

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS – UEA
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – ESA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS – MBT
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA COM MOLÉCULAS BIOATIVAS - LTMB**

**ESTUDO ESPECTROSCÓPICO EXPERIMENTAL E TEÓRICO DO
NOVO MUTAGÊNICO/CARCINOGÊNICO
AMINOFENILNORHARMANA**

ANDRÉ HENRIQUE ARAÚJO REIS

**MANAUS-AMAZONAS
2012**

ANDRÉ HENRIQUE ARAÚJO REIS

**ESTUDO ESPECTROSCÓPICO EXPERIMENTAL E TEÓRICO DO
NOVO MUTAGÊNICO/CARCINOGÊNICO
AMINOFENILNORHARMANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação da Universidade do Estado do Amazonas, para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Orientador: **Prof. Dr. Alberto dos Santos Marques**

**MANAUS-AMAZONAS
2012**

R375e Reis, André Henrique Araújo.
Estudo Espectroscópico experimental e Teórico do novo
mutagênico /carcinogênico aminofenilnorharmana / André Henrique
Araújo Reis. - - Manaus: [s.n.], 2012.

75f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais)
Universidade do Estado do Amazonas, 2012.
Orientador Prof. Dr. Alberto dos Santos Marques.
Inclui bibliografia.

1.Norharmana e Anilina. 2.Métodos de orbitais moleculares.
3. Estrutura molecular e cargas atômicas. 4. Química computacional. I.
Marques, Alberto dos Santos. II. Universidade do Estado do Amazonas
- Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais
III.Título.

CDU 577

PARECER

Os membros da Banca Examinadora, designada pela Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Universidade do Estado do Amazonas, reuniram-se para realizar a argüição da dissertação de MESTRADO apresentada pelo candidato **André Henrique Araujo Reis**, sob o título **Estudo Espectroscópico Experimental E Teórico do Novo Mutagênico / Carcinogênico Aminofenilnorharmana**, para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Recursos Naturais.

Manaus, 13 de junho de 2012.

Dra. **CECÍLIA VERÔNICA NUNEZ**
INPA – Membro Titular

Dra. **LUIZA GABRIEL PEREIRA**
SEDUC – Membro Titular

Dr. **ALBERTO DOS SANTOS MARQUES**
UEA/EST - Presidente da Banca e Orientador

DEDICO...

“A Deus que foi meu refúgio e na sua infinita bondade me iluminou com sabedoria, coragem e perseverança para vencer os obstáculos”

*Aos meus pais Ozias S. Reis e Sônia A. Reis;
aos meus irmãos Adriano, Adrea, Karoline,
Gessica, minha avó Graça Araújo e meus tios
(a) Clodoaldo, Solange e Silvane pelo carinho
e apoio.*

*Um tempo para cada coisa
Eclesiastes, cap. 3*

AGRADECIMENTOS

- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (MCT/CNPq) pelo apoio financeiro vindo dos editais (553292/2005-6, CT/AMAZÔNIA/MCT/CNPq) e (MCT/CNPq/FNDCT No. 19/2009, 556853/2009-1);
- FAPEAM - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Edital N. 015/2010 – RH - Interiorização) pela bolsa de estudo concedida;
- Bolsa de Pesquisa da Fundação de Apoio Institucional MURAKI;
- A meu orientador, Prof.Dr.Alberto dos Santos Marques, pela confiança e apoio;
- Ao Prof. Dr Yuji Takahata pela contribuição nos resultados e instruções nos cálculos;
- A Profa. Dra. Luiza Gabriel Pereira, pelas sugestões e discussões que foram de grande contribuição para a realização deste trabalho, além do apoio moral;
- A Profa. Dra. Angela Maria Imakawa, pelas sugestões, correções e apoio;
- A Prof. Dra. Cecília Verônica Nunez, pela contribuição e ajuda para obtenção dos espectros no UV-Visível;

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
1.2.1. NORHARMANA: <i>9H-pirido[3,4-b]indol</i> (NH).....	15
1.2.2. ANILINA.....	17
1.3. AS BASES TEÓRICAS.....	19
1.3.1. PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS.....	19
1.3.1.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO U.V. VISÍVEL.....	19
1.3.1.2. O DIAGRAMA DE JABLONSKI E OS CAMINHOS DA ENERGIA EM MOLÉCULAS EXCITADAS ELETRONICAMENTE.....	20
1.3.2. AS TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS DE SISTEMAS MOLECULARES.....	22
1.3.2.1. AS TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS $\sigma \rightarrow \sigma^*$	22
1.3.2.2. AS TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS $\pi \rightarrow \pi^*$	23
1.3.2.3. AS TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS $n \rightarrow \pi^*$	24
1.3.3. O EFEITO DO SOLVENTE NOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV- VISIVEL.....	25
1.3.4. AS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO.....	27
1.4. O PROGRAMA SPARTAN `06.....	28
1.5. MÉTODOS DE ORBITAIS MOLECULARES.....	29
1.5.1. MÉTODOS SEMI-EMPÍRICOS.....	30
1.5.1.1. MÉTODOS SEMI-EMPÍRICOS AM1, PM3 E RM1 DO SPARTAN 06.....	31
1.5.2. O MÉTODO <i>ab initio</i> INSTALADO NO SPARTAN 06.....	33
1.5.2.1. FUNÇÕES DE BASES.....	35
1.5.3. O MÉTODO TEORIA FUNCIONAL DA DENSIDADE INSTALADO NO SPARTAN 06.....	36
2. OBJETIVOS.....	39

2.1. GERAL.....	39
2.2. ESPECÍFICOS.....	39
3. METODOLOGIA.....	40
3.1. MOLÉCULAS UTILIZADAS NO TRABALHO.....	40
2.1.1. NORHARMANA (NH) E ANILINA.....	40
3.2. A ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO.....	40
3.3. OS MÉTODOS DE ORBITAIS MOLECULARES.....	42
3.3.1. O CÁLCULO <i>AB INITIO</i> NO PROGRAMA SPARTAN 06.....	42
3.3.2. O CÁLCULO TFD NO PROGRAMA SPARTAN 06.....	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	45
4.1. ESTRUTURA MOLECULAR E CARGAS ATÔMICAS.....	45
4.2. ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV EXPERIMENTAL E TEÓRICO.....	49
5. CONCLUSÃO.....	63
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Soluções preparadas	41
Tabela 2	Cargas atômicas calculadas pelo método <i>ab initio</i> RHF/6-31G*.	48
Tabela 3	As energias de excitação calculadas com o TFD (6-31G*) da NH, onde D(44) = HOMO, V(1) = LUMO são orbitais moleculares relacionados.	52
Tabela 4	As energias de excitação calculadas com o TFD (6-31G*) da anilina, onde D(25) = HOMO, V(1) = LUMO são orbitais moleculares relacionados.	56
Tabela 5	As energias de excitação calculadas com o TFD (6-31G*) da APNH, onde D(68) = HOMO, V(1) = LUMO são orbitais moleculares relacionados	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Reação da norharmana (NH) com anilina em um ambiente adequado para formação do aminofenilnorharmana (APNH).	14
Figura 2	Estrutura molecular da Norharmana (9H-pirido[3,4-b]indol(NH)).	16
Figura 3	Estrutura molecular da Anilina	18
Figura 4	Níveis de energia para as transições eletrônicas.	21
Figura 5	Os tipos de orbitais moleculares e as transições eletrônicas.	25
Figura 6	- Esquema ilustrativo das atividades que são permitidas com a utilização do programa SPARTAN `06.	29
Figura 7	Esquema do sistema de espectroscopia do espectrofotômetro CIRRUS 80ST.	42
Figura 8	Geometria molecular da APNH calculada com os métodos: Semi- empíricos AM1, RM1 e <i>ab iníto</i> RHF/6-31G*.	47
Figura 9	(a) Espectro experimental da Norharmana base livre em etanol 10^{-4} M; (b) Espectro teórico calculado da Norharmana.	49
Figura 10	Orbitais moleculares para NH, calculado por TFD (6-31G*). Homo – Orbital desocupado de maior energia. Lumo – Orbital ocupado de menor energia.	54
Figura 11	(a) Espectro experimental da anilina em etanol 10^{-4} M; (b) Espectro teórico calculado da anilina.	55
Figura 12	Orbitais moleculares para anilina, calculado por TFD (6-31G*). Homo – Orbital desocupado de maior energia. Lumo – Orbital ocupado de menor energia.	58
Figura 13	(a) Espectro experimental da APNH (TOTSUKA, <i>et al.</i> , 1998); (b) Espectro teórico calculado da APNH.	59
Figura 14	Orbitais moleculares HOMO e LUMO para APNH e suas principais transições, calculadas pela TFD (6-31G*).	60

LISTA DE ABREVIATURAS

AM1 – Austin Model1;

APNH – Aminofenilnorharmana, 9-(4'-aminofenil)-9H-pirido[3,4-B]indole);

B3LYP – Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr);

eV – Elétron -volt;

EtOH – Etanol;

Exp. – Experimental;

HOMO – (Highest Occupied Molecular Orbital) Orbital molecular ocupado de maior energia;

LUMO – (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) Orbital molecular desocupado de menor energia;

MAO – Monoamineoxidase;

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

Nm – Nanômetro;

OM – orbital molecular;

PM3 – Parameterized Model 3;

RHF – Hartree-Fock;

RM1 – Recife Model1;

SI – Semi – empírico

TC - Transferência de carga;

TFD - Teoria Funcional da Densidade;

TFDD - Teoria Funcional da Densidade Dependente do tempo;

TOM - Teoria de orbital Molecular;

UV – Ultra Violeta;

RESUMO

Os espectros UV/Visível da norharmana (9H-pyrido[3,4-b]indol) (NH) e da anilina dissolvidas em etanol, foram estudados. A NH é encontrada na fumaça de cigarro em alta concentração, carne cozinhada, peixe assado, e foi detectado na urina de pessoas e no leite materno, e também é encontrada em algumas plantas da Amazônia como, por exemplo, a chacrono (*Psychotria viridis*), e è conhecida por seu principio ativo alucinógeno. A anilina está presente na fumaça de cigarro em alta concentração também, e é uma importante matéria prima na indústria química. Foram calculadas as energias de excitação, força do oscilador, para a NH, anilina e (9-(4'-aminophenyl)-9H-pyrido[3,4-b]indol) (APNH) com a Teoria Funcional da Densidade dependente do tempo usando o funcional B3LYP e o conjunto de bases 6-31G*. Os espectros das moléculas foram simulados e comparados com os espectros experimentais para analisar e interpretar os espectros observados. A atividade mutagênica/carcinogênica da APNH foi discutida com base nos cálculos *ab iníto* RHF/6-31G* feitos para determinação da estrutura molecular e cargas atômicas.

Palavras chaves: **APNH, Espectros de absorção UV, Teoria Funcional da Densidade dependente do tempo- TFDDT, método *ab iníto*.**

ABSTRACT

The UV / visible norharmana (9H-pyrido [3,4-b] indole) (NH) and aniline dissolved in ethanol were studied. The NH is found in cigarette smoke in high concentrations, cooked meat, cooked fish, and was detected in the urine of people and in breast milk, and is also found in some plants of the Amazon, for example, chacrono (*Psychotria viridis*) , and is known for its active principle hallucinogen. The aniline is present in cigarette smoke in concentrations too high, and is an important raw material in the chemical industry. Were calculated excitation energies, forces the oscillator to NH, and aniline (9-(4'-Aminophenyl)-9H-pyrido [3,4-b] indole) (APNH) with the Density Functional Theory dependent time using the B3LYP functional and basis set 6-31G *. The spectra of the molecules were simulated and compared with the experimental spectra to analyze and interpret the observed spectra. The mutagenic / carcinogenic of APNH was discussed based on the RHF/6-31G * *ab initio* calculations made to determine the molecular structure and atomic charges

Key words: APNH, UV absorption spectra, Time Dependent Density Functional Theory -TFDDT, *ab initio* method.

1 – INTRODUÇÃO

A dieta alimentar e o hábito de fumar cigarros estão ligados ao desenvolvimento do câncer no ser humano. A identificação de mutagênicos/carcinogênicos no cigarro e em alimentos é uma etapa importante no entendimento dos agentes causadores de câncer nas pessoas. O termo carcinógeno, cancerígeno, ou carcinogênico refere-se a qualquer substância, isótopo, radiação ou outro agente físico ou biológico que provoque, agrave ou sensibilize o organismo para o surgimento de um câncer (MENGOD, 2011). Foi identificado um novo mutagênico derivado das aminas heterocíclicas, a 9-(4'-aminofenil)-9H-pirido [3,4-b] indol (aminofenilnorharmana, APNH), formada pela reação da 9H-pirido [3,4-b] indol (norharmana - β -carbolina) com a anilina na presença da mistura S9, (Figura 1) (TOTSUKA, *et al.*, 1998; TOTSUKA; TAKAMURA-ENYA. *et al.*, 2004).

A norharmana - NH é encontrada na fumaça de cigarro em alta concentração, carne cozinhada, peixe assado e foi detectado na urina de pessoas que ingerem uma alimentação normal e também foi encontrada no leite materno (HERAIZ, *et al.*, 2008; HADA, *et al.* 2001; DURK, *et al.* 2001; URSULA, *et al.* 1996; LILLIAN, *et al.*, 1999), a norharmana é encontrada também em algumas plantas da Amazônia como, por exemplo, a chacrono (*Psychotria viridis*), e è conhecida por seu principio ativo alucinógeno (SOUZA, 2008), Essa planta é usada pra fazer uma bebida religiosa, que é chamada de chá do Santo Daime, usado em rituais indígenas (COSTA, *et al.* 2005). A anilina está presente na fumaça de cigarro em alta concentração (IARC, 1982; JENKINS, *et al.* 1972), e é uma importante matéria prima na indústria química (CANGEMI, 2009) deve ser considerada como provável carcinógeno humano

(KAHL, 2007). Então se pode dizer, que o ser humano todos os dias está exposto tanto a norharmana como a anilina.

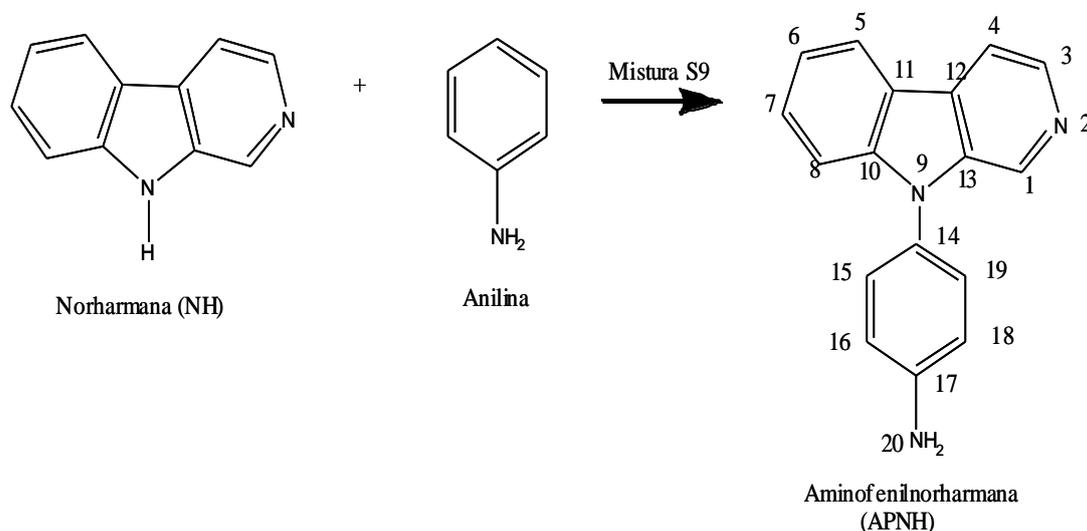


Figura 1: Reação da norharmana (NH) com anilina em um ambiente adequado para formação do aminofenilnorharmana (APNH).

No estudo de algumas amostras de urina humana de fumantes e não fumantes que se alimentaram normal, a APNH foi detectada nas amostras dos fumantes (NISHIGAKI, *et al.*, 2007) e concluiu-se que a APNH é um mutagênico/carcinogênico endógeno. A APNH provavelmente é carcinogênica *in vitro* e *in vivo* (YUKARI, *et al.*, 2002) uma vez que a administração desse novo mutagênico em roedores mostrou-se endógena e genotóxica, causando danos às células nos ratos, produzindo degeneração hepática, mudanças erosivas na bexiga urinária, sangue na urina, toxidade testicular e foi encontrada na urina de ratos (WAMORI *et al.*, 2004).

Quando essas duas moléculas (norharmana e anilina) foram incubadas na cepa *Salmonella typhimurium* (ODA, *et al.*, 2006) com a mistura S9, foi detectado um aduto APNH – DNA (TOTSUKA, *et al.*, 2002), cuja estrutura molecular foi

determinada e na qual a APNH liga-se via grupo amino da anilina no material biológico, à posição C-8 de resíduos da guanina tanto *in vitro* como *in vivo*. A estrutura da APNH foi determinada através da associação de técnicas espectroscópicas (TOTSUKA,; HADA, . *et al.*, 1998). Porém nenhuma determinação da estrutura cristalográfica usando difração de raio X foi encontrada na literatura.

Algumas questões podem ser levantadas, por exemplo: Qual é a relação entre a estrutura eletrônica e atividade mutagênica da APNH? Quais são as regiões moleculares da APNH mais eletronicamente ativas e que podem interagir com o material biológico? Qual é a geometria molecular da APNH? Quais são as diferenças nas propriedades eletrônica da norharmana, anilina e APNH? Para responder essas questões, iniciamos uma detalhada investigação das propriedades eletrônicas da reação que forma a APNH, estudando separadamente a norharmana, a anilina e o APNH, com a espectroscopia de absorção UV/Visível e cálculos teóricos. Os resultados experimentais foram interpretados com a ajuda de cálculos de mecânica quântica das energias de transição eletrônica.

1.2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 – NORHARMANA: *9H-pirido[3,4-b]indol (NH)*

Os alcalóides β -carbolinas inicialmente conhecidos por suas potentes ações psicoativas e alucinógenas, têm mostrado uma grande variedade de propriedades biológicas e farmacológicas, incluindo atividades antimicrobiais, antivirais, anticonvulsivas, hipnóticas, vasorelaxantes e antitumorais (CAO, *et al.*, 2007). São conhecidas também devido às suas propriedades fotofísicas, pela inibição de

monoaminoxidase (MAO), por estar presente na urina humana (co-mutagênico) e, devido às suas propriedades de emissão são usadas como padrões de fluorescência (BIONDIC, *et al.*, 1997; MALLICK, *et al.*, 2005).

A NH é muitas vezes denominada como a própria β -carbolina (Figura 2) devido à completa ausência de substituintes (BALON, *et al.*, 1993; OKAMOTO, *et al.*, 2005). É formada a partir da condensação do anel piridínico com um benzopirrol. O agrupamento das espécies é de forma planar, de modo que a estrutura resultante apresenta grupo pontual Cs. É encontrada nas formas neutra (NH) e monoprotionada (NH⁺), e a protonação acontece no Nitrogênio N da piridina (MARQUES, *et al.*, 2002). As propriedades espectroscópicas da NH têm sido estudadas devido à exposição do ser humano em várias situações, já citadas e por ser um inibidor da MAO (KATZUNG, 1994).

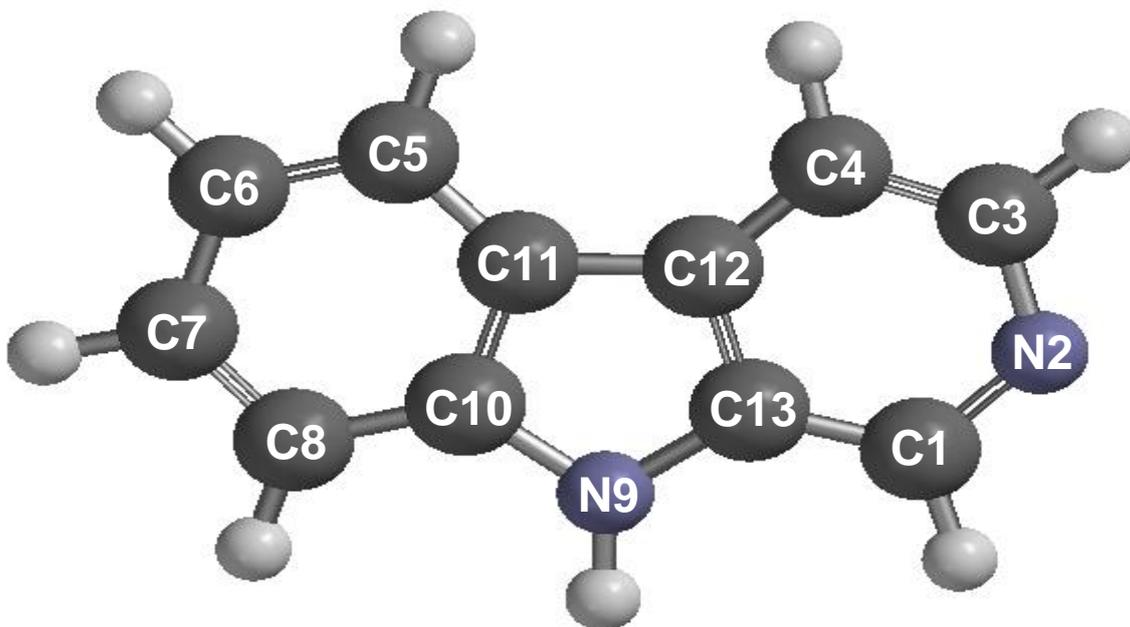


Figura 2 - Estrutura molecular da Norharmana (*9H-pirido[3,4-b]indol(NH)*).

1.2.2 - ANILINA

A anilina (Figura 3) é uma substância orgânica de fórmula molecular $C_6H_5NH_2$ (Figura 3). Foi obtido pela primeira vez em 1826 a partir de uma planta o índigo (*Indigofera suffruticosa*), uma espécie vegetal da família Fabaceae, também conhecida popularmente como anileira (SOUZA, 2008). Em seu estado puro, se apresenta como um líquido oleoso incolor, com odor característico, podendo se oxidar lentamente com a exposição à luz solar adquirindo tonalidade marrom-avermelhada (O'NEIL, 2006). É tóxica, possui temperatura de fusão $-6\text{ }^\circ\text{C}$, de ebulição $184\text{ }^\circ\text{C}$ e de inflamabilidade $76\text{ }^\circ\text{C}$. A anilina é parcialmente solúvel em água (36 g/L) e se dissolve facilmente na maior parte dos solventes orgânicos como, por exemplo, etanol, benzeno e clorofórmio. A anilina é considerada como provável carcinogênico em humano (KAHL, 2007).

As aminas aromáticas tais como a anilina são, em geral, bases muito mais fracas do que as aminas alifáticas correspondentes. Isso se deve à deslocalização do par de elétrons não ligante do nitrogênio através do sistema pi do anel benzênico (COSTA, *et al.*, 2005; SMITH e MARCH, 2001).

As reações químicas das quais a anilina pode participar constituem um campo muito vasto da síntese orgânica. Por exemplo, o forte efeito ativador do grupo amino para reações de substituição eletrofílica aromática facilita este tipo de reação, e ainda o seu efeito orientador quanto à posição de substituição no anel: *orto* e *para*, a tornam uma matéria-prima de ampla utilização. Destacam-se ainda reações de oxidação e diversas reações relacionadas não ao anel aromático, mas sim ao grupo amino (CAREY e SUNDBERG, 2000).

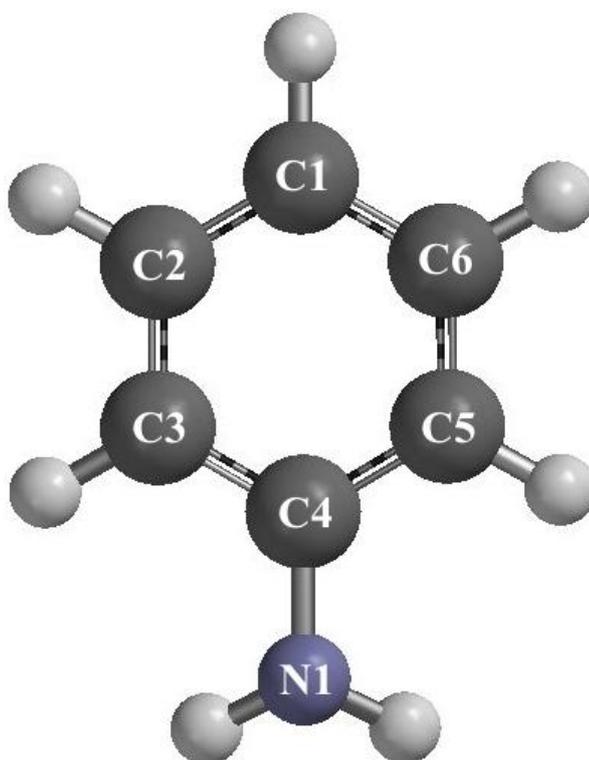


Figura 3: Estrutura molecular da Anilina

A anilina é ainda empregada na síntese de inúmeros outros compostos, destacando-se, por exemplo, os derivados quinolônicos que apresentam um vasto espectro de ação contra microorganismos. Embora as quinolonas sejam uma classe de substâncias muito conhecidas por seu perfil antibiótico, outras atividades biológicas são descritas na literatura, como antiparasitários, anti-isquêmicos, antitumorais e antivirais (GOULD e JACOBS, 1939).

A anilina pode ser tóxica, se ingerida, inalada ou por simples contato com a pele. Neste último caso, acarreta irritação da mesma e também dos olhos (O'NEIL, 2006).

A toxicidade da anilina é atribuída ao produto de sua *N*-oxidação. No fígado, a fenilhidroxilamina é produzida em pequenas quantidades por *N*-hidroxilação da

anilina, sendo captada pelos eritrócitos e extensivamente oxidada a nitrosobenzeno, com concomitante formação de metemoglobina (MENGOD, 2011).

Podem ocorrer efeitos deletérios da exposição à anilina sobre o sistema nervoso central em decorrência da diminuição da oxigenação do sangue, causando tontura, vertigem, sonolência, perda de memória e dificuldade respiratória. Não existem evidências que demonstrem com clareza a relação entre a exposição à anilina e a ocorrência de certos tipos de tumores no homem (MENGOD, 2011).

1.3 - AS BASES TEÓRICAS

1.3.1 - PROPRIEDADES ESPECTROSCÓPICAS

A absorção ou emissão da radiação eletromagnética pelos átomos ou moléculas componentes de um sistema pode ser utilizada para se obter informações sobre a disposição dos níveis de energia existentes e os processos envolvidos na relaxação de seu estado fundamental. Nas seções a seguir serão descritos os tipos de fenômenos analisados, a instrumentação utilizada em cada caso e os resultados obtidos, ressaltando-se as investigações das transições eletrônicas envolvidas no processo de absorção de energia.

1.3.1.1 - ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO U.V. VISÍVEL

Quando uma molécula é exposta à radiação eletromagnética de frequência na região do ultravioleta ou visível pode ocorrer uma transição eletrônica, na qual a molécula absorve certa quantidade de energia e um dos seus elétrons é excitado do

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

1.3.1.2 - O DIAGRAMA DE JABLONSKI E OS CAMINHOS DA ENERGIA EM MOLÉCULAS EXCITADAS ELETRONICAMENTE

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

Adotaremos a seguinte convenção para descrever as transições eletrônicas:

i) As transições eletrônicas entre os diferentes estados de energia serão representadas por símbolos: à esquerda ficará o estado de maior energia e à direita, o de menor energia, por exemplo: $S_1 \leftarrow S_0$, $S_2 \leftarrow S_0$ representam eventos de absorção de energia.

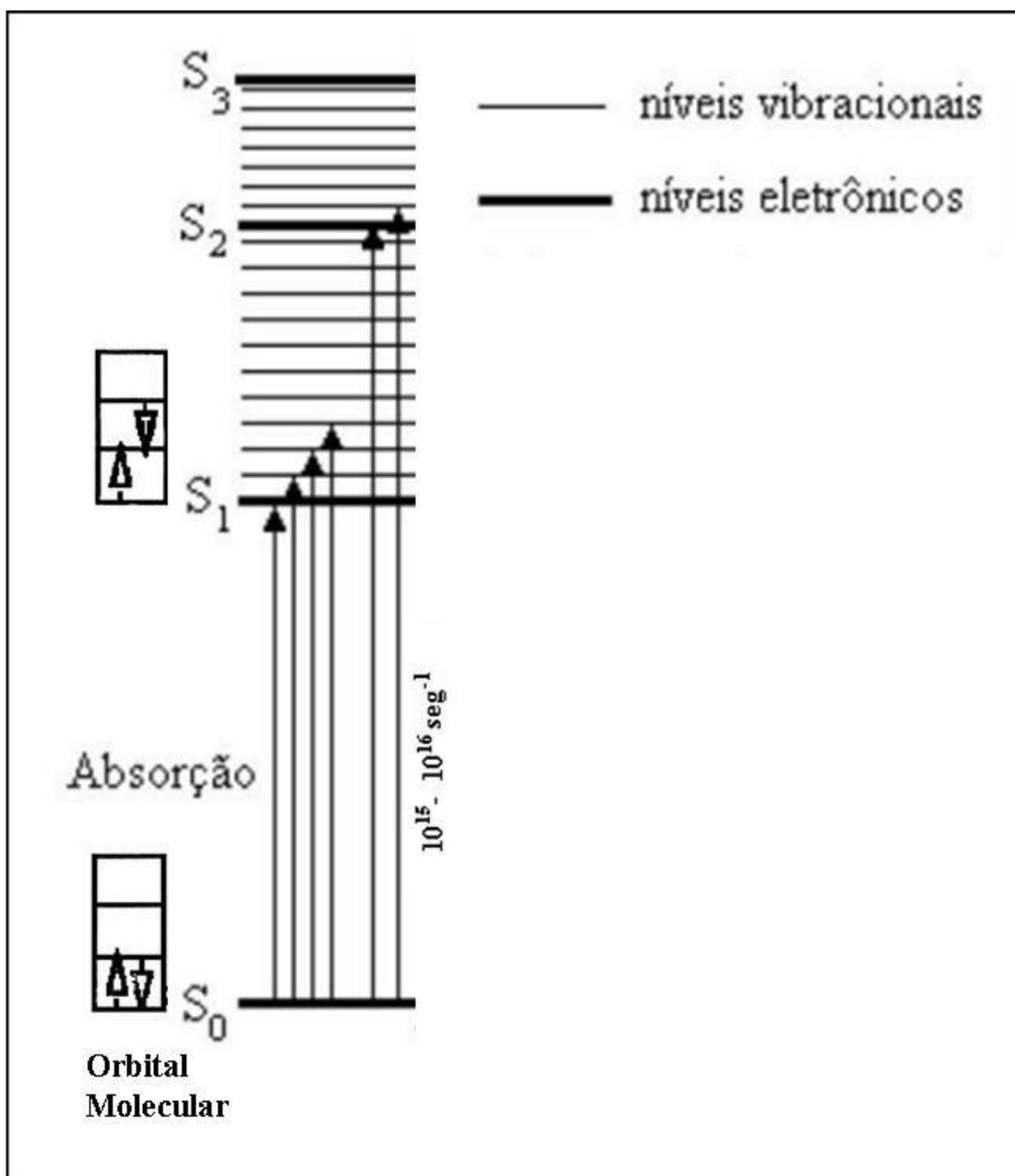


Figura 4 – Níveis de energia para as transições eletrônicas.

1.3.2 - AS TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS DE SISTEMAS MOLECULARES

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

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

1.3.2.1 - AS TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS $\sigma \rightarrow \sigma^*$

O orbital (σ) consiste em um par de elétrons que forma uma simples e simétrica ligação ao longo do eixo entre dois átomos, neste orbital está concentrada a densidade eletrônica (Figura 5). Através da absorção de um fóton, em um comprimento de onda de aproximadamente 200 nm, um elétron do par de elétrons que participa desta ligação é promovido para o orbital σ^* , onde existe um nó em um plano perpendicular ao eixo da ligação. Desta forma a transição ($\sigma \rightarrow \sigma^*$) produz uma função de onda composta de duas partes: um orbital ligante e outro antiligante.

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

1.3.2.2 - AS TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS $\pi \rightarrow \pi^*$

Um sistema eletrônico com orbitais pi (π), dos derivados do etileno, está representado na Figura 5, onde um par de elétrons forma uma ligação simples originando um orbital σ (não mostrado). Outro par de elétrons ocupa um orbital π , o qual é de maior energia e é antissimétrico com respeito ao nó que corta o plano dos grupos R. Devido à absorção do fóton, um dos dois elétrons π é excitado para o orbital de maior energia π^* , onde outro plano nodal é produzido. A densidade de carga zero neste nó está posicionada em ângulo reto na direção da ligação. Uma vez que os derivados insaturados do etileno não possuem átomos com pares de elétrons livres (O, N, S), o estado eletrônico de menor energia será de natureza $\pi \rightarrow \pi^*$.

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

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

1.3.2.3 - AS TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS $n \rightarrow \pi^*$

Na figura 5, os derivados dos compostos carbonílicos representam um sistema molecular insaturado contendo átomos com pares de elétrons livres (O, N, S). Além disso, na carbonila estão presentes vários elétrons que ocupam diferentes orbitais moleculares, que consistem em um par de elétrons ocupando um orbital σ , outro par de elétrons ocupando um orbital π da ligação dupla e dois pares de elétrons não compartilhados no oxigênio. Um desses elétrons pertencentes aos pares não compartilhados pode ser excitado para um orbital π^* vazio do grupo carbonila, resultando assim numa transição $n \rightarrow \pi^*$ com energias de absorções típicas, que são aproximadamente iguais a 4 eV (290 nm) (ATKINS, 1994; ATKINS e PAULA, 2002). As transições $n \rightarrow \pi^*$ nos grupos carbonílicos são simetricamente proibidas (regras de seleção) e as absorções são fracas (força do oscilador (f), em torno de 2×10^{-4} a 6×10^{-4}).

As transições n, π^* são, geralmente, transições singlete-singlete de menor energia e produzem emissão de fluorescência. Além disso, as energias das transições n, π^* são bem menos freqüentes do que as das transições π, π^* . O tempo de vida da fluorescência do estado excitado n, π^* é comparativamente mais longo e

sensível a desativação não radiativa do que o estado excitado π, π^* . Entretanto a emissão de fluorescência para o estado excitado π, π^* é mais fraca.

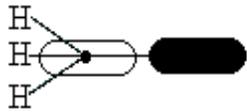
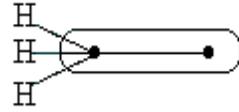
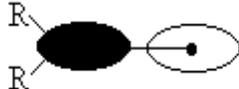
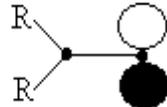
<u>Tipos de ligação</u>	<u>Transições de menor energia</u>	<u>Forma do orbital</u>	
		<u>estado excitado</u>	<u>estado fundamental</u>
$\text{H}_3\text{C-H}$	$\sigma \rightarrow \sigma^*$		
$\text{R}_2\text{C}=\text{CR}_2$	$\pi \rightarrow \pi^*$		
$\text{R}_2\text{C}=\text{O}$	$n \rightarrow \pi^*$		

Figura 5 - Os tipos de orbitais moleculares e as transições eletrônicas.

1.3.3 - O EFEITO DO SOLVENTE NOS ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VISIVEL

Alguns estudos sobre o efeito do solvente mostraram deslocamentos anômalos para menores comprimentos de ondas, que ocorriam nas bandas de absorção de certas moléculas insaturadas, quando se mudava o solvente de baixa constante dielétrica para um de alta constante, ou seja, quando se fazia a troca de um solvente apolar para um polar (SCHEIBE *et al.*, 1926; SCHEIBE *et al.*, 1927; KOHN e SHAM, 1965). BURAWOY (1939; 1941; 1958) verificou que as cetonas, aldeídos, tiocetonas e compostos nitrogenados, mostraram uma banda de absorção fraca, que se deslocava para menores comprimentos de onda quando mudava-se o solvente de n-hexano para etanol. Esse deslocamento para o azul foi posteriormente associado definitivamente aos compostos contendo carbonila, tiocarbonila e nitrogênio. Em seguida essas bandas de absorção foram reconhecidas por Kasha (1950) e Platt (1961) como sendo, geralmente, originárias das transições singlete (n, π^*). Como consequência, o fenômeno do deslocamento para o azul foi usado para caracterizar as transições n, π^* e distingui-las das transições π, π^* .

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

a um solvente polar, e observou-se que a energia de solvatação para o estado fundamental é maior que para o estado excitado.

Brealey e Kasha (1955), concluíram a importância da ponte de hidrogênio entre soluto e solvente, com relação ao deslocamento para o azul. Eles justificaram que a causa do deslocamento para o azul, quando se mudava o solvente de hidrocarboneto para um solvente hidroxilado, seria a ponte de hidrogênio, que ocorria via orbital n do soluto, comprovado experimentalmente. A ponte de hidrogênio estabiliza mais o estado fundamental do que o estado excitado e como resultado, a excitação envolvendo a remoção de um dos elétrons ligados pela ponte, necessitará de mais energia (deslocamento para o azul) do que se o soluto estivesse em meio apolar.

1.3.4 - AS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO

A ligação de hidrogênio é um dos fenômenos bastante conhecidos na área de físico-química, pois é um fator decisivo para um número enorme de processos físicos, químicos e bioquímicos. A presença constante da ligação do hidrogênio em sistemas químicos e biológicos a torna um dos tópicos mais ativos da pesquisa na ciência contemporânea da química computacional ou da física molecular. Muito já foi aprendido sobre suas propriedades fundamentais da perspectiva experimental e teórica (SCHEINER, 1997; JEFFREY, 1997; GILLI *et al.*, 1996; RAMAEKERS *et al.*, 2004; CHAUDHURI *et al.*, 2004). Entretanto, há muito que aprender, especialmente com respeito ao assunto da participação da ligação de hidrogênio nos processos dinâmicos biológicos, formação da estrutura macro-biomolecular, estabilidade e manutenção da interação eletrostática entre as moléculas. Interessante é que a

compreensão das ligações de hidrogênio e de suas implicações no nível molecular é de grande interesse em física, química e biologia não somente devido à grande variedade de situações em que estas interações encontram-se presentes, mas também devido a vários tipos de ligações existentes na natureza. De acordo com o conceito convencional de ligação do hidrogênio (PAULING, 1960), uma ligação de hidrogênio se forma quando duas moléculas atraem-se devido à diferença de eletronegatividade existente entre elas formando um sistema $X - H \cdots Y$, onde X e Y são átomos usualmente eletronegativos tais como Nitrogênio (N), Oxigênio (O), Flúor (F), $X - H$ é caracterizada por uma atração de cargas. A atração sofrida pelos dois sítios faz com que as moléculas se aproximem de modo que os elétrons da molécula sejam atraídos na direção do hidrogênio da molécula. A ligação de hidrogênio tem um papel importante na estabilidade das moléculas biológicas (HE, *et al.*, 2005).

1.4 - O PROGRAMA SPARTAN `06

É um software que agrupa um conjunto de métodos de cálculos (Figura 6) que proporcionam um alcance bem definido de aproximação computacional usando a Teoria de Orbitais Moleculares (TOM). SPARTAN é usado para cálculos com moléculas orgânicas e estudo de suas conformações. Tem se mostrado uma ferramenta útil e rápida para análise conformacional de moléculas, não havendo limite de átomo para cálculos de orbitais moleculares. Uma série de opções foi parametrizada para reproduzir geometrias e conformação de moléculas orgânicas e biopolímeros. Para a realização dos trabalhos foi utilizada a versão SPARTAN 06 (Wavefunction, 2006).

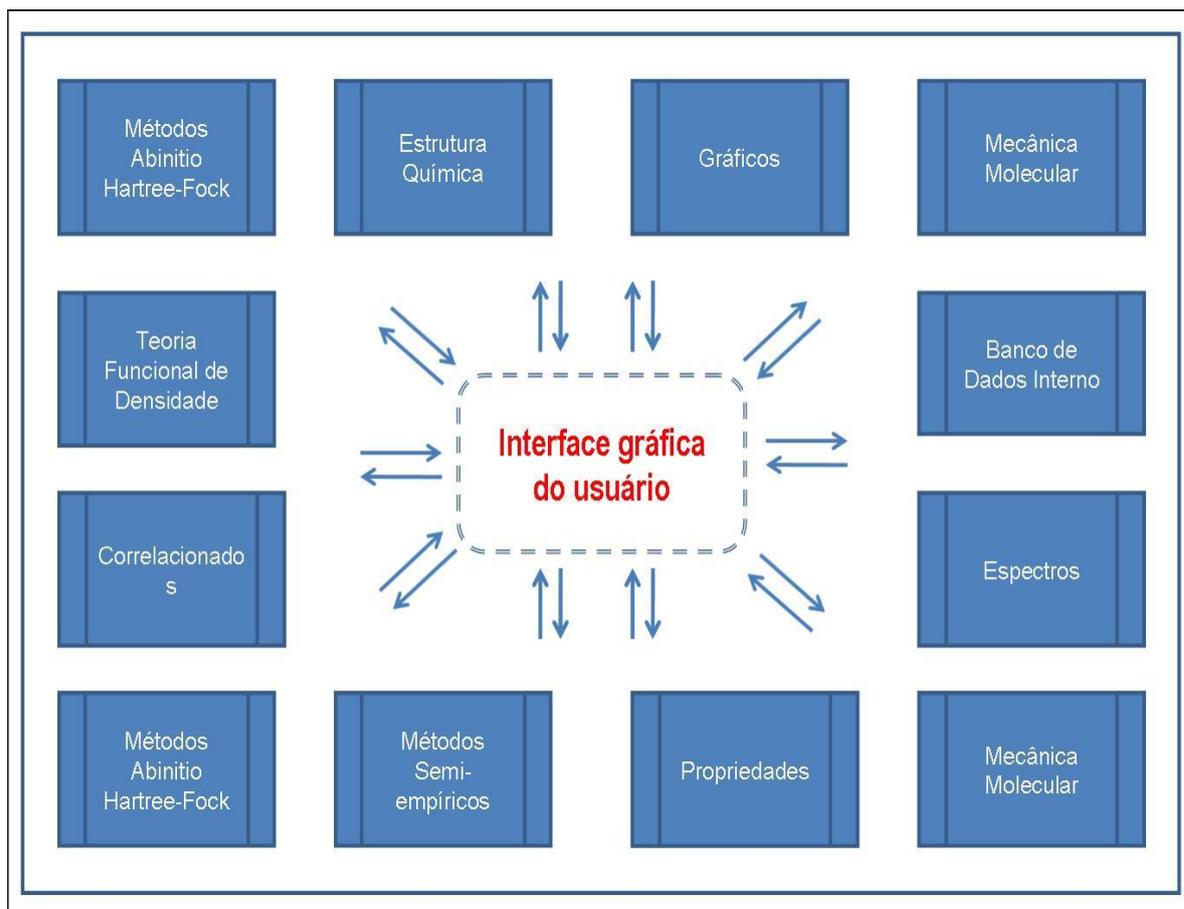


Figura 6 - Esquema ilustrativo das atividades que são permitidas com a utilização do programa SPARTAN `06.

1.5 - MÉTODOS DE ORBITAIS MOLECULARES

Nos métodos computacionais baseados na Teoria do Orbital Molecular (TOM), os elétrons são distribuídos em volta do núcleo atômico até atingirem um estado de campo autoconsistente onde as forças atrativas e repulsivas entre as partículas (elétrons e núcleo) estejam num estado de equilíbrio, e a energia seja tão baixa quanto possível. A energia pode ser computadorizada para diferentes configurações nucleares (geometrias moleculares), permitindo o processo chamado de otimização geométrica (SCHLEYER, 1986). Existem três implementações da

TOM: métodos Semi-empírico, Abinitio e Teoria do Funcional da Densidade (TFD). Os métodos Semi-empíricos empregam parâmetros determinados empiricamente e são assim menos aproximados do que os métodos puramente teóricos, mesmo sendo bastante rápidos e precisos para aplicações em rotinas de sistemas moleculares maiores. Alguns são parametrizados para mais de cem átomos e os resultados apresentam boa concordância com os resultados experimentais; os denominados Abinitio são métodos que resolvem a equação de Schrödinger sem excluir nenhum elétron das camadas internas e de valência. O método Abinitio não inclui nenhum parâmetro determinado empiricamente, pode-se dizer que ele é teoricamente puro, contudo, é dispendioso quando se refere à memória e ao tempo exigido nos cálculos, sendo, aplicado a sistemas moleculares pequenos; a Teoria do Funcional da Densidade (TFD), além de possibilitar calcular as energias de excitação, de equilíbrio, de geometrias, de estado de transição e frequências, fornece as cargas atômicas baseadas em ajustes para potenciais eletrostáticos, propriedades termodinâmicas como entalpia, entropia, energias de orbitais HOMO e LUMO, espectros, dentre outras funções.

1.5.1 - MÉTODOS SEMI-EMPÍRICOS

Os métodos Semi-empíricos mais empregados consideram que os elétrons de valência movem-se no potencial gerado pelos núcleos e elétrons das camadas internas (aproximação do caroço). Estes métodos utilizam uma base mínima formada por funções de Slater para descrever os orbitais de valência. Desprezam muitas integrais surgidas no cálculo e empregam parâmetros determinados empiricamente para substituir muita das integrais que não foram desprezadas. O

aspecto destas simplificações, geralmente, aparece na limitação dos Semi-empíricos em prever quantitativamente determinadas propriedades moleculares de interesse. Usar um ou outro método depende da natureza e da precisão desejadas da propriedade molecular de interesse, e das facilidades computacionais disponíveis (memória RAM, espaço em disco e velocidade da CPU).

Os Semi-empíricos mais populares se baseiam na aproximação NDDO (Neglect of Differential Diatomic Overlap) (POPLE *et al.*, 1965). O primeiro de uma série foi o MNDO (Modified Neglect of Diatomic Overlap) (DEWAR, *et al.*, 1985). Este se mostrou significativamente melhor que os Semi-empíricos antecedentes, no entanto, ele apresenta várias deficiências, em particular, reproduz muito mal as propriedades relacionadas com ligação de hidrogênio, prevê uma energia muito instável para moléculas com impedimento estérico e costuma superestimar a energia de ativação.

Um grande esforço foi dedicado na busca de métodos para a introdução de parâmetros empíricos ou previamente calculados na resolução da equação de Schrödinger que permitissem a eliminação do cálculo de algumas dessas integrais (POPLE *et al.*, 1965; POPLE *et al.*, 1993). Os cálculos semi-empíricos são os mais simples, úteis para cálculos de equilíbrio, estrutura de estado de energia de transição e entalpia de formação (ΔH_{f0}).

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

1.5.1.1 - MÉTODOS SEMI-EMPÍRICOS AM1, PM3 E RM1 DO SPARTAN 06

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

O método PM3 (Parameterized Model 3) (STEWART, 1989) é um método Semi-empírico para o cálculo do quantum da estrutura eletrônica molecular em química computacional. É baseado na aproximação NDDO, integral de aproximação (POPLE e BEVERIDGE, 1970). O PM3 usa o mesmo formalismo e equações como do AM1. As diferenças são: 1) PM3 usa duas funções gaussianas para a função de repulsão do núcleo, em vez do número variável utilizada por AM1 (que utiliza entre um e quatro gaussianas por elemento); 2) os valores numéricos dos parâmetros são diferentes. As outras diferenças encontram-se na filosofia e metodologia utilizadas durante a parametrização. Enquanto o AM1 usa alguns dos valores dos parâmetros obtidos a partir de medições espectroscópicas, no PM3 são tratados como valores otimizáveis. PM3 é implementado no programa MOPAC (as versões mais antigas são de domínio público).

O Método RM1 (Recife Model 1) (ROCHA, *et al.*, 2006) é uma reparametrização do AM1 usando uma formação muito maior de conjunto de

moléculas que era provisionalmente praticada. Para os elementos H, C, N, O, F, P, S, Cl, Br e I, os rendimentos do RM1 apresentam um erro médio absoluto menor do que qualquer dos métodos AM1 e PM3 para comprimentos de ligação, calor de formação, momentos dipolo e os potenciais de ionização (comparações com MNDO não foram fornecidos). Apenas o erro médio absoluto para os ângulos de ligação era, ligeiramente, maior do que para AM1 (muito menor do que para PM3).

Numa perspectiva de obter um método de cálculo com boa exatidão, Rocha e colaboradores desenvolveram o *Recife Model 1* (FREIRE, 2006). Diante do aumento no número de publicações de estudos de moléculas de importância para a química orgânica, bioquímica e pesquisas farmacêuticas, o RM1 foi parametrizado para todos os elementos envolvidos no meio biológico, tais como, H, C, N, O, P, S e os halogênios F, Cl, Br e I. Na verdade, o RM1 é uma reparametrização muito mais elaborada do AM1 para esses átomos, sendo mais exato que o próprio AM1 e o PM3. O RM1 está adicionado ao sistema de orbitais moleculares Semi-empíricos com procedimentos disponíveis no SPARTAN.

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

1.5.2 - O MÉTODO *ab initio* INSTALADO NO SPARTAN 06

O método *ab initio*, dentre outras utilidades é aplicado para otimização, para prever estrutura, energia e outras propriedades, em particular para moléculas orgânicas. Os programas *ab initio* não incluem aproximações e representam os

orbitais através dos chamados conjuntos de base (CRAMER, 2002; WIEST e SCHLEYER, 1998). Um conjunto de base mínimo contém apenas um número de funções necessário para acomodar todos os elétrons de um átomo, por exemplo, uma função 1s para os átomos de hidrogênio e hélio, funções 1s e 2s para o lítio e o berílio e assim por diante. O maior problema do conjunto de base mínimo é a impossibilidade de se expandir ou contrair os orbitais para que se ajustem ao ambiente molecular.

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

Os conjuntos de bases contendo funções difusas representam melhores sistemas aniônicos e estados excitados. Estes conjuntos são obtidos pela adição de orbitais s e p muito difusos para melhorar a descrição de pares de elétrons de alta energia. Há programas gratuitos que permitem cálculos *ab initio* com essas e outras funções de base, como o Gamess12 ou Gaussian.

O método *ab initio* mais simples baseia-se na aproximação Hartree-Fock, o operador hamiltoniano. A energia total de um sistema qualquer, pode ser separada em duas partes: a primeira de natureza eletrônica, enquanto que a segunda é de natureza nuclear.

1.5.2.1- FUNÇÕES DE BASES

Dois tipos de funções de base têm sido amplamente utilizadas. Orbitais atômicos do tipo Slater (STO), embora forneçam representações razoáveis de orbitais atômicos, são de difícil trato matemático. Por outro lado, as funções atômicas do tipo Gaussiano vêm substituindo amplamente os orbitais de Slater. Compensando o fato de uma única função Gaussiana não fornecer uma boa representação de um orbital atômico, este tipo de função é fácil de manusear porque o produto de duas Gaussianas é outra Gaussiana: combinações de Gaussianas podem ser usadas para fazer boas aproximações a orbitais atômicos (CRAMER, 2002; WIEST e SCHLEYER, 1998).

Alguns conjuntos de base Gaussiana simples imitam orbitais atômicos tipos Slater. Por exemplo: STO-3G é um conjunto de base que usa três funções Gaussianas para formar cada orbital do tipo Slater. Este é um modelo um pouco mais simples que o STO-4G que usa quatro Gaussianas e assim é provável fornecer energias ligeiramente maiores para qualquer sistema (CRAMER, 2002).

Conjunto de bases para valências divididas são geralmente designadas como $a-bcG$, onde cada letra corresponde ao número de funções Gaussianas usadas em cada parte do modelo: a para descrever o orbital da(s) camada(s) interna(s), b e c compreendem os dois orbitais tipo Slater (STO), necessários para descrever o orbital atômico de valência. Maior esse número, mais preciso o conjunto de base é, embora maior seja o tempo requerido para completar o cálculo. 3-21G é o conjunto de base pequeno freqüentemente usado. O conjunto 6-31G produz melhores respostas, se o tempo computacional ainda é aceitável (WIEST e SCHLEYER, 1998).

Estes conjuntos de bases não levam em conta a polarização de orbitais, cuja representação pode ser adicionada às bases e é usualmente designada por asteriscos. Assim 6-31G* significa o uso de funções de polarização para os átomos sem hidrogênio e 6-31G** para todos os átomos. Cálculos envolvendo ânions podem requerer o uso adicional de funções difusas (conjunto de bases ligeiramente modificadas que levam em conta o efeito dos elétrons livres nos ânions), que são indicadas pelo sinal +. Desta forma, 6-31+G* inclui tanto funções de polarização quanto funções difusas (CRAMER, 2002).

1.5.3 - O MÉTODO TEORIA FUNCIONAL DA DENSIDADE INSTALADO NO SPARTAN 06

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

No início, a TFD poderia ser empregada para calcular apenas as energias do estado fundamental de átomos e moléculas (PARR e YANG, 1989). Mais recentemente, energia de estados excitados de sistemas pode ser calculada pelo método TFD dependendo de tempo (TFDDT; Time-Dependent Density Functional Theory) (CASIDA e CHONG, 1995). TFDDT ampliou a aplicabilidade de TFD em investigar maior variedade de fenômenos, especialmente contribuindo para a espectroscopia ótica. Desenvolvimento recente de programas computacionais para

cálculos TFD facilitou para os químicos a obtenção de informações valiosas de espectro óptico de moléculas e sólidos, além de aspecto vibracional, rotacional, ressonância magnética, ressonância nuclear magnética (LIU, *et al.*, 2004). Assim, as propriedades de um sistema de muitos elétrons podem ser determinadas usando-se funcionais, funções de outra função, a qual neste caso é a espacialmente dependente densidade eletrônica. Por isso o nome Teoria Funcional da Densidade advém do uso de funcionais da densidade eletrônica (BECKE, 1993). A TFD está entre os mais populares e versáteis métodos disponíveis em física da matéria condensada, física computacional, e química computacional (KOCH e HOLTHAUSEN, 2002).

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

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

Atualmente, um dos modelos mais utilizados é o modelo funcional de troca híbrido de três parâmetros (BECKE, 1993) e do funcional de

correlação (B3LYP) (LEE *et al.*, 1988), devido à qualidade dos seus resultados, particularmente para moléculas orgânicas.

Em muitos casos os resultados de cálculos em TFD para sistemas de estado sólido concordam satisfatoriamente com dados experimentais. Além disto, os custos computacionais são relativamente baixos quando comparados a métodos tradicionais, os quais são baseados sobre as complicadas funções de onda de muitos elétrons, tais como a teoria de Hartree-Fock e seus descendentes. Apesar das melhorias em TFD, existem ainda dificuldades em usá-lo para adequadamente descrever interações intermoleculares, especialmente, a dispersão de forças de van der Waals; excitações de transferência de cargas; estados de transição; energia potencial global de superfícies e alguns outros sistemas fortemente correlacionados (STEPHENS *et al.*, 1994). Este pobre tratamento da dispersão torna a TFD imprópria (pelo menos quando usada sozinha) para tratamento de sistemas os quais são dominados por dispersão (átomos de gás nobre interagindo) ou onde a dispersão compete significativamente com outros efeitos (em biomoléculas).

2 - OBJETIVOS

2.1 GERAL

Fazer um estudo espectroscópico experimental e teórico das moléculas aminofenilnorharmana – APNH, Norharmana e anilina.

2.2 ESPECÍFICO

- Aplicar os métodos semi-empíricos (RM1 e AM1) e *ab initio* - Hartree-Fock (RHF);
- Aplicar o método da Teoria Funcional da Densidade (TFD);
- Entender como é formada a APNH, a partir da norharmana e anilina a nível molecular;
- Determinar a geometria da APNH;
- Identificar os sítios ativos da APNH;

3 - METODOLOGIA

3.1 MOLÉCULAS UTILIZADAS NO TRABALHO

3.1.1 NORHARMANA (NH) E ANILINA

Procedimentos experimentais: A norharmana base livre e anilina foram compradas da Sigma Company (St. Louis, MO), o etanol desidratado proof 200 absoluto, foi adquirido da Sigma-Aldrich Company. Os espectros de absorção foram gravados em um espectrofotômetro de absorção UV/Visível Cirrus 80 ST, FEMTO Industria e Comercio de Instrumentos LTDA. Os espectros da norharmana e anilina foram obtidos de amostras frescas dissolvidas em etanol na concentração 1×10^{-4} M.

3.2 A ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO

Os espectros de absorção UV/Visível da NH e anilina foram obtidos em um espectrofotômetro CIRRUS 80ST, FEMTO Indústria e Comercio de Instrumento Ltda, utilizando o sistema espectroscópico mostrado na Figura 7. Os espectros foram obtidos a partir de soluções frescas, seguindo o seguinte procedimento:

Tabela 1: soluções preparadas

Moléculas	Amostras Sem Ultrasson	Amostras Com Ultrasson
Norharmana	10^{-3} M	10^{-3} M
	10^{-4} M	10^{-4} M
Anilina	10^{-3} M	10^{-3} M
	10^{-4} M	10^{-4} M

Foram preparadas quatro amostras de soluções de norharmana em etanol em duas concentrações diferentes 10^{-3} M e 10^{-4} M, onde foram preparadas usando o equipamento Branson Ultrasonic (ultrasson) para agitar as soluções em todo o processo. Outras duas amostras nas respectivas concentrações foram preparadas sem o ultrasson Tabela 1.

Para a amostra da Anilina foi feito o mesmo procedimento descrito anteriormente.

O sistema de leitura da amostra e branco simultâneo permite iniciar um trabalho com alta estabilidade logo após ligar o aparelho. Espectrofotômetro UV-VIS 190 a 1.100 nm, duplo-feixe com cubeta de amostra e referência simultâneo, com impressora gráfica incorporada. Leituras cinéticas de enzimas envolvendo volumes de amostra e substratos reduzidos, 50 μ L para percurso óptico de 10 mm Figura 7.

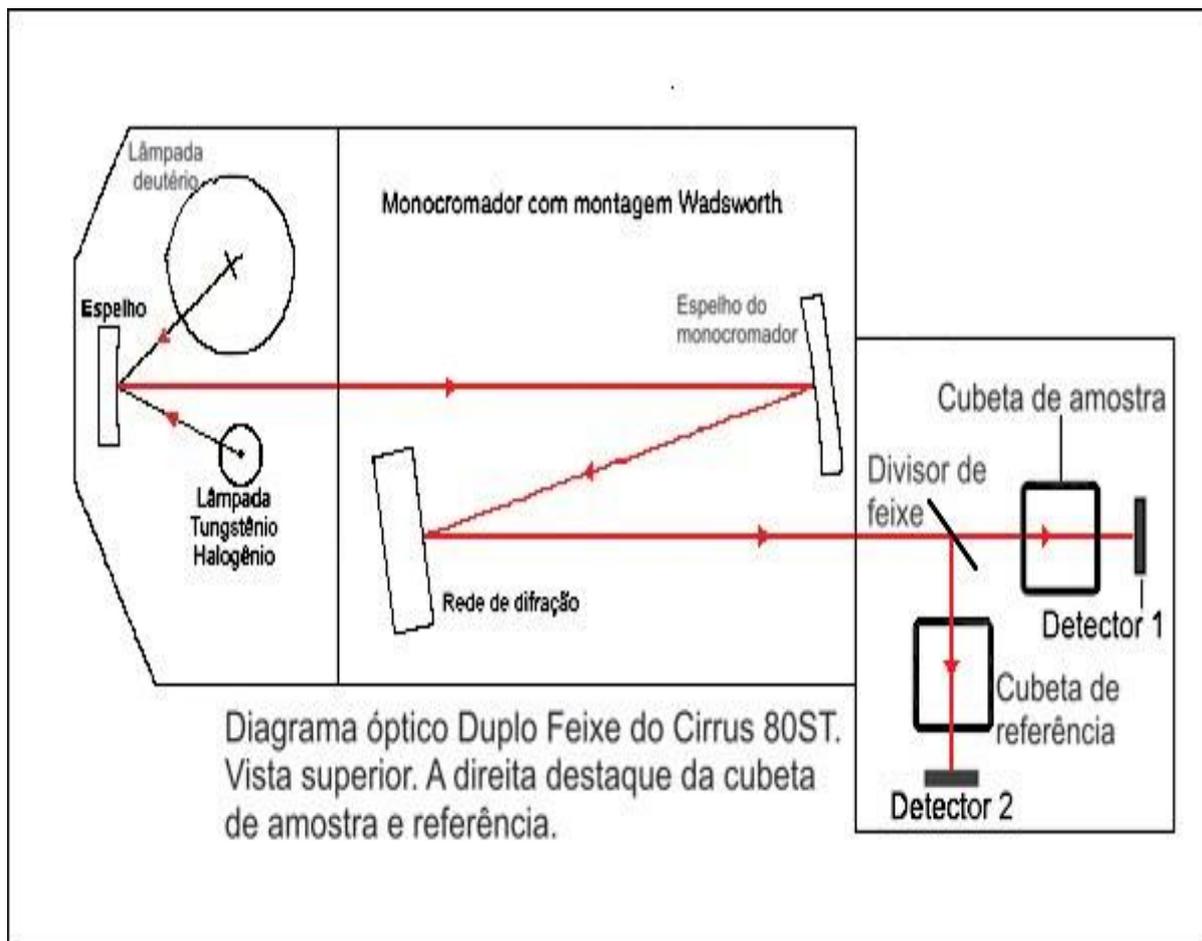


Figura 7: Esquema do sistema de espectroscopia do espectrofotômetro CIRRUS 80ST

3.3 - OS MÉTODOS DE ORBITAIS MOLECULARES

3.3.1 O CÁLCULO *AB INÍCIO* NO PROGRAMA SPARTAN 06

Com o aumento da capacidade computacional, o uso de métodos *ab initio* tem crescido a cada dia e auxiliado na investigação, em nível molecular, de diversos fenômenos da química. Para o estudo de mecanismos de reação, estes métodos se apresentam como uma ferramenta extremamente útil, uma vez que é possível utilizá-

los, tanto para estimar propriedades cinéticas e termodinâmicas, quanto na investigação da estrutura e reatividade de possíveis intermediários reacionais e estados de transição.

Os métodos *ab initio* (do latim “do início”) se propõem a predizer as propriedades de sistemas atômicos e moleculares usando, para isso, somente as leis fundamentais da mecânica quântica e algumas constantes físicas universais, tais como massa e carga do elétron, constante de Planck, dentre outras.

O método *ab initio* faz parte do programa SPARTAN 06 (WAVEFUNCTION, 2006; CRAMER, C. 2002; WIEST, O.; SCHLEYER, P. R., 1998), instalado num computador modelo ASUS TEK, Intel Pentium (R), CPU 3,37 GB de memória RAM. Na interface principal do programa SPARTAN é feita a construção molecular das espécies da NH, anilina e APNH de acordo com a literatura. Selecionando as opções: Hartree-Fock, função de base 6-31G*, o cálculo *ab initio* é processado para promover a otimização da geometria molecular da norharmana, anilina e da APNH.

3.3.2 O CÁLCULO TFD NO PROGRAMA SPARTAN 06

Após a otimização das estruturas moleculares, foram calculadas as energias de excitação (singlete) e as forças do oscilador (f-valor), utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (TFD) (HOHENBERG, P.; KOHN, W., 1986; 2004; PARR, R. G.; YANG, W., 1986), e Dependente do Tempo (TFDDT) (CASIDA, M.E.; CHONG, D.P., 1995.) com funcional B3LYP (Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr) (LIU, T. *et al.*, 2004; BECKE, A.D., 1993; KOCH, W.; HOLTHAUSEN, M.C., 2202; LEVINE, I. N., 2000; LEE, C., *et al.*, 1988), e função de base 6-31G*

(STEPHENS, P., *et al.*, 1994; TURRO, N.J., 1978; WELLS, C.H.J., 1972), e foram calculados também os orbitais HOMO e LUMO.

Os dados extraídos dos resultados dos cálculos gerados pelo Spartan foram organizados em tabela e selecionaram-se os valores de energia (eV – Elétron -volt;) e força do oscilador (f-valor) que foram tratados no Excel para conversão das energias de elétron –volt para comprimento de onda, aplicando os comandos de execução em documento no bloco de notas e usando software específico RSP e SPECTRUM (SOPER, P D., 1997), organizou-se a escala e os espectros foram gerados utilizando o software ORIGIN 08 (ORIGINLAB, 2007).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ESTRUTURA MOLECULAR E CARGAS ATÔMICAS

As estruturas moleculares da NH (THATCHER, 2001) e anilina já são conhecidas. A NH é planar e cálculos *ab initio* RHF/6-31G* feitos com anilina mostraram que ela tem um grupo amino piramidal, com um ângulo de $42,3^{\circ}$ entre a ligação C-N e o plano NH₂ e que o ângulo entre a ligação C-N e o plano do anel benzeno é $2,0^{\circ}$ (WANG, 1993). Foi feita a determinação estrutural da APNH (TOTSUKA, 1998), mas a elucidação de sua geometria molecular não foi encontrada na literatura, e aqui foi obtida através de cálculo com o método *ab initio* RHF/6-31G*. O resultado mostrou que a APNH não é planar, isto é; considerando a parte NH da APNH no plano, tendo como base o ângulo diedro formado pelos átomos C₁₃N₉C₁₄C₁₅, a anilina da APNH está $88,77^{\circ}$ fora do plano e considerando o diedro C₁₉C₁₄N₉C₁₀, ela está $89,02^{\circ}$ fora do plano (figura 8).

Foi usado também os métodos semi-empíricos AM1 e RM1 para calcular o ângulo diedro da APNH, com esses resultados foram comparados com os cálculos feitos pelo método *ab initio* RHF/6-31G* e calculado o erro. Com os resultados dos cálculos usando AM1 verificou-se que o ângulo diedro formado pelos átomos C₁₃N₉C₁₄C₁₅, a anilina da APNH está $87,97^{\circ}$ fora do plano analisando e comparando esse resultado com os do *ab initio* verificou um erro de 0,8 (figura 8), e também verificou-se o diedro nos átomos C₁₉C₁₄N₉C₁₀, que está $88,28^{\circ}$ fora do plano analisando e comparando esse resultado com os do *ab initio* verificou um erro de 0,74 (figura 8). Com os resultados dos cálculos usando RM1 verificou-se que o ângulo diedro formado pelos átomos C₁₃N₉C₁₄C₁₅, a anilina da APNH está $87,69^{\circ}$

fora do plano analisando e comparando esse resultado com os do *ab initio* verificou um erro de 1,08 (figura 8), e também verificou-se o diedro nos átomos C₁₉C₁₄N₉C₁₀, que está 88,06° analisando e comparando esse resultado com os do *ab initio* verificou um erro de 0,96 (figura 8).

As energias de otimização calculadas com o método *ab initio* RHF/6-31G*, das três moléculas são: anilina = -75,02 x 10⁴; NH = -139,83 x 10⁴ e APNH = -213,98 KJ/mol. Os momentos dipolares calculados para as três moléculas são: 1,538; 2,972 e 4,919 Debye, respectivamente.

As cargas atômicas calculadas para a anilina, NH e APNH, estão na tabela 2, comparando as cargas atômicas da anilina e NH, com as cargas do mutagênico APNH, verifica-se que o valor da carga negativa aumenta na parte da APNH relacionada com a anilina nos átomos C₁₄, C₁₆, C₁₈ e C₂₀ e nos átomos C₁₅, C₁₇ e C₁₉ essas cargas diminuíram, sendo que apenas no átomo C₁₄, o sinal muda de - 0.259996 → + 0.474258, o que pode ser a força diretora para a formação da ligação entre o N₉ do pirrol com o C₁₄ do benzeno da anilina, que produz a APNH. Na parte da APNH relacionada com a NH ocorre uma diminuição nos valores das cargas negativas nos átomos N₂, C₆ e C₁₁ e um aumento nos valores das cargas negativas nos átomos C₄, C₅, C₈ e N₉. Nos átomos C₁, C₇, C₃ e C₁₀ as cargas positivas aumentam e nos átomos, C₁₂ e C₁₃ as cargas positivas diminuem. Na APNH as maiores cargas negativas estão nos átomos N₂₀ (-0,932710), N₂ (-0,604661) e N₉ (-0,507820) e esses são os sítios do APNH mais favoráveis as interações intermoleculares, essa distribuição de cargas negativas pode ser a força diretora para a formação do aduto entre o APNH e o DNA, *in vitro* e *in vivo* via resíduo da guanina, com uma interação envolvendo o N₂₀ da APNH e o C₈ da guanina (TOTSUKA, 2002).

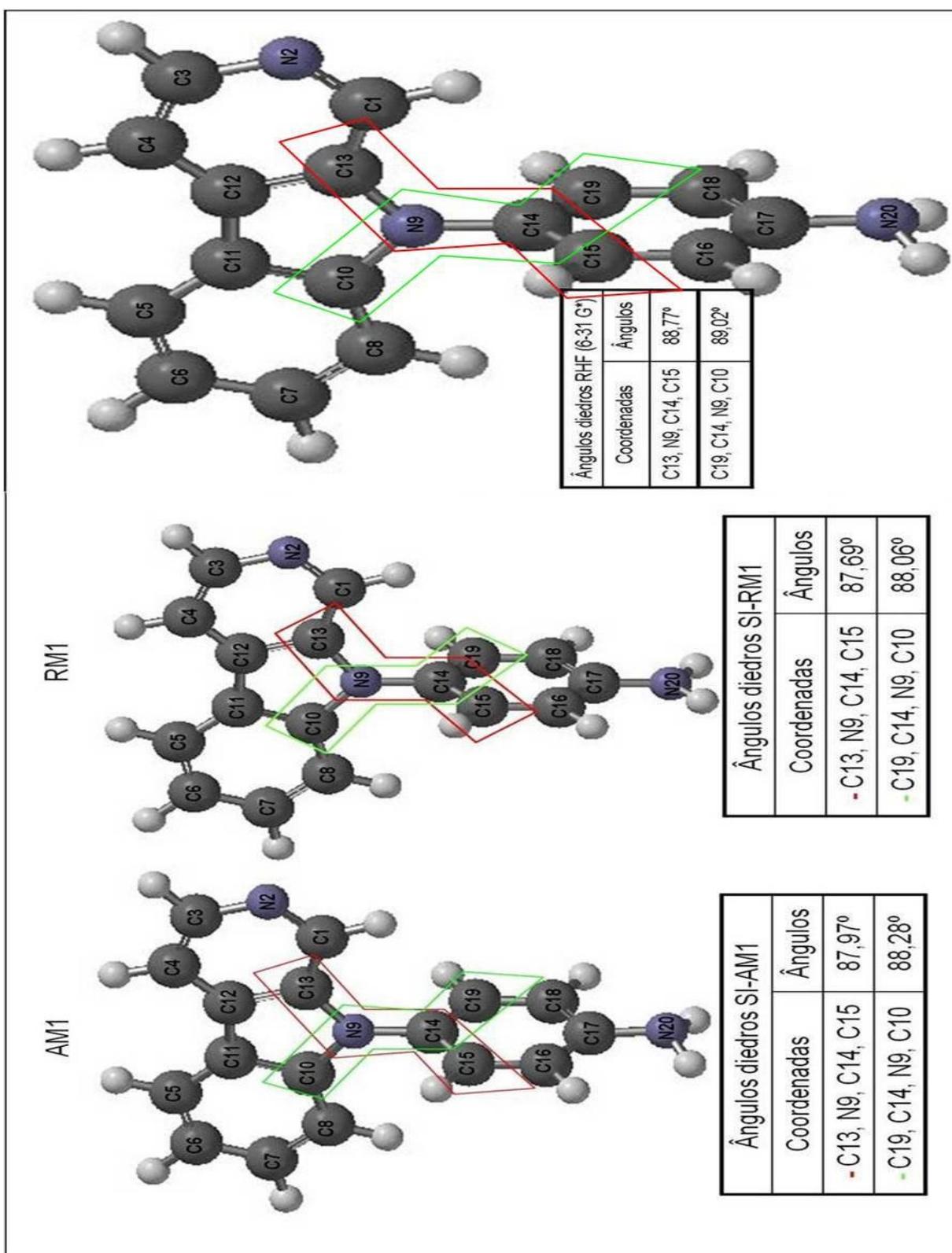


Figura 8: Geometria molecular da APNH calculada com os métodos: Semi-empíricos AM1, RM1 e *ab initio* RHF/6-31G*.

Tabela 2: Cargas atômicas calculadas pelo método *ab initio* RHF/6-31G*.

ATOMOS	APNH	NORHARMANA	ANILINA
C1	0.228659	0.208724	
N2	-0.604661	-0.599053	
C3	0.325819	0.334263	
C4	-0.506704	-0.521446	
C5	-0.043678	-0.062849	
C6	-0.319054	-0.300053	
C7	0.034021	0.031811	
C8	-0.436187	-0.472452	
C10	0.469290	0.520564	
C11	-0.221924	-0.216010	
C12	0.267961	0.290024	
C13	0.025732	0.053365	
N9	-0.507620	-0.697566	
<u>C14</u>	<u>0.474258</u>		<u>-0.259996</u>
C15	-0.287024		-0.024732
C16	-0.362102		-0.419379
C17	0.514358		0.573050
C18	-0.357978		-0.419379
C19	-0.288277		-0.024732
N20	-0.932710		-0.947689

Em resumo a APNH apresenta: (i) Dois sítios com cargas atômicas grandes, um situado no N₂₀ (- 0,932710) que está ligado ao C₁₇ (+ 0.514358) da anilina e outro sitio no N₂ (-0,507820) que está próximo ao C₃ (0.325819), esse último situado na piridina. (ii) Uma região molecular com cargas atômicas grandes, constituída pelo, C₈ (-0.436187), C₁₀ (+ 0,469290) e N₉ (-0,507620), C₁₄ (+0,474258), C₁₅ (-0.287024)

e C₁₉ (- 0,288277). Esses átomos estão situados no anel benzeno da anilina, o nitrogênio do pirrol que se liga ao benzeno da anilina e um carbono do benzeno da NH, formando uma extensa região carregada com aparência de uma baía. Essa baía carregada mais por cargas negativas que positivas, pode ter papel importante na reatividade da APNH e no modo de ação.

4.2 ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV EXPERIMENTAL E TEÓRICO

Para o espectro experimental da NH base livre dissolvida em etanol, veja na Figura 9a, foram observadas cinco bandas, situadas em: 345(A), 288(B), 250(C), 238(D), 213(E) nm.

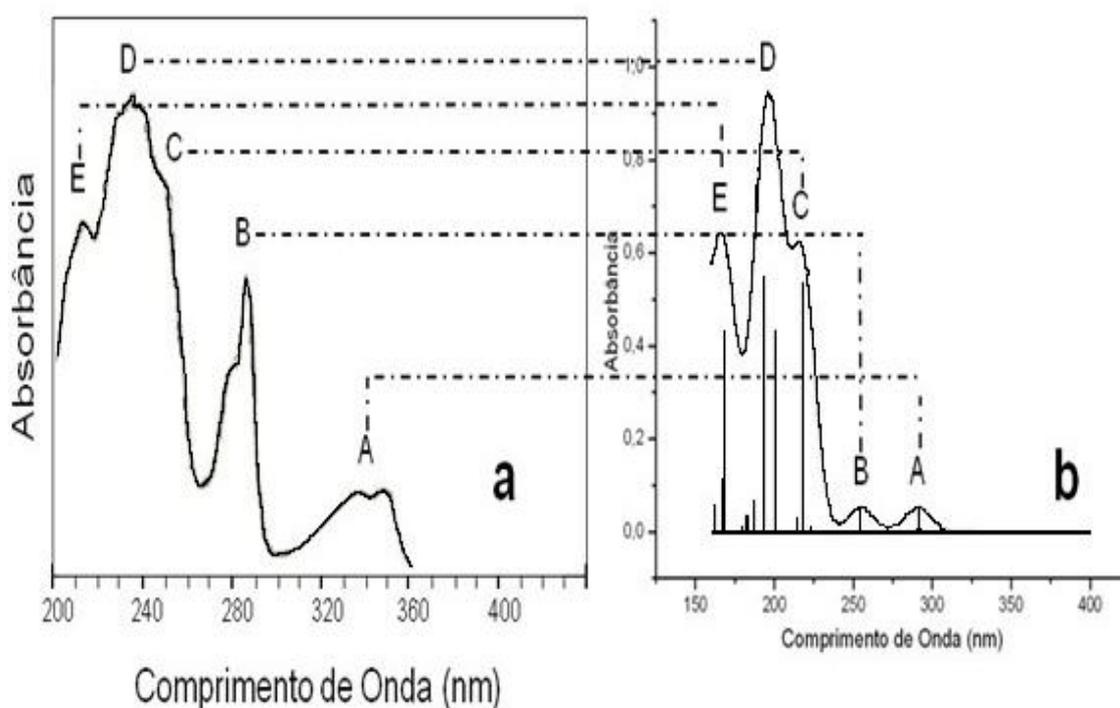


Figura 9: (a) Espectro experimental da Norharmana base livre em etanol 10^{-4} M;

(b) Espectro teórico calculado da Norharmana.

Os valores numéricos do cálculo teórico da NH estão listados na Tabela 3. As energias de excitação observadas estão incluídas também na tabela 3. O S_i representa i-ésimo estado eletrônico excitado singlete (S) calculado. As energias de excitação singlete calculadas, estão listadas em eV, o comprimento de onda (λ) em nanômetro (nm) e a força de oscilador da excitação está representada por, (f-valor). Foram listados na tabela 3, apenas os S_i cujos f-valores foram considerados significativos. A energia de excitação calculada representa a transição eletrônica entre o estado eletrônico fundamental singlete S_0 (π) e o estado eletrônico excitado S_i (π^*) ($S_0 \rightarrow S_i$). Todas as excitações listadas na tabela são de tipo $\pi\pi^*$. Na coluna "Transição" da tabela, estão listadas algumas transições típicas na forma, $D(j) \rightarrow V(k)$, onde $D(j)$ é o j-ésimo orbital duplamente (D) ocupado, e $V(k)$ é o k-ésimo orbital virtual (V), ou seja, orbital desocupado. O $V(1)$ corresponde sempre ao LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital; Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia), O $V(2)$ corresponde ao LUMO+1, o $V(3)$ corresponde ao LUMO+2 e assim por diante. Apenas algumas transições com amplitudes significativas foram selecionadas e mostradas e elas estão listadas na última coluna da tabela 3. No caso da NH, o $D(44)$ corresponde ao HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital; Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia), O $D(43)$ corresponde ao HOMO-1, o $D(42)$ corresponde ao HOMO-2 e assim por diante. Os orbitais HOMO e LUMO, calculados pela TFD para a NH, podem ser visualizados na Figura 10, mostrando que a região mais fotoativa da NH se estende na faixa central da molécula para o orbital ocupado de menor energia (LOMO).

O espectro teórico da NH é mostrado na Figura 9b e ele foi desenhado tendo como base as energias de excitação e nos valores da força de oscilador (f-valor) calculadas, que estão na Tabela 3, Foram observadas cinco bandas situadas em:

290(A), 254(B), 216(C), 196(D), 167(E) nm. As bandas simuladas reproduzem bem as características gerais das bandas observadas experimentalmente. O valor numérico de cada banda teórica está próximo do valor experimental, mas não reproduz exatamente igual. As energias de excitação observadas que correspondem a cada banda estão sempre com valor menor do que àquelas calculadas. No caso da banda A, por exemplo, o valor observado foi de 3,59 eV, enquanto que, o valor calculado foi 4,26 eV (Tabela 3). Então o valor observado é 0,67 eV menor do que o valor calculado. A discrepância entre a teoria e o experimento é devida principalmente ao efeito do solvente, pois, no cálculo teórico, a molécula está isolada, enquanto que no experimental as moléculas estão dissolvidas no solvente (KOHN, 2002).

Na banda A da NH, na Figura. 9b ocorre uma excitação eletrônica de estado fundamental S_0 para o primeiro estado eletrônico excitado S_1 , que pode ser principalmente considerada como proveniente da transição, D(44) (HOMO, π) \rightarrow V(1) (LUMO, π^*), pois a amplitude dessa transição tem o valor predominante de 0,94 (Tabela 3). Além da transição S_1 , o resultado do cálculo mostrou que ocorre outra transição eletrônica do estado eletrônico fundamental S_0 para o segundo estado eletrônico excitado S_2 ($\pi\pi^*$), cuja intensidade é muito baixa ($f = 0,0028$), portanto essa transição não foi incluída na Tabela 3 e outras transições eletrônicas com baixo valor de f também não foram incluídas. Na Tabela 3 estão apenas às transições eletrônicas com intensidades significativas, S_1 , S_3 , S_6 , S_8 , S_9 , e S_{16} .

Tabela 3: As energias de excitação calculadas com o TFD (6-31G*) da NH, onde

D(44) = HOMO, V(1) = LUMO são orbitais moleculares relacionados.

Experimentais				Calculado - TFD (6-31G*)				
Banda	Excit	E (eV)	λ (nm)	E (eV)	λ (nm)	f-valor	Transição	Amplitude
A	S ₁	3,59	345	4,26	291	0,0534	D(44)→V(1)	0,94
							D(43)→V(2)	0,27
B	S ₃	4,31	288	4,87	254	0,0514	D(43)→V(1)	0,76
							D(44)→V(2)	-0,59
C	S ₆	4,96	250	5,69	218	0,537	D(44)→V(2)	0,60
							D(44)→V(4)	0,50
							D(43)→V(1)	0,46
D	S ₈	5,21	238	6,18	201	0,436	D(40)→V(1)	0,31
							D(41)→V(2)	0,26
							D(43)→V(1)	-0,27
							D(43)→V(2)	0,28
							D(44)→V(2)	-0,28
							D(44)→V(3)	0,56
							D(44)→V(4)	0,44
							D(40)→V(1)	-0,30
D	S ₉	5,21	238	6,40	194	0,550	D(41)→V(2)	-0,31
							D(43)→V(1)	-0,29
							D(43)→V(2)	-0,27
							D(43)→V(3)	0,23
							D(43)→V(4)	-0,22
							D(44)→V(2)	-0,26
							D(44)→V(3)	-0,28
							D(44)→V(4)	0,58
E	S ₁₆	5,82	213	7,36	168	0,432	D(39)→V(1)	-0,31
							D(40)→V(2)	0,24
							D(41)→V(3)	0,80
							D(43)→V(4)	-0,23

S₁ (tipo $\pi\pi^$): energias de excitação; E (eV): energias em eletronVolts; λ (nm): os comprimentos de onda; f-valor: Força de oscilador.

Na banda B ocorre uma excitação eletrônica do estado fundamental S₀ para o terceiro estado eletrônico excitado S₃ ($\pi\pi^*$), com a intensidade próxima da banda A. Essa excitação é composta principalmente de duas transições, D(43) (HOMO -1; π)

→ V(1) (LUMO; π^*), com amplitude de 0,76 e D(44) (HOMO; π) → V(2) (LUMO+1 ; π^*), com amplitude de -0,59. Além das bandas A e B, o espectro UV observado mostra três outras bandas de grande intensidade na região entre 200nm a 260 nm: a banda C como um ombro situado à direita da banda D, que tem como característica ser a mais intensa do que todas as bandas observadas na região e a banda E, também assinalada como um ombro situado no lado esquerdo da banda D (Figura 9a).

Com a ajuda do espectro simulado (Figura 9b) e a Tabela 3, designou-se a origem das bandas observadas C, D e E. A banda C, por exemplo, é composta por uma excitação S_6 ($\pi \rightarrow \pi^*$) ou S_6 ($\pi\pi^*$), com a intensidade muito grande (f-valor=0,537) e consiste essencialmente de três transições: D(44) → V(2), D(44) → V(4), e D(43) → V(1) cujos valores das amplitudes são próximos. A banda D, que é a mais intensa de todas as bandas é formada por duas transições de grande intensidade; a S_8 , ($\pi\pi^*$) (f=0,436) e a S_9 ($\pi\pi^*$) (f=0,550) e ambas consistem de numerosas transições com valores de amplitude medio e pequeno, (Tabela 3). A banda E é composta por uma transição S_{16} ($\pi\pi^*$), com a intensidade grande (f-valor=0,432), que consiste essencialmente de quatro transições entre as quais: a transição D(41) → V(3) é a que tem maior amplitude 0,80.

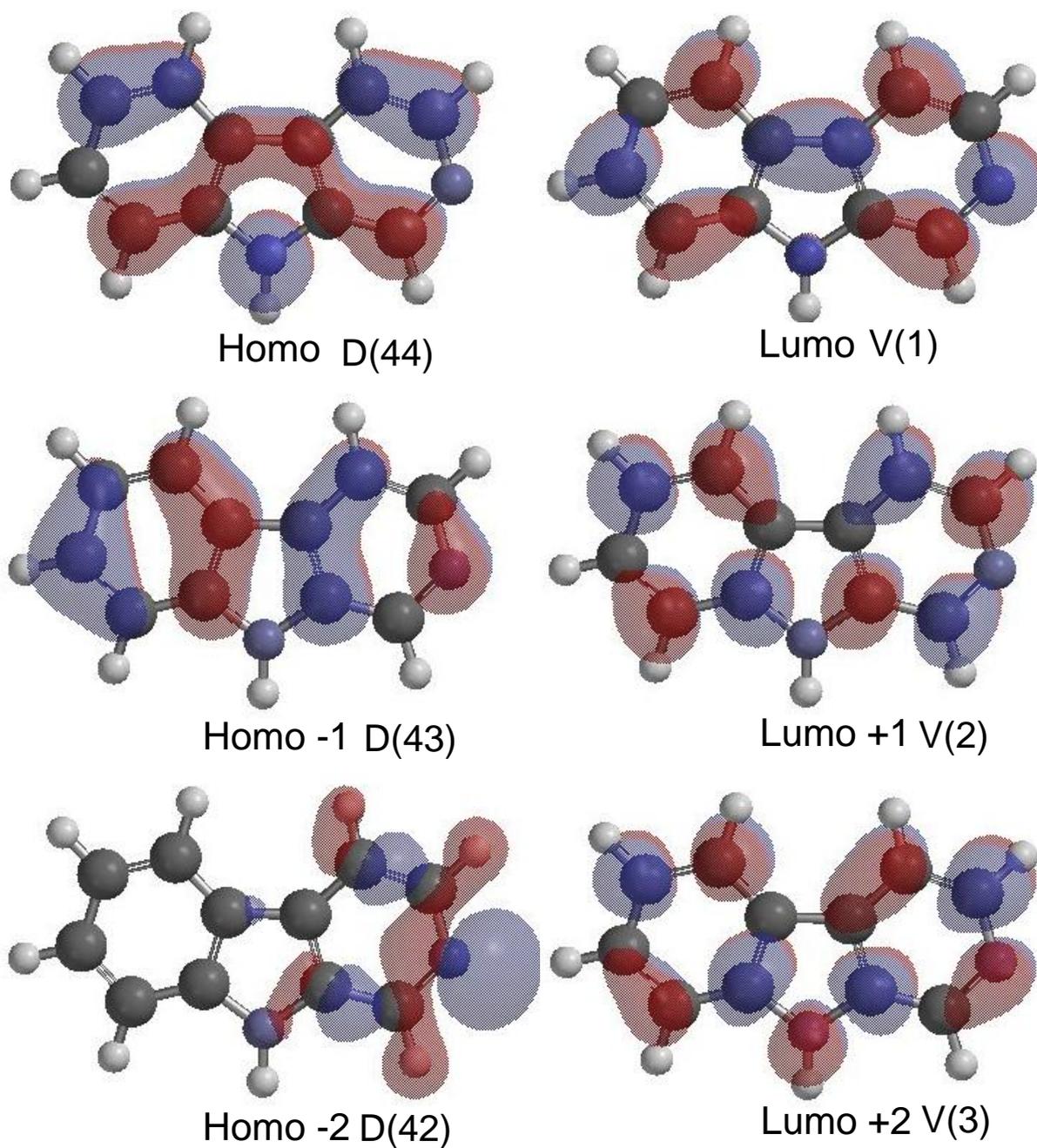


Figura 10: Orbitais moleculares para NH, calculado por TFD (6-31G*).

Homo – Orbital desocupado de maior energia. Lumo – Orbital ocupado de menor energia.

Para o espectro experimental da anilina dissolvida em etanol na Figura 11a, observou-se três bandas localizadas em: 285 nm (A), 234(B), 203(C) nm. A banda A tem a menor intensidade enquanto que a banda C tem a maior intensidade. A intensidade da banda B é intermediária em relação às bandas A e C.

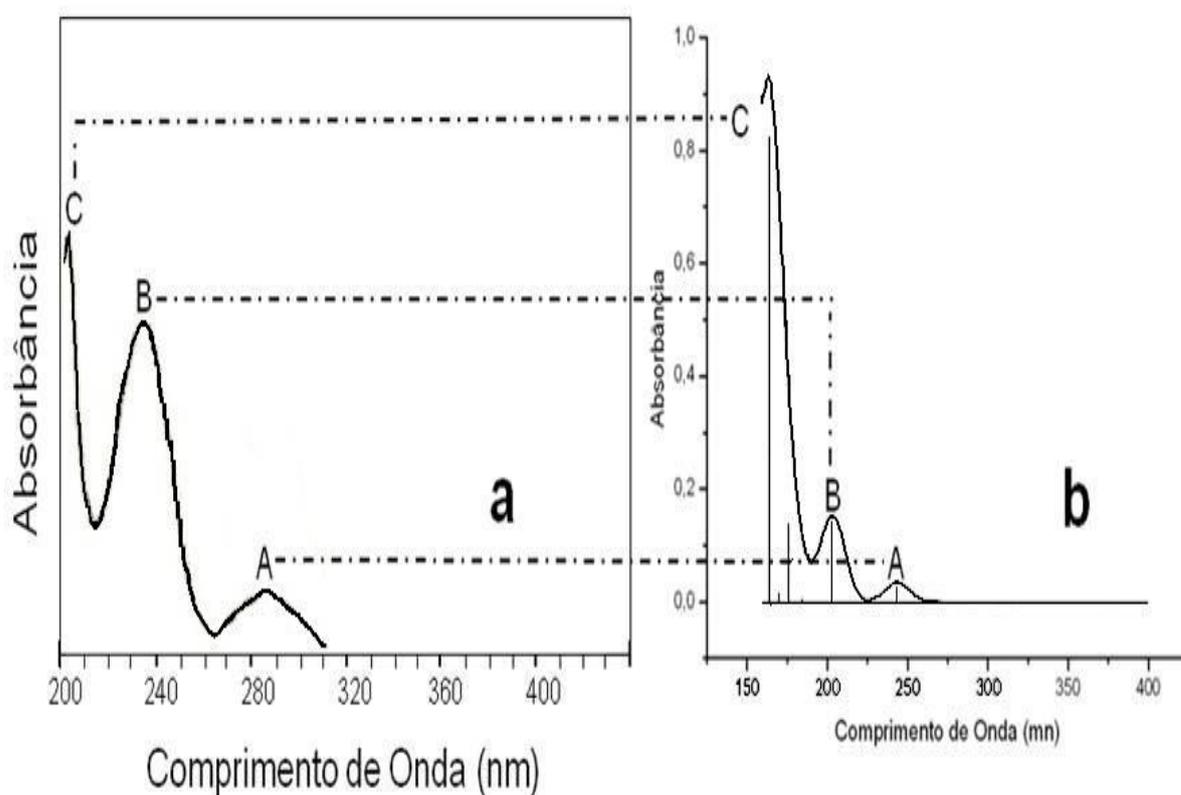


Figura 11: (a) Espectro experimental da anilina em etanol 10^{-4} M; (b) Espectro teórico calculado da anilina.

Na Tabela 4 estão listadas as energias de excitação calculadas para anilina. O espectro teórico da anilina foi simulado e baseado nos dados dessa tabela, e está mostrado na Figura 11b. No espectro teórico da anilina há três bandas situadas em: 243(A), 202(B), 163(C) nm, ele reproduz bem as características gerais do espectro

experimental. A diferença entre os espectros teórico e experimental é devida, em parte, à natureza aproximada da teoria e em parte ao efeito solvente.

A banda A tem intensidade pequena tanto no espectro experimental (Fig.11a) como no espectro teórico (Fig.11b) e corresponde à excitação do estado eletrônico fundamental (S_0) para o primeiro estado eletrônico excitado (S_1): $S_0 \rightarrow S_1$, formado, principalmente, pela contribuição da transição D(25) (HOMO, π) \rightarrow V(1) (LUMO, π^*) cuja amplitude é 0,90 (Tabela 4). A transição D(24) (HOMO-1, π) \rightarrow V(2) (LUMO+1, π^*) com menor amplitude, 0,43, também contribui com formação da banda A ($S_0 \rightarrow S_1$). Os orbitais HOMO e LUMO, calculados pela TFD para a anilina, podem ser visualizados na Figura 12.

Tabela 4: As energias de excitação calculadas com o TFD (6-31G*) da anilina, onde

D(25) = HOMO, V(1) = LUMO são orbitais moleculares relacionados.

Experimentais				Calculado - TFD (6-31G*)				
Banda	Excit	E (eV)	λ (nm)	E (eV)	λ (nm)	f-valor	Transição	Amplitude
A	S_1	4,35	285	5,09	244	0,035	D(24) \rightarrow V(2)	-0,43
							D(25) \rightarrow V(1)	0,90
B	S_2	5,30	234	6,11	203	0,156	D(24) \rightarrow V(1)	0,44
							D(25) \rightarrow V(2)	0,87
C	S_4	6,11	203	7,05	176	0,136	D(23) \rightarrow V(1)	0,60
							D(24) \rightarrow V(2)	0,71
							D(25) \rightarrow V(1)	0,31
C	S_6	6,11	203	7,58	164	0,824	D(23) \rightarrow V(2)	-0,34
							D(24) \rightarrow V(1)	0,78
							D(25) \rightarrow V(2)	-0,40

* S_1 (tipo $\pi \pi^*$): energias de excitação; E (eV): energias em eV; λ (nm): os comprimentos de onda; f-valor: Força de oscilador.

A banda B tem intensidade média tanto no espectro experimental (Fig.11a) como no teórico (Fig.11b), corresponde à excitação do estado eletrônico fundamental (S_0) para o segundo estado eletrônico excitado (S_2): $S_0 \rightarrow S_2$ é formada

principalmente pela contribuição da transição D(25) (HOMO, π) \rightarrow V(2) (LUMO+1, π^*), cuja amplitude é grande 0,87, (Tabela 4). Em sua formação contribuí também a transição D(24) (HOMO-1, π) \rightarrow V(1) (LUMO+1, π^*), que tem amplitude menor 0,44.

A banda C tem a maior intensidade se comparamos as três bandas, tanto no espectro experimental (Fig.11a) como no teórico (Fig.11b). A banda C consiste principalmente de duas excitações, $S_0 \rightarrow S_4$ e $S_0 \rightarrow S_6$, com valores de f grandes: 0,136 e 0,824 respectivamente (Tabela 4). A excitação $S_0 \rightarrow S_6$ é a que tem maior intensidade e é formada principalmente pela contribuição da transição D(24) (HOMO-1, π) \rightarrow V(1) (LUMO, π^*) cuja amplitude é 0,78 (Tabela 4) e a excitação $S_0 \rightarrow S_4$; é formada principalmente pela transição D(23) (HOMO-2, π) \rightarrow V(1) (LUMO, π^*), cuja amplitude é 0,60.

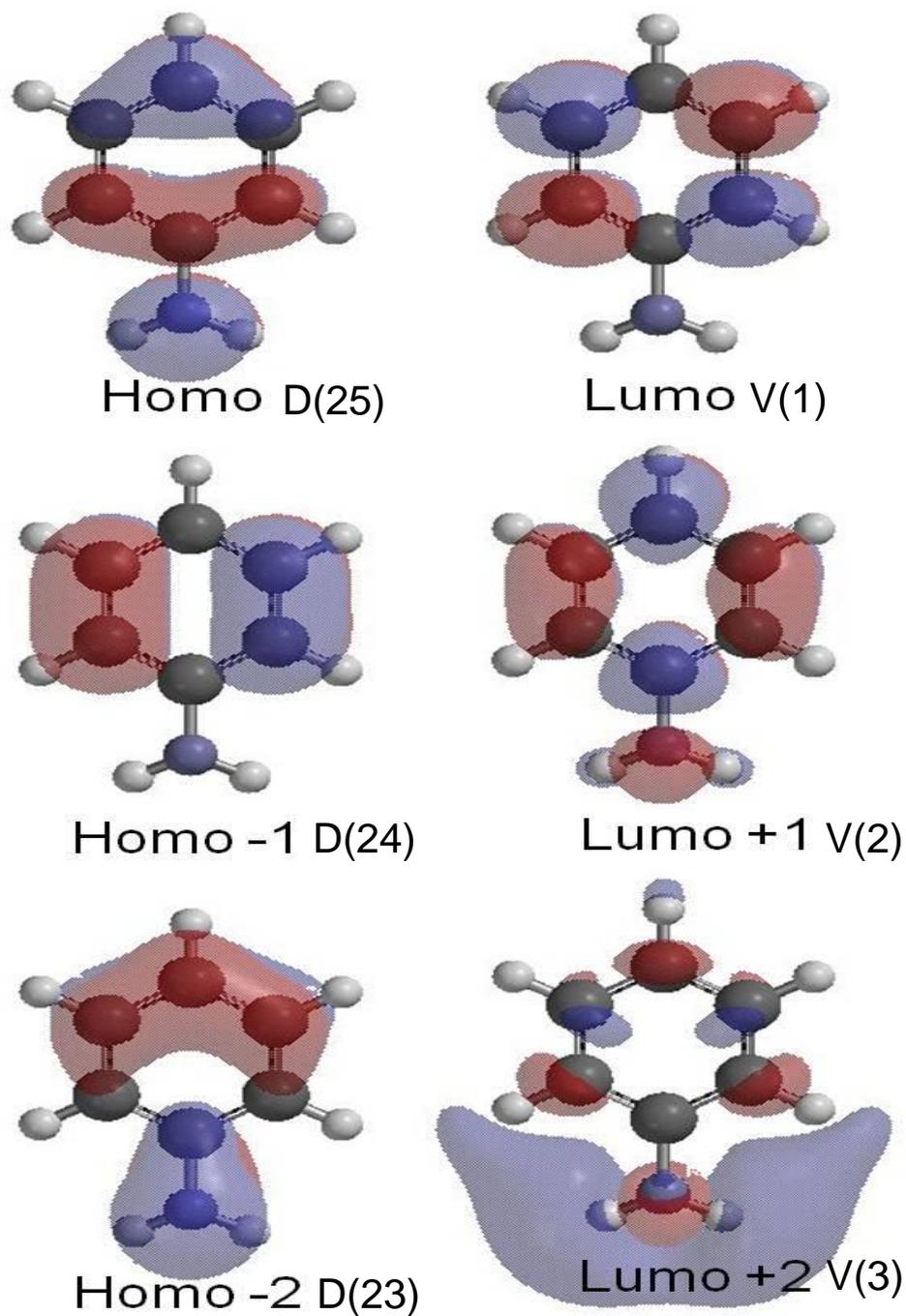


Figura 12: Orbitais moleculares para anilina, calculado por TFD (6-31G*).

Homo – Orbital desocupado de maior energia. Lumo – Orbital ocupado de menor energia.

A Figura 13a mostra o espectro experimental da APNH obtido da literatura (TOTSUKA, *et al.*, 1998), onde se verificou a presença de três bandas em: 356(A), 287(B), 238(D) nm, porém olhando com mais cuidado o espectro, pode-se observar mais uma banda por volta de 260 nm (C) que parece com um pequeno ombro situado no lado direito da banda D. O espectro simulado da APNH está postado na Figura 13b comparando com o espectro experimental Figura 13a, pode-se constatar que existem similaridades nas bandas A, C e D. No espectro experimental da APNH (Figura 13a), a banda B tem a forma de ombro e está situada no lado direito das bandas D e C, porém no espectro simulado na Figura 13b, ela é separada das bandas A e C e aparece bem nítida. A banda C é assinalada como um ombro da banda D em ambos os espectros. Finalmente a banda D é a mais intensa e tem aparência similar nos dois espectros, experimental e teórico.

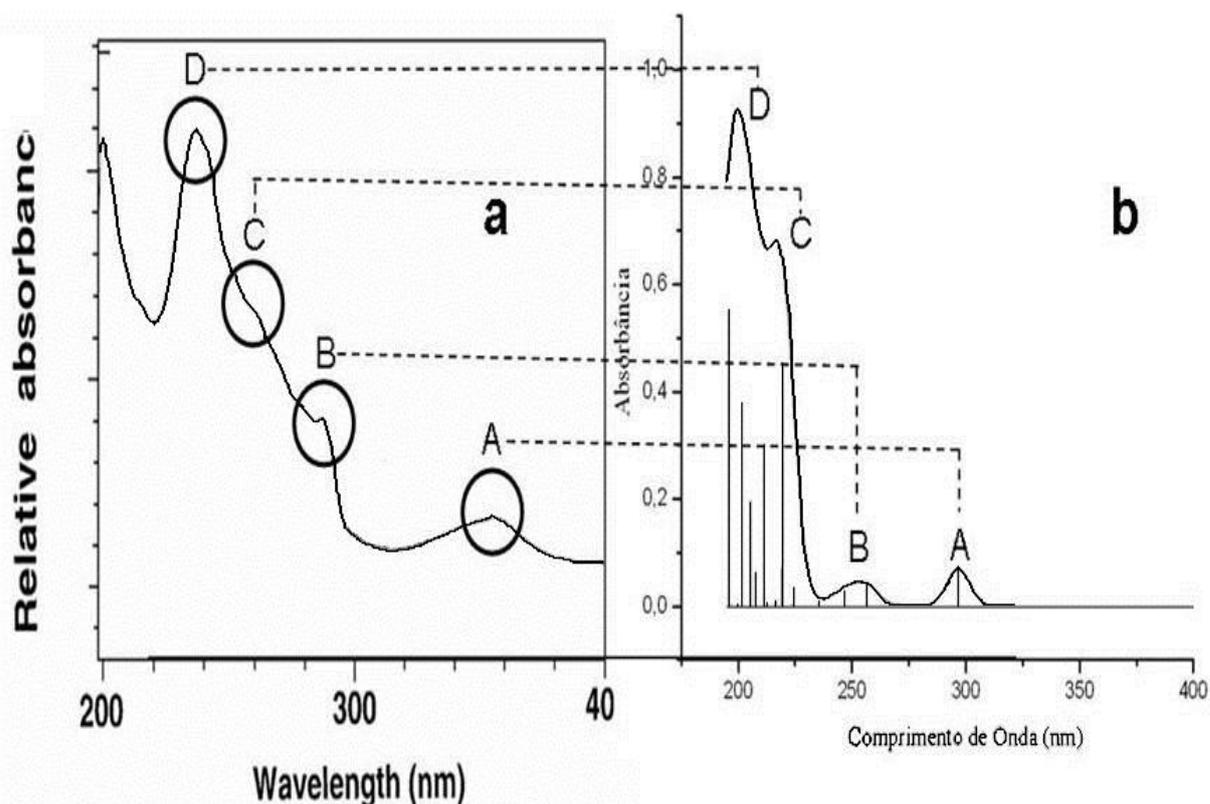
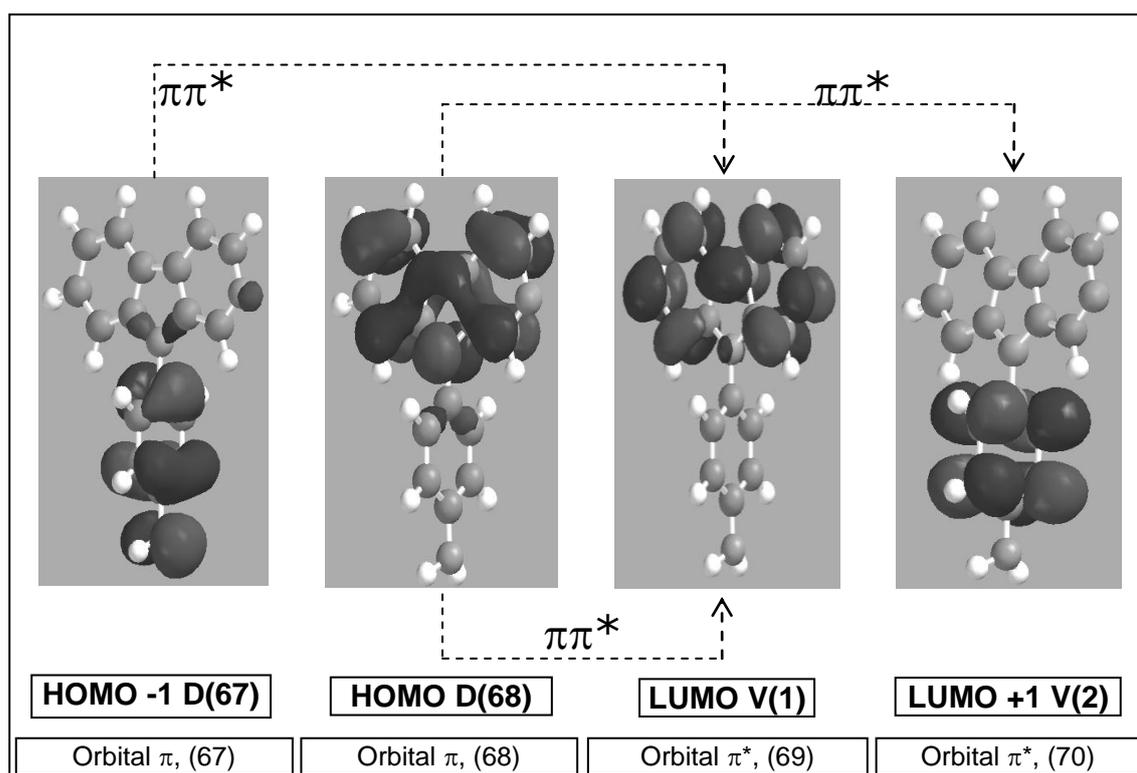


Figura 13: (a) Espectro experimental da APNH (TOTSUKA, *et al.*, 1998); (b) Espectro teórico calculado da APNH.

Comparando as bandas (A e B) do espectro experimental de APNH com as mesmas bandas do espectro teórico, observa-se que no espectro experimental, essas bandas estão deslocadas para maiores comprimentos de onda cerca de 59 nm (A) e 31 nm (B), respectivamente. A justificativa para tal deslocamento é baseada na polaridade do solvente e pode estar relacionada com a formação de ligação de hidrogênio (KOHN, 2002; SCHEIBE, 1927, 1986).

Os resultados teóricos Figura 13b mostram que na banda A da APNH, ocorre uma excitação $S_0 \rightarrow S_1$ ($\pi\pi^*$) na qual o principal componente é a transição D(68)= HOMO (π) \rightarrow V(1)=LUMO (π^*) tabela 5. Veja a transição principal HOMO \rightarrow LUMO na molécula da APNHA (Fig. 14), essa transição ocorre na região da norharmana. A aparência da banda A da APNH na Figura 13a é bem semelhante a da banda A da norharmana na Figura 9a nos espectros experimentais.

Figura 14: Orbitais moleculares HOMO e LUMO para APNH e suas principais transições, calculadas pela TFD (6-31G*).



A banda B, Figura 13b, tem um máximo por volta de 252 nm e é composta por duas transições, o primeiro $S_0 \rightarrow S_6$ ($\pi\pi^*$), que é formada principalmente pela transição, $D(66)=\text{HOMO}-2(\pi, \text{anilina}) \rightarrow V(1)=\text{LUMO}(\pi^*, \text{NH})$ em 256 nm, e o segundo $S_0 \rightarrow S_7$ ($\pi\pi^*$) que é formada principalmente pela transição, $D(67)=\text{HOMO}-1(\pi, \text{NH}) \rightarrow V(2)=\text{LUMO}+1(\pi^*, \text{anilina})$ em 247 nm (veja na Tabela 5, e na Figura 13b). As duas transições que formam a banda B da APNH correspondem à banda A da anilina na Figura 11b e a banda B da NH na Figura 9b.

A banda C é composta por uma excitação $S_0 \rightarrow S_{12}$ ($\pi\pi^*$) com intensidade grande, $f=0,449$, ela é oriunda de várias transições, $D(68) \rightarrow V(4)$, $D(68) \rightarrow V(6)$, $D(66) \rightarrow V(1)$ e outras (Tabela 5).

Além disso, o espectro UV experimental da APNH tem a banda D que é a mais intensa, (Figura 13a) e ela pode ser comparada com a banda D do espectro teórico, (Figura 13b). Os valores calculados das energias de excitação e f-valor estão na Tabela 5. A banda D é composta por principalmente três excitações intensas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, representadas na tabela 5 por: S_{17} , S_{19} , e S_{20} . Cada uma dessas excitações consiste de várias transições marcadas como $D(i) \rightarrow V(j)$ com amplitudes de variadas grandezas (Tabela 5).

Tabela 5: As energias de excitação calculadas com o TFD (6-31G*) da APNH, onde

D(68) = HOMO, V(1) = LUMO são orbitais moleculares relacionados

Experimentais				Calculado - TFD (6-31G*)				
Banda	Excit	E (eV)	λ (nm)	E (eV)	λ (nm)	f-valor	Transição	Amplitude
A	S ₁	3,48	356	4,18	297	0,070	D(66)→V(4)	0,24
							D(68)→V(1)	0,95
B	S ₆	4,32	287	4,84	256	0,037	D(66)→V(1)	0,73
							D(68)→V(4)	-0,62
B	S ₇	4,32	287	5,02	247	0,029	D(63)→V(3)	-0,39
							D(67)→V(2)	0,90
C	S ₁₂	4,77	260	5,65	219	0,449	D(64)→V(1)	-0,32
							D(65)→V(2)	-0,29
							D(66)→V(1)	0,45
							D(68)→V(4)	0,51
D	S ₁₇	5,21	238	5,87	211	0,301	D(68)→V(6)	0,46
							D(64)→V(2)	-0,30
							D(65)→V(3)	0,50
D	S ₁₉	5,21	238	6,04	205	0,197	D(67)→V(3)	0,73
							D(63)→V(2)	0,37
							D(64)→V(2)	0,75
							D(65)→V(3)	-0,34
D	S ₂₀	5,21	238	6,15	202	0,379	D(67)→V(3)	0,41
							D(62)→V(1)	0,31
							D(66)→V(4)	0,28
							D(68)→V(4)	-0,26
							D(68)→V(5)	0,48
							D(68)→V(6)	0,45

S₁ (tipo $\pi \pi^$): energias de excitação; E (eV): energias em eletronVolts; λ (nm): os comprimentos de onda; f-valor: Força de oscilador.

5 CONCLUSÃO

1- A NH, anilina e APNH foram estudadas usando a espectroscopia de absorção UV e a Teoria do Funcional da Densidade (TFD) Dependente do Tempo (TFDDT) com funcional B3LYP (Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr), e a função de base 6-31G*. Foram calculadas as energias de excitação e a força do oscilador (f-valor). Baseado nos valores calculados, os espectros de absorção simulados para cada molécula foram produzidos e eles mostraram aparência muito próxima dos espectros experimentais. Comparando os espectros observados com os espectros simulados, foi possível analisar origem da cada banda observada. Observou-se que o valor numérico de cada banda do espectro teórico é próximo do valor experimental. O comprimento de onda calculado de cada máximo das bandas dos espectros simulados é sempre menor do que o máximo da banda do espectro experimental. A discrepância entre a teoria e o experimento é devida principalmente ao efeito solvente, pois o espectro simulado é produzido fazendo cálculo da molécula isolada, enquanto que o espectro experimental é obtido com a amostra em solução.

2- Foi demonstrado que os espectros simulados baseados nos cálculos teóricos são importantes para análise e interpretação dos espectros de absorção no UV. Justificando que os métodos teóricos computacionais adotados aqui são adequados para realizar uma pesquisa dessa natureza.

3- A geometria molecular do APNH foi determinada usando o método ab initio RHF/6-31G* e observou-se que a APNH não é planar, a parte relacionada à NH, está $88,77^\circ$ fora do plano em relação à parte relacionada à anilina.

4- A análise das cargas atômicas calculadas para o APNH indicaram a existência de dois importantes sítios associativos situados no N₂₀ (- 0,932710) que é relativo à anilina e no N₂ (-0,507820) que é relativo à piridina e de uma extensa região molecular com cargas atômicas grandes, constituída pelo, C₈ (-0.436187), C₁₀ (+ 0,469290) e N₉ (-0,507620), C₁₄ (+0,474258), C₁₅ (-0.287024) e C₁₉ (- 0,288277), com aparência de uma “baía carregada”. Os resultados apresentados para a APNH podem contribuir para o entendimento da reatividade da APNH e do seu modo de ação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATKINS, P. W. Physical Chemistry. 5ª edição, New York: **Oxford University Press**. 597, 1994.

ATKINS, P. W.; PAULA, J. Físico – Química Vol. 2, LTC, Rio de Janeiro - RJ, 7ª edição, 16, 2002.

BALON, M., J. HIDALGO, P. GUARDANO, M.A. MUNOZ and C. CARMONA (1993b) Acid-base and spectral properties of b-carbolines. Part II. Dehydro and fully aromatic/3-carbo-lines. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions**, 99-104, 1993.

BECKE, A.D. Density-functional thermochemistry III. The role of exact exchange. **J. Chem. Phys.** 98: 5648-5652, 1993.

BIONDIC, M.C.; ERRA-BALSELLS, R. Photochemical behaviour of β -carbolines. Part 4.1 Acid–base equilibria in the ground and excited states in organic media. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2.**, 0, 1323-1328, 1997.

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. **J. Chem. Soc.**: 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.

CANGEMI, J. M.; SANTOS, A. M.; NETO, S. C. **Quím. Nova na Escola** 31, 159, 2009.

CAO, R.; PENG, W.; WANG, Z. and XU, A. β -Carboline Alkaloids: Biochemical and Pharmacological Functions. **Current Medicinal Chemistry**, 14, 479-500, 2007.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J.; **Advanced Organic Chemistry**, Part A: Structure and Mechanism, 4a. Ed., Springer Science + Business Media, LLC: New York, 2000.

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

CHAUDHURI, A.; SAHU, P. K.; LEE, S. Mandy-body interaction in glycine-(water)₃ complex using density functional theory method. **J. Chem. Phys.** 120-170, 2004.

COSTA, M. C. MERES; FIGUEIREDO, M. CECCHETTO; CAZENAVE, SILVIA DE O. SANTOS. Ayahuasca: Uma abordagem toxicológica do uso ritualístico. **Rev. Psiq. Clín.** 32 (6); 310-318, 2005

COSTA, P. R. R.; FERREIRA, V. F.; ESTEVES, P. M.; VASCONCELLOS, M. L. A. A.; Ácidos e Bases em Química Orgânica, Editora Bookman: Porto Alegre, 2005.

CRAMER, C. J. Essentials of Computational Chemistry. Theories and Models: John Wiley & Sons 471, 48552, 7153–189, 2002.

DEWAR, M.J.S.; ZOEBISCH, E.G.; HEALY, E.F.; STEWART, J.J.P. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. **J. Am. Chem. Soc.** 107 (13):3902-3909, 1985.

DURK, F.; ADRIAAN, T.; ISAAC, B.; LOLKE, P. Pharmacokinetics of the β -carboline norharman in man. **Elsevier Sciences** (69) 2113–2121, 2001.

EL-SAYED, M.A. Intramolecular Heavy-Atom Effect on the Polarization of Naphthalene Phosphorescence. **J. Chem. Phys.** 39 (7): 1899, 1963.

EL-SAYED, M.A. Restore Desktop View Theoretical Considerations Concerning the Intramolecular Heavy-Atom Effect on the Phosphorescence Process C_{2v} Symmetric Dihalonaphthalene. **J. Chem. Phys.** 43, 2864, 1965.

FREIRE, R. O.; DA COSTA, N. B.; ROCHA, G. B.; SIMAS, A. M. Sparkle/AM1 Structure Modeling of Lanthanum (III) and Lutetium (III) Complexes. **J. Phys. Chem.** 2006.

JEFFREY, G. A., SAENGER, W. *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer-Verlag, Berlin, 1991.

GILLI, P.; FERRETTI, V., GILLI, G., *Fundamental Principles of Molecular Modelling*, Ed. Werner Gans *et. al.* Plenum Press, N.Y. ,1996.

GOULD, R. G.; JACOBS, W. A. The Synthesis of Certain Substituted Quinolines and 5,6 - Benzoquinolines. **J. Am. Chem. Soc.** v. 61, p. 2980-2985, 1939.

GRABOWSKI, S. J. Ab Initio Calculations on Conventional and Unconventional Hydrogen Bonds – Study of the Hydrogen Bond Strenght. **J. Phys. Chem. A.** 105, 10739, 2001.

HADA, N.; TOTSUKA, Y.; ENYA, T.; TSURUMAKI, K.; NAKASAWA, M.; KAWAHARA, N.; MURAKAMI, Y.; YOKOYAMA, Y.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Structures of mutagens produced by the co-mutagen norharman with o- and m- toluidine isomers. **Mutation Research** 493, 115-126. 2001.

HASANEIN, A. A.; EVANS, M. W. *Computational Methods in Quantum Chemistry*, **World Scientific**, New Jersey, 1999.

HE, Y.; WU, C.; KONG, W. A Theoretical and Experimental Study of Water Complexes of *m*-Aminobenzoic Acid MABA· (H₂O)_{*n*} (*n* = 1 and 2). **J. Phys. Chem. A** 109 -748, 2005.

HERAIZ, T.; GUILL, H.; ARAN, V.J. Oxidative metabolism of the bioactive and naturally occurring β-carboline alkaloids, norharman and harman, by human cytochrome P450 enzymes. **Chem. Res. Toxicol.** 21(11), 2172-2180. 2008.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electrons gas. **J. Phys. Rev.** 136, 864. 1964.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Theory Including Spin Magnetism and Magnetic Fields; **International Journal of Quantum Chemistry** 100: 20–21, 2004.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Theory of magnetism of rotation and magnetic fields Int. **J. Quantum Chem.** 100, 20. 2003.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC) Aniline and aniline hydrochloride. **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans** IARC, IARC Scientific Publication, Lyon, 27, 39 – 61, 1982.

JEFFREY, G.A., *An introduction to hydrogen bond*, Oxford University Press, **Oxford**, 1997.

JENKINS, F. P.; ROBINSON, J. A.; GELLETLY, J. B. M.; SALMOND, G. W. A. The No-effect Dose of Aniline in Human Subjects and a Comparison of Aniline Toxicity in Man and the Rat. **Fd Cosmet. Toxicol.** Vol. 10, pp. 671-679, 1972.

KAHL, T.; SCHRÖDER, K.; Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, John Wiley & Sons: New York, 2007.

KASHA, M. Characterization of electronic transitions in complex molecules. *Discuss. Faraday Soc.* 9: 14 - 19, 1950.

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

KOCH, W.; HOLTHAUSEN, M.C. *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Wiley-VCH, Weinheim, 2^a ed. 2002.

KOHN, W.; SHAM, L.; *J. Solvent Effect in Mixtures* **Phys. Ver.** 140-1133, 1965.

KOCH, W.; HOLTHAUSEN, M.C.; *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, 2^a ed., Wiley-VCH: Weinheim, 2002.

KOHN, W.; SHAM, L. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **J. Physical Review** 140 (4a), 1133-1136, 1965.

LAI, B. T. I; LIM, B.T.; LIM, E.C.T.; Photophysical properties of biologically important molecules related to proximity effects: psoralens. **J. Am. Chem. Soc.** 104- 7631, 1982.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R.G. Development of the colle-salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Phys. Rev.** 37-785, 1988.

LEVINE, I. N.; *Quantum Chemistry*, 5 ed., Prentice-Hall: **New Jersey**, EUA. p. 423-425. 2000.

LILLIAN S. DeBruin; PERRY A. Martos; DAVID, P. Josephy. Detection of monocyclic aromatic amines, possible mammary carcinogens, in human milk. **Chem Res Toxicol**; 12:78–82, 1999.

LIU, T, HAN, W-G.; HIMO, F.; ULLMANN, G. M.; BASHFORD, D. TOUTCHKINE, A.; HAHN, K. M.; NOODLEMAN, L. Density Functional Vertical Self-Consistent Reaction Field Theory for Solvatochromism Studies of Solvent-Sensitive Dyes. **J. Phys. Chem.** 108, 3545-3555, 2004.

LIU, T.; HAN, W-G.; HIMO, F.; ULLMANN, G. M.; BASHFORD, D. TOUTCHKINE, A.; HAHN, K. M.; NOODLEMAN, L. Density Functional Methods – B3LYP. **J. Phys. Chem.** 108, 3545, 2004.

LOWER, S.K.; EL-SAYED, M.A. The triplet state and molecular electronic processes in organic molecules. **Chemical Reviews** 66 (2):199-241, 1966.

MALLICK, A.; CHATTOPADHYAY, N.; BIOPHYS. Spectroscopic Investigation on the Interaction of ICT Probe 3-Acetyl-4-oxo-6,7-dihydro-12H Indolo-[2,3-a] Quinolizine with Serum Albumins. **Journal of Physical Chemistry B**, 109, 14683-14690, 2005.

MARQUES, A.D.S. ; TAKAHATA, Y. ; LUCENA JUNIOR, J. R. ; SOUZA, M. C. ; SIMÕES, S. S. ; AZEVEDO, W. M. ; SÁ, G. F. . The species of 8-methoxy-psoralen in hydrophobic and hydrophilic environments and its solubilization in neutral and charged micelles. **Journal of Luminescence**, v. 97, p. 237-249, 2002.

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.

MCGLYNN, S.P.; AZUMI, T.; KINOSHITA, M.; Spectroscopy of the Triplet State; Prentice-Hall: Englewood Cliffs, p. 261, 1969.

MENGOD, M. O. A., Apostila de Toxicologia e Higiene Industrial. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/58895983/2/Propriedades-gerais-usos-e-fontes-deexposicao>>. Acesso em: 14 Dez. 2011.

NISHIGAKI, R.; TOTSUKA, Y.; KATAOKA, H.; USHIYAMA, H.; GOTO, S.; AKASU, T.; WATANABE, T.; SUGIMURA, T. and WAKABAYASHI, K. Detection of aminophenylnorharman, a possible endogenous mutagenic and carcinogenic compound, in human urine samples, **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention** 16, 151-156. 2007.

NISHIGAKI, R.; TOTSUKA, Y.; TAKAMURA-ENYA, T.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Identification of cytochrome P-450s involved in the formation of APNH from norharman with aniline. **Mutation Research** 562, 19–25. 2004.

O'NEIL, M. J.; Merck Index, 14a. ed., MERCK: Whitehouse Station, 2006; b) Sítio da Enciclopedia.com. Disponível em: <<http://www.encyclopedia.com/topic/aniline.aspx>>. Acesso em: 14 Dez. 2011.

ODA, Y.; TOTSUKA, Y.; WAKABAYASHI, K.; GUENGERICH, F.P.; SHIMADA, T. Activation of aminophenylnorharman, aminomethylphenylnorharman and aminophenylharman to genotoxic metabolites by human N-acetyltransferases and cytochrome P450 enzymes expressed in Salmonella typhimurium umu tester strains. **Mutagenesis** 21(6), 411 – 416. 2006.

OKAMOTO, A.K.; GAUDIO, A.C.; DOS SANTOS MARQUES, A.; TAKAHATA, Y. QSAR study of inhibition by coumarins of IQ induced mutation in S. typhimurium TA98. **J. Mol. Struc. Theochem**, 725, 231-238, 2005.

ORIGINLAB CORPORATION. **OriginPro 8SRO**, v8.0724 (B720). Copyright©, 1991-2007

PAOLONI, L. Nature of the Hydrogen Bond. **J. Chem. Phys.** 30, 1045; doi: 10.1063/1.1730080,1959.

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

PAULING, L.; The nature of Chemical Bond, Cornell University Press, New York, 1960

PIE DADE, Claudenor de Souza. Estudo da estrutura - atividade da norharmana, DHM-cumarina e riparinas I, II, III usando espectroscopia eletrônica e cálculos teóricos. Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2009.

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

POPLE, J. A.; BEVERIDGE, D.; Approximate Molecular Orbital Theory. McGraw- Hill: New York, 1970.

POPLE, J. A.; SCOTT, A. P.; WONG, M. W.; RADOM L. Scalling Factors for Obtaining Fundamental Vibrational Frequencies and Zero-Point Energies from HF/6-31G* and MP2/6-31G* Harmonic Frequencies. *Isr. J. Chem.* 345, 350, 1993.

POPLE, J.A.; SANTRY, D.P.; SEGAL, G.A. Approximate self-consistent molecular orbital theory I invariant procedures. **J. Chem. Phys.** 43, S129-35, 1965.

RAMAEKERS, R.; PAJAK, J.; LAMBIE, B.; MAES, G. Neutral and zwitterionic glycine.H₂O complexes: A theoretical and matrix isolation Fourier transform infrared study. **J. Chem. Phys** 120 – 4182, 2004.

REYMAN, D.; TAPIA, M.J.; CARCEDO, C.; VINÃS, M.H. Photophysical properties of methyl beta-carboline-3-carboxylate mediated by hydrogen-bonded complexes--a comparative study in different solvents. **Biophysical Chemistry**,104-683, 2003.

ROCHA,G. B.; FREIRE, R. O.L.; SIMAS, A. M.; STEWART, J J. P.; **J. Comput. Chem.** 27-1101, 2006.

SCHEIBE, G.; FELGOR, E.; ROSSLER, G. Types of Defects in The Solvent Ber. 59, 2619, 1926.

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

SCHEINER, S. *Hydrogen Bonding: A Theoretical Perspective*, Oxford University Press, **Oxford**, 1997.

SCHLEYER, P. R.; The Encyclopedia of Computational Chemistry. John Willey e Sons, N.Y. EUA 1, 801, 1986.

SIDMAN, J. Electronic Transitions Due To Nonbonding Electrons Carbonyl, Aza-Aromatic, And Other Compounds. **Chem. Rev.** 58 (4): 689–713, 1958.

SMITH, M. B.; MARCH, J.; **Advanced Organic Chemistry**: Part 1, 2a. Ed., John Wiley & Sons, Inc.: New Jersey, 2001.

SOPER, P. D.; Dupont, Initio Calculation of Vibrational- SPECTRUM. **Central Research & Development**, E328/123, DUCOM, ESVAX: SOPERPD, p. 695-1757. 1997.

SOUZA, V. C.; Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, Harri Lorenzi, 2a. ed., Nova Odessa: São Paulo, 2008.

STEPHENS, P. J.; DEVLIN, F. J.; CHABALOWSKI, C. F. and FRISCH, M. J. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **J. Phys. Chem.** 98: 11623-11627, 1994.

STEWART, J. J. P.; **J. Comput. Chem.** 10-209, 1989.

THATCHER, R. J., DOUTHWAITE, R. F., β – Carboline (norharman), *Acta Cryst.* C67, 241-243, 2001.

TOTSUKA, Y.; HADA, N.; MATSUMOTO, K.; KAWAHARA, N.; MURAKAMI, Y.; YOKOYAMA, Y.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI K. Structural determination of a mutagenic aminophenylnorharman produced by the co-mutagen norharman with aniline. **Carcinogenesis** 19(11), 1995-2000.1998.

TOTSUKA, Y.; TAKAMURA-ENYA, T.; KAWAHARA, N.; NISHIGAKI, R.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Structure of DNA adduct formed with

aminophenylnorharman, being responsible for the comutagenic action of norharman with aniline. **Chem. Res. Toxicol.** 15, 1288 – 1294. 2002.

TOTSUKA, Y.; TAKAMURA-ENYA, T.; NISHIGAKI, R.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Mutagens formed from β -carbolines with aromatic amines. **J. Chromatography B** 802(1), 135-141. 2004.

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

URSULA, B.; GERLIIDE, W.; INES, S.; HANS, J. G.; GOTZ M.; KARL, M. Elevated Norharman Plasma Levels in Alcoholic Patients and Controls Resulting from Tobacco Smoking. **Elsevier Sciences** 1425–1432, 1996.

WAMORI, T.; TOTSUKA, Y.; UCHIYA, N.; KITAMURA, T.; SHIBATA, H.; SUGIMURA, T.; WAKABAYASHI, K. Carcinogenicity of aminophenylnorharman, a possible novel endogenous mutagen, formed from norharman and aniline, in F344 rats. **Carcinogenesis** 25 (10), 1967–1972. 2004.

WANG, Y., SAEBO, S., PITTMAN JR., C. U., The structure of aniline by abinitio studies, *J. Mol. Structure (THEOCHEM)*, 281 (2,3), 1993.

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

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

WIEST, O.; SCHLEYER, P. R. *Transition States in Organic Chemistry: Ab Initio. The Encyclopedia of Computational Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd, Athens, USA 5: 3104 – 3114, 1998.

YUKARI TOTSUKA, HIROYUKI KATAOKA, TAKEJI TAKAMURA-ENYA, TAKASHI SUGIMURA, KEIJI WAKABAYASHI. In vitro and in vivo formation of

aminophenylnorharman from norharman and aniline. **Mutation Research** 506–507-49–54, 2002.

ZIÓLKOWSKI, M.; GRABOWSKI, S. J.; LESZCZYNSKI, J. Cooperativity in Hydrogen - Bonded Interactions: Ab Initio and “Atoms in Molecules” Analyses **J. Phys. Chem.** 110-6514, 2006.