



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

GISELE FRANCO DE CASTRO

ESTUDO ESPECTROSCÓPICO EXPERIMENTAL E TEÓRICO DA
ACETILBERGENINA

MANAUS
2013

GISELE FRANCO DE CASTRO

**ESTUDO ESPECTROSCÓPICO EXPERIMENTAL E TEÓRICO DA
ACETILBERGENINA**

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

Orientador: Prof Dr Yuji Takahata
Co-Orientadora: Prof^ª Dr^ª Luiza Gabriel Pereira

MANAUS
2013

GISELE FRANCO DE CASTRO

**ESTUDO ESPECTROSCÓPICO EXPERIMENTAL E TEÓRICO DA
ACETILBERGENINA**

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

Data da aprovação ___/___/___

Banca Examinadora:

Dr. Yuji Takahata
Universidade do Estado do Amazonas - UEA

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

Dr^a. Margarida Carmo de Souza
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

**MANAUS
2013**

Ficha Catalográfica
(Catalogação na fonte realizada pela Biblioteca Central – UEA)

Castro, Gisele Franco de

F216d

Estudo Espectroscopico Experimental e Teorico da Acetilbergenina / Gisele Franco de Castro. - Manaus: UEA, 2013.

53 f.; il. color.

Tese (Mestrado em Biotecnologia) — Universidade do Estado do Amazonas, 2013.

Orientador: Prof. Dr Yuji Takahata

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

1. – Uxi – Bergenina, Acetilbergenina 2. Espectroscopia UV, TFD CDU

Dedico aos meus pais Alírio C. Franco e Sônia Regina. Aos meus irmãos Filipe, Elisama e Kássia A toda minha família em especial a minha vó Leonor Franco (in memoriam). Ao meu amado esposo Oziel Alves de Castro e ao meu filho Gabriel. Todos são presentes que Deus enviou e a Ele seja dada Toda Honra e Glória.

“E disse Deus: Haja Luz. E houve luz”.

Gênesis Cap.1 vers.3

AGRADECIMENTOS

A Deus

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia da UEA.

Aos amigos que fiz na instituição UEA. Especialmente Alberto dos Santos Marques, Yuji Takahata, Angela Maria Imakawa e Luiza Gabriel Pereira pelo apoio, incentivo e orientação.

Ao meu amigo Diego dos Santos Freitas por sua amizade e disposição ao me ajudar principalmente durante a minha licença a Maternidade e a todos os amigos do mestrado.

À professora Dra. Sandra Zanotto pelo fornecimento do composto acetilbergenina.

À professora Dra. Socorro Nóbrega por suas orientações e ensinamentos de amor fraterno.

Aos amigos do INPA que contribuíram para o término deste trabalho.

A minha família pelo amor, apoio e incentivo em todos os momentos.

Á todos que contribuíram direta e indiretamente com a pesquisa e elaboração deste trabalho.

RESUMO

O estudo de plantas da Amazônia tem chamado a atenção devido às atividades biológicas comprovadas pelo uso empírico de suas comunidades. Pesquisas farmacológicas de plantas encontradas na natureza tem um grande avanço com o uso de modelagem computacional. Este tipo de estudo diminui o tempo na elaboração de um medicamento e possibilita melhor análise da molécula que já possui sua atividade biológica analisada. A acetilbergenina foi sintetizada a partir da Bergenina extraída da casca da *Endopleura uchi*, cujo extrato é utilizado pela comunidade Amazonida para tratamento de infecções e diversas atividades biológicas já foram comprovadas dentre elas: anti-úlcero-gênica, hepatoproteção, anti-HIV, inibidora de obesidade, antioxidante, antimicrobiana etc. Porém a bergenina tem pouca lipoficidade e é mal absorvida pelo trato gastrointestinal humano. O estudo da acetilbergenina demonstrou maior efeito biológico e maior eficácia com relação à bergenina. Este estudo amplia as informações da molécula 3, 4, 8, 10, 11-penta-O acetilbergenina através de cálculos teóricos e espectroscopia UV/VIS. Os espectros de UV / VIS da acetilbergenina foram simulados em três ambientes diferentes: vácuo, etanol, água e utilizando energias de excitação e intensidade de transição calculadas por métodos de química quântica. Um espectro experimental de absorção UV da molécula em etanol foi comparado com o espectro teórico simulado. O método Hartree-Fock foi utilizado para otimizar a geometria molecular. A Teoria do Funcional Densidade Dependente do Tempo (TD-DFT) com a base 6-31G * foi utilizado para calcular as energias de excitação da molécula. Efeitos do solvente dos espectros de UV / VIS e outras propriedades moleculares, tais como carga atômica, foram estudados. Os resultados dos cálculos teóricos apresentaram coerência com os dados experimentais possibilitando a análise do espectro UV. A comparação dos três espectros teóricos em três solventes diferentes revelam que os três espectros tem três bandas A, B e C. A intensidade relativa da banda C em etanol e em água é muito fraca em comparação com a mesma na simulação em vácuo. Os orbitais HOMO e LUMO estão localizados no anel aromático que evidencia como a região fotoativa da molécula acetilbergenina.

Palavras chaves: Acetilbergenina, Espectros de absorção UV, Teoria Funcional da Densidade Dependente do Tempo- TFDFT

ABSTRACT

The study of plants of the Amazon has attracted attention due to biological activities proven by empirical use of their communities. Pharmacological research of plants found in nature has a breakthrough with the use of computer modeling. This type of study decreases the time to design a product and enables better analysis of the molecule that already has analyzed its biological activity. The acetilbergenin was synthesized from bergenin extracted from the bark of *Endopleura uchi* whose extract is used by Amazonian community to treat infections and several biological activities have been proven among them: anti-ulcerogenic, hepatoprotection, anti-HIV, inhibiting obesity antioxidant, antimicrobial and so on. But the bergenin has little lipoficidade and is poorly absorbed by the human gastrointestinal tract. The study demonstrated acetilbergenin greater biological effect and more effective with respect to bergenin. This study expands the information of molecule 3, 4, 8, 10, 11-penta-O acetilbergenin through theoretical calculations and UV / VIS spectra. The UV / Visible spectra of acetilbergenin (3, 4, 8, 10, 11-penta-O acetilbergenine) were convoluted in three different environments: vacuum, ethanol, and water using excitation energies and transition intensities calculated with quantum chemical methods. An experimental UV / Visible spectrum of the molecule in ethanol was compared with corresponding theoretically simulated spectrum. Hartree-Fock method was used to optimized molecular geometry. The Density Functional Theory Time Dependent (DFTTD) with the basis set 6-31G* was used to calculate excitation energies and accompanying intensities of the molecule. Solvent effects of the UV/ Visible spectra and other molecular properties such as atomic charge were studied. The results of theoretical calculations were consistent with experimental data allows the analysis of the UV spectrum. A comparison of the three theoretical spectra of three different solvents shows that the three spectra have three bands **A**, **B** and **C**. The relative intensity of the band **C** in ethanol and water is very low in comparison with the same in the simulation in vacuo. The HOMO and LUMO are localized on the aromatic ring which shows how the region photoactive molecule acetilbergenin.

Keywords: Acetilbergenin, absorption UV spectra, Density Functional Theory Time Dependent- DFTTD

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO I

Tabela 1. Atividades Biológicas da Bergenina.....	6
Tabela 2. Comparação de algumas atividades biológicas pesquisadas da acetilbergenina e ber genina	12

ESTUDO ESPECTROSCÓPICO EXPERIMENTAL E TEÓRICO DA ACETILBERGENI NA

Tabela 1. As energias de excitação, E (eV), singlete , S _j (tipo $\pi \pi^*$), e o comprimento de on da, λ (nm), dos espectros da acetilbergenina em vácuo calculado. Força de oscilador (f-valor) , transição e amplitude, calculados. D(141)=HOMO, V(1)=LUMO.....	36
Tabela 2. As energias de excitação, E (eV), singlete , S _j (tipo $\pi \pi^*$), e o comprimento de on da, λ (nm) , dos espectros da acetilbergenina em etanol, e observado e calculado. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude, calculados. D(141)=HOMO, V(1)=LUMO.....	40
Tabela 3. As energias de excitação, E (eV), singlete , S _j (tipo $\pi \pi^*$), e o comprimento de on da, λ (nm), dos espectros da acetilbergenina em água calculado. Força de oscilador (f-valor) , transição e amplitude, calculados. D(141)=HOMO, V(1)=LUMO.....	41
Tabela 4. O efeito solvente na (a) energia de excitação singlete relativa e em (b)intensida de relativa das bandas para a acetilbergenina em simulações: vácuo, etanol e água	42
Tabela 5. Algumas propriedades calculadas DFT 631G*.....	43
Tabela 6. Cargas atômicas de ac etilbergenina em vácuo calculados por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural.....	45
Tabela 7. Média da diferença das cargas das simulações nos solventes com relação a simula ção em vácuo. a) Etanol em relação ao meio vácuo b) Água em relação ao meio vácuo.....	48

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

Figura 1 - Estrutura molecular da Bergenina. I- anel aromático, II - δ -lactona e III- D-glicopiranosose.....	4
Figura 2. Estrutura molecular da Acetilbergenina, em destaque os cinco pontos de acetilação e aos anéis I- anel aromático, II- anel δ -lactona e III- anel de D – glicopiranosose.....	8
Figura 3- Estrutura molecular da Acetilbergenina com numeração atômica determinada por cristalografia de raio-x (FRICK e colaboradores, 1991).....	9
Figura 4- Estrutura molecular da Acetilbergenina com destaque nas cargas eletrostáticas dos carbonos (BORGES e colaboradores, 2011).....	9
Figura 5- Diferenças interatômicas entre Acetilbergenina e Bergenina.....	11
Figura 6- Diferenças angulares entre Acetilbergenina e Bergenina.....	11
Figura 7- Caminho óptico. Onde P_0 é a potência inicial da radiação que passa por uma solução absorvente de espessura b (cm) de concentração (mol.L^{-1}) resultando na potência transmitida P (SKOOG e colaboradores, 2006).....	19
Figura 8- Transição eletrônica do Estado Fundamental para o Estado Excitado (modificado de Pavia, Lampman e Kriz , 2010).....	19
Figura 9 - Transições eletrônicas (orbital ligante sigma- σ , orbital antiligante sigma σ^* , orbital ligante pi π e orbital antiligante pi π^*) (modificado de Pavia, Lampman, Kriz 2010).	20
Figura 10- Esquema de processo radioativo em dois níveis. (Alu) transição para absorção e transição para emissão espontânea (Eul) e emissão estimulada (Est.ul) (modificado de Miranda, 2001).....	21
Figura 11- Mecanismos de TE. (a) Tipo Forster ou coulômbico (b) Tipo Dexter ou de troca de elétrons (DEXTER, 1953).....	22

ESTUDO ESPECTROSCÓPICO EXPERIMENTAL E TEÓRICO DA ACETILBERGENINA

Figura 1- Estrutura molecular da Acetilbergenina em destaque os anéis I- anel aromático, II- anel δ -lactona e III- anel de D –glicopirranose e os cinco pontos de acetilação.....	33
Figura 2- Estrutura molecular da Acetilbergenina com numeração conforme cristalografia...	34
Figura 3- Espectro Teórico de Absorção UV da Acetilbergenina DFT-6-31G* simulação em; a) vacuo b) etanol c) água. Os Espectros foram feitos com forma Gaussiana, HWHM(Half-Width at Half Maximum)=5 nm, Step size=1 nm. d) Espectro Experimental de Absorção U V da Acetilbergenina, antes de recristalizar, em Etanol 10^{-4} M , e) Espectro Experimental de Absorção UV da Acetilbergenina, recristalizada, em Etanol 10^{-4} M.....	35
Figura 4- Orbitais moleculares da Acetilbergenina em vácuo. a) HOMO b) HOMO-1 c) HOMO-2 d) HOMO-3 e) LUMO f) LUMO+1.....	37
Figura 5 - Orbitais moleculares da Acetilbergenina em etanol. a) HOMO b) HOMO-1 c) HOMO-2 d) HOMO-3 e) LUMO f) LUMO+1.....	39
Figura 6 - Orbitais moleculares da Acetilbergenina em água. a) HOMO b) LUMO c) HOMO-1 d) LUMO+1.....	41
Figura 7- Mapa de potencial eletrostático da molécula de acetilbergenina no vácuo sobre uma superfície de $0,002 \text{ eV/ua}^3$	43
Figura 8- Mapa de potencial eletrostático da molécula de acetilbergenina sobre uma superfície de $0,002 \text{ eV/ua}^3$. a) água b) etanol.....	44
Figura 9- Cargas atômicas de carbonos da Acetilbergenina calculadas por três métodos diferentes; Eletrostática, Mulliken e Natural.....	46
Figura 10- Cargas atômicas de Oxigênio da Acetilbergenina calculadas por três métodos diferentes; Eletrostática, Mulliken e Natural.....	47
Figura 11- Carga atômica relativa calculada, de átomos de carbono na molécula de acetilbergenina, em etanol em relação ao meio vácuo.....	50
Figura 12- Carga atômica relativa calculada, de átomos de oxigênio na molécula de acetilbergenina, em etanol em relação ao meio vácuo.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

Poli PAR	poli (4-(2-piridalazo-resorcino))
MWCNT	Multinotubos de carbono
HOMO	Orbital molecular ocupado mais alto (highest occupied molecular orbital)
LUMO	Orbital molecular não ocupado mais baixo (lowest unoccupied molecular orbital)
SOMO	Orbital ocupado por um só elétron (singly occupied molecular orbital)
ASH	Albumina Sérica Humana
BPC	Complexo de fosfolípido de Bergenina
FT-IR	Transformada de Fourier – Infra Vermelho (Fourier Transform Infra Red)
GAIN	Intoxicação por D-galactosamina
B3LYP	Becke, de três parâmetros, Lee, Yang, Parr
TOM	Teoria do Orbital Molecular
TFD	Teoria do Funcional da Densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Dados da Molécula “Mãe” Bergenina e Atividade Biológica.....	4
2.2 Acetilação.....	7
2.3 Acetilbergenina e Atividade Biológica.....	7
2.4 Comparação entre Acetilbergenina e Bergenina.....	10
2.5 Bases Teóricas.....	13
2.5.1 Química Teórica e Métodos Computacionais.....	1
2.5.2 Espectroscopia de Absorção UV.....	16
2.5.3 Transições Eletrônicas.....	18
2.5.4 Processos de Transferência de Energia Eletrônica.....	20
2.5.5 Efeito do Solvente.....	21
Referências Bibliográficas.....	22
Estudo Espectroscópico Experimental e Teórico da Acetilbergenina.....	29

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa de novos fármacos obtidos a partir das plantas vem se intensificando e isto é evidenciado pelo aumento destes estudos em todo o meio científico (DAHANUKA e colaboradores, 2000). Nos elementos naturais encontramos diferenciadas estruturas químicas com diversas funções biológicas. A aplicação farmacológica de uma substância depende do desenvolvimento de testes combinatórios envolvendo o estudo conformacional da molécula e suas propriedades físicas e químicas para melhor análise do campo de interação com o organismo (NAZIR e colaboradores, 2011).

O uso da química teórica através de métodos computacionais tornou a pesquisa de fármacos mais racional, devido à diminuição de custos e rapidez nos resultados (SANT'ANNA, 2009). Este tipo de pesquisa tem demonstrado confiabilidade quando comparada com dados experimentais, isto é aproxima químicos teóricos e químicos experimentais, ajuda a compreensão de fenômenos nas quais as técnicas experimentais não podem ainda serem diretamente utilizadas, fornece dados de reações, barreiras de reação, influência de ligantes em compostos de coordenação na espectroscopia do infravermelho e ultravioleta (DUARTE, 2001).

O estudo de modelagem computacional das substâncias encontradas na natureza forma um banco de dados importante para o desenvolvimento de fármacos (NAZIR e colaboradores, 2011). A biodiversidade do Amazonas é reconhecida como uma das mais ricas do mundo e cada vez mais aumenta o interesse na pesquisa sobre o uso das plantas. Muitos compostos que são conhecidos tradicionalmente pelas comunidades brasileiras foram focos de pesquisas que comprovaram *in vitro* e *in vivo* as suas atividades biológicas (FEITOSA e colaboradores, 2011; NUNOMURA e colaboradores, 2009, da MATA, 2011).

A *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. é uma planta da família Humiriaceae, uma espécie originária da Amazônia conhecida popularmente como uxi-amarelo, uxi-liso, uxi, uxi pucu. A planta é encontrada dispersa por toda a Bacia Amazônica (SCHUTES, 1979). A *E. uchi* é utilizada tradicionalmente pelas mulheres da região amazônica no uso terapêutico de infecções uterinas (CORRÊA, 1984). O uso tradicional desta planta torna-se justificado pela atividade antimicrobiana realizada pela substância bergenina presente na casca da *E. uchi* (SILVA e colaboradores, 2009). A análise fitoquímica desta espécie mostra a presença dos derivados de isocumarinas bergenina e 8,10-dimetoxibergenina no caule da *E. uchi* (LUNA e colaboradores, 2000; LUNA e colaboradores, 2001; LAGOS, 2006; FERREIRA e

colaboradores, 2005). O estudo de isocumarinas e seus derivados são de grande importância, pois elas possuem muitas atividades biológicas comprovadas; como ação antimicrobiana e anti- HIV (ARUNPANICHLERT e colaboradores, 2010), antinociceptiva (RAHMAN e colaboradores, 2002), antitumoral (ROSSI e colaboradores, 2003), anticâncer (SALLOUM e colaboradores, 2000), antioxidante (DEVIENNE e colaboradores, 2007; KAMOLCHANOK e colaboradores, 2011).

Pesquisas com a acetilbergenina demonstraram maior biodisponibilidade e maior efeito hepatoprotetor em relação à isocumarina bergenina (LIM e colaboradores, 2000; BORGES, 2010; JUNG e colaboradores, 2011). O processo de acetilação na modificação de drogas muda a forma como ela é metabolizada no organismo, a acetilação do anti-inflamatório natural ácido salicílico o torna mais eficaz diminuindo a dose necessária para o seu efeito biológico e proporciona uma habilidade maior para atravessar a barreira hematoencefálica (PASCUAL e colaboradores, 2004).

Estudos farmacológicos com a acetilbergenina comprovaram as seguintes atividades biológicas; analgésica e anti-inflamatória, antinarcótico, antimicrobiana (*E. coli*) e antioxidante, hepatoprotetora contra intoxicação por D- galactosamina e contra intoxicação por tetracloreto de carbono (BORGES, 2010; JUNG e colaboradores, 2011; NAZIR e colaboradores, 2011; LIM H. e colaboradores, 2001; LIM S e colaboradores, 2000). Sendo que a acetilbergenina apresentou atividade antimicrobiana contra a *E. coli* que foi descrita como inativa na bergenina, demonstrando que o processo de acetilação potencializou a atividade antimicrobiana (NAZIR e colaboradores, 2011).

São poucos os estudos referentes à molécula acetilbergenina e principalmente estudos teóricos, este fato demonstra a importância do estudo espectroscópico experimental e teórico da acetilbergenina que irá contribuir com futuras pesquisas sobre a relação estrutura química e atividades biológicas desta molécula. Visto que a evolução científica tem proporcionado a agilidade nas informações, como consequência temos a maior interação com o mercado globalizado, com isso necessitamos trabalhar com o máximo de desempenho econômico, produtos de alta qualidade e promover redução de custos para se tornar mais competitivo. Em tais circunstâncias, o pesquisador busca conhecimento biológico, físico, químico e computacional para tirar o maior proveito dos dados obtidos. O foco desta pesquisa tem como objetivo geral estudar a relação entre a estrutura eletrônica e molecular da acetilbergenina e sua atividade biológica, usando espectroscopia eletrônica molecular e cálculos computacionais e os específicos são: 1- Realizar cálculos computacionais usando método *ab initio* e a Teoria do Funcional da Densidade para obter as seguintes informações:

orbitais moleculares, geometria molecular, propriedades físico-químicas, termodinâmicas, energias de excitação eletrônica e espectro teórico UV a partir da estrutura química da acetilbergenina descrita pela literatura. 2- Estudo espectroscópico do efeito do solvente na estrutura eletrônica. Serão utilizadas simulações de solvente imitando ambientes hidrofóbico (vácuo) e hidrofílico (etanol e água). 3- Estudo correlacionando os resultados experimentais e teóricos para melhor entender a relação estrutura química e interação biológica da acetilbergenina.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Dados da Molécula “Mãe” Bergenina e Atividade Biológica

A molécula da bergenina ($C_{16}H_{19}O_6$), 4-methoxy-2-[(1S, 2R, 3S, 4S, 5R)- 3,4,5,6-tetrahydro-3,4,5-trihydroxy-6-(hidroxymethyl)-2H-pyran-2yl]- α -resorcylic acid δ -lactona monohidratada] é composta de três anéis de seis membros: um anel aromático (I), anel δ -lactona (II) e um anel de D- glicopiranosose (III) (Figura 1). O anel δ -lactona possui a esperada conformação semi-cadeira (RASTOGI e RAWAT, 2008). Em 1958 Hay e Haynes isolaram a bergenina a partir das raízes de *Bergenina crassifolia* e obtiveram os espectros de absorção ultravioleta cujas bandas apresentaram os seguintes máximos em 275 e 220 nm. Ogan (1971) isolou a bergenina a partir da casca de *Sacoglottis gabonensis* e obteve o espectro de absorção ultravioleta com as bandas máximas em 225nm e 275nm.

A estrutura da bergenina (Figura 1) foi descrita por Caldas e colaboradores (2002), Ye e colaboradores, (2004) e Dittrich e colaboradores (2009). Caldas e colaboradores (2002) com o objetivo de esclarecer as ambiguidades da estereoquímica determinou a estrutura da bergenina a 120K. Ye e colaboradores (2004) procurando confirmar a estrutura química determinada por Zhou e colaboradores (1999) e Dittrich e colaboradores (2009), pesquisou a temperatura ambiente e conforme parâmetros atômicos de Ye e colaboradores (2004), determinou que a bergenina é uma substancia constituída de um sistema formado por três anéis; D-glicopiranosose, δ -lactona e um anel aromático fundido ao anel δ -lactona.

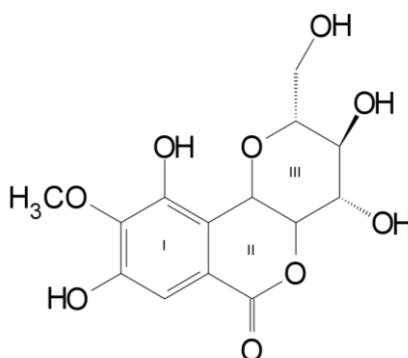


Figura 1 - Estrutura molecular da Bergenina. I- anel aromático, II - δ -lactona e III- D-glicopiranosose (CALDAS e colaboradores, 2002)

A bergenina não é hidrosscópica e mostrou-se estável sob o calor e umidade, mas sensível à hidrólise em solução neutra e alcalina com uma pseudo cinética de primeira ordem, o composto exibiu um pKa de $5,46 \pm 0,18$. A solubilidade em tampões foi pequena; $1,29 \pm 0,44$ mg em pH 1,0 ; $1,08 \pm 0,057$ mg/ml em pH 3,0 e $1,22 \pm 0,058$ mg/ml em pH 5,0 a 25°C. Demonstrou lipofilicidade pobre em pHs ácidos (1,0; 3,0 e 5,0) e degradação nas condições neutras e alcalinas (ZHOU e colaboradores, 2008).

Estudos eletroquímicos da bergenina em um poli (4 - (2-piridilazo)- resorcinol) com o uso de eletrodo de carbono vítreo para determinação da bergenina em comprimidos e em urina demonstrou que dois elétrons e dois prótons estão envolvidos no processo de oxidação da bergenina. O pH apresentou efeitos sobre o pico de oxidação atual da bergenina no polímero (poli-PAR). As taxas de recuperação da bergenina na urina foram de 96,2% a 107,3%. O filme de poli-PAR mostra uma melhoria na corrente de oxidação da bergenina (CHEN e colaboradores, 2008).

A oxidação eletrocatalítica da bergenina sobre a superfície de multinanotubos de carbono (MWCNT) com eletrodo de pasta de carbono (CPE), utilizando voltametria cíclica e voltametria de diferencial de pulso demonstrou uma corrente máxima em pH 7,0 de modo que o eletro-oxidação da bergenina é melhor no sentido de um meio neutro. A adição da superfície MWCNT apresentou um efeito catalítico significativo na oxidação eletroquímica da bergenina. O processo de oxidação da bergenina no eletrodo modificado envolveu um elétron e um próton (ZHUANG e colaboradores, 2007). A oxidação da bergenina foi também estudada através de reações de radicais hidroxila por radiólise de pulso em soluções aquosas submetidas à espectrometria de absorção em diferentes pHs, demonstrando que assim como outros polifenóis naturais a bergenina é capaz de eliminar os radicais livres oxidantes de forma eficaz, mas os radicais resultantes são reativos e agem como fonte de radicais peroxila. Embora a bergenina não possa atuar como protetor de radicais livres sem um dano oxidativo, a molécula pode atuar como pró-oxidante e esta atividade pode encontrar aplicação como agente antitumoral (SINGH e colaboradores, 2009).

Estudo teórico da atividade antioxidante de bergenina isolado da casca de *Sacoglottis uchi* Huber (Humiraceae) mostrou que o grupo metoxi é o local mais favorável para o ataque do radical (*H, *OH, CH₃* e CCl₃). A análise do cálculo DFT 6-311++G após otimização Hartree Fock 6-31 + G (d, p) mostrou que o ataque nucleofílico é favorecido no anel aromático onde o LUMO (orbital molecular desocupado mais baixo) está localizado. O SOMO (orbital ocupado por um só elétron) é principalmente localizado na parte aromática, mostrando que esta região é responsável pela formação de radicais. Segundo Abreu e

colaboradores (2008) os resultados termodinâmicos mostraram que a parte aromática da molécula é responsável pela atividade antioxidante da bergenina.

A bergenina, um derivado de isocumarinas extraída inicialmente por Garreau e Machelart em 1880 da Saxifragaceae, é descrita na literatura como uma substância de interesse farmacológico possuindo atividades biológicas. Pesquisas descrevem as seguintes atividades biológicas (Tabela 1).

Tabela 1. Atividades Biológicas da Bergenina

Atividade Biológica	Interação	Organismo	Autores
Anti-úlcero-gênica	tirosina hidroxilase (TH)	Adrenal Bovina	ZHANG e colaboradores , 2003
Hepatoproteção	transaminase glutâmico pirúvico e sorbitol desidrogenase liberada, S-transferase e glutathione redutase	Hepatócitos de ratos	KIM e LIM, 2000
Anti HIV	células C8166 infectados com HIV-1mn	<i>In vitro</i> de células humanas	PIACENTE, 1996
Anti-diabética e Inibidora de obesidade	enzimas hepáticas anti oxidante	Ratos diabéticos	RAJESH, 2011
Antioxidante e Antimicrobiana	Bactérias gram-positivas bactérias Gram-negativas S.aureus, B. Subtilis, K. Pneumoniae, inibição da xantina oxidase	Staphylococcus aureus e MTCC 2940 Bacillus subtilis MTCC 441 (Gram positivas) e E. coli MTCC 739 e 139 Klebsiella pneumoniae MTCC (Gram negativo),	NAZIR, 2011, SILVA, 2009
Antinociceptiva	atribuída à modulação da produção de citocinas, inibição da IL-1 β e TNF- α	Ratos	OLIVEIRA e colaboradores, 2011
Neuroprotetora	espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como o ânion radical superóxido e radical hidroxila	Ratos	TAKAHASHI e colaboradores, 2003
Inibidora de uréase	Urease	<i>Bacillus pasteurii</i>	ARIAN e colaboradores, 2011
Anti-inflamatória	COX-2 (ciclooxigenases) e fosfolipase A2 (PLA2).	Ciclooxigenase-recombinante humana Fosfolipase- albumina	NUNOMURA, 2009

		de soro bovino	
Imunomoduladora e Anti-artrítica	Equilíbrio de citocinas Th1/Th2	Ratos	NAZIR, 2007

2.2 Acetilação

A acetilação é o processo de introdução do grupo acetila que é do grupo funcional de moléculas orgânicas, a acila, com fórmula química R-COCH₃. A acetila é formada por uma metila ligada por ligação simples a uma carbonila na qual possui um único elétron livre ligado ao radical da acetila (McMURRY, 2005). Segundo este mesmo autor em organismos vivos, os grupos de acila constituem etapas importantes de síntese biológica e também em quebras de moléculas orgânicas. A maioria dos processos metabólicos (ciclo do ácido cítrico, síntese do ácido graxo, ciclo do glioxilato, formação de corpos cetônicos etc.) dos organismos vivos envolve o processo de acetilação. Uma das reações presentes no processo de metabolismo ocorre quando grupos acetil são ligados CoA (Co enzima A) formando a AcetilCoA que é um importante intermediário em sínteses e quebras de moléculas (McMURRY, 2005; NELSON e COX; 2011). Outro exemplo é quando o grupo acetila é adicionado a histonas (proteínas responsáveis pelo controle da transcrição do DNA) modificando suas propriedades e atividades biológicas (VERDIN, 2004).

A acetil CoA pode reagir como receptor eletrofílico, reagindo com os nucleófilos do seu grupo carbonila, e também é capaz de atuar como um doador nucleófilo após a perda do átomo de hidrogênio α ácido (McMURRY, 2005). Os compostos de acila são grupos abandonadores ou grupos de saídas bons ou razoavelmente bons, porque eles podem ser protonados. (SOLOMONS e FRYLE, 2006). A acetilbergenina demonstrou ser mais lipofílica e ter maior biodisponibilidade e efeito hepatoprotetor com relação à bergenina e apresentou atividade antimicrobiana contra a *E. coli* sendo que esta atividade antimicrobiana mostrou-se inativa na bergenina (LIM e colaboradores, 2001; JUNG e colaboradores, 2011; BORGES, 2010; NAZIR e colaboradores, 2011).

2.3 Acetilbergenina e Atividade Biológica

A acetilbergenina (C₂₄H₂₆O₁₄) é derivada da bergenina, 4-methoxy-2-[(1S, 2R, 3S, 4S, 5R)- 3,4,5,6- tetrahydro-3,4,5-trihydroxy-6-(hidroxymethyl)-2H-pyran-2yl]- α -resorcylic

acid δ -lactona monohidratada], e possui cinco pontos de acetilação, (Figura 2), e três anéis de seis membros: um anel aromático (I), anel δ -lactona (II) e um anel de D-glicopiranosose (III) .

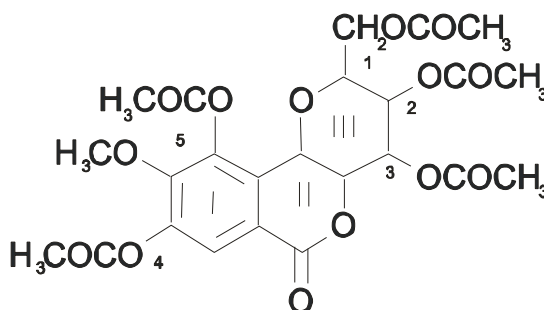


Figura 2. Estrutura molecular da Acetilbergenina, em destaque os cinco pontos de acetilação e aos anéis I- anel aromático, II- anel δ -lactona e III- anel de D -glicopiranosose

Ogan (1971) analisou a composição da casca do *Sacoglottis gabonensis* e identificou a bergenina e um derivado acetilado com ponto de fusão 205° - 207°C e absorção com máximos infravermelho em 1776 e 1739 cm^{-1} . Este mesmo autor apresentou dados de absorção ultravioleta (UV, EtOH) cujas bandas possuem os máximos, 256nm e 210nm, idênticos à pesquisa de HAY e HAYNES (1958) que apresentaram máximos da acetilbergenina sintetizada no laboratório em 254nm e 210nm. Os espectros de absorção UV (em solução etanólica) apresentaram máximos obtidos no método de acetilação segundo Ramaiah e colaboradores (1979) de: 255nm e 210nm. A literatura relata somente um estudo feito por raio-X em que a molécula acetilbergenina (Figura 3) foi descrita Frick e colaboradores (1991), enquanto outros autores elucidaram a substância por meio de espectroscopia de RMN (LIM e colaboradores, 2001; JUNG e colaboradores, 2011; NAZIR e colaboradores, 2011).

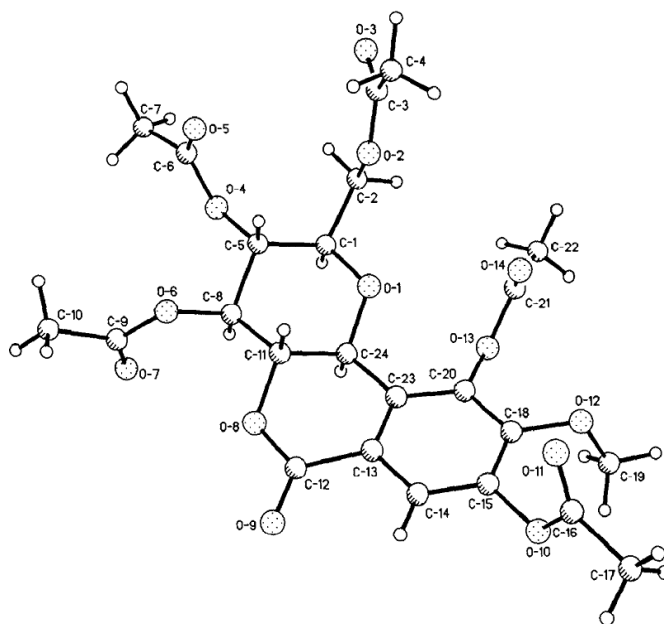


Figura 3- Estrutura molecular da Acetilbergenina com numeração atômica determinada por cristalografia de raio-x (FRICK e colaboradores, 1991).

A molécula acetilbergenina possui somente um estudo teórico no qual relata o mecanismo de ação da molécula e indica uma possível interação entre Ser-580 em PGE e um éster fenólico no átomo de carbono, com carga eletrostática igual a 0,61 (Figura 4), da carbonila (C=O) do grupo acetil do anel aromático. Este carbono segundo Borges e colaboradores (2011) é favorecido pela carga e tem menor impedimento estérico com relação aos demais carbonos. O cálculo também mostrou que a acetilbergenina tem reduzida capacidade nucleofílica em comparação com a molécula bergenina (BORGES e colaboradores, 2011).

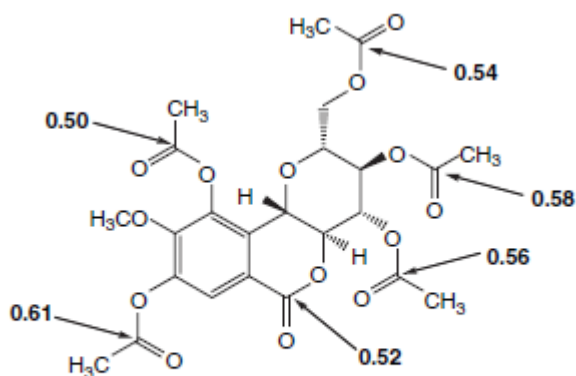


Figura 4- Estrutura molecular da Acetilbergenina com destaque nas cargas eletrostáticas dos carbonos (BORGES e colaboradores, 2011)

Pesquisas farmacológicas demonstram as seguintes atividades biológicas; analgésica e anti-inflamatória, antinarcótico, antimicrobiana (*E. coli*) e antioxidante, hepatoprotetora contra intoxicação por D- galactosamina e contra intoxicação por tetracloreto de carbono (BORGES, 2010; JUNG e colaboradores, 2011; NAZIR e colaboradores, 2011; LIM H. e colaboradores, 2001; LIM S e colaboradores, 2000).

As reações hepatoprotetoras da acetilbergenina foram examinadas contra a lesão induzida em hepatócitos de ratos utilizando a D-galactosamina (GAIN) e foi verificado que a acetilbergenina reduziu a elevada atividade das enzimas séricas de alanina/desidrogenase, aspartato-glutamiltransferase e a formação de aminotransferase sorbitol e malondialdeído hepático induzido pelo GAIN. Foi constatado também que a acetilbergenina mostrou maior atividade protetora com relação à bergenina (LIM H. e colaboradores, 2000). Em um estudo posterior Lim e colaboradores (2001), relataram a atividade hepatoprotetora da acetilbergenina como superior a da bergenina mediante a intoxicação induzida com tetracloreto de carbono (CCl₄) em ratos. Os resultados demonstraram a diminuição da glutatona S-transferase e glutatona redutase que foram restaurados a níveis quase normais. A acetilbergenina mostrou os mesmos níveis de atividade protetora da bergenina em doses menores sendo que 50mg/Kg da acetilbergenina e 100mg/Kg da bergenina demonstrando que a acetilbergenina é mais lipofílica.

O composto de Penta-O-acetil bergenina (acetilbergenina) e o Penta-O-benzoil bergenina em experimento *in vivo* com ratos mostraram maior atividade antinarcótico e também demonstraram um aumento na lipoficidade melhorando a biodisponibilidade em comparação com a bergenina (JUNG e colaboradores, 2011). A acetilbergenina também mostrou atividade antiedematogênica/antiinflamatória em ratos com edemas induzidos por carregina, dextrana e aplicação tópica de óleo de cróton e demonstrou significativo efeito analgésico periférico (BORGES, 2010).

2.4 Comparação entre Acetilbergenina e Bergenina

a) Estrutura Química

Comparando os dados cristalográficos da acetilbergenina (FRICK e colaboradores, 1991) com os dados da bergenina (CALDAS e colaboradores, 2002) observa-se três grandes diferenças; duas no anel D-glicopirranose a qual a distancia interatomica tem diferença entre o C1-C2 de 1,74% e entre o C1-C5 com 1,32% de diferença e de 3,34%

entre o O8-C11 pertencentes ao anel δ -lactona sendo que a diferença média foi de 0,238% (Figura 5).

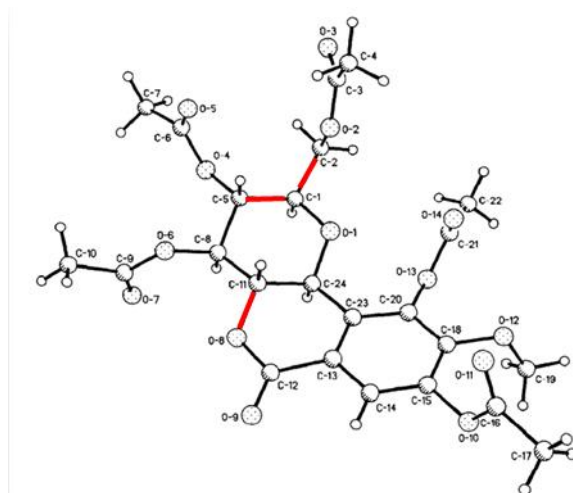


Figura 5- Diferenças interatômicas entre Acetilbergenina e Bergenina

Com relação aos ângulos observa-se três grandes diferenças no anel D-glicopiranosose no ângulo formado por C24-O1-C1 com -2,54%, no ângulo formado por O9-C12-O8 com -2,75% de diferença e no ângulo O2-C2-C1 pertencente ao anel δ -lactona com 3,35% de diferença e diferença média de -0,234% (Figura 6).

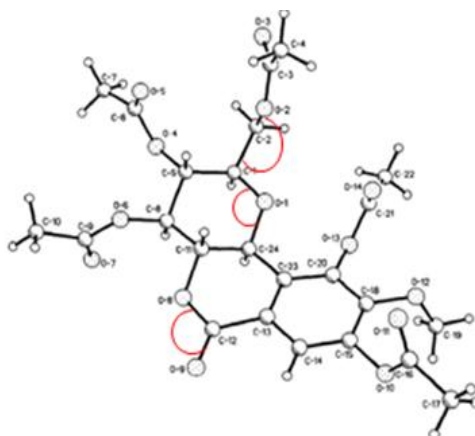


Figura 6- Diferenças angulares entre Acetilbergenina e Bergenina

b) Atividade Biológica

As pesquisas referentes às atividades biológicas da acetilbergenina até o momento apresentam comprovadas sete atividades e a bergenina já possui mais de dez estudos conforme descrita na Tabela 2. Nestas pesquisas foi comprovado que acetilbergenina evidenciou maior biodisponibilidade (LIM e colaboradores, 2000; BORGES 2010; JUNG e colaboradores, 2011), maior efeito hepatoprotetor (LIM e colaboradores, 2000, LIM e colaboradores, 2001) e atividade antimicrobiana contra a *Escherichia coli* na qual esta atividade mostrou-se inativa na bergenina (NAZIR e colaboradores, 2011).

Tabela 2. Comparação de algumas atividades biológicas pesquisadas da acetilbergenina e bergenina

Atividade Biológica	Acetilbergenina	Bergenina
Anti-úlcero gênica	BORGES, 2010	ZHANG e colaboradores, 2003; BORGES, 2010
Hepatoproteção	LIM H. e colaboradores, 2001; LIM H e colaboradores, 2000	KIM e LIM, 2000; LIM e colaboradores, 2001; LIM e colaboradores, 2000
Anti HIV	-	PIACENTE, 1996
Anti-diabética e Inibidora de obesidade	-	RAJESH, 2011
Antioxidante e Antimicrobiana	NAZIR e colaboradores, 2011	NAZIR, 2011, SILVA, 2009
Antinociceptiva	BORGES, 2010	OLIVEIRA e colaboradores, 2011 ; BORGES, 2010
Neuroprotetora	-	TAKAHASHI e colaboradores, 2003
Inibidora de uréase	-	ARIAN e colaboradores, 2011
Anti-inflamatória	BORGES, 2010	NUNOMURA e colaboradores, 2009; BORGES, 2010
Imunomoduladora e Anti-artrítica	-	NAZIR, 2007
Antinarcótico	JUNG e colaboradores, 2011	JUNG e colaboradores, 2011

2.5 Bases Teóricas

2.5.1 Química Teórica e Métodos Computacionais

A “Mecânica Quântica” surgiu a partir de diversas teorias que foram feitas para explicar a mecânica dos átomos e dos sistemas nucleares. As teorias surgiram e desenvolveram-se da Física Clássica particularmente da mecânica newtoniana e da teoria eletromagnética de Maxwell. Estes conceitos clássicos conseguiam explicar o mundo macroscópico, mas eram incapazes de explicar o mundo microscópico. A “antiga teoria dos quanta” ou Mecânica quântica antiga compreende as teorias de Plank (1900), Einstein (1905), Bohr (1913) e De Broglie (1924), embora explicasse muitos fenômenos incompreendidos falhava em sua base lógica para outros fenômenos. Heisenberg (1925) desenvolveu a “Mecânica das Matrizes” e simultaneamente Schrödinger (1926) baseando-se em De Broglie desenvolveu a “Mecânica Ondulatória”. As imprecisões foram desaparecendo com as teorias de Pauli (1924) e Dirac (1926) e o conjunto das teorias de Heisenberg até Dirac são conhecidas como “Mecânica Quântica Moderna” (BATHISTA, 2003).

A teoria de Lewis (1916) sobre ligação química enfoca que o átomo tende a manter um número par de elétrons na camada, especialmente para manter oito elétrons organizados simetricamente. Tal teoria não conseguia explicar alguns fenômenos como o paramagnetismo do oxigênio que é uma característica de elétrons desemparelhados. O composto diborano é outro exemplo na qual a teoria de valência de Lewis não se aplica. Essas dificuldades foram superadas no final dos anos 20 com o desenvolvimento da Teoria do Orbital Molecular que considera que os elétrons pertencem à molécula como um todo e que ocorrendo ligação química os elétrons ocupam orbitais moleculares que é a combinação linear dos orbitais atômicos (ATKINS e JONES, 2006).

Em 1925, o físico austríaco Erwin Schrodinger propôs a Equação 1 (Equação de Schrodinger) que usa função de onda que determina o estado de um sistema seja ele átomo, molécula ou sólido, o qual o físico Paul Dirac declarou ser complicada para a maioria dos sistemas (MARQUES e BOTTI, 2006).

$$\hat{H}\Psi = E_{total}\Psi \quad (1)$$

No final da década de vinte, o método Hartree-Fock propôs resolver a equação de Schrodinger através de um cálculo que tem como base principal a forma com que os elétrons são tratados, um elétron percebe o outro como sendo um potencial médio e estas interações são calculadas até que as energias não variem mais. Slater em 1951 interpretou a equação de Schrodinger com o método Hartree-Fock como a somatória dos vários potenciais médios das interações eletrônicas somando-se a contribuição da interação elétron-núcleo, elétron-elétron de forma que função de onda é descrita como um produto antissimétrico de orbitais de spin conforme as equações (AVELINO, 2004).

$$\hat{H}^{el} = -\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_A \sum_i \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_i \sum_j \frac{1}{r_{ij}} - \frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 + V_i(r, \theta, \phi) \quad (2)$$

$$E_{HF} = 2 \sum_{i=1}^{N/2} \epsilon_i + \sum_{i=1}^{N/2} \sum_{j=1}^{N/2} (2J_{ij} - K_{ij}) + V_{NN} \quad (3)$$

O principal papel dos elétrons de valência na formação de uma molécula foi estudado por Fukui e foi encontrada a correlação com a reatividade segundo a distribuição do mais baixo orbital desocupado (LUMO) e o mais alto orbital molecular ocupado (HOMO) (FUKUI e colaboradores, 1952). A função de onda elevado ao quadrado é a probabilidade de determinada distribuição espacial constituindo desta maneira a densidade eletrônica dividida em discretas energias formando os orbitais. As energias dos orbitais estão intimamente relacionadas com a condição que determina a ocorrência de uma reação eletrofílica ou uma substituição nucleofílica. Para determinar a reatividade é necessário obter os valores dos níveis de energia correspondentes aos estados de transição (FUKUI e colaboradores, 1957).

Hohenberg e Kohn (1964) mostraram que propriedades de um sistema de multi-elétron podem ser determinadas unicamente por uma densidade eletrônica, $\rho(r)$. Estes autores também determinaram que a energia total, $E(\rho)$ (Equação 4), do estado fundamental do sistema torna mínima quando a densidade $\rho(r)$ representa corretamente o estado fundamental do sistema.

$$E(\rho) = \int \rho(r)v(r)dr + T(\rho) + J_{Coulomb}(\rho) + E_X(\rho) + E_C(\rho) \quad (4)$$

Khon e Sham (1965) ofereceram uma implementação prática para a solução da equação de Schrodinger usando orbitais para a construção da densidade eletrônica (Equação 5) e levando a um conjunto de equações. Os artigos destes cientistas formam a base da Teoria do Funcional da Densidade -TFD (Density Functional Theory) (PROFT e GEERLINGS, 2001).

$$\rho(\vec{r})=|\psi(\vec{r})|^2 \quad (5)$$

A resolução das equações de Kohn-Sham exige o conhecimento do funcional de troca e correlação para o cálculo de energia de troca , $E_X(\rho)$, e de correlação $E_C(\rho)$ na Equação 4. Sendo que várias aproximações são utilizadas para obter este termo. Estas aproximações são as várias funções de cálculos que diferencia os diversos métodos de TFD, um exemplo é o funcional híbrido de troca e correlação B3LYP (Becke, de três parâmetros, Lee-Yang-Parr). O conjunto de bases mais conhecidos são: 6-31G*, 6-31+G*, 6-31++G onde no modelo base X-YZ+G*, o X indica o número de gaussianas primitivo compreendendo cada função de base do núcleo, Y e Z determinam os orbitais de valência e G indica base composta (Gaussian-type orbital) e a adição de funções difusas são representadas pela adição de + e/ou ++ (GTO, Gaussian-type orbital) (LEE, YANG e PARR 1988; SANT'ANNA, 2009). O asterisco (*) significa adição de função de polarização nos átomos.

A teoria do funcional da densidade não permite saber exatamente onde está o elétron, mas possibilita calcular o mapa da distribuição da densidade eletrônica onde o elétron poderá ser associado a orbitais moleculares (HOMO, LUMO etc.) e estes dados são de fundamental importância para o desenvolvimento e aplicação da química teórica, visto que alguns destes dados só eram obtidos experimentalmente por cristalografia, difração de raios-X (ALCÁCER, 2007).

Os principais métodos computacionais que utilizam a teoria do orbital molecular são; *ab initio* (latin– ab –desde; inicio-início), semi-empírico e TFD. O método *ab initio* resolve a equação de Schrodinger sem excluir nenhum elétron, tanto nas camadas internas como da camada de valência sem nenhuma aproximação, enquanto o semi-empírico utiliza parâmetros empíricos para a substituição de integrais de forma que reduz o tempo computacional gasto para a realização do cálculo (PEREIRA, 2000).

Estes parâmetros empíricos reproduzem dados experimentais tais como geometrias de equilíbrio, calores de formação, momentos de dipolo e energias de ionização, porém devido às aproximações o cálculo não é tão exato (MORGON e COUTINHO, 2007; SANT'ANNA, 2009). O método semi empírico mais utilizado atualmente são o AM1 (Austin Model 1 ou Modelo Austin 1) e o PM3 (Parametric Method 3 ou Método Paramétrico 3) ambos ignoram somente as integrais de superposição quando os orbitais atômicos estão centrados em átomos diferentes. Recentemente foram apresentadas duas novas parametrizações do modelo semi-empírico, o RM1 (Recife Model 1) e o PM6 (Parametric Method 6) que disponibilizam parâmetros para 70 elementos da tabela periódica inclusive os metais de transição (SANT'ANNA, 2009).

O método *ab initio* e o método do campo auto coerente (SCF), tem sido utilizado para a investigação em nível molecular para estimar propriedades cinéticas e termodinâmicas e para investigar a relação estrutura e reatividade. O método *ab initio* utiliza as leis fundamentais da mecânica quântica e algumas constantes físicas universais como massa, carga do elétron, constante de Plank etc. Os programas *ab initio* não incluem aproximações e utilizam conjuntos de base para representar os orbitais (WIEST e SCHLEYER, 1998; CRAMER, 2002).

O método de Hartree Fock (*ab initio*) e Teoria do Funcional da Densidade – TFD emprega o campo autoconsistente (SCF) ou auto coerente, pois resolve as equações escolhendo um conjunto inicial de funções e segue resolvendo o sistema de equações obtendo novas funções de onda e com estas funções calcula o novo potencial médio. Resolve a equação de Schrodinger obtendo outras novas funções e assim por diante, até que os valores de energia não mais variem de interação em interação (AVELINO, 2004).

O desenvolvimento teórico e prático da química computacional atualmente aplica a Teoria do Funcional da Densidade - TFD acrescentada pelo Dr. Walter Kohn que aumentou o campo de pesquisa referente a cálculos quânticos. A Teoria do Funcional da Densidade é uma alternativa aos tradicionais métodos *ab initio* e semi-empíricos no estudo de propriedades do estado fundamental de sistemas moleculares sendo que a grande vantagem está no ganho em alta precisão numérica de resolução de Equação de Schrödinger e velocidade computacional e espaço em memória. Atualmente muitos artigos exploram as propriedades que o método TFD proporciona, entre elas estão: energia total e eletrônica, barreiras rotacionais de energia, geometria molecular de equilíbrio, estudo de ligações químicas, gradientes de energia usados para estruturas estáveis e do estado de transição, frequências vibracionais harmônicas e intensidades de absorção no infravermelho, previsão de

espectros foto eletrônicos de ultravioleta, estudo de ligação química, reatividade, entre outros (MORGON e CUSTODIO, 1995).

Outro exemplo de uso do método de Hartree Fock e TFD é o cálculo do momento dipolar da molécula e das cargas eletrostáticas, de Mulliken e de Natural que servem para determinar a quantidade de elétrons numa molécula. No esquema de Mulliken as contribuições de todos os orbitais atômicos localizados num átomo somam-se ao número de elétrons associados a esse átomo de forma que estas contribuições são igualmente divididas entre os dois átomos envolvidos. A análise populacional através das cargas pode trazer a ordem das possíveis ligações entre dois átomos (ALCÁCER, 2007).

O estudo das propriedades e dinâmica de sistemas de multi-eletrônico na presença de potenciais que dependem do tempo como a luz podem ser empregados a Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TFD-DT). Propriedades de resposta que depende da frequência como as energias de excitação e espectro de foto absorção podem ser calculados com TDF-DT. Runge-Gross (RG)(1984) desenvolveu o teorema RG que constitui o princípio da TFD-DT. Este teorema demonstrou que existe mapeamento único entre o potencial externo que depende do tempo do sistema com a densidade que depende do tempo. Tal comprovação sugere que a densidade eletrônica é equivalente a função de onda de multi-corpo, que depende de $3N$ variáveis. Keldysh utilizando um ponto estacional de função determinou um sistema fictício que não interage, mas possui a mesma densidade de um sistema físico no qual existe interação (VAN, 1998). Estes cálculos de energias de excitação de um sistema de um multieletrônico são fundamentados no fato de que a função de resposta linear tem pólos nas energias de excitações exatas do sistema e requerem; potencial troca-correlação, núcleo de troca correlação que é derivado de potencial de troca correlação com a densidade (CASILDA e colaboradores, 1996).

Métodos TFD e TFD-DT evoluíram e se tornaram poderosas ferramentas da química quântica para a determinação das propriedades moleculares (BURKE, WERSCHNIK e GROSS, 2005). Diferentes funcionais são utilizadas no cálculo TFD e TFD-DT, entre essas a B3LYP é a mais utilizada, pois é comprovada sua capacidade em reproduzir várias propriedades moleculares, incluindo espectros vibracionais e eletrônicos. O uso combinado de conjunto de funcionais B3LYP e bases padrão (6-31G (d, p) e 6-311+G (d, p)) fornecem uma excelente precisão e eficiência computacional de espectros vibracionais e eletrônicos de grandes e médias moléculas (ARIVAZHAGANA e KAVITHA, 2012). Takahata e Chong (2012) empregaram TFD-DT para cálculos de energias de excitação eletrônica tanto de camada de valência como de camadas internas de várias moléculas e simularam teoricamente

os espectros de absorção UV e de raios- X. Estes autores compararam os espectros simulados com os espectros experimentais e mostraram que esta metodologia é promissora.

Spartan é um programa computacional disponível para Windows e Linux e é composto por uma série de módulos independentes ligados através de uma interface gráfica. Este programa utiliza a Teoria do Orbital Molecular (TOM) e sua interface também fornece opções de modernos métodos computacionais, nos quais se encontram: semi-empíricos e *ab initio* (Hartree-Fock) e também uma variedade de modelos correlacionados incluindo modelos de TFD e TFD-DT. O programa Spartan possibilita a construção de moléculas orgânicas, inorgânicas, moléculas organometálicas, polipeptídeos e polinucleotídeos. Além disso, possui um banco de dados com mais de 150.000 estruturas calculadas com diferentes modelos teóricos (modelos Hartree-Fock com conjuntos de base 3-21G, 6-31G * e 6-311 + G **, modelos B3LYP e MP2 com os conjuntos de base 6-31G * e 6-311+G **, o modelo EDF1 com o conjunto de base 6-31G * e modelo G3 (MP2)) (Spartan PC, 2010).

2.5.2 Espectroscopia de Absorção UV

A espectrometria de absorção molecular nas regiões espectrais do ultravioleta e do visível é amplamente utilizada nas pesquisas quantitativas de um grande número de moléculas inorgânicas, orgânicas e biológicas (ALEIXO e NÓBREGA, 2000; FERNANDES e colaboradores, 2003; MARQUES e LIN, 2004, MARQUES e colaboradores, 2010). A espectroscopia de absorção molecular é baseada na medida de transmitância T ($T = P/P_0$) ou absorbância A ($A = \log P_0/P$) de soluções contidas em células transparentes com caminho óptico de b cm e a concentração do analito que absorve a radiação que está relacionada linearmente com a absorbância conforme a lei de Beer: $A = \log P_0/P = abc$, onde a é a absorvidade (Figura 7) (SKOOG e colaboradores, 2006).

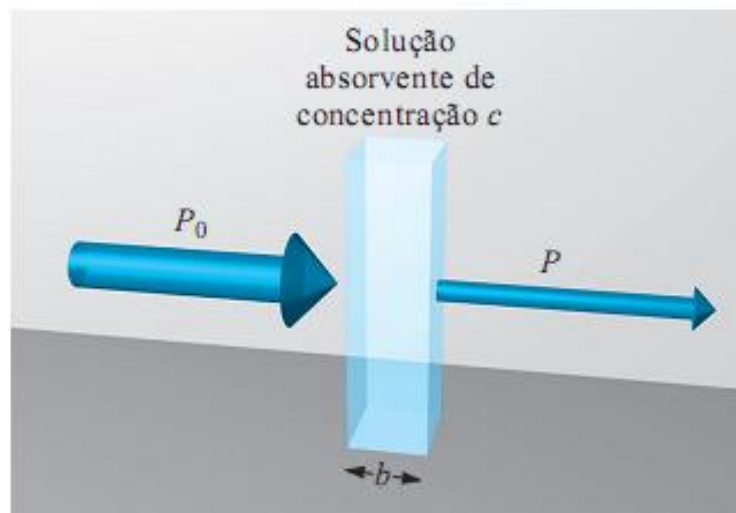


Figura 7- Caminho óptico. Onde P_0 é a potência inicial da radiação que passa por uma solução absorvente de espessura b (cm) de concentração (mol.L^{-1}) resultando na potência transmitida P (SKOOG e colaboradores, 2006)

A região do espectro eletromagnético que chamamos ultra-violeta (UV) e visível (VIS) que compreende a faixa de 190nm a 800nm é utilizada na radiação de moléculas orgânicas que são suficientemente altas para que a absorção ocorra. A absorção da radiação UV é o resultado da excitação de elétrons de ligação. Os dados obtidos na espectroscopia de absorção UV permitem analisar os modos vibracionais e rotacionais da molécula e as regiões cromóforas da molécula (HOLLER e colaboradores, 2009).

O analito da amostra antes de ser submetido a uma radiação se encontra em seu estado de energia mais baixo ou fundamental. Após receber a radiação eletromagnética algumas das espécies do analito sofrem uma transição para um estado maior de energia ou estado excitado. Desta forma é obtida a quantidade de energia absorvida decorrente da excitação (Figura 8) (SKOOG e colaboradores 2006).

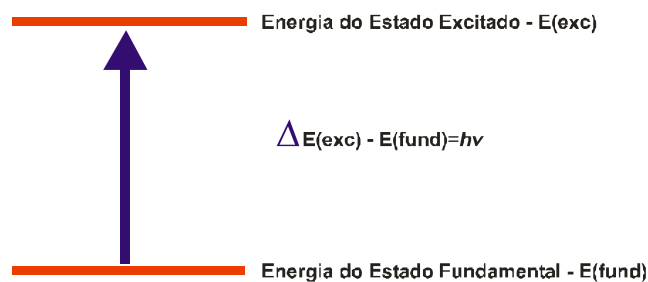


Figura 8- Transição eletrônica do Estado Fundamental para o Estado Excitado (modificado de Pavia, Lampman e Kriz, 2010).

2.5.3 Transições Eletrônicas

Quando moléculas orgânicas são submetidas à excitação normalmente ocorrem transições de elétrons $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ e para que ocorra esse tipo de transição, grupos funcionais insaturados são fornecedores do orbital π (HOLLER e colaboradores, 2009). Na Figura 9 observa-se a progressão energética das transições entre os orbitais moleculares onde a seta representa as energias necessárias para as transições, partindo do estado fundamental (orbital ligante) para o estado excitado (orbital antiligante) (PAVIA; LAMPMAN e KRIZ, 2010).

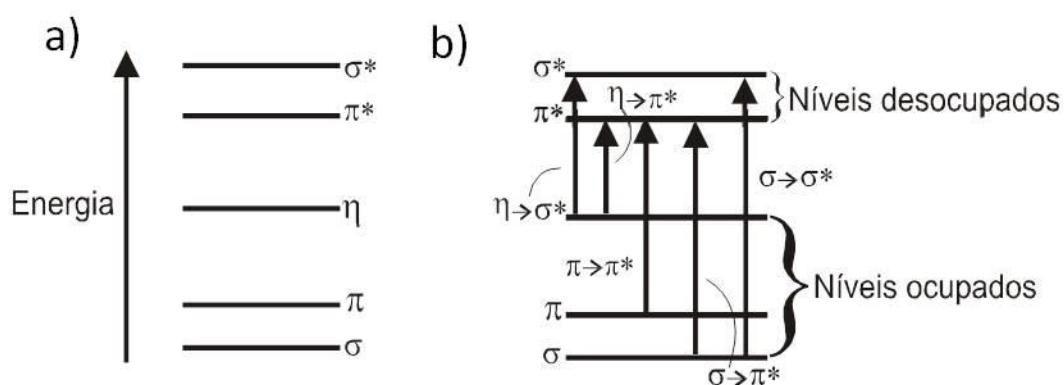


Figura 9 - Transições eletrônicas (orbital ligante sigma- σ , orbital antiligante sigma σ^* , orbital ligante pi π e orbital antiligante pi π^*) (modificado de Pavia, Lampman, Kriz 2010)

O cálculo das intensidades de absorção e emissão é feito considerando as probabilidades de absorção (A_{lu}) e emissão (E_{ul}) entre os estados energéticos nos níveis da transição (Figura 10). Mulliken (1952) fez uma relação entre a quantidade (A_{lu}) com uma medida de intensidade demonstrando a força de oscilador (f), onde n é o índice de refração do solvente e dv é a diferencial do número de onda (Equação 6). A intensidade de absorção está relacionada com a probabilidade da transição. Este conjunto de probabilidades é conhecido como conjunto de regras de seleção, como por exemplo: regra de seleção do spin e de simetria (PAVIA; LAMPMAN e KRIZ, 2010).

$$f = (4,35 \times 10^{-9}) / n \int \epsilon dv \quad (6)$$

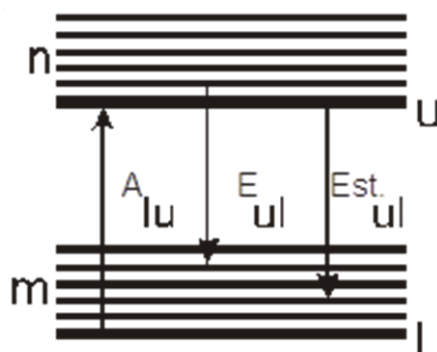


Figura 10- Esquema de processo radioativo em dois níveis. (Alu) transição para absorção e transição para emissão espontânea (Eul) e emissão estimulada (Est.ul) (modificado de Miranda, 2001)

a) As transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$

O estudo das aplicações da espectroscopia de absorção para compostos orgânicos tem o foco nas transições $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ uma vez que a energia necessária para esses processos levam as bandas de absorção para a região ultravioleta visível (200 a 700 nm). As absorptividades molares para transições $n \rightarrow \pi^*$ são baixas variando de 10 e 100 $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Elétrons não ligantes de compostos saturados orgânicos contendo heteroátomos como oxigênio, nitrogênio, enxofre ou halogênio podem ser excitados pela radiação no intervalo de 170 a 250 nm. Enquanto as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ variam entre 1000 e 15000 $\text{Lmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. (HOLLER e colaboradores, 2009). Segundo Valeur (2001) as transições $n \rightarrow \pi^*$ possuem um caráter de transferência de carga evidenciado pelo aumento de dipolo.

b) As transições $n \rightarrow \sigma^*$ e $\sigma \rightarrow \sigma^*$

As transições decorrentes da excitação de elétrons não ligantes n para orbitais σ^* possuem absorptividades molares de baixas a intermediárias e variam de 100 a 3000 $\text{Lmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ e devido às dificuldades espectrofotométricas de compostos orgânicos associados com a região ultravioleta de vácuo muitas investigações envolvem comprimentos de onda maiores que 185nm. (HOLLER e colaboradores, 2009). A energia necessária para excitar um elétron num orbital ligante σ para o orbital antiligante σ^* é grande e o pico destas transições não é visto pelo espectro ultravioleta e visível (200 a 700nm).

2.5.4 Processos de Transferência de Energia Eletrônica

O mecanismo Förster (interação dipolar de longa distância, Figura 11.a) e o mecanismo de Dexter (interação a distâncias curtas, envolvendo a troca de elétrons, Figura 11. b) são processos não radioativos e o mecanismo de transferência de energia radiativa (trivial) é um processo radioativo de transferência de energia entre moléculas. O processo de desativação molecular no estado eletrônico excitado para outro no estado fundamental através do mecanismo de Forster modifica o dipolo elétrico alterando o campo elétrico local. A eficiência desta interação depende da distância entre as regiões polarizadas e da sobreposição do espectro eletrônico de absorção e emissão (BIRKS, 1970). A transferência de energia pode ocorrer entre moléculas diferentes (intermolecular) ou entre regiões diferentes de uma mesma molécula (intramolecular) e os fatores que afetam também a eficiência do processo são a orientação e o efeito das colisões moleculares das espécies (VALEUR, 2001)

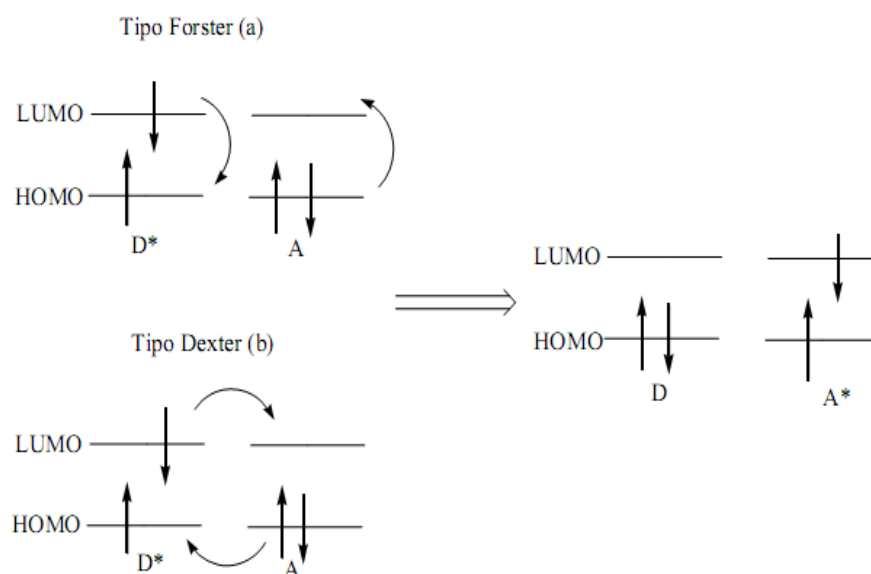


Figura 11- Mecanismos de TE. (a) Tipo Förster ou coulômbico (b) Tipo Dexter ou de troca de elétrons (DEXTER, 1953).

O processo de transferência tipo Dexter necessita da colisão entre os participantes do processo e a distância necessária para que ocorra é de aproximadamente 10 Angstroms. Este processo envolve a sobreposição de orbitais entre as duas espécies, constituindo uma dupla troca de elétrons obtida através de uma ligação entre os participantes (DEXTER, 1953).

2.5.5 Efeito do Solvente

McConnell (1952) estudou 17 compostos em solventes (hidrocarboneto, etanol e água) observou-se que a energia de solvatação para o estado fundamental é maior que para o estado excitado. Durante a solvatação a molécula no estado fundamental é estabilizada por moléculas do solvente e o processo de absorção/excitação acontece muito rápido de maneira que as moléculas do solvente não conseguem se organizar em tempo hábil, porém depois que é atingido o estado excitado, as moléculas do solvente se reorganizam em função da nuvem eletrônica do estado excitado. O tempo de vida do estado excitado é suficiente alto, permitindo que a fluorescência ocorra depois desta reorganização.

O solvente polar afeta mais as transições $n \rightarrow \pi^*$, principalmente se formarem interações de hidrogênio com o par de elétrons não ligados. Esta interação faz com que o orbital fique mais estabilizado e com energia menor que a dos orbitais $\pi \rightarrow \pi^*$. As transições $n \rightarrow \pi^*$ quando sofrem este efeito tem um aumento de energia e suas bandas são deslocadas para menores comprimentos de onda (deslocamento para o azul) (BURAWOY 1939; 1941; 1958; KASHA; 1950; PLATT 1961).

O deslocamento para o azul foi justificado na pesquisa feita por Brealey e Kasha (1955) onde a causa deste deslocamento foi atribuída à ligação de hidrogênio a partir do orbital (n) do soluto, comprovado experimentalmente ao mudar o solvente de hidrocarboneto para um solvente hidroxilado. Esta ligação estabiliza mais o estado fundamental do que o estado excitado e necessita de mais energia (deslocamento para o azul) do que em meio apolar.

Os orbitais $\pi \rightarrow \pi^*$ interagem com o solvente e devido à maior facilidade de estabilidade do orbital π^* a diferença de energia desta transição diminui e conseqüentemente suas bandas se deslocam para maiores comprimentos de onda (deslocamento para o vermelho) (SCHEIBE, 1927). A identificação da origem das transições e de seus estados eletrônicos seja singlete ou triplete pode levar a uma correlação com as atividades fotoquímicas ou fotobiológicas dos compostos orgânicos (HOLLER e colaboradores, 2009).

3. REFERÊNCIAS

ABREU, H., LAGO, I. A., SOUZA, G. P., VELOSO, D. P., DUARTE, H. A., ALCÂNTARA, A. F. Antioxidant activity of (+) – bergenin- a phytoconstituent isolated from the bark of *Sacoglottis uchi* Huber (Humiraceae). **Organic & Biomolecular Chemistry**, 6: 2713-2718, 2008.

ALCÁCER, L. . **Introdução à Química Quântica Computacional**. Lisboa: IST. 2007.

ALEIXO, Poliana C.; Joaquim, Nóbrega. Determinação direta de selênio em água de coco e em leite de coco utilizando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. **Química Nova**. V. 23, p.249-252, 2000.

ARIAN, M., AMIN, H., KHAN, I., SHAH, M. R. Molecular simulations of bergenin as a new urease inhibitor. **Medicinal Chemistry Research**, 1- 4, 2011.

ARIVAZHAGANA, M., KAVITHA, R. . Molecular Structure, vibrational spectroscopic, NBO, HOMO-LUMO and Miliken analysis of 4-methyl-3-nitro benzyl chloride. **Journal of Molecular Structure** , p.111- 120, 2012.

ARUNPANICHLERT, J., RUKACHAISIRIKUL, V., SUKPODMA, Y., PHONGPAICHT, S., TEWTRAKUL, S., RUNGJINDAMAI, SAKAYARO, J., Azophilone and Isocoumarin Derivatives from the Endophytic Fungus, **Chemical Pharmacy Bull**, 58(8) 1033 – 1036, 2010.

ATKINS, P., JONES, L. . **Princípios de Química- Questionando a vida moderna e o meio ambiente**. Porto Alegre: Bookman. 2001. MARQUES, A. BOTTI, S., O que é e para que serve a Teoria dos Funcionais da Densidade? **Gazeta de Física**. p.10-14, 2006.

AVELINO, T. H. . **Estudo de Sistemas Químicos aplicando-se a Teoria do Funcional de Densidade**. Minas Gerais: Tese de Doutorado do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais. 2004.

BATHISTA, A. L. . **Introdução à Química Quântica**. *Dissertação de Mestrado- IFC/USP* . 2003.

BIRKS, J. B.; **Photophysics of Aromatic Molecules**, John Wiley & Sons Ltd., New York, 1970.

BORGES, J. C. . **Obtenção e avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória**. *Dissertação de mestrado- Universidade Federal do Pará* , 2010.

BORGES, J. C. M., SANTOS, L. S., SOUZA, P. J. C., BORGES, R. S., **Structure- Activity Relationship of Bergenin and Acetylated Derivatives as Anti-Inflammatory**, *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 8 1-4, 2011.

BREALEY, G.J.; KASHA, M. The role of hydrogen bonding in the $n \rightarrow \pi^*$ blue - shift phenomenon. **J. Am. Chem. Soc.** 77 (17): 4462-4468, 1955.

BURAWOY, A. Studies in the light absorption of organic compounds. Part IX. Unsaturated carbonyl compounds and semicarbazones. **Journal of the Chemical Society**: 20 - 24, 1941.

BURAWOY, A. The light absorption of organic compounds, and the nature of unsaturated linkages. **Journal of the Chemical Society (Resumed)** 20: 1177-1188, 1939.

BURAWOY, A. Theory of electronic spectra of organic molecules *Tetrahedron*, 2 (1-2): 122-139, 1958.

BURKE, K., WERSCHNIK, J., e GROSS, E.K. Time-dependent density functional theory: past, present and future. **The Journal of Chemical Physics**, v.123, p062206-8, 2005.

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

CALDAS, C. S., de SIMONE, C. A., PEREIRA, M. A., MALTA, V. R., CARVALHO, R. L., da SILVA, T. B., e colaboradores . Bergenin monohydrate, a constituent of *Hurmiria baslamifera*, at 120K. **Acta Crystallographica** , E 58, p.609-611, 2002.

CHEN, J., ZHANG, J., ZHUANG, Q., ZHANG, S., LIN, X. . Electrochemical study of bergenin on a poly (4-(2-pyredylazo)-resorcinol) modified glassy carbon electrode and its determination in tablets and urine. **Talanta** , V.72, p.1805-1810, 2008.

CORRÊA, M. P. ; **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas no Rio de Janeiro**, Imprensa Nacional, V.6; 1984.

CRAMER, C. J. . **Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models**. West Sussex: Jonh Wiley & Sons. 2002.

DAHANUKAR, S. A., KULKARNI, R. A., REGE, N. N. Pharmacology of medicinal plants and natural products. *Indian Journal Pharmacology* , 32:81-118, 2000.

da MATA, E. CG, GONÇALVES M. CA, SEGOVIA FO, BEZERRA R. M., CARVAKGI J. CT, KANZAKI L. I. B. Kanzaki. Antiretroviral activity of Amazonian plants. **Retrovirology**, 8 (Suppl 2): 87, 2011.

DEVIENNE, K. F., HELENA, A. F. C., DORTA, D. J., PRADO, I. M. R., RADDI, M. S. G., VILEGAS, W., UYEMURA, S. A., SANTOS, A. C., CURTI, C., Antioxidant activity of isocoumarins isolated from *Paepalanthus bromelioides* on mitochondria, **Phytochemistry**, 68(7) 1075-1080, 2007.

DEXTER, D. L., A theory of sensitized luminescence in solids. **The Journal of Chemical Physics**, 21, p.836, 1953.

DITTRICH, B., WEBER, M., KALINOWSKI, R., GRABOWSKY, S., HUBSCHLE, C. B., & LUGER, P. . How to easily replace the independent atom model - the example of bergenin, a potencial anti - HIV agente of traditional Asian medicine. **Acta Crystallographica Section B** , p.749-756, 2009.

DUARTE, H. A., Índices de Reatividade Química a partir da Teoria do Funcional de Densidade: Formalismos e Perspectivas. *Química Nova*. V.24 (4), p. 501-508, 2001.

- FEITOSA, C.M, FREITAS, R.M., LUZ, N., BEZERRA, M.Z.B., TREVISAN, M.T.S. Acetylcholin esterase inhibition by some promising Brazilian medicinal plants. **Brazilian Journal Biology**, 71(3):783-789, 2011.
- FERREIRA, A. G., MAGALHÃES, L. M., LIMA, M. P. Isolamento da bergenina nos frutos da *Endopleura uchi* (HUMIRIACEAE). Reunião Anual SBPC, 57a . 2005.
- FERNANDES, K. , MORAES, J., NETO, J. G. Padronização interna em espectrometria de absorção atômica. **Química Nova**, V.26, p. 249-252, 2003
- FRICK, W., HOFMANN J., FISCHER, H., SCHMIDT, R. R. The structure of bergenin, **Carbohydrate Research**, 210:71-77, 1991.
- FUKUI, K. T., YONEZAWA, T., SHINGU, H. . A Molecular Orbital Theory of Reactivity in Aromatic Hydrocarbons. **J. Chem. Phys** , p.722-725. 1952.
- FUKUI, K., YONEZAWA, T., NAGATA, C. . MO Theoretical Approach to the Mechanism of Charge Transfer in the. **Journal of Chemical Physics** , p.1247-1259.1957.
- GARREAU, M. M., MACHELART. . Chimie Vegetable- Nouvelles recherches sur les Saisigrages. **Experiences sur leur culture Comp Rend** , p.942-944. 1880.
- HAY, J. E., HAYNES, L. J. .Bergenin a C-Glycopyranosyl Derivative of 4- O-Methylgallic Acid. **HAY & HAYNES** , p.2231-2238. 1958.
- HOENBERG, P., KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas, **Physical Review** .v. 136 (3B), B864-B871, 1964.
- HOLLER, F. J., SKOOG, D. A., CROUCH, S. R. . **Princípios de Análise Instrumental** (6 ed.). Porto Alegre: Bookman. 2009.
- JUNG, J. C., LIM, E., KIM, S. H., KIM, S., JUNG, M., & OH, S. . Practical Synthesis and Biological Evaluation of Bergenin Analogs. **Chem. Biol. Drug des** , V.78, p.725-729, 2011.
- KAMOLCHANOK, T., PRACHYA, S., WIYAKRUTTA, S., MACHIDO, C., RUCHIRAWAT, S., Radical Scavenging and Antioxidant Activities of Isocoumarins and a Phthalide from the Endophytic Fungus *Colletotrichum sp.*, **Journal Product**, 74 79-81, 2011.
- KASHA, M. Characterization of electronic transitions in complex molecules. **Discuss. Faraday Society**. 9: 14 - 19, 1950.
- KIM, H. S., LIM, H. K., CHUNG, M. W., KIM, Y. C. . Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride intoxicated hepatocytes. **Ethnopharmacology** , p.79-83, 2000.
- KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review** .v.140, n.4A, 1965.
- LAGOS, I. A. . Estudo químico de fitoconstituintes isolados de *Sacoglottis uchi* Huber (Humiriaceae). Dissertação de Mestrado em Química, Universidade Federal do Amazonas. 2006.

- LEE, C., YANG, W., PARR, R. G. . Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B** , p.785-789. 1988.
- LIM, H. K., KIM, H. S., CHUNG, M. W., KIM, Y. C. Protective effects of bergenin, the major constituent of *Mallotus Japonicus*, on D- galactosamina-intoxicated rat hepatocytes . **Journal Ethnopharmacology** ,70: 69-72, 2000.
- LIM, H., KIM, H., KIM, S., CHANG, M., RHEE, G. P., CHOI, J. . Protective Effects of Acetylbergenin against Carbon Tetrachloride- Induced Hepatotoxicity in Rats . **Pharmacology, Toxicology & Pharmaceutic** , p.114-118. 2001
- LUNA, J. S., BENTO, E. S., SANT'ANA, A. E. Identificação estrutural de dois triterpenóides pentacíclicos de Endopleura uchi (Humiraceae). **Reunião da Sociedade Brasileira de Química**, 24, 2001.
- LUNA, J. S., SILVA, T. M., BENTO, E. S., SANT'ANA, A. E. . Isolamento e identificação estrutural dos constituintes químicos de Endopleura uchi Humiraceae. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 23, 2000.
- MARQUES, A., BOTTI, S., O que é e para que serve a Teoria dos Funcionais da Densidade? **Gazeta de Física**. 29(14): 10-14. 2006.
- MARQUES, A. D. S.; LIN, C-T; PEREIRA, L. G. . Experimental and theoretical studies of 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] quinoline derivatives cooked- food mutagens. **International Journal of Quantum Chemistry**. V.110(11), p. 2047-2056, 2010.
- MARQUES, D. S.; LIN, C-T. Molecular complexes of IQ and 4-hydroxy-coumarin: a mutagen- anti-mutagen system. **Journal of Photochemistry and Photobiology**. V.74 p. 63-71, 2004.
- MCCONNELL, H. Effect of polar solvents on the absorption frequency of $n \rightarrow$ electronic transitions. **The Journal of Chemical Physics** 20 (4): 700-704, 1952.
- McMURRY, J. . **Química Orgânica** (6 ed.). São Paulo: Thomson, 2005.
- MIRANDA, J. A. .**Caracterização Fotofísica de Derivados de Cumarinas**. Tese de Mestrado. *Universidade Federal de Uberlândia- Instituto de Química*. 2001.
- MORGON, N. H., e CUSTODIO, R. . Teoria Funcional de Densidade. **Química Nova** , p.44-45. 1995.
- MORGON, N.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica**. Livraria da Física, 2007.
- NAZIR, N. .Immunomodulatory effect of bergenin and nobergenin against adjuvant-induced arthritis- A flow cytometric study. **Journal of Ethnopharmacological** , p.401-405, 2007.
- NAZIR, N., KOUL, S., QURISHI, M. A., NAJAR, M. H., ZARGAR, M. I. . Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of Bergenin and is derivatives obtained by chemoenzymatic synthesis. **European Journal Medicinal Chemistry** ,V. 46, p.2415-2420. 2011.

NELSON, D. L.; COX M. M. **Princípio da Bioquímica de Lehninger**. 5º. Edição. Artmed Porto Alegre, p. 615-699, 2011.

NUNOMURA, R. C., OLIVEIRA, V. G., SILVA, S. L., NUNOMURA, S. M. . Characterization of Bergenin in Endopleura uchi Bark and its Anti-Inflammatory Activity. **Journal Brazil Chemical Society**. , V20(06), p.1060-1064. 2009.

OGAN, A. U. . Humiraceae an isocoumarin from the bark of sacoglottis gabonensis. **Phytochemistry** , V.10, p.2832-2833. 1971.

OLIVEIRA, C. M., NONATO, F. R., LIMA, F. O., COUTO, R. D., DAVID, J. P., DAVID, J. M., e colaboradores . Antinociceptive Properties of Bergenin. **Journal of Natural Products** , p.200-232. 2011.

PASCUAL, J. M; GONÇALVES G. ; PRIETO R. L. ; CÉRDAN A. S. ; RODA, J. M. La barreira hematoencefálica: desarrollo de uma estrutura que permite La heterogeneidad funcional del sistema nervoso central. **Reviews Neurology**, 38 (6):565-581, 2004.

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

PEREIRA, L. G. **.Estudo Teórico de Semi-Condutores Orgânicos e a Espectroscopia Eletrônica do Cloridrato de 2-cloro- n,n dimetil-10H-fenotiazina-10-propanamina (um antidepressivo)**. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. 2000.

PIACENT, S., PIZZA, C., MAHMOOD, N. . Constituents of Ardisia japonica and their in vitro Anti-HIV Activity. **Journal Natural Products** , V.59, p.565-569. 1996.

PLATT, J. R. Electrochromism, a possible change of color producible in dyes by an electric field. **Journal of Chemical Physics** 34, 862-863, 1961.

PROFT, F., GEERLINGS, P. .Conceptual and Computational DFT in the Study of Aromaticity. **Chemical Review** , p.1451-1464. 2001.

RAHMAN, E., GONI, S. A., RAHMAN, M. T., AHMED, M., Antinociceptive activity of Polygonum hydropiper, **Fitoterapia** 73 704-706, 2002

RAJESH, K., PATEL, D. H., PRASAD, S. K., LALOO, D., KRISHNAMURTHY, S., & HEMALATHA, S. . Type 2 antidiabetic activity of bergenin from the roots of Caesalpinia digyna Rottlerbergenin. **Fitote** , p.2346-2352. 2011.

RAMAIAH, P. A., ROW, L. R., REDDY, D. S., ANJANEYULU, A. R., & PELTER, A. . Isolation and characterization of bergenin derivatives from Macaranga peltata. **Journal Chemical Society** ,p. 2313-2316. 1979.

RASTOGI, S., RAWAT, A. S. . A comprehensive review on bergenin, a potential hepatoprotective and antioxidative phytoconstituent. **Pharmacognosy & Ethnopharmacology Divison** , 54. 2008.

ROSSI, R., CARPITA, A., BELLINA, F., STABILE, P., MANNINA, L., Synthesis of 3-arylisocoumarins, including thunberginols A and B, unsymmetrical 3,4-disubstituted isocoumarins, and 3-ylidenephthalides via iodo lactonization of methyl 2-ynybenzoates or the corresponding carboxylic acids, **Tetrahedron**, 59 2067-2081, 2003.

RUNGE, E.; GROSS, E. K. U. Density-Functional Theory for Time-Dependent Systems. **Phys. Rev. Lett.** v.52 (12): pp. 997–1000, 1984.

SALLOUM, R. M., JASKOWIAK, N. T., MAURECI, H. J., SEETHARAM, S., BECKETT, A. M. K., HARU, D. M., GUPTA, V. K., REIMER, C., KALLURI, R., POSNER, M. C., HELLMAN, S., KUFE, D. W., WEICHSELBAUM, R. R., NM-3, an Isocoumarin, Increases the Antitumor Effects of Radiotherapy without Toxicity, **Cancer Research**, 60, 6958-6963, December 15, 2000.

SANT'ANNA, C. M. R. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. **Revista Virtual de Química**. v.1 , n.1 , p. 49-57, 2009.

SCHEIBE, G.; FELGOR, E.; ROSSLER, G. Pattern Hidrogenio Connection. **Ber.** 60, 1406, 1927.

SCHULTES, R. E. De plantis toxicaris e mundo novo tropicale commentationes XXI. Interesting native uses of the Humiriaceae in the northwest Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, 89-94, 1979.

SILVA, V. O., YANO, T., NUNOMURA, R. C. . Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. **Acta Amazonia** , V.39(1), p.187-192. 2009.

SINGH, U., BARIK, A., PRIDYADARSINI, K. I. . Reactions of hydroxyl radical with bergenin, a natural poly phenol studied by pulse radiolysis. **Radiation and Photochemistry Division** , p.6008-6024. 2009.

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

SOLOMONS, T. W., FRYLE, C. B. . **Química Orgânica**. Rio de Janeiro- RJ: LTC. 2006.

SPARTAN, P. (s.d.). **Pro version 2010 Wave function**. USA. 2010.

TAKAHASHI, H., KOSAKA, M., WATANABE, Y., NAKADE, K., FUKUYAMMA, Y. . Synthesis and Neuroprotective Activity of Bergenin Derivatives with Antioxidant Activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry** , p.1781-1788. 2003.

TAKAHATA, Y e CHONG, D.P., DFT calculation of core- and valence-shell electron excitation and ionization energies of 2,1,3-benzothiadiazole C₆H₄SN₂, 1,3,2,4-benzodithiadiazine C₆H₄S₂N₂, and 1,3,5,2,4-benzotrithiadiazepine C₆H₄S₃N₂, **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, v.185, pp475-485, 2012.

VALEUR, B., **Molecular Fluorescence Principles and Application**,. **Wiley VCH**, 2001.

VAN, Leeuwen, R. "Causality and Symmetry in Time-Dependent Density-Functional Theory". **Phys. Rev. Lett.** v.**80** (6): pp.1280–283, 1998.

VERDIN, N. B. . Sir 2- related NAD- dependent protein deacetylases. **Genome Biol** 5 , 224. 2004.

WIEST, O., SCHLEYER, P. R. . **The Encyclopedia of Computational Chemistry**. Athens: Jonh Wiley & Sons. 1998.

YE, Y. P., SUN, H. X., PAN, Y. J. . **Acta Crystallografia C** , p.397-398. 2004.

ZHANG, Y. H., FANG, L. H., LEE, M. K., & KU, B. S. . In vitro inhibitory effects of bergenin and norbergenin on bovine adrenal tyrosine hydroxylase. **Phytother** , p.967-969. 2003.

ZHOU, D., QUIN, X., ZHANG, Z-R., HUANG, Y. Physicochemical properties of bergenin. **Pharmazie** , 63:366-371, 2008.

ZHUANG, Q., CHEN, J., CHEN, J., & LIN, X. Eletrocatalytical properties of bergenin on a multi-wall carbon nanotubes modified carbon paste electrode and its determination in tablets. **Sensors and Actuators, B** 128:500-506, 2007.

**Estudo Espectroscópico Experimental e Teórico da
Acetilbergenina**

Estudo Espectroscópico Experimental e Teórico da Acetilbergenina.

Castro, G. F. de; Pereira, L. G, Takahata, Y.

Biotecnologia e Recursos Naturais, Universidade do Estado do Amazonas, Brasil, Manaus.

Resumo

Os espectros de absorção UV/VIS da acetilbergenina foram analisados com o auxílio de cálculos computacionais baseados na mecânica quântica em três solventes diferentes. Estes dados foram correlacionados com o espectro de absorção UV da molécula em etanol. Desta maneira foi estudado o efeito do solvente principalmente no espectro UV da molécula e analisado detalhadamente a natureza das transições eletrônicas, comparando o espectro teórico e experimental. As cargas atômicas nos átomos da molécula acetilbergenina foram calculadas por três métodos diferentes e comparadas ente si. O efeito do solvente sobre as cargas atômicas foi discutido. O método Hartree-Fock foi utilizado para otimizar a geometria molecular. A Teoria do Funcional Densidade Dependente do Tempo (TD-DFT) com a base 6-31G * foi utilizada para calcular as energias de excitação da molécula. A comparação dos três espectros teóricos em três solventes diferentes revela que os três espectros têm três bandas **A**, **B e C**. A intensidade relativa da banda C em etanol e em água é muito fraca em comparação com a mesma na simulação em vácuo. Os orbitais HOMO e LUMO estão localizados no anel aromático que evidencia como a região fotoativa da molécula acetilbergenina.

Palavras chaves: Acetilbergenina, Espectros de absorção UV/VIS, Teoria Funcional da Densidade Dependente do Tempo- TFDFT

1. INTRODUÇÃO

Os dados obtidos na espectroscopia de absorção UV permitem analisar as regiões cromóforas da molécula. Dados espectroscópicos de absorção podem ser discutidos através da teoria do orbital molecular para obtenção de conclusões qualitativas e semiquantitativas verificando sempre a influência do solvente e dados estruturais da molécula (HOLLER, 2009).

A acetilbergenina (C₂₄H₂₆O₁₄) é derivada da bergenina, 4-methoxy-2-[(1S, 2R, 3S, 4S, 5R)- 3,4,5,6- tetrahydro-3,4,5-trihydroxy-6-(hidroxymethyl)-2H-pyran-2yl]- α -resorcylic acid δ -lactona monohidratada], e possui cinco pontos de acetilação, (Figura 1), e três anéis de seis membros: um anel aromático (I), anel δ -lactona (II) e um anel de D-glicopiranosose (III) (Figura 1).

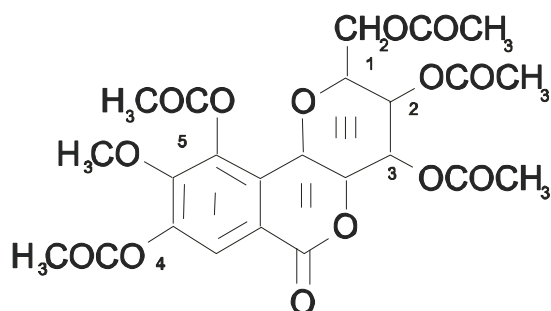


Figura 1- Estrutura molecular da Acetilbergenina em destaque os anéis I- anel aromático, II- anel δ -lactona e III- anel de D –glicopirranose e os cinco pontos de acetilação

Quin e colaboradores (2010) ressaltaram a importância de pesquisas que potencialize as atividades biológicas da bergenina, aumentando a lipoficidade e a biodisponibilidade, já que a bergenina demonstra ser mal absorvida pelo trato gastrointestinal em humanos. Abreu e colaboradores 2008 relatou que a modificação no anel aromático da bergenina é de fundamental importância, pois esta região é responsável pelas propriedades antioxidantes (YAN e colaboradores, 2006; WANG e colaboradores, 2009).

Estudos farmacológicos com a acetilbergenina comprovaram as seguintes atividades biológicas; analgésica e anti-inflamatória, antinarcótico, antimicrobiana (*E. coli*) e antioxidante, hepatoprotetora contra intoxicação por D-galactosamina e contra intoxicação por tetracloreto de carbono (BORGES, 2010; JUNG e colaboradores, 2011; NAZIR e colaboradores, 2011; LIM H. e colaboradores, 2001; LIM S e colaboradores, 2000). Sendo que a acetilbergenina apresentou atividade antimicrobiana contra a *E. coli* que foi descrita como inativa na bergenina, demonstrando que o processo de acetilação potencializou a atividade antimicrobiana (NAZIR e colaboradores, 2011). Esta pesquisa tem como objetivo estudar a espectroscopia de absorção UV de acetilbergenina usando, primeiro, cálculos computacionais baseados na mecânica quântica em três solventes diferentes (vácuo, etanol, e água) e também medir experimentalmente um espectro de absorção UV da molécula em etanol. Desta maneira pretende estudar o efeito solvente principalmente no espectro UV da molécula, e analisar detalhadamente a natureza da transição eletrônica comparando o espectro teórico e experimental. Além disso, o efeito do solvente sobre algumas propriedades moleculares serão estudadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Primeiramente, a estrutura molecular da acetilbergenina (Figura 2) foi montada através da interface do programa Spartan 10 seguindo a determinação estrutural

cristalográfica descrita por Frick et al (1991). Em seguida, a otimização da geometria molecular foi realizada utilizando o método de Hartree – Fock com função de base 6-31G*, simulando a molécula em três ambientes diferentes: vácuo, etanol e água. Posteriormente, as energias de excitação da molécula foram calculadas também simulando os três ambientes descritos anteriormente com o uso da Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TFD-DT) (BURKE, WERSCHNIK e GROSS, 2005), utilizando o funcional B3LYP (LEE e colaboradores, 1988) e função de base 6-31G*.

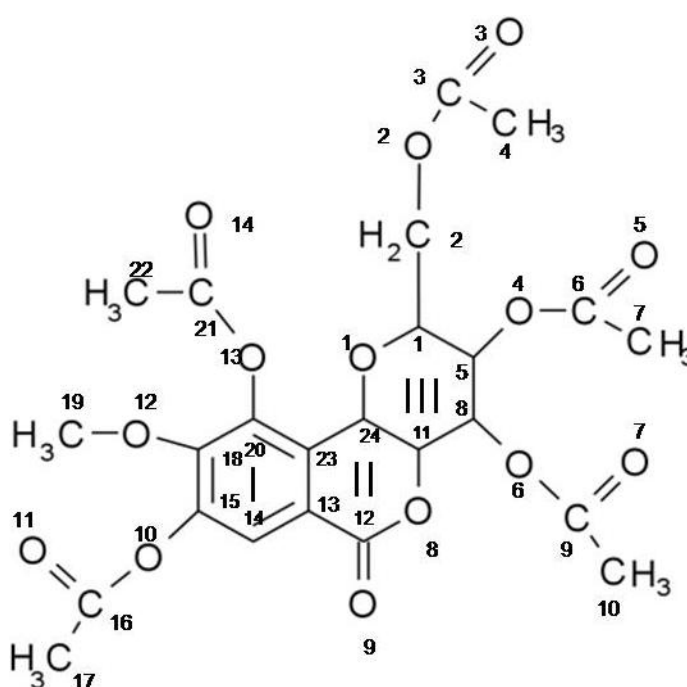


Figura 2- Estrutura molecular da Acetilbergenina com numeração conforme cristalografia

A amostra da acetilbergenina foi cedida pelo grupo de pesquisa do laboratório de analítica da Universidade do Estado do Amazonas liderado pela Dr^a Sandra Zanotto, a qual foi sintetizada a partir da acetilação da bergenina previamente extraída a partir da casca do uxi-amarelo conforme a metodologia descrita por SANTOS (2012). Os solventes Metanol 99,9% (grau espectrofotométrico) e Etanol desidratado 200 proof absoluto utilizados foram adquiridos pela Sigma- Aldrich Brasil Ltda.

Essa amostra foi submetida a um processo de recristalização em metanol a 40° C para purificação. Os espectros UV/VIS da amostra impura e da amostra recristalizada, ambas em etanol a uma concentração de 1×10^{-4} M, foram gerados em um espectrofotômetro de absorção UV/Vísivel Nova 2102UVPC.

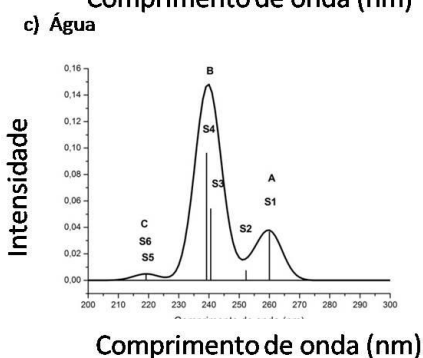
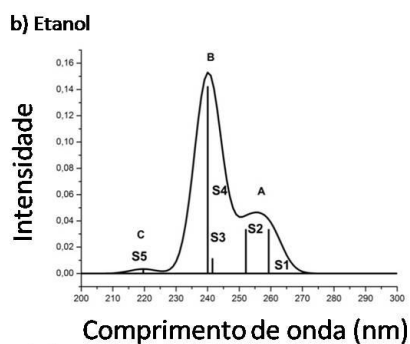
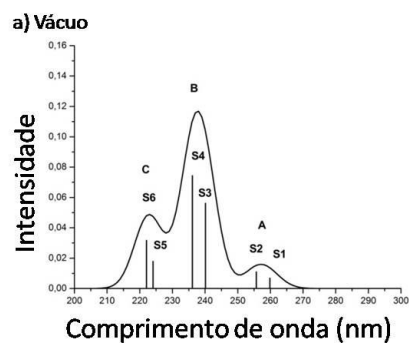
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espectro de Absorção UV

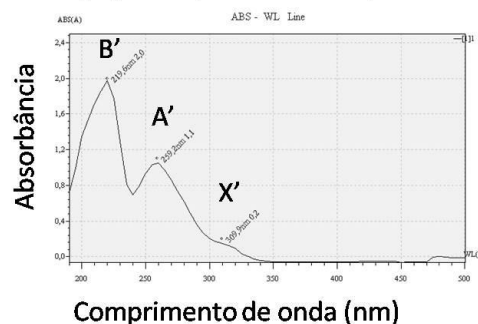
Simulação em vácuo

O espectro teórico de absorção UV-Vis da acetilbergenina em vácuo (Figura 3.a) foi obtido a partir dos dados do cálculo TFD-DT B3LYP/6-31G* (Tabela 1). Observa-se três bandas, **A**, **B**, **C** no espectro simulado em vácuo. As energias (nm) e f-valores dos picos de três bandas são A(257 nm, f= 0.0159), B(238 nm, f= 0,11689), e C(223 nm, f= 0,0488) respectivamente.

Espectros Teóricos; a),b),c)



d) Espectro Experimental do composto em etanol



e) Espectro Experimental em etanol da Acetilbergenina recristalizada

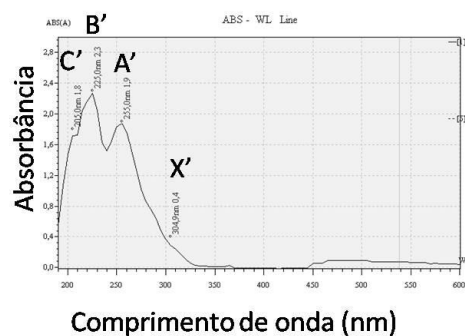


Figura 3- Espectro Teórico de Absorção UV da Acetilbergenina DFT-6-31G* simulação em; a) vacuo b) etanol c) água. Os Espectros foram feitos com forma Gaussiana, HWHM(Half-Width at Half Maximum)=5 nm, Step size=1 nm. d) Espectro Experimental de Absorção UV da Acetilbergenina, antes de recristalizar, em Etanol 10^{-4} M, e) Espectro Experimental de Absorção UV da Acetilbergenina, recristalizada, em Etanol 10^{-4} M

A banda **B** é mais intensa e a banda **A** é a de menor intensidade. A banda **A** consiste em duas transições, S_1 e S_2 , de baixas intensidades (Tabela 1). A transição S_1 é devido a transição D (138) (HOMO-3, n de carbonilas, Figura 4d) \rightarrow V(1) (LUMO, antiligante (π^*), localizado no anel aromático, Figura 4g), onde **D(138)** representa 138-esmo orbital **Duplamente** ocupado, e **V(1)** representa primeiro orbital **Virtual**. A transição S_2 é devido a uma transição proveniente do D(140) (HOMO-1 (orbital (π) localizado no anel aromático, Figura 4b) para o orbital LUMO+1 (antiligante (π^*) do anel aromático, Figura 4h). A banda **B** é composta de duas transições, S_3 e S_4 , de alta intensidades. A transição S_3 ocorre do orbital HOMO-2, (n do anel D-glicopirranose, Figura 4c), para o orbital V(1), LUMO. A transição S_4 parte do orbital HOMO (π , localizado no anel aromático, Figura 4a), para o orbital LUMO. A banda **C** é composta de duas transições, S_5 e S_6 , de média intensidades. A transição S_5 é devido uma transição que parte do orbital HOMO-6 (n, localizado no anel aromático, Figura 4e) para o orbital LUMO. A transição S_6 é devido uma transição do orbital D(134) HOMO-7 (n, com maior contribuição no orbital n localizado no anel δ -lactona, Figura 4f) \rightarrow V(1) (LUMO).

Tabela 1. As energias de excitação, E (eV), singlete, S_j (tipo $\pi\pi^*$), e o comprimento de onda, λ (nm), dos espectros da acetilbergenina em vácuo calculado. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude, calculados. D(141)=HOMO, V(1)=LUMO.

Calculado (simulação em vácuo)						
S_i	E(eV)	λ (nm)	f-valor	Banda	Transição	Amplitude
1	4,77	259	0,0068	A	D(138) \rightarrow V(1)	0,5865
2	4,84	255	0,0110	A	D(140) \rightarrow V(2)	0,6057
3	5,16	240	0,0562	B	D(139) \rightarrow V(1)	0,5892
4	5,25	236	0,0743	B	D(141) \rightarrow V(1)	0,6571
5	5,53	224	0,0179	C	D(135) \rightarrow V(1)	0,8546
6	5,58	222	0,0316	C	D(134) \rightarrow V(1)	0,8383

Através da visualização dos orbitais calculados pela TFD para a acetilbergenina em vácuo, observa-se que a região fotoativa da molécula está localizada na região do anel aromático (I) onde ocorrem as transições entre os orbitais HOMO, LUMO, HOMO-1 e LUMO+1 (Figura 4).

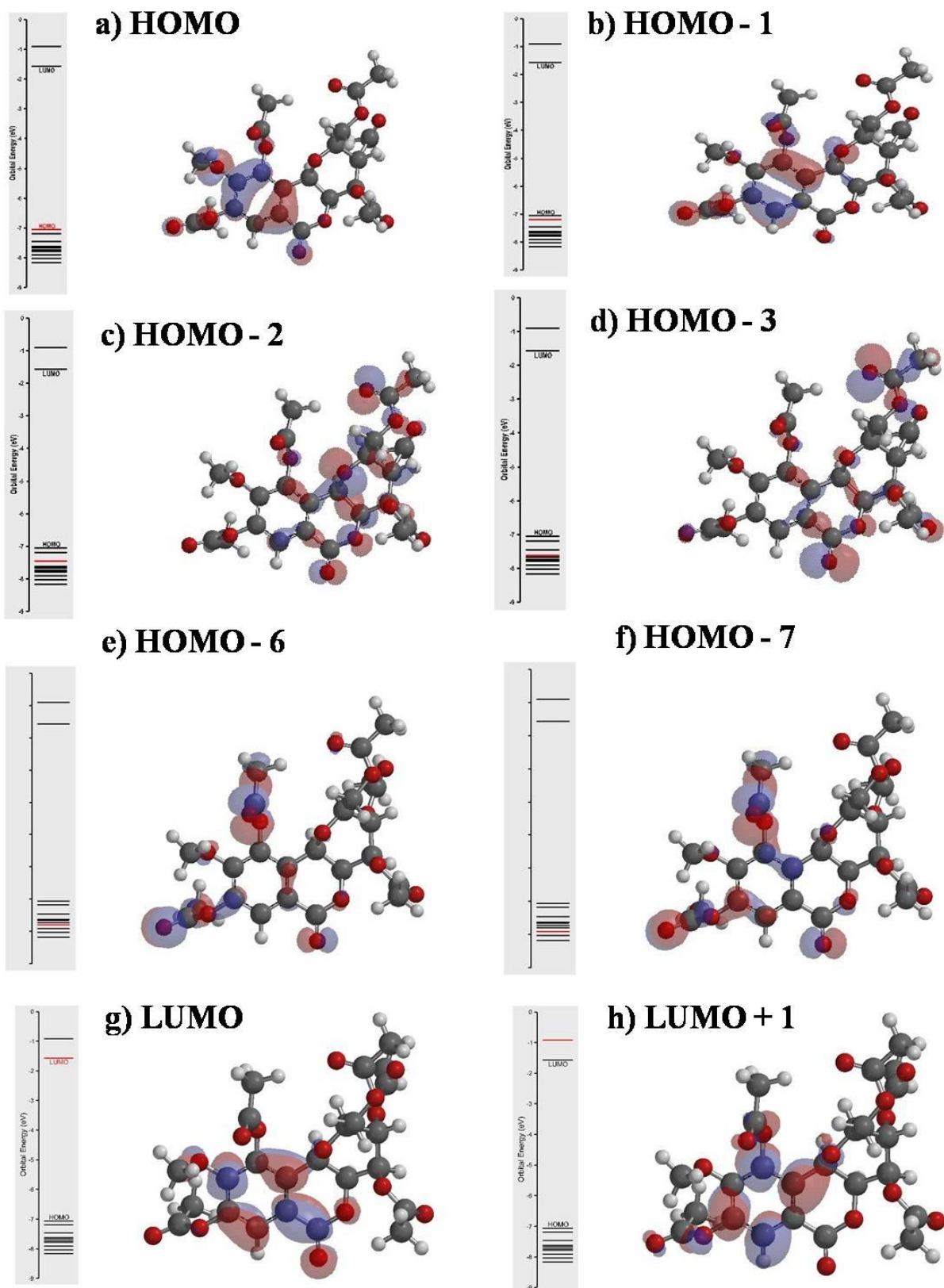


Figura 4- Orbitais moleculares da Acetylberggenina em vácuo. a) HOMO b) HOMO-1 c) HOMO-2 d) HOMO-3 e) HOMO-6 f) HOMO-7 g) LUMO h) LUMO+1

Simulação em etanol

O espectro UV-Vis experimental do composto em solução etanólica 10^{-4} M apresentou três Bandas com picos em 219nm (**B'**), 259nm(**A'**) e 309nm(**X'**) (Figura 3d) e o espectro experimental da acetilbergenina recristalizada apresentou quatro bandas com máximos em 205nm (**C'**), 225nm(**B'**), 255nm(**A'**) e 304nm(**X'**) (Figura 3e). Os dois espectros experimentais são similares nas bandas **B'** e **A'**. Porém, existem algumas diferenças entre os dois espectros. Primeiro, a presença da pequena banda **C'**, que fica no ombro esquerdo da banda intensa **B'** no espectro Figura 3e, enquanto no espectro na Figura 3d, não existe a banda **C'**. É muito provável que a banda **C'** não apareceu no espectro do composto antes de recristalizar (Figura 3d), por causa de impureza. Segundo, a presença da banda **X'** é nítida na Figura 3d, enquanto, na Figura 3e, a banda **X'** não é bem definida. No espectro do composto recristalizado em Figura 3e, a banda **X'** ou não existe ou a intensidade da banda é tão fraca que ela está embutida no lado direito da banda **A'**. É muito provável que a banda **X'** no espectro da amostra antes de ser recristalizado (Figura 3d), seja devido a impureza. No composto recristalizado, a quantidade de impureza foi reduzida. Por isso, no espectro do composto recristalizado (Figura 3e), a intensidade da banda **X'** diminuiu significativamente e ficou quase invisível.

O espectro teórico de absorção UV-Vis da acetilbergenina baseado no resultado do cálculo por DFT-DT B3LYP/6-31G* em etanol (Tabela 2) apresenta três bandas, **A**, **B**, **C** (Figura 3b), onde a banda **B** é a mais intensa, e em seguida a banda **A**, e a banda **C** possuem menor intensidade. As energias (nm) e f-valores dos picos de três bandas são **A** (255 nm; f= 0.0464), **B** (240 nm; f= 0,152947) e **C** (220; f= 0.0033) respectivamente.

O espectro experimental de absorção UV-VIS da acetilbergenina em etanol (Figura 3e) é semelhante ao espectro teórico (Figura 3.b). As bandas **A**, **B**, **C** do espectro teórico correspondem às bandas **A'**, **B'**, **C'** do espectro experimental respectivamente. No espectro teórico (Figura 3b) não existe uma banda no lado direito da banda **A** que corresponde à banda **X'** do espectro experimental. Podemos concluir que a banda **X'** no espectro experimental na Figura 3d e 3e é provavelmente devido à impureza. A banda **A** do espectro teórico consiste em duas transições, S_1 e S_2 , de média intensidade. A transição S_1 é devido à transição D(140) (HOMO-1, orbital π , Figura 5b) \rightarrow V(1) (LUMO, orbital antiligante (π^*) do anel aromático, Figura 5e). A transição S_2 é devido a uma transição proveniente do D(139) (HOMO-2, orbital

n localizado no anel da D -glicopirranose, Figura 5c) para o orbital V(1) (LUMO , π^* , Figura 5e).

A banda **B** é composta de duas transições, S_3 e S_4 , de altas intensidades. A transição S_3 ocorre uma transição do orbital D(135)(HOMO-6 , n do grupo acetil do anel aromático, Figura 5d) para o orbital V(1) (LUMO). A transição S_4 é a transição que parte do orbital D(141) (HOMO, π localizado no anel aromático, Figura 5a) para o orbital V(1) (LUMO).

A banda **C** é composta de uma transição, S_5 , de baixa intensidade. A transição S_5 é devido uma transição que parte do orbital D(139)(HOMO-2 , n, Figura 5.c) para o orbital V(2) (LUMO + 1, antiligante π^* . Figura 5f), localizado no anel aromático. A região fotoativa da molécula está localizada na região do anel aromático (I) onde ocorrem as transições entre os orbitais HOMO, LUMO, HOMO-2 e LUMO+1 (Figura 5).

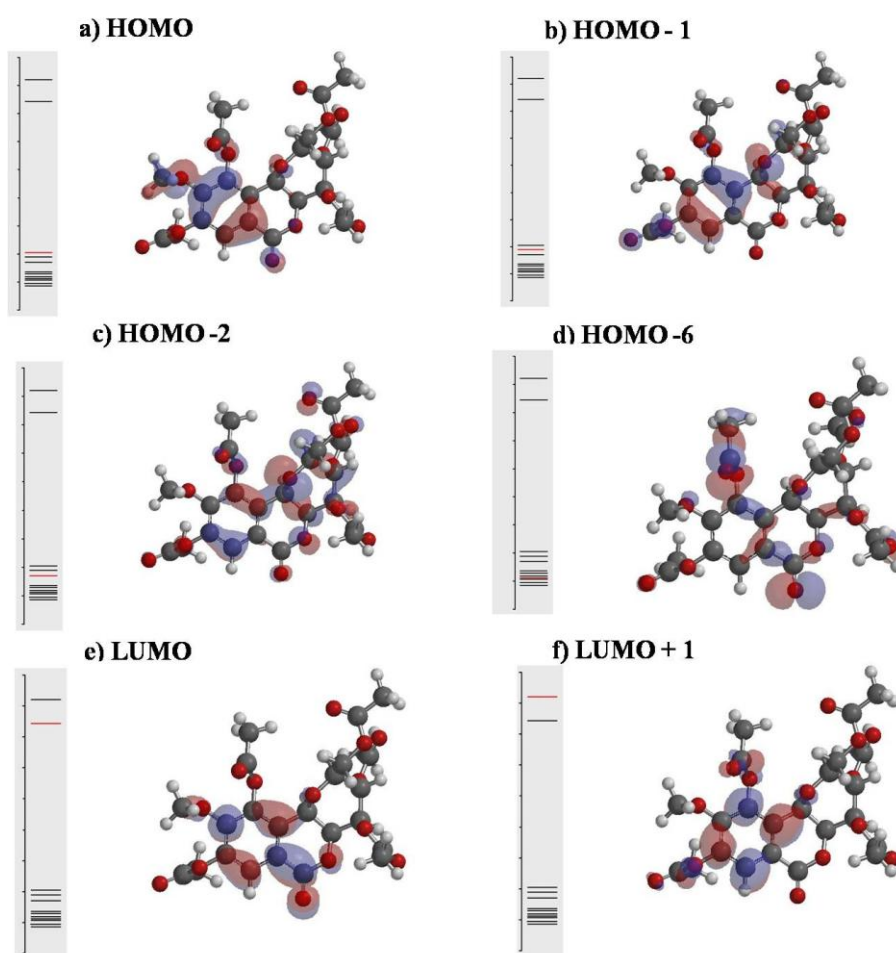


Figura 5 - Orbitais moleculares da Acetilbergenina em etanol. a) HOMO b) HOMO-1 c) HOMO-2 d) HOMO-6 e) LUMO f) LUMO+1

Comparando os dois espectros teóricos, um em vácuo (Figura 3a) e outro em etanol (Figura 3b), observa-se que a intensidade relativa da banda **C** contra a banda **B** na Figura 3b é bem menor do que a mesma em Figura 3a.

Tabela 2. As energias de excitação, E (eV), singlete, S_j (tipo $\pi \pi^*$), e o comprimento de onda, λ (nm), dos espectros da acetilbergenina em etanol, e observado e calculado. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude, calculados. D(141)=HOMO, V(1)=LUMO.

Experimental solução etanólica 10^{-4} M Acetilbergenina recristalizada			Calculado (simulação em etanol)				
S_i	λ (nm) referente ao pico	E(eV)	λ (nm)	f-valor	Banda	Transição	Amplitude
1	255 (1,9)	4,78	259	0,0333	A	D(140)→V(1)	0,8042
2		4,91	252	0,0333	A	D(139)→V(1)	0,7982
3		5,13	241	0,0111	B	D(135)→V(1)	0,6090
4	225 (2,3)	5,16	240	0,1420	B	D(141)→V(1)	0,7748
5	205 (1,8)	5,64	219	0,0034	C	D(139)→V(2)	0,6478

Simulação em água

O espectro teórico de absorção UV-VIS da acetilbergenina baseado no resultado do cálculo por DFT B3LYP/6-31G* em água (Tabela 3) foi confeccionado e mostrado em Figura 3c. Existem três bandas, **A**, **B**, e **C**, neste espectro teórico, onde as posições de picos encontram-se nos comprimentos de onda em 260 nm ($f= 0, 03791$, **A**), 240 nm ($f= 0,1480$, **B**) e 219 nm ($f=0,0048$, **C**). A banda **A** consiste em transições, S_1 e S_2 de média intensidade. A transição S_1 é devido a transição D(140) (HOMO-1, π , Figura 6b) \rightarrow V(1) (LUMO, π^* , Figura 6e) onde os orbitais estão localizados no anel aromático e S_2 refere-se a transição D(139)(HOMO-2, n , Figura 6c) \rightarrow V(1) (LUMO, π^*) que parte da carbonila do anel da D-glicopirranose. A banda **B** é composta de duas transições, S_3 e S_4 , de altas intensidades. A transição S_3 ocorre uma transição do orbital D(134)(HOMO - 7, n , Figura 6d) localizado no grupo acetila do anel aromático para o orbital V(1) (LUMO, π^*). A transição S_4 é a transição que parte do orbital D(141) (HOMO, π , Figura 6a) para o orbital V(1) LUMO. A banda **C** é composta de duas transições, S_5 , e S_6 , de baixa intensidade. A transição S_5 é devido uma transição que parte do orbital D(140)(HOMO-1, π) para o orbital V(2) (LUMO + 1, π^* , Figura 6f). A transição S_6 que se refere à transição D(134)(HOMO -7) \rightarrow V(1) LUMO.

Tabela 3. As energias de excitação, E (eV), singlete, S_j (tipo $\pi\pi^*$), e o comprimento de onda, λ (nm), dos espectros da acetilbergenina em água calculado. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude, calculados. D(141)=HOMO, V(1)=LUMO.

Calculado (simulação em água)						
S_i	E(eV)	λ (nm)	f-valor	Banda	Transição	Amplitude
1	4,76	260	0,035	A	D(140) \rightarrow V(1)	0,8153
2	4,91	252	0,0073	A	D(139) \rightarrow V(1)	0,8337
3	5,15	240	0,0540	B	D(134) \rightarrow V(1)	0,4732
4	5,18	239	0,0961	B	D(141) \rightarrow V(1)	0,6313
5	5,63	219	0,0001	C	D(140) \rightarrow V(2)	0,5081
6	5,65	219	0,0048	C	D(134) \rightarrow V(1)	0,5346

A região fotoativa da molécula está localizada na região do anel aromático (I) onde ocorrem as transições entre os orbitais HOMO, LUMO, HOMO-1 e LUMO+1 (Figura 6). As transições ($n\pi^*$) ocorrem nos orbitais; HOMO-2 e HOMO-7.

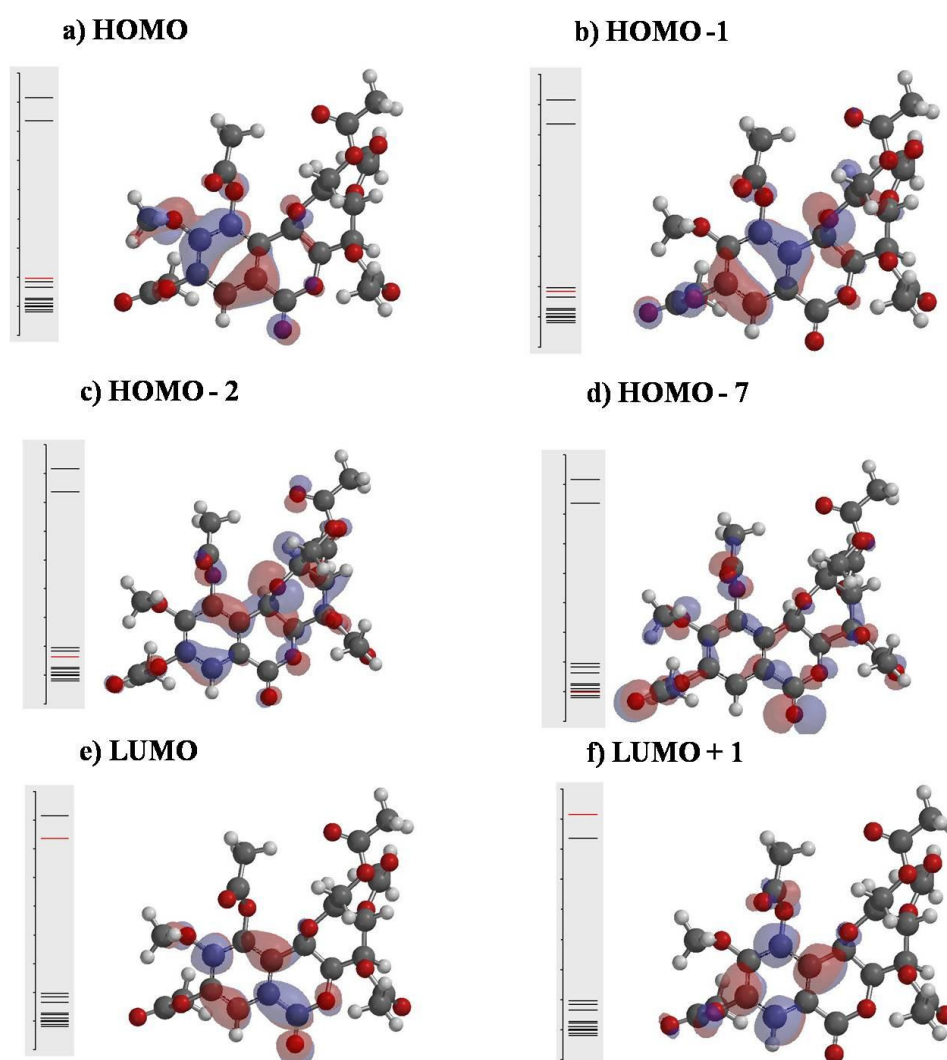


Figura 6 - Orbitais moleculares da Acetilbergenina em água. a) HOMO b) LUMO c) HOMO-1 d) HOMO-7 e) LUMO f) LUMO+1

Efeito do Solvente

Os valores relacionados à influência do solvente estão listados em Tabela 4. Nas simulações em etanol (Figura 3b) e água (Figura 3c) o cálculo demonstrou um deslocamento para maiores comprimentos de onda na banda (deslocamento para o vermelho) **B** sendo que a banda **A** em etanol deslocou para menores comprimentos de onda e em água a banda **A** deslocou para maiores comprimentos de onda. A banda **C** deslocou para menores comprimentos de onda (deslocamento para o azul) para as simulações em etanol e em água. Isto demonstra que a natureza de transições eletrônicas nas bandas **A** e **B** é predominantemente do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ em vácuo e em água, enquanto na banda **C** e a banda **B** na simulação em etanol a transição $n \rightarrow \pi^*$ predomina.

As intensidades das energias de excitação também foram maiores nas bandas **A** e **B** na simulação do cálculo em etanol e em água a banda **C** apresentou menor intensidade com relação à simulação em vácuo conforme a Tabela 4.

Tabela 4. O efeito solvente na (a) energia de excitação singlete relativa e em (b) intensidade relativa das bandas para a acetilbergenina em simulações: vácuo, etanol e água.

a) Energia de excitação relativa (nm)			
Bandas	A	B	C
Vácuo	0	0	0
Etanol	-2	2	-3
Água	3	2	-4
b) Intensidade relativa			
Bandas	A	B	C
Vácuo	0	0	0
Etanol	0,0305	0,0361	-0,0455
Água	0,022	0,0312	-0,044

A energia total da molécula acetilbergenina otimizada em etanol com Hartree Fock foi de -1972,175199 hartrees (-5177945,98KJ/mol), é mais estável do que a energia obtida após otimização em vácuo -1972,139819 hartrees (-5177853,57 KJ/mol). A energia total -1972,168129 hartrees (-5177945,98KJ/mol), da molécula acetilbergenina otimizada em água é mais estável do que a energia obtida após otimização em vácuo e menor do que a obtida pela otimização em etanol.

O momento dipolar da acetilbergenina em água 7,8826 Debye ($26,2931 \cdot 10^{-30}$ C.m) foi maior do que em etanol 7,57 Debye ($25,2331 \cdot 10^{-30}$ C.m) e em vácuo 6,07 Debye. O aumento

de dipolo evidencia as transições $n \rightarrow \pi^*$ com caráter de transferência de carga e também o processo de desativação molecular no estado eletrônico excitado para outro no estado fundamental através do mecanismo de Forster (BIRKS, 1970).

Foi feito uma comparação das energias HOMO e LUMO nas três simulações e verificou-se que a energia HOMO que mais sofreu alteração, com relação à simulação em vácuo, foi em etanol e a energia LUMO (-1,64 eV) em água. Em meio etanólico a diferença energética entre HOMO e LUMO apresentou menor valor, indicando maior reatividade (FUKUI e colaboradores, 1952). A alteração da polarizabilidade, com relação à simulação em vácuo, foi pequena de 0,07 em etanol e 0,08 em água (79,58) (Tabela 5).

Tabela 5. Algumas propriedades calculadas DFT 6-31G*

Acetilbergenina	Vácuo	Etanol	Água
Log P	-0,76	-0,76	-0,76
Polarizabilidade	79,50	79,57	79,58
Momento de dipolo (D)	6,07	7,57	7,88
E-HOMO (eV)	-7,06	-6,95	-7,04
E-LUMO (eV)	-1,58	-1,56	-1,64
LUMO-HOMO	5,48	5,39	5,4

Observa-se na Figura 7 que os grupamentos eletrofílicos (destaque em azul; C₃, C₆, C₉, C₁₆, C₂₁) presentes na carbonila (C=O) do grupo acetila favorecem ligações covalentes resultantes de ataques nucleófilos de hidroxilas. Este tipo de interação que envolve reconhecimento molecular através de formação de ligações covalentes são raramente desfeitos e ocorrem com fármacos que apresentam grupamentos com acentuado caráter eletrofílico um exemplo é a aspirina (FOYE e colaboradores, 1995, GRINGAUZ, 1997). Os oxigênios dos grupos acetila demonstraram serem bastante reativos (destaque em vermelho), mas possivelmente a ligação de hidrogênio ocorre no átomo O₉ que é altamente nucleófilo e sem impedimento estérico.

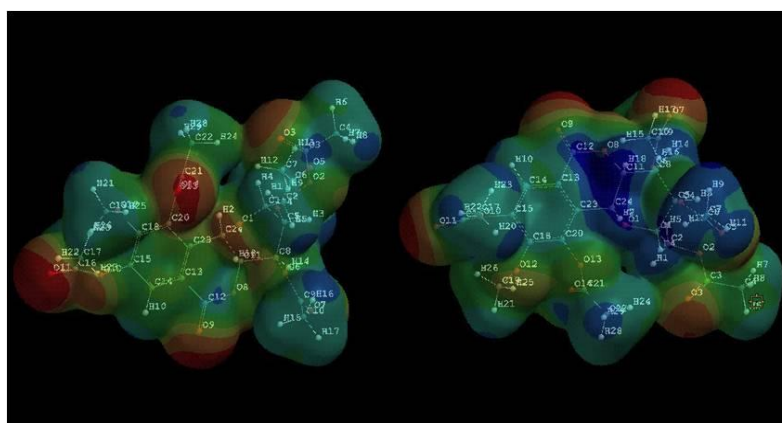


Figura 7- Mapa de potencial eletrostático da molécula de acetilbergenina no vácuo sobre uma superfície de 0,002 eV/ua³.

A mudança de solvente alterou discretamente o mapa de potencial eletrostático tanto em água (Figura 8a) quanto em etanol (Figura 8b). Provavelmente esta alteração foi devido às mudanças na conformação da molécula entre estas foram destacados os diedros: $C_{24}O_1C_1C_5$ (água= $-43,97^\circ$; etanol= $-43,45^\circ$; vácuo= $-45,64^\circ$), $C_{15}O_{10}C_{16}C_{17}$ (água= $9,12^\circ$; etanol= $7,43^\circ$; vácuo= $12,62^\circ$), $C_{13}C_{12}O_8C_{11}$ (água= $-15,90^\circ$, etanol= $-15,14^\circ$, vácuo= $-17,92^\circ$) e o diedro $C_{20}O_{13}C_{21}O_{14}$ (água= $-0,33^\circ$; etanol= $2,39^\circ$; vácuo= $-1,84^\circ$) do grupo acetil do anel aromático onde ocorreu mudança de plano no meio etanol.

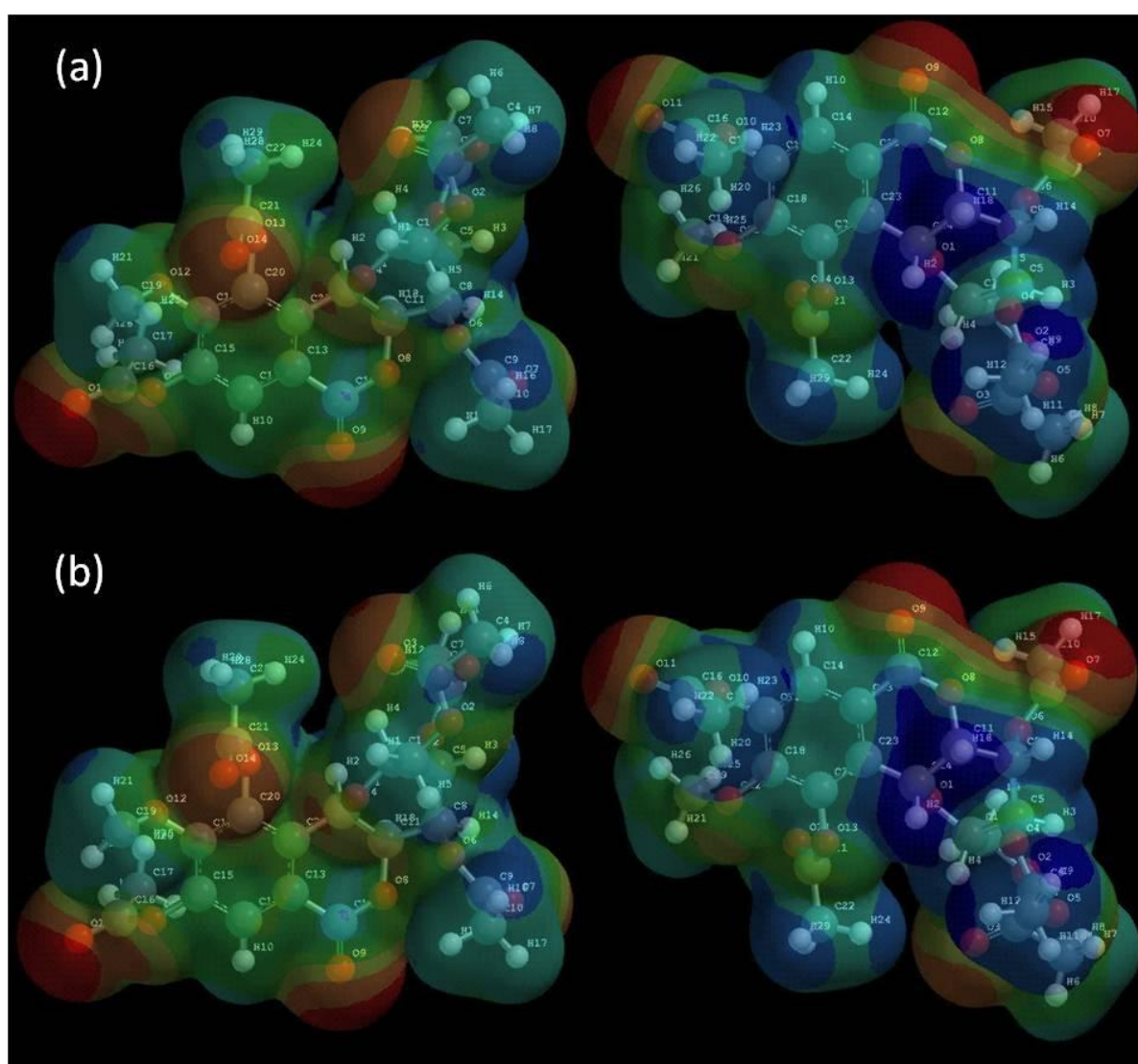


Figura 8- Mapa de potencial eletrostático da molécula de acetilbergenina sobre uma superfície de $0,002 \text{ eV/ua}^3$. a) água b) etanol.

A Tabela 6 mostra cargas atômicas de acetilbergenina em vácuo calculados por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural.

Tabela 6. Cargas atômicas de acetilbergenina em vácuo calculados por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural.

<i>Grupo</i>	<i>Átomo</i>	<i>Eletrostatic</i>	<i>Mulliken</i>	<i>Natural</i>
Acetil da D-glicopiranosose	C2	-0,149	-0,031	-0,051
	O2	-0,464	-0,623	-0,656
	C3	1,075	0,784	1,003
	C4	-0,908	-0,575	-0,738
	O3	-0,651	-0,583	-0,719
	C5	0,032	0,076	0,09
	O4	-0,577	-0,66	-0,678
	C6	1,039	+0,773	0,997
	O5	-0,628	-0,565	-0,699
	C7	-0,83	-0,568	-0,737
	O6	-0,469	-0,641	-0,668
	C9	0,915	0,783	1
	C10	-0,78	-0,571	-0,736
	O7	-0,59	-0,551	-0,685
Acetil do Anel Aromático	O10	-0,522	-0,669	-0,631
	C16	1,015	0,778	0,986
	O11	-0,589	-0,515	-0,649
	C17	-0,841	-0,621	-0,762
	O12	-0,254	-0,688	-0,634
	C19	-0,311	-0,21	0,229
	O13	-0,489	-0,693	-0,639
	C21	1,047	0,785	1
	O14	-0,603	-0,547	-0,681
	C22	-0,903	-0,596	-0,746
Anel Aromático	C14	-0,443	-0,211	0,189
	C15	0,53	0,353	0,279
	C18	-0,037	0,397	0,334
	C20	0,334	0,382	0,321
D – Glicopiranosose	C1	0,196	0,146	0,101
	O1	-0,478	-0,669	-0,651
	C8	0,318	0,12	0,113
δ -lactona	C11	-0,027	0,183	0,113
	O8	-0,426	-0,671	-0,64
	C12	0,835	0,881	0,992
	O9	-0,576	-0,539	-0,663
	C13	-0,03	-0,213	-0,193
	C23	-0,369	-0,013	-0,043
	C24	0,64	0,144	0,103

A Figura 9 mostra uma variação semelhante nos cálculos de cargas atômicas nos átomos de carbono da molécula acetilbergenina calculadas pelos três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural. Os três métodos resultam que as maiores cargas positivas estão localizadas nos carbonos C₃, C₉, C₁₆ e C₂₁ na carbonila pertencentes aos grupo acetila e o C₁₂ na carbonila que está ligado ao O₉ do anel aromático. O carbono da carbonila tem elevada carga positiva, pois seus elétrons são puxados pelo oxigênio. Por outro lado, as menores cargas (negativas) estão nos carbonos C₄, C₇, C₁₀, C₁₇ e C₂₂, todos de metila, pertencentes aos grupos acetila. Os valores das cargas diferem entre os três métodos diferentes: Eletrostática, Mullikeen e Natural. Nos átomos C₆, C₁₄, C₁₉ e C₂₄.

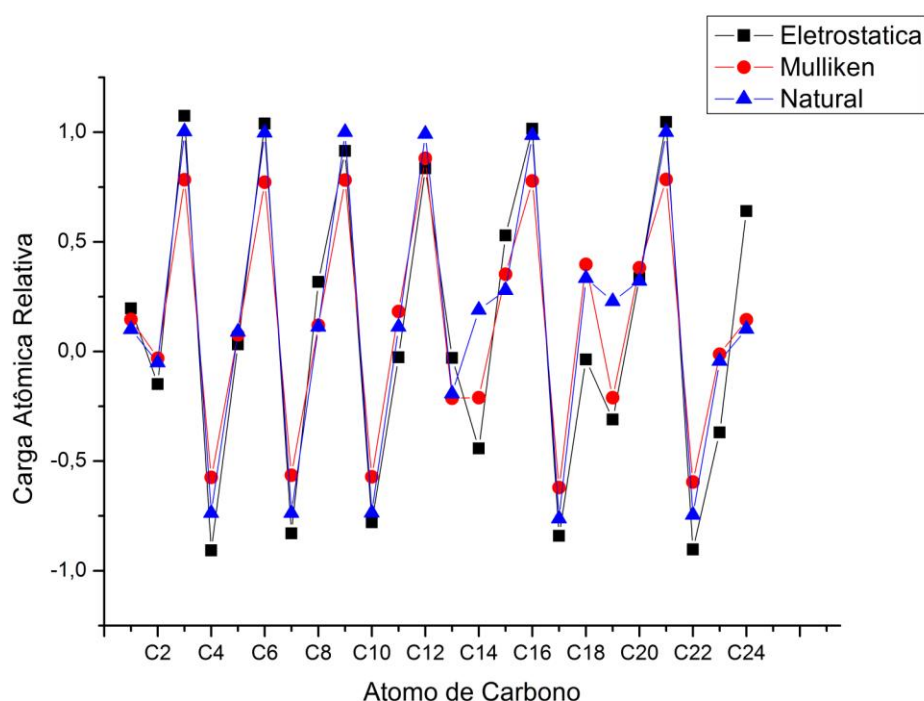


Figura 9- Cargas atômicas de carbonos da Acetilbergenina calculadas por três métodos diferentes; Eletrostática, Mulliken e Natural.

A Figura 10 mostra as cargas atômicas nos oxigênios da acetilbergenina calculados por três métodos diferentes (Eletrostática, Mulliken e Natural), que apresentam variação um pouco diferente. A variação de Eletrostática e Natural são similares e paralelas. A variação de Eletrostática é mais acentuada do que a mesma em Natural. A variação de Mulliken é bem diferente dos outros dois métodos. No caso dos métodos Natural e Eletrostática, observou-se que os átomos oxigênios da carbonila (O₃, O₅, O₇, O₁₁ e O₁₄) mostraram uma relevante carga

negativa. Nos átomos de oxigênio na ligação etila, - O -, nos grupos acetil (O₂, O₄, O₆, O₈, O₁₀, e O₁₂), as cargas são menos negativas.

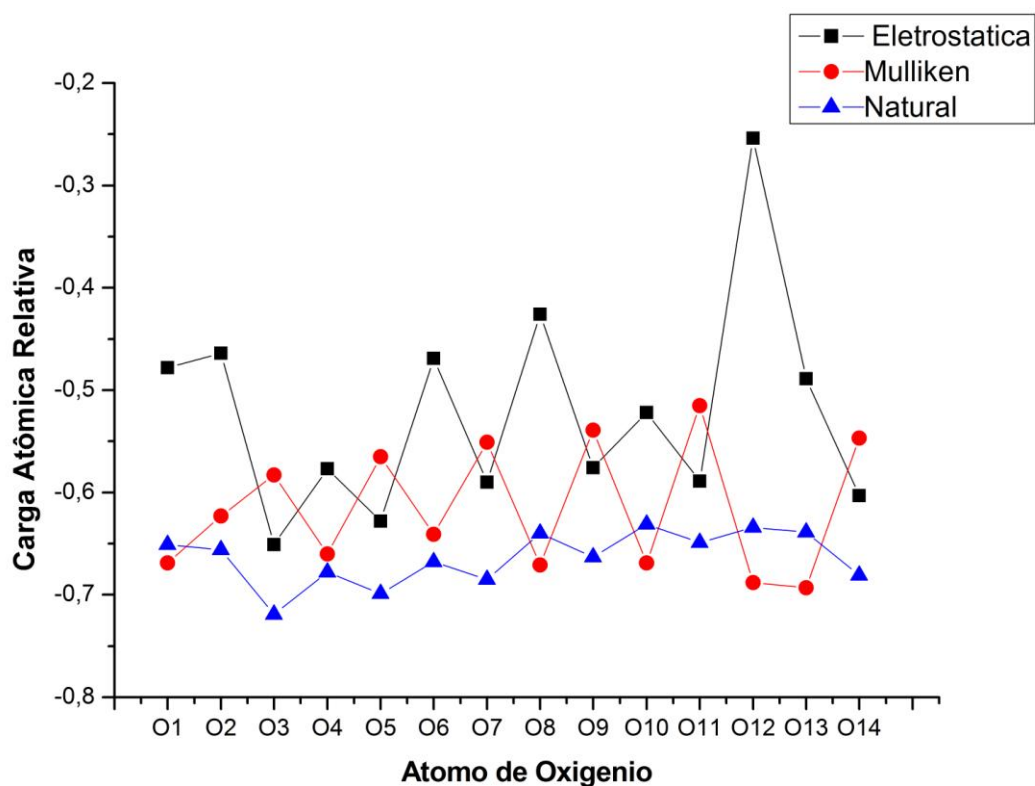


Figura 10- Cargas atômicas de Oxigênio da Acetilbergenina calculadas por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural.

A análise da influência do solvente nas cargas eletrostáticas, Mulliken e Natural demonstraram que as cargas de Mulliken apresentaram maior alteração com relação à mudança de cálculo na simulação dos solventes e a simulação em vácuo. A média de diferença entre as cargas de Mulliken da simulação em etanol (-0,010) foi menor do que em simulação em água (-0,012) (Tabela 7).

Tabela 7. Média da diferença das cargas das simulações nos solventes com relação a simulação em vácuo. a) Etanol em relação ao meio vácuo b) Água em relação ao meio vácuo

a)				b)			
Átomo	Electrostatica	Mulliken	Natural	Átomo	Electrostatica	Mulliken	Natural
C1	-0,002	0,004	0,004	C1	-0,017	-0,001	0,003
C2	0,014	-0,007	-0,002	C2	0,014	-0,010	0,003
O1	-0,010	-0,013	-0,005	O1	-0,010	-0,015	0,006
O2	-0,010	0,004	-0,001	O2	-0,009	0,004	0,001
C3	-0,004	-0,055	-0,001	C3	0,001	-0,060	0,001
C4	0,016	0,009	-0,004	C4	-0,002	0,011	0,004
O3	-0,022	-0,022	-0,023	O3	-0,027	-0,027	0,030
C5	0,006	0,028	0,003	C5	0,005	0,031	0,003
O4	0,008	0,018	0,006	O4	0,006	0,020	0,007
C6	-0,006	-0,066	0,003	C6	0,000	-0,073	0,005
O5	-0,017	0,019	-0,029	O5	-0,025	-0,023	0,035
C7	-0,023	0,009	-0,006	C7	-0,027	0,012	0,006
C8	0,034	0,002	0,002	C8	0,042	0,000	0,001
O6	0,001	0,012	0,004	O6	0,001	0,013	0,005
C9	-0,002	-0,059	0,005	C9	-0,006	-0,068	0,007
C10	-0,006	0,005	-0,006	C10	-0,008	0,008	0,006
O7	-0,036	-0,030	-0,038	O7	-0,040	-0,035	0,043
C11	-0,094	-0,028	-0,006	C11	-0,094	-0,030	0,006
O8	0,029	0,004	0,000	O8	0,032	0,005	0,000
C12	-0,002	-0,170	0,009	C12	-0,005	-0,198	0,011
O9	-0,047	0,004	-0,049	O9	-0,051	0,005	0,056
C13	-0,008	0,067	-0,009	C13	-0,002	0,086	0,009
C14	0,023	0,019	0,012	C14	0,024	0,028	0,015
C15	-0,016	-0,014	-0,008	C15	-0,017	-0,015	0,006
O10	-0,008	0,003	-0,002	O10	-0,002	0,001	0,003
C16	0,031	-0,078	0,008	C16	0,025	-0,086	0,011
O11	-0,048	-0,028	-0,044	O11	-0,051	-0,033	0,051
C17	-0,046	0,016	-0,007	C17	-0,053	0,020	0,007
C18	0,009	0,003	0,014	C18	0,021	-0,004	0,012
O12	0,005	-0,007	-0,002	O12	-0,010	-0,008	-0,004
C19	-0,022	0,020	0,004	C19	0,006	0,005	0,001
C20	-0,011	-0,008	-0,006	C20	-0,013	-0,009	-0,008
O13	0,001	0,012	0,002	O13	0,000	0,011	0,002
C21	-0,034	-0,065	0,002	C21	-0,014	-0,069	0,004
O14	-0,009	-0,016	-0,024	O14	-0,022	-0,020	-0,031
C22	0,050	0,029	0,002	C22	0,015	0,026	0,000
C23	0,013	0,033	0,016	C23	0,004	0,043	0,019
C24	0,050	0,002	-0,007	C24	0,061	-0,004	0,009
Média	-0,005	-0,010	-0,005	Média	-0,007	-0,012	0,006

A análise detalhada do efeito do solvente da carga atômica calculada para a molécula em etanol foi realizada como um exemplo. A Figura 11 mostra a carga atômica relativa calculada por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken, Natural, dos átomos de carbono na molécula de acetilbergenina, em etanol em relação ao meio vácuo. A figura mostra a variação de carga atômica, de cada átomo de carbono na molécula, ao mudar o solvente de vácuo para etanol. O valor da carga atômica relativa é positivo ou negativo dependendo do local do carbono na molécula e também no método de cálculo.

A carga atômica relativa oscila de um átomo para outro em todos os três métodos de cálculo. As intensidades da variação seguiram na ordem Mulliken > Eletrostática > Natural. A carga de Mulliken tem o maior efeito solvente, enquanto a carga de Natural tem o menor efeito solvente. As cargas de Mulliken diminuem significativamente nos átomos de C₃, C₆, C₉, C₁₂, C₁₆, C₂₁, nos quais o maior efeito do solvente está registrado no carbono C₁₂, que é o carbono de carbonila no anel II. A carga do C₁₂ diminui para o valor de -0,17 no etanol em relação ao vácuo. Por outro lado, na carga de Mulliken, a carga atômica aumenta nos demais carbonos, nos quais o maior aumento fica no C₁₃, com o valor 0,067.

A diminuição do valor da carga atômica do carbono está mais acentuada do que o valor do aumento, na carga de Mulliken. Com respeito à variação da carga atômica calculada pelo método Eletrostática, a tendência da variação segue aproximadamente a de Mulliken, com menor intensidade. A maior diminuição na carga Eletrostática está no C₁₁, que fica entre o anel II e III (Figura 2). No átomo de C₁₆, a carga Eletrostática e a Natural aumentam, enquanto a carga Mulliken diminui no mesmo átomo. A mesma situação repete no C₁₂ e em outros átomos. Existem vários átomos de carbonos, onde o efeito de solvente difere entre as cargas Eletrostática, Mulliken, e Natural.

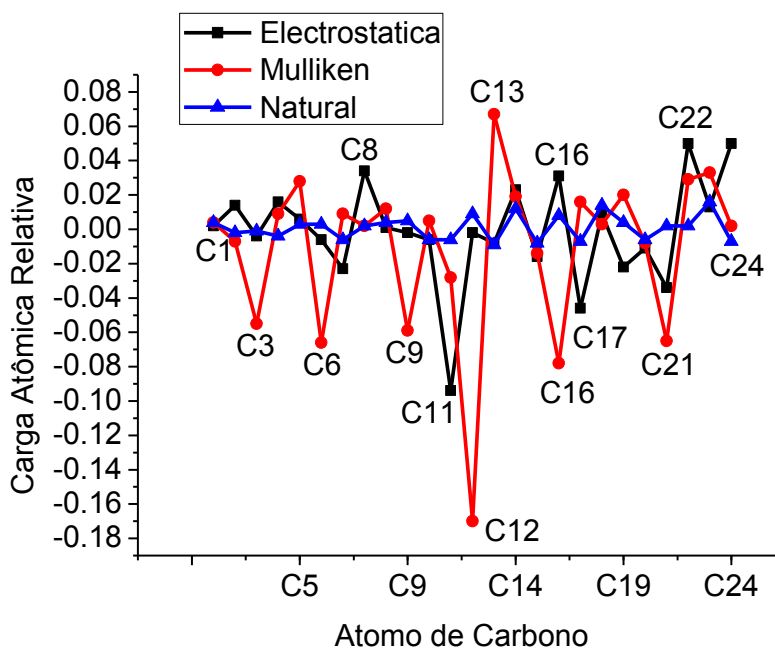


Figura 11- Carga atômica relativa calculada, de átomos de carbono na molécula de acetilbergenina, em etanol em relação ao meio vácuo.

A Figura 12 mostra que a carga atômica relativa calculada por três métodos diferentes, Eletrostática, Mulliken, Natural, de átomos de oxigênio na molécula acetilbergenina, em etanol em relação ao meio vácuo. A figura mostra a variação do valor da carga à mudança de solvente (vácuo para etanol). O valor da carga atômica relativa oscila de um átomo para outro em todos os três métodos de cálculo de maneira semelhante. Especialmente, a similaridade das curvas das cargas Eletrostática e Natural.

Ao mudar de vácuo para etanol, a carga aumenta nos átomos de O₂, O₄, O₈, O₁₀, e O₁₃, nos quais todos pertencem a ligação C-O-C, enquanto as mesmas diminuem nos átomos O₃, O₇, O₉, O₁₁ e O₁₄, nos quais todos pertencem à carbonila, O=C. As cargas atômicas relativas de Mulliken nos átomos O₅ e O₉ são diferentes das obtidas pelos métodos Eletrostática e Natural. Comparando as Figuras 11 e 12 revelam que as cargas atômicas relativas calculadas pelos três métodos têm maior similaridade entre si nos átomos de oxigênios (Figura 12), enquanto existem as diferenças significativas nos átomos de carbono (Figura 11).

Não podemos tirar uma conclusão generalizada no sentido de que, entre os métodos Eletrostática, Mulliken, e Natural, qual é o melhor ou qual é o pior. Isto por que não existe método experimental para medir carga atômica diretamente. Portanto, não é possível comparar teoria com experimento para avaliar a veracidade dos métodos teóricos empregados. O conceito de carga atômica é útil, pois vários métodos teóricos foram propostos para calcular carga atômica. A análise de qual o método a ser utilizado dependerá do foco do estudo, o

método de cálculo Eletrostática e Natural é mais eficaz na análise de possíveis ligações na molécula e o método de Mulliken para análises dos orbitais.

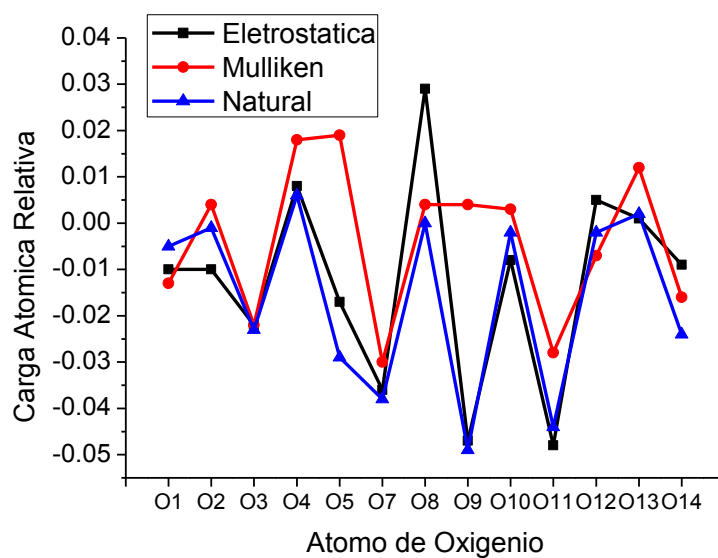


Figura 12- Carga atômica relativa calculada, de átomos de oxigênio na molécula de acetilbergenina, em etanol em relação ao meio vácuo.

4. CONCLUSÕES

Os resultados dos cálculos teóricos apresentaram coerência com os dados experimentais possibilitando a análise do espectro UV da acetilbergenina. A comparação dos três espectros teóricos obtidos a partir da simulação de três solventes diferentes, vácuo, etanol, e água, revelam que: (1) todos os três espectros tem três bandas, **A**, **B**, e **C**; (2) aparência e intensidade relativa das bandas **A** e **B** são similares nos três espectros; (3) a intensidade relativa da banda **C** em etanol e em água é muito fraca em comparação da mesma em vácuo. O efeito do solvente é mais acentuado na banda **C**. Foi possível analisar detalhadamente a natureza de cada banda utilizando os orbitais moleculares calculados.

Os orbitais HOMO, e LUMO estão localizados no anel aromático da acetilbergenina que evidencia como sendo a região mais fotoativa da molécula acetilbergenina.

O cálculo evidenciou que o etanol mudou a transição de transferência de carga a longa distância, pois em vácuo originava-se do orbital (n) do anel δ -lactona para o orbital antiligante (π^*) do anel aromático e em etanol foi do orbital (n) do anel D - glicopiranosose para o anel aromático. Este tipo de transição geralmente é a força diretora responsável pela interação da molécula com o material biológico, devido a isto a molécula demonstrou ser mais fotoativa em meio hidrofílico (etanol, $f= 0,0333$) com força do oscilador maior do que em simulação em vácuo (a molécula isolada sem interação, $f= 0,0068$).

Os valores e variações das cargas atômicas da acetilbergenina calculadas por três métodos diferentes: Eletrostática, Mulliken e Natural são semelhantes, apesar da presença de discrepância nos detalhes dos resultados calculados. O efeito do solvente sobre as cargas atômicas na molécula é maior nos átomos de carbono do que nos átomos de oxigênios. O método de cálculo de cargas Mulliken foi o que mais apresentou alteração nos valores com relação à mudança de solvente.

5. REFERENCIAS

ABREU, H., LAGO, I. A., SOUZA, G. P., VELOSO, D. P., DUARTE, H. A., ALCÂNTARA, A. F. Antioxidant activity of (+) – bergenin- a phytoconstituent isolated from the bark of *Sacoglottis uchi* Huber (Humiraceae). **Organic & Biomolecular Chemistry**, 6: 2713-2718, 2008.

BIRKS, J. B.; **Photophysics of Aromatic Molecules**, John Wiley & Sons Ltd., New York, 1970.

BORGES, J. C. **Obtenção e avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória**. *Dissertação de mestrado*. Universidade Federal do Pará. 2010.

BURKE, K., WERSCHNIK, J., e GROSS, E.K. Time-dependent density functional theory: past, present and future. **The Journal of Chemical Physics**, v.123, p062206-8, 2005.

FOYE, W.O.; LEMKE, T.L e WILLIAMS, D.A. Principles of medicinal chemistry. Baltimore: Lea & Febiger, 1995.

FRICK, W., HOFMANN J., FISCHER, H., SCHMIDT, R. R. The structure of bergenin, **Carbohydrate Research**, 210:71-77, 1991.

FUKUI, K. T., YONEZAWA, T., SHINGU, H. . A Molecular Orbital Theory of Reactivity in Aromatic Hydrocarbons. **J. Chem. Phys** , p.722-725. 1952.

GRINGAUZ, A. Introduction to medicinal chemistry-How drug act and why. Weinhein: Wiley-VCH, 1997.

HOLLER, F. J., SKOOG, D. A., CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental** (6 ed.). Porto Alegre: Bookman. 2009.

JUNG, J. C., LIM, E., KIM, S. H., KIM, S., JUNG, M., & OH, S. Pratical synthesis and biological evaluation of bergenin analogs. **Chemical Biology Drug Design**, 78:725-729, 2011.

LEE, C., YANG, W., PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, 785-789, 1988.

LIM, H. K., KIM, H. S., CHUNG, M. W., KIM, Y. C. Protective effects of bergenin, the major constituent of *Mallotus Japonicus*, on D- galactosamina-intoxicated rat hepatocytes . **Journal Ethnopharmacology** ,70: 69-72, 2000.

LIM, H., KIM, H., KIM, S., CHANG, M., RHEE, G. P., CHOI, J. Protective effects of acetylbergenin against carbon tetrachloride- induced hepatotoxicity in rats. **Pharmacology, Toxicology & Pharmaceutic**, 24(2): 114-118, 2001.

LIM, S., KIM, H., CHOI, H., OH, S., JANG, C. G., CHOI, W. J. Effects of acetylbergenin against D- galactosamine induced hepatotoxicity in rats. **Pharmacological Research** , 42 (5): 471-474, 2000.

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

NUNOMURA, R. C., OLIVEIRA, V. G., SILVA, S. L., NUNOMURA, S. M. . Characterization of bergenin in *Endopleura uchi* bark and its anti-inflammatory activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**,20(06):1060-1064. 2009.

OGAN, A. U. . Humiraceae an isocoumarin from the bark of *Sacoglottis gabonensis*. **Phytochemistry** ,10: 2832-2833, 1971.

QUIN, X., YANG, Y., FAN, T., GONG, T., ZHANG, X., & HUANG, Y. Preparation, characterization and *in vivo* evaluation of bergenin phospholipid complex. **Acta Pharmacologica Sinica** ,31:127-136, 2010.

SANTOS, D. R., **Biotransformação da Bergenina utilizando fungos amazônicos como biocatalizador**, Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Amazonas, 2012.

SCHULTES, R. E. De plantis toxicaris e mundo novo tropicale commentationes XXI. Interesting native uses of the Humiriaceae in the northwest Amazon. **Journal of Ethnopharmacology** ,89-94,1979.

SILVA, V. O., YANO, T., NUNOMURA, R. C. Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. **Acta Amazonia** ,39(1):187-192,2009.
Spartan, P. (s.d.). **Pro version 2010 Wave function**. USA. 2010.

SPARTAN, P. (s.d.). **Pro version 2010 Wave function**. USA. 2010.

WANG, J., WANG, B., WEI, C., YUAN, G., & ZHANG, R. . Determination of bergenin in human plasma after oral administration by HPLC/MS method and its pharmacokinetic study. **Biomedical Chromatography** , 23:199-203, 2009.

YAN, B. S., SHI, Y. P., MENG, Q. . Determination and pharmacokinetic study of bergenin in rat plasma by RP-HPLC method. **Biomedical Chromatography** ,1065-1070, 2006.