



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**ESTIMATIVA DOS pK_a DA RUTINA EMPREGANDO MODELOS SEMI-
EMPÍRICOS DE CÁLCULO MECÂNICO-QUÂNTICO**

Jander Silva Euqeres

**Uberlândia – MG
2009**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESTIMATIVA DOS pK_a DA RUTINA EMPREGANDO MODELOS SEMI-
EMPÍRICOS DE CÁLCULO MECÂNICO-QUÂNTICO**

Jander Silva Euqueres

Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo da Hora Machado

Co-Orientador: Prof. Dr. Leonardo Tsuyoshi Ueno

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Química como parte dos requisitos para
obtenção do título de MESTRE EM
QUÍMICA.

Uberlândia – MG
2009

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, Clésio Euqueres e Maria de Fátima, pela vida e pelo apoio.

À minha noiva Mariany, pela dedicação, apoio e força.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, pela oportunidade e preparação de estar findando mais uma etapa de minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antonio Eduardo da Hora Machado, pela orientação, apoio, atenção e paciência.

Ao Prof. Dr. Leonardo Tsuyoshi Ueno, pelos ensinamentos tanto na disciplina de Química Computacional cursada no Mestrado, quanto mesmo após sua conclusão.

À Prof^a Dr^a Laura Tiemi Okano, do Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, cuja colaboração tornou possível este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Fotoquímica, que fazem do ambiente de pesquisa um lugar único e especial.

À Fundação CAPES, CNPq e FAPEMIG, pelo suporte financeiro às pesquisas desenvolvidas no Laboratório de Fotoquímica.

Resumo

Neste trabalho, propriedades moleculares e termodinâmicas da molécula da rutina na fase gasosa e em meio aquoso, com a inserção de moléculas discretas de água em posições específicas, foram estudadas por meios de cálculos mecânico quânticos, utilizando especificamente como ferramenta os métodos semi-empíricos AM1 e o PM6 para o cálculo teórico do pK_a . A inserção de moléculas discretas de água visou uma melhor descrição da interação soluto-solvente com o mínimo de demanda computacional.

Os resultados permitem concluir que os valores teóricos comparados com os resultados experimentais obtiveram um relativo sucesso com a utilização do modelo de solvatação Cosmo, com a inserção de moléculas discretas de água. Essa metodologia apresenta um investimento computacional relativamente baixo com relações matemáticas mais simplificadas, além de não utilizar equações de correção para o cálculo do pK_a . Este trabalho apresentou em alguns casos resultados equiparados aos apresentados na literatura com cálculos ab-initio, com erros de 0,53 unidades de pK_a (Pliego, 2003). O método semi-empírico PM6 foi que apresentou um desempenho com índice mais satisfatório, chegando a apresentar um erro de 0,63 unidades de pK_a para o cálculo do pK_{a1} , e 0,76 unidades de pK_a para o cálculo do pK_{a2} .

Palavras-Chave: Rutina, cálculos mecânico-quânticos, métodos semi-empíricos, estimativa do pK_a e de propriedades termodinâmicas, modelos de solvatação, COSMO.

Abstract

In this study, molecular and thermodynamic properties of rutin molecule in the gas phase and in water, with the inclusion of discrete water molecules in specific locations, were studied by means of quantum mechanical calculations, using a tool specifically the semi-empirical methods AM1 and PM6 for the theoretical calculation of pKa. The inclusion of discrete molecules of water aimed a better description of solute-solvent interaction with minimal computational requirements.

The results suggest that the theoretical values compared with the experimental results obtained a relative success using the Cosmo solvation model, with insertion of discrete water molecules. This methodology provided a relatively low computational investment with more simplified mathematical relationships, and did not use correction equations for the calculation of pKa. This work presented in some cases results similar to those presented in the literature with ab-initio calculations, with errors of 0.53 units of PKA (Pliego, 2003). The semi-empirical method PM6 was the more satisfactory, reaching an error of 0.63 pKa units for the calculation of pK_{a1} and 0.76 pKa units for pK_{a2} .

Keywords: Rutin, quantum-mechanical calculations, semiempirical methods, estimation of pKa and thermodynamic properties, models of solvation, COSMO.

ÍNDICE

Seção.....	Pág.
Agradecimento.....	03
Resumo.....	04
Abstract.....	05
Índice de figuras e esquemas.....	07
Índice de tabelas.....	09
Abreviações.....	10
Capítulo 1. INTRODUÇÃO.....	11
Os Flavonóides.....	11
1.1.1- Os Flavonóis.....	16
1.2- Rutina.....	17
1.2.1- Aspectos Gerais.....	17
1.2.2- Formas de Obtenção da Rutina.....	18
1.2.3 - Aspectos farmacológicos.....	23
1.3 - Fundamentações teóricas.....	26
1.3.1 - Métodos Semi-Empíricos.....	28
1.3.2 - Detalhamento dos métodos Semi-Empíricos.....	29
1.3.3 - Conjunto de bases.....	36
1.3.4 - Propriedades de Líquidos.....	37
Capítulo 2. Objetivo geral.....	40
Capítulo 3. Seção experimental.....	41
3.1 - Procedimento experimental.....	42
Capítulo 4. Resultados e discussão.....	47
Capítulo 5. Conclusões.....	63
Capítulo 6. Referências bibliográficas.....	65
Capítulo 7. Apêndices.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS E ESQUEMAS

Figura 1. Estruturas químicas das subclasses que compõem os flavonóides..	12
Figura 2. Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração	14
Figura 3. Regiões estruturais dos flavonóides com uma alta atividade de seqüestro de radicais livres	16
Figura 4. Fórmula estrutural da rutina	17
Figura 5. Faveiro (<i>Dimorphandra mollis Benth.</i>) – Árvore nativa do Brasil e fonte de rutina em grandes quantidades	18
Figura 6. Via Shiquimato-via de conversão aromática dos compostos fenólicos	20
Figura 7. Processo de formação dos flavonóides.....	21
Figura 8. Formação da rutina a partir da quercetina – pertencente à subclasse dos flavonóides	22
Figura 9. Estrutura química da succinil rutina.....	24
Figura 10. Estrutura química da ftaloil rutina	25
Figura 11. Estrutura química da fenil-glutaroil rutina	25
Figura 12. Estrutura da rutina representando as posições de ionização prótica	41
Figura 13. Estrutura otimizada para a rutina, empregando o método AM1	47
Figura 14. Rutina neutra otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água	52
Figura 15. Rutina com carga -1 otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água.....	53
Figura 16. Rutina com carga -2 otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água.....	54

Figura 17. Rutina com carga -3 otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água.....	55
Figura 18. Rutina com carga -4 otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água.....	56
Esquema 1. Ciclo termodinâmico para o cálculo de parâmetros termodinâmicos para a rotina	44

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Principais sub-classes dos flavonóides	13
Tabela 2. Característica da rutina para desenvolvimento de formulações farmacêuticas	24
Tabela 3. Valores de ângulo de ligação para a rutina na fase gás vs. valores experimentais (Tomita, 1990).....	48
Tabela 4. Valores de ângulo de ligação para a rutina na fase gás vs. valores experimentais (Tomita, 1990).....	49
Tabela 5. Ângulo de torção nível teórico comparado com o experimental	51
Tabela 6. Energia Livre de Gibbs (ΔG) para a rutina, a partir de cálculos feitos com o método semi-empírico AM1 (AMPAC).....	57
Tabela 7. Energia Livre de Gibbs (ΔG) para a rutina, a partir de cálculos feitos com o método semi-empírico PM6 (MOPAC)	58
Tabela 8. Valores das distâncias e ângulos de ligação na fase gás vs. valores experimentais (Liu, 1986)	59
Tabela 9. Valores de pK_{as} calculados vs. valores experimentais	60
Tabela 10. Erros relativos dos valores calculados com relação aos valores experimentais	61

ABREVIações

AM1, *Austin Model 1*;

CLAE, Cromatografia líquida de alta eficiência;

COSMO, *Conductor-like Screening Model*;

DFT, teoria do funcional da densidade;

AVC, derrame cardiovascular;

E_{total}, auto-valor associado ao Hamiltoniano;

H, hamiltoniano do sistema;

Ĥ, operador hamiltoniano;

HDL, lipoproteínas de alta densidade;

HF, Hartree-Fock;

HMO, método de Hückel;

IPCM, *Isodensity Polarizable Continuum Model*;

LDL, lipoproteínas de baixa densidade;

NDDO, *Neglect of Diatomic Differential Overlap*;

PCM, *Polarizable Continuum Model*;

PM, *Parametric Model*;

PPP, método de Pariser-Parr-Pople;

PVP ou PV Produtos Vegetais;

RHF, Hartree-Fock Restrito;

SCIPCM, *Self-Consistent ou isodensity Polarizable Continuum Model*;

STO, *Slater-type orbital*;

TBAH, hidróxido tetrabutilamônio;

UHF, Hartree-Fock Não-restrito;

UV, ultravioleta;

Ψ, função de onda.

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

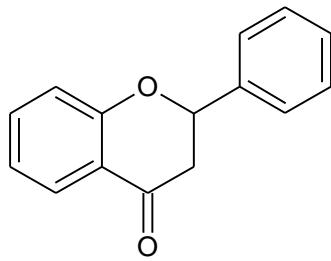
1.1. Os Flavonóides

Flavonóide é o nome dado a um grupo de fitonutrientes, ou fitoquímicos (compostos encontrados em vegetais que têm efeito benéfico na saúde ou um papel ativo na melhora do estado de indivíduos com enfermidades), derivados de uma classe de polifenóis de baixa massa molecular, presentes em diversos vegetais (Simões *et al.*, 2000). São os principais corantes naturais, aromatizantes, flavorizantes, além de possuírem ação terapêutica antiinflamatória (PATHAK *et al.*, 1991) e antioxidantes (RICE-EVANS *et al.*, 1995), encontrando-se nas formas hidro e lipossolúveis, estando em seu estado livre (sem a presença da ligação com açúcares) ou na forma glicosídica (TREASE; EVANS, 1996; YAO *et al.*, 2004; ACKER *et al.*, 1996).

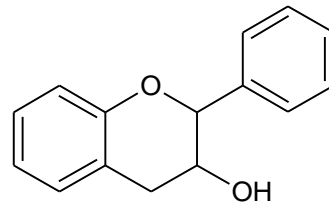
São encontrados em grande quantidade na natureza, em sementes, frutas e com grande abundância nas famílias *Leguminosae* e *Compositae* (Martins *et al.*, 2000). Mais de cinco mil flavonóides têm sido identificados na natureza, sendo classificados a partir de sua estrutura química. São subdivididos em seis grupos:

- Flavanas;
- Flavononas;
- Flavonóis;
- Flavonas;
- Isoflavonas;
- Antocianinas.

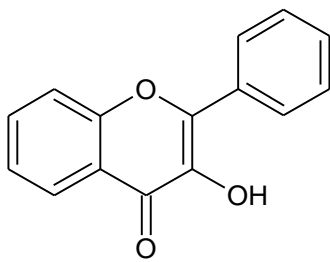
Dessas subclasses as moléculas mais importantes estão descritas na **Figura 1 e Tabela 1**.



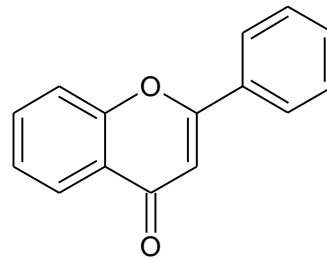
Flavanona



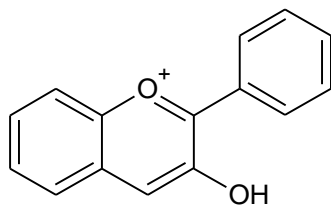
Flavanol



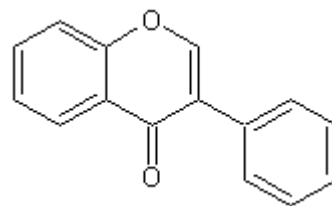
Flavona



Flavonol



Antocianidina



Isoflavona

Figura 1. Estruturas químicas das subclasses que compõem os flavonóides (RICE-EVANS et al., 1995; HOLLMAN et al., 1996; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002) .

Tabela 1. Principais sub-classes dos flavonóides

Sub-classe	Cor	Flavonóide representativos	Fontes alimentares
Antocianidina	Azul, vermelho, violeta	Cianidina	Frutas e flores
Flavanol	Incolor	Catequinas, epicatequinas	Maçãs, chá, cerveja
	Amarelo	Procianidina	Sucos de frutas, vinho
Flavanona	Incolor, amarelo	Hespiridina, naringenina	Frutas cítricas
Flavona	Amarelo claro	Apigenina, luteolina	Cereais, frutas, flores, vegetais
Flavonol	Amarelo claro	Quercetina, miricetina, rutina	Cebola, maçã, tomate, vinho tinto, trigo sarraceno, chá
Isoflavona	Incolor	Genisteína, daizeína	Legumes (derivados de soja)

Essa classe de substâncias naturais apresenta atividade anti-inflamatória e anti-oxidante, além de efeitos vasodilatadores, anti-alérgicos, anti-virais, anti-bactericidas, estimulantes do sistema imunológico (MIDDLETON; KANDASWAMI, 1992), anti-carcinogênicas e cardioprotetoras (PATHAK et al., 1991; HOLLMAN et al., 1996; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002).

A natureza química e atividade bioquímica dos flavonóides depende de sua classe estrutural, grau de hidroxilação, outras substituições e conjugações, assim como do grau de polimerização (TREASE; EVANS, 1996; SHAHIDI, 1997).

Embora sejam encontrados em diversas formas estruturais, em alguns casos os flavonóides possui 15 átomos de carbono em seu núcleo

fundamental, constituído de dois grupos fenila ligados por uma cadeia de três carbonos entre elas.

Em grande parte dos flavonóides encontrados na natureza, em sua estrutura forma tricíclica, os átomos de carbono dos núcleos A, B e C recebem a numeração ordinária para os núcleos A e C e os mesmos números seguidos de uma linha (') para o núcleo B (**Figura 2.**) (Simões ET AL. 2000).

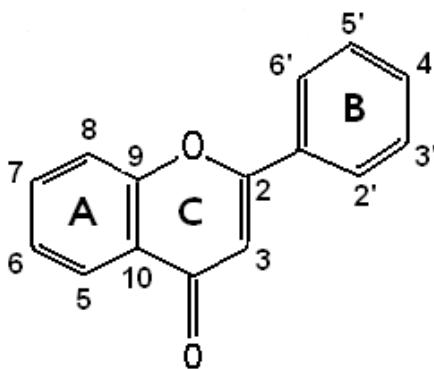


Figura 2. Núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração (Fonte: Simões ET AL., 2000).

As primeiras atividades dos flavonóides foram observadas em 1936, por S. Rusznyák e Albert Szent-Györgyi, que trabalharam com uma mistura de duas flavononas, tendo como resultado final de suas experiências a diminuição da fragilidade capilar e a permeabilidade capilar em humanos (RUSZNYÁK; SZENT-GYÖRGYI, 1936). Durante anos, os flavonóides foram denominados pela comunidade científica de vitamina P. Contudo, o termo vitamina P foi abandonado porque estes flavonóides, em última instância, não correspondem à definição de uma vitamina (RUSZNYÁK; SZENT-GYÖRGYI, 1936; HOLLMAN et al., 1996; BORS et al., 1990).

Outro fato notório é a relação com a proteção das plantas. Os flavonóides podem agir contra danos causados pela radiação UV (ultravioleta) em folhas jovens, como antioxidantes, como inibidores enzimáticos, e promovendo a resistência das plantas a patógenos, fungos, insetos e bactérias (HARBORNE, 1988; BANTHORPE; HARBONE, 1994).

Na natureza, os flavonóides são encontrados com coloração amarela, vermelha e azul, sendo por isso responsáveis pela cor das flores, frutas e folhas. Quando não diretamente visível, a sua contribuição em relação à cor se

dá através da co-pigmentação de flavonóis, tendo assim, uma função de proteção, como no caso das antocianinas. Em alguns casos, as moléculas absorvem radiação no UV próximo, onde esta “cor” só é percebida pelos insetos, que são atraídos e guiados ao néctar (BROUILLARD et al., 1989; HARBORNE, 1988; SHAHIDI, 1997).

Outra importância dos flavonóides em plantas se estende também à marcação taxonômica, devido à sua abundância relativa em quase todo o reino vegetal, e especificidade em algumas espécies, apesar do seu acúmulo com menor influência do meio ambiente e uma relativa facilidade de identificação e estabilidade (BRUNETON, 1999; BANTHORPE; HARBONE, 1994; SHAHIDI, 1997).

Estudos realizados com flavonóides mostram propriedades em relação à quimio-prevenção do câncer, atuando na inibição em fases do ciclo celular, proliferação celular, estresse oxidativo, indução na desintoxicação das enzimas, apoptose e ativação do sistema imunológico, assim como uma função protetora das doenças do coração, agindo sobre a oxidação de LDL para a formação aterogênica através da diminuição da adesão e agregação de plaquetas e propriedades vasodilatadoras (YAO et al., 2004; MARTÍNÉZ-FLÓREZ et al., 2002). Essas características estão relacionadas ao seqüestro de radicais livres, que se dá pela rápida doação de um átomo de hidrogênio aos radicais, a qual depende da sua estrutura molecular (o número e localização das hidroxilas fenólicas são fatores importantes para essa eficácia), da possibilidade de estabilização dos radicais fenóxi formados, ou o tipo de substituição feitas nos grupos hidroxila (AMIC et al., 2003).

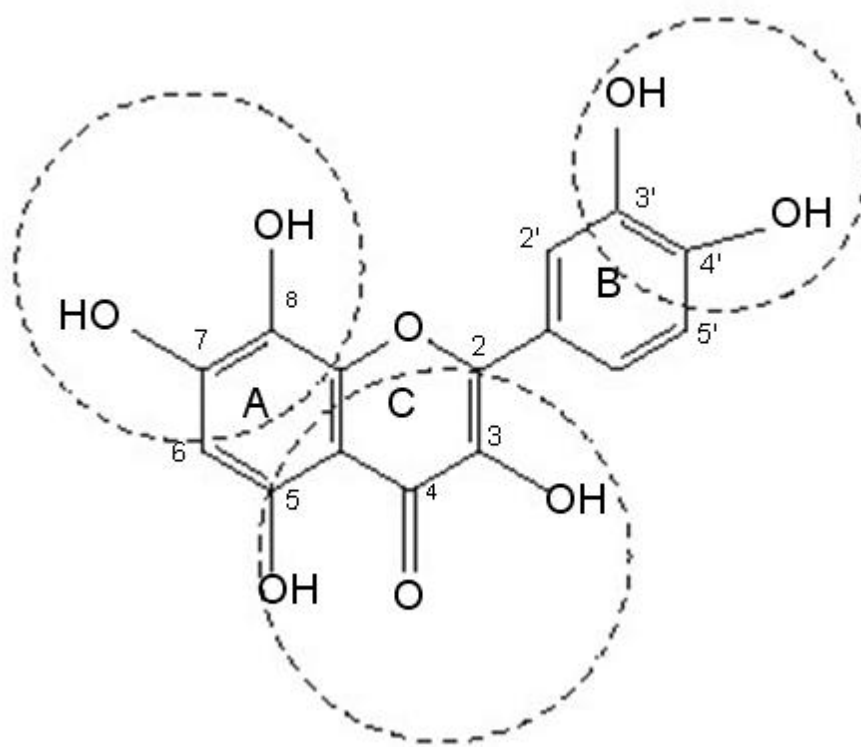


Figura 3. - Regiões estruturais dos flavonóides com uma alta atividade de seqüestro de radicais livres (AMIC et al., 2003).

1.1.1- Os Flavonóis

Os flavonóis se encontram classificados dentro da classe dos flavonóides, flavonas cuja posição C-3 foi substituída por uma hidroxila. São derivados da 3-hidróxi-2-fenilcromona (Simões *et al.*, 2000) .

São encontrados na natureza em cores que variam do branco ao amarelo. Eles são freqüentemente oxigenados, sendo substituídos por grupos hidroxilas, metoxilas, acila, C-metila, metileno, dioxila, isopreno, pirano, furano e seus derivados clorados. A maioria dos flavonóis se encontra com um ou mais açúcares ligados ao grupo hidroxila por uma ligação hemiacetal, que é facilmente destruída por hidrólise ácida. (Simões *et al.*, 2000).

Os açúcares presentes são:

- Pentoses : D-apiose, L-arabinose, L-ramnose e D-xilose;
- Hexoses: D-alose, D-galactose e D-glicose;

- Ácidos: D-galacturônico e D-glicurônico.

1.2. Rutina

1.2.1- Aspectos Gerais

A rutina é um bioflavonóide pertencente ao sub-grupo dos flavonois. Tem sido intensamente pesquisada e os seus resultados estão interessando constantemente as indústrias farmacêuticas.

Os relatos mais antigos sobre a rutina (*Ruta graveolens* L) referem-se a uma espécie originária da Europa meridional, cultivada em jardins e empregada como aromatizantes e planta medicinal (Costa, 1978). O primeiro produto de sua extração continha um óleo essencial venenoso, um glicosídeo anti-séptico com princípios amargos e taninos (Costa, 1978). No entanto, encontra-se amplamente distribuída no reino vegetal, sendo conhecida em pelo menos 34 famílias e 77 espécies vegetais (Griffith *et al.* 1955).

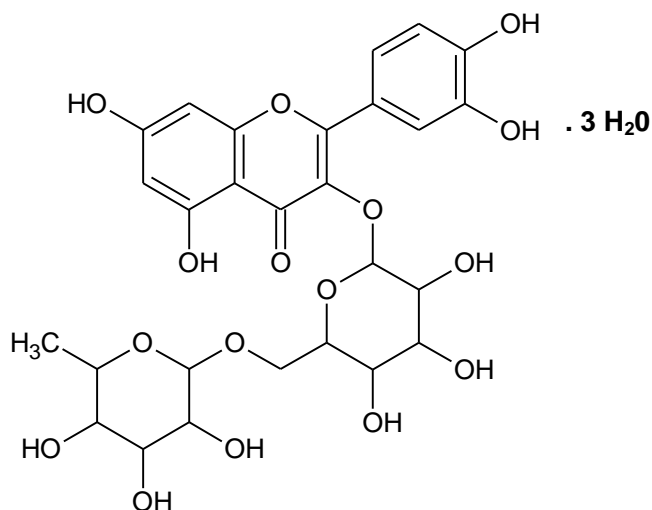


Figura 4 - Fórmula estrutural da rutina (Fonte: Ferreira, 2004).

A rutina pode ser isolada na forma de pó, amarelo-esverdeado, insípido e inodoro (Farmacopéia Brasileira, 1977). Apresenta-se de formas diferentes quando cristalizada. Por exemplo, em extratos aquosos tende a se arranjar em forma de leque, em água destilada, em forma de agulhas isoladas, e em etanol

e metanol anidro com três moléculas de solvente em forma de pratos fusiformes (Griffith *et al.*, 1955).

É muito solúvel em cloreto cúprico e solvente a quente, como o metanol, etanol, *n*-butanol, glicerol, os glicóis, 1-4 dioxano, piridina e morfolina. É moderadamente solúvel em acetona, propanol e ácido acético glacial, sendo insolúvel em cloreto de cobalto, cloreto de manganês, sulfato cúprico e nos hidrocarbonetos clorados, nitroparafinas e éteres (Griffith *et al.*, 1955).

1.2.2- Formas de Obtenção da Rutina

A rutina se encontra relativamente bem distribuídas nos vegetais, mas somente um pequeno número dessas fontes contém quantidades suficientes para a extração em escala industrial (OOMAH; MAZZA,1996). As fontes alimentares que contém a rutina incluem as cebolas, a uva, o trigo sarraceno e também bebidas como o vinho tinto, dentre outras fontes (THOMSON; BLOCH; HASLER, 1999; HOLLMAN; HERTOOG; KATAN, 1996; COUCH; NAGHSKI; KREWSON, 1946; OOMAH; MAZZA, 1996; HARBORNE, 1988; CHAVES; USBERTI, 2003).



Figura 5. Faveiro (*Dimorphandra mollis* Benth.) – Árvore nativa do Brasil e fonte de rutina em grandes quantidades (CHAVES; USBERTI, 2003).

No Brasil, a rutina extraída da fava d'anta (*Dimorphandra mollis*) desponta como uma das mais promissoras no combate ao envelhecimento e às doenças degenerativas. Descoberta em 1936, pelo bioquímico húngaro Albert

Szent-Györgyi, a planta é encontrada somente no Brasil, especialmente na região Nordeste. **Fonte:** (Iracema Sales da Editoria de Reportagem, COPYRIGHT1998 Diário do Nordeste).

A rutina é comercializada no exterior e empregada na fabricação de vários medicamentos, justamente pela sua capacidade de aumentar a absorção da vitamina C. Também é utilizada na cosmética, porque protege a pele contra a ação dos radicais livres, podendo ser associada a outros produtos. Segundo Afrânio Craveiro, sua ação é diferente da castanha da Índia, utilizado em medicamentos para combater varizes e hemorróidas. **Fonte:** (Iracema Sales Da Editoria de Reportagem, COPYRIGHT1998 Diário do Nordeste).

No Brasil, há um projeto pioneiro de aproveitamento da rutina (colheita e beneficiamento da fava), realizado no Ceará. Antes, as favas eram exportadas para serem processadas em outros estados ou no exterior. O Brasil detém a maior reserva da árvore fava d'anta do mundo e produz 1.300 toneladas de rutina por ano. Este número representa 62% do mercado mundial. Três empresas - a nacional Sanrisil, Goiás (produz rutina para laboratórios franceses); os Produtos Vegetais (PVP), no Piauí; e a multinacional alemã Merck, no Maranhão - detém a produção nacional. **Fonte:** (Iracema Sales Da Editoria de Reportagem, COPYRIGHT1998 Diário do Nordeste).

A origem biosintética da rutina nos vegetais realiza-se a partir da combinação das duas principais vias de conversão aromática dos compostos fenólicos:

- Via Shiquimato (**Figura 6. (a)**) – conversão de monossacarídeos em aminoácidos aromáticos, primeiramente transformando-se em ácido prefênico (**Figura 6. (b)**). Em seguida, ocorre a conversão em fenilalanina (**Figura 7. (a)**) no caso dos flavonóides, e por desaminação em ácido cinâmico (**Figura 7. (b)**) (LEHINGER; NELSON; COX, 1995) ;

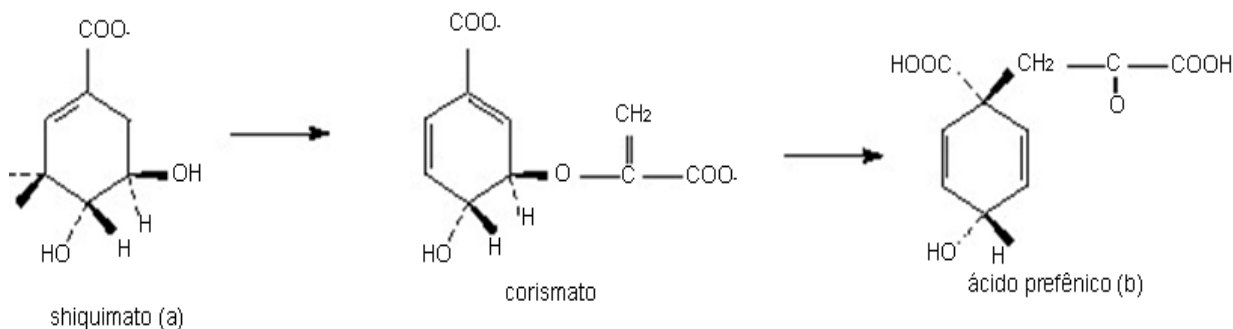


Figura 6 - Via Shiquimato- via de conversão aromática dos compostos fenólicos

- Via acetato- inicia-se com acetato e transforma-se por ciclização (**Figura 7. (b)**) – condensação aldólica ou Claisen, em poli- β -cetoésteres de tamanhos variados (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995).

O mecanismo de um dos processos de alongação do composto fenilpropanóico (ácido cinâmico – **Figura 7. (c)**) ocorre neste convertendo-se em um éster de coenzima A e juntando-se a três unidades de malonil-coenzima A (**Figura 7. (b)**), formando os flavonóides, um grupo principal que apresenta 15 átomos de carbono na sua estrutura, onde há 2 anéis benzênicos ligados a uma cadeia de 3 carbonos (Ar-C3-Ar): 1,3-diarilpropano, como mostrado na **Figura 7. (d)** (KHALIFA; MUHTADI; HASSAN, 1983; YAO et al., 2004; LEHINGER; NELSON; COX, 1995).

A classificação dos flavonóides dependerá do grau de oxidação do anel pirano central (unidade C3). No caso dos flavonóis, há uma hidroxila ligada na posição 3 deste anel (**Figura 8. (a)**). A quercetina (**Figura 8 (b)**) é a molécula pelo qual a rutina é derivada (**Figura 8(c)**). (BRUNETON, 1999; KHALIFA; MUHTADI; HASSAN, 1983; LEHINGER; NELSON; COX,1995).

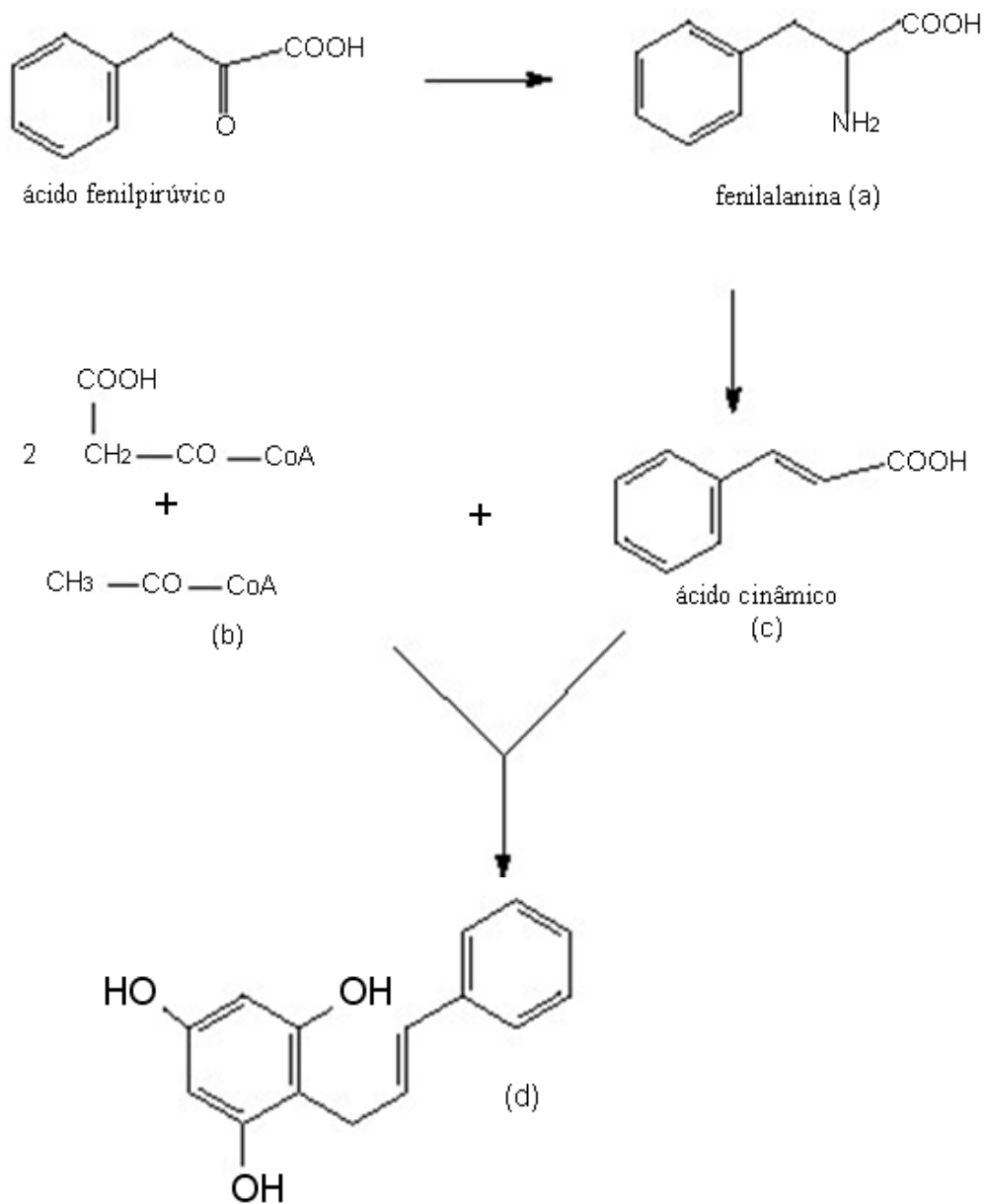


Figura 7. Processo de formação dos flavonóides (BRUNETON, 1999; KHALIFA; MUHTADI; HASSAN, 1983; LEHINGER; NELSON; COX,1995).

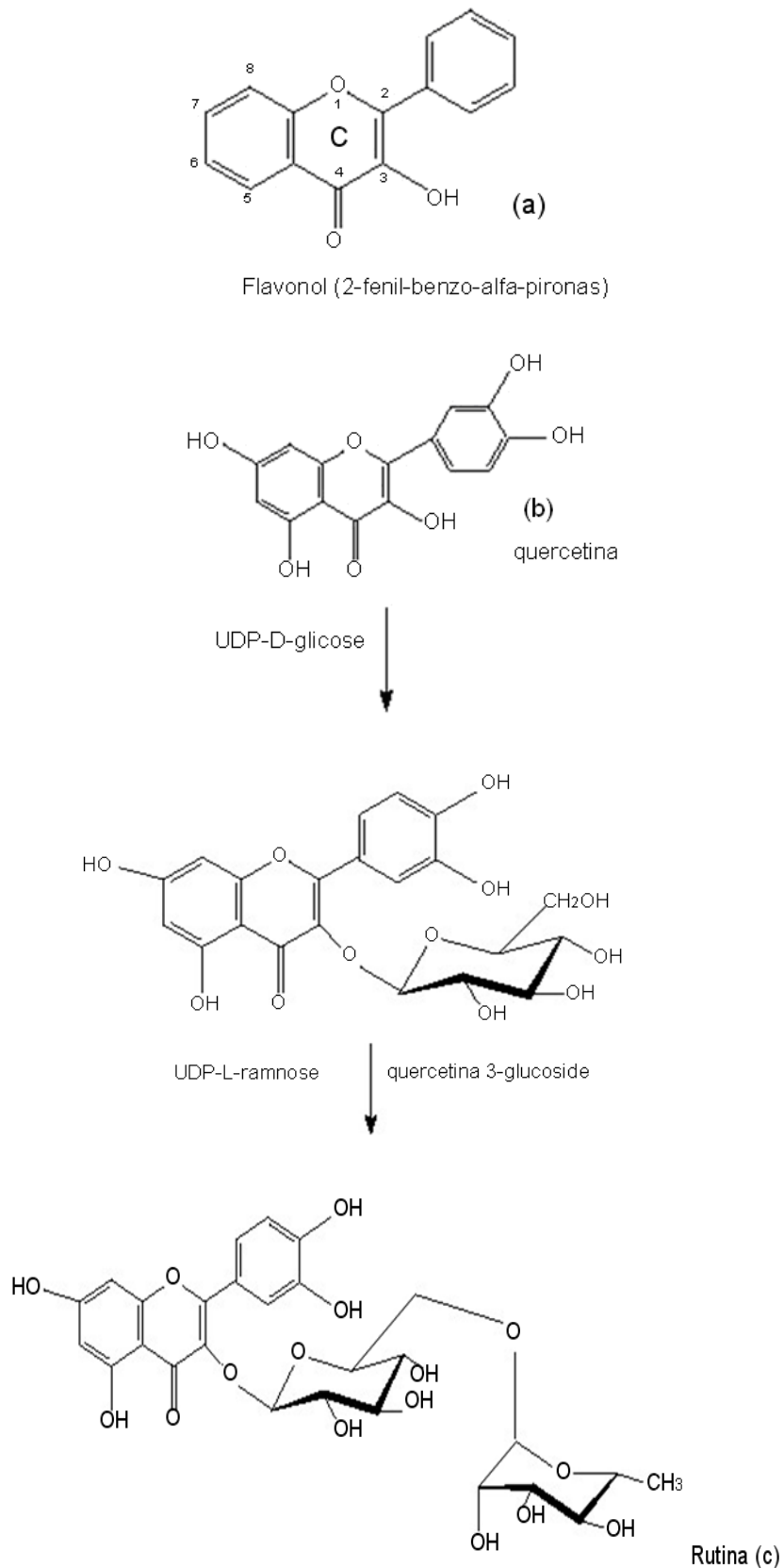


Figura 8. Formação da rutina a partir da quercetina – pertencentes à sub-classe dos flavonóides (BRUNETON, 1999; KHALIFA; MUHTADI; HASSAN, 1983; LEHINGER; NELSON; COX, 1995).

1.2.3 – Aspectos farmacológicos

A aplicação farmacológica para rutina foi descoberta por Weiss em 1842, a partir das folhas de arruda (*Ruta graveolens*) (Griffith *et al.*, 1955) e tem despontado como uma fonte promissora ao combate e a prevenção de doenças.

A rutina tem aplicação na redução nos sintomas de insuficiência dos vasos linfáticos e venosos associados a algumas doenças hemorrágicas ou de hipertensão, tem ação “impermeabilizante capilar”, semelhante à vitamina P e isso é devido à inibição da hialuronidase. Tal ação impediria a passagem de proteínas que contribuiriam para a formação do edema, assim promovendo a normalização da resistência e permeabilidade da parede destes vasos. (Araújo, 2003).

Outra ação da rutina foi observada como sendo um inibidor não competitivo da angiotensina II e prostaglandina E2, agindo também na atividade de relaxamento do músculo liso, podendo ser estas as razões da melhora da permeabilidade capilar produzida pela rutina (Yildizoglu 1991).

As atividades antioxidantes da rutina e da quercetina têm uma ação terapêutica em patologias que envolvem radicais livres, e não são tóxicos, em especial a rutina. Podem inibir o processo de formação de radicais livres em vários estágios, por reagirem com o íon superóxido e radicais peróxilas lipídicos, e por formarem um complexo com o ferro, que é um catalisador da formação de radicais de oxigênio ativo (PATHAK, 1991; YOKOZAWA *et al.*, 1997).

A rutina também atua na enzima antioxidante superóxido dismutase, promovendo um aumento do colesterol HDL sérico e diminuindo os fatores de risco para a arteriosclerose e DCV (Rodrigues *et al.*, 2003).

Algumas características da rutina são apresentadas na para desenvolvimento de formulações farmacêuticas são apresentadas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Característica da rutina para desenvolvimento de formulações farmacêuticas

Característica	Valor (%)
Perda por dessecação	5.0 a 8.5
Cinzas sulfatadas	0.1 (Max)
Clorofila	0.004 (Max)
Pigmentos vermelhos	0.004 (Max)
Quercetina (CLAE)	2.0 (Max)
Isoquercetina (CLAE)	2.0 (Max)
Canferol-3-rutinosídeo (CLAE)	2.0 (Max)
Teor (TBAH)	98.5 a 102.0
Metais pesados	0.001

A rutina (**Figura 4**) é encontrada em diversas formas no mercado farmacêutico mundial a partir, por exemplo, da síntese de conversão dos grupos hidroxilas do dissacarídeo da molécula de rutina a grupos ésteres, através de uma modificação introduzindo grupos carboxilatos provenientes de um excesso de anidrido succínico (**Figura 9**), ftálico (**Figura 10**) e 2-fenilglutárico (**Figura 11**), respectivamente, e utilizando uma base fraca como a piridina a 70 °C, sem promover modificações significativas no núcleo flavonóide

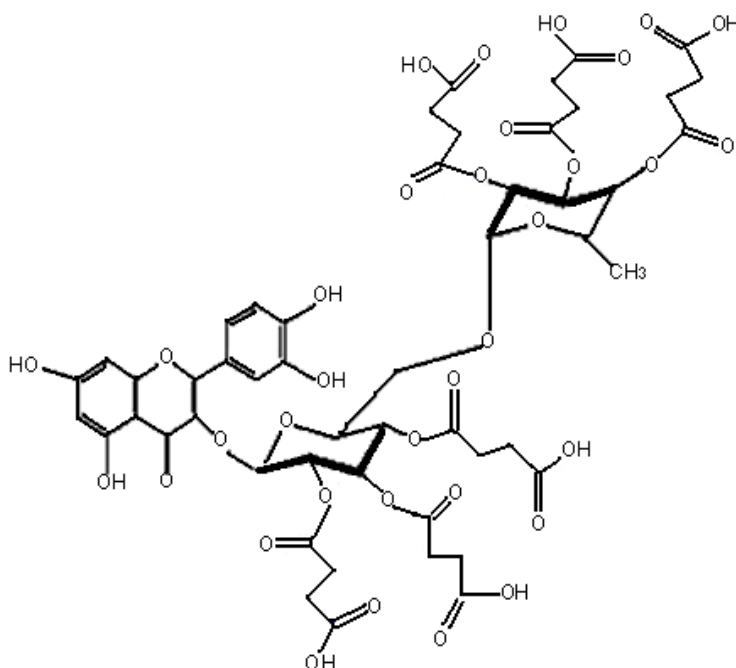


Figura 9. Estrutura química da succinil-rutina.

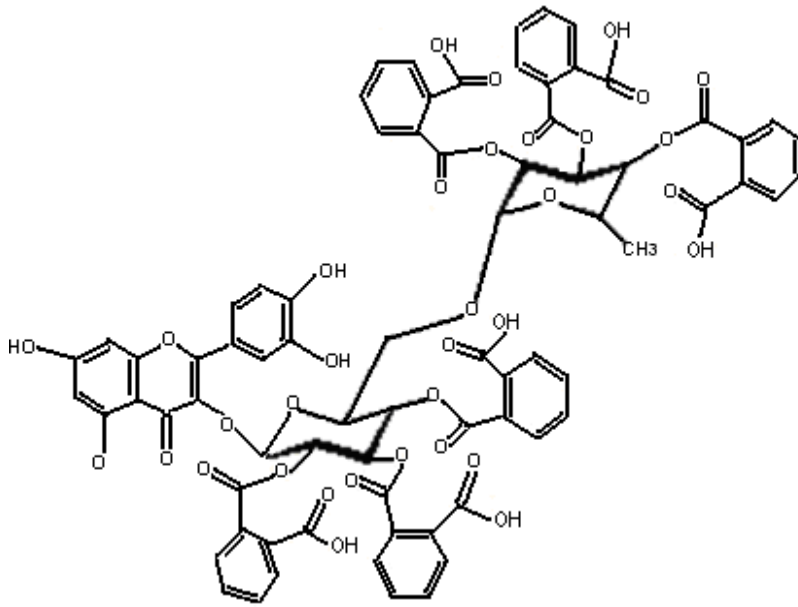


Figura 10. Estrutura química da ftaloil rutina

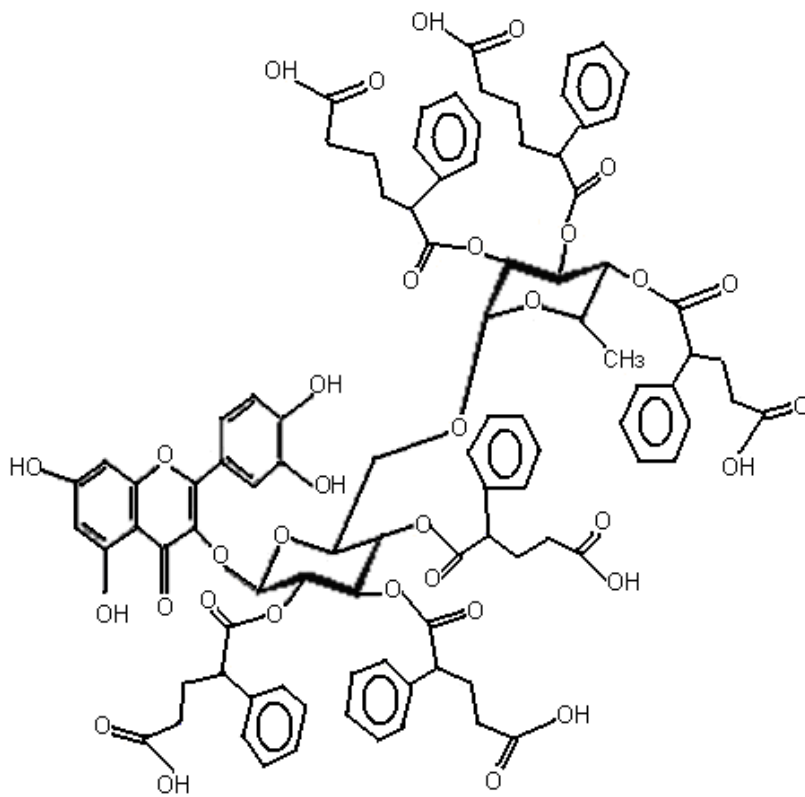


Figura 11. Estrutura química da fenil-glutaroil rutina

1.3 Fundamentação Teórica

A introdução da teoria quântica nos meados do século vinte e o entendimento de que as partículas podem apresentar comportamento dual tem vinculado a aplicação da mecânica quântica à teoria atômica de uma maneira bastante satisfatória. No entanto, com exceção dos sistemas com poucos elétrons, as equações que descrevem as estruturas moleculares são muito complexas para obter um resultado com exatidão.

A equação de Schrödinger não relativista independente do tempo pode ser escrita como mostra a Equação 1, onde \hat{H} representa o hamiltoniano do sistema, Ψ a função de onda e E_{total} é o auto-valor do Hamiltoniano, e corresponde à energia molecular do sistema. A descrição da função de onda Ψ é denominada como postulada fundamental da mecânica quântica, pois existe para qualquer sistema químico em que o operador hamiltoniano \hat{H} apropriado atua sobre Ψ e levando-se em consideração algumas contribuições para a energia total do sistema; a energia cinética dos elétrons e núcleos, a atração dos elétrons com o núcleo, e a repulsão internuclear e intereletrônica.

$$\hat{H}\Psi = E_{total}\Psi, \quad (\text{Eq.1})$$

Onde, R e r representam, respectivamente, as coordenadas dos M núcleos e N elétrons, \hat{H} é o operador Hamiltoniano para o sistema, expresso na forma (em unidades atômicas) (Szabo, 1996):

$$\hat{H} = -\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla^2_{\mathbf{r}_i} - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla^2_{\mathbf{R}_A} - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}},$$

(Eq.2)

Onde:

$-\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla^2_{\mathbf{r}_i}$: energia cinética dos elétrons

$-\sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla^2_{\mathbf{R}_A}$: energia cinética dos núcleos;

$$\begin{aligned}
& - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^N \frac{Z_A}{r_{iA}} : \text{atração coulômbica entre os elétrons e núcleos;} \\
& \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} : \text{interação (repulsiva) coulômbica entre elétrons;} \\
& \sum_{A=1}^M \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} : \text{interação (repulsiva) coulômbica entre núcleos.}
\end{aligned}$$

onde i e j representam elétrons, A e B representam núcleos, r_{ij} é a distância entre os elétrons i e j ; R_{AB} é a distância entre os núcleos A e B ; M_A é a razão entre a massa do núcleo A e a massa de um elétron; Z_A é o número atômico do núcleo A ; os laplacianos ∇_i^2 e ∇_A^2 , definidos em termos dos eixos cartesianos x , y e z , são coordenadas específicas para cada partícula, e representado por:

$$\nabla_A^2 = \frac{\partial^2}{\partial x_A^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_A^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_A^2}, e \quad \nabla_i^2 = \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \quad (\text{Eq.3})$$

A aproximação de Born-Oppenheimer enuncia que os núcleos de sistemas moleculares movem-se muito lentamente em relação aos elétrons. Sendo assim pode-se desacoplar do hamiltoniano os termos que se referem à energia cinética dos núcleos daqueles com as coordenadas dos elétrons, além de considerar o termo da interação coulômbica entre os núcleos como uma constante (Levine, 2000). Assim temos:

$$\hat{H} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (\text{Eq.4})$$

Assim, escrevemos a equação de Schrödinger eletrônica do sistema, onde a função de onda Ψ depende das coordenadas eletrônicas e parametricamente da coordenadas nucleares (Szabo, 1996), como:

$$\hat{H}_{el} \Psi_{el}(\{r_i\}; \{R_A\}) = E_{el} \Psi_{el}(\{r_i\}; \{R_A\}), \quad (\text{Eq.5})$$

Onde a E_{el} representa a energia eletrônica do sistema que depende parametricamente das coordenadas nucleares. A energia E (total) do sistema descarta a energia cinética dos núcleos podendo ser escrita como a energia eletrônica acrescida de uma constante correspondente à repulsão nuclear:

$$E_{\text{total}} = E_{\text{el}} + V_N$$

$$V_N = \sum_{A=1}^N \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (\text{Eq.6})$$

1.3.1- Métodos Semi-Empíricos

Os métodos semi-empíricos utilizam-se dos fundamentos da mecânica quântica para o estudo dos sistemas químicos. Os primeiros métodos desta classe eram baseados na aproximação do elétron π , isto é, apenas os elétrons π eram considerados explicitamente. Como exemplo podemos citar o método de Hückel (HMO) e o método de Pariser-Parr-Pople (PPP). Devido às aproximações incluídas, estes métodos eram aplicados apenas a sistemas conjugados planos. Posteriormente, os métodos semi-empíricos tornaram-se mais gerais, sendo aplicados a moléculas de qualquer natureza.

Dentro desta linha de desenvolvimento existem duas ramificações, os métodos de Dewar e os métodos de Pople. As duas ramificações são semelhantes, pois ambos tomam por base a mecânica quântica aplicada a sistemas moleculares com a inclusão de parâmetros (funções paramétricas) em substituição de algumas integrais presentes no operador de fock. A distinção entre os métodos de Pople e Dewar é relacionada à forma de parametrização. Nas aproximações de Pople e colaboradores, os parâmetros são ajustados de forma a reproduzir valores de propriedades moleculares determinadas através de cálculos *ab initio*, enquanto nos métodos de Dewar a parametrização é feita utilizando valores experimentais das propriedades de referência, como por exemplo, o AM1 (Austin Model) e PM3 que foi criado em 1985 para substituir o método NDDO, pois o NDDO apresenta deficiência na descrição das interações do tipo hidrogênio (Jensen, 2007).

Atualmente, os métodos semi-empíricos mais utilizados pela comunidade científica são os métodos AM1 e PM3. No entanto, foram desenvolvidos há cerca de duas décadas e, portanto, foram parametrizados

através de técnicas numéricas antigas e também com recursos computacionais limitados quando comparados aos disponíveis de hoje. Os métodos mais recentes PM5 (Parametric Model 5) e PM6 (Parametric Model 6), possuem formulação matemática diferente dos seus antecessores AM1 e PM3, pois neles foram introduzidos, na energia de repulsão core-core, parâmetros diatômicos. Outro ponto em que os métodos PM5 e PM6 diferem dos métodos AM1 e PM3 é o fato de que foi introduzida apenas uma gaussiana esférica na expressão de energia de repulsão core-core. Isto foi feito com o intuito de reduzir o número de parâmetros a serem ajustados, uma vez que já haviam sido inseridos parâmetros diatômicos (Stewart, 2007).

1.3.1-Detalhamento teórico dos métodos semi-empíricos

Em princípio, cálculos utilizando as equações de Hartree-Fock-Roothaan ficariam limitados a sistemas mais simples, pois o tempo computacional necessário cresce com o número de funções de base ou orbitais atômicos, associado ao grande número de integrais de dois elétrons a serem resolvidas. Para equacionar estas dificuldades, uma das linhas de pesquisa é a dos métodos semi-empíricos, que mantêm o formalismo autoconsistente da teoria de orbitais moleculares usando a expansão em orbitais atômicos e busca solucionar as dificuldades inerentes ao método utilizando hamiltonianos mais simples, desprezando algumas integrais decorrentes da formulação de Schrodinger ou ainda, introduzindo parâmetros obtidos de resultados experimentais. As aproximações variam de acordo com o método adotado.

O método semi-empírico monoelétrônico mais simples para moléculas não planares é o método de Huckel Extendido (EHT – *Extended Huckel Theory*). Não é um método autoconsistente, é rápido e qualitativamente bom para investigar a estrutura de orbitais de alguns sistemas moleculares, mas não é utilizado em procedimentos de otimização de geometria (Hoffman, 1963).

O método EHT utiliza o modelo de elétron independente, admitindo a descrição do hamiltoniano eletrônico como a soma de hamiltonianos efetivos de um elétron:

$$H_{\varepsilon i} = \sum_i H_i^{\text{eff}} \quad (\text{Eq. 7})$$

Construímos assim uma matriz H, onde os orbitais moleculares X_i e suas energias orbitais ε_i são soluções do problema de autovalores padrão $HC = SC\varepsilon$ demonstrável pelo método variacional linear de funções. A matriz C contém os coeficientes da combinação linear que descreve os orbitais moleculares em termos de orbitais atômicos (aproximação LCAO):

$$X_i = \sum_{\mu=1} C_{\mu i} \phi_{\mu},$$

e, ε , é uma matriz diagonal das energias orbitais.

Um conjunto de métodos apresenta a aproximação NDO (*Neglect of Differential Overlap*), caracterizada por desprezar os efeitos do recobrimento entre os orbitais atômicos nos cálculos (Pople, 1970).

A aproximação mais simples despreza completamente o recobrimento diferencial - CNDO (*Complete Neglect of Differential Overlap*):

$$\phi_{\mu} \phi_{\nu} = \delta_{\mu\nu} \phi_{\mu} \phi_{\mu} \quad (\text{Eq. 8})$$

O método (CNDO – *Complete Neglect of Differential Overlap*) foi proposto por Pople, Santry e Segal em 1965, sendo o método semi-empírico autoconsistente mais simples, que utiliza como base um conjunto de orbitais atômicos do tipo Slater para os elétrons de valência e a aproximação ZDO (Zero Differential Overlap), que despreza as integrais de repulsão eletrônicas de orbitais atômicos. As conseqüências da aproximação ZDO são:

- i) a matriz de recobrimento S é reduzida à matriz unidade $S_{\mu\nu} = \delta_{\mu\nu}$
- ii) as integrais de um elétron envolvendo três centros são zero;

iii) todas as integrais de três e quatro centros, que são as integrais mais numerosas, são desprezadas, ou seja, a teoria considera apenas integrais de um e de dois centros.

Todos os métodos semi-empíricos são baseados na aproximação ZDO. Os métodos de aproximação diferem, principalmente, no grau com que a ZDO é aplicada para as integrais de repulsão eletrônica (Segal, 1977).

No método CNDO a exclusão de integrais de troca de um centro é uma das maiores limitações, o que, freqüentemente, torna a teoria incapaz de distinguir estados provenientes de uma mesma configuração. Essa dificuldade não aparece numa segunda aproximação, chamada NDDO (*Neglect of Diatomic Differential Overlap*), também introduzida por Pople, Santry e Segal em 1965, que consiste em desprezar o recobrimento diferencial diatômico:

$$\phi_{\mu}^A \phi_{\nu}^B = \delta_{AB} \phi_{\mu}^A \phi_{\nu}^A \quad (\text{Eq. 9})$$

Nesta aproximação, apenas o recobrimento entre orbitais atômicos em átomos A e B diferentes são negligenciados nos cálculos das integrais. Porém, esse método requer o cálculo de um número muito grande de integrais de dois centros. A solução, então, é encontrada no método intermediário chamado INDO (*Intermediate Neglect of Differential Overlap*).

O método INDO surgiu em 1967 com Pople, Beveridge e Doboser. No INDO, os recobrimentos entre orbitais atômicos do mesmo átomo não são desprezados nas integrais de repulsão de um centro, mas ainda o são nas integrais de repulsão de dois centros.

Nos métodos semi-empíricos há parâmetros que necessitam ser determinados por algum processo independente, não sendo única a forma de determiná-los, e constitui o que é denominado de parametrização do método.

Quanto melhor esses parâmetros maior a eficácia do método na obtenção de propriedades moleculares.

Entre os métodos mais recentes estão o MNDO (Modified NDO), o AM1 (Austin Method 1) e o PM3 (Parametric Method 3) parametrizados para a aproximação NDDO. Ainda mais recentes, estão os métodos PM5 (Parametric Method 5), PM6 (Parametric Method 6), do Stewart e colaboradores.

O MNDO é um método semi-empírico, sofisticado, autoconsistente e parametrizado para o estudo de geometrias moleculares e caminhos de reação.

Os orbitais moleculares da camada de valência (Ψ_i) ($\delta_{\mu\nu}$) são representados por combinações lineares de um conjunto de base mínima na aproximação LCAO. Os coeficientes da expansão são obtidos pelas equações de Roothaan, que na aproximação NDDO é escrita como:

$$\sum_V (F_{\mu V} - E_i \delta_{\mu V}) C_{Vi} = 0 \quad (\text{Eq. 10})$$

Onde o E_i , é o autovalor associado ao orbital molecular Ψ_i e $\delta_{\mu\nu}$ é a delta de Kronecker.

A energia eletrônica E_e será dada por:

$$E_{ei} = \frac{1}{2} \sum_{\mu} \sum_V P_{\mu V} (H_{\mu V} + F_{\mu V}) \quad (\text{Eq. 11})$$

Onde $P_{\mu V}$ são os elementos de matriz de ordem de ligação e $H_{\mu V}$ do hamiltoniano do caroço.

Utilizando-se a notação ϕ_{μ} e ϕ_{ν} para os orbitais atômicos centrados em um átomo A e ϕ_{λ} e ϕ_{σ} para aqueles centrados no átomo B, os elementos da matriz de Fock no formalismo MNDO serão dados por:

$$F_{\mu\lambda} = U_{\mu\mu} + \sum_B V_{\mu\mu,B} + \sum_V P_{VV} \left(\langle \mu\mu | \nu\nu \rangle - \frac{1}{2} \langle \mu\nu | \mu\nu \rangle \right) + \sum_B \sum_{\lambda\sigma}^B P_{\lambda\sigma} \langle \mu\mu | \lambda\sigma \rangle \quad (\text{Eq. 12})$$

Para os termos da diagonal e

$$F_{\mu\lambda} = \sum_B V_{\mu\nu,B} + \frac{1}{2} \sum_V P_{\mu\nu} (3\langle\mu\nu|\mu\nu\rangle - \langle\mu\mu|\nu\nu\rangle) + \sum_B \sum_{\lambda\sigma}^B P_{\lambda\sigma} \langle\mu\nu|\lambda\sigma\rangle$$

(Eq. 13)

Para os termos fora da diagonal temos ainda

$$F_{\mu\lambda} = \beta_{\mu\lambda} - \frac{1}{2} \sum_V^A \sum_{\nu\sigma}^B P_{\nu\sigma} \langle\mu\nu|\lambda\sigma\rangle$$

(Eq. 14)

Onde,

- U_{μ} é a matriz de ordem de ligação;
- $U_{\mu,l}$ são as energias monoelétrônicas de um centro;
- $\langle\mu\mu|\nu\nu\rangle$ e $\langle\mu\nu|\mu\nu\rangle$ são as integrais de Coulomb e de troca, respectivamente;
- $\beta_{\mu\lambda}$ são as integrais de ressonância de dois centros;
- $V_{\mu\nu,B}$ representa o termo de atração eletrostática;
- $\langle\mu\nu|\lambda\sigma\rangle$ são as integrais de repulsão de dois centros.

A energia total E_{tot}^{mol} é escrita como a soma da energia eletrônica e as repulsões $E_{AB}^{caroço}$ entre os “caroços” dos átomos A e B:

$$E_{tot}^{mol} = E_{el} + \sum \sum_{A<B} E_{AB}^{caroço}$$

(Eq. 15)

O calor de formação molecular será dado por:

$$E_F^{mol} = E_{tot}^{mol} - \sum_A E_{el}^A + \sum_A C_F^A$$

(Eq. 16)

onde E_{tot}^{mol} é a energia total da molécula, E_{el}^A é a energia eletrônica e C_F^A os calores de formação experimentais para os átomos da mesma.

Na aproximação MNDO, os vários termos da matriz de Fock e as repulsões caroço $E_{AB}^{caroço}$ não são determinados analiticamente, mas sim determinados através de dados experimentais ou de expressões semi-empíricas que contêm parâmetros ajustáveis aos dados experimentais. A introdução destes parâmetros compensará, em princípio, as limitações da função de onda total (que despreza a correlação eletrônica) e erros inerentes às simplificações implementadas pelo método (Stewart, 1991).

Os termos de um centro são obtidos através do estado de valência do átomo e seus íons, a partir de valores espectroscópicos correspondentes. Por outro lado, as integrais de repulsão de dois centros representam a energia de interação de carga $(e\phi_\mu\phi_\nu)$ no átomo A e $(e\phi_\lambda\phi_\sigma)$ no átomo B, e seria inconsistente tentar calculá-las analiticamente devido às aproximações básicas do MNDO.

O MNDO retém todos os termos de dois centros envolvendo recobrimento diferencial monoatômico, incluindo interações de multipolos de ordem superior. O método, porém, falha na descrição das ligações de hidrogênio e superestima as repulsões entre átomos não ligados. Desta forma foi necessário corrigir a forma de repulsão caroço-caroço, dando origem ao método denominado AM1. A função de repulsão de caroço (CRF) do AM1 será dada por:

$$CRF(AB) = z_A z_B \gamma_{SS} [1 + F(A) + F(B)] \quad (\text{Eq. 17})$$

Onde

$$F(A) = \exp(-\alpha_A R_{AB}) + \sum_i K_{Ai} \exp [L_{Ai} (R_{AB} - M_{Ai})^2] \quad (\text{Eq. 18})$$

$$F(B) = \exp(-\alpha_B R_{AB}) + \sum_j K_{Bj} \exp [L_{Bj} (R_{AB} - M_{Bj})^2] \quad (\text{Eq. 19})$$

* Z_A e Z_B são os números atômicos dos núcleos A e B, respectivamente.

* L representa parâmetros que determinam as larguras das funções Gaussianas utilizadas na parametrização em unidade m^{-2} .

* M e K são parâmetros que foram otimizados.

O formalismo usado no AM1 é essencialmente o mesmo do MNDO, com exceção do termo CRF. As integrais de repulsão eletrônicas de um centro permanecem inalteradas. Os parâmetros K, α e M estão contidos no CRF. O AM1 mostrou-se superior ao MNDO devido ao fato de as geometrias de equilíbrio estarem em maior concordância com os resultados experimentais (Steward, 1991).

O método semi-empírico PM6 possui uma formulação matemática um pouco diferente do método AM1 o qual deriva do MNDO. A maior diferença está na equação que calcula a repulsão caroço-caroço (Stewart, 2007).

$$E_N(A, B) = Z_A Z_B \langle S_A S_A | S_B S_B \rangle (1 + x_{AB} e^{-\alpha_{AB}(R_{AB} + 0,0003R_{AB}^6)}) \quad (\text{Eq. 20})$$

$$E_N(A, B) = Z_A Z_B \langle S_A S_A | S_B S_B \rangle (1 + x_{AB} e^{-\alpha_{AB} R_{AB}^2}) \quad (\text{Eq. 21})$$

$$E_N(A, B) = Z_A Z_B \langle S_A S_A | S_B S_B \rangle (1 + x_{AB} e^{-\alpha_{AB}(R_{AB} + 0,0003R_{AB}^6)} + 9,28 e^{-5,98 R_{AB}}) \quad (\text{Eq. 22})$$

$$E_N(A, B) = Z_A Z_B \langle S_A S_A | S_B S_B \rangle (1 + x_{AB} e^{-\alpha_{AB}(R_{AB} + 0,0003R_{AB}^6)} - 0,0007 e^{-(R_{AB} - 2,9)^2}) \quad (\text{Eq. 23})$$

Onde a eq. 20 é a equação usada para o cálculo da grande maioria dos casos. A equação 21 é aplicada para as interações O-H em-H; a equação 22 é usada para a interação C-C por fim a equação 23 é usada para a interação Si-O.

1.3.3 - Conjunto de bases

Dois tipos de funções de base têm sido utilizados. Orbitais atômicos do tipo Slater (STO), embora forneçam representações razoáveis de orbitais atômicos, são de difícil trato matemático para integrações de funções com vários centros. Por outro lado, as funções atômicas do tipo gaussiano vêm substituindo amplamente os orbitais de Slater. Apesar do fato de uma única função gaussiana não fornecer uma boa representação de um orbital atômico, este tipo de função é fácil de manusear porque o produto de duas Gaussianas é outra Gaussiana: combinações de Gaussianas podem ser usadas para fazer boas aproximações a orbitais atômicos (Jensen, 2007).

Algumas combinações de funções Gaussianas imitam orbitais atômicos do tipo Slater. Por exemplo: STO-3G é um conjunto de base que usa três funções Gaussianas para “simular” um orbital do tipo Slater. Este é um modelo um pouco mais simples que o STO-4G que usa quatro Gaussianas e assim é provável que forneçam energias ligeiramente melhores para qualquer sistema.

Conjunto de bases para valências divididas são geralmente designadas como A-BCG, onde cada letra corresponde ao número de funções Gaussianas. Quanto maior esse número, mais completo é o conjunto de base, embora maior seja o tempo requerido para completar o cálculo. (Jensen, 2007).

Estes conjuntos de bases não levam em conta a polarização de orbitais, cuja representação pode ser adicionada às bases e é usualmente designada por asteriscos. Assim 6-31G* significa o uso de funções de polarização para os átomos diferentes de hidrogênio e 6-31G** para todos os átomos de hidrogênio. Cálculos envolvendo ânions, por exemplo, podem requerer o uso adicional de funções difusas (conjunto de bases ligeiramente modificadas que levam em conta o efeito dos elétrons livres nos ânions), que são indicadas pelo sinal +. Desta forma, 6-31+G* inclui tanto funções de polarização quanto difusas (Jensen, 2007).

1.3.4 - Propriedades em fase líquida

Modelos Contínuos de Solvente

Modelos contínuos são utilizados como ferramentas para a modelagem de soluções líquidas que consideram o solvente como um contínuo de constante dielétrica uniforme ϵ (Foresman, 1996).

O modelo de Onsager considera que o soluto ocupa uma cavidade esférica de raio a no solvente, que é por sua vez representado por uma constante dielétrica ϵ . O campo que age sobre uma molécula pode ser decomposto em um campo de cavidade G e em um campo de reação R . O primeiro depende da forma da molécula (que é aproximada para uma esfera) e é proporcional à intensidade do campo externo, ou seja, à polaridade do solvente. O segundo mede o campo elétrico que age sobre o dipolo (soluto) como o resultado de deslocamentos elétricos induzidos pela própria presença, dependendo, portanto da orientação instantânea da molécula. (Onsager, 1936)

O PCM (*Polarizable Continuum Model*) utiliza um modelo quântico para descrever o soluto; o potencial de superfície é determinado por diferenciação numérica e a sua interação com o solvente é computada de maneira auto-consistente. A cavidade da molécula é definida por meio de esferas atômicas de raio proporcional ao raio de van der Waals de cada átomo. (Tomasi, 2005)

O IPCM (*Isodensity polarizable Continuum Model*) e o SCIPCM (*Self-Consistent Polarizable Continuum Model*) utilizam uma descrição feita no PCM, porém não definem a cavidade do soluto por meio de esferas atômicas, mas sim por superfícies de isodensidade eletrônica. No caso do IPCM, a superfície de isodensidade é pré-estabelecida, com um valor fixo. No caso do SCIPCM, a superfície de isodensidade é calculada auto - consistentemente, de maneira que este valor é escolhido de forma de minimizar a energia. (Foresman, 1996)

O modelo Cosmo (*Conductor-like Screening Model*) apresenta cavidades atômicas esféricas, como no PCM; a sua abordagem para as interações eletrostáticas, no entanto, é bastante diferenciada. Considera-se que o soluto é perfeitamente blindado pelo solvente (o solvente tem cargas livres, como um condutor). As cargas são distribuídas na superfície da

cavidade e determinadas pela imposição de que os potenciais se cancelam nessa superfície. (Klamt, 1996, Baroni, 1998).

A principal idéia deste modelo é aproximar o dielétrico contínuo por um condutor corrigido. Isso permite a utilização de uma condição de fronteira mais simples que no caso de um dielétrico comum. A condição é simplesmente a de que o potencial total é nulo. Os desvios entre os resultados do COSMO e os provenientes de um modelo exato de dielétrico são desprezíveis para constante dielétrica ϵ maiores que 20, e menores que 10% para solventes não polares ($\epsilon = 2$). Uma vez que um valor de 10% certamente está dentro do erro proveniente de se representar o solvente como um dielétrico contínuo, o grande ganho em termos de simplicidade matemática justifica a sua utilização. (Klamt, 1996)

Como em outros modelos contínuos, a molécula do soluto está inserida numa cavidade, e a superfície desta cavidade define o dielétrico. Para que a forma geométrica da molécula possa ser levada em conta, é necessário considerar uma cavidade que seja definida em função das posições dos átomos. Segundo os autores (Tomasi, 2005, Cramer, 2004), uma boa escolha da superfície que define a fronteira da cavidade consiste em utilizar os raios de Van der Waals dos átomos + 20%. A desvantagem agora é que com este tipo de cavidade não é mais possível obtermos uma expressão analítica para a energia de solvatação, ao contrário do que ocorre no caso de cavidades esféricas ou elípticas. Portanto é necessário o uso de métodos numéricos para calcular a polarização do contínuo.

2. Objetivo geral

Estudar, do ponto-de-vista mecânico-quântico, a rotina, simulando a sua interação com meio aquoso adequando a metodologia semi-empírica para o cálculo do pKa.

3. Seção Experimental

Os métodos semi-empíricos e DFT que foram utilizados neste trabalho estão disponíveis nos pacotes computacionais AMPAC versão 8.16.5, MOPAC 2009 e Gaussian 03W versão D.01. Os cálculos foram efetuados empregando-se computadores disponíveis no Laboratório de Química Teórica e Computacional, uma Divisão do Laboratório de Fotoquímica.

Foram utilizados os métodos semi-empíricos AM1, PM3 e PM6 na otimização da estrutura molecular. Em seguida, para assegurar que a conformação obtida era realmente a de menor energia, a estrutura obtida foi reotimizada tendo sido também efetuado cálculo de frequência empregando-se a teoria do funcional de densidade (funcional híbrido B3LYP com a função de base 6-31G (d,p)) na fase gás, usando o pacote computacional Gaussian.

Uma observação importante sobre a estrutura utilizada para a comparação dos parâmetros geométricos, pois devido à falta desses parâmetros comparamos o composto da rotina deste trabalho com a rotina pentametanol que é descrita em uma estrutura tri-dimensional determinada pelo método de difração de raios-X (Tomita, 1990), onde contém anéis aromáticos semelhantes ao grupo doador de prótons da rotina estudada neste trabalho.

3.1 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

A estrutura da rutina foi construída utilizando o programa de interface gráfica AGUI (AMPAC 8.16.5). Após sua construção, a estrutura foi otimizada empregando-se o método semi-empírico AM1 (AMPAC). Como refinamento, efetuaram-se os cálculos de frequência e propriedades termodinâmicas, utilizando mesmo método, obtendo-se uma aproximação geométrica satisfatória comparada com os valores experimentais citados nas Tabelas 3, 4 e 5. As seguintes palavras-chave foram empregadas nesses cálculos, considerando-se a molécula livre no vácuo, RHF SINGLET TRUSTE FORCE THERMO T=AUTO, e na fase solvatada, RHF SINGLET TRUSTE FORCE THERMO COSMO DIELEC=78.355 IOFR=1.3329 + RSOLV=1 T=AUTO, que simula a água como solvente.

Finalizando os cálculos estruturais e termodinâmicos empregando o método semi-empírico AM1 (AMPAC), efetuou-se o mesmo procedimento empregando o método PM6 (MOPAC). As seguintes palavras-chave foram empregadas nesses cálculos, considerando-se a molécula livre no vácuo, RHF SINGLET OPT BFGS PRECISE, e na fase solvatada, RHF SINGLET GNORM=0,0 EPS=78.355 RSOLV=1, PRECISE, que simula a água como solvente.

De forma detalhada, o procedimento experimental para obtenção dos pK_{as} aplicado nos cálculos sucedeu-se da seguinte forma:

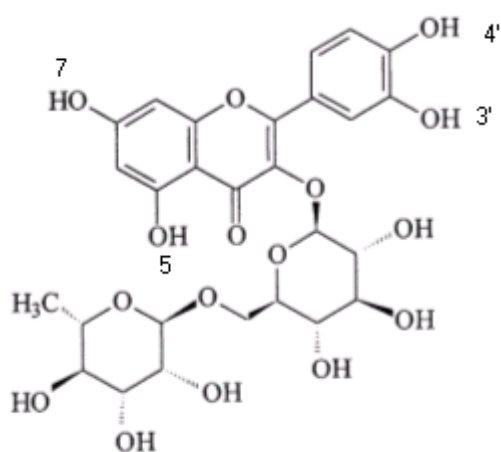


Figura 12. Estrutura da rutina representando as possíveis posições de ionização prótica.

- 1) Otimização da molécula neutra com o método semi-empírico AM1, na fase gás, com a inserção de 4 moléculas de água localizadas cada uma delas na vizinhança dos hidrogênios ionizável da molécula - posições 7, 4', 3' e 5 (**Figura 13**). Após a otimização foi realizado o cálculo de energia, e ao final do cálculo de energia realizou-se o cálculo de frequência e propriedades termodinâmicas da molécula neutra.

Um dos motivos que levaram a montar um cluster-continuum com a inserção de uma molécula de água na posição 7, 4', 3' e 5 (**Figura 13**), foi a busca de uma melhor descrição das interações nesses pontos da molécula, conforme proposto na literatura (Pliego, 2001), de modo a ser obter uma previsão convergente com os dados experimentais disponíveis acerca dos quatro pK_a associados à rutina.

- 2) Ao final de todos os cálculos estruturais e termodinâmicos com a molécula da rutina neutra, iniciaram-se alguns procedimentos antes de começar os cálculos teóricos da rutina com carga -1 (primeira ionização), na fase gás.

O primeiro passo foi utilizar o arquivo de saída da molécula da rutina neutra com as 4 moléculas de água. A partir do arquivo de saída fornecido pelo AMPAC, para a molécula da rutina neutra na fase gás, utilizou o programa de interface AGUI para remover o átomo de hidrogênio do grupo OH presente na posição 7 (pK_{a1}), acrescentando-o à molécula de água situada em sua vizinhança, conforme apresentado na Seção de Resultados e Discussão (Figura 16).

Após estes procedimentos, iniciaram-se o cálculo da energia mínima e de frequência e propriedades termodinâmicas da molécula da rutina -1 na fase gás.

- 3) Ao término dos cálculos estruturais e termodinâmicos realizados para com carga -1 (primeira ionização), na fase gás, repetiu-se o mesmo procedimento para a segunda, terceira e quarta ionização [pK_{a2} (carga -2), pK_{a3} (carga -3), pK_{a4} (carga -4) – posições 4', 3' e 5, respectivamente]. Todos os cálculos, nessa ordem, iniciaram-se com os mesmos procedimentos trabalhados para a molécula da rutina com carga -1:

- ✓ Emprego do arquivo de saída da molécula da rutina neutra na fase gás;

- ✓ Transferência do átomo de hidrogênio do grupo OH correspondente, da estrutura da rutina neutra na fase gás, para a molécula de água vizinha (Figuras 17, 18 e 19, na Seção de Resultados e Discussão).

O mesmo procedimento experimental aplicado para a rutina na fase gás foi adotado para os cálculos teóricos para a molécula na fase solvatada. Neste caso, empregou-se o modelo de solvatação COSMO (Conductor-like Screening Model), definindo-se parâmetros relativos à água para a construção do contínuo dielétrico.

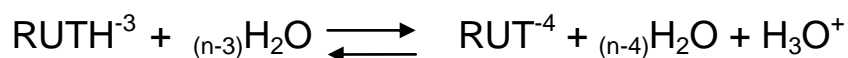
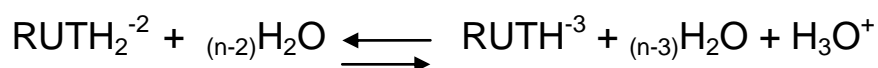
4) Ao fim de todos os cálculos estruturais e termodinâmicos para a molécula neutra hidratada, iniciaram-se os procedimentos para os cálculos envolvendo a molécula ionizada em procedimento similar ao aplicado para a rutina na fase gás.

Tendo efetuado os cálculos teóricos com o método semi-empírico AM1 (AMPAC 8.16.5), para a rutina na fase gás e na fase solvatada, o mesmo procedimento foi repetido com a aplicação do método semi-empírico PM6 (MOPAC 2009). Para a realização dos cálculos teóricos utilizando como ferramenta o método semi-empírico PM6, tomou-se como ponto-de-partida os arquivos de saída “out” fornecidos pelo método semi-empírico AM1.

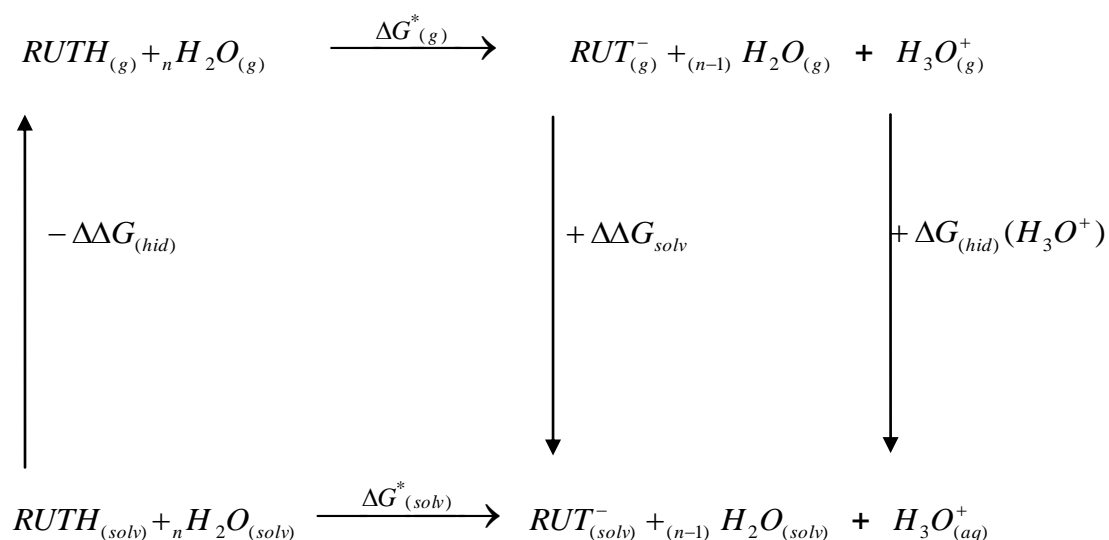
Ao final dos cálculos realizados com a inserção de uma molécula de água em cada posição de desprotonação da estrutura da molécula da rutina, realizou-se o mesmo procedimento para o cálculo com a inserção de 2 moléculas de água em cada posição de desprotonação da estrutura da molécula da rutina totalizando 8 moléculas de água no cluster-continuum.

A partir do cálculo da freqüência e propriedades termodinâmicas pode-se chegar aos valores da Energia Livre de Gibbs e, por fim, estimar os valores de pK_a. Para o cálculo de pK_{as} da rutina usando ciclos termodinâmicos simples de solvatação semi-empírica:





Para o cálculo do pK_a , foi utilizado o ciclo termodinâmico apresentado a seguir:



Esquema 1. Ciclo termodinâmico para o cálculo de parâmetros termodinâmicos para a rutina.

A partir da equação de Lewis (McQuarrie e Simon, 1997), considerando as condições-padrão e que os sistemas estudados se encontram em equilíbrio, podemos escrever que,

$$pK_a = \frac{\Delta G_{hid}}{RT \ln 10} \quad \text{Eq. 28}$$

Com base na equação e o ciclo termodinâmico acima obtém-se:

$$\Delta G_{(g)} = G_{(g)}(\text{RUT}^- + (N-1)\text{H}_2\text{O}) + G_{(g)}(\text{H}_3\text{O}^+) - G_{(g)}(\text{RUTH} + n\text{H}_2\text{O}) \quad \text{Eq. 29}$$

$$\Delta G_{(\text{solv})} = G_{(\text{solv})}(\text{RUT}^- + (N-1)\text{H}_2\text{O}) + G_{(\text{solv})}(\text{H}_3\text{O}^+) - G_{(\text{solv})}(\text{RUTH} + n\text{H}_2\text{O}) \quad \text{Eq. 30}$$

$$G_{(\text{sol})} = G_{(g)} + \Delta G_{(\text{solv})} \quad \text{Eq. 31}$$

$$pK_a = \frac{\Delta G_{\text{sol}}}{RT \ln 10} - \text{Log}[\text{H}_2\text{O}] \quad \text{Eq. 32}$$

Onde,

$G(\text{RUT}^-)_{(g)}$ = Energia livre de Gibbs da rutina desprotonada na fase gás;

$G(\text{RUTH})_{(g)}$ = Energia livre de Gibbs da rutina na fase gás;

$G(\text{RUTH})_{(\text{solv})}$ = Energia livre de Gibbs da rutina na fase solvatada;

$G(\text{RUT}^-)_{(\text{solv})}$ = Energia livre de Gibbs da rutina desprotonada na fase solvatada;

$\Delta G(\text{RUT}^-)_{(\text{solv})}$ = Variação da energia livre de Gibbs da rutina desprotonada na fase solvatada;

$\Delta G(\text{RUTH})_{(\text{solv})}$ = Variação da energia livre de Gibbs da rutina desprotonada na solução;

$\Delta G(\text{RUTH})_{(\text{solv})}$ = Variação da energia livre de Gibbs da rutina na fase solvatada;

$G(\text{H}_3\text{O}^+)_{(g)}$ = Energia livre de Gibbs do íon hidrônio na fase gás;

$\Delta G(\text{H}_3\text{O}^+)_{(solv)}$ = Variação da energia livre de Gibbs do íon hidrônio na fase solvatada;

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Estrutura da Rutina

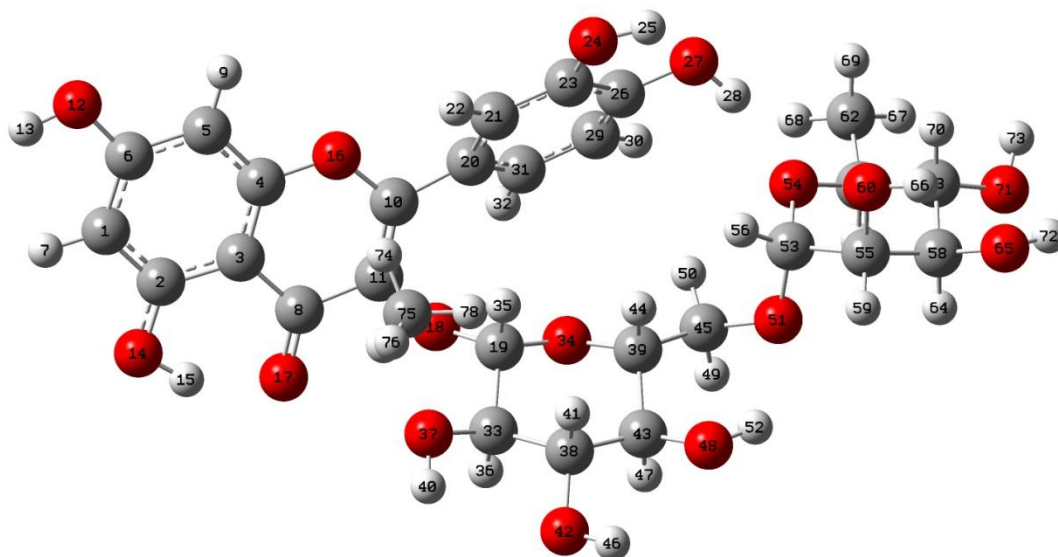


Figura 13. Estrutura otimizada para a rutina, empregando o método AM1.

A molécula representada na **Figura 13** corresponde à rutina na fase gás. Foi otimizada com o método semi-empírico AM1 (AMPAC). A partir daí, foram obtidos parâmetros geométricos relativos à flavona (distâncias de ligação e seus respectivos ângulos na fase gás e na fase solvatada), os quais foram confrontados com os obtidos por difração de raios-X por Tomita e colaboradores, para um derivado da rutina (Tomita, 1990).

O fragmento da quercitina é a parte de maior interesse, pois a quercetina é parte da estrutura da rutina que está localizada os radicais hidroxilas onde ocorreram a doação prótica.

A maior diferença está na localização da parte inferior da molécula da rutina estudada pelo Tomita que são os açúcares. Outro fato notório é que as informações obtidas por Tomita e seus colaboradores foram a partir de um cristal, e a simulação deste trabalho foi a partir de uma estrutura livre.

Após a obtenção dos parâmetros requeridos, empregando o método semi-empírico AM1, o arquivo de saída dos cálculos empregando este modelo semi-empírico foi empregado como ponto-de-partida para os cálculos empregando o método semi-empírico PM6 (MOPAC). Para a realização dos cálculos utilizando o método PM6 como ferramenta utilizou-se da palavra-chave “GNORM”, definindo o limite para a norma do gradiente como sendo 0,0 já que a molécula já havia sido otimizada com o método semi-empírico AM1. E pela tabela abaixo, a metade dos valores com o método semi-empírico PM6 é mais eficiente.

Tabela 3. Valores de ângulo de ligação para a rotina na fase gás vs. valores experimentais (Tomita, 1990)

Ângulo de ligação	Experimental (°)	Teórico (°)		Erro Relativo%	
		AM1	PM6	AM1	PM6
C(1)-C(2)-C(3)	122,2	121,4	122,4	0,65	0,16
C(3)-C(4)-C(5)	128,3	122,7	123,7	4,36	3,59
C(2)-C(3)-C(8)	122,9	122,2	122,9	0,57	0,00
O(14)-C(2)-C(1)	123,4	121,8	121,8	1,30	1,30
C(20)-C(21)-C(22)	119,3	119,8	121,1	0,42	1,51
C(21)-C(23)-C(26)	121,7	119,4	118,9	1,89	2,30
C(20)-C(21)-C(23)	119,3	119,8	119,7	0,42	0,34
C(26)-C(29)-C(31)	124,9	119,8	119,5	4,08	4,32
C(23)-C(26)-C(29)	119,8	120,3	120,9	0,42	0,92
O(17)-C(4)-C(10)	122,3	124,4	124,6	1,72	1,88
O(24)-C(21)-C(23)	121,6	116,9	116,1	3,87	4,52
O(27)-C(23)-C(26)	118,9	117,0	117,1	1,60	1,51
O(12)-C(6)-C(5)	113,7	116,3	116,0	2,29	2,02

Tabela 4. Valores de alguns comprimentos de ligação para a rutina na fase gás vs. valores experimentais (Tomita, 1990)

Ligação	Comprimento de Ligação (Å)			Desvio	
	Experimental	Teórico		Relativo (%)	
		AM1	PM6	AM1	PM6
C(1)-C(2)	1,361	1,396	1,417	2,57	4,11
C(2)-C(3)	1,459	1,417	1,422	2,88	2,54
C(3)-C(4)	1,381	1,406	1,415	1,81	2,46
C(10)-C(11)	1,355	1,363	1,360	0,59	0,37
C(10)-C(20)	1,541	1,462	1,468	5,13	4,74
C(20)-C(21)	1,338	1,401	1,404	4,71	4,93
C(21)-C(23)	1,380	1,400	1,400	1,45	1,45
C(26)-C(29)	1,334	1,398	1,395	4,80	4,57
O(24)-C(23)	1,332	1,372	1,354	3,00	1,65
O(12)-C(6)	1,387	1,367	1,350	1,44	2,67
O(27)-C(26)	1,402	1,379	1,382	1,64	1,43
O(17)-C(8)	1,268	1,242	1,221	2,03	3,71
O(14)-C(2)	1,386	1,364	1,357	1,59	2,09
O(16)-C(10)	1,378	1,388	1,403	0,73	1,81

A geometria em fase gasosa com os métodos semi-empíricos AM1 e PM6 está em boa concordância comparada com a geometria experimental, como está representada nas **Tabelas 3 e 4**.

Na **Tabela 3**, os resultados entre o ângulo de ligação experimental e teórico que apresentaram valores mais significativos foi para átomos C(23)-C(26)-C(29) e C(2)-C(3)-C(8) para o método AM1, com um erro relativo de 0,42% e 0,57 % dando uma diferença entre os dados teóricos com os dados experimentais de 0,5° e 0,7° respectivamente. Para o método semi-empírico PM6 os átomos C(1)-C(2)-C(3) apresentaram um erro relativo foi de 0,16%, chegando a uma diferença entre os valores experimentais e teóricos de 0,2°, os resultados da ligação C(2)-C(3)-C(8) foi o preciso obtendo um erro relativo de 0,00%. Na grande maioria dos resultados apresentados demonstrando a geometria otimizada tanto o método semi-empírico AM1 quanto o método semi-empírico PM6 obteve resultados satisfatórios.

A partir da **Tabela 4** os melhores resultados relacionados à distância de ligação foi C(10)-C(11) fornecida pelo método semi-empírico PM6 que teve um erro relativo de 0,37% enquanto o AM1 a ligação C(10)-C(11) obteve um erro relativo de 0,59% comparados com os dados experimentais. Observando os valores da distância de ligação O(16)-C(10) do método semi-empírico AM1 obteve-se um resultado com erro relativo 0,73% comparado com o experimental, enquanto o método semi-empírico PM6 para a ligação O(24)-C(23) forneceu um resultado de 1,65%. O resultado da diferença da distância de ligação O (16)-C(10) a nível teórico para o experimental é praticamente desprezível (0,01 Å) para o método AM1 e (0,025 Å) para o método PM6. Já na ligação entre C(3)-C(4) para o método AM1 e PM6 este resultado foi de (0,025 Å) e (0,034 Å) respectivamente.

Tabela 5 - Ângulo de torção nível teórico comparado com o experimental

Ângulo de Torção	Experimental (°)	Teórico (°)		Erro relativo (%)	
		AM1	PM6	AM1	PM6
O (16) – C(10) – C(20) – C(21)	12,9	33,1	31,0	156,5	140,3
O (16) – C(10) – C(20) – C(31)	165,5	145,8	147,5	11,9	10,8
C(11) – C(10) – C(20) – C(31)	22,7	33,0	31,1	45,3	37,0
C(11) – C(10) – C(20) – C(21)	158,9	149,1	150,2	6,1	5,4

A respeito dos resultados dos ângulos de torção apresentados na **Tabela 5**, foi citado somente quatro resultados, devido serem os únicos átomos coincidentes dos ângulos de torção com a estrutura apresentada pelo Tomita e seus colaboradores.

Neste estudo, (Quina, 2007) e colaboradores obtiveram resultados excelentes com erros de até 0,1 unidades de pka, têm seus respectivos valores teóricos baseados no ciclo termodinâmico semelhantemente ao adotado neste trabalho (esquema 1). A principal diferença baseia-se que este trabalho foi realizado a nível computacional semi-empírico utilizando como modelo de solvatação Cosmo, enquanto que Quina e seus colaboradores trabalharam com métodos ab-initio utilizando especificamente a teoria DFT com o funcional B3LYP/ 6-31G+(d). Para trabalhar na fase aquosa Quina (2007) utilizou o modelo de solvatação IEFPCM.

b) Parâmetros Termodinâmicos e cálculo dos pKa.

Em todos os casos apresentados a seguir, o detalhamento dos cálculos e seus respectivos resultados estão apresentados no apêndice.

*Cálculo da Energia Livre de Gibbs (ΔG) da molécula da rutina neutra

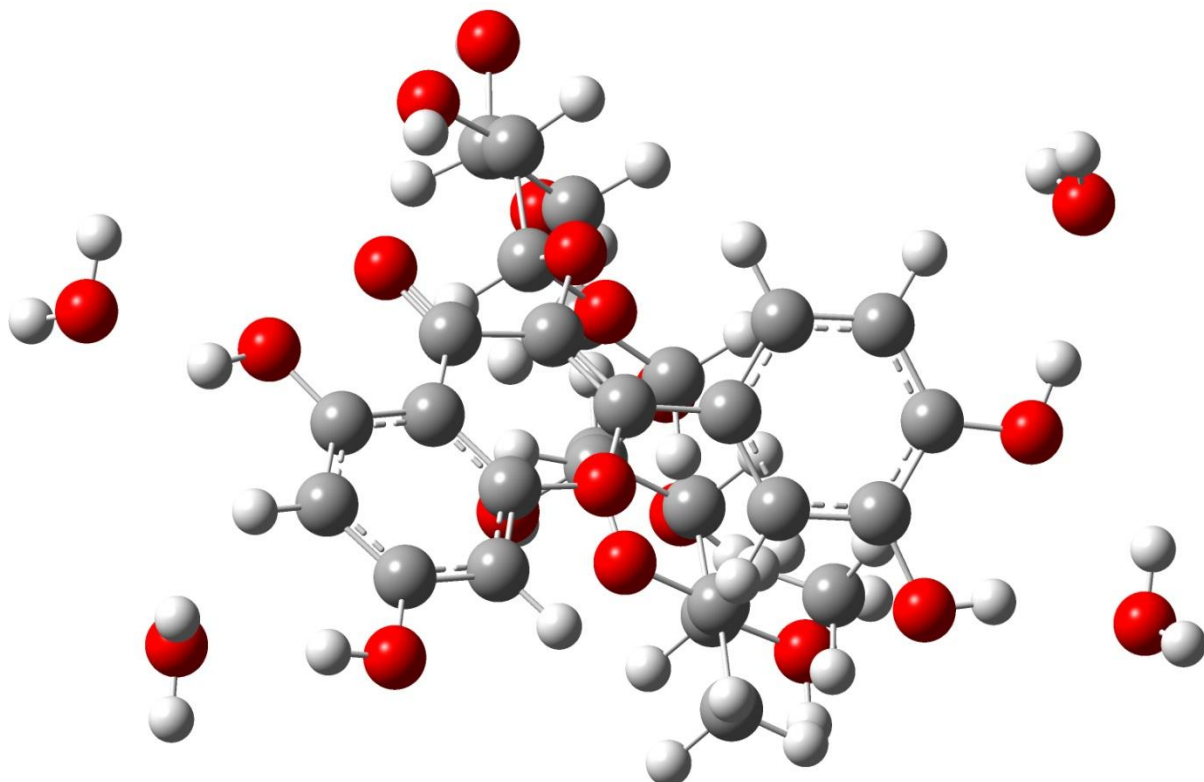


Figura 14. Rutina neutra otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água.

A molécula da rutina neutra com a inserção de 4 moléculas de água está representada na **Figura 14**. Observando a figura, pode-se notar que as moléculas de água que estão situadas nas posições 7, 4', 3' e 5 estão localizadas nesses pontos onde ocorrerá a desprotonação da molécula da rutina. Em todos os casos após finalizar os cálculos com método semi-empírico AM1, utilizou-se o arquivo de saída “out” para iniciar os cálculos teóricos com o método semi-empírico PM6.

***Cálculo da Energia Livre de Gibbs (ΔG) da molécula da rutina⁻¹**

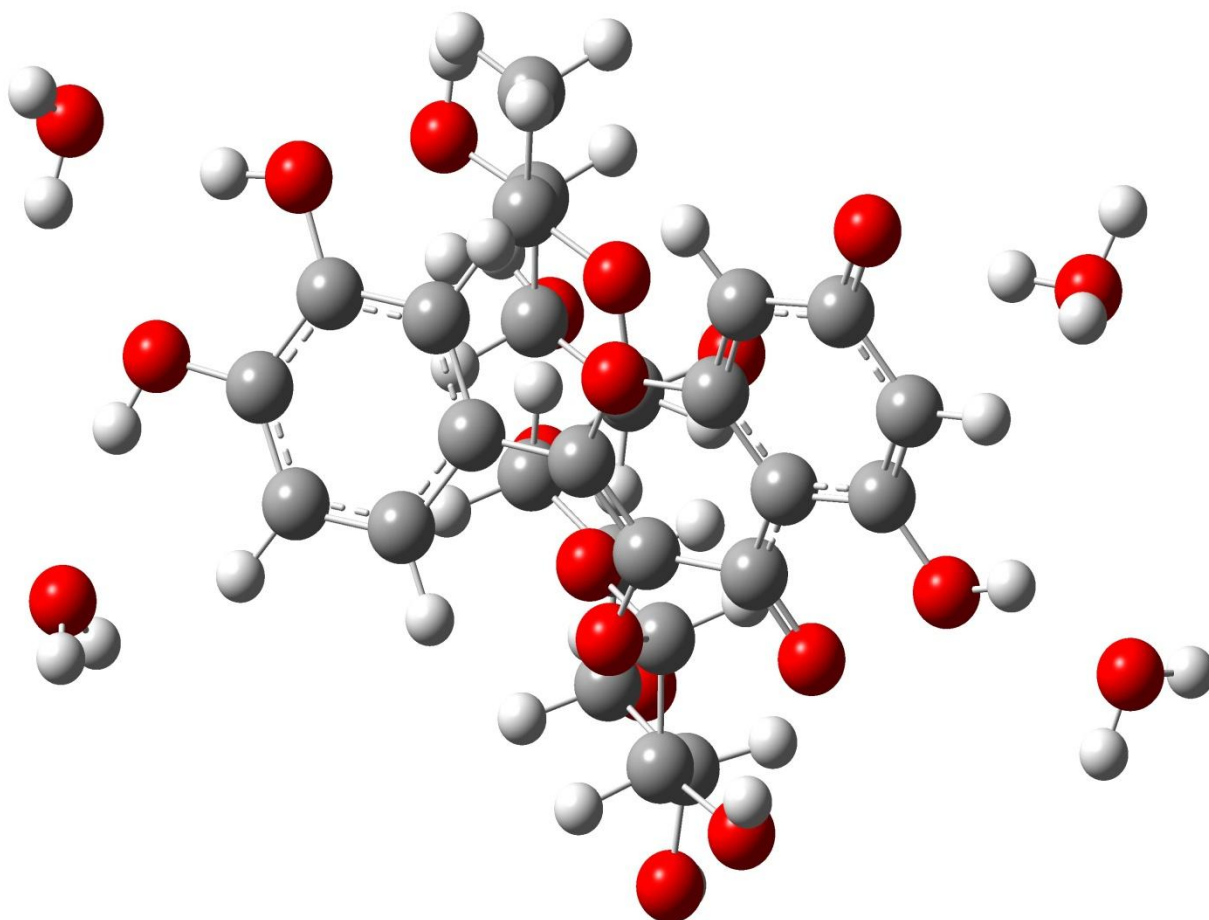


Figura 15. Rutina com carga -1 otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água

A molécula da rutina com a inserção de 4 moléculas de água foi otimizada com o método semi-empírico AM1 retirando o átomo de hidrogênio da estrutura da molécula da rutina localizada na posição 7 (primeiro átomo de hidrogênio a ser desprotonado), e acrescentando este hidrogênio retirado à molécula de água localizada em frente a posição 7, formando o íon hidrônio e deixando assim, a molécula da rutina com carga -1 (RUT^{-1}) como mostra a **figura 15**. Após realizar os cálculos com método AM1 utilizou o arquivo de saída para iniciar os cálculos de energia mínima, otimização e propriedades termodinâmicas com o método semi-empírico PM6.

***Cálculo da Energia Livre de Gibbs (ΔG) da molécula da rutina⁻²**

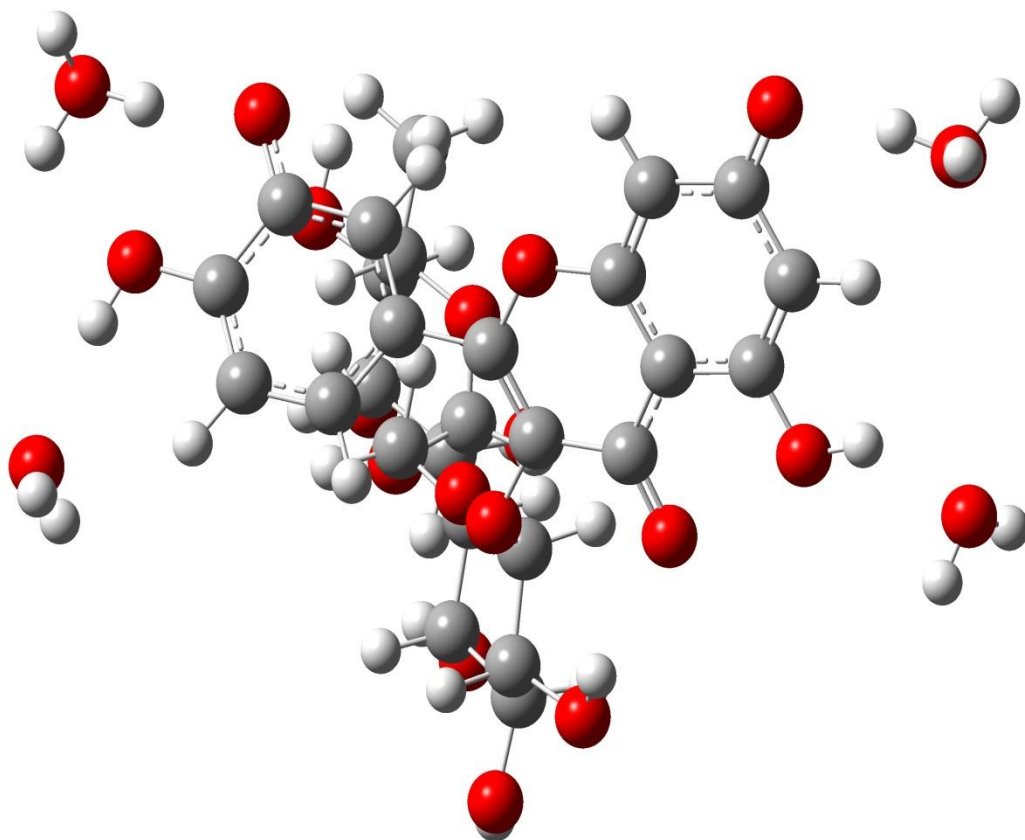


Figura 16. Rutina com carga -2 otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água

Na **Figura 16**, a molécula da rutina com a inserção de 4 moléculas de água foi otimizada com a abstração dos átomos de hidrogênio da estrutura da molécula da rutina neutra das posições 7 e 4', assim conseqüentemente foram formados dois íons hidrônio como pode ser observado na figura, deixando a molécula de rutina desprotonada com carga -2 (RUT^{-2}) utilizando neste caso o método AM1. Para a realização de todos os cálculos semi-empíricos com o método PM6 ocorreu o mesmo procedimento utilizado para a rutina com carga -1.

***Cálculo da Energia Livre de Gibbs (ΔG) da molécula da rutina⁻³**

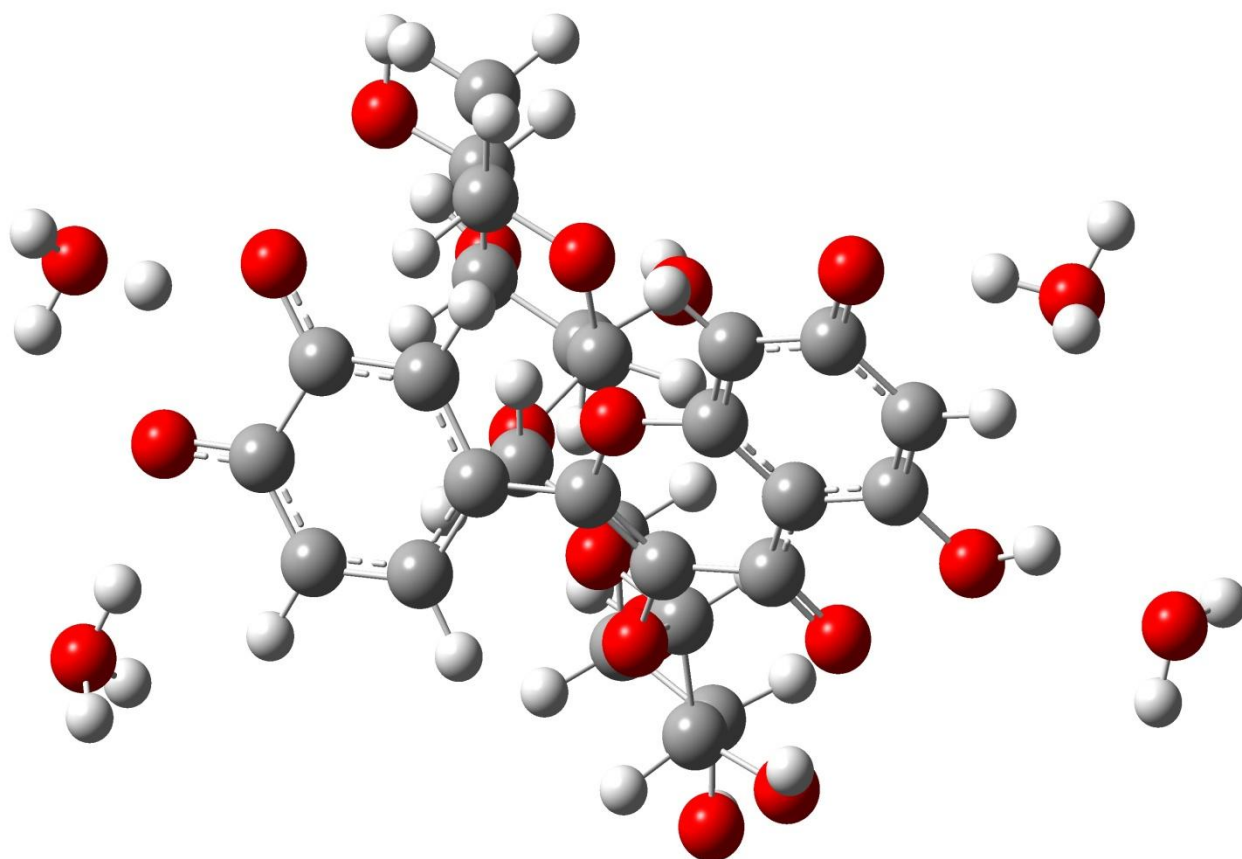


Figura 17. Rutina com carga -3 otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água

A molécula da rutina com a inserção de 4 moléculas de água foi otimizada com o método AM1 retirando os átomos de hidrogênio da estrutura da molécula da rutina neutra das posições 7, 4' e 3' e a partir dessa abstração, ocorreu a inserção de um hidrogênio em cada molécula de água localizada em frente ao átomo de hidrogênio retirado, formando três íons hidrônio, deixando a molécula da rutina desprotonada com carga -3 (RUT^{-3}), como mostra a **Figura 17**. Como citado anteriormente após finalizar os cálculos com o método AM1, iniciou-se todos os cálculos teóricos com o método semi-empírico PM6.

***Cálculo da Energia Livre de Gibbs (ΔG) da molécula da rutina⁻⁴**

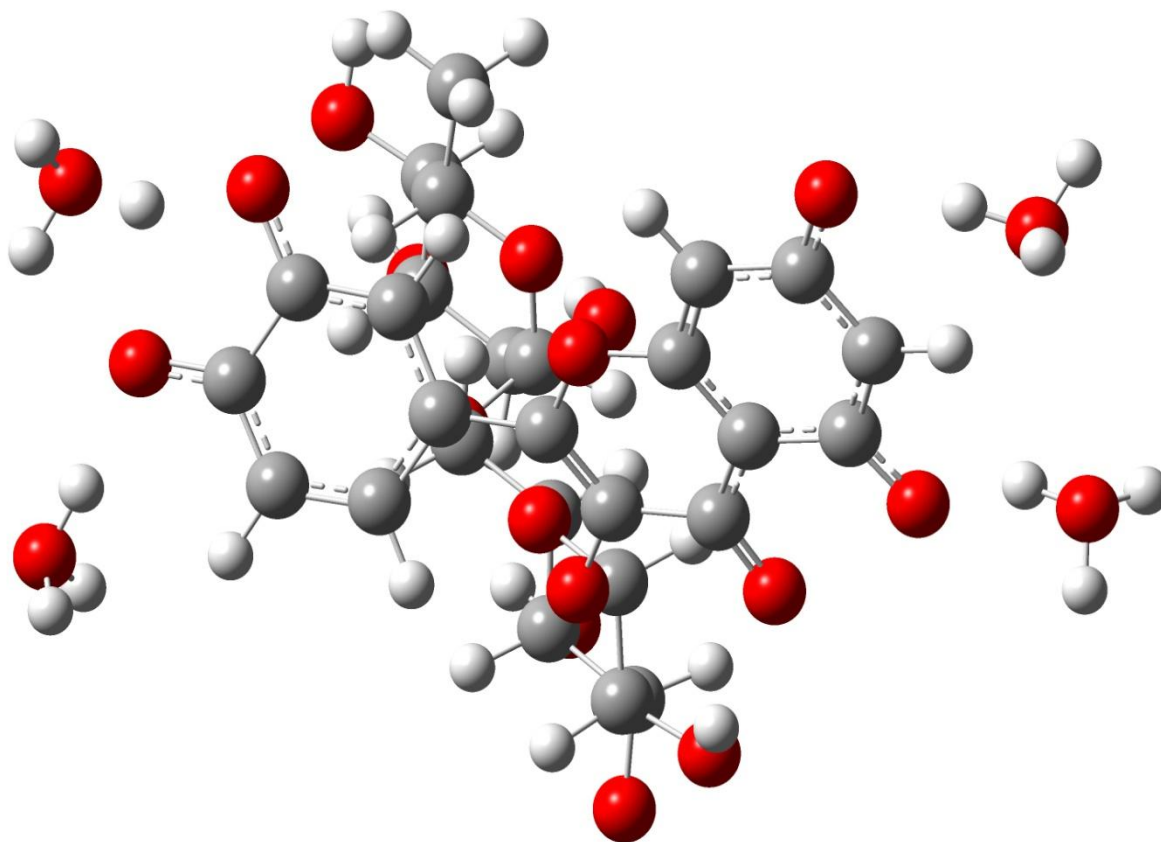


Figura 18. Rutina com carga -4 otimizada usando o método AM1, com a inserção de 4 moléculas de água

Na **Figura 18**, a molécula da rutina com a inserção de 4 moléculas de água foi otimizada com a retirada dos átomos de hidrogênio da estrutura da molécula da rutina localizada nas posições 7, 4', 3' e 5, que foram adicionados as moléculas de água que estão no cluster continuum, formando quatro íons hidrônio deixando a molécula da rutina desprotonada com carga -4 (RUT^{-4}) utilizando o método AM1. Ao final dos cálculos utilizando o método AM1, iniciaram-se os cálculos semi-empíricos PM6.

Tabela 6. Energia Livre de Gibbs (G) para a rutina, a partir de cálculos feitos com o método semi-empírico AM1 (AMPAC)

	G (kcal/mol)				
	Neutra	Primeira Ionização (pK _{a1})	Segunda Ionização (pK _{a2})	Terceira Ionização (pK _{a3})	Quarta Ionização (pK _{a4})
Molécula na fase gasosa (300 K)	-64, 46	- 59, 57	- 64, 35	- 64, 40	- 64, 41
Molécula Solvatada com COSMO (300 K)	-63, 72	-56, 65	-58, 39	-54, 46	-54, 28
(ΔG) (Kcal/mol)	-0,74	-2, 92	-5, 96	-9, 94	-10, 13

Tabela 7. Energia Livre de Gibbs (G) para a rutina, a partir de cálculos feitos com o método semi-empírico PM6 (MOPAC)

	G (kcal/mol)				
	Neutra	Primeira Ionização (pK _{a1})	Segunda Ionização (pK _{a2})	Terceira Ionização (pK _{a3})	Quarta Ionização (pK _{a4})
Molécula na fase gasosa (300 K)	-61,28	-60,50	-62,21	-61,50	-61,20
Molécula Solvatada com COSMO (300 K)	-60,80	-58,96	-58,70	-60,21	-61,06
(ΔG) (kcal/mol)	-0,48	-1,54	-3,51	-1,29	-1,14

***Cálculo da Energia Livre de Gibbs (ΔG) da molécula do gás hidrônio e parâmetros geométricos**

As geometrias obtidas para o íon hidrônio para os métodos semi-empíricos AM1 e PM6 estão mostradas na **Tabela 8**. A geometria piramidal do estado fundamental apresenta ótima concordância no que tange a distância de ligação, pois para a fase gás comparada com a experimental ocorre uma diferença de 0,011 Å com erro relativo de 1,1% para o método AM1.

Para os resultados apresentados sobre os ângulos de ligação foram aceitáveis. O erro relativo foi de 7,8% para o ângulo O-H na fase gás. Segundo a literatura os métodos semi-empíricos não são adequados para representar os ângulos de ligação ou torção em moléculas com afinidades por prótons (Dewar, 1985).

Os valores apresentados do método PM6 não obtiveram tanta eficiência tomando por base com o método AM1 e comparado com os dados

experimentais, pois o método PM6 apresentou certa deficiência para otimização e para os parâmetros geométricos. A respeito da distância de ligação na fase gás o erro relativo foi de 1,6% no que diz respeito ao ângulo de ligação o erro relativo na fase gás é de 7,8%.

Para os valores teóricos do íon hidrônio estão comparados com os valores experimentais demonstrados na **Tabela 8**.

Tabela 8. Valores das distâncias e ângulos de ligação na fase gás vs. valores experimentais (Liu, 1986)

Íon Hidrônio (fase gás)	Experimental	Teórico		Erro Relativo%	
		AM1	PM6	AM1	PM6
Comprimento de ligação (Å) O(1)-H(2)	0,976	0,987	0,960	1,1	1,6
Ângulo de ligação (°) O(1)-H(2)	111,3	120	120	7,8	7,8

Na **Tabela 9** encontram-se os valores teóricos dos pK_{as} calculados a partir da equação 32.

Tabela 9. Valores de pK_{as} calculados vs. valores experimentais

pK_a	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}
(teórico/semi-empírico AM1)	3,69	12,82	12,78	7,38
(teórico/ pK_a -PM6)**	6, 76	8, 20	6, 89	9, 97
(teórico/ pK_a -PM6)***	7,41	9,88	5,03	7,10
(teórico/ pK_a -PM6)****	7,92	8,52	5,56	6,50
(experimental)(William, 1952)	7,40±0,04	8,70±0,05	12,6±0,1	14,1±0,1

** Cálculo dos pK_a (direto) empregando o modelo PM6 em cálculo “single point”, a partir de estrutura otimizada com método semi-empírico PM6, empregando a palavra-chave pka (MOPAC);

*** Cálculo dos pK_a (indireto com 1 moléculas de água em cada posição de desprotonação)) executado desde a otimização empregando o modelo PM6 de forma “indireta”, utilizando o cluster-continuum (MOPAC).

**** Cálculo dos pK_a (indireto com 2 moléculas de água em cada posição de desprotonação) executado desde a otimização empregando o modelo PM6 de forma “indireta”, utilizando o cluster-continuum (MOPAC).

Os valores do teórico/semi-empírico AM1 do pacote AMPAC, foram calculados utilizando o modelo de Solvatação COSMO com a metodologia do cluster-continuum com a inserção de 4 moléculas de água ao redor da estrutura da rutina (Pliego, 2001). Ao final do processo de rodar os cálculos teóricos, foram retirados os resultados das propriedades termodinâmicas do arquivo de saída “out”, utilizando como ferramenta a equação 32, para chegar aos supostos valores dos pK_{as} .

Os valores teóricos do pK_a -PM6 foram obtidos de forma “direta” a partir do pacote MOPAC; os cálculos instruído segundo a metodologia indicada no manual do MOPAC, utilizando a otimização com o método PM6 na fase gás e na fase hidratada, sendo após esse procedimento, iniciado os cálculos a partir do “single point” da fase hidratada, utilizando a palavra chave “ pK_a ”.

Os resultados do cálculo dos pK_{as} – PM6 de forma “indireta” foram obtidos a partir da metodologia inicial utilizando o arquivo de saída “out” do cálculo semi-empírico AM1 (AMPAC), com o cluster continuum com a inserção de 4 moléculas de água. Com o método semi-empírico PM6 (MOPAC) a molécula da rotina foi otimizada e calcularam-se as propriedades termodinâmicas. Os dados das propriedades termodinâmicas foram utilizados como ferramenta a equação 32 para chegar ao valor suposto do pK_a .

Tabela 10. Erros relativos dos valores calculados com relação aos valores experimentais.

Erro relativo para os valores calculados pelos métodos AM1 e PM6				
Método	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}
AM1*	50,13%	47,35%	1,42%	47,65%
PM6**	8,64%	5,74%	45,71%	29,29%
PM6***	0,13%	13,56%	60,07%	49,64%
PM6****	7,02%	2,06%	55,87%	53,90%

* Cálculo dos pK_a executado desde a otimização empregando o modelo AM1 e o ciclo termodinâmico apresentado na Seção Experimental, utilizando o cluster-continuum COSMO.

** Cálculo dos pK_a empregando o modelo PM6 e a palavra-chave pK_a (MOPAC), em cálculo “single point”, a partir de estrutura otimizada com método DFT;

*** Cálculo dos pK_a (1 moléculas de água em cada posição de desprotonação) executado desde a otimização empregando o modelo PM6 e o ciclo termodinâmico apresentado na Seção Experimental, utilizando o cluster-continuum COSMO (MOPAC).

**** Cálculo dos pK_a (2 moléculas de água em cada posição de desprotonação) executado desde a otimização empregando o modelo PM6 de forma “indireta”, utilizando o cluster-continuum (MOPAC).

A partir dos resultados apresentados na **Tabela 10**, pode-se analisar que a metodologia utilizada nesse trabalho apresentou uma eficácia satisfatória, sobretudo empregando-se o modelo PM6. O resultado do pK_a -PM6 calculado

de forma direta pelo programa MOPAC apresentou bons resultados para o cálculo dos pK_{a1} e pK_{a2} apresentando um erro de 0,64 e 0,5 unidade de pK_a .

O cálculo teórico semi-empírico AM1 apresentou o seu melhor resultado no cálculo do pK_{a3} e os resultados piores comparado com o método semi-empírico PM6 de forma “indireta” para o cálculo do pK_{a1} , pK_{a2} e pK_{a4} já que era previsto, pois o método semi-empírico PM6 descreve melhor os valores de energia que o método semi-empírico AM1. Isso pode ser observado a partir dos valores do pK_{as} , que está diretamente ligado aos valores da energia livre de Gibbs.

Os resultados que apresentaram uma melhor concordância com os resultados experimentais foram o PM6 (indireto com 1 molécula de água em cada região de desprotonação) para o pK_{a1} (0,13%) e o PM6 (2 moléculas de água em cada posição de desprotonação) para os valores do pK_{a2} (2,06%). Esse resultado já era esperado, pois o método semi-empírico PM6 apresenta uma melhor atualização matemática devido à equação de correção de repulsão caroço-caroço em relação ao método semi-empírico AM1. O método semi-empírico PM6 descreve com uma melhor qualidade os resultados da molécula da rotina quando apresenta uma carga pequena, esse fato é notório observando a **Tabela 9** aonde o erro relativo vai aumentando à medida que a molécula vai perdendo próton. Para o cálculo do pK_{a3} o método semi-empírico AM1 apresentou resultado melhor com erro relativo 1,42% e para o cálculo pK_{a4} o método semi-empírico PM6 de forma “indireta” com a inserção de 1 molécula de água em cada ponto de desprotonação apresentou resultado melhor com um erro relativo 29,29 %.

Uma observação notória, é que a entropia no gás é maior que em água assim o valor do $G_{(g)}$ é maior que $G_{(sol)}$ conseqüentemente o resultado do $G_{(sol)}$ tende a ser negativo, por esse motivo multiplicou-se o resultado do $G_{(sol)}$ por -1 a constante ($RT \ln 10$) para que o $G_{(sol)}$ ficasse com o valor positivo, como exemplificado no apêndice.

5. Conclusões

Em suma, neste trabalho utilizou-se uma metodologia que possui uma concordância relativamente satisfatória para a obtenção de valores de pK_a para moléculas solvatadas. Neste trabalho, a metodologia cluster-continuum (Pliego, 2001) e o ciclo termodinâmico (Pliego, 2003) foram devidamente adequados e utilizados para a determinação dos pK_{as} da rutina, um ácido fraco tetraprótico da classe dos flavonóides.

Os resultados apresentados nesta dissertação demonstram que a utilização o ciclo termodinâmico como fundamentação teórica, o cluster continuum utilizado para uma melhor descrição das interações da molécula, assim como a aplicação da mecânica quântica para se estimar os parâmetros geométricos e termodinâmicos, mostraram certa convergência equiparado com os valores experimentais.

Grande parte dos trabalhos citados na literatura para o cálculo teórico do pK_a demonstram a utilização de equações muito complexas, um trabalho utilizando equações matemáticas de correção para tratar os resultados obtidos, a dependência de um custo computacional relativamente alto, além de na maioria dos trabalhos o estudo basear-se por uma maior facilidade em moléculas pequenas.

O método semi-empírico PM6 apresentou resultado melhores para o cálculo do pK_{a1} , pK_{a2} e pK_{a4} . O valor do pK_{a1} com a inserção de 1 molécula de água em cada posição de desprotonação apresentou resultado excelente com um erro de 0,01 unidade de pK_a . Para o cálculo do pK_{a2} a forma indireta o melhor resultado apresentado foi do calculo com inserção de 2 moléculas de água em cada posição de desprotonação da estrutura da molécula da rutina com um erro de 0,18 unidade de pK_a . Para o cálculo do pK_{a4} o melhor método utilizado foi o que apresentou a metodologia de forma direta utilizando a palavra chave pK_a no programa MOPAC. O valor não foi satisfatório, pois obteve-se um erro de 4,18 unidade de pK_a . O método semi-empírico AM1 apresentou resultado melhor que o método semi-empírico PM6 somente no cálculo do pK_{a3} com um erro de 0,18 unidade de pK_a .

Os resultados apresentados têm um erro relativo satisfatório, apesar como mencionado anteriormente, na literatura encontram-se resultados mais

aceitáveis. Dentre os trabalhos publicados nesta área, o que se observa é a dificuldade para a realização de uma metodologia satisfatória para abranger diversos sistemas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACKER, S.A.B.E.V.; BERG, D.J.V.B.; TROMP, M.N.J.L.; GRIFFIOEN, BENNEKOM, W.P.V.; VIJGH, W.J.F.V.D.; BAST, A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biol. Med.*, Orlando, v.20, n.3, p.331-342, 1996.
2. ARAÚJO, M. Farmacoterapia nas doenças vasculares periféricas. In: PITTA, G. B.B., CASTRO, A. A., BURIHAN, E., editores. *Angiologia e cirurgia vascular: guia ilustrado*. Maceió: UNCISAL/ECMAL & LAVA; 2003. Disponível em: URL:<http://www.lava.med.br/livro>.
3. BARONI, V.; COSSI, M.; *J. Phys. Chem.* 1998, v.102, 1995-2001.
4. BORS, W.; HELLER, W.; MICHEL, C.; SARAN, M. *Methods Enzymol.* San Diego, v.186, p.343-355, 1990.
5. BROUILLARD, R.; MAZZA, G.; SAAD, Z.; ALBRECHT-GARY, A.M.; CHEMINAT, A. The copigmentation reaction of anthocyanins: a microprobe for the structural study of aqueous solutions. *J. Am. Chem. Soc.*, Columbus, v.111, p.2604-2610, 1989.

6. BRUNETON, J. Flavonoids. In: Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. 2.ed. Paris: Lavoisier; Secaucus: Intercept, p.225-405. 1999.
7. CEMIG. Guia Ilustrado de Plantas do Cerrado de Minas Gerais. 78 p. 1992.
8. CHAVES, M.M.F.; USBERTI, R. Prediction of *Dimorphandra mollis* Benth. ("faveiro") seed longevity. *Rev. Bras. Bot.*, São Paulo, v.26, n.4, p.557-564, 2003.
9. COSTA, A. F. Farmacognosia. Vol. II. 2^a ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1978.
10. COUCH, J.F.; NAGHSKI, J.; KREWSON, C.F. Buckwheat as a source of rutin. *Science*, Washington, v.103, p.197-198, 1946.
11. CRAMER, C. J.; *Essentials of Computational Chemistry*. 2nd ed., John Wiley and Sons: West Sussex, 2004.
12. DEWAR, M. J. S.; ZOEBISCH, E. G.; HEALY, E. F.; STEWART, J. J. P.; *J. Am. Chem. Soc.*, v.107, p. 3902.1985.
13. DUARTE, J.; PEREZ-VIZCAINO, F.; ZARZUELO, A.; JIMENEZ, J.; TANARGO, J. Vasodilator effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, Amsterdam, v.239, p.1-7, 1993.

14. FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 3ª ed. São Paulo: Organização Andrei Editora S.A.,1977.

15. FERREIRA, G. D. de C. e. Desenvolvimento de processo para obtenção de extrato de rutina. Relatório Final de atividades de Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial. CETEC: Belo Horizonte, 2004.

16. FORESMAN, J.B.; FRISCH, E.; Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods. Second edition. Gaussian Inc: Pittsburgh, 1996.

17. GRIFFITH, J. Q; KREWSON C. F; NAGHSKI, J. Rutin and Related Flavonoids. Mack Publishing Company, Easton, 1955.

18. G. A. Segal in Semiempirical Methods of Electroni Structure Theory, Plenum, New York, 1977.

19. HARBORNE, J.B. The flavonoids. In: eds. The flavonoids: advances in research since 1980. New York: Chapman and Hall, 1988.

20. HOFFMAN, R., "An Extended Huckel Theory", J. Chem. Phys. v. 39. n.6, p. 1397-1412, 1963.

21. HOLLMAN, P.C.H.; HERTOOG, M.G.L.; KATAN, M.B. Analysis and health effects of flavonoids. Food Chem., Amsterdam, v.57, n.1, p.43-46, 1996.

22. HOWARD, W. L., WENDER. S. H. *J. Am. Chem. Soc.* v.74. n. 1. p. 143-144,1952.
23. JENSEN, F. *Introduction to Computational Chemistry, Second Edition*, John Wiley & Sons, 2007.
24. JIN, G.-Z., YAMAGATA, Y., TOMITA, K.-I.; Structure of Rutin Pentamethanol. *Chem. Pharm. Bull.* v.38. n. 2. p. 297-300.1990.
25. KHALIFA, T.I.; MUHTADI, F.J.; HASSAN, M.M.A. Rutin. *Anal. Profiles Drug Subst., New York*, v.12, p.623-675, 1983.
26. KLAMT, A. *J. Phys. Chem.* v. 99, p,2221-2235.1995.
27. KRO'Ł, M.; WRONA M.; PAGE C. S., BATES P. A., *J. Chem. Theory Comput.* 2006, 2, 1520-1529
28. LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.N. *Biossínteses de aminoácidos, nucleotídeos e moléculas relacionadas. Princípios de bioquímica.* 2.ed. São Paulo: Sarvier, p.523-533. 1995.
29. LEVINE, I.N.; *Quantum Chemistry*, 5th ed., Prentice Hall: New Jersey, 2000.
30. LIU, D.-J.; OKA T. E.; SEARS T. J.;*J. Chem. Phys.* v. 84, p.1312. 1986.

31. MADEIRA, F. A., G. D. C. FERREIRA, J.P.V. LEITE, MACHADO, A., ABREU, W. M. Inventário de espécies de *Dimorphandra* do cerrado mineiro utilizadas para a obtenção de rutina e otimização do seu processo produtivo In: Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, XVII, 2002, Cuiabá. Resumos. Cuiabá: 2002.
32. Manual Mopac, <http://openmopac.net/manual/index.html>
33. MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M.J. Revisión: Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp., Madrid, v.17, n.6, p.271-278, 2002.
34. MARTINS, E. R. *et al.* Plantas Mediciniais. Viçosa:UFV, Imprensa Universitária. p. 220, 1994
35. McQUARRIE, D. A.; SIMON, J. D. Physical Chemistry – A molecular approach. Sausalito, CA: University Science Books, Cap. 24. 1997.
36. MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C. Effects of flavonoids on immune and inflammatory function. Biochem. Pharmacol., Amsterdam, v.43, p.1167-1179, 1992
37. OOMAH, B.D.; MAZZA, G. Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. J. Agric Food Chem., Columbus, v.44, p.1746-1750, 1996.
38. PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A.K. Flavonoids as medicinal agents: recent advances. Fitoterapia, Amsterdam, v.57, n.5, p.371-389, 1991.

39. PLIEGO JR. J. R. RIVEROS J. M.: Chem. Phys. A. v.105, p.7241-7247. 2001.
40. PLIEGO JR. J. R.: Chem. Phys. Lett. v. 367 p.145-149. 2003.
41. PLIEGO, J.R. JR., RIVEIROS J.M., J. Phys. Chem. A, v. 105. n. 7241. 2001.
42. POPLE, J.A. BEVERIDGE, D. L., Approximate Molecular Orbital Theory, Mgraw-Hill, New York, 1970.
43. QUINA, F. H. ADILSON, A. F., SHIMIZU, K., DIAS, L. G.. J. Braz. Chem. Soc., v. 18, n. 8, p.1537-1546, 2007.
44. RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; BOLWELL, G.P.; BRAMLEY, P.M.; PRIDHAM, J.B. The relative antioxidant activities of plantderived polyphenolic flavonoids. Free Radical Res., Basingstoke, v.22, n.4, p.375-383, 1995.
45. RIZZINI, C. T.; MORS, W. B. Botânica Econômica Brasileira. 2 ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, p.93. 1995.
46. RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A.; FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na conce.

47. RUSZNYÁK, S.; SZENT GYÖRGYI, A. Vitamin P: flavonols as vitamins. Nature Basingstoke, v.138, p.27, 1936.

48. SALES, I. Rutina. Diário do Nordeste_Suplementos, Fortaleza, 19 de julho de 1999. Disponível em:<http://diariodonordeste.globo.com/1999/07/19/050028.htm>. Acesso em: 28/03/2004.

49. SANTOS, H. L. dos; FERREIRA, M. B.; D'ASSUMPÇÃO, W. R. C.; GAVILANES, M. L.; COUTO, E. de S.; SANTOS, F. C. Espécies arbóreas responsáveis por intoxicação em bovinos _ I: *Dimorphandra mollis* Benth e *Dimorphandra wilsonii* Rizz. Trabalhos do XXV Congresso Nacional de Botânica, Rio de Janeiro, p. 573-585. 1977. (Separata).

50. SHAHIDI, F. "Natural antioxidants: an overview. In: Natural antioxidants: chemistry, health effects and applications". Champaign: AOCS Press, p.1-11.1997.

51. SIMÕES, C. M. O. (organizadora). Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2000.

52. STEWART J. J. P., *Optimization of Parameters for Semiempirical Methods V: Modification of NDDO Approximations and Application to 70 Elements* J. Mol. Modeling 13, p. 1173-1213. 2007.

53. SZABO, A.; OSTLUND, N.S.; "Modern Quantum Chemistry: Introduction To Advanced Electronic Structure Theory", 1^a ed., Dover Publications: New York,

1996.

54. THOMSON, C.; BLOCH, A.; HASLER, C.M. Position of the American Dietetic Association: functional foods. *J. Am. Diet. Assoc.*, Orlando, v.99, n.10, p.1280-1281, 1999 .

55. TOMASI, J.; PERSICO, M.; *Chem. Rev.* v. 94, p. 2027-2094. 1994.

56. TOMASI, J.; MENUCCI, B.; CAMMI, R.; *Chem. Rev.* v.105, p. 2999-3093. 2005.

57. TREASE, G.E.; EVANS, W.C. Phenols and phenolic glycosides. In: *Pharmacognosy* 14.ed. London: W.B. Saunders, 1996. p.218-254

58. YAO, L.H.; JIANG, Y.M.; SHI, J.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; DATTA, N.; SINGANUSONG, R.; CHEN, S.S. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum. Nutr.*, v.59, p.113-122, 2004.

APÊNDICES

Cálculo do pKa 1 com AM1

$$G_{(g)} = G_{(g)}(\text{RUT}^- + (N-1)\text{H}_2\text{O}) + G_{(g)}(\text{H}_3\text{O}^+) - G_{(g)}(\text{RUTH} + n\text{H}_2\text{O})$$

$$G_{(g)} = (-59,57 - 12,07) - (-64,46)$$

$$G_{(g)} = -5,263 \text{ Kcal/Mol}$$

$$\Delta\Delta G_{(\text{solv})} = [(\Delta\text{RUT}^- + \Delta\text{H}_3\text{O}^+) - (\Delta\text{RUTH})]$$

$$\Delta\Delta G_{(\text{solv})} = [-2,92 + 0,02058] - (0,74)$$

$$\Delta\Delta G_{(\text{solv})} = -2,15942 \text{ Kcal/Mol}$$

$$G_{(\text{solv})} = G_{(g)} + \Delta G_{(\text{solv})}$$

$$pK_a = \frac{\Delta G_{\text{solv}}}{RT \ln 10} - \text{Log}[\text{H}_2\text{O}]$$

$$pK_a = \frac{-5,263 - 2,159}{-1,364} - 1,744606$$

$$pK_a = 3,69$$

Cálculo do Pk2 com AM1

$$G_{(g)} = G_{(g)}(\text{RUT}^{-2} + {}_{(N-1)}\text{H}_2\text{O}) + G_{(g)}(\text{H}_3\text{O}^+) - G_{(g)}(\text{RUT}^{-1} + {}_n\text{H}_2\text{O})$$

$$G_{(g)} = (-64,35 - 12,07) - (-59,57)$$

$$G_{(g)} = -16,85 \text{ Kcal/Mol}$$

$$\Delta\Delta G_{(\text{solv})} = [(\Delta\text{RUT}^{-2} + \Delta\text{H}_3\text{O}^+) - (\Delta\text{RUT}^{-1})]$$

$$\Delta\Delta G_{(\text{solv})} = [-5,96 + 0,02058] - (-2,92)$$

$$\Delta\Delta G_{(\text{solv})} = -3,01942 \text{ Kcal/Mol}$$

$$G_{(\text{solv})} = G_{(g)} + \Delta G_{(\text{solv})}$$

$$pK_a = \frac{\Delta G_{\text{solv}}}{RT \ln 10} - \text{Log}[\text{H}_2\text{O}]$$

$$pK_a = \frac{-16,85 - 3,02}{-1,364} - 1,744$$

$$pK_a = 12,82$$

Cálculo do Pk3 com AM1

$$G_{(g)} = G_{(g)}(\text{RUT}^{-3} + {}_{(N-1)}\text{H}_2\text{O}) + G_{(g)}(\text{H}_3\text{O}^+) - G_{(g)}(\text{RUT}^{-2} + {}_n\text{H}_2\text{O})$$

$$G_{(g)} = (-64,40 - 12,07) - (-64,35)$$

$$G_{(g)} = -12,12 \text{ Kcal/Mol}$$

$$\Delta\Delta G_{(solv)} = [(\Delta RUT^{-3} + \Delta H_3O^+) - (\Delta RUTH^{-2})]$$

$$\Delta\Delta G_{(solv)} = [-9,94 + 0,02058] - (2,92)$$

$$\Delta\Delta G_{(solv)} = -6,999 \text{ Kcal/Mol}$$

$$G_{(sol)} = G_{(g)} + \Delta G_{(solv)}$$

$$pK_a = \frac{\Delta G_{sol}}{RT \ln 10} - \text{Log}[H_2O]$$

$$pK_a = \frac{-12,82 - 6,999}{-1,364} - 1,744606$$

$$pK_a = 12,78$$

Cálculo do Pk4 com AM1

$$G_{(g)} = G_{(g)}(RUT^{-4} + (N-1)H_2O) + G_{(g)}(H_3O^*) - G_{(g)}(RUT^{-3} + nH_2O)$$

$$G_{(g)} = (-64,61 - 12,07) - (-64,40)$$

$$G_{(g)} = -12,28 \text{ Kcal/Mol}$$

$$\Delta\Delta G_{(solv)} = [(\Delta RUT^{-4} + \Delta H_3O^+) - (\Delta RUTH^{-3})]$$

$$\Delta\Delta G_{(solv)} = [-10,13 + 0,02058] - (9,94)$$

$$\Delta\Delta G_{(solv)} = -0,16942 \text{ Kcal/Mol}$$

$$G_{(sol)} = G_{(g)} + \Delta G_{(solv)}$$

$$pK_a = \frac{\Delta G_{sol}}{RT \ln 10} - \text{Log}[H_2O]$$

$$pK_a = \frac{-12,28 - 0,16942}{-1,364} - 1,744606$$

$$pK_a = 7,38$$

Tabela 1.7- Valores termodinâmicos da rotina neutra empregando o método AM1

Rutina Neutra	Molécula isolada	Molécula solvatada com Cosmo
ΔH (Kcal/mol)	35, 438305	34, 362120
ΔS (Kcal/mol/ K)	0, 332998	0, 3269525
ΔG (Kcal/mol)	-64.461095	-63, 72348

*Temperatura a 300 K

Molécula isolada

Molécula solvatada com Cosmo

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = 34, 362120 - 300. 0, 3269525$$

$$\Delta G = 35, 438305 - 300. 0, 332998$$

$$\Delta G = -64,461095 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta G = -63,72348 \text{ kcal/mol}$$

Tabela 1.8 - Valores termodinâmicos da rotina neutra empregando o método AM1.

pK_{a1}	Molécula isolada	Molécula solvatada com Cosmo
ΔH (Kcal/mol)	33, 911466	31, 532091
ΔS (Kcal/mol/ K)	0, 311611	0, 293965
ΔG (Kcal/mol)	- 59, 571834	-56, 657409

*Temperatura a 300 K

Molécula na fase gás**Molécula Solvatada com cosmo**

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = 31,532091 - 300.0,293965$$

$$\Delta G = 33,911466 - 300.0,311611$$

$$\Delta G = -59,571834 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta G = -56,657409 \text{ Kcal/mol}$$

 $\Delta \Delta G$ de Hidratação Rutina ¹⁻

$$\Delta \Delta G = -59,571834 - (-56,657409)$$

$$\Delta (\Delta G) = -2,914425 \text{ Kcal/mol}$$

Tabela 1.9 - Valores termodinâmicos da rutina com carga -2 empregando o método AM1

pK_{a2}	Molécula isolada	Molécula solvatada com Cosmo
ΔH (Kcal/mol)	35,417351	31,826712
ΔS (Kcal/mol/ K)	0,332580	0,300737
ΔG (Kcal/mol)	-64,356649	-58,394388

*Temperatura a 300 K

Molécula na fase gás**Molécula Solvatada com COSMO**

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = 35,417351 - 300.0,332580$$

$$\Delta G = 31,826712 - 300.0,300737$$

$$\Delta G = -64,356649 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta G = -58,394388 \text{ Kcal/mol}$$

 $\Delta \Delta G$ de Hidratação para a (Rutina) ²⁻

$$\Delta (\Delta G) = -64,356649 - (-58,394388)$$

$$\Delta (\Delta G) = -5,962261 \text{ Kcal/mol}$$

Tabela 2.0 - Valores termodinâmicos da rutina com carga -3 empregando o método AM1

pK_{a3}	Molécula isolada	Molécula solvatada com Cosmo
ΔH (Kcal/mol)	35,418988	30,160415

ΔS (Kcal/mol/ K)	0, 332742	0, 282097
ΔG (Kcal/mol)	- 64, 403612	-54, 468685

*Temperatura a 300 K

Molécula na fase gasosa

Molécula Solvatada com COSMO

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = 35, 418988 - 0, 332742. 300$$

$$\Delta G = 30, 160415 - 300. 0, 282097$$

$$\Delta G = - 64, 403612 \text{ Kcal/ mol}$$

$$\Delta G = -54, 468685 \text{ Kcal/mol}$$

ΔG de Hidratação - (Rutina) ³⁻

$$\Delta(\Delta G) = -64, 403612 - (-54, 468685)$$

$$\Delta(\Delta G) = - 9, 934927 \text{ Kcal/mol}$$

Tabela 2.1 - Valores termodinâmicos da rutina neutra empregando o método AM1

pK_{a4}	Molécula isolada	Molécula solvatada com Cosmo
ΔH (Kcal/mol)	35, 421974	29,859825
ΔS (Kcal/mol/ K)	0, 332791	0,280477
ΔG (Kcal/mol)	- 64, 415326	-54,468685

*Temperatura a 300 K

Molécula na fase gasosa

Molécula Solvatada com Cosmo

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = \Delta H - T.\Delta S$$

$$\Delta G = 35, 421974 - 300 (0,332791)$$

$$\Delta G = 29,859825 - 300(0,280477)$$

$$\Delta G = - 64, 415326 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta G = -54,283275 \text{ Kcal/mol}$$

G de Hidratação - (Rutina) ⁴⁻

$$\Delta(\Delta G) = -64, 415326 - (-54, 283275)$$

$$\Delta(\Delta G) = - 10,132051 \text{ Kcal/mol}$$

Tabela 2.4- Valores termodinâmicos do gás Hidrônio empregando o método AM1

Gás Hidrônio	Molécula isolada	Molécula solvatada com Cosmo
---------------------	-------------------------	-------------------------------------

ΔH (Kcal/mol)	2,388442	2,388862
ΔS (Kcal/mol/ K)	0,048196	0,048266
ΔG (Kcal/mol)	-12,070358	-12,090938

*Temperatura a 300 K

Gás Hidrônio

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

$$\Delta G = 2,388862 - 300 \cdot 0,048266$$

$$\Delta G = -12,070358 \text{ Kcal/mol}$$

ΔG de Hidratação do Hidrônio

$$\Delta (\Delta G) = -12,090938 - (-12,070358)$$

$$\Delta (\Delta G) = -0,02058 \text{ kCal/mol}$$

Gás Hidrônio com Cosmo

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

$$\Delta G = 2,388442 - 300 \cdot 0,048196$$

$$\Delta G = -12,090938 \text{ Kcal/mol}$$

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)