucleares (R)^[69].

Na Mecânica Quântica a energia total é calculada como a soma da energia cinética (T) dependente do momento (p_i) e da energia potencial (V) dependente das coordenadas nucleares (R) através do operador Hamiltoniano ($\hat{H}$). Esses métodos resultam na energia de uma única configuração nuclear (RI) e muitos cálculos estão envolvidos para construção de uma SEP com a complexidade aumentando proporcionalmente ao grande número de variáveis envolvidas. O número de dimensões da SEP irá depender dos graus de liberdade associados com as suas posições relativas em coordenadas cartesianas (x,y,z) e de seus movimentos rotacionais e vibracionais. Por convenção, o cálculo da SEP é realizado na temperatura de 0 K (zero Kelvin) onde é possível desconsiderar as contribuições térmicas e a energia cinética associada aos núcleos (vibrações, rotações e translações) focando apenas na energia eletrônica do sistema e estabelecendo um padrão de referência para comparação com outros estudos teóricos. A energia cinética associada aos elétrons é calculada de forma implícita e aproximada com auxílio dos funcionais de troca e correlação que consideram as energias de interação dos elétrons entre si e da atração existente entre elétron e núcleo e da repulsão núcleo-núcleo^[72].

1.3.4 Determinação de Pontos Estacionários na SEP

Nos sistemas de maiores dimensões (com mais de 2 ou 3 graus de liberdade), como até mesmo em moléculas mais simples (tri atômicas) e simétricas, são originadas Hiper superfícies que não são possíveis de plotar, então a SEP é tratada como uma Entidade Matemática e através de definições são identificados os pontos mais relevantes (pontos mínimos e pontos de sela) ao invés da realização do *scan* manual com a variação do *step*^[82]. Essas definições matemáticas permitem encontrar o mínimo global, o valor no qual o sistema considera a estrutura como sendo um mínimo de energia em todas as direções da coordenada de reação (q), podendo ser encontrado através do valor da primeira derivada da Energia (E) em relação à coordenada de reação (q) como sendo zero, como descrito na Equação 1.1:

$$\frac{\partial E}{\partial q_1} = \frac{\partial E}{\partial q_2} = \frac{\partial E}{\partial q_{3N-6}} = 0 \quad (1.1)$$

Com o valor da segunda derivada da energia em relação à coordenada de reação sendo positivo (Equação 1.2) é possível encontrar os mínimos locais (reagentes e produtos). Se apenas para um específico valor da coordenada de reação (q_i) esse valor da segunda derivada for negativo (Equação 1.3) e para todos os outros for positivo é encontrado o ponto de sela, parâmetro importante para estudos a respeito do estado de transição^[72].

$$\frac{\partial^2 E}{\partial q_i^2} > 0 \quad (1.2)$$

$$\frac{\partial^2 E}{\partial q_i^2} < 0 \quad (1.3)$$

Os cálculos de relaxação de geometria são os mais comuns em Química Computacional e neles a estrutura da molécula é relaxada para uma estrutura mais estável com o processo de localização dos pontos mínimos ou do Estado de Transição na SEP sendo denominado de relaxação. Esse é o primeiro cálculo realizado sendo fundamental na determinação de mecanismos de reação, das energias associadas e das geometrias moleculares preferenciais para o cálculo de outras propriedades^[69].

1.3.5 Cálculos de Relaxação de Geometria

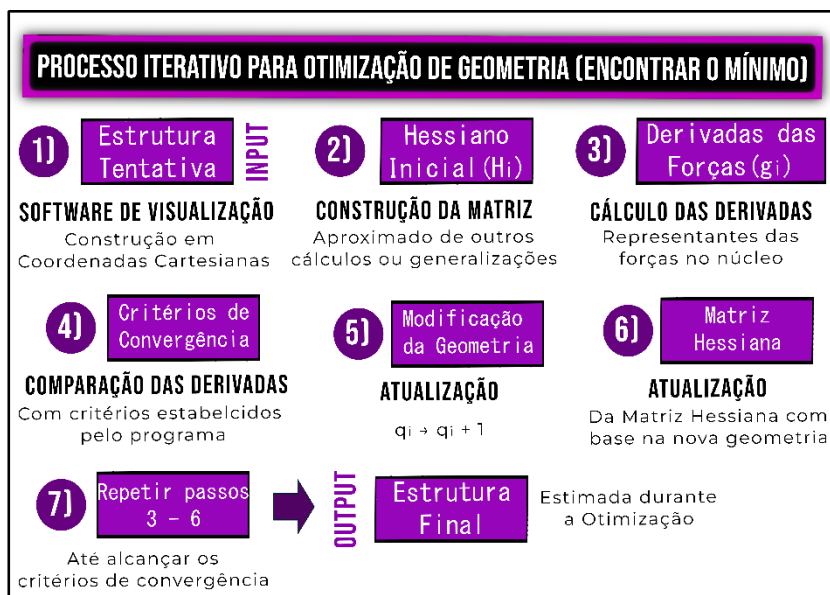
O processo para o cálculo de relaxação de geometria está representado de modo esquemático na Figura 10, onde primeiramente é criado no software de visualização o arquivo de entrada (*input*) em coordenadas cartesianas da estrutura tentativa inicial. Posteriormente, existem a construção da matriz Hessiana e os cálculos das derivadas de força para determinação dos pontos estacionários, os quais são realizados de modo iterativo até que se encontre o mínimo de energia global (critérios de convergência definidos por cada programa) com a estrutura final mais estável (*output*)^[72].

Um método numérico para a relaxação da geometria molecular para determinação de um estado de energia mínima é conhecido como método *Newton-Raphson*^[83], no qual a energia de uma estrutura tentativa inicial é determinada com base na lei de Hooke. Esse método para o cálculo de energia em um passo único só é válido para Superfícies Perfeitamente Harmônicas (1-D) (curva vermelha da Figura 11).

Porém, na realidade as superfícies não são harmônicas e o cálculo é repetido de maneira iterativa até a determinação da estrutura final, correlacionando as coordenadas iniciais (q_i) e finais (q_0) com uma constante de força (k) (Equação 1.4).

$$E_i - E_0 = k(q_i - q_0)^2 \quad (1.4)$$

FIGURA 10 - Esquema representando as etapas envolvidas no Processo Iterativo para o cálculo de Otimização de Geometria e alcance de pontos estacionários (mínimos).



Fonte: A Autora.

Onde a determinação da estrutura final (q_0) é feito com um passo único, porém na realidade a SEP não é Harmônica e o processo é repetido de maneira iterativa até que as forças no núcleo (derivadas/gradientes) são pequenas e muito próximas de zero^[69]. O processo para o cálculo de energia é feito de maneira iterativa, pois cada estrutura encontrada serve como referência para determinação da próxima até a obtenção da estrutura final. Se a estrutura tentativa for razoável, a maioria dos programas encontram o mínimo local mais próximo em 10-20 iterações, já os Estados de Transição são mais difíceis de localizar.

$$q_{i+1} = q_i - H_i^{-1} g_i \quad (1.5)$$

$$q_n = q_{n-1} - \frac{\left(\frac{\partial E}{\partial q}\right)_{n-1}}{\left(\frac{\partial^2 E}{\partial q^2}\right)_{n-1}} \quad (1.6)$$

O cálculo de energia (Equação 1.6) envolve um vetor coluna (Equação 1.7) que contém as coordenadas cartesianas (3N) da geometria molecular da estrutura tentativa inicial, sendo construído nos softwares de visualização da forma mais coerente, razoável e mais próxima possível do mínimo.

$$q_i = \begin{bmatrix} q_{1i} \\ q_{2i} \\ \vdots \\ q_{3Ni} \end{bmatrix} \quad (1.7)$$

Também envolve o produto de uma matriz Hessiana (Equação 1.8) contendo as segundas derivadas da energia em coordenadas cartesianas (3Nx3N) e uma matriz coluna (Equação 1.9) com as derivadas da energia em 3N coordenadas cartesianas representando as forças no núcleo.

$$\left(\frac{\partial^2 E}{\partial q^2}\right) \rightarrow H_i = \begin{bmatrix} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_1 q_1^2}\right)_i & \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_1 q_2^2}\right)_i & \dots & \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_1 q_{3N}^2}\right)_i \\ \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_2 q_1^2}\right)_i & \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_2 q_2^2}\right)_i & \dots & \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_2 q_{3N}^2}\right)_i \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_{3N} q_1^2}\right)_i & \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_{3N} q_2^2}\right)_i & \dots & \left(\frac{\partial^2 E}{\partial q_{3N} q_{3N}^2}\right)_i \end{bmatrix} \quad (1.8)$$

As matrizes Hessianas são as mais difíceis de serem calculadas analiticamente apresentando o maior custo computacional (80%) e por isso são estimadas durante a otimização por meio de aproximações e generalizações. A matriz coluna com as forças nucleares são calculadas pelo programa e apresentam menor custo (20 %) [72].

$$\left(\frac{\partial E}{\partial q_i}\right) \rightarrow g_i = \begin{bmatrix} \left(\frac{\partial E}{\partial q_1}\right)_i \\ \left(\frac{\partial E}{\partial q_2}\right)_i \\ \vdots \\ \left(\frac{\partial E}{\partial q_{3N}}\right)_i \end{bmatrix} \quad (1.9)$$

É impossível encontrar a localização exata do mínimo, por isso os valores das derivadas não são zero e a otimização finaliza quando os valores das derivadas são bem pequenos de acordo com os critérios de convergência adotados por cada programa utilizado na realização dos cálculos, baseados em critérios de força (força máxima e raiz quadrada média - *Root Mean Square* - RMS da força) e do deslocamento da geometria na SEP [72].

1.3.6 Cálculos de modo normal

Os cálculos de modo normal consideram os movimentos vibracionais dos átomos responsáveis pelas torções e estiramentos (simétricos e antissimétricos) moleculares e permitem a realização dos cálculos de frequências (Equação 1.10), correlacionando-os com uma constante de força (k) e as massas reduzidas dos modos normais (μ), possibilitando também a obtenção dos espectros vibracionais (IR e Raman)^[85].

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2 \pi c} \left(\frac{k}{\mu} \right)^{1/2} \quad (1.10)$$

Esses cálculos de modo normal são feitos com o auxílio da álgebra linear com a diagonalização (Equação 1.11) de uma matriz quadrada (A), a quebrando no produto de uma base (matriz Hessiana - P^{-1}) de autovetores com uma matriz diagonal (D), onde apenas os elementos de sua diagonal não são zero e são autovalores das constantes de força (k) e uma outra matriz quadrada (P), onde suas colunas apresentam os autovalores cujos índices indicam os modos normais (q_{ij}). Os valores dos modos de 1-6 são representantes dos movimentos de translação e rotação e os modos 7-3N representam os movimentos de vibração.

$$A = P D P^{-1} \quad (1.11)$$

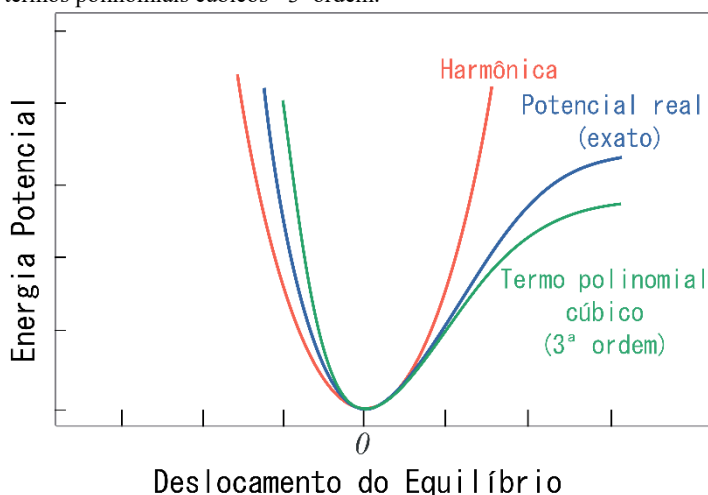
Também é possível confirmar que o ponto mínimo de energia na SEP foi encontrado por meio do cálculo da segunda derivada, se ela apresentar um valor positivo isso indica que todos os elementos da diagonal (k) são positivos e, por serem diretamente proporcionais, as frequências também são todas positivas. Já o estado de transição é caracterizado por apresentar exatamente o valor da segunda derivada negativo para apenas uma coordenada (q_i) específica, indicando a presença de frequências imaginárias (negativas), porém para confirmação do alcance desse Estado de Transição são necessários outras análises de energia, a animação dos modos normais pode auxiliar e também podem ser necessários os cálculos de Coordenada de Reação Intrínseca (IRC), que apresentam maior custo computacional^[86].

Na perspectiva da Mecânica Quântica as moléculas vibram até na temperatura de zero Kelvin (0 K) e apesar de não possuírem energia cinética ela não é totalmente zero, possuindo ainda uma componente vibracional. Isso ocorre para que o Princípio da Incerteza de Heisenberg a respeito da determinação simultânea da posição e velocidade de uma partícula não seja

violado, pois se os átomos parassem de vibrar eles teriam velocidades e posições bem definidas. Essa energia é denominada de energia de vibração de ponto zero ($n = 0$) e ela é considerada através de uma correção com sua adição à Energia Potencial total da molécula. A realização dessa correção não apresenta efeito significativo na determinação das energias dos mínimos (reagentes e produtos) em um perfil reacional, porém ela é muito importante na determinação das barreiras de ativação^[87].

Os parâmetros padrões para realização dos cálculos são as moléculas em fase gasosa e na temperatura de zero Kelvin (0 K), porém estudos experimentais geralmente são realizados em temperaturas e pressões finitas, como por exemplo na temperatura ambiente (298 K) e pressão de 1 atm. No Bulk, devido ao elevado número de moléculas, as propriedades são determinadas pela sua interação umas com as outras em distribuições governadas pelas estatística de Boltzmann no equilíbrio e as quantidades termodinâmicas descrevem um conjunto de propriedades. Para incorporar os efeitos de temperatura e pressão nas energias calculadas são feitas correções através de Mecânica Estatística para levar em consideração as contribuições das entalpias, entropias e energias livres, propriedades presentes nos sistemas em escala macroscópica. Essa incorporação é feita por meio de funções de partição, funções muito semelhantes às funções de onda da Mecânica Quântica, por também conterem toda a informação do sistema.

FIGURA 11 - Aproximações para o Oscilador Harmônico com a Superfície de Energia Potencial (SEP) simples - Harmônica (linha vermelha), a curva azul representando os valores exatos do potencial e a curva verde que apresenta os termos polinomiais cúbicos - 3ª ordem.



Fonte: Traduzido de Kelly^[84].

A energia total da molécula é decomposta como uma soma de energias (Equação 1.12), envolvendo a Energia Eletrônica encontrada dentro do sistema (independente da T e p), com os elétrons sendo tratados quanticamente e sendo obtida através dos cálculos com as equações de Schrödinger e Kohn-Sham (DFT) e com a energia cinética translacional (dependente do peso

molecular) e energia cinética rotacional (dependente apenas dos principais momentos de Inércia e da geometria e simetria molecular) calculadas por sistemas clássicos (sem nenhum cálculo quântico). A energia cinética vibracional também é calculada quanticamente com as correções das vibrações de ponto zero e aproximações de gás ideal (oscilador harmônico mecânico quântico – Fig. 11) e depende apenas das frequências moleculares vibracionais (modos normais) e da temperatura^[81].

$$\varepsilon_{Total} = \varepsilon_{Elet} + \varepsilon_{Trans} + \varepsilon_{Rot} + \varepsilon_{Vib} \quad (1.12)$$

1.3.7 Função de onda eletrônica (Ψ)

Os métodos em Química Quântica se baseiam no tratamento Mecânico Quântico dos elétrons sem recorrer à parametrizações experimentais e os primeiros princípios surgiram com os métodos de cálculo de orbitais moleculares e estrutura eletrônica *ab initio*, onde tudo era calculado a partir da Função de Onda (Ψ) e desde o início^[69]. A Função de Onda Eletrônica é obtida através da Equação de Schrödinger e ela contém todas as informações a respeito do sistema, tornando possível calcular as Energias de partículas pequenas e leves (como os elétrons) e descrever as mudanças estruturais (estrutura eletrônica, ligações e Orbitais Moleculares) que ocorrem. Também permite o cálculo de outras propriedades relacionadas à estrutura eletrônica, como espectros, cargas atômicas, ordens de ligação e índices de reatividade^[88].

$$\hat{H}\Psi(r) = E\Psi(r) \quad (1.13)$$

Na maioria dos problemas Químicos a Energia Potencial com interesse em ser obtida é independente do tempo (geralmente relacionada com o potencial coulombiano), portanto a resolução é feita para a Equação de Schrödinger Independente do Tempo (Equação 1.13) que permite o cálculo da energia de um estado especificado pela função de onda para um sistema de N elétrons utilizando um operador Hamiltoniano ($\hat{H}$) e aproximações matemáticas. O operador hamiltoniano molecular (Equação 1.14) é separado em termos referentes à energia cinética eletrônica (1º termo), energia cinética nuclear (2º termo), atração núcleo-elétron (3º termo) e repulsão núcleo-núcleo (4º termo). Onde m_e é referente à massa do elétron, M_I à massa do núcleo, Z_I às coordenadas nucleares e (e) à carga dos elétrons^[89].

$$\hat{H} = - \sum_{i=1}^n \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_i^2 - \sum_{I=1}^M \frac{\hbar^2}{2M_I} \nabla_I^2 + \sum_{I=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{Z_I e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{Ii}} + \sum_{I=1}^{M-1} \sum_{J=1}^M \frac{Z_I Z_J e^2}{4\pi\epsilon_0 r_{IJ}} \quad (1.14)$$

Esse operador pode ser simplificado por meio da mudança de unidades e da aproximação de Born-Oppenheimer, que leva em consideração a massa do núcleo ser muito maior que a do elétron (cerca de 2000 vezes). Portanto, os núcleos se movem muito mais lentamente que os elétrons sendo possível ignorar sua energia cinética e considerar os elétrons como se movendo num campo de núcleos fixos, negligenciando a energia cinética nuclear e considerando constante a repulsão núcleo-núcleo. A solução da Equação de Schrödinger independente do tempo então pode ser feita com a Função de Onda Eletrônica (Ψ_{Elet}) para um Hamiltoniano Eletrônico ($\hat{H}_{Elet}$) em termos das coordenadas eletrônicas e das coordenadas nucleares (obtidas parametricamente)^[81].

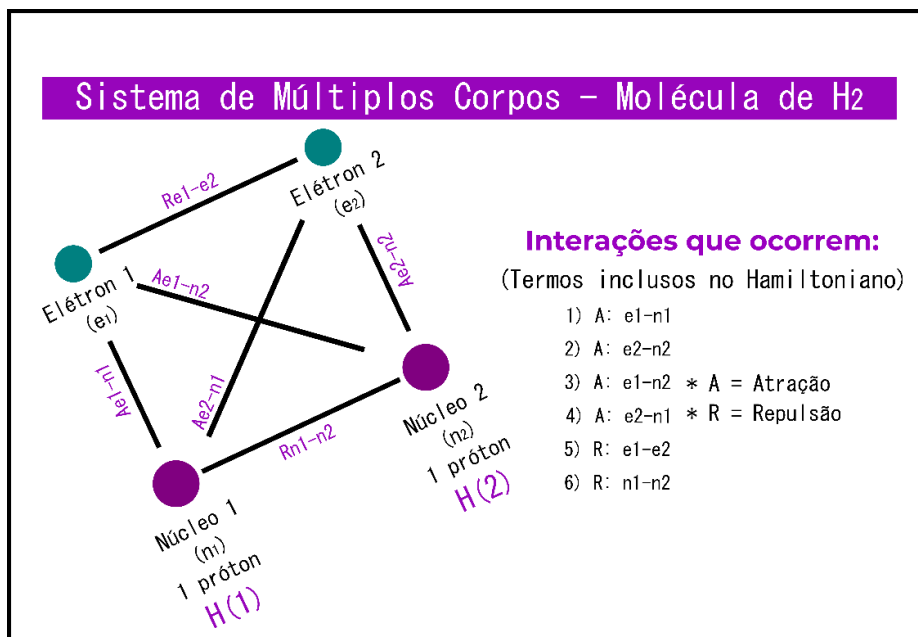
1.3.8 Problema dos Três Corpos e Princípio Variacional

Para sistemas de múltiplos corpos, como por exemplo a molécula de hidrogênio (H_2) (Figura 12), constituída por dois elétrons (e_1 e e_2) e dois núcleos, cada núcleo com um próton (n_1 e n_2), o operador hamiltoniano também é separado em termos referentes à energia cinética eletrônica, energia cinética nuclear e em termos que consideram a atração elétron-núcleo e a repulsão elétron-elétron existentes. Porém, em sistemas de múltiplos corpos, o movimento do e_1 afeta no movimento do e_2 , e vice-versa, impossibilitando a simplificação do termo referente à essa repulsão elétron-elétron no operador Hamiltoniano, não sendo possível solucionar a Equação de Schrödinger de forma exata, com sua solução explícita ocorrendo apenas para o átomo de hidrogênio^[87].

Como solução para esse problema surge o método variacional que serve como base para grande parte da Mecânica Quântica e nele é suposto uma forma apropriada da Função de Onda por meio de uma função tentativa (Φ) análoga à um Orbital Molecular. Essa função tentativa consiste em funções de base do tipo Gaussianas que possuem solução analítica. Na Equação 1.15 é apresentado um exemplo de função tentativa para o orbital 1s do átomo de hidrogênio possuindo valores de α fixos^[90]

$$\Phi = \left(\frac{2\alpha}{\pi} \right)^{3/4} e^{-\alpha r} \quad (1.15)$$

FIGURA 12 - Representação de um Sistema de Múltiplos Corpos com a molécula de H_2 contendo 2 núcleos e 2 elétrons e as interações atrativas e repulsivas existentes entre as partículas.



Fonte: A Autora.

Porém uma função gaussiana simples nunca é uma boa função tentativa, então é utilizado uma Combinação Linear de Funções de Base (funções análogas aos Orbitais Atômicos) e elas são bem definidas durante a realização dos cálculos (Equação 1.16). A abordagem variacional tenta adivinhar a forma mais parecida possível da Função de Onda original e para isso a função tentativa deve atender à certas restrições para ser válida.

$$\Phi = \sum_{i=1}^N \alpha_i \phi_i \quad (1.16)$$

O termo α_i é referente aos coeficientes da expansão linear, sendo modificados de forma a minimizar a energia e a função tentativa (Φ) é otimizada para encontrar a melhor relação entre E_i e α_i . O cálculo da energia da Função Tentativa é feito através das integrais de ressonância (H_{ij}) referentes aos estados (um de menor e outro de maior energia, análogos aos orbitais ligantes e anti-ligantes) e das Integrais de Sobreposição (S_{ij}) (valor entre -1 e +1 indicando as regiões de sobreposição e a fase) normalizadas originando equações complexas de N variáveis (Equações Seculares). Esse cálculo de otimização para encontrar a energia dos mínimos (Pontos Estacionários) ocorre de forma muito similar à relaxação de geometria realizada na SEP (Equação 1.17), porém em termos dos coeficientes α_i ao invés de ser em termos das coordenadas. O valor de energia encontrado para a Função Tentativa é comparado com a energia do Estado Fundamental (E_0)^[72].

$$\frac{\partial E}{\partial \alpha_1} = \frac{\partial E}{\partial \alpha_2} = \dots = \frac{\partial E}{\partial \alpha_i} = \dots = \frac{\partial E}{\partial \alpha_N} = 0 \quad (1.17)$$

A Função Tentativa para as moléculas é selecionada tendo como suposição que cada elétron ocupa um Orbital Molecular, podendo estar deslocalizado ao longo de todos os átomos e dependendo das coordenadas espaciais e do spin, introduzido de forma ortonormal. Essa função também deve satisfazer o Princípio da Exclusão de Pauli (dois elétrons não podem estar no mesmo estado), ser antissimétrica e não distinguir entre os elétrons^[89].

1.3.9 Hartree-Fock (HF)

A Equação de Schrödinger é solucionada através do produto de Orbitais Moleculares (Equação 1.18) também chamado de Produto de Hartree (HP) onde o símbolo (χ_i) é referente às Funções de Onda dos Orbitais Moleculares e o símbolo (x_i) aos elétrons.

$$\tilde{\Psi}^{HP}(x_1, x_2, \dots, x_i, x_j, \dots, x_N) = \chi_1(x_1)\chi_2(x_2) \dots \chi_i(x_i)\chi_j(x_j) \dots \chi_N(x_N) \quad (1.18)$$

A probabilidade de encontrar os elétrons nos orbitais é tratada de forma independente, pois do ponto de vista matemático a probabilidade de que o elétron 1 (e_1) está na posição dx_1 é independente da probabilidade de que o elétron 2 (e_2) está em dx_2 e assim por diante. Sendo assim, o Produto de Hartree negligencia as interações instantâneas existentes entre elétron-elétron e para um sistema de N elétrons o elétron 1 (e_1) sente a repulsão de Coulomb média dos outros N-1 elétrons. Porém, na realidade o movimento do e_1 irá depender do movimento de todos os outros elétrons (Efeito de Correlação Eletrônica).

Para obtenção da energia os elétrons são tratados como uma nuvem eletrônica de distribuição de carga (não como cargas pontuais) e ela é calculada através do Potencial de Coulomb (Equação 1.19) para múltiplas cargas onde os elétrons estão espalhados por todos os valores de r . Em valores contínuos, a soma para o cálculo de Energia se torna uma integral e é calculada para os dois elétrons do sistema^[81].

$$v_{Coul}(r_1) = \sum_i \frac{Q_i(r_i)}{r_{1i}} \quad (1.19)$$

A função de onda obtida através do produto de Hartree ($\tilde{\Psi}^{HP}$) não apresenta uma forma válida, pois ela viola as restrições de indistinguibilidade entre os elétrons e anti-simetria que a Função Tentativa deve assumir. Para superar esses problemas, a função é representada como uma combinação linear de funções de onda representadas com o auxílio de um determinante, como o determinante de Slater para um sistema de N elétrons (Equação 1.20). Nesses

determinantes as colunas são rotuladas pelos Orbitais Moleculares (χ_i) e as linhas pelos elétrons (x_i). Essa notação de matriz pode ser escrita de forma abreviada e compacta, como representado pela Equação 1.21^[81].

$$\Psi^{SD}(x_1, x_2, \dots, x_i, x_j, \dots, x_N) = (N!)^{-1/2} \begin{vmatrix} \chi_1(x_1) & \chi_2(x_1) & \dots & \chi_N(x_1) \\ \chi_1(x_2) & \chi_2(x_2) & \dots & \chi_N(x_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(x_N) & \chi_2(x_N) & \dots & \chi_N(x_N) \end{vmatrix} \quad (1.20)$$

Com base nas propriedades dos determinantes de matrizes as restrições da Função Tentativa apresentar anti-simetria e da impossibilidade de dois elétrons ocuparem o mesmo orbital são cumpridas, satisfazendo o Princípio da Exclusão de Pauli (dois elétrons de mesmo spin não podendo ocupar o mesmo ponto no espaço). Sendo assim, a probabilidade não é apenas um produto e sim uma correlação dos elétrons de mesmo spin através de um Determinante de Slater. Esse fenômeno é chamado de Troca-Correlação e é contabilizado por dois termos que realizam a troca entre as coordenadas eletrônicas com diferentes coordenadas espaciais. Portanto, os elétrons de spins opostos são tratados de forma independente (negligenciando as interações de Coulomb instantâneas) e esses elétrons estão correlacionados através de interações de troca, satisfazendo o Princípio de Pauli e melhorando significativamente o Produto de Hartree^[90].

$$\Psi^{SD}(x_1, x_2, \dots, x_i, x_j, \dots, x_N) = |\chi_1\chi_2, \dots, \chi_i\chi_j, \dots, \chi_N\rangle \quad (1.21)$$

Os cálculos a partir do método Hartree-Fock (HF) servem como base para todos os métodos em Química Quântica, desde os métodos *ab initio* construídos sobre cálculos HF, até os cálculos pela DFT que se parecem muito com os cálculos HF e nos métodos semiempíricos que envolvem aproximações com base na teoria de HF. No método HF a resolução da Equação de Schrödinger independente do tempo (Equação 1.13) para um sistema de M núcleos e N elétrons é feita através de uma Otimização Variacional de Funções de Onda de forma a encontrar a relação entre a Energia e os Orbitais Moleculares. Para essa resolução é utilizado um operador Hamiltoniano Total com a aproximação de Born-Oppenheimer, uma Função Tentativa que consiste em um Determinante de Slater e com os Orbitais Moleculares sendo expressos como uma combinação linear de Funções de Base (Equação 1.22).

$$\chi_i(x) = g(\omega) \sum_{v=1}^K c_{vi} \phi_v(r) \quad (1.22)$$

A solução da equação ocorre através dos coeficientes de expansão (c_i) como Parâmetros Variacionais dos Orbitais Moleculares. A função $g(\omega)$ representa a função spin e as funções de base (ϕ) possuem uma forma fixa com seu conjunto de base em termos de orbitais

atômicos sendo definido durante a realização dos cálculos computacionais. A energia obtida pelo método Hartree-Fock (Equação 1.23) envolve um termo referente à energia de um único elétron (um Orbital Molecular) e também um termo referente à Integral de Coulomb (J_{ab}) e outro referente à integral de troca (K_{ab}). A integral de coulomb representa a interação da repulsão eletrônica de dois Orbitais Moleculares (a) e (b) entre suas duas nuvens uniformes de carga e a integral de troca realiza a troca de coordenada dos elétrons nos Orbitais Moleculares (a) e (b), garantindo sua indistinguibilidade e atendendo ao Princípio da Exclusão de Pauli. A Integral de Coulomb não contabiliza essa correlação e superestima a Energia Repulsiva, pois isso a Integral de Troca possui um sinal negativo e reduz a energia do sistema com os elétrons de mesmo spin se evitando. Para obtenção da energia total do sistema essa Energia de um único elétron (h_{aa}) deve ser somada por todos os elétrons do sistema^[72].

É adotada essa Abordagem Variacional de forma a minimizar a energia Hartree-Fock (E_{HF}) com a alteração dos coeficientes dos Orbitais Moleculares sujeitos à restrições. Todos os valores obtidos são aproximados, pois a Função de Onda tem uma forma aproximada e o termo de correlação eletrônica é ignorado.

$$E_{HF} = \sum_{a=1}^N h_{aa} + \frac{1}{2} \sum_{a=1}^N \sum_{b=1}^N [J_{ab} - K_{ab}] \quad (1.23)$$

A aproximação para o cálculo de energia ocorre com a introdução de um operador denominado Operador de Fock ($\hat{f}$), (representado na Equação 1.24). Esse operador apresenta uma decomposição na soma de um Operador Hamiltoniano de energia cinética dos termos mais internos (core) ($\widehat{h}_a$), um operador de Coulomb que contabiliza a Repulsão de Coulomb média da nuvem de carga ($\widehat{J}_b$) e um operador de Troca de coordenadas dos elétrons ($\widehat{K}_b$). Para a solução da equação e obtenção de propriedades como a energia total (E_T) esse operador de Fock ($\hat{f}_a$) será utilizado para resolver os orbitais moleculares de maneira individual e os orbitais obtidos serão então utilizados na construção do determinante de Slater^[90].

$$\hat{f}_a(x_1)\chi_a(x_1) = \epsilon_a\chi_a(x_1) \quad (1.24)$$

O método Hartree-Fock também pode ser aplicado para casos específicos como no método Hartree-Fock restrito (RHF), também conhecido como método de camada fechada, onde a molécula apresenta todos os elétrons emparelhados, com 2 elétrons por orbital espacial e com a construção de um determinante de Slater restrito com o cálculo de propriedades prosseguindo de maneira iterativa (*Self-Consistent Field* - SCF). Também existem os casos que apresentam elétrons desemparelhados e são chamados de métodos de camada aberta que podem ser solucionados de maneira restrita (ROHF) considerando que alguns elétrons estão

desemparelhados (número especificado através da multiplicidade da molécula) e os outros elétrons são considerados como emparelhados, porém esse método restrito não é muito utilizado, pois não contabiliza a polarização de Spin. Outro método de camada aberta é o não-restrito (UHF) onde os elétrons são separados em orbitais moleculares diferentes e todos são tratados de maneira distinta (α e β), parâmetro também especificado através da multiplicidade. Nesse método não ocorre emparelhamento entre os elétrons nos orbitais moleculares, as matrizes densidade são construídas separadamente, não ocorrendo contaminação de spin e contabilizam a polarização de spin^[72].

1.3.10 Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

Os métodos quânticos para o cálculo e obtenção de propriedades moleculares são baseados na Função de Onda contendo todas as informações a respeito do sistema. Para a DFT, os cálculos são baseados na Densidade Eletrônica ($\rho(r)$), proporcionando uma redução no custo computacional e aumento da precisão do cálculo. Essa densidade eletrônica é referente a um estado específico e consiste no número de elétrons por unidade de volume naquele estado. Semelhante aos métodos anteriores, é utilizada uma densidade eletrônica tentativa que mais se aproxima da densidade eletrônica original e um funcional universal para o cálculo da energia. Os núcleos são considerados como cargas pontuais ou potenciais efetivos. As posições nucleares são caracterizadas por máximos locais na densidade eletrônica^[91]. Todavia, não existe um formalismo simples para a determinação da energia a partir da densidade eletrônica. Dada uma $\rho(r)$ conhecida, o operador Hamiltoniano ($\hat{H}$) será construído para encontrar uma relação direta entre a energia e a densidade eletrônica. Para encontrar essa relação foram propostos dois teoremas por Hohenberg-Kohn:

1. *"A Energia do Estado Fundamental de um sistema é unicamente determinada pela Densidade Eletrônica do Estado Fundamental ($\rho(r)$)."*

O primeiro teorema é denominado como um teorema de existência e descreve a existência de uma relação única entre a energia do estado fundamental e a densidade eletrônica do estado fundamental sendo essa energia um funcional da densidade eletrônica (Equação 1.25) a partir da qual outras propriedades do sistema também podem ser expressas como funcionais. Um funcional é uma função cujo argumento é dependente de outra função. Esse primeiro teorema descreve que a relação existe, porém não descreve qual é essa relação.

$$E = E[\rho(r)] \quad (1.25)$$

No segundo teorema, Hohenberg-Kohn apresentam que a densidade eletrônica pode ser encontrada variacionalmente de modo correspondente a Ψ e existe uma correspondência única entre elas (Ψ e ρ).

2. *"Pode-se definir um funcional universal para a energia em termos da densidade eletrônica do sistema ($E[\rho(r)]$). A energia exata do estado fundamental é o valor mínimo deste funcional, para qualquer potencial externo específico ($v_{Ext}(r)$) e a densidade ($\rho(r)$) que minimiza o funcional é a densidade exata do estado fundamental do sistema eletrônico sendo possível de ser obtido através do método variacional."*

Para resolução dos cálculos e obtenção das propriedades do sistema é preciso saber como a energia e a densidade eletrônica estão relacionadas, porém a forma exata do funcional da energia é desconhecida e cientistas desenvolveram um grande número de funcionais aproximados. Como exemplo, é possível citar o modelo proposto em 1927 por Thomas-Fermi e no modelo proposto através das equações de Kohn-Sham. A novidade no formalismo da DFT é a possibilidade de cálculos exatos das propriedades eletrônicas através do funcional exato do termo de troca e correlação^[69].

Na DFT, apesar do funcional da densidade ($F[\rho(\vec{r})]$) não possuir uma forma analítica conhecida, os Teoremas propostos por Hohenberg-Kohn garantem que ele é um funcional da densidade e a forma desse funcional foi proposta por Kohn e Sham, correlacionando um sistema de elétrons interagentes (muitas partículas) com um sistema de elétrons não interagentes (partícula única), com ambos os sistemas possuindo a mesma densidade ($\rho(\vec{r})$) no estado fundamental e sujeitos à um potencial externo ($v_{Ext}(\vec{r})$). As equações propostas por Kohn e Sham são muito semelhantes às Equações de Hartree, porém contêm um termo que representa o potencial de troca e correlação ($v_{XC}(\vec{r})$), derivados do funcional energia de troca e correlação ($E_{XC}[\rho(\vec{r})]$). Esse termo referente à troca e correlação contém todos os efeitos (interações) presentes nos sistemas de múltiplos corpos que antes não eram considerados na teoria Hartree-Fock.

Atualmente, os cálculos realizados empregando a DFT em moléculas são baseados na abordagem de Kohn-Sham e nos dois teoremas propostos por Hohenberg e Kohn, citados anteriormente. O funcional energia total do sistema eletrônico está representado na Equação

1.26, com o funcional de energia escrito em termos de $F[\rho(\vec{r})]$, um funcional universal e não dependente do sistema estudado^[69].

$$E[\rho(r)] = T[\rho(\vec{r})] + U[\rho(\vec{r})] + V_{Ext}[\rho(\vec{r})] = V_{Ext}[\rho(\vec{r})] + F[\rho(\vec{r})] \quad (1.26)$$

O funcional $F[\rho(\vec{r})]$ não possui forma analítica conhecida, porém os teoremas de HK garantem que ele é um funcional da densidade eletrônica. Kohn e Sham propuseram uma forma para esse funcional ($F_{KS}[\rho(\vec{r})]$), sendo o funcional energia total do sistema escrito como dado na Equação 1.27.

$$E[\rho(r)] = \int v_{Ext}\rho(\vec{r})d(\vec{r}) + \iint \frac{\rho(\vec{r})\rho(\vec{r}')}{|\vec{r}-\vec{r}'|} d(\vec{r})d(\vec{r}') + T_S\rho(\vec{r}') + E_{XC}\rho(\vec{r}') \quad (1.27)$$

Assim como na teoria HF, essas equações de Kohn-Sham podem ser resolvidas utilizando também do princípio variacional. Dentre aproximações e resoluções, a Equação de Kohn-Sham para um único elétron pode ser escrita como dado na Equação 1.28 (em unidades atômicas e energias em Rydberg). O funcional de troca e correlação da energia (E_{XC}) não possui forma exata e atualmente existem várias aproximações para este termo. Como principais exemplos podemos citar a aproximação de densidade local (*Local Density Approximation* - LDA) e a aproximação de gradiente generalizado (*Generalized Gradient Approximation* - GGA)^[72].

$$\left\{ -(\nabla)^2 + v_{Ext}(\vec{r}) + 2 \int \frac{\rho(\vec{r}')}{|\vec{r}-\vec{r}'|} d(\vec{r}') + v_{XC}(\vec{r}) \right\} \phi_k(\vec{r}) = \epsilon_k \phi_k(\vec{r}) \quad (1.28)$$

1.3.11 Estados Excitados (TD-DFT)

Além da obtenção de propriedades moleculares do estado fundamental, a DFT também possui formalismo para a descrição das propriedades dos estados excitados das moléculas. A simulação dos espectros de absorção UV indica a estimativa dos comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}). Esse parâmetro é importante para estudo de grupos cromóforos e desempenho de atividade fotoprotetora. Desde muito tempo, métodos teóricos são aplicados para estimativa dos comprimentos de absorção máximo das moléculas, desde as abordagens *ab initio* até a DFT. Como, por exemplo, o método semiempírico ZINDO utilizado na estimativa dos λ_{MAX} do azul de metileno^[92]. A principal vantagem da TD-DFT sobre os métodos *ab initio* é o seu formalismo

exato. O uso de funcionais híbridos reduz consideravelmente o tempo e o custo computacional associados com a realização dos cálculos. O *input* utilizado também é muito menos complexo do que o utilizado em outros métodos, além de não ser dependente do sistema. Outro fato é o acoplamento da TD-DFT com outros modelos, como solventes, biomoléculas, metais e sólidos^[93].

1.3.12 Funcionais e Conjuntos de Funções e Base

As Funções de Base possuem uma forma matemática que possibilita uma boa representação da densidade eletrônica e permitem a descrição da densidade eletrônica proveniente dos orbitais do *core* do átomo, incluindo as ligações químicas, os pares isolados, entre outros. Para essa maior densidade eletrônica são utilizadas um maior número de funções para que seja feita uma descrição mais minuciosa dessa densidade. O conjunto de Funções de Base também precisa incluir a descrição da densidade eletrônica que se encontra mais distante do núcleo e essa descrição é feita de forma mais simples, por se tratar de uma densidade eletrônica menor que a do *core*. Essas funções precisam facilitar a realização dos cálculos computacionais, principalmente no que diz respeito ao cálculo da integral da repulsão Coulombiana (J_{ab}) existente entre dois elétrons, que pode também incluir a parte da troca e correlação eletrônica.

Do ponto de vista Químico, os Orbitais Moleculares podem ser representados de maneira intuitiva como uma combinação linear de Funções de Base compostas por Orbitais Atômicos esféricos (orbitais s) e orbitais polarizados (orbitais p) (Equação 1.22). Uma forma alternativa para essa representação, que também é válida matematicamente, é combinar pequenas Funções de Base para construção dos orbitais moleculares que possuem a vantagem de todas as funções serem esféricas e muito mais fáceis de serem computadas. Essas funções serão definidas por ϕ_v e pelos diferentes coeficientes (c_{vi}) envolvidos na combinação linear, formando o conjunto de Funções de Base representando os Orbitais Moleculares. Sempre serão utilizadas o menor número possível (mínimo) de funções para descrição do sistema com precisão, visando a otimização do custo e do tempo envolvidos na execução dos cálculos computacionais.

A maioria dos programas computacionais utilizam Funções de Base que são centradas em átomos específicos e para esse tipo de funções são utilizados orbitais do tipo Slater, muito similares aos orbitais 1s do átomo de hidrogênio. Como descrito na Equação 1.29, esse orbitais

contém um fator de normalização, o coeficiente α que controla a taxa de decaimento exponencial da Função de Onda e os valores da posição dos átomos do núcleo nos quais a função está centrada.

$$\phi_s = \left(\frac{\alpha}{\pi}\right)^{1/2} e^{-\alpha|r-R_A|} \quad (1.29)$$

Para a construção das funções de onda atômicas (em termos de orbitais atômicos - ϕ_i) são utilizadas funções matemáticas do tipo Slater ou do tipo Gaussianas (*Slater-type Orbitals* - STOs ou *Gaussian-type Orbital* - GTOs). Quando o número de funções que serão utilizadas para representar cada orbital ocupado em um determinado átomo ou molécula no estado fundamental é mínimo são utilizadas as funções do tipo Slater (STOs). Esse conjunto apresenta maior custo computacional sendo utilizado apenas para resultados qualitativos, como no caso de moléculas muito grandes e para resultados quantitativos de alguns átomos^[87].

Na metodologia introduzida por Pople (valência) as funções que são utilizadas para essa representação são expressas como um conjunto de funções de base onde o primeiro número representa a camada mais interna (core), os últimos números representam a camada de valência que é descrita de forma mais minuciosa com sua divisão na sua parte interna e na sua parte mais externa para uma melhor descrição e a letra indica o tipo da função matemática utilizada (letra G - Gaussiana). Como exemplo podemos citar o conjunto de base 3-21G onde 3 funções Gaussianas primitivas são utilizadas para descrição da camada mais interna (core), 2 funções são utilizadas para descrição da camada de valência interna, 1 função é utilizada para descrição da valência externa e a letra G simboliza a função tipo Gaussiana.

Em 1977 ocorreu a introdução das funções de polarização para uma melhor descrição das interações de longo alcance com as distorções que podem ocorrer nos orbitais atômicos em relação ao seu formato original através da introdução da função de polarização do tipo (d) simbolizada por um asterisco (*) e da função de polarização do tipo (d,p) simbolizada por 2 asteriscos (**). Quando se tratam de ânions, de moléculas que possuem pares isolados ou de moléculas no estado excitado é preciso considerar o movimento dos elétrons para longe do núcleo criando orbitais mais difusos. Essas funções difusas adicionais podem ser introduzidas pela notação de um símbolo (+) antes da letra no conjunto de base. Essas funções difusas são adicionadas para átomos específicos, como, por exemplo, para os átomos de hidrogênio (caracterizado por apenas um símbolo +). Se dois símbolos forem adicionados (++) as funções difusas serão incluídas em todos os átomos.

1.3.13 Aplicação da DFT na avaliação de Propriedades Moleculares

A Teoria Quântica pode ser aplicada para avaliação de propriedades das moléculas como a Energia Total, análise dos Orbitais Moleculares de Fronteira (HOMO e LUMO), o valor da diferença/lacuna de energia (gap), Potencial de Ionização (IP), "Dureza" e "Maciez" (Pearson) desempenham um papel importante na compreensão de vários fenômenos biológicos e de diferentes materiais. Os métodos empregados para obtenção dessas propriedades consideram as interações existentes entre os átomos em uma molécula e determinam sua estrutura eletrônica, geometria e níveis de energia tanto no Estado Fundamental (*Ground State*) quanto no Estado Excitado (*Excited State*).

Para melhor compreensão a respeito da reatividade molecular e da região ativa, os Orbitais Moleculares de Fronteira (*Frontier Molecular Orbitals* - FMOs) são analisados. O Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia (*Highest Occupied Molecular Orbital* - HOMO) representa a região com maior facilidade para doação de elétrons e passível de sofrer ataques eletrofílicos de outras espécies. De forma oposta, o Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital* - LUMO) representa a região com maior capacidade aceptora de elétrons, indicando o ataque na molécula por espécies nucleofílicas. A diferença de energia entre os orbitais LUMO e HOMO (gap ou lacuna) é um parâmetro que auxilia na compreensão da reatividade molecular. Se o valor do gap é elevado, existem um aumento na estabilidade cinética e uma redução da reatividade química molecular. Todavia, se o gap apresenta um valor baixo, isso indica uma diminuição da estabilidade cinética, facilitando a transferência de elétrons entre o HOMO e o LUMO durante as reações.

1.4 PRODUTOS NATURAIS E FOTOPROTEÇÃO

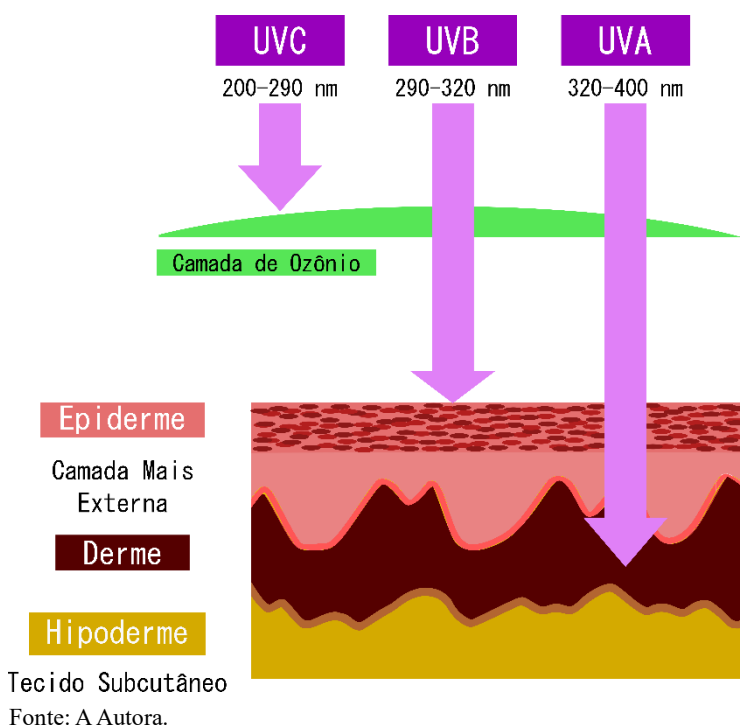
1.4.1 UVR e Faixas de Absorção

A fonte natural mais abundante da UVR é o sol e está compreendida na região do espectro eletromagnético entre os comprimentos de onda (λ) de 200 e 400 nm. A divisão está organizada de acordo com o poder de penetração e os danos que podem causar na pele em três faixas de absorção denominadas UVA, UVB e UVC (Figura 13). A região UVA compreende radiações com valores de λ entre 320 e 400 nm apresentando grande poder de penetração, atingindo as camadas mais internas da pele (derme), ocasionando danos ao DNA, oxidação dos

lipídios com a produção dos radicais livres, quebra da comunicação celular, modificação da expressão genética na resposta ao stress e enfraquecer a resposta imunológica da pele. A região do UVB envolve as radiações com valores de λ entre 290 e 320 nm com menor poder de penetração na pele (camada mais externa/superficial - epiderme).

Essa faixa de UVR, apesar de possuir menor poder de penetração na pele, é a mais prejudicial entre as três por causar danos imediatos, como queimaduras, câncer de pele e catarata. Em contrapartida, a faixa de valores de λ compreendida entre 200 e 290 nm corresponde à região UVC. Com menores λ e maior energia, essa radiação seria muito prejudicial aos organismos vivos, porém ela é bloqueada pela camada de ozônio e impedida de atingir a superfície terrestre^[94].

FIGURA 13 - Esquema representando as regiões de absorção UV, as faixas de comprimento de absorção de cada região e seu poder de penetração na pele.



1.4.2 Pele e Danos Causados pela Exposição Contínua à UVR

O maior órgão do corpo humano é a pele. Ela sofre danos constantes provenientes tanto de fontes internas quanto externas. Geralmente, os fatores internos são decorrentes do processo natural de envelhecimento celular. Entretanto, muitos fatores externos podem acelerar esse processo de degradação como a UVR, o uso do tabaco, uma nutrição inadequada e as desregulações hormonais. A exposição intensa e contínua à UVR é um dos danos externos mais

prejudiciais à pele causando a produção de radicais livres responsáveis pelo processo inflamatório da região atingida e consequente diminuição da sua capacidade de reparação, debilitando a síntese de colágeno, degradando as fibras de elastina e causando uma redução prematura na flexibilidade da pele e, conseqüentemente, acelerando seu processo de envelhecimento^[95]. Neste sentido, um dos maiores problemas de saúde ao redor do mundo é o câncer de pele. O Brasil é responsável por cerca de 20% do consumo mundial de protetor solar, sendo o líder mundial. O país apresenta uma incidência de 5% do câncer em sua forma melanoma, a mais agressiva, com uma taxa de mortalidade de 75%.

Os tipos mais comuns de manifestação de câncer de pele são o carcinoma de células basais (epiderme) e o carcinoma de células escamosas (epiderme e camadas mais internas de alguns órgãos)^[96]. O dano mais severo causado pela forte exposição à UVR é o câncer de pele que na sua forma mais grave recebe o nome de melanoma e afeta as células responsáveis pela produção do pigmento da pele, a melanina (melanócitos). Esses melanócitos são estimulados pela luz solar a produzirem de maneira descontrolada o pigmento que escurece a coloração da pele. Essa forma de câncer mais agressiva (melanoma cutâneo) é rara, porém ele é a forma mais grave por ser capaz de se espalhar rapidamente para outras partes do corpo^[97]. A manifestação do melanoma ocorre inicialmente com o aparecimento de pintas escuras com bordas irregulares (Figura 14) e a sua identificação é feita através de uma biópsia. Se a presença do melanoma for confirmada o tratamento é realizado através de sua retirada, porém caso ele já tenha se espalhado pelo corpo é necessário a realização de quimioterapias, radioterapias e a cura é muito difícil, sendo de extrema importância o diagnóstico precoce.

FIGURA 14 - Aspectos visuais para identificação de manchas na pele características do Melanoma.



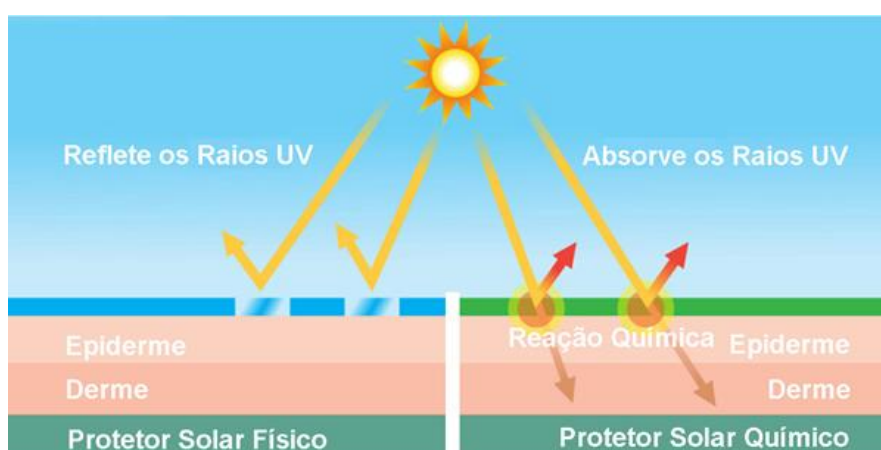
Fonte: A Autora.

1.4.3 Cosméticos Funcionais – Filtros Solares

Um protetor solar é qualquer preparação cosmética que possui a finalidade exclusiva de proteger a pele e os lábios contra a radiação nas faixas UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação. Se o cosmético não possuir como finalidade principal a proteção contra a UVR, mas apenas como um benefício adicional, ele recebe a classificação como produto multifuncional. Os compostos sintéticos que apresentam fotoproteção e podem ser empregados em formulações de filtros solares são espécies aromáticas fenólicas (poli álcoois) que apresentam em sua estrutura ligações duplas ($C=O$, $C=N$ e $C=C$) com conjugação π e heteroátomos (N e S) com elétrons livres que podem ser promovidos para estados excitados^[99].

Os filtros inorgânicos, também conhecidos como filtros físicos, são aqueles que protegem a pele refletindo ou dispersando a UVR (TiO_2 e ZnO). A principal vantagem do uso desses filtros físicos é que eles possuem uma alta foto estabilidade, uma atuação de amplo espectro (faixa UVB e UVA) e apresentam baixo potencial de irritação da pele (hipoalergênicos). A principal desvantagem do uso desses filtros físicos é o efeito esbranquiçado da pele, sua textura mais espessa e menor eficácia para atingir valores elevados de FPS, sendo necessária sua combinação com filtros orgânicos^[99]. A diferença entre os mecanismos de fotoproteção dos filtros físicos e químicos está representada esquematicamente na Figura 15.

FIGURA 15 - Representação da diferença nos mecanismos de desempenho da fotoproteção apresentados pelos Filtros Solares Físicos e pelos Filtros Solares Químicos.



Fonte: Rebello^[100].

Já os filtros orgânicos, também conhecidos como filtros químicos, são os que absorvem a UVR incidente e a convertem em outras forma de radiação que não é prejudicial para a pele (calor) por meio de excitações eletrônicas (Avobenzona, Octinoxato, Mexoryl SX e

XL, entre outros). Sua maior vantagem é serem esteticamente agradáveis, existir uma ampla variedade de filtros disponíveis (diferentes compostos e perfis de absorção), podem ser utilizados de maneira sinérgica ampliando sua faixa de absorção e alguns filtros são eficazes mesmo em baixas concentrações. A principal desvantagem desses filtros é apresentar uma elevada instabilidade fotossensível (perca de eficácia com sua degradação com a luz UV), também apresentam um maior poder de irritação e sensibilização da pele, além de causarem um maior impacto ambiental, pois alguns compostos empregados em sua formulação apresentam toxicidade aquática e causam danos aos recifes de corais^[99].

1.4.4 Regulação das Formulações de Filtros Solares no Brasil – ANVISA

No Brasil, a formulação de filtros solares é regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 30/2012 que estabelece os requisitos que para o uso de filtros solares em formulações de cosméticos. Segundo essa resolução, os protetores solares são classificados como cosméticos de grau 2 - aqueles que possuem função específica (proteção contra a UVR) e exigem a realização de testes para comprovação de sua segurança e eficácia. A ANVISA publica e atualiza uma lista com as moléculas que apresentam fotoproteção (filtros solares) permitidas para o uso em formulações. Essa lista leva em consideração avaliações toxicológicas e regulamentações estabelecidas por outras agências internacionais (União Europeia, FDA)^[101].

Para comprovação da eficácia dos filtros solares são realizados ensaios clínicos padronizados para determinação do Fator de Proteção Solar (FPS) que determina o grau de proteção contra região UVB e é o parâmetro mais importante a ser avaliado. Esses ensaios também determinam o Escurecimento de Pigmentação Persistente (PPD) que é utilizado para medição da proteção contra a radiação UVA. Se o protetor solar alegar ser um produto de amplo espectro de atuação são necessários testes espectrofotométricos que comprovem a proteção efetiva contra as radiações tanto na região do UVA quanto na região do UVB. Além da comprovação de sua eficácia a ANVISA também pode exigir ensaios complementares que comprovem a estabilidade da formulação, resistência à água, compatibilidade do produto com o recipiente em que será comercializado, avaliação dos riscos toxicológicos dos ingredientes presentes em sua composição e da segurança dermatológica (testes de irritação, sensibilização, foto alergia e foto toxicidade)^[102].

Para que o protetor solar possa ser comercializado no mercado brasileiro o produto deve estar registrado como cosmético de grau 2 (sistema online de registro da ANVISA) e deverá ser apresentado um dossiê contendo a fórmula (qualitativa e quantitativa), os laudos técnicos dos testes de eficácia e segurança e dos estudos de compatibilidade e estabilidade, além de um relatório da rotulagem para confirmação de que todas as informações e frases obrigatórias (FPS, modo de uso e precauções) estão inclusas. As empresas também devem operar segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF) com um controle rigoroso de matérias-primas, etapas de produção, armazenamento e transporte. Existem algumas restrições a respeito do uso do ácido para-aminobenzoico por riscos de sensibilização e também a respeito do uso de nanopartículas em filtros inorgânicos (TiO_2 e ZnO), podendo ser exigidas avaliações específicas de segurança^[101].

1.4.5 Determinação do Fator de Proteção Solar – FPS

O Fator de Proteção Solar (FPS) é obtido através de ensaios experimentais (*in vitro*) e a partir de testes com animais (*in vivo*) que são regulamentados por agências internacionais como a agência Europeia *Cosmetics Europe* (antiga COLIPA). Os testes *in vitro* seguem a metodologia: COLIPA - Guia FPS radiação UVA^[103] e os testes *in vivo* a metodologia: COLIPA - Testes de Eficácia^[104] e COLIPA - Medida FPS^[105]. Os ensaios experimentais ocorrem utilizando um Espectrofotômetro de Reflectância com Esferas Integradas, o equipamento mais apropriado para realização de medidas de absorção e transmissão da UVR por materiais opacos, como no caso dos cosméticos. Essas medidas são feitas utilizando placas de quartzo ou biomembranas^[106].

Após a realização das medidas espectrofotométricas, o FPS é calculado através do quociente (Equação 1.30) envolvendo a Energia UV necessária para produzir uma Dose Mínima Eritematosa na pele foto protegida (DME_{PP}) com a Energia UV necessária para produzir uma Dose Mínima Eritematosa na pele sem proteção (DME_{PNP}).

$$\text{FPS} = \frac{\text{DME}_{PP}}{\text{DME}_{PNP}} \quad (1.30)$$

Uma Dose Mínima Eritematosa (DME) é a dose mínima de UVR necessária para produzir a primeira reação eritematosa (vermelhidão) perceptível na pele com bordas claramente definidas, sendo observada entre 16 e 24 horas após a exposição à UVR^[103].

1.4.6 Moléculas Naturais e Fotoproteção

Muitas moléculas naturais apresentam capacidade de absorção da UVR para proteção da pele (fotoproteção) podendo ser utilizadas como uma fonte biodegradável e sustentável na formulação de filtros solares. Além disso, também é possível sua combinação com outros filtros sintéticos (sinergismo) e desempenho de sua ação de forma adjuvante melhorando a eficácia do produto final, ajudando na sua estabilidade e potencializando o Fator de Proteção Solar (FPS). A adição de Moléculas Naturais que apresentam Fotoproteção (como os flavonoides) em conjunto com moléculas sintéticas em formulações de protetores solares apresentam um efeito sinérgico com aumento do valor do Fator de Proteção (FPS). Isso é observado nos estudos realizados a respeito da adição de Rutina 0,1% (m/m) na molécula sintética butil metoxidibenzoilmetano (Avobenzona) 3,0% (m/m), uma molécula sintética comumente utilizada como filtro solar, contribuindo com o aumento do Fator de Proteção Solar (FPS) em 70% e da atividade antioxidante em 40%^[107]. Também foi observado um aumento no fator de proteção (FPS 30) em outro estudo a respeito da incorporação de cerca de 10% de Rutina e Quercetina em emulsões (água em óleo) associadas com filtros inorgânicos (TiO₂ e ZnO)^[108].

Como exemplo desse efeito sinérgico também podemos citar os estudos a respeito da utilização dos derivados do ácido cinâmico (cinamatos) presentes na cera de carnaúba em sua forma livre ou de ésteres, em um encapsulamento com TiO₂, aumentando o FPS e a viscosidade da formulação. Além de um estudo a respeito do uso das isoflavonas (como a genisteína), também derivadas do ácido cinâmico e do ácido cafeico, e seu efeito na ampliação da região de absorção (UVA e UVB)^[5]. Na região da África Tropical uma flor nativa conhecida popularmente como Chama da Floresta ou Tulipeira-do-gabão (*Spathodea campanulata*), também bastante cultivada em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo (inclusive no Brasil), é utilizada como planta ornamental^[109]. Essa flor é pertencente à família Bignoniaceae e cresce como uma árvore de médio porte, com flores grandes e alaranjadas (Figura 16).

Pesquisas recentes demonstraram que os extratos dessa planta têm potencial para o uso em protetores solares devido à presença de compostos bioativos (Flavonoides, Taninos, Ácidos fenólicos e Triterpenoides) conhecidos por serem capazes de absorver a UVR e neutralizar radicais livres, protegendo as células da pele de danos oxidativos. Alguns extratos etanólicos, especialmente da casca e das folhas, mostraram boa absorção na faixa UVB e UVA em testes espectrofotométricos e estudos *in vitro* e *in silico* já mostraram atividade promissora do seu uso como filtro natural, com índices de FPS razoáveis, podendo ser utilizado como coadjuvante em

formulações^[109]. Outro exemplo é o gengibre chinês (*Boesenbergia rotunda*) pertencente à mesma família que o gengibre comum (*Zingiberaceae*) (Figura 17).

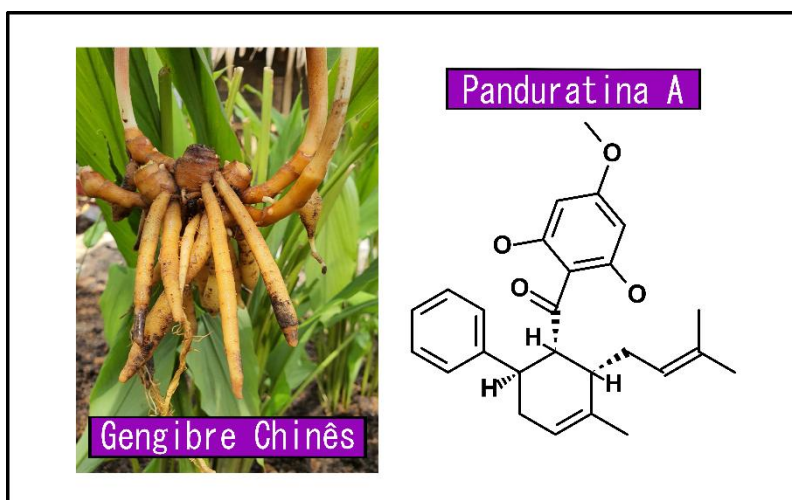
FIGURA 16 - Imagem das flores abertas de *Spathodea campanulata* (Chama-da-Floresta).



Fonte: Pinheiro Plantas^[110].

É uma planta nativa do Sudeste Asiático (Tailândia, China, Indonésia e Malásia) e muito utilizada na Medicina Tradicional Chinesa e Tailandesa. Essa planta é rica em compostos bioativos (Flavonoides: Pinostrobin, Panduratin A, Chalconas e Dihidrochalconas) e pesquisas recentes sugerem que o seu extrato pode ser utilizado como agente fotoprotetor natural com seu principal composto ativo (Panduratin A) absorvendo na faixa do UVB. Além disso, também colabora na prevenção dos danos induzidos pela exposição à UVR, redução do eritema (vermelhidão) da pele e inibe as metaloproteinases (MMPs) que estão associadas ao fotoenvelhecimento. Em estudos *in vitro* as formulações contendo seus extratos apresentaram FPS moderado e alta atividade antioxidante^[111].

FIGURA 17 - Imagem do Gengibre Chinês (*Boesenbergia rotunda*) e da estrutura de seu principal composto ativo (Panduratin A).

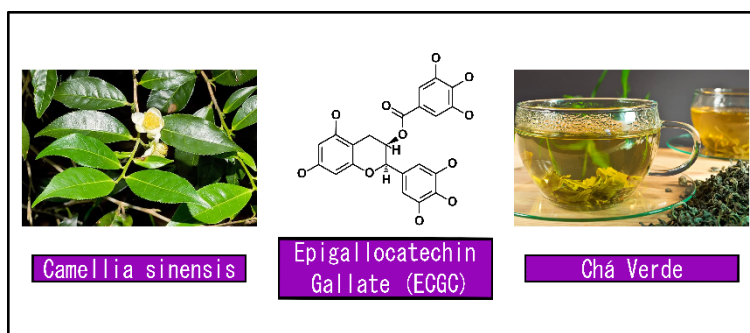


Fonte: Gengibre Chinês: Socfindo Conservation^[112] e Estrutura Panduratin A: A Autora.

As catequinas e as espécies polifenólicas (Epigallocatechin-3-gallate - EGCG) presentes no chá verde (*Camellia sinensis*) (Figura 18) também apresentam capacidade de absorção da UVR na faixa UVB e UVA, oferecendo proteção direta à pele além de também apresentarem ação antioxidante com a prevenção do envelhecimento precoce e proteção da pele contra danos inflamatórios^[113].

Algumas dificuldades técnicas são encontradas com o uso de moléculas naturais em formulações como a sua baixa estabilidade, que pode ser melhorada através das técnicas de encapsulamento com nanopartículas, lipossomas, ciclo dextrinas. Muitos ativos naturais também apresentam elevado peso molecular e um baixo poder de penetração, além de poderem resultar em uma coloração indesejada amarelada ou alaranjada no produto final. A área de pesquisa a respeito do uso de moléculas naturais em formulações de filtros solares é de grande tendência na atualidade e na literatura são encontrados alguns estudos visando a melhoria das formulações de uma forma mais sustentável (*Clean Beauty*)^[116,117]. O uso da nanotecnologia verde para o encapsulamento de ativos naturais, os estudos a respeito da combinação do seu uso com moléculas sintéticas e desempenho do seu efeito sinérgico e a exploração de extratos marinhos em formulações de filtros solares são alguns exemplos dos estudos que vem sendo realizados nessa área^[118]. A classe dos Flavonoides é muito interessante para essa aplicação em formulações de filtros solares, pois os compostos pertencentes à essa classe apresentam uma ação dupla. Eles desempenham sua fotoproteção por serem formados por sistemas conjugados que apresentam capacidade de absorção da UVR e também desempenham sua Atividade Antioxidante, com a captação das Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) que são geradas após a exposição à UVR, colaborando com a manutenção de uma barreira saudável na pele.

FIGURA 18 - Imagem da planta *Camellia sinensis*, seu principal componente poli fenólico (Epigallocatechin Gallate - EGCG) e do chá feito das suas folhas e botões (Chá Verde).



Fonte: Planta: Monaco Nature Encyclopedia^[114] e Chá Verde: Medicina Natural^[115]. Estrutura EGCG: A Autora.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar propriedades moleculares dos fitoquímicos flavonoides Kaempferol, Quercetina e Miricetina da planta *C. ternatea* através de cálculos computacionais (*in silico*) para obtenção de parâmetros físico-químicos do estado fundamental empregando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) e para os estados excitados a TD-DFT, visando a aplicação desses compostos em formulações cosméticas de protetores solares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar estudos para escolha do melhor nível de teoria (funcionais e conjuntos de funções de base) para descrição dos sistemas moleculares de interesse e realização dos cálculos computacionais tanto para o estado fundamental quanto para os estados excitados. Para tanto, testar a adição de funções de polarização do tipo (d) e do tipo (d,p) no conjunto de base 6-31G e testar os funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD;
- ✓ Obter as estruturas mais estáveis (menor energia) para as moléculas estudadas nos funcionais e conjuntos de base selecionados empregando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT);
- ✓ Confirmar as geometrias obtidas como sendo pontos de mínimo (mais estáveis) nas Superfícies de Energia Potencial (SEPs) com os cálculos das frequências vibracionais;
- ✓ Representar a distribuição espacial da densidade eletrônica (topologia) nos orbitais moleculares de fronteira (HOMO/LUMO), assim como seus respectivos parâmetros energéticos e energias de excitação vertical - ΔE_{Vert} (lacuna energética) existente entre eles nos diagramas de energia;
- ✓ Além da distribuição espacial, através das geometrias relaxadas (mais estáveis) obtidas avaliar estabilidade e reatividade molecular com a análise dos Orbitais Moleculares de Fronteira (FMOs), utilizando os Teoremas de Koopman e o método Orbital Vertical para correlacionar valores energéticos com Parâmetros de Reatividade Global (Afinidade Eletrônica (EA), Potencial de Ionização (IP), Eletronegatividade de Mulliken (χ), Dureza (η), Maciez (S), Potencial Químico (μ) e Índice de Eletrofilicidade de Parr (ω);
- ✓ Nas geometrias relaxadas obter comprimentos, ângulos de ligação das hidroxilas e ângulo diedro entre anéis C e B. Para validação do método, comparar os valores teóricos

de comprimentos e ângulos encontrados com estruturas cristalográficas (*Cambridge Structural Database* - CSD);

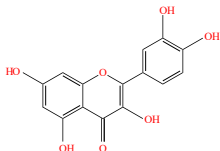
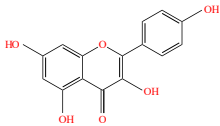
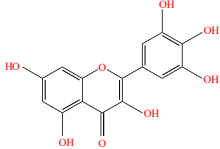
- ✓ Realizar estudos conformacionais em relação à orientação das hidroxilas para investigar a possibilidade de transferência de carga entre átomos com diferentes eletronegatividades com formação de interações intramoleculares (ligações de hidrogênio) para identificar as regiões mais relevantes para estabilidade molecular e as regiões de maior reatividade e interação nas estruturas das moléculas;
- ✓ Além disso, nos estudos conformacionais também avaliar a influência da rotação (torção) dos anéis C e B (ângulo diedro) na estabilidade das moléculas (ligações de hidrogênio) e reatividade realizando um scan de 13 pontos com a variação dos ângulos no passo de 30°;
- ✓ Analisar a distribuição populacional de cargas atômicas (Mulliken) e obter os Mapas de Potencial Eletrostático (MEP) a partir das distribuições e separação de cargas geradas no espaço utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d);
- ✓ Avaliar a capacidade de interação dos fitoquímicos com os solventes polares próticos água, etanol e 1,2-propanodiol (propileno glicol) através do modelo de Solvatação Implícita e Contínua (PCM) com o cálculo dos momentos de dipolo total ($\vec{\mu}$) e parâmetros termoquímicos (Energias de Solvatação - ΔG_{Solv}) para predição da espontaneidade de interação e escolha dos melhores solventes a serem utilizados em formulações cosméticas de protetores solares;
- ✓ Nos cálculos a respeito dos estados excitados com a simulação dos espectros de absorção UV, investigar as contribuições dos orbitais moleculares nas transições envolvidas dos dois estados excitados majoritários (maiores Forças de Oscilação (f)). Determinar os Comprimentos de Absorção máximos (λ_{MAX}) e Energias (E) associados por meio de cálculos pontuais através da TD-DFT nas estruturas otimizadas, tornando possível identificar as regiões de absorção no espectro das moléculas (UVA/UVB/UVC) visando avaliar a eficácia de sua aplicação em formulações cosméticas de protetores solares;
- ✓ Obter os espectros de Densidade Parcial de Estados (PDOS) dos átomos e hidroxilas para avaliação do padrão de reatividade de espécies nucleofílicas e eletrofílicas e o efeito de sua substituição em diferentes posições ao longo dos anéis das estruturas das moléculas.

3 METODOLOGIA COMPUTACIONAL

3.1 MOLÉCULAS ESTUDADAS

Dos fitoquímicos encontrados na planta *C. ternatea* foram selecionados para a realização dos estudos computacionais as moléculas Kaempferol, Quercetina e Miricetina por apresentarem similaridades estruturais, todas pertencerem à mesma classe de compostos (flavonoides) e à mesma subclasse (flavonóis) diferindo entre si apenas pelo número de hidroxilas substituídas no anel B de suas estruturas. As estruturas 2D desses compostos flavonoides estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Flavonoides estudados e suas respectivas estruturas 2D.

Flavonoides	Estruturas
Quercetina	
Kaempferol	
Miricetina	

Fonte: A Autora.

Por já existirem alguns estudos na literatura a respeito do principal sítio ativo para desempenho de Atividade Antioxidante e captura de radicais livres desses compostos ser o anel B, os cálculos computacionais realizados com essas moléculas visam colaborar com a obtenção de parâmetros importantes para avaliação da estabilidade molecular, reatividade, interação com solventes polares, identificação de possíveis sítios de interação com outras espécies (alvos biológicos) e capacidade de absorção da radiação UV com a identificação das regiões de absorção (UVA, UVB e/ou UVC). Esses parâmetros são fundamentais a serem considerados para verificação da viabilidade de aplicação dessas moléculas em cosméticos e/ou em produtos fitoterápicos, garantindo o desempenho de suas propriedades funcionais e uma boa compatibilidade (estabilidade) da formulação do produto final.

3.2 PROGRAMA, SOFTWARE DE VISUALIZAÇÃO E ESPECIFICAÇÕES

As Simulações Computacionais foram realizadas no cluster computacional do Grupo de Simulação Química (GSQ) da UEPG, formado no total por 16 computadores com sistema operacional Linux. Foram utilizados dois computadores para a realização dos cálculos dessa pesquisa, um equipado com um processador *AMD Phenom(tm) II X4 965 Processor*, com 4 núcleos físicos, 4 threads e 7,5GB de memória RAM e outro equipado com um processador *AMD Phenom(tm) II X6 1055T Processor*, com 6 núcleos físicos, 6 threads e 7,5GB de memória RAM. Os cálculos foram realizados utilizando o programa Gaussian 09 revisão A02^[119], com a licença adquirida pelo orientador desse trabalho. Para construção dos arquivos de entrada (*input*), análise das geometrias otimizadas em termos dos comprimentos e ângulos de ligação, visualização dos orbitais moleculares de fronteira (HOMO/LUMO), dos Mapas de Potencial Eletrostático (MEP) e dos espectros de absorção UV foi utilizado o software GaussView 6.0^[120] (interface gráfica) da mesma empresa Gaussian Inc. Para obtenção dos comprimentos, ângulos de ligação e ângulos diedro (θ) nas estruturas cristalográficas (arquivos .CIF) foi utilizado o software Mercury da própria base de dados (*Cambridge Crystallographic Data Centre - CCDC*)^[121].

3.3 NÍVEL DE TEORIA (FUNCIONAIS E CONJUNTOS DE FUNÇÕES DE BASE)

Os sistemas moleculares requerem a determinação do nível de teoria a ser utilizado para sua descrição e maior precisão nos resultados obtidos. Primeiramente, por ser amplamente utilizado na literatura na determinação de propriedades moleculares, foi testado o funcional híbrido B3LYP (Becke/3 parâmetros/Lee-Yang-Parr)^[122-125] para a realização dos cálculos e para representação dos átomos nas estruturas das moléculas foram testadas a adição das funções polarizadas do tipo (d) e do tipo (d,p) no conjunto de base 6-31G^[126,127]. Após esses estudos, também foram testados os funcionais M062X^[128] e ω B97XD^[129] para obtenção dos espectros UV, por se tratarem de funcionais específicos para descrição de interações intermoleculares de maior alcance, com a finalidade de verificação do efeito do seu uso na descrição das propriedades eletrônicas e na precisão dos resultados obtidos por TD-DFT, em comparação com o funcional B3LYP.

3.4 METODOLOGIA

As geometrias iniciais das moléculas foram construídas no software de visualização para obtenção dos arquivos de entrada (*input*) em coordenadas cartesianas. Com esses arquivos foram realizadas simulações computacionais (cálculos) empregando a Mecânica Quântica com o método da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) para avaliação de parâmetros físico-químicos, principalmente em termos de energia. Todos os sistemas foram otimizados em relação à Energia Total com precisão de 10^{-12} para obtenção das Superfícies de Energia Potencial (SEP) e os critérios de convergência adotados no método empregado (*Self-Consistent Field* - SCF) foram da ordem de 10^{-10} .

3.5 CÁLCULOS E SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS REALIZADOS

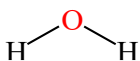
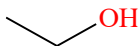
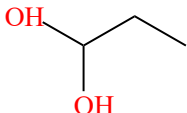
Para o estado fundamental, as propriedades eletrônicas e estruturais foram investigadas em termos dos valores de energia e da energia de excitação vertical (ΔE_{vert}) dos orbitais de fronteira (HOMO/LUMO) com a representação da distribuição da densidade eletrônica nesses orbitais em seus diagramas de energia. Foram realizadas análises a respeito da distribuição populacional de cargas atômicas (Mulliken) nos átomos presentes nas hidroxilas substituídas em diferentes posições ao longo dos anéis das estruturas das moléculas. A separação de cargas (polarizabilidade) ao longo das estruturas está representada em seus mapas de potencial eletrostático (MEP) onde são evidenciadas as regiões de alta e baixa concentração de densidade eletrônica susceptíveis aos ataques de espécies eletrofílicas e nucleofílicas, respectivamente.

Um estudo conformacional a respeito da capacidade de transferência de carga entre espécies com diferentes eletronegatividades também foi realizado para avaliar a capacidade de formação de interações intramoleculares (ligações de hidrogênio) e seu efeito na energia e estabilidade estrutural das moléculas. Para tanto, foram realizados cálculos com diferentes orientações das hidroxilas (espécie doadora) presentes no anel central (anel C) das moléculas em direção à carbonila (espécie aceptora) presente no mesmo anel. Também foram medidas as distâncias entre os hidrogênios e oxigênios para classificar a intensidade dessas interações.

Visando a aplicação dessas moléculas em formulações cosméticas foi estudado o modelo de interação com solventes polares próticos compatíveis com meios biológicos: água, etanol e 1,2-propanodiol (propileno glicol) empregando o modelo de solvatação implícita e contínua (PCM - *Polarizable Continuum Model*)^[130], suas estruturas 2D estão representadas na Tabela 2. A predição da espontaneidade de interação na formação de soluções e dissoluções foi feita por meio da análise de parâmetros termoquímicos como a energia de solvatação (ΔG_{Solv}).

Também foram realizados cálculos envolvendo os estados excitados através da TD-DFT com a avaliação dos 10 primeiros estados excitados e simulação dos espectros de absorção UV nos funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, no vácuo e em solventes comumente utilizados em ensaios experimentais espectroscópicos (metanol e etanol). Esses cálculos permitiram a identificação das regiões de absorção (UVA/UVB/UVC) das moléculas, comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}), além de possibilitarem a análise das transições eletrônicas envolvidas decorrentes das excitações dos elétrons, assim como dos orbitais envolvidos nas transições e suas contribuições.

Tabela 2 - Solventes utilizados nos estudos de interação (PCM) e suas respectivas estruturas 2D.

Solventes	Estruturas
Água	
Etanol	
Propileno Glicol	

Fonte: A Autora.

Para avaliação do padrão de reatividade em relação ao desempenho de atividade antioxidante pelas moléculas também foram obtidos os espectros da densidade parcial de estados (PDOS) das hidroxilas e dos átomos envolvidos (carbonos, hidrogênios e oxigênios). Utilizando os resultados dos cálculos realizados com o Gaussian para obtenção de parâmetros (discretos) a respeito dos orbitais moleculares, foi feito um tratamento matemático desses resultados (convolução) no software GaussSum3.0^[131] para obtenção dos espectros PDOS em um formato contínuo e suavizado utilizando uma função (Gaussiana). Foram adotados no programa os limites de energia de -15 eV a 8 eV e como largura dos picos/bandas (FWHM - *Full Width at Half Maximum*) o valor de 0,3 eV. A análise das bandas presentes nos espectros PDOS possibilitaram a identificação da atuação de espécies nucleofílicas e eletrofílicas através da distribuição da densidade eletrônica (bandas) ao longo dos orbitais atômicos das moléculas, principalmente nos orbitais próximos à fronteira.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

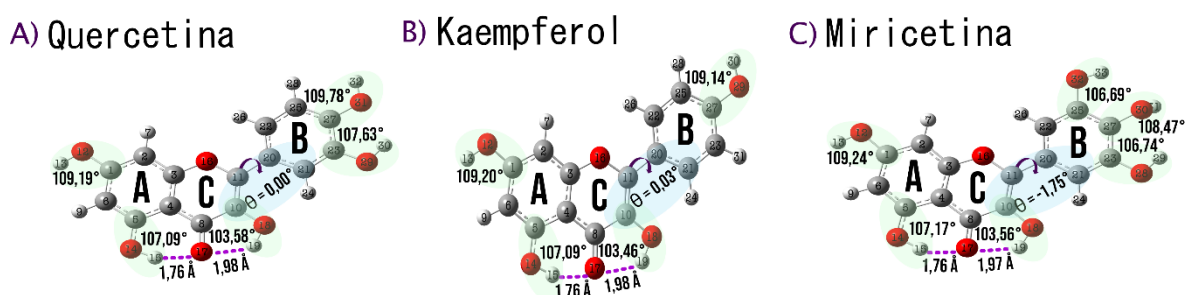
4.1 PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DO ESTADO FUNDAMENTAL (S_0)

4.1.1 RELAXAÇÃO DE GEOMETRIAS

➤ Escolha do Nível de Teoria (Conjunto de Funções de Base)

Primeiramente, as estruturas foram construídas no software de visualização (GaussView 6.0) e a partir delas foram geradas as matrizes em coordenadas cartesianas que correspondem aos sistemas moleculares em estudo/arquivos de entrada (*input*) com os quais foram realizados cálculos computacionais empregando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) e o funcional híbrido B3LYP. Os cálculos foram realizados primeiramente para obtenção das geometrias mais estáveis das moléculas em relação ao estado fundamental, no vácuo e sob configuração eletrônica singlete (moléculas neutras e sem a presença de elétrons desemparelhados). Na Figura 19 estão representadas as geometrias relaxadas obtidas para o estado fundamental das moléculas Kaempferol, Quercetina e Miricetina.

FIGURA 19 - Geometrias relaxadas das moléculas (A) Quercetina, (B) Kaempferol e (C) Miricetina obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singlete.



Fonte: A Autora.

Os conjuntos de funções de base 6-31G, 6-31G(d) e 6-31G(d,p) foram testados para verificar a influência da adição de funções de polarização do tipo (d) e do tipo (d,p) no conjunto 6-31G na descrição das propriedades eletrônicas dos sistemas moleculares. Na Tabela 3 são apresentados os valores de energia dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO) e da diferença de energia (energia de excitação vertical/gap) para as três moléculas estudadas. Em relação ao conjunto de base 6-31G a adição da função de polarização do tipo (d) (conjunto 6-31G(d)) ocasionou mudanças significativas, principalmente nos orbitais LUMO, com um aumento dos valores de energia e uma maior separação energética (ΔE_{vert}) entre os orbitais de fronteira (HOMO/LUMO). Após a adição das funções de polarização do tipo (d,p) não é observada uma

diferença energética tão significativa em relação ao conjunto 6-31G(d). Sendo assim, a utilização da função do tipo (d) é suficiente para descrição das propriedades eletrônicas dos sistemas moleculares, além de apresentar um menor custo computacional, em termos do tempo gasto para execução dos cálculos, sendo o conjunto escolhido para a realização de todos os estudos. Quando a estrutura da Quercetina é comparada com a do Kaempferol ela possui uma hidroxila adicional na posição 3' substituída na posição adjacente da hidroxila do anel B (grupo catecol) e isso afeta a estabilidade molecular refletindo diretamente nos parâmetros energéticos de seus orbitais de fronteira. Em comparação com o Kaempferol, os valores de energia obtidos para seu orbital LUMO são maiores, resultando em uma maior separação energética, e, conseqüentemente, uma necessidade de maior fornecimento de energia para ocorrência de excitações eletrônicas, influenciando diretamente na sua capacidade de absorção da radiação UV e nas regiões que essa absorção irá ocorrer.

Tabela 3 - Valores de energia dos orbitais de fronteira (HOMO/LUMO) e da diferença de energia (ΔE_{vert}) das moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina obtidos nos diferentes conjuntos de funções de base e utilizando o funcional B3LYP. Parâmetros obtidos para as moléculas no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.

Moléculas	6-31G			6-31G(d)			6-31G(d,p)		
	E _{HOMO} (eV)	E _{LUMO} (eV)	ΔE (eV)	E _{HOMO} (eV)	E _{LUMO} (eV)	ΔE (eV)	E _{HOMO} (eV)	E _{LUMO} (eV)	ΔE (eV)
Kaempferol	-5,497	-1,796	3,701	-5,279	-1,469	3,810	-5,279	-1,469	3,810
Quercetina	-5,687	-1,551	4,136	-5,714	-1,252	4,462	-5,497	-1,252	4,245
Miricetina	-5,415	-1,633	3,782	-5,442	-1,279	4,163	-5,279	-1,279	4,000

Fonte: A Autora.

Porém, essa diferença estrutural, em termos do desempenho de sua atividade antioxidante e reatividade com outras espécies (radicais livres), pode ser indicativo do favorecimento da doação de hidrogênios e neutralização de espécies com a presença de um sítio adicional (hidroxila). A molécula Miricetina apresenta mais uma hidroxila substituída em sua estrutura na posição 5' do anel B (grupo pirogalol). Em comparação com as duas moléculas anteriores, o mesmo comportamento é observado após a adição de funções de polarização do tipo (d) e do tipo (d,p) com o aumento de energia mais pronunciado no orbital LUMO e uma maior separação energética entre seus orbitais. A presença de mais uma hidroxila também irá refletir na capacidade de excitação de seus elétrons, assim como na absorção e regiões de absorção da radiação UV e no desempenho de sua atividade antioxidante.

➤ Frequências Vibracionais

O cálculo de frequências vibracionais é essencial para confirmação das geometrias relaxadas em relação aos estados eletrônicos fundamentais (S_0). Portanto, foram realizados os cálculos para obtenção das frequências e os respectivos valores obtidos, assim como os valores de intensidade IV de cada modo normal de vibração para as três moléculas são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Modos vibracionais com as respectivas frequências e valores de intensidade do IV para as geometrias relaxadas da Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singlete.

(Continua)

Modos	Kaempferol		Quercetina		Miricetina	
	Frequências (cm^{-1})	Intensidade IV (km mol^{-1})	Frequências (cm^{-1})	Intensidade IV (km mol^{-1})	Frequências (cm^{-1})	Intensidade IV (km mol^{-1})
1	26,0989	0,4228	19,4967	0,5784	14,6170	0,2353
2	41,1055	0,2699	40,4857	1,0650	39,6108	1,0020
3	81,1883	0,2312	81,4205	0,3451	81,1022	0,4107
4	94,3379	0,0844	89,1871	0,3516	83,0538	0,5955
5	111,5884	0,1359	112,5999	0,0059	113,0241	0,6306
6	146,1679	0,0060	145,4655	0,0030	144,3110	0,8208
7	222,6586	0,1101	205,7934	6,2508	184,1486	0,5810
8	235,6605	1,7777	212,5451	0,9557	211,6133	0,9615
9	240,8254	1,5932	227,2912	2,4787	221,2674	49,1327
10	251,1119	2,8060	246,6824	94,8849	226,0132	0,5864
11	282,4373	0,6918	250,6755	2,1945	233,1501	1,7601
12	305,1867	8,1651	261,7317	71,0965	249,4101	2,8918
13	323,2410	1,0464	283,9028	4,0111	262,7796	19,8027
14	344,5869	11,4048	300,5267	4,0779	283,7945	0,6498
15	384,3285	113,8411	312,3333	6,9223	287,3402	4,8659
16	387,6407	38,5462	342,8268	342,8268	293,9210	5,8996
17	400,6610	94,1374	346,7181	1,2502	316,0465	2,7608
18	402,2464	24,9088	387,9296	37,0010	326,2682	8,6192
19	405,6877	8,0041	396,6607	110,5713	342,7624	14,3476
20	419,5853	2,0996	402,8819	3,7157	389,8306	36,2774

Tabela 4 - Modos vibracionais com as respectivas frequências e valores de intensidade do IV para as geometrias relaxadas da Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singlete.

Modos	Kaempferol		Quercetina		Miricetina (Continuação)	
	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)
21	437,4296	2,5965	406,5124	7,5587	401,8095	1,3773
22	463,6269	0,7095	425,3962	61,0598	403,5364	111,9692
23	507,5239	2,0314	454,1742	8,8797	406,7971	7,8520
24	525,8543	10,7458	461,6582	0,4516	463,5883	0,6189
25	573,8295	28,8342	488,6810	2,2402	515,8406	126,0376
26	591,2207	14,4534	526,1356	13,1573	521,2350	10,0924
27	595,2028	54,5320	543,9977	1,9823	528,0963	67,0385
28	613,5169	40,6579	575,0391	13,1814	533,0727	7,2702
29	630,1287	7,1869	599,6898	6,7292	537,7333	44,8482
30	644,0069	0,4179	604,0746	20,3535	576,5471	16,0336
31	644,7234	16,6648	610,1042	96,5573	583,8565	0,5463
32	654,3727	1,4142	617,1784	0,0750	600,4146	5,8187
33	676,4427	3,4822	642,5201	0,0302	616,3161	41,4042
34	692,4246	7,5678	646,5647	23,8499	620,5797	46,4225
35	712,2513	9,8148	658,9902	0,0290	625,6103	2,6817
36	723,1217	1,1800	677,0872	3,3722	643,7720	0,1011
37	728,0649	0,6791	696,2547	9,5171	648,5487	19,9460
38	797,8121	162,7124	698,3222	0,7348	651,5852	27,0235
39	811,5602	7,8517	712,9266	9,1528	668,6952	6,4593
40	816,3708	15,3237	722,9843	1,3560	677,7350	3,5315
41	817,6871	8,0664	799,8114	147,9271	689,1552	1,0226
42	837,8229	9,5434	804,3599	44,0236	714,9639	8,9317
43	850,6033	39,1167	804,9718	40,3542	728,5954	0,6076
44	898,4044	17,0982	812,0132	7,3853	764,4788	66,1245
45	949,6545	0,6136	818,3679	10,8604	794,7082	161,8877
46	975,2271	0,0845	856,2448	1,1707	813,1103	12,3948

Tabela 4 - Modos vibracionais com as respectivas frequências e valores de intensidade do IV para as geometrias relaxadas da Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singlete.

(Continuação)

Kaempferol			Quercetina		Miricetina	
Modos	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)
47	999,3338	22,9531	899,6579	18,3895	818,0472	5,2220
48	1030,5496	9,0817	918,7505	0,8309	837,6568	5,4680
49	1036,2274	20,9899	950,0352	25,1581	856,6056	37,4019
50	1114,1361	44,1798	1019,7765	49,8328	866,3344	3,3813
51	1145,9838	27,6813	1034,3314	38,5133	956,3446	2,1868
52	1161,7577	3,8287	1116,8618	102,5751	1026,0109	11,3850
53	1194,9852	353,1513	1133,6395	45,5089	1045,8081	132,2417
54	1211,1615	353,8599	1159,5519	124,8495	1093,4153	63,6165
55	1215,4289	1,2584	1190,9477	227,6472	1123,2828	22,4483
56	1221,5120	48,9711	1192,9562	160,2687	1134,7708	12,7103
57	1240,8247	175,4466	1212,5356	8,9434	1185,3536	62,1120
58	1281,4274	75,1821	1229,6735	128,2589	1193,1974	351,7113
59	1303,8823	126,2387	1240,6659	114,3856	1209,7435	54,5715
60	1321,8962	164,8403	1279,1354	156,4236	1225,8310	39,6109
61	1348,7005	57,7532	1288,6327	22,2181	1231,0080	399,1979
62	1367,7727	299,6436	1307,3684	146,5371	1237,4208	149,3729
63	1379,8571	258,0560	1332,0445	34,5096	1281,2855	88,5503
64	1393,0312	77,3358	1367,5291	142,9542	1291,1782	52,9000
65	1428,1970	124,9819	1371,4970	524,1710	1313,3560	64,4967
66	1451,7795	145,6620	1380,9690	338,1092	1326,5297	50,9196
67	1476,4394	35,6186	1391,1009	138,2275	1358,8428	315,4220
68	1493,4250	50,1960	1431,4689	61,1907	1379,1765	205,8123
69	1533,8896	171,8695	1454,0108	118,5760	1383,9100	95,1443
70	1554,8078	324,4616	1482,3180	70,6439	1429,5886	130,4786
71	1564,1698	165,0531	1516,6144	21,8803	1432,2252	142,1420
72	1622,1304	144,8210	1535,4125	178,4033	1453,3045	132,8440

Tabela 4 - Modos vibracionais com as respectivas frequências e valores de intensidade do IV para as geometrias relaxadas da Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singlete.

(Conclusão)						
Modos	Kaempferol		Quercetina		Miricetina	
	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)	Frequências (cm ⁻¹)	Intensidade IV (km mol ⁻¹)
73	1635,5969	74,7013	1555,5614	354,9215	1482,1043	73,7001
74	1655,2296	503,4547	1563,0939	239,6368	1513,5091	1,8752
75	1671,6749	144,3806	1624,0327	67,3601	1535,3603	228,2179
76	1681,4504	37,6830	1649,1782	72,2288	1555,0331	446,7874
77	1708,6529	402,9318	1655,5342	493,7428	1558,9793	75,0691
78	3171,7670	27,5956	1672,6565	64,0227	1624,5463	34,9181
79	3201,9092	6,7769	1682,1889	74,6412	1642,9895	276,6871
80	3217,4273	8,5508	1709,4491	390,2611	1656,0118	403,6709
81	3241,4850	2,0570	3173,2771	24,7515	1676,2640	16,6411
82	3247,7829	0,0597	3202,3590	6,8024	1686,0100	131,1658
83	3267,2564	3,7402	3247,8798	0,0643	1709,2405	390,4631
84	3302,8901	329,0427	3250,7104	1,1982	3202,1625	6,5644
85	3512,7605	137,8310	3274,6521	8,4921	3248,6921	0,1957
86	3747,1915	79,1138	3301,2808	329,0318	3262,2939	1,1151
87	3749,8697	83,1771	3515,2267	141,2691	3282,0237	9,7056
88	-	-	3721,7699	100,1339	3312,3951	314,6318
89	-	-	3749,4574	86,2390	3507,6200	148,7055
90	-	-	3768,4668	101,9559	3678,4014	67,4274
91	-	-	-	-	3688,9595	1,6574
92	-	-	-	-	3693,2079	141,1312
93	-	-	-	-	3749,7720	86,7249

Fonte: A Autora.

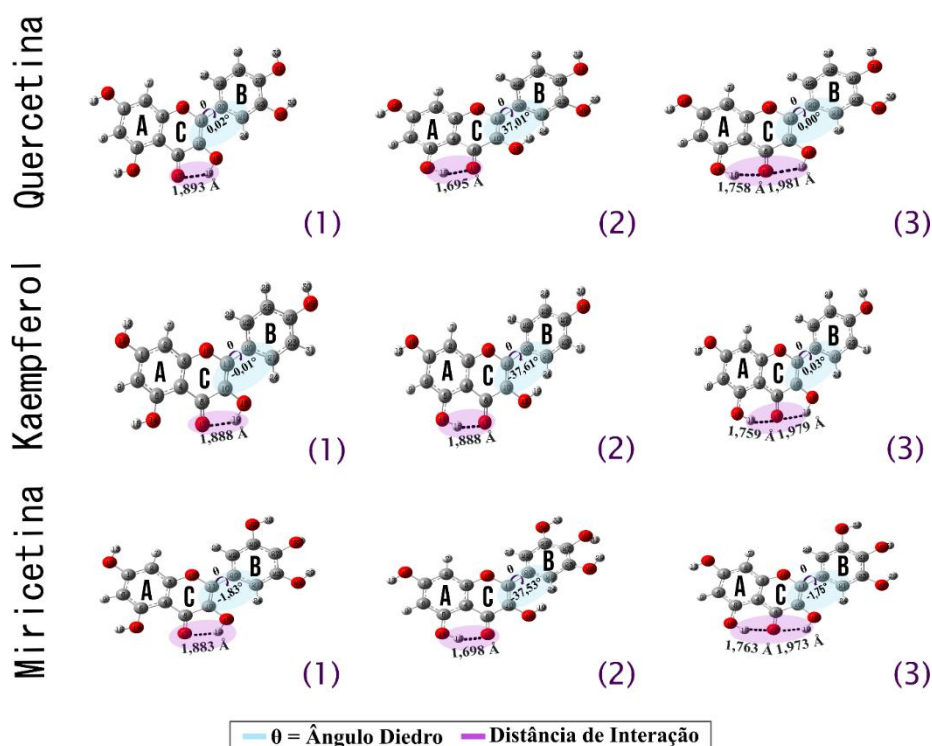
Todas as geometrias obtidas foram confirmadas como sendo mínimos de energia nas Superfícies de Energia Potencial (SEP) através do cálculo das frequências vibracionais (todos os valores positivos), caracterizando as geometrias encontradas como as mais próximas do estado fundamental, sendo pontos de mínimo global na SEP (menor energia).

4.1.2 ESTUDOS CONFORMACIONAIS

➤ Hidroxilas e Ligações de Hidrogênio

No anel C das moléculas encontram-se espécies que apresentam diferenças de eletronegatividade com a possibilidade de transferência de carga dos átomos entre si (oxigênio da carbonila e hidrogênio das hidroxilas adjacentes) sendo um parâmetro importante na identificação de sítios ativos que possuem capacidade de interação com outras espécies através da formação de interações intermoleculares (ligações de hidrogênio). As hidroxilas foram orientadas em direção à carbonila gerando diferentes conformações onde foram realizados cálculos computacionais de relaxação de geometrias empregando a DFT, para as moléculas neutras e no vácuo. Na Figura 20 estão representadas as estruturas de menor energia para as diferentes conformações, com destaque dos valores dos ângulos diedro entre os anéis B e C e das distâncias de interação entre os átomos de hidrogênio e oxigênio. As conformações (1) possuem a orientação da hidroxila localizada na posição 3 do anel C em direção à carbonila, nas conformações (2) as hidroxilas localizadas na posição 5 do anel A foram orientadas e nas conformações (3) ambas as hidroxilas foram orientadas em direção à carbonila.

FIGURA 20 - Conformêros utilizados nos cálculos para análise conformacional das hidroxilas das moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina, utilizando o nível de teoria B3LP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.



Fonte: A Autora.

Esse estudo conformacional investigou o efeito das interações intramoleculares, possibilitando a avaliação da intensidade dessa interação (fraca, moderada e forte) em termos da distância existente entre a espécie doadora de elétrons (orbital π da carbonila) com a espécie aceptora de elétrons (hidrogênios das hidroxilas). Das interações intermoleculares que podem ocorrer as ligações de hidrogênio são as mais relevantes, pois além de afetarem a estabilidade molecular, esses sítios susceptíveis à formação de interação são os responsáveis pela afinidade e interação das moléculas com solventes e alvos biológicos de interesse no organismo (como as enzimas), influenciando diretamente na solubilidade, parâmetro importante a ser considerado durante as formulações para garantia de uma boa estabilidade e biodisponibilidade do produto final. Na Tabela 5 são apresentados os valores energéticos dos orbitais de fronteira e os valores de excitação vertical (ΔE_{vert}) para as diferentes conformações estudadas.

Todas as moléculas apresentaram uma maior estabilidade, com os menores valores energéticos obtidos (E_{HOMO} e E_{LUMO}) para a conformação (3), possuindo planaridade entre seus três anéis. Isso evidencia o favorecimento na estabilidade estrutural da molécula com a presença das interações do tipo ligações de hidrogênio de força moderada, formadas entre as duas hidroxilas e a carbonila. O Kaempferol com a presença de uma única hidroxila na posição 4' de seu anel B apresentou um comprimento de cerca de 1,8/1,9 Å para a distância entre os átomos de hidrogênio e oxigênio envolvidos nas interações intermoleculares, caracterizando a força da interação como moderada e de caráter principalmente eletrostático^[132]. A Conformação (2), mesmo apresentando o menor valor energético para o orbital HOMO, possui um aumento no valor energético de seu orbital LUMO, acarretando no maior valor para a separação energética existente entre esses orbitais (4,003 eV). Esse aumento de energia e diminuição da estabilidade ocorre, pois existe uma repulsão entre o hidrogênio da hidroxila substituída na posição 3 do anel C e o hidrogênio adjacente do anel B, mesmo com a formação da ligação de hidrogênio essa repulsão afeta significativamente, diminuindo a estabilidade molecular. Um comportamento similar é observado para a Quercetina nas conformações (1) e (3), com a presença de mais uma hidroxila substituída na posição 5' do anel B. Essas conformações também apresentaram uma distância de cerca de 1,8/1,9 Å entre os átomos envolvidos nas ligações de hidrogênio.

Já a conformação (2) das moléculas apresentou os maiores valores energéticos para os orbitais HOMO e LUMO e de diferença de energia (ΔE_{vert}), em relação às três conformações estudadas. Também nessa conformação (2) ocorreu a maior rotação do anel B (torção), decorrente da repulsão entre hidrogênios, apresentando uma alteração no ângulo diedro (entre anéis C e B), no sentido anti-horário e na ordem de $\approx -37,38^\circ$. Isso demonstra que o efeito da

repulsão existente entre o hidrogênio da hidroxila e o hidrogênio adjacente à ela presente no anel B é significativa na diminuição da estabilidade da molécula. Das conformações estudadas, a ligação de hidrogênio formada nessa conformação (2) possui as menores distâncias de interação ($\approx 1,7/1,8$ Å). A conformação (2) da Quercetina não apresentou uma torção tão pronunciada do anel B como no caso do Kaempferol, porém a distância existente entre os átomos envolvidos diminuiu (cerca de 1,7 Å), caracterizando um aumento na força dessa interação, que contribui de forma mais significativa na estabilidade estrutural da molécula, mesmo com a repulsão existente entre os hidrogênios da hidroxila substituída no anel C e no hidrogênio adjacente presente no anel B. Mesmo com esse aumento de estabilidade, a conformação (2) ainda é a que apresenta a maior separação energética entre seus orbitais de fronteira (3,958 eV), com maior valor de energia para o orbital HOMO e um valor intermediário para o orbital LUMO.

Tabela 5 - Parâmetros Energéticos e Energias de Excitação Vertical (ΔE_{vert}) obtidos para as geometrias relaxadas de diferentes conformações da Quercetina, Kaempferol e Miricetina. Foi utilizado nível de teoria B3LYP/6-31G(d), vácuo e configuração eletrônica singlete).

Conf.	Quercetina			Kaempferol			Miricetina		
	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE (eV)	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE (eV)	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE (eV)
1	-5,335	-1,506	3,829	-5,257	-1,483	3,774	-5,496	-1,593	3,903
2	-5,650	-1,647	4,003	-5,608	-1,631	3,977	-5,683	-1,725	3,958
3	-5,531	-1,815	3,716	-5,489	-1,801	3,688	-5,668	-1,901	3,767

Fonte: A Autora.

A conformação (3), com a orientação das duas hidroxilas em direção à carbonila, também é a que apresenta o efeito mais significativo no aumento da estabilidade, o que é evidenciado pela diminuição da energia principalmente do seu orbital LUMO e da diferença de energia entre seus orbitais de fronteira (3,767 eV). A Miricetina, mesmo possuindo uma hidroxila adicional, substituída na posição 3' do anel B, apresentou o mesmo comportamento da Quercetina, não possuindo alterações na distância existente entre os átomos envolvidos na interação na conformação (2), indicando que a hidroxila substituída nessa posição do anel (orto) não afeta na estabilidade estrutural da molécula, e, conseqüentemente, na intensidade da interação existente. O anel B apresentou uma maior alteração no seu ângulo diedro (torção) em relação à Quercetina, decorrente de um maior efeito da repulsão existente entre o hidrogênio da hidroxila e o hidrogênio do anel.

➤ Ângulos de ligação, Ângulo Diedro e Comprimentos de Ligação

As geometrias relaxadas também possibilitam a obtenção dos valores de parâmetros geométricos relevantes como os comprimentos, ângulos de ligação e ângulo diedro (anéis C e B) que podem sofrer alterações conformacionais de acordo com a reatividade molecular e/ou interação das moléculas com solventes e outras espécies de interesse. Os comprimentos de ligação indicam a força da ligação e a presença de interações intermoleculares, refletindo na capacidade de doação dos hidrogênios, também sendo indicativos de fenômenos de estabilização como a ressonância ou conjugação. Com a finalidade de validação das geometrias relaxadas por DFT, também foram analisados os comprimentos e ângulos de ligação de estruturas cristalográficas da base de dados *Cambridge Structural Database* (CSD)^[133-135].

Os comprimentos da ligação entre os átomos de hidrogênio e oxigênio (hidroxilas), da ligação entre os átomos de oxigênio e os átomos carbonos onde as hidroxilas estão substituídas (C-O) estão apresentados na Tabela 6. Para as três moléculas foram observados comprimentos da ligação formada entre os oxigênios das hidroxilas com os carbonos onde se encontram substituídas (C-O) típicos de hidroxilas de fenólicas $\approx 1,34$ - $1,38$ Å. Em comparação com as estruturas experimentais, alguns comprimentos da ligação entre os átomos de oxigênio e hidrogênio das hidroxilas (O-H) foram superestimados nas geometrias relaxadas por DFT. Nas estruturas cristalográficas essas distâncias de ligação das hidroxilas são encurtadas devido ao elevado ordenamento das estruturas e do método empregado para sua caracterização (difração de raios-X). Já as geometrias relaxadas por DFT representam de forma mais apropriada as distâncias de ligação, pois levam em consideração a possibilidade de formação de ligações de hidrogênio intramoleculares em fase gasosa (vácuo). Já a distância entre o anel central e o anel B (C11-C20) demonstrou boa concordância com os comprimentos de ligação observados nas estruturas cristalográficas, indicando a preservação da conjugação π característica da classe dos flavonoides.

Já os ângulos de ligação podem refletir a hibridização e as distorções estéricas ou eletrônicas que podem ocorrer nas geometrias das moléculas. O ângulo diedro indica a capacidade torção e a conformação molecular, refletindo na rotação ao redor das ligações e planaridade entre os anéis. Na Tabela 7 são apresentados os ângulos formados entre os átomos de oxigênio e hidrogênios (O-H-hidroxilas) e dos átomos de oxigênio com os átomos de carbonos em que essas hidroxilas estão substituídas (C-O). O ângulo diedro formado pela ponte de 3 carbonos existente entre o anel C e o anel presente no anel B também é apresentado. Alguns ângulos de ligação das hidroxilas (C₅, C₁₀, C₂₅, C₂₇ e C₂₃) nas geometrias relaxadas por DFT

são menores que os ângulos experimentais, onde a maioria desses ângulos é muito próximo do ângulo de geometrias tetraédricas ($\approx 109,5^\circ$).

Tabela 6 - Comprimentos de ligação entre os átomos das hidroxilas (C-O e O-H) e ângulo diedro (C-C) obtidos para as geometrias relaxadas das moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto, em conjunto com valores de ângulos experimentais das estruturas cristalográficas (CSD).

Ligações	Comprimentos de Ligação Teor (Å)			Comprimentos de Ligação Exp (Å) ^[133-135]		
	Quercetina	Kaempferol	Miricetina	Quercetina	Kaempferol	Miricetina
C ₁ -O ₁₂	1,36	1,36	1,36	1,36	1,35	1,36
C ₅ -O ₁₄	1,34	1,34	1,34	1,35	1,36	1,35
C ₁₀ -O ₁₈	1,36	1,36	1,35	1,36	1,36	1,36
C ₂₇ -O ₂₉	1,36	-	-	1,37	-	-
C ₂₇ -O ₃₁	-	1,37	-	-	1,36	-
C ₂₇ -O ₃₀	-	-	1,40	-	-	1,37
C ₂₃ -O ₂₈	-	-	1,36	-	-	1,38
C ₂₃ -O ₂₉	-	1,36	-	-	1,37	-
C ₂₅ -O ₃₂	-	-	1,36	-	-	1,36
O ₁₂ -H ₁₃	0,97	0,97	0,97	0,82	0,97	0,84
O ₁₄ -H ₁₅	0,99	0,99	0,99	0,82	0,97	0,84
O ₁₈ -H ₁₉	0,98	0,98	0,98	0,82	0,97	0,84
O ₂₈ -H ₂₉	-	-	0,97	-	-	0,84
O ₃₀ -H ₃₁	-	-	0,97	-	-	0,84
O ₂₉ -H ₃₀	0,97	0,97	-	0,82	0,97	-
O ₃₁ -H ₃₂	-	0,97	-	-	0,97	-
O ₃₂ -H ₃₃	-	-	0,97	-	-	0,84
C ₁₁ - C ₂₀	1,46	1,46	1,47	1,47	1,46	1,47

Fonte: A Autora.

Essa diferença entre valores dos ângulos teóricos e experimentais é decorrente de tensões/compressões presentes nos modelos cristalográficos. Assim como no caso dos comprimentos de ligação, o método da DFT relaxa a posição dos prótons (hidrogênios), possibilitando a captura de interações intramoleculares (ligações de hidrogênio), deformando os ângulos de ligação (C-O-H), o que não é observado nas estruturas cristalográficas.

Quando comparadas as geometrias relaxadas por DFT das três moléculas entre si, as hidroxilas substituídas no anel C (C₁₀) foram as que apresentaram os menores valores para os ângulos de ligação ($\approx 103,50^\circ$). Isso indica a formação de ligações de hidrogênio

intramoleculares de maior intensidade entre os hidrogênios dessas hidroxilas com a carbonila adjacente a elas. A hidroxila substituída no anel A (C₅), do lado esquerdo da carbonila, também apresentou um menor valor de ângulo de ligação ($\approx 107,09^\circ$), em relação ao ângulo tetraédrico, sendo indicativo de se tratar de outro sítio com formação de ligações de hidrogênio intramoleculares. No caso da Miricetina, com a presença de duas hidroxilas adicionais em seu anel B, em relação ao Kaempferol, também são observados menores ângulos de ligação (C₂₅, C₂₃ e C₂₇), refletindo a formação de interações das hidroxilas entre si, conferindo maior estabilidade para sua estrutura.

Tabela 7 - Ângulos de ligação das hidroxilas e ângulo diedro (anéis C e B) obtidos para as geometrias relaxadas das moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e configuração eletrônica singlete, em conjunto com valores de ângulos experimentais das estruturas cristalográficas (CSD).

Átomos	Ângulos de Ligação e Ângulo Diedro Teor			Ângulos Exp ^[133-135]		
	Quercetina	Kaempferol	Miricetina	Quercetina	Kaempferol	Miricetina
C ₁ -O ₁₂ -H ₁₃	109,19°	109,20°	109,24°	109,28°	109,48°	109,53°
C ₅ -O ₁₄ -H ₁₅	107,09°	107,09°	107,17°	104,87°	109,49°	109,45°
C ₁₀ -O ₁₈ -H ₁₉	103,58°	103,46°	103,56°	108,46°	109,47°	109,42°
C ₂₅ -O ₃₂ -H ₃₃	-	-	106,69°	-	-	109,49°
C ₂₇ -O ₃₀ -H ₃₁	-	-	108,47°	-	-	109,47°
C ₂₃ -O ₂₈ -H ₂₉	-	-	106,74°	-	-	109,48°
C ₂₇ -O ₂₉ -H ₃₀	-	109,14°	-	-	109,47°	-
C ₂₇ -O ₃₁ -H ₃₂	109,78°	-	-	108,08°	-	-
C ₂₃ -O ₂₉ -H ₃₀	107,63°	-	-	107,71°	-	-
C ₂₇ -C ₁₁ -C ₂₀ -C ₂₁	0,00°	0,03°	-1,75°	-1,33°	-0,22°	3,60°

Fonte: A Autora.

Em relação aos ângulos diedro, todos os valores obtidos foram muito próximos de zero, indicando que o grupo cromóforo (anel B) é praticamente planar tanto nas geometrias relaxadas por DFT quanto nas estruturas experimentais. As torções que ocorrem nas estruturas cristalográficas são decorrentes do empacotamento do cristal ou da formação de interações intermoleculares, por não se encontrarem isoladas na base de dados, podendo existir interações entre as moléculas com solventes ou na forma de co-cristais.

➤ Barreiras de Rotação e Ângulo Diedro

Além do estudo conformacional para identificação de sítios favoráveis à formação de interações, também foi realizada uma análise conformacional em busca das conformações mais estáveis (menores energias) das moléculas, em relação à capacidade de rotação (torção) dos anéis. Nesse estudo o ângulo diedro (θ) existente entre os anéis C e B (átomos de carbono das posições C3-C2-C1'-C2') foi modificado, com uma variação (passo) de 30°, partindo de 0° até 360°, totalizando 13 pontos no scan.

Tabela 8 - Valores de Energia Total (em Hartree) obtidos com a variação do ângulo diedro para as moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.

Scan	E _h Kaempferol (Hartree)	E _h Quercetina (Hartree)	E _h Miricetina (Hartree)
0°	-1028,937	-1104,155	-1179,367
30°	-1028,936	-1104,153	-1179,366
60°	-1028,931	-1104,149	-1179,362
90°	-1028,927	-1104,145	-1179,359
120°	-1028,931	-1104,148	-1179,362
150°	-1028,935	-1104,152	-1179,366
180°	-1028,937	-1104,154	-1179,367
210°	-1028,935	-1104,153	-1179,366
240°	-1028,931	-1104,148	-1179,361
270°	-1028,927	-1104,145	-1179,358
300°	-1028,931	-1104,149	-1179,362
330°	-1028,936	-1104,153	-1179,366
360°	-1028,937	-1104,155	-1179,367

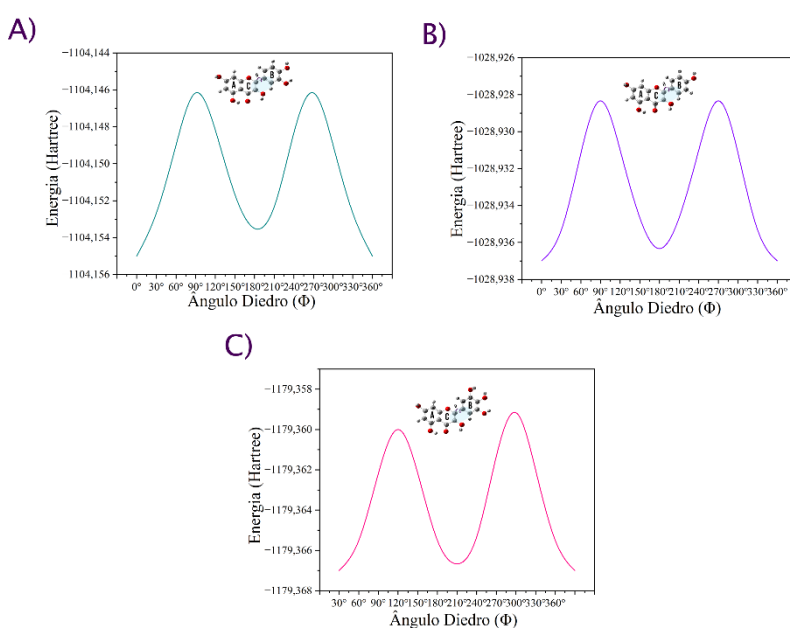
Fonte: A Autora.

A posição de substituição das hidroxilas ao longo dos anéis, principalmente na região próxima da carbonila, assim como o ângulo de torção existente entre os anéis C e B podem influenciar na capacidade de formação de interações intramoleculares (ligações de hidrogênio) ao longo da estrutura das moléculas, afetando diretamente em sua estabilidade e reatividade. Na Tabela 8 são apresentados para as três moléculas os valores de energia total obtidos em termos da variação do ângulo diedro nas diferentes conformações analisadas. As Superfícies de Energia Potencial (SEP) obtidas estão representadas na Figura 21, evidenciando as barreiras

rotacionais e tornando possível a identificação dos pontos de mínimos locais e máximos locais de energia.

Nas superfícies é observado que as três moléculas apresentaram dois mínimos locais de energia nas estruturas que possuem os ângulos diedros de 0° e 180° , possuindo uma planaridade entre os três anéis com a orientação das hidroxilas de modo a favorecer a formação do maior número de ligações de hidrogênio possíveis, sendo a conformação mais estável. Máximos locais de energia foram observados nas SEP para os ângulos diedro (θ) próximos de 90° e 270° , onde também existe a planaridade entre os três anéis, com forte presença do efeito de conjugação entre os anéis. A distância de ligação entre os átomos de carbono (posição C2 e C1') que conectam os anéis C e B nessa conformação estável de $\theta = 180^\circ$ foi de 1,464 Å para o Kaempferol e 1,466 Å para a Quercetina. A Miricetina apresentou uma diferença maior entre as energias totais, quando comparada com o Kaempferol e a Quercetina.

FIGURA 21 - Superfícies de Energia Potencial (SEP) com as estruturas utilizadas para análise conformacional do ângulo diedro (anéis C e B) da (A) Quercetina, (B) Kaempferol e (C) Miricetina, obtidas no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.



Fonte: A Autora.

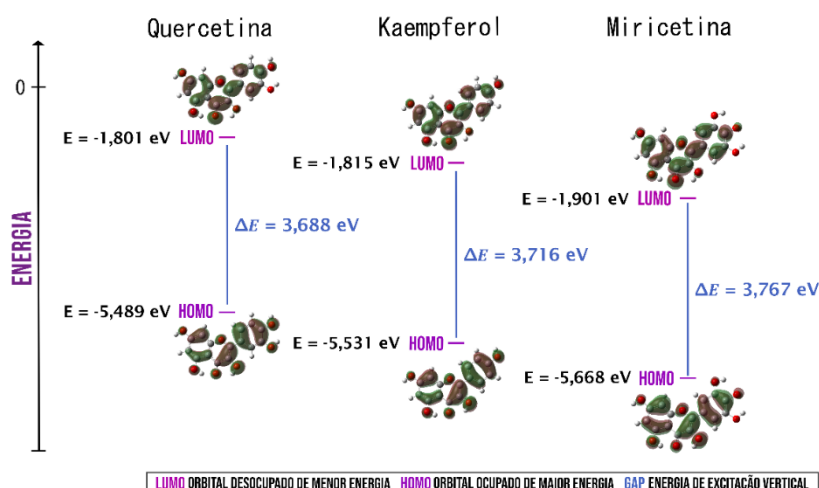
4.1.3 ORBITAIS MOLECULARES DE FRONTEIRA (FMOS)

➤ Diagramas de Energia

A análise dos diagramas de energia auxilia na predição de propriedades moleculares como a estabilidade, reatividade, além de permitir a predição de propriedades ópticas, como a

capacidade de absorção da radiação UV e ocorrência de excitações eletrônicas. Esses diagramas possibilitam o estudo das propriedades eletrônicas e dos níveis energéticos, pois representam de forma visual a distribuição espacial da densidade eletrônica (topologia) nos orbitais moleculares de fronteira (HOMO/LUMO) evidenciando as regiões onde os elétrons estão distribuídos, por meio da representação de lobos coloridos. As regiões de concentração de densidades eletrônica são mostradas através da disposição desses lobos que possuem diferentes colorações, representando onde os elétrons estão concentrados (HOMO) e para onde eles podem ir (LUMO) na ocorrência das excitações e transições eletrônicas. Avaliar aspectos como a forma, o tamanho e a disposição dos lobos (simetria, deslocalização e sobreposição) são parâmetros fundamentais a serem interpretados nos diagramas de energia. Quando as fases desses lobos coincidem a interação entre os orbitais de fronteira ocorre com a formação de interações construtivas (ligações) e quando as fases desses orbitais não coincidem (são opostas) ocorrem as interações destrutivas (antiligações). O valor da energia de excitação vertical (ΔE) também é um parâmetro importante servindo como um indicativo direto da reatividade molecular. Um baixo valor de ΔE é representativo de uma molécula mais reativa e que apresenta uma melhor facilidade de absorção da radiação UV. Já um alto valor de ΔE indica uma molécula mais estável, que apresenta menor reatividade e maior dificuldade para ocorrência de excitações.

FIGURA 22 - Diagramas de Energia para as moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina no vácuo, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.



Fonte: A Autora.

Na Figura 22 são apresentados os diagramas de energia para as três moléculas estudadas, assim como o valor da diferença de energia (energia de excitação vertical - ΔE_{vert})

existente entre seus orbitais de fronteira. Para avaliação das propriedades em termos da reatividade molecular, as transições eletrônicas que ocorrem nesses orbitais são as mais relevantes, com o Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia (HOMO) sendo o principal indicativo do desempenho da atividade antioxidante, pois é nessa região que se concentram os elétrons que serão removidos primeiro durante as reações de intercepção e neutralização das espécies radicalares reativas e instáveis (radicais livres).

Observando a distribuição espacial dos lobos no diagrama do Kaempferol é evidenciado que uma grande parte da densidade eletrônica do orbital HOMO está concentrada nos anéis A e B, regiões que possuem hidroxilas fenólicas substituídas. Já no orbital LUMO essa densidade eletrônica é deslocada para o anel C e para a carbonila se estendendo até o anel A, fato que pode ser indicativo da ocorrência de transferência de carga intramolecular das regiões doadoras de elétrons (HOMO) para as regiõesceptoras de elétrons (LUMO), favorecendo a absorção da radiação UV.

Além disso, das três moléculas estudadas o Kaempferol foi a molécula que apresentou o valor intermediário de energia de excitação vertical ($\Delta E = 3,716$ eV), servindo como comparação com as outras duas moléculas. Na Quercetina a presença de mais uma hidroxila substituída em seu anel B (grupo catecol) ocasiona uma maior deslocalização da densidade eletrônica entre os anéis A e B, elevando o valor energético do orbital HOMO e diminuindo a energia do orbital LUMO, sendo a molécula que possui o menor valor de ΔE entre as três. Isso é indicativo de que a Quercetina possui maior facilidade para realização de transições eletrônicas, estendendo sua capacidade de absorção da radiação UV para regiões de maiores comprimentos de onda (região UVA). Já no caso da Miricetina, com a presença três hidroxilas em seu anel B (grupo pirogalol), seu orbital HOMO se apresenta deslocalizado por toda a molécula e distribuído ao longo dos três anéis e o LUMO também está mais concentrado no anel central e na carbonila. Essa hidroxila adicional aumentou o valor do ΔE , sendo a molécula com o maior valor entre as três. Provavelmente a Miricetina irá possuir capacidade de absorção da radiação de UV mais energéticas de menores comprimentos de onda (região UVC).

➤ Parâmetros de Reatividade Global

Os compostos poli fenólicos, como os flavonoides, apresentam uma extensiva deslocalização eletrônica estendida sobre o sistema π conjugado ao longo dos três anéis de sua estrutura, principalmente para o orbital HOMO, fator fundamental para a estabilização de radicais. Além disso, as moléculas flavonoides possuem a presença de diferentes sítios disponíveis para intercepção de espécies radicalares livres e instáveis em sua estrutura, as

hidroxilas substituídas em diferentes posições de seus anéis. A determinação do padrão de reatividade das moléculas é um fator crucial na avaliação do seu potencial de desempenho de atividade antioxidante e a Química Computacional pode estimar esse padrão de reatividade através de descritores quânticos. Os Teoremas de Koopman foram propostos na teoria Hartree-Fock para avaliação da reatividade e estabilidade molecular com a determinação de parâmetros (ou descritores de reatividade), sendo bem definidos para moléculas neutras (que não apresentam adição ou remoção de elétrons)^[136]. A aproximação desses teoremas pode ser aplicada para a DFT, em conjunto com o formalismo proposto por Kohn-Sham para determinação da energia dos orbitais (*Orbital Vertical Method* - Método Orbital Vertical) possibilitando a correlação entre os valores de energia dos orbitais moleculares de fronteira (E_{HOMO} e E_{LUMO}) com parâmetros indicativos da reatividade molecular^[137]. Os parâmetros que podem ser obtidos são a Afinidade Eletrônica (EA), Potencial de Ionização (IP), Energia de Excitação Vertical (ΔE_{Vert}), Eletronegatividade de Mulliken-Parr (χ), Potencial Químico (μ), Dureza Química (η), Maciez (S) e Índice de Eletrofilicidade de Parr (ω). A aproximação possui essa denominação de método vertical, pois assume que os elétrons serão adicionados ou removidos sem que os elétrons resultantes reorganizem seus orbitais.

A Afinidade Eletrônica representa a energia necessária para o ganho de elétrons pelas moléculas no estado gasoso com a formação de ânions. É um parâmetro obtido tendo como base a energia do Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia (LUMO), a região no espaço onde os elétrons serão aceitos primeiro (Eq. 4.1).

$$EA = -E_{LUMO} \quad (4.1)$$

Já o Potencial de Ionização avalia a capacidade da molécula em doar elétrons (oxidar), representando a energia mínima necessária para a remoção do elétron (oxidação), sendo crucial na avaliação do desempenho de atividade antioxidante pelas moléculas. O valor da energia do Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia (HOMO) está diretamente correlacionado ao IP, demonstrando a distribuição da densidade de onde os elétrons serão removidos (Eq. 4.2).

$$IP = -E_{HOMO} \quad (4.2)$$

A Energia de Excitação Vertical irá quantificar a energia necessária para promover um elétron do estado fundamental (S_0) para um estado excitado (S_n) sem que ocorra a modificação da geometria da molécula, sendo obtida pela diferença de energia entre os orbitais moleculares LUMO e HOMO (Eq. 4.3).

$$\Delta E_{Vert} = E_{LUMO} - E_{HOMO} \quad (4.3)$$

Ao contrário da Eletronegatividade atômica (proposta por Linus Pauling), propriedade intrínseca que mede a capacidade de um átomo de atrair elétrons para si, a Eletronegatividade

de Mulliken-Parr^[138] é um parâmetro que irá refletir o ajuste das eletronegatividades individuais dos átomos em uma molécula até que sua eletronegatividade molecular seja uniforme em todo o sistema (eletronegatividade global). Essa Eletronegatividade de Mulliken-Parr irá demonstrar de maneira global a tendência de uma molécula em atrair densidade eletrônica para si. Esse parâmetro é indicativo da distorção de densidade eletrônica da molécula e da direção do fluxo de elétrons existente entre espécies de maiores eletronegatividades aceptoras (eletrófilos) e espécies doadoras de menores eletronegatividades (nucleófilos). É obtido através da diferença entre a EA e o IP (Eq. 4.4), refletindo a capacidade de transferência de carga das moléculas, dependendo também da geometria e do solvente utilizado.

$$\chi = \frac{IP+EA}{2} \quad (4.4)$$

A estabilidade eletrônica e a reatividade em termos da capacidade de doação de elétrons (atuação das moléculas como nucleófilos) pode ser melhor avaliada através do Potencial Químico, parâmetro que possui um valor inverso ao da eletronegatividade (Eq. 4.5) e, quanto maior for seu valor, mais estável a molécula será, não perdendo seus elétrons facilmente.

$$\mu = -\chi \quad (4.5)$$

Outro parâmetro também indicativo da estabilidade molecular e reatividade, é a Dureza Química, que mede a resistência da molécula à deformação de sua densidade eletrônica e resistência à transferência de carga (Eq. 4.6). Moléculas "mais duras" serão mais estáveis e menos reativas e as moléculas "mais moles" serão mais reativas e propensas à transferência de carga.

$$\eta = \frac{E_{HOMO} - E_{LUMO}}{2} \quad (4.6)$$

Já a Maciez Química (S), inverso da dureza (Eq. 4.7), com valores elevados para esse parâmetro representando moléculas que mais facilmente adaptam sua densidade eletrônica em resposta ao meio, apresentando boa capacidade de interação com outras espécies.

$$S = \frac{1}{\eta} \quad (4.7)$$

O Índice de Eletrofilicidade de Parr (ω) é um parâmetro que mede a capacidade de uma molécula em aceitar elétrons e ser capaz de estabilizar essa carga, sendo obtido utilizando o Potencial Químico e a Dureza Química (Eq. 4.8). Esse parâmetro é um descritor de comportamento eletrofílico e valores altos para esse índice refletem um favorecimento da captura de espécies livres e reativas^[139] pelas moléculas. Ele irá mensurar a estabilização

energética do sistema quando ele atrai uma densidade eletrônica de um ambiente externo até atingir a saturação.

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (4.8)$$

Na Tabela 9 são apresentados os Parâmetros de Reatividade Global obtidos através das aproximações com os Teoremas de Koopman aplicados aos orbitais de Kohn-Sham com o método orbital vertical. Todas as moléculas apresentaram valores na faixa de 1,8-1,9 eV para a Afinidade Eletrônica, com a Miricetina apresentando o maior valor de EA (EA = 1,901 eV) entre as moléculas estudadas. Isso sugere que a Miricetina irá atuar melhor como uma molécula aceptora de elétrons (eletrófila) quando em interação com outras espécies. Já todos os valores calculados para o Potencial de Ionização foram na faixa de 5,4-5,7 eV com a Quercetina apresentando o menor valor para esse parâmetro (IP = 5,489 eV). Isso indica que a Quercetina é a molécula com maior predisposição à doação de elétrons (nucleófila), o que condiz com os estudos experimentais a respeito dessa molécula ser uma das principais representantes da classe dos flavonoides no desempenho de atividade antioxidante em mecanismos que envolvem a transferência de elétrons^[140,141]. O grupo catecol (duas hidroxilas adjacentes) substituído no anel B da estrutura da Quercetina é um fator conformacional crucial em seu bom desempenho de atividade antioxidante, pois será responsável por uma boa estabilização do radical catiônico resultante após a abstração de prótons, quando ocorre a interceptação de radicais livres. Já a Miricetina, mesmo com a presença do maior número de hidroxilas substituídas em seu anel B, apresentou o maior valor para o IP (IP = 5,668 eV).

Tabela 9 - Parâmetros de Reatividade Global - Potencial de Ionização (IP), Afinidade Eletrônica (EA), Energia de Excitação Vertical (ΔE_{vert}), Dureza (η), Maciez (S), Eletronegatividade de Mulliken-Parr (χ), Potencial Químico (μ) e Eletrofilicidade (ω) para as moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina no vácuo, nível de teoria B3LYP/6-31(g) e sob configuração eletrônica singlete.

Flavonóis	EA (eV)	IP (eV)	ΔE (eV)	η (eV)	S (eV⁻¹)	χ (eV)	μ (eV)	ω (eV)
Quercetina	1,801	5,489	3,688	1,844	0,542	3,645	-3,645	3,602
Kaempferol	1,815	5,531	3,716	1,858	0,538	3,673	-3,673	3,630
Miricetina	1,901	5,668	3,767	1,883	0,531	3,784	-3,784	3,802

Fonte: A Autora.

A Miricetina também apresentou o maior valor para a Dureza ($\eta = 1,883$ eV) e menor valor para a Maciez (S = 0,531 eV⁻¹), demonstrando possuir uma maior rigidez eletrônica, confirmando sua maior estabilidade (deslocalização eletrônica entre seus anéis) e melhor

desempenho como espécie aceptora de elétrons do que como doadora. Já o Kaempferol foi a molécula que apresentou um comportamento intermediário entre os três flavonóis estudados para todos os parâmetros de reatividade. Com o menor número de hidroxilas substituídas no anel B de sua estrutura, não demonstrando favorecimento de desempenho de atividade antioxidante em mecanismos que envolvem a doação de elétrons.

As três moléculas estudadas apresentaram valores muito próximos para a eletronegatividade, com a Quercetina apresentando o menor valor ($\chi = 3,645$ eV), o Kaempferol um valor intermediário ($\chi = 3,673$ eV) e a Miricetina o maior valor entre as três ($\chi = 3,784$ eV). Isso indica a influência da diferença no número e padrão de substituição das hidroxilas das moléculas. O maior valor de eletronegatividade da Miricetina pode ser decorrente do maior número de hidroxilas em seu anel B (3 -OH - grupo pirogalol) com um maior número de átomos de oxigênio, o que acaba aumentando a capacidade da molécula em atrair densidade eletrônica de outras espécies. Já a Quercetina, com o menor valor de eletronegatividade demonstra sua maior tendência para doação de elétrons, confirmando seu bom desempenho de atividade antioxidante com a doação de elétrons, como observado anteriormente em seus valores de IP. Todas as moléculas apresentaram valores de eletronegatividade na faixa de 3,6-3,7 eV indicando serem eletronicamente estáveis, mas capazes de participar em processos de transferência de carga, efeito crucial para o desenvolvimento de filtros orgânicos.

O Potencial Químico é o parâmetro que irá descrever a tendência de "escape" de densidade eletrônica nas moléculas. Como é observado (Tabela 9) todas as moléculas apresentaram valores negativos para esse parâmetro, com a Quercetina apresentando o valor mais elevado ($\mu = -3,645$ eV) e, como visto anteriormente, possuindo o maior valor de eletronegatividade. Isso é indicativo de que, termodinamicamente, a Quercetina possui maior tendência de escape de sua densidade eletrônica, favorecendo seu desempenho de Atividade Antioxidante em mecanismos que envolvem a transferência de elétrons, como por exemplo, no mecanismo de transferência de um único elétron (SET). A presença do grupo catecol no anel B de sua estrutura favorece a deslocalização e doação de densidade de carga. Já a Miricetina apresentou o menor valor de Potencial Químico ($\mu = -3,784$ eV) e, conseqüentemente, maior valor de eletronegatividade, indicando uma maior retenção de sua densidade eletrônica e maior resistência ao escape. Isso pode ocorrer devido a presença de uma hidroxila adicional no anel B de sua estrutura (grupo pirogalol), em comparação com a Quercetina, que acaba intensificando o efeito indutivo atrator dos átomos de oxigênio sobre o sistema π conjugado. O Kaempferol apresentou valores moderados para esse parâmetro, reforçando sua reatividade moderada, em comparação com os outros flavonóis.

A Miricetina possui o maior Índice de Eletrofilicidade entre os flavonóis estudados ($\omega = 3,802$ eV), indicando atuar melhor como uma espécie aceptora de elétrons (eletrofílica) quando em interação com outras espécies. Como visto nos parâmetros anteriores, a molécula possui o Potencial Químico mais negativo e uma maior EA, fatores diretamente correlacionados com o grupo pirogaloil de sua estrutura, capaz de estabilizar de maneira mais eficiente o excesso de carga negativa através de efeito indutivo e ressonância. Com o menor índice de Eletrofilicidade ($\omega = 3,602$ eV), a Quercetina demonstra possuir um caráter mais nucleofílico, reforçando o comportamento observado nos parâmetros de reatividade anteriores. Na aplicação de filtros solares esse parâmetro importante, pois moléculas com alto caráter eletrofílico, como a Miricetina, são capazes de melhor estabilizar intermediários reativos ou participar dos processos de transferência de carga. De acordo com a escala de reatividade, os valores obtidos para o índice de Eletrofilicidade foram elevados (superiores a 1,5 eV) e classificam todos os flavonóis estudados como eletrófilos fortes com uma nuvem eletrônica versátil e propícia à resposta de perturbações eletrônicas externas, garantindo uma boa eficácia como filtros solares orgânicos e agentes antioxidantes.

Sendo assim, das moléculas estudadas a Quercetina se destaca como a espécie mais reativa, possuindo maior susceptibilidade à polarização e deformação de sua densidade eletrônica, favorecendo sua atuação preferencial como espécie doadora de elétrons no desempenho de sua atividade antioxidante. O Kaempferol apresentou comportamento intermediário para a maioria dos parâmetros encontrados. Já a Miricetina demonstrou se destacar em mecanismos onde atua predominantemente como espécie aceptora de elétrons. Portanto, em mecanismos que envolvem a transferência de elétrons, como, por exemplo, no mecanismo SET (Transferência de um Único Elétron), de acordo com os parâmetros analisados as moléculas podem ser classificadas em ordem decrescente de desempenho de atividade antioxidante como: Quercetina > Kaempferol > Miricetina.

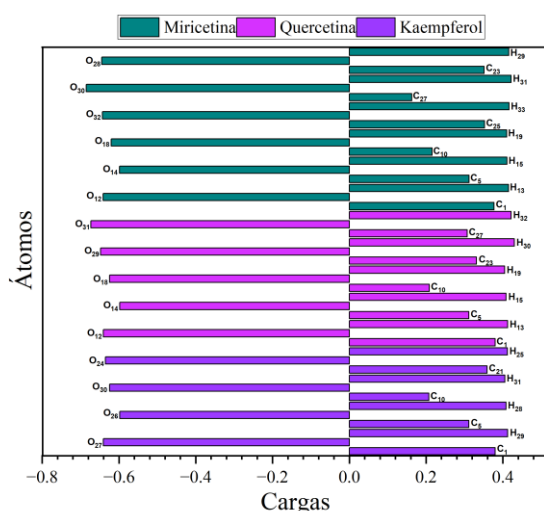
4.1.4 CARGAS ATÔMICAS DE MULLIKEN DAS HIDROXILAS

Além da visualização do potencial criado no espaço nos Mapas de Potencial Eletrostático (MEP) com a densidade eletrônica distribuída ao longo das estruturas das moléculas, a análise populacional de Mulliken também permite avaliar como estão distribuídas as cargas em cada um dos átomos, para identificação de espécies eletrofílicas e nucleofílicas. Na Figura 23 está representada uma comparação entre os valores de carga obtidos para os

átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio presentes nas hidroxilas, que estão substituídas em diferentes posições nos anéis ao longo das estruturas das moléculas.

Foi observado que todos os átomos estudados apresentam cargas parciais, com as cargas negativas se concentrando nos oxigênios das hidroxilas. No Kaempferol, o oxigênio que apresentou maior valor de carga negativa ($-0,641 |e|$) se encontra na hidroxila substituída na posição 7 do anel A (C_1), seguido do oxigênio da hidroxila presente na posição 4' (C_{21}) do anel B ($-0,635 |e|$). O menor valor de carga negativa foi observado para o oxigênio que está presente na hidroxila substituída na posição 5 (C_5) do anel A ($-0,598 |e|$).

FIGURA 23 - Comparação da distribuição de cargas ao longo dos átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio das hidroxilas entre as moléculas Kaempferol, Quercetina e Miricetina, obtidas utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.



Fonte: A Autora.

Em relação aos carbonos e hidrogênios, é observada a concentração de cargas parciais positivas nesses átomos, com os maiores valores de carga observados para os hidrogênios, principalmente nos que estão presentes nas hidroxilas substituídas na posição 4' (C_{21}) do anel B ($0,412 |e|$) e na posição 7 do anel A (C_1) ($0,412 |e|$). No caso do Kaempferol, a presença de um número menor de sítios disponíveis para interceptação de espécies, em comparação com a Quercetina e com a Miricetina, a divisão da concentração de carga parcial positiva entre o anel A e o anel B, nos hidrogênios de suas hidroxilas, com uma maior concentração de carga negativa no oxigênio da hidroxila presente no anel A, é indicativo de uma maior predisposição da molécula à interceptação de espécies instáveis para desempenho de atividade antioxidante através da doação de elétrons, atraindo espécies eletrofílicas preferencialmente para esse sítio presente em seu anel A.

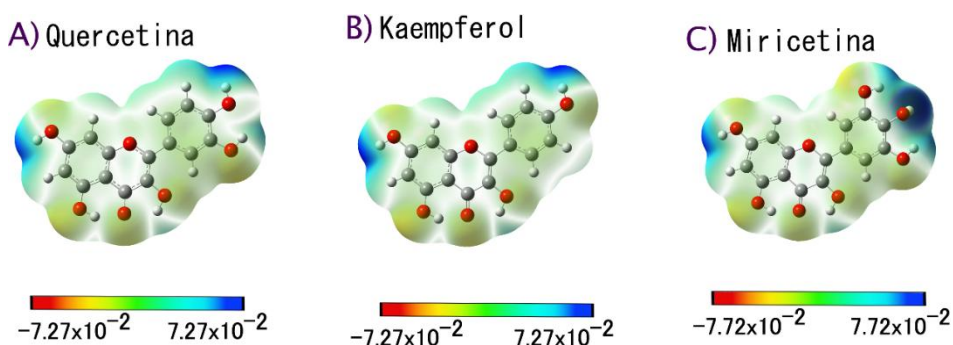
A Quercetina e a Miricetina apresentaram comportamento similar ao Kaempferol, com a concentração da distribuição de cargas parciais negativas nos oxigênios das hidroxilas e das

cargas parciais positivas nos carbonos e hidrogênios. Na Quercetina o oxigênio que apresentou o maior valor de carga negativa ($-0,673 |e|$) está na hidroxila substituída na posição 4' do anel B (C_{27}) e o de menor valor de carga negativa na hidroxila substituída na posição 5 (C_5) do anel A ($-0,598 |e|$). A Miricetina apresenta os maiores valores de carga negativa para os oxigênios das hidroxilas substituídas em seu anel B nas posições 3' (C_{23}), 4' (C_{27}) e 5' (C_{25}): $-0,645 |e|$, $-0,685 |e|$ e $-0,643 |e|$, respectivamente. O menor valor de carga negativa foi para o oxigênio da hidroxila presente na posição 5 (C_5) do anel A ($-0,598 |e|$). Enquanto que os maiores valores de cargas parciais positivas estão nos hidrogênios de todas as hidroxilas substituídas no anel B, tanto para a Quercetina quanto para a Miricetina. Essa distribuição de carga parcial positiva nos hidrogênios das hidroxilas do anel B da Quercetina e da Miricetina evidencia sítios de reação com radicais livres e a predisposição ao ataque de espécies nucleofílicas, ocorrendo a doação dos hidrogênios para desempenho da atividade antioxidante.

4.1.5 MAPAS DE POTENCIAL ELETROSTÁTICO MOLECULAR (MEP)

A análise da topologia dos mapas de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) permite avaliar a distribuição das cargas parciais ao longo das superfícies de Van der Waals dos átomos presentes nas estruturas das moléculas, possibilitando a predição e identificação de sítios ativos possíveis responsáveis pela reatividade e neutralização de radicais livres. Na Figura 24 estão representados os Mapas de Potencial Eletrostático (MEP) para as três moléculas onde é possível visualizar o potencial criado no espaço ao longo das estruturas com a distribuição da densidade eletrônica evidenciando as regiões de alta concentração (região negativa - cor vermelha), os sítios nucleofílicos ricos em elétrons, baixa concentração da densidade eletrônica (região positiva - cor azul), sítios eletrofílicos e as regiões de potencial intermediário e neutralidade eletrostática (cor verde/amarelo).

FIGURA 24 - Mapas de Potencial Eletrostático (MEP) para as moléculas Quercetina, Kaempferol e Miricetina no vácuo, utilizando o funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d) e sob configuração eletrônica singlete.



Fonte: A Autora.

Para as três moléculas um padrão muito similar é observado com as regiões de maior concentração da densidade eletrônica concentradas no oxigênio da carbonila (anel C) e nos oxigênios das hidroxilas adjacentes à ela, sendo indicativo de uma boa capacidade de formação de ligações de hidrogênio ou interação com outras espécies (catiônicas). As regiões de menor concentração de densidade eletrônica (maior deficiência eletrônica) se encontram nos hidrogênios das hidroxilas estando distribuídas nas estruturas de acordo com a posição onde essas hidroxilas estão substituídas ao longo dos anéis. Esses são os sítios que irão interagir preferencialmente com espécies ricas em elétrons como ânions ou radicais livres (nucleofílicos). Isso é indicativo de que as moléculas irão reagir com as espécies nucleofílicas instáveis e ricas em elétrons (radicais livres) removendo preferencialmente os hidrogênios das hidroxilas presentes nas estruturas nessa região de menor densidade eletrônica onde se concentra o potencial positivo. Já quando em presença de espécies eletrofílicas, a reação ocorrerá com o ataque da carbonila localizada no anel central (anel C), de maior densidade eletrônica.

Com a presença de hidroxilas adicionais, a Quercetina e a Miricetina ainda apresentam regiões vermelhas e suas azuis mais intensas, em comparação com o Kaempferol, intensificando a polaridade dessas moléculas, expandindo a área de potencial negativo e positivo em seus mapas o que contribui para o desempenho de sua atividade antioxidante e capacidade de absorção da radiação UV. Os resultados confirmam o observado na análise de Cargas Atômicas de Mulliken (Fig. 23) onde o oxigênio de maior carga negativa encontra-se na posição C₇ do anel A (-0,641 |e|), sugerindo que esse anel possui papel importante na estabilização eletrostática da molécula. Já a Quercetina e Miricetina, a maior concentração de densidade de carga negativa ocorre de forma mais expressiva na hidroxila substituída na posição 4' do anel B (-0,673 |e| e -0,685 |e|), indicando que o anel B é o principal centro de reatividade das moléculas para a captura de radicais livres, onde maior disponibilidade de densidade eletrônica facilita a abstração de prótons e estabilização do radical fenoxila resultante.

4.1.6 SIMULAÇÕES COM SOLVENTES E PARÂMETROS TERMOQUÍMICOS

Visando à aplicação das moléculas em formulações cosméticas, foram selecionados três solventes polares e próticos compatíveis com meios biológicos. A água, o solvente com maior polaridade entre os três, foi testada para comparação com os demais solventes, sendo muito utilizada. O etanol, com uma polaridade intermediária por possuir uma cadeia etílica

hidrofóbica, é muito utilizado em diversas formulações de cosméticos por se tratar de um solvente de fácil remoção (volátil) que deixa um acabamento final na pele com uma sensação adstringente, porém o seu uso em excesso pode ocasionar um ressecamento da pele e sua utilização deve ser feita em menores quantidades e, em alguns casos, em combinação com outros solventes. Já o solvente 1,2-propanodiol, conhecido como propileno glicol, é um solvente de maior viscosidade que apresenta maior polaridade que o etanol por possuir sítios adicionais para interação com as espécies e formação de ligações de hidrogênio (hidroxilas), com uma constante dielétrica (ϵ) de 27,5^[142], também compatível com meios biológicos, sendo utilizado nas formulações de cosméticos, colaborando com a manutenção de um aspecto final mais hidratado da pele.

Para investigar a afinidade de solvatação, assim como seu efeito na estabilidade molecular foram realizadas simulações computacionais das interações das moléculas com os solventes através do modelo de solvatação polarizável e contínuo (PCM - *Polarizable Continuum Model*) que possui como aproximação a descrição do meio como um contínuo dielétrico. Na Tabela 10 são apresentados para as três moléculas na presença dos solventes estudados os valores do momento de dipolo total ($\vec{\mu}$), assim como das energias dos orbitais de fronteira (HOMO/LUMO) e das energias de excitação vertical (ΔE_{Vert}) existente entre eles.

Os valores obtidos demonstram que ocorrem mudanças significativas das moléculas em interação com os solventes, sendo observado um aumento nos valores dos momentos de dipolo de 0,362 D, 1,776 D e de 0,595 D para a Quercetina, Kaempferol e Miricetina, respectivamente. Com essa variação nos valores de momentos de dipolo obtidos, o Kaempferol demonstrou ser a molécula mais afetada pela utilização dos solventes, possuindo uma maior separação de cargas em sua estrutura quando em interação. As energias de excitação vertical (ΔE_{Vert}) também possuíram alterações na interação com os solventes. Apesar das diferenças de polaridade, quando em interação com a água e o etanol, as moléculas apresentaram comportamentos muito similares, não apresentando distinção significativa de afinidade entre esses dois solventes.

Já na interação das moléculas com o solvente propileno glicol ocorreu um aumento dos momentos de dipolo ($\vec{\mu}$), e da energia principalmente do orbital LUMO, indicando que pode ter ocorrido alguma alteração conformacional quando a molécula interagiu com esse solvente, resultando em uma distribuição de cargas mais assimétrica (maior separação de cargas) na estrutura e em uma maior separação energética entre seus orbitais de fronteira.

Tabela 10 - Valores do momento de dipolo total ($\vec{\mu}$) e energias de excitação vertical (ΔE_{vert}) obtidos para as geometrias relaxadas nos solventes (PCM) Água, Etanol e Propano-1,2-diol (Propileno Glicol) do Kaempferol, Quercetina e Miricetina. Foi empregado o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e configuração eletrônica singlete.

Solventes	Quercetina			Kaempferol			Miricetina		
	$\vec{\mu}$ (D)	ΔE (eV)	G_{Solv} (Hartree)	$\vec{\mu}$ (D)	ΔE (eV)	G_{Solv} (Hartree)	$\vec{\mu}$ (D)	ΔE (eV)	G_{Solv} (Hartree)
Vácuo	6,300	3,688	-1103,90	3,287	3,716	-1028,78	4,262	3,767	-1179,20
Água	6,666	3,645	-1104,01	5,070	3,695	-1028,79	4,426	3,753	-1179,21
Etanol	6,583	3,646	-1104,01	5,007	3,695	-1028,79	4,658	3,751	-1179,22
Propileno glicol	6,738	3,605	-1104,06	5,111	3,667	-1028,83	5,488	3,680	-1179,28

Fonte: A Autora.

O solvente propileno glicol possui mais sítios possíveis para a formação de interações do tipo ligações de hidrogênio que o etanol, porém a molécula Kaempferol, quando em comparação com as outras moléculas estudadas, é mais rígida, planar e não apresenta um número tão grande de sítios (hidroxilas) para ocorrência dessas interações (4 hidroxilas no total). A interação da molécula com o propileno glicol pode ter acarretado na ocorrência de alterações conformacionais em sua estrutura, como por exemplo, torções nos anéis. Essas interações com o solvente afetaram a estabilidade e reatividade molecular, fato evidenciado pelo aumento da energia do orbital LUMO, o que pode acabar dificultando o processo de absorção da radiação UV e excitação eletrônica. Já a Quercetina e a Miricetina demonstraram uma diferença de interação com o solvente propileno glicol ainda mais pronunciada, que pode ser devido a presença de um maior número de sítios disponíveis para interação em sua estrutura (hidroxilas), que acabam favorecendo uma distribuição de carga mais simétrica e melhor estabilização das conformações resultantes. A redução dos valores de ΔE_{vert} dessas moléculas quando em interação com o propileno glicol ainda sugere um favorecimento para realização de transições eletrônicas, o que pode acabar potencializando a capacidade de absorção da radiação UV. O propileno glicol pode ser utilizado em conjunto com outros solventes (como o etanol) durante as formulações de filtros solares, contribuindo para o aspecto final da pele.

O uso das moléculas em formulações de filtros solares requer um estudo a respeito da interação com solventes para predição se o processo de solvatação será espontâneo ou não, por meio do cálculo dos parâmetros termoquímicos, além de possibilitar a análise de como as interações que podem ocorrer (ligações de hidrogênio) irão afetar a estrutura da molécula (conformação), sua estabilidade e reatividade. É ideal que o solvente colabore com a estabilidade do produto final e não dificulte o processo de absorção da radiação UV e realização das transições eletrônicas, para não interferir no desempenho da ação fotoprotetora pelas

moléculas. A espontaneidade de interação com os solventes pode ser melhor avaliada através da obtenção de parâmetros termoquímicos como a Energia de Solvatação (ΔG_{Solv}), calculada através da diferença da energia livre de solvatação da molécula no vácuo (G_{Vacuo}) com a energia livre de solvatação da molécula interagindo com o solvente (G_{Solv}), como dado na Equação 4.9. Os valores obtidos podem ser convertidos para a unidade kcal mol^{-1} através do fator de conversão (627,509), tornando possível a comparação dos valores obtidos.

$$\Delta G_{Solv} = G_{Solv} - G_{Vacuo} \quad (4.9)$$

Na Tabela 11 estão apresentados para as moléculas os valores da Energia de Solvatação no vácuo (G_{Vacuo}) para as geometrias mais estáveis encontradas (menor energia), a Energia de Solvatação da molécula na presença dos diferentes solventes (G_{Solv}) e os valores obtidos das Energias de Solvatação (ΔG_{Solv}) em kcal mol^{-1} .

Tabela 11 - Parâmetros termoquímicos com os valores de energia livre das moléculas no vácuo (G_{Vacuo}), da energia livre das moléculas em interação com solventes (G_{Solv}) e das Energias de Solvatação (ΔG_{Solv}) para o Kaempferol, Quercetina e Miricetina. Parâmetros obtidos no nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singlete.

Solventes	Quercetina		Kaempferol		Miricetina	
	G_{Solv}	ΔG_{Solv}	G_{Solv}	ΔG_{Solv}	G_{Solv}	ΔG_{Solv}
	(Hartree)	(kcal mol^{-1})	(Hartree)	(kcal mol^{-1})	(Hartree)	(kcal mol^{-1})
Água	-1104,008	-11,181	-1028,793	-10,235	-1179,212	-12,563
Etanol	-1104,007	-10,555	-1028,792	-9,487	-1179,219	-11,855
Propgli	-1104,059	-43,543	-1028,830	-39,165	-1179,283	-52,203

Fonte: A Autora.

A espontaneidade da interação com os solventes também foi avaliada através das Energias de Solvatação (ΔG_{Solv}) calculadas através dos parâmetros termoquímicos. Como todos os valores obtidos para a Energia de Solvatação são negativos isso indica, do ponto de vista termodinâmico, todos os solventes estudados podem ser utilizados para a formação de soluções e dissoluções durante as formulações, mantendo a estabilidade do produto final. Assim como observado no comportamento em termos dos valores energéticos e dos momentos de dipolo, a água e o etanol apresentaram afinidades muito semelhantes para as três moléculas e o propileno glicol foi o solvente que apresentou o menor valor da Energia de Solvatação (ΔG_{Solv}) para as três, com destaque para a Miricetina ($\Delta G_{Solv} = -52,203 \text{ kcal mol}^{-1}$). Isso reflete uma grande diferença na afinidade de interação das moléculas na presença desse solvente. Portanto, os parâmetros termoquímicos obtidos indicam que os três solventes são bons candidatos para utilização em conjunto com as moléculas em formulações de filtros solares orgânicos, mantendo uma boa capacidade de absorção da radiação UV e facilidade para a realização de transições eletrônicas (ação foto protetora).

4.2 ESTADOS EXCITADOS, ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV E REGIÕES DE ABSORÇÃO

O potencial de aplicação das moléculas em formulações cosméticas de protetores solares está diretamente correlacionado com o desempenho de sua capacidade de absorção de radiação UV e atividade foto protetora. A avaliação do desempenho dessa atividade pode ocorrer através da identificação das regiões do espectro onde as moléculas são capazes de absorver a radiação UV (UVA, UVB e UVC), sendo a região UVB a mais prejudicial à pele e de maior relevância para o desenvolvimento de protetores solares. Após a realização dos cálculos e estudos em relação ao estado fundamental também foram simulados os espectros de absorção UV para todas as moléculas. Os espectros foram obtidos empregando a Teoria do Funcional da Densidade em sua versão Dependente do Tempo (TD-DFT) através da análise das transições eletrônicas envolvendo os 10 primeiros estados excitados de cada molécula, todas sob configuração eletrônica singleto, utilizando o conjunto de base 6-31G(d), no vácuo e na presença de solventes comumente utilizados em análises espectroscópicas experimentais (metanol e etanol). Também foi realizado um estudo para verificar a influência do funcional utilizado na precisão dos cálculos dos estados excitados em termos energéticos, assim como na região em que os picos estão localizados no espectro de absorção UV, avaliando se existe a ocorrência de deslocamento dos picos, que afeta diretamente os comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}). Assim como nos cálculos em relação ao estado fundamental, os cálculos para os estados excitados permitem avaliar as propriedades eletrônicas e capacidade de absorção da radiação UV em termos das energias de excitação vertical (ΔE_{vert}) e dos comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}), com a determinação das regiões de absorção das moléculas. A escolha do funcional de troca-correlação mais adequado para os cálculos utilizando a TD-DFT é uma etapa crucial para realização desses estudos com precisão. Para avaliar o desempenho de diferentes funcionais, um estudo de *Benchmarking* foi realizado com o funcional B3LYP, um dos mais bem estabelecidos e utilizados na literatura para cálculos a respeito de propriedades moleculares e reatividade, geralmente para moléculas que possuem grande capacidade de formação de interações do tipo ligações de hidrogênio em sua estrutura foi testado quanto ao seu desempenho na descrição das transições eletrônicas dos estados excitados. Além disso, os funcionais M062X e ω B97XD também foram testados, por apresentarem uma melhor capacidade para descrição de interações eletrostáticas e dispersões de maior alcance, o que pode também acabar afetando nos espectros de absorção UV.

4.2.1 ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV NOS FUNCIONAIS B3LYP, M062X E ω B97XD

Para comparação com o funcional B3LYP, foram realizados os cálculos computacionais para a Quercetina, Kaempferol e Miricetina em relação ao estado fundamental (vácuo) nos novos funcionais testados (M062X e ω B97XD). Na Tabela 12 são apresentados os valores obtidos da energia dos orbitais de fronteira (E_{HOMO} e E_{LUMO}), do Momento de Dipolo total em Debye ($\vec{\mu}$) e do tempo gasto para realização dos cálculos computacionais (em min) nos três funcionais. Os parâmetros energéticos (Tabela 12) demonstram que os funcionais M062X e ω B97XD promoveram uma estabilização mais acentuada do orbital HOMO e um aumento de energia do orbital LUMO, em relação ao funcional B3LYP.

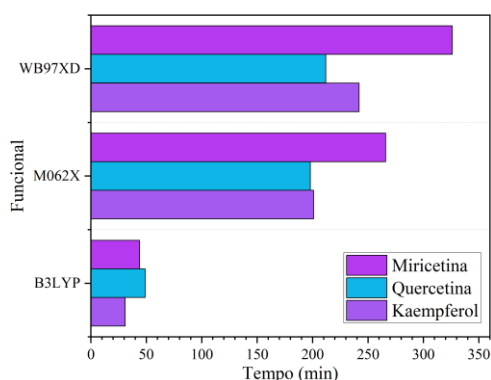
Tabela 12 - Parâmetros do estado fundamental obtidos para o Kaempferol, Quercetina e Miricetina nos funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, conjunto de base 6-31G(d), no vácuo e sob configuração eletrônica singleto.

Parâmetros	B3LYP			M062X			ω B97XD		
	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE (eV)	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE (eV)	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	ΔE (eV)
Quercetina	-5,714	-1,252	4,462	-6,821	-0,346	6,475	-7,967	-0,075	7,892
Kaempferol	-5,949	-1,747	4,202	-7,355	-0,917	6,438	-7,920	-0,039	7,881
Miricetina	-5,442	-1,279	4,163	-7,479	-1,035	6,444	-8,047	-0,161	7,886

Fonte: A Autora.

Para o Kaempferol, o funcional ω B97XD elevou o valor de gap energético (em aproximadamente 3,68 eV), em comparação ao B3LYP. Esse aumento da lacuna HOMO-LUMO é uma característica intrínseca de funcionais que possuem alta porcentagem de troca exata de Hartree-Fock (HF), como no caso do M062X, o ω B97XD é um funcional de longo alcance corrigido.

FIGURA 25 - Comparação no tempo gasto para execução dos cálculos dos estados excitados e simulações dos espectros de absorção UV das moléculas Kaempferol, Quercetina e Miricetina, obtidos nos funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, no conjunto de base 6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.



Fonte: A Autora.

Como consequência, os espectros simulados com os funcionais M062X e ω B97XD apresentaram um elevado desvio hipsocrômico (*blue shift*), deslocando seus picos de absorção para regiões de maior energia e menores comprimentos de onda, se afastando significativamente dos valores experimentais (Fig. 26). Já o uso do funcional híbrido B3LYP, que possui menor contribuição de troca HF, demonstrou melhor concordância com os espectros experimentais, exibindo menor erro percentual relativo (RPE - %) (Tabela 13) e desvios inferiores a 4,4 nm no Erro Quadrático Médio (RMSE) para a Quercetina. Na Figura 25 estão representados o tempo gasto para simulação dos espectros de absorção UV das três moléculas em cada um dos funcionais testados (B3LYP, M062X e ω B97XD).

Os espectros simulados como funcional B3LYP apresentam as 2 bandas de absorção características da classe dos flavonoides estudados, sendo a primeira (Banda 1) na região próxima de 300-400 nm referente ao grupo cinamoil (ponte de 3 carbonos - anel B) e a segunda (Banda 2) na região próxima de 240-280 nm referente ao grupo benzoíla (anel A). Embora para alguns sistemas moleculares o funcional B3LYP possa subestimar as energias de transferência de carga, ele descreveu com precisão as duas bandas características e se mostrou muito eficiente para descrever as excitações do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, predominantes de forma majoritária em sistemas polifenólicos, como no caso dos flavonoides estudados.

Tabela 13 - Comprimentos de Absorção máximos teóricos e experimentais (λ_{MAX}) do Kaempferol, Quercetina e Miricetina no vácuo e na presença dos solventes metanol e etanol. Espectros UV simulados no nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e configuração eletrônica singlete, com erros associados.

Flavonóis	λ_1 Teor (nm)	λ_2 Teor (nm)	λ_1 Exp (nm)	λ_2 Exp (nm)	λ_1 RPE (%)	λ_2 RPE	RMSE (nm)
Quercetina	251,94	378,55	256 ^[a]	374 ^[a]	1,58%	1,22%	4,37
Kaempferol	243,36	373,91	265 ^[b]	365 ^[b]	8,17%	2,44%	16,55
Miricetina	319,78	373,31	290 ^[c]	330 ^[c]	10,26%	13,12%	37,16

Fonte: A Autora. ^[a] DUAN, et al.^[143]; ^[b] TELANGE, et al.^[144] e ^[c] XIN, et al.^[145].

Apesar dos funcionais M062X e ω B97XD apresentarem uma maior intensidade dos picos, o funcional B3LYP foi o que apresentou os valores dos comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}) mais próximos daqueles observados nos espectros obtidos experimentalmente em mesmo solvente (metanol),

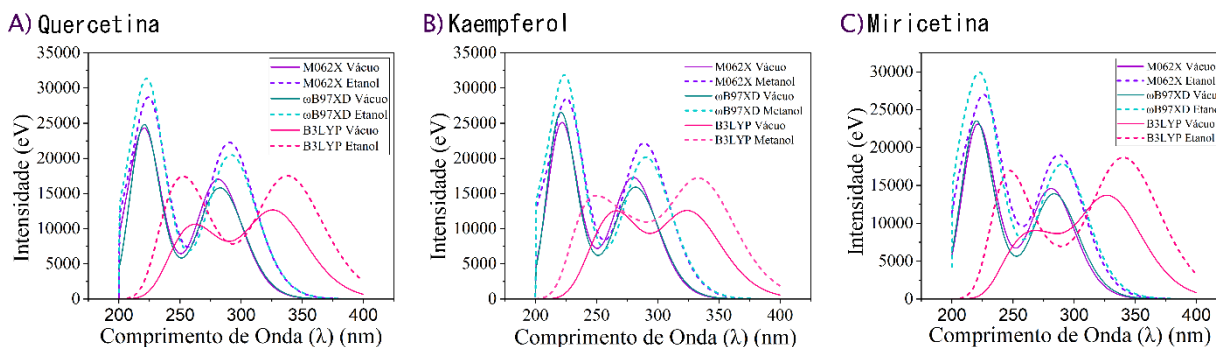
Tabela 14 - Comparação entre os parâmetros dos estados excitados (comprimentos de absorção máximos - λ_{MAX}) obtidos para o Kaempferol, Quercetina e Miricetina nos funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, conjunto de base 6-31G(d), solventes metanol/etanol e sob configuração eletrônica singleto.

Flavonóis	B3LYP			M062X			ω B97XD		
	λ_{MAX1} (nm)	λ_{MAX2} (nm)	Tempo (min)	λ_{MAX1} (nm)	λ_{MAX2} (nm)	Tempo (min)	λ_{MAX1} (nm)	λ_{MAX2} (nm)	Tempo (min)
Quercetina	241,74	342,35	49	226,48	288,18	198	224,32	290,58	212
Kaempferol	260,60	336,25	31	225,72	223,84	201	223,84	290,42	242
Miricetina	241,74	342,35	44	226,48	288,18	266	224,32	290,58	326

Fonte: A Autora. *Quercetina: $\lambda_{EXP1} = 256$ nm e $\lambda_{EXP2} = 374$ nm^[143]; Kaempferol: $\lambda_{EXP1} = 265$ nm e $\lambda_{EXP2} = 365$ nm^[144] e Miricetina: $\lambda_{EXP1} = 290$ nm e $\lambda_{EXP2} = 330$ nm^[145].

Isso é indicativo do B3LYP ser dos funcionais testados o mais apropriado para a simulação teórica dos espectros desses fitoquímicos, além de possuir menor custo computacional. Os funcionais M062X e ω B97XD apresentam um tempo de cálculo muito maior que o do B3LYP e, conseqüentemente, um custo computacional mais elevado (Fig. 25). Fica evidenciado que o funcional B3LYP possui um custo computacional (em termos do tempo de cálculo) consideravelmente menor que os funcionais M062X e ω B97XD, sendo o escolhido para os estudos futuros a respeito dos estados excitados das moléculas.

FIGURA 26 - Espectros de absorção UV das moléculas (a) Quercetina, (b) Kaempferol e (c) Miricetina, no vácuo e na presença dos solventes metanol e etanol, utilizando os funcionais B3LYP, M062X e ω B97XD, conjunto de base 6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.



Fonte: A Autora.

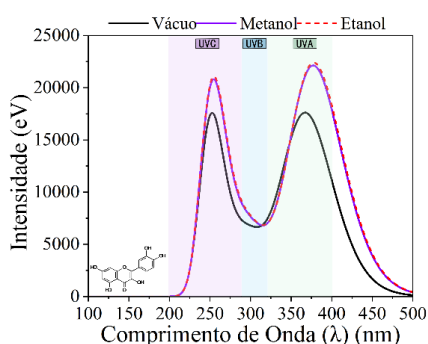
4.2.2 ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV NO FUNCIONAL B3LYP E REGIÕES DE ABSORÇÃO

Com a validação do nível de teoria (*Benchmark* funcionais), por possuir o menor custo computacional entre os três funcionais testados (tempo de cálculo), o funcional B3LYP é o mais

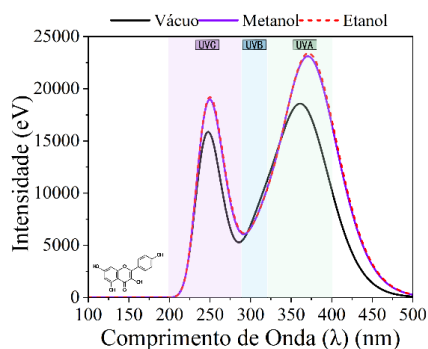
apropriado para avaliação da capacidade foto protetora com a análise dos espectros de absorção na região UV. Portanto, os espectros de absorção UV para os 10 primeiros estados excitados singletos da Quercetina, e Miricetina foram obtidos através de TD-DFT no funcional B3LYP, no vácuo e na presença dos solventes metanol e etanol. Os espectros simulados nesse funcional estão representados na Figura 27, com ênfase na divisão do espectro para as regiões de capacidade de absorção da radiação UV (UVA/UVB/UVC) pelas moléculas.

FIGURA 27 - Espectros de absorção UV das moléculas (A) Quercetina, (B) Kaempferol e (C) Miricetina no vácuo e na presença dos solventes metanol e etanol, obtidos através de TD-DFT, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singlete.

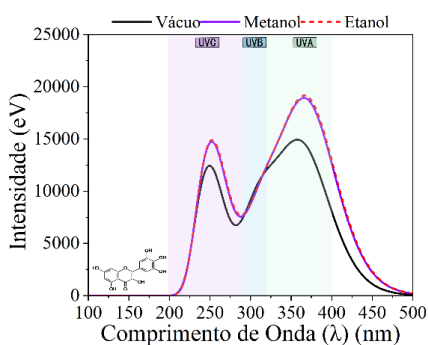
A) Quercetina



B) Kaempferol



C) Miricetina



Fonte: A Autora.

Nos espectros simulados (Fig. 27) é observado que todas as moléculas apresentam os dois picos de absorção característicos da classe dos flavonoides com a presença das duas bandas de comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}), sendo a primeira (Banda 1) localizada na região entre 300-400 nm, associada com a absorção do sistema anel B e anel C (cinamoíla) e a segunda (Banda 2) na região entre 240-280 nm, referente aos anéis A e C (benzoíla). Os espectros permitem visualizar que as moléculas possuem um perfil de absorção de amplo espectro, compreendendo principalmente as regiões UVA e UVC e com pequena capacidade absorção na região UVB

As transições eletrônicas envolvidas nos estados excitados responsáveis pelos dois picos de maior intensidade das moléculas (maior força de oscilação (f)) nos solventes metanol e etanol, assim como os valores dos comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}) e energia associados à essas transições são apresentadas na Tabela 15.

Tabela 15 - Estados excitados e transições eletrônicas da Quercetina, Kaempferol e Miricetina, com Comprimentos de Absorção Máximos (λ_{MAX}), Energias (eV) e Intensidades de Oscilação (f) associadas. Obtidos no nível de teoria B3LYP/6-31G(d), solventes metanol e etanol e configuração eletrônica singlete.

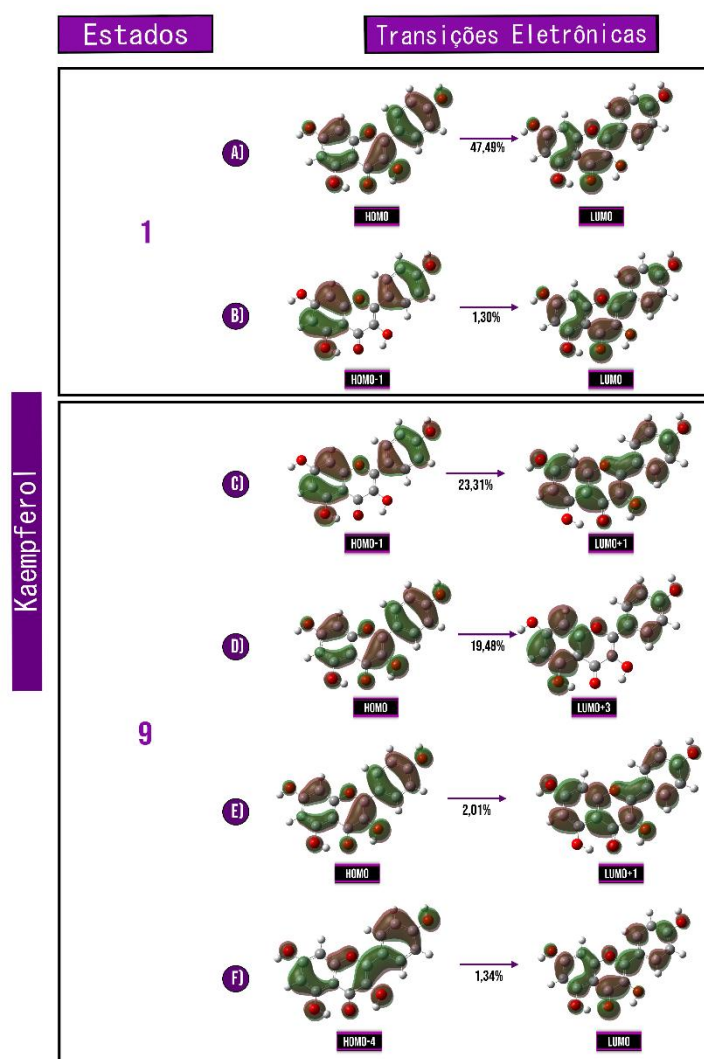
Flavonóis	Parâmetros					Parâmetros				
	Estado	Transições	λ_{MAX} (nm)	E (eV)	f	Estado	Transições	λ_{MAX} (nm)	E (eV)	f
Quercetina	1	H $\rightarrow$ L (47,97%)	378,55	3,275	0,546	8	H-1 $\rightarrow$ L+1 (32,05%) H-4 $\rightarrow$ L (4,77%) H $\rightarrow$ L+2 (3,72%) H $\rightarrow$ L+3 (2,87%) H-3 $\rightarrow$ L (2,07%)	251,94	4,921	0,322
Kaempferol	1	H $\rightarrow$ L (47,49%) H-1 $\rightarrow$ L (1,30%)	373,91	3,316	0,544	9	H-1 $\rightarrow$ L+1 (23,31%) H $\rightarrow$ L+3 (19,48%) H $\rightarrow$ L+1 (2,01%) H-4 $\rightarrow$ L (1,34%)	243,36	5,095	0,224
Miricetina	1	H $\rightarrow$ L (47,11%) H-2 $\rightarrow$ L (1,60%)	373,31	3,321	0,424	3	H-2 $\rightarrow$ L (46,92%) H $\rightarrow$ L (1,59%)	319,78	3,877	0,214

Fonte: A Autora. *H=HOMO e L=LUMO.

O tipo das transições eletrônicas que ocorrem pode ser identificado através da análise da distribuição espacial da densidade eletrônica nos orbitais envolvidos nessas transições. Na Figura 28 estão representados os orbitais envolvidos nas transições envolvidas nos principais estados excitados do Kaempferol. Para o Kaempferol, o pico de maior intensidade com um

λ_{MAX} de 336,25 nm (região UVA) e $f = 0,544$, possui a principal contribuição (47,1%) das transições eletrônicas envolvendo os orbitais de fronteira (HOMO e LUMO) e uma pequena contribuição (1,04%) do orbital HOMO localizado logo abaixo do HOMO (HOMO-1). Essa transição demonstra possuir um caráter predominantemente do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, pois envolve uma redistribuição da densidade eletrônica do anel B para o anel A. Já o outro pico (Banda 2), de menor intensidade (260,60 nm), localizado na região UVC, envolve transições entre orbitais mais internos, sendo a de maior contribuição (21,98%) envolvendo os orbitais HOMO e LUMO+2, possuindo também transições entre os orbitais HOMO e LUMO+2 de menor contribuição, e mantém o caráter $\pi \rightarrow \pi^*$.

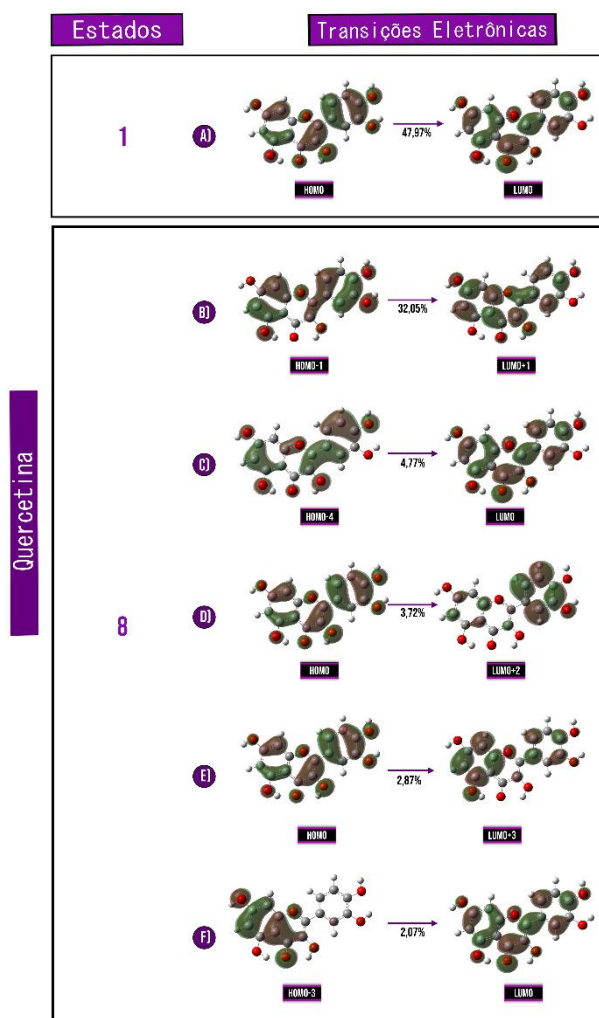
FIGURA 28 - Orbitais envolvidos nas principais transições eletrônicas dos estados excitados do Kaempferol presentes em seu espectro de absorção UV, obtido através de TD-DFT na presença do solvente metanol, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singlete.



Fonte: A Autora.

Já no caso da Quercetina e da Miricetina, como é observado em seus espectros (Fig. 27), a Quercetina, com a presença de uma hidroxila adicional substituída em seu anel B, apresentou um leve aumento na intensidade do seu pico localizado na região UVA (339,59 nm), e a Miricetina também (342,35 nm). Esse deslocamento dos picos para regiões de maiores comprimentos de onda pode ser justificado pelo efeito auxocrômico das hidroxilas adicionais substituída no anel B dessas moléculas. O aumento de densidade eletrônica com extensão da conjugação π estabilizam o estado excitado e reduz a energia necessária para que a transição eletrônica ocorra. Também foi observado uma diminuição de intensidade do pico localizado na região UVC (243,50 nm), em comparação com o Kaempferol. A Figura 29 possui a representação espacial da densidade eletrônica distribuída nos orbitais envolvidos nas transições eletrônicas da Quercetina

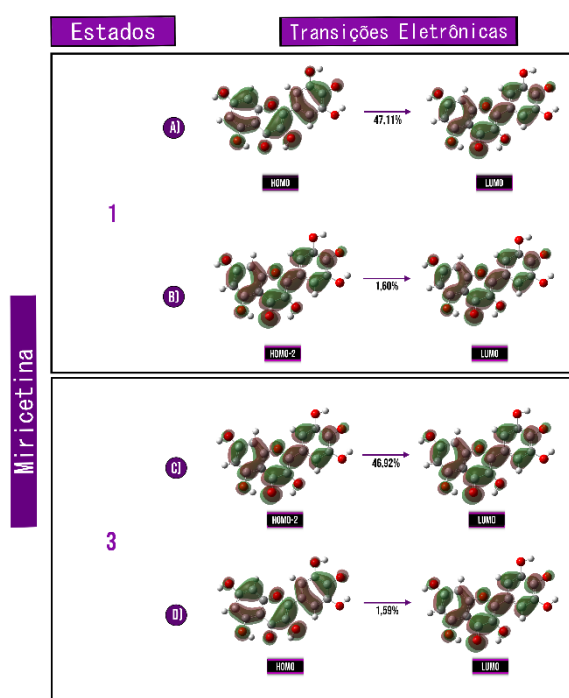
FIGURA 29 - Orbitais envolvidos nas principais transições eletrônicas dos estados excitados da Quercetina presentes em seu espectro de absorção UV, obtido na presença do solvente etanol, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singlete.



Fonte: A Autora.

O pico de maior intensidade do espectro de absorção UV da Quercetina possui como maior contribuição (47,59%) a transição eletrônica envolvendo os orbitais de fronteira HOMO e LUMO. Já o pico localizado na região UVC (243,50 nm), também envolve a contribuição das transições eletrônicas de orbitais mais internos, sendo a principal (32,05%) decorrente da transição entre HOMO-1 e LUMO+1, possuindo também contribuições que envolvem até os orbitais HOMO-4 e o LUMO+3. Assim como no caso do Kaempferol, para a Quercetina também ocorre uma deslocalização eletrônica ao longo dos três anéis aromáticos, caracterizando a transição como do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. Já no caso da Miricetina, com a presença de duas hidroxilas substituídas adicionais em seu anel B, assim como a Quercetina, apresentou um leve aumento da intensidade do pico de absorção localizado na região UVA (342,35 nm) e uma diminuição de intensidade do pico localizado na região UVC (241,74 nm), em relação ao espectro do Kaempferol. A Figura 30 apresenta a distribuição espacial dos orbitais envolvidos nas transições eletrônicas dos estados excitados da Miricetina. Na Miricetina também existe a presença de transições de caráter misto, envolvendo também os pares de elétrons não ligantes (n) do oxigênio carbonílico e das hidroxilas, sendo transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$. As demais transições eletrônicas responsáveis por esse pico, que possuem menor contribuição, também são do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$.

FIGURA 30 - Orbitais envolvidos nas principais transições eletrônicas dos estados excitados da Miricetina presentes em seu espectro de absorção UV, obtido na presença do solvente etanol, utilizando o nível de teoria B3LYP/6-31G(d) e sob configuração eletrônica singleto.



Fonte: A Autora.

A faixa de radiação UV que causa maiores danos à saúde da pele, sendo a mais prejudicial, e em casos mais graves responsável pelo desenvolvimento do câncer de pele, é a região UVB. A maioria das moléculas sintéticas poli fenólicas que são utilizadas nas formulações de filtros solares possuem o espectro de atuação na região UVA e UVB. Os fitoquímicos estudados nesse trabalho possuem forte capacidade de absorção na região UVA e UVC, podendo então serem utilizados como agentes coadjuvantes em formulações de filtros solares, atuando em conjunto com as moléculas sintéticas, para desempenhar um efeito sinérgico na ampliação da eficácia do produto, e/ou um aumento do fator de proteção (FPS), redução dos efeitos colaterais indesejados gerados no aspecto final da pele (alergias, efeito esbranquiçado), além de colaborarem com a hidratação da pele e serem capazes de desempenhar sua atividade antioxidante na captura de radicais livres, auxiliando na redução do envelhecimento precoce.

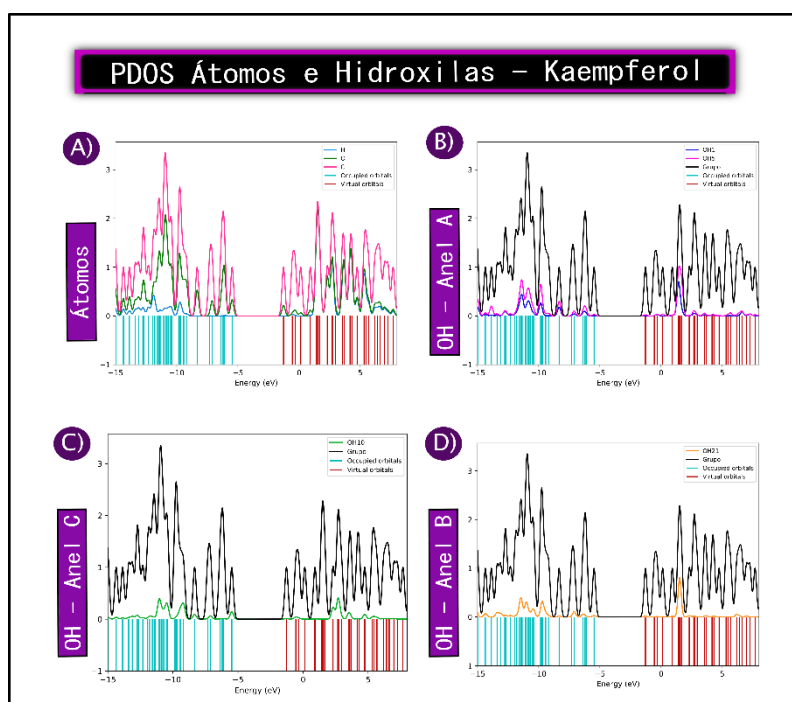
4.3 PADRÃO DE REATIVIDADE HIDROXILAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.3.1 DENSIDADE PARCIAL DE ESTADOS (PDOS) – ÁTOMOS E HIDROXILAS

A Densidade de Estados (DOS) demonstra o número de estados em um dado intervalo de energia, permitindo a análise da composição dos orbitais através da visualização da distribuição da densidade eletrônica de um sistema (molecular ou *bulk* - em materiais)^[146]. Os espectros de DOS permitem a análise de fenômenos físicos, contribuindo com o desenvolvimento de novos materiais, que possuem novas propriedades desejadas (ópticas e eletrônicas), principalmente em materiais em nanoescala. Uma DOS global irá depender da estrutura atômica do sistema como um todo, já a Densidade Parcial de Estados (PDOS) irá decompor a estrutura atômica em projeções (componentes/orbitais), sendo útil para avaliação de padrões de reatividade, além da vantagem de apresentar uma redução no custo computacional associado com sistemas grandes e complexos. Em sistemas moleculares, a correlação das bandas dos espectros PDOS com os níveis de energia é muito útil para verificação de padrões de reatividade em grupos e átomos específicos presentes na estrutura da molécula, tornando possível identificar as espécies de contribuição mais significativa e como desempenham sua atividade antioxidante em diferentes mecanismos de ação. Na Figura 31 estão representados os espectros PDOS obtidos para o Kaempferol com a distribuição eletrônica (bandas) em termos dos átomos e hidroxilas, substituídas em diferentes posições ao longo dos três anéis presentes em sua estrutura.

A interpretação dos espectros PDOS é útil para avaliação do desempenho de atividade antioxidante de forma qualitativa, com a verificação da presença de espécies doadoras ou aceptoras de elétrons, pois permite a análise de modificações no padrão de reatividade de acordo com a variação do número de hidroxilas e das posições onde se encontram substituídas ao longo das estruturas das moléculas. Além da análise de grupos específicos, como as hidroxilas, os espectros PDOS dos átomos envolvidos nesse grupo (carbonos, oxigênios e hidrogênios) também são interessantes para verificar quais átomos em específico possuem maior contribuição para a reatividade molecular. É importante a avaliação da posição das bandas nos espectros PDOS, em relação à proximidade dos orbitais de fronteira (HOMO/LUMO), assim como sua intensidade e largura. Para uma confirmação quantitativa a respeito do desempenho de atividade antioxidante pelas moléculas, além da análise dos espectros PDOS também é importante o cálculo de parâmetros como a Energia de Dissociação de Ligação (BDE), energias de desprotonação (pKa), distribuição das densidades de spin e efeitos dos solventes (dinâmica molecular).

FIGURA 31 - Densidade Parcial de Estados (PDOS) dos (A) átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e das hidroxilas presentes no (B) anel A, (C) anel C e (D) anel B da estrutura do Kaempferol, obtidos no funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singlete.



Fonte: A Autora.

As bandas observadas nos espectros PDOS do Kaempferol (Fig. 31) demonstram que grande parte da concentração de densidade eletrônica presente na fronteira (HOMO/LUMO) possui maior contribuição dos átomos de carbono e dos átomos de oxigênio (orbitais 2p e pares

de elétrons não ligantes), já as hidroxilas substituídas em diferentes posições ao longo dos anéis apresentaram uma distribuição desigual de suas bandas nos orbitais de fronteira, influenciando diretamente no padrão de reatividade. Em relação aos átomos, como observado nos espectros PDOS (Fig. 22A), quando comparados os átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio, em relação aos seus orbitais HOMO, é observada a maior intensidade das bandas para os átomos de carbono. A presença de picos até mesmo em regiões mais internas (energias mais negativas) é características das ligações C-H, C-C e C-O (ligações σ). Já nas regiões intermediárias de energia (-10 a -5 eV) se concentra a densidade eletrônica referente à extensão do sistema aromático (π - anéis), onde os orbitais p se encontram sobrepostos lateralmente e conjugados, originando a deslocalização eletrônica nas estruturas, e aos pares de elétrons não-ligantes dos átomos de oxigênio. Nos oxigênios as bandas dos espectros se encontram distribuídas em duas regiões, picos mais próximos da fronteira (HOMO), principalmente devido aos pares de elétrons não-ligantes com alta energia, sendo os principais responsáveis pela reatividade da molécula na remoção de hidrogênios. Já a presença também de picos dos átomos de oxigênio em regiões mais internas de energia demonstram uma menor participação na reatividade da molécula e a capacidade de conjugação dos átomos de oxigênio com o sistema aromático. Isso indica que ele é o átomo que irá atuar preferencialmente como a espécie doadora de elétrons (orbitais p) em reações de interceptação e neutralização de radicais livres. Os orbitais virtuais desocupados (LUMO) se concentram em valores positivos de energia e, no caso dos flavonóis, geralmente são referentes aos orbitais antiligantes da carbonila (π^*). A contribuição dos orbitais 1s dos átomos de hidrogênio e intensidade de suas bandas é muito pequena, se tornando relevante apenas em orbitais muito mais internos e ainda assim com uma intensidade muito menor que a dos átomos de oxigênio. Sendo assim, o desempenho de atividade antioxidante pelas moléculas será modulado principalmente pelos oxigênios presentes nas hidroxilas e na carbonila.

As hidroxilas do Kaempferol que se encontram substituídas no anel A de sua estrutura, apresentaram fraca intensidade de suas bandas nos espectros PDOS na região próxima da fronteira (HOMO), com a presença de picos mais intensos em regiões mais negativas de energia, sendo indicativo de que essas hidroxilas possuem maior contribuição para a estabilidade da molécula do que para sua reatividade. A hidroxila presente na posição 5 (OH5), localizada próxima à carbonila, contribui de forma mais significativa para a formação de interações intramoleculares (ligações de hidrogênio) e estabilização da estrutura, o que acaba diminuindo sua contribuição para o HOMO, com uma menor tendência para doação de elétrons e remoção de hidrogênios. Essa contribuição baixa para a densidade eletrônica do orbital HOMO é um forte indicativo da produção de um radical fenóxido de menor estabilidade. Já as

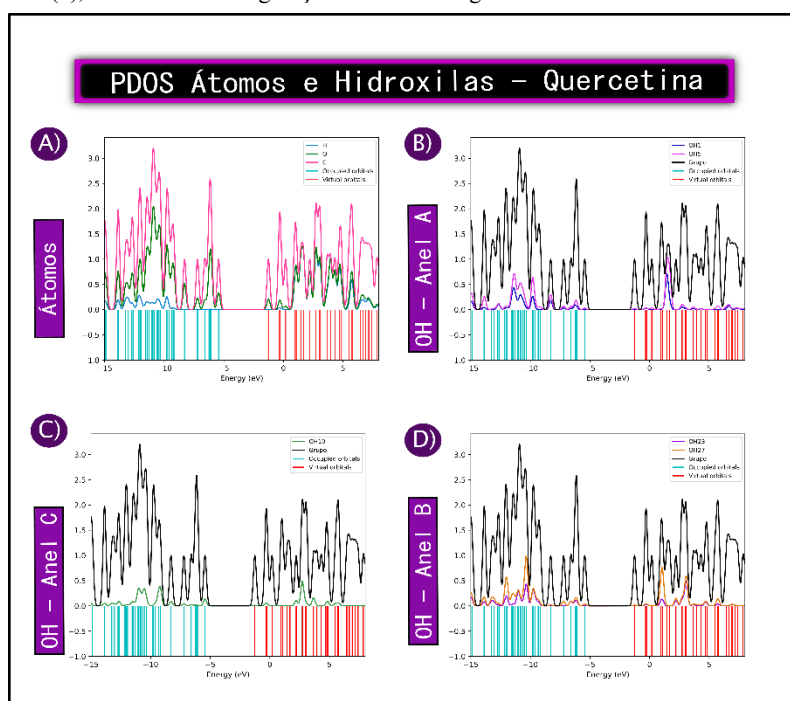
bandas observadas nos espectros PDOS obtidos para a hidroxila presente no anel C (Fig. 31C) apresentaram intensidade intermediária, quando comparada com as hidroxilas presentes nos anéis A e B. A hidroxila do anel C geralmente está conjugada com a carbonila e com o sistema aromático da molécula, produzindo um radical melhor estabilizado após a reação com outras espécies. Essa estabilização ocorre através da deslocalização eletrônica (ressonância) entre o anel C e a carbonila. No espectro (Fig. 31C) é observada uma banda de maior intensidade exatamente no orbital HOMO dessa hidroxila, seguida de bandas de menor intensidade até apresentar um aumento de intensidade em orbitais muito mais internos, demonstrando possuir uma maior atividade antioxidante que as hidroxilas presentes no anel A. A boa estabilidade das espécies radicalares (fenóxidos) formadas após a reação com os radicais livres também é importante de ser avaliada, pois são parâmetros cruciais nos mecanismos de desempenho de atividade antioxidante. O Kaempferol apresenta apenas uma única hidroxila substituída no anel B de sua estrutura e, com base nas bandas observadas nos espectros (Fig. 31D), ela possui menor contribuição para os orbitais de fronteira que a hidroxila presente no anel C, que encontra-se conjugada com a carbonila. Sendo assim, com base nas bandas observadas nos espectros PDOS do Kaempferol, é possível estimar que a hidroxila com desempenho de atividade antioxidante mais promissora seria a que está substituída no anel C, seguida da hidroxila substituída no anel B e as hidroxilas do anel A possuem a menor contribuição para o desempenho de atividade antioxidante pela molécula, devido ao seu comprometimento com a formação de interações intramoleculares (ligações de hidrogênio).

Na Figura 32 são apresentados os espectros PDOS das hidroxilas e dos átomos envolvidos (carbonos, hidrogênios e oxigênios) da Quercetina. Em relação aos átomos, um comportamento similar ao apresentado pelo Kaempferol foi observado, com a maior intensidade das bandas referente aos carbonos e pares isolados dos oxigênios, se concentrando nos orbitais HOMO dos átomos de oxigênio, sendo a principal espécie doadora de elétrons. Já em relação às hidroxilas, as que estão presentes no anel A, assim como no caso do Kaempferol, apresentam uma pequena contribuição para o HOMO, com os picos se deslocando para regiões mais negativas de energia, demonstrando que essas hidroxilas estão envolvidas com ligações de hidrogênio, sendo menos responsáveis pelo desempenho de atividade antioxidante. A hidroxila presente no anel C demonstrou forte contribuição para o HOMO (Fig. 32 C),

A diferença mais significativa entre a Quercetina e o Kaempferol está nas hidroxilas que estão substituídas no anel B. A presença de duas hidroxilas em posições adjacentes nesse anel (posição 3' e 4') recebe a denominação de catecol e a presença desse grupo na estrutura permite uma forte estabilização do radical formado após a remoção de hidrogênio. Os espectros

obtidos para as hidroxilas desse anel B (Fig. 32D) foram os que apresentaram uma maior intensidade e largura das bandas, com contribuição significativa para o HOMO, sendo indicativo dessas hidroxilas serem os sítios onde os hidrogênios serão removidos primeiro em mecanismos de desempenho de atividade antioxidante, principalmente a hidroxila substituída na posição 4' desse anel (C₂₇). Isso irá ocorrer, pois o grupo catecol gera múltiplas estruturas de ressonância para o radical fenoxila, espalhando a carga e o spin, o que se reflete na intensidade dos picos próximos ao HOMO nos espectros PDOS. possuindo boa atividade antioxidante com a geração de um radical fenoxila estável (bem deslocalizado).

FIGURA 32 - Densidade Parcial de Estados (PDOS) dos (A) átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e das hidroxilas presentes no (B) anel A, (C) anel C e (D) anel B da estrutura da Quercetina, obtidos no funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singlete.



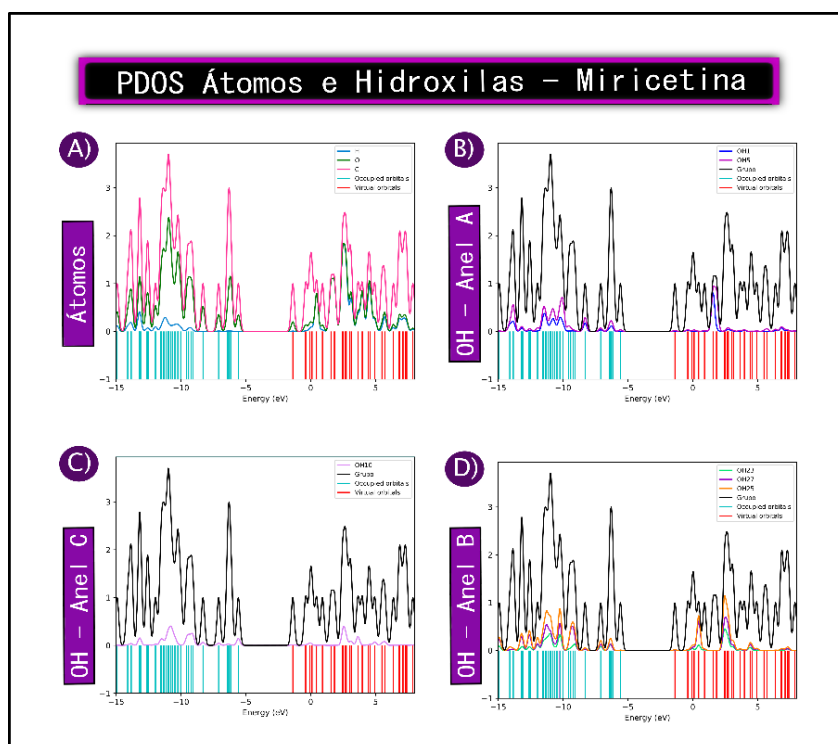
Fonte: A Autora.

Os espectros PDOS para os átomos e hidroxilas da Miricetina são apresentados na Figura 33. Com relação aos átomos, a maior contribuição para a densidade eletrônica nos orbitais também é dos átomos de carbono e oxigênio, com uma maior intensidade que o Kaempferol na região próxima da fronteira (HOMO). A presença de um maior número de hidroxilas substituídas e, conseqüentemente, de pares não ligantes nos átomos de oxigênio, torna a molécula mais reativa e com um maior número de sítios possíveis para a remoção de hidrogênios.

Como visto pela intensidade das bandas (Fig. 33B), as hidroxilas que se encontram substituídas no anel A da estrutura também apresentam uma contribuição moderada na região próxima ao HOMO, com os picos da hidroxila que se encontra próxima da carbonila sendo

mais expressivos em regiões mais negativas de energia, indicando que ela contribui na formação de interações intramoleculares. Assim como foi observado para o Kaempferol e para a Quercetina, a hidroxila presente no anel C também é um sítio importante para doação de hidrogênios, por apresentar uma boa capacidade de estabilização do radical formado por ressonância. Já em relação ao anel B, com a presença de três hidroxilas substituídas (posições 3', 4' e 5'), a Miricetina possui uma intensidade de suas bandas ainda mais pronunciada nesse anel, em comparação com o Kaempferol e com a Quercetina. Portanto, as hidroxilas presentes no anel B são os sítios com maior predisposição para a remoção de hidrogênios, por possibilitarem várias vias (ressonância) para estabilização do radical resultante (fenoxila), o que aumenta significativamente a atividade antioxidante nesses sítios (hidroxilas).

FIGURA 33 - Densidade Parcial de Estados (PDOS) dos (A) átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e das hidroxilas presentes no (B) anel A, (C) anel C e (D) anel B da estrutura da Miricetina, obtidos no funcional B3LYP, conjunto de base 6-31G(d), vácuo e sob configuração eletrônica singleto.



5 CONCLUSÕES

Nos estudos iniciais para escolha do nível de teoria a ser utilizado nos cálculos computacionais o conjunto de funções de base 6-31G(d) e o funcional B3LYP apresentaram menor custo computacional (em termos do tempo de cálculo) e uma melhor descrição (precisão) dos sistemas moleculares estudados, em termos dos parâmetros energéticos de seus FMOs e dos λ_{MAX} mais próximos aos ensaios espectroscópicos experimentais (nos solventes metanol e etanol). Nos cálculos de relaxação de geometrias todas as estruturas encontradas foram confirmadas como sendo mínimos de energia nas SEP (mais estáveis) sem a presença de frequências vibracionais imaginárias (todos valores positivos). Após a relaxação das geometrias, nas estruturas mais estáveis obtidas, foi observado que dos flavonóis estudados a Quercetina é a molécula que possui o menor valor ($\Delta E_{vert} = 3,688$ eV) de energia de excitação vertical entre seus FMOs (HOMO/LUMO), indicando uma maior reatividade e facilidade de absorção da radiação UV para excitação de seus elétrons na ocorrência de transições eletrônicas.

Ainda nos estudos em relação aos FMOs (HOMO/LUMO), na correlação dos parâmetros energéticos com os Parâmetros de Reatividade Global foi observado que a Quercetina, possui o menor valor de IP (IP = 5,489 eV), menor dureza ($\eta = 1,844$ eV) e maior Maciez ($S = 0,542$ eV⁻¹), atuando preferencialmente como espécie doadora de elétrons, sendo a mais promissora entre as três moléculas estudadas para desempenho de atividade antioxidante. O grupo catecol (anel B) presente em sua estrutura demonstrou ser crucial e proporcionar uma boa deslocalização de densidade eletrônica (entre os anéis A e C), além de atribuir boa capacidade de estabilização do radical fenoxila resultante. O Kaempferol demonstrou valores intermediários para a maioria dos parâmetros de reatividade obtidos, não sendo observado um favorecimento para o desempenho de atividade antioxidante, em comparação com as demais moléculas, porém sendo um composto estável para absorção da radiação UV e desempenho de ação foto protetora. Em relação aos parâmetros de reatividade obtidos para a Miricetina, a molécula possui o maior valor de EA (EA = 1,901 eV), maior dureza ($\eta = 1,883$ eV) e menor Maciez ($S = 0,531$ eV⁻¹), mesmo possuindo um maior número de hidroxilas substituídas ao longo de seus anéis (grupo pirogalol). Isso demonstra que a Miricetina irá se destacar como espécie aceptora de elétrons, possuindo maior rigidez eletrônica. Todas as moléculas possuem valores muito próximos para a Eletronegatividade (χ), indicando uma boa capacidade de atração da densidade eletrônica de outras espécies e consequente boa distribuição de carga ao longo de sua estrutura. Quanto ao Potencial Químico (μ) a Quercetina foi a molécula com o valor mais elevado para esse parâmetro ($\mu = -3,645$ eV), corroborando com os valores obtidos

nos parâmetros anteriores e refletindo seu destaque em mecanismos que envolvem a transferência de elétrons para desempenho de atividade antioxidante, com o grupo catecol além de favorecer a deslocalização eletrônica também contribuir para a doação de densidade de carga. Além disso, foram obtidos valores altos de Eletrofilicidade (ω superiores a 1,5 eV) para os três flavonóis, confirmando todas as moléculas estudadas como eletrófilos fortes com uma nuvem eletrônica versátil e propícia à uma boa resposta quando em presença de perturbações externas. Os parâmetros de reatividade refletiram como a diferença no padrão de substituição das hidroxilas no anel B pode afetar no desempenho de atividade antioxidante pelas moléculas. Com base na análise de todos esses parâmetros, as moléculas podem ser classificadas em ordem decrescente de desempenho de atividade antioxidante como: Quercetina > Kaempferol > Miricetina.

Com a análise da distribuição de cargas de Mulliken e topologia dos FMOs, observada nos mapas de Potencial Eletrostático Molecular (MEP), foi possível visualizar um comportamento muito parecido para as três moléculas, com a densidade eletrônica se concentrando principalmente nos oxigênios da carbonila e das hidroxilas e as regiões de deficiência de densidade nos hidrogênios, sítios que irão atuar preferencialmente atraindo outras espécies ricas em elétrons (radicais livres) para abstração de prótons. Algumas diferenças na intensidade dessas regiões de maior e menor concentração de densidade eletrônica foram observadas entre as moléculas, de acordo com a variação no padrão de substituição das hidroxilas (número e posição), com um aumento de polaridade das moléculas, principalmente no caso da Quercetina e da Miricetina.

A análise conformacional a respeito dos comprimentos e ângulos de ligação das hidroxilas obtidos refletiu a presença da capacidade de formação de interações intramoleculares (ligações de hidrogênio) principalmente com a região da carbonila (anel C), além de demonstrar a existência de efeitos de estabilização nas estruturas, como ressonância e extensão do sistema conjugado π . A análise do ângulo diedro demonstrou que as conformações mais estáveis (menor energia) são as estruturas que apresentam planaridade entre os três anéis ($\theta = 0^\circ$ e $\theta = 180^\circ$), com a orientação das hidroxilas de maneira que possibilite a formação do maior número possível de ligações de hidrogênio, classificadas de acordo com a distância de interação entre os hidrogênios e oxigênios como interações de força moderada.

Nos parâmetros termoquímicos obtidos através dos modelos de interação (PCM) com os solventes polares água, etanol e propileno glicol foi observado espontaneidade de interação na formação de soluções e dissoluções com todos os três solventes. Para todas as moléculas a interação com a água e o etanol foram muito similares, não possuindo diferenças significativas

de interação. Ainda foi observado aumento no momento de dipolo total ($\vec{\mu}$ de 0,362 D, 1,776 D e 0,595 D para a Quercetina, Kaempferol e Miricetina, respectivamente. Principalmente na interação das moléculas com o solvente propileno glicol, também foi observado uma diminuição de energia do orbital LUMO, e consequente diminuição do valor de gap energético. Isso pode ser indicativo de alteração conformacionais significativas que acabam aumentando a capacidade de interação e alterações na distribuição de cargas das moléculas. Portanto, o uso das moléculas em conjunto com solventes polares nas formulações cosméticas de protetores solares é interessante, não prejudicando a ocorrência das transições eletrônicas, mantendo um bom desempenho de ação foto protetora, além de conferir boa estabilidade ao produto final.

Nos estudos a respeito dos estados excitados com a simulação dos espectros de absorção UV possibilitaram a identificação dos comprimentos de absorção máximos (λ_{MAX}). Todos os espectros apresentaram as duas bandas características dessa classe de flavonoides, uma na região de 300-400 nm (grupo cinamoíla) e a outra na região de 240-280 nm (grupo benzoíla). Sendo assim, as moléculas estudadas nesse trabalho possuem atuação de amplo espectro com forte capacidade de absorção na região UVA e UVC, sendo capazes de atuar em conjunto com moléculas sintéticas nas formulações de filtros solares orgânicos, contribuindo na ampliação do espectro de atuação, aumento do FPS, além de também serem capazes de desempenhar sua atividade antioxidante na captura de radicais livres, retardando o processo de envelhecimento precoce da pele. Em relação à contribuição das transições eletrônicas dos dois principais estados excitados das moléculas, as transições que ocorrem são majoritariamente do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, com boa capacidade de transferência de carga intramolecular (ICT) entre os anéis, podendo ainda ocorrer transições de caráter misto do tipo $n \rightarrow \pi^*$, como no caso da Miricetina.

Os espectros obtidos com as Densidades Parciais de Estados (PDOS) permitiram uma análise qualitativa da relação existente entre a distribuição eletrônica e o desempenho de atividade antioxidante pelas moléculas. A interpretação das bandas presentes nos espectros PDOS demonstrou que o número e posição das hidroxilas substituídas ao longo dos anéis é um fator decisivo na modulação do padrão de reatividade e desempenho de atividade antioxidante. No Kaempferol, a hidroxila presente no anel C é a que apresenta uma maior contribuição para os orbitais de fronteira (HOMO) devido ao efeito de conjugação com a carbonila, as hidroxilas presentes no anel A estão associadas à estabilização da estrutura através de interações intramoleculares e, por possuir apenas uma hidroxila substituída em seu anel B, essa hidroxila é o sítio que apresenta menor predisposição para o desempenho de atividade antioxidante. A Quercetina, com a presença de um grupo catecol no anel B em sua estrutura proporcionou um aumento significativo no desempenho de atividade antioxidante pelas hidroxilas presentes no

anel B, pois possibilita uma forte estabilização dos radicais fenoxila formados após a remoção dos hidrogênios. Já a Miricetina, com um número ainda maior de hidroxilas substituídas em seu anel B (grupo pirogalol) demonstrou possuir uma capacidade ainda maior para a doação de hidrogênios, ampliando os sítios disponíveis e desempenho de atividade antioxidante pela molécula. Sendo assim, o anel B indicar ser o principal sítio ativo responsável pelo desempenho de atividade antioxidante nos mecanismos que envolvem a remoção de hidrogênios.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas para trabalhos futuros é possível utilizar a Dinâmica Molecular para realização de estudos empregando um modelo de solvatação explícita, visando uma compreensão mais detalhada a respeito das interações intermoleculares que podem ocorrer entre flavonoides e diferentes solventes. Além dos descritores de reatividade obtidos nesse trabalho (principalmente o IP), também seria possível investigar de forma mais detalhada a partir da perspectiva da termodinâmica os mecanismos de desempenho de atividade antioxidante, como por exemplo, os mecanismos HAT e SET, com a obtenção de parâmetros que são cruciais nesses mecanismos, como a energia de dissociação de ligação (BDE). Visando a aplicação cosmética também é possível investigar a interação de flavonoides que possuem potencial de fotoproteção com enzimas da pele através dos estudos de *Docking* Molecular, simulando a interação para verificar a estabilidade dessas moléculas como filtros orgânicos UV, ou até mesmo em conjunto com outras moléculas sintéticas, visando o desenvolvimento de formulações sinérgicas e foto estáveis.

REFERÊNCIAS

- [1] DIAS D. A., *et al.* A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, p. 303–336, 2012.
- [2] NEWMAN D. J. E., CRAAG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 4, p. 629–661, 2016.
- [3] ROJAS, C. M., *et al.* Regulation of primary plant metabolism during plant pathogen interactions and its contribution to plant defense. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 17, p. 1–12, 2014.
- [4] AKULAR. E., RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling and Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720–1731, 2011.
- [5] MANSURIR., *et al.* Potential of natural compounds as sunscreen agents. **Pharmacognosy Network Worldwide**, v. 15, n. 29, p. 47–56, 2021.
- [6] CAROCHO M., *et al.* Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 11, p. 377–399, 2014.
- [7] JHAS., *et al.* Global scenario of natural products for sustainable agriculture. **Natural Bioactive Products in Sustainable Agriculture**, v. 15, n. 29, p. 291–307, 2021.
- [8] WEAVER, B.A. How taxol/paclitaxel kills cancer cells. **Molecular Biology of the Cell**, v. 25, n. 18, p. 2677–2681, 2014.
- [9] DHYANIP., *et al.* Anticancer potential of alkaloids: a key emphasis to colchicine, vinblastine, vincristine, vindesine, vinorelbine and vincamine. **Cancer Cell International**, v. 22, n. 206, p. 1–20, 2022.
- [10] THOMAS C. J., *et al.* Camptothecin: current perspectives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 1585–1604, 2004.
- [11] VALLIM., *et al.* The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 763–778, 2018.
- [12] USMANM., *et al.* Exploring the phytochemicals and anti-cancer potential of the members of Fabaceae family: A comprehensive review. **Molecules**, v. 27, p. 38–63, 2022.
- [13] PASCUAL-TERESA S. E. SANCHEZ-BALLESTA, M. T. Anthocyanins: from plant to health. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, p. 281–299, 2008.
- [14] KOSAI, P. *et al.* Review on ethnomedicinal uses of memory boosting herb, butterfly pea, *Clitoria ternatea*. **Journal of Natural Remedies**, v. 15, n. 2, p. 71–76, 2015.

- [15] GAMAGEG. C. V., *et al.* Anthocyanins from clitoria ternatea flower: Biosynthesis, extraction, stability, antioxidant activity, and applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 1–17, 2021.
- [16] CASTANEDA-OVANDO A., *et al.* Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 859–871, 2009.
- [17] MUKHERJEE P. K., *et al.* The ayurvedic medicine clitoria ternatea—from traditional use to scientific assessment. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, p. 291–301, 2008.
- [18] RAMPALLI S. E GOPALKRISHNAN, B. Pharmacognostical investigation of clitoria ternatea l. leaves. **Plant Science Today**, v. 09, n. 04, p. 814–819, 2022.
- [19] HAVANANDA T. E LUENGWILAI, K. Variation in floral antioxidant activities and phytochemical properties among butterfly pea (clitoria ternatea l.) germplasm. **Genet Resour Crop Evol**, v. 66, p. 645–658, 2019.
- [20] KAZUMA K., *et al.* Flavonoid composition related to petal color in different lines of clitoria ternatea. **Phytochemistry**, v. 64, p. 1133–1139, 2003.
- [21] MULTISONA R. R., *et al.* Clitoria ternatea flower and its bioactive compounds: Potential use as microencapsulated ingredient for functional foods. **Applied Sciences**, v. 13, p. 2–24, 2023.
- [22] MAKASANA J., *et al.* Extractive determination of bioactive flavonoids from butterfly pea (clitoria ternatea linn.). **Research on Chemical Intermediates**, v. 43, p. 783–799, 2017.
- [23] XUE, Y., *et al.* Density functional theory study of the structure–antioxidant activity of polyphenolic deoxybenzoins. **Food Chemistry**, v. 151, p. 198–206, 2014.
- [24] ISTOCK. **Foto do chá das flores de *C. ternatea***. S.D. Disponível em: <<https://www.istockphoto.com/br/search/2/image-film?phrase=butterfly+pea+blue+tea>>. (Acessado em: 29.05.25).
- [25] PHILLIPSON, J. D. Phytochemistry and medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 56, p. 237–243, 2001.
- [26] JADOTI., *et al.* An integrated view of aristolochic acid nephropathy: Update of the literature. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 2, p. 297–321, 2017.
- [27] STEVENSON P. C., *et al.* Plant secondary metabolites in nectar: impacts on pollinators and ecological functions. **Functional Ecology**, v. 31, p. 65–75, 2017.
- [28] NCUBE, B., ESTADEN, J.V. Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. **Molecules**, v. 20, p. 12698–12731, 2015.
- [29] MLODZINSKA, E. Survey of plant pigments: Molecular and environmental determinants of plant colors. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 51, p. 7–16, 2009.

- [30] HAUKIOJA E. e KORICHEVA, J. Tolerance to herbivory in woody vs. herbaceous plants. **Evolutionary Ecology**, v. 14, n. 4, p. 551–562, 2000.
- [31] HENRYG., *et al.* Pamps, mamps, damp and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v. 16, n. 2, p. 257–268, 2012.
- [32] LIZ. H., *et al.* Phenolics and plant allelopathy. **Molecules**, v. 15, p. 8933–8952, 2010.
- [33] DALTON D. R., *et al.* Alkaloids. **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**, v. 15, p. 1039–1087, 2003.
- [34] WATKINS, J. L., *et al.* Elucidation of the mescaline biosynthetic pathway in Peyote (*lophophora williamsii*). **The Plant Journal**, v. 116, p. 635–649, 2023.
- [35] YANG W., *et al.* Advances in pharmacological activities of terpenoids. **Natural Product Communications**, v. 15, n. 3, p. 1–13, 2020.
- [36] SIDDIQUE H. R. e SALEEM, M. Beneficial health effects of lupeol triterpene: A review of preclinical studies. **Life Sciences**, v. 88, p. 285–293, 2011.
- [37] USTUNDAG O. G. e MAZZA, G. Saponins: Properties, applications and processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 231–258, 2007.
- [38] PANCHE A. N., *et al.* Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, n. 47, p. 1–15, 2016.
- [39] RUDRAPAL M., *et al.* Chalcone scaffolds, bioprecursors of flavonoids: Chemistry, bioactivities, and pharmacokinetics. **Molecules**, v. 26, p. 1–21, 2021.
- [40] YANG B., *et al.* New insights on bioactivities and biosynthesis of flavonoid glycosides. **Trends in Food Science and Technology**, v. 79, p. 116–124, 2018.
- [41] SHEN, N., *et al.* Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 383, p. 132531, 2022.
- [42] BERGA M., *et al.* Flavonoids in the spotlight: Bridging the gap between physicochemical properties and formulation strategies. **Pharmaceuticals**, v. 16, p. 1–28, 2023.
- [43] CHAVES, J. O., *et al.* Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. **Frontiers in Chemistry**, v. 08, p. 1–25, 2020.
- [44] JULKUNEN-TIITTO, R., *et al.* Assessing the response of plant flavonoids to uv radiation: an overview of appropriate techniques. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, p. 273–297, 2015.
- [45] NISTOR, A. N. e BUTNARIU, M. Physical properties and identification of flavonoids by ultraviolet-visible spectroscopy. **International Journal of Biochemistry and Physiology (IJBP)**, v. 08, n. 02, p. 1–5, 2023.

- [46] NUNES, A. R., *et al.* Use of flavonoids and cinnamates, the main photoprotectors with natural origin. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 23, p. 1–9, 2018.
- [47] BEECHER, G. R. Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 10, p. 3248S–3254S, 2003.
- [48] SHIREEN, P. A., *et al.* Theoretical insights on flavanones as antioxidants and uv filters: A td-dft and nlmo study. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, v. 170, p. 286–294, 2017.
- [49] PUBCHEM. **Kaempferol**. s.d. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kaempferol>>. (Acessado em: 25.05.25).
- [50] PUBCHEM. **Quercetin**. s.d. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin>>. (Acessado em: 25.05.25).
- [51] BEHLING, E. B., *et al.* Flavonoides quercetina: Aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285–292, 2004.
- [52] RUSSO, M., *et al.* The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: Facts and fancies. **Biochemical Pharmacology**, v. 83, p. 6–15, 2012.
- [53] PUBCHEM. **Myricetin**. s.d. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myricetin>>. (Acessado em: 25.05.25).
- [54] MAROYI, A. Medicinal uses of the fabaceae family in zimbabwe: A review. **Plants**, v. 12, p. 1–26, 2023.
- [55] PETROVSKA, B. B. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy Reviews**, v. 06, n. 11, p. 1–5, 2012.
- [56] OMAR, R.M., *et al.* Medicinal plants: dual source of enzymes and enzyme modulators. **Polymorphism**, v. 03, p. 15–31, 2019.
- [57] SHAYGANNI, E., *et al.* Inflammaging and cardiovascular disease: Management by medicinal plants. **Phytomedicine**, v. 23, p. 1119–1126, 2016.
- [58] AHMADI, B. B., *et al.* Anethno-medicinal study of medicinal plants used for the treatment of diabetes. **Journal of Nephropathology**, v. 05, n. 01, p. 44–50, 2016.
- [59] SINGHAL, A. K., *et al.* Medicinal plants with a potential to treat alzheimer and associated symptoms. **International Journal of Nutrition**, Wolters Kluwer Health, v. 02, n. 02, p. 84–91, 2012.
- [60] LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, v. 224, p. 164–175, 2014.
- [61] EL-BELTAGI, H. S. e MOHAMED, H. I. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 41, n. 01, p. 44–57, 2013.

- [62] WANG T., *et al.* Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, p. 12–23, 2018.
- [63] GULCIN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, v. 86, p. 345–391, 2012.
- [64] SADASIVAM, K. e KUMARESAN, R. Antioxidant behavior of mearnssetin and myricetin flavonoid compounds — a dft study. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 79, p. 282–293, 2011.
- [65] BRIEGER, K., *et al.* Reactive oxygen species: from health to disease. **Swiss Medical Weekly**, v. 142, n. 3334, p. 1–14, 2012.
- [66] COLLIN, F. Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 2407, p. 1–17, 2019.
- [67] CABISCOL, E., *et al.* Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. **International Journal of Microbiology**, v. 03, p. 3–8, 2000.
- [68] NAKAI, K. e TSURUTA, D. What are reactive oxygen species, free radicals, and oxidative stress in skin diseases? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 19, p. 3–8, 2021.
- [69] LEWARS, E. **Computational Chemistry**. Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics. [S.l.]: Kluwer Academic Publishers, 2003.
- [70] LI, X., *et al.* Molecular docking, molecular dynamics simulation, and structure based 3d-qsar studies on estrogenic activity of hydroxylated polychlorinated biphenyls. **Science of the Total Environment**, v. 441, p. 230–238, 2012.
- [71] HASNIP, P. J., *et al.* Density functional theory in the solid state. **Philosophical Transactions**, v. 372, p. 1–26, 2014.
- [72] JENSEN, F. **Introduction to Computational Chemistry**. 2. ed. [S.l.]: John Wiley and Sons, 2007.
- [73] CREMER, D. Møller–plessset perturbation theory: from small molecule methods to methods for thousands of atoms. **WIREs Computational Molecular Science**, v. 01, p. 509–530, 2011.
- [74] TIRAPATTUR, S., *et al.* Study of excited state properties of oligofluorenes by the singles configuration interaction (cis) theoretical approach. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 01, p. 141–148, 2003.
- [75] LIU, J. e CHENG, L. Relativistic coupled-cluster and equation-of-motioncoupled-cluster methods. **WIREs Computational Molecular Science**, v. 11, p. 1–21, 2021.

- [76] KLEINSCHMIDT, M., *et al.* Spock.ci: A multireference spin-orbit configuration interaction method for large molecules. **The Journal of Chemical Physics**, v. 124, p. 124101–1–124101–17, 2006.
- [77] OLSEN, J. The casscf method: A perspective and commentary. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 111, p. 3267–3272, 2011.
- [78] FILHO, M. A. M., *et al.* Semiempirical quantum chemistry model for the lanthanides: RM1 (recife model 1) parameters for dysprosium, holmium and erbium. **Plos One**, v. 09, n. 01, p. 1–10, 2014.
- [79] THIEL, W. Semiempirical quantum–chemical methods. **WIREs Computational Molecular Science**, v. 04, p. 1–13, 2013.
- [80] BECKE, A. D. Perspective: Fifty years of density functional theory in chemical physics. **The Journal of Chemical Physics**, v. 140, n. 01, p. 18A301–1–18A301–18, 2014.
- [81] ANDRES, J. e BELTRAN, J. **Química Teórica y Computacional**. 4. ed. [S.l.]: Publicacions de la Universitat Jaume I, 2000.
- [82] ALVAREZ, M. A., *et al.* Theoretical study of the conformational energy hypersurface of cyclotrisarcosyl. **Central European Journal of Chemistry**, v. 10, n. 01, p. 248–255, 2012.
- [83] PHO, K. Improvements of the newton–raphson method. **Journal of Computational and Applied Mathematics**, v. 408, p. 114106–1–114106–16, 2022.
- [84] KELLY, P. **The Harmonic Oscillator Approximates Molecular Vibrations**. s.d. Disponível em:
<https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Physical_Chemistry_%28LibreTexts%29/05%3A_The_Harmonic_Oscillator_and_the_Rigid_Rotor/5.03%3A_The_Harmonic_Oscillator_Approximates_Molecular_Vibrations>. (Acessado em: 03.06.25).
- [85] AHERNM., *et al.* Theoretical investigation of the normal-mode vibrational frequencies and intensities of ethylene. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 92, n. 22, p. 6228–6232, 1988.
- [86] FORESMAN, J. B. e FRISCH, A. **Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods**. [S.l.]: Gaussian Inc., 2015.
- [87] RAUK, A. **Orbital Interaction Theory of Organic Chemistry**. [S.l.]: Wiley, 2001.
- [88] KOHN, W. Nobel lecture: Electronic structure of matter—wave functions and density functionals. **Reviews of Modern Physics**, v. 71, n. 05, p. 1253–1266, 1999.
- [89] LEVINE, I. N. **Quantum Chemistry**. 7. ed. [S.l.]: Pearson, 2014.
- [90] MCQUARRIE, D. A. e SIMON, J. D. **Physical Chemistry A Molecular Approach**. [S.l.]: University Science Books, 1997.

- [91] MORGON, N. H. e CUSTODIO, R. Teoria do funcional da densidade. **Química Nova**, v. 18, n. 01, p. 44–55, 1995.
- [92] CARICATO, M. e TOMASI, J. Solvent effects on the electronic spectra: An extension of the polarizable continuum model to the zindo method. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 108, p. 6248–6256, 2004.
- [93] MARKOVIC, S. e TOSOVIC, J. Application of time-dependent density functional and natural bond orbital theories to the uv-vis absorption spectra of some phenolic compounds. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 119, p. 9352–9362, 2015.
- [94] SVOBODOVA, A., *et al.* Natural phenolics in the prevention of uv-induced skin damage. A review. **Biomedical Papers**, v. 147, n. 02, p. 137–145, 2003.
- [95] DUPONT, E., *et al.* Beyond uv radiation: A skin under challenge. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 35, p. 224–232, 2013.
- [96] FLAVIO, J. J. e FERNANDEZ, S. The rising incidence of skin cancers in young adults: A population-based study in brazil. **Scientific Journal of Dermatology and Venereology**, v. 03, n. 01, p. 39–53, 2024.
- [97] KOWALSKI, S., *et al.* Natural compounds in non-melanoma skin cancer: Prevention and treatment. **Molecules**, v. 29, p. 728–765, 2024.
- [98] YASHODA CENTRE, H. R. **Melanoma Skin Cancer, Types, Stages, Signs, Symptoms and Treatment**. 2021. <<https://www.yashodahealthcare.com/blogs/melanoma-skin-cancer-types-stages-signs-symptoms-and-treatment/>>. (Acessado em 30.05.25).
- [99] ZIGLAR, J., *et al.* Sunscreens: Updates on sunscreen filters and formulations. **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v. 41, p. 26–32, 2025.
- [100] REBÊLLO, J. **Protetor solar físico e químico: qual a diferença?** 2019. <<https://blogdebeleza.com.br/blog/protetor-solar-fisico-x-quimico-qual-a-diferenca/>>. (Acessado em 30.05.25).
- [101] ANVISA. **Resolução RDC nº 30, de 1 de Junho de 2012**. 2012. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0030_01_06_2012.html>. (Dispõem sobre o uso de Protetores Solares em Cosméticos.).
- [102] HIDAYAH, H., *et al.* Sun protection factor activity of jamblang leaves serum extract (*Syzygium cumini*). **Pharmacognosy Journal**, v. 15, n. 01, p. 134–140, 2023.
- [103] EUROPE, C. **In Vitro Method for The Determination of The UVA Protection Factor and "Critical Wavelength" Values of Sunscreen Products**. 2011. Disponível em: <<https://www.ceceditore.com/wp-content/uploads/2022/10/Colipa-UVA-In-Vitro-Method-March-2011-Final.pdf>>. (Guia COLIPA para determinação do fator de proteção UVA.).
- [104] EUROPE, C. **Standardisation Mandate Assigned to CEN concerning Methods for Testing Efficacy of Sunscreen Products**. 2006. Disponível em: <<https://law.resource.org/pub/eu/mandates/m389.pdf>>. (Mandato estabelecido pela COLIPA

(Europa) para padronização dos testes utilizados na determinação da eficácia de protetores solares.).

[105] MATTS, P. J., *et al.* The colipa in vitro uva method: a standard and reproducible measure of sunscreen uva protection. **International Journal of Cosmetic Science.**, v. 32, p. 35–46, 2010.

[106] CASWELL, M. Sunscreen formulation and testing. **Allured's Cosmetics and Toiletries**, v. 116, n. 09, p. 47–56, 2001.

[107] TOMAZELLI, L. C., *et al.* SPF enhancement provided by rutin in a multifunctional sunscreen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 552, p. 4001–406, 2018.

[108] SAEWAN, N. e JIMTAISONG, A. Natural products as photoprotection. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 14, p. 47–63, 2015.

[109] PATIL, V. V., *et al.* Study of methanolic extract of flower of *spathodea campanulata* L. as an anti-solar. **International Journal of Green Pharmacy**, v. 03, n. 03, p. 248–249, 2009.

[110] PINHEIRO, P. **Foto da flor Chama-da-Floresta**. S.D. Disponível em: <<https://www.pinheiroplantas.com.br/index.php?produto&cod=117&grupo=1&Espat%C3%B3ria&2206072201062622>>. (Acessado em: 01.06.25).

[111] HOP, N.Q. e SON, N. *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.: A review of phytochemistry, pharmacology, and pharmacokinetics. **Current Organic Chemistry**, v. 27, p. 1842–1856, 2023.

[112] SOCFINDO, C. **Foto do Gengibre Chinês (*Boesenbergia rotunda* / Finger Root)**. S.D. Disponível em: <<https://www.socfindoconservation.co.id/plant/281?lang=en>>. (Acessado em: 01.06.25).

[113] NANJO, F., *et al.* Radical scavenging activity of tea catechins and their related compounds. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 63, n. 09, p. 1621–1623, 1999.

[114] MONACO, N. E. **Foto da planta *Camellia sinensis***. S.D. Disponível em: <<https://www.monaconatureencyclopedia.com/camellia-sinensis/?lang=en>>. (Acessado em: 01.06.25).

[115] NATURA, L., M. **Foto do Chá Verde**. 2024. Disponível em: <<https://www.medicinanatural.com.br/cha-verde-hipertensao-arterial/>>. (Acessado em: 01.06.25).

[116] NHANI, G. B. B., *et al.* High-tech sustainable beauty: Exploring nanotechnology for the development of cosmetics using plant and animal by-products. **Cosmetics**, v. 11, p. 112–140, 2024.

[117] CHAUHAN, A. C. C. Emerging trends of nanotechnology in beauty solutions: A review. **Materials Today: Proceedings**, v. 81, p. 1052–1059, 2023.

- [118] DAO, D. Q., *et al.* Insight into antioxidant and photoprotective properties of natural compounds from marine fungus. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 60, p. 1329–1351, 2020.
- [119] FRISCH, M. J., *et al.* **Gaussian 09, Revision A.02**, Gaussian Inc, Wallingford CT. 2016.
- [120] DENNINGTON, R., *et al.* **GaussView, Version 6**, Gaussian Inc. 2016.
- [121] GROOM, C. R., *et al.* **Mercury Software**, Cambridge Crystallographic Data Centre. 2017. Disponível em: <<https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/software/free-mercury/>>.
- [122] BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. the role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, p. 5648–5652, 1993.
- [123] LEE, C., *et al.* Development of the colic-salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, p. 785–789, 1988.
- [124] LEE, C. e SOSA, C. Local density component of the lee–yang–parr correlation energy functional. **The Journal of Chemical Physics**, v. 100, p. 9018–9024, 1994.
- [125] STEPHENS, P. e DEVLIN, F. Ab initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, p. 11624–11627, 1994.
- [126] HEHRE, W. e STEWART, R. Self-consistent molecular-orbital methods. i. use of gaussian expansions of slater-type atomic orbitals. **The Journal of Chemical Physics**, v. 51, p. 2657–2664., 1969.
- [127] CLARK, T. e CHANDRASEKHAR, J. Efficient diffuse function- augmented basis sets for anion calculations. III.* the 3-21+g basis set for first-row elements, li-f. **Journal of Computational Chemistry**, v. 04, p. 294–301., 1982.
- [128] HOHENSTEIN, E. G., *et al.* Assessment of the performance of the m05-2x and m06-2x exchange-correlation functionals for noncovalent interactions in biomolecules. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 04, p. 1996–2000, 2008.
- [129] CHEN, Z., *et al.* Theoretical investigations on charge transport properties of tetrabenzo[a,d,j,m]coronene derivatives using different density functional theory functionals (b3lyp, m06-2x, and wb97xd). **Journal of Chemical Research**, v. 43, p. 294–303, 2019.
- [130] MENNUCCI, M. Polarizable continuum model. **WIREs Computational Molecular Science**, v. 02, p. 386–404, 2012.
- [131] O’BOYLE, N.M., *et al.* cclib: A library for package-independent computational chemistry algorithms. **Journal of Computational Chemistry**, v. 29, n. 05, p. 839–845, 2008.
- [132] PARTHASARATHI, R. S. V. **Hydrogen Bonding—New Insights**. [S.l.]: Springer, 2006. p. 1-50.

- [133] WEN-TING, L. V. e LIU, X. A 5-fluorouracil–kaempferol drug–drug cocrystal: a ternary phase diagram, characterization and property evaluation. **CrystEngComm**, v. 22, p. 8127–8135., 2020.
- [134] DOMAGALA, S. e MUNSHI, P. Structural analysis and multipole modelling of quercetin monohydrate– a quantitative and comparative study. **Acta Cryst.**, v. 67, p. 63–78., 2011.
- [135] SOWA, M. e SLEPOKURA, K. Experimental crystal structure determination. **Journal of Molecular Structure**, v. 24, p. 114–121., 2014.
- [136] TSUNEDA, T., *et al.* On koopmans’ theorem in density functional theory. **The Journal of Chemical Physics**, v. 133, p. 174101–1–174101–9, 2010.
- [137] DOMINGO, L. R., *et al.* Applications of the conceptual density functional theory indices to organic chemistry reactivity. **Molecules**, v. 21, p. 748–770, 2016.
- [138] PARR, R. G., *et al.* Electronegativity: The density functional viewpoint. **The Journal of Chemical Physics**, v. 68, p. 3801–38007., 1978.
- [139] PAL, R. e CHATTARAJ, P. K. Electrophilicity index revisited. **Journal of Computational Chemistry**, v. 44, p. 278–297., 2022.
- [140] ALI, H. M. e ALI, I. H. Structure-antioxidant activity relationships, qsar, dft calculation, and mechanisms of flavones and flavonols. **Medicinal Chemistry Research**, v. 28, p. 2262–2269., 2019.
- [141] RASULEV, B. F. e ABDULLAEV, N. D. A quantitative structure-activity relationship (qsar) study of the antioxidant activity of flavonoids. **QSAR and Combinatorial Science**, v. 09, p. 1056–1065., 2005.
- [142] HAYNES, W. M., *et al.* **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. [S.l.]: CRC Press, 2004.
- [143] DUAN, Y. Ultraviolet-visible spectrum characterizations of quercetin in aqueous ethanol solution with different ph values. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 06, n. 09, p. 236–240, 2014.
- [144] TELANGE, D. R., *et al.* Development and validation of uv spectrophotometric method for the estimation of kaempferol in kaempferol: Hydrogenated soy phosphatidylcholine (hspc) complex. **Pharmaceutical Methods**, v. 05, n. 01, p. 34–38, 2014.
- [145] XIN, M., *et al.* Study on the structure–activity of dihydromyricetin and its new production. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 116, p. 241–248, 2014.
- [146] LU, T. e CHEN, F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. **Journal of Computational Chemistry**, v. 33, p. 580–592, 2012.