

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE FÍSICO-QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

**MECANISMOS DE DESATIVAÇÃO DE ESTADOS  
EXCITADOS EM DOIS MODELOS DE SISTEMAS DE  
INTERESSE BIOLÓGICO**

Roiney Beal

Porto Alegre, abril de 2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Roiney Beal

**MECANISMOS DE DESATIVAÇÃO DE ESTADOS EXCITADOS  
EM DOIS MODELOS DE SISTEMAS DE INTERESSE BIOLÓGICO**

Tese apresentada como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Doutor em Química

Prof. Dr. Paulo Fernando Bruno Gonçalves  
Orientador

Porto Alegre, abril de 2023

A presente tese foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre (outubro/2018) e (abril/2023), no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação do(a) Professor(a) Doutor(a) Paulo Fernando Bruno. A tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química pela seguinte banca examinadora:

**Comissão Examinadora:**

---

Prof. Dra. Josene Maria Toldo

---

Prof. Dra. Livia Streit

---

Prof. Dr. Paulo Augusto Netz

---

Prof. Dr. Jones de Andrade

---

Prof. Dr. Paulo Fernando Bruno  
Gonçalves

---

Roiney Beal

## Agradecimentos

O título de Doutor em Química foi sonhado a muito anos, e conquistá-lo foi uma batalha cheia de obstáculos, obstáculos esses que não poderiam ser ultrapassados sem a ajuda de uma grande quantidade de pessoas, as quais seria impossível agradecer de maneira e à altura que merecem, porém gostaria de dedicar as próximas palavras a pessoas que foram fundamentais nessa trajetória.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a minha noiva Marina, essa pessoa incrível que o destino colocou na minha vida e que tomou o sonho do meu doutorado para si, desde então, batalha junto comigo para a realização desse sonho. Obrigado pelo apoio, pelo suporte, por toda a batalha junta enfrentada, enfim, obrigado pela vida ao seu lado, tenho certeza que sem você essa caminhada seria impossível.

Em segundo lugar, mas não menos importante, um agradecimento aos meus pais, Luis e Rozane, que mesmo sem ter tido a oportunidade de estudar, me mostraram que esse era o caminho. Obrigado pelo incentivo, pela ajuda, pelas cobranças e pelos valores. Podem ter certeza que a semente plantada lá atrás hoje dá o fruto desse doutorado. Um agradecimento ao meu irmão, Cleiton, pelas conversas, pela ajuda e por sempre estar aí por mim.

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Fernando Bruno Gonçalves por ter me aceito no seu grupo de pesquisa e ter me orientado na minha jornada no mestrado e no doutorado. Um agradecimento especial por ter aceitado me orientar nesse doutorado nada convencional, obrigado pela confiança depositada em mim e espero não o ter desapontado.

Um agradecimento mais que especial ao Prof. Dr. Antonio Carlos Borin, que nesse doutorado teve o papel de coorientador, mesmo que infelizmente seu nome não conste na tese. Fica aqui meu agradecimento por ter me acolhido no seu grupo de pesquisa, por ter compartilhado um pouco do seu conhecimento e dos seus conselhos.

Agradeço aos membros do Grupo de Fotofísica Computacional (Gustavo, Leonardo, Eduardo, Adalberto, Yeny e Daniele) pelas discussões e conversas e em agradecimento ao Danillo Pires Valverde pelas ótimas discussões, ajudas e colaborações.

Um agradecimento também aos amigos que me acompanham por toda a vida, ao Plisca, ao Rava e a Rose, saibam que mesmo que a distância física seja grande, o apoio de vocês sempre foi importante, e ao Gabriel, esse grande amigo que o mestrado me deu e que ficou para a vida.

Por fim, um agradecimento mais que especial a uma grande pessoa que a São Paulo me deu, muito obrigado Eros por ser meu amigo, meu professor e meu psicólogo por tantas e tantas

vezes durante esse período, você conseguiu deixar essa jornada mais leve e faltarão agradecimentos para expressar isso.

*“Far better it is to dare mighty things, to win glorious triumphs, even though checkered by failure, than to take rank with those poor spirits who neither enjoy much nor suffer much, because they live in the gray twilight that knows neither victory nor defeat.”*

Theodore Roosevelt

# Sumário

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
1.1	DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS .....	15
1.2	BASES DE DNA .....	17
1.3	PROCESSOS DE DESATIVAÇÃO DE MOLÉCULAS FOTO EXCITADAS .....	18
<b>2</b>	<b>MÉTODOS COMPUTACIONAIS</b>	<b>21</b>
2.1	APROXIMAÇÃO DE BORN-OPPENHEIMER.....	21
2.2	MÉTODO HARTREE-FOCK E A ENERGIA DE CORRELAÇÃO ELETRÔNICA .....	25
2.3	O MÉTODO CASSCF .....	27
2.4	ESCOLHA DO ESPAÇO ATIVO.....	30
2.5	TEORIA DA PERTURBAÇÃO MULTICONFIGURACIONAL DE SEGUNDA ORDEM .....	32
2.6	MODELOS QM/MM DE MODELAGEM DE AMBIENTE.....	34
<b>3</b>	<b>FOTOQUÍMICA DE FÁRMACOS BASEADOS NA FENILACETAMIDA</b>	<b>36</b>
3.1	INTRODUÇÃO.....	36
3.2	OBJETIVO.....	39
3.3	METODOLOGIA .....	39
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	41
3.4.1	<i>Energia de excitação vertical</i> .....	41
3.4.2	<i>Geometrias de equilíbrio e Caminhos Fotoquímicos</i> .....	45
<b>4</b>	<b>ANÁLOGOS MODIFICADOS DO DNA/RNA</b>	<b>52</b>
4.1	INTRODUÇÃO.....	52
4.2	OBJETIVO.....	54
4.3	METODOLOGIA .....	55
4.3.1	<i>Simulação de dinâmica clássica molecular</i> .....	55
4.3.2	<i>Cálculos QM/MM</i> .....	56
4.4	RESULTADO E DISCUSSÃO.....	59
4.4.1	<i>Energia vertical e espectro de absorção</i> .....	59
4.4.2	<i>Geometrias de Equilíbrio</i> .....	63
4.4.3	<i>Caminhos de desativação</i> .....	67
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>73</b>
<b>7</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>90</b>
7.1	ANÁLISE DAS SIMULAÇÕES CLÁSSICAS .....	93

## Sumário de Imagens

Figura 1 - Esquema de rotas de entrada de fármacos no meio ambiente.	17
Figura 2 - Diagrama de Jablonski.	19
Figura 3 - Representação das de superfícies de energia potencial	21
Figura 4 - Clivagem da ligação OC-N de acetaminofeno (a) produzindo 1-(2-Amino-5-hidroxifenil)etanona (b) como produto principal da reação Photo-Fries.	37
Figura 5 - Clivagem da ligação OC-N de acetanilida (2a) resultando em 2'-aminoacetofenona (2b) e 4'-aminoacetofenona (2c).	39
Figura 6 - (a) acetanilida e (b) espaços ativos de paracetamol, em termos de orbitais naturais médios derivados no nível SA(5)-CASSCF(14,12)/ANO-L-VDZP	41
Figura 7 - Espectro de absorção simulado de acetanilida e paracetamol calculado no nível de teoria MS(6)-CASPT2(14,12)/ANO-L-VDZP.	45
Figura 8 - Estruturas esquemáticas e rotulagem para (a) acetanilida e (b) paracetamol..	46
Figura 9 - Diferença entre comprimentos de ligação selecionados entre as geometrias $S_0$ exp., $S_1^{-1}(\pi\pi^* L_b)_{\min}$ , $(S_2/S_1)_{SSCP}$ e $(S_1/S_0)_{SSCP}$ em relação a geometria $S_0$ , sendo para (a) paracetamol e (b) acetanilida.	47
Figura 10 - Interpolação linear em vias de coordenadas internas para acetanilida e paracetamol ao longo da hipersuperfície $S_2^{-1}(\pi\pi^* L_a)$ , começando na região de Franck-Condon.	49
Figura 11 – Orbitais envolvidos na transição $\pi\sigma^*$ após a cônica $(S_2/S_1)_{SSCP}$ , sendo a paracetamol e b a acetanilida.	50
Figura 12 - Percursos interpolados em coordenadas geodésicas, da região de cruzamento $(S_2/GS)_{SSCP}$ em direção aos produtos semiformados, tanto para acetanilida quanto para paracetamol. As etapas exibidas seguem a migração do átomo $C_2$ para formar a ligação $C_2-C_5$ .	51
Figura 13 - Representação gráfica da família de molécula fluorescentes sintetizada por Rovira e colaboradores <sup>193</sup> .	54
Figura 14 - Ilustração dos ambientes ${}^1A$ e ${}^1G$ incorporados em (a) DNA e (b) ambientes de DNA. A região QM ( <i>ball and stick</i> ) consiste apenas em (c) ${}^1A$ e (d) ${}^1G$	56
Figura 15 - Espaço ativo empregado para os cálculos de QM/MM: (a) ${}^1A$ e (b) ${}^1G$ . O fundo azul refere-se aos orbitais incluídos nas otimizações de geometria de estado excitado e fundamental.	58



Figura 16 - Espectro de absorção ultravioleta/visível simulado de (a) <sup>tz</sup>G e (b) <sup>tz</sup>A em DNA (linha azul tracejada) e RNA (linha vermelha pontilhada) calculado no nível MS-CASPT2/cc-pVDZ//MM. 61

Figura 17 - Espectro de absorção ultravioleta/visível simulado de (a) <sup>tz</sup>G e (b) <sup>tz</sup>A em DNA (linha azul tracejada) e RNA (linha vermelha pontilhada) calculado no nível MS-CASPT2/cc-pVDZ//MM.. 63

Figura 18 – Estruturas críticas (a) <sup>tz</sup>A e (b) <sup>tz</sup>G otimizadas em nível QM(XMS-CASPT2/cc-pvdz)/MM. 64

Figura 19 – Diferença entre comprimentos de ligação selecionados entre as geometrias <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$  L<sub>a</sub>)<sub>min</sub> e <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$  L<sub>a</sub>)/GS)<sub>SSCP</sub> em relação a geometria (GS)<sub>min</sub>, sendo para (a) <sup>tz</sup>A em DNA, (b) <sup>tz</sup>A em RNA, (c) <sup>tz</sup>G em DNA e (d) <sup>tz</sup>G em RNA. 65

Figura 20 – Perfis energéticos dos estados fundamentais (GS) e dos *bright states* da região de Franck-Condon em direção ao estado <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$  L<sub>a</sub>)<sub>min</sub> (região destacada em cinza), e posteriormente para e <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$  L<sub>a</sub>)/GS)<sub>SSCP</sub>. O perfil foi obtido através de interpolação em coordenadas internas (LIIC), e a energias foram calculadas em nível XMS(6)-CASPT2(18,13)/cc-pVDZ/MM. Sendo (a) <sup>tz</sup>A em DNA, (b) <sup>tz</sup>G em DNA, (c) <sup>tz</sup>A em RNA e (d) <sup>tz</sup>G em RNA. 68

Figura 21 – Espectro de emissão simulado para a <sup>tz</sup>G (linha azul pontilhada), sendo (a) <sup>tz</sup>G em DNA e (b) <sup>tz</sup>G em RNA.. 69

Figura 22 – Análise da simulação clássicas (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>A em ambiente de DNA, sendo (a) análise da flutuação da energia total, (b) análise da densidade e (c) análise da flutuação da temperatura. Sendo a linha pontilhada a representação dos valores médios das análises. 94

Figura 23 - Análise da simulação clássicas (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>A em ambiente de DNA, sendo a linha laranja o RMSD do DNA e a linha azul o RMDS somente da molécula do <sup>tz</sup>A.95

Figura 24 - Análise da distribuição radial (g(r)) da simulação clássicas (etapa de produção) para o centro de massa do <sup>tz</sup>A em ambiente de DNA em relação as águas do sistema. 95

Figura 25 - Análise da distribuição radial (g(r)) da simulação clássicas (etapa de produção) para o do <sup>tz</sup>A em ambiente de DNA, sendo a linha azul a g(r) em relação ao N<sub>1</sub>-O, a linha laranja N<sub>3</sub>-O e a linha verde N<sub>6</sub>-O. 96

Figura 26 - Análise da simulação clássicas (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>A em ambiente de RNA, sendo (a) análise da flutuação da energia total, (b) análise da densidade e (c) análise da flutuação da temperatura. Sendo a linha pontilhada a representação dos valores médios das análises. 97

- Figura 27 - Analise da simulação clássicas (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>A em ambiente de RNA, sendo a linha laranja o RMSD do RNA e a linha azul o RMDS somente da molécula do <sup>tz</sup>A. 98
- Figura 28 - Analise da distribuição radial (g(r)) da simulação clássicas (etapa de produção) para o centro de massa do <sup>tz</sup>A em ambiente de RNA em relação as águas do sistema. 98
- Figura 29- Analise da distribuição radial (g(r)) da simulação clássicas (etapa de produção) para o do <sup>tz</sup>A em ambiente de RNA, sendo a linha azul a g(r) em relação ao N<sub>1</sub>-O, a linha laranja N<sub>3</sub>-O e a linha verde N<sub>6</sub>-O. 99
- Figura 30 - Analise da simulação clássicas (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>G em ambiente de DNA, sendo (a) análise da flutuação da energia total, (b) análise da densidade e (c) análise da flutuação da temperatura. Sendo a linha pontilhada a representação dos valores médios das análises. 100
- Figura 31 - Analise da simulação clássicas (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>G em ambiente de DNA, sendo a linha laranja o RMSD do DNA e a linha azul o RMDS somente da molécula do <sup>tz</sup>G. 101
- Figura 32 - Analise da distribuição radial (g(r)) da simulação clássicas (etapa de produção) para o centro de massa do <sup>tz</sup>G em ambiente de DNA em relação as águas do sistema. 101
- Figura 33 - Analise da distribuição radial (g(r)) da simulação clássicas (etapa de produção) para o do <sup>tz</sup>G em ambiente de DNA, sendo a linha azul a g(r) em relação ao N<sub>1</sub>-O, a linha laranja N<sub>3</sub>-O, linha verde N<sub>7</sub>-O e a linha vermelha o átomo de O em relação ao átomo de O do solvente. 102
- Figura 34 - Analise da simulação clássicas (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>G em ambiente de RNA, sendo (a) análise da flutuação da energia total, (b) análise da densidade e (c) análise da flutuação da temperatura. Sendo a linha pontilhada a representação dos valores médios das análises. 103
- Figura 35 - Analise da simulação clássicas (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>G em ambiente de RNA, sendo a linha laranja o RMSD do DNA e a linha azul o RMDS somente da molécula do <sup>tz</sup>G. 104
- Figura 36 - Analise da distribuição radial (g(r)) da simulação clássicas (etapa de produção) para o centro de massa do <sup>tz</sup>G em ambiente de RNA em relação as águas do sistema. 104
- Figura 37 - Analise da distribuição radial (g(r)) da simulação clássicas (etapa de produção) para o do <sup>tz</sup>G em ambiente de RNA, sendo a linha azul a g(r) em relação ao N<sub>1</sub>-O, a linha laranja N<sub>3</sub>-O, linha verde N<sub>7</sub>-O e a linha vermelha o átomo de O em relação ao átomo de O do solvente. 105

## Sumário de Tabelas

- Tabela 1 – Energia vertical ( $\Delta E$  (eV) e  $\lambda$  (nm)), força de oscilados ( $f$ ) e momento de dipolo ( $\mu$ ) pra os três primeiros estados excitados da acetanilida e do paracetamol em nível MS(5)-CASPT2(14,12)/ANO-L-VDZP. 43
- Tabela 2 - Energias de excitação vertical ( $\Delta E$ ; eV), força do oscilador ( $f$ ) e momento de dipolo ( $\mu$ ; Debye) dos três estados excitados singleto mais baixos da  ${}^t\mathbf{A}$  e  ${}^t\mathbf{G}$  em ambientes de DNA e RNA computados no nível XMS(6)-CASPT2(18,13)/cc-pVDZ/MM. Dados experimentais e cálculos teóricos anteriores são reportado para comparação. 60
- Tabela 3 – Parâmetros Cremer-Pople e Boeyens para a análise de conformação do anel de seis membros da  ${}^t\mathbf{A}$  e  ${}^t\mathbf{G}$ , em DNA e RNA e as nucleobases naturais Adenina e Guanina para comparação. 66
- Tabela 4 - Energias de emissão vertical  ${}^t\mathbf{A}$  e  ${}^t\mathbf{G}$  (em eV) e o Stokes Shift calculado em nível QM(XMS(6)-CASPT2(18,13))/MM/cc-pVDZ e os correspondentes valores anteriores experimentais<sup>193</sup> e teóricos<sup>215</sup>. 70
- Tabela 5 - Distâncias de ligação teóricas (fase gasosa) e experimentais (difração de raios-X) (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos diedros (°) para acetanilida. 89
- Tabela 6 - Distâncias de ligação teóricas (fase gasosa) e experimentais (difração de raios-X) (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos diedros (°) para paracetamol. 90

## Lista de Abreviações e Siglas

ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
DNA	ácido desoxirribonucleico
RNA	ácido ribonucleico
ISC	<i>Intersystem Crossing</i>
IC	Intersecção cônica
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
PES	<i>Potential Energy Surface</i>
HF	método de Hartree-Fock
LCAO	<i>Linear Combination of Atomic Orbitals</i>
CI	<i>Configuration Interaction</i>
FCI	<i>Full Configuration Interaction</i>
CSF	<i>configuration state function</i>
MCSCF	<i>Multi-configurational self-consistent field</i>
CASSCF	<i>Complete Active Space Self-Consistent Field</i>
SA-CASSCF	<i>State-Average Complete Active Space Self-Consistent Field</i>
CASPT2	<i>Complete Active-Space Second-Order Perturbation Theory</i>
SS-CASPT2	<i>Single-State Complete Active-Space Second-Order Perturbation Theory</i>
MS-CASPT2	<i>multi-state Complete Active-Space Second-Order Perturbation Theory</i>
XMCQDPT2	<i>Extended Multiconfiguration Quasi-Degenerate Second-Order Perturbation Theory</i>
XMS-CASPT2	<i>Extended multi-state Complete Active-Space Second-Order Perturbation Theory</i>
QM	<i>Quantum mechanics</i>
MM	<i>Molecular Mechanics</i>
IFA	ingredientes farmacêuticos ativos
PRF	reação Photo-Fries
MECP	Minimum Energy Crossing Point
IPEA	<i>Ionization Potential-Electron Affinity Shift</i>
SSCP	<i>Singlet-Singlet minimum energy Crossing Point</i>

## Resumo

O estudo das propriedades dos estados eletronicamente excitados representa uma ampla área da físico-química denominada fotoquímica. Entender essas propriedades pode nos trazer compreensão sobre diversos fenômenos que ocorrem na natureza, como processos de fluorescência e até mesmo de degradação de moléculas. Nesse contexto, o objetivo desta tese é elucidar os principais mecanismos de desativação dos estados excitados após a absorção de luz em dois sistemas.

O primeiro sistema são duas anilidas analgésicas, a acetanilida, molécula essa não mais utilizada como medicamento devido sua toxicidade, e o paracetamol, analgésico amplamente utilizado no mundo inteiro. A presença do paracetamol em águas superficiais devido ao descarte indevido lança luz ao processo de fotodegradação e a necessidade de seu entendimento por completo. Os dois compostos têm seu estado  $S_2$   $^1(\pi\pi^* L_a)$  como estado chave para o entendimento da reação, e utilizando técnicas de interpolação entre as geometrias relevantes ao entendimento da reação, o estudo demonstra que o caminho de desativação não encontra barreira para a formação dos fotoprodutos clivados. A viabilidade da formação de fotoprodutos foi calculada partindo dos fotoprodutos, assumindo um mecanismo de duas etapas. Os cálculos concluem que os produtos Photo-Fries podem ser formados.

O segundo sistema de estudo é duas moléculas do alfabeto ribonucleosídeo fluorescente, mais precisamente as moléculas análogas a adenina e a guanina. Levando em consideração o efeito de solvente por meio explícito com geometrias extraídas de dinâmica molecular clássica, sendo o estudo conduzido em ambiente de DNA e RNA, os caminhos de desativação foram estudados. Uma vez excitados para seus respectivos estados mais baixo  $^1(\pi\pi^* L_a)$ , eles podem atingir os mínimos do estado em um caminho sem barreiras. A intersecção cônica com o estado fundamental se encontra em uma região de mais alta energia, impossibilitando assim o mecanismo de conversão interna.

**Palavras-Chaves:** Fotoquímica, Reação Photo-Fries, Paracetamol, Acetanilida, Bases Canônicas Modificadas.

## Abstract

The study about the properties of electronically excited states represents a broad area of physical chemistry, called photochemistry. The understanding of these properties can bring us further comprehension about several phenomena that occur in nature, such as fluorescence processes and even degradation of molecules. In this context, the aim of this thesis is to elucidate the main mechanisms of deactivation of excited states after light absorption in two systems, thus demonstrating the versatility of the CASPT2 method, used in both studies.

The first system consists of two analgesic anilides, acetanilide, a molecule that is no longer used as a medicine due to its toxicity, and paracetamol, an analgesic largely used worldwide. The presence of paracetamol in surface water due to improper disposal sheds light on the photodegradation process and the need for its complete understanding. The two compounds have their state  $S_2$   $^1(\pi\pi^* L_a)$  as key states for understanding the reaction, and using interpolation techniques between geometries relevant to understanding the reaction, the study demonstrates that the deactivation path does not show any barrier to the formation of the cleaved photoproducts. The feasibility of photoproduct formation was calculated starting from the photoproducts, assuming a two-step mechanism. Calculations conclude that Photo-Fries products can be formed.

The second system of study are two molecules of the fluorescent ribonucleoside alphabet, more precisely the molecules analogous to adenine and guanine. Taking into account the solvent effect through explicit medium with configurations extracted from classical molecular dynamics, being the study conducted in a DNA and RNA environment, the deactivation paths were studied. Once excited to their respective lowest state  $^1(\pi\pi^* L_a)$ , they can reach the state minima in a barrier-free path. The  $(^1(\pi\pi^* L_a)/GS)_{SSCP}$  structures are in a higher energy region, thus preventing the internal conversion mechanism.

**Keywords:** Photochemistry, Photo-Fries Reaction, Paracetamol, Acetanilide, Modified Canonical Bases.

## 1 INTRODUÇÃO

Fotoquímica é o ramo da química interessado em desvendar os efeitos químicos e físicos que a radiação eletromagnética causa na matéria, principalmente nas regiões do ultravioleta (UV)<sup>1</sup> e do visível<sup>2</sup>. Essas reações desempenham um papel crucial em diversas áreas da ciência, incluindo a química atmosférica, onde são essenciais para a formação e degradação da camada de ozônio<sup>3</sup>, smog fotoquímico<sup>4–8</sup>, fotodegradação de pesticidas<sup>9,10</sup>, entre outros. Além disso, são responsáveis por diversos processos biológicos, como a química da visão<sup>11</sup>, a fotossíntese e o desenvolvimento de materiais luminescentes e fotovoltaicos<sup>9,12,13</sup>.

Quando uma molécula absorve um fóton, seus elétrons passam por um processo chamado de excitação, no qual eles se encontram em um estado mais energético em comparação ao seu estado fundamental,  $S_0$ . O estudo das propriedades dos estados eletronicamente excitados e das reações químicas que ocorrem nesses estados é fundamental para compreender e controlar uma variedade de processos governados pela absorção ou emissão de luz. Além disso, esse conhecimento é essencial no desenvolvimento de novas tecnologias relacionadas à remoção de poluentes do meio ambiente e na compreensão do comportamento das bases de DNA.

### 1.1 Degradação de Fármacos

No ano de 1977 foi realizado o primeiro estudo sobre a presença de fármacos no meio ambiente<sup>14</sup>, quando foi detectada pelos autores a presença de ácido clofibríco (metabólito dos antilipêmicos clofibrato e etofibrato), na faixa de concentração de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  em efluentes nas estações de tratamento de esgoto (ETE) nos Estados Unidos.

Existem diversas rotas de entrada de resíduos de fármacos no ambiente, sendo elas o lançamento de esgotos domésticos, os efluentes de indústrias farmacêuticas, efluentes rurais, a presença de fármacos nos dejetos de animais utilizados para adubação de solos e a disposição inadequada de fármacos após expiração do prazo de validade<sup>15,16</sup>. Algumas rotas de entradas de fármacos no ambiente são demonstradas na Figura 1:

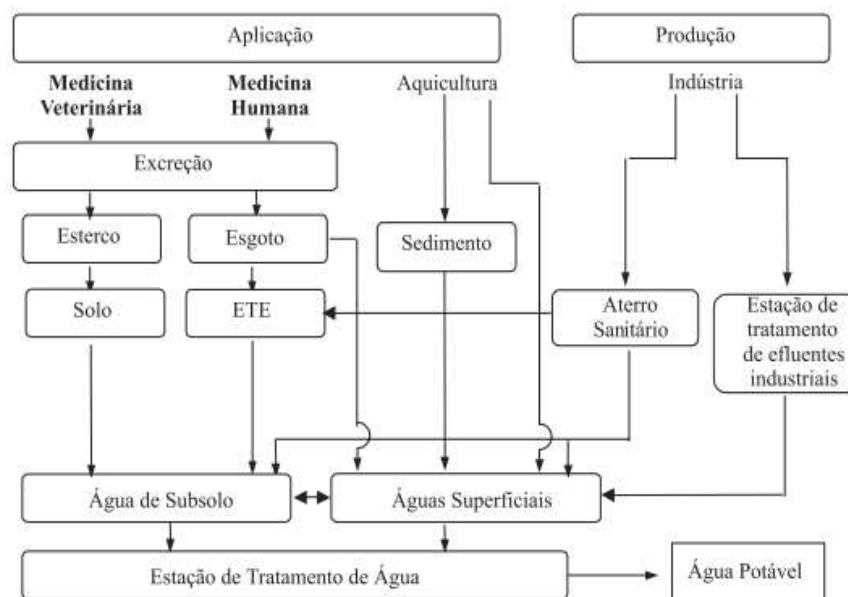


Figura 1 - Esquema de rotas de entrada de fármacos no meio ambiente. Adaptado de Bila<sup>15</sup>.

A maior rota de contaminação é através dos esgotos domésticos, por onde a maior parte dos fármacos chega às ETEs proveniente de excreção metabólica após prescrição na medicina humana. Os resíduos seguem com o esgoto bruto para as ETEs onde são, na maioria dos casos, submetidos a processos convencionais de tratamento<sup>17</sup>. Contudo, os processos convencionais a que são submetidos os esgotos domésticos, baseados na degradação biológica dos contaminantes, não são eficientes para a completa remoção de fármacos residuais, pois esses compostos possuem ação biocida ou estruturas químicas complexas não passíveis de biodegradação. Essa ineficiência é demonstrada por diversos estudos que mostram a presença desse tipo de contaminante em efluentes de ETE<sup>18-21</sup>.

Fármacos de diversas classes terapêuticas como antibióticos, hormônios, antilipêmicos, anti-inflamatórios, analgésicos, entre outros, têm sido detectados em esgoto doméstico, águas superficiais e subterrâneas em várias partes do mundo<sup>22</sup>. A fotoquímica, mais precisamente a fotólise, ou seja, a quebra de ligações em uma molécula por meio da ação da luz, surge como uma alternativa para a mitigação do impacto ambiental de poluentes.

Para entendermos a necessidade desse tipo de pesquisa, que visa elucidar o mecanismo de fotólise de fármacos, vejamos o exemplo do Brasil, onde existe uma farmácia para cada 2.700 habitantes<sup>23</sup> segundo dados do Conselho Federal de Farmácia. O acesso a farmácias e drogarias e a facilidade na aquisição de medicamentos no popularmente conhecido "balcão da farmácia" promovem um aumento no consumo de medicamentos pela maioria da população



brasileira. Os medicamentos de maior uso pela população brasileira são: anticoncepcionais, analgésicos, descongestionantes nasais e anti-inflamatórios<sup>24</sup>.

A química computacional emerge como uma importante aliada na compreensão dos mecanismos fotoquímicos, fornecendo informações valiosas que, por vezes, vão além da intuição química. Os estudos computacionais permitem compreender os fenômenos que ocorrem após a absorção de um fóton, prever propriedades moleculares e obter informações experimentais inacessíveis. Além disso, eles oferecem interpretações para medidas experimentais. Com o aumento do poder computacional e a complexidade dos processos nos estados excitados, os pesquisadores têm demonstrado um crescente interesse na área de fotoquímica computacional, impulsionando o aprimoramento teórico e o desenvolvimento de novos algoritmos. Atualmente, metodologias como cálculos multiconfiguracionais e dinâmica de estados excitados são aplicáveis a moléculas com algumas dezenas de átomos e têm sido bem-sucedidas no estudo fotoquímico de uma ampla gama de sistemas.

## 1.2 Bases de DNA

O ácido desoxirribonucleico (DNA) foi descoberto em 1869 pelo bioquímico Johann Friedrich Miescher<sup>25</sup>. A determinação de sua estrutura foi realizada em 1953 por Francis Crick e James Watson<sup>26</sup>, conquistando o Prêmio Nobel de Medicina em 1962 para os dois autores, juntamente com Maurice Wilkins. O DNA desempenha um papel fundamental no armazenamento e transmissão do código genético de geração em geração. É composto pelas nucleobases canônicas nitrogenadas: adenina, guanina, citosina e timina. Essas nucleobases são os blocos de construção tanto do DNA quanto do RNA (ácido ribonucleico).

As nucleobases canônicas são altamente estáveis quando expostas à radiação ultravioleta, o que resulta em uma vida curta de seus estados excitados<sup>27</sup>. Devido a essa estabilidade, essas nucleobases não apresentam fluorescência<sup>28</sup> e têm uma baixa suscetibilidade a reações químicas que poderiam<sup>29,30</sup> ocorrer em seu estado excitado<sup>31</sup>.

Estudos indicam que as nucleobases foram selecionadas durante o processo evolutivo devido à sua alta estabilidade fotoquímica<sup>32-34</sup>. O pico de absorção dessas nucleobases ocorre na faixa de 200 a 260 nm, uma região do espectro em que as intensidades de emissão na superfície terrestre são atualmente baixas. No entanto, durante o período primordial da vida na Terra, quando não havia uma camada de ozônio protetora, as nucleobases atuaram como escudos protetores para outras moléculas contra a radiação ultravioleta.

Dada a importância das nucleobases, diversas investigações vêm sendo realizadas para entender as propriedades fotoquímicas das mesmas<sup>29,30,34-44</sup>. Além disso, estudos em bases com modificações estruturais estão sendo realizados<sup>35,45-51</sup>, para, assim, entendermos as características das bases canônicas.

### 1.3 Processos de desativação de moléculas foto excitadas

O termo “fotoquímica” é definido pela União Internacional de Química Pura e Aplicada<sup>52-54</sup> (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*) como sendo o ramo da química que lida com os efeitos químicos da luz. Sendo assim, os estudos fotoquímicos englobam processos que a molécula sofre a partir da absorção de um fóton, sendo exemplo desses a criação de estados excitados, relaxação e redistribuição da energia e as transformações químicas que a molécula sofre<sup>55</sup>.

Para entendermos melhor os processos fotoquímicos, podemos utilizar o Diagrama de Jablonski, Figura 2, em que estão ilustrados os fenômenos que ocorrem após a excitação da molécula, como a fluorescência e a fosforescência (processos radiativos), que trata da liberação espontânea de fótons, além da relaxação vibracional, do cruzamento entre sistemas (ISC, do inglês *Intersystem Crossing*) e da intersecção cônica (IC), esses dois, sendo processos não-radiativos.

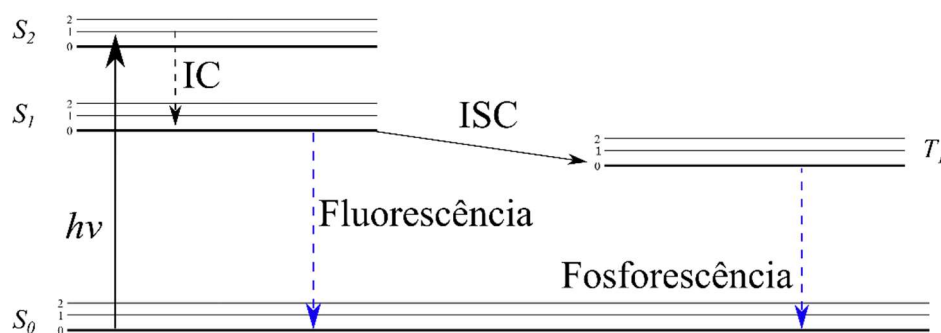


Figura 2 - Diagrama de Jablonski demonstrando os processos radiativos e não-radiativos.

A relaxação vibracional envolve a relaxação de um elétron a partir de um estado vibracionalmente excitado (chamado de estado vibracionalmente “quente”) para o nível vibracional mais baixo de um dado estado eletrônico. Ela geralmente acontece quando a molécula colide com moléculas de solvente, por exemplo, e o excesso de energia é dissipado na forma de calor.

O cruzamento entre sistemas acontece entre estados eletrônicos com diferentes multiplicidades de spin, por exemplo, de um singleto para um tripleto. A transição não-radiativa entre estados de diferentes multiplicidades é possível através da inversão de spin, dada pela interação spin-orbital<sup>56</sup>. Transições desse tipo  $S_1 \rightarrow T_n$ , podem ocorrer entre estados vibracionais ressonantes correspondentes a estados eletrônicos diferentes e são favorecidas segundo a magnitude do acoplamento spin-órbita. Após a transição para o estado eletrônico  $T_n$ , pode ocorrer conversão interna entre os estados até o estado eletrônico mais baixo,  $T_1$ . Existem regras de seleção para as transições de *intersystem crossing*, conhecidas como regras de El-Sayed<sup>57</sup>. Segundo essas regras de seleção, são permitidas transições entre estados eletrônicos de diferente simetria espacial, por exemplo  $S_1^1(\pi\pi^*) \rightarrow T_1^3(n\pi^*)$ .

O processo de fluorescência parte do pressuposto de que no estado excitado, o elétron preserva a multiplicidade que tinha quando no estado fundamental. Isso permite que o seu retorno ao estado fundamental ocorra rapidamente, com a emissão de um fóton. A velocidade de fluorescência é tipicamente da ordem de  $10^8 \text{ s}^{-1}$ , com tempo de vida entre 1 e  $10^2 \text{ ns}$ . De acordo com a regra de Kasha<sup>58,59</sup>, a emissão de um fóton ocorre a partir do estado vibracional e eletrônico excitado de mais baixa energia<sup>60</sup>.

A fosforescência é a emissão de luz a partir de um estado tripleto, ou seja, após o ISC. A probabilidade da requerida transição singleto-tripletto para a fosforescência aumenta com o aumento da sobreposição entre os níveis vibracionais dos dois estados e com o acoplamento spin-órbita. Devido ao fraco acoplamento spin-órbita em moléculas orgânicas, a fosforescência é menos intensa que a fluorescência.

Para entender todos os processos de relaxação fotoquímica, é necessário incluir também o conceito de superfícies de energia potencial (PES, do inglês *Potential Energy Surface*). Uma PES descreve a energia do sistema em relação à posição dos núcleos, ou seja, da geometria molecular. Embora a PES seja uma superfície multidimensional complexa, ou seja, uma hipersuperfície que é função de todos os graus de liberdade do sistema, ela pode ser definida em função de coordenadas específicas, gerando as chamadas curvas de energia potencial<sup>61</sup>,

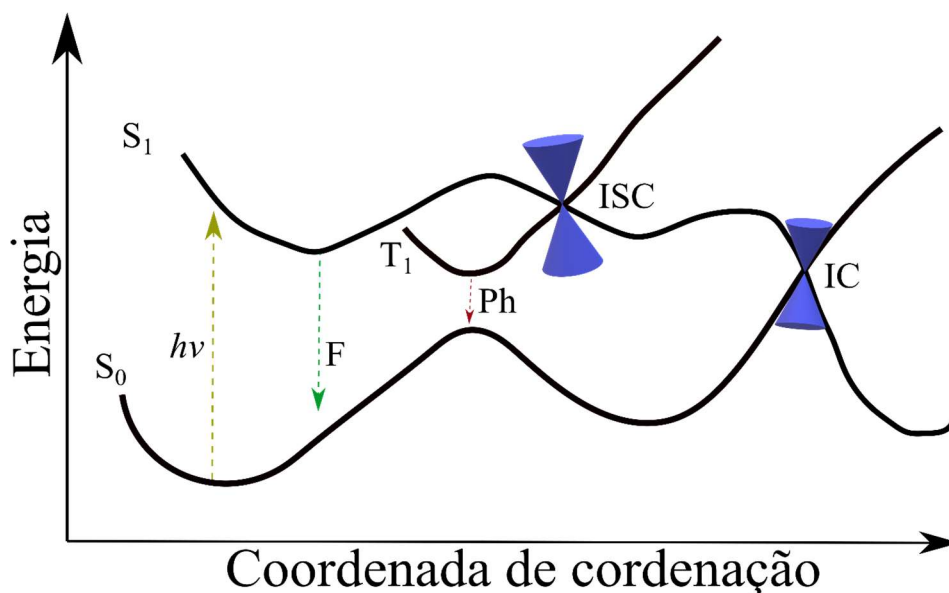


Figura 3 - Representação das de superfícies de energia potencial do estado fundamental ( $S_0$ ), do primeiro estado singlete excitado ( $S_1$ ), e do primeiro estado excitado tripleto ( $T_1$ ). Também são demonstrados os fenômenos de fluorescência (F), de fosforescência (Ph), o cruzamento entre sistemas (ISC) e a intersecção cônica (IC). Imagem adaptada de Merz<sup>62</sup>.

Como demonstrado acima, na Figura 3, cada estado eletrônico é atribuído a um PES, sendo demonstrado nesse caso três PES, uma para o  $S_1$  e outra para o  $S_0$  e uma terceira para o estado tripleto  $T_1$ , sendo também demonstrada a intersecção cônica (IC) entre os dois estados. Uma IC é o cruzamento entre superfícies de energia potencial adiabáticas<sup>61</sup>. Em uma representação tridimensional, a região de cruzamento entre as superfícies pode ser representada de forma simplista como um funil, com a porção superior representando o estado mais energético e a outra porção representando o estado de menor energia. No ponto de cruzamento dos dois cones, as funções de onda para as duas superfícies são degeneradas e a aproximação de Born-Oppenheimer deixa de ser válida, o que permite que transições não-adiabáticas ocorram<sup>63</sup>, como pode ser visto no capítulo 2.1. Assim, as IC servem como “funis” eficientes para mover a população eletrônica para estados de mais baixa energia. Cruzamentos entre superfícies de potencial são comuns em moléculas orgânicas.

## 2 MÉTODOS COMPUTACIONAIS

Na área da fotoquímica, os cálculos baseados na mecânica quântica são uma das principais fontes de informação teórica. Esses cálculos permitem obter propriedades dos estados excitados, como energias, geometrias, características das funções de onda, momentos de dipolo de transição, acoplamentos spin-órbita, acoplamentos adiabáticos e intersecções cônicas, entre outros. Essas informações são obtidas por meio do conhecimento das superfícies de energia potencial que descrevem o sistema, conectando diferentes mínimos e estados de transição. No estudo dos estados excitados, a complexidade é maior em comparação com o estudo das reações no estado fundamental, o que requer o uso de algoritmos computacionais mais exigentes para descrever adequadamente esses estados. Portanto, o objetivo desta seção é fornecer uma breve descrição dos métodos computacionais utilizados neste trabalho, apresentando os principais conceitos e teorias subjacentes a esses métodos.

### 2.1 Aproximação de Born-Oppenheimer

Nesta seção, iremos demonstrar a importância dos termos de acoplamento presentes na aproximação de Born-Oppenheimer<sup>64</sup> e por que esses termos afetam os cálculos na região do IC<sup>65</sup>. As funções de onda e as energias dos sistemas atômicos e moleculares são obtidas a partir da equação de Schrödinger, equação 1, que na forma não relativística independente do tempo é apresentada abaixo:

$$\hat{H}\psi(\mathbf{r}, R) = E\psi(\mathbf{r}, R) \quad (1)$$

Onde  $\mathbf{r}$  e  $\mathbf{R}$  representam as coordenadas eletrônicas e nucleares, respectivamente. Sendo assim, pode-se escrever o hamiltoniano molecular da seguinte forma:

$$\hat{H} = T_N + T_e + V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee} \quad (2)$$

Sendo que o primeiro termo  $T_N$  da equação 2, é o operador de energia cinética dos núcleos atômicos, o segundo termo,  $T_e$ , é o operador de energia cinética dos elétrons, o terceiro termo,  $V_{Ne}$ , é a energia potencial atrativa entre elétrons e núcleos. Já o quarto e o quinto termo,  $V_{NN}$  e  $V_{ee}$ , são os termos de energia potencial repulsiva entre os núcleos e os elétrons, respectivamente.

- Energia cinética nuclear:

$$T_N = - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 \quad (3)$$

- Energia potencial entre os núcleos:

$$V_{NN} = \sum_{A=1}^M \sum_{B<A}^M \frac{Z_A Z_B}{|R_A - R_B|} \quad (4)$$

- Energia cinética eletrônica:

$$T_e = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 \quad (5)$$

- Energia potencial entre os elétrons:

$$V_{ee} = \sum_{\mu=1}^N \sum_{\nu<\mu}^N \frac{1}{|r_\mu - r_\nu|} \quad (6)$$

- Energia potencial elétron-núcleo:

$$V_{Ne} = - \sum_{\mu=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{|R_A - r_\mu|} \quad (7)$$

Onde,  $M_A$  é a massa do núcleo A,  $Z_A$  é a carga do núcleo A.

Também devemos levar em consideração que a aproximação de Born-Oppenheimer tem como princípio a resolução da sua parte eletrônica e de sua parte nuclear da equação de Schrödinger de forma separada, sem correlação entre as duas. Para assim facilitar o cálculo, e que na aproximação, devido às massas dos elétrons serem muito menores que a massa dos núcleos, indicando assim o movimento muito mais rápido por parte dos elétrons, pode-se considerar como fixa a posição dos núcleos atômicos.

Já na aproximação de Born-Huang, a função de onda dos núcleos depende da função de onda dos elétrons, que resulta em um sistema de equações acopladas, mas que contém informações sobre a energia cinética dos núcleos e como os elétrons modificam essa energia. Embora mais complicado de resolver do que as equações obtidas sob o Born-Oppenheimer aproximação, a aproximação de Born-Huang é o ponto de partida para sistemas que requerem uma aproximação que leve em conta os efeitos não adiabáticos. Dentro desta aproximação, o termo de energia cinética nuclear, equação 3, é muito menor que os outros termos, assim temos que hamiltoniano total,  $\hat{H}_T$  é apresentado abaixo:

$$\hat{H} = T_N + T_e + V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee} \rightarrow T_e + V_{Ne} + V_{NN} + V_{ee} = \hat{H}_T \quad (8)$$

$$\hat{H}_T = \hat{H}_{ele} + V_{NN} \quad (9)$$

A equação eletrônica é apresentada a seguir:

$$\hat{H}_{ele}\psi(r; R) = \epsilon_m(R)\psi(r; R) \quad (10)$$

Onde  $\psi(r; R)$  é a função de estado eletrônica e  $\epsilon_m(R)$  é a energia eletrônica do sistema. A energia total  $E$ , equação 11 inclui a constante de repulsão nuclear e tem-se:

$$E_m(R) = \epsilon_m(R) + \sum_{A=1}^M \sum_{B<A}^M \frac{Z_A Z_B}{|R_A - R_B|} \quad (11)$$

Um fato a ser observado é que a função de estado eletrônica e a respectiva energia depende parametricamente de  $R$ . Assim é possível expandir, usando o conjunto completo da função de base:

$$\psi(r, R) = \sum_m \phi(R)\psi(r; R) \quad (12)$$

Com  $\phi(R)$  sendo os coeficientes da expansão dependentes explicitamente de  $R$ .

Utilizando a equação 10 na equação 1 e lembrando da relação apresentada na equação 9, obtém-se:

$$\begin{aligned} & \left( - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 + \hat{H}_{ele} + \sum_{A=1}^M \sum_{B<A}^M \frac{Z_A Z_B}{|R_A - R_B|} \right) \sum_m \phi(R) \psi(r; R) \\ & = E \sum_m \phi(R) \psi(r; R) \end{aligned} \quad (13)$$

E levando em consideração a equação 11, temos:

$$\sum_m \left( - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 (E_m(R) - E) \right) \sum_m \phi(R) \psi(r; R) = 0 \quad (14)$$

Observando que:

$$\begin{aligned} & - \sum_m \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 \phi(R) \psi(r; R) \\ & = - \sum_m \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} [(\nabla_A^2 \phi(R)) \psi(r; R) + 2(\nabla_A \phi(R)) (\nabla_A \psi(r; R)) \\ & \quad + \phi(R) (\nabla_A^2 \psi(r; R))] \end{aligned} \quad (15)$$

Multiplicando a equação 14 por  $\psi^*(r; R)$  e integrando em todas as coordenadas eletrônicas, temos:

$$\begin{aligned} & - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 \phi(R) + (E_m(R) - E) \phi(R) \\ & = \sum_m \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \left\{ 2 \int \psi^*(r; R) \nabla_A \psi(r; R) dr^3 \cdot \nabla_A \right. \\ & \quad \left. + \int \psi^*(r; R) \nabla_A^2 \psi(r; R) dr^3 \right\} \end{aligned} \quad (16)$$

Podemos definir então:

$$C(R, \nabla) = \sum_{A=1}^M \frac{1}{M_A} (X^{(A)} \nabla_A + Y^{(A)}) \quad (17)$$

Onde:



$$X^{(A)} = \int \psi^*(r; R) \nabla_A \psi(r; R) dr^3 \quad (18)$$

$$Y^{(A)} = \int \psi^*(r; R) \nabla_A^2 \psi(r; R) dr^3 \quad (19)$$

Os termos  $X^{(A)}$  e  $Y^{(A)}$ , são chamados de termos de acoplamento não adiabáticos, e a aproximação adiabática, no caso da aproximação Born-Oppenheimer considera esses termos nulos<sup>66</sup>. Porém, cabe aqui ressaltar que em condições onde existem um acoplamento significativo entre estados, como por exemplo em IC, essa aproximação deixa de ser válida, e para o cálculo desses pontos é necessário a inserção desses termos, acarretando assim um aumento do custo computacional.

## 2.2 Método Hartree-Fock e a Energia de Correlação Eletrônica

Apesar da aproximação de Born-Oppenheimer separar o movimento eletrônico do nuclear, diminuindo assim a complexidade da solução da equação de Schrödinger, somente é possível a resolução analítica para átomos hidrogenóides, para os demais, não é possível resolver a parte eletrônica da equação analiticamente. Isso ocorre devido ao termo de repulsão entre elétrons, equação 6, que correlaciona o movimento dos elétrons na molécula.

Devido a esse termo, a equação precisa ser resolvida através de métodos aproximativos, como por exemplo, no método de Hartree-Fock (HF)<sup>67-69</sup>. No método de HF a função de onda eletrônica é representada por um determinante de Slater<sup>70</sup>, equação 20. As funções  $\chi$  no determinante de Slater são ortonormais e representam os spin-orbitais.

$$\psi_0 = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(r_1) & \chi_2(r_1) & \dots & \chi_n(r_1) \\ \chi_1(r_2) & \chi_2(r_2) & \dots & \chi_n(r_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(r_n) & \chi_2(r_n) & \dots & \chi_n(r_n) \end{vmatrix} \quad (20)$$

No desenvolvimento da teoria, temos que uma das suas aproximações fundamentais é que cada elétron se move no campo elétrico estático médio criado por todos os outros elétrons, isto é, um modelo de partícula independente em campo médio. Desse modo, a repulsão elétron-elétron é substituída pela repulsão entre um elétron e o campo médio gerado pelos demais. A

função de onda resultante, quando operada pelo Hamiltoniano, fornece a energia mais baixa possível para uma função de onda monodeterminantal, segundo o princípio variacional. Essa aproximação origina um erro no cálculo da energia eletrônica total do sistema, associado à falta de correlação entre os elétrons de spins opostos.

A aproximação de HF utiliza o Princípio Variacional e é não-relativística, ou seja, os estados de uma determinada função de onda aproximada possuem energia acima ou igual à energia “exata” do estado fundamental, dentro do modelo considerado. A consequência disso é que para um dado sistema, a função de onda que minimiza a energia é a melhor possível dentro da aproximação utilizada, ou seja, no limite de um conjunto de base infinito (limite Hartree-Fock). A diferença entre a melhor energia calculada no limite HF e a energia “exata” é igual à Energia de Correlação. A energia “exata” é definida como a energia que incorpora todo o efeito da correlação e um conjunto de base completo.

Assim, obter um determinante de Slater com a menor energia possível implica em determinar o melhor conjunto de spin-orbitais e obter a melhor aproximação para o valor da energia, respeitando o Princípio Variacional.

Apesar de resolver o problema de repulsão elétron-elétron, as equações de HF são resolvidas de forma numérica e são inviáveis para um grande número de elétrons, assim, para computar as energias é necessário utilizarmos o formalismo Hartree-Fock-Roothaan<sup>71</sup>, que consiste em definir um conjunto de funções matemáticas espaciais que representem os orbitais, neste formalismo, as equações puderam ser escritas na forma matricial, contribuindo assim para implementação dos códigos computacionais e popularizando o método.

Um orbital molecular é originado por uma combinação linear de funções matemáticas que representam os orbitais atômicos<sup>72</sup> (LCAO, do inglês *Linear Combination of Atomic Orbitals*). Essas funções são chamadas funções de base, e o conjunto de funções de base para vários átomos é denominado conjunto de base.

O erro no cálculo da energia é altamente dependente do conjunto de base empregado. Conforme o número de funções de base aumenta, o erro associado à aproximação utilizando uma LCAO deve diminuir. Dessa maneira, utilizando um conjunto de base suficientemente grande, o cálculo de HF pode fornecer até 99% da energia eletrônica total do sistema, descrito por uma Equação de Schrödinger não relativística. Porém, o 1% restante, associado à energia de correlação<sup>73</sup> não descrita pela aproximação HF, é geralmente essencial para descrever fenômenos químicos.

Métodos mais sofisticados, que usam o HF como ponto de partida, buscam calcular essa pequena contribuição e, conseqüentemente, a uma representação mais correta de processos físico-químicos. Usualmente, a energia de correlação é dividida em correlação estática e dinâmica<sup>74,75</sup>, e pode ser definida como:

- Energia de correlação estática: é a energia de correlação que tem origem na degenerescência entre orbitais.
- Energia de correlação dinâmica: ela é proveniente da deficiência de métodos HF em descrever situações nas quais os elétrons estão muito próximos.

Embora essa divisão não seja rigorosa, ela é útil, já que os dois tipos de correlação têm origens físicas diferentes e podem ser calculados por diferentes métodos.

### 2.3 O Método CASSCF

Métodos que buscam calcular a energia de correlação e tem como ponto de partida o método HF, são nomeados de métodos pós Hartree-Fock, e temos como exemplo o método de Interação de Configuração<sup>76</sup> e a Teoria de Perturbação de Muitos Corpos<sup>76</sup>.

Tendo em consideração que o método HF usa somente um determinante de Slater, os resultados tendem a representar pontos do PES onde um único determinante seja dominante, porém, em casos onde a geometria está próxima do limite de dissociação molecular, por exemplo, a utilização do método HF nos trará resultados que não serão representativos.

No método de Interação de Configuração (CI, do inglês, *Configuration Interaction*), a função de onda é descrita por uma combinação linear de determinantes de Slater, equação 21.

$$\psi_{CI} = c_0\psi_0 + \sum_S c_S\psi_S + \sum_D c_D\psi_D + \sum_T c_T\psi_T + \dots = \sum_i c_i\psi_i \quad (21)$$

onde  $\psi_0$  representa o determinante de Slater do cálculo de HF e os subíndices  $S$ ,  $D$  e  $T$  indicam os determinantes de Slater que são simples, duplo ou triplamente excitados em relação ao estado fundamental. Cada determinante representa uma configuração eletrônica diferente. Por exemplo, promover um elétron de um orbital espacial para outro constitui uma excitação

simples, enquanto uma dupla excitação significa excitar dois elétrons em diferentes orbitais para dois novos orbitais e a excitação tripla envolve a excitação de três elétrons em diferentes orbitais.

O cálculo *Full CI*, ou seja, quando a função de onda do sistema é composta pela combinação linear de todos os possíveis determinantes, no limite de um conjunto de base completo, deve fornecer o valor esperado para a energia exata do sistema, dentro desse conjunto de base, de acordo com o Princípio Variacional. O problema é o grande número de configurações (determinantes de Slater) que deve ser incluído no cálculo, já que este cresce significativamente com o número de elétrons do sistema. Isso representa um alto custo computacional, e na prática, cálculos FCI são utilizados somente para sistemas com um reduzido número de elétrons.

Mas se pudéssemos selecionar as configurações mais relevantes, diminuindo assim o custo computacional, mas mantendo os benefícios que o método nos traz?

Assim surge o método SCF multiconfiguracionais<sup>77</sup> (MCSCF, do inglês *Multi-configurational self-consistent field*), onde a função de onda é construída a partir de uma combinação linear de determinantes de Slater (configurações) ou funções de configuração de estado (CSF, do inglês, *configuration state function*)<sup>76</sup>.

As CSF são configurações adaptadas às simetrias espacial e de spin, ou seja, combinações de determinantes de Slater com a mesma configuração eletrônica, mas diferentes estados de spin, e são geralmente utilizadas nos métodos MCSCF ao invés dos determinantes de Slater. Nesses métodos, o conjunto de coeficientes da expansão CI das CSFs e os coeficientes dos orbitais moleculares são otimizados simultaneamente e de uma maneira variacional, para obter a função de onda eletrônica correspondente ao menor valor de energia.

Através do formalismo MCSCF, diversos tipos de função de onda puderam ser construídas. Dentre elas, destacamos a função de onda do tipo CASSCF<sup>78</sup> (do inglês, *Complete Active Space Self-Consistent Field*). O método CASSCF foi proposto por Björn Ross<sup>78,79</sup> e a sua grande vantagem é a escolha de um conjunto de orbitais que seja mais relevante para o sistema em questão e, a partir disso, a função de onda multiconfiguracional pode ser determinada construindo em FCI nesse espaço seletivo, denominado espaço ativo (EA). Portanto, o problema agora passa a ser escolher o conjunto de orbitais a serem incluídos no EA para que uma determinada característica do sistema possa ser descrita. O método CASSCF possui uma divisão do espaço de orbitais em quatro subespaços:

1. Orbitais congelados: são os orbitais moleculares mais internos. Esses orbitais são mantidos duplamente ocupados e não são otimizados durante o cálculo, permanecendo iguais aos orbitais obtidos em um cálculo SCF.
2. Orbitais inativos: são orbitais duplamente ocupados em todas as configurações da função de onda, e ao contrário dos orbitais congelados, são otimizados durante o cálculo para melhorar a descrição do sistema.
3. Orbitais ativos: são aqueles diretamente envolvidos nos processos que se pretende estudar e, obviamente, serão otimizados novamente.
4. Orbitais virtuais: são os orbitais que terão ocupação igual a zero, em todas as configurações da expansão.

Os resultados obtidos pelos cálculos CASSCF são bastante sensíveis à escolha do espaço ativo. Determiná-los é um passo crucial, pois devem representar a situação química de interesse, podemos ver mais sobre a escolha dos orbitais no capítulo 2.4. Se o EA não estiver correto, resultados incorretos e sem significado físico podem ser obtidos. Além disso, o EA deve ser grande o suficiente para diminuir os erros associados à falta de correlação dinâmica<sup>80</sup>. O problema é que o número de orbitais e elétrons possíveis de serem incluídos no EA é usualmente limitado devido a restrições computacionais. Como consequência, selecionar o número adequado de configurações e os orbitais corretos requer alguma experiência e *insight* químico para assegurar que a função de onda tenha flexibilidade e possa fornecer os resultados corretos.

Uma vez escolhido quais orbitais participarão do espaço ativo, a função de onda CASSCF é obtida a partir de uma combinação linear de todas as configurações adaptadas de spin, distribuindo os elétrons no espaço ativo de todas as formas possíveis. Em seguida, são otimizados os coeficientes da combinação linear dos orbitais ativos e duplamente ocupados.

Os coeficientes da expansão CI e dos orbitais podem ser otimizados com respeito à energia de um determinado estado (também chamado de raiz) ou à média da energia para cada estado individual considerado. Esse último procedimento é chamado *state-average* CASSCF (SA-CASSCF) e é necessário nos casos onde vários estados possuem energias muito próximas ou quando o alvo do estudo envolve diversos estados, como na espectroscopia óptica e eletrônica e na fotoquímica<sup>80</sup>. Esses processos tipicamente possuem cruzamentos evitados e intersecções cônicas ao longo da coordenada de reação. Nesses casos, utilizar o SA-CASSCF evita problemas de convergência, muitas vezes associado à inversão de raízes (*root flipping*), já que o algoritmo CASSCF pode trocar de um estado para outro. No SA-CASSCF, um único conjunto

de orbitais moleculares, representativo para todos os estados envolvidos, é utilizado para computar todas as raízes, que são otimizadas simultaneamente. Uma matriz densidade média é obtida considerando todos os estados, que diferem apenas pelos seus próprios conjuntos de coeficientes CI otimizados.

É importante ressaltar que, embora o CASSCF calcule grande parte da energia de correlação estática, o espaço de configurações no método CASSCF é relativamente pequeno, ou seja, não é possível obter a energia de correlação dinâmica a partir desse método, exceto para sistemas muito pequenos. Isso porque a correlação eletrônica dentro do espaço ativo é completa, mas a energia de correlação proveniente de interações envolvendo elétrons do espaço inativo não é considerada. Como resultado, as energias obtidas a partir dos cálculos CASSCF não são exatas. O restante da energia de correlação, associado às interações instantâneas de curto alcance entre dois elétrons, a chamada correlação dinâmica, pode ser obtida utilizando o método de perturbação de segunda ordem com a função de onda CASSCF, denominado Teoria de Perturbação Multiconfiguracional de Segunda Ordem (CASPT2, do inglês *Complete Active-Space Second-Order Perturbation Theory*).

## 2.4 Escolha do Espaço ativo

Como descrito no capítulo anterior, a grande vantagem do método CASSCF é a escolha de um conjunto de orbitais que seja descritivo para o sistema em questão, conjunto esse chamado no método de espaço ativo, e, a partir dele, a função de onda multiconfiguracional poder ser determinada construindo um *Full CI* nesse espaço.

A partir desse ponto, nosso problema prático passa a ser a escolha dos orbitais que serão inseridos nesse EA, e conseqüentemente utilizados para gerar todas as configurações. Isso implica na escolha criteriosa de cada orbital que entra no EA, já que os recursos computacionais limitam o número a ser escolhido.

Na literatura, algumas regras foram sugeridas por Roos e colaboradores<sup>81</sup>, para de certa forma ajudar a entender quais são os orbitais mais importantes para cada tipo de sistema, elas são apresentadas a seguir:

- Pequenas moléculas, com até 4 átomos (exceto hidrogênios), recomenda-se incluir todos os orbitais de valência.

- Para os átomos Li, B e C, que pertencem ao 2º período, incluir os orbitais  $2s$ ,  $2p$ . Para os átomos N, O e F o orbital  $2s$  não precisa ser adicionado.
- Elementos do 3º período: incluir os orbitais  $3s$  e  $3p$ ; em casos com mais do que 3 elétrons de valência, o orbital  $3s$  poderá ser excluído.
- Metais de transição: incluir os orbitais  $4s$ ,  $3d$  e  $4p$ . Sendo átomos da 1ª linha de metais de transição e havendo mais do que 5 elétrons  $d$ , considerar a necessidade de incluir uma camada  $d$  ( $4d$ ) extra no espaço ativo (efeito da dupla camada)<sup>82</sup>. Nos outros metais de transição, o efeito da dupla camada  $d$  é reduzido, não sendo necessário essa inclusão da camada  $d$  extra<sup>75</sup>.
- Para compostos com elementos contendo número de oxidação alto, talvez seja necessário utilizar um número maior de orbitais ativos, porque as ligações se tornam muito covalentes.
- No caso dos lantanídeos, incluir os orbitais  $4f$ ,  $6s$ ,  $6p$  e  $5d$ . Para os actinídeos, incluir os orbitais  $5f$ ,  $7s$ ,  $7p$  e  $6d$ . Em alguns casos, existe a necessidade de se utilizar uma dupla camada  $f$ .

Para o estudo de estados excitados de moléculas orgânicas é necessário a inclusão de todos os orbitais  $\pi$ , virtuais e ocupados, e os orbitais associados a pares de elétrons isolados, que irão descrever as transições do tipo  $n \rightarrow \pi^*$ . Em alguns casos, orbitais de Rydberg devem ser adicionados e para caso de estudos de dissociação, o par de orbitais  $\sigma - \sigma^*$  da ligação de estudo deve ser inserido também.

Tendo definido o espaço ativo, o cálculo CASSCF pode ser realizado, e após o mesmo finalizado, é necessário analisarmos com cuidado para termos certeza de que todos os orbitais escolhidos permanecem nele.

Outro ponto que é preciso ressaltar é que diferente dos orbitais do método HF, que são canônicos e tem ocupação de 0, 1 ou 2, os orbitais obtidos pelo método CASSCF são orbitais naturais<sup>83</sup>, e os mesmos têm como característica a ocupação fracionária. Assim, se o orbital tem ocupação próxima a 2, significa que há pouca excitação a partir desse orbital, e, no caso oposto, ocupação próxima a zero, significa que raramente ocorre transição para esse orbital.

O que acontecerá se tivermos no espaço ativo um orbital cuja ocupação é muito próxima de dois ou muito próxima de zero? Nesse caso, haverá problemas durante o processo de otimização dos orbitais, assim eles devem ser transferidos para o espaço inativo ou virtual<sup>75</sup>.

## 2.5 Teoria da Perturbação Multiconfiguracional de Segunda Ordem

O uso da teoria de perturbação, inicialmente formulada para se entender os resultados experimentais do átomo de hidrogênio na presença de campo elétrico<sup>84</sup>, é uma alternativa ao método variacional para tratar a correlação eletrônica em átomos e moléculas que já está bem estabelecido. Em sua formulação, a teoria se baseia na partição do Hamiltoniano em duas partes, sendo o primeiro o Hamiltoniano de ordem zero e o segundo o Hamiltoniano perturbado.

Para sistemas em que é necessária uma avaliação correta da correlação eletrônica dinâmica e estática, a teoria multiconfiguracional de perturbação de segunda ordem<sup>85</sup>, CASPT2, provou ser uma abordagem precisa e produtiva. O método é baseado em uma função de onda de referência CASSCF, que leva em conta todos os efeitos de degeneração próximos na estrutura eletrônica (a correlação estática) que ocorre em muitas situações, por exemplo em estados excitados, quebra de ligação, etc. São adicionados efeitos de correlação dinâmica remanescentes usando o método perturbativo, que calcula a função de onda de primeira ordem e a energia de segunda ordem usando a função de onda CASSCF como a função de referência de ordem zero.

Nessa teoria, o Hamiltoniano é particionado de acordo com a equação 22.

$$\hat{H} = \hat{H}^{(0)} + \lambda\hat{H}^{(1)} \quad (22)$$

Onde  $\hat{H}^{(0)}$  representa o Hamiltoniano de ordem zero que possui os autovalores e autofunções conhecidas,  $\hat{H}^{(1)}$  representa o Hamiltoniano perturbado (de segunda ordem) e  $\lambda$  controla o tamanho da perturbação.

A escolha inapropriada do Hamiltoniano de ordem zero e do espaço ativo podem levar a algumas singularidades nos cálculos das funções de energia potencial, que originam os assim chamados estados intrusos (*intruder states*)<sup>86</sup>. Essas singularidades ocorrem quando existem estados quase degenerados. Formalmente, os estados intrusos são estados na expansão de primeira ordem da função de onda com energias próximas ao estado de referência. Sua presença leva a denominadores pequenos no termo de segunda ordem na expressão de energia, o que pode levar a singularidades quando a energia do denominador deste termo passa a ser zero, equação 23<sup>86</sup>.



$$E_2 = \langle 0 \rangle + \sum_{n \neq 0} \frac{|\langle 0 \rangle|^2}{E_0 - E_{0,n}} \quad (23)$$

Uma maneira de lidar com os estados intrusos é aumentar o tamanho do espaço ativo. Quando isto não é possível, as singularidades fracas podem ser removidas utilizando uma técnica chamada *level shift*<sup>87</sup>. O *shift* é utilizado para suprimir o acoplamento entre o estado intruso e o estado de referência e consiste em adicionar um novo termo ao Hamiltoniano não perturbado, isto é, um valor ao denominador para que ele seja diferente de zero. Em termos práticos, isso nada mais é do que definir um valor para um *shift* que pode ser imaginário ou real. Valores pequenos removem as singularidades, enquanto valores relativamente grandes podem causar novas divergências e valores muito grandes são inaceitáveis, já que a função potencial passa a ser afetada em regiões distantes das singularidades.

Também vale ressaltar que nos cálculos da teoria de estado único CASPT2 (SS-CASPT2, do inglês *Single-State Complete Active-Space Second-Order Perturbation Theory*), as funções de onda geradas com o método SA-CASSCF são usadas como estado de referência para expansão perturbativa de cada estado separadamente e sua relaxação não ocorre, ou seja, os coeficientes são mantidos constantes. Assim, esse método não é o mais indicado para descrever cruzamentos evitados e estados de Rydberg.

Uma alternativa para resolver esse problema é utilizar multi-state CASPT2<sup>88</sup> (MS-CASPT2), que utiliza um espaço de referência multidimensional que abrange dois ou mais estados SA-CASSCF. No método MS-CASPT2, foi aprimorado a descrição do acoplamento entre diferentes estados eletrônicos por meio da abordagem do Hamiltoniano efetivo, além disso, diferentes estados referência, provenientes da função de onda SA-CASSCF, são acoplados ao termo de segunda ordem.

Atualmente, um dos grandes sucessos do método MS-CASPT2 é sua aplicação nos cálculos de energia de excitações<sup>89</sup>, já que ele permite que os estados excitados sejam tratados no mesmo nível de teoria do estado fundamental. Tanto os estados de valência quanto os estados de Rydberg podem ser estudados com erros nas energias de excitação da ordem de 0,1 – 0,2 eV<sup>86,90</sup>.

Porém, recentemente, Granovsky<sup>91</sup>, demonstrou que o método MS-CASPT2 pode levar a superfícies de energia potencial singular em torno dos cruzamentos, assim evitando as intersecções cônicas. A fim de corrigir este problema, ele propôs uma nova família de métodos chamada perturbação quase-degenerada de multiconfiguração “estendida” (XMCQDPT2, do inglês, *Extended Multiconfiguration Quasi-Degenerate Second-Order Perturbation Theory*).

O método vem sendo utilizado com sucesso para estudar estruturas na região das intersecções cônicas, e foi utilizado como base para a correção do método MS-CASPT2, agora nomeado MS-CASPT2 estendido (XMS-CASPT2)<sup>92</sup>. O método tem como sua principal diferença quando comparado a sua versão MS-CASPT2 a adição de termos não-diagonais do operador de Fock generalizado como resultado, produzem potenciais melhorados nas regiões de cruzamento próximo e os chamados ICs<sup>89,90,93</sup>, no entanto pode levar a resultados não tão precisos em questão de energia na região de Franck-Condon<sup>90,94</sup>.

## 2.6 Modelos QM/MM de modelagem de ambiente

Apesar das moléculas em geral apresentarem os fenômenos de interesse estudados experimentalmente em meio a solventes, os estudos teóricos são em sua grande maioria realizados em moléculas isoladas<sup>95</sup>. Isso se deve ao fato que estudos em solvente possuem um grande custo computacional.

O modelo mais comumente utilizado é o de solvente contínuo. Nele o solvente é tratado como um dielétrico contínuo e infinito de constante dielétrica  $\epsilon$ , assim, o sistema de interesse é colocado no interior de uma cavidade contendo vácuo, cuja  $\epsilon$  é igual a um. Nesse modelo, o solvente se polariza na presença de cargas eletrônicas e nucleares do soluto, induzindo cargas de polarização na superfície da cavidade, que por sua vez, polariza a distribuição de cargas do soluto.

O custo computacional baixo é um dos atrativos do método, porém, vale ressaltar que considerar o meio como um contínuo traz alguns problemas como, por exemplo, a falha na descrição das interações de curto alcance, especialmente interações específicas, como por exemplo ligações de hidrogênio<sup>96,97</sup>.

Dessa forma, é necessário optar por aproximações que de forma geral levem em consideração essas interações e que apresentam boas concordâncias com os resultados experimentais. Uma metodologia já bem estabelecida, que nos últimos anos vem ganhando mais adeptos devido ao aumento do poder computacional disponível, são os modelos híbridos, que combinam cálculos quânticos (QM, do inglês *Quantum Mechanics*) e mecânica clássica (MM, do inglês *Molecular Mechanics*), chamados normalmente de métodos QM/MM, ou caso o sistema possua evolução no tempo, ou seja, caso o sistema seja submetido a uma dinâmica, o mesmo passa a ser chamado QM/MD<sup>98</sup>, sendo MD do inglês *Molecular Dynamics*.

Em cálculos QM/MM, o sistema é dividido em dois subespaços, o primeiro consiste num pequeno número de átomos, onde o tratamento terá maior rigor, sendo esse tamanho definido pelo método QM que será utilizado, no nosso caso, XMS-CASPT2. E o segundo é a parte MM, que serve como ambiente e que utiliza campos de força clássico.

A ideia do método original é o tratamento de dois sistemas diferentes, como por exemplo, soluto solvente, porém quando o sistema de interesse é grande, e não pode ser abordado de uma forma total com metodologia QM, é necessário descrever somente a parte de interesse do mesmo, e se existir ligações químicas na divisão das duas regiões é necessário o tratamento de fronteira<sup>99</sup>.

Na forma convencional, a abordagem dos cálculos quânticos e dos cálculos clássicos, são realizadas ao mesmo tempo e a energia do método QM/MM é apresentada na equação 24. Nessa equação o termo  $E_{QM}$  representa a energia da parte quântica, o termo  $E_{MM}$  representa a energia da parte da mecânica molecular e o último termo é a parte do acoplamento entre as duas partes.

$$E_{total} = E_{QM} + E_{MM} + E_{QM/MM} \quad (24)$$

O último termo da expressão é usualmente escrito como a soma de três tipos de interação, sendo elas a interação eletrostática, a interação de Van der Waals e o último termo é calculado caso existam ligações químicas entre a parte QM e MM.

### 3 FOTOQUÍMICA DE FÁRMACOS BASEADOS NA FENILACETAMIDA

#### 3.1 Introdução

A relevância dos produtos farmacêuticos para prevenir e tratar doenças humanas e doenças animais é um consenso. Graças a eles, temos uma qualidade de vida melhor e tivemos aumento da expectativa de vida nos últimos anos. No entanto, ingredientes farmacêuticos ativos (IFA) também geram um aumento de resíduos que, se não descartados adequadamente, contaminam o meio ambiente e causam efeitos deletérios para os ecossistemas e os seres humanos<sup>100</sup>.

A contaminação ambiental ocorre durante a fabricação industrial, uso e descarte dos IFAs. Em relação ao descarte incorreto, a literatura<sup>101</sup> aponta duas principais fontes de ocorrência. Em uma delas, a forma líquida, a contaminação ocorre pela excreção humana dos medicamentos não metabolizados e descarte inadequado do medicamento na rede de esgoto. A outra, a forma sólida, ocorre com o envio do medicamento para aterros sanitários dentro ou fora dos *blisters* de proteção. Ambos acabam contaminando as águas subterrâneas e, conseqüentemente, as águas superficiais, onde através da incidência da luz solar, pode ocorrer a fotodegradação dos contaminantes.

Embora detectado em baixa concentração (normalmente  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) em água doce<sup>102,103</sup>, anilidas e outras drogas (como compostos perfluorados<sup>104,105</sup>, farmacêuticos<sup>106-109</sup>, hormônios<sup>110-112</sup>, disruptores endócrinos<sup>113</sup>, protetores solares<sup>112</sup>, retardadores de chama<sup>114</sup>, dioxano<sup>115,116</sup>, pesticidas<sup>117-122</sup> e seus subprodutos de degradação) são prejudiciais ao meio ambiente e seus danos potenciais aos ecossistemas ainda permanecem desconhecidos<sup>123</sup>.

A N-(4-hidroxifenil)-acetamida, Figura 4a, vendida mundialmente sob o nome genérico de paracetamol, é um fármaco analgésico e antipirético pertencente à classe dos compostos anilidas analgésicas<sup>124</sup>, amplamente empregado no tratamento médico humano e animal. Apesar de ser o medicamento mais prescrito para dor e febre, de acordo com uma revisão recente<sup>125,126</sup>, sua eficácia tem sido questionada, e seu potencial de causar danos ao fígado é conhecido desde 1970<sup>127,128</sup>, danos nos rins também são causados<sup>129</sup>, sendo 10 gramas uma dose suficiente para envenenar um adulto<sup>130</sup>.

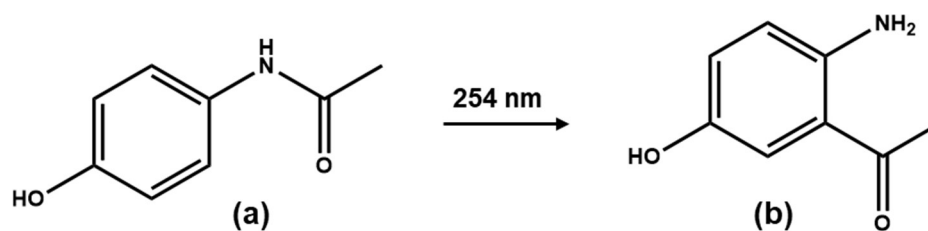


Figura 4 - Clivagem da ligação OC-N do paracetamol (acetaminofeno) (a) produzindo 1-(2-Amino-5-hidroxifenil)etanona (b) como produto principal da reação Photo-Fries.

É interessante notar que, o consumo de paracetamol no Reino Unido foi de mais de 3.500 toneladas em 2002 segundo a IMS. Global Pharmaceutical Sales, MIDAS database, 2004. Além disso, um estudo recente sobre a ocorrência global de produtos farmacêuticos em rios<sup>100</sup> mostrou que o paracetamol foi detectado com frequência semelhante em todos os continentes, sendo o contaminante com a maior concentração detectada.

Por ser um medicamento de baixa eficácia<sup>131-133</sup> no tratamento da dor e da febre, o paracetamol tem sido usado em combinação com muitos outros medicamentos, como diclofenaco, cafeína, ibuprofeno e carisprodol, e está presente em um grande número de prescrições de medicamentos, tornando-se um medicamento amplamente difundido, e tem sido considerado um poluente emergente<sup>134-136</sup> devido à presença de quantidades crescentes em águas residuais domésticas, como resultado da descarte incorreto e estações de tratamento ineficientes.

Várias técnicas têm sido propostas para remover essas substâncias do meio ambiente. Quanto ao paracetamol, as mais empregadas são hidrólise, degradação térmica e biodegradação, enquanto a fotodegradação tem sido a menos empregada, apesar de ser entre as técnicas de degradação de drogas mais relevantes<sup>124,137-139</sup>. Essa baixa adesão ao método é relacionada a baixa taxa de degradação que a literatura apresenta, sendo ensaios realizados em reator com vazão 125,00 L/h com exposição da solução por 120 min, apresentaram taxa de degradação de 7,45%, enquanto nas mesmas condições, o método H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV apresentou taxa de degradação de 86,65%<sup>140,141</sup>. Apesar dos esforços recentes, aspectos moleculares relacionados aos mecanismos fotoquímicos dessa reação ainda não são totalmente compreendidos<sup>142</sup>.

Na literatura, são diversos estudos apresentando a degradação do paracetamol na presença de foto catalisadores<sup>143-146</sup>. Nesses estudos, há a formação de diversos fotoprodutos por irradiação UV na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> via hidroxila foto gerada e outros radicais<sup>147</sup>. No entanto, o composto b apresentado na Figura 4 não foi gerado, ou pelo menos não foi identificado, nesses

experimentos, diferente do que foi demonstrado<sup>143,148,149</sup> que fotólise UV direta com 254 nm<sup>143,148-153</sup> causa a reação Photo-Fries<sup>154-156</sup>.

Como pode ser visto na Figura 4a, temos a ligação NCO, que é de interesse para a fotoclivagem e é a primeira etapa da reação de Photo-Fries (PFR, do inglês *Photo-Fries rearrangement*). Esta reação tem sido amplamente estudada na classe éster<sup>142,157-163</sup>, e pode ser usada como um indicador de um possível mecanismo para as moléculas de nosso interesse. Observações experimentais estabeleceram que a reação Photo-Fries ocorre no primeiro estado<sup>160,164-166</sup>,  $S_1$ , que possui caráter  $\pi\pi^*$ , cujas superfícies de energia potencial (PES) são intersectadas por um estado dissociativo  $\pi\sigma^*$ , onde o orbital  $\sigma^*$  está localizado ao longo da ligação O-CO<sup>167</sup>.

A acetanilida (N-fenilacetamida), Figura 5a, anteriormente conhecida pelo nome comercial de Antifebrin, foi o primeiro derivado da anilina utilizado como propriedades analgésicas e antipiréticas, podendo ser considerado o precursor do paracetamol. Após estudos na ação no corpo humano, foi descoberto que além da molécula ser convertida no metabólito fenólico, uma outra reação ocorria. Assim era gerado, juntamente o aminobenzeno (ou popularmente conhecida como anilida) que é altamente tóxico. Em 1948, Julius Axelrod e Bernard Brodie<sup>168</sup> descobriram que a acetanilida teria maior toxicidade que outras drogas usadas como analgésicos, sendo a droga responsável por causar metahemoglobinemia e, finalmente, causar danos ao fígado e aos rins.

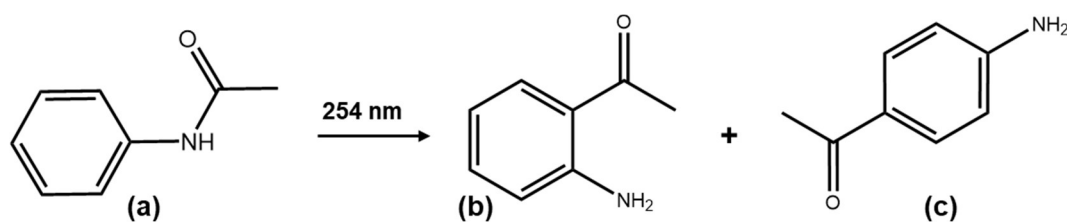


Figura 5 - Clivagem da ligação OC-N de acetanilida (2a) resultando em 2'-aminoacetofenona (2b) e 4'-aminoacetofenona (2c).

Deve-se notar que, embora o rendimento da fotólise seja baixo, em condições naturais, há a formação de produtos, sendo esses aminas aromáticas (anilinas)<sup>149</sup>. Esses compostos são conhecidos por serem tóxicos particularmente para peixes<sup>169</sup> e também para humanos<sup>170</sup>. De forma geral, isso levanta a questão do uso de irradiação de 254 nm sozinha para desinfecção de água contendo resíduos orgânicos aromáticos que absorvem neste comprimento de onda (como

drogas ou pesticidas), porém, torna o entendimento da reação mais necessária, a fim da compreensão e da otimização da mesma.

Com este estudo, esperamos contribuir para um melhor entendimento da fotofísica do paracetamol e, conseqüentemente, auxiliar novas pesquisas que investiguem como removê-lo do meio ambiente.

### 3.2 Objetivo

O objetivo deste trabalho foi elucidar os mecanismos de fotólise do paracetamol empregando o método MS-CASPT2 e conjuntos de bases atômicas dupla- $\zeta$ . As hipersuperfícies de energia potencial relevantes foram exploradas por meio de geometrias de mínimos, pontos de cruzamento de energia mínima (MECP, do inglês *Minimum Energy Crossing Point*) e interpolação linear em cálculos de coordenadas internas. Para comparações, os fotólitos da acetanilida, para os quais foi observado o mecanismo Photo-Fries também foram descritos no mesmo nível teórico e comparados com resultados anteriores.

### 3.3 Metodologia

Geometrias de mínimos e pontos de cruzamento de energia mínima entre estados singleto-singleto (SSCP, do inglês *singlet-singlet minimum energy crossing point*) foram otimizados com MS-CASPT2<sup>171,172</sup>, baseado em uma função de onda SA-CASSCF<sup>79</sup> utilizando um conjunto de base dupla- $\zeta$  (ANO-L-VDZP<sup>173</sup>). O SSCP foi otimizado como o ponto de cruzamento com menor energia obtido com a técnica de multiplicadores de Lagrange restrita<sup>174</sup>, impondo a restrição de degenerescência entre os dois estados eletrônicos considerados. Os cálculos foram realizados sem correção do IPEA (*Ionization Potential-Electron Affinity Shift*)<sup>86,87</sup>. Para lidar com estados intrusos, nós empregamos a técnica de *Imaginary level Shift*<sup>175</sup> (0.2 Hartree). Os cálculos foram realizados com a média dos cinco estados eletrônicos singletos, empregando um espaço ativo abrangendo 14 elétrons em 12 orbitais SA(5)-CASSCF(14,12), Figura 6, isto é, um par de orbitais  $\sigma/\sigma^*$  ao longo da ligação OC-N, um par de elétrons  $n$  no átomo de oxigênio, 5 orbitais  $\pi$  e 4 orbitais  $\pi^*$ . Cálculos de estrutura eletrônica foram realizados com o programas OpenMolcas<sup>176</sup>, sem impor restrições de simetria espacial.

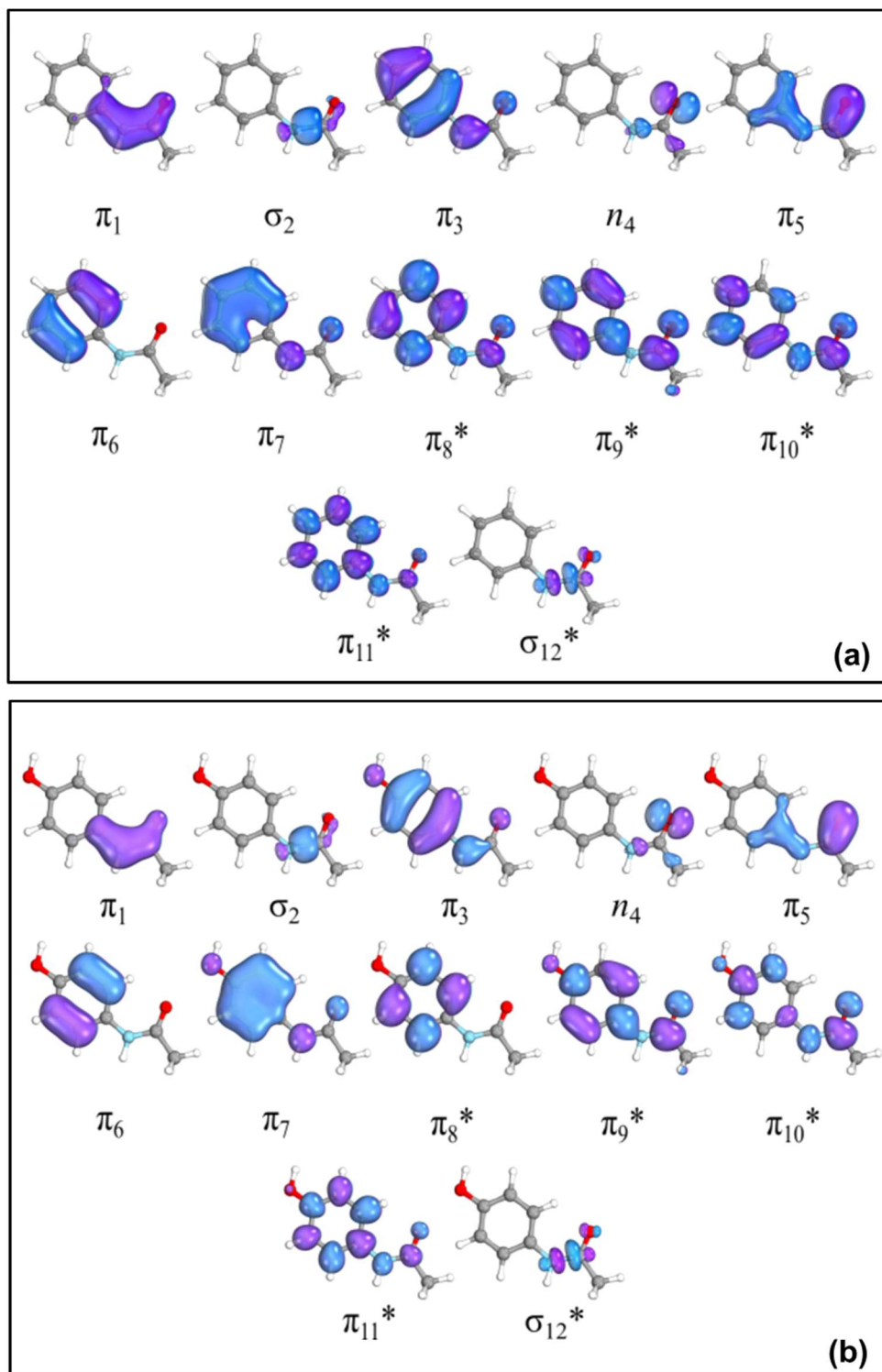


Figura 6 - Espaços ativos da (a) acetanilida e do (b) paracetamol, em termos de orbitais naturais médios derivados no nível SA(5)-CASSCF(14,12)/ANO-L-VDZP na geometria de equilíbrio do estado fundamental, contendo 14 elétrons, 9  $\pi$ , o par de elétrons localizado no átomo oxigênio um par de orbitais  $\sigma$ ,  $\sigma^*$  ao longo da ligação OC-N. Este ativo espaço foi empregado para otimizações de geometria e excitação vertical cálculos de energia.

Os cálculos do caminho de energia mínima (MEP), empregando o método MS-CASPT2 consomem muito tempo devido à falta de gradientes analíticos. Portanto, as regiões mais



relevantes ao longo das hipersuperfícies de energia potencial foram conectadas por meio de caminhos de interpolação linear em coordenadas internas (LIIC), definidas via Z-Matrix. Em cada estrutura LIIC, as energias de excitação vertical foram calculadas no nível de teoria MS(5)-MS-CASPT2(14,12)/ANO-L-VDZP. Vale ressaltar que as vias LIIC representam um limite superior ao caminho real, levando a barreiras energéticas superestimadas. O software COLUMBUS<sup>177</sup> foi empregado para interpolar as geometrias necessárias para os cálculos dos LIICs.

Já para avaliar a formação de fotoprodutos, foi calculado o caminho da região de cruzamento para os produtos semi-formados utilizando interpolação geodésica<sup>178</sup>. Essa etapa, como pode ser vista nos resultados e discussões, foi a única etapa a apresentar barreira energética, sendo assim, a escolha de um método de interpolação diferente para essa etapa se dá devido ao método de interpolação geodésica apresentar valores de barreira menor ao método de coordenadas interna. A energia foi calculada em nível de teoria CAM-B3LYP<sup>179</sup>/6-311++g(d,p)<sup>180</sup>, utilizando o programa Gaussian09<sup>181</sup>.

Os espectros de absorção foram simulados com o auxílio do software SHARC<sup>182</sup>. Um conjunto de condições iniciais de 1000 geometrias foi gerado a partir de uma distribuição de Wigner de oscilador harmônico quântico não correlacionado<sup>183,184</sup>, obtido a partir da otimização da geometria de equilíbrio do estado fundamental, seguida do cálculo de frequências harmônicas, realizado no nível MP2/ANO-L-VDZP. Este conjunto foi então usado para simular a parte de menor energia do espectro de absorção. Para cada geometria amostrada, as energias de excitação vertical foram calculadas por meio de cálculos de ponto único no método MS-CASPT2, incluindo os seis estados eletrônicos singlete mais baixos (MS(6)-CASPT2(14,12)) e função de base ANO-L-VDZP; este nível de teoria foi empregado apenas para a simulação do espectro de absorção. O espectro de absorção final foi obtido como uma superposição de funções gaussianas, definidas nas energias de excitação vertical computadas e com a altura proporcional à força do oscilador<sup>185</sup>, com uma largura à meia altura (FWHM, do inglês *Full Width at Half Maximum*) de 0,30 eV.

### 3.4 Resultados e Discussões

#### 3.4.1 Energia de excitação vertical

Energias de excitação vertical computadas e experimentais<sup>186-188</sup>  $\Delta E$ , forças de oscilador associadas ( $f$ ) e momentos de dipolo eletrônico ( $\mu$ ) para os estados eletrônicos singleto mais baixos na região Franck-Condon são exibidas na Tabela 1.

Tabela 1 – Energia vertical ( $\Delta E$  (eV) e  $\lambda$  (nm)), força de oscilados ( $f$ ) e momento de dipolo ( $\mu$ ) pra os três primeiros estados excitados da acetanilida e do paracetamol em nível MS(5)-CASPT2(14,12)/ANO-L-VDZP.

Acetanilida						
Estado	Teórico				Exp <sup>186</sup>	
	$\Delta E$ (eV)	$\lambda$ (nm)	$f$	$\mu$	$\Delta E$	
Fundamental				3.59		
S <sub>1</sub> <sup>1</sup> ( $\pi\pi^*$ L <sub>b</sub> )	4.31	287.7	0.003	3.64	4.42	
S <sub>2</sub> <sup>1</sup> ( $\pi\pi^*$ L <sub>a</sub> )	4.89	253.5	0.366	2.39	5.12	
S <sub>3</sub> <sup>1</sup> ( $n\pi^*$ )	5.24	236.6	0.001	4.52		
Paracetamol						
Estado	Teórico				Teórico <sup>188</sup>	
	$\Delta E$ (eV)	$\lambda$ (nm)	$f$	$\mu$	$\Delta E$	$f$
Fundamental				3.54		
S <sub>1</sub> <sup>1</sup> ( $\pi\pi^*$ L <sub>b</sub> )	4.14	299.6	0.007	3.55	4.74	0.033
S <sub>2</sub> <sup>1</sup> ( $\pi\pi^*$ L <sub>a</sub> )	4.87	254.6	0.339	2.52	5.12	0.418
S <sub>3</sub> <sup>1</sup> ( $n\pi^*$ )	5.28	234.8	0.000	3.11	5.21	0.000

Como pode ser visto na tabela acima, o estado excitado singleto <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$ ) mais baixo da acetanilida é calculado como sendo verticalmente em 4,31 eV acima do mínimo do estado fundamental, valor esse em concordância com o valor experimental (4,58 eV) relatado por Prabhumirashi<sup>190</sup>. De acordo com Ungnade et al.<sup>186</sup>, essa excitação é chamada de banda secundária, em referência ao espectro de absorção, enquanto Prabhumirashi empregou a notação de Platt-Murrell<sup>191</sup> para rotulá-la como L<sub>b</sub>. A transição eletrônica para o estado excitado <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$  L<sub>b</sub>) está associada a uma força do oscilador de 0,003. Na região de Franck-Condon, a função de onda S<sub>1</sub> <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$  L<sub>b</sub>) é derivada do estado fundamental por uma dupla excitação envolvendo o  $\pi_6$  para  $\pi_9^*$  (43%) e  $\pi_3$  para o  $\pi_8^*$  (29%), orbitais apresentados na Figura 6. Na região de Franck-Condon, o momento de dipolo S<sub>1</sub> <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$  L<sub>b</sub>),  $\mu$ , tem o valor de 3,64 D.

O estado excitado singleto mais baixo <sup>1</sup>( $\pi\pi^*$ ) do paracetamol é calculado como 4,14 eV ( $\mu = 3,55$  D) verticalmente acima do estado fundamental, sendo a transição eletrônica associada a uma força do oscilador de 0,007, de acordo com o valor teórico reportado por Govindasamy<sup>188</sup>, obtido no nível de teoria B3LYP/6-31G(d,p). Assim como para acetanilida, o

primeiro estado excitado do paracetamol também é um estado excitado duplamente em relação ao estado fundamental, com uma função de onda melhor descrita pelo  $\pi_6$  para  $\pi_9^*$  (49%) e  $\pi_3 \rightarrow \pi_8^*$  (29%), Figura 6.

O estado  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$ , para acetanilida e para o paracetamol, Tabela 1, estão respectivamente, em 4,89 e 4,87 eV verticalmente acima da região mínima do estado fundamental. Em ambos os casos, o estado excitado  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$  é derivado do estado fundamental por uma única excitação do  $\pi_3$  para o orbital  $\pi_9^*$ . Também é interessante mencionar que, em ambos os casos, o momento dipolo é menor (acetanilida:  $\mu = 2,39$  D; paracetamol:  $\mu = 2,52$  D) se comparado ao estado fundamental ( $\mu = 3,60$  D e  $\mu = 3,54$  D, respectivamente), sugerindo que em solventes polares a excitação do estado fundamental para o estado excitado  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$  seria deslocado para o azul em relação ao observado em meios apolares.

A Figura 7 exhibe os espectros de absorção simulados a partir da força do oscilador e excitação calculada no nível de teoria MS(6)-CASPT2(14,12)/ANO-L-VDZP.

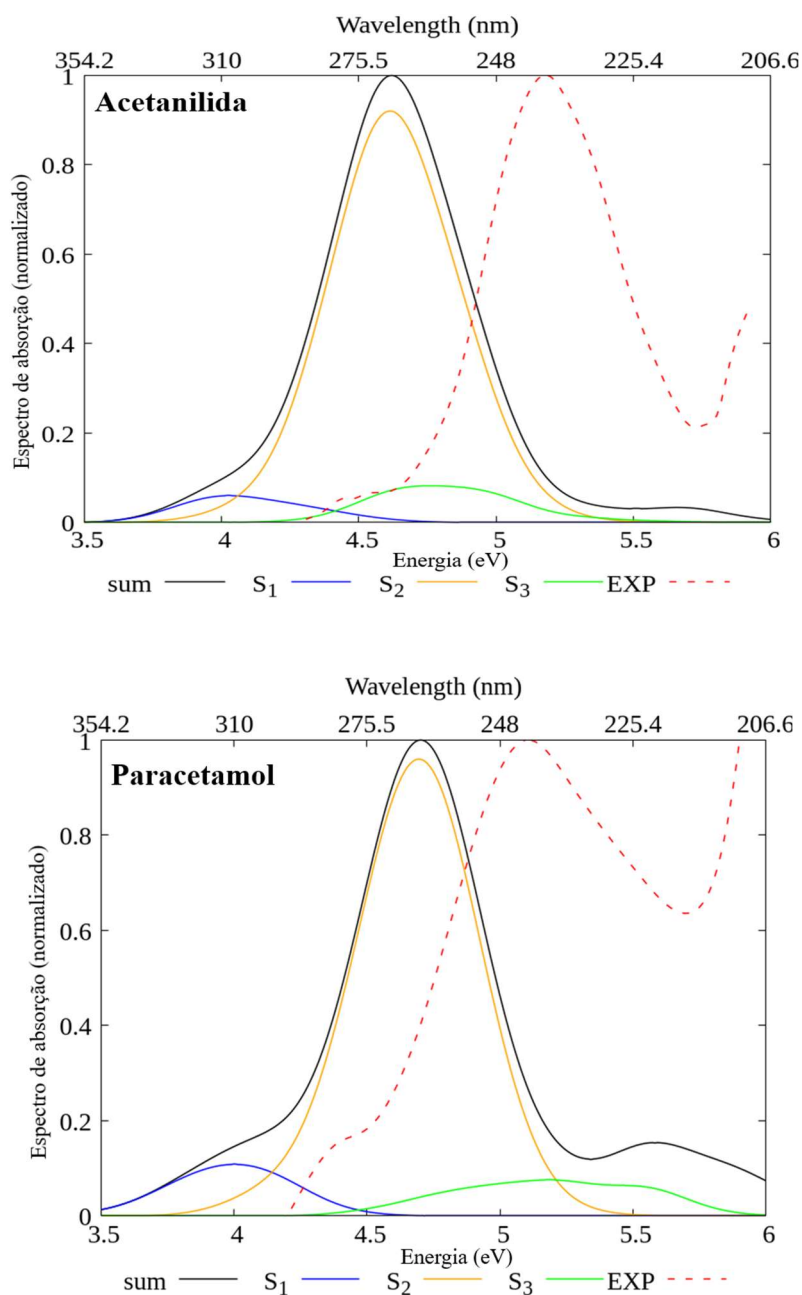


Figura 7 - Espectro de absorção simulado de acetanilida e paracetamol calculado no nível de teoria MS(6)-CASPT2(14,12)/ANO-L-VDZP. O espectro experimental é exibido com linha tracejada. A contribuição individual dos três primeiros estados eletrônicos singleto também são mostradas.

O espectro de absorção simulado em fase gasosa da acetanilida Figura 7 a, exibe um  $\lambda$  máximo de 269 nm (4,61 eV), 0,55 eV deslocado do valor experimental para o vermelho (240 nm, 5,17 eV, em ciclohexano)<sup>152</sup>. Resultados experimentais<sup>149-153,164,192,193</sup> mostram que a fotoclivagem de acetanilida em fase gasosa ou solução (ciclohexano, éter, etanol e água) ocorre

em cerca de 4,88 eV (254 nm). Portanto, nossos resultados indicam que o estado excitado  $S_2$  ( $^1(\pi\pi^* L_a)$ ) carrega a maior parte da intensidade nesta região e deve ser o estado eletrônico chave para a compreensão do mecanismo de fotoclivagem. A concordância entre os resultados computados e experimentais sugere que o nível de cálculo que empregado é apropriado para investigar a fotoclivagem dos sistemas apresentados.

Quanto ao paracetamol, o espectro de absorção simulado Figura 7 b, exibe um máximo ( $\lambda_{\max}$ ) a 263 nm (4,71 eV), de acordo com o valor experimental (243 nm; 5,10 eV) registrado em tampão fosfato (0,1 M, pH 7,0). O  $\lambda_{\max}$  calculado é desviado para o vermelho (19 nm, 0,39 eV) em relação ao achado experimental. Também é interessante notar que o formato do espectro simulado reproduz bem aquele registrado experimentalmente. Nossos resultados sugerem que o estado excitado  $^1(\pi\pi^* L_a)$  é o estado chave para a compreensão do mecanismo de fotoclivagem do paracetamol, pois é o que carrega a maior parte da intensidade e, portanto, será rapidamente povoado após a absorção da radiação eletromagnética

### 3.4.2 Geometrias de equilíbrio e Caminhos Fotoquímicos

Estruturas esquemáticas e a numeração dos átomos para a acetanilida (a), e para o paracetamol (b), é apresentado na Figura 8.

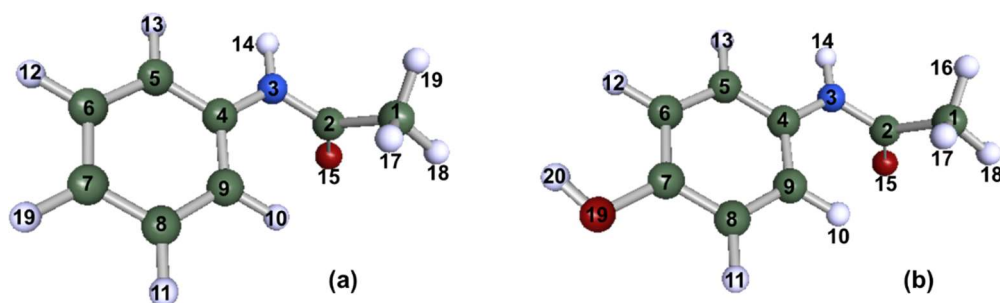


Figura 8 - Estruturas esquemáticas e numeração atômica para (a) acetanilida e (b) paracetamol. Representações atômicas: Carbono (C) = verde, nitrogênio (N) = azul, oxigênio (O) = vermelho e hidrogênio (H) = branco.

A geometria do estado fundamental otimizada para as duas moléculas apresentam característica planar, como pode ser visto na Tabela 5 e Tabela 6, em Anexos, onde são apresentados os valores absolutos, e está de acordo com a difração de raios-X<sup>194,195</sup> e resultados teóricos para acetanilida<sup>196</sup> e paracetamol<sup>188</sup> obtidos, respectivamente, nos níveis de teoria

B3LYP/6-31+G(d,p) e B3LYP/6-311++G(d,p). Como pode ser visto na Figura 9, um gráfico da diferença entre os comprimentos de ligação da molécula no estado fundamental com as demais geometrias críticas para o entendimento da reação é apresentado, onde valores positivos significam distâncias de ligação maiores do que o estado fundamental, enquanto valores negativos correspondem a comprimentos de ligação menores do que o previsto no estado fundamental.

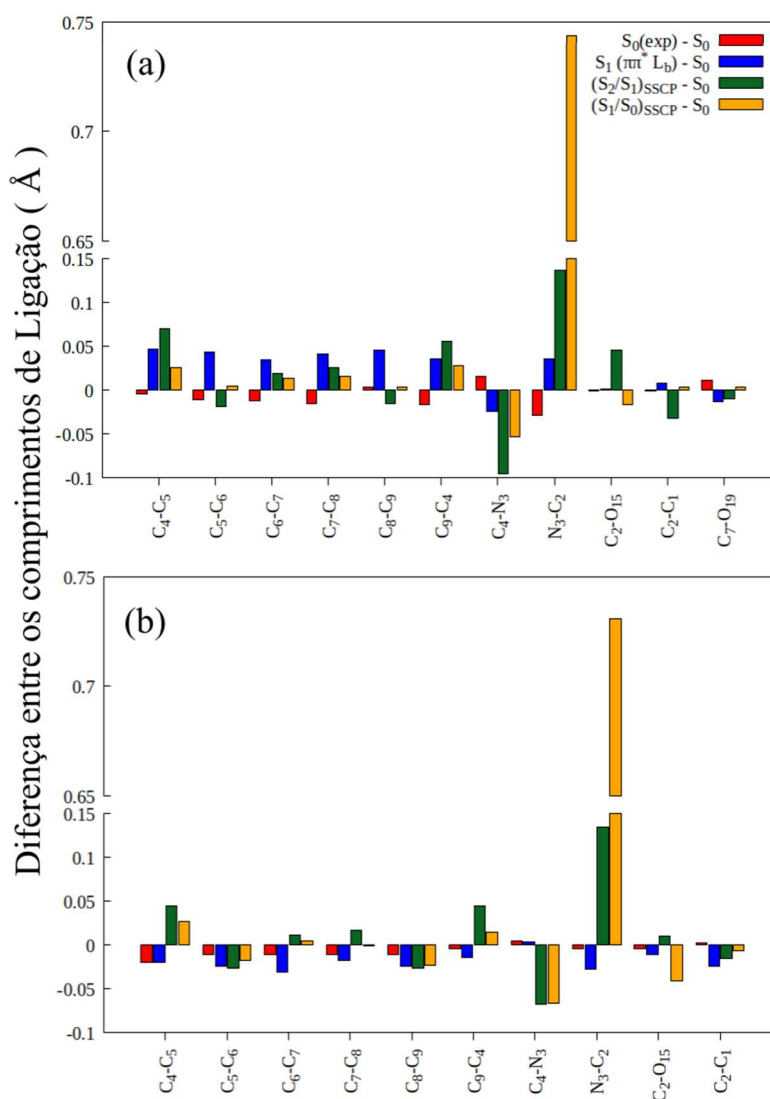
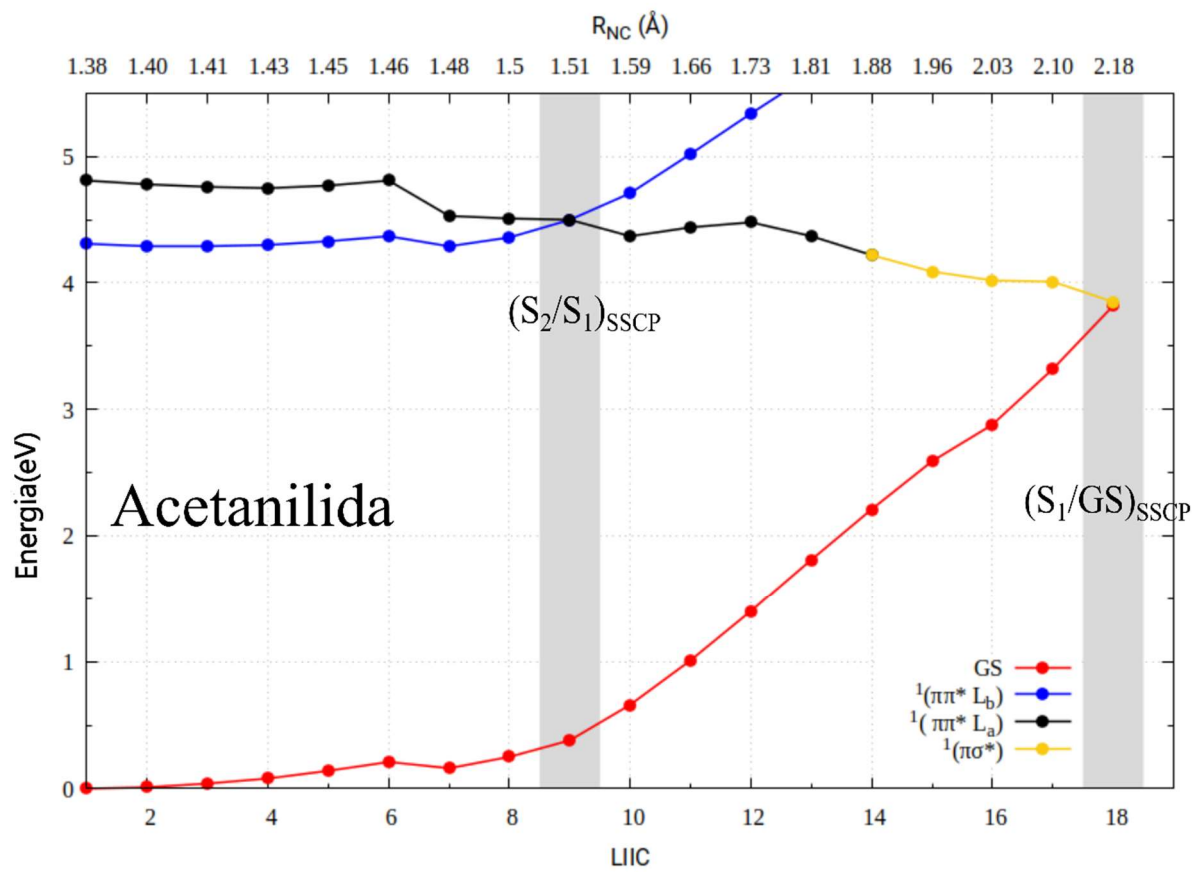
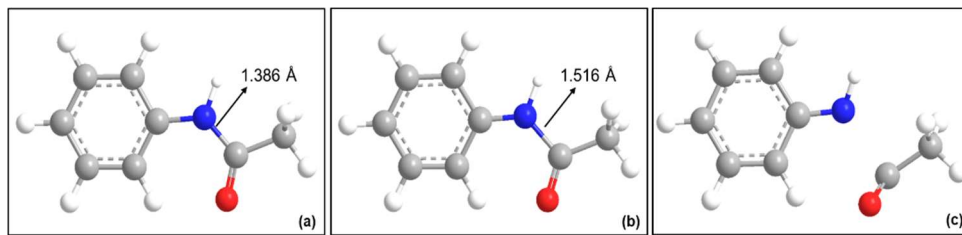


Figura 9 - Diferença entre comprimentos de ligação selecionados entre as geometrias  $S_0$  exp.,  $S_1$   $^{1}(\pi\pi^* L_b)_{\text{min}}$ ,  $(S_2/S_1)_{\text{SSCP}}$  e  $(S_1/S_0)_{\text{SSCP}}$  em relação a geometria  $S_0$ , sendo para (a) paracetamol e (b) acetanilida.

As maiores diferenças estão nas geometrias  $(S_2/S_1)_{SSCP}$  e  $(S_1/S_0)_{SSCP}$ , em especial nas ligações  $C_4-N_3$ , apresentando uma contração em relação a geometria do estado fundamental ( $S_0$ ), e na ligação  $N_3-C_2$ , ligação essa que sofre a clivagem. A comparação do estado fundamental com os valores experimentais, não demonstram nenhuma diferença considerável.

Os eventos fotoquímicos têm início após o estado espectroscópico, também nomeado de estado fotoativo, ou como é nomeado em inglês *bright state*, ser populado. De acordo com nossos resultados, para acetanilida e paracetamol o estado excitado  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$ , para o qual a transição eletrônica associada é caracterizado pela maior força do oscilador, Tabela 1, é o *bright state* na região energética de interesse. Portanto, decidimos seguir a via fotoquímica ao longo da hipersuperfície de energia potencial do estado do  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$  empregando a técnica LIIC, realizando cálculos de energia em cada ponto no nível de teoria MS(5)-CASPT2(14,12)/ANO-L-VDZP para cada estrutura interpolada.

Em ambos os casos, Figura 10, a primeira parte da via interpolada descreve uma evolução sem barreiras ao longo da hipersuperfície de energia potencial do estado excitado  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$  em direção à região atravessando a hipersuperfície de energia potencial  $S_1^1(\pi\pi^* L_b)$ , caracterizada pela estrutura  $(S_2/S_1)_{SSCP}$ . A segunda parte descreve o caminho da região  $(S_2/S_1)_{SSCP}$  até o cruzamento entre a região a hipersuperfície de estado fundamental através da hipersuperfície do estado  $S_1^1(\pi\pi^* L_a)$  até a estrutura  $(S_1/GS)_{SSCP}$ .





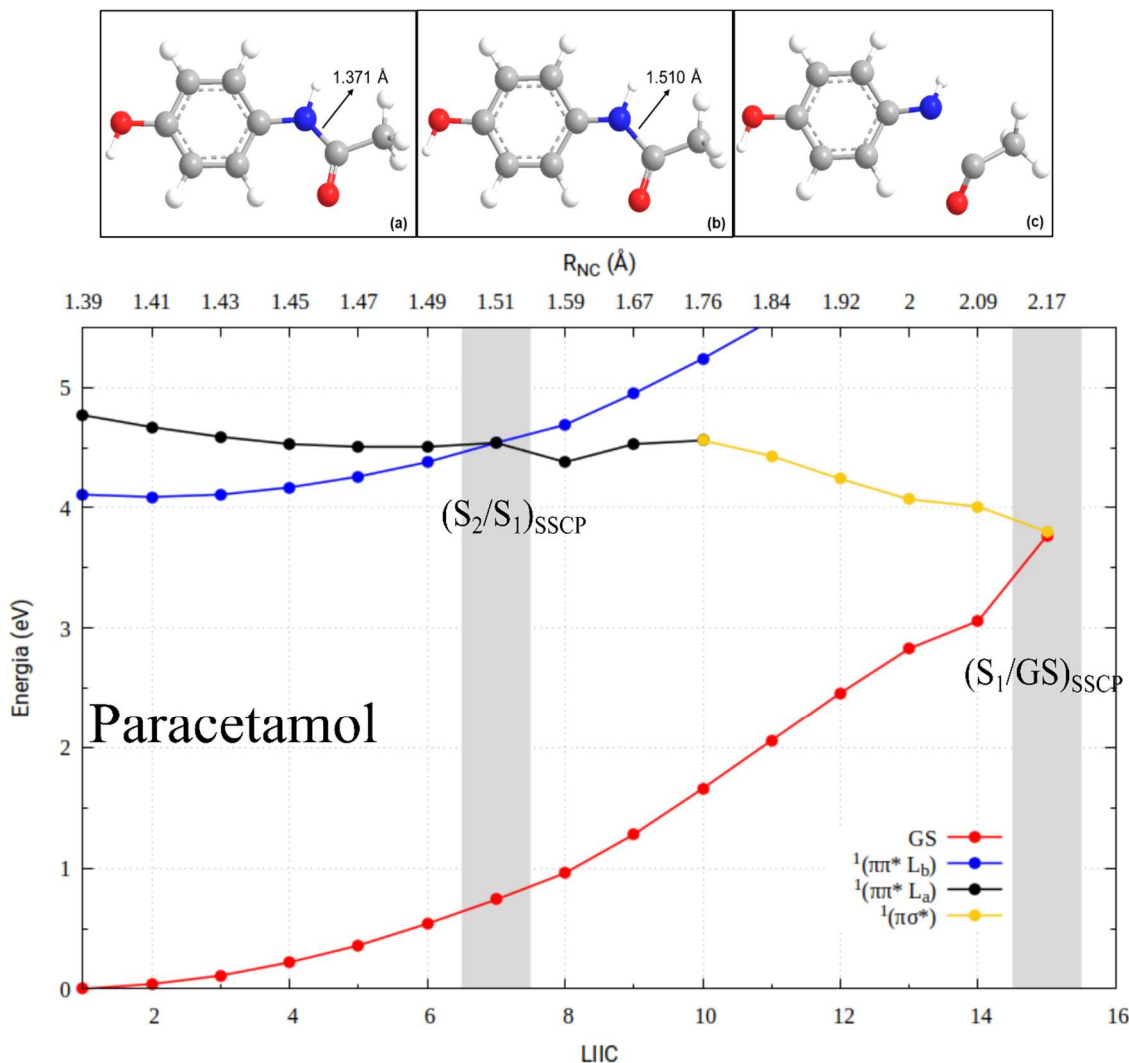


Figura 10 - Interpolação linear em vias de coordenadas internas para acetanilida e paracetamol ao longo da hipersuperfície  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$ , começando na região de Franck-Condon e sendo a área sombreada as geometrias SSCP. Para cada estrutura interpolada LIIC, um único cálculo de energia pontual foi realizado, em nível MS(5)-CASPT2(14,12)/ANO-L-VDZP de teoria. As geometrias apresentadas representam em (a), o estado fundamental, (b) a geometria  $(S_2/S_1)_{SSCP}$  e (c)  $(S_1/GS)_{SSCP}$ .

Tanto para acetanilida quanto para paracetamol, a população eletrônica é inicialmente transferida do estado eletrônico  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$  para o estado  $S_1^1(\pi\pi^* L_b)$  pela região de cruzamento de energia mínima  $(S_2/S_1)_{SSCP}$ , que está 4,50 eV adiabaticamente acima do mínimo GS para acetanilida e 4,54 eV para paracetamol. Esta via é caracterizada pelo alongamento da ligação entre os átomos  $N_3-C_2$  (ligação N-CO) em 0,13 Å, em comparação com os parâmetros otimizados do estado fundamental correspondentes.

A estrutura de cruzamento de energia mínima também pode ser caracterizada usando os parâmetros de Cremer-Pople<sup>197</sup> e Boeyens<sup>198</sup>. Para acetanilida, a estrutura de cruzamento de energia mínima  $(S_2/S_1)_{SSCP}$  tem uma conformação para o anel  ${}^6H_5$ , ou seja, uma configuração

de meia cadeira com o átomo C<sub>6</sub> acima do plano e o átomo C<sub>5</sub> abaixo do plano, mesma configuração encontrado no paracetamol.

A partir da região de cruzamento (S<sub>2</sub>/S<sub>1</sub>)<sub>SSCP</sub>, ambos os sistemas podem evoluir, ao longo da hipersuperfície de energia potencial S<sub>1</sub><sup>1</sup>(ππ\* L<sub>b</sub>), foi localizado uma geometria de mínimo há 3,97 eV adiabaticamente acima da acetanilida GS e 3,81 acima do paracetamol GS, de onde o excesso de energia poderia ser liberado como fluorescência (energias de emissão: acetanilida, 3,95 eV; paracetamol 3,68 eV).

Portanto, após a região de cruzamento (S<sub>2</sub>/S<sub>1</sub>)<sub>SSCP</sub>, o sistema permanece na hipersuperfície de energia potencial <sup>1</sup>(ππ\* L<sub>a</sub>). Como na primeira parte descrita acima, ao longo da segunda parte da via, a ligação N-CO se alonga até sua clivagem homolítica, dando origem a um par de radicais. A medida que a ligação se alonga, o orbital σ\* é estabilizado, conferindo ao estado um caráter πσ\*, Figura 11, como pode ser visto destacado com hipersuperfície de cor amarela na Figura 10.

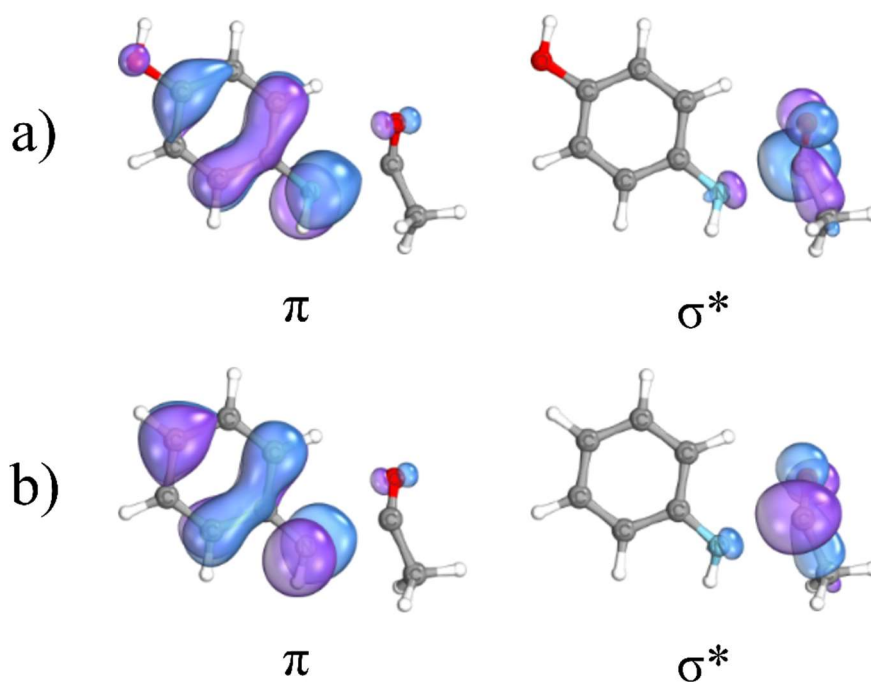


Figura 11 – Orbitais envolvidos na transição πσ\* após a cônica (S<sub>2</sub>/S<sub>1</sub>)<sub>SSCP</sub>, sendo a paracetamol e b a acetanilida.

Vale a pena notar que este caminho leva diretamente a uma região de cruzamento com a superfície de energia potencial do estado fundamental do reagente (S<sub>1</sub>/GS)<sub>SSCP</sub>, que ocorre após a clivagem da ligação N-CO. A estrutura (S<sub>1</sub>/GS)<sub>SSCP</sub> da acetanilida é colocada 3,83 eV adiabaticamente acima do mínimo GS, com a ligação N-CO aumentada em 0,731 Å; quanto ao

paracetamol, encontra-se 3,78 eV adiabaticamente acima do mínimo GS e o N-CO é 0,744 Å maior que na estrutura otimizada GS.

À medida que os fotoprodutos Photo-Fries são observados, podemos concluir que, em vez de retornar ao reagente no estado fundamental, a reação fotoquímica prossegue, os radicais se reorganizam e os produtos Photo-Fries são formados. Após a região de cruzamento  $(S_2/GS)_{SSCP}$ , com conformação do anel  ${}^2E$ , envelope com o átomo C<sub>2</sub> acima do plano, a estrutura de camada fechada, correspondente ao estado fundamental do reagente, é maior em energia do que para a estrutura radical, que favorece os produtos Photo-Fries.

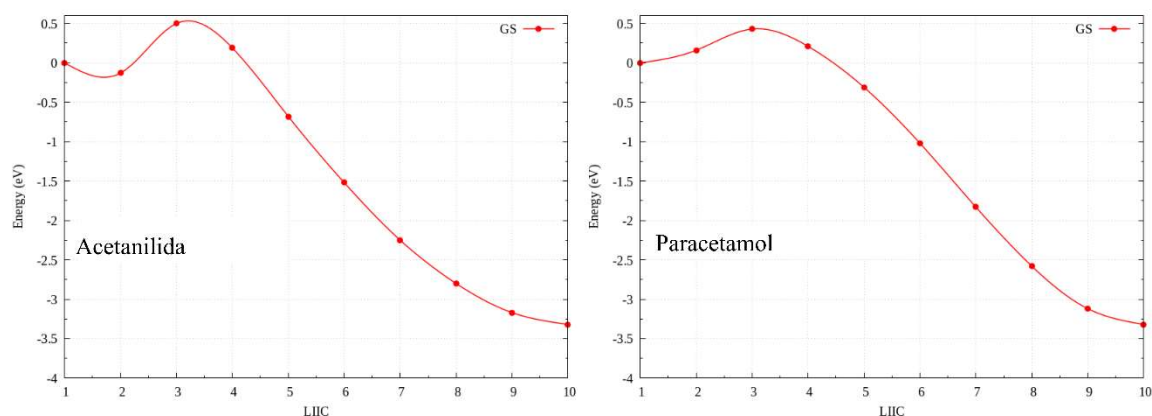


Figura 12 - Caminhos interpolados em coordenadas geodésicas, da região de cruzamento  $(S_2/GS)_{SSCP}$  em direção aos produtos semiformados, tanto para acetanilida quanto para paracetamol. As etapas exibidas seguem a migração do átomo C<sub>2</sub> para formar a ligação C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>.

Para avaliar a viabilidade dos fotoprodutos sendo formados em ambos os casos, realizamos cálculos de teste no nível de teoria CAM-B3LYP/6-311++g(d,p) empregando interpolação geodésica<sup>178</sup> para calcular o caminho depois da região de cruzamento  $(S_2/GS)_{SSCP}$  para os produtos semiformados, supondo um mecanismo de duas etapas como proposto anteriormente para uma reação de Photo-Fries semelhante<sup>160</sup>. Neste mecanismo, a primeira etapa envolve a migração do átomo C<sub>2</sub> em direção ao C<sub>5</sub>, para formar a ligação C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>. Como pode ser visto na Figura 12, tanto para acetanilida quanto para paracetamol, as vias interpoladas apresentam uma barreira energética de 0,5 eV, semelhante à estimada antes<sup>160</sup>. O segundo passo é o tunelamento do H<sub>13</sub> formando uma ligação com N<sub>3</sub>. Portanto, concluímos que os produtos Photo-Fries podem ser formados.

## 4 ANÁLOGOS MODIFICADOS DO DNA/RNA

### 4.1 Introdução

Estudos das reações foto-excitadas também desempenham um papel importante na compreensão do funcionamento das bases canônicas de DNA, onde elas possuem uma faixa ampla de absorção UV, entre 4-6 eV<sup>199</sup>. Em épocas em que o planeta Terra não contava com a proteção da camada de ozônio, essas bases ficavam suscetíveis a absorção dessa energia podendo ocasionar danos na estrutura pela radiação<sup>200</sup>.

Como mecanismo de defesa, as bases canônicas possuem um caminho de desativação não-radioativa, que através de estudos foi possível observar que essas moléculas acessam uma intersecção cônica, conseguindo dessa maneira transferir a energia para o estado fundamental de maneira eficiente e muito rápida, evitando possíveis quebras de ligações químicas<sup>201-203</sup>.

Com o avanço dos estudos e com o aperfeiçoamento de técnicas de síntese, novas bases, bases semelhantes ao DNA, chamadas na literatura de bases não canônicas, vêm sendo vastamente estudadas e sintetizadas ao longo das últimas décadas. Dentre as várias bases não canônicas já reportadas na literatura até o presente momento, destacamos aqui a família de bases não canônicas fluorescentes, que vem sendo utilizadas como sondas fluorescentes.

A espectroscopia fluorescente é uma técnica robusta amplamente aplicada para a detecção da atividade em tempo real de interações biomoleculares, dinâmica de ácidos nucleicos, entre outros aspectos estruturais. A eficácia desta técnica deve-se exclusivamente a uma escolha adequada dos candidatos moleculares a serem empregados como marcadores fluorescentes, que devem ser não invasivos e hipersensíveis quando associados a diferentes ambientes, exibindo forte alteração de fluorescência. Por sua vez, a principal desvantagem desta técnica experimental é que apenas moléculas susceptíveis à fluorescência podem ser utilizadas como fluoróforos. Além disso, uma estratégia comum é a seleção de sondas fluorescentes com semelhanças estruturais com o sistema de estudo, conhecidas como análogos de pequenas moléculas, na tentativa de provocar pequenas perturbações estruturais, além de apresentarem baixo custo, fácil síntese e alta flexibilidade no projeto da sonda. Consequentemente, o estudo de DNA e RNA torna-se mais complicado, pois os blocos de construção do nosso código

genético, ou seja, as nucleobases canônicas, são compostos não fluorescentes e, portanto, não podem ser considerados fluoróforos.

Na tentativa de superar essa desvantagem, bem como visar a oportunidade de aumentar a biodiversidade genética e oferecer uma ampla gama de novos pareamentos de bases, várias nucleobases não naturais fluorescentes surgiram na literatura até o momento, possuindo características únicas em comparação com as nucleobases canônicas. Em particular, um alfabeto fluorescente de nucleobases modificadas foi sintetizado pela primeira vez por Rovira e colaboradores usando tieno[3,4-d]pirimidina como modelo<sup>204</sup>. No entanto, essas moléculas não eram totalmente compatíveis quando inseridas no RNA devido à falta de um átomo de nitrogênio na posição sete, que é crucial para várias interações biomoleculares, por exemplo, basicidade e capacidade de coordenação. Sabendo dessa limitação, Rovira e colaboradores<sup>205</sup> propuseram uma segunda geração de nucleobases modificadas por fluorescência quatro anos depois usando o isotiazol[4,3-d]pirimidínica. Dessa forma, eles puderam sintetizar um novo alfabeto ribonucleosídeo fluorescente, resultando nas espécies: <sup>tz</sup>A, <sup>tz</sup>G, <sup>tz</sup>C, <sup>tz</sup>U e <sup>tz</sup>I, Figura 13.

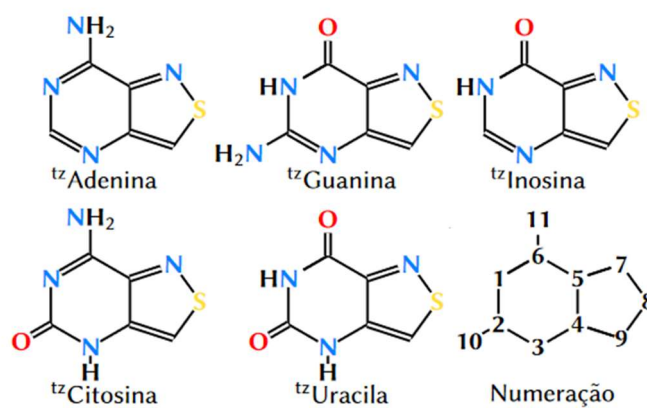


Figura 13 - Representação gráfica da família de molécula fluorescentes sintetizada por Rovira e colaboradores<sup>205</sup>.

Na literatura científica, alguns trabalhos já abordaram as propriedades fotoquímicas dessas moléculas usando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT, *Density Functional Theory*)<sup>206,207</sup> com o solvente sendo tratado através do Modelo Contínuo Polarizável (PCM, do inglês *Polarizable Continuum Model*)<sup>208,209</sup>. Posteriormente, através da metodologia SS-CASPT2 (*Single-State Second-order Perturbation Theory with a Complete Active Space Self Consistent Field Reference Function*) e tratando o solvente de forma atomística, Borin e colaboradores<sup>82,210,211</sup> descreveram os espectros de absorção e de emissão juntamente com os

caminhos de desativação das moléculas. A literatura aponta que essas moléculas têm um forte rendimento quântico fluorescente com base na combinação de simulações atomísticas de Monte Carlo para levar em conta a condição termodinâmica do solvente e cálculos de mecânica quântica (QM) com o método CASPT2 de estado único (SS-CASPT2). Para <sup>tz</sup>A e <sup>tz</sup>G, a diferença de energia entre o mínimo do estado S<sub>1</sub> e a interseção cônica (CI) envolvendo o estado fundamental é bem pequena, mas a interpolação linear em coordenadas internas (LIIC) revelou que há uma alta barreira a ser superada que inviabiliza o decaimento não radiativo. Em contraste, para <sup>tz</sup>C, <sup>tz</sup>U, o IC é colocado em uma região de alta energia em relação ao mínimo do estado S<sub>1</sub>. É importante mencionar aqui que todos esses estudos anteriores negligenciaram o efeito do ambiente DNA/RNA devido à complexidade envolvida na modelagem de tais sistemas do ponto de vista teórico/computacional, apesar das propriedades fotofísicas poderem ser fortemente afetadas pela presença do meio biológico.

Assim, esse estudo apresenta pela primeira vez a segunda geração das nucleobases purinas fluorescentes (ou seja, <sup>tz</sup>A e <sup>tz</sup>G) em ambiente de DNA/RNA por métodos de Mecânica Quântica/Mecânica Molecular (QM/MM) de imersão eletrostática. Descrevemos os espectros de absorção e emissão, o deslocamento de Stokes e os mecanismos de relaxamento fotoquímico dessas duas moléculas no DNA e no RNA. As vias de desativação relevantes são examinadas gerando estados intermediários entre duas estruturas selecionadas com o auxílio da técnica LIIC. Por fim, também são apresentadas comparações com dados experimentais e estudos anteriores sobre essas moléculas. Esses resultados contribuem para o completo desvendamento das propriedades fotoquímicas desse promissor alfabeto de nucleobase fluorescente

## 4.2 Objetivo

As moléculas apresentadas acima podem ser empregadas em interações biomoleculares e dinâmicas de ácidos nucléicos via experimentos de fluorescência, com diversas vantagens sobre outras técnicas espectroscópicas<sup>212,213</sup>. Assim, levando em consideração esses estudos, o projeto visa ampliar o entendimento sobre essa família de moléculas, investigando suas propriedades fotoquímicas em um meio ainda não estudado, isto é, na fita de DNA/RNA em solução aquosa por meio de metodologia QM/MM (*Quantum Mechanics/Molecular Mechanics*)<sup>214,215</sup>.

O objetivo deste trabalho foi estudar propriedades estruturais, espectroscópicas e fotoquímicas das bases nucleicas modificadas fluorescentes <sup>tz</sup>A e <sup>tz</sup>G. Essas propriedades serão estudadas levando em consideração a inserção delas em fitas de DNA e RNA, sendo utilizada

a metodologia QM/MM, com a metodologia QM escolhida o *extended multi-state CASPT2* (XMS-CASPT2)<sup>92</sup>, uma metodologia multiconfiguracional. Assim, para elucidar o mecanismo, o trabalho tem como objetivo:

- Simular o espectro de absorção para as moléculas <sup>tz</sup>A e <sup>tz</sup>G em ambiente de RNA e DNA.
- Mapear as superfícies de interesse através de interpolação linear conectando as geometrias de mínimo e de cruzamento, para os ambientes apontados anteriormente.
- Simular o espectro de emissão para a molécula <sup>tz</sup>G em ambiente de RNA e DNA.

## 4.3 Metodologia

### 4.3.1 Simulação de dinâmica clássica molecular

As moléculas <sup>tz</sup>A e <sup>tz</sup>G foram estudadas tanto em um ambiente de DNA quanto de RNA. Em ambos os casos, inicialmente foram realizadas simulações de dinâmica molecular clássica (MD) com o pacote Amber 19<sup>216</sup> para obter as estruturas iniciais que serão utilizadas nos cálculos QM / MM subsequentes.

A escolha da sequência de DNA se baseou em trabalho teórico<sup>217</sup> anterior, já que não existem estudos experimentais para o ambiente de DNA, sendo para o <sup>tz</sup>G uma fita duplex de sequência 5'-ATGGCGCAC-3':3'-TACC-<sup>tz</sup>G-CGTG-5' foi construída para o estudo, e para o estudo da molécula no RNA, a sequência da fita foi 5'-GTGC-<sup>tz</sup>G -CCAT-3'. Para <sup>tz</sup>A a sequência das fitas contida no duplex é 5'-ATGGTGCAC-3':3'-TACC-<sup>tz</sup>A-CGTG-5' e para o RNA a sequência construída é '5-GUGC-<sup>tz</sup>A -CCAU-3', Figura 14 (a) e (b). Para o DNA, em ambos ambientes, a caixa possui dimensões 49 Å x 49 Å x 58 Å e para o RNA, a caixa possui dimensões 83 Å x 83 Å x 90 Å.

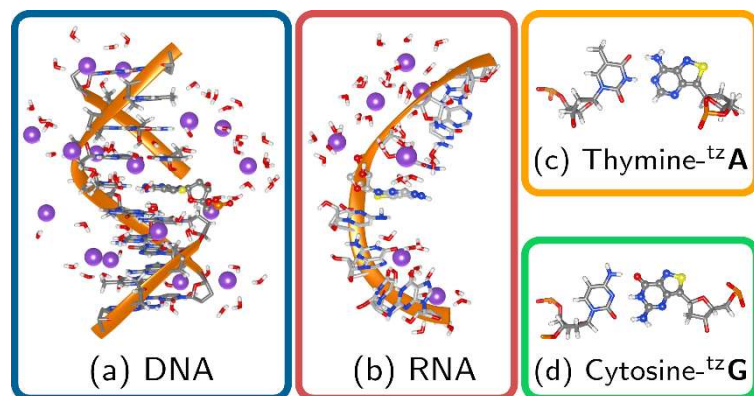


Figura 14 - Ilustração dos ambientes  $t^zA$  e  $t^zG$  incorporados em (a) DNA e (b) ambientes de DNA. A região QM (*ball and stick*) consiste apenas em (c)  $t^zA$  e (d)  $t^zG$

O sistema é composto por uma fita de DNA/RNA solvatadas por moléculas de água representadas pelo modelo de três sítios TIP3P<sup>218</sup>. Os contra-íons ( $Na^+$ ), descritos pelo campo de força ff99SB<sup>219</sup> são inseridos para neutralizar o sistema. Condições de contorno periódicas (PBC) são aplicadas em uma simulação de caixa cúbica, sendo utilizado um *cut-off* de 12 Å. O método *Particle mesh Ewald* (PME)<sup>220</sup> foi empregado para calcular a interação de eletrostática de longo alcance. O procedimento RESP (potencial eletrostático restrito)<sup>221</sup> foi realizado para obter o conjunto de cargas atômicas iniciais do cromóforo ( $t^zA$  ou  $t^zG$ ) no nível HF/6-31G, conforme implementado no pacote Gaussian 09<sup>181</sup>. O DNA e o RNA foram modelados pelo campo de força ff99SB<sup>219</sup>.

O protocolo adotado consistiu em uma minimização do sistema usando o algoritmo de *steepest descent*, seguido de uma rampa de aquecimento no ensemble NVT usando o termostato de Langevin por um tempo total de 0,5 ns, escalando a temperatura de 0 até a temperatura alvo de 300 K. Em seguida, foi aplicado um regime de equilíbrio para 0,5 ns no ensemble NPT sob condições normais de temperatura<sup>222</sup> através do o termostato de Langevin e pressão através do barostato de Berendsen<sup>223</sup> ( $P = 1 \text{ bar}$  e  $T = 300 \text{ K}$ ). Por fim, foi realizada uma produção de 20 ns.

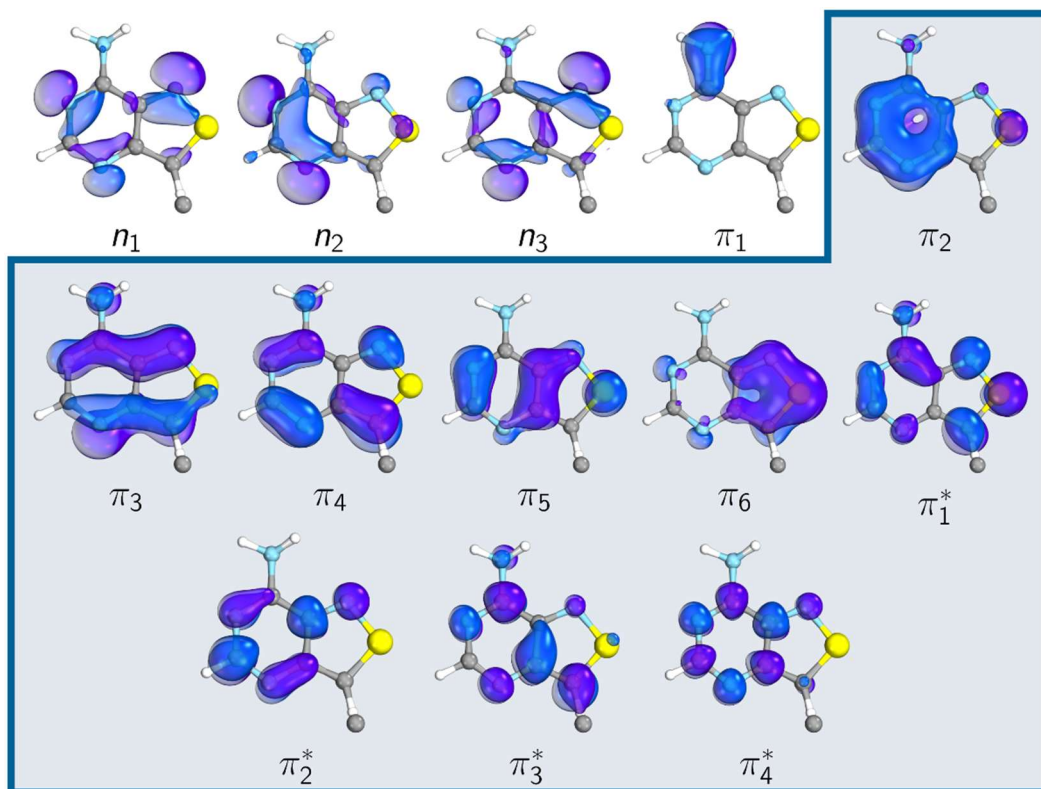
A estabilidade da etapa de produção foi verificada acompanhando-se a flutuação da energia total, da energia potencial, do volume e da temperatura, e pode ser vista no capítulo 6.1, Análise das Simulações Clássicas.

#### 4.3.2 Cálculos QM/MM

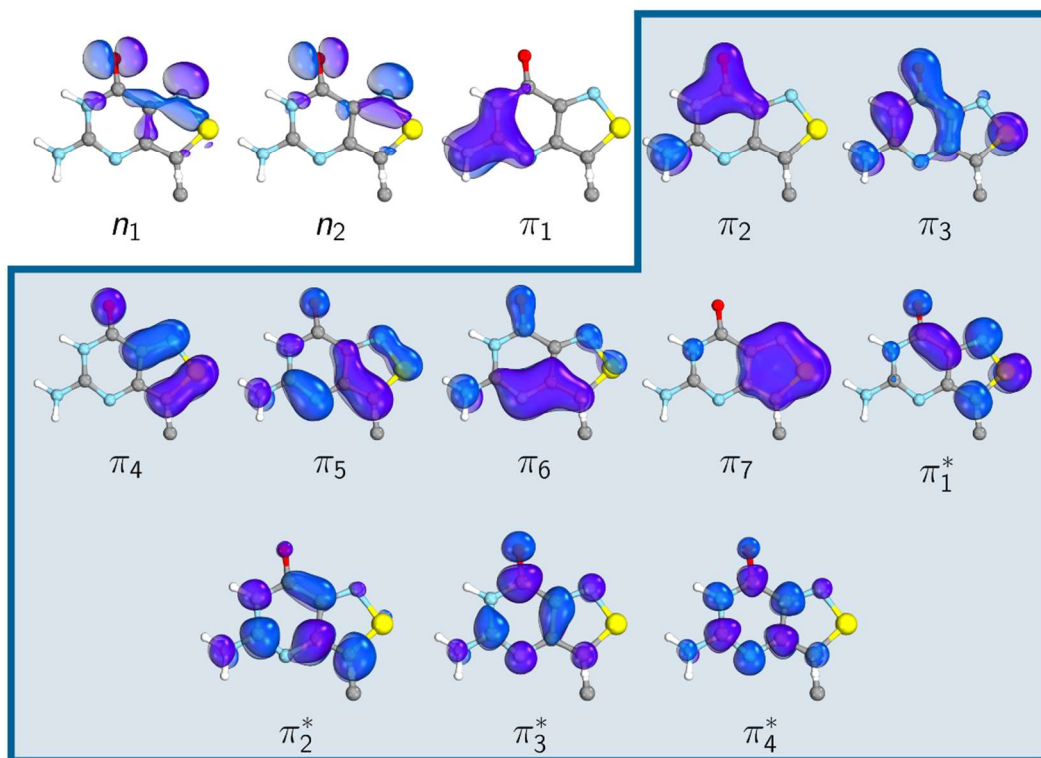


Cálculos de QM/MM foram realizados para emular os espectros de absorção e emissão, bem como para elucidar a fotofísica dessas moléculas no ambiente DNA/RNA. A região QM inclui apenas a molécula de interesse (<sup>tz</sup>A ou <sup>tz</sup>G) sem seus açúcares ligados, como exemplificado nas Figura 14 (c) e Figura 14 (d). Teoria de perturbação de segunda ordem multiestado estendida (XMS-CASPT2)<sup>92</sup> com o conjunto de bases atômicas dupla- $\zeta$  de Dunning (cc-pVDZ)<sup>224</sup>, são combinados para descrever a região QM, enquanto o sistema restante continua a ser tratado com o campo de força clássico ff99SB. Um *link atom* é inserido entre as regiões de fronteira para manter a carga líquida igual a zero na parte QM.

O espaço ativo adotado engloba 18 de elétrons distribuídos em 13. A escolha do espaço ativo é baseada no número médio de ocupação, o que levou a 7  $\pi$ , 2  $n$  e 4  $\pi^*$  para <sup>tz</sup>A e 6  $\pi$ , 3  $n$  e 4  $\pi^*$  para <sup>tz</sup>G, conforme ilustrado na Figura 15. Na tentativa de evitar estados intrusivos, um *level imaginary shift*<sup>175</sup> de 0,2 a.u. é adotado, além de não ser introduzida correção do IPEA (do inglês *Ionization-Potential Electron-Affinity*)<sup>87</sup>, seguindo a recomendação da literatura<sup>86</sup>.



(a)  ${}^t\text{A}$ Adenina



(b)  ${}^t\text{G}$ Guanina

Figura 15 - Espaço ativo empregado para os cálculos de QM/MM: (a)  ${}^t\text{A}$  e (b)  ${}^t\text{G}$ . O fundo azul refere-se aos orbitais incluídos nas otimizações de geometria de estado excitado e fundamental.

Os espectros de absorção foram simulados realizando cálculos de energias de excitação vertical em 100 *snapshots* equidistantes espaçados por 0,5 ns extraídos da execução de etapa de produção da simulação clássica, com um raio de solvatação de 12 Å. O espectro final é obtido por uma soma de funções gaussianas com FWHM de 0,3 eV centrado nas energias de excitação vertical computadas com as intensidades proporcionais à força do oscilador. Foi emulado o espectro de emissão apenas para o  ${}^1\text{G}$  em ambos os ambientes em um esforço para garantir que a descrição da fotofísica com um *snapshot* representativo. Para tanto, propagamos simulações de dinâmicas QM/MM com um tempo total de 500 fs, um passo de tempo de 0,2 fs e uma temperatura de 300 K em cada um dos *snapshots* de 100 amostrados da dinâmica MD no estado fundamental. Neste caso, a região QM é detalhada com CASSCF<sup>79</sup> para reduzir os esforços computacionais.

Um *snapshot* representativo é usado para caracterizar a fotofísica das moléculas  ${}^1\text{A}$  e  ${}^1\text{G}$ , sendo considerado representativo o *snapshot* que apresente a mesma natureza dos estados excitados que são demonstrados no espectro de absorção simulado. O estado fundamental ( $S_0$ ) e os primeiros mínimos do estado excitado são otimizados numericamente com o método XMS-CASPT2.

A estrutura de ponto de cruzamento de energia mínima singleto-singleto (SSCP) entre o GS e o estado  $S_1$  também foi encontrada usando a abordagem de multiplicadores de Lagrange restritos<sup>225</sup>, impondo a restrição de degenerescência entre os dois estados considerados. O estudo das vias de relaxação é realizado conectando as estruturas de pontos críticos otimizados via interpolação linear em coordenadas internas (LIIC), que na maioria das vezes apresenta comportamento semelhante em comparação com o método de caminho de energia mínima (MEP) de alto custo. Todos os cálculos de QM/MM foram feitos com o software OpenMolcas<sup>176,226</sup> interfaceado com o TINKER 6.3<sup>227</sup>.

## 4.4 Resultado e Discussão

### 4.4.1 Energia vertical e espectro de absorção

A Tabela 2 demonstra as três primeiras energias de excitação vertical da  ${}^1\text{A}$  e  ${}^1\text{G}$  em DNA e RNA. Dados experimentais e cálculos teóricos prévios também são incluídos para comparação. Começando com  ${}^1\text{G}$ , o primeiro estado singleto em ambos os ambientes têm uma natureza  ${}^1(\pi\pi^* L_a)$  com uma forte força do oscilador ( $f > 0,1$ ), melhor descrito por uma única excitação do orbital  $\pi_5$  para o orbital  $\pi_1^*$ , com peso de 60%. No DNA, essa transição está

posicionada verticalmente a 3,72 eV acima do estado fundamental, enquanto no RNA há um desvio de 0,01 eV em comparação com o DNA. Nossas previsões teóricas estão de acordo com os resultados experimentais de Rovira e colaboradores<sup>205</sup>, que mediram um pico de absorção em 3,72 eV em água. Esses resultados também concordam com estudos teóricos prévios, em que foi simulado esses cromóforos em solução aquosa combinando simulações atomísticas de Monte Carlo e cálculos QM com o método SS-CASPT2<sup>210</sup> e o valor de 3,63 eV foi calculado. O segundo estado excitado,  $^1(n\pi^*)$  é colocado em uma região de alta energia e tem uma pequena força de oscilador. Portanto, este estado não terá um papel importante na descrição da fotoquímica desta molécula, e assim decidimos excluí-lo e estados excitados mais altos da próxima análise.

Tabela 2 - Energias de excitação vertical ( $\Delta E$ ; eV), força do oscilador ( $f$ ) e momento de dipolo ( $\mu$ ; Debye) dos três estados excitados singlete mais baixos da tzA e tzG em ambientes de DNA e RNA computados no nível XMS(6)-CASPT2(18,13)/cc-pVDZ/MM. Dados experimentais e cálculos teóricos anteriores são reportados para comparação.

Molécula	Estado	DNA			RNA			Teórico		Exp <sup>205</sup> $\Delta E$
		$\Delta E$	$f$	$\mu$	$\Delta E$	$f$	$\mu$	$\Delta E$	$f$	
tzG	S <sub>0</sub>	0.00	-----	6.8	0.00	-----	7.0	0.00	-----	3.72
	S <sub>1</sub> $^1(\pi\pi^* L_a)$	3.72	0.172	10.2	3.71	0.195	10.2	3.63 <sup>a</sup> (3.58) <sup>b</sup>	0.125 <sup>a</sup> (0.117) <sup>b</sup>	
	S <sub>2</sub> $^1(n\pi^*)$	4.83	0.006	7.8	4.85	0.005	7.5	4.61 <sup>a</sup>	0.054 <sup>a</sup>	
	S <sub>3</sub> $^1(\pi\pi^* L_b)$	4.90	0.026	6.4	4.94	0.027	6.2	4.80 <sup>a</sup>	0.001 <sup>a</sup>	
tzA	S <sub>0</sub>	0.00	-----	4.3	0.00	-----	5.4	0.00	-----	3.66
	S <sub>1</sub> $^1(\pi\pi^* L_a)$	3.77	0.158	3.8	3.74	0.216	4.4	3.77 <sup>a</sup> (3.73) <sup>b</sup>	0.142 <sup>a</sup> (0.177) <sup>b</sup>	
	S <sub>2</sub> $^1(n\pi^*)$	3.97	0.033	3.9	4.18	0.013	4.4	4.22 <sup>a</sup>	0.086 <sup>a</sup>	
	S <sub>3</sub> $^1(\pi\pi^* L_b)$	4.71	0.093	3.9	4.80	0.071	4.5	4.28 <sup>a</sup>	0.048 <sup>a</sup>	

a – Nível SS(6)/CASPT2(18,13)/cc-pVDZ com efeitos de solvente (água) sendo incluídos pela metodologia ASEC-FEG<sup>210</sup>.

b – Nível TD-B3LYP/cc-pVTZ considerando o Sistema como o par de bases<sup>209</sup>.

No caso da tzA, o *bright state* também é o primeiro estado excitado em ambos os ambientes. Este estado eletrônico é descrito por uma transição do orbital  $\pi_4$  para o orbital  $\pi_1^*$  com um peso de 55%. Uma boa concordância com o experimento também é alcançada, com a maior diferença em de 0,11 eV. Em comparação com trabalho anterior<sup>210</sup>, obtivemos o mesmo valor em RNA e um deslocamento de 0,03 eV considerando a molécula no DNA. Essa mudança suave pode ser atribuída ao fato de que o momento de dipolo excitado para esse estado é maior no RNA do que no DNA. É importante enfatizar aqui como o ambiente pode afetar a ordenação energética dos estados excitados, pois uma transição  $n\pi^*$  foi previamente prevista no trabalho citado

anteriormente como sendo a configuração que descreve o primeiro estado excitado em fase gasosa<sup>82,210,228</sup>; no entanto, no DNA e no RNA, essa transição sofre um desvio para o azul tornando-se o segundo estado excitado. Essa inversão pode ser justificada olhando para o momento de dipolo excitado declarado de  $S_1$   $^1(\pi\pi^* L_a)$  que sofre um aumento expressivo de gás (0,9 Debye) para DNA/RNA (3,9/4,4 Debye), ou seja, o ambiente afeta mais o estado  $^1(\pi\pi^* L_a)$  do que no  $^1(n\pi^*)$ .

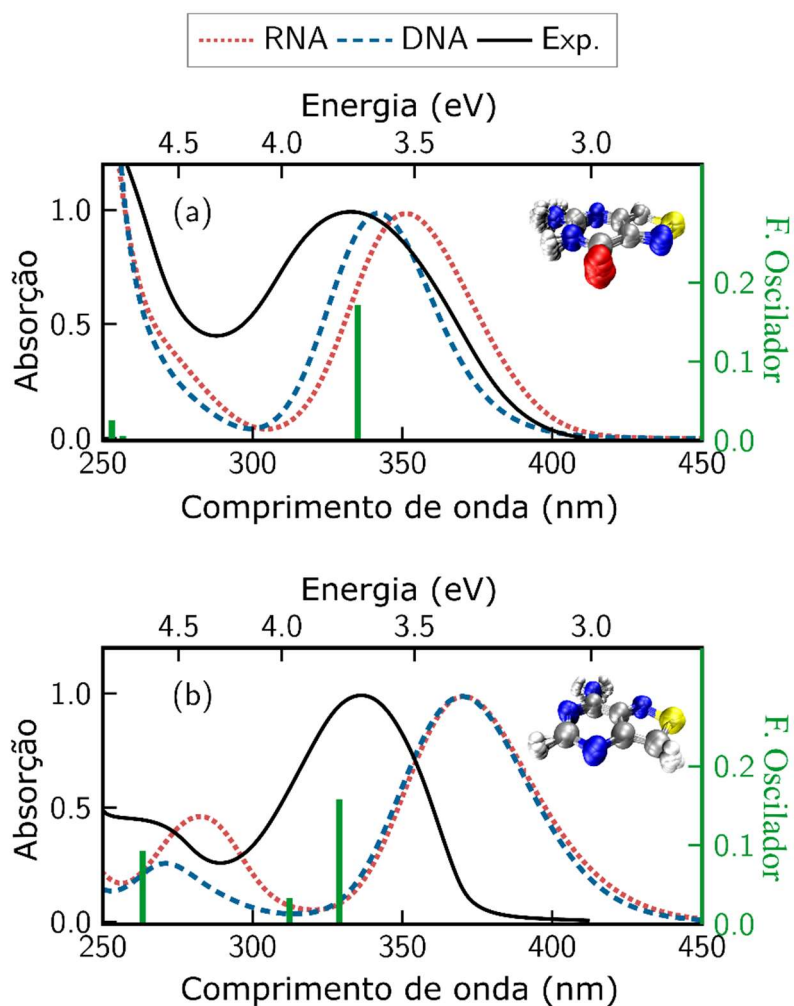


Figura 16 - Espectro de absorção ultravioleta/visível simulado de (a)  $^5T$  e (b)  $^5U$  em DNA (linha azul tracejada) e RNA (linha vermelha pontilhada) calculado no nível MS-CASPT2/cc-pVDZ//MM. A superposição dos *snapshots* MD no DNA é ilustrada no canto superior direito. As energias de excitações verticais e suas respectivas intensidades dadas pela força do oscilador para o *snapshot* representativo usado nos cálculos QM/MM subsequentes são plotadas em barras verdes. O espectro de absorção experimental em água também é exibido (linha preta sólida).

Os espectros de absorção ultravioleta-visível simulado (UV-VIS) no DNA e RNA para ambas as moléculas, conforme ilustrado na Figura 16. Para o  ${}^t\text{G}$ , a primeira banda de absorção varia de 300 a 400 nm (3,10 - 4,10 eV) com um pico em 342,3 nm (3,62 eV) no ambiente de DNA (Figura 16a). No RNA, o pico de absorção é um pouco desviado para o vermelho em aproximadamente 10 nm ( $\sim 0.1$  eV). Ambos os valores teóricos estão de acordo com os dados experimentais relatados por Thor e colaboradores<sup>205</sup>, que mediram um máximo de absorção experimental em 351 nm (3,53 eV) em ambiente de RNA. Ressalta-se que a primeira banda de absorção é composta apenas pelo estado  $S_1$ . Em comparação com o pico de absorção da guanina, sua contraparte canônica, observa-se um notório redshift em torno de 1 eV, Figura 17(a).

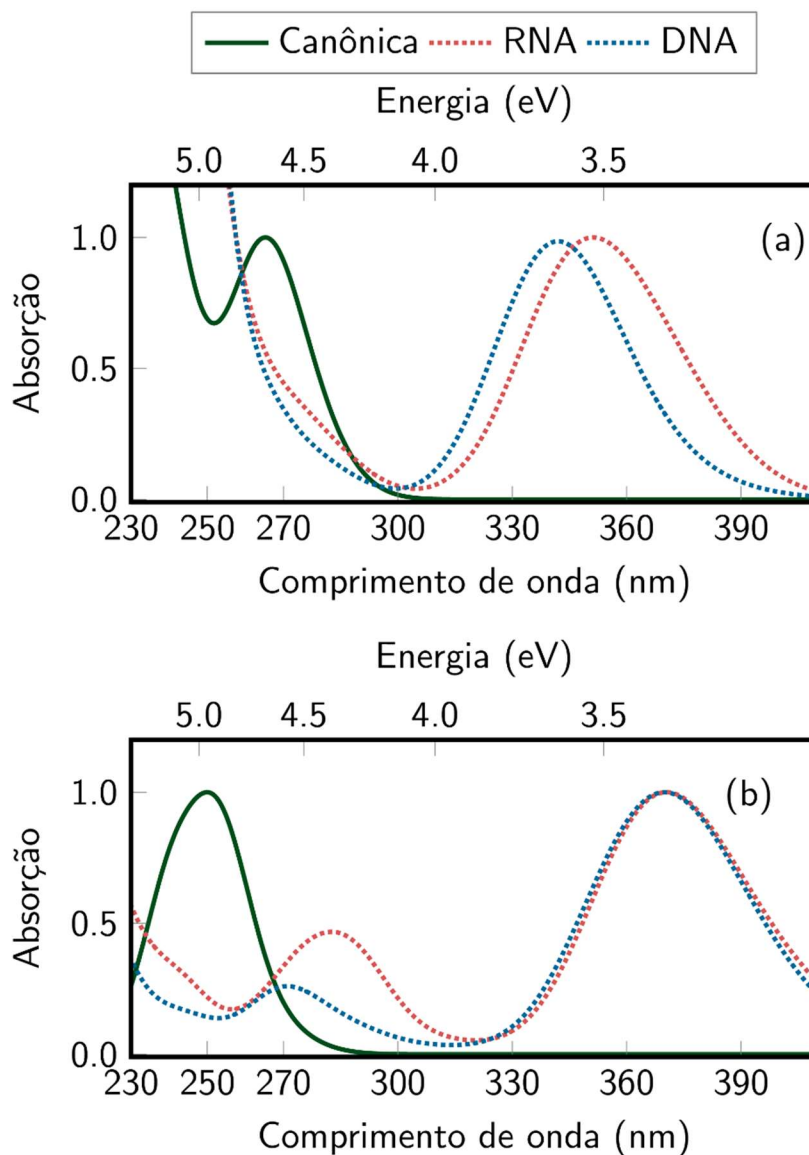


Figura 17 - Espectro de absorção ultravioleta/visível simulado de (a)  ${}^{\text{tz}}\text{G}$  e (b)  ${}^{\text{tz}}\text{A}$  em DNA (linha azul tracejada) e RNA (linha vermelha pontilhada) calculado no nível MS-CASPT2/cc-pVDZ//MM. O espectro de absorção teórico calculado nas mesmas condições é apresentado também (linha verde sólida), sendo em (a) Guanina e (b) Adenina.

Para  ${}^{\text{tz}}\text{A}$ , o primeiro pico de absorção está centrado aproximadamente em 370 nm (3,35 eV) independentemente do ambiente (Figura 16(b)), que difere em torno de 35 nm (0,3 eV) em relação ao valor experimental. Provavelmente, essa discrepância pode ser atribuída ao fato de que muitas raízes foram utilizadas no procedimento de média declarada, diminuindo a concordância com os valores experimentais. Uma concordância muito melhor é alcançada com o snapshot representativo, pois a região QM é otimizada com um número menor de raízes. Conforme observado para  ${}^{\text{tz}}\text{G}$ , o pico de absorção vai para um comprimento de onda maior quando comparado com sua nucleobase canônica, Figura 17(b). Uma outra observação é que uma segunda banda de absorção de menor intensidade aparece em comprimentos de onda mais curtos entre 250 e 300 nm (4,13-4,96 eV), o que é consistente com o espectro experimental.

#### 4.4.2 Geometrias de Equilíbrio

A Figura 18 mostra a estrutura otimizada do estado fundamental  $(\text{GS})_{\text{min}}$ , o mínimo do primeiro estado excitado  ${}^1(\pi\pi^* L_a)_{\text{min}}$ , e o ponto de cruzamento singlete-singlete entre GS e  ${}^1(\pi\pi^* L_a)$ , geometria essa denominada  $({}^1(\pi\pi^* L_a)/\text{GS})_{\text{SSCP}}$  no DNA para o  ${}^{\text{tz}}\text{A}$  e o  ${}^{\text{tz}}\text{G}$ , respectivamente. As estruturas otimizadas em ambiente de RNA não são ilustradas devido ao fato de que as principais diferenças estão nas distâncias de ligação quando comparadas com aquelas estruturas otimizadas em DNA.

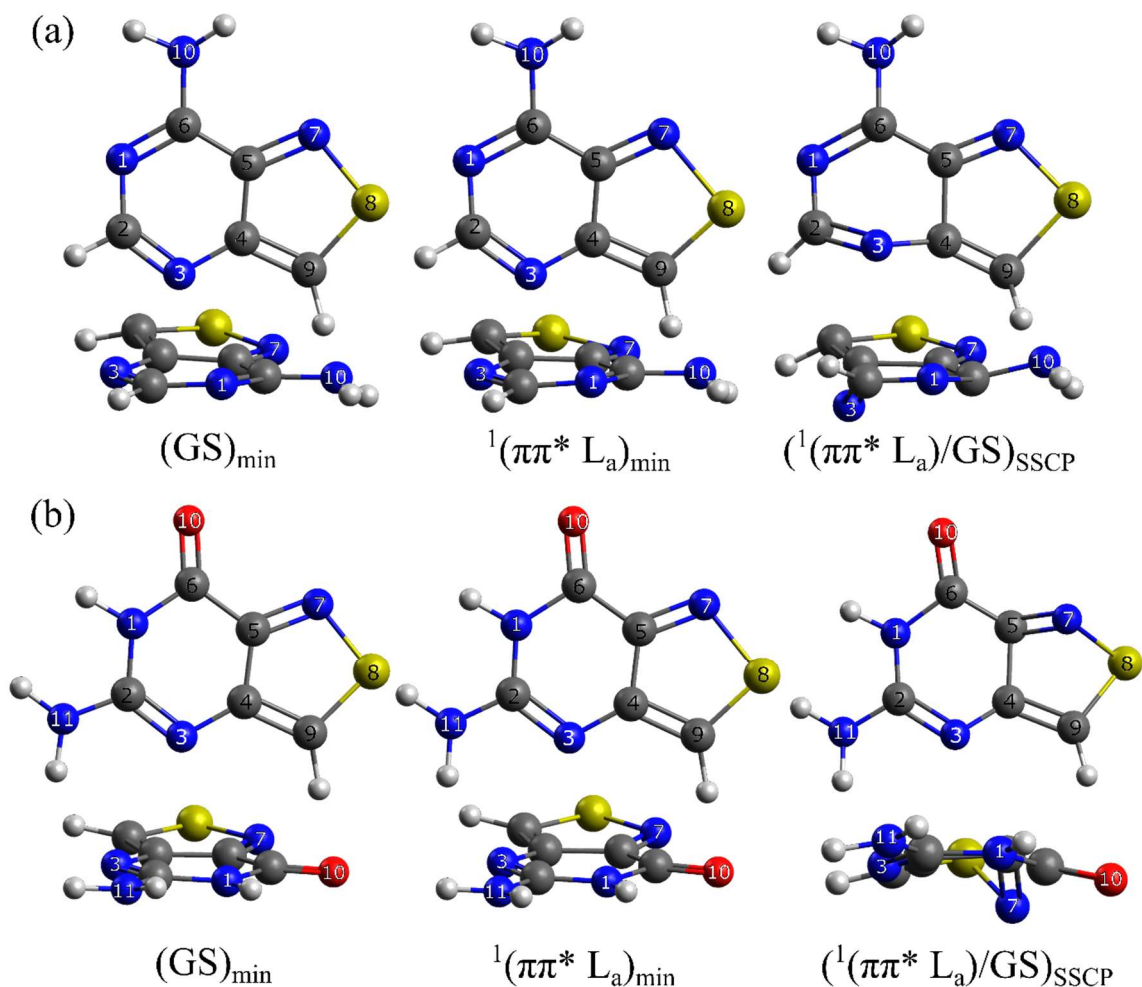


Figura 18 – Estruturas críticas (a)  $^1A$  e (b)  $^1G$  otimizadas em nível QM(XMS-CASPT2/cc-pvdz)/MM.

A estrutura  $(GS)_{min}$  em ambas as moléculas exibe uma geometria planar, com exceção de que os átomos de hidrogênio do grupo amino se localizam fora do plano molecular do anel no caso de  $^1A$  ( $21,3^\circ$  em DNA e  $33,1^\circ$  em RNA). Comprimentos de ligação das estruturas  $^1(\pi\pi^* L_a)_{min}$  e  $(^1(\pi\pi^* L_a)/GS)_{SSCP}$  em relação à estrutura  $(GS)_{min}$  estão representadas na Figura 19. Como pode ser visto Figura 19, valores positivos significam distâncias de ligação maiores do que o estado fundamental, enquanto valor negativo corresponde a comprimentos de ligação menores do que o previsto no estado fundamental.



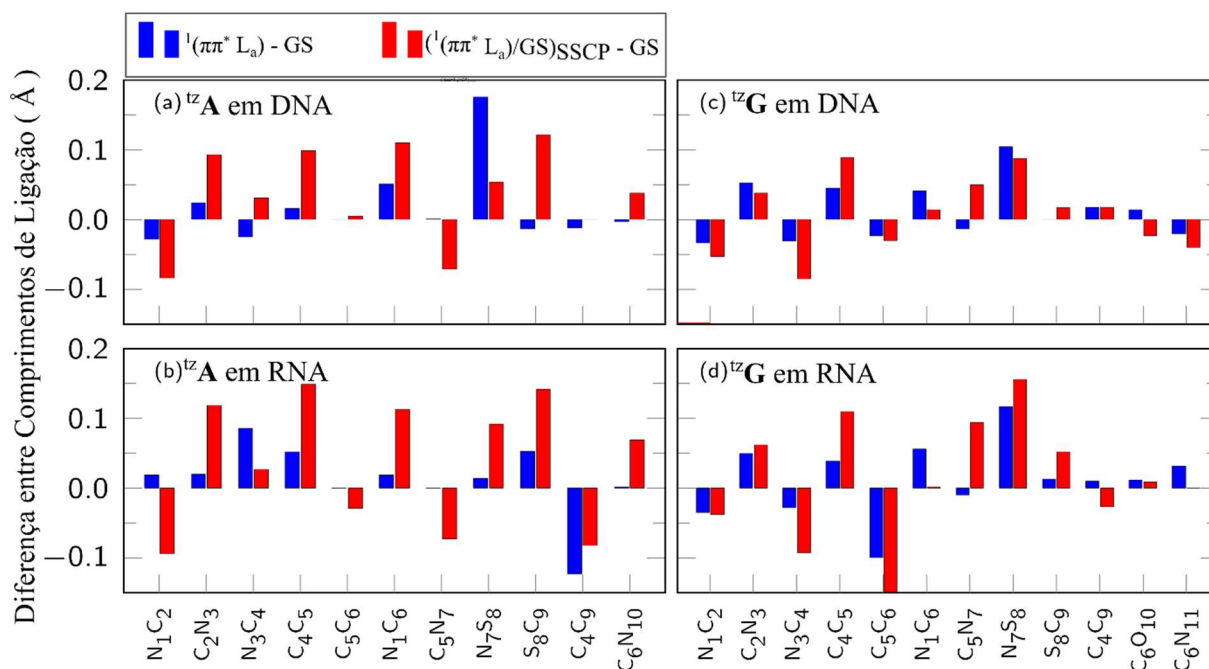


Figura 19 – Diferença entre comprimentos de ligação selecionados entre as geometrias  ${}^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$  e  $({}^1(\pi\pi^* L_a)/GS)_{SSCP}$  em relação a geometria  $(GS)_{\min}$ , sendo para (a)  ${}^tA$  em DNA, (b)  ${}^tA$  em RNA, (c)  ${}^tG$  em DNA e (d)  ${}^tG$  em RNA.

Para  ${}^tA$  no DNA, as maiores variações são observadas nas ligações envolvendo o átomo de enxofre ( $N_7S_8$  e  $S_8C_9$  nas geometrias  ${}^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$  e  $({}^1(\pi\pi^* L_a)/GS)_{SSCP}$ , respectivamente). Uma notável contração de quase  $0,1 \text{ \AA}$  é observada nas ligações  $N_1C_2$  e  $C_5N_7$  no ponto de cruzamento em comparação com a estrutura  $(GS)_{\min}$ . Em geral, as diferenças de comprimentos de ligação são mais pronunciadas na estrutura  $({}^1(\pi\pi^* L_a)/GS)_{SSCP}$ .

Ao comparar a tendência nos dois ambientes, notamos que a maior ocorrência de tendência oposta é obtida na estrutura  ${}^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$  para  ${}^tA$ . Essa tendência inversa pode ser observada nas ligações  $N_1C_2$ ,  $N_3C_4$ ,  $S_8C_9$  e  $C_6N_{10}$ . Em relação ao  ${}^tG$  no DNA, a estrutura  ${}^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$  está mais próxima da  $(GS)_{\min}$  já que a maior mudança é um alongamento de cerca de  $0,1 \text{ \AA}$  na ligação  $N_7S_8$ . Da mesma forma como observado para  ${}^tA$  no DNA, as mudanças mais perceptíveis em relação ao mínimo do estado fundamental são obtidas no SSCP entre o estado fundamental e o primeiro estado excitado. Curiosamente, as diferenças de comprimentos de ligação são menores no DNA do que no RNA, com a ligação  $C_5C_6$  tendo a maior redução no RNA ( $\sim 0,2 \text{ \AA}$ ).

Por fim, os SSCP  ${}^tA$  e  ${}^tG$  são comparados com aqueles relatados anteriormente em fase gasosa<sup>228</sup>. Uma comparação com sua contraparte canônica correspondente também é feita. Para tanto, recorreremos à análise de Cremer-Pople<sup>197</sup> e Boeyens<sup>198</sup> que nos permite analisar a

conformação do anel de seis membros por meio de três parâmetros ( $Q$  em Å;  $\Phi$  e  $\Theta$ , ambos em graus). A Tabela 3 resume todos esses valores.

Tabela 3 – Parâmetros Cremer-Pople e Boeyens para a análise de conformação do anel de seis membros das geometrias SSCF das moléculas  ${}^{tz}\mathbf{A}$  e  ${}^{tz}\mathbf{G}$ , em DNA e RNA e as nucleobases naturais Adenina e Guanina para comparação.

	Ambiente	$Q/\text{Å}$	$\Phi$ / graus	$\Theta$ / graus	Boeyens
${}^{tz}\mathbf{A}$	DNA	0.53	126	64	${}^3E$
	RNA	0.55	123	118	${}^3E$
	GÁS <sup>a</sup>	0.63	125	74	${}^{3,6}B$
Adenina	GÁS <sup>b</sup>	0.54	76	66	${}^3S_2$
	GÁS <sup>c</sup>	0.72	118	82	${}^{3,6}B$
${}^{tz}\mathbf{G}$	DNA	0.24	110	100	${}^{3,6}B$
	RNA	0.16	106	82	${}^{3,6}B$
	GÁS <sup>d</sup>	0.47	68	57	$E_2$
Guanina	GÁS <sup>e</sup>	0.49	67	57	$E_2$

a – SS-CASPT2(12,10)/cc-pVDZ<sup>228</sup>

b – CASSCF(12,11)/6-31G(d,p)<sup>30</sup>.

c – MR-CIS(6,5)/SA-CASSCF(12,10) / 6-31G<sup>44</sup>.

d - SS-CASPT2(14,11)/cc-pVDZ<sup>228</sup>.

e - CASSCF(12,10)/6-31G(d,p)<sup>29</sup>.

A análise de conformação do anel para a estrutura ( ${}^1(\pi\pi^* L_a)/GS$ )<sub>SSCP</sub> da  ${}^{tz}\mathbf{A}$  revela uma conformação de envelope em ambos os ambientes, com o nitrogênio na terceira posição fora do plano do anel. Esta estrutura é classificada em um grupo de Boyens distinto daquele relatado anteriormente na fase gasosa<sup>228</sup>. No entanto, obtemos valores próximos para  $Q$  (0,53 Å para DNA e 0,63 Å em fase gasosa) e  $\Phi$  (123° para DNA e 125° em gás).

Tanto para guanina<sup>29</sup> quanto para  ${}^{tz}\mathbf{G}$ <sup>228</sup> em fase gasosa, a estrutura de SSCP é classificada em uma conformação de envelope com uma deformação no átomo na segunda posição. No entanto, o SSCP encontrado em ambientes de DNA/RNA é agrupado como uma conformação em barco com deformação nos átomos na terceira e na quinta posições. Para verificar se a estrutura otimizada em fase gasosa poderia ser um SSCP em ambiente DNA/RNA, otimizamos em ambos os ambientes. Como resultado, esta estrutura é colocada em uma região de alta energia (3,54 e 6,89 eV acima dos demais SSCP otimizados, respectivamente) o que evidencia como o ambiente pode afetar drasticamente a estabilidade dos pontos críticos do cromóforo em questão, já que em fase gasosa prevê-se que as estruturas  ${}^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$  e  ${}^1(\pi\pi^* L_a)/GS$ <sub>SSCP</sub> estão posicionadas na mesma região de energia. Portanto, os mecanismos de desativação factíveis envolvendo este SSCP de alta energia não serão considerados a seguir.

### 4.4.3 Caminhos de desativação

Como mencionado anteriormente, após a absorção da luz, o evento fotoquímico primário consiste na fotoexcitação para o estado  $^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$ . Posteriormente, ambos os sistemas podem evoluir sem barreiras para o mínimo desse estado. Este mínimo é alcançado pela dissipação de energia extra de 0,29 e 0,32 eV para  $^3A$  em DNA e RNA, respectivamente, quando comparada com a energia de excitação vertical na região FC. Para  $^3G$ , esses valores são 0,43 e 0,23 eV para DNA e RNA, respectivamente. Além disso, a varredura LIIC mostra que não há cruzamento com outros estados excitados ao longo da hipersuperfície de energia potencial  $^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$ , como pode ser visto em Figura 20.

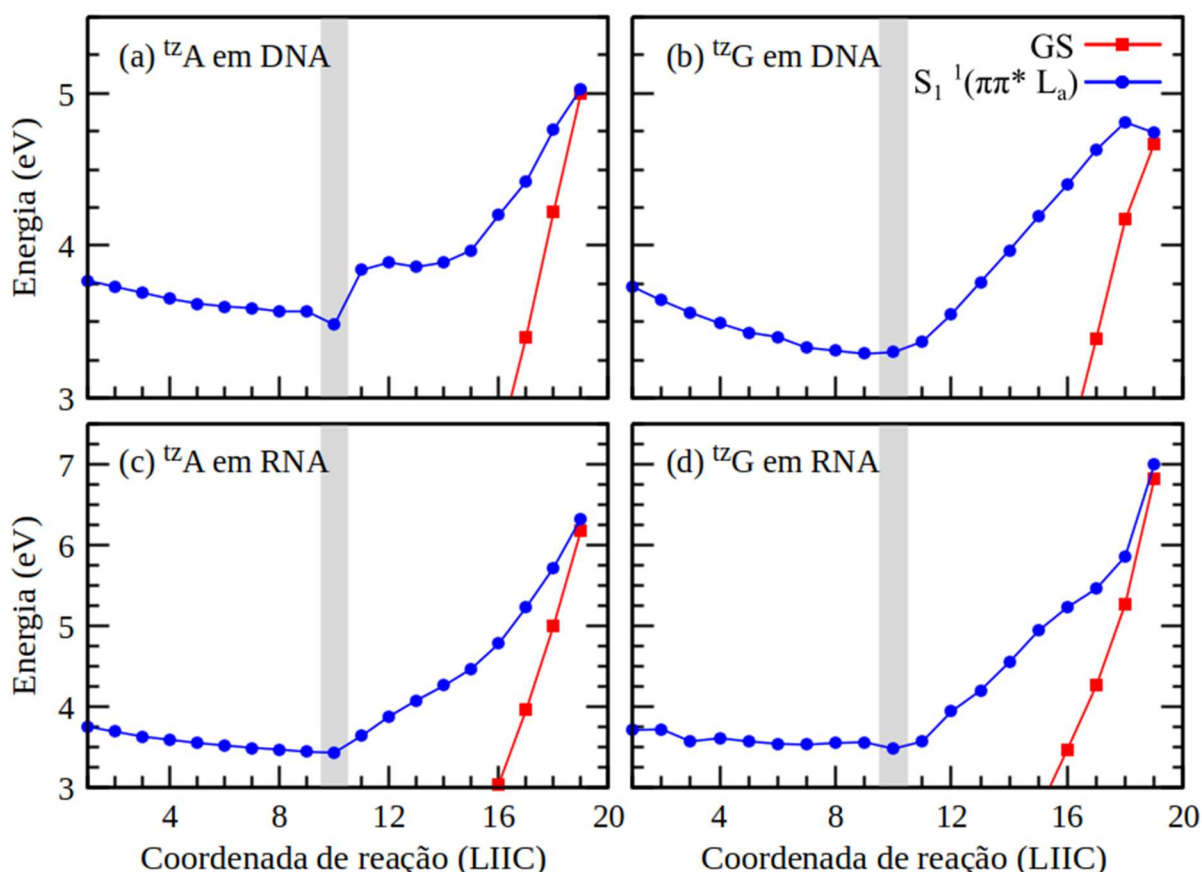


Figura 20 – Perfis energéticos dos estados fundamentais (GS) e dos *bright states* da região de Franck-Condon em direção ao estado  $^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$  (região destacada em cinza), e posteriormente para  $^1(\pi\pi^* L_a)/GS_{SSCP}$ . O perfil foi obtido através de interpolação em coordenadas internas (LIIC), e a energias foram calculadas em nível XMS(6)-CASPT2(18,13)/cc-pVDZ/MM. Sendo (a)  $^3A$  em DNA, (b)  $^3G$  em DNA, (c)  $^3A$  em RNA e (d)  $^3G$  em RNA.

Uma vez no mínimo do estado  $^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$ , dois mecanismos de relaxamento plausíveis podem ocorrer. O primeiro está relacionado ao processo de fluorescência, e todas as energias de emissão para o sistema estudado estão reunidas na Tabela 4. Para  $^3A$  no DNA, a energia de emissão é calculada em 3,01 eV, que difere aproximadamente em 0,02 eV em comparação com os dados experimentais. Um bom acordo também é alcançado para  $^3A$  em RNA, com a maior diferença de 0,06 eV. Um resultado semelhante foi obtido anteriormente considerando o  $^3A$  rodeado por moléculas de água. Entretanto para o 1,4-dioxano, obtivemos uma discrepância de 0,32 eV. A energia de emissão em fase gasosa também está um pouco distante dos resultados experimentais em 1,4-dioxano. Em relação ao  $^3G$ , obtivemos uma energia de emissão de 3,04 e 2,94 eV para ambientes de DNA e RNA, respectivamente.

Portanto, os resultados estão de acordo com os dados experimentais em 1,4-dioxano, mas estão longe se considerarmos os dados experimentais em água (0,37 e 0,24 eV para DNA e RNA, respectivamente). Conforme mostrado em trabalhos na literatura, a inclusão de moléculas de água do solvente no cálculo da mecânica quântica pode melhorar esses resultados, mas isso está fora do escopo deste trabalho, infelizmente.

Também simulamos o espectro de emissão de  $^3G$ . Conforme ilustrado na Figura 21, a banda de emissão varia de 350 a 500 nm (3,5-2,4 eV) com um pico centrado em 399,67 nm (3,1 eV) no ambiente de DNA. Em ambos os ambientes, o espectro emulado é deslocado para o azul em relação aos dados experimentais. Uma possível razão para isso pode ser atribuída ao fato de que as simulações da dinâmica QM/MM ao longo do estado  $^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$  foram conduzidas no SA(2)-CASSCF(12,10)/cc-pVDZ, implicando que a correlação dinâmica é negligenciada.

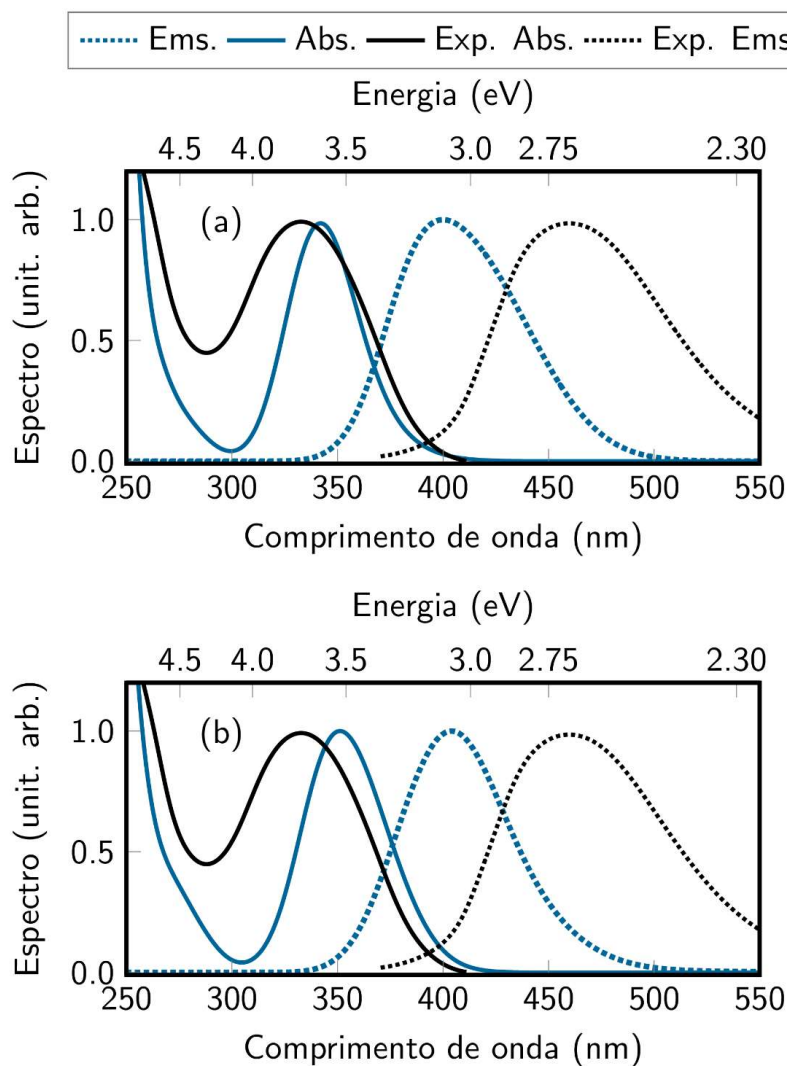


Figura 21 – Espectro de emissão simulado para a  $^{12}\text{G}$  (linha azul pontilhada), sendo (a)  $^{12}\text{G}$  em DNA e (b)  $^{12}\text{G}$  em RNA. O gráfico apresenta também os dados da absorção para comparação, (linha azul sólida) e os dados experimentais da molécula em água, sendo a emissão a linha pontilhada preta e a absorção a linha sólida preta. O espectro foi simulado com a última configuração da simulação em estado excitado descrita na metodologia e as energias foram calculadas em nível XMS(6)-CASPT2(18,13)/cc-pVDZ/MM.

A Tabela 4 também relata o deslocamento de Stokes de todos os sistemas. Em primeiro lugar, é importante ter em mente que o deslocamento de Stokes é uma quantidade difícil de obter com precisão do ponto de vista teórico, pois depende de uma boa descrição dos picos de absorção e emissão. Obtivemos uma boa concordância para  $^{12}\text{A}$  em ambos os ambientes se compararmos com os dados experimentais em 1,4-dioxano ou água (ver Tabela 4), com a maior variação em torno de 0,15 eV. Com relação a  $^{12}\text{G}$ , o deslocamento de Stokes é estimado em 0,69 e 0,77 eV para DNA e RNA, respectivamente. Esses valores estão em concordância com os resultados em 1,4-dioxano, mas há uma diferença de aproximadamente 0,3 eV quando comparados com os resultados experimentais em água. Novamente, incluir algumas moléculas

de solvente explícitas na região QM poderia refinar o deslocamento de Stokes como mostrado anteriormente e, conseqüentemente, uma melhor concordância com o experimento.

Tabela 4 - Energias de emissão vertical  ${}^{\text{tz}}\text{A}$  e  ${}^{\text{tz}}\text{G}$  (em eV) e o Stokes Shift calculado em nível QM(XMS(6)-CASPT2(18,13))/MM/cc-pVDZ. Valores anteriores experimentais<sup>205</sup> e teóricos<sup>228</sup> também foram incluídos para comparação.

Mol.	Amb.	Energias de emissão					Stokes Shift				
		Esse Trab.	Teórico		Exp.		Esse Trab.	Teórico		Exp.	
${}^{\text{tz}}\text{A}$	DNA	3,01	3,35 <sup>a</sup>	3,04 <sup>b</sup>	3,03 <sup>c</sup>	3,04 <sup>d</sup>	0,76	0,61 <sup>a</sup>	0,73 <sup>b</sup>	0,60 <sup>c</sup>	0,65 <sup>d</sup>
	RNA	2,97					0,78				
${}^{\text{tz}}\text{G}$	DNA	3,04	3,11 <sup>e</sup>	2,57 <sup>f</sup>	2,92 <sup>c</sup>	2,70 <sup>d</sup>	0,69	0,65 <sup>e</sup>	1,06 <sup>f</sup>	0,74 <sup>c</sup>	1,02 <sup>d</sup>
	RNA	2,94					0,77				

(a) Nível Monte Carlo/SS-CASPT2(12,10)/cc-pVDZ em 1,4-dioxano<sup>228</sup>.

(b) Nível Monte Carlo/SS-CASPT2(12,10)/cc-pVDZ em água<sup>228</sup>.

(c) Experimental em 1,4-dioxano<sup>205</sup>.

(d) Experimental em água<sup>205</sup>.

(e) Nível Monte Carlo/SS-CASPT2(14,11)/cc-pVDZ em 1,4-dioxano<sup>228</sup>.

(f) Nível Monte Carlo/SS-CASPT2(14,11)/cc-pVDZ em água<sup>228</sup>.

O segundo mecanismo fotoquímico poderia ser o decaimento não radiativo de volta ao estado fundamental mediado por uma interseção cônica. Conforme mostrado na Figura 20, a estrutura ( ${}^1(\pi\pi^* \text{L}_a)/\text{GS}$ )<sub>SSCP</sub> é colocada em uma região de alta energia em todas as situações. Para  ${}^{\text{tz}}\text{A}$ , está localizado 1,55 e 2,90 eV acima da estrutura  ${}^1(\pi\pi^* \text{L}_a)_{\text{min}}$  para DNA e RNA, respectivamente. Considerando que para  ${}^{\text{tz}}\text{G}$ , obtivemos 1,45 e 3,52 eV para DNA e RNA, respectivamente. Assim, esta segunda rota é inviável e, como resultado, o caráter fluorescente é predominante conforme relatado experimentalmente na literatura.

## 5 CONCLUSÕES

A trajetória fotoquímica das duas moléculas apresentadas no capítulo Fotoquímica de Fármacos baseados na fenilacetamida, estudadas em nível MS-CASPT2 e tendo as geometrias críticas conectadas por meio de interpolação linear em coordenadas internas, possibilitou entender as mudanças estruturais que ocorrem durante a reação. O mecanismo começa com a excitação energética para o *bright state*, caracterizado como  $S_2^1(\pi\pi^* L_a)$ , seguido pelo acesso a dois cruzamentos de energia mínima entre estados singleto-singleto, que são  $(S_2/S_1)_{SSCP}$  e  $(S_2/GS)_{SSCP}$ . Esse processo causa um aumento na ligação N-C, fazendo com que ela se rompa. Após o acesso  $(S_2/GS)_{SSCP}$ , as moléculas podem retornar ao estado fundamental, ou formar precursores dissociados para a reação de foto-Fries.

A viabilidade da formação de fotoprodutos foi calculada usando interpolação geodésica para calcular o caminho da região de cruzamento  $(S_2/GS)_{SSCP}$  para os produtos semiformados, assumindo um mecanismo de duas etapas como anteriormente proposto. Os cálculos concluem que os produtos Photo-Fries podem ser formados.

Já para o estudo realizado no capítulo Análogos modificados do DNA/RNA, uma estratégia QM/MM multiescala, incluindo o método XMS-CASPT2, que possui alta precisão, para a região QM, foi empregada para explorar as propriedades do estado excitado e as vias de decaimento do estado excitado de duas nucleobases de purina,  ${}^1A$  e  ${}^1G$ .

A investigação se deu em nível XMS(6)-CASPT2(18,13)/cc-pVDZ/MM em ambientes de DNA e RNA para desvendar as mudanças estruturais que elas sofrem nos respectivos estados excitados e os mecanismos que resultam em sua fluorescência, levando em conta simulações de absorção de ambas as moléculas nos diferentes ambientes, simulação de emissão para a molécula  ${}^1G$  em ambos os ambientes e o estudo das superfícies de interesse através de interpolação linear conectando as geometrias de mínimo e de cruzamento de ambas as moléculas.

A inclusão do ambiente de RNA e de DNA no sistema demonstrou que a estrutura da SSCP da molécula e  ${}^1G$  é sensível ao ambiente, tendo diferenças entre as estruturas obtidas nesse trabalho com a reportada nos trabalhos com a molécula isolada.

Quanto ao mecanismo fotoquímico de desativação, uma vez excitados para seus respectivos estados mais baixo  ${}^1(\pi\pi^* L_a)$ , eles podem atingir os mínimos do estado em um caminho sem barreiras. As estruturas  $({}^1(\pi\pi^* L_a)/GS)_{SSCP}$  se encontram em uma região de mais alta energia, impossibilitando assim o mecanismo de conversão interna, diferente do que foi

reportado para as moléculas na forma isolada, onde as estruturas de mínimo dos estados excitados e de SSCP estão na mesma região energética, porém com o decaimento não radiativo de volta ao estado fundamental mediado por uma interseção cônica bloqueada por um caminho com barreira. Portanto, o principal caminho de desativação é a emissão da região  ${}^1(\pi\pi^* L_a)_{\min}$  como demonstrado na literatura.



## 6 BIBLIOGRAFIA

1. Dugave, C. & Demange, L. Cis-trans isomerization of organic molecules and biomolecules: Implications and applications. *Chem Rev* **103**, 2475–2532 (2003).
2. Braslavsky, S. E. Glossary of terms used in photochemistry, 3rd edition (IUPAC Recommendations 2006). *Pure and Applied Chemistry* **79**, 293–465 (2007).
3. Langematz, U. Stratospheric ozone: down and up through the anthropocene. *ChemTexts* **5**, 1–12 (2019).
4. Cox, R. A. Chemical Kinetics and Atmospheric Chemistry: Role of Data Evaluation. *Chem Rev* **103**, 4533–4548 (2003).
5. Matsumi, Y. & Kawasaki, M. Photolysis of Atmospheric Ozone in the Ultraviolet Region. *Chem Rev* **103**, 4767–4781 (2003).
6. Cohen, R. C. & Murphy, J. G. Photochemistry of NO<sub>2</sub> in Earth's Stratosphere: Constraints from Observations. *Chem Rev* **103**, 4985–4998 (2003).
7. Gerber, R. B. *et al.* Computational studies of atmospherically-relevant chemical reactions in water clusters and on liquid water and ice surfaces. *Acc Chem Res* **48**, 399–406 (2015).
8. Bzdek, B. R., DePalma, J. W. & Johnston, M. v. Mechanisms of Atmospherically Relevant Cluster Growth. *Acc Chem Res* **50**, 1965–1975 (2017).
9. Burrows, H. D., Canle L, M., Santaballa, J. A. & Steenken, S. Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. *J Photochem Photobiol B* **67**, 71–108 (2002).
10. Bhat, A. P., Pomerantz, W. C. K. & Arnold, W. A. Finding Fluorine: Photoproduct Formation during the Photolysis of Fluorinated Pesticides. *Environ Sci Technol* **56**, 12336–12346 (2022).
11. Sension, R. J. Biophysics: Quantum path to photosynthesis. *Nature* **446**, 740–741 (2007).
12. Balzani, V., Credi, A. & Venturi, M. Molecular machines working on surfaces and at interfaces. *ChemPhysChem* **9**, 202–220 (2008).
13. Bao, C., Zhu, L., Lin, Q. & Tian, H. Building biomedical materials using photochemical bond cleavage. *Advanced Materials* **27**, 1647–1662 (2015).
14. Hignite, C. & Azarnoff, D. L. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sci* **20**, 337–341 (1977).
15. Bila, D. M. & Dezotti, M. Fármacos no meio ambiente. *Quim Nova* **26**, 523–530 (2003).
16. Heberer, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol Lett* **131**, 5–17 (2002).

17. de Aquino, S. F., Brandt, E. M. F. & Chernicharo, C. A. de L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: Revisão da literatura. *Engenharia Sanitaria e Ambiental* **18**, 187–204 (2013).
18. Clara, M. *et al.* Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Res* **39**, 4797–4807 (2005).
19. Kim, S. & Aga, D. S. Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* **10**, 559–573 (2007).
20. Miège, C., Choubert, J. M., Ribeiro, L., Eusèbe, M. & Coquery, M. Removal efficiency of pharmaceuticals and personal care products with varying wastewater treatment processes and operating conditions - Conception of a database and first results. *Water Science and Technology* **57**, 49–56 (2008).
21. Kumar, R. *et al.* A review on emerging water contaminants and the application of sustainable removal technologies. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* **6**, 100219 (2022).
22. Ratola, N., Cincinelli, A., Alves, A. & Katsoyiannis, A. Occurrence of organic microcontaminants in the wastewater treatment process. A mini review. *J Hazard Mater* **239–240**, 1–18 (2012).
23. Conselho Federal de Farmácia - Brasil - Notícia: 18/02/2020 - A desigualdade no consumo de medicamentos.  
<https://www.cff.org.br/noticia.php?id=5658&titulo=A+desigualdade+no+consumo+de+medicamentos>.
24. Conselho Nacional de Saúde.  
[http://www.conselho.saude.gov.br/ultimas\\_noticias/2005/medicamentos.htm](http://www.conselho.saude.gov.br/ultimas_noticias/2005/medicamentos.htm).
25. Dahm, R. Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. *Hum Genet* **122**, 565–581 (2008).
26. WATSON, J. D. & CRICK, F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* **171**, 737–738 (1953).
27. Koyanagui, E. D. Fotofísica da 2(1H)-pirimidinona e 1-metil-2(1H)-pirimidinona. (Universidade de São Paulo, 2020). doi:10.11606/D.46.2020.tde-10052022-152309.
28. Daniels, M. & Hauswirth, W. Fluorescence of the Purine and Pyrimidine Bases of the Nucleic Acids in Neutral Aqueous Solution at 300 K. *Science (1979)* **171**, 675–677 (1971).

29. Serrano-Andrés, L., Merchán, M. & Borin, A. C. A three-state model for the photophysics of guanine. *J Am Chem Soc* **130**, 2473–2484 (2008).
30. Serrano-Andrés, L., Merchán, M. & Borin, A. C. A three-state model for the photophysics of adenine. *Chemistry - A European Journal* **12**, 6559–6571 (2006).
31. Barbatti, M., Borin, A. C. & Ullrich, S. *Photoinduced Phenomena in Nucleic Acids I*. vol. 355 (Springer International Publishing, 2015).
32. Canuel, C. *et al.* Excited states dynamics of DNA and RNA bases: Characterization of a stepwise deactivation pathway in the gas phase. *J Chem Phys* **122**, 074316 (2005).
33. Kang, H., Lee, K. T., Jung, B., Ko, Y. J. & Kim, S. K. Intrinsic Lifetimes of the Excited State of DNA and RNA Bases. *J Am Chem Soc* **124**, 12958–12959 (2002).
34. Ullrich, S., Schultz, T., Zgierski, M. Z. & Stolow, A. Electronic relaxation dynamics in DNA and RNA bases studied by time-resolved photoelectron spectroscopy. *Physical Chemistry Chemical Physics* **6**, 2796 (2004).
35. Schreiber, M. & González, L. A CASPT2 study of the excited states of adenine tautomers with silver ions. *Chem Phys Lett* **435**, 136–141 (2007).
36. Ludwig, V. *et al.* Photophysics and photostability of adenine in aqueous solution: A theoretical study. *Chem Phys Lett* **492**, 164–169 (2010).
37. Perun, S., Sobolewski, A. L. & Domcke, W. Photostability of 9H-adenine: Mechanisms of the radiationless deactivation of the lowest excited singlet states. *Chem Phys* **313**, 107–112 (2005).
38. Chan, R. C. T. *et al.* Dual Time-Scale Proton Transfer and High-Energy, Long-Lived Excitons Unveiled by Broadband Ultrafast Time-Resolved Fluorescence in Adenine-Uracil RNA Duplexes. *Journal of Physical Chemistry Letters* **13**, 302–311 (2022).
39. Conti, I., Altoè, P., Stenta, M., Garavelli, M. & Orlandi, G. Adenine deactivation in DNA resolved at the CASPT2//CASSCF/AMBER level. *Physical Chemistry Chemical Physics* **12**, 5016 (2010).
40. Blancafort, L. Energetics of Cytosine Singlet Excited-State Decay Paths-A Difficult Case for CASSCF and CASPT2 †. doi:10.1562.
41. Nakayama, A., Harabuchi, Y., Yamazaki, S. & Taketsugu, T. Photophysics of cytosine tautomers: New insights into the nonradiative decay mechanisms from MS-CASPT2 potential energy calculations and excited-state molecular dynamics simulations. *Physical Chemistry Chemical Physics* **15**, 12322–12339 (2013).
42. Merchán, M. & Serrano-Andrés, L. Ultrafast internal conversion of excited cytosine via the lowest  $\pi\pi$  electronic singlet state. *J Am Chem Soc* **125**, 8108–8109 (2003).

43. Yamazaki, S., Domcke, W. & Sobolewski, A. L. Nonradiative decay mechanisms of the biologically relevant tautomer of guanine. *Journal of Physical Chemistry A* **112**, 11965–11968 (2008).
44. Barbatti, M. & Lischka, H. Nonadiabatic deactivation of 9H-adenine: A comprehensive picture based on mixed quantum-classical dynamics. *J Am Chem Soc* **130**, 6831–6839 (2008).
45. Sanches De Araújo, A. V. & Borin, A. C. Photochemical Relaxation Pathways of 9 H-8-Azaguanine and 8 H-8-Azaguanine. *Journal of Physical Chemistry A* **123**, 3109–3120 (2019).
46. Valverde, D., Vasconcelos Sanches De Araujo, A., Carlos Borin, A. & Canuto, S. Electronic structure and absorption spectra of fluorescent nucleoside analogues. *Physical Chemistry Chemical Physics* **19**, 29354–29363 (2017).
47. Krul, S. E. *et al.* Resolving Ultrafast Photoinitiated Dynamics of the Hachimoji 5-aza-7-deazaguanine Nucleobase: Impact of Synthetically Expanding the Genetic Alphabet1. *Photochem Photobiol* (2022) doi:10.1111/php.13688.
48. Fang, Y. G. *et al.* Excited-state properties and relaxation pathways of selenium-substituted guanine nucleobase in aqueous solution and DNA duplex. *Journal of Physical Chemistry B* **125**, 1778–1789 (2021).
49. Valverde, D., Mai, S., Canuto, S., Borin, A. C. & González, L. Ultrafast Intersystem Crossing Dynamics of 6-Selenoguanine in Water. *JACS Au* **2**, 1699–1711 (2022).
50. Valverde, D. *et al.* On the population of triplet states of 2-seleno-thymine. *Physical Chemistry Chemical Physics* **23**, 5447–5454 (2021).
51. Krul, S. E. *et al.* Resolving Ultrafast Photoinitiated Dynamics of the Hachimoji 5-aza-7-deazaguanine Nucleobase: Impact of Synthetically Expanding the Genetic Alphabet1. *Photochem Photobiol* (2022) doi:10.1111/php.13688.
52. Verhoeven, J. W. Glossary of terms used in photochemistry (IUPAC Reconunendations 1996). *Pure and Applied Chemistry* **68**, 2223–2286 (1996).
53. Calvert, J. G. Glossary of atmospheric chemistry terms. *Pure and Applied Chemistry* **62**, 2167–2219 (1990).
54. McNaught, A. D., Wilkinson, A. & others. *Compendium of chemical terminology*. vol. 1669 (Blackwell Science Oxford, 1997).
55. Neumann, M. G. & Quina, F. H. A Fotoquímica no Brasil. *Quim Nova* **25**, 34–38 (2002).
56. González, Y. O. *Fotofísica e propriedades dinâmicas de sistemas moleculares*. (Universidade de São Paulo, 2012). doi:10.11606/T.43.2012.tde-26032013-150724.

57. El-Sayed, M. A. Spin—Orbit Coupling and the Radiationless Processes in Nitrogen Heterocyclics. *J Chem Phys* **38**, 2834–2838 (1963).
58. Kasha rule. *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology* (2008) doi:10.1351/GOLDBOOK.K03370.
59. Kasha, M. Characterization of electronic transitions in complex molecules. *Discuss Faraday Soc* **9**, 14 (1950).
60. Wardle, B. Principles and applications of photochemistry. *Choice Reviews Online* **26**, 26-6288-26-6288 (1989).
61. Olivucci, M. *Computational Photochemistry*.
62. Merz, T. *et al.* Description of excited states in photochemistry with theoretical methods. *Physical Sciences Reviews* **3**, 1–22 (2019).
63. Domcke, W., Yarkony, D. & Köppel, H. *Conical Intersections: Electronic Structure, Dynamics & Spectroscopy*. (2004).
64. Born, M. & Oppenheimer, R. J. On the quantum theory of molecules (English translation). *Ann Phys* **84**, 457 (1927).
65. Yarkony, D. R. Conical Intersections: Diabolical and Often Misunderstood. *Acc Chem Res* **31**, 511–518 (1998).
66. José David M. Vianna, Adalberto Fazzio, S. C. *Teoria Quântica de Moléculas e Sólidos: Simulação Computacional*. (2004).
67. Hartree, D. R. The Wave Mechanics of an Atom with a non-Coulomb Central Field. Part I. Theory and Methods. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* **24**, 426 (1928).
68. Hartree, D. R. The Wave Mechanics of an Atom with a Non-Coulomb Central Field. Part II. Some Results and Discussion. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* **24**, 111–132 (1928).
69. Fock, V. Näherungsmethode zur Lösung des quantenmechanischen Mehrkörperproblems. *Zeitschrift für Physik* **61**, 126–148 (1930).
70. Slater, J. C. The theory of complex spectra. *Physical Review* **34**, 1293–1322 (1929).
71. Roothaan, C. C. J. New developments in molecular orbital theory. *Rev Mod Phys* **23**, 69–89 (1951).
72. Jensen, J. H. *Molecular Modeling Basics. Paper Knowledge. Toward a Media History of Documents* vol. 3 (CRC Press, 2010).

73. Löwdin, P.-O. Correlation Problem in Many-Electron Quantum Mechanics I. Review of Different Approaches and Discussion of Some Current Ideas. in *Adv. Chem. Phys.* vol. I 207–322 (2007).
74. Koyanagui, E. D. Fotofísica da 2(1H)-pirimidinona e 1-metil-2(1H)-pirimidinona. vol. 2 (Universidade de São Paulo, 2020).
75. Borin, A. C. & de Araújo, A. V. S. Tips on active space construction in multiconfigurational calculations: A case study. *Quim Nova* **38**, 738–748 (2015).
76. Attila Szabo, N. S. O. *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory.* (1989).
77. Shepard, R. The MCSCF method. *Advances in Chemical Physics Vol 69* 63–200 (1987).
78. Roos, B. O. The complete active space self-consistent field method and its applications in electronic structure calculations. *Adv Chem Phys* **69**, 399–445 (1987).
79. Roos, B. O. The Complete Active Space Self-Consistent Field Method and its Applications in Electronic Structure Calculations. in *AB Initio Methods in Quantum Chemistry - II* vol. 69 399–445 (2007).
80. LAWLEY, K. P. *AB INITIO METHODS IN QUANTUM CHEMISTRY - II.* vol. 17 (2014).
81. Veryazov, V., Malmqvist, P. Å. & Roos, B. O. How to select active space for multiconfigurational quantum chemistry? *Int J Quantum Chem* **111**, 3329–3338 (2011).
82. Valverde, D. P. Dinâmica de estados excitados e propriedades espectroscópicas de derivados de DNA/RNA sintéticos e naturais em meio solvente. (Universidade de São Paulo, 2020). doi:10.11606/T.43.2020.tde-23122020-130449.
83. Löwdin, P.-O. Quantum Theory of Many-Particle Systems. I. Physical Interpretations by Means of Density Matrices, Natural Spin-Orbitals, and Convergence Problems in the Method of Configurational Interaction. *Physical Review* **97**, 1474–1489 (1955).
84. Schrödinger, E. An undulatory theory of the mechanics of atoms and molecules. *Physical Review* **28**, 1049–1070 (1926).
85. Andersson, K., Malmqvist, P.-åke, Roos, B. O., Sadlej, A. J. & Wolinski, K. Second-Order Perturbation Theory with a CASSCF Reference Function. 5483–5488 (1990) doi:10.1021/j100377a012.
86. Zobel, J. P., Nogueira, J. J. & González, L. The IPEA dilemma in CASPT2. *Chem. Sci.* **8**, 1482–1499 (2017).

87. Ghigo, G., Roos, B. O. & Malmqvist, P.-Å. A modified definition of the zeroth-order Hamiltonian in multiconfigurational perturbation theory (CASPT2). *Chem Phys Lett* **396**, 142–149 (2004).
88. Serrano-Andrés, L. & Merchán, M. Quantum chemistry of the excited state: 2005 Overview. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* **729**, 99–108 (2005).
89. Sen, S. & Schapiro, I. A comprehensive benchmark of the XMS-CASPT2 method for the photochemistry of a retinal chromophore model. *Mol Phys* **116**, 2571–2582 (2018).
90. Battaglia, S. & Lindh, R. Extended Dynamically Weighted CASPT2: The Best of Two Worlds. *J Chem Theory Comput* **16**, 1555–1567 (2020).
91. Granovsky, A. A. Extended multi-configuration quasi-degenerate perturbation theory: The new approach to multi-state multi-reference perturbation theory. *Journal of Chemical Physics* **134**, (2011).
92. Shiozaki, T., Gyroffly, W., Celani, P. & Werner, H. J. Communication: Extended multi-state complete active space second-order perturbation theory: Energy and nuclear gradients. *Journal of Chemical Physics* **135**, (2011).
93. Yanai, T. *et al.* Multistate Complete-Active-Space Second-Order Perturbation Theory Based on Density Matrix Renormalization Group Reference States. *J Chem Theory Comput* **13**, 4829–4840 (2017).
94. Jaiswal, V. K. MODELLING UV RESPONSE OF BIOMOLECULES: FROM ELECTRONIC STRUCTURE TO AB-INITIO DYNAMICS. (2022). doi:10.48676/unibo/amsdottorato/10003.
95. Silva, C. E. B. da. Estudos teóricos do estado excitado de moléculas orgânicas em solvente. (Universidade de São Paulo, 2015). doi:10.11606/T.43.2015.tde-22102015-102635.
96. Lima, F. B. de. Modelagem estrutural em solução por métodos contínuos de solvatação. 69 (2016).
97. Pliego, J. R. Modelos contínuos do solvente: Fundamentos. *Quim Nova* **29**, 535–542 (2006).
98. Ahmadi, S. *et al.* Multiscale modeling of enzymes: QM-cluster, QM/MM, and QM/MM/MD: A tutorial review. *Int J Quantum Chem* **118**, 1–34 (2018).
99. Reuter, N., Dejaegere, A., Maigret, B. & Karplus, M. Frontier bonds in QM/MM methods: A comparison of different approaches. *Journal of Physical Chemistry A* **104**, 1720–1735 (2000).
100. Wilkinson, J. L. *et al.* Pharmaceutical pollution of the world s rivers. **119**, 1–10 (2022).
101. Cook, S. M., VanDuinen, B. J., Love, N. G. & Skerlos, S. J. Life Cycle Comparison of Environmental Emissions from Three Disposal Options for Unused Pharmaceuticals. *Environ Sci Technol* **46**, 5535–5541 (2012).

102. Richardson, S. D. Environmental Mass Spectrometry: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal Chem* **80**, 4373–4402 (2008).
103. Petrovic, M. & Barceló, D. Liquid chromatography–mass spectrometry in the analysis of emerging environmental contaminants. *Anal Bioanal Chem* **385**, 422–424 (2006).
104. Clara, M. *et al.* Perfluorinated alkylated substances in the aquatic environment: An Austrian case study. *Water Res* **43**, 4760–4768 (2009).
105. Fromme, H., Tittlemier, S. A., Völkel, W., Wilhelm, M. & Twardella, D. Perfluorinated compounds - Exposure assessment for the general population in western countries. *Int J Hyg Environ Health* **212**, 239–270 (2009).
106. Deblonde, T., Cossu-Leguille, C. & Hartemann, P. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *Int J Hyg Environ Health* **214**, 442–448 (2011).
107. Patel, M. *et al.* Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, and removal methods. *Chem Rev* **119**, 3510–3673 (2019).
108. Tijani, J. O., Fatoba, O. O., Babajide, O. O. & Petrik, L. F. Pharmaceuticals, endocrine disruptors, personal care products, nanomaterials and perfluorinated pollutants: a review. *Environ Chem Lett* **14**, 27–49 (2016).
109. Hedgespeth, M. L. *et al.* Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in treated wastewater discharges into Charleston Harbor, South Carolina. *Science of the Total Environment* **437**, 1–9 (2012).
110. Gavrilesco, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S. & Fava, F. Emerging pollutants in the environment: Present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *N Biotechnol* **32**, 147–156 (2015).
111. Lin, Y. C., Lai, W. W. P., Tung, H. hsin & Lin, A. Y. C. Occurrence of pharmaceuticals, hormones, and perfluorinated compounds in groundwater in Taiwan. *Environ Monit Assess* **187**, (2015).
112. Richardson, S. D. & Ternes, T. A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal Chem* **90**, 398–428 (2018).
113. China K. Gadupudi, Louis Rice, L. X. and K. K. Endocrine Disrupting Compounds Removal Methods from Wastewater in the United Kingdom: A Review. *Sci* **1**, 15 (2019).
114. Díaz-Cruz, M. S. *et al.* Analysis of selected emerging contaminants in sewage sludge. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **28**, 1263–1275 (2009).



115. Schriks, M., Heringa, M. B., van der Kooi, M. M. E., de Voogt, P. & van Wezel, A. P. Toxicological relevance of emerging contaminants for drinking water quality. *Water Res* **44**, 461–476 (2010).
116. Stuart, M., Lapworth, D., Crane, E. & Hart, A. Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Science of the Total Environment* **416**, 1–21 (2012).
117. Bai, X. *et al.* Occurrence, distribution, and seasonality of emerging contaminants in urban watersheds. *Chemosphere* **200**, 133–142 (2018).
118. Albuquerque, A. F. *et al.* Pesticides in Brazilian freshwaters: A critical review. *Environ Sci Process Impacts* **18**, 779–787 (2016).
119. Rousis, N. I. *et al.* Monitoring a large number of pesticides and transformation products in water samples from Spain and Italy. *Environ Res* **156**, 31–38 (2017).
120. Pochini, K. M. & Hoverman, J. T. Reciprocal effects of pesticides and pathogens on amphibian hosts: The importance of exposure order and timing. *Environmental Pollution* **221**, 359–366 (2017).
121. McKinlay, R., Plant, J. A., Bell, J. N. B. & Voulvoulis, N. Endocrine disrupting pesticides: Implications for risk assessment. *Environ Int* **34**, 168–183 (2008).
122. Karen, D. J., Draughn, R., Fulton, M. & Ross, P. Bone strength and acetylcholinesterase inhibition as endpoints in chlorpyrifos toxicity to *Fundulus heteroclitus*. *Pestic Biochem Physiol* **60**, 167–175 (1998).
123. Murray, K. E., Thomas, S. M. & Bodour, A. A. Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. *Environmental Pollution* **158**, 3462–3471 (2010).
124. Wu, S., Zhang, L. & Chen, J. Paracetamol in the environment and its degradation by microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* **96**, 875–884 (2012).
125. Warwick, C. Paracetamol and fever management. *Journal of The Royal Society for the Promotion of Health* **128**, 320–323 (2008).
126. Chiumello, D., Gotti, M. & Vergani, G. Paracetamol in fever in critically ill patients—an update. *J Crit Care* **38**, 245–252 (2017).
127. Proudfoot, A. T. & Wright, N. Acute Paracetamol Poisoning. *BMJ* **3**, 557–558 (1970).
128. Rumack, B. H. & Matthew, H. Acetaminophen poisoning and toxicity. *Pediatrics* **55**, 871–876 (1975).
129. Lee, W. M. Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity—Isn't it time for APAP to go away? *J Hepatol* **67**, 1324–1331 (2017).

130. Dart, R. *et al.* Acetaminophen poisoning: An evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clin Toxicol* **44**, 1–18 (2006).
131. Machado, G. C. *et al.* Efficacy and safety of paracetamol for spinal pain and osteoarthritis: Systematic review and meta-analysis of randomised placebo controlled trials. *BMJ (Online)* **350**, 1–13 (2015).
132. Case, J. P., Baliunas, A. J. & Block, J. A. Lack of efficacy of acetaminophen in treating symptomatic knee osteoarthritis: A randomized, double-blind, placebo-controlled comparison trial with diclofenac sodium. *Arch Intern Med* **163**, 169–178 (2003).
133. Williams, C. M. *et al.* Efficacy of paracetamol for acute low-back pain: A double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet* **384**, 1586–1596 (2014).
134. Carlos, L. *et al.* Photochemical fate of a mixture of emerging pollutants in the presence of humic substances. *Water Res* **46**, 4732–4740 (2012).
135. Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M. Á., Prados-Joya, G. & Ocampo-Pérez, R. Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere* **93**, 1268–87 (2013).
136. Rosal, R. *et al.* Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water Res* **44**, 578–588 (2010).
137. Ahmad, I., Ahmed, S., Anwar, Z., Sheraz, M. A. & Sikorski, M. Photostability and Photostabilization of Drugs and Drug Products. *International Journal of Photoenergy* **2016**, (2016).
138. Gilpin, R. K. & Zhou, W. Studies of the Thermal Degradation of Acetaminophen Using a Conventional HPLC Approach and Electrospray Ionization-Mass Spectrometry. *J Chromatogr Sci* **42**, 15–20 (2004).
139. Yadav, U. N., Kumbhar, H. S., Deshpande, S. S., Sahoo, S. K. & Shankarling, G. S. Photophysical and thermal properties of novel solid state fluorescent benzoxazole based styryl dyes from a DFT study. *RSC Adv* **5**, 42971–42977 (2015).
140. VITÓRIA ELIZABETH SILVA LOPES. Degradação de paracetamol por fotólise direta e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV em reator tubular. (2019).
141. New Structure Revisits History | Latest News | Chemical & Engineering News. <https://pubsapp.acs.org/cen/news/87/i21/8721notw8.html>.
142. Belluš, D. Photo-Fries Rearrangement and Related Photochemical [1,j] -Shifts (j = 3, 5, 7) of Carbonyl and Sulfonyl Groups. in *Advances in Photochemistry* vol. 8 109–159 (2007).

143. Kawabata, K., Sugihara, K., Sanoh, S., Kitamura, S. & Ohta, S. Ultraviolet-photoproduct of acetaminophen: Structure determination and evaluation of ecotoxicological effect. *J Photochem Photobiol A Chem* **249**, 29–35 (2012).
144. Andreozzi, R., Marotta, R. & Paxéus, N. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* **50**, 1319–1330 (2003).
145. Zhang, X., Wu, F., Wu, X. W., Chen, P. & Deng, N. Photodegradation of acetaminophen in TiO<sub>2</sub> suspended solution. *J Hazard Mater* **157**, 300–307 (2008).
146. Andreozzi, R., Raffaele, M. & eus Nicklas, P. *Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment*. [www.elsevier.com/locate/chemosphere](http://www.elsevier.com/locate/chemosphere).
147. Andreozzi, R., Caprio, V., Marotta, R. & Vogna, D. *Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> /UV system*. *Water Research* vol. 37 (2003).
148. Pozdnyakov, I. P. *et al.* Wavelength-dependent photochemistry of acetaminophen in aqueous solutions. *J Photochem Photobiol A Chem* **274**, 117–123 (2014).
149. Martignac, M., Oliveros, E., Maurette, M. T., Claparols, C. & Benoit-Marquié, F. Mechanistic pathways of the photolysis of paracetamol in aqueous solution: An example of photo-Fries rearrangement. *Photochemical and Photobiological Sciences* **12**, 527–535 (2013).
150. Mirtha Nassetta, Rita H. De Rossi, and J. J. C. Influence of cyclodextrins on the photo-Fries rearrangement of acetanilide. *Can J Chem* (1988) doi:10.1139/v88-431.
151. Shizuka, H. & Tanaka, I. Photochemistry of Acetanilide. IV. The Photochemical Reactions in the Vapor Phase and Rigid Matrixes. *Bull Chem Soc Jpn* **42**, 909–913 (1969).
152. Shizuka, H. & Tanaka, I. Photochemistry of Acetanilide. I. Quantum Yields of the Rearrangement and Benzene Photosensitized Reaction. *Bull Chem Soc Jpn* **41**, 2343–2349 (1968).
153. Peuravuori, J. Aquatic photochemistry of paracetamol in the presence of dissolved organic chromophoric material and nitrate. 2259–2270 (2012) doi:10.1007/s11356-011-0730-y.
154. Anderson, J. C. & Reese, C. B. A photo-induced rearrangement involving aryl participation. *Tetrahedron Lett* **3**, 1–4 (1962).
155. Iguchi, D., Erra-Balsells, R. & Bonesi, S. M. Photo-Fries rearrangement of aryl acetamides: Regioselectivity induced by the aqueous micellar green environment. *Photochemical and Photobiological Sciences* **15**, 105–116 (2016).
156. Consuelo Jiménez, M., Miranda, M. A., Scaiano, J. C. & Tormos, R. Two-photon processes in the photo-Claisen and photo-Fries rearrangements. Direct observation of dienic ketenes

- generated by photolysis of transient cyclohexa-2,4-dienones. *Chemical Communications* 1487–1488 (2002) doi:10.1039/a703606j.
157. Griesser, T. *et al.* Refractive index modulation in polymers bearing photoreactive phenyl and naphthyl ester units using different UV wavelengths. *J Mater Chem* **19**, 4557–4565 (2009).
  158. Belluš, D. & Hrdlovlč, P. Photochemical Rearrangement of Aryl, Vinyl, and Substituted Vinyl Esters and Amides of Carboxylic Acids. *Chem Rev* **67**, 599–609 (1967).
  159. Kalmus, C. E. & Hercules, D. M. A Mechanistic Study of the Photo-Fries Rearrangement of Phenyl Acetate. *J Am Chem Soc* **96**, 449–456 (1974).
  160. Toldo, J. M., Barbatti, M. & Gonçalves, P. F. B. A three-state model for the photo-Fries rearrangement. *Physical Chemistry Chemical Physics* **19**, 19103–19108 (2017).
  161. Toldo, J. M. *Fotoquímica de carbamatos aromáticos e derivados por métodos de estrutura eletrônica: do rearranjo foto-fries à fotodegradação de pesticidas*. <http://hdl.handle.net/10183/172038> (2017).
  162. Meyer, J. W. & Hammond, G. S. Photochemical Reactions in Solution. LXX. Photolysis. 2219–2228 (1971).
  163. Meyer, J. W. & Hammond, G. S. Vapor-Phase Photolysis of Phenyl Acetate. *J Am Chem Soc* **92**, 2187–2189 (1970).
  164. Shizuka, H. Photochemistry of Acetanilide. III. The Secondary Processes in the Photochemical Reaction. *Bull Chem Soc Jpn* **42**, 57–65 (1969).
  165. Galindo, F. The photochemical rearrangement of aromatic ethers: A review of the Photo-Claisen reaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **6**, 123–138 (2005).
  166. Finnegan, R. A. & Mattice, J. J. Photochemical studies-II. The photo-rearrangement of aryl esters. *Tetrahedron* **21**, 1015–1026 (1965).
  167. Harris, S. J. *et al.* Transient electronic and vibrational absorption studies of the photo-Claisen and photo-Fries rearrangements. *Chem. Sci.* **5**, 707–714 (2014).
  168. Haas, H. History of antipyretic analgesic therapy. *Am J Med* **75**, 1–3 (1983).
  169. Marchini, S., Høglund, M. D., Broderius, S. J. & Tosato, M. L. *Comparison of the susceptibility of daphnids and fish to benzene derivatives*.
  170. Rodricks, J. v. *Risk Assessment, the Environment, and Public Health*.
  171. Finley, J., Malmqvist, P. Å., Roos, B. O. & Serrano-Andrés, L. The multi-state CASPT2 method. *Chem Phys Lett* **288**, 299–306 (1998).

172. Andersson, K., Malmqvist, P. & Roos, B. O. Secondorder perturbation theory with a complete active space self consistent field reference function self-consistent field reference function. **1218**, (1992).
173. Widmark, P.-O., Malmqvist, P.-Åke & Roos, B. O. Density matrix averaged atomic natural orbital (ANO) basis sets for correlated molecular wave functions. *Theor Chim Acta* **77**, 291–306 (1990).
174. Vico, L. de *et al.* New General Tools for Constrained Geometry Optimizations. **6**, 1029–1037 (2005).
175. Forsberg, N. & Malmqvist, P.-Å. Multiconfiguration perturbation theory with imaginary level shift. *Chem Phys Lett* **274**, 196–204 (1997).
176. Fdez. Galván, I. *et al.* OpenMolcas: From Source Code to Insight. *J Chem Theory Comput* **15**, 5925–5964 (2019).
177. Lischka, H. *et al.* Columbus-a program system for advanced multireference theory calculations. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci* **1**, 191–199 (2011).
178. Zhu, X., Thompson, K. C. & Martínez, T. J. Geodesic interpolation for reaction pathways. *Journal of Chemical Physics* **150**, (2019).
179. Yanai, T., Tew, D. P. & Handy, N. C. A new hybrid exchange-correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). *Chem Phys Lett* **393**, 51–57 (2004).
180. Krishnan, R., Binkley, J. S., Seeger, R. & Pople, J. A. Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *J Chem Phys* **72**, 650–654 (1980).
181. Frisch, M. J. *et al.* Gaussian~09 {R}evision {E}.01.
182. Richter, M., Marquetand, P., González-Vázquez, J., Sola, I. & González, L. SHARC: ab Initio Molecular Dynamics with Surface Hopping in the Adiabatic Representation Including Arbitrary Couplings. *J Chem Theory Comput* **7**, 1253–1258 (2011).
183. Wigner, E. P. On the Quantum Correction for Thermodynamic Equilibrium. in *Part I: Physical Chemistry. Part II: Solid State Physics* vol. IV 110–120 (Springer Berlin Heidelberg, 1997).
184. Dahl, J. P. & Springborg, M. The Morse oscillator in position space, momentum space, and phase space. *J Chem Phys* **88**, 4535–4547 (1988).
185. Carlos Borin, A., Mai, S., Marquetand, P. & González, L. Ab initio molecular dynamics relaxation and intersystem crossing mechanisms of 5-azacytosine. *Physical Chemistry Chemical Physics* **19**, 5888–5894 (2017).
186. Ungnade, H. E. Ultraviolet Absorption Spectra of Acetanilides. *J Am Chem Soc* **76**, 5133–5135 (1954).

187. Nitzan, A. Chemical Dynamics in Condensed Phases. *J Stat Phys* **741** (2006).
188. Govindasamy, P., Gunasekaran, S. & Ramkumaar, G. R. Natural bond orbital analysis, electronic structure and vibrational spectral analysis of N-(4-hydroxyl phenyl) acetamide: A density functional theory. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **130**, 621–633 (2014).
189. Ungnade, H. E. Ultraviolet Absorption Spectra of Acetanilides 1. *J Am Chem Soc* **76**, 5133–5135 (1954).
190. Prabhumirashi, L. S., Kutty, D. K. N. & Bhide, A. S. Excited state dipole moments of some monosubstituted benzenes from solvent effect on electronic absorption spectra. *Spectrochim Acta A* **39**, 663–668 (1983).
191. Platt, J. R. Classification of spectra of cata-condensed hydrocarbons. *J Chem Phys* **17**, 484–495 (1949).
192. Shizuka, H. Photochemistry of Acetanilide. II. The Primary Processes in the Photochemical Reaction. *Bull Chem Soc Jpn* **42**, 52–57 (1969).
193. Pozdnyakov, I. P. *et al.* Wavelength-dependent photochemistry of acetaminophen in aqueous solutions. *J Photochem Photobiol A Chem* **274**, 117–123 (2014).
194. Brown, C. J. & Corbridge, D. E. C. The crystal structure of acetanilide. *Acta Crystallogr* **7**, 711–715 (1954).
195. Haisa, M., Kashino, S. & Maeda, H. The orthorhombic form of p-hydroxyacetanilide. *Acta Crystallogr B* **30**, 2510–2512 (1974).
196. Khan, M. F., Razan, R., Rashid, R. bin, Tahia, F. & Rashid, M. A. Computational Study of Geometry, IR Spectrum and Molecular Properties of Acetanilide. *Bangladesh Pharmaceutical Journal* **19**, 170–178 (2016).
197. Cremer, D. & Pople, J. A. A General Definition of Ring Puckering Coordinates. *J Am Chem Soc* **97**, 1354–1358 (1975).
198. Boeyens, J. C. A. The conformation of six-membered rings. *Journal of Crystal and Molecular Structure* **8**, 317–320 (1978).
199. de Vries, M. S. & Hobza, P. Gas-phase spectroscopy of biomolecular building blocks. *Annu Rev Phys Chem* **58**, 585–612 (2007).
200. Lee, I.-R., Lee, W. & Zewail, A. H. Primary steps of the photoactive yellow protein: Isolated chromophore dynamics and protein directed function. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**, 258–262 (2006).
201. Crespo-Hernández, C. E., Cohen, B., Hare, P. M. & Kohler, B. Ultrafast Excited-State Dynamics in Nucleic Acids. *Chem Rev* **104**, 1977–2020 (2004).

202. Tuna, D., Sobolewski, A. L. & Domcke, W. Mechanisms of ultrafast excited-state deactivation in adenosine. *Journal of Physical Chemistry A* **118**, 122–127 (2014).
203. Giussani, A., Segarra-Martí, J., Roca-Sanjuán, D. & Merchán, M. Excitation of Nucleobases from a Computational Perspective I: Reaction Paths. in *Photoinduced Phenomena in Nucleic Acids Iics in Current Chemistry* vol. 355 57–97 (2013).
204. Shin, D., Sinkeldam, R. W. & Tor, Y. Emissive RNA Alphabet. *J Am Chem Soc* **133**, 14912–14915 (2011).
205. Rovira, A. R., Fin, A. & Tor, Y. Chemical Mutagenesis of an Emissive RNA Alphabet. *J Am Chem Soc* **137**, 14602–14605 (2015).
206. Hohenberg, P. & Kohn, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review* **136**, B864–B871 (1964).
207. Kohn, W. & Sham, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review* **140**, A1133–A1138 (1965).
208. Zhang, L., Kong, X., Wang, M. & Zheng, M. Photophysical properties of the isomorphous emissive RNA nucleobase analogues and effect of water solution, ribose, and base pairing: A theoretical study. *Int J Quantum Chem* **117**, 1–12 (2017).
209. Chawla, M., Poater, A., Oliva, R. & Cavallo, L. Structural and energetic characterization of the emissive RNA alphabet based on the isothiazolo[4,3-: D] pyrimidine heterocycle core. *Physical Chemistry Chemical Physics* **18**, 18045–18053 (2016).
210. Valverde, D., Vasconcelos Sanches de Araujo, A., Carlos Borin, A. & Canuto, S. Electronic structure and absorption spectra of fluorescent nucleoside analogues. *Physical Chemistry Chemical Physics* **19**, 29354–29363 (2017).
211. Sanches de Araújo, A. V., Valverde, D., Canuto, S. & Borin, A. C. Solvation Structures and Deactivation Pathways of Luminescent Isothiazole-Derived Nucleobases: tz A , tz G , and tz I. *J Phys Chem A* **124**, 6834–6844 (2020).
212. Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy. Principles of Fluorescence Spectroscopy* (1999). doi:10.1007/978-1-4757-3061-6.
213. Hell, S. W. Toward fluorescence nanoscopy. *Nat Biotechnol* **21**, 1347–1355 (2003).
214. Warshel, A. & Levitt, M. Theoretical studies of enzymic reactions: Dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme. *J Mol Biol* **103**, 227–249 (1976).
215. Singh, U. C. & Kollman, P. A. A combined ab initio quantum mechanical and molecular mechanical method for carrying out simulations on complex molecular systems: Applications

- to the CH<sub>3</sub>Cl + Cl<sup>-</sup> exchange reaction and gas phase protonation of polyethers. *J Comput Chem* **7**, 718–730 (1986).
216. D.A. Case, I.Y. Ben-Shalom, S.R. Brozell, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, V.W.D. Cruzeiro, T.A. Darden, R.E. Duke, D. Ghoreishi, G. Giambasu, T. Giese, M.K. Gilson, H. Gohlke, A.W. Goetz, D. Greene, R Harris, N. Homeyer, Y. Huang, S. Izadi, A. Kovalenko, S. Francisco. Amber 2019. *J Chem Inf Model* **53**, 1689–1699 (2013).
217. Fang, Y. G. *et al.* Excited-state properties and relaxation pathways of selenium-substituted guanine nucleobase in aqueous solution and DNA duplex. *Journal of Physical Chemistry B* **125**, 1778–1789 (2021).
218. Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W. & Klein, M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys* **79**, 926–935 (1983).
219. Hornak, V. *et al.* Comparison of multiple Amber force fields and development of improved protein backbone parameters. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* **65**, 712–725 (2006).
220. Ewald, P. P. Die Berechnung optischer und elektrostatischer Gitterpotentiale. *Ann Phys* **369**, 253–287 (1921).
221. Bayly, C. I., Cieplak, P., Cornell, W. D. & Kollman, P. A. A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: The RESP model. *Journal of Physical Chemistry* **97**, 10269–10280 (1993).
222. Namba, A. M., da Silva, V. B. & da Silva, C. H. T. P. Dinâmica molecular: Teoria e aplicações em planejamento de fármacos. *Ecletica Quimica* **33**, 13–24 (2008).
223. Berendsen, H. J. C., Postma, J. P. M., van Gunsteren, W. F., Dinola, A. & Haak, J. R. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J Chem Phys* **81**, 3684–3690 (1984).
224. Dunning, T. H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen. *J Chem Phys* **90**, 1007–1023 (1989).
225. de Vico, L., Olivucci, M. & Lindh, R. New general tools for constrained geometry optimizations. *J Chem Theory Comput* **1**, 1029–1037 (2005).
226. Aquilante, F. *et al.* Modern quantum chemistry with [open]molcas. *Journal of Chemical Physics* **152**, (2020).
227. Rackers, J. A. *et al.* Tinker 8: Software Tools for Molecular Design. *J Chem Theory Comput* **14**, 5273–5289 (2018).



228. Sanches De Araújo, A. V., Valverde, D., Canuto, S. & Borin, A. C. Solvation Structures and Deactivation Pathways of Luminescent Isothiazole-Derived Nucleobases: TzA, tzG, and tzi. *Journal of Physical Chemistry A* **124**, 6834–6844 (2020).

## 7 ANEXOS

Tabela 5 - Distâncias de ligação teóricas (fase gasosa) e experimentais (difração de raios-X) (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos diedros (°) para acetanilida.

	S <sub>0</sub>	S <sub>0</sub> <sup>196</sup>	Exp <sup>194</sup>	( $\pi\pi^* L_b$ ) <sub>min</sub>	<sup>1</sup> ( $\pi\pi^* L_a$ ) / <sup>1</sup> ( $\pi\pi^* L_b$ ) <sub>SSCP</sub>	<sup>1</sup> ( $\pi\pi^* L_a$ ) / GS <sub>SSCP</sub>
C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub>	1.411	1.404	1.391	1.439	1.455	1.438
C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub>	1.408	1.397	1.384	1.438	1.381	1.390
C <sub>6</sub> -C <sub>7</sub>	1.407	1.396	1.376	1.428	1.418	1.412
C <sub>7</sub> -C <sub>8</sub>	1.409	1.398	1.391	1.429	1.426	1.408
C <sub>8</sub> -C <sub>9</sub>	1.404	1.393	1.379	1.435	1.377	1.381
C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub>	1.411	1.406	1.397	1.444	1.455	1.425
C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub>	1.410	1.414	1.413	1.381	1.342	1.343
N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub>	1.382	1.378	1.354	1.408	1.517	2.113
C <sub>2</sub> -O <sub>15</sub>	1.230	1.226	1.219	1.225	1.240	1.189
C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub>	1.519	1.521	1.495	1.518	1.504	1.512
C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub>	120.3	120.5	120.2	119.0	120.6	121.1
C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub>	120.2	120.2	120.4	119.4	120.6	119.2
C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub>	119.1	119.1	119.0	121.2	119.1	120.5
C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub>	121.5	121.4	121.7	120.6	122.3	121.0
C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub>	119.0	119.3	119.1	117.8	118.9	118.6
C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub>	119.9	119.5	119.6	121.9	118.4	119.1
C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub>	16.9	117.1	116.6	115.4	119.0	117.9
C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub>	123.2	123.4	123.8	122.7	122.5	122.7
C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub>	128.7	129.4	127.6	130.8	129.1	120.7
C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub>	112.9	114.8	115.3	112.6	113.2	94.7
N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> -O <sub>15</sub>	124.0	123.9	123.1	123.6	118.8	106.4
C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub> -O <sub>15</sub>	123.1	121.4	121.6	123.7	127.3	126.4
H <sub>10</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -H <sub>11</sub>	0.0	0.0		0.1	0.3	-3.5
H <sub>10</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub>	-180.0	180.0		-179.8	-178.8	179.7
C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -H <sub>19</sub>	180.0	-180.0		-179.6	179.5	178.4
C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub>	-0.0	0.0		-0.2	-0.2	-1.9
H <sub>11</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -H <sub>19</sub>	0.0	0.0		0.5	0.3	1.6
H <sub>11</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub>	180.0	-180.0		179.9	-179.4	-178.7
C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -H <sub>12</sub>	-180.0	180.0		179.9	-179.9	179.2
C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub>	-0.0	0.0		0.2	0.5	-2.4
H <sub>19</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -H <sub>12</sub>	0.0	0.0		-0.6	0.4	-1.1
H <sub>19</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub>	180.0	-180.0		179.7	-179.3	177.3
C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>13</sub>	-180.0	180.0		179.9	179.4	178.6
C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub>	0.0	0.0		-0.1	-0.7	2.2
H <sub>12</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>13</sub>	-0.0	0.0		0.2	-0.3	-2.9
H <sub>12</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub>	-180.0	180.0		-179.9	179.7	-179.3
C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub>	-179.9	-180.0		-179.9	-177.3	-172.5
H <sub>13</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub>	0.1	0.0		0.0	2.6	11.0
H <sub>13</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub>	180.0	180.0		179.9	-179.5	-174.4
C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub>	0.0	0.0		0.1	-0.3	-6.4
C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub>	0.0	0.0		-0.0	0.1	6.3
C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -H <sub>10</sub>	180.0	-180.0		179.9	178.7	179.9
H <sub>10</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub>	-0.1	0.0		-0.2	-3.3	-5.2
C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub> -H <sub>14</sub>	-0.1	0.0		-0.1	-2.1	29.00

C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub> -H <sub>14</sub>	179.8	-180.0	179.7	175.7	-156.4
C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> -O <sub>15</sub>	0.6	0.0	0.2	-3.4	-33.4
C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub>	-179.4	-180.0	-179.8	-174.6	-163.6
H <sub>14</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> -O <sub>15</sub>	179.7	180.0	179.9	171.9	115.5
H <sub>14</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub>	-0.2	0.0	-0.2	0.8	-14.7

Tabela 6 - Distâncias de ligação teóricas (fase gasosa) e experimentais (difração de raios-X) (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos diedros (°) para paracetamol.

	S <sub>0</sub>	S <sub>0</sub> <sup>188</sup>	Exp <sub>95</sub> <sup>1</sup>	( $\pi\pi^*$ L <sub>b</sub> ) <sub>min</sub>	( <sup>1</sup> ( $\pi\pi^*$ L <sub>a</sub> ) / <sup>1</sup> ( $\pi\pi^*$ L <sub>b</sub> )) <sub>SSCP</sub>	( <sup>1</sup> ( $\pi\pi^*$ L <sub>a</sub> ) / GS) <sub>SSCP</sub>
C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub>	1.397	1.395	1.392	1.444	1.467	1.423
C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub>	1.394	1.394	1.383	1.437	1.375	1.398
C <sub>6</sub> -C <sub>7</sub>	1.392	1.393	1.380	1.426	1.411	1.405
C <sub>7</sub> -C <sub>8</sub>	1.393	1.394	1.378	1.434	1.419	1.408
C <sub>8</sub> -C <sub>9</sub>	1.387	1.387	1.390	1.433	1.371	1.390
C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub>	1.400	1.402	1.383	1.436	1.456	1.428
C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub>	1.407	1.415	1.422	1.383	1.312	1.354
N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub>	1.370	1.375	1.341	1.406	1.507	2.114
C <sub>2</sub> -O <sub>15</sub>	1.224	1.219	1.223	1.225	1.270	1.207
C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub>	1.511	1.519	1.510	1.519	1.479	1.514
C <sub>7</sub> -O <sub>19</sub>	1.369	1.371	1.380	1.356	1.359	1.372
C <sub>1</sub> -C <sub>1</sub> -O <sub>17</sub>	121.7	121.4	122.7	123.5	128.8	126.9
C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub>	114.4	114.7	114.6	112.4	113.7	96.2
O <sub>17</sub> -C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub>	123.9	123.9	122.8	124.1	117.4	110.7
C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>20</sub>	113.8	114.2	113.0	110.8	114.2	110.4
C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>19</sub>	108.3	108.5	107.0	110.8	114.2	108.2
C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>18</sub>	108.3	108.5	110.0	108.4	107.1	109.4
H <sub>20</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>19</sub>	107.7	109.9	103.0	108.2	106.2	108.4
H <sub>20</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>18</sub>	109.2	109.0	107.0	109.3	107.4	111.5
H <sub>19</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>18</sub>	107.7	107.5	107.0	109.3	107.4	108.9
C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub>	128.5	129.1	129.8	130.5	130.9	122.2
C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> -H <sub>16</sub>	116.1	116.1	118.0	115.1	113.3	118.7
C <sub>4</sub> -N <sub>3</sub> -H <sub>16</sub>	115.3	144.8	112.0	114.4	115.7	110.9
N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub>	117.2	117.5	116.4	115.6	120.1	118.7
N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub>	123.6	123.6	123.7	122.2	123.4	122.3
C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub>	119.2	118.9	119.8	122.2	116.5	118.7
C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub>	121.1	121.2	120.4	119.7	120.6	121.0
C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -H <sub>10</sub>	119.7	119.8	123.0	119.7	119.1	118.1
C <sub>8</sub> -C <sub>9</sub> -H <sub>10</sub>	119.3	119.0	116.0	120.6	120.4	120.8
C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub>	119.7	119.8	119.6	118.0	121.7	119.5
C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -H <sub>11</sub>	121.0	120.9	123.0	122.6	120.2	121.5
C <sub>7</sub> -C <sub>8</sub> -H <sub>11</sub>	119.4	119.3	118.0	119.3	118.1	118.9
C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub>	119.5	119.4	120.2	122.6	119.2	120.1
C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -O <sub>12</sub>	117.3	117.5	121.0	115.7	117.3	116.2
C <sub>6</sub> -C <sub>7</sub> -O <sub>12</sub>	123.1	123.1	118.9	121.7	123.4	123.7
C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub>	121.1	121.0	118.9	121.7	120.9	120.9
C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -H <sub>14</sub>	119.9	120.0	120.7	119.9	120.0	119.3
C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>14</sub>	119.1	119.0	119.0	120.2	119.1	119.8
C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub>	119.5	119.8	120.0	117.6	121.1	119.5
C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>15</sub>	119.8	119.7	119.3	120.2	116.9	119.6
C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>15</sub>	120.7	120.5	119.0	122.2	122.0	120.7
C <sub>7</sub> -O <sub>12</sub> -H <sub>13</sub>	108.6	109.7	12.0	107.4	110.6	110.9

O <sub>17</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>20</sub>	179.2	-180.0	-119.9	-178.8	178.2
O <sub>17</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>19</sub>	57.4	58.2	119.9	58.8	59.8
O <sub>17</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>18</sub>	-59.1	-58.3	0.0	-60.0	-58.8
N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>20</sub>	-0.9	0.0	60.1	1.2	56.4
N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>19</sub>	-122.6	-121.7	-60.1	-121.2	-62.0
N <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>1</sub> -H <sub>18</sub>	120.8	121.8	180.0	120.0	179.4
C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub>	-179.8	179.9	180.0	179.9	157.3
C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> -H <sub>16</sub>	0.1	-0.0	0.0	-0.0	11.6
O <sub>17</sub> -C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub>	0.1	0.0	0.0	0.0	23.8
O <sub>17</sub> -C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> -H <sub>16</sub>	-179.9	180.0	-180.0	-179.9	-121.8
C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub>	179.9	-180.0	180.0	-179.9	-178.4
C <sub>2</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub>	-0.0	0.0	0.0	0.0	8.0
H <sub>16</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub>	-0.0	0.0	180.0	0.0	-30.4
H <sub>16</sub> -N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub>	179.9	180.0	180.0	-179.9	156.1
N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub>	180.0	-180.0	-180.0	-180.0	-169.5
N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -H <sub>10</sub>	-0.0	0.0	0.0	0.0	6.3
C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	4.3
C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -H <sub>10</sub>	180.0	180.0	-180.0	180.0	-179.9
N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub>	-180.0	180.0	180.0	179.9	172.7
N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>15</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	-11.8
C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>6</sub>	0.00	0.0	0.0	-0.0	-0.9
C <sub>9</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>15</sub>	180.0	-180.0	180.0	-180.0	174.7
C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	-4.9
C <sub>4</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -H <sub>11</sub>	180.0	-180.0	180.0	180.0	176.7
H <sub>10</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub>	-180.0	180.0	180.0	-180.0	179.4
H <sub>10</sub> -C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -H <sub>11</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9
C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	2.2
C <sub>9</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -O <sub>12</sub>	-180.0	180.0	180.0	180.0	-177.4
H <sub>11</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub>	-180.0	180.0	-180.0	-180.0	-179.4
H <sub>11</sub> -C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -O <sub>12</sub>	0.0	0.0	-0.0	0.0	1.0
C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub>	0.0	0.0	-0.0	-0.0	1.2
C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -H <sub>14</sub>	-180.0	180.0	180.0	-180.0	-178.9
O <sub>12</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub>	180.0	180.0	-180.0	180.0	-179.2
O <sub>12</sub> -C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -H <sub>14</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7
C <sub>8</sub> -C <sub>7</sub> -O <sub>12</sub> -H <sub>13</sub>	-180.0	180.0	-180.0	-179.9	-178.9
C <sub>6</sub> -C <sub>7</sub> -O <sub>12</sub> -H <sub>13</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5
C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	-1.8
C <sub>7</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>15</sub>	-180.0	180.0	-180.0	-180.0	-177.3
H <sub>14</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -C <sub>4</sub>	-180.0	180.0	180.0	-180.0	178.3
H <sub>14</sub> -C <sub>6</sub> -C <sub>5</sub> -H <sub>15</sub>	0.0	0.0	0.0	-0.0	2.8

## 7.1 Análise das Simulações Clássicas

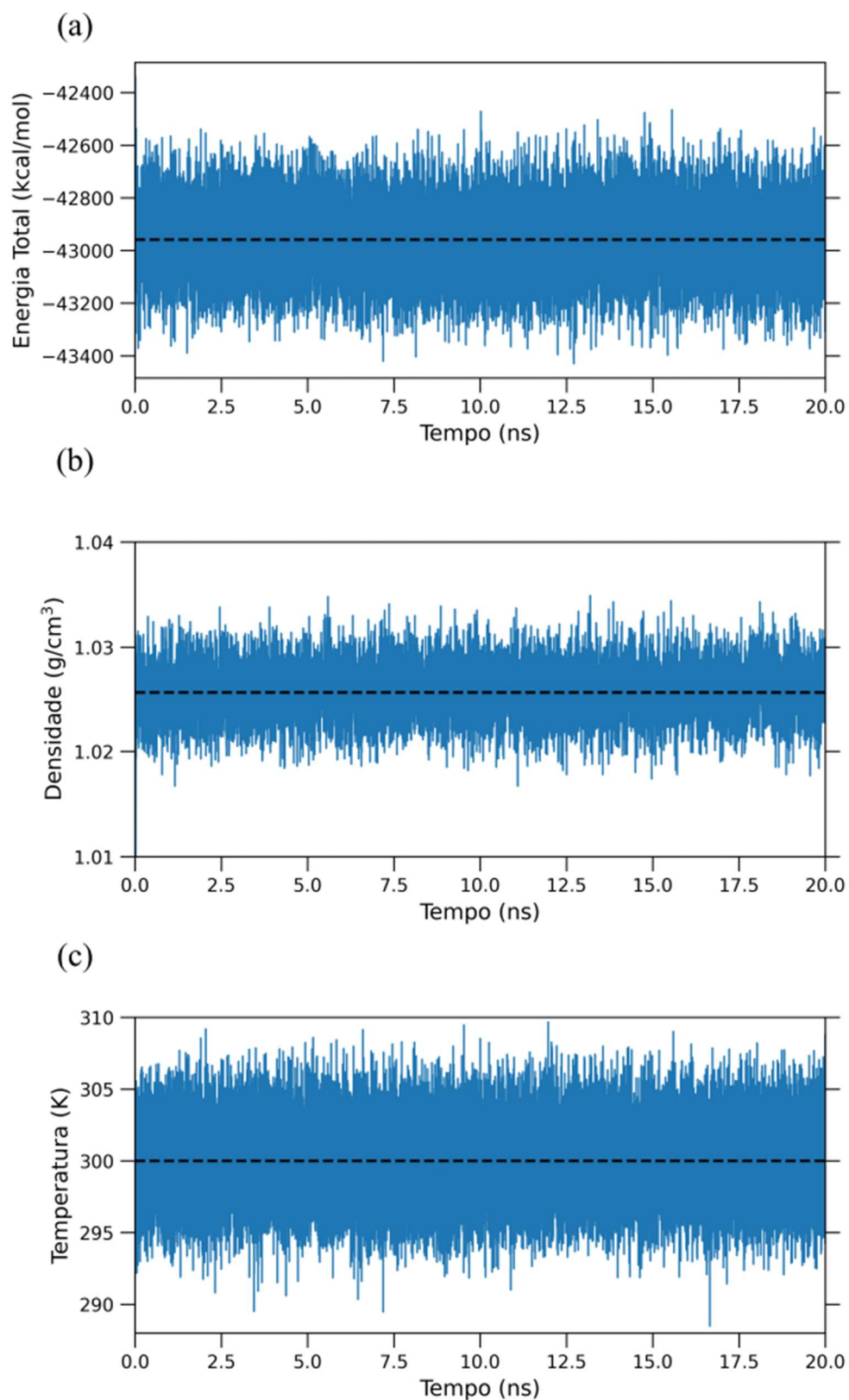


Figura 22 – Análise da simulação clássica (etapa de produção) para o  ${}^{12}\text{A}$  em ambiente de DNA, sendo (a) análise da flutuação da energia total, (b) análise da densidade e (c) análise da flutuação da temperatura. Sendo a linha pontilhada a representação dos valores médios das análises.

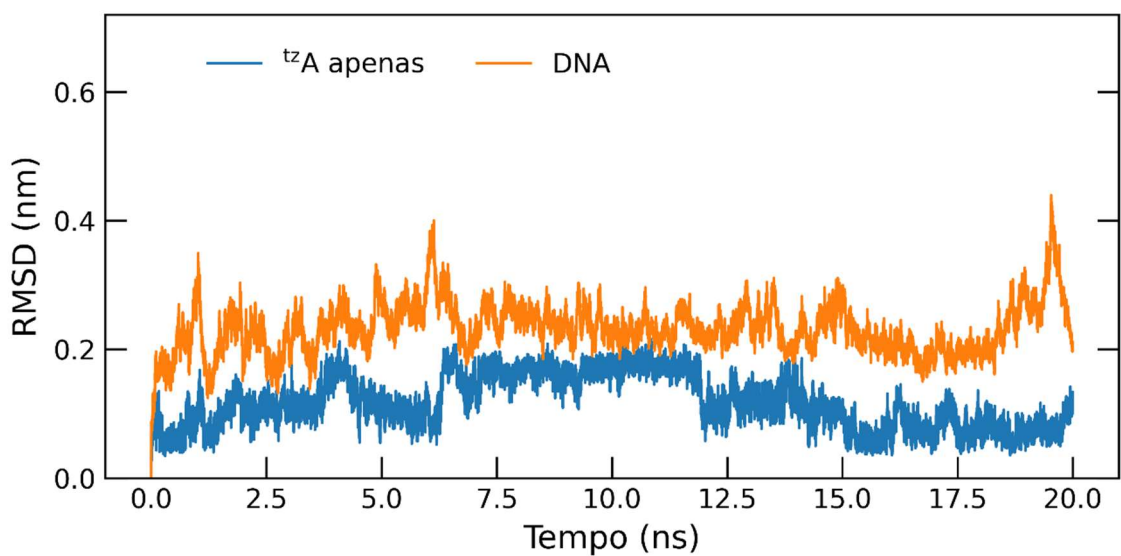


Figura 23 - Análise da simulação clássica (etapa de produção) para o  ${}^{\text{t}}\text{ZA}$  em ambiente de DNA, sendo a linha laranja o RMSD do DNA e a linha azul o RMSD somente da molécula do  ${}^{\text{t}}\text{ZA}$ .

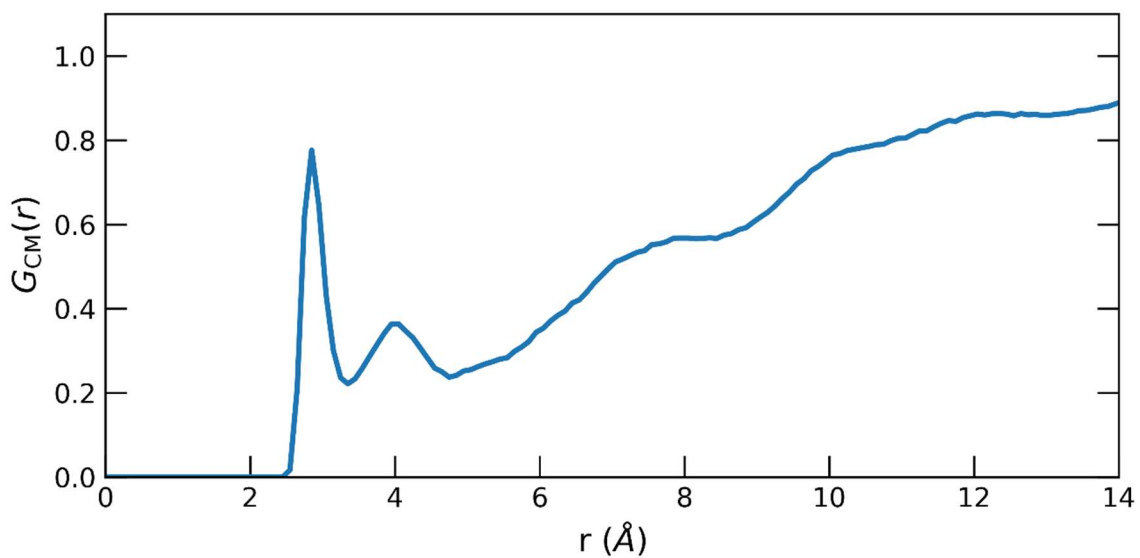


Figura 24 - Análise da distribuição radial ( $g(r)$ ) da simulação clássicas (etapa de produção) para o centro de massa do  ${}^{\text{t}}\text{ZA}$  em ambiente de DNA em relação às águas do sistema.

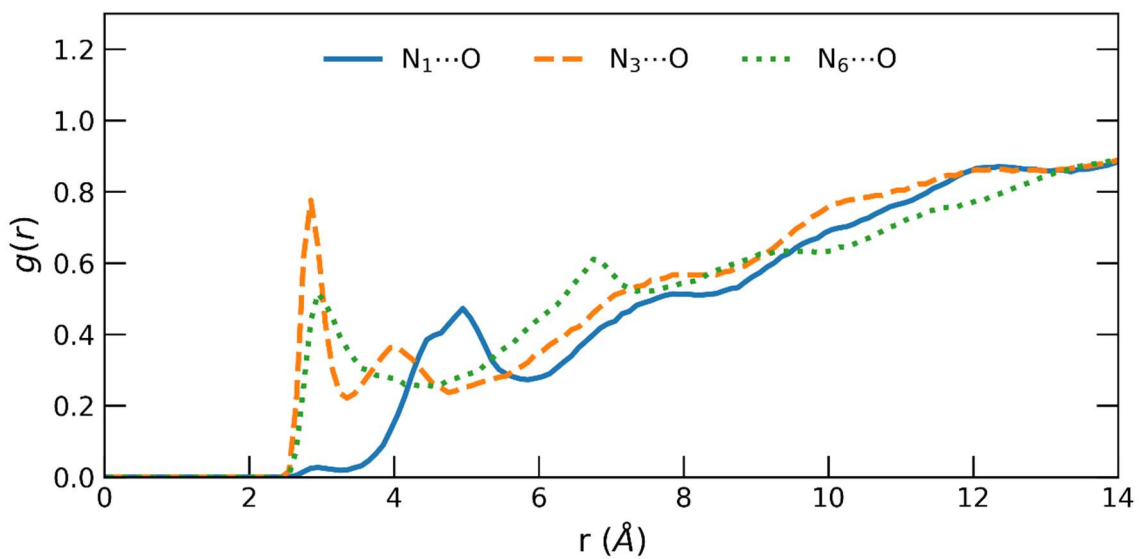


Figura 25 - Análise da distribuição radial ( $g(r)$ ) da simulação clássica (etapa de produção) para o  $^{15}\text{N}$  em ambiente de DNA, sendo a linha azul a  $g(r)$  em relação ao  $N_1\text{-O}$ , a linha laranja  $N_3\text{-O}$  e a linha verde  $N_6\text{-O}$ .

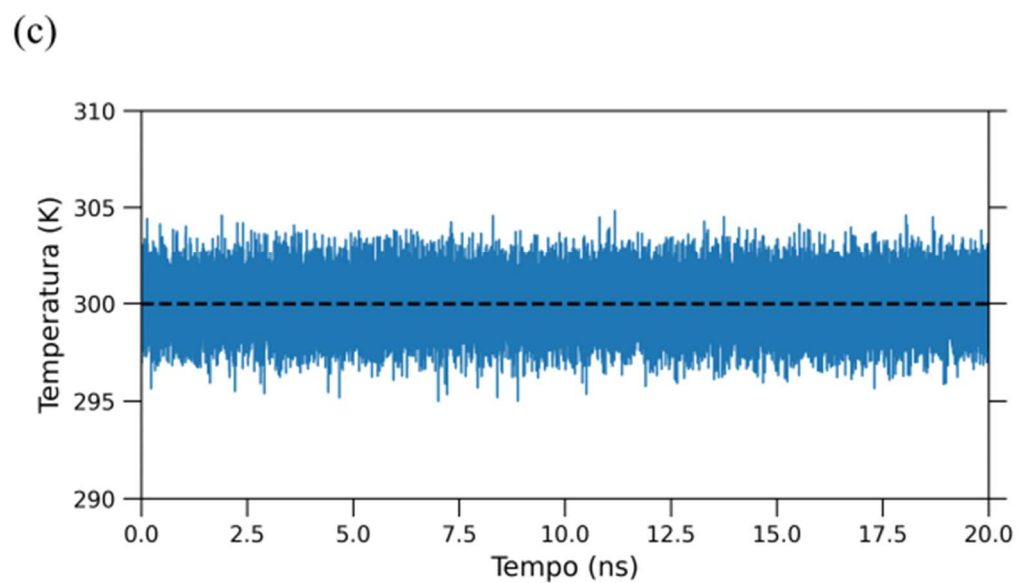
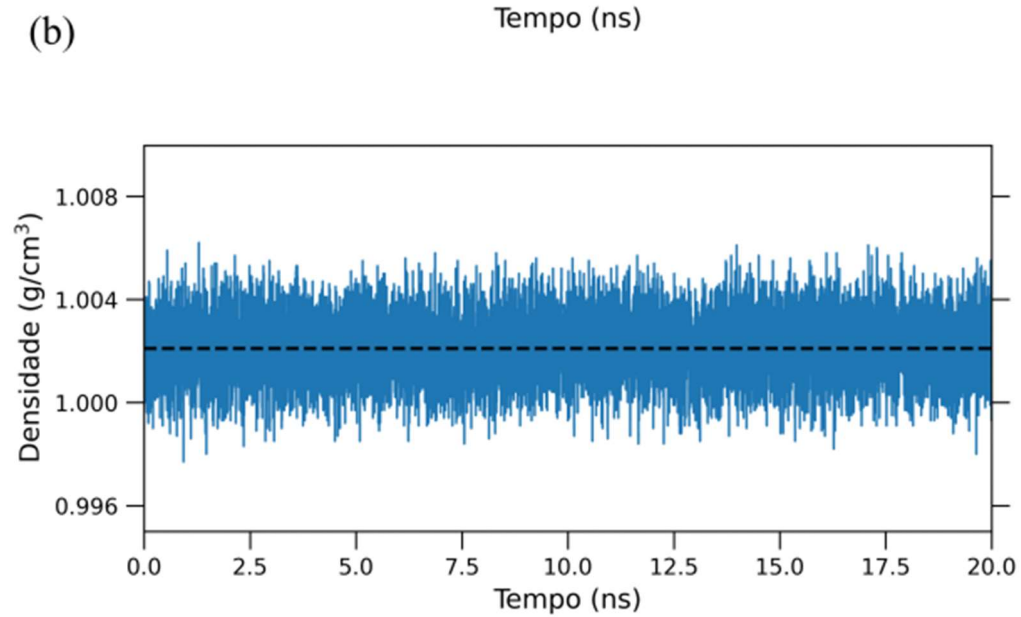
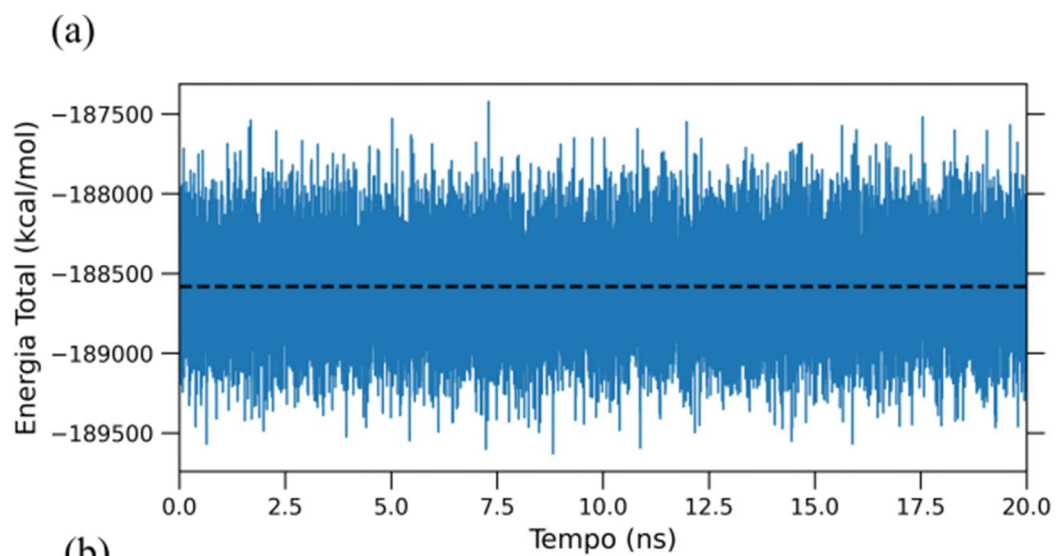




Figura 26 - Análise da simulação clássica (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>A em ambiente de RNA, sendo (a) análise da flutuação da energia total, (b) análise da densidade e (c) análise da flutuação da temperatura. Sendo a linha pontilhada a representação dos valores médios das análises.

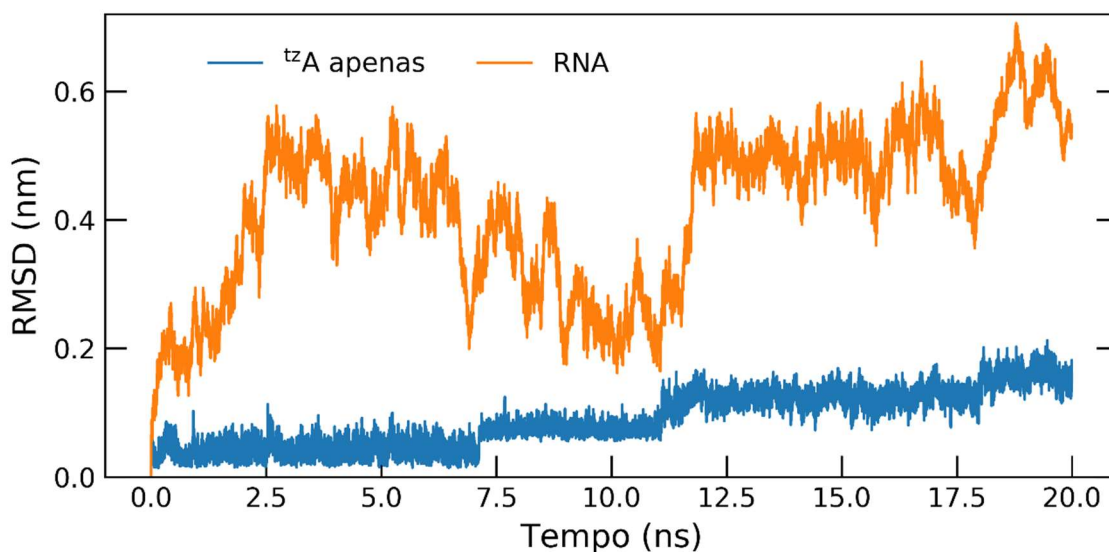


Figura 27 - Análise da simulação clássica (etapa de produção) para o <sup>tz</sup>A em ambiente de RNA, sendo a linha laranja o RMSD do RNA e a linha azul o RMDS somente da molécula do <sup>tz</sup>A.

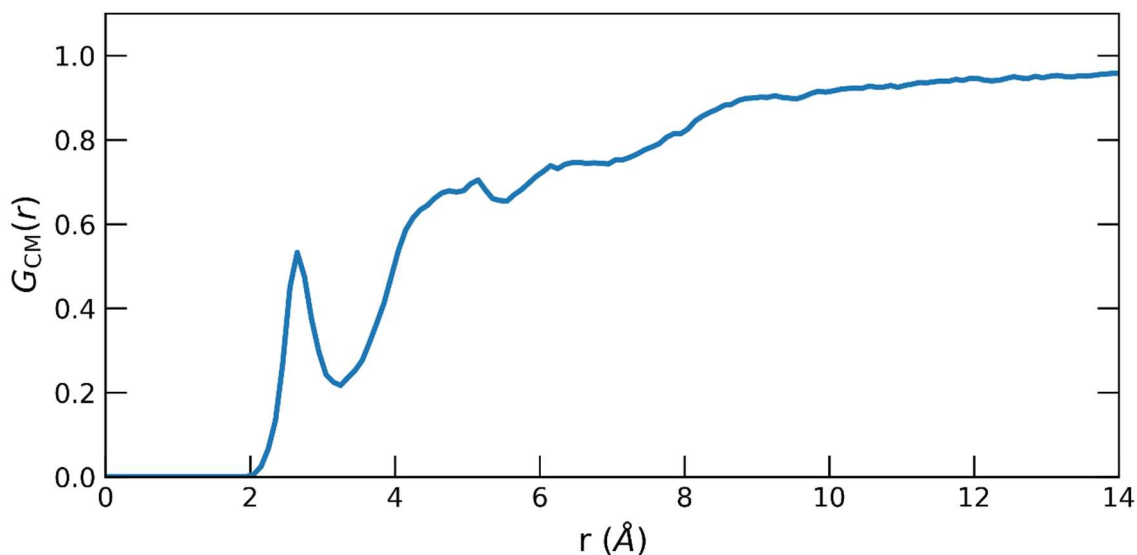


Figura 28 - Análise da distribuição radial ( $g(r)$ ) da simulação clássicas (etapa de produção) para o centro de massa do <sup>tz</sup>A em ambiente de RNA em relação as águas do sistema.

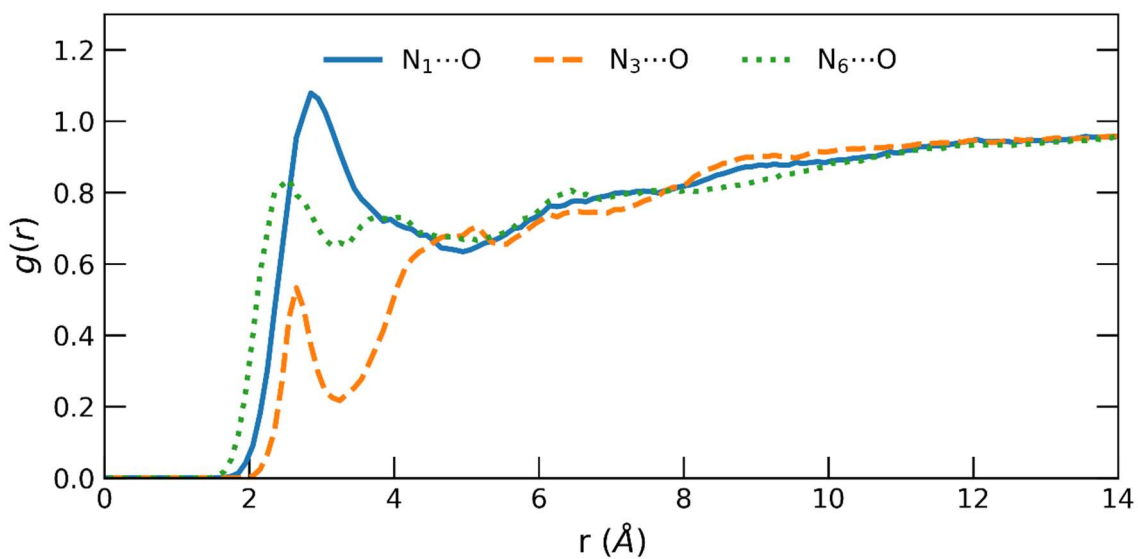


Figura 29- Análise da distribuição radial ( $g(r)$ ) da simulação clássica (etapa de produção) para o do <sup>15</sup>N em ambiente de RNA, sendo a linha azul a  $g(r)$  em relação ao N<sub>1</sub>-O, a linha laranja N<sub>3</sub>-O e a linha verde N<sub>6</sub>-O.

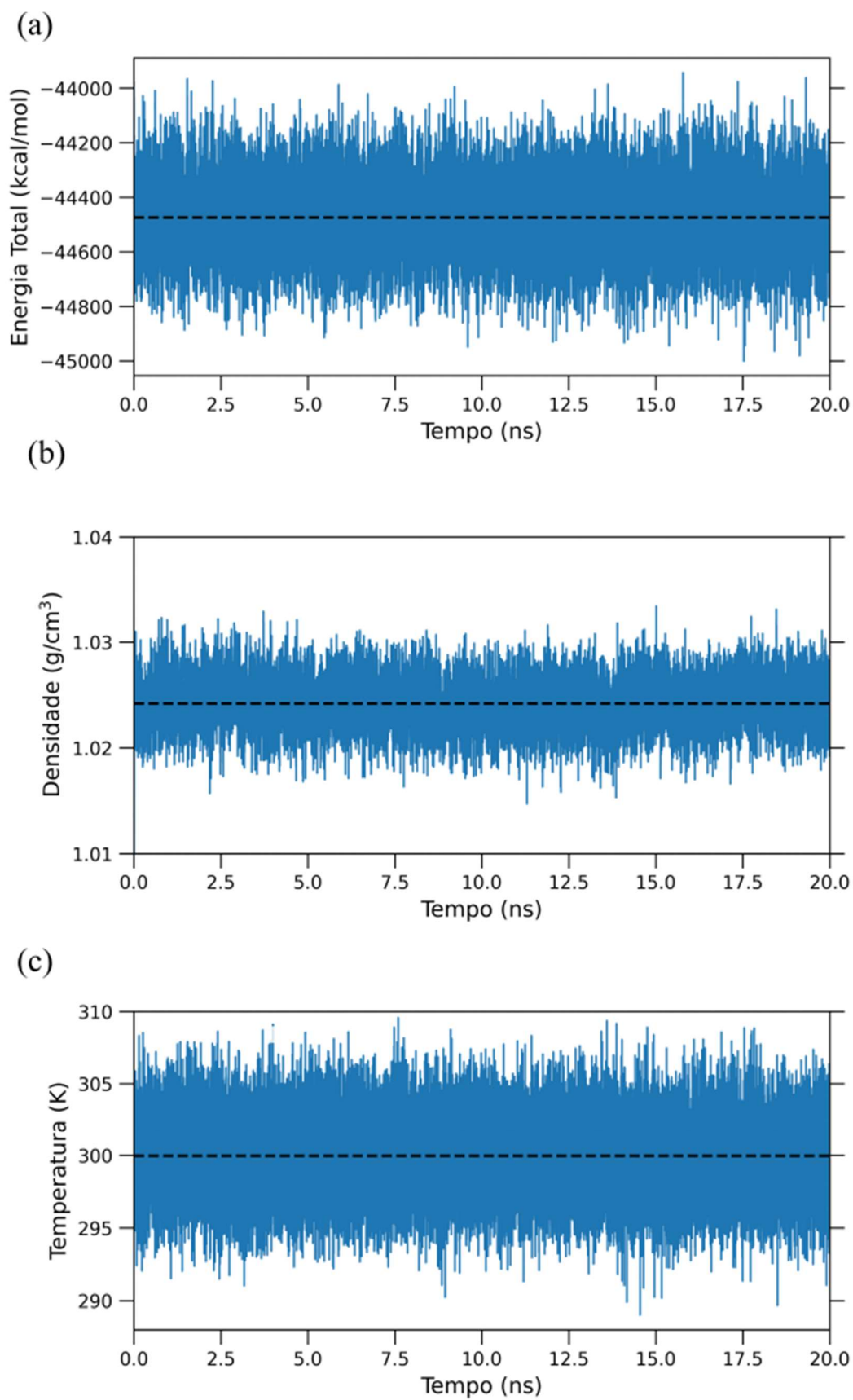


Figura 30 - Análise da simulação clássica (etapa de produção) para o  $^{12}\text{G}$  em ambiente de DNA, sendo (a) análise da flutuação da energia total, (b) análise da densidade e (c) análise da flutuação da temperatura. Sendo a linha pontilhada a representação dos valores médios das análises.

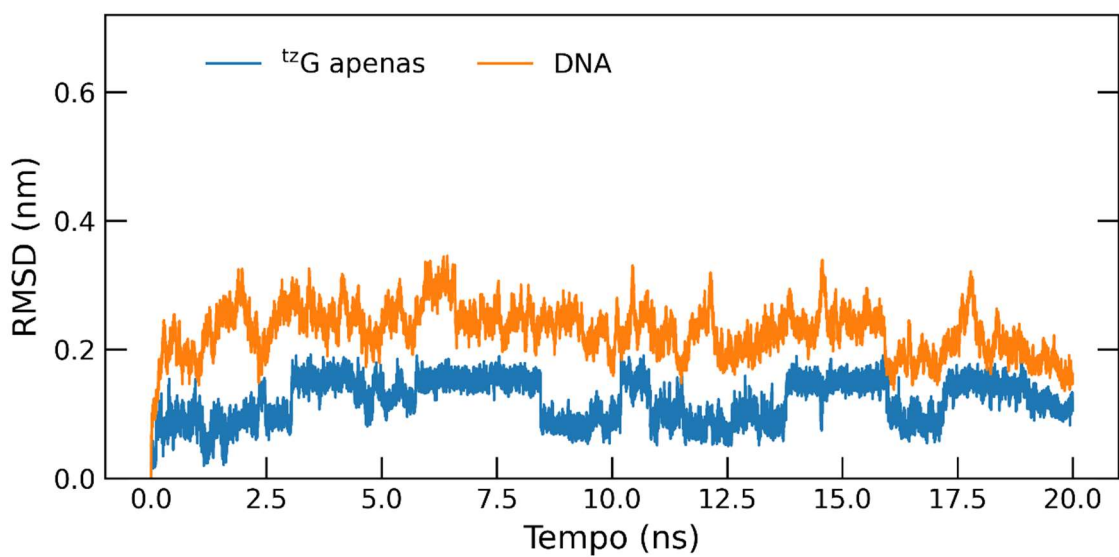


Figura 31 - Análise da simulação clássica (etapa de produção) para o t<sup>2</sup>G em ambiente de DNA, sendo a linha laranja o RMSD do DNA e a linha azul o RMDS somente da molécula do t<sup>2</sup>G.

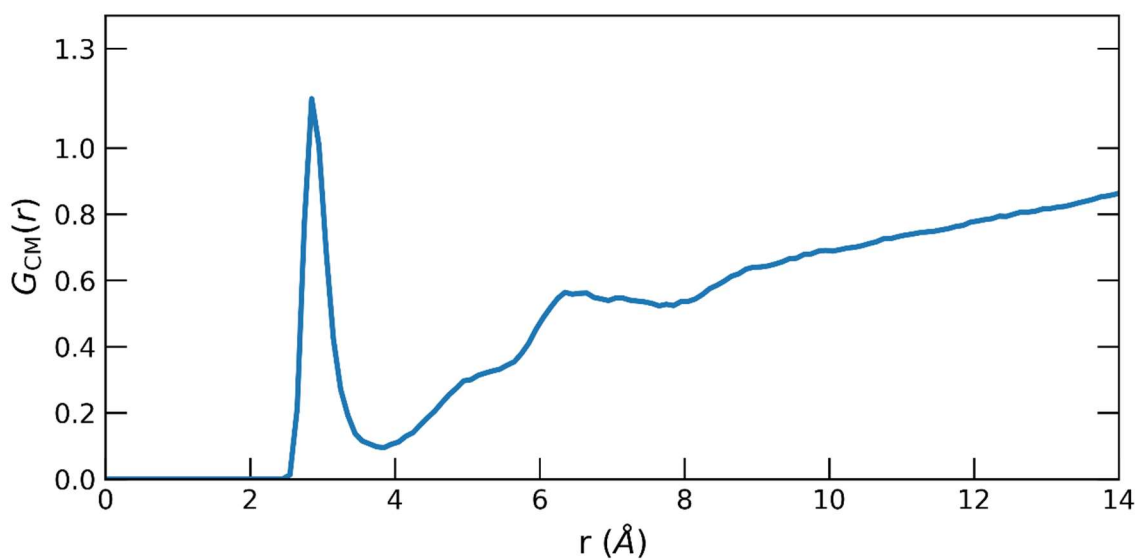


Figura 32 - Análise da distribuição radial ( $g(r)$ ) da simulação clássicas (etapa de produção) para o centro de massa do t<sup>2</sup>G em ambiente de DNA em relação às águas do sistema.

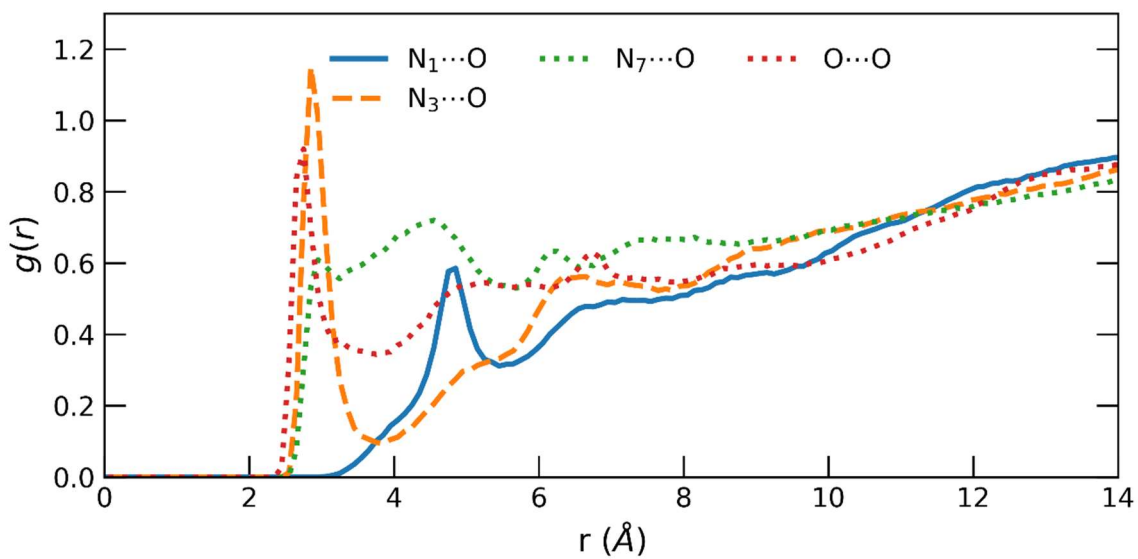
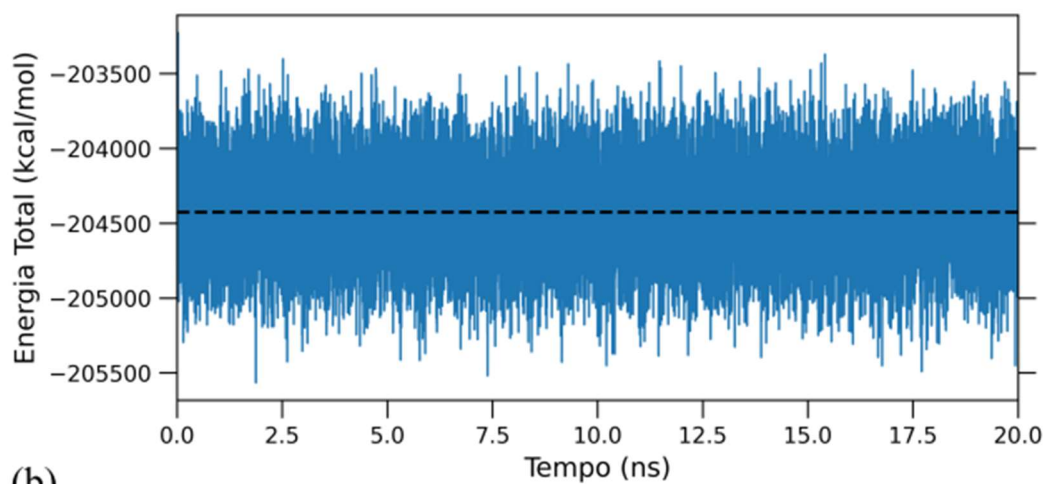
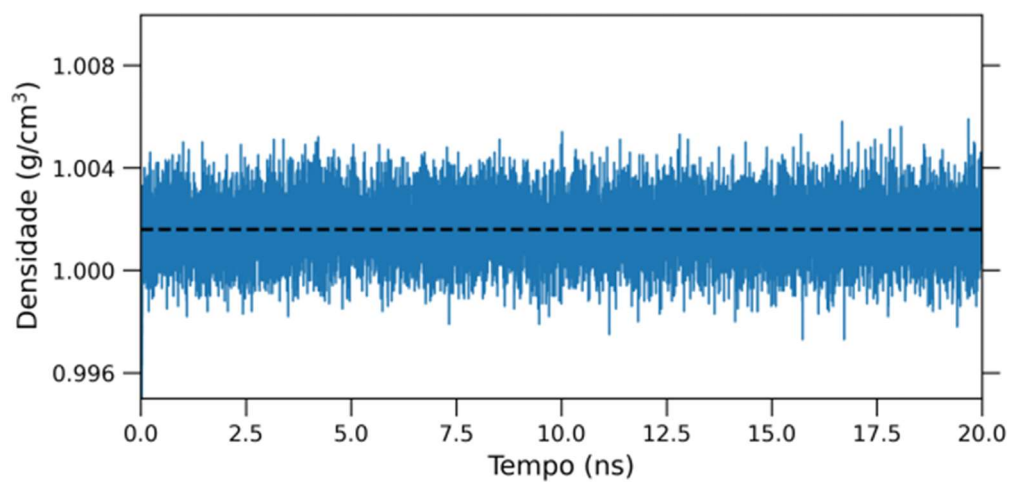


Figura 33 - Análise da distribuição radial ( $g(r)$ ) da simulação clássica (etapa de produção) para o do  $^{15}\text{G}$  em ambiente de DNA, sendo a linha azul a  $g(r)$  em relação ao  $\text{N}_1\text{-O}$ , a linha laranja  $\text{N}_3\text{-O}$ , linha verde  $\text{N}_7\text{-O}$  e a linha vermelha o átomo de  $\text{O}$  em relação ao átomo de  $\text{O}$  do solvente.

(a)



(b)



(c)

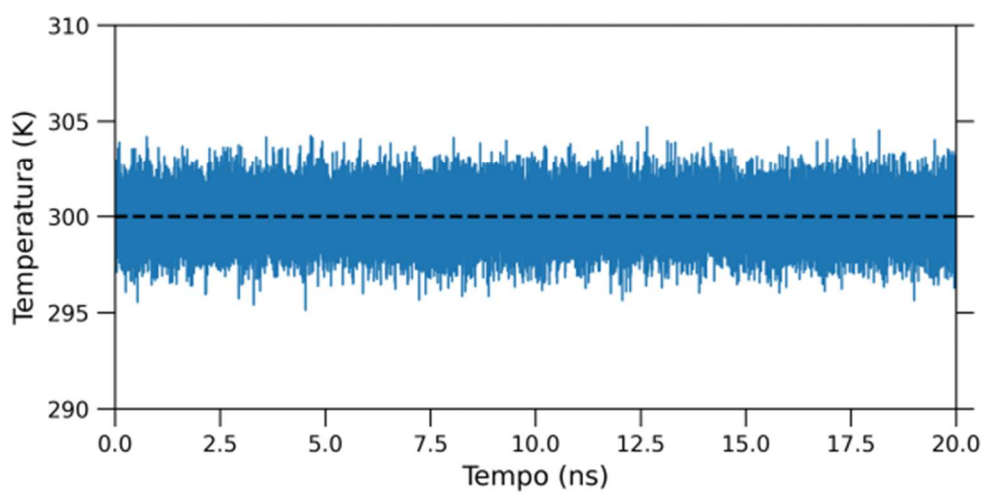


Figura 34 - Análise da simulação clássica (etapa de produção) para o  ${}^{\text{tz}}\text{G}$  em ambiente de RNA, sendo (a) análise da flutuação da energia total, (b) análise da densidade e (c) análise da flutuação da temperatura. Sendo a linha pontilhada a representação dos valores médios das análises.

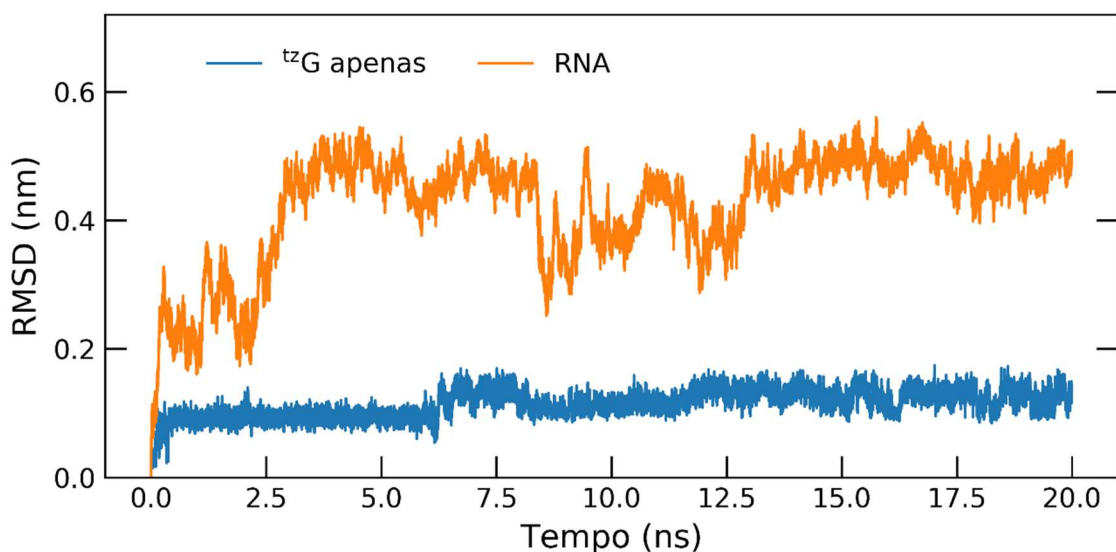


Figura 35 - Análise da simulação clássica (etapa de produção) para o  ${}^{\text{tz}}\text{G}$  em ambiente de RNA, sendo a linha laranja o RMSD do DNA e a linha azul o RMDS somente da molécula do  ${}^{\text{tz}}\text{G}$ .

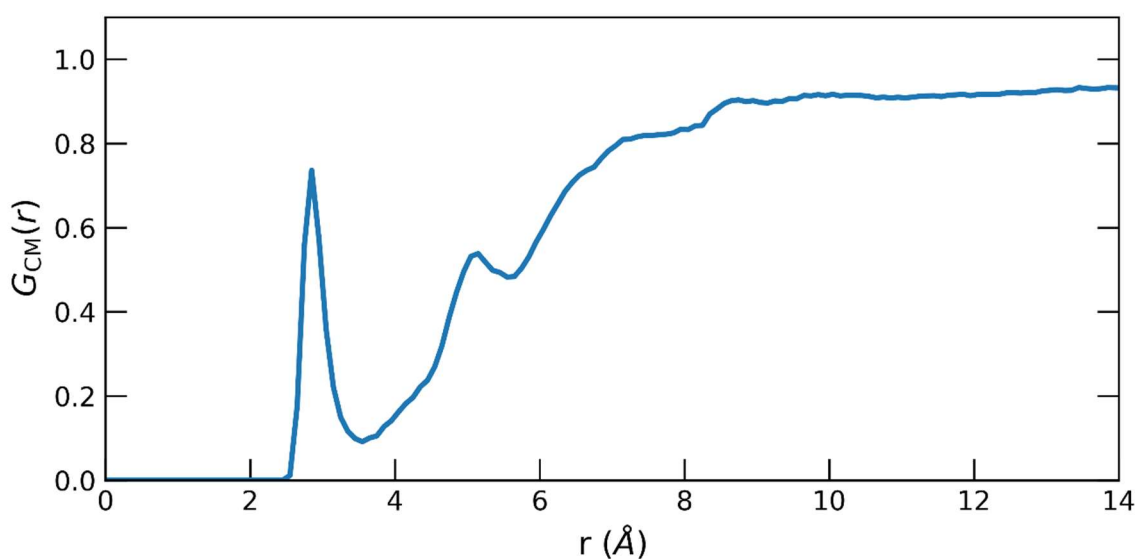


Figura 36 - Análise da distribuição radial ( $g(r)$ ) da simulação clássicas (etapa de produção) para o centro de massa do  ${}^{\text{tz}}\text{G}$  em ambiente de RNA em relação às águas do sistema.

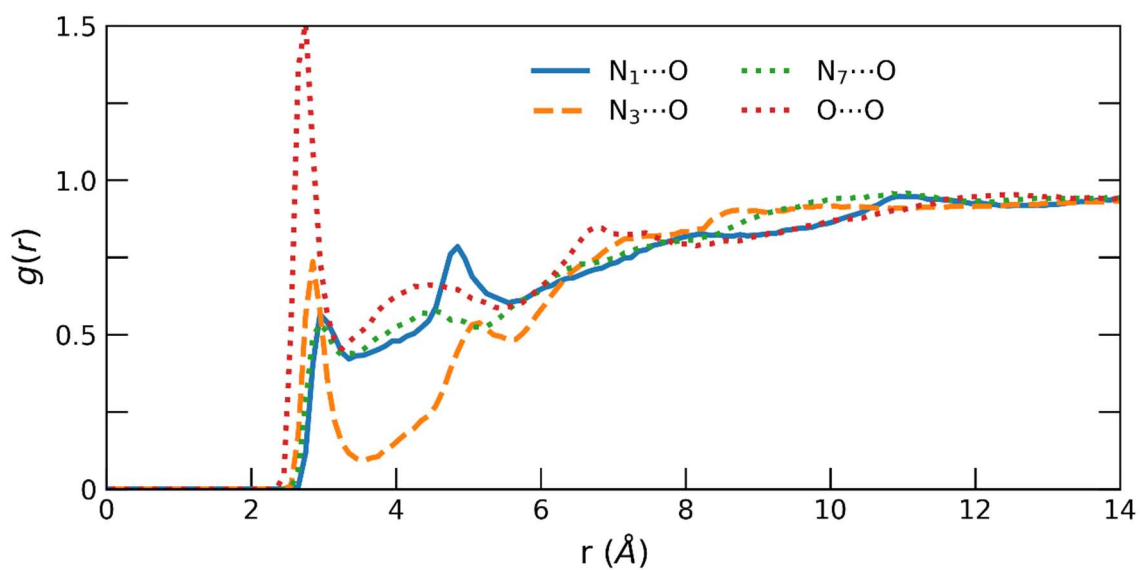


Figura 37 - Análise da distribuição radial ( $g(r)$ ) da simulação clássica (etapa de produção) para o do <sup>12</sup>G em ambiente de RNA, sendo a linha azul a  $g(r)$  em relação ao N<sub>1</sub>-O, a linha laranja N<sub>3</sub>-O, linha verde N<sub>7</sub>-O e a linha vermelha o átomo de O em relação ao átomo de O do solvente.