



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**GISELE FRANCO DE CASTRO**

**A ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO E SUA APLICAÇÃO NO ESTUDO DE  
MOLÉCULAS ORGÂNICAS COM INTERESSE FARMACOLÓGICO**

**MANAUS – AM**

**2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**GISELE FRANCO DE CASTRO**

**A ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO E SUA APLICAÇÃO NO ESTUDO DE  
MOLÉCULAS ORGÂNICAS COM INTERESSE FARMACOLÓGICO**

Tese de doutorado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de doutora em Ciências – Químicas, na linha de pesquisa Química de materiais e Interfaces.

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

**MANAUS – AM**

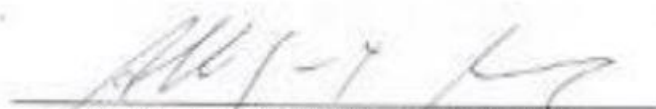
**2020**

***A ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO E  
SUA APLICAÇÃO NO ESTUDO DE  
MOLÉCULAS ORGÂNICAS COM  
INTERESSE FARMACOLÓGICO***

**GISELE FRANCO DE CASTRO**

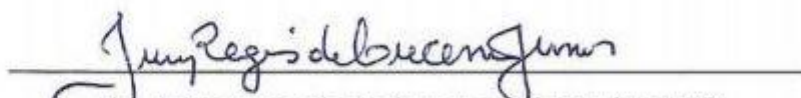
Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

Aprovada em 27 de julho de 2020.



---

Dr. Alberto dos Santos Marques (DQ/UFAM)  
Presidente/Orientador




---

Dr. Juracy Regis de Lucena Júnior (UEPB)  
Membro Externo



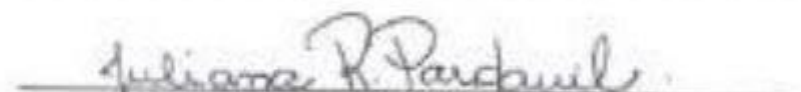
---

Dr. José Arimatéia Dantas Lopes (UFPI)  
Membro Externo



---

Dra. Karen Segalla (DQ/UFAM)  
Membro Externo



---

Dra. Juliana de Jesus Rocha Pardauil (DQ/UFAM)  
Membro Externo

Universidade Federal do Amazonas

Manaus, 27 de julho de 2020.

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C355e	<p>Castro, Gisele Franco de A espectroscopia de emissão e sua aplicação no estudo de moléculas orgânicas com interesse farmacológico / Gisele Franco de Castro . 2020 148 f.: il. color; 31 cm.</p> <p>Orientador: Alberto dos Santos Marques Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.</p> <p>1. Dehmc. 2. Harmina. 3. Apnh. 4. moléculas bioativas. 5. micelas. I. Marques, Alberto dos Santos. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título</p>
-------	--

## DEDICATÓRIA

*“Dedico aos meus pais Alírio C. Franco e Sônia Regina, Gerany Fernandes. Aos meus irmãos Filipe, Elisama e Kássia. Ao meu amado esposo Oziel Alves de Castro e aos nossos filhos Gabriel e Géssica Vitória.”.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, Poderoso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas  
À UEA pelo apoio e incentivo à continua qualificação.

Ao meu orientador Alberto dos Santos Marques pelo apoio e incentivo, atenção dedicados  
durante a realização desse trabalho.

Aos amigos que fiz na instituição. Dayane Lacerda, Tainá, Helene, Kidney, Oneide, Rosane,  
Rosangela.

Aos colegas da UFAM que contribuíram para o término desse trabalho.

Ao Professor C. T. LIN e Taesam Kim e aos demais professores que fizeram parte de minha  
trajetória acadêmica.

Aos professores que fizeram parte da banca de Qualificação da Tese. Especialmente Dra.  
Karen Segalla, Dr. Puspitapallab Chaudhuri.

À Northern Illinois University – NIU – USA pela fabricação do LESS na Chem Nova Inc.

Ao professor Paulo Couceiro pelo apoio referente aos conhecimentos técnicos e também pelo  
espaço e materiais.

As professoras: Dra Luiza Gabriel Pereira, Dra. M. P. Socorro Ribeiro Nóbrega , Edinilce e a  
professora Emanuela Bonaparte. Á todos que contribuíram direta e indiretamente com a  
pesquisa e elaboração desse trabalho.

A minha família pelo amor, apoio e incentivo em todos os momentos. Queridos pai e mãe,  
Alirio, Sonia. Aos meus irmãos Filipe, Elisama, Kassia. Ao meu amado esposo Oziel Alves  
de Castro e aos nossos filhos Gabriel e Géssica Vitória. Aos sobrinhos Beatriz, David, Sophia  
e Pedro. Minha amada sogra Gerany e demais. Grata

*“E disse Deus: Haja uma expansão  
no meio das águas, e haja separação entre  
águas e águas”*

Gênesis Cap.1 vers.6

## RESUMO

As moléculas orgânicas bioativas (MOB's) têm sua aplicação estendida tanto na física quanto na medicina devido as suas propriedades fotofísicas. O estudo da interação dessas moléculas com o meio biológico é um caminho para potencializar esses efeitos, principalmente os farmacológicos. Esse tipo de estudo muitas vezes por serem medidas indiretas deixam algumas incógnitas com relação a: espécie ativa; mecanismo de transporte na membrana biológica; tipo de interação e sítio associativo. A espectroscopia de emissão com o uso de pseudomembranas (micelas) possibilita responder ou elucidar estas questões. Buscou-se analisar três MOB's: o DEHMC (3-2 (dietilamina) etil[ -7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona] ), a Harmina e o APNH (aminofenilnorharmana), todas com anel aromático em suas estruturas e propriedades biológicas distintas: antifúngico, alucinógeno e um carcinogênico, respectivamente. Foram utilizados cálculos da DFT com base 6-31 + G\* e funcional B3LYP com o programa *Spartan16*® e *Origin*® simulando ambientes hidrofílico e hidrofóbicos. Posteriormente foram realizadas medidas espectroscópicas de absorção UV-VIS e emissão ( $\lambda_{exc} = 313\text{nm}$ ) em solvente hidrofóbico, hidrofílico e em micelas (neutra, aniônica e catiônica). A espécie ação do DEHMC é o DEHMC-H. O DEHMC + desprotona e entra na micela e permanece acorado em sua região hidrofílica. A molécula Harmina comportou-se de forma diferente conforme a carga da micela. Quando a micela é neutra o monocatión desprotona e dentro da micela coexistem duas espécies: HR ancorada na região hidrofóbica e a espécie HR-H ancorada na região hidrofílica. Agora quando a carga micelar é negativa a Harmina tem como espécie ativa o HR-forte. Essa espécie fica ancorada na região aquosa formando um complexo de ligação de hidrogênio entre o nitrogênio da piridina da espécie HR. A carga micelar também propiciou um comportamento fotofísico distinto para a molécula APNH. A emissão em micela neutra foi semelhante ao comportamento fotofísico em meio hidrofílico. O APNH entrou na micela e ficou na região próxima à superfície. O APNH em micela aniônica teve suas propriedades fotofísicas anuladas e em micela catiônica o APNH ficou na região hidrofóbica (no núcleo da micela). Esse comportamento fotofísico ajuda a esclarecer o entendimento do mecanismo de transporte do APNH para o interior de uma micela. Também auxilia a compreensão da carcinogenicidade dessa molécula frente as células. Os sistemas de emissão juntamente com as outras metodologias foram eficazes no estudo das propriedades fotofísicas destas moléculas, demonstrando que essa metodologia também é uma forma de auxílio ao entendimento da interação droga/pseudomembrana fornecendo uma idéia da ação farmacológica.

**Palavras-Chave:** moléculas bioativas, interação, emissão, propriedades supramoleculares, pseudomembrana, ação farmacológica.



## ABSTRACT

The bioactive organic molecules (MOB) have their application extended both in physics and in medicine due to their photophysical properties. The study of the interaction of these molecules with the biological environment is a way to enhance these effects, especially pharmacological effects. This type of study often because they are indirect measures leave some unknowns regarding: active species; transport mechanism in the biological membrane; type of interaction and associative site. Emission spectroscopy using pseudomembranes (micelles) makes it possible to answer or elucidate these questions. We sought to analyze three MOBs: DHMC, Harmina and APNH. All with aromatic ring in their structures and distinct biological properties: antifungal, hallucinogenic and carcinogenic, respectively. DFT calculations based on 6-31 + G \* and functional B3LYP were used with the Spartan16 ® and Origin ® program simulating hydrophilic and hydrophobic environments. Subsequently, spectroscopic measurements of UV-VIS absorption and emission ( $\lambda_{exc} = 313\text{nm}$ ) were performed in hydrophobic, hydrophilic solvent and in micelles (neutral, anionic and cationic). The DHMC action species is DHMC-H. DHMC + deprotonates and enters the micelle and remains anchored in its hydrophilic region. The Harmina molecule behaved differently according to the micelle charge. When the micelle is neutral, the deprotonated monocation and within the micelle two species coexist: HR anchored in the hydrophobic region and the HR-H species anchored in the hydrophilic region. Now when the micellar load is negative, Harmina has HR-forte as its active species. This species is anchored in the aqueous region, forming a hydrogen bonding complex between the nitrogen of the HR species pyridine. The micellar charge also provided a distinct photophysical behavior for the APNH molecule. The neutral micelle emission was similar to the photophysical behavior in hydrophilic medium. The APNH entered the micelle and stayed in the region close to the surface. APNH in anionic micelle had its photophysical properties canceled and in cationic micelle APNH was in the hydrophobic region (in the micelle nucleus). This photophysical behavior helps to clarify the understanding of the mechanism of transport of APNH into a micelle. It also helps to understand the carcinogenicity of this molecule in front of cells. The emission systems along with the other methodologies were effective in studying the photophysical properties of these molecules, demonstrating that this methodology is also a way of helping to understand the drug / pseudomembrane interaction, providing an idea of the pharmacological action.

**Keywords:** bioactive molecules, interaction, emission, supramolecular properties, pseudo membrane, pharmacological action.

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

**APNH** – aminofenilnorharmana

**B3LYP** Becke, de três parâmetros, Lee, Yang, Parr

**DEHMC ou DHMC** - 3-2 (dietilamina) etil[ -7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona]

**DNA**- Ácido desoxirribonucleico

**DFT** - Teoria do Funcional da Densidade

**F** - Fluorescência

**FAD** - Flavina-Adenina-Dinucleotídeo

**FT-IR** - Fourier Transform Infra Red (Infravermelho com transformada de Fourier)

**HR** – Harmina

**HR-H** – Espécie da molécula harmina - ligação de Hidrogénio

**HR-forte** –Espécie da molécula harmina - ligação de Hidrogénio forte

**HOMO** - Highest Occupied Molecular Orbital (Orbital molecular ocupado mais alto)

**HTAB** - Brometo de Hexadeciltrimetilamonia

**I** - Intensidade normalizada. Dados enviados para o `rsp.spectrum` e depois o máximo é normalizado para 100%.

**IQ** – 2-amino- 3-metilimidazo[4,5-f] quinoline

**LESS** - Lin Electronic Spectroscopy System (Sistema Espectroscópico Eletrônico Lin)

**LTMB** - Laboratório de Tecnologia de Moléculas Bioativas

**LUMO** - Lowest Unoccupied Molecular Orbital (Orbital molecular não ocupado mais baixo)

**MAO** - Monoamina oxidase

**MCH** – Metilciclohexano

**MOB** – Moléculas Orgânicas Bioativas

**NH** – Norharmana

**PPP** - Pariser Parr Pople

**P.-** Fosforescência

**SDL** – Sulfato dodecil de Lítio

**TOM** - Teoria do Orbital Molecular

**Triton X-** t-octylfenoxipolietoxietanol

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura molecular Cumarina 1,2 Benzopirona-2-one-4 Hidroxi C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub> . Destaque nas posições 3 e 4.....	20
Figura 2 Espectro de emissão da molécula 7,8-dihydroxi-4-metilcumarina sob $\lambda_{exc} = 320nm$ utilizada para a detecção da ação enzimática catecol- o-metiltransferase. (QUIAN et al., 2016).....	21
Figura 3 Estrutura molecular 3-2 (dietilamina) etil [ -7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona] DEHMC. Destaque I Anel benzênico e II anel pirônico.....	22
Figura 4 Infravermelho: a) Cumarina b) DEHMC.HCl sólido em KBr Destaque na Região de 2500 – 2800 cm <sup>-1</sup> . .....	22
Figura 5 Emissão dos derivados do DEHMC em metanol (C=2,5 10 <sup>-6</sup> mol/L-1, $\lambda_{ex} = 315 nm$ ) (ÇIFTÇI et al., 2015). .....	23
Figura 6 Estrutura do 9H-pirido [3,4-b] indol .....	24
Figura 7 Estrutura molecular da Harmina e Harmalina .....	25
Figura 8 Classe dos Neurotransmissores (Mescalina, Adrenalina, Serotonina) e da Harmina .....	26
Figura 9 Espectros de $\beta$ -carbolinas: (a) e (b) espectros de absorção de formas neutras e catiônicas; (c) e (d) espectros de fluorescência ( $\lambda$ excitação 337 nm) das formas neutra e catiônica sendo que: Ha- Harmana, Hi – Harmina e NorH é a Norharmana (VARELA et al., 2001). .....	27
Figura 10 a) Estrutura do 9H-pirido [3,4-b] indol. - Harmana. Em destaque I (Anel benzeno ), III- Anel Piridina e II Anel Pirona; b) Estrutura molecular da Harmina, 7- metoxi-1-metil-b-carbonila (C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O).....	28
Figura 11 a) Infravermelho da Harmina base livre b) Infravermelho da Harmina. HCl sólido em KBr. Destaque na Região de 2500 – 2800 cm <sup>-1</sup> .....	29
Figura 12 Emissão da 1,3 10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> : Harmina (----) em metanol e (—) em ácido clorídrico a 77K $\lambda_{exc} = 337nm$ Fonte: (DIAS et al., 1992).....	30
Figura 13 Aminas Heterocíclicas Aromáticas: a) pirólise das AHAs; b) aminoimidazoareno (MATTHIEU et al., 2017). .....	31
Figura 14 Estrutura da molécula 9-(4'-aminofenil) -9h-pirido[3,4-b]índole adaptado de(TOTSUKA, 2002).....	33
Figura 15 Estruturas moleculares do APNH e derivados: (I) 9-(4'- Aminofenil)- 9H-pirido[3,4-b]índole (Aminofenilnorharmana)(APNH, (II) 9-(4'-Amino-3'metilfenil)9H-pirido[3,4-b] índole(Amino-3'-metilfenilnorharmana,3'AMPNH). (III) 9-(4'- Amino-3'metilfenil) – 9 (IV)9-(4'-metilfenil-1-metil9H-pirido [3,4-b]índole (Aminometilfenilnorharmana, APH. (V) 9-(4'-Amino-3'metilfenil)-1-metil 9H-pirido[3,4-b]índole(Aminofenilnorharmana, AMPH.....	34
Figura 16 Formação do mutagênico APNH a partir da norharmana reagindo com a anilina na presença da mistura S9 e seus processos de ativação metabólica para indução da mutação em cepas da “ <i>Salmonella</i> ”. A molécula sem legenda é o Hidroxi-APNH (ODA et al., 2006).....	35
Figura 17 Espectros Teóricos do APNH em DFT 6- 31G** (REIS et al., 2014) a) APNH em Vácuo b) APNH em Etanol e c) APNH em água d) Espectro experimental em água (TOTSUKA, Y. et al, 1998). .....	38
Figura 18 Os tipos de orbitais moleculares HOMO → LUMO .....	39
Figura 19 Possíveis arranjos para os níveis energéticos para uma molécula com seis elétrons .....	41
Figura 20 Diagrama I: Possíveis transições para o caso I (átomo com seis elétrons) (VALEUR, 2001) .....	42
Figura 21 Diagrama II: energético para o Segundo caso (seis elétrons) (VALEUR, 2001).....	43
Figura 22 Esquema representativo das transições (n, $\pi^*$ ) e ( $\pi$ , $\pi^*$ ) a) Transição (n, $\pi^*$ , fora do plano, dipolo magnético); b) Transição ( $\pi$ , $\pi^*$ , polarização no plano, dipolo elétrico).....	44
Figura 23 Curvas de energia potencial em função da configuração nuclear: à esquerda b → a Configuração nuclear X Energia na Absorção; À direita a → b Configuração nuclear X Energia na	

Emissão. Abaixo o Diagrama de Energia potencial com transições eletrônicas verticais, forma das bandas .....	45
Figura 24 Diagrama de Jablonski (TURRO, 1978) .....	47
Figura 25 Conversão Interna (McGLYN <i>et al.</i> , 2000).....	48
Figura 26 O Cruzamento intersistemas (McGLYN <i>et al.</i> , 2000) .....	49
Figura 27 Acoplamento spin orbital (HSO): a) Caso I; b) Caso II (VALEUR, 2001).....	50
Figura 28 Efeito do Solvente: Alterações nos níveis de energia dos estados eletrônicos com a mudança do solvente de hidrocarboneto para hidrofílico ( $\Delta E_3 > \Delta E_1 > \Delta E_2$ ) (LAKOWICZ, 1999) .....	51
Figura 29 a) Formação da micela após atingir a concentração micelar crítica (CMC) b) Micelas com carga neutra (0), negativa (aniônica, -), positiva (catiônica, +) e os pontos A, B, C e D indicam as possibilidades de interação do substrato e a micela; Ponto A- fora da micela, ponto B próximo a superfície e fora da micela, ponto C dentro da micela na região hidrofílica e no ponto D é a região do núcleo onde é um meio hidrofóbico .....	54
Figura 30 Sistema Espectroscópico Lin de emissão a baixa temperatura: 1- Fonte de energia. 2- Fonte de Luz . 3- Monocromador 1 ( $\lambda_{exc} = 313nm$ ) 4- Porta amostra (Dewar óptico- Tubo de quartzo); 5- Monocromador 2 com fotomultiplicador acoplado 6- Pontenciômetro 7- Computador com o software LIN ® controlando o sistema espectroscópico. ....	63
Figura 31 Moléculas; a) DEHMC base livre b) DEHMC protonada; c) DEHMC ligada ao Etanol d) Harmina Base Livre e) Harmina protonada f) Harmina ligada ao Etanol g) APNH h) APNH ligado ao Etanol.....	65
Figura 32 Espectro Experimental de Absorção UV do DEHMC Hidroclorada 1. $10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> em água (linha preta). Espectro Experimental de Absorção UV do DEHMC 1. $10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> em Etanol (linha vermelha). Realizada em triplicata. ....	66
Figura 33 Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC simulação em vácuo sendo que os máximos de cada banda: a) A1 b) A2 c) Ombro de A2.....	69
Figura 34 Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC simulação em vácuo das bandas: a) B; b) C. ....	70
Figura 35 Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC simulação em etanol a) Banda A b) Banda A2 c) Banda B .....	72
Figura 36 Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC simulação em etanol correspondendo aos máximos de cada banda a) C; b) D.....	73
Figura 37 Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC+ simulação em água sendo que os máximos de cada banda referente à banda A e b) Banda B.....	76
Figura 38 Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC+ simulação em água sendo que os máximos de cada banda referente: a) Ombro: HOMO-1 → LUMO b) Banda C: HOMO -2 → LUMO , c) Banda D: HOMO → LUMO + 9. ....	77
Figura 39 Espectro Teórico do DEHMC simulado em :a) vácuo b) ligado e em etanol c) protonado em água. Orbitais referente a transição HOMO → LUMO quando simulado em :a1) vácuo, b1) ligado e em etanol e c1) protonado e em água. ....	78
Figura 40 Ângulos formados pelos átomos C2, C3 e C11 calculados em simulação DHEMC em: a) vácuo b) etanol e c) água.....	80
Figura 41 Mapa de potencial eletrostático do DEHMC calculado DFT em a) Vácuo b) Etanol c) DEHMC+ em Água.....	80
Figura 42 Espectro de emissão do DEHMC $10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> em a) etanol b) etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol c) em água. ....	82
Figura 43 Esquema fotofísico do DEHMC: a) DEHMC vácuo b) DEHMC etanol c) DEHMC água ..	85
Figura 44 Emissão ( $\lambda_{exc} = 313$ nm) da desprotonação do DEHMC hidroclorada água/etanol a) Temperatura ambiente b) Temperatura a 77k. Solução DEHMC $1. 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> água mais respectivamente: 0% etanol – linha verde , 0,1% etanol --- linha azul , 0,5% etanol --- linha vermelha ; 5% etanol --- linha cinza e em 100% em etanol – linha lilás .....	87

Figura 45 Emissão $\lambda_{exc}= 313\text{nm}$ do DEHMC em Hexafluoro-2-propanol, solução tampão e em Micelas; --- linha lilás DEHMC $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão pH 7 a 77k, --- linha azul DEHMC $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em Triton X pH a 77k, --- linha vermelha DEHMC $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em sulfato dodecil de lítio em pH 7 a 77k, ---- linha verde DEHMC $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em HTAB em pH7 a77k, ---- linha cinza DEHMC a $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol .....	89
Figura 46 Espectros de absorção da Harmina base livre e hidrocloreada na concentração $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em: (azul) metilciclohexano, (preto) etanol e em (vermelho) água.....	90
Figura 47 Transições eletrônicas da Harmina simulada em vácuo. a) HOMO $\rightarrow$ LUMO b) HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO c) HOMO -1 $\rightarrow$ LUMO+2.....	93
Figura 48 Transições eletrônicas da Harmina simulada em vácuo. a) HOMO $\rightarrow$ LUMO+4; b) HOMO-4 $\rightarrow$ LUMO.....	94
Figura 49 Transições eletrônicas da Harmina simulada em etanol. a) Banda A: HOMO $\rightarrow$ LUMO b) Banda B: HOMO -1 $\rightarrow$ LUMO c) Banda C: HOMO $\rightarrow$ LUMO + 1 d) Banda D: HOMO $\rightarrow$ LUMO + 3 .....	96
Figura 50 Transição eletrônica da Harmina simulada em etanol referente ao máximo da Banda E: HOMO $\rightarrow$ LUMO + 8.....	97
Figura 51 Transições eletrônicas da Harmina simulada em água. a) Banda A: HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO b) Banda B: HOMO $\rightarrow$ LUMO c) Banda C: HOMO - 1 $\rightarrow$ LUMO +1.....	99
Figura 52 Orbitais referente a transição com intensidade máxima da Banda D (HOMO - 4 $\rightarrow$ LUMO)- Harmina em água .....	100
Figura 53 Espectros Experimentais UV/VIS (linha vermelha), espectros teóricos (linha preta) do Harmina e orbitais referente a transição S1 : a) Espectro experimental em metilciclohexano e teórico em vácuo; a1) Orbitais referente a Banda A- simulação em vácuo; b) espectro experimental e teórico em etanol; b1) Orbitais referente a banda A- simulação em etanol; c) espectro experimental e teórico em água, c1) Orbitais referente a Banda A- simulação em água .....	102
Figura 54 Esquema fotofísico da Harmina a) Harmina vácuo b) Harmina Etanol c) Harmina água... 103	
Figura 55 Mapa de potencial eletrostático calculado da Harmina simulado em: a) vácuo 4,19 Debye b) ligado ao etanol com dipolo de 6,99 Debye c) harmina protonada com dipolo de 10,57 Debye .....	104
Figura 56 Espectros de emissão da Harmina em: a) $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ metilciclohexano a 77k b) $1.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ em etanol c) $1.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ em água d) $1.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ácido sulfúrico.....	106
Figura 57 Desprotonação da Harmina água/Etanol. Acima à temperatura ambiente a) (294K) e abaixo à temperatura de 77K com excitação $\lambda_{exc}=313 \text{ nm}$ (eixo x de 350 nm a 600 nm) b) . Especificações: Harmina HCl $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em água – linha lilás ; Harmina HCl $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ água e 0,1% Etanol – linha verde ; Harmina HCl $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ água 0,5% Etanol – linha azul ; Harmina HCl $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ água 5% Etanol – linha vermelha; Harmina HCl $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em 100 % etanol – linha preta .....	108
Figura 58 Emissão a $\lambda_{exc}= 313\text{nm}$ da Harmina HCl a 77K em : a) em micela neutra- linha vermelha ; micela aniônica – linha preta , micela catiônica- linha azul ; sem solução tampão pH 7- linha verde . Figura b) Harmina em metilciclohexano – linha preta ;em Etanol – linha vermelha ;Etanol mais HFIP – linha verde ; em água – linha azul .....	109
Figura 59 Espectro Experimental de Absorção UV /VIS do APNH $10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$ : Vermelho em Metilciclohexano. Preto em etanol com bandas assinaladas. Azul em água. Azul claro em Etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol .....	112
Figura 60 Espectro Teórico simulação em vácuo (linha preta) e espectro experimental UV/VIS do APNH em metilciclohexano (linha vermelha) .....	115
Figura 61 Orbitais Moleculares referente as transições eletrônicas do APNH simulação em vácuo referente as transições com maiores intensidades das bandas A, B e C respectivamente; a) HOMO $\rightarrow$ LUMO, b) HOMO-2 $\rightarrow$ LUMO, c) HOMO $\rightarrow$ LUMO+3 .....	117

Figura 62 Orbitais Moleculares referente às transições eletrônicas do APNH simulação em vácuo referente às transições dos máximos da banda D, E respectivamente; a) HOMO-1 → LUMO+2, b) HOMO → LUMO+4.....	118
Figura 63 Espectro Teórico (linha preta) DFT do APNH ligada a carbonila do Etanol e em etanol ( sf 0,2 H 8 ) ; b) espectro experimental (linha vermelha) UV/VIS APNH 10 <sup>-4</sup> mol. L <sup>-1</sup> em Etanol .....	119
Figura 64 Orbitais Moleculares referente as transições eletrônicas do APNH ligado ao Etanol (Banda A, B e C respectivamente) ; a) HOMO → LUMO, b) HOMO-1 → LUMO, c) HOMO → LUMO+2 .....	121
Figura 65 Orbitais Moleculares referente as transições eletrônicas do APNH ligado ao Etanol (Banda D, E e F respectivamente) ; a) HOMO → LUMO+3, b) HOMO-1 → LUMO+2, c) HOMO-1 → LUMO+5 .....	122
Figura 66 Esquema fotofísico do APNH em: a) vácuo b) etanol.....	124
Figura 67 Mapa de potencial eletrostático do APNH e em destaque o diedro formado pelos átomos (C10, N9, C14, C19) ; a) 5,37 Debye em vácuo b) 6,6 Debye em simulação ligado a molécula de etanol ..	124
Figura 68 Orbitais do APNH da transição eletrônica entre os orbitais HOMO-1 → LUMO +2.....	125
Figura 69 Orbitais do APNH referente a transição eletrônica entre HOMO → LUMO +3 referente a banda D.....	126
Figura 70 Comparação dos espectros da Anilina (— preto), Norharmana (— vermelho),e o APNH (— azul) a concentração 1. 10 <sup>-4</sup> mol. L <sup>-1</sup> . a) emissão a 77K (λ <sub>exc</sub> =313nm) b) absorção UV/VIS 190 a 400 nm .....	127
Figura 71 Espectros UV/VIS do APNH em etanol (— preto), APNH em etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol (— vermelho),e a Anilina ( — marrom ) a concentração 1 . 10 <sup>-4</sup> mol. L <sup>-1</sup> ..	128
Figura 72 Espectro de emissão do 1.10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> APNH a 77K (λ <sub>exc</sub> =313 nm) em: a) metilciclohexano b)etanol c) água.....	129
Figura 73 Emissão do APNH em Etanol (λ <sub>exc</sub> =313nm); a) 1.10 <sup>-3</sup> mol.L <sup>-1</sup> b) 1.10 <sup>-4</sup> mol.L <sup>-1</sup> .....	130
Figura 74 Efeito do Átomo Pesado no APNH; Emissão do APNH 2,5 10 <sup>-4</sup> mol. L <sup>-1</sup> em Etanol λ <sub>exc</sub> =313 nm( preto) e Emissão do APNH 2,5 10 <sup>-4</sup> mol. L <sup>-1</sup> em Etanol mais duas gotas de Bromopentano λ <sub>exc</sub> =313 nm (vermelho).....	131
Figura 75 Espectro de emissão do 1.10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> APNH a 77K em: -- linha marron micela neutra, --- linha laranja micela aniônica, --- linha azul escuro micela catiônica, ---- linha azul claro APNH em etanol mais hexafluoro-2-propanol, --- linha verde APNH em solução tampão pH7, --- linha vermelha PNH em metilciclohexano.....	132

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Energias de excitação, E (eV), singleto, S <sub>j</sub> (tipo $\pi \pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), calculados e observados do espectro da APNH em água. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude. D(68)=HOMO, V(1)=LUMO referente ao cálculo DFT 6-31+ G** (REIS <i>et al.</i> , 2014). ..37	37
Tabela 2 - Soluções Preparadas para o estudo do DEHMC .....	59
Tabela 3 - Soluções preparadas para o estudo da Harmina .....	60
Tabela 4 - Soluções preparadas para o estudo do APNH.....	61
Tabela 5 - Principais energias de excitação, E (ev), singleto, S <sub>1</sub> (tipo n, $\pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), dos espectros do DEHMC calculado. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados em simulação em vácuo. * I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o <i>rsp.spectrum</i> e depois o máximo é normalizado para 100%) .....	68
Tabela 6 - Energias de excitação, E(ev), <i>singleto</i> , S <sub>1</sub> (tipo $\pi$ , $\pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), ..	71
Tabela 7 - Energias de excitação, E (ev), singleto, S <sub>1</sub> (tipo $\pi$ , $\pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), dos espectros do DEHMC+ (água) oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados B3LYP 6-31+ G*. Monocátion em água. *I. (Intensidade normalizada após os dados irem para o software <i>rsp.spectrum</i> ). .....	75
Tabela 8 - Valores dos cálculos teóricos DFT do DEHMC simulação em vácuo (referência), etanol e em água com valores relativos ao deslocamento (desloc.). Os valores de referência são os picos máximos do espectro teórico com simulação em vácuo.....	79
Tabela 9 - Tabela de cargas (Natural) do DEHMC em simulação em vácuo, etanol e protonada em água .....	81
Tabela 10 Principais energias de excitação, E(ev), <i>singleto</i> , S <sub>1</sub> (tipo n, $\pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), dos espectros da Harmina calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em vácuo. * I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o <i>rsp.spectrum</i> e depois o máximo é normalizado para 100%).....	92
Tabela 11 Principais energias de excitação, E(ev), <i>singleto</i> , S <sub>1</sub> (tipo n, $\pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), dos espectros da Harmina calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em etanol. * I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o <i>rsp.spectrum</i> e depois o máximo é normalizado para 100%).....	95
Tabela 12 Principais energias de excitação, E(ev), <i>singleto</i> , S <sub>1</sub> (tipo $\pi$ , $\pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), dos espectros da Harmina calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em água. * I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o <i>rsp.spectrum</i> e depois o máximo é normalizado para 100%).....	98
Tabela 13 O efeito solvente na (a) Picos (nm) (b) Deslocamento das bandas em simulações: Dados teóricos - vácuo (referencial), etanol e água. (c) intensidade relativa. Valores experimentais abaixo do teórico e em parênteses. ....	101
Tabela 14 Principais energias de excitação, E(ev), <i>singleto</i> , S <sub>1</sub> (tipo n, $\pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), dos espectros do APNH calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em vácuo.....	116
Tabela 15 Principais energias de excitação, E(ev), <i>singleto</i> , S <sub>1</sub> (tipo n, $\pi^*$ ), e o comprimento de onda, $\lambda$ (nm), dos espectros do APNH calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em etanol.....	120
Tabela 16 Efeito do Solvente (dados teóricos e experimentais entre parênteses ) APNH em metilciclohexano, Etanol e Etanol mais duas gotas de hexafluoro.2-propanol (HFIP). Absorções (nm). Intensidade Relativas, deslocamento das bandas, efeito na intensidade relativa.....	123

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	17
<i>Objetivos</i> .....	19
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	20
<b>2.1 DEHMC</b> .....	20
<i>2.1.1 Dados da “Família” da molécula DEHMC: Cumarinas</i> .....	20
<b>2.2 HARMINA</b> .....	24
<i>2.2.1 Dados da “Família” da molécula Harmina: As <math>\beta</math>-Carbolinas</i> .....	24
<i>2.2.2 Harmina (7- metoxi-1-metil-<math>\beta</math>-carbonila [3,4-b] índole) características físico químicas e atividade biológica</i> .....	28
<b>2.3 APNH</b> .....	31
<i>2.3.1 A “família” da molécula APNH: Aminas Heterocíclicas Aromáticas</i> .....	31
<b>3. ASPECTOS TEÓRICOS EM ESTUDO FOTOFÍSICO E FOTOQUÍMICO</b> .....	38
<b>3.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO</b> .....	39
<b>3.2. ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO</b> .....	41
<b>3.3. PROCESSOS FOTOFÍSICO DE DESATIVAÇÃO</b> .....	44
<i>3.3.1 Fluorescência</i> .....	44
<i>3.3.2 Fosforescência</i> .....	46
<i>3.3.3 Conversão Interna</i> .....	48
<i>3.3.4 Cruzamento Intersistemas</i> .....	49
<b>3.4 EFEITO DO SOLVENTE NOS PROCESSOS FOTOFÍSICOS</b> .....	51
<b>3.5. EFEITO DO ÁTOMO PESADO</b> .....	52
<i>3.5.1. Processos de Transferência de Carga Eletrônica</i> .....	53
<i>3.5.1.1 Micelas</i> .....	53
<b>3.6 QUÍMICA TEÓRICA E MÉTODOS COMPUTACIONAIS</b> .....	55
<b>4. PROCESSO METODOLÓGICO</b> .....	57
<b>4.1 VIA EXPERIMENTAL</b> .....	57
<i>4.1.1 Reagentes Utilizados</i> .....	57
<i>4.1.2 Equipamentos Utilizados</i> .....	58
<i>4.1.4 Preparo da solução para analisar o efeito do átomo pesado</i> .....	61
<i>4.1.5 Absorção</i> .....	61
<i>4.1.6 Espectroscopia de Emissão</i> .....	61
<b>4.2 2 PROTOCOLOS DOS CÁLCULOS TEÓRICOS</b> .....	64
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	66
<b>5.1 DEHMC</b> .....	66
<i>5.1.2 Cálculos Teóricos do DEHMC</i> .....	67



5.1.4	<i>Espectro de Emissão do DEHMC</i> .....	81
5.1.5	<i>Dinâmica de protonação e desprotonação do DEHMC</i> .....	85
5.2	<b>HARMINA</b> .....	90
5.2.1	<i>Espectro de Absorção UV-VIS da Harmina e Cálculos Teóricos da Harmina</i> .....	90
5.2.2	<i>Espectro de Emissão da Harmina a 77K</i> .....	105
5.2.3	<i>Dinâmica de protonação e desprotonação da Harmina Água/Etanol</i> .....	107
5.2.4	<i>Estudo fotofísico da Harmina em soluções micelares neutras e carregadas</i> .....	108
5.3	<b>APNH</b> .....	112
5.3.1	<i>Espectro UV/VIS do APNH e cálculos teóricos</i> .....	112
5.3.1.1	<i>Efeito do solvente no espectro de absorção UV/VIS da molécula APNH</i> .....	112
5.3.2	<i>Cálculos Computacionais referentes à molécula APNH</i> .....	114
5.3.3	<i>Análise dos espectros de absorção e emissão do APNH em relação as moléculas Anilina e Norharmana solubilizados em etanol</i> .....	126
5.3.4	<i>Espectros de emissão do APNH</i> .....	129
5.3.5	<i>Efeito do átomo pesado no APNH dissolvido em etanol</i> .....	131
5.3.6	<i>Solubilização de espécies do APNH em soluções Micelares neutras e carregadas</i> .....	132
6.	<b>CONCLUSÕES</b> .....	134
6.1.	<i>As espécies do DEHMC em vizinhanças hidrofóbicas e hidrofílicas e a sua solubilização em micelas neutras e carregadas</i> .....	134
6.2.	<i>As espécies da Harmina em vizinhanças hidrofóbicas e hidrofílicas e a sua solubilização em micelas neutras e carregadas</i> .....	135
6.3	<i>As espécies do APNH em vizinhanças hidrofóbicas e hidrofílicas e a sua solubilização em micelas neutras e carregadas</i> .....	137
	<b>REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO</b> .....	139

## 1. INTRODUÇÃO

As moléculas orgânicas bioativas MOB possuem diversas propriedades biológicas e fotofísicas e seu campo de aplicação se estende tanto na física em biossensores fluorométricos em sistemas laser corantes (CHEN *et al.*, 2018; ABHA *et al.*, 2019; DONGJIAN *et al.*, 2019, WANG *et al.*, 2019 BRANCKMANN, 1986), quanto na medicina em terapias médicas, uso farmacêutico, fototerapia e fotoquimioterapia, (PATHAK *et al.*, 1992, DOLMANS *et al.*, 2003, HENDERSON *et al.*, 1992).

Apesar das pesquisas feitas também nas áreas da bioquímica, biológica, neuroquímica e outras, ainda são difíceis à determinação, no nível molecular, das dinâmicas e do mecanismo das interações específicas entre as MOB e os materiais biológicos.

Porém, atualmente com a disponibilidade das sondas espectroscópicas, esses estudos de interações específicas podem ser feitos, substituindo os materiais biológicos por modelos de membranas.

O estudo com essas pseudomembranas tem possibilitado uma melhor investigação da dinâmica da interação molecular (PATIL *et al.*, 2019, PAUL *et al.*, 2012; DUARTE *et al.*, 2008)

Sabe-se que a membrana biológica é composta principalmente, por lipídeos e proteínas e aqui serão investigadas apenas as interações entre as sondas fluorescentes e os lipídeos. A micela, que é um exemplo das membranas biológicas, foi o sistema escolhido, uma vez que esses agregados lipídicos são constituídos por um grupo com cabeça polar (cargas ou positiva, ou negativa, ou neutra) e um núcleo hidrofóbico.

A superfície carregada das micelas será útil para o entendimento da solubilização das sondas fluorescentes para o interior da micela e as propriedades fotofísicas das sondas solubilizadas, serão úteis para o entendimento das interações entre essas sondas espectroscópicas e as micelas.

A empregabilidade destes compostos bioativos é viabilizada por uma combinação de estudos estruturais químicos e testes intensivos que envolvem a conformidade das moléculas e suas propriedades físicas, destacando melhor as análises de interação com o organismo e a determinação da espécie ativa.

O empenho em busca de resultados confiáveis tem aproximado os resultados teóricos e químicos experimentais. As propriedades eletrônicas como espectro de absorção e emissão são bem estudadas com a mecânica quântica (DUARTE, 2001; TAKAHATA, Y e CHONG,

2012). Softwares como o Spartan 16<sup>®</sup> que utilizam cálculos quânticos auxiliam os estudos em nível molecular, pois esse é composto por uma série de módulos independentes ligados através de uma interface gráfica.

A pesquisa teve como objetivo analisar através de sondas espectroscópicas em conjunto com cálculos da mecânica quântica, três moléculas com propriedades biológicas distintas; DEHMC (3-2 (dietilamina) etil[ -7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona) pertencente à família das Cumarinas, Harmina pertencente às  $\beta$ -carbolinas e por último a aminofenilnorharmana (APNH) um potente carcinogênico da família das Aminas Heterocíclicas Aromáticas.

O DEHMC exerceu atividade antifúngica *in vitro* contra o fungo *Candida albicans* (KOKIL *et al.*, 2010). A molécula Harmina destaca-se por sua atividade antitumoral significativa já conhecida entre as  $\beta$ -carbolinas (WANG *et al.*, 2015; CHEN *et al.* 2005, SOBHANI *et al.*, 2002) e também conhecido principalmente por sua ação alucinógena, vaso relaxante e outras diversas atividades biológicas (BERROUGUI & CARMEN MARTÍN-CORDERO, 2006; KJELLEN *et al.*, 2009).

Por fim a estrutura molecular em foco foi um novo mutagênico/carcinogênico 9- (4-Aminofenil) -9-H-pirido´3,4-b indol ou aminofenilnorharmana - APNH, um potente carcinogênico/mutagênico *in vitro* e *in vivo* (TOTSUKA *et al.*, 2002) para ratos e mamíferos (NISHIGAKI *et al.*, 2007).

A utilização de sondas fluorescentes que possam existir em regiões hidrofóbicas e hidrofílicas, dará uma larga faixa de caracterização no estudo das moléculas DEHMC, Harmina e APNH.

Reunindo todos os resultados dessa pesquisa, será possível esclarecer a nível molecular o transporte da espécie ativa através da membrana e ter uma ideia da base molecular da ação farmacológica de cada MOB estudada e demonstrar que a espectroscopia de emissão é uma técnica muito sensível para atuar como um meio direto, na caracterização das espécies ativas e seus sítios de solubilização.

## **Objetivos**

### **1.1 Geral**

O foco dessa pesquisa é examinar a interação direta entre as moléculas bioativas e as regiões hidrofóbicas e hidrofílicas do sistema pseudomembrana, experimentalmente e teoricamente, as interações entre as MOB e a pseudomembrana.

As MOB's escolhidas são: DEHMC a cumarina com derivação na amina terciária, a  $\beta$  – carbolina Harmina (derivada do benzopirrol) e a aminofenilnorharmana APNH.

### **1.2 Específicos**

- 1 - Examinar as interações das MOB's com vários solventes.
- 2 - Examinar detalhadamente a solubilização e as interações das sondas fluorescentes com a pseudomembrana.
- 3- Determinar para cada sonda solubilizada para o interior da micela, o tipo de sítio associativo e como a espécie em ação está ancorada.
- 4 - Utilizar os cálculos teóricos usando o método de orbitais moleculares DFT (teoria do funcional de densidade) para auxiliar a interpretação dos resultados obtidos em todas as etapas.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 DEHMC

#### 2.1.1 Dados da “Família” da molécula DEHMC: Cumarinas

As cumarinas (Figura 1) encontradas em uma diversidade de plantas, sendo que as Famílias mais citadas na literatura são *Apiaceae*, *Rutaceae*, *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Oleaceae*, *Moraceae* e *Thymeleacea* (JAIN, 2012; AMARAL *et al.*, 2009).

Essas substâncias possuem diversos estudos em sistemas biológicos que constataram atividades biológicas como: anticoagulante (SIBBING *et al.*, 2010), vasodilatadora (VILAR *et al.*, 2006), propriedades anticarcinogênicas (PARSON 1980; EDENHARDER *et al.*, 1995).

Constatou-se uma forte atividade *in vivo* como inibidores de peroxidação lipídica da membrana (RAJ *et al.*, 1998), antioxidantes fenólicos (KANEKO *et al.*, 2003), e antimutagênicas (MIRI *et al.*, 2016). Devido a isso o interesse na aplicação na biomedicina e em pesquisas de físico-químicos por suas conhecidas propriedades foto físicas; biossensor para detecção de glucose (KATAOLKA *et al.*, 1995).

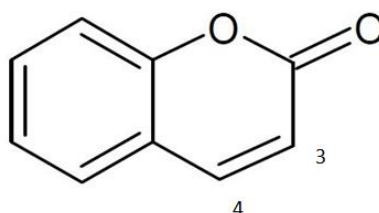


Figura 1 Estrutura molecular Cumarina 1,2 Benzopirona-2-one-4 Hidroxi C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>. Destaque nas posições 3 e 4

A análise vibracional da fosforescência de várias cumarinas, nas temperaturas 12 K e 77 K mostraram que o estado emissor ( $\pi, \pi^*$ ) está parcialmente localizado na ligação C3 = C4 no anel da pirona. (MANTULIN; SONG, 1973).

Estudos espectroscópicos experimentais e teóricos com a cumarina 1,2 benzopirona concluíram que a espécie base livre interage com a região molecular onde está a ligação do carbono três e quatro (C3 = C4) da cumarina no interior da micela, mostrando que o espectro em micela aniônica e catiônica se assemelha com o espectro de emissão em metilciclohexano (MARQUES; MARQUES, 1994).

As cumarinas por suas propriedades fotofísicas têm sua aplicação estendida no uso de sensores fluorométricos. Um exemplo foi o estudo do comportamento de detecção da enzima catecol- o-metiltransferase através da cumarina 7,8-dihidroxi-4-metilcumarina.

Quian (2016) investigou a cumarina usando uma solução  $10 \text{ mol L}^{-1}$  desta cumarinas em solução purificada da enzima humana recombinante sob condições fisiológicas ( $50 \text{ m M Tris-HCl}$ ;  $\text{pH } 7,4$ ;  $37 \text{ }^\circ \text{C}$ ). Verificou-se que a intensidade da fluorescência localizada em  $520 \text{ nm}$  (Figura 2) aumentou gradualmente, exibindo uma boa linearidade sendo possível o seu uso na medição da atividade real da enzima alvo (QUIAN *et al.*, 2016).

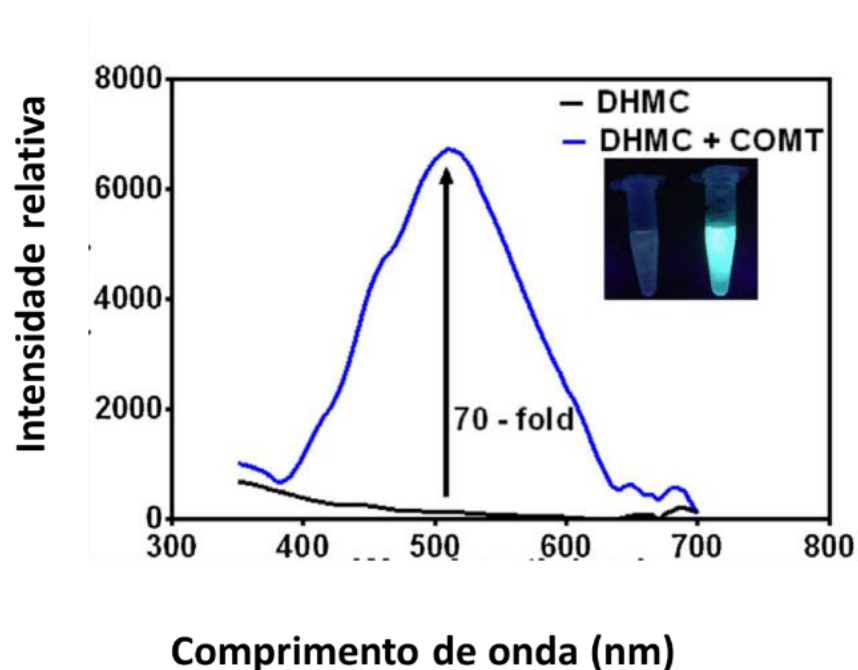


Figura 2 Espectro de emissão da molécula 7,8-dihydroxi-4-metilcumarina sob  $\lambda_{exc}= 320\text{nm}$  utilizada para a detecção da ação enzimática catecol- o-metiltransferase. (QUIAN *et al.*, 2016).

### 2.1.2 A molécula 3, 2 (dietilamina) etil [-7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona] – DEHMC e suas características físico químicas e ação biológica

O DEHMC tem as seguintes características: ponto de fusão entre 284 °C e 287 °C, massa molar 311,80 g/mol e apresenta boa solubilidade em água. O DEHMC está dentre as cumarinas heterocíclicas e possui o grupo benzopirona em sua estrutura (Figura 3).

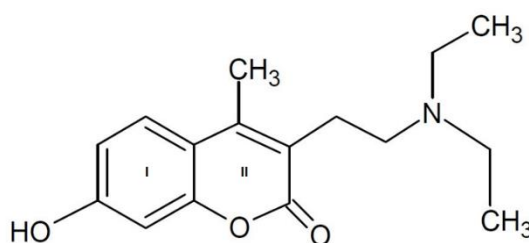


Figura 3 Estrutura molecular 3-2 (dietilamina) etil [-7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona] DEHMC. Destaque I Anel benzênico e II anel pirônico

A molécula  $C_{16}H_{21}NO_3 \cdot HCl$  (3-2 (dietilamina) etil [-7-hidroxi-4-metil-1,2-benzopirona]) - DEHMC (Figura 3) é derivada da molécula cumarina e a forma de monocátion (DEHMC +) possui protonação na amina terciária conforme infravermelho (Figura 4b).

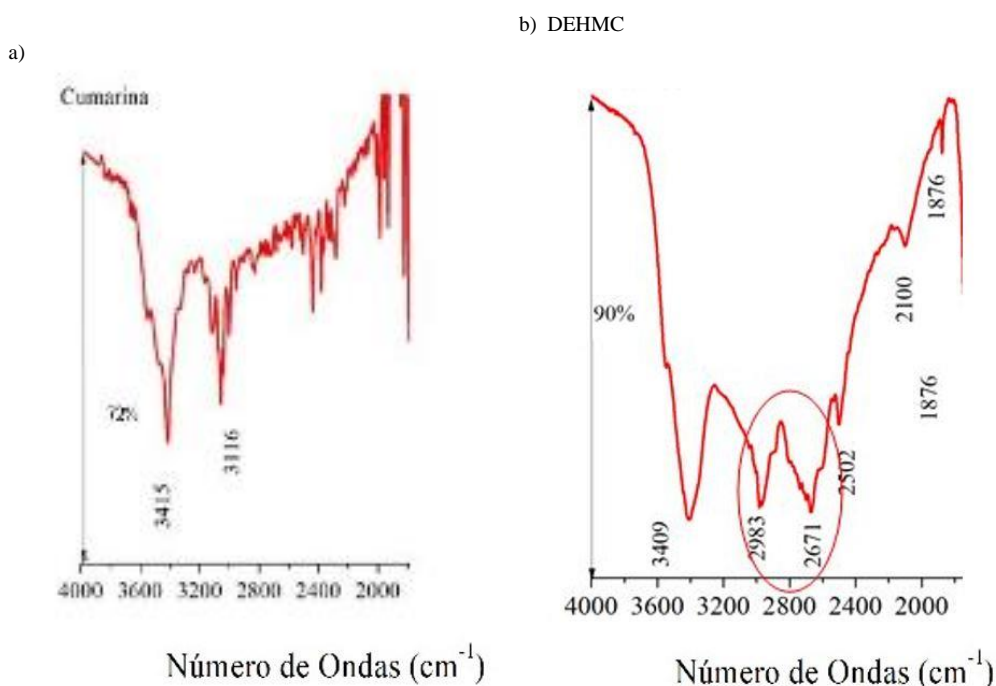


Figura 4 Infravermelho: a) Cumarina b) DEHMC.HCl sólido em KBr Destaque na Região de 2500 – 2800  $cm^{-1}$ .

O resultado do infravermelho (Figura 4) para as medidas realizadas da Cumarina (Figura 4a) e DEHMC (DEHMC.HCl) em brometo de potássio, (Figura 4 b). Verifica-se com mais destaque que a principal diferença está na faixa espectral 2500-2800  $\text{cm}^{-1}$  que é a banda correspondente (NH+) (LIN *et al.*, 1987; DOLPHIN & WICK, 1977) que está ausente no espectro da cumarina, evidenciando desta forma que a protonação ocorre na amina terciária.

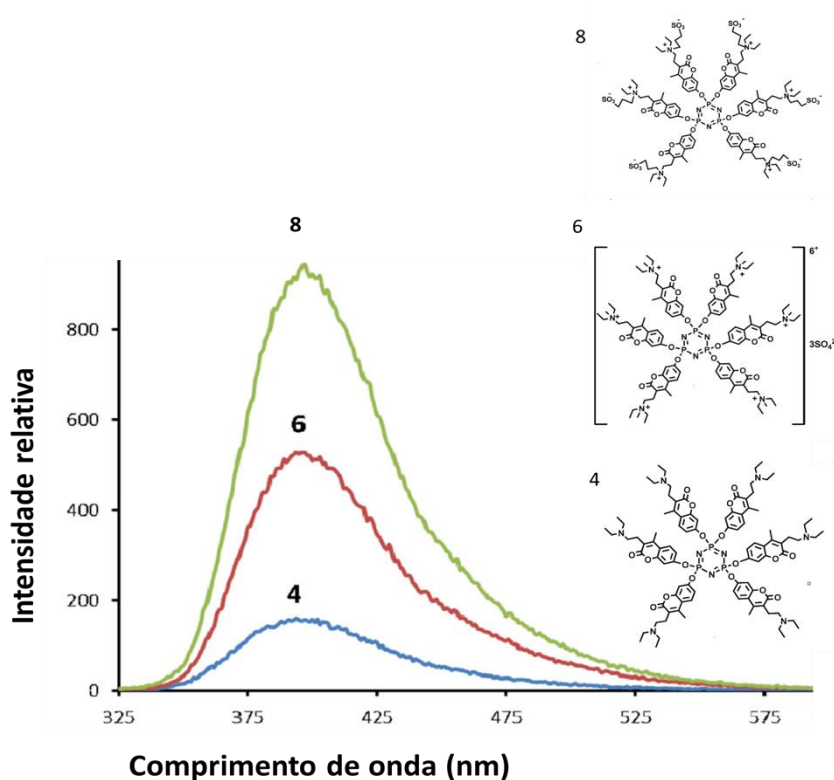


Figura 5 Emissão dos derivados do DEHMC em metanol ( $C=2,5 \cdot 10^{-6} \text{ mol/L}^{-1}$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 315 \text{ nm}$ ) (ÇİFTÇİ *et al.*, 2015).

Essa molécula fez parte da síntese da estrutura da molécula derivada da 1,2,4 triazole (CAKICI *et al.*, 2008) que exerceu atividade antifúngica *in vitro* contra o fungo *Candida albicans* (KOKIL *et al.*, 2010).



Os derivados do DEHMC foram utilizados para sintetizar um sensor químico fluorescente para detectar metais e apresentaram boa solubilidade em água constituindo um potencial sensor ambiental. A fluorescência neste sensor para os compostos derivados do DEHMC (emissão dos derivados do DEHMC enumerados 4, 6 e 8, (Figura 5) está localizada em aproximadamente em 395 nm em metanol conforme visualizado na Figura 5 (ÇİFTÇİ *et al.*, 2015).

O DEHMC possui um comportamento diferente de outras cumarinas (PLATT K. L, 1995) e descobriu-se que dentre 51 cumarinas testadas é uma das seis cumarinas que não apresenta atividade antimutagênica contra o 2-amino- 3-metilimidazo[4,5-f] quinoline (IQ) (EDENHARDER *et al*, 1995). Ainda são escassos os estudos com esta molécula daí a importância de mais análises para elucidar essas características peculiares.

## 2.2 HARMINA

### 2.2.1 Dados da “Família” da molécula Harmina: As $\beta$ -Carbolinas

As  $\beta$ -Carbolinas são alcalóides naturais por conter um ou mais heteroátomos de nitrogênio e são encontradas em plantas nas folhas, cascas, raízes e sementes (BRUICE, 2006). Essas substâncias pertencem ao grupo dos alcaloides indólicos e possuem uma estrutura 9H-pirido [3,4-b] indol (Figura 6). As  $\beta$ -Carbolinas destacam-se por seu efeito psicoestimulante e alucinógeno e apresentam grande potencial antidepressivo (GARCIA *et al.*, 2017).

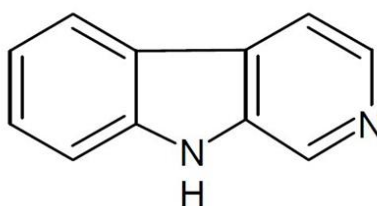
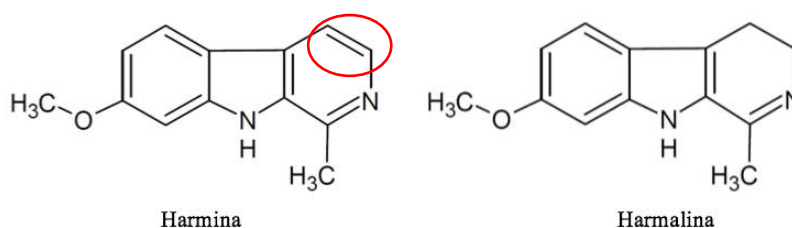


Figura 6 Estrutura do 9H-pirido [3,4-b] indol

Os derivados da  $\beta$ -Carbolinas podem ser encontrados em mais de 26 Famílias de plantas e na região Amazônica são encontrados na *Peganum Harmala* e a *Banisteriopsis Caapi*. O seu uso principal é na produção da bebida ayahuasca que está presente em cerimônias religiosas da tribo de índios amazônicos pela nação indígena quéchua do Peru e pelos índios Tupi no Brasil (KJELLGREN, 2009; DE SOUZA 2011).

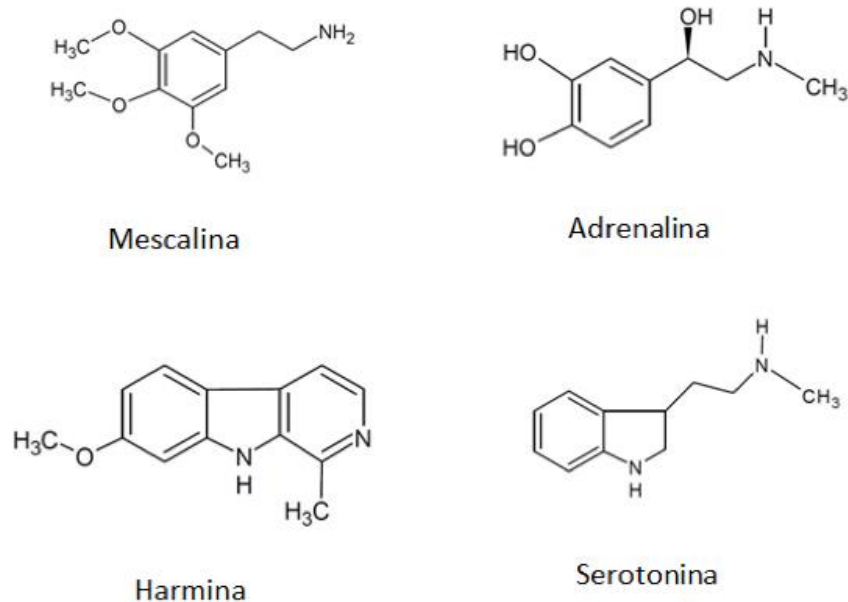
Esse grupo de substâncias detém diversas atividades biológicas comprovadas antimicrobicas, antivirais, anticonvulsivas, hipnóticas, vasorelaxantes, anti-HIV e antitumorais (PATEL *et al.*, 2012; WANG Y. *et al.*, 1988; CHEN *et al.* 2005, SOBHANI *et al.*, 2002). Estudo dos componentes presentes na espécie *Peganum Harmala* indicaram a presença da Harmina e da Harmalina (MUNIR *et al.*, 1995) ver (Figura 7).



**Figura 7 Estrutura molecular da Harmina e Harmalina**

As  $\beta$ -carbolicas são moléculas inibidoras da monoamina oxidase ligam-se a benzodiazepina, imidazolina, serotonina e receptores opiláceos (HERRAIZ *et al.*, 2010). A enzima monoamina oxidase (MAO) contém Flavina-Adenina-Dinucleotídeo (FAD) localizada na membrana externa da mitocôndria em neurônios, glia e outras células (YOU DIM *et al.*, 2004).

Essa enzima atua principalmente na degradação de várias monoaminas neurotransmissoras (serotonina, norepinefrina e dopamina) e neuromoduladoras ( $\beta$ -feniletilamina), assim como monoaminas bioativas exógenas (tiramina) (SHIH *et al.*, 1999).



**Figura 8** Classe dos Neurotransmissores (Mescalina, Adrenalina, Serotonina) e da Harmina

Os transmissores chamados de neurohormônios são classificados em (1) amins simpatomiméticas derivadas da tirosina (dopamina, adrenalina, noradrenalina, etc.); (2) indólicas: serotonina e derivados do triptofano e (3) acetilcolina e moléculas semelhantes (FONTANILLA et al., 2009; SU, 2009). Na Figura 8 verifica-se a semelhança da estrutura molecular da Harmina com a Serotonina.

A inibição da serotonina conduz a um aumento de atividade cerebral, devido a isso a Harmina possui grande potencial antidepressivo (GARCIA *et al.*, 2017). Existem muitos estudos que comprovam que a Harmina atua no sistema nervoso como exemplo: facilita a transmissão de receptores dopaminérgicos (FARZIN *et al.*, 2011).

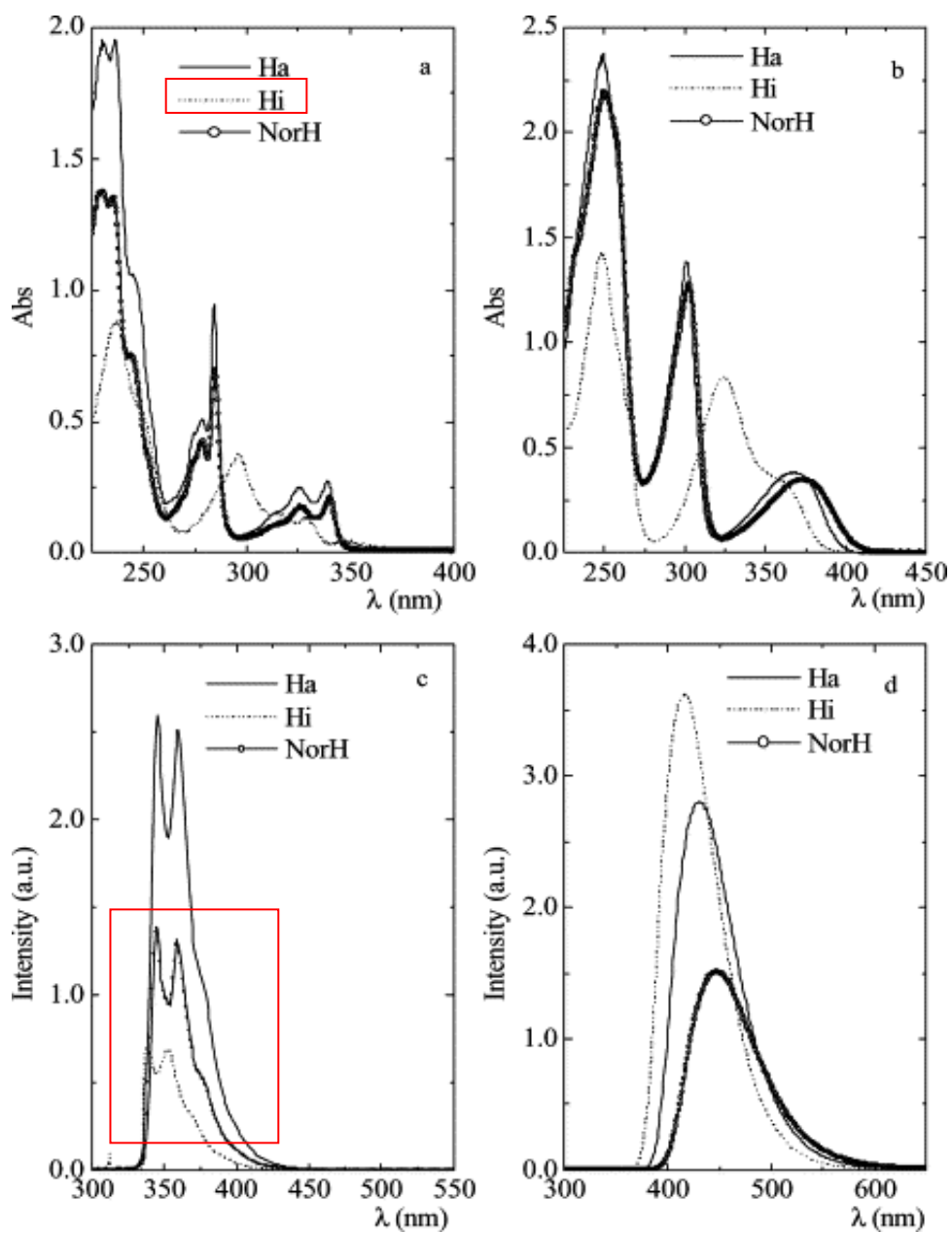


Figura 9 Espectros de  $\beta$ -carbolidinas: (a) e (b) espectros de absorção de formas neutras e catiônicas; (c) e (d) espectros de fluorescência ( $\lambda$  excitação 337 nm) das formas neutra e catiônica sendo que: Ha- Harmana, Hi – Harmina e NorH é a Norharmana (VARELA *et al.*, 2001).

A formação dos estados tripleto das  $\beta$  carbolinas diminui com a protonação, existindo o cruzamento Intersistemas  $S_1 \rightarrow T_1$  na espécie base livre e na espécie protonada, porém mais eficiente na base livre, e com a interação proposta entre os estados  $^1(\pi, \pi^*)$  e  $^1(n, \pi^*)$ . Na forma neutra ocorre a remoção desta interação na protonação do átomo de nitrogênio da piridina (VARELA *et al.*, 2001). Os espectros de absorção e emissão foram feitos para as  $\beta$  carbolinas: Harmana (Ha), Harmina (Hi) e a Norharmana (NorH) (VARELA *et al.*, 2001), conforme visualizado Figura 9.

### 2.2.2 Harmina (7- metoxi-1-metil- $\beta$ -carbonila [3,4-b] índole) características físico químicas e atividade biológica

A molécula, 7-metoxi-1-metil-9H-pirido [3,4-b] índole ( $C_{13}H_{12}N_2O$ ) conhecida popularmente por: 6- metoxiharmano: banisterine: banisterine (substância): harmina (Figura 10 b) tem massa molar 212,25 g/mol, aparência cristalina na cor branca, ponto de fusão entre 262 °C e 264 °C, solúvel em ácido clorídrico ( $0,5 \text{ mol. L}^{-1}$ ) ligeiramente turvo, 50 mg/ml. Pertence ao grupo dos heterocíclicos dentro da família dos alcaloides indólicos e sua molécula “mãe” é o 9 H – pirido [3,4-b] indol (Harmana) (Figuras 10 a e b).

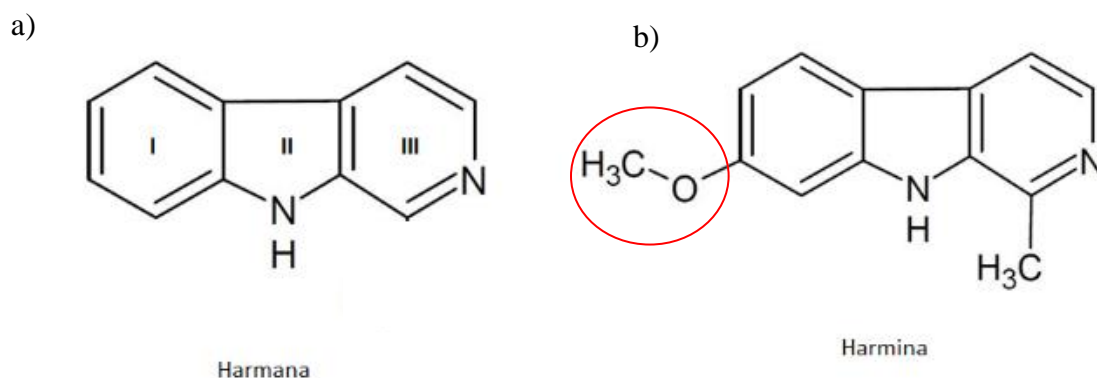
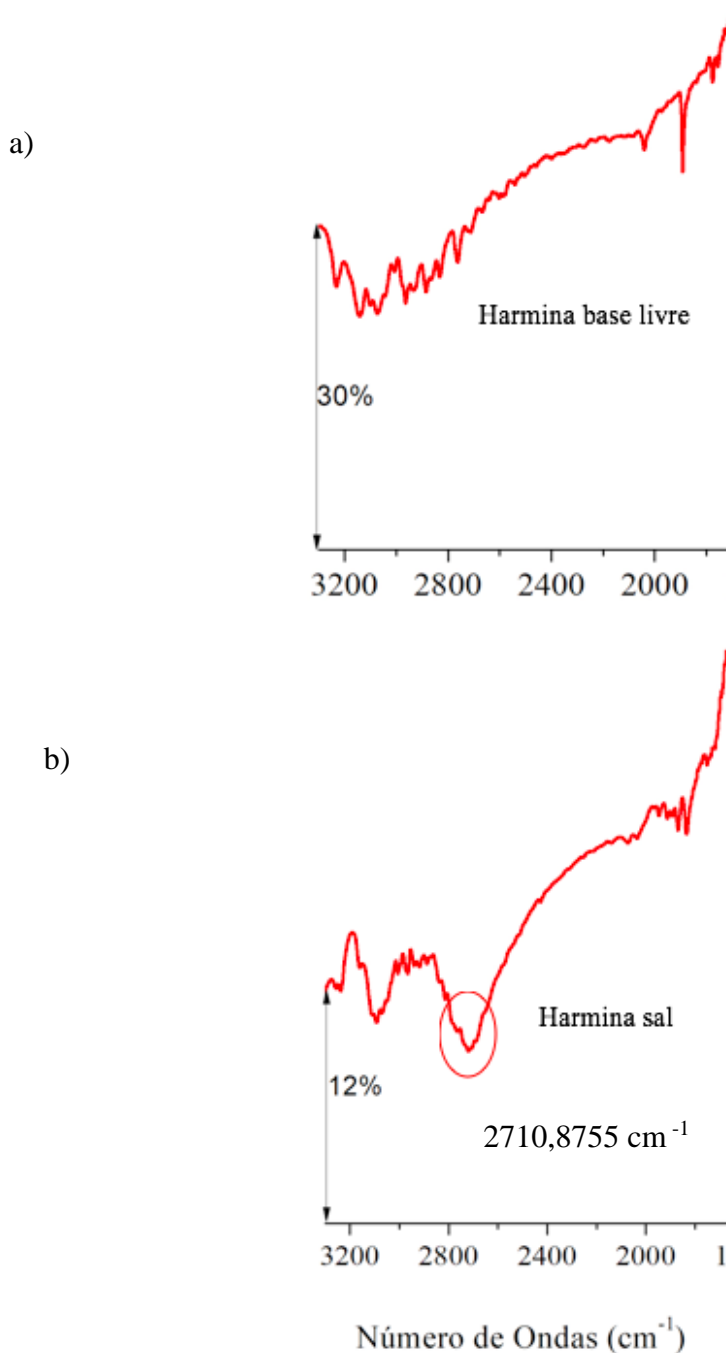


Figura 10 a) Estrutura do 9H-pirido [3,4-b] indol. - Harmana. Em destaque I (Anel benzeno ), III- Anel Piridina e II Anel Pirona; b) Estrutura molecular da Harmina, 7- metoxi-1-metil-b-carbonila ( $C_{13}H_{12}N_2O$ )

A (Figura 11) apresenta o resultado do infravermelho (sólido em KBr) para as medidas realizadas da Harmina base livre (Figura 11 a) e Harmina Hidroclorada (Figura 11 b). Observa-se que a banda correspondente (NH<sup>+</sup>) ausente na Harmina base livre e presente na Harmina hidroclorada (2710,8755 cm<sup>-1</sup>) estando na faixa espectral 2500-2800 cm<sup>-1</sup> que é a banda correspondente (NH<sup>+</sup>) (LIN *et al.*, 1987; DOLPHIN; WICK, 1977).



**Figura 11 a) Infravermelho da Harmina base livre b) Infravermelho da Harmina. HCl sólido em KBr. Destaque na Região de 2500 – 2800 cm<sup>-1</sup>.**

Um estudo em micelas referente à Harmana, a molécula “mãe” da Harmina, constatou que a forma protonada não entra na micela (PAUL *et al.*, 2012). A Harmina possui várias propriedades biológicas em estudos *in vitro* e *in vivo* (CAO, 1995) como nematocida (XIA *et al.*, 2018), antidiabético (KUMAR *et al.*, 2018), potencial antidepressivo (GARCIA *et al.*, 2017; FARZIN e MANSOURI, 2006) antitumoral ( CAO *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2005; SOBHANI *et al.*, 2002) e antimutagênico (MOURA *et al.*, 2007).

Um estudo experimental e teórico DFT base B3LYP simulando a interação da Harmina com o DNA mostrou que forças de hidrogênio estão presentes principalmente no anel benzeno do anel esqueleto da Harmina para além do grupo NH e também apresentou duas conformações espaciais diferentes na interação com o DNA (MANDAL *et al.*, 2016).

O espectro de emissão da Harmina (Figura 12) possui alta fluorescência e um equilíbrio de três espécies o neutro, catiônico e zwitteriônico conforme analisado suas propriedades fotofísicas em soluções de metanol e ácido clorídrico (DIAS *et al.*, 1992).

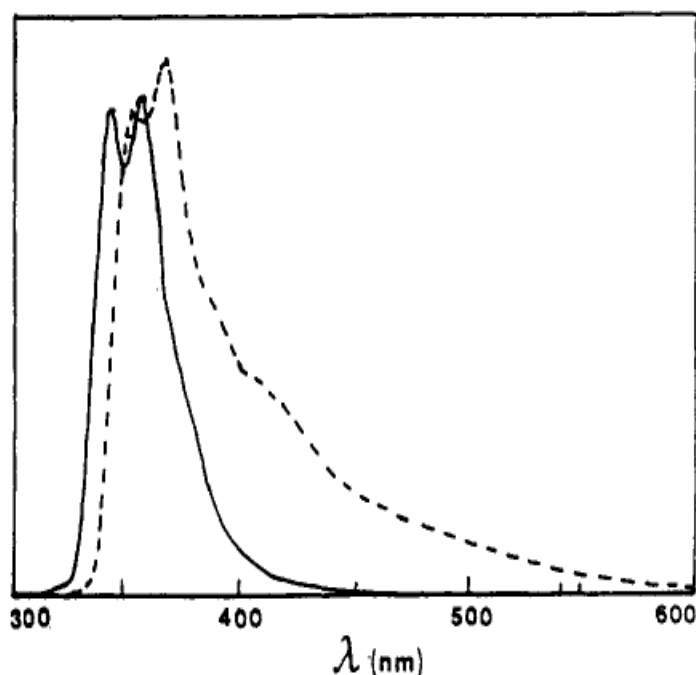


Figura 12 Emissão da  $1,3 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ : Harmina (----) em metanol e (—) em ácido clorídrico a 77K  $\lambda_{exc}= 337\text{nm}$  Fonte: (DIAS *et al.*, 1992).

## 2.3 APNH

### 2.3.1 A “família” da molécula APNH: Aminas Heterocíclicas Aromáticas

As aminas heterocíclicas aromáticas (AHAs) são substâncias geralmente produzidas durante o cozimento de alimentos a altas temperaturas principalmente carnes e pescados (DELFINO *et al.*, 2000; VIBERG *et al.*, 2006). Também foram encontradas essas substâncias na fumaça de cigarro (TURESKY; MARCHAND, 2011).

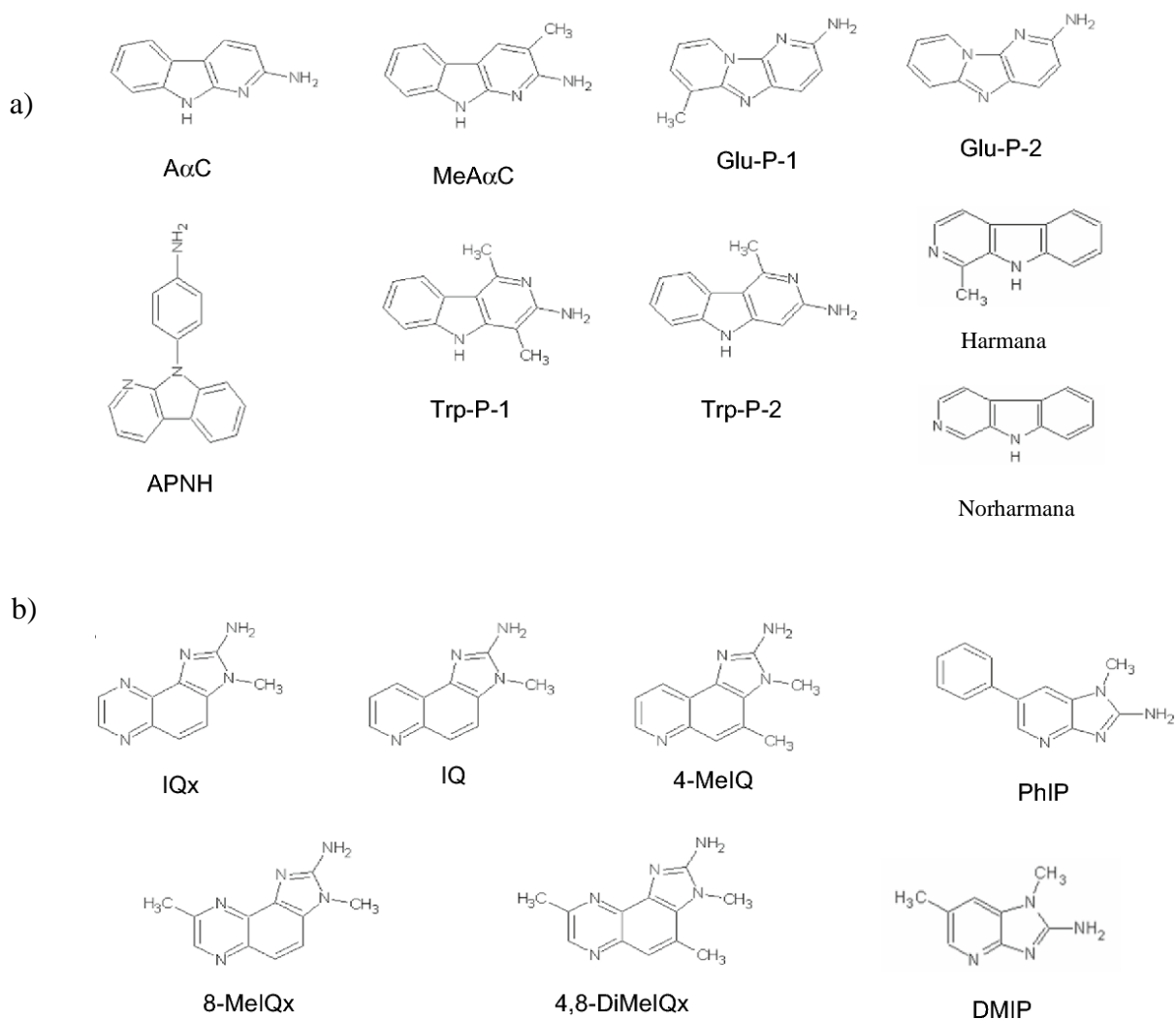


Figura 13 Aminas Heterocíclicas Aromáticas: a) pirólise das AHAs; b) aminoimidazoareno (MATTHIEU *et al.*, 2017).



O potencial mutagênico das AHAs é conhecido e é causa principal de tumores em animais cobaias, principalmente na região da bexiga, mama, cólon, próstata, pulmão, pele e pâncreas (FELTON *et al.*, 2007; GARCIA *et al.*, 2007; BELAND e KADLUBAR, 1985).

As AHAs podem ser formadas por dois processos: (I) pirólise de certos aminoácidos ou (II) pirossíntese onde hidrocarbonetos aromáticos policíclicos são combinados à outras substâncias e produzem moléculas maiores e mais estáveis (SKOG KI *et al.*, 1998).

O estudo relacionando metabolismo e genotoxicidade ( $\gamma$ H2AX em células V79 deficiente em CYP, SULT e NAT, e linhas celulares derivadas de V79 geneticamente projetado para expressar o CYP1A2 humano sozinho ou em combinação com SULT1A1 ou NAT2 humano) foi feito com 16 AHAs (Figura 13) e heterocíclicos relacionados (MATTHIEU *et al.*, 2017).

A pesquisa citada acima demonstrou as propriedades genotóxicas em 13 AHAs, dos quais o APNH difere dos outros pela presença do quarto anel aromático. O quarto anel aromático melhora a estabilização da ressonância do nitrogênio/íons de carbono e conseqüentemente a reatividade química de metabolitos N-sulfoxi e N-acetoxi. Esses achados podem sugerir uma alta taxa carcinogênica de APNH (MATTHIEU *et al.*, 2017).

### **2.3.2 A molécula 9-(4'-aminofenil) -9h-pirido[3,4-b]índole (aminofenilnorharmana)- APNH**

A molécula, 9-(4'-aminofenil) -9H-pirido[3,4-b] indol APNH (Figura 14), possui ponto de fusão entre 204-206°C, sua fórmula molecular é C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub> com cor bege para leve sólido castanho. A determinação estrutural foi feita por (TOTSUKA, 1998; 2002).

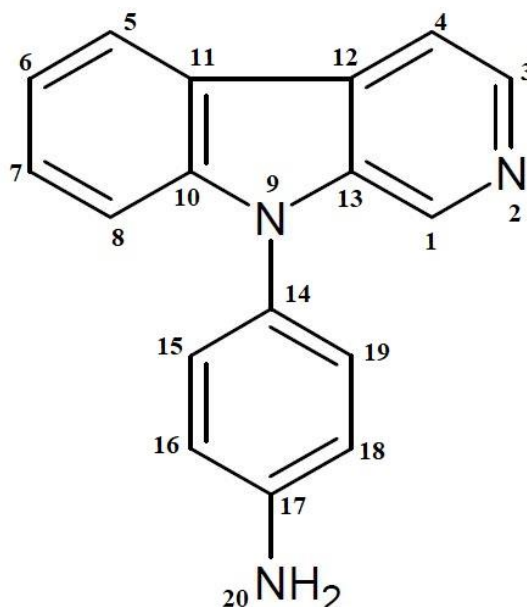


Figura 14 Estrutura da molécula 9-(4'-aminofenil)-9h-pirido[3,4-b]índole adaptado de(TOTSUKA, 2002)

O novo mutagênico ,APNH, formado *in vitro*, é metabolicamente convertido em um derivado hidroxil-amino, depois ativado para formar éster via acetiltransferase e então é covalentemente ligado as bases do DNA. O principal aduto formado pela interação APNH-DNA, é o N-(2'-deoxiguanosina-8-ila)-9-(4'-aminofenil)-9H-pirido[3,4-b] indol (dG-C8-APNH) (TOTSUKA *et al.*, 2002).

A formação *in vivo* do APNH foi confirmada, após sua detecção em urina de ratos (TOTSUKA *et al.*, 2002) em urina humana (NISHIGAKI *et al.*, 2007).

As aminas heterocíclicas e as  $\beta$ -carbolinas: norharmana (9H-pirido[3,4-b]-indol) e a Harmana (1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol) foram encontrados na fumaça condensada do tabaco, nas carnes e peixes cozidos. (ODA *et al.*, 2006; TOTSUKA *et al.*, 2004; TOTSUKA *et al.*, 1999; TOTSUKA *et al.*, 2002).

A anilina e os isômeros da toluidina, (orto, meta e para) também são encontrados na fumaça de tabaco condensada, em algumas verduras e hortaliças e em matérias-primas industriais. A anilina e a *orto* e *meta*-toluidina são detectadas em amostras de leite materno e urina humana (BAYOUMY, 1986; DEBRUIN, 1999).

Dessa forma, é provável a exposição diária e ao mesmo tempo às  $\beta$ -carbolinas e às aminas heterocíclicas (ODA *et al.*, 2006; TOTSUKA Y *et al.*, 2004; TOTSUKA Y. *et al.*, 1998; HADA *et al.*, 2001, TOTSUKA Y. *et al.*, 2002).

A exposição à norharmana e anilina e a detecção em indivíduos saudáveis fez com que se afirmassem que o APNH é produzido endogenamente (TOTSUKA *et al.*, 2002, TOTSUKA *et al.*, 2004).

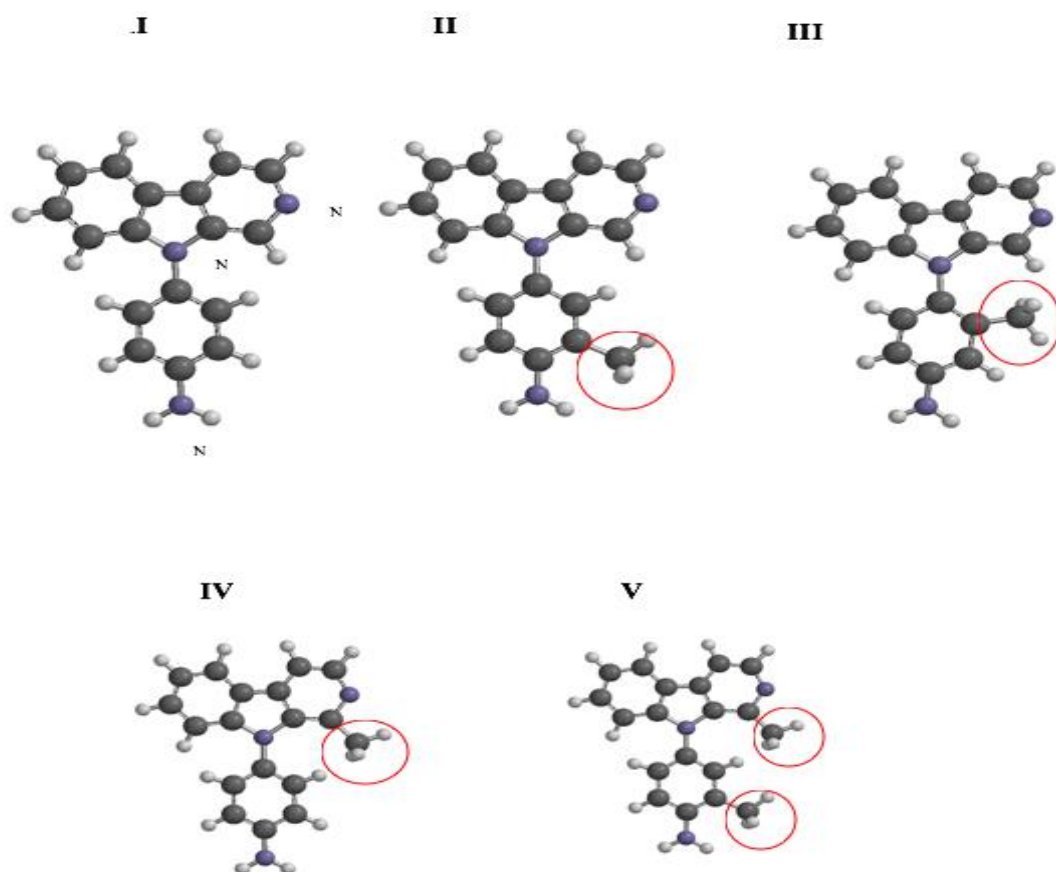


Figura 15 Estruturas moleculares do APNH e derivados: (I) 9-(4'- Aminofenil)- 9H-pirido[3,4-b]índole (Aminofenilnorharmana)(APNH, (II) 9-(4'-Amino-3'metilfenil)9H-pirido[3,4-b] índole(Amino-3'-metilfenilnorharmana,3'AMPNH). (III) 9-(4'- Amino-3'metilfenil) - 9 (IV)9-(4'-metilfenil-1-metil9H-pirido [3,4-b]índole (Aminometilfenilnorharmana, APH. (V) 9-(4'-Amino-3'metilfenil)-1-metil 9H-pirido[3,4-b]índole(Aminofenilnorharmana, AMPH.

A norharmana e harmana não são mutagênicas sozinhas em *Salmonella typhimurium* TA100 e TA98, tanto na presença da mistura S9 como na ausência, mas tornam-se mutagênicas quando incubadas juntas com a anilina, a o-toluidina, ou com a meta-toluidina. O produto da mistura entre a norharmana e a anilina, foi purificado e a sua estrutura foi determinada, (I, Figura 15) (NISHIGAKI *et al.*, 2007; NAGAO *et al.*, 1977).

Outros compostos aminofenil- $\beta$ -carbolina são formados através da reação entre a norharmana ou harmana, com a anilina ou isômeros da toluidina, são eles: (i) 9-(4'-amino-3'-metilfenil)-9H-pirido[3,4-b]indol [amino-3'-metilfenilnorharmana, 3'AMPNH), (ii) 9-(4'-amino-2'-metilfenil)-9H-pirido[3,4-b]indol [amino-2'-metilfenilnorharmana, (2'AMPNH); (iii) 9-(4'-aminofenil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol [aminometilfenilharmana], (APH); (iv) 9-(4'-amino-3'-metilfenil)-1-metil-9H-pirido[3,4-b]indol [amino-3'-metilfenilharmana], (AMPH) (v) 9-(4'-Amino-3'-metilfenil)-1-metil 9H-pirido[3,4-b]indole (Aminometilfenilnorharmana. Aqui esses quatro compostos (ii, iii, iv e v, Figura 15) são considerados como derivados do APNH (i, Figura 15).

Todos esses cinco compostos utilizam o processo de ativação metabólica para induzir a mutação, em cepas da “*Salmonella*”, conforme o esquema mostrado na Figura 16. Sendo que para os compostos (II) e (III), a anilina é substituída pelo orto e meta-toluidina. No composto (IV) e (V) a norharmana é substituída pela Harmana e no composto (V) a anilina é trocada pela orto-toluidina (ODA *et al.*, 2006).

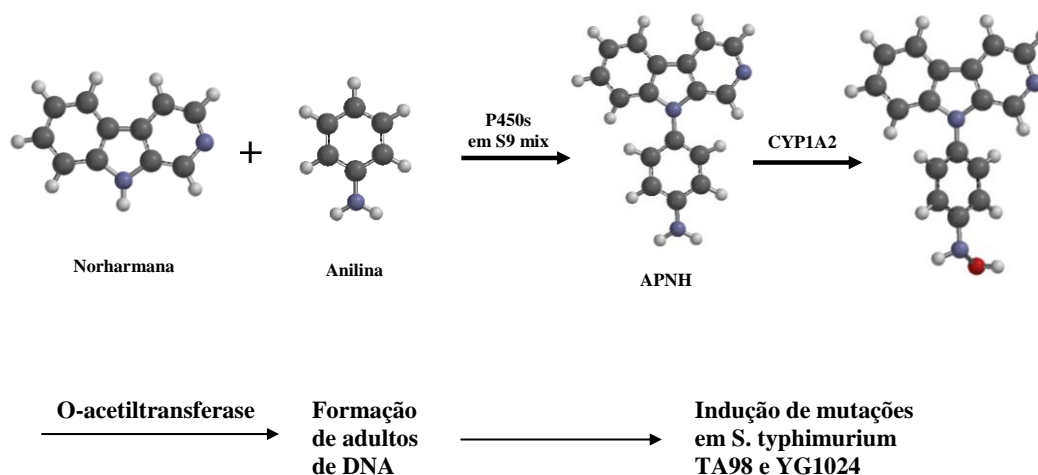


Figura 16 Formação do mutagênico APNH a partir da norharmana reagindo com a anilina na presença da mistura S9 e seus processos de ativação metabólica para indução da mutação em cepas da “*Salmonella*”. A molécula sem legenda é o Hidroxi-APNH (ODA *et al.*, 2006).

Os mecanismos da ação *co-mutagênica* da norharmana com a anilina foi sugerido como está na Figura 16. Sendo que primeiro ocorre a formação do APNH pela reação enzimática presumivelmente com citocromo P-450(s) (CYPs) (HADA, 2008). Posteriormente o grupo amino exocíclico é metabolicamente ativado pela CYP1A2. Formando o derivado N-Hidroxiamino que é metabolizado para a forma N-acetoxi pela ação da acetiltransferase (ODA *et al.*, 2006).

O último metabólito ainda desconhecido produz adutos com o DNA que induz as mutações nas cepas da *Salmonella*. O Hidroxi-APNH atua como um intermediário instável que é sensível à oxidação no ar quando em seco ou dissolvido em solvente adequado e rapidamente se transforma em Nitro-APNH (NAGAO *et al.*, 1977).

Os dados do cálculo (Tabela 1) resultou no espectro teórico (Figura 17 a) do APNH em vácuo (REIS *et al.*, 2014). Os espectros teóricos da Norharmana, anilina e APNH foram calculados utilizando o DFT em três ambientes: vácuo, etanol e água (Figura 17).

**Tabela 1 - Energias de excitação, E (eV), singlete, S<sub>j</sub> (tipo  $\pi\pi^*$ ), e o comprimento de onda,  $\lambda$ (nm), calculados e observados do espectro da APNH em água. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude. D(68)=HOMO, V(1)=LUMO referente ao cálculo DFT 6-31+ G\*\* (REIS *et al.*, 2014).**

Observado			Calculado					
S	E(ev)	$\Lambda$ (nm)	E(ev)	$\Lambda$ (nm)	f-valor	Banda	Transição	Amplitude
1	3,48	356nm	3,61	343	0,0377	A	D(68)→ V(1)	0,9831
2			4,26	291	0,0293			
3			4,54	273	0,0184			
4			4,56	272	0,0243			
5			4,85	256	0,0036			
6	4,32	287	4,89	254	0,2792	B	D(68) → V(4)	0,8136
7			5,03	246	0,0377			
8			5,13	242	0,0036			
9			5,20	238	0,0065			
10			5,35	232	0,0268			
11			5,38	231	0,0314			
12			5,52	225	0,0869			
13			5,36	223	0,001			
14			5,67	219	0,185			
15	5,21	238	5,78	215	0,5675	C	D(67)→ V(3)	0,4708
16			5,8	214	0,0599			
17			5,87	211	0,0858			
18			6,04	205	0,025			
19			6,11	203	0,0808			
20			6,32	196	0,0146			
21			6,34	195	0,0151			
22			6,38	194	0,1438			
23			6,39	194	0,228			
24			6,44	193	0,0882			
25			6,55	189	0,0975			

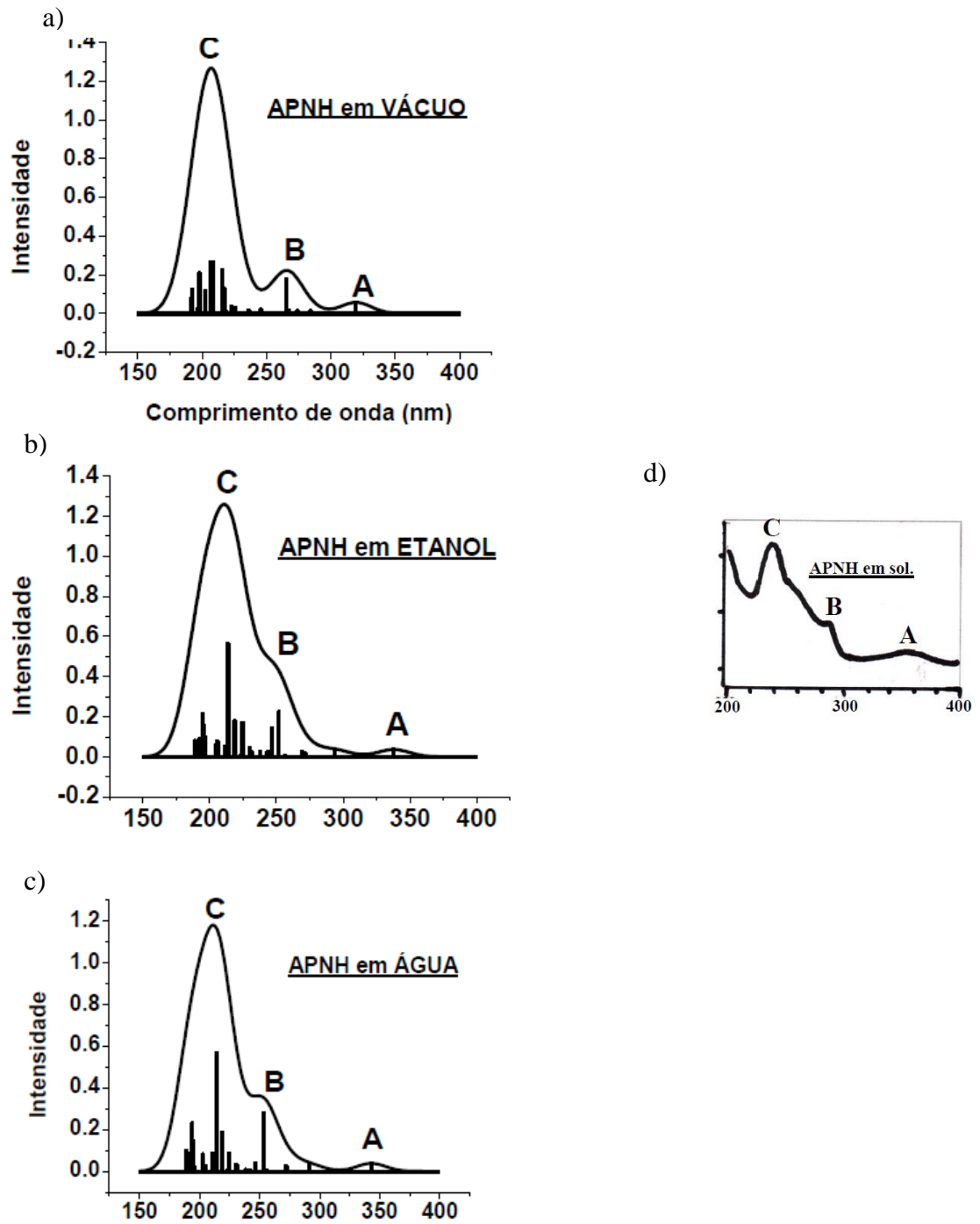


Figura 17 Espectros Teóricos do APNH em DFT 6- 31G\*\* (REIS *et al.*, 2014) a) APNH em Vácuo b) APNH em Etanol e c) APNH em água d) Espectro experimental em água (TOTSUKA, Y. *et al.*, 1998).

### 3. ASPECTOS TEÓRICOS EM ESTUDO FOTOFÍSICO E FOTOQUÍMICO

Os compostos orgânicos insaturados podem ser estudados pela espectroscopia de absorção e de luminescência (espectroscopia de emissão) com fonte convencional. Esses compostos possuem diversos tipos de orbitais moleculares como  $\sigma$  ligante e  $\sigma^*$  antiligante,  $n$  não ligante,  $\pi$  ligante e  $\pi^*$  antiligante (HOLLER *et al.*, 2009).

#### 3.1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO

A espectroscopia de Absorção molecular nas regiões espectrais do ultravioleta e visível que compreende a faixa de 190 nm a 800 nm é utilizada na radiação de moléculas orgânicas. Esta faixa de excitação é suficientemente alta para que a absorção ocorra, permitindo analisar os modos vibracionais e regiões cromóforas da molécula (HOLLER *et al.*, 2009).

As transições de menores energias, considerando a absorção de um fóton, estão representadas na (Figura 18).

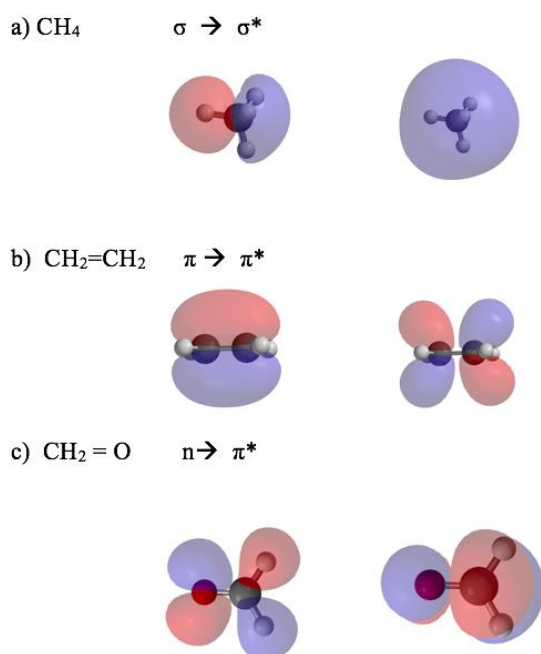


Figura 18 Os tipos de orbitais moleculares HOMO  $\rightarrow$  LUMO



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

O estudo das aplicações da espectroscopia de absorção para compostos orgânicos tem o foco nas transições  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$  uma vez que a energia necessária para esses processos leva as bandas de absorção para a região ultravioleta visível (200 a 700 nm). As energias de absorção para as transições  $n \rightarrow \pi^*$  são baixas, aproximadamente em 4ev (290 nm). Elétrons não ligantes de compostos orgânicos contendo heteroátomos como oxigênio, nitrogênio, enxofre ou halogênio podem ser excitados pela radiação no intervalo de 170 a 250 nm. Enquanto as transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  tem energia de transição em aproximadamente 7 ev (180 nm) e possuem maior intensidade relativa quando comparada com as transições  $n \rightarrow \pi^*$ . (HOLLER *et al.*, 2009). As transições  $n \rightarrow \pi^*$  são mais fracas por serem parcialmente proibidas por condições de simetria (EL SAYED, 1963).

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

As transições decorrentes da excitação de elétrons não ligantes  $n$  para orbitais  $\sigma^*$  possuem absorvidades molares menos intensas e devido às dificuldades espectrofotométricas de compostos orgânicos associados com a região ultravioleta no vácuo, muitas investigações envolvem comprimentos de onda maiores que 185nm (HOLLER *et al.*, 2009).

O cálculo das intensidades de absorção e emissão é feito considerando as probabilidades de absorção e emissão entre os estados energéticos nos níveis da transição. Mulliken (1952) fez uma relação entre a quantidade com uma medida de intensidade demonstrando que a força de oscilador está relacionada com o índice de refração do solvente e a diferencial do número de onda.

Dessa forma a intensidade de absorção está relacionada com a probabilidade da ocorrência da transição (conjunto de regras de seleção) como por exemplo; regra de seleção do *spin* e de simetria (PAVIA *et al.*, 2010).

### 3.2. ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO

Quando moléculas orgânicas são submetidas à excitação normalmente ocorrem transições de elétrons  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$  sendo que grupos funcionais insaturados são fornecedores do orbital  $\pi$  (HOLLER *et al.*, 2009). Essas moléculas quando a fonte de excitação corresponde com uma lâmpada Hg/Xe de alta pressão, produz estados eletrônicos excitado *singlete* e pelas transições  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

Segundo Valeur (2001) as transições  $n \rightarrow \pi^*$  possuem um caráter de transferência de carga evidenciado pelo aumento de dipolo. As transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  são mais fortes do que as  $n \rightarrow \pi^*$ .

A exceção ocorre quando as condições de simetria estão parcialmente proibidas e na ausência de transições *singlete-singlete* de menor energia. Essas transições produzem fluorescência. A fluorescência da transição  $n \rightarrow \pi^*$  é comparativamente mais longa e sensível à desativação não radioativa de que o estado excitado ( $\pi$ ,  $\pi^*$ ).

A ordem de energia associada a cada orbital molecular é dependente dos seguintes fatores: molécula, substituinte e solvente. Os dois possíveis arranjos (Figura 19) para os níveis de energia para uma molécula orgânica com seis elétrons são:

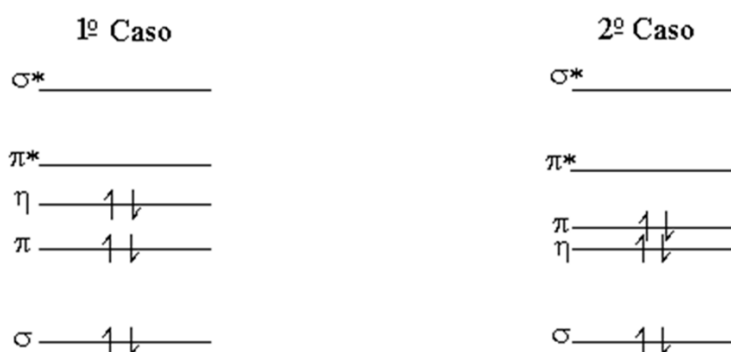


Figura 19 Possíveis arranjos para os níveis energéticos para uma molécula com seis elétrons

O momento angular *spin* total será  $S=0$ , onde todos os elétrons estão emparelhados. Portanto a multiplicidade do estado será  $2S+1=1$ . Resultando no estado fundamental *singlete*  $S_0$ . Ao sofrer excitação ficará  $S=0$  correspondentes a  $2S+1=1$  e  $S=1$  onde  $2S+1=3$  (estado eletrônico excitado *tripleto*) conforme visualizado na (Figura 20).

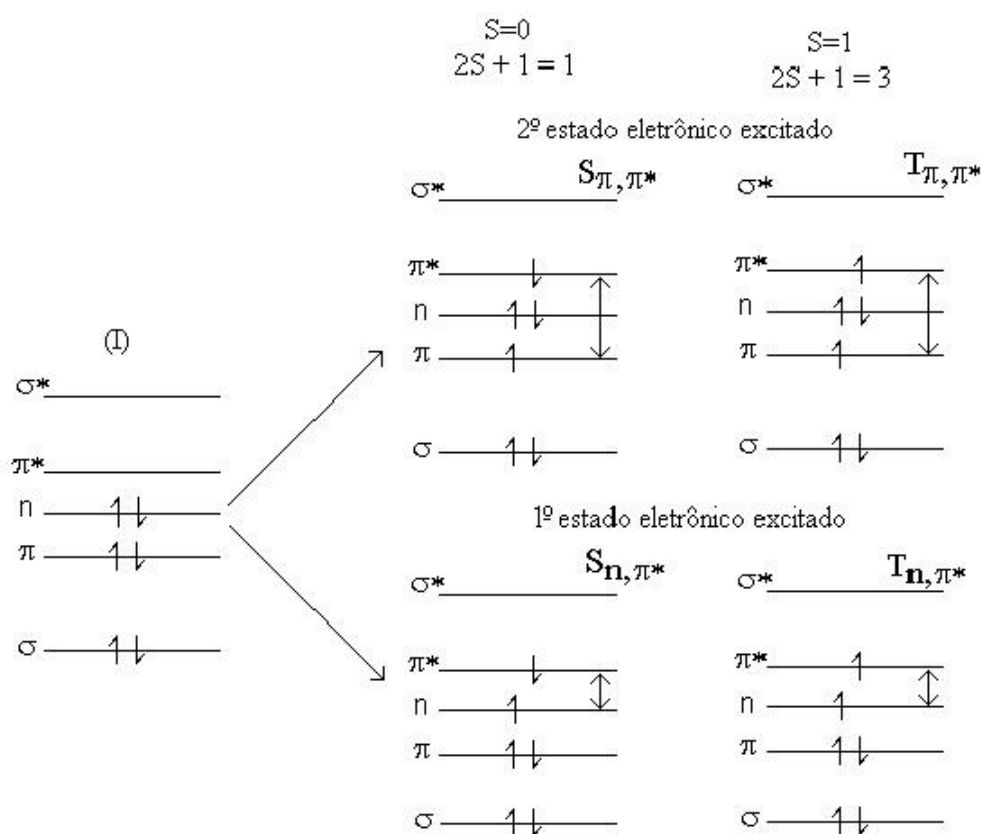


Figura 20 Diagrama I: Possíveis transições para o caso I (átomo com seis elétrons) (VALEUR, 2001)

Para o segundo caso ver (Figura 21).

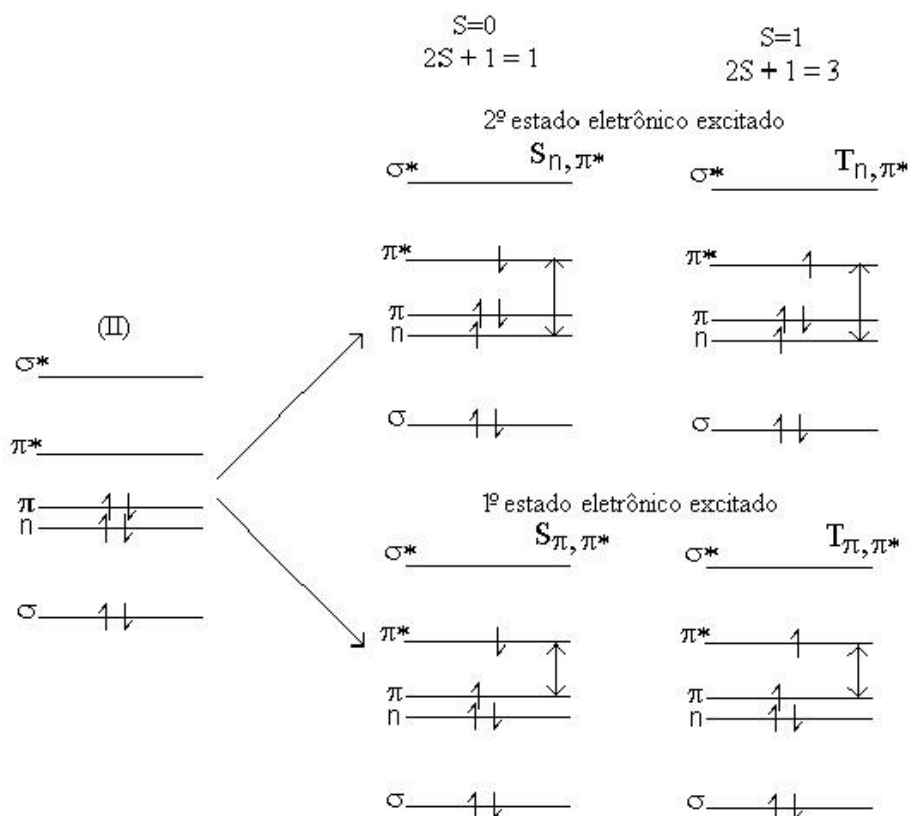


Figura 21 Diagrama II: energético para o Segundo caso (seis elétrons) (VALEUR, 2001)

Dependendo do tipo de transição a fluorescência apresenta propriedades distintas conforme o Diagrama I, o estado emissor é  $S_1(n, \pi^*)$  tendo um tempo de vida longo e é polarizado fora do plano. O Diagrama II (Figura 21) mostra um estado emissor  $S_1(\pi, \pi^*)$  com um tempo de vida curto e é polarizada no plano.

A técnica de luminescência permite identificar a natureza dos estados  $S_1$  e  $T_1$  verificando para os compostos orgânicos analisados se são  $\pi, \pi^*$  ou  $n, \pi^*$ . Isso é possível devido às atividades fotoquímicas e fotobiológicas serem muito diferentes e desta forma correlacionar as atividades químicas e biológicas das moléculas de interesse. As transições  $\pi, \pi^*$  são permitidas por dipolo elétrico com polarização no plano sendo esta aproximadamente na ordem de  $10^6$  mais prováveis de ocorrer do que a transição por dipolo magnético ( $n, \pi^*$ , fora do plano), ou seja ( $M \pi, \pi^* = 10^6 M n, \pi^*$ ) exemplificado na (Figura 22).

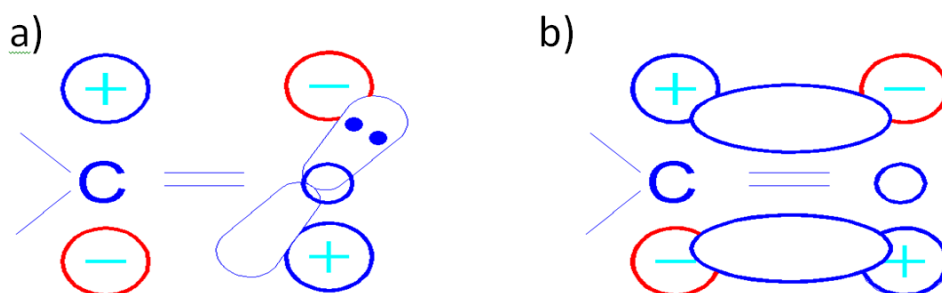


Figura 22 Esquema representativo das transições  $(n, \pi^*)$  e  $(\pi, \pi^*)$  a) Transição  $(n, \pi^*)$ , fora do plano, dipolo magnético); b) Transição  $(\pi, \pi^*)$ , polarização no plano, dipolo elétrico)

### 3.3. PROCESSOS FOTOFÍSICO DE DESATIVAÇÃO

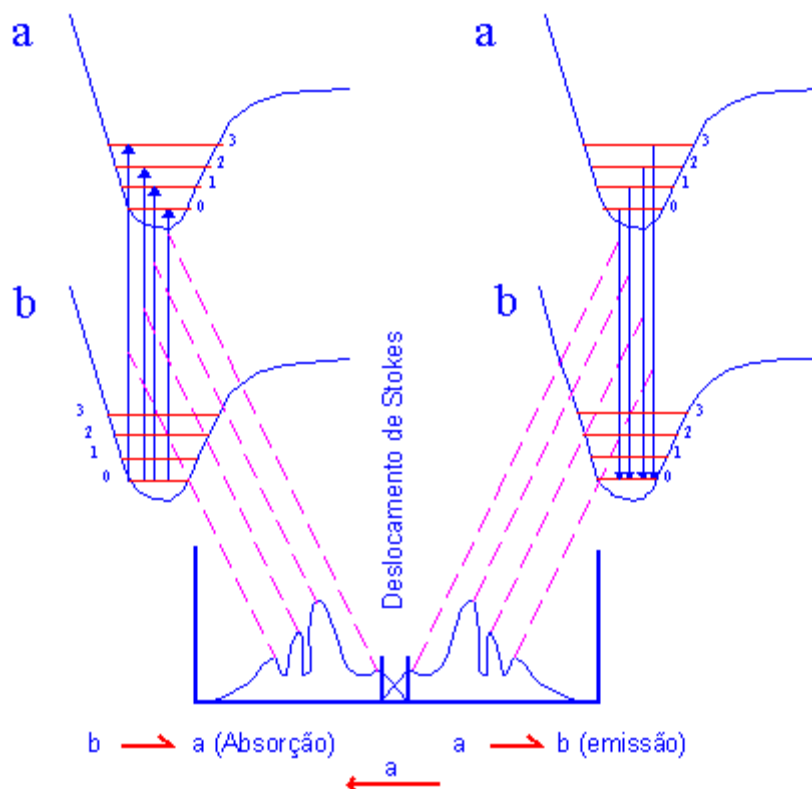
A incidência de luz em moléculas orgânicas propicia excitações eletrônicas que podem ser desativadas e volta ao estado fundamental através de duas maneiras radioativamente ou não radioativamente. A fluorescência (proveniente do estado  $S_1(n, \pi^*)$  ou  $S_1(\pi, \pi^*)$ ) e a fosforescência (devido ao acoplamento *spin*-orbital, com origem de um estado  $T_1(n, \pi^*)$  ou  $T_1(\pi, \pi^*)$ ).

A fluorescência tem um tempo de vida longo e é polarizada fora do plano quando  $S_1(n, \pi^*)$  e se  $S_1(\pi, \pi^*)$  o tempo de vida curto e é polarizada no plano. Com relação às fosforescências, se originarem de um estado  $T_1(n, \pi^*)$ , ela deve ter um tempo de vida é curto e polarizada no plano e se  $T_1(\pi, \pi^*)$  o tempo de vida será longo e polarizada fora do plano. A segunda forma de desativação não são processos radioativos e podem ser por conversão interna ou cruzamento intersistemas. (HOLLER *et al.*, 2009).

#### 3.3.1 Fluorescência

A desativação energética originada de estados eletrônicos excitados de menor energia ( $S_1$ ) é denominada fluorescência. Segundo o Princípio de Franck Condon essa desativação é vertical durante a excitação, mas antes as moléculas estão susceptíveis a colidir com as moléculas vizinhas e com as paredes do recipiente passando a níveis energéticos mais baixos

por um processo não radioativo. A radiação emitida é espontânea e cessa imediatamente após o término da excitação, com o tempo de vida na ordem de  $10^{-6}$  a  $10^{-9}$  segundos. Para Valeur (2001), o espectro de fluorescência geralmente é semelhante à banda espectral de absorção na forma especular conforme (Figura 23).



**Figura 23** Curvas de energia potencial em função da configuração nuclear: à esquerda  $b \rightarrow a$  Configuração nuclear X Energia na Absorção; À direita  $a \rightarrow b$  Configuração nuclear X Energia na Emissão. Abaixo o Diagrama de Energia potencial com transições eletrônicas verticais, forma das bandas

O princípio de Franck-Condon determina que os núcleos dos átomos sejam logicamente mais pesados que os elétrons e tenham seus movimentos mais lentos que o dos elétrons, desta forma a transição eletrônica ocorre com uma rapidez maior do que o núcleo. Este tempo é da ordem de  $10^{-15}$  s para a absorção de um quantum de luz no estado fundamental e passar para o estado excitado.

O tempo necessário para as transições vibracionais se rearranjarem em torno do núcleo atômico é de  $10^{-12}$  s e esta diferença de velocidades faz com que a ocorrência das transições eletrônicas não altere a posição do núcleo e nem do espectro de absorção com definição da forma e estrutura das bandas e definição dos orbitais envolvidos na ligação (LAKOWICZ, 1999).

Esse princípio também delinea o comportamento da emissão cujas bandas vibrônicas da luminescência sob baixas temperaturas tem melhor resolução, pois os processos de difusão, colisão e vibração são retardados. Desta forma ocorre uma menor competição entre a fluorescência e a conversão interna, supressão por desativação por colisão em relação à emissão em temperatura ambiente possibilitando determinar a natureza dos estados emissores das moléculas, se  $(n, \pi^*)$  ou  $(\pi, \pi^*)$  (LAKOWICZ, 1999).

### 3.3.2 Fosforescência

Quando uma molécula passa para o estado excitado *tripleto* através da desativação não radioativa via Cruzamento Intersistemas, ocorrerá transferência de energia para a vizinhança e passará a níveis vibracionais mais baixos por via conversão interna. Esse tipo de transição é bloqueado, pois o estado *tripleto* possui menor energia do que o estado excitado *singlete* correspondente. De maneira que o solvente não pode absorver essa grande quantidade de energia e a molécula não pode irradiar essa energia, restando a emissão após a formação do estado excitado original ( $S_0$ ) (TURRO, 1978).

A desativação radioativa proveniente do estado eletrônico excitado de menor energia tripleto ( $T_1$ ) é denominada fosforescência. Quando cessa a excitação na fosforescência, a emissão espontânea pode persistir por um período de tempo (frações de segundo ou segundos). Os processos emissivos sejam radioativos ou não radioativos podem ser visualizados (Figura 24) no diagrama Geral de Jablonski (TURRO, 1978).

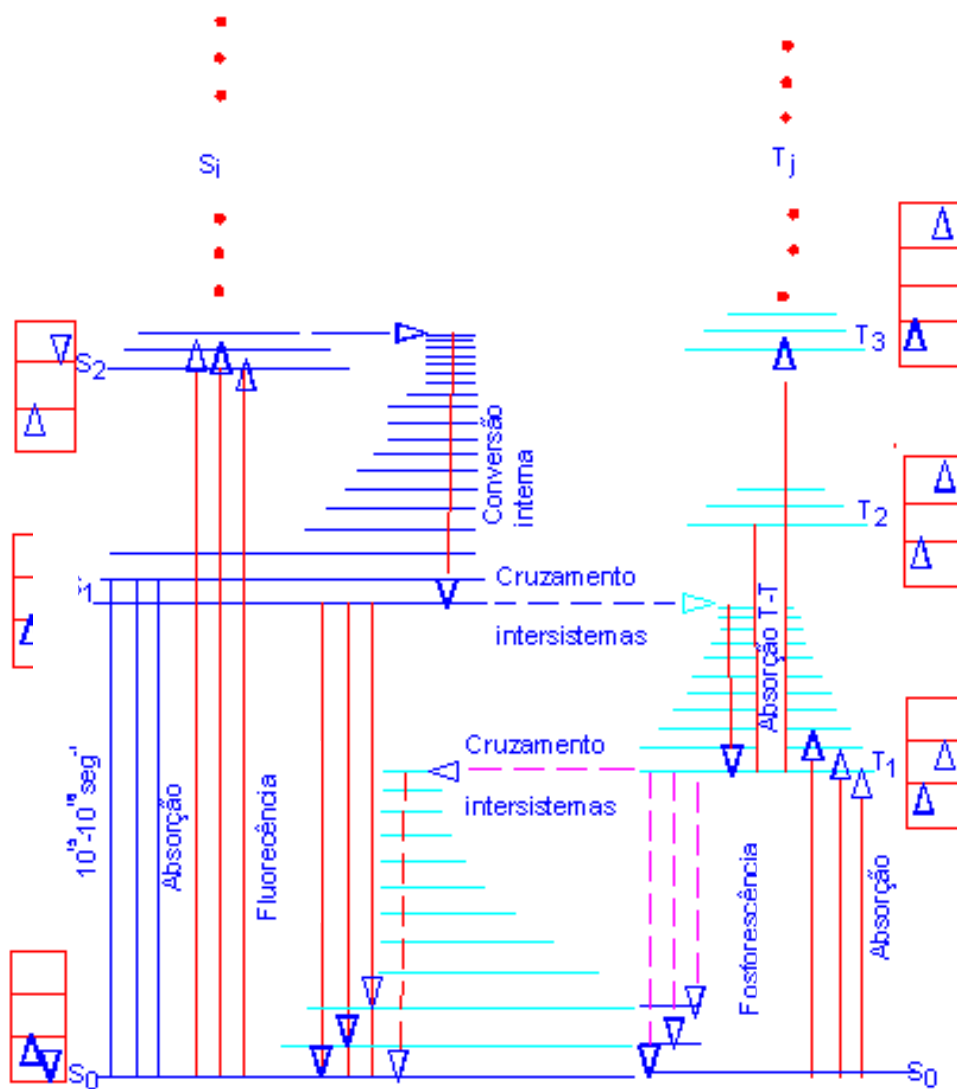


Figura 24 Diagrama de Jablonski (TURRO, 1978)



### 3.3.3 Conversão Interna

Quando ocorre a passagem não radioativa de um estado excitado de maior energia para um estado excitado de menor energia, com *spins* de mesma multiplicidade ( $S_2 \rightarrow S_1$ , ou  $T_2 \rightarrow T_1$ ) denomina-se conversão interna. A energia excedente é transferida para os estados vibracionais e rotacionais da molécula (Figura 25), ocorrendo uma desativação não radioativa (TURRO, 1978).

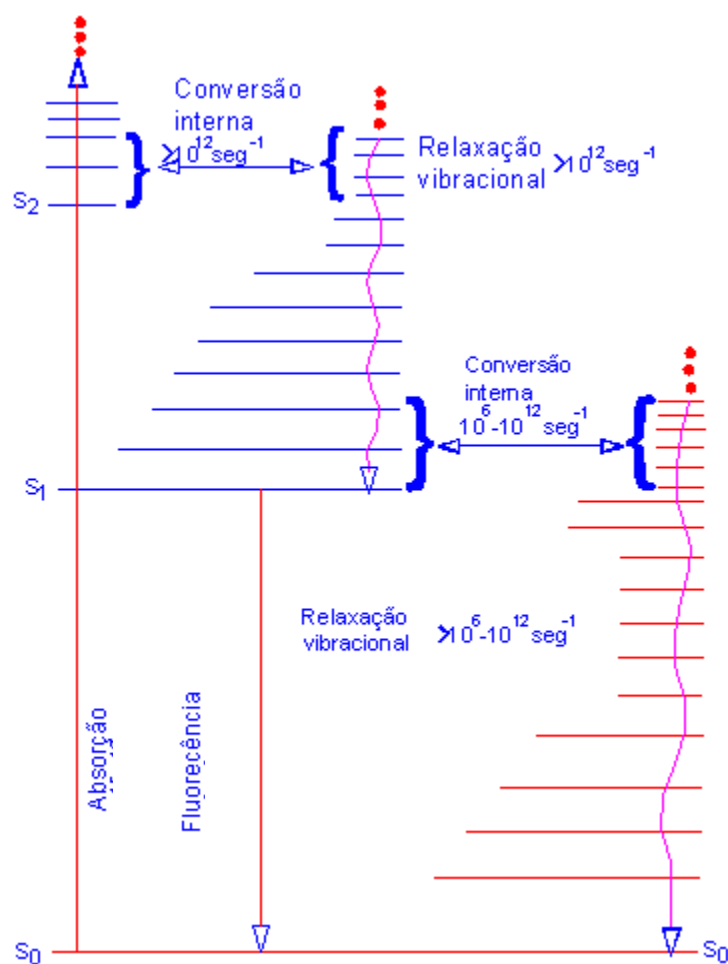


Figura 25 Conversão Interna (McGLYN *et al.*, 2000)

### 3.3.4 Cruzamento Intersistemas

Quando os spins possuem multiplicidade diferentes ( $S_1 \rightarrow T_1$ ) em uma passagem não radioativa entre estados eletrônicos excitados diferentes ocorre o cruzamento Intersistemas conforme Figura 26.

El Sayed (1963) fundamentou as regras de seleção nas transições não radioativas para moléculas em meio rígido. As transições tipo cruzamento intersistemas, não radioativas  $^1(n, \pi^*) \leftrightarrow ^3(\pi, \pi^*)$  ou  $^1(\pi, \pi^*) \leftrightarrow ^3(n, \pi^*)$  podem ser mais rápidas que aquelas entre estados do mesmo tipo, ou seja,  $^1(n, \pi^*) \leftrightarrow ^3(n, \pi^*)$  ou  $^1(\pi, \pi^*) \leftrightarrow ^3(\pi, \pi^*)$ . Sendo que o acoplamento spin orbital de primeira ordem é proibido entre estados de mesma configuração.

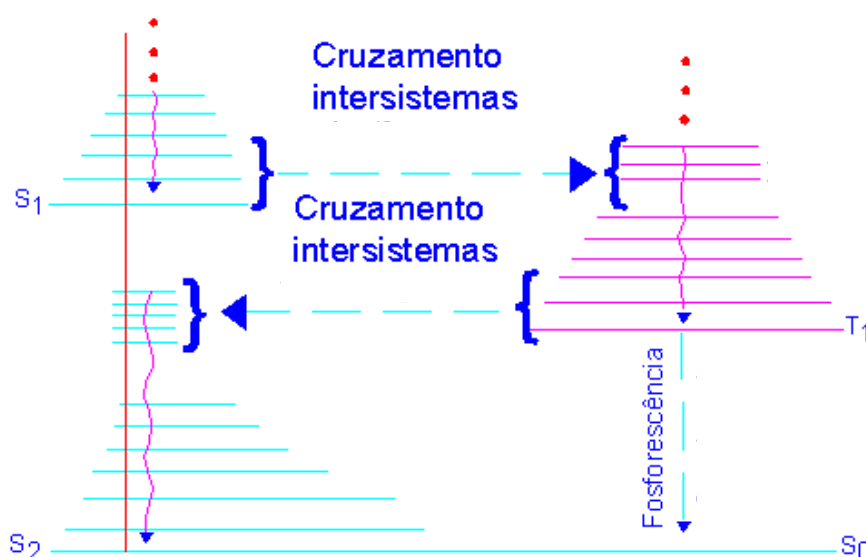


Figura 26 O Cruzamento intersistemas (McGLYN *et al.*, 2000)

As condições necessárias de acordo com El Sayed (1963), para que ocorra o acoplamento *spin* orbital são: estados excitados *singlete* e *tripleto* com transições de caráter diferentes, ou seja:

Ocorre cruzamento intersistemas, sendo H<sub>so</sub> (acoplamento spin orbital);

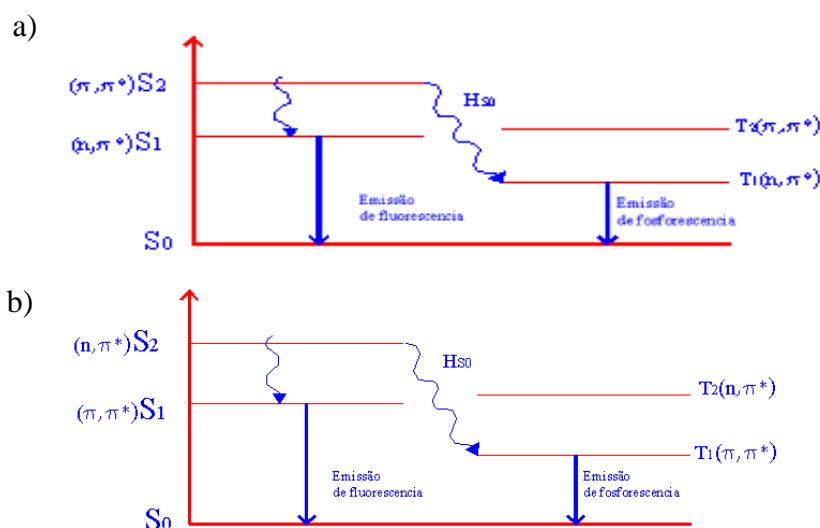
$$\langle S n \pi^* / H_{so} / T n \pi^* \rangle \neq 0$$

$$\langle S \pi \pi^* / H_{so} / T \pi \pi^* \rangle \neq 0$$

A Figura 27, possui exemplos para demonstrar a ocorrência do acoplamento *spin* orbital para dois tipos de ocorrências: Caso I (Figura 27 a) as moléculas no estado fundamental (S<sub>0</sub>)

passam para o estado excitado *singlete*, ocorrendo o acoplamento *spin* orbital ( $H_{S_0}$ ), mais provável entre os estado  $S_2(\pi, \pi^*)$  para  $T_1(n, \pi^*)$ , conforme diagrama I. O estado *tripleto*  $T_1(n, \pi^*)$  tem caráter permitido por dipolo elétrico e polarização no plano, pois originou-se do estado excitado  $S_2(\pi, \pi^*)$ .

O acoplamento *spin*-orbital ( $H_{S_0}$ ) pode ser representado conforme Figura 27;



**Figura 27** Acoplamento spin orbital ( $H_{S_0}$ ): a) Caso I; b) Caso II (VALEUR, 2001)

O Caso II (Figura 27 b) em que as moléculas no estado fundamental absorvem fótons de luz e passam para os estados excitados *singlete*, onde a probabilidade é maior  $H_{S_0}$  será entre os estados  $S_2(n, \pi^*)$  para  $T_1(\pi, \pi^*)$ . Sendo que  $T_1(\pi, \pi^*)$  tem caráter permitido por dipolo magnético e tem polarização fora do plano, pois originou-se do estado excitado  $S_2(n, \pi^*)$ .

### 3.4 EFEITO DO SOLVENTE NOS PROCESSOS FOTOFÍSICOS

McConnell estudou 17 compostos em solventes (hidrocarboneto, etanol e água) observou-se que a energia de solvatação para o estado fundamental é maior que para o estado excitado. Durante a solvatação a molécula no estado fundamental é estabilizada por moléculas do solvente e o processo de absorção/excitação acontece muito rápido de maneira que as moléculas do solvente não conseguem se reorganizar na mesma velocidade. Porém depois que é atingido o estado excitado, as moléculas do solvente se reorganizam em função da nuvem eletrônica do estado excitado permitindo que a fluorescência ocorra depois dessa reorganização MCCONNELL (1952).

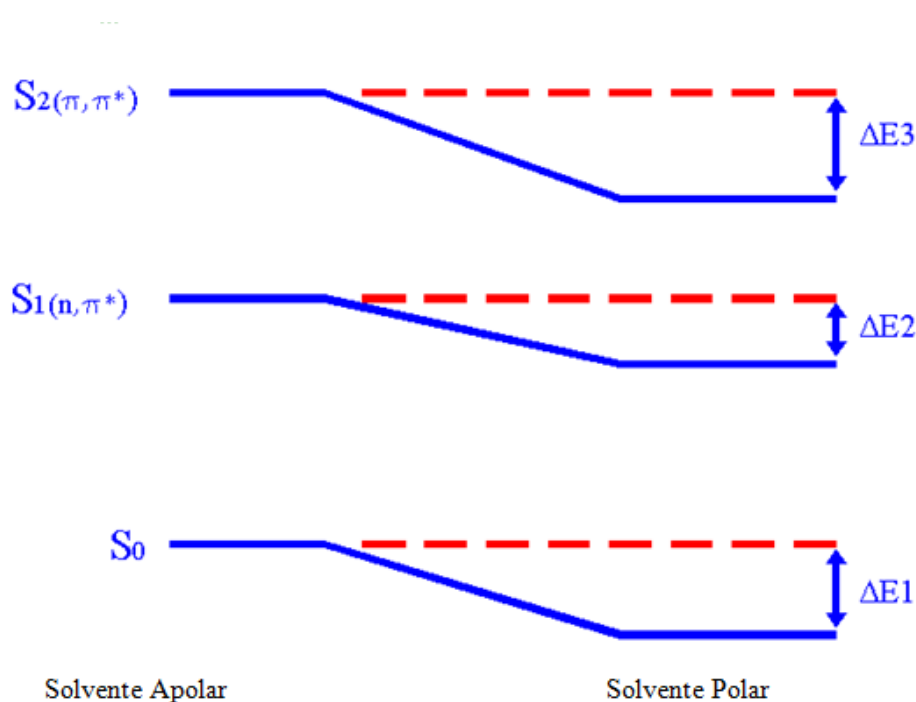


Figura 28 Efeito do Solvente: Alterações nos níveis de energia dos estados eletrônicos com a mudança do solvente de hidrocarboneto para hidroxílico ( $\Delta E_3 > \Delta E_1 > \Delta E_2$ ) (LAKOWICZ, 1999)

O solvente polar afeta mais as transições  $n \rightarrow \pi^*$ , principalmente se formarem interações de hidrogênio com o par de elétrons não ligantes. Essa interação faz com que o orbital fique mais estabilizado e com energia menor que a dos orbitais  $\pi \rightarrow \pi^*$ . As transições  $n \rightarrow \pi^*$  quando sofrem esse efeito têm um aumento de energia e suas bandas são deslocadas para menores comprimentos de onda (deslocamento para o azul) (BURAWOY 1939; 1941; 1958; BREALEY; KASHA; 1955; PLATT 1961).

O deslocamento para o azul foi justificado na pesquisa feita por Brealey e Kasha (1955) onde a causa desse deslocamento foi atribuída à ligação de hidrogênio a partir do orbital não ligante ( $n$ ) do soluto, comprovado experimentalmente ao mudar o solvente de hidrocarboneto para um solvente hidroxilado. A ligação de hidrogênio entre o soluto e o solvente estabiliza mais o estado fundamental do que o estado excitado e necessita de mais energia (deslocamento para o azul) do que em meio apolar conforme observado na Figura 28.

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

### 3.5. EFEITO DO ÁTOMO PESADO

As transições proibidas por rotação podem ser perturbadas pelo ambiente externo através da interação com um átomo pesado. O acoplamento spin-orbital que é uma mistura dos componentes espaciais resultantes do campo magnético experimentado devido ao movimento do núcleo (WAYNE, 1988).

A adição de solventes contendo um átomo pesado (por exemplo, Bromopentano) aumenta a razão de fosforescência/intensidade de fluorescência e diminui a duração de fosforescência. Verifica-se esse efeito nas soluções sólidas e líquidas. Observou-se para o benzeno em vidros a 4,2 K que a vida útil da fosforescência diminui de 16s em  $\text{CH}_4$  para 0,07s em Xe, e também a razão de fosforescência/intensidade de fluorescência aumentada (WAYNE, 1988).

Quando uma molécula aromática tem um átomo substituído por um átomo pesado têm-se os seguintes resultados (McGLYNN *et al.*, 1972).

- 1) O tempo de vida da fosforescência diminui
- 2) O rendimento quântico da fluorescência normalmente diminui.
- 3) O rendimento quântico da fosforescência pode aumentar
- 4) A constante do cruzamento intersistemas normalmente aumenta
- 5) A relação Fosforescência/Fluorescência normalmente aumenta e
- 6) A força do oscilador da transição  $T_1 \leftarrow S_0$  invariavelmente aumenta.

### 3.5.1. Processos de Transferência de Carga Eletrônica

O mecanismo Förster (interação dipolar de longa distância) e o mecanismo de Dexter (1953) (interação a distâncias curtas, envolvendo a troca de elétrons) são processos não radioativos e o mecanismo de transferência de energia radiativa (trivial) é um processo radioativo de transferência de energia entre moléculas. O processo de desativação molecular no estado eletrônico excitado para outro no estado fundamental através do mecanismo de Förster modifica o dipolo elétrico alterando o campo elétrico local. A eficiência dessa interação depende da distância entre as regiões polarizadas e da sobreposição do espectro eletrônico de absorção e emissão (BIRKS, 1970).

A transferência de energia pode ocorrer entre moléculas diferentes (intermolecular) ou entre regiões diferentes de uma mesma molécula (intramolecular) e os fatores que afetam também a eficiência do processo são a orientação e o efeito das colisões moleculares das espécies (VALEUR, 2001).

#### 3.5.1.1 Micelas

A micela é um dos sistemas escolhidos nessa proposta, devido esses agregados moleculares terem um grupo polar “na cabeça” e uma cauda hidrofóbica e por caracterizar-se no exemplo de imitação de uma membrana biológica. As micelas são conhecidas também por orientarem as moléculas orgânicas dentro de sua região hidrofóbica (MERTZ e LIN 1991).

O modelo de micela que será utilizado nesse projeto é o de Menger (MERTZ e LIN, 1991; MENGER; BOYER 1980), no qual a micela é considerada como uma esponja, em que no lado de fora está uma vizinhança aquosa e no lado de dentro existem duas regiões: uma aquosa situada próximo a superfície devido a água penetrar um pouco no interior da micela e outra hidrofóbica situada no núcleo da micela (Figura 29) (MENGER; BOYER, 1980)

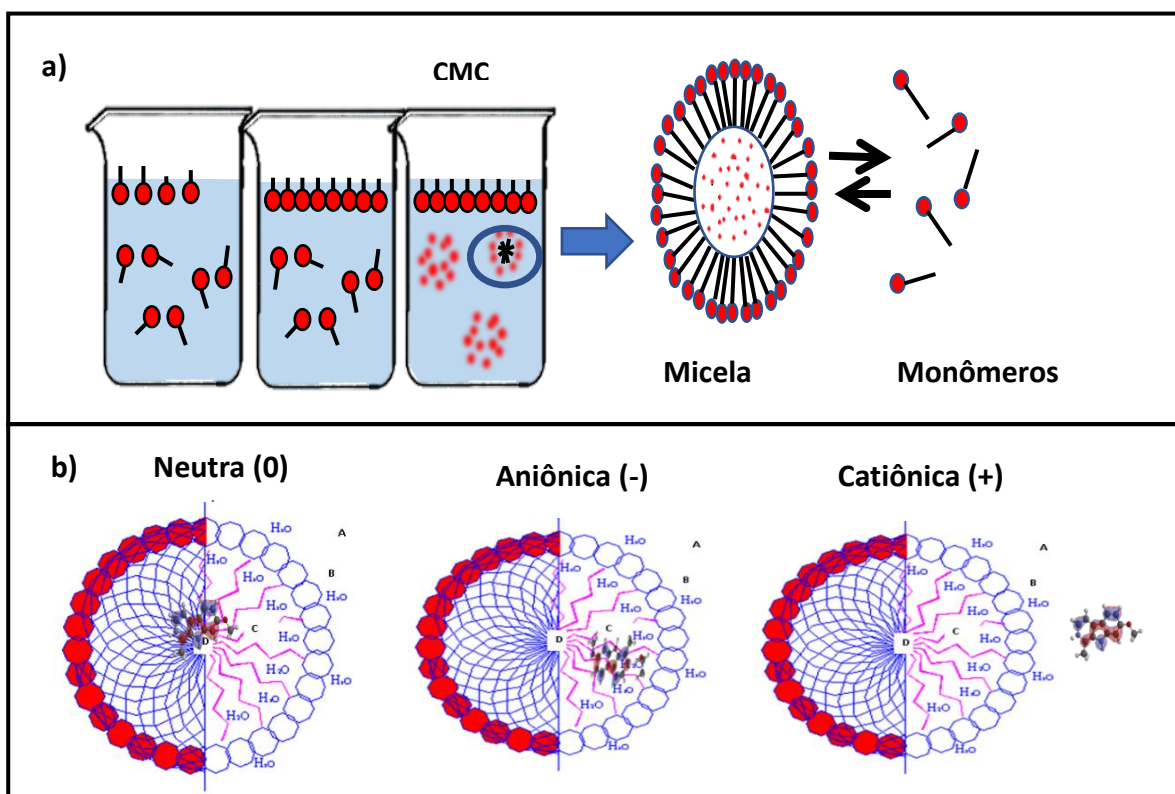


Figura 29 a) Formação da micela após atingir a concentração micelar crítica (CMC) b) Micelas com carga neutra (0), negativa (aniônica, -), positiva (catiônica, +) e os pontos A, B, C e D indicam as possibilidades de interação do substrato e a micela; Ponto A- fora da micela, ponto B próximo a superfície e fora da micela, ponto C dentro da micela na região hidrofílica e no ponto D é a região do núcleo onde é um meio hidrofóbico

Nesse trabalho serão usadas micelas neutra, catiônica e aniônica, formadas em ambiente fisiológico e com o pH e a força iônica controlados, para examinar o efeito na solubilização de cada espécie molecular, ou seja, uma vez que a espécie molecular está solubilizada no interior da micela, pode-se supor que há maior concentração da espécie solubilizada no interior da micela do que na solução “*bulk*”.

Dessa forma espera-se encontrar dentro da micela, a espécie monomérica e não a agregados moleculares, pois está comprovado que dentro da micela, encontram-se somente espécies monoméricas (MERTZ ; LIN, 1991). Isso implica que, qualquer discussão sobre o fator concentração de espécies solubilizadas no interior da micela, não tem importância científica.

O sucesso do uso das micelas, como uma imitação da membrana biológica nos estudos espectroscópicos de solubilização das moléculas, em diferentes tipos de micelas (neutra e com cargas) vai depender apenas da retenção bem definida da estrutura micelar a 77 K. A estrutura micelar é mantida a 77 K de temperatura (NARAYANA, 1981).

### 3.6 QUÍMICA TEÓRICA E MÉTODOS COMPUTACIONAIS

A mecânica dos átomos e dos sistemas nucleares desenvolveu-se a partir da Física Clássica originalmente da mecânica newtoniana e da teoria eletromagnética de Maxwell. A antiga teoria quântica compreende as teorias de Planck (1900), Einstein (1905), Bohr (1913) e de De Broglie (1924), embora explicasse muitos fenômenos incompreendidos deixava a desejar em sua base lógica para sistemas microscópicos ( BATHISTA, 2003).

A solução da equação de Schrödinger foi implementada usando orbitais para a construção da densidade eletrônica e levando a um conjunto de equações que formam a Teoria do Funcional de Densidade – DFT (PROFT e GEERLINGS, 2001).

O conhecimento do funcional troca e a correlação é necessário para o cálculo de energia de modo a possibilitar a resolução das equações de Kohn –Sham. Dentre as várias aproximações o funcional híbrido de troca e correlação B3LYP (Becke, de três parâmetros, Lee-Yang-Parr) tem sido eficaz em análises de moléculas orgânicas. O conjunto de bases mais conhecidos são: 6-31G\*, 6-31+G\*, 6-31++G onde, na modelo base X-YZ+G\*, o X indica o número de gaussianas primitivo compreendendo cada função de base do núcleo, Y e Z determinam os orbitais de valência e G indica base composta (Gaussian-type orbital) e a adição de funções difusas são representadas pela adição de + e/ou ++ (GTO, Gaussian-type orbital) (LEE, YANG e PARR 1989; SANT'ANNA, 2009).

A teoria do orbital molecular é utilizada pelos principais métodos computacionais que são: *ab initio* (latin– *ab* –desde; *initio*-início), semi-empírico e DFT. O método *ab initio* resolve a equação de Schroedinger sem excluir nenhum elétron, tanto nas camadas internas como da camada de valência sem nenhum parâmetro experimental, enquanto o semi-empírico utiliza parâmetros empíricos para a substituição de integrais de forma que reduz o tempo computacional, gasto para a realização do cálculo (BATHISTA, 2003).

Os parâmetros empíricos substituem os dados experimentais como geometrias de equilíbrio, calores de formação, momentos de dipolo e energias de ionização, porém devido às aproximações o cálculo não é tão exato (SANT'ANNA, 2009).

O método AM1 (Austin Model 1 ou Modelo Austin 1) e o PM3 (Parametric Method 3 ou Método Paramétrico 3) são os métodos semi empíricos mais utilizados atualmente e ambos ignoram as integrais de superposição quando os orbitais atômicos estão centrados em átomos diferentes. Duas novas parametrizações também estão sendo utilizadas principalmente porque



esses modelos disponibilizam parâmetros para 70 elementos inclusive os metais de transição. Os modelos são o RM1 (Recife Model 1) e o PM6 (Parametric Method 6) (SANT'ANNA, 2009).

A investigação em nível molecular para estimar propriedades cinéticas e termodinâmicas, relação estrutura e atividade tem sido auxiliada através da abordagem do *ab initio* via cálculo Hartree Fock que emprega o campo auto coerente (SCF). O método Hartree Fock e Teoria do Funcional Densidade - DFT utiliza o SCF que obtém novas funções de onda e com essas funções calcula o novo potencial médio e faz isso até não haver mais variação nos valores de energia de interação em interação (AVELINO, 2004).

Os métodos *ab initio* utilizam as leis fundamentais da mecânica quântica e algumas constantes físicas universais como massa, carga do elétron, constante de Plank (WIEST e SCHLEYER, 1998; CRAMER, 2002).

O método DFT acrescentado pelo Dr. Walter Kohn ampliou o campo de pesquisa referente aos cálculos quânticos. Os métodos evoluíram e pesquisadores como Takahata e Chong (2012) empregaram DFT-DT para cálculos de energias de excitação eletrônica tanto de camada de valência como de camadas internas de várias moléculas e simularam espectros de absorção UV e de raios X. Sendo que os resultados teóricos foram comparados com dados experimentais e comprovou-se coerência dessa metodologia.

Muitos pesquisadores viabilizaram seus estudos através do método DFT e obtiveram dados sobre: energia total e eletrônica, barreiras rotacionais de energia, geometria molecular de equilíbrio, estudo de ligações químicas, gradientes de energia usados para estruturas estáveis e do estado de transição, frequências vibracionais harmônicas e intensidades de absorção no infravermelho, previsão de espectros foto eletrônicos de ultravioleta, estudo de ligação química, reatividade (MORGON E CUSTODIO, 1995).

No estudo das propriedades e sistemas dinâmicos multi-eletrônicos na presença de potenciais que dependem do tempo como a luz, podem ser empregados a Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo- DT- DFT que constituem métodos eficientes para estudar as propriedades de respostas que dependem da frequência como as energias de excitação. (BURKE, WERSCHNIK e GROSS, 2005).

Diferentes funcionais são utilizadas no cálculo DFT e DFT-DT, entre essas a B3LYP é a mais utilizada, pois é comprovada sua capacidade em reproduzir várias propriedades moleculares, incluindo espectros vibracionais e eletrônicos. O uso combinado de conjunto de funcionais B3LYP e bases padrão (6-31G (d, p) e 6-311+G (d, p)) fornecem uma excelente

precisão e eficiência computacional de espectros vibracionais e eletrônicos de grandes e médias moléculas (ARIVAZHAGANA e KAVITHA, 2012).

Spartan é um programa que disponibiliza vários métodos teóricos através de sua interface. Também fornece opções de modernos métodos computacionais, nos quais se encontram semi-empírico e *ab initio* (Hartree-Fock) e também uma variedade de modelos correlacionados incluindo o DFT e DFT –DT (Spartan PC, 2016).

## 4. PROCESSO METODOLÓGICO

### 4.1 VIA EXPERIMENTAL

Esse tópico contém descrições detalhadas dos procedimentos experimentais que foram utilizados através das seguintes técnicas espectroscópicas: absorção UV/Visível, emissão no estado estacionário e resolvida pelo tempo a 77K e a temperatura ambiente e infravermelho.

#### 4.1.1 Reagentes Utilizados

Os reagentes 3[2(Dietilamina)etil- 7-hidroxi-4- metilcumarina hidroxiclorigido (DEHMC) , 7-metoxi-1 metil-9 H Pirido[3,4] índole (Harmina C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O), 7-metoxi-1 metil-9 H Pirido[3,4] índole hidroxiclorigido (Harmina.HCl, C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O.HCl), Triton X-100 (t-octylfenoxipolietoxietanol, surfactante neutro), Sulfado dodecil de Lítio (C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>LiO<sub>4</sub>S, surfactante aniônico), Brometo de Hexadeciltrimetilamonía (C<sub>19</sub>H<sub>42</sub>NBr, surfactante catiônico) 99%, Metilciclohexano (C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>CH<sub>3</sub>) 99%, Etanol desidratado 200 proof 99,5% absoluto, Ácido Sulfúrico (95 a 98%), 1-Bromopentano (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>Br 99%, 1,1,1,3,3,3 Hexafluoro-2-propanol CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>F<sub>6</sub>O 99%, Cloreto de Sódio 99%, Fosfato de Sódio Monobásico HNaPO<sub>4</sub> 98%, 9H-Pyrido[3,4-B]índole (Norharmana); Beta-Carbolina Norharmana, Anilina 99% todos adquiridos pela Sigma- Aldrich Brasil Ltda. O reagente 9-(4'-Aminofenil-9H-pirido[3,4-b]índol (APNH, C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>) da Toronto Ressearch e o Fosfato de Sódio Monobásico HNaPO<sub>4</sub> 98% adquiridos pela Vetec Ltda. A água deionizada e duplamente destilada e o Nitrogênio líquido foram fornecidos pelo Laboratório de Ressonância Magnética da Universidade Federal do Amazonas.

### 4.1.2 Equipamentos Utilizados

Espectrofotômetro de Emissão e a vida útil da fosforescência em 77K (tubo fotomultiplicador) em conjunto com um espectrofotômetro duplo da © Copyright 2008 ChemNova Technologies Inc. e um multímetro (Power Meter) da Newport Modelo 2936 C.

O tratamento dos dados pelo software (LIN ® Light Induced Spectroscopy Network 2009) e o processamento pelo computador Intel R COREL (TM) i5 4590 3,30 GHz com 16 GB de RAM. O mesmo computador foi utilizado para o cálculo das transições eletrônicas das moléculas juntamente com os softwares Spartan 16 ® e, Spectra ®, Origin. ® .

As amostras das substâncias (Cumarina, DEHMC.HCl, Harmina, Harmina.HCl) foram analisadas com o infravermelho (DEHMC) através de um espectrômetro FT-IR da Thermo Electron (modelo Nicole iS10), no Laboratório de Espectroscopia no Infravermelho (LABIV) – Central Analítica da Universidade Federal do Amazonas, com 32 varreduras na faixa de 4.000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$ . A amostra sólida foi misturada com KBr e prensada em forma de pastilha fina e translúcida. Os sólidos foram medidos na janela de brometo de potássio na proporção em massa 1:100 em infravermelho com transformada de Fourier.

### 4.1.3 Preparo das soluções

As soluções foram inicialmente preparadas e colocadas em ultrassom no período de 15 min na concentração  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol. L}^{-1}$  e posteriormente foram diluídas e colocadas novamente em ultrassom até o resultado satisfatório da medida espectroscópica referente aos monômeros das moléculas.

Os reagentes utilizados na solução tampão foram a mistura de  $\text{Na}_2 \text{HPO}_4 / \text{NaH}_2 \text{PO}_4$  e posteriormente adicionado NaCl para ajustar a força iônica (pH 7; 0,005  $\text{mol. L}^{-1}$  de  $\text{NaH}_2 \text{PO}_4 / 0,032 \text{ mol. L}^{-1}$ ,  $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$ ,  $I = 0,1 \text{ mol. L}^{-1}$ ) (MORITA; ASSUMPCÃO, 2000).

As micelas foram obtidas pela preparação do surfactante em solução tampão pH 7,0 com concentração 10 vezes a concentração micelar crítica (CMC). Os CMC dos surfactantes neutros, aniônicos e catiônicos em solução aquosa são respectivamente 3, 0,89 e  $9,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$  (MURKERJEE, 1971). As soluções micelares foram ultrassonicamente agitadas por 1 hora. A descrição das soluções preparadas para os estudos está nas tabelas especificadas em: DEHMC (Tabela 02), Harmina (Tabela 03), APNH (Tabela 04).

Tabela 2 - Soluções Preparadas para o estudo do DEHMC

Solução / solvente	Concentração mol. L <sup>-1</sup>	Ultrassom
DEHMC.HCl/Água	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-4</sup>	15min
DEHMC.HCl/Ácido Sulfúrico 0,5 N	10 <sup>-1</sup> , 10 <sup>-5</sup>	15min
DEHMC base livre/ Etanol	10 <sup>-4</sup>	15min
DEHMC.HCl/ Etanol	10 <sup>-4</sup>	15min
DEHMC.HCl/ Etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol (agente para fazer ligações de hidrogênio mais fortes)	10 <sup>-3</sup>	15min
Solução Tampão	Iônica (pH 7,0, 005 mol. L <sup>-1</sup> de NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> / 0,032 mol. L <sup>-1</sup> , Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , I = 0,1 mol. L <sup>-1</sup> )	1 hora
DEHMC dissolvido em solução tampão pH 7	10 <sup>-3</sup>	30min
Triton dissolvido em solução tampão pH 7	3m mol. L <sup>-1</sup>	1 hora
DEHMC dissolvido na Solução de Triton X-100 pH 7	10 <sup>-3</sup> mol. L <sup>-1</sup>	1 hora
DEHMC dissolvido na Solução de Sulfato Dodecil de Lítio pH 7	10 <sup>-3</sup>	1 hora
DEHMC dissolvido na solução de Brometo de Hexadeciltrimetilamônia pH 7	10 <sup>-3</sup>	1 hora

Tabela 3 - Soluções preparadas para o estudo da Harmina

Solução / solvente	Concentração mol. L <sup>-1</sup>	Ultrassom
Harmina Metilciclohexano	10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup>	15min
Harmina.HCl Água	10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-4</sup>	15min
Harmina.HCl H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup>	15min
Harmina Etanol	10 <sup>-2</sup> , 10 <sup>-3</sup> , 10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup>	15min
Harmina Etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol	10 <sup>-5</sup>	15min
Harmina Metilciclohexano	10 <sup>-2</sup>	15min
Harmina.HCl Água mais 0,1% Etanol	10 <sup>-4</sup>	15min
Harmina.HCl Água mais 0,5% Etanol	10 <sup>-4</sup>	15min
Harmina.HCl Água mais 5% Etanol	10 <sup>-4</sup>	15min
Harmina.HCl Etanol	10 <sup>-4</sup>	15min
Harmina.HCl Etanol mais duas gotas de Hexafluoro-2-propanol	10 <sup>-4</sup>	15min
Solução Tampão	Iônica (pH 7,0, 005 mol. L <sup>-1</sup> de NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> / 0,032 mol. L <sup>-1</sup> , Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , I = 0,1 mol. L <sup>-1</sup> )	1 hora
Harmina dissolvida em solução tampão pH 7	10 <sup>-3</sup>	30min
Triton dissolvido em solução tampão pH 7	3m mol. L <sup>-1</sup>	1 hora
Harmina dissolvido na Solução de Triton X-100 pH 7	10 <sup>-2</sup>	1 hora
Harmina dissolvido na Solução de Sulfato Dodecil de Lítio C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> LiO <sub>4</sub> S pH 7	10 <sup>-3</sup>	1 hora
Harmina dissolvido na solução de Brometo de Hexadeciltrimetilamonia (C <sub>19</sub> H <sub>42</sub> NBr, surfactante catiônico) pH7	10 <sup>-3</sup>	1 hora

**Tabela 4 - Soluções preparadas para o estudo do APNH**

Solução / solvente	Concentração mol. L <sup>-1</sup>	Ultrassom
APNH Água	10 <sup>-4</sup>	15min
APNH Ácido Sulfúrico 0,5N	10 <sup>-4</sup>	15min
APNH Etanol	10 <sup>-3</sup> , 2,5 10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-4</sup> , 10 <sup>-5</sup>	15min
APNH Etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol	10 <sup>-5</sup>	15min
APNH Etanol mais duas gotas de Bromopentano	2,5 10 <sup>-4</sup>	15min
APNH Metilciclohexano	10 <sup>-4</sup> , 2,5 10 <sup>-4</sup>	15min
Norharmana Etanol	10 <sup>-4</sup>	15min
Anilina Etanol	10 <sup>-4</sup>	15min

#### 4.1.4 Preparo da solução para analisar o efeito do átomo pesado

A solução inicialmente foi preparada em etanol e posteriormente foi acrescentado duas gotas de Bromopentano. A amostra foi colocada em um tubo de quartzo e selada, depois rapidamente congelada em um vaso de *dewar* contendo nitrogênio líquido e submetida a emissão no comprimento de excitação.

#### 4.1.5 Absorção

Os espectros de absorção foram realizados na faixa de 190 nm a 400 nm em soluções que se assemelham com um meio hidrofílico (água) e hidrofóbico (metilciclohexano e etanol). Também foram analisados com gotas de (Hexafluoro-2- isopropanol ) como agente de ligação (forte) de hidrogênio.

#### 4.1.6 Espectroscopia de Emissão

As interpretações dos resultados usando a espectroscopia de emissão foram auxiliadas pelos cálculos teóricos e as espectroscopias: infravermelho e UV/Visível. Na parte experimental os reagentes e solventes que serão utilizados terão pureza para trabalhos com espectroscopia.

Os espectros de emissão foram feitos usando o espectrofotômetro de emissão montado conforme a Figura 30 (página 63), com amostras frescas e seladas (Parafilm M®) em tubos de quartzo ópticos. Foi selecionado um comprimento de onda (313 nm) adequado com filtros químicos e sólidos, para a excitação das amostras, obtenção do espectro de emissão seguindo os passos abaixo:

- 1) Soluções submetidas ao ultrassom por aproximadamente 1 hora.
- 2) Posteriormente as soluções foram transferidas para um tubo de quartzo (de alta pureza) com aproximadamente 3 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro, sendo depois seladas (cubetas) e adaptadas a um bastão de vidro com 20 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro
- 3) A cubeta com a amostra foi conectada ao bastão que está inserida a uma tampa de borracha (com dois outros tubos de vidro para saída de gás de nitrogênio)
- 4) Colocou-se Nitrogênio líquido no interior de um *dewar* óptico de quartzo de 15 cm ligado a uma janela de quartzo.
- 5) A cubeta foi inserida no *dewar* contendo nitrogênio, de forma lenta, para congelamento da amostra.
- 6) Alinhou-se o caminho óptico para a melhor obtenção da emissão.
- 7) Tirou-se o espectro de emissão na região de 350 nm até 600 nm, com linha de excitação previamente selecionada (313 nm)

Os dados foram processados através do software LIN® e posteriormente Origin ®. Os resultados foram tratados por um programa instalado no computador que contém o sistema espectroscópico LIN®. Espera-se que sob essas condições experimentais os eventos das espécies moleculares poderão ser averiguados sem ambiguidade.

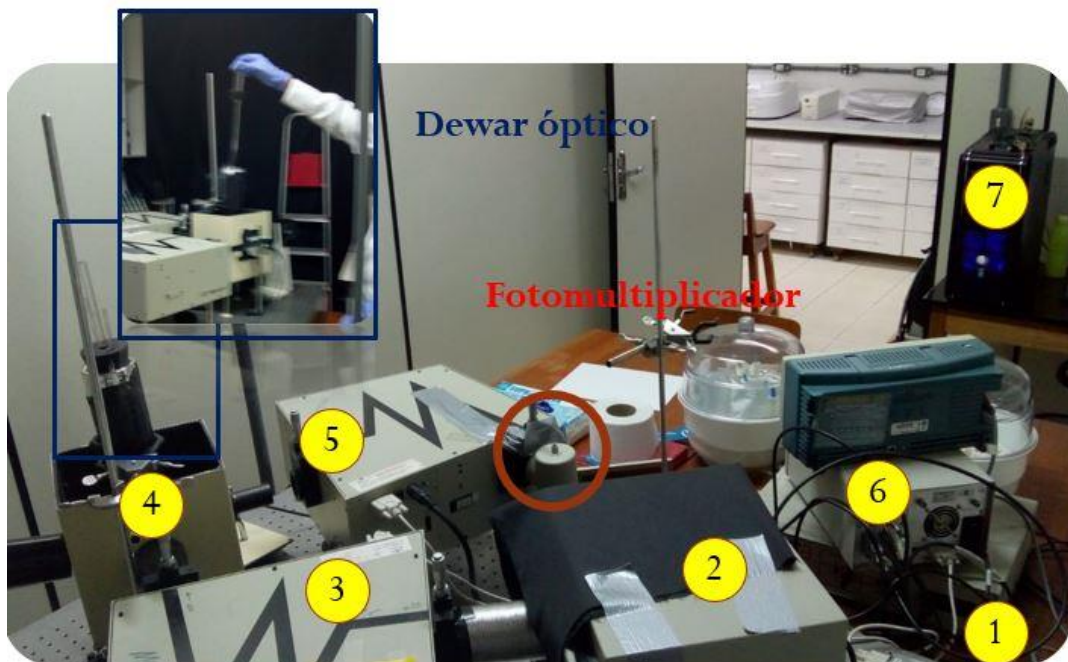


Figura 30 Sistema Espectroscópico Lin de emissão a baixa temperatura: 1- Fonte de energia. 2- Fonte de Luz . 3- Monocromador 1 ( $\lambda_{exc} = 313nm$ ) 4- Porta amostra (Dewar óptico- Tubo de quartzo); 5- Monocromador 2 com fotomultiplicador acoplado 6- Pontenciômetro 7- Computador com o software LIN © controlando o sistema espectroscópico.



## 4.2.2 PROTOCOLOS DOS CÁLCULOS TEÓRICOS

A estrutura molecular (Figura 31) foi montada através da interface do programa Spartan 16<sup>®</sup> conforme cristalografia das moléculas mães do DEHMC e Harmina respectivamente; Cumarina (CSORECH, 1976) e Harmana (SAYED *et al.*, 1986) e da molécula APNH (TOTSUKA, 1998).

A otimização da geometria molecular foi realizada utilizando o método de Hartree – Fock com função de base 6-31+G\*\* (DHMC e Harmina) e 6-31G\* (APNH), simulando a molécula em três ambientes diferentes: vácuo, meio polar com ligação a carbonila da molécula etanol, em água.

Posteriormente, as energias de excitação da molécula foram calculadas também simulando os três ambientes descritos anteriormente com o uso da Teoria do Funcional da Densidade (HOHENBERG, P.; KOHN, W., 1964; 2004; LEE ; YANG; PARR, 1989) e Dependente do Tempo (DT-DFT) (CASIDA e CHONG, D.P., 1995) utilizando o funcional B3LYP (LEE *et al.*, 1988) e função de base 6-31+G\* (CRAMER, 2002) para as moléculas DEHMC e Harmina e a função 6-31 G\* para o APNH.

Os dados das energias de transição resultados dos cálculos foram usados como dados de entrada no software específico RSP e SPECTRUM (SOPER, P D., 1997) e posteriormente utilizados no software ORIGIN 08 (ORIGINLAB, 2007). Desse modo foi feito o espectro teórico.

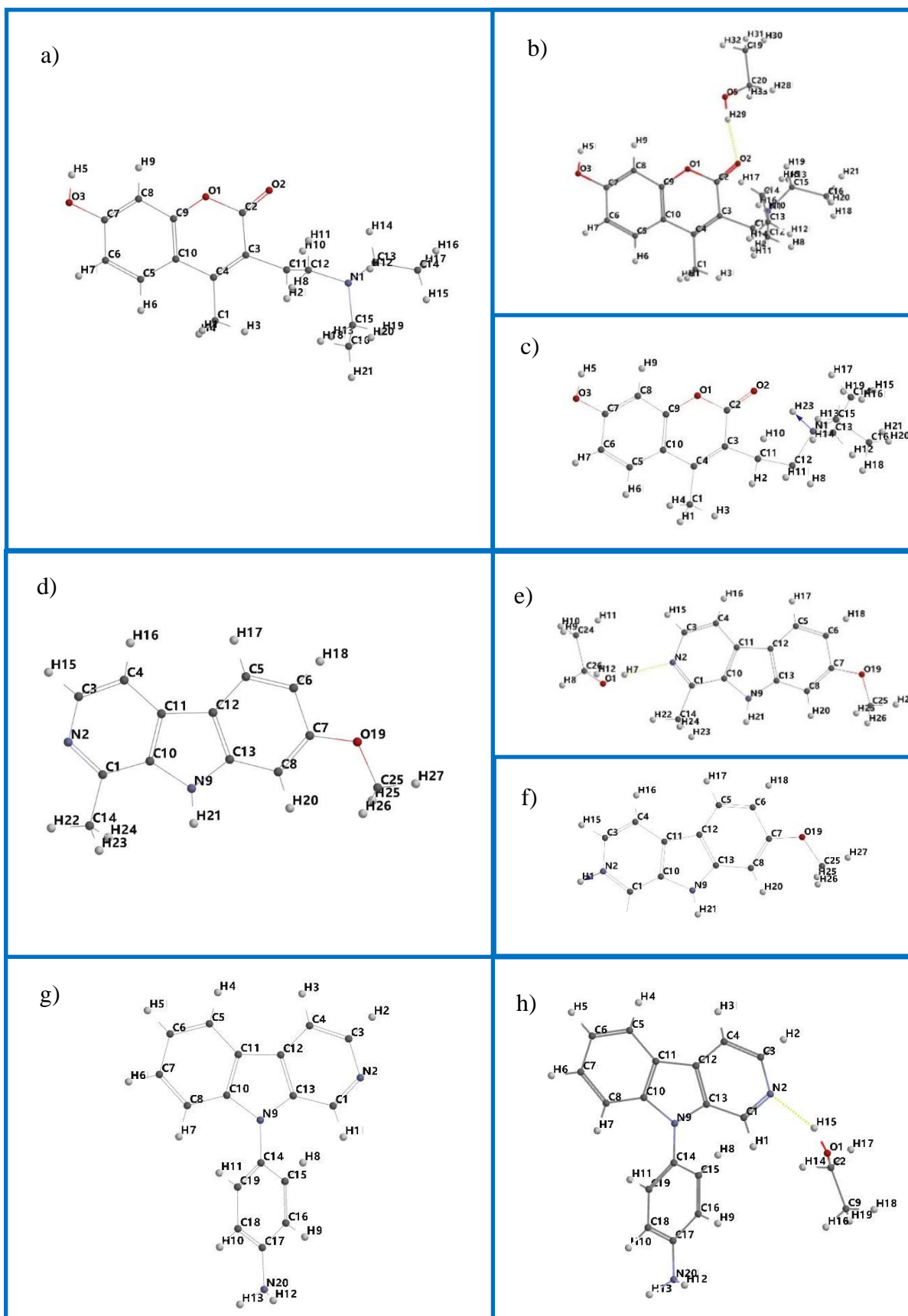


Figura 31 Moléculas; a) DEHMC base livre b) DEHMC protonada; c) DEHMC ligada ao Etanol d) Harmina Base Livre e) Harmina protonada f) Harmina ligada ao Etanol g) APNH h) APNH ligado ao Etanol.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 DEHMC

#### 5.1.1 Espectro de absorção do DEHMC em Água e em Etanol

Os espectros de absorção de DEHMC a uma concentração de  $1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  foram estudados em: água e etanol (Figura 32).

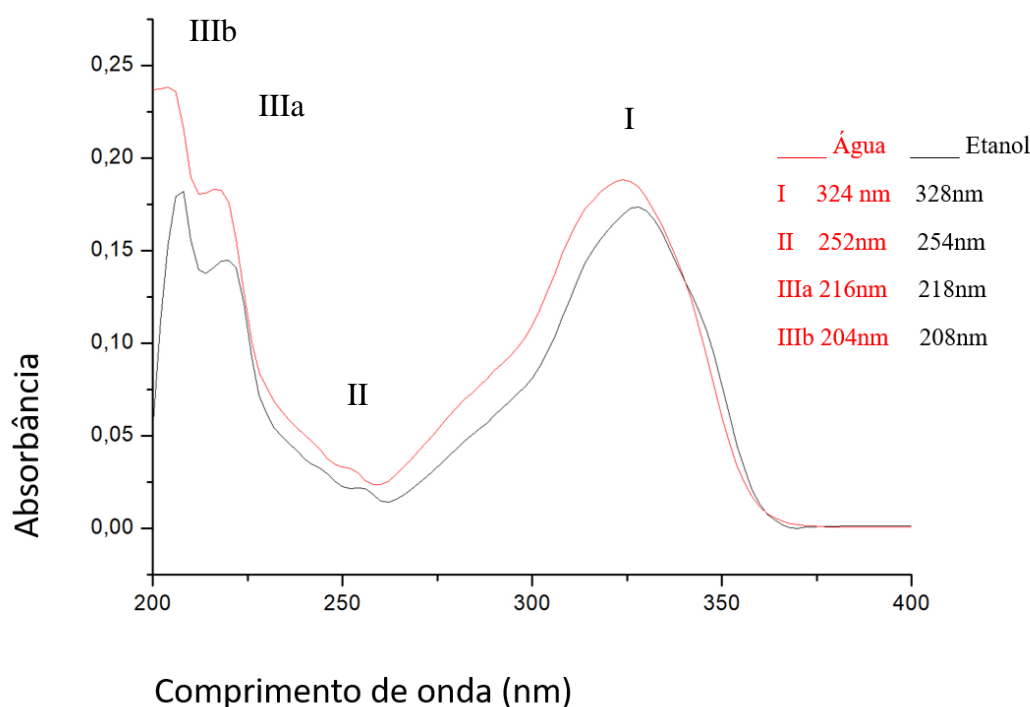


Figura 32 Espectro Experimental de Absorção UV do DEHMC Hidroclorada  $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em água (linha preta). Espectro Experimental de Absorção UV do DEHMC  $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em Etanol (linha vermelha). Realizada em triplicata.

O espectro do DEHMC. HCl dissolvido em água, (Figura 32- linha vermelha), apresenta duas bandas fortes (**I**) e (**III**). A banda (**I**) tem apenas um pico em 324 nm (0,1784) e a banda (**III**) tem dois picos, o primeiro situado em 216,0 nm (0,1712; banda **IIIa**) e o segundo e em 204 nm (0,243; banda **IIIb**). A banda **II** tem intensidade muito pequena e está localizada em 252,0 nm (0,0317) entre a banda (**I**) e (**III**).

Esses resultados são considerados resultantes das espécies monoprotonadas (DEHMC +) conforme os resultados obtidos no infravermelho. As bandas espectrais no UV-VIS foram atribuídas à transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  e não foi observado bandas relacionadas às transições  $n \rightarrow \pi^*$ . As transições  $n \rightarrow \pi^*$  são fracas e existe a possibilidade de estarem situadas em maiores comprimentos de onda ou sobreposta pela banda (I).

O espectro de absorção do DEHMC dissolvido em etanol (Figura 02- linha preta) possui três bandas, I, II e III. Existem duas bandas fortes (I) e (III) sendo que a banda (I) tem apenas um máximo em 328 nm e a banda (III) tem dois picos situados a 218,0 nm (banda IIIa), e outro a 208 nm (1,838, banda IIIb). Um pequeno pico (banda II) situado entre a banda (I) e banda (III) em 254 nm foi visualizado.

O espectro UV/VIS do DEHMC em etanol (Figura 32- linha preta) apresenta todos os picos da banda (III) e o máximo da banda (I) com suas intensidades relativas aumentadas e todas as bandas são deslocadas para o vermelho quando comparadas com o espectro UV/VIS do DEHMC em água (Figura 32- linha vermelha).

Comparando os espectros dissolvidos em água com o dissolvido em etanol observa-se: o máximo da banda (I) deslocou 4,0 nm para o vermelho, pico II deslocou 2 nm para o vermelho, o pico (III a) e o pico (III b) também são deslocados para o vermelho caracterizando transições ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) dos anéis aromáticos e influência da ligação de hidrogênio intermolecular entre o DEHMC e o etanol. Esses espectros (Figura 32) referem-se a duas espécies: o monócation DEHMC<sup>+</sup> e o complexo formado entre o DEHMC desprotonado e o etanol através de ligação de hidrogênio.

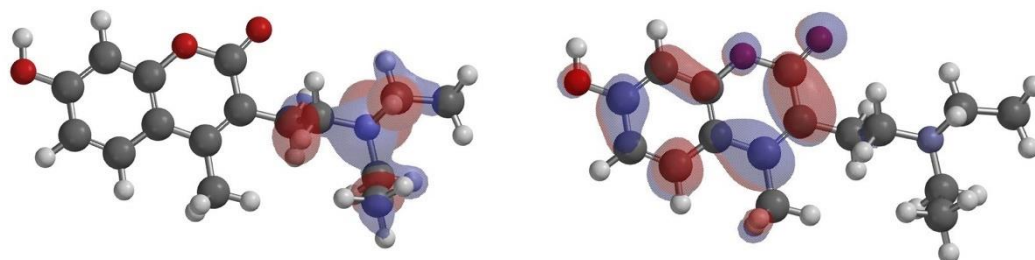
### 5.1.2 Cálculos Teóricos do DEHMC

O espectro teórico de absorção do DEHMC em vácuo foi obtido a partir dos dados do cálculo (Tabela 5). Observa-se quatro bandas A, B, C, D no espectro simulado em vácuo. As energias (nm) e f-valores das quatro bandas são A (381 nm;  $f= 0,0209$ ;  $I= 2,5$ ; HOMO  $\rightarrow$  LUMO), B (237,68 nm;  $I= 100$ ;  $f= 0,0476$ , HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO +1), C (205,28 nm,  $I= 70$ ;  $f= 0,1891$ , HOMO-4  $\rightarrow$  LUMO) e D (197,58 nm,  $f = 0,0520$ ;  $I= 10$ ; HOMO  $\rightarrow$  LUMO+13) respectivamente. Os orbitais referentes as bandas podem ser visualizadas nas (Figura 33, página 69) e (Figura 34, página 70).

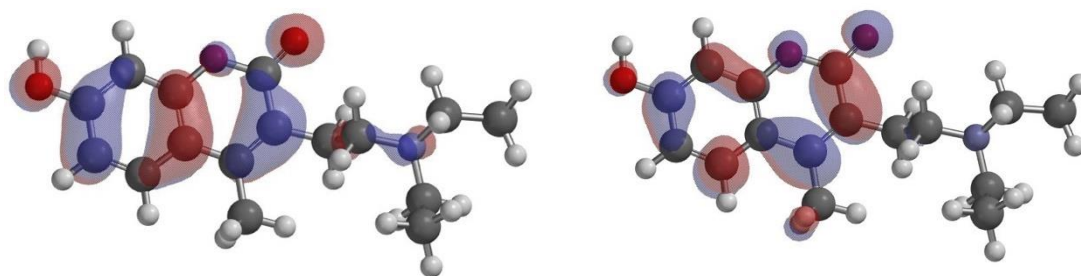
**Tabela 5 - Principais energias de excitação, E (ev), singleto, S1 (tipo n,  $\pi^*$ ), e o comprimento de onda,  $\lambda$  (nm), dos espectros do DEHMC calculado. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados em simulação em vácuo. \* I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o rsp.spectrum e depois o máximo é normalizado para 100%)**

DEHMC (base livre) HOMO (74) -5,6ev						
S	$\lambda$ (nm)	f-valor	*I.	Banda	Transição	
1	381,88	0,0209	2,5%	A1	HOMO $\rightarrow$ LUMO	$n \rightarrow \pi^*$
2	289,87	0,4398	100%	A2 Ombro	HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO	$n \rightarrow \pi^*$
3	275,08	0,0287			HOMO $\rightarrow$ LUMO +1	$n \rightarrow \pi^*$
4	268,78	0,0175			HOMO-2 $\rightarrow$ LUMO	
5	267,23	0,0129			HOMO-3 $\rightarrow$ LUMO	
6	258,47	0,0097			HOMO $\rightarrow$ LUMO+3	
7	247,87	0,0052			HOMO $\rightarrow$ LUMO+4	
8	247,22	0,0004			HOMO $\rightarrow$ LUMO+2	
9	237,68	0,0476	19%	B	HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO +1	$n \rightarrow \pi^*$
10	224,78	0,0292			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+4	$n \rightarrow \pi^*$
11	236,22	0,0049			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+2	
12	233,70	0,0160			HOMO $\rightarrow$ LUMO+6	
13	227,00	0,0081			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+3	
14	224,78	0,0292			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+4	
15	222,44	0,0014			HOMO $\rightarrow$ LUMO+8	
16	219,96	0,0106			HOMO $\rightarrow$ LUMO+7	
17	211,99	0,0168			HOMO $\rightarrow$ LUMO+9	
18	208,22	0,0021			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+5	
19	206,77	0,0008			HOMO-2 $\rightarrow$ LUMO+2	
20	205,81	0,0155			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO +7	
21	205,28	0,1891	70%	C	HOMO-4 $\rightarrow$ LUMO	$n \rightarrow \pi^*$
24	202,16	0,0099			HOMO $\rightarrow$ LUMO+12	
23	202,55	0,0106			HOMO-3 $\rightarrow$ LUMO+1	
25	201,03	0,0111			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+6	
26	197,58	0,0520	10%	D	HOMO $\rightarrow$ LUMO+13	

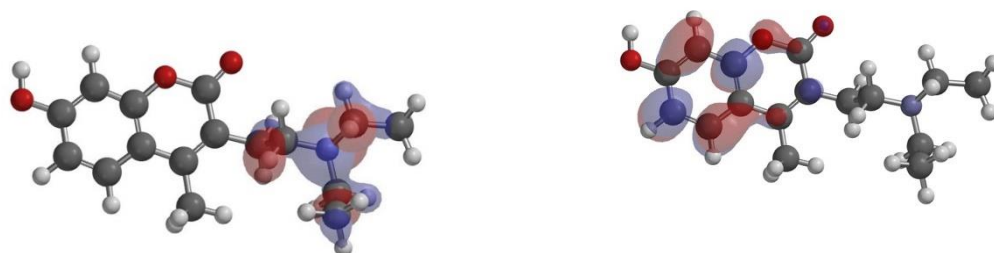
a) Banda A1: HOMO  $\rightarrow$  LUMO



b) Banda A2: HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO

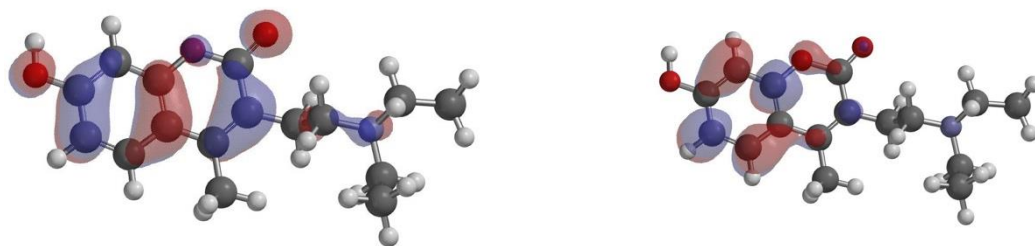


c) Ombro de A2 : HOMO  $\rightarrow$  LUMO +1

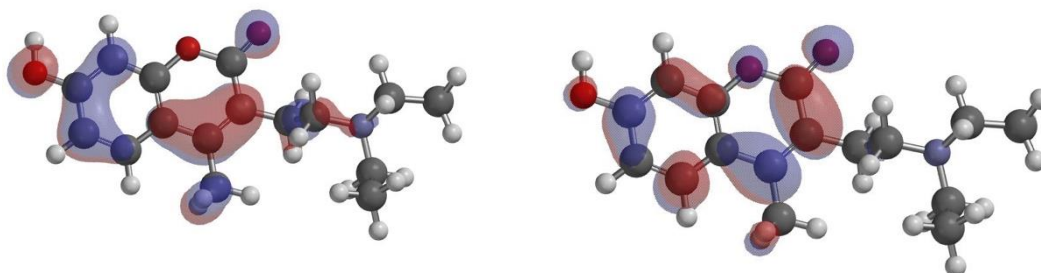


**Figura 33** Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC simulação em vácuo sendo que os máximos de cada banda: a) A1 b) A2 c) Ombro de A2

a) Banda B: HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO +1



b) Banda C: HOMO -4  $\rightarrow$  LUMO



**Figura 34** Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC simulação em vácuo das bandas: a) B; b) C.

O espectro teórico de absorção UV do DEHMC simulado em etanol foi obtido a partir dos dados do cálculo (Tabela 06). Observa-se quatro bandas (A, B, C e D) no espectro simulado em etanol com ligação de hidrogênio na molécula de etanol. As energias (nm) e f-valores das quatro bandas são A (391,99 nm,  $f= 0,0081$ ;  $I= 1$ ), B (223,75 nm,  $f= 0,0207$ ;  $I= 11$ ), C (209,29 nm,  $f= 0,2863$ ;  $I=30$ ) e D (201,10 nm,  $f= 0,0508$ ;  $I= 60$ ) e os picos experimentais da absorção UV VIS em etanol foram 328 nm, 254 nm, 208 nm. Os orbitais das transições referente às bandas podem ser visualizados na Figura 35 (página 72) e figura 36 (página 73).

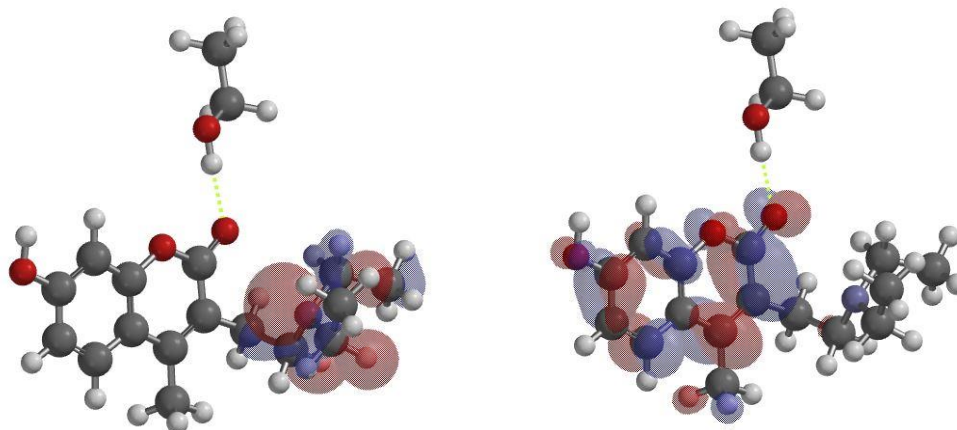
A distância entre  $O_3$  e  $H_{29}$  é de 1,94 angstroms considerada uma força eletrostática moderada, pois está na faixa observada experimentalmente de 1,5 a 2,2 angstroms (STEED e ATWOOD, 2009).

**Tabela 6 - Energias de excitação, E(ev), *singlete*, S<sub>1</sub> (tipo  $\pi$ ,  $\pi^*$ ), e o comprimento de onda,  $\lambda$ (nm), dos espectros do DEHMC calculado. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados. DEHMC ligado ao Etanol em polar solvente (PCM = 37,22). \* I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o `rsp.spectrum` e depois o máximo é normalizado para 100%)**

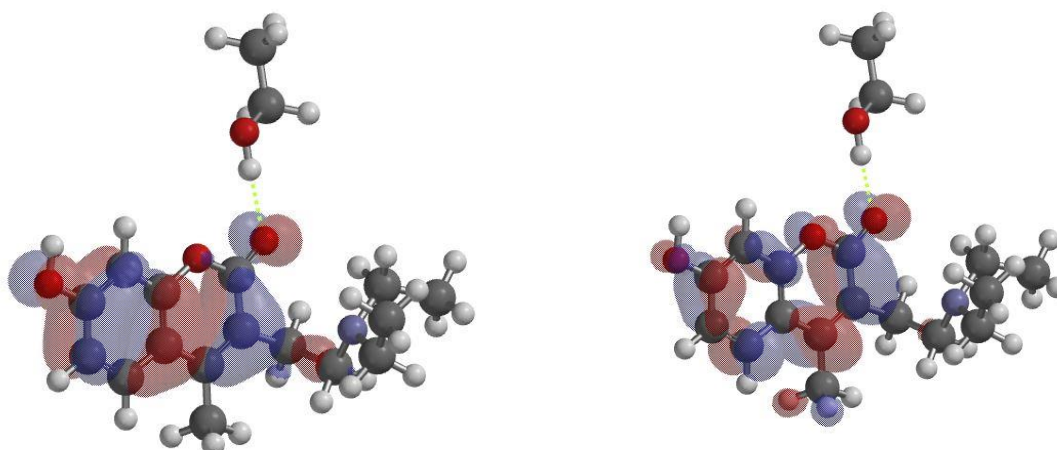
Si	$\lambda$ (nm)	E (eV)	$\lambda$ (nm)Teórico	f (osc)	*I.	Banda	Transição	
1			391,99 (3,16 ev)	0,0081	1%	A1	HOMO $\rightarrow$ LUMO	$n \rightarrow \pi^*$
2	328	3,78	301,60 (4,11 ev)	0.6213	100%	A2	HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO	$\pi \rightarrow \pi^*$
3			273,98 (4,52 ev)	0.0040				
4			271,30	0.0011			HOMO $\rightarrow$ LUMO+1	
5			251,13	0.0076			HOMO $\rightarrow$ LUMO+2	
6			248,96	0.0010			HOMO-3 $\rightarrow$ LUMO	
7			244,05	0,0085			HOMO $\rightarrow$ LUMO+3	
8			243,67	0.0012			HOMO-5 $\rightarrow$ LUMO	
9			239,49	0.0976			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+1	
10			231,77	0.0367			HOMO $\rightarrow$ LUMO+4	
11			227,25	0.0686			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+2	
12			226,92	0.0086			HOMO $\rightarrow$ LUMO+5	
13	254	4,88	223,75 (5,54 ev)	0.0207	11%	B	HOMO $\rightarrow$ LUMO+7	$n \rightarrow \pi^*$
14			223,47	0.0058			HOMO -1 $\rightarrow$ LUMO+3	
15			218,28	0.0051			HOMO $\rightarrow$ LUMO+6	
16			213,00	0.0032			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+4	
17	220	5,63	209,29 (5,92 ev)	0.2863	30%	C	HOMO-4 $\rightarrow$ LUMO	$\pi \rightarrow \pi^*$
18			208,16	0.0178			HOMO $\rightarrow$ LUMO+8	
19			207,63	0.0026			HOMO $\rightarrow$ LUMO+9	
20			206,74	0.0016			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+5	
21			203,95	0.0095			HOMO $\rightarrow$ LUMO+10	
22			201,66	0.0039			HOMO $\rightarrow$ LUMO+11	
23	208	5,96	201.10 (6,16 ev)	0.0508	60%	D	HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+7	$\pi \rightarrow \pi^*$
24			199.54	0.0227			HOMO $\rightarrow$ LUMO+13	
27			199.15	0.0316			HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+7	
T1			429,58				HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO	
T2			396,30				HOMO $\rightarrow$ LUMO	
T3			319,62				HOMO-2 $\rightarrow$ LUMO	
T4			299,86				HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO +1	



a) Banda A1: HOMO  $\rightarrow$  LUMO



b) Banda A2: HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO



c) Banda B: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 7

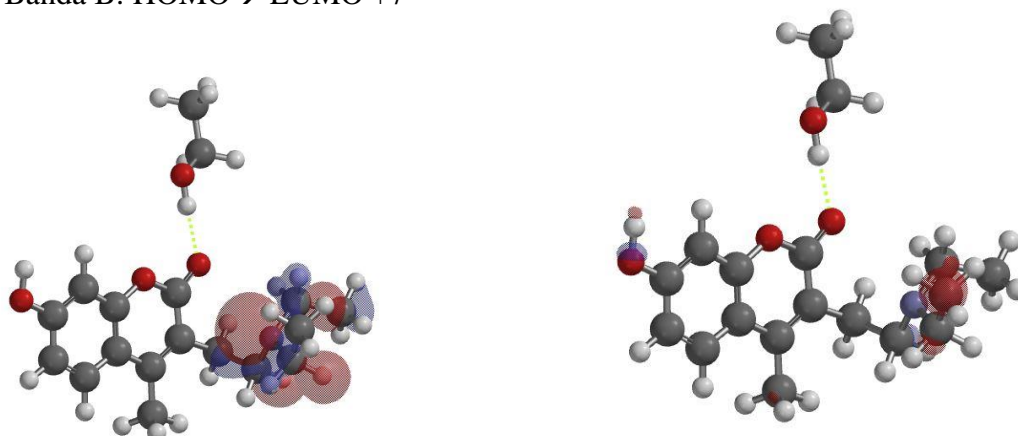
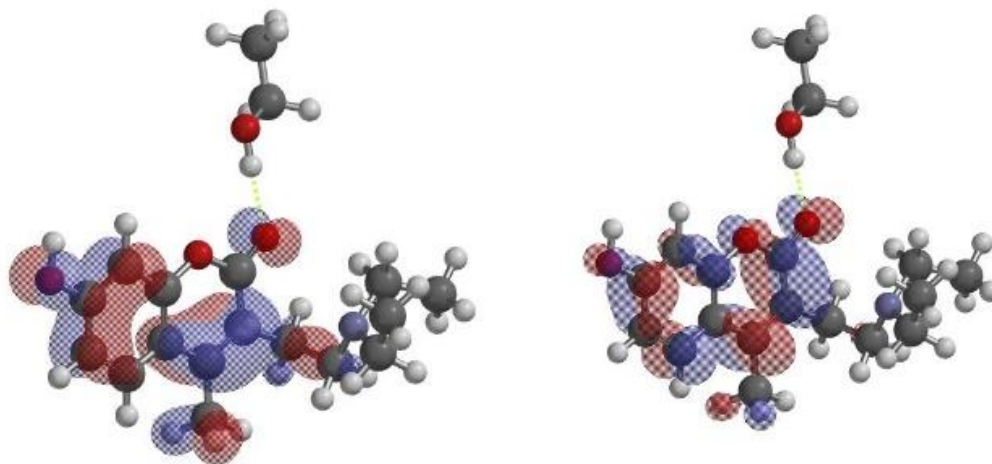
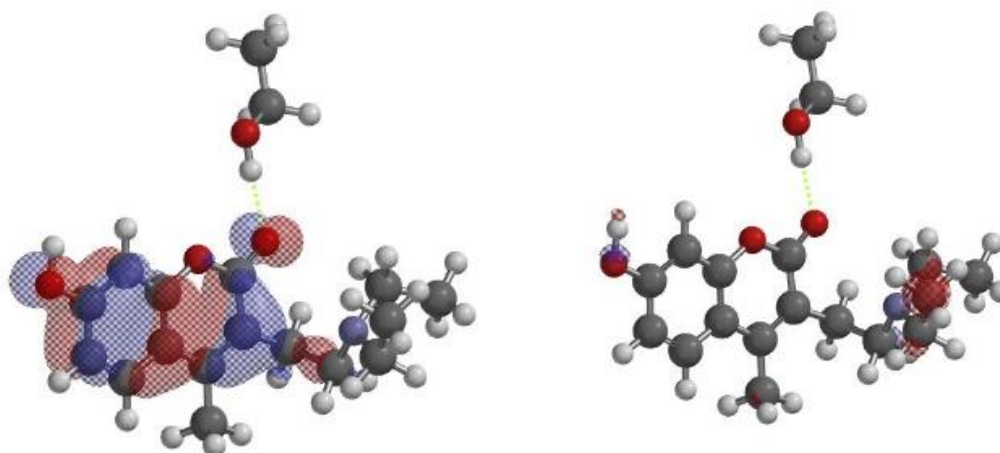


Figura 35 Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC simulação em etanol a) Banda A b) Banda A2 c) Banda B

a) Banda C: HOMO -4  $\rightarrow$  LUMO



b) Banda D: HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO +7



**Figura 36** Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC simulação em etanol correspondendo aos máximos de cada banda a) C; b) D

A Banda A1 consiste na transição S1 (HOMO, n, N1  $\rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$ ), (Figura 35 a, página 72), A banda A2 possui máximo em aproximadamente 301,60 nm correspondente a transição do orbital (S2, HOMO -1,  $\pi$ ), (Figura 35b, página 72) para o orbital (LUMO,  $\pi^*$ ).

O pico máximo da banda B consiste na transição (S<sub>13</sub>, HOMO  $\rightarrow$  LUMO +7) e corresponde a 254 nm do espectro experimental, (Figura 35c). A transição S<sub>17</sub> corresponde à intensidade máxima da Banda C (Figura 36a, página 73) em 209,29 nm é semelhante ao máximo experimental em 218 nm. A transição correspondente a Banda D do espectro teórico refere-se à transição eletrônica (HOMO-1,  $\pi \rightarrow$  LUMO+7,  $\pi^*$ ) (Figura 36b, página 73).

Os cálculos de energia para a base livre DEHMC etanol (Tabela 6, página 71), a primeira transição foi atribuída como n  $\rightarrow$   $\pi^*$ , originam-se das transições N1 (ramificação) para (anel benzopirona). A transição de longo alcance envolve o n orbital de amina terciária e orbitais  $\pi^*$  do anel benzopirona (Figura 35a).

O espectro teórico de DEHMC + (simulado em água) foi obtido com base nos resultados dos cálculos DFT para DEHMC + (Tabela 07). Observa-se quatro máximos **A**, **B**, **C** e **D** no espectro simulado em água monocatión (H23 ligado ao N1 com carga Mulliken 0,477 Coulomb, ligado conforme os dados no infravermelho sobre a protonação neste nitrogênio).

As energias (nm) e f-valores das quatro bandas são **A** (308,14 nm f= 0,4802; I=40), **B** (237 nm f= 0,0944; I=10), **C** (207,30 nm f= 0,0921; I= 40) e **D** (187,07 nm, f= 0,1752; I=100) que correspondem aos picos experimentais do DEHMC em água nos valores de **I**= 324 nm **II**= 252 nm **IIIa**= 216 nm e **IIIb**= 204 nm.

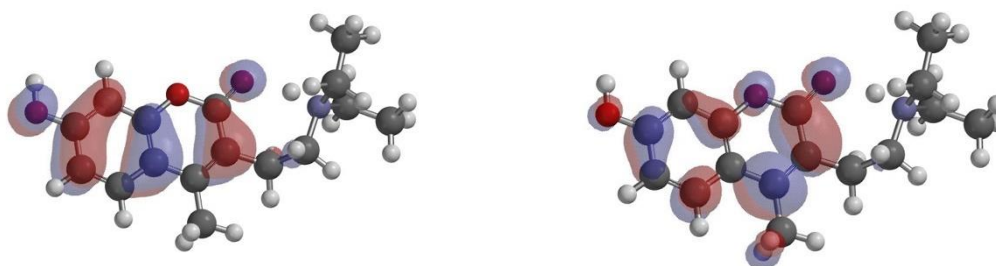
**Tabela 7 - Energias de excitação, E (ev), singlete, S<sub>1</sub> (tipo  $\pi$ ,  $\pi^*$ ), e o comprimento de onda,  $\lambda$ (nm), dos espectros do DEHMC+ (água) oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados B3LYP 6-31+ G\*. Monocátion em água. \*I. (Intensidade normalizada após os dados irem para o software rsp.spectrum).**

Si	$\lambda$ (nm)	E (eV)	$\lambda$ (nm)Teórico	f (osc)	*I.	Banda	Transição	Natureza
1	324	3,826	308,14 (4,02 ev)	0,4802	40%	A	HOMO -> LUMO	$\pi \rightarrow \pi^*$
2			289,06	0,0198		Ombro	HOMO-1 -> LUMO	$\pi \rightarrow \pi^*$
3			244,08	0,0004			HOMO-3 -> LUMO	
4	252	4,92	237,00 (5,23 ev)	0,0944	10%	B	HOMO -> LUMO+1	$\pi \rightarrow \pi^*$
5			229,99	0,0169			HOMO -> LUMO+2	
6			222,81	0,0363			HOMO -> LUMO+3	
7			208,68	0,0424			HOMO -> LUMO+6	
8	216	5,74	207,30 (5,98 ev)	0,0921	40%	C	HOMO-2 -> LUMO	$\pi \rightarrow \pi^*$
9			205,17	0,0065			HOMO -> LUMO+4	
10			204,48	0,0027			HOMO -> LUMO+5	
11			203,01	0,0052			HOMO -> LUMO+6	
12			199,71	0,2211			HOMO-1 -> LUMO+2	
13			194,30	0,0031			HOMO-5 -> LUMO	
14			190,93	0,4711			HOMO-1 -> LUMO+3	
15			190,53	0,1630			HOMO -> LUMO+8	
16	204	6,07	187,07 (6,62 ev)	0,1752	100%	D	HOMO -> LUMO+9	$\pi \rightarrow \pi^*$
17			185,53	0,0580			HOMO -> LUMO+9	
18			184,67	0,0104			HOMO-1 -> LUMO+7	
19			184,14	0,0531			HOMO-3 -> LUMO+1	
20			184,06	0,0091			HOMO -> LUMO+10	
21			182,00	0,0775			HOMO-2 -> LUMO+1	
22			181,42	0,0068			HOMO-1 -> LUMO+4	
23			180,61	0,0051			HOMO-1 -> LUMO+7	
24			180,34	0,0841			HOMO-1 -> LUMO+5	
25			179,62	0,0034			HOMO-6 -> LUMO	
26			179,46	0,0232			HOMO -> LUMO+11	
27			178,05	0,2806			HOMO -> LUMO+11	
28			177,12	0,0298			HOMO -> LUMO+12	
29			174,61	0,0434			HOMO -> LUMO+13	
30			173,52	0,0540			HOMO-2 -> LUMO+2	

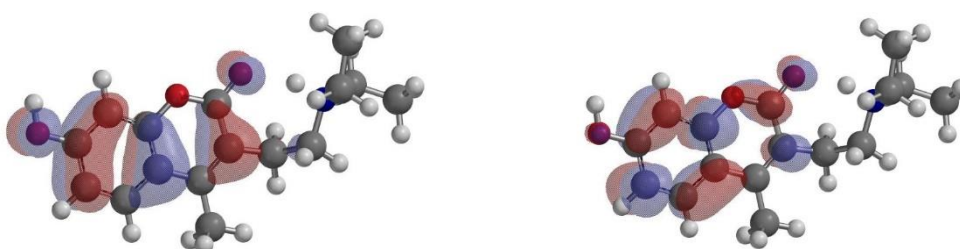
A Banda **B** é a menos intensa e a Banda **C** possui maior intensidade. A Banda **A** consiste na transição  $S_1$  (HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$ , anel benzopirona  $\rightarrow$  anel benzopirona) e  $S_2$  (HOMO-1,  $\pi \rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$  (anel aromático  $\rightarrow$  anel benzopirona)).

A banda **B** consiste em duas transições sendo que  $S_4$  consiste na transição eletrônica do orbital (HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 1, anel benzopirona). A Banda **C** com cinco transições eletrônicas sendo  $S_7$  a transição com maior intensidade e ocorre com origem do orbital (HOMO -2) para o LUMO (benzopirona  $\rightarrow$  benzopirona). Os orbitais referente as bandas podem ser visualizadas na (Figura 37) e (Figura 38, página 77).

a) Banda A: HOMO  $\rightarrow$  LUMO

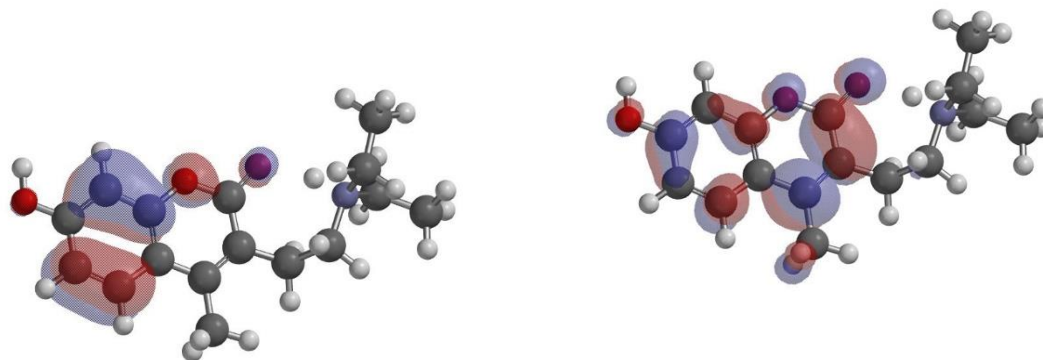


b) Banda B : HOMO  $\rightarrow$  LUMO +1

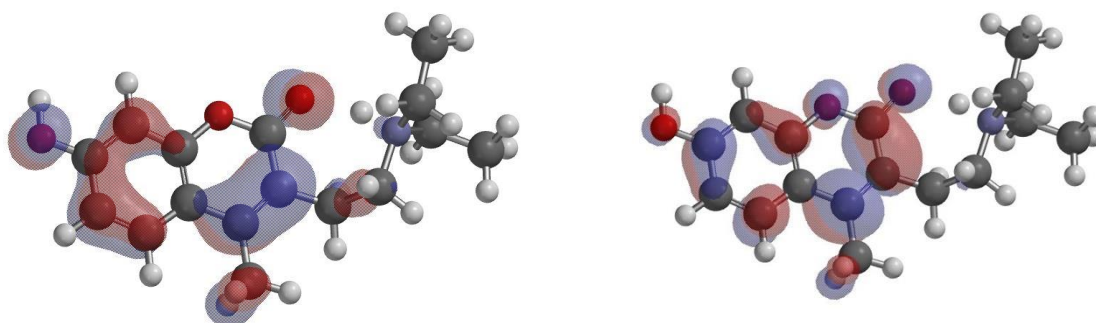


**Figura 37** Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC+ simulação em água sendo que os máximos de cada banda referente à banda A e b) Banda B

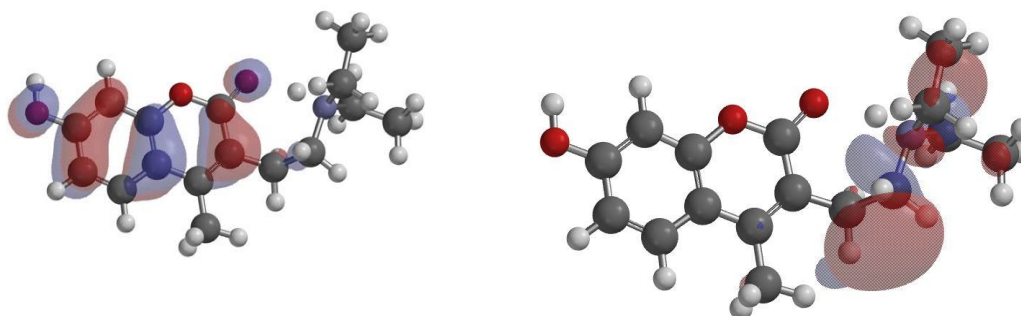
a) Ombro: HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO



b) Banda C: HOMO -2  $\rightarrow$  LUMO



c) Banda D: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 9



**Figura 38** Orbitais moleculares referentes ao resultado do cálculo DFT da molécula DEHMC+ simulação em água sendo que os máximos de cada banda referente: a) Ombro: HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO b) Banda C: HOMO -2  $\rightarrow$  LUMO , c) Banda D: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 9.

### 5.1.3 O efeito do solvente

O efeito do solvente nas moléculas DEHMC foi estudado em; DEHMC base livre, DEHMC-H (etanol, Figura 39 a) e DEHMC H<sup>+</sup> (água, Figura 39 c). Esses espectros possuem diferenças em intensidades relativas, deslocamento batocrômico e regiões cromóforas.

O cálculo DFT possibilitou verificar que a principal diferença está na transição S1 (com menor intensidade). Essa transição que ocorre em vácuo (Figura 39 a1) e em etanol (Figura 39 b1) já não acontece quando a molécula está protonada (Figura 39 c1).

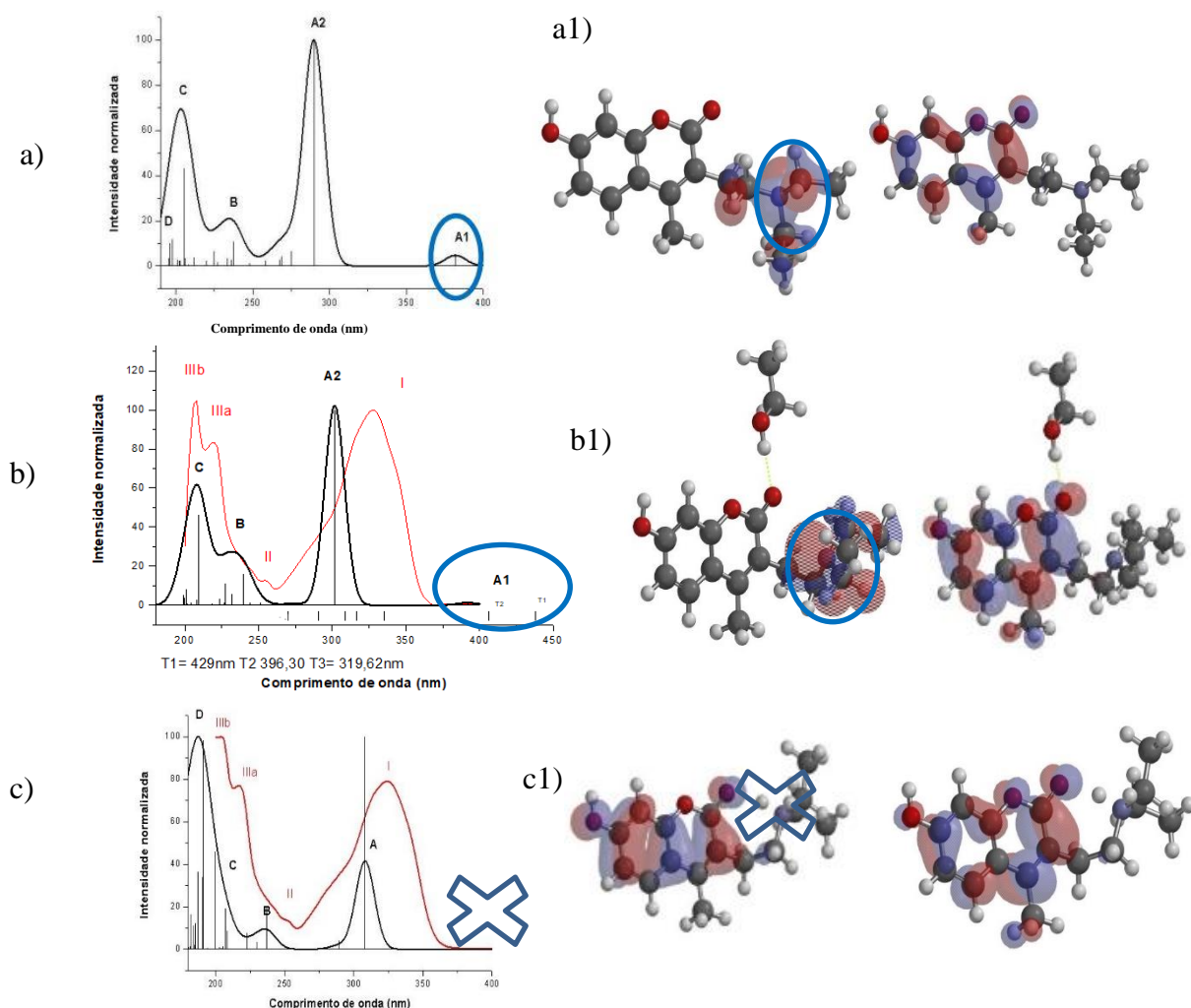


Figura 39 Espectro Teórico do DEHMC simulado em :a) vácuo b) ligado e em etanol c) protonado em água. Orbitais referente a transição HOMO → LUMO quando simulado em :a1) vácuo, b1) ligado e em etanol e c1) protonado e em água.

A protonação impediu a transição ( $n \rightarrow \pi^*$ ) que embora com intensidade fraca é muito importante na interação com o material biológico, pois é uma transição de transferência de carga a longa distância.

Essa transição ocorre em  $S_1$  tanto em simulação em vácuo quanto em simulação em etanol. A simulação da molécula DEHMC + teve características distintas nas transições eletrônicas, provavelmente a protonação mudou totalmente as regiões envolvidas nas transições que antes ocorriam em vácuo e em etanol.

A mudança do solvente de DEHMC-H em relação à simulação base livre (Tabela 8) mostra o deslocamento para o vermelho em etanol e água nas bandas **A**, **C** e **D**. O deslocamento para o azul na banda **B** foi observado em etanol (-13,93 nm) e em água (-1,3 nm) e na banda **D** em água (-9,88 nm).

No complexo em etanol e base livre predominaram as transições de natureza ( $\pi$ ,  $\pi^*$ ), mas existe a transferência de carga nestes dois casos de origem do nitrogênio localizado na ramificação da piridina para o anel aromático ( $n \rightarrow \pi^*$ ).

**Tabela 8 - Valores dos cálculos teóricos DFT do DEHMC simulação em vácuo (referência), etanol e em água com valores relativos ao deslocamento (desloc.). Os valores de referência são os picos máximos do espectro teórico com simulação em vácuo.**

Bandas	Vácuo (nm)	Etanol (desloc.)	DHMC+
<b>A</b>	289,87	11,73	9,13
<b>B</b>	237,68	-13,93	-1,3
<b>C</b>	205,28	4,01	0,74
<b>D</b>	197,58	3,52	-9,88

O ângulo formado pelos átomos (C2, C3, C11) em simulação em etanol foi de  $115,12^\circ$  e em simulação DEHMC protonada o ângulo teve o valor de  $115,17^\circ$  praticamente o mesmo valor. O ângulo em vácuo ( $114,16^\circ$ ) foi menor do que as duas outras simulações. Os ângulos calculados na molécula evidenciam a não planaridade da molécula na região entre o anel benzopirona e a ramificação (Figura 40).



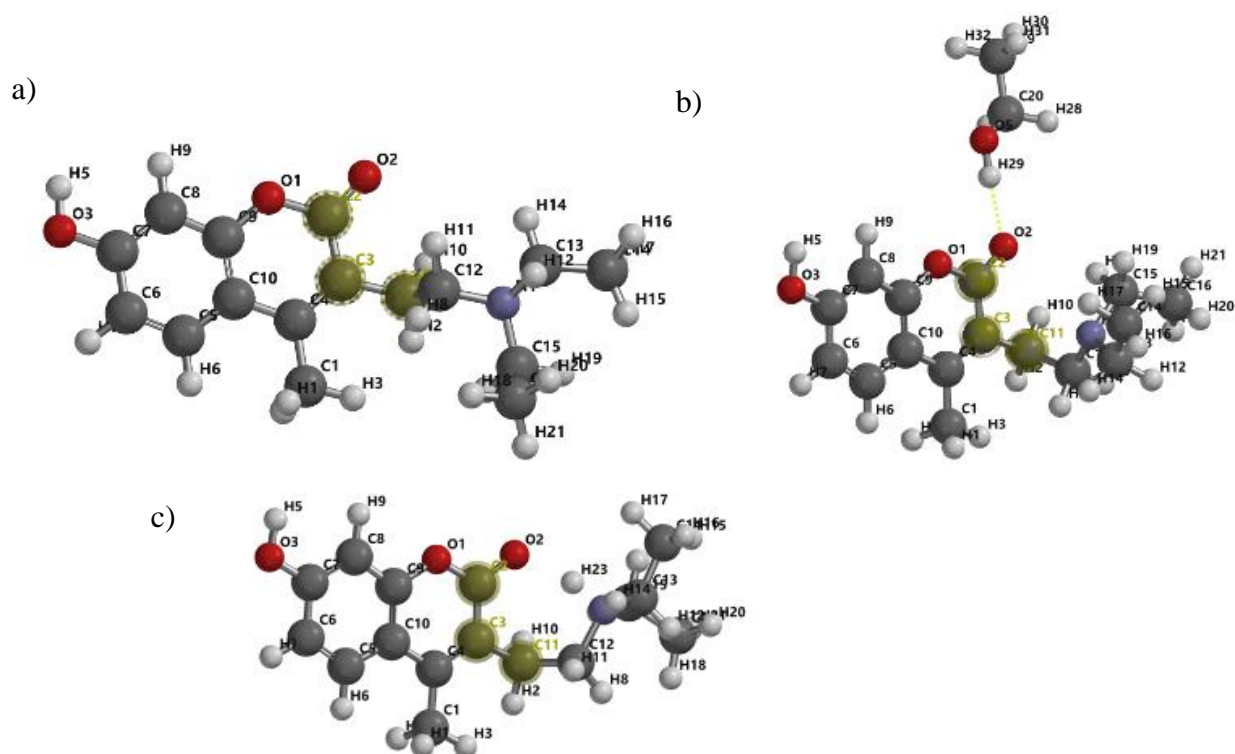


Figura 40 Ângulos formados pelos átomos C2, C3 e C11 calculados em simulação DHEMC em: a) vácuo b) etanol e c) água

O momento de dipolo do DEHMC (Figura 41) na simulação em água é 1,3 Debyes menor do que em etanol e 1,67 Debyes maior com relação a simulação em vácuo.

a) 3,93 Debye

b) 6,90 Debye

c) 5,6 Debye

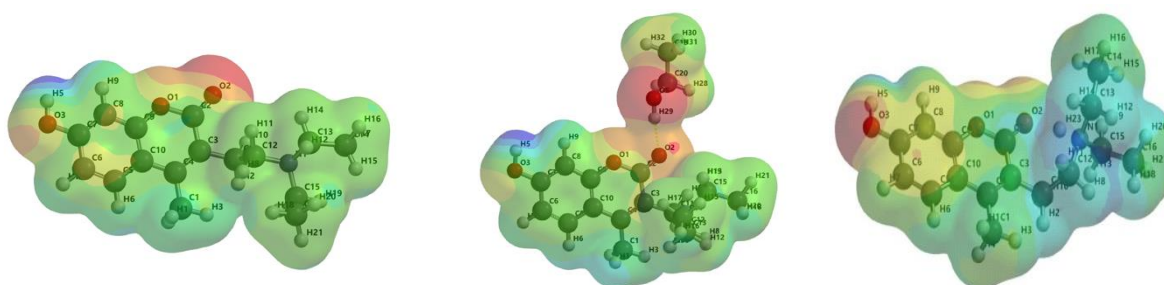


Figura 41 Mapa de potencial eletrostático do DEHMC calculado DFT em a) Vácuo b) Etanol c) DEHMC+ em Água

A carga mais negativa está no O3 (Tabela 9) ao comparar as cargas naturais dos átomos O1, O2, O3 e N1, porém as proximidades do O1 com o O2 fizeram desta região mais eletronegativa da molécula e mais provável para ocorrer a ligação de hidrogênio com a carbonila do etanol.

**Tabela 9 - Tabela de cargas (Natural) do DEHMC em simulação em vácuo, etanol e protonada em água**

Átomo	Vácuo	Etanol	Protonada
O1	-0,502	-0,502	-0,479
O2	-0,585	-0,676	-0,662
O3	-0,695	-0,718	-0,675
N1	-0,558	-0,572	-0,460

### 5.1.4 Espectro de Emissão do DEHMC

Os espectros de emissão do DEHMC foram estudados em: (1) etanol (Figura 42a), (2) etanol mais hexafluoro-2-propanol (Figura 42b), e (3) água (Figura 42c).

O espectro de emissão em etanol mostra uma emissão azul constituída por uma banda de fluorescência com dois máximos a 371 nm e 388 nm. A intensidade desta emissão com dois máximos evidencia que coexistem duas espécies em equilíbrio; DEHMC-H (371nm) e DEHMC + (388nm).

O espectro em etanol mais gotas de hexafluoro-2-propanol (Figura 42b) exibe uma forte emissão e suas características espectroscópicas diferentes do espectro em etanol. De acordo com os cálculos DFT para DEHMC-H, a emissão de fluorescência é devida a  $S_1 (n, \pi^*)$  e  $S_2 (n, \pi^*)$ .

Os dois picos na emissão em etanol (371 nm e 388 nm) estão próximos com separação apenas de 17 nm. Os resultados teóricos estão de acordo com os resultados experimentais.

O equilíbrio entre DEHMC + e DEHMC-H foi deslocado para as espécies DEHMC-H devido ao hexafluoro-2-propanol (LIN E MARQUES, 1981) e atribuída como resultado das espécies do monômero DEHMC-H. A emissão de DEHMC-H depende fortemente da natureza do solvente. Os efeitos do solvente nas propriedades fotofísicas do DEHMC-H provavelmente são devidos à proximidade dos dois estados,  $S_2 (n, \pi^*)$  e  $S_1 (n, \pi^*)$  (LAI *et al.*, 1982).

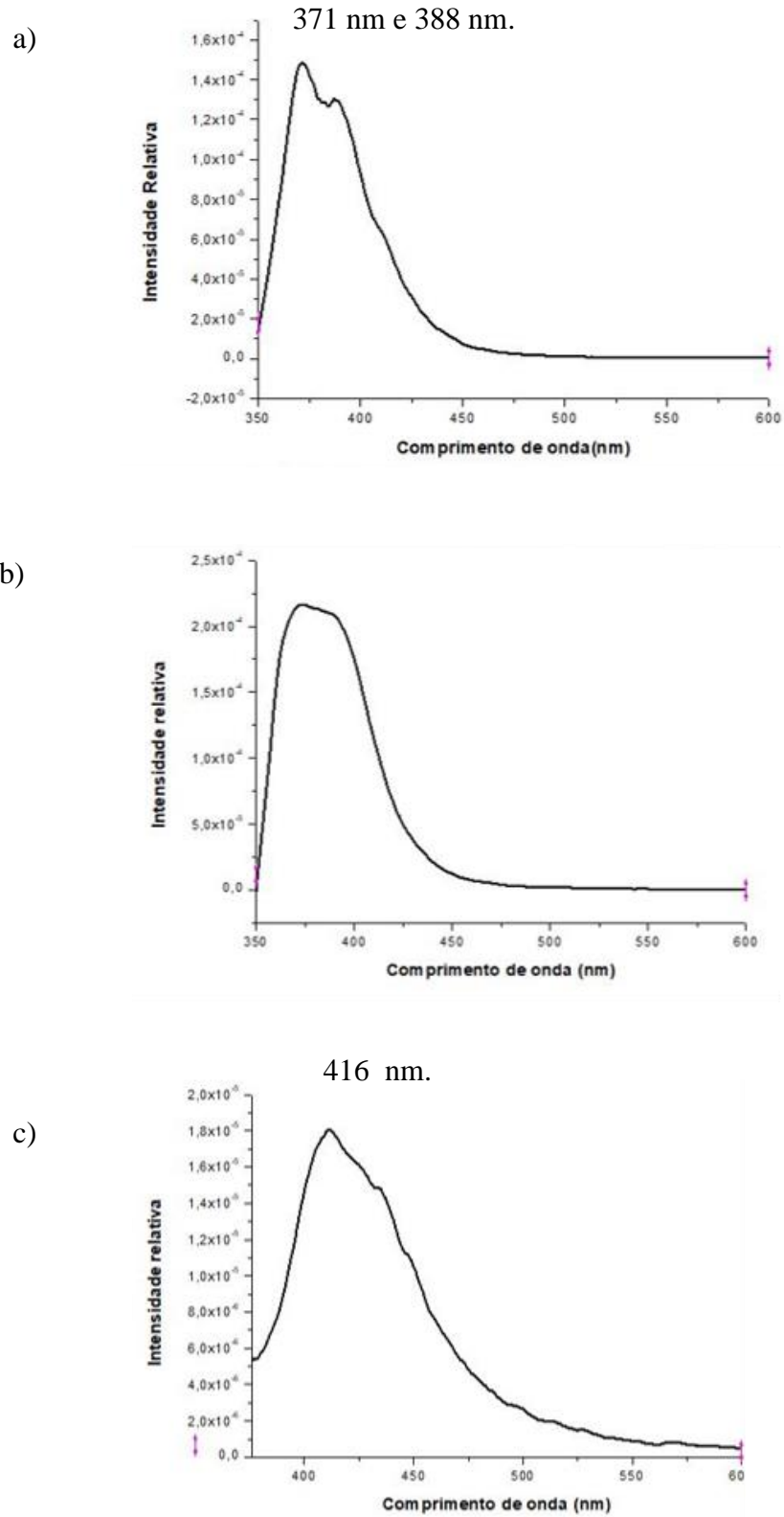


Figura 42 Espectro de emissão do DEHMC  $10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  em a) etanol b) etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol c) em água.

Por outro lado, o DEHMC-H dissolvido em hexafluoro-2-propanol (Figura 42 b, página 82) mostra uma emissão intensa que se origina do monômero DEHMC-H formado por uma forte ligação de hidrogênio. A emissão de fluorescência deve ser do estado  $(\pi, \pi^*)$  devido ao efeito de ligação de hidrogênio (BURAWOY, 1939).

A forte ligação de hidrogênio deve separar os estados  $(n, \pi^*)$  e  $(\pi, \pi^*)$ . Isso pode ser confirmado pelo cálculo DFT. A forte ligação de hidrogênio provoca um aumento na diferença de energia entre os estados  $^1(n, \pi^*)$  e  $^3(\pi, \pi^*)$ . Isso causa uma baixa rotação - taxa de acoplamento orbital (OLBA *et al.*, 1998).

O máximo (416 nm) de fluorescência do espectro DEHMC em água (Figura 42 c, página 82) está 43 nm deslocados para o vermelho quando comparado com a fluorescência do espectro DHMC em etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol, caracteriza-se um estado emissor  $(\pi, \pi^*)$ . As alterações na amina terciária modificam o comportamento fotofísico da espécie.

O espectro de emissão de DEHMC dissolvido em água (Figura 42 c) a uma concentração de  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  com máximo em aproximadamente 416 nm apresentou uma emissão com coloração azul e características espectrais distintas quando comparadas com o espectro em etanol  $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  (Figura 42 a).

As cumarinas possuem uma emissão de fosforescência com uma estrutura vibrônica bem definida e mais intensa que a fluorescência. As cumarinas e psoralenos possuem estado emissor  $(\pi, \pi^*)$  que está parcialmente localizado no duplo etilênico (C3 = C4) do anel pirônico e a estrutura vibracional é resultante da vibração fora do plano C-H, aparentemente associada à dupla ligação etilênica da porção pirona (MATULIN, 1973; MARQUES; MARQUES, 1994).

As emissões do DEHMC (Figura 42) mostram comportamento fotofísico oposto ao das cumarinas. O espectro de emissão apresenta uma banda de fluorescência de alta intensidade sendo que a fosforescência não é visualizada no espectro em solução etanólica e aquosa. Dessa forma, as propriedades fotofísicas das espécies DEHMC são diferentes em relação às cumarinas comuns.

O espectro de emissão de DEHMC + (em água) visualizado na (Figura 42 c) é substancialmente diferente daqueles de DEHMC-H dados na Figura 42 a e 42 b. A protonação provoca mudanças drásticas nas propriedades fotofísicas.

No caso de DEHMC +, os estados  $S_1$  e  $T_1$  são atribuídos como  $(\pi, \pi^*)$ . O  $S_1$  e  $T_1$  resultam da transição  $(\pi, C5 = C6 \rightarrow \pi^*, C3 = C4)$ . O estado  $(n, \pi^*)$  originado do N de amina terciária para  $\pi^*$  de C5, C6, C8 (anel aromático) desaparece completamente em DEHMC +.

O cálculo do DFT mostrou que o anel da benzopirona e o anel pirona juntamente com o N da amina terciária, são as regiões moleculares mais importantes em termos de fotoatividade. O resultado na cumarina “molécula mãe” (MARQUES A. D. S ; MARQUES G. S. S., 1994) foi o anel pirona como região mais fotoativa.

A diferença é que nas espécies de DEHMC a região aromática em conjunto com o anel pirona passa a ser a região cromófora da molécula. O cálculo sugere que as regiões moleculares mais importantes, em termos de fotoatividade são; as regiões onde se encontra os átomos N19 e C4, C5, C7, C3 na base livre DEHMC, nos átomos C5, C7, C3 e N19 e em DEHMC-H e C5, C4 e C10 em DEHMC +.

A identificação das espécies de DEHMC em ambientes aquosos e etanólico foram feitos através de um estudo espectroscópico minucioso. Observa-se que o DEHMC apresentou duas espécies ativas; as duas coexistem em meio alcoólico, o DEHMC-H e DEHMC + e em meio aquoso a forma protonada (DEHMC +) e em meio etanólico mais hexafluoro-2-propanol foi observado somente a espécie ligada ao hidrogênio (DEHMC-H). Todas as espécies ativas apresentaram propriedades fotofísicas distintas conforme a mudança dos solventes (Figura 43).

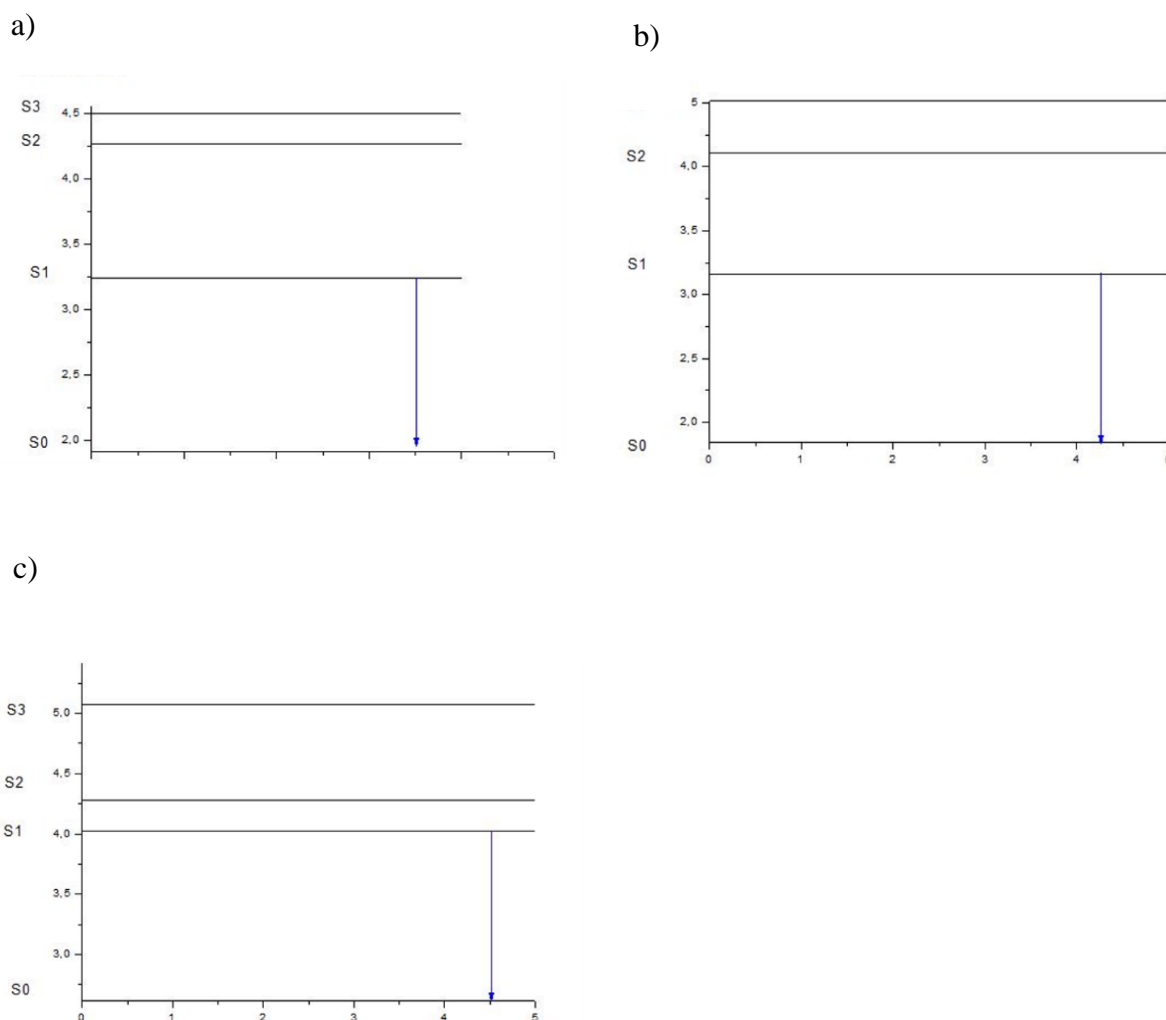


Figura 43 Esquema fotofísico do DEHMC: a) DEHMC vácuo b) DEHMC etanol c) DEHMC água

### 5.1.5 Dinâmica de protonação e desprotonação do DEHMC

A dinâmica de protonação e desprotonação foi realizada ao acrescentar etanol em pequenas porcentagens nas soluções aquosas do DEHMC hidroclorada. Esse procedimento irá possibilitar maior entendimento se a molécula prefere desprotonar ou ficar protonada conforme o efeito do solvente (hidrofílico/hidrofóbico).

A Figura 44 mostra o espectro de emissão da DEHMC hidroclorada dissolvida em água a 298 K (a) e a 77K (b), sendo adicionada na solução etanol nas seguintes porcentagens: 0%, 0,1%, 0,5%, 5%, 100%. Todos esses espectros (Figura 44), estão na concentração

$1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Quando a emissão foi realizada na temperatura ambiente (a) nenhum deslocamento foi observado nos espectros (Figura 44, linha azul), sugerindo que a velocidade de desprotonação é muito rápida nessas condições de temperatura.

Entretanto, no espectro de emissão do DEHMC<sup>+</sup> em etanol na concentração  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ocorre deslocamento para o azul em relação ao espectro com ausência do etanol (Figura 44 a --- linha verde) indicando que o DEHMC<sup>+</sup> em etanol é desprotonado.

A emissão à temperatura a 77K (Figura 44 b) foi observado que o aumento da concentração da solução em etanol aumentou a fluorescência e ocorreu um deslocamento para o azul na ordem de aproximadamente 50 nm e percebem-se duas espécies. Verificou-se que na emissão em 100% em etanol (linha lilás) há uma competição entre o DEHMC protonado e o complexo etanólico (DEHMC-H).

O espectro do DEHMC protonado é deslocado para o vermelho quando a referência é o DEHMC-H em etanol porque a protonação interrompe a transferência de carga conforme verificado nos cálculos DFT.

O DEHMC protonado existe predominantemente no meio hidrofílico e o equilíbrio entre o DEHMC<sup>+</sup> e DEHMC base livre é deslocado para a forma neutra quando o DEHMC<sup>+</sup> está com vizinhança hidrofóbica.

Para as concentrações em etanol maiores que 5% o espectro de emissão do DEHMC + dissolvido em água/etanol a 77K, é o mesmo que aquele observado em etanol puro, ou seja, o efeito da saturação é alcançado.

A quantidade de etanol necessária para alcançar a saturação é proporcionalmente (ou seja  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Essa quantidade depende também do comprimento da cadeia do álcool usado.

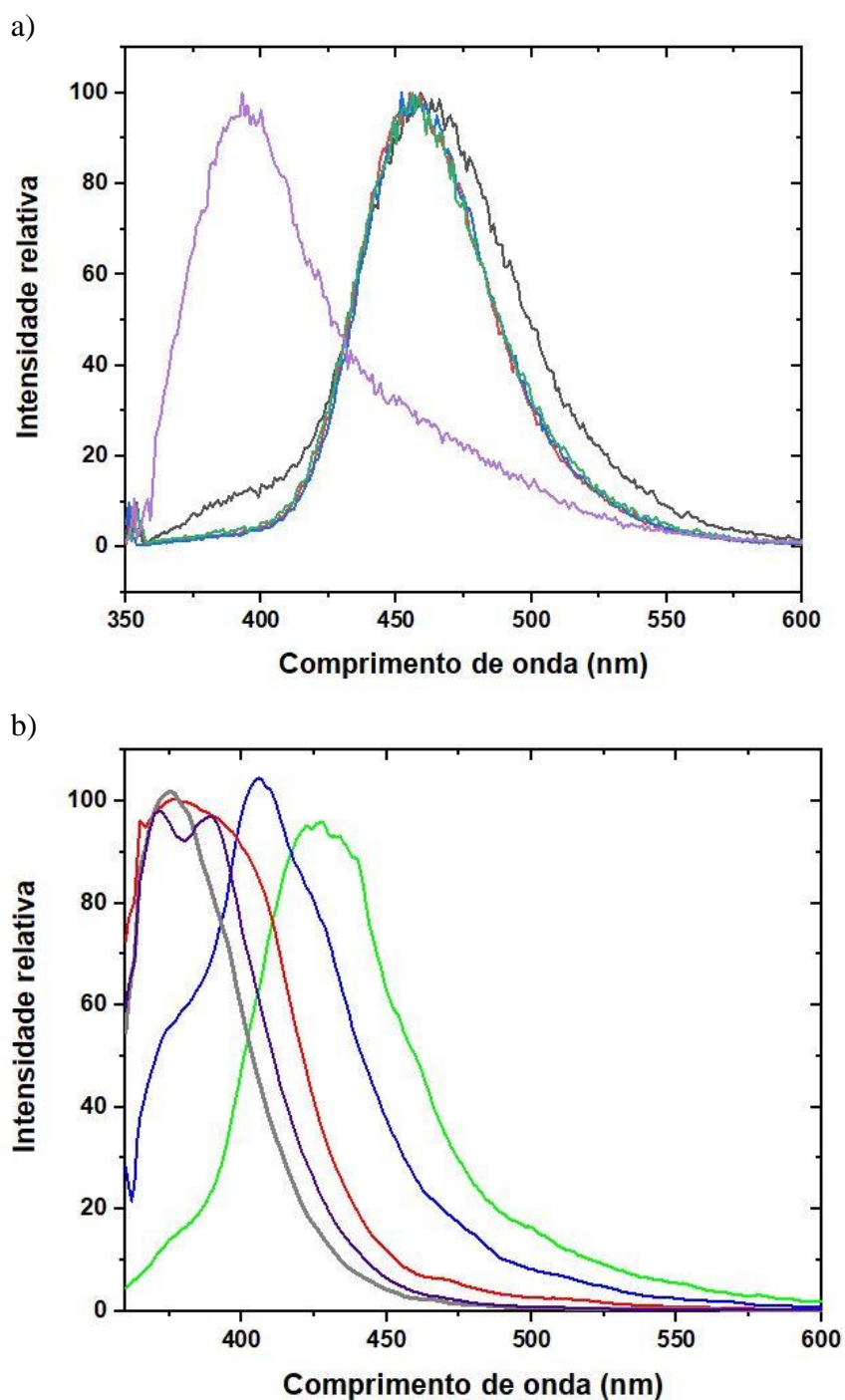


Figura 44 Emissão ( $\lambda_{exc}= 313 \text{ nm}$ ) da desprotonação do DEHMC hidroclorada água/etanol a) Temperatura ambiente b) Temperatura a 77k. Solução DEHMC  $1. 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  água mais respectivamente:: 0% etanol – linha verde , 0,1% etanol --- linha azul , 0,5% etanol --- linha vermelha ; 5% etanol --- linha cinza e em 100% em etanol – linha lilás .



### 5.1.6 Solubilização de espécies de DEHMC em soluções micelares neutras e carregadas

O estudo em soluções hidrofílicas e hidrofóbicas e a dinâmica de protonação/desprotonação evidenciou duas espécies, DEHMC-H e DEHMC + que foram caracterizados pela espectroscopia de emissão a temperatura de 77K.

Posteriormente com o estudo em micelas que possuem semelhança com uma membrana biológica foi possível identificar quais as espécies que interagiram em cada tipo de micelas utilizadas; aniônica, catiônica e neutra. Isso foi viável, pois as micelas possuem como característica orientar moléculas orgânicas (MUTHURAMA e RAMAMURTHY, 1982; MERTZ e LIN, 1991).

Os espectros utilizados no estudo em soluções micelares são visualizados na Figura 45 sendo que em: Figura (45, linha lilás) mostra os espectros de emissão a 77 K para DHMC +, adicionados em solução tampão aquosa pH = 7,0 numa concentração de  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e na Figura 45 linha azul em triton X - 100, micela neutra, e na (Figura 45, linha vermelha) em sulfato dodecil de Lítio (micela aniônica) e na (Figura 45, linha verde) em Brometo de Hexadeciltrimetilamoníaco (micela catiônica) e na (Figura 45, linha cinza) o DEHMC  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  dissolvido em Etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol a 77 K.

As características espectrais dos espectros de emissão das Figuras (45 linha azul micela neutra, linha vermelha micela aniônica) são semelhantes ao espectro de emissão do DEHMC-H em hexafluoro-2-propanol (Figura 45, linha cinza).

Sendo que o espectro do DEHMC com duas gotas de hexafluoro-2-propanol é apenas desviado para o azul, porque, nesse caso, temos a formação de um complexo contendo ligações de hidrogênio forte, como foi observado na Figura 45 linha cinza.

Isso ocorre porque as espécies DEHMC + são dissolvidas em diferentes ambientes micelares, sugerindo que as propriedades fotofísicas das espécies DEHMC são sensíveis ao ambiente de solvatação. Os espectros da micela neutra Figura 45 linha azul e micela aniônica Figura 45 c indicam que em ambos os meios, o DEHMC + desprotona e penetra no interior da micela, e as espécies solubilizadas permanecem ancoradas na região aquosa.

As espécies solubilizadas formam um complexo intermolecular de ligação de hidrogênio com o ambiente micelar. As características do espectro na Figura 45 linha verde sugerem que DEHMC + não penetram no interior da micela.

Provavelmente devido à alta concentração de carga positiva interfacial no exterior da estrutura micelar, provocando uma repulsão entre o DEHMC + e as micelas catiônicas.

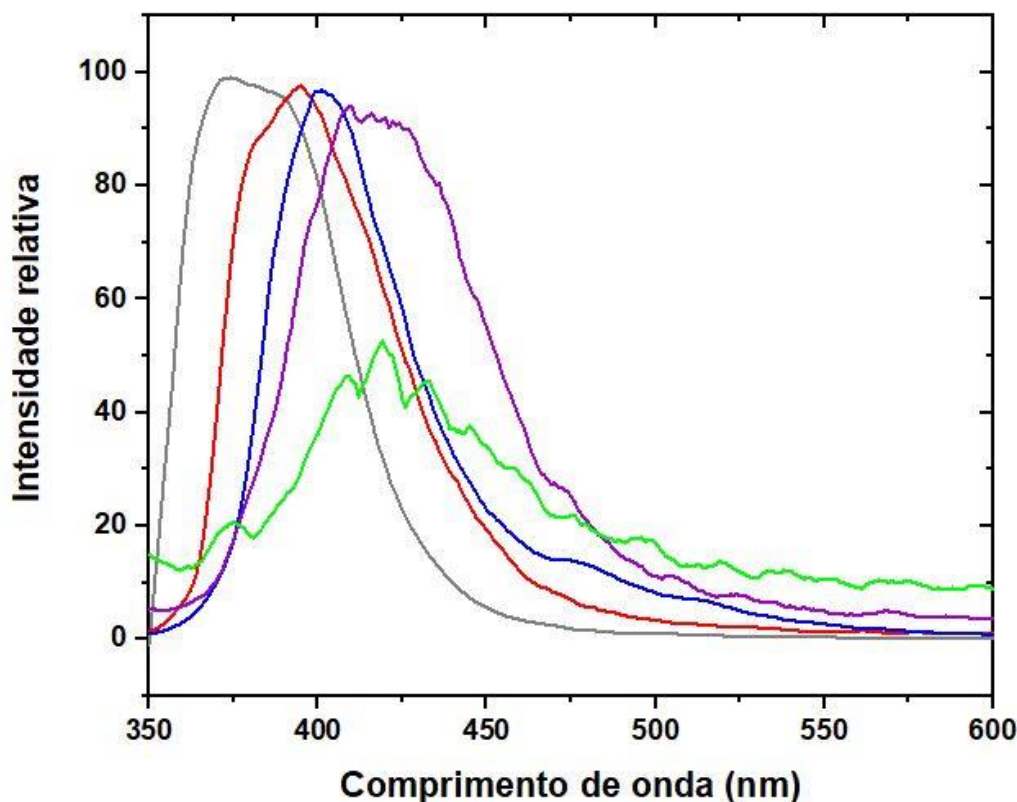


Figura 45 Emissão  $\lambda_{exc}=313\text{nm}$  do DEHMC em Hexafluoro-2-propanol, solução tampão e em Micelas; --- linha lilás DEHMC  $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$  em solução tampão pH 7 a 77k, --- linha azul DEHMC  $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$  em Triton X pH a 77k, --- linha vermelha DEHMC  $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$  em sulfato dodecil de lítio em pH 7 a 77k, ---- linha verde DEHMC  $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$  em HTAB em pH7 a77k, ---- linha cinza DEHMC a  $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$  mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol

Comparando os espectros em solução tampão (Figura 45, linha lilás), e em micela catiônica (Figura 45 linha verde) pode-se verificar que, na Figura 45 linha verde, o máximo da banda da fluorescência está situado a 432 nm, muito perto do máximo da banda de fluorescência no espectro mostrado no espectro em solução tampão e também no espectro do DEHMC em água.

As características espectrais entre os dois espectros de emissão são similares. Consequentemente a emissão obtida a partir de DEHMC + dissolvido em micelas catiônicas é originária da espécie emissora (DEHMC +).

A formação da estrutura micelar nas soluções é justificada; (I) devido à alteração nas características espectrais observadas em todos os espectros em micelas (Figura 45, linhas azul, vermelha e verde), em comparação com as características espectrais do DEHMC dissolvido na

solução tampão (Figura 45 linha lilás), (II) espectros de emissão das espécies DEHMC + em ambientes micelares são desviados para o azul em neutro e aniônico.

As forças motrizes das espécies DEHMC-H para solubilização em micelas carregadas são diferentes daquelas em micelas neutras. Em micelas aniônicas e neutras, o DEHMC-H é ancorado no interior da região micelar hidrofílica. Em micelas catiônicas, as espécies DEHMC + não penetram no interior das micelas e a espécie DEHMC-H não é formada. A espécie DEHMC + fica ancorada no lado externo da estrutura micelar.

## 5.2 HARMINA

### 5.2.1 Espectro de Absorção UV-VIS da Harmina e Cálculos Teóricos da

#### Harmina

Os espectros (Figura 46) de absorção da Harmina base livre e hidrocloreada na concentração  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  foram estudados em: (1) metilciclohexano - linha preta, (2) etanol - linha vermelha e em (3) água - linha azul.

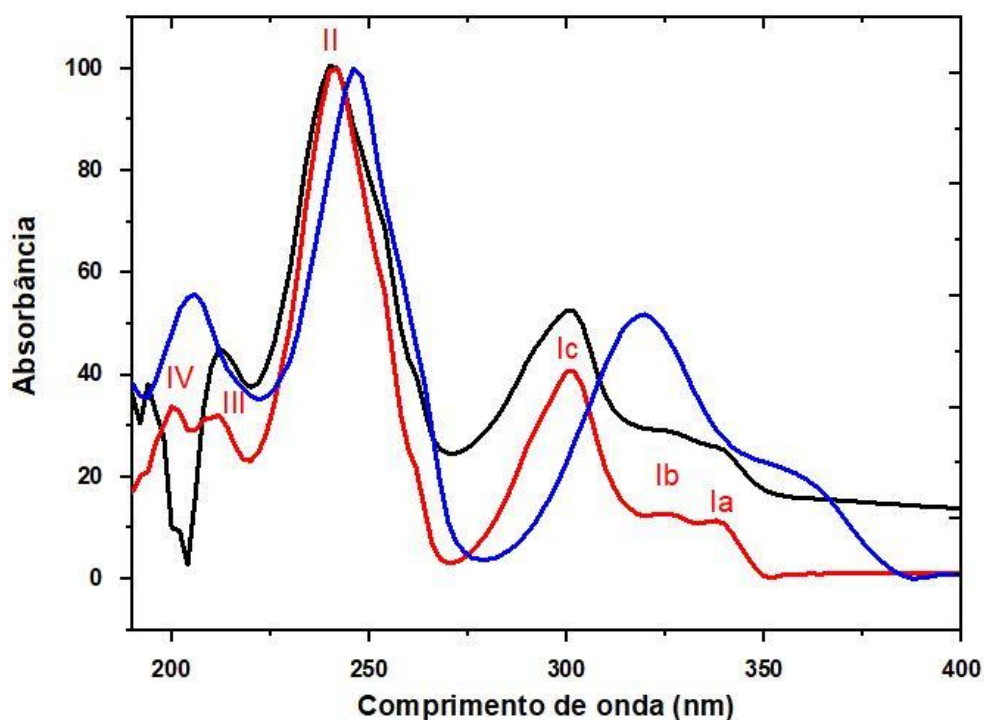


Figura 46 Espectros de absorção da Harmina base livre e hidrocloreada na concentração  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em: (preto) metilciclohexano, (vermelho) etanol e em (azul) água.

A (Figura 46- linha preto, mostra o espectro da Harmina (base livre) dissolvida em metilciclohexano com quatro bandas sendo duas largas e duas estreitas A banda **I** tem dois picos o primeiro situado em 326 nm ( $f= 28,959$ ; banda **Ia**) e o segundo em 300 nm ( $f = 52,543$ , **Ib**). A banda **II** também com um pico situado em 240 nm ( $f = 100$ ) e a banda **III** em 212 nm ( $f= 44,33$ ; estreita). A banda **IV** é a mais estreita e também com dois máximos o primeiro situado em 194 nm ( $f= 38,15$ ; **IVa**) e o segundo em 190 nm ( $f= 36,4$ ; **IVb**).

O espectro teórico de absorção da Harmina em vácuo foi obtido a partir dos dados do cálculo DFT (Tabela 10). Os seis picos no espectro simulado em vácuo estão situados em **A**, **B**, **C**, **D**, **E** e **F**. Os valores dos picos são **A** (292,46 nm;  $f= 0,0541$ ;  $I= 10$ ;  $S_1$  HOMO, n, (Oxigênios e Nitrogênios)  $\rightarrow$  LUMO; antiligante ( $\pi^*$ )), **B** (276,69 nm;  $f= 0,1793$ ;  $I= 30$ ;  $S_2$ , HOMO-1,  $\pi \rightarrow$  LUMO, ( $\pi^*$ )), **C**(238,91 nm,  $f= 0,4132$ ;  $I=100$ ;  $S_7$ , HOMO-1,  $\pi \rightarrow$  LUMO+2; antiligante ( $\pi^*$ )), **D** (216,25 nm,  $f=0,2816$ ;  $I= 61$ ;  $S_{14}$  HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO + 4, ( $\pi^*$ )), **E** (196,07,  $f=0,1294$ ;  $I=52$ ;  $S_{27}$  HOMO - 4,  $\pi \rightarrow$  LUMO; ( $\pi^*$ )). Os orbitais referente as principais transições podem ser visualizadas (Figura 47 e 48).

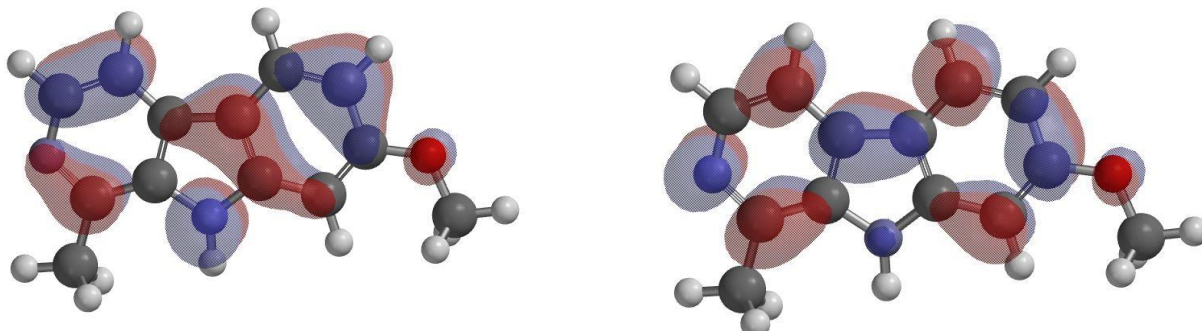
A primeira transição  $S_1$  (Tabela 10) tem-se grande contribuição de transições ( $\pi$ ,  $\pi^*$ ), mas também é possível visualizar (Figura 47 a , página 93) a contribuição eletrônica proveniente do nitrogênio (N2, anel piridina, HOMO) para LUMO (anel aromático: C5, C8). Devido a essa transição de longo alcance pode ser a mais importante no mecanismo de ação dessa substância.

A banda **B** é constituída da transição  $S_2$  e a banda **C** pelas transições  $S_3$ ,  $S_4$ ,  $S_5$ ,  $S_6$  e  $S_7$ . A banda **D** (Figura 48a, página 94) constituída pela transição  $S_{14}$  e  $S_{15}$ . A banda E (Figura 48, pagina 94) pelas transições  $S_{25}$ ,  $S_{26}$  e  $S_{27}$ .

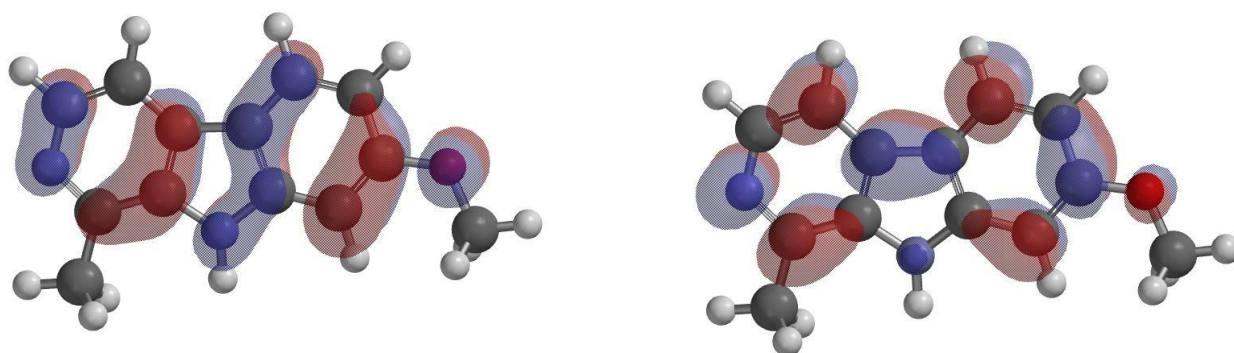
**Tabela 10** Principais energias de excitação, E(ev), *singlete*, S<sub>1</sub> (tipo n, π\*), e o comprimento de onda, λ(nm), dos espectros da Harmina calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em vácuo. \* I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o rsp.spectrum e depois o máximo é normalizado para 100%)

Si	λ(nm)	E (eV)	λ(nm)Teórico	f (osc)	*I.	Banda	Transição	Natureza
1	326	3,8	292,46 (4,23 ev)	0,0541	10%	A	HOMO -> LUMO	n → π*
2	300	4,13	276,69(4,48 ev)	0,1793	30%	B	HOMO-1 -> LUMO	π → π*
3			258,68	0,0023			HOMO-2 -> LUMO	
4			256,02	0,0011			HOMO -> LUMO+1	
5			249,52	0,0043			HOMO-1 -> LUMO+1	
6			241,85	0,1469			HOMO -> LUMO+2	
7	240	5,16	238,91	0,4132	100%	C	HOMO-1 -> LUMO+2	π → π*
8			228,46	0,1873			HOMO-3 -> LUMO	
9			226,99	0,0017			HOMO -> LUMO+3	
10			224,46	0,0057			HOMO-1 -> LUMO+3	
11			223,49	0,0025			HOMO -> LUMO+5	
12			223,38	0,0008			HOMO-2 -> LUMO+2	
13			217,84	0,0010			HOMO-1 -> LUMO+5	
14	212	5,84	216,25 (5,73 ev)	0,2816	61%	D	HOMO -> LUMO+4	π → π*
15			211,60	0,0593			HOMO-1 -> LUMO+4	
16			209,78	0,0006			HOMO -> LUMO+6	
17			208,44	0,0084			HOMO-2 -> LUMO+1	
18			207,33	0,0003			HOMO -> LUMO+7	
19			205,89	0,0018			HOMO-1 -> LUMO+6	
20			203,05	0,0015			HOMO-1 -> LUMO+7	
21			202,10	0,0010			HOMO -> LUMO+9	
22			201,99	0,0969			HOMO -> LUMO+8	
23			200,36	0,0702			HOMO-1 -> LUMO+8	
24			200,28	0,0026			HOMO-3 -> LUMO+1	
25			199,50	0,0010			HOMO-2 -> LUMO+4	
26			198,53	0,0023			HOMO-1 -> LUMO+9	
27	194	6,39	196,07 (6,32 ev)	0,1294	52%	E	HOMO-4 -> LUMO	π → π*
28			194,74	0,0065			HOMO -> LUMO+10	
29			193,50	0,0023			HOMO -> LUMO+11	
30			192,35	0,0004			HOMO-1 -> LUMO+10	

a) Banda A: HOMO  $\rightarrow$  LUMO



b) Banda B: HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO



c) Banda C: HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO +2

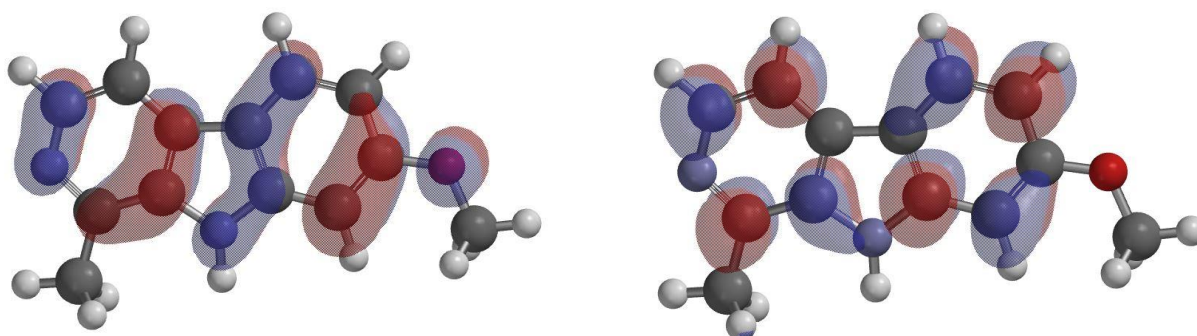
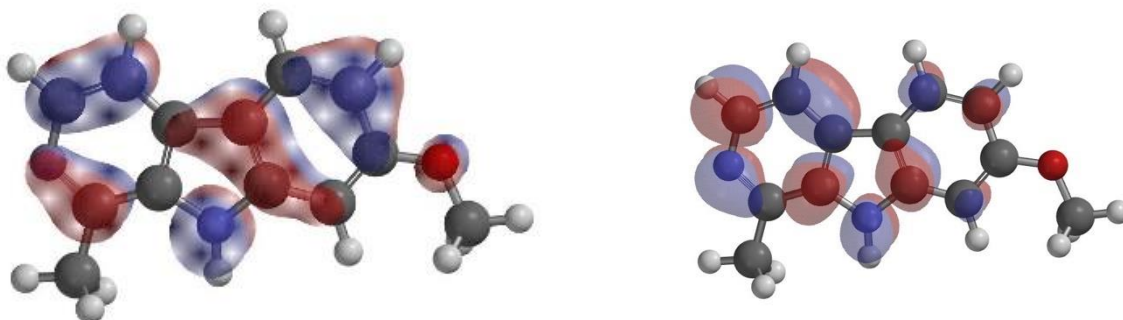


Figura 47 Transições eletrônicas da Harmina simulada em vácuo. a) HOMO  $\rightarrow$  LUMO b) HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO c) HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO+2

a) Banda D: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 4



b) Banda E: HOMO - 4  $\rightarrow$  LUMO

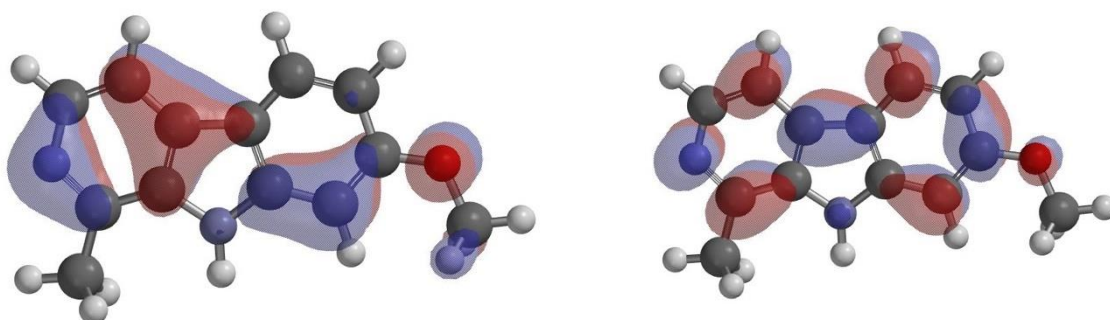


Figura 48 Transições eletrônicas da Harmina simulada em vácuo. a) HOMO  $\rightarrow$  LUMO+4; b) HOMO-4  $\rightarrow$  LUMO

A absorção da Harmina base livre dissolvida em Etanol (Figura 46- linha vermelha, página 90) possui quatro bandas. A banda I (mais larga) tem três picos situados em; 338 nm ( $f= 11,56$  ; Ia), 324 nm ( $f= 12,42$ ; Ib) e em 302 nm ( $f= 39,88$ ; Ic). A segunda banda tem máximo em 242 nm ( $f= 100$ ; II, maior intensidade) e a terceira banda possui um pico situado em 212 nm ( $f= 31,21$ ; III; estreita) e a última banda tem máximo em 200 nm ( $f= 33,5$  ; IV, estreita). Esse espectro é referente à espécie Harmina ligada ao grupo hidroxilo do Etanol (Harmina-H).

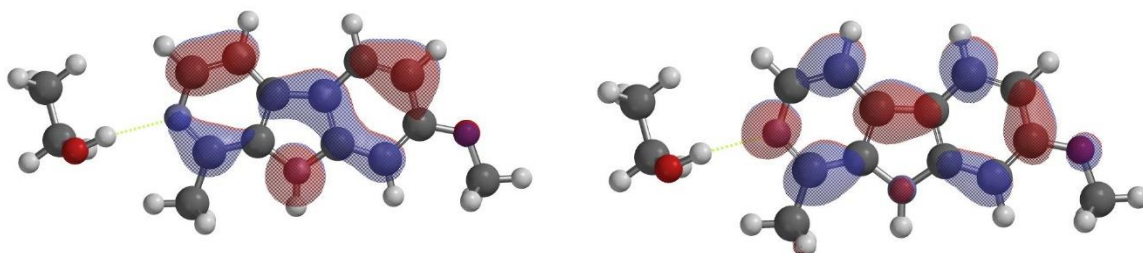
O espectro teórico simulado da Harmina (ligado ao Etanol, em etanol PCM com dielétrico de 37,22) (distância entre N e O igual a 2,09 angstroms), possui cinco bandas com máximos em 294,74 nm ( $f= 0,1001$ , 9,8; **A**, HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$ ), 278,69 nm ( $f= 0,3258$ ; 26,8; **B**,  $\pi$ , HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$ ), 239,63 nm ( $f= 0,6337$ ; 100; **C**, HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO+1,  $\pi^*$ ), 218,71 nm ( $f = 0,2678$ ; 34,08; **D**, HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO +3,  $\pi^*$ ) e 200,29 nm ( $f = 0,2214$ ; 45,3; **E**, HOMO,  $\pi^* \rightarrow$  LUMO +8,  $\pi^*$ ). Os orbitais podem ser visualizados nas Figuras 49 e 50 (páginas 96 e 97).

**Tabela 11 Principais energias de excitação, E(ev), *singlete*, S<sub>1</sub> (tipo n, π\*), e o comprimento de onda, λ(nm), dos espectros da Harmina calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em etanol. \* I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o rsp.spectrum e depois o máximo é normalizado para 100%)**

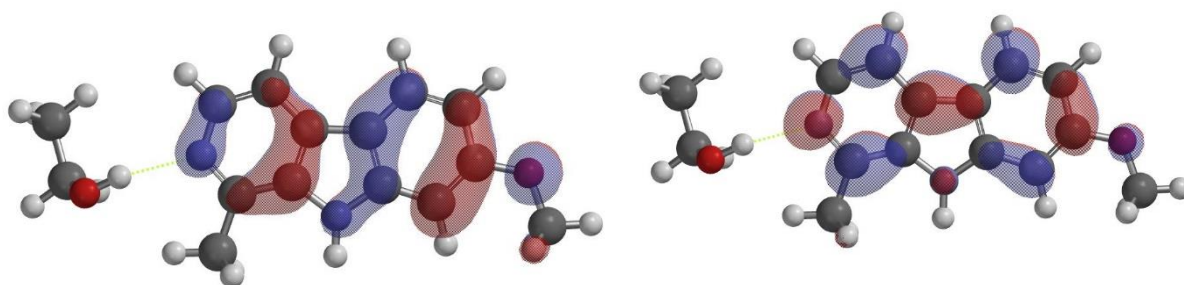
Si	λ(nm)	E (eV)	λ(nm) Teórico	f (osc)	*I.	Banda	Transição	Natureza
1	338	3,66	294,74(4,20ev)	0,1001	9,8%	A	HOMO -> LUMO	n → π*
2	302	4,10	278,69 (4,44ev)	0,3258	26,8%	B	HOMO-1 -> LUMO	π → π*
3	242	5,12	239,63(5,17 ev)	0,6337	100%	C	HOMO -> LUMO+1	π → π*
4			238,87	0,0042			HOMO-3 -> LUMO	
5			237,65	0,5698			HOMO-1 -> LUMO+1	
6			234,96	0,0025			HOMO -> LUMO+2	
7			231,09	0,0768			HOMO-2 -> LUMO	
8			229,59	0,0091			HOMO-1 -> LUMO+2	
9	212	5,84	218,71	0,2678	34,08%	D	HOMO -> LUMO+3	π → π*
10			216,90	0,0130			HOMO -> LUMO+4	
11			215,61	0,0006			HOMO -> LUMO+5	
12			212,94	0,0064			HOMO-1 -> LUMO+4	
13			211,39	0,1364			HOMO-1 -> LUMO+3	
14			210,86	0,0113			HOMO-1 -> LUMO+5	
15			207,67	0,0001			HOMO-3 -> LUMO+1	
16			201,10	0,0008			HOMO-1 -> LUMO+6	
17			200,85	0,0049			HOMO -> LUMO+8	
18	200	6,19	200,29	0,2214	45,3%	E	HOMO -> LUMO+8	π → π*
19			200,06	0,0045			HOMO -> LUMO+9	
20			198,68	0,1033	34,89%	F	HOMO-1 -> LUMO+8	
21			198,19	0,0547			HOMO-1 -> LUMO+7	
22			196,61	0,0072			HOMO-1 -> LUMO+9	
23			195,98	0,0526			HOMO -> LUMO+10	
24			194,67	0,0699			HOMO-5 -> LUMO	
25			192,81	0,0215			HOMO-1 -> LUMO+10	
26			191,81	0,0018			HOMO -> LUMO+11	
T1			356,59				HOMO → LUMO	
T2			351,88				HOMO-1 → LUMO	
T3			305,12				HOMO → LUMO + 1	
T4			283,91				HOMO -1 → LUMO +1	



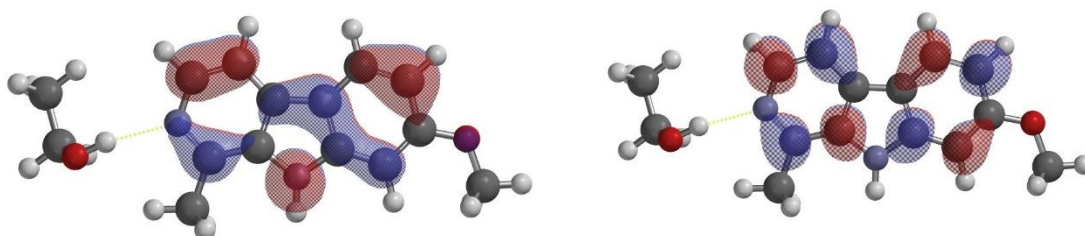
a) Banda A: HOMO  $\rightarrow$  LUMO



b) Banda B: HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO



c) Banda C: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 1



d) Banda D: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 3

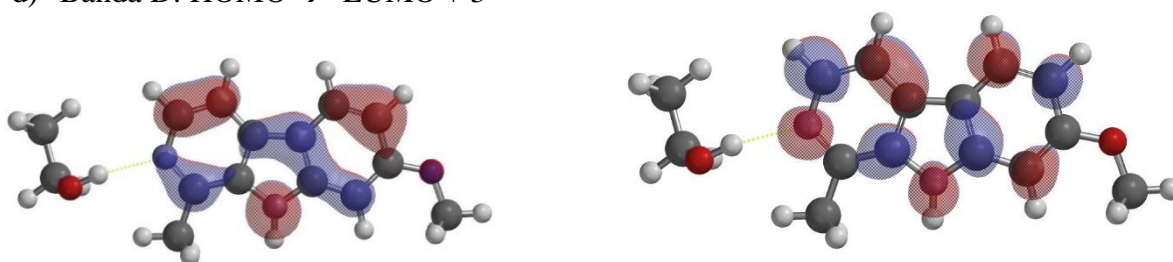
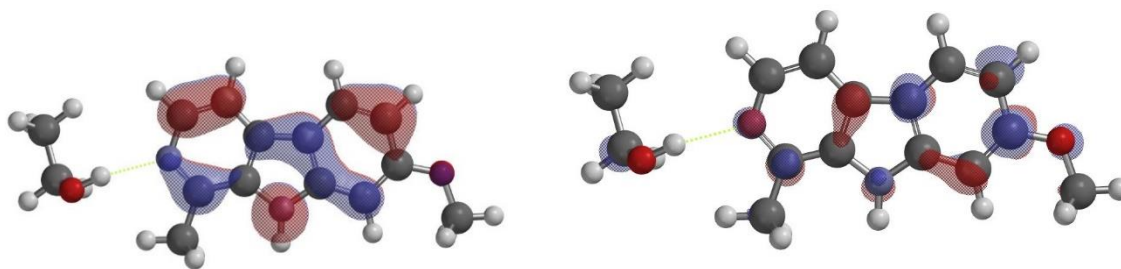


Figura 49 Transições eletrônicas da Harmina simulada em etanol. a) Banda A: HOMO  $\rightarrow$  LUMO b) Banda B: HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO c) Banda C: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 1 d) Banda D: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 3

Banda E: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 8



**Figura 50** Transição eletrônica da Harmina simulada em etanol referente ao máximo da Banda E: HOMO  $\rightarrow$  LUMO + 8

O espectro de absorção UV da Harmina hidrocloreada (monocátion) (Figura 46, linha azul, página 90) dissolvida em água possui duas bandas de alta intensidade e largas características de transições ( $\pi$ ,  $\pi^*$ ) e uma terceira banda mais estreita.

A primeira banda possui dois picos sendo o primeiro com menor intensidade localizado em 358 nm ( $f= 21,9$ ; **Ia**) e o segundo pico em 320 nm ( $f= 51,6$ ; **Ib**). A segunda banda com dois picos situado próximos em 248 nm ( $f= 98,4$ ; **II**) e em 246nm ( $f= 100$ ) e a terceira banda com um pico situado em 206 nm ( $f= 0,2365,56,01$ ; **III**).

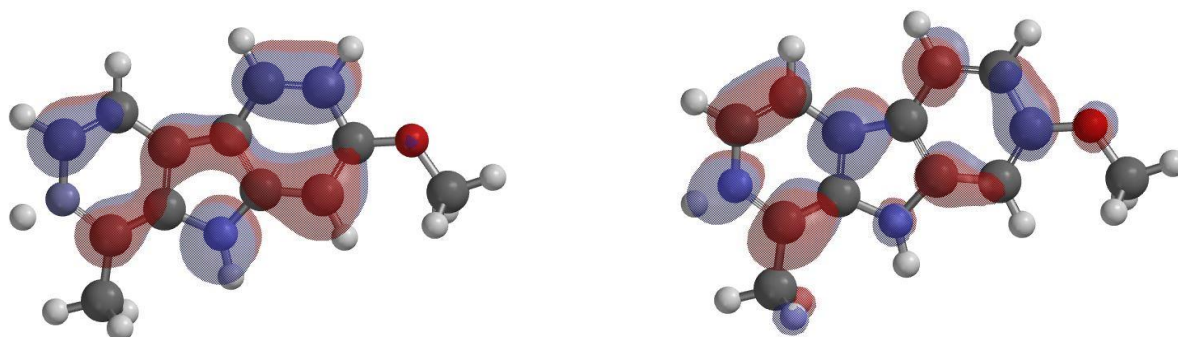
O espectro teórico da Harmina (Figura 53 c, linha preta, página 102) protonada simulada em água foi obtido através do cálculo DFT e foi comparado com o experimental (Figura 53 c, linha vermelha). As quatro bandas (**A**, **B**, **C**, **D**) desse espectro possui máximos respectivamente localizados em; 321,31 nm ( $f= 0,100$ ; 14,1; **A**, HOMO-1,  $\pi$  LUMO,  $\pi^*$ , Figura 53 b3), 306,25 nm ( $f=0,3553$ ; 43,5; **B**, HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$ ), 231,73 nm ( $f= 0,6374$ ; 92,6; **C**, HOMO-1,  $\pi \rightarrow$  LUMO+1,  $\pi^*$ ), 189,91 nm ( $f= 0,2588$ ;104; **D**, HOMO - 4,  $\pi \rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$ ). Orbitais visualizados nas Figuras 51 e 52.

Os espectros de absorção das dissoluções da harmina hidrocloreada em água foi considerada como resultante da espécie harmina protonada conforme os dados condizentes entre o espectro experimental e teórico.

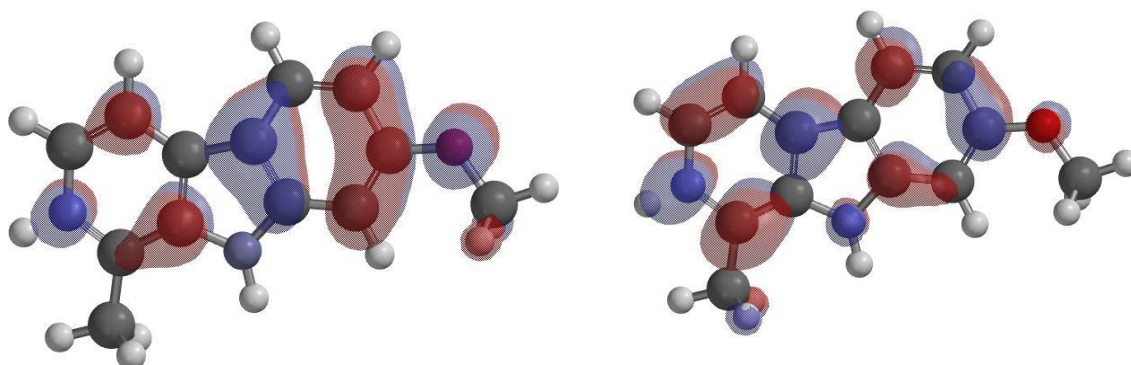
Tabela 12 Principais energias de excitação, E(ev), *singlete*, S<sub>1</sub> (tipo  $\pi$ ,  $\pi^*$ ), e o comprimento de onda,  $\lambda$ (nm), dos espectros da Harmina calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em água. \* I. (Intensidade normalizada. Dados enviados para o `rsp.spectrum` e depois o máximo é normalizado para 100%)

Si	$\lambda$ (nm)	E (eV)	$\lambda$ (nm)Teórico	f (osc)	*I.	Banda	Transição	Natureza
1	358	3,46	321,31(3,85 ev)	0,1001	14,1%	A	HOMO-1 -> LUMO	$\pi \rightarrow \pi^*$
2	320	3,87	306,25(4,04 ev)	0,3553	43,5%	B	HOMO -> LUMO	$n \rightarrow \pi^*$
3			251,43	0,0134			HOMO -> LUMO+1	
4			236,75	0,1613			HOMO -> LUMO+2	
5	248	4,99	231,73(5,35 ev)	0,6374	92,6%	C	HOMO-1 -> LUMO+1	$\pi \rightarrow \pi^*$
6			227,03	0,0134			HOMO -> LUMO+2	
7			219,30	0,0069			HOMO -> LUMO+3	
8			216,39	0,0013			HOMO-1 -> LUMO+3	
9			212,14	0,1386			HOMO-1 -> LUMO+2	
10			207,21	0,0074			HOMO -> LUMO+4	
11			203,20	0,2588			HOMO-3 -> LUMO	
12			202,86	0,0013			HOMO-1 -> LUMO+4	
13			202,39	0,0006			HOMO -> LUMO+6	
14			198,75	0,0017			HOMO-1 -> LUMO+6	
15			193,40	0,2550			HOMO -> LUMO+7	
16			193,29	0,1616			HOMO -> LUMO+7	
17			191,64	0,0002			HOMO-5 -> LUMO	
18	206	6,01	189,91(6,52 ev)	0,2677	104%	D	HOMO-4 -> LUMO	$n \rightarrow \pi^*$
19			188,23	0,0019			HOMO-1 -> LUMO+7	
20			187,93	0,1021			HOMO-4 -> LUMO	
21			187,80	0,0035			HOMO -> LUMO+9	
22			184,93	0,0022			HOMO-1 -> LUMO+9	
23			184,20	0,0081			HOMO-1 -> LUMO+8	
24			183,30	0,0571			HOMO -> LUMO+10	
25			179,70	0,0407			HOMO-1 -> LUMO+10	
26			178,48	0,0015			HOMO -> LUMO+11	
27			175,40	0,0005			HOMO-1 -> LUMO+11	
28			174,85	0,0002			HOMO -> LUMO+12	
29			173,83	0,0722			HOMO -> LUMO+13	
30			173,60	0,0048			HOMO-2 -> LUMO+3	
T1			403,81				HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO	
T2			414,23				HOMO $\rightarrow$ LUMO	

a) Banda A: HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO



b) Banda B :HOMO  $\rightarrow$  LUMO



c) Banda C :HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO +1

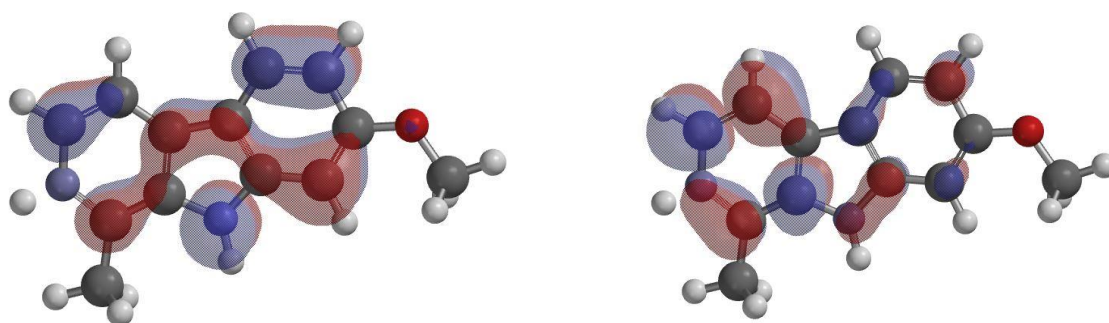


Figura 51 Transições eletrônicas da Harmina simulada em água. a) Banda A: HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO b) Banda B: HOMO  $\rightarrow$  LUMO c) Banda C: HOMO - 1  $\rightarrow$  LUMO +1

a) Banda **D**: HOMO - 4  $\rightarrow$  LUMO

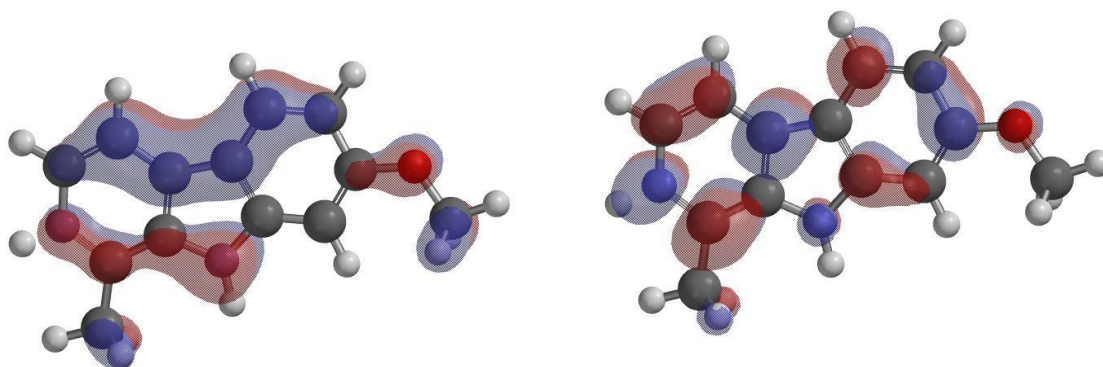


Figura 52 Orbitais referente a transição com intensidade máxima da Banda D (HOMO - 4  $\rightarrow$  LUMO)- Harmina em água

O espectro UV/VIS em etanol possui características diferentes do espectro em solução aquosa indicando cromóforos absorptivos distintos, enquanto que em etanol e metilciclohexano são semelhantes.

A protonação muda a origem da primeira transição e desestabiliza as transições ( $n, \pi^*$ ) e estabiliza as transições ( $\pi, \pi^*$ ) impedindo a contribuição eletrônica do nitrogênio localizado no anel da Piridina em algumas transições.

Os valores relacionados à influência da mudança da simulação do cálculo nos meios hidrofóbico (vácuo e etanol) e hidrofílico (água) estão listados na Tabela 13, verifica-se que são cinco bandas **A**, **B**, **C**, **D** e **E**.

O cálculo em Etanol demonstrou que ocorreu um deslocamento para o vermelho (maiores comprimentos de onda) em todos os picos, predominando transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  com diferença de 2,28 nm para o pico da banda **A** e para a banda **B** e **C** o deslocamento foi de 2 nm e 0,72 nm respectivamente. Esses dados teóricos foram condizentes com o deslocamento observado experimentalmente.

O cálculo com simulação em água indicou um deslocamento para o vermelho nas bandas **A** (28,85 nm) e **B** (29,56 nm). O deslocamento para o azul foi observado nas bandas **D** (-7,18 nm) e **E** (-26,34 nm).

Todas as bandas tiveram aumento de intensidade relativa com a mudança do solvente seja vácuo para etanol como também de vácuo para água sendo que a banda **D** na simulação *monocátion* em água tem maior intensidade relativa.

**Tabela 13 O efeito solvente na (a) Picos (nm) (b) Deslocamento das bandas em simulações: Dados teóricos - vácuo (referencial) , etanol e água. (c) intensidade relativa. Valores experimentais abaixo do teórico e em parênteses.**

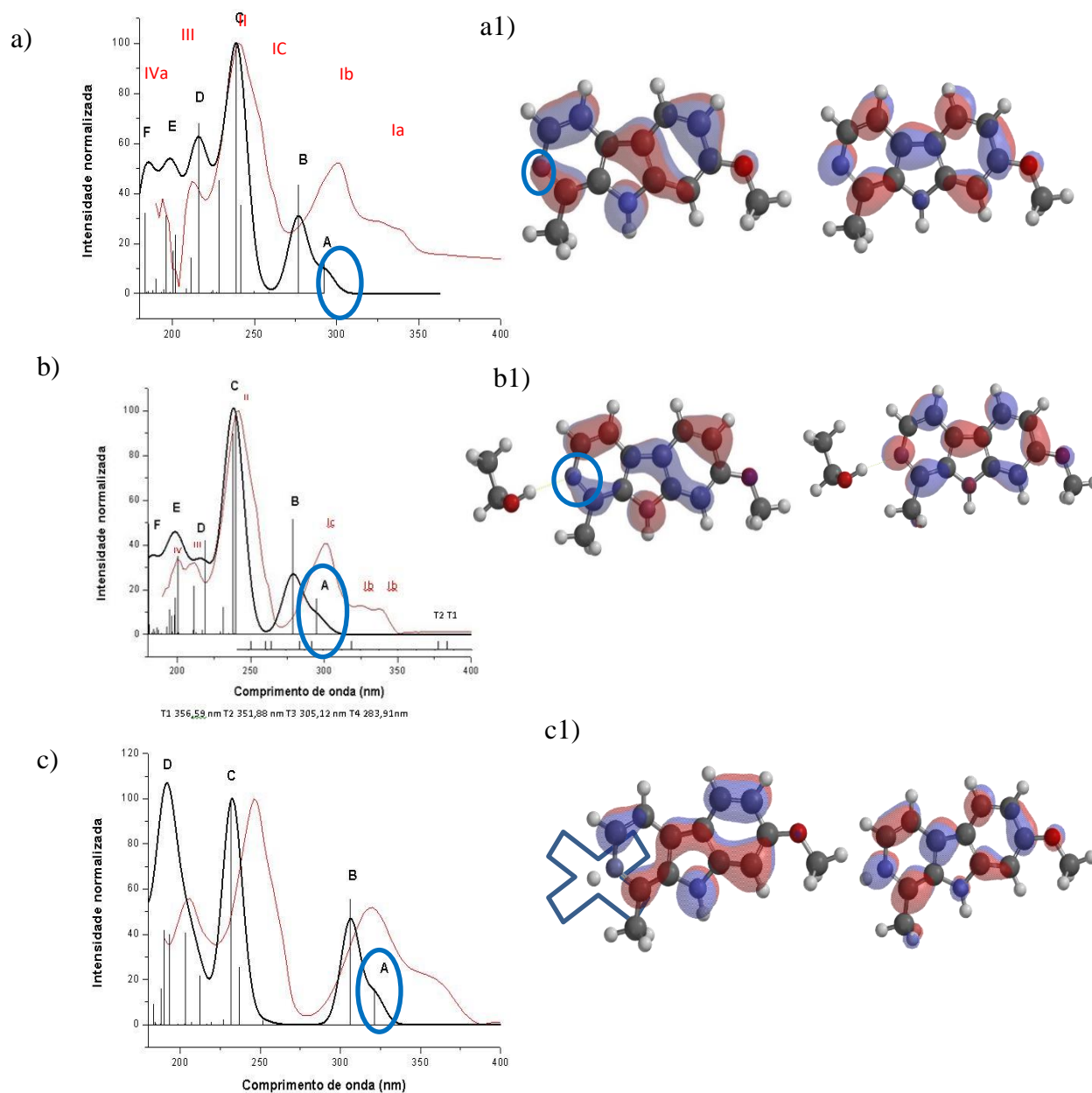
<b>a) Picos em (nm)</b>					
Bandas	A	B	C	D	E
Vácuo	292,46	276,69	238,91	216,25	196,07
MCH (experimental)	(326)	(300)	(240)	(212)	(194)
Etanol	294,74	278,69	239,63	218,71	200,29
Etanol (experimental)	(338, 324)	(302)	(242)	(212)	(200)
Água Monocátion	321,31	306,25	231,73	189,91	
Água (Experimental)	(358)	(320)	(248)	(206)	
<b>b) Deslocamento das bandas</b>					
Bandas	A	B	C	D	E
Vácuo	0	0	0	0	0
MCH (experimental)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Etanol	2,28	2	0,72	2,46	4,22
Etanol (experimental)	(-2)	(2)	(2)	(0)	
Água Monocátion	28,85	29,56	-7,18	-26,34	
Água (Experimental)	(32)	(20)	(8)	(-6)	
<b>c) Intensidade relativa</b>					
Bandas	A	B	C	D	E
Vácuo	0,0541	0,1793	0,4132	0,2816	0,1294
Etanol	0,1001	0,3258	0,6337	0,2678	0,2214
Água Monocátion	0,1001	0,3553	0,6374	0,2677	

O espectro teórico (Figura 53 c, página 102) da Harmina (*monocátion*) simulação em água comparada com a Harmina ligada ao etanol (em polar solvente, Figura 52 b), aumentou o distanciamento entre os máximos da banda **A** e a banda **B**.

Banda **A**, **B** em água (espectro teórico) deslocaram-se para maiores comprimentos de onda (deslocamento para o vermelho) ocorrendo o mesmo experimentalmente com relação à Harmina em metilciclohexano. Possivelmente nessas bandas ocorrem transições de natureza ( $\pi, \pi^*$ ) que posteriormente foi onfirmado através da emissão.

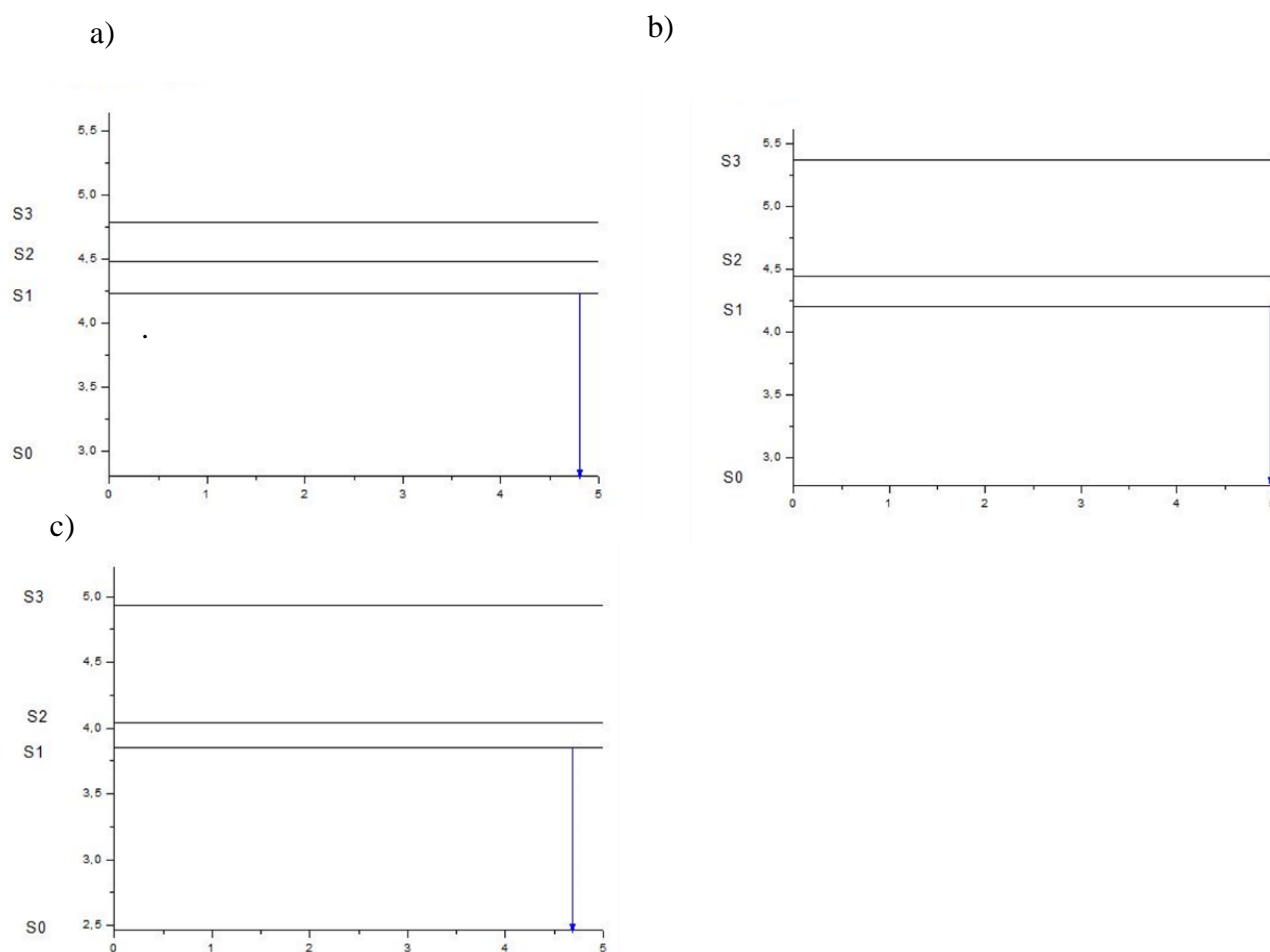
O espectro teórico da simulação da espécie protonada (onde o nitrogênio da piridina está ligado ao hidrogênio), apresentou a transição (HOMO  $\rightarrow$  LUMO,  $S_2$ ) com maior intensidade

relativa (0,356) que na espécie simulada em vácuo (0,0428). Ressaltando ainda que em vácuo esta transição é a primeira a ocorrer.



**Figura 53** Espectros Experimentais UV/VIS (linha vermelha), espectros teóricos (linha preta) do Harmina e orbitais referente a transição S1 : a) Espectro experimental em metilciclohexano e teórico em vácuo; a1) Orbitais referente a Banda A- simulação em vácuo; b) espectro experimental e teórico em etanol; b1) Orbitais referente a banda A- simulação em etanol; c) espectro experimental e teórico em água, c1) Orbitais referente a Banda A- simulação em água

A protonação e a ligação de hidrogênio propiciaram mudanças muito visíveis nos espectros quando ocorre a protonação no nitrogênio da piridina (N) e quando a molécula é simulada ligando-se o nitrogênio (N2) interrompendo a transição de transferência de carga ( $n \rightarrow \pi^*$ ) (Figura 54 a). Evidencia-se desta forma espécies diferentes: harmina base livre (Figura 54 a), harmina ligada ao etanol (Figura 54 b) e harmina protonada (Figura 54 c).

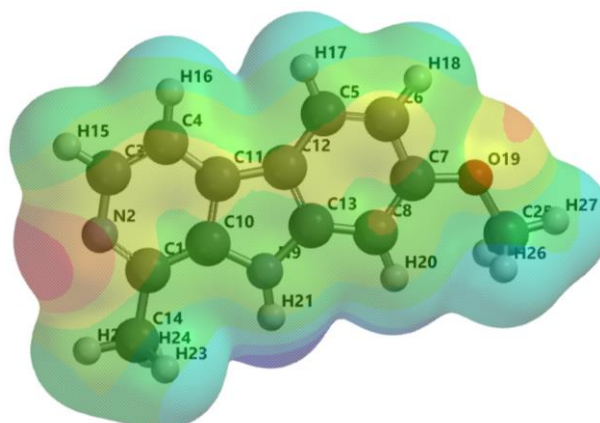


**Figura 54** Esquema fotofísico da Harmina a) Harmina vácuo b) Harmina Etanol c) Harmina água

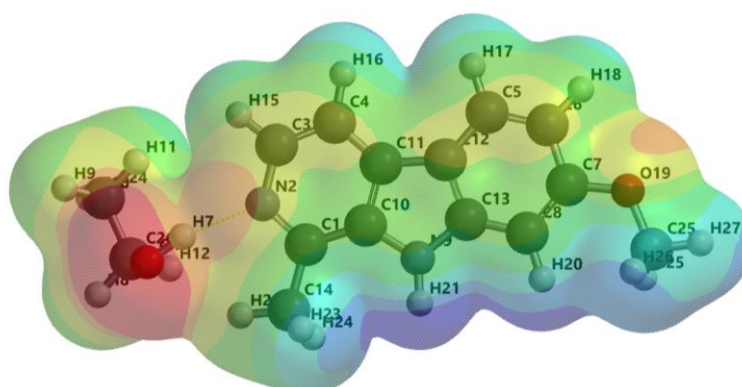
O mapa de potencial eletrostático (Figura 55) deixa claro esta sensibilidade ao solvente, principalmente na Harmina protonada (Figura 55 c) simulada em água que ficou com carga mais positiva. O momento de dipolo em etanol (Figura 55b) aumentou 2,8 Debyes em relação à simulação em vácuo (Figura 55 a). A protonação mudou a transição eletrônica HOMO  $\rightarrow$  LUMO que antes ocorria na primeira transição e com a protonação o nitrogênio da piridina ficou impedido de contribuir eletronicamente.



a) *Harmina em Vácuo: Em vermelho as regiões negativas*



b) *Harmina em Etanol*



c) *Harmina Protonada em Água: Carga positiva em toda a molécula*

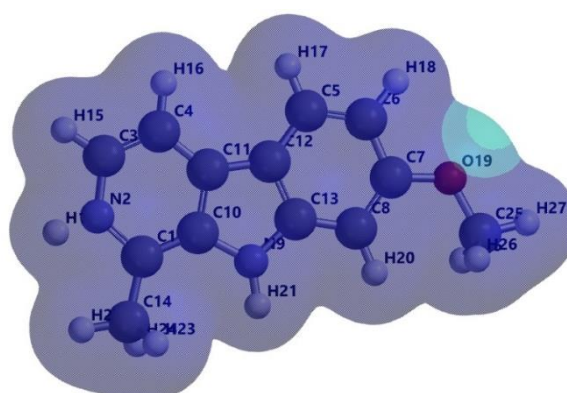


Figura 55 Mapa de potencial eletrostático calculado da Harmina simulado em: a) vácuo 4,19 Debye b) ligado ao etanol com dipolo de 6,99 Debye c) harmina protonada com dipolo de 10,57 Debye

### 5.2.2 Espectro de Emissão da Harmina a 77K

A Harmina possui baixa solubilidade em metilciclohexano conforme visualizado nos espectros de emissão em metilciclohexano a 77K (Figuras 56 a). A emissão possui uma coloração azul sendo a fluorescência em aproximadamente 353 nm e 363 nm ( $\pi, \pi^*$ ) e fosforescência com banda 0-0 em 406,6 nm e banda 0-1 em 419,3 nm, 0-2 em 434,3 nm.

A fotofísica da base livre tem o efeito da proximidade do estado  $^1(n, \text{contribuição do nitrogênio da piridina e o oxigênio do benzopirrol}, \pi^*)^2(\pi, \pi^*)$  demonstrado no cálculo teórico.

A emissão Harmina base livre em etanol  $1. 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$  (Figura 56 b) apresenta fluorescência com picos em máximos em 353,5 nm, 367,3 nm, 385,9 e fosforescência localizada aproximadamente em 0-0 (411,8 nm), 0-1 (423,23 nm), 0-2 (437,6 nm) e 0-3(466,5 nm) com boa solubilidade em etanol.

Sendo que a fluorescência mais intensa do que a fosforescência. Foi verificado que conforme a diminuição da concentração ocorreu um deslocamento para o vermelho indicando transições ( $\pi, \pi^*$ ) predominantes com fluorescência azul claro forte.

A harmina hidrociorada tem pouca solubilidade em água com melhor espectro de emissão em  $1. 10^{-2} \text{ mol. L}^{-1}$  (Figura 56 c) com pico aproximadamente em 436 nm e cor azul. Fluorescência com máximo aproximadamente em 436 nm difere 67 nm do pico referente à Harmina em etanol. A protonação interrompe o acoplamento eletrônico observado no espectro da harmina em solução etanólica.

A solubilidade da harmina hidrociorada foi melhor em solução  $0,5 \text{ mol. L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$  (Figura 56 d) do que somente em solução aquosa. O fenômeno da emissão da Harmina em ácido sulfúrico de cor mais para o azul esverdeado, sendo que a fluorescência em aproximadamente 422,6 nm e fosforescência 0-0 está localizada em aproximadamente 475,4 nm.

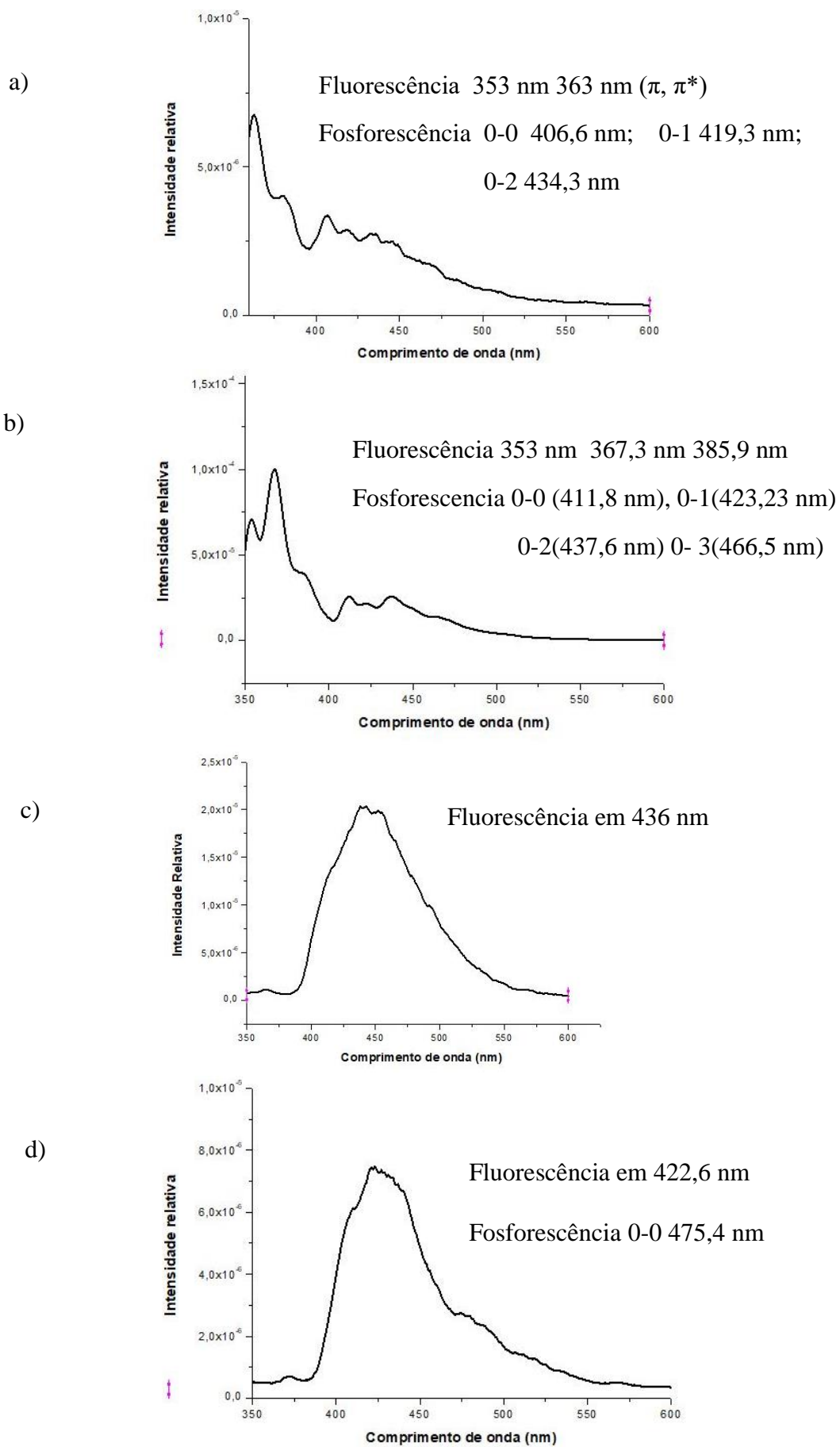


Figura 56 Espectros de emissão da Harmina em: a)  $1.10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> metilciclohexano a 77k b)  $1.10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup> em etanol c)  $1.10^{-2}$  mol.L<sup>-1</sup> em água d)  $1.10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup> ácido sulfúrico

### 5.2.3 Dinâmica de protonação e desprotonação da Harmina Água/Etanol

O etanol foi acrescentado em pequenas percentagens nas soluções aquosas da Harmina hidrociorada para simular uma membrana biológica. Sendo que essa mistura de água e etanol irá esclarecer se a molécula prefere desprotonar ou ficar protonada conforme o efeito do solvente (hidrofílico/hidrofóbico).

A Figura 57 mostra o espectro de emissão da Harmina hidrociorada (HR.HCl) dissolvida em água a 298 K (Figura 57 a) e a 77K (Figura 57 b), sendo adicionada na solução etanol nas seguintes porcentagens: (linha lilás) 0%, (linha verde) 0,1%, (linha azul) 0,5%, (linha verde) 5%, (linha preta) 100%. Todos esses espectros (Figura 57 - a e b), estão na concentração  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$ .

O etanol representa um ambiente hidrofóbico com um sítio associativo que tem contato com a harmina monoprotonada completamente solubilizada em meio aquoso. Observa-se que a 77 K a fluorescência (F) vai se deslocando progressivamente para o azul, em baixa concentração de etanol, em 0,5%, observa-se que a (F) ainda é uma banda larga com um máximo em  $\approx 432 \text{ nm}$ , deslocada para o azul e não observa-se nenhuma fosforescência (P). Isso indica que a espécie Harmina Hidrociorada é preponderante.

A solução na concentração 5% de etanol o espectro muda seu contorno, a (F) fica estreita com o máximo em  $\approx 417 \text{ nm}$ , deslocada para o azul, e aparece a (P) com o máximo em  $\approx 469 \text{ nm}$ . Essas observações indicam que, devido ao efeito da saturação (aumentou a vizinhança hidrofóbica (etanol)), o equilíbrio entre as formas harmina neutra e harmina monocátion começa a se deslocar para a forma neutra. Esse resultado mostra que o HR.HCl existe predominantemente em meio hidrofílico e não existe em vizinhança hidrofóbica.

A distinta diferença no contorno espectral pode sugerir que a espécie HR.HCl desprotona na mistura água/etanol. A espécie HR neutra vai para a vizinhança hidrofóbica na concentração de 5% de etanol em solução aquosa. Quando a vizinhança é 100% hidrofóbica (etanol), o espectro (Figura 57 b- linha preta) mostra que a espécie HR.HCl, desprotona completamente e duas espécies diferentes vão coexistir em equilíbrio no meio hidrofóbico, a espécie HR e a espécie HR-H, o equilíbrio está mais deslocado para a espécie HR indicando que a harmina base livre, prefere existir como base livre, do que formar complexo de ligação de hidrogênio com o etanol.

Os espectros de emissão a temperatura ambiente (Figura 57 a), obtidos na temperatura de 298 K, o máximo da (F) vai progressivamente deslocando-se para o azul e em (água) o máximo de (F) está em  $\approx 416$  nm e o do espectro (etanol) é  $\approx 410$  nm, a (F) em (e) está deslocada para o azul  $\approx 6$  nm em relação a (F) em (a) . A emissão em etanol é mais forte do que a emissão na água, na mesma concentração. A Figura 57 b, o máximo da (F) do espectro (água- linha lilás) é  $\approx 447$  nm e a (F) do espectro (etanol- linha preta) tem dois máximos situados em  $\approx 383,82$  nm e  $\approx 401,6$  nm, cuja média é igual a  $\approx 392,71$  nm e está deslocada para azul cerca de  $\approx 54,29$  nm, sugerindo que a velocidade de reprotonação do HR.HCl na mistura água/etanol, presumivelmente é bem mais rápida a 298K do que a 77K. Além disso, os resultados obtidos da dinâmica de protonação/desprotonação da HR.HCl usando a mistura água/etanol a 298 K e 77 K, ilustraram que as interações hidrofóbicas são necessárias para trazer o alucinógeno para dentro da membrana.

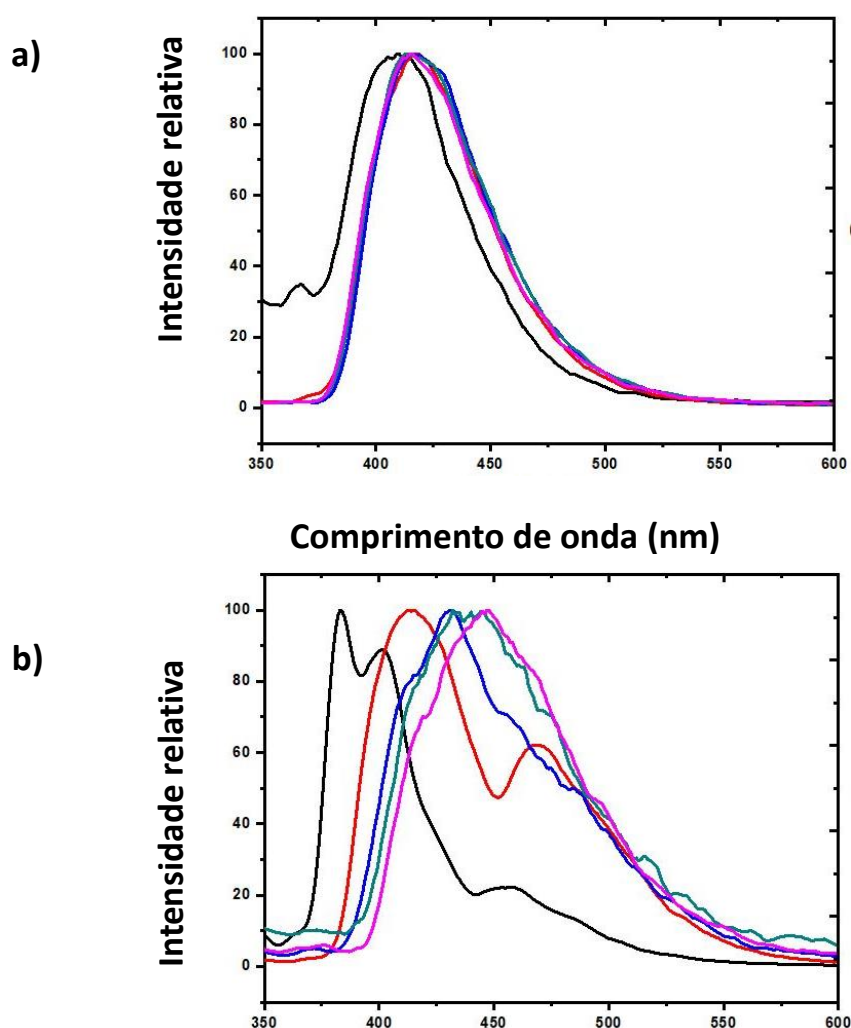


Figura 57 Desprotonação da Harmina água/Etanol. Acima à temperatura ambiente a) (294K) e abaixo à temperatura de 77K com excitação  $\lambda_{exc}=313$  nm (eixo x de 350 nm a 600 nm) b) . Especificações: Harmina HCl  $1. \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> em água – linha lilás; Harmina HCl  $1. \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> água e 0,1% Etanol – linha verde ; Harmina HCl  $1. \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> água 0,5% Etanol – linha azul; Harmina HCl  $1. \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> água 5% Etanol – linha vermelha; Harmina HCl  $1. \cdot 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> em 100 % etanol – linha preta

### 5.2.4 Estudo fotofísico da Harmina em soluções micelares neutras e carregadas

As espécies da harmina em meio hidrofóbico e hidrofílico foram identificadas através de estudo espectroscópico detalhado e através dos espectros de emissão foram caracterizadas cada espécie e suas propriedades fotofísicas mostrando que elas são distintas uma das outras, o que tornou viável o estudo do transporte da droga através da membrana e a identificação da espécie que penetra no interior da membrana, usando essas sondas fluorescentes.

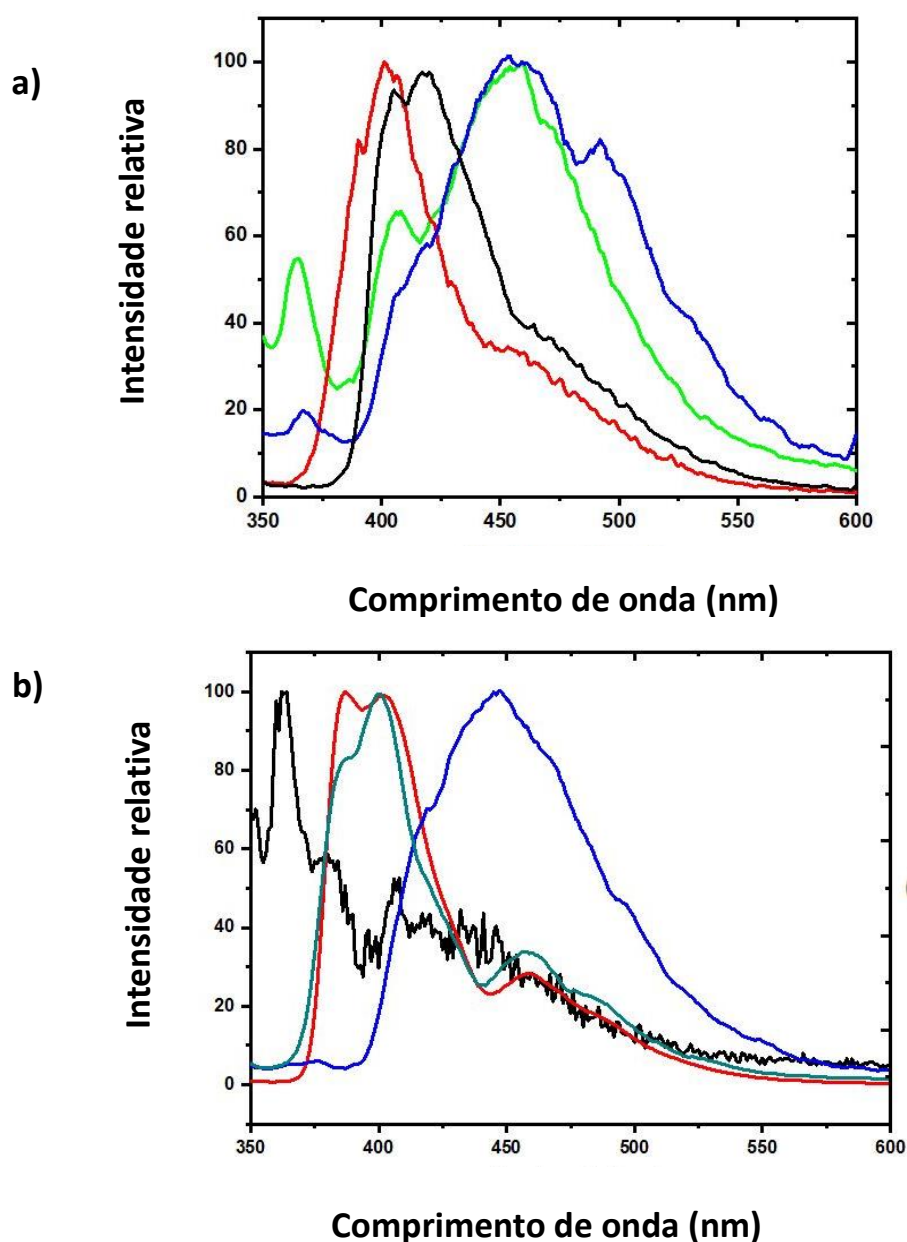


Figura 58 Emissão a  $\lambda_{exc}=313nm$  da Harmina HCl a 77K em : a) em micela neutra- linha vermelha ; micela aniônica – linha preta , micela catiônica- linha azul ; sem solução tampão pH 7- linha verde . Figura b) Harmina em metilciclohexano – linha preta ;em Etanol – linha vermelha ;Etanol mais HFIP – linha verde ; em água – linha azul

A Figura (58 a) apresenta os espectros de emissão da Harmina hidrocloreada a 77K: em solução tampão pH = 7 (linha verde) e em soluções aquosas de micelas ( preparadas com solução tampão, pH = 7). A Figura 58 (linha verde) mostra o espectro de emissão do HR.HCl dissolvido na solução tampão pH=7, concentração  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . A emissão é fraca e tem uma fluorescência (F) com um máximo situado em  $\approx 454 \text{ nm}$  e aparentemente não tem fosforescência (P). A espécie emissora foi assinalada como o monômero da HR.HCl, uma vez que os espectros obtidos em concentrações maiores (não mostrados), são similares ao apresentado na Figura 58 a( linha verde).

Esse fato indica que a HR.HCl não forma agregado molecular em maiores concentrações. A Figura (58 a) mostra os espectros de emissão do HR.HCl adicionado nas soluções de micelas neutra (linha vermelha) , aniônica (linha preta) e catiônica (linha azul), na concentração  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e todos os espectros são constituídos de (F- fluorescência) e (P- fosforescência).

O espectro referente à Harmina em micela neutra (Figura 58 a-linha vermelha) , a fluorescência têm dois máximos situados em  $\approx 401 \text{ nm}$  e  $\approx 407 \text{ nm}$ , sendo que o primeiro máximo, tem intensidade relativa maior do que o segundo máximo e a fosforescência tem seu máximo situado em  $\approx 458 \text{ nm}$ . As características espectrais dessa emissão são similares aos do espectro observado na Figura 58 b (HR dissolvida em etanol-linha vermelha) e pode ser interpretada da seguinte forma: o monócation na presença da micela neutra desprotona e a forma monomérica da harmina base livre, HR, penetra profundamente no interior da micela ancorando na região hidrofóbica, saturando essa região da micela.

Isso permite que uma menor quantidade da espécie HR restante, ancore na região aquosa próxima da interface com a região hidrofóbica e interaja com seu sitio associativo a hidroxila da água. Dessa forma o complexo de ligação de hidrogênio é produzido, a nova espécie HR- H.

Significa que no interior da micela neutra duas espécies coexistem em equilíbrio: o monômero da HR situado na região hidrofóbica e o monômero da espécie HR-H situado na região aquosa. A alta concentração da espécie HR no núcleo de hidrocarbonetos da micela, quando comparada com a concentração do monômero HR na solução bulk, poderia produzir a espécie agregado molecular dentro da micela, porém somente a espécie monomérica foi observada.

Esse fato pode ser justificado pela seletiva penetração da espécie monomérica para dentro da micela. Implicando que qualquer discussão sobre o fator de HR no interior da micela seria sem importância. Na Figura (58 a), o espectro de emissão do HR.HCl adicionado a micela aniônica (linha preta), mostra uma (F) com dois máximos situados em  $\approx 404$  nm (intensidade relativa menor) e  $\approx 417$  nm (intensidade relativa maior) e o máximo da (P) situado em  $\approx 475$  nm.

Comparando com o espectro de emissão da Figura 58a, (micela neutra- linha vermelha), ambas as emissões, (F) e (P), estão deslocadas para o vermelho  $\approx 16$  nm e o espectro em micela aniônica (linha preta) é parecido com o espectro de emissão mostrado na Figura 58 b, (HR dissolvida em etanol mais 1% de HFIP- linha verde) e diferente do espectro da Figura 58 b (Harmina dissolvida em água – linha azul).

Essas observações podem ser interpretadas da seguinte forma: o monocation na presença da micela aniônica desprotona e a espécie HR penetra no interior dessa micela. A maior quantidade de HR fica ancorada na região aquosa da micela, próximo a superfície carregada da micela, formando forte ligação de hidrogênio com a água (espécie HR-H forte) e muito pequena quantidade da espécie HR, ancora na região hidrofóbica da micela, indicando a espécie HR-H forte é a espécie ativa no interior da micela aniônica.

A existência da espécie HR-H forte pode ser justificada de duas formas: (i) o grande deslocamento para o vermelho da emissão em micela aniônica (Figura 58 a-linha preta); (ii) o fato da micela ser uma nanoestrutura organizada, o que dá uma orientação micelar a espécie solubilizada no seu interior.

A Figura 58 a (linha azul) refere-se ao espectro do HR.HCl adicionado na solução de micelas catiônicas, que mostra uma (F) larga e assimétrica com um máximo em  $\approx 453$  nm e uma fraca (P) com um máximo em  $\approx 492$  nm.

As características espectrais da emissão são similares ao espectro de emissão do monocation dissolvido na solução tampão pH = 7, Figura 58 a (linha verde), indicando que o monocation na presença da micela catiônica não desprotona e nem penetra no interior da micela presumivelmente devido a repulsão entre o monômero do monocation e a superfície com carga positiva da micela.

A solubilização na micela catiônica é controlada pelo potencial de sua superfície. A existência de uma fraca (P), não observada no espectro da harmina em solução tampão, pode



ser justificada pelo efeito do átomo pesado, devido a presença do bromo na estrutura molecular do monômero do surfactante catiônico, que aumenta a eficiência do acoplamento spin-orbital, aumentando a população do estado triplete T1 da espécie HR.HCl.

### 5.3 APNH

#### 5.3.1 Espectro UV/VIS do APNH e cálculos teóricos

##### 5.3.1.1 Efeito do solvente no espectro de absorção UV/VIS da molécula APNH

Os espectros de absorção do APNH base livre (Figura 59) foram estudadas em (1) Metilciclohexano - linha vermelha (2) etanol - linha preta, (3) etanol mais gotas de hexafluoro-2-propanol – linha azul claro e (4) água-linha azul escuro .

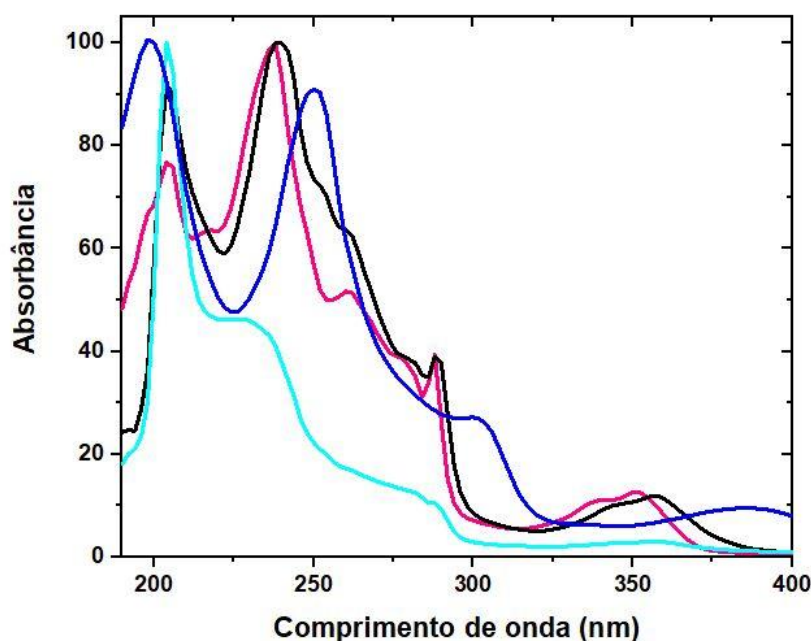


Figura 59 Espectro Experimental de Absorção UV /VIS do APNH  $10^{-4}$  mol. L $^{-1}$ : Vermelho em Metilciclohexano. Preto em etanol com bandas assinaladas. Azul em água. Azul claro em Etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol

O espectro do APNH em metilciclohexano (linha vermelha) possui dois picos com máximos em 238 nm e 204 nm e diversos ombros; sendo a primeira banda com menor intensidade e com dois máximos situados em 352 nm (0,0317 ; 12,5; banda A'') e em 340 nm

(0,0277; 11,31; banda **B''**) e esse espectro possui uma segunda banda mais larga e com maior intensidade com seis máximos situados em; 288 nm( 0,0985; 37,34; banda **C''**) , 278 nm (0,0965; 38,08; banda **D''a**) , em 260 nm ( 0,1292; 51,4; banda **D''b**), 238 nm (0,2502; 98,7 ; banda **E''a**) e em 218 nm (0,159; 62,8 ; banda **E''b**) e em 204 nm (0,1922; 76,239; banda **F''**). Observou-se uma solução com baixa solubilidade tendo que ser diluída diretamente em  $1.10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em metilciclohexano e a coloração da solução é marrom claro. Provavelmente existem transições de natureza ( $n, \pi^*$ ) na primeira banda formada pelos picos **A''** e **B''**. Esse espectro corresponde ao APNH base livre.

O espectro de absorção UV/VIS do APNH dissolvido em Etanol (Figura 59- linha preta, página 112) é semelhante ao espectro UV/Vis do APNH dissolvido em metilciclohexano (Figura 59 – linha vermelha). Possuem duas bandas, a primeira com dois picos situados em 358 nm (0,029; 11,8; banda **A''**) e em 346 nm (0,0252; 9,84; banda **B''**) e a segunda uma banda larga com máximos em 204 nm (0,256; 90,3; banda **F''**) e 238 nm (0,246;100; banda **E''b**) e vários ombros com intensidades maiores situados em; 288 nm (0,0957; 39,1; banda **C''**), 280 nm (0,0945; 38,35; **D''a**), 260 nm (0,1566; 63,3, banda **D''b**) , 252 nm (0,177; 72,1, banda **E''a**).

A primeira banda em meio etanol deslocou para maiores comprimentos de onda estabilizando as ligações ( $\pi, \pi^*$ ) e deslocado para o azul quando em meio apolar, metilciclohexano (MCH). O espectro em meio etanólico corresponde ao espectro do complexo APNH-H formado por ligação de hidrogênio.

O espectro do APNH em etanol mais gotas de hexafluoro-2-propanol, (Figura 58- linha azul claro) apresenta quatro picos um com intensidade relativa bem fraca situado em 354 nm (0,0057; 2,9; banda **A**) e duas bandas com média intensidade situados em 280 nm (0,0249; 12,06; banda **B**) , 228 nm( 0,089; 46,3; banda **C**) e uma banda com alta intensidade relativa (204 nm; 0,193, 100, banda **D**).

A mudança do solvente etanol para etanol mais hexafluoro-2-propanol revela mudança no cromóforo absorptivo e percebe-se que as bandas **D** permanecem inalteradas provavelmente de natureza ( $\pi, \pi^*$ ) e as demais bandas deslocam para o azul (menores comprimentos de onda) e suas intensidades relativas diminuem caracterizando uma perturbação nos orbitais não ligantes e separando mais as transições ( $n, \pi^*$ ) das ( $\pi, \pi^*$ ). O complexo APNH-H mais hexafluoro-2-propanol mostra um espectro de uma nova espécie a ligada fortemente por ligações de hidrogênio (APNH-Forte H).

espectro do APNH base livre dissolvida em água (Figura 58- linha em azul escuro) com quatro picos; o primeiro pico com menor intensidade situado em: 325,8 nm (0,0219; 9,2; banda **A**) provavelmente de natureza ( $n, \pi^*$ ), o segundo com média intensidade 302 nm (0,0618; 27,24; banda **B**), e os dois últimos com maiores intensidades situados em 250 nm (0,2096; 90,38; banda **C**) e em 198 nm (0,2318, 100; banda **D**). O espectro em solução aquosa difere muito dos demais, provavelmente refere-se a outra espécie com propriedades fotofísicas muito diferentes.

### 5.3.2 Cálculos Computacionais referentes à molécula APNH

O espectro teórico simulado em vácuo (Figura 60- linha preta) obtido pelos dados calculados (Tabela 14, página 116) apresenta seis picos **A, B, C, D, E e F** situados em 296,69 nm (0,0697; **A; I=8**), 256,3 nm (0,0374; **B; I= 5**), 219 nm (0,521; **C; I=5**) e 211,24 nm (0,3029; **D; I=72**), 201,810 nm (0,3816; **E; I=100**) e em 195 nm (0,5527; **F; I=100**).

A Banda **A** consiste em uma transição (HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$ , Figura 61 a). A banda **B** é composta por três transições sendo que a transição  $S_4$  (256,30 nm) possui maior intensidade, consiste na transição (HOMO -2,  $\pi \rightarrow$  LUMO,  $\pi^*$ ). A banda **C** é um ombro da banda **D** (HOMO-1,  $\pi \rightarrow$  LUMO+2,  $\pi^*$ ) e tem seu valor máximo representado pela transição localizada em 219 nm (HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO+3,  $\pi^*$ ), a banda **E** com máximo representado pela transição situada em 201,810 nm (0,3816) (HOMO,  $\pi \rightarrow$  LUMO+4,  $\pi^*$ ) e a banda **F** (195 nm; HOMO  $\rightarrow$  LUMO+5). O cromóforo da espécie APNH-MCH é na região da Norharmana conforme os orbitais moleculares calculados e visualizados na Figura 61 (página 117) e Figura 62 (página 118).

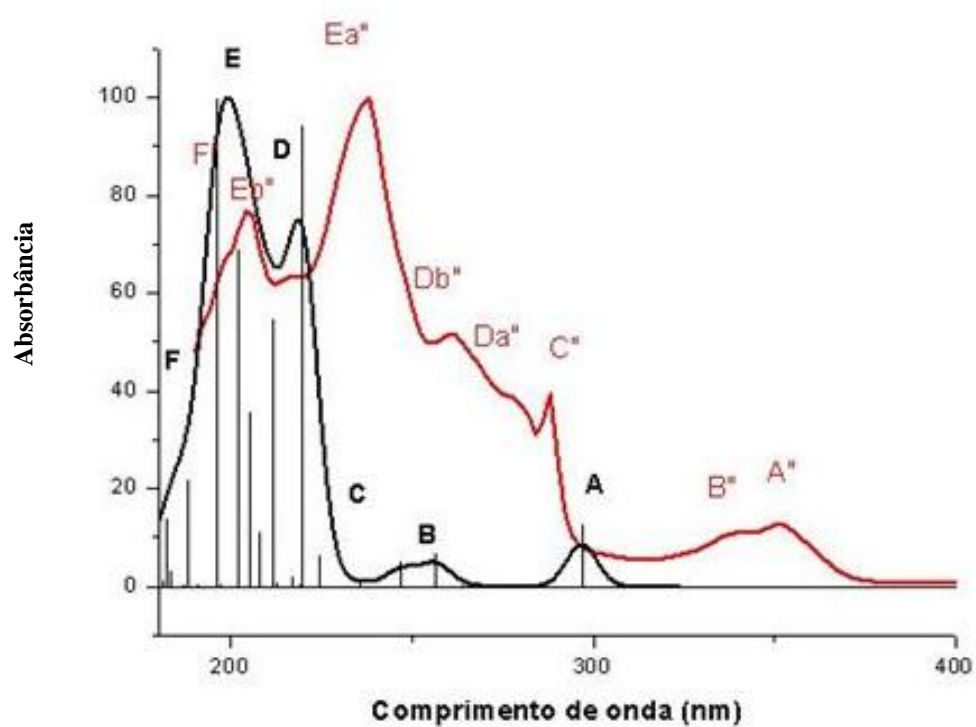
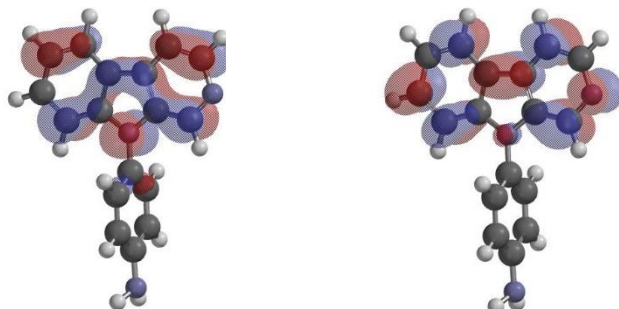


Figura 60 Espectro Teórico simulação em vácuo (linha preta) e espectro experimental UV/VIS do APNH em metilciclohexano (linha vermelha)

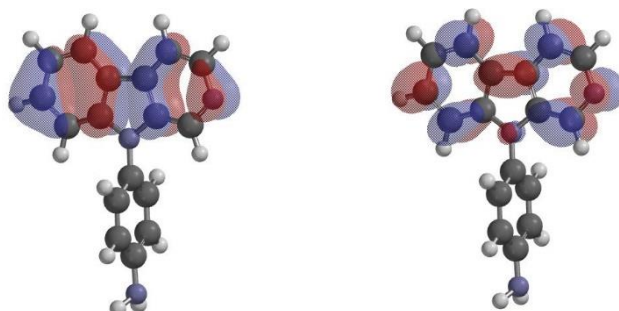
**Tabela 14 Principais energias de excitação, E(ev), *singleto*, S<sub>1</sub> (tipo n, π\*), e o comprimento de onda, λ(nm), dos espectros do APNH calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em vácuo.**

Si	λ(nm)APNH Exp. (MCH)	λ(nm) Teórico	E (eV)	f (osc)	*I.	Banda	Transição	Natureza
1	352(4,17 ev)	296,69	4,1802	0,0697	8%	A	HOMO → LUMO	Π → Π* (NH → NH)
2		272,47	4,550	0,0009			HOMO-1 → LUMO	
3		263,64	4,7028	0,0015			HOMO-3 → LUMO	
4	340(3,64 ev)	256,3	4,8375	0,0374	5%	B	HOMO-2 → LUMO	Π → Π* (NH → NH)
5		246,92	5,0212	0,0293			HOMO-1 → LUMO+1	
6		235,31	5,2690	0,0068			HOMO-2 → LUMO+1	
7		224,53	5,5219	0,0360			HOMO-4 → LUMO	
8		224,06	5,5335	0,0004			HOMO-3 → LUMO+3	
9		223,82	5,5395	0,0005			HOMO-2 → LUMO+2	
10	288(4,3 ev)	219	5,6614	0,521	5%	C	HOMO → LUMO+3	Π → Π* (NH → NH)
11		219,05	5,6601	0,0028			HOMO-3 → LUMO+1	
12		216,64	5,7230	0,0104			HOMO-2 → LUMO+3	
13		216,14	5,7363	0,0001			HOMO-1 → LUMO+3	
14		212,64	5,8307	0,0038			HOMO-5 → LUMO	
15		211,24	5,8693	0,3029			HOMO-1 → LUMO+2	
16	260(4,76 ev)	<b>211,24</b>	<b>5,869</b>	<b>0,3029</b>	72%	D	<b>HOMO-1 → LUMO+2</b>	Π → Π* (Anilina → Anilina)
17		205,17	6,0430	0,1970			HOMO-4 → LUMO+1	
18		201,65	6,1485	0,3816			HOMO → LUMO+4	
19	238(5,2 ev)	201,81	6,1436	0,3816	100	E	HOMO → LUMO+4	Π → Π* (NH → NH)
20		0	6,2955	0,0020			HOMO-4 → LUMO+2	
21		196,94	6,3335	0,5527			HOMO → LUMO+5	
22	204(6,07 ev)	195	6,358	0,5527	100	F	HOMO → LUMO+5	Π → Π* (NH → NH)
23		187,82	6,6012	0,1197			HOMO-6 → LUMO	
24		187,13	6,6256	0,0018			HOMO-1 → LUMO+5	
25		183,38	6,7611	0,0177			HOMO-4 → LUMO+3	
26		182,21	6,8045	0,0754			HOMO-2 → LUMO+4	

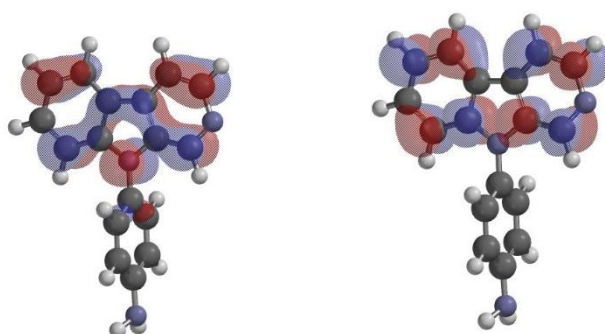
a) HOMO  $\rightarrow$  LUMO



b) HOMO -2  $\rightarrow$  LUMO

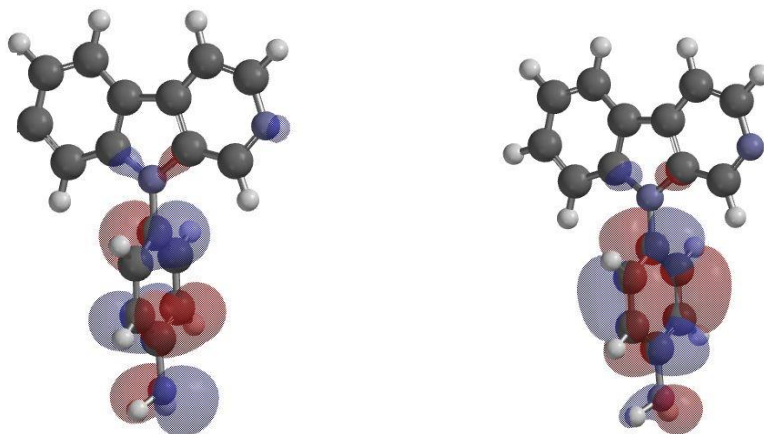


c) HOMO  $\rightarrow$  LUMO +3



**Figura 61** Orbitais Moleculares referente as transições eletrônicas do APNH simulação em vácuo referente as transições com maiores intensidades das bandas A, B e C respectivamente; a) HOMO  $\rightarrow$  LUMO, b) HOMO-2  $\rightarrow$  LUMO, c) HOMO  $\rightarrow$  LUMO+3

a) HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO +2



b) HOMO  $\rightarrow$  LUMO+4

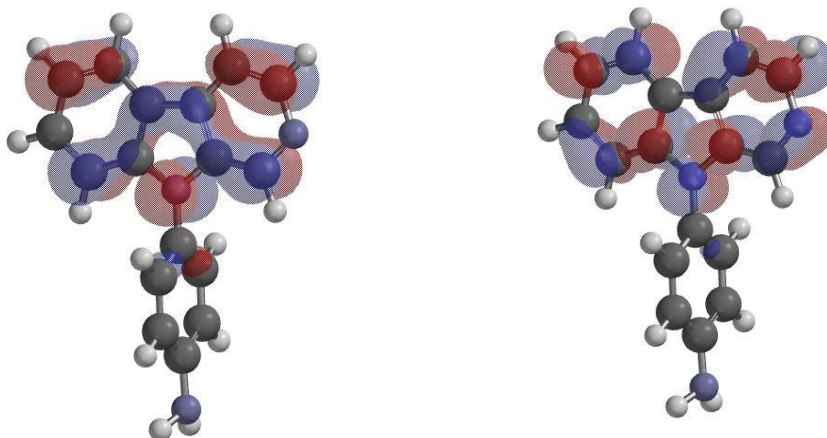
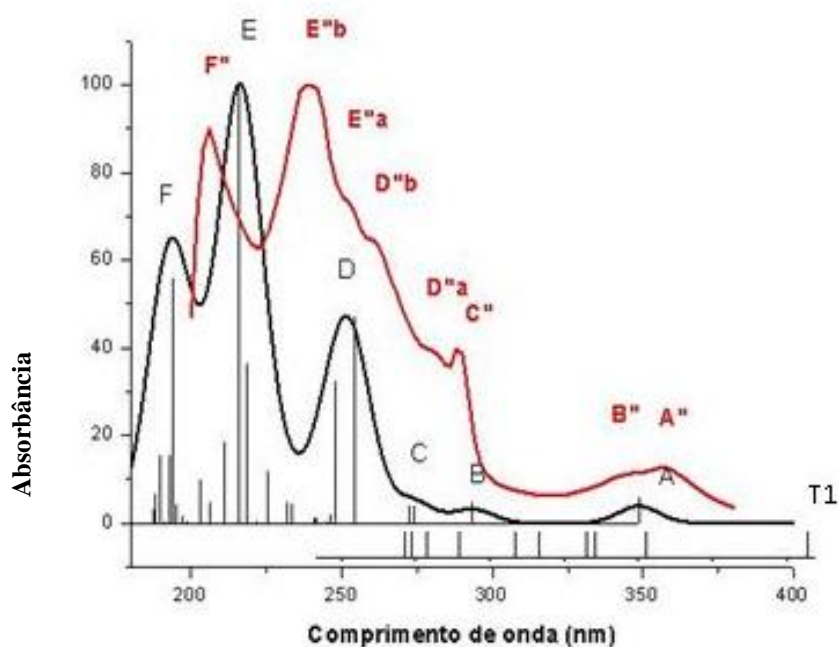


Figura 62 Orbitais Moleculares referente às transições eletrônicas do APNH simulação em vácuo referente às transições dos máximos da banda D, E respectivamente; a) HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO+2, b) HOMO  $\rightarrow$  LUMO+4

O espectro simulado em etanol (Figura 63-linha preta; Tabela 15, página 120), possui seis picos situados em 348,56 nm (0,0371; I= 5; **A**; HOMO,  $\pi \rightarrow$ LUMO,  $\pi^*$ ), 293,49 nm (0,0303; I= 5 ; **B**, HOMO-1 $\rightarrow$  LUMO), 273,75 nm (0,0251; I= 5; **C**; HOMO  $\rightarrow$  LUMO+2), 254,11 nm (0,2912; D; I= 45; HOMO $\rightarrow$  LUMO + 3), 215,89 (0,6168; I=100; **E**; HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO+2) e em 194,09 nm (0,3444; I= 63; **F**; HOMO-1 $\rightarrow$  LUMO+5). Os orbitais referentes às principais transições podem ser visualizados na Figura 64 (página 121) e 65 (página 122).

A mudança de simulação do vácuo para o etanol revelou apenas uma discreta mudança nas intensidades relativas e maior alteração foi na banda **A** e **B** que deslocaram para o vermelho indicando a predominância de transições ( $\pi$ ,  $\pi^*$ ). A espécie APNH-H (distância de ligação do hidrogênio e o N2 de 1,925 angstroms) possui como região cromófora toda a molécula principalmente na região da anilina, sendo que no LUMO visualiza-se a região da Norharmana.



T1 401,01 nm T2 352,33 nm T3 335,47 nm T4 332,65 nm T5 316,76 nm

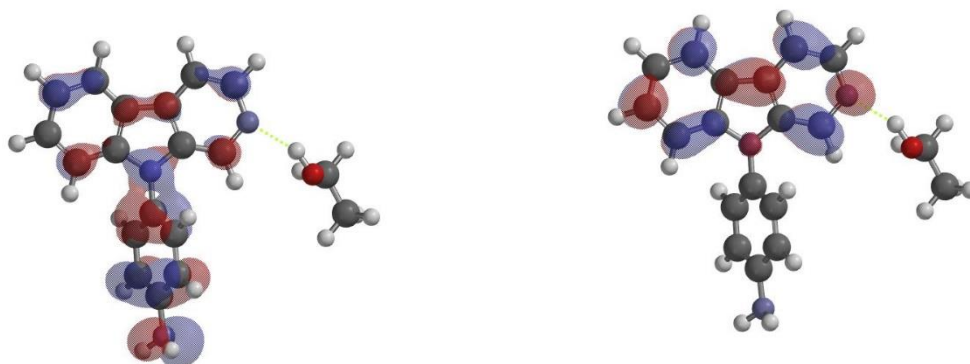
Figura 63 Espectro Teórico (linha preta) DFT do APNH ligada a carbonila do Etanol e em etanol (sf 0,2 H 8) ; b) espectro experimental (linha vermelha) UV/VIS APNH  $10^{-4}$  mol. L<sup>-1</sup> em Etanol



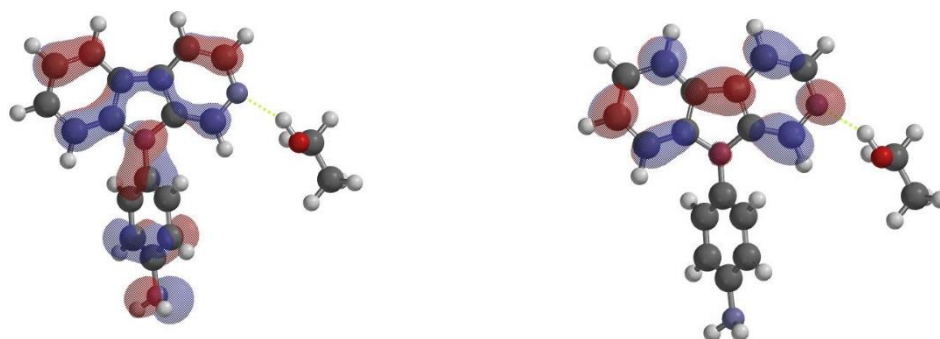
**Tabela 15 Principais energias de excitação, E(ev), *singlete*, S<sub>1</sub> (tipo n, π\*), e o comprimento de onda, λ(nm), dos espectros do APNH calculado com DFT. Força de oscilador (f-valor), transição e amplitude calculados com simulação em etanol**

Si	λ(nm)AP NH Exp. (etanol)	λ(nm) Teórico	E (eV)	f (osc)	*I.	Banda	Transição	Natureza
1	358 3,463ev	348,56	3,557	0,0371	5%	A	HOMO → LUMO	Π → Π*
2	346 3,583ev	293,49	4,224	0,0303	5%	B	HOMO-1 → LUMO	Π → Π*
3	288 4,305ev	273,75	4,529	0,0251	5%	C	HOMO → LUMO+2	Π → Π* Principalmente Anilina → PIRIDINA
4		272,33	4,55275	0,0249			HOMO → LUMO+1	
5	260 4,768ev	254,11	4,879	0,2912	45%	D	HOMO → LUMO+3	Π → Π* Principalmente Anilina → <b>BenzoPirrol</b> e Anilina
6		247,69	5,005660301	0,1994			HOMO-2 → LUMO	
7		246,17	5,036568225	0,0124			HOMO-6 → LUMO	
8		245,2	5,056492659	0,0009			HOMO-3 → LUMO	
9		241,5	5,133962733	0,0066			HOMO-1 → LUMO+1	
10		240,72	5,150598205	0,0074			HOMO-4 → LUMO	
11		233,58	5,308040072	0,0261			HOMO-5 → LUMO	
12		231,74	5,350185553	0,0286			HOMO → LUMO+4	
13		225,23	5,504826178	0,0732			HOMO → LUMO+5	
14		221,43	5,599295488	0,0026			HOMO-2 → LUMO+1	
15		218,68	5,669709164	0,2256			HOMO-2 → LUMO+2	
16	238 5,209 ev	215,89	5,742	0,6168	100%	Eb	HOMO-1 → LUMO+2	Π → Π* Anilina → Toda a molécula principalmente <b>PIRIDINA</b>
17		210,91	5,878583282	0,1137			HOMO-2 → LUMO+3	
18		206,13	6,014903216	0,0024			HOMO-6 → LUMO+2	
19		205,95	6,020160233	0,0298			HOMO → LUMO+5	
20		203,11	6,104337551	0,0606			HOMO-1 → LUMO+4	
21		201,19	6,162592574	0,0002			HOMO-3 → LUMO+2	
22		198,63	6,242017822	0,0002			HOMO-3 → LUMO+1	
23		197,25	6,285688213	0,0093			HOMO-4 → LUMO+2	
24		194,97	6,359193722	0,0262			HOMO-5 → LUMO+1	
25	204 6,077ev	194,09	6,388	0,3444	63%	F	HOMO-1 → LUMO+5	Π → Π* Toda Molécula → NH
T1		407,01					HOMO → LUMO	
T2		352,33					HOMO-2 → LUMO	

a) HOMO  $\rightarrow$  LUMO, Banda A



b) HOMO -1  $\rightarrow$  LUMO, Banda B



c) HOMO  $\rightarrow$  LUMO+2, Banda C

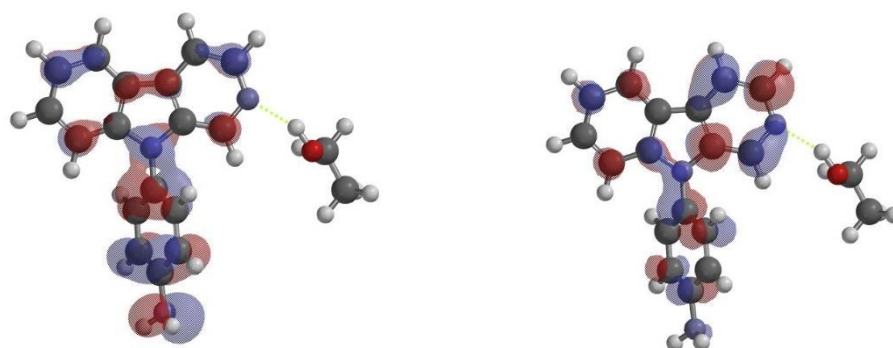
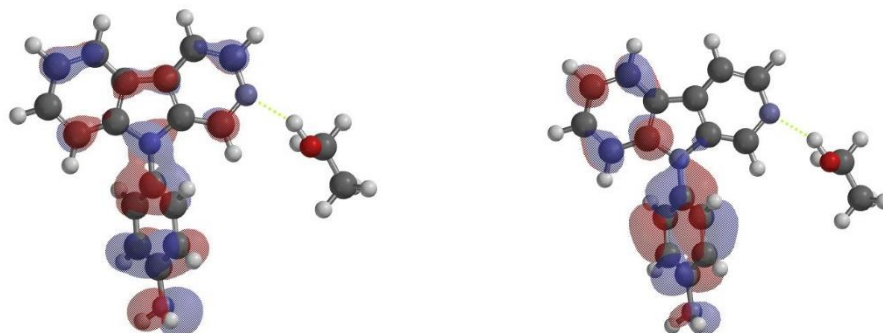
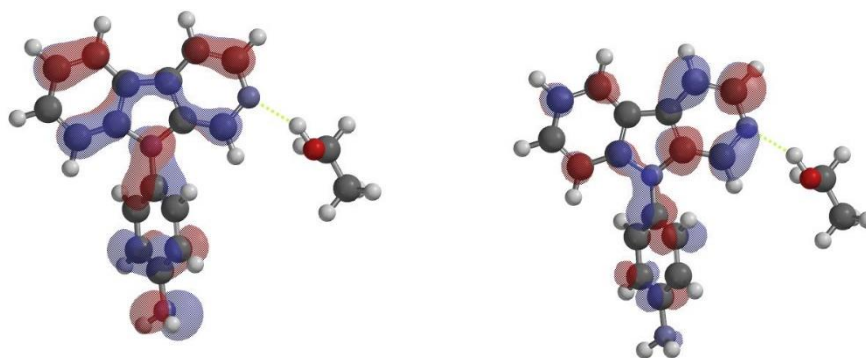


Figura 64 Orbitais Moleculares referente as transições eletrônicas do APNH ligado ao Etanol (Banda A, B e C respectivamente) ; a) HOMO  $\rightarrow$  LUMO, b) HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO, c) HOMO  $\rightarrow$  LUMO+2

a) HOMO  $\rightarrow$  LUMO +3, Banda D



b) HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO +2, Banda E



c) HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO +5

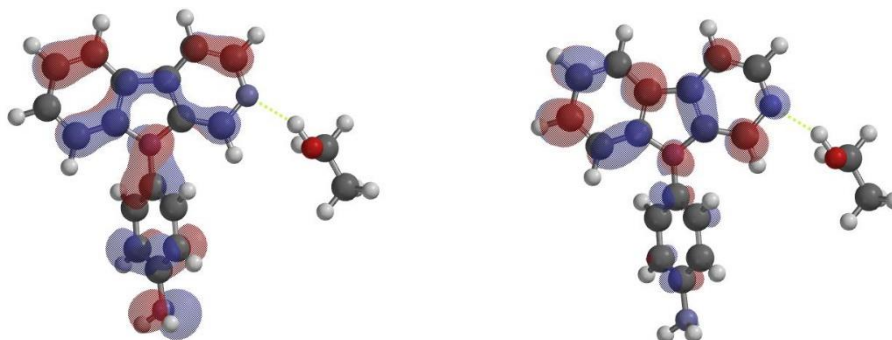


Figura 65 Orbitais Moleculares referente as transições eletrônicas do APNH ligado ao Etanol (Banda D, E e F respectivamente) ; a) HOMO  $\rightarrow$  LUMO+3, b) HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO+2, c) HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO+5

O efeito do solvente conforme os dados experimentais (Tabela 16, entre os espectros experimentais em solução etanólica e em metilciclohexano como referência) apresentou discretas mudanças.

Todos os dois espectros (em Metilciclohexano e em Etanol) possuem seis máximos (A, B, C, D, E, F) e todas as bandas deslocaram para maiores comprimentos de onda, indicando predominância de transições ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ). Essa transição é característica de moléculas aromáticas.

O esquema fotofísico (Figura 66, página 124) dos cálculos DFT em simulações correspondentes a esses meios possibilita verificar essas diferenças.

**Tabela 16 Efeito do Solvente (dados teóricos e experimentais entre parênteses ) APNH em metilciclohexano, Etanol e Etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol (HFIP). Absorções (nm). Intensidade Relativas, deslocamento das bandas, efeito na intensidade relativa**

Absorção do APNH(nm)	A	B	C	D	E	F
Metilciclohexano	296,69 (352)	256,3 (340)	219 (288)	211,24 (260)	201,81; 195,76 (238. 218)	195 (204)
Etanol	348,56 (358)	293,49 (346)	273,75 (288)	254,11 (260)	215; 210,91 (252; 238)	194,09 (204)
Etanol + HFIP (experimental)	(354)	(280)	(230)			(204)
<b>Intensidade relativa experimental</b>						
Metilciclohexano	0,0317	0,0277	0,0985	0,1292	0,2502	0,1922
Etanol	0,029	0,0252	0,0957	0,156	0,177	0,2256
Etanol + HFIP	0,0057	0,0249	0,089			0,193
Efeito do Solvente						
<b>Deslocamento das bandas teórico e experimental entre parênteses</b>						
Metilciclohexano (referencial)	0	0	0	0	0	0
Etanol	51,87 (6)	37,19 (6)	54,75 (0)	42,87 (0)	13,19; 15,15 (14)	-0,91 (0)
Etanol + HFIP	(2)	(-60)	(-58)			
<b>Efeito na Intensidade relativa experimental</b>						
Metilciclohexano	0	0	0	0	0	0
Etanol X MCH	-0,0027	-0,0025	-0,0028	0,0268	-0,0732	0,0334
Etanol + Hexafluoro-2-propanol X Etanol	-0,0233	-0,0003	-0,0067			-0,0326

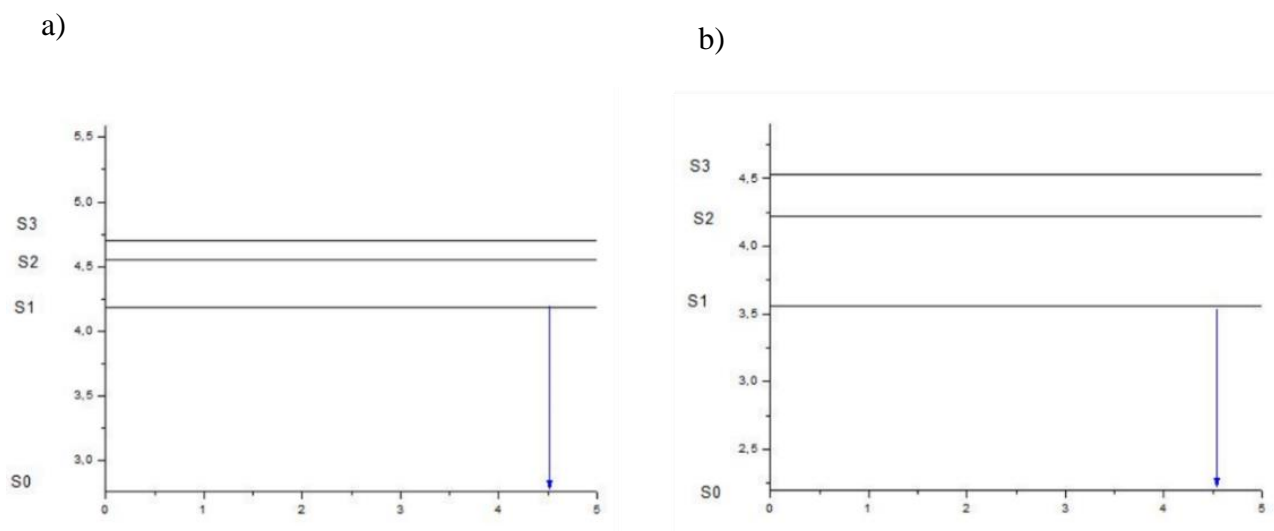


Figura 66 Esquema fotofísico do APNH em: a) vácuo b) etanol

A mudança do solvente vácuo para etanol aumentou o valor do momento de dipolo da molécula APNH (Figura 67) em 1,23 Debyes ( $4,1028383685 \cdot 10^{-30} \text{ C} \cdot \text{m}$ ) e os ângulos do diedro formado pelas ligações dos átomos (C10, N9, C14, C15) foi igual à  $(-89,99^\circ)$  e em vácuo e em etanol mede  $-119,89^\circ$ . O diedro C10, N9, C14, C19 em vácuo é  $89,91^\circ$  e em etanol mede  $60,55^\circ$  evidenciando que a molécula não é planar nem em vácuo e nem em simulação em etanol.

a) Vácuo

b) Etanol

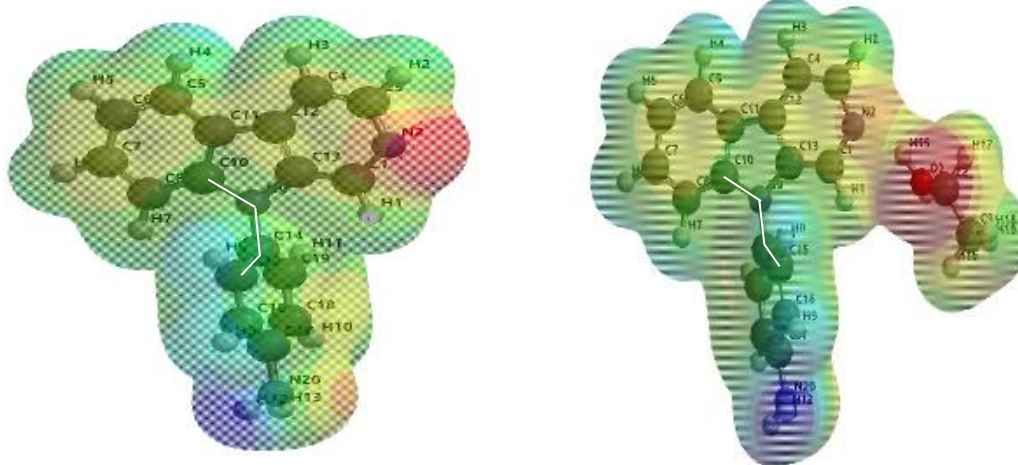


Figura 67 Mapa de potencial eletrostático do APNH e em destaque o diedro formado pelos átomos (C10, N9, C14, C19) ; a) 5,37 Debye em vácuo b) 6,6 Debye em simulação ligado a molécula de etanol

O efeito do acréscimo do hexafluoro-2-propanol no APNH dissolvido em Etanol fez com que as bandas **A**, **B** e **C** se deslocassem para menores comprimentos de onda (Azul, Tabela 16, página 123) indicando presença de transições  $n \rightarrow \pi^*$ . Sendo que a única banda que não ocorreu diminuição de intensidade foi a situada em 204nm (0,193). As bandas **A** e **C** praticamente desaparecem, devido à estabilização das transições ( $\pi, \pi^*$ ) e desestabilização das transições ( $n, \pi^*$ ) para menores energias.

Os cálculos demonstraram que quando simulado em vácuo (Tabela 14, página 116) a região cromófora doadora de elétrons principal é a Norharmana e a receptora principal é a **Norharmana** com exceção somente da banda **D** (Figura 68) cujo cromóforo é somente a região da **Anilina**.

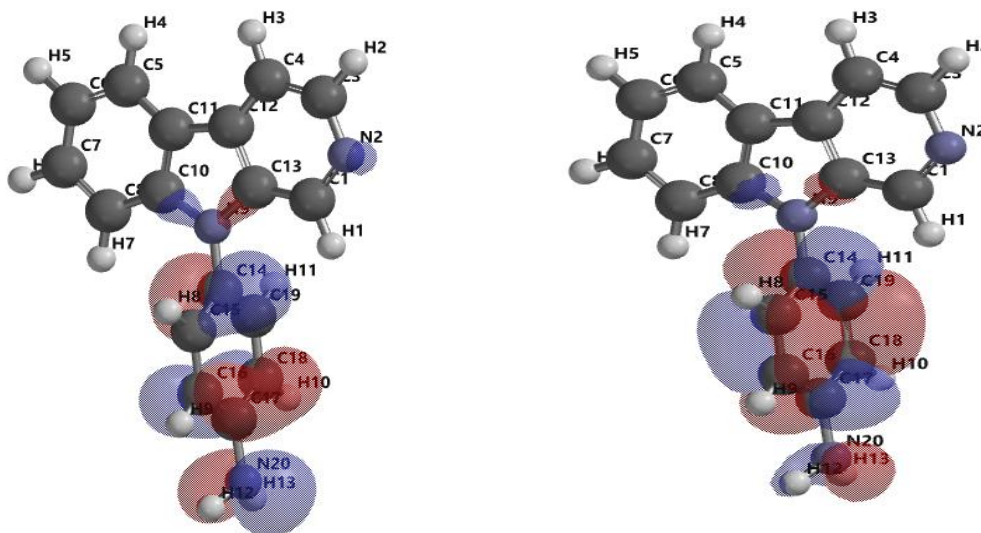


Figura 68 Orbitais do APNH da transição eletrônica entre os orbitais HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO +2

Quando a molécula APNH foi simulada em Etanol (ligando-se o N da piridina ao Etanol) toda a molécula contribuiu eletronicamente doando elétrons principalmente a região da Anilina, sendo que o nitrogênio do anel da piridina fica impedido de contribuir eletronicamente. A banda **D** (Figura 69) também mantém a transição ( $\pi$ ,  $\pi^*$ ) com cromóforo principalmente localizado na região da Anilina (Anilina  $\rightarrow$  BenzoPirrol + Anilina).

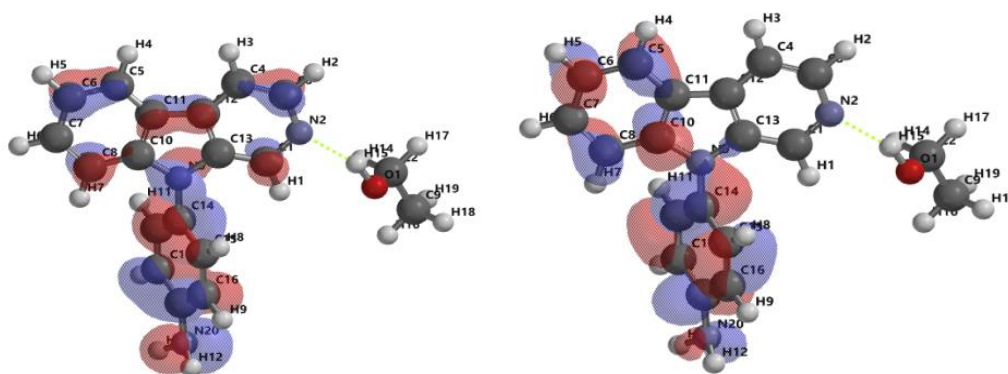


Figura 69 Orbitais do APNH referente a transição eletrônica entre HOMO  $\rightarrow$  LUMO +3 referente a banda **D**

### 5.3.3 Análise dos espectros de absorção e emissão do APNH em relação as moléculas Anilina e Norharmana solubilizados em etanol

As análises foram realizadas de duas formas: 1- emissão (temperatura à 77 K, Figura 70 a) e absorção (Figura 70 b) das moléculas anilina, norharmana e APNH dissolvidos em etanol e 2 - absorção do APNH-H (em etanol e em etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol, Figura 71) e absorção da Anilina (em etanol, Figura 71 – linha marrom).

A primeira análise (Figura 70) referente à emissão (Figura 70 a) constatou-se que a emissão do APNH em etanol é mais semelhante com a emissão da anilina (Figura 70 a- linha preta) com um deslocamento de 51 nm para maiores comprimentos de onda. O deslocamento é devido a diferença da estrutura eletrônica do APNH com relação à anilina. A emissão da Norharmana (picos em 369 nm, 378 nm, 380 nm e 437 nm) é muito diferente do APNH (máximos em 369 nm e 448 nm) conforme visualizado na Figura 70 a – linha azul.

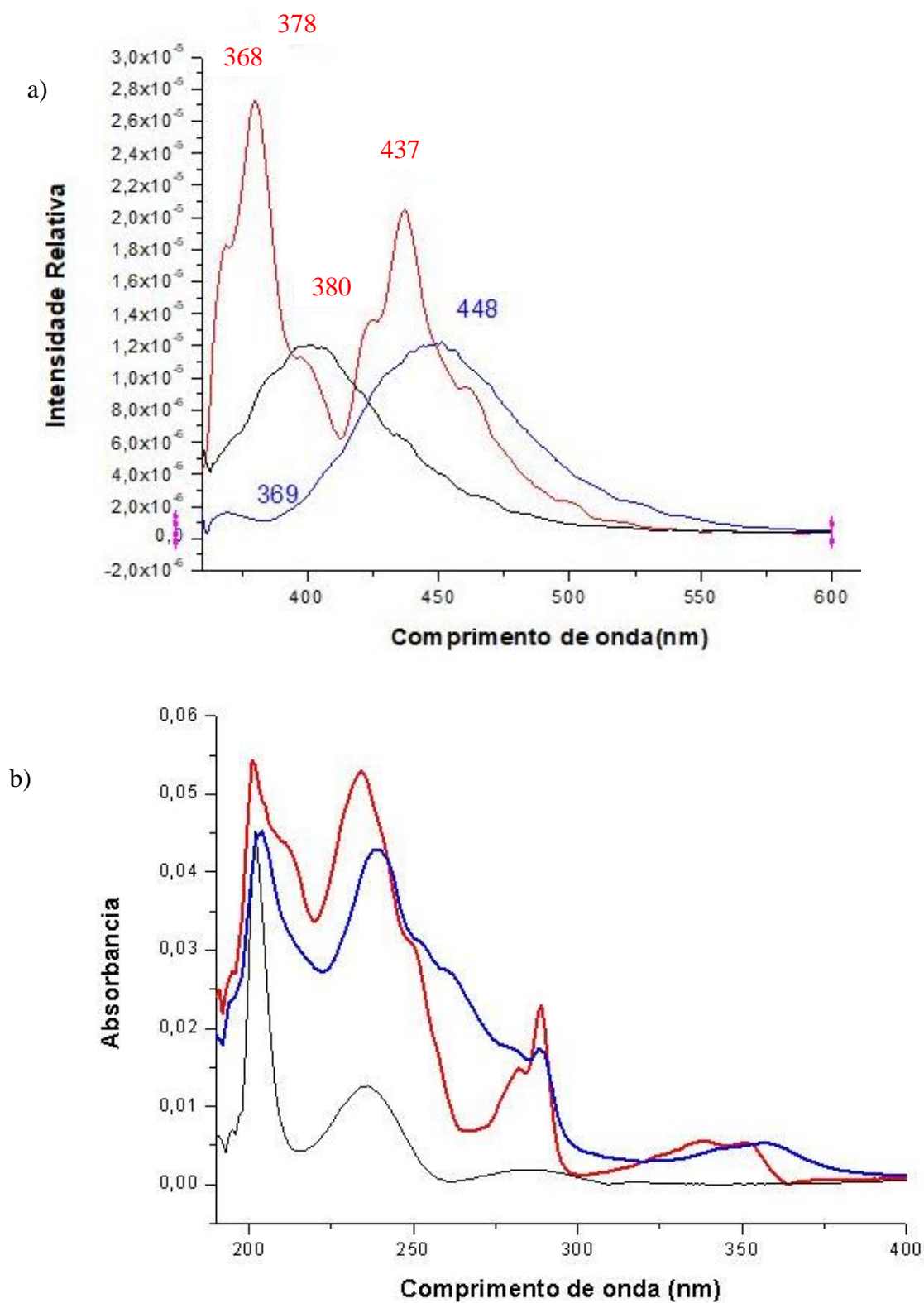


Figura 70 Comparação dos espectros da Anilina (— preto), Norharmana (— vermelho), e o APNH (— azul) a concentração  $1.10^{-4}$  mol.  $L^{-1}$ . a) emissão a 77K ( $\lambda_{exc}=313nm$ ) b) absorção UV/VIS 190 a 400 nm



O espectro de absorção do APNH (Figura 70 b – linha azul) é parecido com a norharmana (Figura 70 b- linha vermelha) que tem picos em 201 nm, 211,32 nm, 234,828 nm, 299,741 nm, 282,324 nm, 289,102 nm, 337,501 nm e 352,414 nm. O comportamento fotofísico do APNH ao ser comparado com essas moléculas difere. Sendo na emissão parecido com a Anilina e na absorção com a Norharmana.

A segunda análise (Figura 71) refere-se à comparação dos espectros de absorção do APNH-forte H (em etanol mais hexafluoro-2-propanol, ligação forte de Hidrogênio, Figura 71- linha vermelha) com o espectro de absorção da Anilina (Figura 71 -linha marrom escuro ).

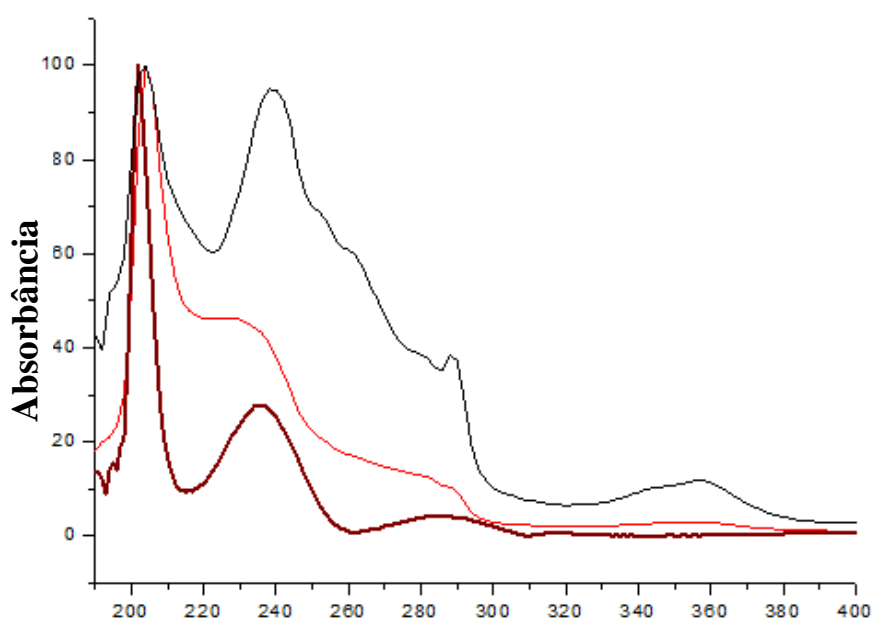


Figura 71 Espectros UV/VIS do APNH em etanol (— preto), APNH em etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol (— vermelho), e a Anilina (— marrom) a concentração  $1 \cdot 10^{-4}$  mol. L<sup>-1</sup>

Experimentalmente esses dois espectros (APNH-forte H e anilina) são muito semelhantes. Os cálculos são condizentes com esses resultados experimentais demonstrando que a ligação de hidrogênio interrompe a contribuição do nitrogênio ligado a região da norharmana. Dessa forma a região fotoativa principal passa a ser a Anilina.

### 5.3.4 Espectros de emissão do APNH

Os espectros de emissão do APNH  $1.10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> foram comparados na mesma escala em comprimento de onda e intensidades relativas nos solventes: metilciclohexano (Figura 72 a), etanol (Figura 72b) e água (Figura 72 c).

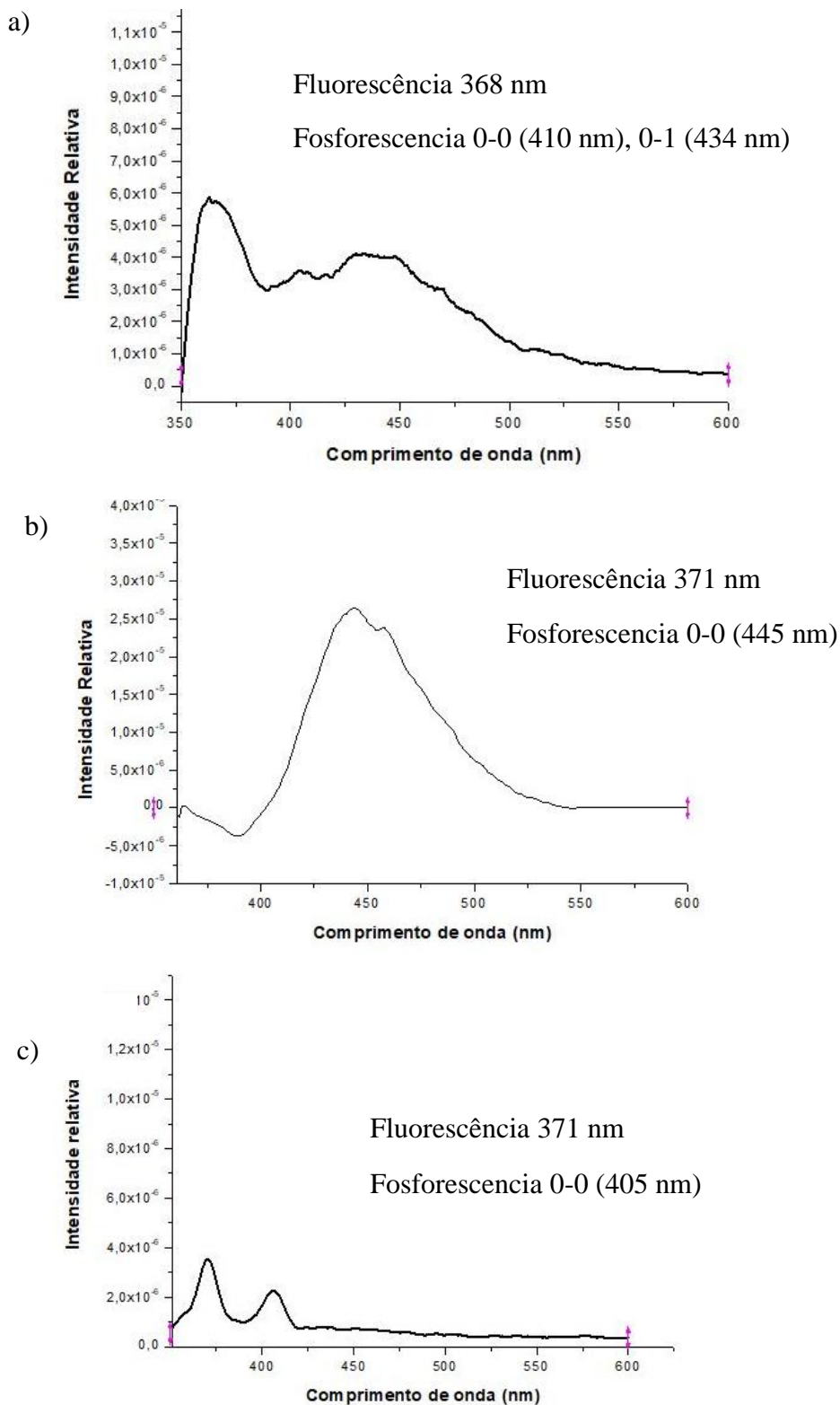


Figura 72 Espectro de emissão do  $1.10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> APNH a 77K ( $\lambda_{exc}=313$  nm) em: a) metilciclohexano b) etanol c) água

As emissões têm características fotofísicas distintas nos três solventes. Quando está em metilciclohexano possui uma fluorescência em aproximadamente 368 nm e com maior intensidade do que a fosforescência (localizada aproximadamente em 410 nm e 434 nm). Em etanol a fluorescência (371 nm) é menos intensa que a fosforescência (445 nm). O APNH em água possui emissão muito fraca e a fluorescência (371 nm) tem maior intensidade que a fosforescência 405 nm).

A emissão do APNH em etanol (Figura 73) foi mais intensa com pico em 447 nm e fenômeno luminescente com cor azul. A diluição de  $1.10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  a  $1.10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  fez com que este pico deslocasse (5 nm, 443 nm) para o azul, indicando presença de transições ( $n, \pi^*$ ).

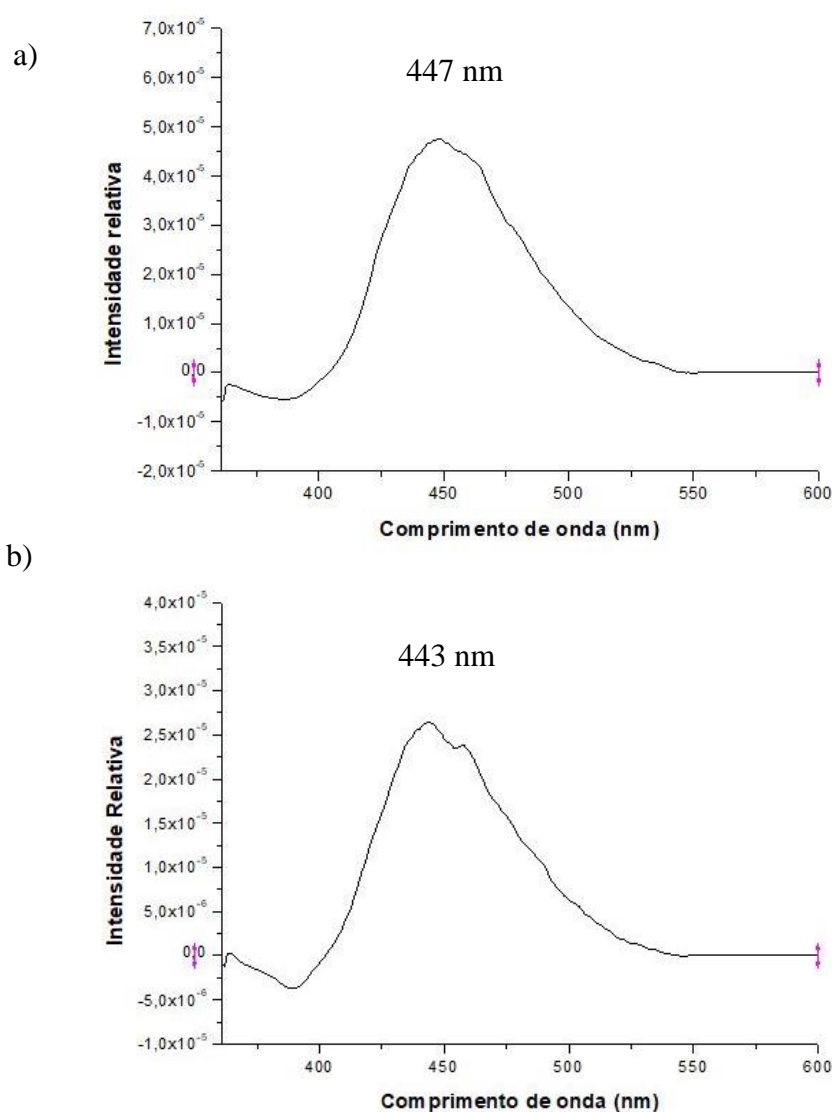


Figura 73 Emissão do APNH em Etanol ( $\lambda_{exc}=313\text{nm}$ ); a)  $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  b)  $1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$

### 5.3.5 Efeito do átomo pesado no APNH dissolvido em etanol

O Bromo aumenta a fosforescência e seu máximo está localizado em aproximadamente 444 nm (Figura 74). Dessa forma a fosforescência fica evidente quando o APNH é solubilizado em etanol mais duas gotas de Bromopentano. Conforme o efeito do átomo pesado (Bromo) onde a razão de fosforescência/intensidade de fluorescência é aumentada (WAYNE, 1988).

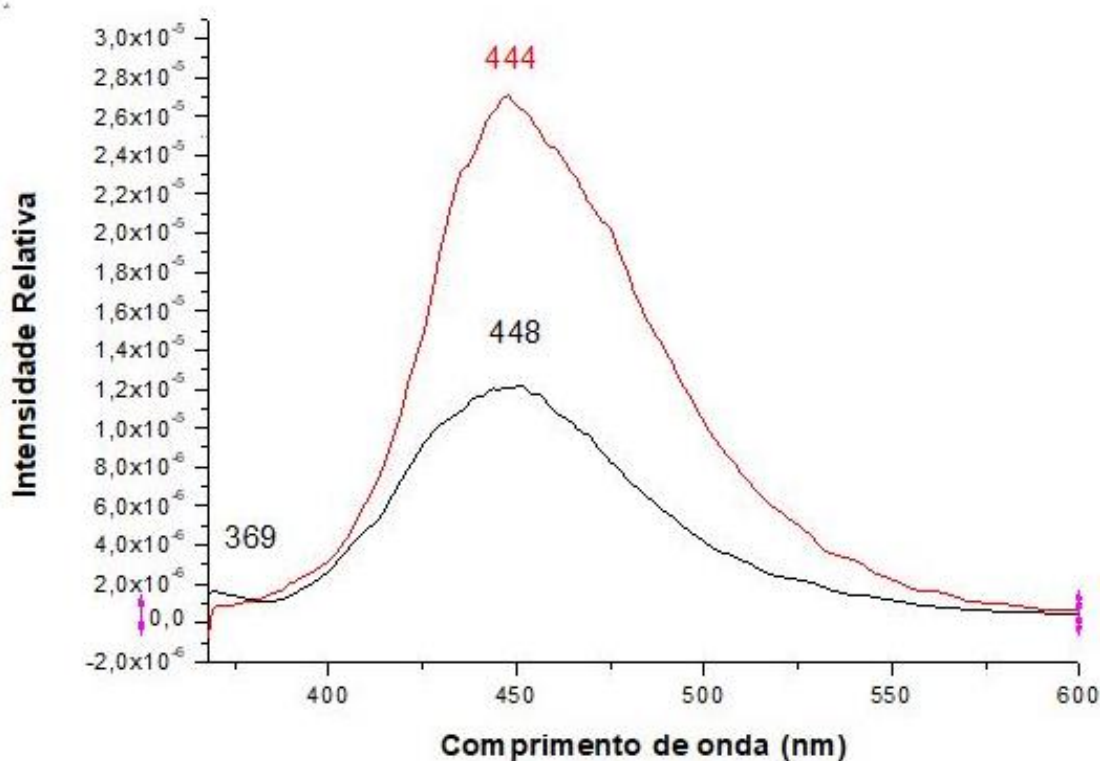


Figura 74 Efeito do Átomo Pesado no APNH; Emissão do APNH  $2,5 \cdot 10^{-4}$  mol.  $L^{-1}$  em Etanol  $\lambda_{exc} = 313$  nm (preto) e Emissão do APNH  $2,5 \cdot 10^{-4}$  mol.  $L^{-1}$  em Etanol mais duas gotas de Bromopentano  $\lambda_{exc} = 313$  nm (vermelho)

### 5.3.6 Solubilização de espécies do APNH em soluções Micelares neutras e carregadas

O APNH foi solubilizado em solução tampão posteriormente em micelas na concentração  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  sendo os espectros medidos a temperatura de 77K. Conforme Figura 75: linha marron micela neutra, linha laranja micela aniônica, linha azul escuro micela catiônica, linha azul claro em etanol mais hexafluoro-2-propanol, linha verde APNH em solução tampão pH 7, linha vermelha APNH em metilciclohexano

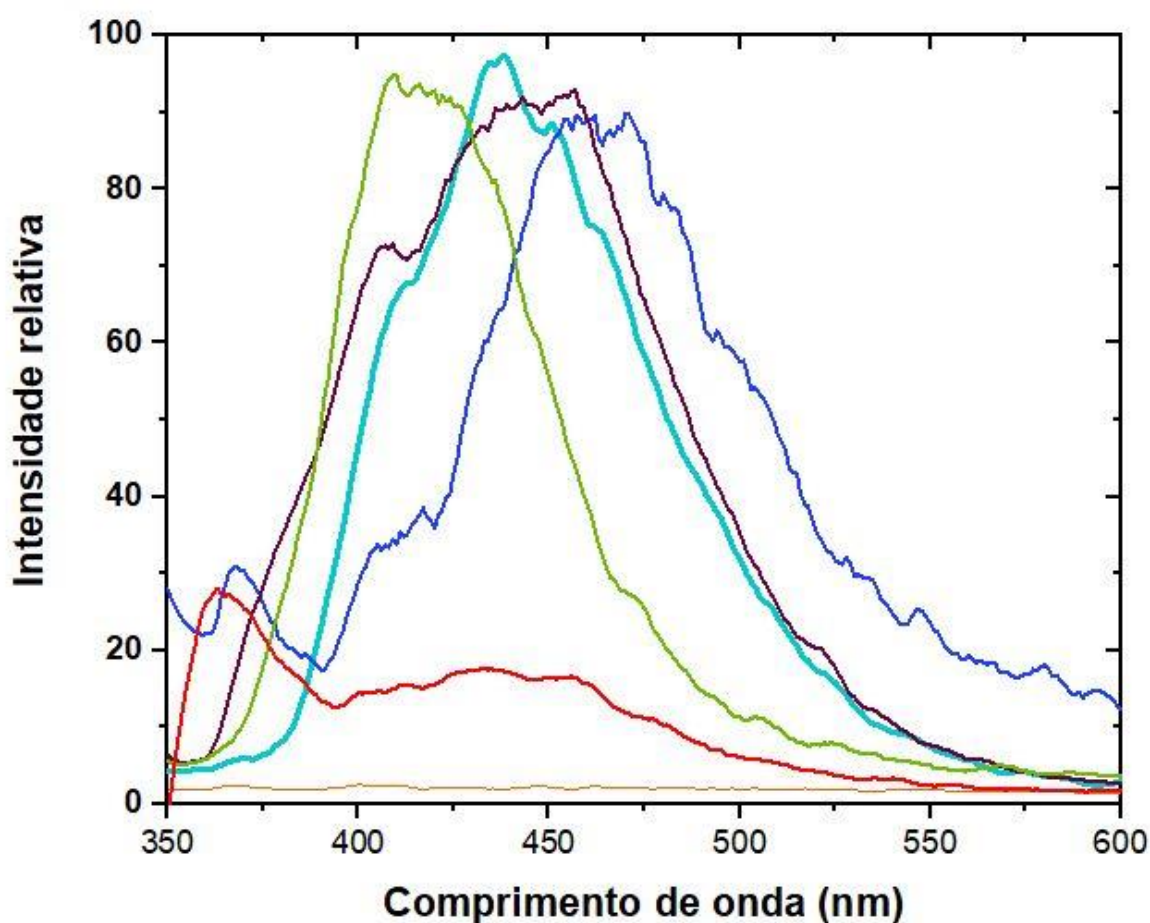


Figura 75 Espectro de emissão do  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  APNH a 77K em: -- linha marron micela neutra, --- linha laranja micela aniônica, --- linha azul escuro micela catiônica, ---- linha azul claro APNH em etanol mais hexafluoro-2-propanol, --- linha verde APNH em solução tampão pH7, --- linha vermelha PNH em metilciclohexano

A emissão do APNH dissolvido em micela neutra (triton pH 7 a 77k, linha marron) apresentou fosforescência localizada aproximadamente em 409 nm e 455 nm (Figura 75). Semelhantemente o APNH dissolvido em etanol a  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol (Figura 75, linha azul claro ) a 77k que teve fosforescência aproximadamente localizada em 414 nm e 437 nm. A espécie APNH-H entrou na micela e ficou localizada na região hidrofílica. Verificou-se que o APNH entra na micela e forma uma ligação de hidrogênio com a região hidrofílica da micela. Evidenciado pela emissão semelhante do APNH dissolvido em Etanol mais gotas de hexafluoro-2-propanol (Figura 75, linha azul claro ).

O APNH em micela aniônica (SDL, Figura 75 linha azul escuro , página 132) teve a emissão nula. Nesse meio micelar o APNH não apresentou atividade fotofísica. Provavelmente esse meio interrompe a fluorescência e a fosforescência. A micela negativa impediu as propriedades fotofísicas do APNH.

A emissão na solução tampão (pH= 7, linha verde) teve pouca intensidade localizada aproximadamente em 411 nm e 428 nm. Essa emissão identifica se o APNH não entrou na pseudomembrana, mas em nenhuma micela teve essa identificação.

A solução do APNH em micela catiônica (HTBA, linha azul escuro) a 77K com emissão (fenômeno luminoso com cor azul claro) com pouca intensidade com picos em aproximadamente em 371 nm, 411 nm e 467 nm (Figura 75 linha azul escuro, página 132).

Essa emissão é mais semelhante à emissão em meio hidrofóbico (metilciclohexano, Figura 75 , linha vermelha) considerando o efeito do átomo pesado presente na micela catiônica. Pode-se verificar a diminuição da fluorescência e o aumento da fosforescência. O APNH em micela catiônica entra e fica localizado no núcleo da micela (no meio hidrofóbico).

## 6. CONCLUSÕES

### 6.1. As espécies do DEHMC em vizinhanças hidrofóbicas e hidrofílicas e a sua solubilização em micelas neutras e carregadas

As propriedades fotofísicas do DEHMC foram investigadas experimental e teoricamente. Os cálculos DFT da molécula DEHMC em conjunto com os espectros de absorção mostraram que o DEHMC dissolvido em etanol tem o cromóforo de absorção situado na ramificação do anel da pirona e anel aromático.

O DEHMC H<sup>+</sup> possui região cromófora sem a participação do nitrogênio do anel da pirona. Os espectros de emissão mostraram que o DEHMC tem duas espécies predominantes, dependendo do ambiente. As espécies DEHMC-H e DEHMC<sup>+</sup> coexistem em equilíbrio no etanol.

A solubilização do DEHMC em etanol mais duas gotas de hexafluoro-2-propanol tem como espécie fotoativa o DEHMC-H (com ligação de hidrogênio forte). A espécie DEHMC<sup>+</sup> predomina no meio aquoso.

As espécies apresentaram propriedades fotofísicas distintas umas das outras e podem ser utilizadas como sondas fluorescentes.

A espécie DEHMC<sup>+</sup> possui os estados S<sub>1</sub> e T<sub>1</sub> de natureza ( $\pi, \pi^*$ ) e a banda de fluorescência é bastante intensa. A espécie DEHMC-H tem como região molecular ativa C5, C6, C7, C8 e N19 e DEHMC<sup>+</sup> C4, C5, C9 e C10.

Os átomos C5, C6, C7, C8 e N19 são responsáveis pela transferência de carga observada de longo alcance ( $n \rightarrow \pi^*$ ) presente na transição DEHMC-H, mas ausente na emissão DEHMC<sup>+</sup> e transição ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) nos espectros de absorção.

Os resultados indicaram que as micelas seguem um modelo como um "aglomerado poroso" e há caudas de surfactante hidratado dentro delas e ocorreu semelhante com o experimento de MENGER (1979).

Em ambientes micelares neutros e aniônicos, o DEHMC<sup>+</sup> desprotona e penetra no interior da estrutura micelar e permanece ancorado em sua região hidrofílica. A espécie ação

do DEHMC é o DEHMC-H que forma ligação de hidrogênio com a água presente no interior da micela.

O DEHMC possui propriedades eletrônicas e interação com micelas completamente diferentes da observada para a cumarina. Essas propriedades eletrônicas e o mecanismo de transporte do DEHMC através da membrana podem atuar como forças motrizes da ação farmacológica e aumentar sua atividade biológica.

Provavelmente, eles podem ser usados para dar uma idéia da razão pela qual essas duas moléculas têm um comportamento diferente de suas potências antimutagênicas em relação ao IQ na *Salmonella typhimurium* TA 98. As investigações teóricas ajudaram a entender e esclarecer a natureza das propriedades fotofísicas observadas.

Os espectros de absorção UV/VIS em etanol são muito similares facilmente deduzir-se-ia que possuem a mesma região cromófora nesses solventes. Mas com o auxílio dos cálculos observou-se que são transições que possuem comportamento fotofísico bastante diferentes e regiões cromóforas distintas.

Essa análise é melhor esclarecida com os espectros de emissão que são visivelmente distintos. Deixando evidenciado que o DEHMC forma espécies diferentes conforme o meio de solvatação.

Dessa forma a emissão possibilita identificar as espécies através das suas propriedades fotofísicas conforme a mudança da solvatação. O DEHMC apresentou espécies diferentes e possibilitou investigar a interação dessa molécula em micelas de forma precisa.

## **6.2. As espécies da Harmina em vizinhanças hidrofóbicas e hidrofílicas e a sua solubilização em micelas neutras e carregadas**

A harmina foi cuidadosamente examinada experimentalmente e com cálculos DFT. As propriedades de emissão das espécies, das suas formas: base livre e monocation, foram bem estabelecidas e demonstraram que as espécies são distintas entre si e podem ser usadas como sondas fluorescentes diretas para a caracterização da espécie em ação, e o sitio de ação da harmina e também o mecanismo de transporte da droga através da membrana.

Foram observadas as seguintes espécies nos solventes aonde as duas formas da harmina foram dissolvidas: em (MCH), o monômero HR, em etanol, o complexo ligado por ligação de



hidrogênio, HR-H coexistindo em equilíbrio com o monômero HR, em etanol mais 1% de HFIP, o complexo HR-H forte, em água, o monômero do monocation HR.HCl. Não foi observado a formação de nenhuma agregação molecular e o cromóforo absorptivo e emissivo nessas vizinhanças é o anel da piridina.

Na micela neutra, o monocation desprotona e é solubilizado para dentro da micela, duas espécies coexistem em equilíbrio no seu interior; a espécie HR ancorada na região hidrofóbica e a espécie HR-H ancorada na região hidrofílica, formando um complexo de ligação de hidrogênio entre o N(nitrogênio) do anel da piridina da HR e a água, na interface da região hidrofóbica e a região aquosa da micela.

Na micela aniônica, a espécie no seu interior é a HR-H forte, ancorada na região aquosa e formando um complexo de ligação de hidrogênio entre o N da piridina da espécie HR, próximo da superfície com cargas negativas da micela e na micela catiônica a espécie HR.HCl não desprotona e nem penetra no interior da micela, ficando na solução de fora da micela, presumivelmente devido a repulsão entre as cargas.

Os resultados aqui apresentados poderão ajudar, no nível molecular, a entender as possíveis implicações farmacológicas dos processos de desprotonação e a caracterizar a espécie em ação e os sítios de ação da harmina em membranas assim como o mecanismo de transporte da droga através da membrana, o que poderia levar a uma provável base molecular da ação farmacológica da harmina.

Os espectros teóricos foram condizentes com o experimental ajudando a compreensão das principais transições eletrônicas. O anel piridina é a região fotoativa da molécula mostrando determinante na ocorrência da transição HOMO → LUMO. Modificando-se em intensidade e em energia quando protonada.

Através dos espectros de absorção podem-se visualizar diferenças, mas não é possível determinar onde é a peculiaridade de cada solvatação. A visualização dos orbitais (HOMO, LUMO) permitiu identificar que a contribuição eletrônica do nitrogênio muda totalmente as características fotofísicas dessa molécula.

Mudança que através da análise com a espectroscopia de emissão é mais visível. Permitindo identificar que a Harmina em etanol é a espécie ligada ao hidrogênio e em água é outra espécie (Harmina protonada).

Um átomo nitrogênio que contribuiu eletronicamente de forma diferente e propiciou à molécula características fotofísicas específicas. A determinação das espécies da molécula Harmina propiciou a utilização destes dados para sondar diretamente a interação em meio micelar.

### **6.3 As espécies do APNH em vizinhanças hidrofóbicas e hidrofílicas e a sua solubilização em micelas neutras e carregadas**

A molécula do APNH foi analisada experimentalmente (absorção UV/VIS e emissão ( $\lambda_{exc} = 313nm$ )) e teoricamente com auxílio de cálculos computacionais referente à Teoria do Funcional Densidade. Os cálculos foram condizentes com os dados experimentais e foi possível compreender a natureza das transições eletrônicas.

A região molecular responsável pelas principais transições eletrônicas que ocorrem na absorção UV/VIS em ambiente hidrofóbico é a região da Norharmana com exceção somente da banda **D** que tem como região eletro doadora a Anilina.

Verificou-se que quando ocorre a ligação do Nitrogênio do anel da Piridina com o etanol, a região da Norharmana é suprimida. Dessa forma a região cromófora principal da espécie APNH-H passa a ser então o anel da Anilina. Esse fato é melhor identificado na emissão. Quando se compara a emissão do APNH com a emissão da Anilina e da Norharmana.

Evidenciando dessa forma que ao formar ligação de hidrogênio no Nitrogênio da piridina o comportamento da molécula APNH tem como região cromófora a Anilina com predominância de transições  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

O APNH liga-se justamente neste ponto (nitrogênio do anel da piridina) ao DNA e quando isto ocorre, a região fotoativa passa a ser a anilina. Causando danos ao DNA. Provavelmente devido a esse fato propicia a carcinogenicidade dessa molécula.

O APNH teve comportamentos distintos conforme a mudança da carga das micelas. A emissão do APNH em micela neutra foi semelhante ao APNH em meio hidrofílico. A molécula entrou na micela neutra por forças hidrofílicas e ficou localizada na região interna próximo a superfície.

A emissão em micela aniônica foi nula, esse meio anulou as propriedades fotofísicas do APNH. A membrana carregada negativamente possivelmente é anticancerígena às atividades do APNH. O meio com carga negativa é essencial para manter o organismo protegido da ação desse potente carcinogênico endógeno.

Quanto a micela catiônica, o APNH entrou na micela e ficou localizado no seu núcleo. Lembrando que o núcleo na célula é a região onde está localizado os cromossomos.

A célula com carga positiva em sua membrana possivelmente facilitará o acesso do APNH ao núcleo da célula. Os danos iminentes já são conhecidos por esta molécula ao interagir com o DNA. Dessa forma esse estudo ajudou a esclarecer o entendimento do mecanismo de transporte do APNH para o interior de uma micela.

A complementação com a espectroscopia de emissão possibilita uma sensibilidade maior aos efeitos fotoeletrônicos de moléculas bioativas. O uso dessa técnica em pseudomembranas é eficaz para investigar as forças moleculares envolvidas na interação biológica. Essa técnica é importante para análises das propriedades fotofísicas de moléculas orgânicas com propriedades farmacológicas.

## REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ABHA P., SHARA K. A., ANAND P., JAGAT K. R., IDA T. and KAUSHAL K. U. . A selective hydrolytic and restructuring approach through a schiff base designer over coumarin platform for “turn-on” fluorescent sensing of Zn<sup>2+</sup>” **Journal Dalton Transactions**, 2019, 1477-9226 CODEN DTARAF DOI 10.1039/C8DT03211D aceito 2019.

AMARAL, M. da P. H., VIEIRA, F. P.; LEITE, M. N. ; AMARAL, L. H. ; PINHEIRO, L. C. F. P., M. C. S.; VAREJÃO, E. V. Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas; **Revista Brasileira de Farmacognosia** 19(2B) 607-611, 2009.

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

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

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

BAYOUMY K.E., J.M. DONAHUE, S.S. HECHT, D. H., Identification and quantitative determination of aniline and toluidines in human urine, **Cancer Research**. 46 (1986) 6064–6067, 1986.

BELAND, F. A, and KADLUBAR, F. F. (1985) Formation and persistence of arylamine DNA adducts in vivo. **Environ Health Perspective** 62, 19-30, 1985.

BERROUGUI, H., C. M. CORDERO. , A. KHALIL. , M. HMAMOUCHEA., A. ETTAIB., E. MARHUENDA. , M. D. HERRERA. Vasorelaxant effects of Harmine and Harmaline extracted from Peganum Harmala L.seeds in isolated rat aorta. **Pharmacological Research** 54, 150–157, 2006.

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

BRANCKMANN, U. **Lambdachrome Laser Dyes**. **Lambda Physik**, 1986

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

BRUCE, P. Y. **Química orgânica**. 4ª edição; volume 2 – São Paulo: Pearson Prentice Hall, p. 298.2006.

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

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

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

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

CAKIÇI, H, ASLI A. E. BULUT M. Synthesis and characterization of novel phthalocyanines Bering quaternizable coumarin . **Polyhedron** 27 (18), 3625-3630, 2008.

CAO, R., FAN, W., GUO, L., MA, Q., ZHANG, G., Li, J., CHEN, X., REN, Z., & QIU, L. . Synthesis and structure-activity relationships of harmine derivatives as potential antitumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 60, 135–143, 2013

CAO, R., PENG, W., WANG, Z., & Xu, A. Beta-Carboline alkaloids: Biochemical and pharmacological functions. **Current Medicinal Chemistry**, 14(4), 479–500, 2007

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

CHEN , Q., CHAO, R. H., CHEN, H. S., HOU, X. R., YAN, H. F., ZHOU, S. F., PENG, W. L., & XU, A. L. Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis. **International Journal of Cancer**, 114(5), 675–820, 2005.

CHEN J., QING Y., XINXIN Y., XIN X. C. , QIUMEI G. X. L., HONGQIN Y., SHUSEN X., YIRU P.. Fluorinated coumarin silicon (IV) / zinc(II) phthalocyanines: Synthesis, photophysical properties and photoinduced intramolecular energy transfer. **Journal of Luminescence**, Volume 203 299-304, November. 2018.

ÇIFTÇI, G. Y., E. SENKUYTRE., M. BULUT., M. DURMUS. , Novel Coumarin Substituted water soluble cyclophosphazenes as “Turn-Off” Types Fluorescence Chemosensors of Detection of Fe(3+) ions in aqueous media. **Journal Fluorescence** 25(6), 2015.

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

CSORECH., Cristalografia of molecule 1,2 benzopiran-2-one-4 hidroxi, **Chemical Commun** 5 p.1-21,1976

DE SOUZA, P.A, Alcaloides e o chá de ayahuasca: uma correlação dos “estados alterados da consciência” induzido por alucinógeno. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai, Botucatu**, v.13, n.3, p.349-358, 2011.

DEBRUIN L.S., J.B. PAWLISZYN, P.D. JOSEPHY, Detection of monocyclic aromatic amines, possible mammary carcinogens, in human milk, **Chemical Research Toxicology**. 12 78–82.1999.

DELFINO RJ, SINHA R, SMITH C, WEST J, WHITE E, LIN HJ. Breast cancer, heterocyclic aromatic amines from meat and N-acetyltransferase 2 genotype. **Carcinogenesis**; 21(4); 607-615. 2000.

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

DIAS, A., VARELA, A. P., MIGUEL, M DA G., MACONITA, A. L., BECKER, RALPH S. .  $\beta$  Carboline Photosensitizers 1. Photophysics Kinetics and Excited- State Equilibrio in Organic Solvents and Theoretical Calculations. **The Journal of Physical Chemistry**. Volume 96, n<sup>o</sup> 25, 1992

DOLMANS, D. E. J. G. J.; FUKUMURA, D.; JAIN, R.K. **Nature Ver Cancer**, 3, 380-387.2003.

DOLPHIN, D.; WICK, A.; Tabulation of Infrared Spectra Data, Wiley- Interscience: New York, 1977.

DONGJIAN Z., ; REN, A.; DUAN, Z. A new fluorescent probe for detecting cysteine and preparation method and application thereof [Machine Translation], 17pp, CODEN CNXXEV , CN 109134441 , **Faming Zhuanli Shenqing** Heterocyclic Compounds (More Than One Hetero Atom) (Section28), 2019

DUARTE, E. L., T. R. OLIVEIRA. D. S. ALVES V. Micol and M. T. Lamy on the interaction of the anthraquinone barbaloin with negatively charged DMPG bilayers, *Langmuir*, 24. 4041 , 2008

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

EDENHARDER R., C.SPETH, M.DECHER, H.KOLODZIEJ, O.KAYSER, K.L.PLATT. Inhibition of mutagenesis of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline (IQ) by coumarins and furanocoumarins, chromanones and furanochromanones *Mutation Research* V. 345 , p.57-71, 1995

EL SAYED, M.A. Spin- Orbit Coupling and the Radiationless Processes in Nitrogen Heterocyclics ; **Journal Chemical Physics**. 38, Number 12, 2834-2838, 1963.

FARZIN D, HAGHPARAST A, MOTAMAN S, BARYAR F, MANSOURI N. Effects of harmaline and other  $\beta$ -carbolines on apomorphine-induced licking behavior in rat. **Pharmacology Biochemistry Behavior**; 98(2): 215-219, 2011.

FARZIN, D. & MANSOURI, N. Antidepressant-like effect of harmaline and other  $\beta$ -carbolines in the mouse forced swim test. **Journal European Neuropsychopharmacology**. 16, 324-328, 2006.

FELTON JS, KNIZE MG, WU RW, CALVIN ME, HATCH FT, MALFATTI MA. Mutagenic potency of food-derived heterocyclic amines **Mutation Research**; 616 (1-2).2007.

FONTANILLA, D. et al., The hallucinogen dimethyltryptamine (DMT) is an endogenous  $\sigma$ -1-receptor regulator. **Science**, v.323, p.934-936, 2009.

GARCIA CLOSAS R, GARCIA CLOSAS M, KOGEVINAS M, MALATS N, SILVERMAN D, SERRA C. Food Nutrient and heterocyclic amine intake and the risk of bladder cancer. **European Journal Cancer**. ; 43 (11); 1731-40.2007.

GARCIA, J. A. MORALES, M. DE LA F. REVENGA, S. A.-GIL, M. I. RODRÍGUEZ-FRANCO, A. FEILDING, A. P.-CASTILLO & J. RIBA ; The alkaloids of *Banisteriopsis caapi*, the plant source of the Amazonian hallucinogen Ayahuasca, stimulate adult neurogenesis in vitro. **Scientific Report** (1-13), 2017.

HADA, N.; TOTSUKA, Y.; ENYA, T.; TSURUMAKI, K.; NAKASAWA, M.; KAWAHARA, N.; MURAKAMI, Y.; YOKOYAMA, Y.; SUGIMURA, T.; HERRAIZ T., H. Guill, V. J. Aran, Oxidative metabolism of the bioactive and naturally occurring  $\beta$ -carboline alkaloids, norharman and Harman, by human cytochrome P450 enzymes. **Chemical Research Toxicology** 21(11), (2008), 2172-2180, 2008.

HADA N., Y. TOTSUKA, T. ENYA, K. TSURUMAKI, M. NAKAZAWA, N. KAWAHARA, Y. MURAKAMI, Y. YOKOYAMA, T. SUGIMURA, K. WAKABAYASHI, Structures of mutagens produced by the co-mutagen norharman with o- and m-toluidine isomers, *Mutat. Res.* 493 (2001) 115–126, 2001.

HENDERSON, B., DOUGHERTY, T., EDS; **Photodynamic Therapy: Basic Principles and Clinical Applications**; Marcel Dekker Inc.; New York, 1992.

HERRAIZ T, GONZÁLEZ D, ANCÍN-AZPILICUETA C, ARÁN VJ, GUILLÉN H. Beta-Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human [MAO]. **Food Chemical Toxicology** 2010; 48(3): 839-845, 2010.

HOENBERG, P., KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas, **Physical Review** .v. 136 (3B), B864-B871, 1964.

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

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

JAIN, P.K., JOSHI, H. Coumarin: Chemical and pharmacological profile. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 2 (6), pp. 236-240, 2012.

KANEKO T., N. BABA, M. MATSUO, Protection of coumarins against linoleic acid HYDROPEROXIDE-induced cytotoxicity, **Chemico Biological Interactions**. 142 , 239 e 254, 2003

KATAOLKA, K.; HISAMITSU, I.; SAYANA, N., OKANO T.; SAKURAI, Y; Novel Sensing System for Glucose based on the complex formation between phenylborate and Fluorescent Diol Compounds, **Journal Biochemical** 117, 1145-1147 , 1995.

KJELLGREN A, ERIKSSON A, NORLANDER T. Experiences of encounters with ayahuasca- "the vine of the soul". **Journal Psychoactive Drugs** ; 41: 309-315; 2009.

KOKIL, G. R , P. V. REWATKARB, S. GOSAINC, , S. AGGARWALC , A. VERMAC , A. KALRAC AND S. THAREJA . Synthesis and in vitro evaluation of novel 1, 2, 4-triazole derivatives as antifungal agents. **Letters in Drug Design & Discovery** 7(1), 46-49, 2010.

KUMAR, K. , P. WANG , R. SANCHEZ , E. A SWARTZ , A. F. STEWART e Development of Kinase-Selective, Harmine-Based DYRK1A Inhibitors that Induce Pancreatic Human  $\beta$ -Cell Proliferation **Journal Medical Chemical**. Artigo <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>, 2018.

LAI, B. T. I; LIM, B.T.; LIM, E.C.T.; Photophysical properties of biologically important molecules related to proximity effects: psoralens. **Journal American. Chemical Society**. 104-7631, 1982.

LAKOWICZ, J. R. In Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2<sup>o</sup>.ed., Kluwer Academic/Plenum Publisher, New York, 1999.

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

LIN C. T., A. D. S. MARQUES, F.B.T. PESSINE, W.O.N .GUIMARAES , **Journal Molecule Structure**73, p.159, 1981

LIN, C. T.; MALAK, M.; VANDERKOOOI, G.; MASON,W. R.; Solvent effects on the photophysical properties of dibucaine: A quinoline analogue. **Photochemistry and Photobiology**.1987, 45, 749. 1987.

MANDAL, P. , M. BHATTACHARY, J. CHOWDHURY. Targeting G-quadruplex DNA and B-DNA with a natural alkaloid: a comparative spectroscopic study. **Royal Society of Chemistry Advances**, 2016

MANIASSO, NELSON. Ambientes Micelares em Química Analítica; **Química Nova**, Vol. 24, No. 1, 87-93, 2001

MARQUES A. D. S., G. S. S. MARQUES. Spectroscopic studies of coumarin in micelles. **Photochemistry and Photobiology**. 59 (2), p.153-160, 1994.



MATTHIEU C, H. GLATT, D. ZALKO, J. P. CRAVEDI, M. AUDEBERT. Role of human sulfotransferase 1 A1 and N-acetyltransferase 2 in the metabolic activation of 16 heterocyclic amines and related heterocyclics to genotoxicants in recombinant V79 cells. **Archive Toxicology** 91: 3175-3184.2017.

MANTULIN, W. .W.; SONG, PILL –SOON; Excited states of skin-sensitizing coumarins and psoralens. Spectroscopic studies. **Journal American Chemical Society**. 95, 16, 5122.1973.

MCGLYNN S.P, T. AZUMI, AND M. KINOSHITA, Molecular Spectroscopy of the Triplet State (Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New York, 1969; Mir, Moscow, 1972.

MCCONNELL, H. Effect of Polar Solvents on the Absorption Frequency of  $n \rightarrow \pi$  Electronic Transitions. **The Journal of Chemical Physics** 20. 700, 1952.

MENGER F. M., B.J. BOYER, Water penetration into micelles as determined by optical rotary dispersion **Journal American. Chemical Society** 102, 5936-5938.1980.

MERTZ C.J., C.T. LIN, Solubilization sites and acid-base forms of dibucaine hydrochloride in neutral and charged micellar solutions, **Photochemical Photobiology**. 53, 307-316.1991.

MIRI, R., M. NEJATI, L. SASO, F. KHAKDAN, B. PARSHAD, D. MATHUR, V. S. PARMAR, MARC E. BRACKE4, A. K. PRASAD, S. K. SHARMA, AND O. FIRUZI Structure–activity relationship studies of 4-methylcoumarin derivatives as anticancer agents ; **Pharmaceutical Biology**.; 54(1): 105–110 ,2016.

MORITA T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V.; Manual de Soluções, Reagentes & Solventes, 2ª.edição pg 272-278, **Editora Edgard Blucher Ltda**, São Paulo, 2000.

MOURA, D.J., M.F. RICHTER, J.M. BOEIRA, J.A.P. HENRIQUES, J. SAFFI, Antioxidant properties of -carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities, **Mutagenesis** 22 293–302, 2007.

MORGON, N. H., e CUSTODIO, R. . Teoria do Funcional de Densidade. **Quimica Nova**, p.44-45. 1995.

MUNIR C, ZAIDI MI, AHMAD ATTA-UR-RAHMAN N. An easy rapid metal edited method of isolation of harmine and harmaline from *Peganum harmala*. **Fitoterapia**; 66(1): 73-76, 1995.

MURKERJEE, K. J. MYSELS, critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant Systems NSRDS, **Washington DC**, 1971.

MUTHURAMA K., V. Ramamurthy, **Journal Organic Chemical** 47, p.3976-3979, 1982.

NAGAO M., T. YAHAGI, T.KAWACHI, T. SUGIMURA, T. KOSUGI, K. TSUJI, K. WAKABAYASHI, S. M. ZUSAKI, T. MATSUMOTO, Comutagenic action of norharman and Harman. **Proc. Japan Acad.** 53, 95-98. 1977

NARAYANA G.C., **Journal American. Chemical Society**, 103, p. 3603, 1981.

NISHIGAKI R., Y. TOTSUKA, H. KATAOKA, H. USHIYAMA, S. GOTO, T. AKASU, T. WATANABE, T. SUGIMURA, AND K. WAKABAYASHI . Detection of Aminophenylnorharman, a Possible Endogenous Mutagenic and Carcinogenic Compound, in Human Urine Samples. **Cancer Epidemiology Biomarkers Prev**;16:151-156, 2007 .

OLBA, A., S. MONZÓ, and I. ZABALA. Photophysical Behavior of  $\beta$ -carboline-3-carboxylic acid n-methylamide. **Journal of Fluorescence**. Vol. 8, N<sup>o</sup>. 2, 1998.

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

ORIGINLAB CORPORATION. OriginPro 8SRO, v8.0724 (B720). Copyright@, 1991-2007  
PARR, R. G.; YANG, W. Density-Functional Theory of Atoms and Molecules; Oxford University Press: New York, 1989.

PARSON B.J., **Photochemical and Photobiology** 32 , p.813, 1980.

PATEL K, M GADEWAR, R TRIPATHI, SK PRASAD, D. KUMAR Patel. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid ‘‘Harmine’’ Asian Pacific. **Journal of Tropical Biomedicine** .660-664. 2012.

PATHAK, M. A.; FITZPATRICK, T.B. The evolution of photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA). **Journal Photochemical Photobiology** 14,p3 -22. 1992.

PATIL, A., V. MISHRA, S. THAKUR, B. RIYAZ, A. KAUR, R. KHURSHEED, K. PATEL, B. SATHE. Nanotechnology Derived Nanotools in Biomedical Perspectives: an update. **Nanoscience** Volume 15,137-146, 2019.

PAUL, B. KUMAR P., R., DEBARATI, GUCHHHAIT, NIKHIL. Binding Interaction and Rotational-Relaxation Dynamics of a Cancer Cell Photosensitizer with Various Micellar Assemblies. **The Journal of Physics Chemistry** 116, 9704-9717, 2012.

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

PLATT K.L., Inhibition of mutagenesis of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) by coumarins and furanocoumarins, chromanones and furanochromanones .**Mutation Research** 345 57-71, 1995.

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

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

QUIAN, XING-KAI, PING WANG, YANG-LIU XIA, TONG-YI DOU, QIANG JIN,DAN-DAN WANG, DA-CHENG HAO, XIAO-LIN BIA, GUANG-BO GE, LING YANG. A highly selective fluorescent probe for sensing activities of catechol-O-methyltransferase in complex biological samples. **Sensors and Actuators B** 231 615–623, 2016.

RAJ H.G. , V.S. PARMAR, S.C. JAIN, S. GOEL, POONAM, S. MALHOTRA, A. SINGH, C.E. OLSEN, J. WENGEL, Mechanism of biochemical action of substituted 4-methylbenzopyran- 2-ones. Part I: dioxygenated 4-methylcoumarins as superb antioxidant and radical scavenging agents, **Bioorganic Medicinal Chemistry**. 6 833 e 839, 1998.

REIS, A. H., A. dos S. MARQUES, Y. TAKAHATA. Espectros Teóricos de Absorção UV/Visível da Noharmana, Anilina e Aminofenilnorharmana em três solventes diferentes: Vácuo, Etanol e Água. **Scientia Amazônia**, V.3, n.1, 41-52. 2014.

RÉUS GZ, STRINGARI RB, DE SOUZA B, PETRONILHO F, DAL-PIZZOL F, HALLAK JE, et Al., Harmine and imipramine promote antioxidant activities in prefrontal cortex and hippocampus. **Oxidative Medicine Cellular Longevity** 2010; 3(5): 325-331, 2010.

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

SAYED , K EI, D. M. BARNHART, H. L. AMMON, G. M.WASSEL, **Acta Crystallographic**. C42(1986) 1383-1385, 1986.

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

STEED, J. W. e ATWOOD, J.L. .Supramolecular Chemistry. **John Wiley & Sons**, Ltda, 2009.

SHIH, JC, CHEN, K, RIDD, M. L., Monoamine oxidase: from genes to behavior **Annual Review of Neuroscience** 22, 191-217, 1999.

SIBBING, D., BECKERATH, N. V., MORATH, T., STEGHERR, J. STEGHERR, MEHILI, N. S. , BRAUN, S. SCHULZ, S. SCHOMIG, A., KASTRATI, Oral anticoagulation with coumarin derivatives and antiplatelet effects of clopidogret, **Oxford Journals 2010 European Heart Journal** 31, 1205–1211 , 2010.

SKOG KI, JOHANSSON MA, JAGERSTAD MI Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: a review on formation, occurrence and intake. **Food Chemical Toxicologic** 36 (9-10): 879-896.1998.

SOBHANI, A. M., S.-A. EBRAHIMI, M. MAHMOUDIAN . An In Vitro Evaluation of Human DNA Topoisomerase I Inhibition by Peganum harmala L. Seeds Extract and Its  $\beta$ -Carboline Alkaloids. **Journal Pharmaceutic Scientific** (www.ualberta.ca/~csps) 5(1):19-23, 2002 18 Received September 13, 2001, Revised January 22, 2002, Accepted March 8, 2002.

SONG P. -S., W. H. GORDON III, **Journal Physics Chemical** 74 (24) ,. P4234-4240,1970.

SONG Y., D. KESUMA, J. WANG, Y. DENG, J. DUAN, J.H. WANG, R.Z. Qi, Specific inhibition of cyclin-dependent kinases and cell proliferation by harmine, **Biochemical and Biophysical Research Communications** 317 128–132, 2004.

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

SPARTAN, P. (s.d.). **Pro version 2016 Wave function**. USA. 2016.

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. **Journal Physics Chemical** 98: 11623-11627, 1994.

SU, T. P. When the endogenous hallucinogenic trace amine dimethyltryptamine meets the sigma-1-receptor. **Science Signaling**, v.2, p.1-4, 2009.

TAKAHATA, Y e CHONG, D.P., DFT calculation of core– and valence–shell electron excitation and ionization energies of 2,1,3-benzothiadiazole C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SN<sub>2</sub>, 1,3,2,4-benzodithiadiazine C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>S<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, and 1,3,5,2,4-benzotrithiadiazepine C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>S<sub>3</sub>N<sub>2</sub>, **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, v.185, pp475-485, 2012.

TOTSUKA Y., et al. Mutagens formed from  $\beta$ -carbolines with aromatic amines. **Journal Chromatography B** 802(1), (2004), 135-141, 2004.

TOTSUKA Y., USHIYAMA,H., ISHIHARA,J., SINHA,R., GOTO,S., SUGIMURA,T. AND WAKABAYASHI,K. (1999) Quantification of the co-mutagenic b-carbolines, norharman and harman, in cigarette smoke condensates and cooked food. *Cancer Lett.*, 143, 139–143, 1999.

TOTSUKA Y., Structural determination of a mutagenic aminophenylnorharman produced by the co-mutagen norharman with aniline, **Carcinogenesis**, 19(11) , 1995-2000, 1998.

TOTSUKA Y., T. TAKAMURA-ENYA, N. KAWAHARA, R. NISHIGAKI, T. SUGIMURA, K. WAKABAYASHI, Structure of DNA adduct formed with aminophenylnorharman, being responsible for the comutagenic action of norharman with aniline **Chemical Research. Toxicol.** 15, 1288 – 1294,2002.

TOTSUKA Y.. In vitro and in vivo formation od aminophenylnorharman from norharman and aniline, **Mutation Research/ Fund. And Mol. Mechanism of Mutagensis**, 506-507, 49-54, 2002.

TURESKY RJ, L. MARCHAND L. Metabolism and biomarkers of heterocyclic aromatic amines in molecular epidemiology studies lessons learned from aromatic amines. **Chemical Research. Toxicol** 24(8): 1169-1214.2011.

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

VARELA, ANA P., H. D. BURROWS, P. DOUGLAS, M. DA G. MIGUEL. Triplet state studies of  $\beta$  carbolines. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**. Volume 146, pages 29-36, 2001

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

VIBERG P, WAHLUND KG, SKOG K. On-line capilar based quantitative analysis of a heterocyclic amine in humane urine. **Journal Chromatografic A**; 1133 (1-2); 347-52. 2006.

VILAR S, QUEZADA. E, SANTANA L, URIARTE E., YANEZ M., FRAIZ N., ALCAIDE C., CANO E., ORALLO F. Design, sysnthesis and vasorelaxant and platelet antiaggregatory activities of coumarin-resveratrol hybrids. **Bioorganic MedicinL Chemical Letters** 16:257 – 261, 2006.

WANG C., C. JIANG, H. ZENG , X. HE1 . Novel mechanism of harmaline on inducing G2/M cell cycle arrest and apoptosis by up-regulating Fas/ FasL in SGC-7901 cells, **Scientific Reports** | 5:18613 | DOI: 10.1038/srep18613 1 , 2015.

WANG, K. P., S. XU, Y. LEI, WEN-JUN ZHENG, QI Z., S. CHEN, HAI-YU HU, ZHI – QIANG HU. A Coumarin –based dual optical probe for homocysteine with rapid response time, high sensivity and selectivity. **Talanta** 196, 243-248, 2019

WANG, YIHAI; CHUNHUA WANG, CHENGUANG JIANG, HONG ZENG & XIANGJIU HE1 Novel mechanism of harmaline on inducing G2/M cell cycle arrest and apoptosis by up-regulating Fas/ FasL in SGC-7901 cells, **Scientific Reports** | 5:18613 | DOI: 10.1038/srep18613 1, 2015.

WAYNE, R.P. **Principle and Applications of Photochemistry**. Oxford Univ. Press;Oxford, 1988.

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

XIA, YAN, YA-MENG QI , XI-HUI YU ,BIN-FENG WANG , RI-HUI CAO , DING-XIN JIANG Nematicidal effect against Bursaphelenchus xylophilus of harmine quaternary ammonium derivatives, inhibitory activity and molecular docking studies on acetylcholinesterase ; **European Journal Plant Pathol**. 2018.

YOUDIM, M. B.; Riederer, P. F. A review of the mechanisms and role of monoamine oxidase inhibitors in Parkinson's disease. **Neurology**, 63(7 Suppl 2), S32-35. 2004.