

Planejamento fatorial para a investigação das propriedades espectroscópicas, efeitos relativísticos e de solvatação de derivados halogenados da 2-amino-1,4-naftoquinona

Eduardo P. Rocha (PG)^a, Lívia C. T. Lacerda (PG)^a, Mateus A. Gonçalves (PG)^a, Maíra S. Pires (PG)^a, Telles C. Silva (PG)^a, Henrique A. Rodrigues (IC)^a, Teodorico C. Ramalho (PQ)^a

^aDepartamento de Química, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil.

eduardo.rocha@ifsudestemg.edu.br; teo@dqi.ufla.br

Palavra-Chave: Planejamento Fatorial, TD-DFT, Naphthoquinone, Derivados Halogenados, COSMO.

1. Introdução

Nos últimos anos, o interesse por processos fotoquímicos e fotofísicos tem aumentado.¹ Muitos desses processos apresentam aplicações industriais, como a fotocatalise, ou aplicações biomédicas, como as sondas fluorescentes para o diagnóstico de imagem.² Muitos compostos apresentam características fluorescentes, dentre esses compostos, encontram-se os derivados de naftoquinonas.³ Esses compostos, de origem natural, apresentam diversas aplicações biológicas, como antitumorais, antifúngica, antimalárica, entre outras.⁴ Derivados de naftoquinonas já foram testados por grupos de pesquisa³ como sondas fluorescentes em alguns tipos de câncer, como o câncer de cólon e de boca.^{3,5} Estudos das propriedades desses derivados apresentam, dessa forma, grande importância, uma vez que alterações estruturais podem fornecer sondas fluorescentes mais eficientes, seletivas e com um maior precisão.¹

Modificações estruturais, como adição de halogênios em determinadas posições da molécula pode promover alterações das propriedades espectroscópicas, o que possibilita a geração de novas regiões de absorção e emissões.⁶ Estudos de derivados halogenados de naftoquinonas passam por estudos com o uso da espectroscopia de fluorescência⁷, Raman⁸, UV-VIS⁹, entre outras análises para a avaliação dos padrões de emissão e absorção desses compostos, bem como, por estudos teóricos, que envolvem a análise das energias de absorção, de emissão, a análise da diferença entre os orbitais homo-lumo, entre outras características.⁷ Recentes estudos teóricos envolvem, também, a análise dos diferentes mecanismos de emissão de fluorescência apresentado por esses compostos.^{1,10}

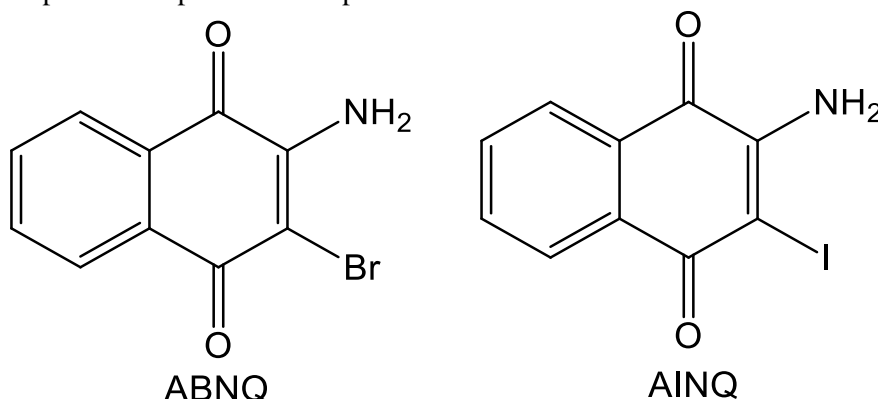


Figura 1 – Estrutura química dos compostos halogenados da 3-amino-1,4-naftoquinona.

Dentre os estudos teóricos existem diferentes métodos que permitem a análise de processos de absorção e emissão, como os métodos Multi-Referenciais CASSCF, CASPT2, entre outros⁹. Nos últimos anos, o emprego da teoria do funcional de Densidade (DFT) tem se tornado importante por permitir a análise de diferentes sistemas químicos com tamanhos diferenciados, como para a análise de complexos metálicos e sistemas biológicos.¹¹ Dentro da DFT, a análise de propriedades de absorção e emissão é realizada com o emprego da Teoria do Funcional de Densidade dependente do tempo (TD-DFT), que permite a análise das transições

verticais de compostos diversos, bem como a análise da diferença entre os orbitais homo-lumo e pode ser aplicada aos estudos dos mecanismos de fluorescência de inúmeras moléculas.¹²

Dentre os diversos aspectos relacionados ao processo de emissão e absorção, os efeitos relativísticos têm sido considerados importantes para o estudo de átomos com alta massa molecular, como o Bromo e o Iodo.¹³ Esses efeitos têm sido amplamente estudados para átomos como o ouro¹³, podendo ser negligenciados em compostos orgânicos que envolvam apenas átomos com baixa massa molecular. Entretanto, efeitos relativísticos, como o acoplamento spin-órbita, que está relacionado ao desdobramento dos níveis de energia de átomos pesados, podem influenciar significativamente propriedades eletrônicas de compostos químicos.¹⁴

Desde o enunciado da Equação de Dirac para resolução dos efeitos relativísticos, diferentes métodos têm sido desenvolvidos, como o método de Douglas-Kroll-Hess, que transforma o hamiltoniano de quatro componentes para duas componentes apenas.¹⁵⁻¹⁷ Ou o método da Aproximação Regular de Ordem Zero (ZORA), que emprega o método de Pauli para a resolução da equação de Dirac para compostos químicos.^{18,19} Esses métodos modificam o hamiltoniano da equação de Schrödinger e promovem o cálculo de propriedades relativísticas para sistemas químicos que apresentam grande aplicação a estudos de propriedades espectroscópicas de complexos metálicos e estruturas químicas que envolvam átomos de alto peso molecular.^{20,21}

Desta forma, para compostos com átomos pesados, a incorporação de efeitos relativísticos é essencial para o cálculo acurado de propriedades espectroscópicas. Todavia, a escolha de qual o melhor método relativístico a ser aplicado normalmente requer a avaliação de vários fatores. Dentre esses fatores, encontra-se, por exemplo, a utilização ou não do acoplamento spin-órbita e o emprego de funções de base relativísticas. Neste contexto, o planejamento experimental empregando a metodologia de planejamento fatorial pode auxiliar na escolha das melhores condições para o estudo.²² O planejamento fatorial é uma abordagem estatística que envolve a construção de uma combinação de fatores, escolhidos dentre os parâmetros que se deseja estudar, para a investigação da significância desses fatores sobre o estudo.²³ Existem diferentes formas de construir o planejamento fatorial (2^K , 3^K , ...), e com isso diferentes formas de modelar o sistema na busca pela interpretação correta dos resultados.²⁴

O presente estudo visa a aplicação da metodologia de planejamento fatorial do tipo 3^K para avaliação de métodos relativísticos sobre o processo de absorção de compostos halogenados de 2-amino-1,4-naftoquinona visando avaliar as melhores condições e os fatores significativos para o estudo da propriedade espectroscópica dos derivados halogenados.

2. Metodologia

O trabalho foi desenvolvido aplicando o método TD-DFT/B3LYP²⁵ para o cálculo das propriedades espectroscópicas dos compostos 2-amino-3-Bromo-1,4-Naftoquinona (ABNQ)²⁶ e 2-amino-3-Iodo-1,4-Naftoquinona (AINQ), conforme estruturas químicas apresentadas na Figura 1. Os 8 primeiros estados excitados foram avaliados com o programa ORCA²⁷ empregando o método COSMO^{7,19} para simular o efeito do solvente metanol,²⁶ o qual foi empregado como solvente nos estudos experimentais para o composto ABNQ. O método de Tamm-Dancoff (TDA)²⁸ foi empregado para simular o efeito de relaxação do solvente no estado excitado dentro do método TD-DFT.

O planejamento fatorial foi executado dentro do programa Statistica®, empregando metodologia tipo 3^K , conforme descrito na Tabela 1. Os parâmetros do planejamento fatorial foram a presença do acoplamento spin-órbita (sem o acoplamento, o acoplamento spin-órbita apenas utilizando a carga nuclear efetiva (SO (1)) e o acoplamento spin-órbita com aproximação de campo e potencial efetivo (SO (3))), a função de onda (TVZ, TVZ_ZORA e TVZ_DKH)²⁷ implementada no programa ORCA para avaliação das funções de onda relativísticas e o hamiltoniano (não relativístico, ZORA e DKH2).²⁹

3. Resultado e Discussão

O planejamento Fatorial do tipo 3^k para o composto 2-amino-3-Bromo-1,4-Naftoquinona (ABNQ) seguiu os parâmetros estipulados na Tabela 1. Nesse planejamento, avaliou-se no parâmetro A o efeito do acoplamento spin-órbita, no parâmetro B a função de base e no parâmetro C o método relativístico. Os níveis de cada parâmetro foram estipulados desde o método sem efeitos relativísticos (sem o acoplamento spin-orbita, função de base não relativística e o hamiltoniano não relativístico), passando pelo nível médio (adição do efeito spin-órbita, função de base com implementação ZORA, e método ZORA), até o nível alto (adição do efeito spin-órbita, função de base com implementação DKH e método DKH2). Avaliou-se, também, a interação dos fatores entre si. Como resposta, os valores de absorção empregando o método TD-DFT e o modelo COSMO, para simular o efeito do solvente metanol, foram calculados. O valor experimental²⁶ foi comparado aos 27 ensaios calculados e representados na Tabela 1.

Tabela 1 – Planejamento Fatorial do tipo 3^3 com os níveis e fatores avaliados no planejamento.

Nível	-1	0	+1	
(A) Acoplamento Spin-Órbita	Sem	SO (1)	SO (3)	
(B) Função de base	TVZ	TVZ_ZORA	TVZ_DKH	
(C) Método Relativístico	Não-Rel.	ZORA	DKH2	
A	B	C	R (Metanol) ABNQ	R(Metanol) AINQ
-1	-1	-1	458,7 (+ 6,7)*	461
-1	-1	0	457,2 (+5,2)	460,8
-1	-1	1	457,7 (+5,7)	462,9
-1	0	-1	457,1 (+5,1)	463,2
-1	0	0	458,4 (+6,4)	460,8
-1	0	1	454,2 (+2,2)	460,6
-1	1	-1	459,4 (+7,4)	463,4
-1	1	0	459,4 (+7,4)	461
-1	1	1	452,7 (+0,7)	460,6
0	-1	-1	458,7 (+6,7)	461
0	-1	0	457,2 (+5,2)	460,8
0	-1	1	457,7 (+5,7)	462,9
0	0	-1	457,1 (+5,1)	463,2
0	0	0	458,4 (+6,4)	460,8
0	0	1	454,2 (+2,2)	460,6
0	1	-1	459,4 (+7,4)	463,4
0	1	0	459,4 (+7,4)	461
0	1	1	452,7 (+0,7)	460,6
1	-1	-1	458,7 (+6,7)	461
1	-1	0	457,2 (+5,2)	460,8
1	-1	1	457,7 (+5,7)	462,9
1	0	-1	457,1 (+5,1)	463,2
1	0	0	458,4 (+6,4)	460,8
1	0	1	454,2 (+2,2)	460,6
1	1	-1	459,4 (+7,4)	463,4
1	1	0	459,4 (+7,4)	461
1	1	1	452,7 (+0,7)	460,6

* Valores em parênteses são referentes ao erro comparado ao valor experimental de 452 nm.²⁶

O modelo quadrático empregado para a análise do planejamento fatorial possui a forma descrita na equação 1. O planejamento fatorial deste estudo busca encontrar os melhores fatores em relação aos parâmetros que gerem os menores erros, buscando uma minimização dos resultados. Pode-se notar que os fatores que se mostraram significativos foram com relação ao

fator C, ou seja, ao método relativístico adotado. E a interação entre a função de base e o método relativístico também se mostraram importantes para o composto avaliado.

A análise da equação 1, que representa o modelo quadrático para o fatorial 3^k , mostrou que o fator A não é significativo para a construção das respostas, ou seja, a adição do acoplamento spin-órbita para o composto ABNQ. O fator B, apesar de estar dentro do modelo, também não foi significativo para o estudo. Dessa forma, as funções de base estudada, com a adição dos efeitos relativísticos, não produziram efeitos sobre a resposta. O parâmetro C foi significativo para o estudo, destacando um valor de -3,53% para a análise linear, o que indica que ao passar do nível baixo (-1) para o nível médio ou alto (0, +1) a resposta diminui em 3,53%.

Tabela 2 - Estimativa dos efeitos para o modelo quadrático do planejamento fatorial 3^3 para o composto ABNQ baseado nos valores de Erro.

Fator	Efeito	Erro padrão	t(17)	p	-95% Limite de confiança	+95% Limite de Confiança
<i>Média</i>	5,20	0,22	23,16	0,00	4,72	5,67
A	0,00	0,54	0,00	1,00	-1,16	1,16
A ²	0,00	0,47	0,00	1,00	-1,00	1,00
B	-0,70	0,54	-1,27	0,22	-1,86	0,46
B ²	-0,95	0,47	-1,99	0,06	-1,95	0,05
C	-3,53	0,54	-6,42	0,00	-4,69	-2,37
C²	+1,7	0,47	3,56	0,00	0,69	2,70
A*B	0,00	0,67	0,00	1,00	-1,42	1,42
A*C	0,00	0,67	0,00	1,00	-1,42	1,42
B*C	-2,85	0,67	-4,23	0,00	-4,27	-1,42

De acordo com o modelo, a variação do hamiltoniano sem efeito relativístico para o método de Douglas-Kroll-Hess de segunda ordem (DKH2) diminuiu o erro estimado para a resposta. Isso significa que o método DKH2 se mostra mais acurado para o estudo dos valores de absorção e do comprimento de onda para a molécula ABNQ. A estimativa do efeito mostrou um valor de -2,85% para a interação entre a função de base e o método relativístico, demonstrando que a resposta diminui quando passa do nível baixo para o médio ou alto em 2,85%. Novamente, a união dos métodos sem os efeitos relativísticos gerou os maiores erros, indicando que a associação do método DKH2 com a função de base TZV_DKH é mais acurada no estudo do comprimento de onda e dos valores de absorção para a molécula ABNQ. Todos os valores calculados para a estimativa dos efeitos estão detalhados na Tabela 2 e na Tabela 3 apresenta-se a ANOVA do planejamento fatorial.

Tabela 3 – ANOVA para os planejamentos fatoriais dos compostos ABNQ e AINQ.

Composto		ABNQ					AINQ				
Fator	SS	df	MS	F	p	Fator	SS	df	MS	F	P
A	0,00	1	0,00	0,00	1,00	A	0,00	1	0,00	0,00	1,00
A ²	0,00	1	0,00	0,00	1,00	A ²	0,00	1	0,00	0,00	1,00
B	2,20	1	2,20	1,62	0,22	B	0,04	1	0,04	0,16	0,68
B ²	5,41	1	5,41	3,97	0,06	B ²	0,04	1	0,04	0,15	0,70
C	56,18	1	56,18	41,28	0,00	C	6,12	1	6,12	22,41	0,00
C²	17,34	1	17,34	12,74	0,00	C²	7,04	1	7,04	25,76	0,00
A*B	0,00	1	0,00	0,00	1,00	A*B	0,00	1	0,00	0,00	1,00
A*C	0,00	1	0,00	0,00	1,00	A*C	0,00	1	0,00	0,00	1,00
B*C	24,36	1	24,36	17,90	0,00	B*C	16,56	1	16,56	60,62	0,00
Erro	23,13	17	1,36			Erro	4,64	17	0,27		
Total SS	128,64	26				Total SS	34,46	26			

A análise fatorial empregando os valores calculados de comprimento de onda (equação 2) ou o erro gerado ao se comparar com o valor experimental (equação 1) produzem equações quadráticas semelhantes. Isto demonstra que nas duas ocasiões, o modelo se aplica, porém, ao se comparar ao valor experimental pode-se decidir melhor como interpretar cada modelo de

acordo com o objetivo do estudo, que é de minimizar o erro em relação ao valor de comprimento de onda calculado.

$$Y = 5,20 - 0,70B - 0,95B^2 - 3,53C + 1,70C^2 - 2,85B*C \quad \text{Equação 1}$$

$$Y = 457,2 - 0,70B - 0,95B^2 - 3,53C + 1,70C^2 - 2,85B*C \quad \text{Equação 2}$$

A análise dos gráficos mostrados na Figura 2A e 2B apresentam todos os valores dos efeitos estimados para os dois modelos quadráticos e o valor de corte para o teste F a 0,5% de probabilidade, mostrando que os parâmetros são semelhantes e que os modelos se equiparam.

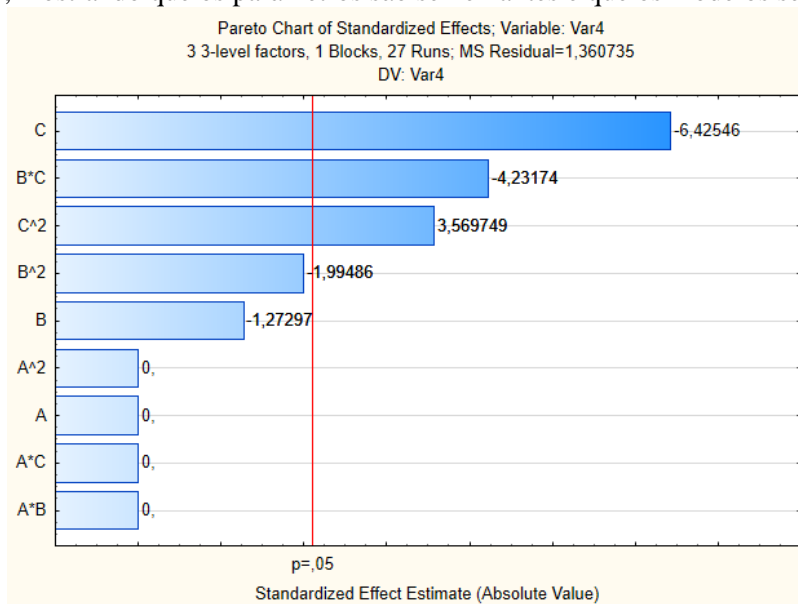


Figura 2A – Efeitos padronizados de Pareto para o planejamento fatorial 3^K baseado nos valores de comprimento de onda.

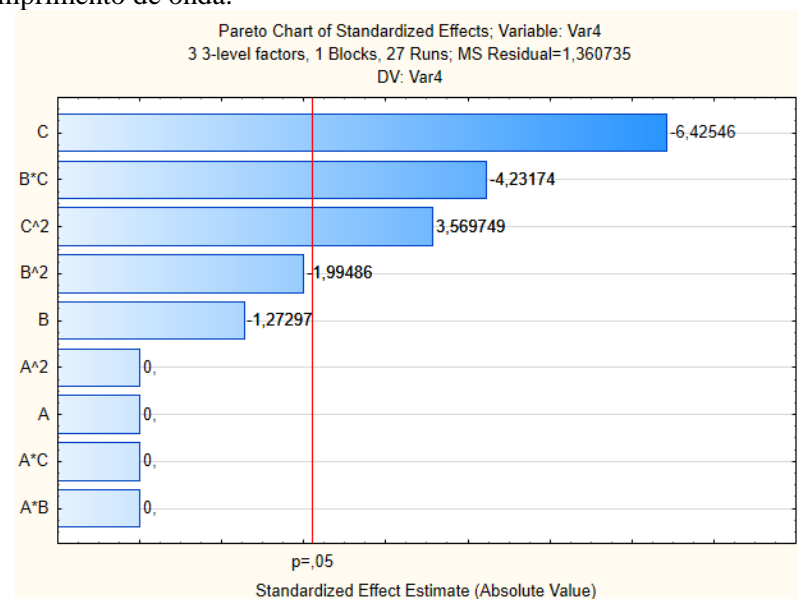


Figura 2B – Efeitos padronizados de Pareto para o planejamento fatorial 3^K baseado nos valores do erro.

Baseado no modelo de planejamento fatorial apresentado para o ABNQ, pode-se construir um modelo semelhante para o 2-amino-3-Iodo-1,4-Naftoquinona (ver Figura 1) e comparar os dois modelos baseado na importância dos efeitos relativísticos para o cálculo de energia de absorção e do comprimento de onda desses compostos. Para o composto AINQ, os cálculos dos 27 ensaios foram realizados conforme descrito na Tabela 1. Os comprimentos de onda e a energia de absorção foram calculados empregando o método TD-DFT juntamente com o modelo COSMO para simular o solvente metanol. Comparativamente ao composto ABNQ, o AINQ apresentou apenas o fator C como significativo, possuindo valor de -1,16% enquanto o ABNQ apresentou o valor de -3,53%.

Tabela 4 - Estimativa dos efeitos para o modelo quadrático do planejamento fatorial 3^3 para o composto AINQ baseado nos valores de comprimento de onda.

Fator	Efeito	Erro padrão	t(17)	P	-95% Limite de confiança	+95% Limite de Confiança
<i>Média</i>	461,58	0,10	4588,06	0,00	461,37	461,80
<i>A</i>	0,00	0,24	0,00	1,00	-0,51	0,51
<i>A</i> ²	0,00	0,21	0,00	1,00	-0,45	0,45
<i>B</i>	0,10	0,24	0,40	0,68	-0,41	0,61
<i>B</i> ²	-0,08	0,21	-0,39	0,70	-0,53	0,36
<i>C</i>	-1,16	0,24	-4,73	0,00	-1,68	-0,64
<i>C</i> ²	-1,08	0,21	-5,07	0,00	-1,53	-0,63
<i>A*B</i>	0,00	0,30	0,00	1,00	-0,63	0,63
<i>A*C</i>	0,00	0,30	0,00	1,00	-0,63	0,63
<i>B*C</i>	-2,35	0,30	-7,78	0,00	-2,98	-1,71

A análise das interações se mostrou significativa apenas entre os fatores B e C, mostrando valor de -2,35% para o AINQ enquanto que para o ABNQ apresentou o valor de -2,85%, mostrando que para todos os efeitos que se mostraram significativos nesse estudo a resposta diminui quando sai do nível baixo (-1) para o nível médio (0) ou alto (+1), conforme descrito na Tabela 4. Novamente, pela análise da estimativa dos efeitos, pode-se observar que o método relativístico e a função de onda são significativos para estes estudos. O modelo apresentado para o composto ABNQ apresentou maior erro relativo ao valor experimental seguindo a orientação das estimativas dos efeitos, por comparação. O mesmo aconteceu com a estimativa dos efeitos para o AINQ, portanto, seguindo a mesma tendência, os fatores de menor nível apresentarão os maiores erros, ou seja, sem o acoplamento spin-órbita, com a função de base TVZ e com o hamiltoniano não relativístico. Assim, o melhor método para o estudo, ou seja, o método que apresenta os menores erros comparados ao valor experimental será, novamente, é o método de DKH2 e sua combinação com a função de base TZV_DKH.

4. Conclusão

O planejamento fatorial 3^k para os compostos ABNQ e AINQ se mostrou satisfatório, revelando que para o cálculo TD-DFT do comprimento de onda e das energias de absorção utilizando o método COSMO para avaliar o solvente, apenas o hamiltoniano relativístico foi significativo para o cálculo, sendo o método DKH2 apresentou os menores erros. Mostrou, também, que na fase gás a função de onda é significativa para o cálculo. Em ambos os casos, a interação da função de onda com o método se mostrou significativo, sendo que o método DKH2 com a função de base TVZ_DKH geraram os menores erros para a propriedade observada. Com base no experimento avaliado para o ABNQ, pode ser desenvolvido método semelhante para o AINQ (ver Figura 1) comparando os parâmetros dos planejamentos fatoriais e definindo os melhores fatores para o cálculo das propriedades espectroscópicas.

5. Referências Bibliográficas

- Zhao, J.; Ji, S.; Chen, Y.; Guo, H.; Yang, P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 8803.
- Dugave, C.; Demange, L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2475–2532.
- Laurieri, N.; Egleton, J. E.; Varney, A.; Thinnes, C. C.; Quevedo, C. E.; Seden, P. T.; Thompson, S.; Rodrigues-Lima, F.; Dairou, J.; Dupret, J. M.; Russell, A. J.; Sim, E. *PLoS One* **2013**, *8*.
- Ferreira, V. F.; Jorqueira, A.; Souza, A. M. T.; da Silva, M. N.; de Souza, M. C. B. V.; Gouvêa, R. M.; Rodrigues, C. R.; Pinto, A. V.; Castro, H. C.; Santos, D. O.; Araújo, H. P.; Bourguignon, S. C. *Bioorganic Med. Chem.* **2006**, *14*, 5459–5466.

5. Luo, Y.; Li, Y.; Qiu, K. M.; Lu, X.; Fu, J.; Zhu, H. L. *Bioorganic Med. Chem.* **2011**, *19*, 6069–6076.
6. Ortega, A.; Molina, M. T.; Buxaderas, E.; Orellana, G.; Csáký, A. G. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *400*, 169–174.
7. Guzow, K.; Milewska, M.; Czaplewski, C.; Wiczak, W. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2010**, *75*, 773–781.
8. Tucker, S. C.; Honn, K. V. *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *85*, 676–688.
9. Levine, B. G.; Martínez, T. J. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *58*, 613–634.
10. Il'ichev, Y. V.; Kühnle, W.; Zachariasse, K. a. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 5670–5680.
11. Alam, M. J.; Ahmad, S. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2012**, *96*, 992–1004.
12. Jana, S.; Dalapati, S.; Ghosh, S.; Guchhait, N. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2013**, *261*, 31–40.
13. Gorin, D. J.; Toste, F. D. *Nature* **2007**, *446*, 395–403.
14. Arumugam, K.; Becker, U. *Computational Redox Potential Predictions: Applications to Inorganic and Organic Aqueous Complexes, and Complexes Adsorbed to Mineral Surfaces*; **2014**; Vol. 4.
15. Kutzelnigg, W. *Chem. Phys.* **1997**, *225*, 203–222.
16. Cheng, L.; Stopkowicz, S.; Gauss, J. *Int. J. Quantum Chem.* **2014**, *114*, 1108–1127.
17. Bühl, M.; Reimann, C.; Pantazis, D. a.; Bredow, T.; Neese, F. *J. Chem. Theory Comput.* **2008**, *4*, 1449–1459.
18. Wolff, S. K.; Ziegler, T.; van Lenthe, E.; Baerends, E. J. *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 7689.
19. Green, T. F. G.; Yates, J. R. *J. Chem. Phys.* **2014**, *140*.
20. Vaara, J.; Pyykkö, P. *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 2973–2976.
21. Pyykkö, P. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2012**, *63*, 45–64.
22. Canto, E. L.; Tasic, L.; Bruns, R. E.; Rittner, R. *Magn. Reson. Chem.* **2001**, *39*, 316–322.
23. KITAGAWA, R.; BRUNS, R. O. Y. E.; DE MENEZES, T. J. B. *J. Food Sci.* **1994**, *59*, 844–848.
24. Ribeiro, R. L. V.; Grespan, C. B.; Collins, C. H.; Collins, K. E.; Bruns, R. E. *J. High Resolut. Chromatogr.* **1999**, *22*, 52–54.
25. Pyykkö, P. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2004**, *43*, 4412–4456.
26. Pushpam, S.; Kottaisamy, M.; Ramakrishnan, V. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2013**, *114*, 272–276.
27. Neese, F. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2012**, *2*, 73–78.
28. Roemelt, M.; Beckwith, M. a.; Duboc, C.; Collomb, M.-N.; Neese, F.; DeBeer, S. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 680–7.
29. Haiduke, R. L. a; Comar, M.; da Silva, a. B. F. *Chem. Phys.* **2006**, *331*, 173–177.