

Dicroísmo Circular Eletrônico: Uma janela para a quiralidade molecular

Aguinaldo R. de Souza

aguinaldo.robinson@unesp.brUniversidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências,
Departamento de Química

Nelson H. Morgon*

nhmorgon@unicamp.br

Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química

Informações sobre o artigo

Histórico

Submetido em 09 de abril de 2025

Aceito em 28 de julho de 2025

Palavras-chave:

Espectroscopia de Dicroísmo Circular
Quiralidade
Estrutura Secundária de Proteínas
Teoria do Funcional da Densidade
Conformação Estrutural Absoluta

Resumo

A espectroscopia de dicroísmo circular (CD) é uma técnica analítica poderosa para estudar sistemas moleculares quirais, com amplas aplicações nas ciências da vida. Ela mede a absorção diferencial entre luz circularmente polarizada esquerda e direita, fornecendo informações sobre o arranjo estrutural de moléculas assimétricas. Avanços instrumentais das últimas cinco décadas permitiram medições precisas dos sinais de CD, tipicamente quatro ordens de magnitude menores que os de absorbância. Metodologias computacionais baseadas em mecânica quântica, como a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) e sua extensão Dependente do Tempo (TD-DFT), mostram-se valiosas na previsão e interpretação de espectros de CD. Essas abordagens calculam propriedades eletrônicas e ópticas de moléculas quirais, complementando análises experimentais – especialmente em sistemas complexos onde a interpretação direta é desafiadora. A determinação da configuração absoluta de moléculas quirais constitui um dos desafios centrais em química orgânica, bioquímica e farmacologia. O CD destaca-se como principal técnica para esta finalidade, com aplicações práticas em desenvolvimento de fármacos e caracterização de produtos naturais, na biotecnologia (ex.: produção de biossimilares, onde a conformação proteica deve ser preservada para garantir eficácia) e na análise de enovelamento proteico, estabilidade, ligação a ligantes e respostas a mudanças ambientais.



Introdução

A quiralidade, é a propriedade de um objeto não ser sobreponível à sua imagem especular, ou seja, sua "imagem no espelho" é diferente e não se encaixa perfeitamente no objeto original. Um exemplo clássico são as mãos humanas, que são quirais porque a mão esquerda não pode ser sobreposta à direita. Na química, moléculas quirais geralmente têm um átomo de carbono ligado a quatro grupos diferentes (carbono quiral), o que gera duas formas espaciais (enantiômeros) que são imagens especulares não sobreponíveis entre si. Moléculas quirais, como as proteínas e os ácidos nucleicos, desempenham papéis cruciais em processos biológicos e, a espectroscopia de dicroísmo circular (*Circular Dichroism*, CD) emerge como uma ferramenta poderosa para investigar a quiralidade molecular e desvendar a estrutura e dinâmica desses sistemas [1,2].

A luz, além de sua natureza ondulatória e corpuscular, apresenta propriedades de polarização. A luz circularmente polarizada é aquela em que os vetores campos elétrico e magnéticos descrevem um círculo ao longo de sua direção de propagação. Quando essa luz interage com uma molécula quiral, ocorre uma diferença na absorção da componente esquerda e direita da luz circularmente polarizada, dando origem ao fenômeno do dicroísmo circular. Assim sendo a luz composta por ondas eletromagnéticas nas quais o vetor do campo elétrico oscila em um único plano fixo, perpendicular à direção de propagação, ao longo do tempo, a ponta do vetor campo elétrico descreve uma linha reta nesse plano. Um exemplo típico é a luz que passa por um polarizador linear, onde as oscilações do campo elétrico ficam restritas a uma única direção espacial. A luz circularmente polarizada ocorre quando o vetor campo elétrico possui duas componentes

ortogonais de mesma amplitude, mas com diferença de fase de $\pm 90^\circ$ (ou $\pm \pi/2$ radianos). Essa defasagem faz com que a ponta do vetor descreva um movimento circular no plano transversal à propagação. Dependendo do sinal da defasagem, o vetor gira no sentido horário (polarização circular direita) ou anti-horário (polarização circular esquerda), conforme observado na direção de propagação.

A absorção é consequência da interação diferencial da luz circularmente polarizada com os momentos de dipolo elétrico ($\vec{\mu}$) e magnético ($\vec{m}$) induzidos na molécula quiral [3,4]. O espectro de CD relaciona a elipticidade molar (uma medida da diferença de absorção da luz circularmente polarizada à esquerda e à direita) em função de seu comprimento de onda (λ). A forma e a intensidade dos sinais no espectro de CD são sensíveis à estrutura tridimensional da molécula, fornecendo informações valiosas sobre sua conformação, configuração absoluta e interações intermoleculares [5-8].

A origem do sinal de CD está intrinsecamente ligada à natureza quiral das moléculas. Quando uma molécula quiral interage com a luz circularmente polarizada, ela induz momentos de dipolo elétrico e magnético oscilantes. A interação desses dipolos com o campo eletromagnético da luz resulta em uma absorção diferencial das componentes à esquerda e à direita da luz incidente. A intensidade e o sinal do espectro de CD dependem da magnitude e da orientação relativa desses dipolos [4,9-11].

Aplicações do Dicroísmo Circular

O dicroísmo circular encontra amplas aplicações em diversas áreas, como [1,5]:

Bioquímica:

- Estudo da estrutura e conformação de proteínas, ácidos nucleicos e outras biomoléculas.*
- Monitoramento de mudanças conformacionais induzidas por fatores ambientais (ou externos) como pH, temperatura e/ou força iônica.*
- Investigação da interação de proteínas com ligantes.*

Química orgânica:

- Determinação da pureza enantiomérica de compostos quirais.*
- Estudo de reações estereosseletivas.*
- Elucidação da configuração absoluta de moléculas orgânicas.*

Farmacologia:

- Análise da interação de fármacos com biomoléculas.*
- Estudo da conformação de peptídeos bioativos.*
- Investigação da estrutura e dinâmica de complexos fármaco-receptor.*

Ciências dos materiais:

- Investigação da quiralidade em materiais nano-estruturados e polímeros.*
- Estudo da auto-organização de moléculas quirais em estruturas supramoleculares.*
- Análise de materiais com propriedades ópticas não lineares.*

Vantagens e limitações do Dicroísmo Circular

A espectroscopia de CD, por ser uma técnica não destrutiva e sensível, oferece uma série de vantagens em relação a outras técnicas espectroscópicas e, permite estudar moléculas em solução aquosa, em condições próximas às fisiológicas, sendo capaz de detectar pequenas mudanças conformacionais. Além disso, a CD é uma técnica rápida e fácil de implementar, tornando-a uma ferramenta valiosa para a caracterização de moléculas quirais [2,12].

Apesar de suas vantagens, o dicroísmo circular apresenta algumas limitações. A interpretação de espectros de CD pode ser complexa, especialmente para moléculas grandes e flexíveis. A técnica é mais sensível às transições eletrônicas de baixa energia, o que pode limitar sua aplicação para algumas moléculas.

Tipos de Dicroísmo Circular

Existem diferentes tipos de dicroísmo circular, os quais estão classificados com base na região do espectro eletromagnético em que são observados e no tipo de transição molecular envolvida [13]. Os principais tipos de CD são:

Dicroísmo Circular Eletrônico (*Electronic Circular Dichroism, ECD*)

Ocorre na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) do espectro eletromagnético, envolvendo transições eletrônicas entre estados eletrônicos de moléculas quirais [9]. As transições são processos nos quais um elétron, em um átomo ou molécula, absorve (ou emite) energia e é promovido de um nível de energia mais baixo para um nível mais alto (ou vice-versa). Essa mudança de nível de energia ocorre geralmente pela absorção ou emissão de radiação eletromagnética, como luz na região do ultravioleta ou visível. Suas principais aplicações estão nos estudos da estrutura secundária de proteínas (α -hélices, folhas β etc.); na caracterização de pequenas moléculas quirais, como fármacos e produtos naturais, bem como na análise de interações ligante-proteína e mudanças conformacionais em biomoléculas [12].

Dicroísmo Circular Vibracional (*Vibrational Circular Dichroism, VCD*)

O VCD observado na região do infravermelho (IV) do espectro, envolvendo transições entre níveis vibracionais de moléculas quirais. São empregados principalmente na determinação da conformação absoluta de pequenas moléculas quirais; no estudo de interações intermoleculares, em efeitos de solvente e na análise de sistemas complexos, como agregados moleculares e polímeros [14].

Dicroísmo Circular de Raios-X (*X-ray Circular Dichroism, XCD*)

Ocorre na região dos raios-X do espectro, e por serem radiações mais energéticas atuam em transições entre níveis eletrônicos mais internos ou seja, nas camadas profundas (1s, 2s etc.) em átomos quirais ou em moléculas

com arranjos quirais. Suas aplicações envolvem o estudo de materiais magnéticos e sistemas quirais complexos como, por exemplo, a análise de metais em centros quirais, como em complexos de coordenação e na caracterização de materiais avançados, como cristais líquidos quirais [15].

Dicroísmo Circular Magnético (*Magnetic Circular Dichroism, MCD*)

A presença de um campo magnético externo induz quiralidade em moléculas ou materiais que não são intrinsecamente quirais. Graças a esse efeito é possível o estudo de sistemas magnéticos e propriedades eletrônicas de materiais, bem como a análise de complexos metálicos e sistemas com elétrons desemparelhados. Permite também a caracterização de materiais semicondutores e nanopartículas. De um modo geral, MCD é usado para investigar a estrutura eletrônica de complexos de metais de transição e materiais magnéticos [16].

Dicroísmo Circular de Espalhamento (*Circular Differential Scattering, CDS*)

Essa técnica envolve a diferença no espalhamento de luz circularmente polarizada por partículas ou agregados quirais, permitindo assim investigar a quiralidade em sistemas como vírus, DNA e nanopartículas metálicas, além da análise de estruturas quirais em sistemas coloidais e biológicos. Na Tabela 1 tem-se um resumo dos diferentes tipos de dicroísmo circular, as transições envolvidas e as principais aplicações [17].

Tabela 1. Resumo dos tipos de dicroísmo circular.

Tipo	Região do Espectro	Transição Envolvida	Aplicações Principais
ECD	UV-Visível	Eletrônica	Proteínas, fármacos e pequenas moléculas
VCD	Infravermelho	Vibracional	Conformações absolutas e interações moleculares
XCD	Raios-X	Eletrônica (camadas profundas)	Materiais magnéticos e complexos metálicos
MCD	UV-Visível (campo magnético)	Eletrônica magnética	Sistemas magnéticos e Semicondutores
CDS	UV-Visível	Espalhamento	Nanopartículas e macromoléculas

Nesse trabalho serão abordados estudos de ECD e sua aplicação do ponto de vista teórico e experimental de dois sistemas específicos: análise TD-DFT do fator de dissimetria (*fator-g*) na S-cânfora e no aminoácido L-triptofano e a elucidação da quiralidade induzida na molécula dansilglicina quando de sua complexação com a proteína albumina do soro humano.

A DFT é um método da mecânica quântica usado para

estudar sistemas com muitos elétrons, como átomos, moléculas e sólidos. Em vez de calcular diretamente a função de onda dos elétrons (que depende de muitas variáveis e é muito complexa), a DFT foca na densidade eletrônica, que é uma função mais simples e depende apenas da posição no espaço (três variáveis), ou seja, a densidade eletrônica contém toda a informação necessária para descrever o sistema no estado fundamental (menor energia). Na DFT, o problema de muitos elétrons interagentes é simplificado para um sistema fictício de elétrons não interagentes que se movem em um potencial efetivo. Contudo, para que essa aproximação seja precisa, é necessário incluir os efeitos da troca (relacionada ao princípio de exclusão de Pauli, que impede que dois elétrons com o mesmo spin ocupem o mesmo estado quântico) e da correlação eletrônica (que leva em conta a interação dinâmica entre os movimentos dos elétrons devido à repulsão coulombiana). Esses efeitos são incorporados em um termo chamado funcional de troca-correlação, que é uma parte fundamental da energia total calculada pela DFT. Como a forma exata desse funcional não é conhecida, diversas aproximações foram desenvolvidas, como a Aproximação da Densidade Local (LDA), funcionais semi-locais e não locais, e funcionais híbridos que misturam DFT com métodos de troca exata do Hartree-Fock.

Por conta dessa abordagem, a metodologia reduz muito o custo computacional em relação aos métodos tradicionais que usam a função de onda (os métodos *ab initio*), assim é possível estudar sistemas maiores e mais complexos com boa precisão [18]. Já a TD-DFT é uma extensão da DFT que permite estudar estados excitados e propriedades relacionadas à resposta do sistema a campos elétricos variáveis no tempo, como a absorção de luz. Na abordagem TD-DFT é possível calcular espectros eletrônicos, transições excitadas, propriedades ópticas e espectros de dicroísmo circular, por exemplo. A TD-DFT considera a evolução temporal da densidade eletrônica quando o sistema é perturbado, permitindo descrever fenômenos dinâmicos e excitados.

O fator de dissimetria (fator-g) é um parâmetro usado principalmente em espectroscopia de dicroísmo circular (CD) e luminescência polarizada circularmente (CPL) para quantificar o grau de diferença na interação de uma molécula quiral com a luz polarizada circularmente à esquerda e à direita. É a razão entre a diferença na absorção (ou emissão) da luz circularmente polarizada esquerda (LCP) e direita (RCP) e a absorção (ou emissão) total da luz não polarizada. Em outras palavras, ele mede o quanto a molécula responde de forma diferente à luz polarizada circularmente em cada sentido, normalizando essa diferença pelo total de luz absorvida ou emitida. Outros estudos realizados pelo grupo de pesquisa sobre quiralidade molecular também serão brevemente descritos

Metodologia Computacional

Formalismo Teórico para o Dicroísmo Circular Eletrônico

A ECD é uma técnica espectroscópica que mede a

diferença na absorção de luz circularmente polarizada à esquerda (*Left-Circularly Polarized*, LCP) e à direita (*Right-Circularly Polarized*, RCP) por moléculas quirais. Está diretamente relacionada às transições eletrônicas entre estados quânticos (ou níveis energéticos) de moléculas com centros quirais. O tratamento matemático fundamentado a partir do formalismo da mecânica quântica para o ECD envolve a absorção diferencial de LCP e RCP como descrita pela Equação (1) [4, 5,13]:

$$\Delta A = A_L - A_R \quad (1)$$

onde A_L e A_R são as absorbâncias da luz circularmente polarizada à esquerda e à direita, respectivamente. Essa diferença é proporcional à força rotatória (R), que depende dos momentos de dipolo elétrico e magnético associados às transições entre diferentes níveis eletrônicos. Em mecânica quântica, a interação da luz com uma molécula é descrita pelo operador de interação:

$$\widehat{H}_{inter} = -\mu\vec{E} - m\vec{M} \quad (2)$$

onde μ e m são os operadores dos momentos de dipolo elétrico e magnético, respectivamente, e $\vec{E}$ e $\vec{M}$ os campos elétrico e magnético da radiação eletromagnética. Para uma transição eletrônica entre dois estados i e f , os elementos de matriz relevantes são os momentos de dipolos de transição elétrico e magnético.

A intensidade do sinal de ECD está associada com a força rotatória, de modo análogo à força do oscilador (f) que define a intensidade no espectro UV-Vis. Ambos os conceitos descrevem a intensidade de transições eletrônicas, mas em contextos diferentes. A força do oscilador está associada à absorção de luz não polarizada (espectro UV-Vis), enquanto a força rotatória está associada à absorção diferencial de luz circularmente polarizada (espectro de ECD). A força do oscilador é definida como:

$$f_{i \rightarrow f} = \frac{4\pi m_e \nu}{3e^2 h} \mu_{i,f}^2 \quad (3)$$

sendo (m_e) e (e) a massa e a carga do elétron, respectivamente, e ν a frequência da transição entre os i -ésimo e f -ésimo estados eletrônicos. A força rotatória é dada pelo produto escalar entre os momentos de transição dos dipolos elétrico e magnético:

$$R_{i \rightarrow f} = \text{Im} (\mu_{i,f} \cdot m_{i,f}) \quad (4)$$

com I_m denotando a parte imaginária do produto escalar e $R_{i \rightarrow f}$ a medida da quiralidade da molécula e da assimetria na absorção de LCP e RCP. A força rotatória também pode ser expressa pela diferença de absorbância, ΔA definida na Equação (5):

$$\Delta A \propto R_{i,f} \quad (5)$$

A Expressão para o sinal de CD para uma transição específica é dado pela Equação (6):

$$\Delta A = \frac{8\pi^2 N_A \nu}{3c} R_{i,f} \cdot f(\nu) \quad (6)$$

onde N_A é o número de Avogadro, ν e a frequência da luz, $\hbar$ a constante de Planck reduzida, c é a velocidade da luz e $f(\nu)$ é uma função de forma que descreve a linha espectral da transição.

Como apresentado, a força rotatória é a grandeza fundamental que descreve a intensidade da absorção diferencial de luz circularmente polarizada por moléculas quirais. A partir dela é possível obter informações sobre a quiralidade e a conformação molecular, isto é, a forma tridimensional que uma molécula pode assumir devido à rotação em torno de suas ligações simples (ligações sigma), sem que haja quebra dessas ligações. No entanto, sua determinação experimental pode ser desafiadora, especialmente para sistemas complexos, como proteínas, moléculas de fármacos quirais ou materiais avançados. Assim, métodos computacionais, em especial aqueles obtidos a partir de TD-DFT mostram-se como uma alternativa altamente interessante. Os cálculos permitem prever os espectros de ECD, e assim auxiliar no planejamento e interpretação de resultados experimentais; determinar a configuração absoluta (arranjo tridimensional fixo dos átomos em torno de um centro quiral, que determina a identidade estereoquímica da molécula (R ou S), e não pode ser alterada sem quebrar ligações químicas) de moléculas quirais, o que é crucial em química orgânica e farmacêutica; estudar interações moleculares e mudanças na estrutura molecular e como isso afeta o sinal de ECD. As principais vantagens da TD-DFT residem na eficiência computacional em comparação com métodos *ab initio* tradicionais, baseados na função de onda eletrônica, como solução da Equação de Schrödinger aproximada. Já as metodologias DFT usam a densidade eletrônica (quantidade de elétrons por volume) em vez da função de onda. Isso permite estudar sistemas maiores, como proteínas ou complexos metálicos, com um custo computacional razoável.

A metodologia TD-DFT é capaz de descrever com precisão as propriedades eletrônicas e ópticas de moléculas quirais, incluindo os momentos dos dipolos elétrico e magnético, e é particularmente adequada para descrever transições eletrônicas (entres estados fundamental e excitados), além de sua aplicação a uma ampla gama de sistemas, desde pequenas moléculas orgânicas até complexos metálicos e biomoléculas, incluir efeitos de solvente e correlações eletrônicas, melhorando a precisão dos cálculos. No entanto, existem algumas limitações, como: a precisão dos cálculos serem dependentes da escolha do funcional de troca-correlação ou a necessidade, em sistemas onde o solvente desempenha um papel importante, incluir explicitamente efeitos de solvente, o que pode aumentar o custo computacional.

De um modo geral, o espectro de CD é obtido somando-se as contribuições de todas as transições eletrônicas possíveis, como apresentado na Equação (7):

$$\Delta A(\lambda) = \sum_{i,f} \Delta A_{i,f} \cdot g(\lambda - \lambda_{i,f}) \quad (7)$$

onde $\lambda_{i,f}$ é o comprimento de onda correspondente à transição $i \rightarrow f$ e $g(\lambda - \lambda_{i,f})$ é uma função da forma (por exemplo, uma gaussiana ou lorentziana) que descreve a

linha espectral.

Para calcular espectros de dicroísmo circular eletrônico (ECD) utilizando TD-DFT, inicia-se obtendo a estrutura tridimensional da molécula quiral, que pode ser proveniente de dados cristalográficos ou modelagem molecular. É importante realizar uma busca conformacional para identificar os conformeros mais estáveis, pois o espectro de ECD pode variar conforme a conformação da molécula. Em seguida, procede-se à otimização da geometria molecular desses conformeros utilizando métodos DFT. Um bom funcional (que descreve adequadamente efeitos de troca e correlação) é o B3LYP que apresenta conjuntos de funções de base adequados, por exemplo 6-311++G(d) ou similares, incluindo, se possível, o efeito do solvente por meio de modelos implícitos como PCM, COSMO ou SMD, que simulam o meio aquoso ou outro solvente relevante. Após a otimização, é fundamental verificar que as geometrias correspondem a mínimos de energia, o que pode ser feito pela análise vibracional, garantindo a ausência de frequências imaginárias. Com as geometrias otimizadas, realiza-se o cálculo dos estados excitados por TD-DFT para obter as primeiras transições eletrônicas excitadas, geralmente entre 10 e 30 transições. Para melhorar a descrição dessas transições, especialmente para espectros de ECD, recomenda-se o uso de funcionais como o CAM-B3LYP ou PBE0, que são mais adequados para estados excitados, além de conjuntos de bases mais completos, como 6-311++G(3df,2p), que equilibram custo computacional e precisão. A inclusão do efeito do solvente durante o cálculo TD-DFT é essencial para aproximar as condições experimentais, pois influencia as energias e intensidades das transições eletrônicas.

A partir dos resultados do cálculo TD-DFT, extraem-se as propriedades rotacionais, como a força rotacional e os coeficientes de absorção diferencial, que são utilizados para construir o espectro de dicroísmo circular eletrônico. Para simular o espectro contínuo, as transições eletrônicas são convoluídas (procedimento matemático para transformar um conjunto discreto de transições eletrônicas - picos pontuais, em um espectro contínuo) com funções de largura, geralmente gaussianas ou lorentzianas, ajustando parâmetros como a largura de banda para melhorar a comparação com o espectro experimental.

Após a simulação, realiza-se a análise comparativa entre o espectro calculado e o experimental, o que permite validar a configuração absoluta e a conformação da molécula. Caso necessário, o procedimento pode ser repetido para outros conformeros, e os espectros resultantes podem ser combinados em uma média ponderada para representar melhor o sistema real. É recomendável utilizar diferentes funcionais e conjuntos de bases para avaliar a robustez dos resultados, além de considerar efeitos vibracionais e interações soluto-solvente para aprimorar a concordância com os dados experimentais. Os cálculos TD-DFT são sensíveis à qualidade do modelo adotado e à descrição do solvente, por isso a escolha cuidadosa desses parâmetros é fundamental para o sucesso do estudo. Para um maior aprofundamento nesta área, existem diversas referências acadêmicas e protocolos que detalham a aplicação desses

métodos em softwares como o *Gaussian* ou o *Orca*, que podem ser consultados para auxiliar na implementação prática do cálculo.

Resultados e discussão

A seguir, serão abordados estudos selecionados devido à sua busca por explicações em nível atômico-molecular por meio de simulação computacional, relacionando-as a resultados experimentais. Nessa perspectiva, a simulação computacional é de grande valia na interpretação de fatos experimentais, pois permite uma descrição detalhada de eventos em escalas submicroscópicas e nanométricas, de difícil visualização ou mesmo impossíveis experimentalmente, como a interação de fármacos no interior de proteínas.

Como estudos de caso dessa sinergia entre experimento e cálculos teóricos, serão descritos: a análise do fator de dissimetria (fator-*g*) na molécula de cânfora e a elucidação da quiralidade induzida na dansilglicina quando complexada ao sítio da albumina do soro humano (HSA).

Outros estudos relevantes incluem: efeitos do solvente no espectro de dicroísmo circular eletrônico dos isômeros do fármaco naproxeno [19], a quiralidade induzida na sulfassalazina complexada à HSA [20], a interação entre o antibiótico linezolida e o sítio ativo da bactéria *Haloarcula marismortui* [21], o entendimento das propriedades redox, da atividade antioxidante e da afinidade do divanilato de metila com a HSA [22], o potencial inibidor da enzima NADPH oxidase [23] e estudos teórico-experimentais da ligação e indução de quiralidade da molécula de diapocinina com a HSA [24].

Análise TD-DFT do fator de dissimetria (fator-*g*) na S-cânfora e no aminoácido L-triptofano

A cânfora apresenta propriedades químicas e bioquímicas associadas à sua rápida sublimação, conferindo diversas aplicações farmacológicas, antimicrobianas e como bálsamo. O aminoácido L-triptofano é indispensável para a saúde humana, prevenindo doenças e óbitos, mas não é sintetizado pelo organismo, devendo ser obtido via alimentação. Devido ao seu papel central na biossíntese de serotonina e melatonina, este composto regula processos bioquímicos do sono e humor, sendo utilizado no tratamento da depressão. Assim, realizou-se a comparação do fator-*g* entre a S-cânfora e o L-triptofano (estruturas apresentadas na Figura 1), aplicando-se, com sucesso, a mecânica quântica para descrever o fenômeno [25]. O dicroísmo circular eletrônico, técnica espectroscópica quiral baseada na absorção diferencial entre luz circularmente polarizada esquerda (LCP) e direita (RCP) na região UV-Vis, descrito na Equação (1), foi empregado na análise.

Na Figura 2, apresentam-se os espectros de ECD dos isômeros R e S da cânfora em fase gasosa e com solvente implícito (CHCl₃). A análise do fator-*g*, descrito na Equação (8),

$$g = \frac{A_L - A_R}{A_i} = \frac{\Delta\epsilon}{\epsilon i} \quad (8)$$

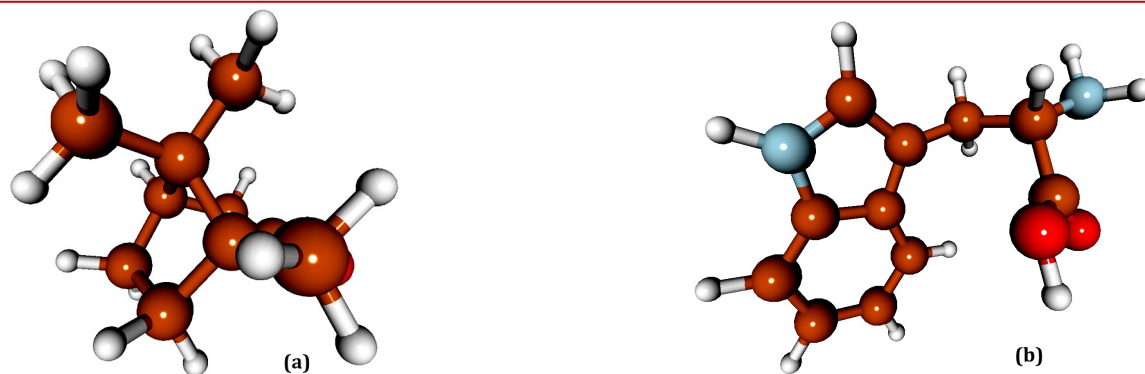


Figura 1. Estruturas moleculares da (a) S-cânfora e (b) L-triptofano.

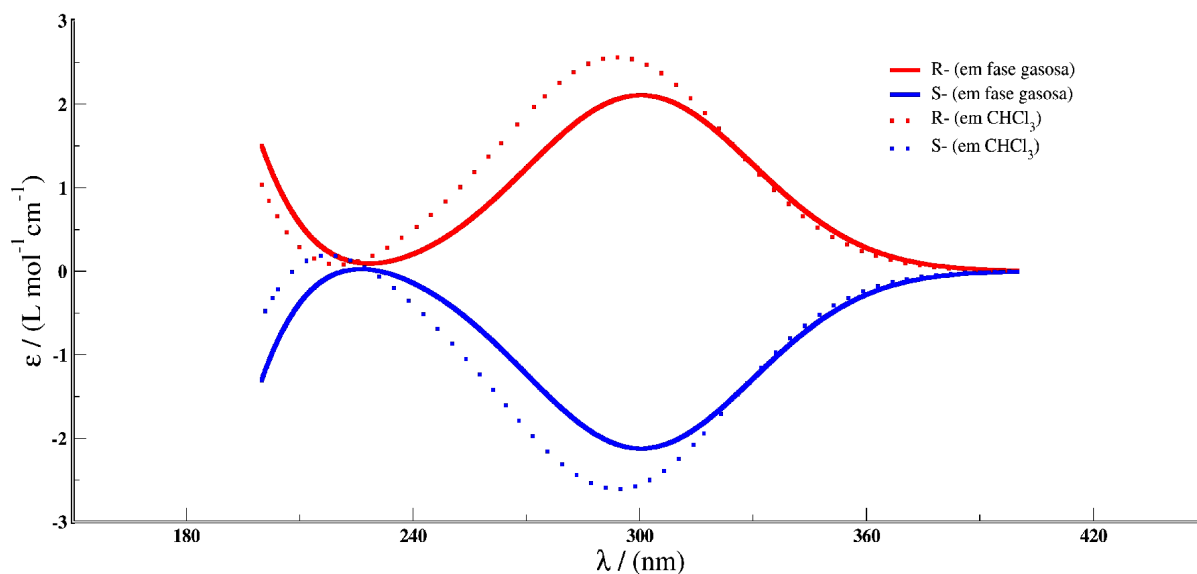


Figura 2. Espectros de ECD para os isômeros R e S da cânfora, em fase gasosa e na presença de solvente CHCl_3 , obtidos no nível de teoria TD-CAMB3LYP-DG3(BJ)/6-311++G(3df,2p)/6-311++G(3df,2p).

aumenta a confiabilidade na determinação da configuração absoluta e auxilia na discriminação de diastereômeros, conforme estabelecido por Polavarapu *et al.* [26,27]. Nesta equação, $(\mathbf{A}_i) = \boldsymbol{\varepsilon}_i \cdot \mathbf{M} \cdot \mathbf{b}$, com $\boldsymbol{\varepsilon}_i$ representando o i -ésimo coeficiente de absortividade molar para a luz circularmente polarizada à esquerda ou à direita, respectivamente, $\mathbf{M}$ a concentração molar e $\mathbf{b}$ o comprimento do percurso óptico. Os *fatores-g* na S-cânfora e no L-triptofano foram investigados experimentalmente, através da obtenção dos espectros na região UV-Vis, bem como pela espectroscopia de ECD, relacionados à transição eletrônica $n \rightarrow \pi^*$. O mesmo fenômeno foi estudado a partir da abordagem computacional via DFT e TD-DFT, no nível de teoria CAM-B3LYP/6-311++G(3df,2p)//B3LYP/6-311++G(2d,p), incluindo os efeitos de dispersão de Grimme. O ambiente de solvatação, neste caso etanol, foi descrito através do modelo da solvatação baseado na densidade (SMD). Neste modelo a energia livre de solvatação é calculada para um processo ideal de solvatação que ocorre numa concentração fixa. Os conjuntos de funções de base de Pople 6-311++G(2d,p) foram utilizados na otimização das geometrias moleculares, já as bases 6-311++G(3df,2p), no cálculo de energia total e na obtenção dos respectivos espectros eletrônicos (UV-Vis e de ECD). Foram considerados 15 estados eletrônicos singletos, isto é,

estados quânticos de uma molécula ou sistema onde todos os elétrons estão emparelhados, ou seja, os spins dos elétrons se cancelam mutuamente, resultando em um spin total igual a zero ($S = 0$). No estado singleto, os elétrons ocupam os orbitais de forma que cada orbital contém dois elétrons com spins opostos ($\uparrow\downarrow$). Todos os cálculos foram realizados nas facilidades computacionais do supercomputador GridUNESP empregando-se o programa *Gaussian16* [28].

Os resultados obtidos, tanto experimentalmente, quanto através da simulação computacional permitiram a obtenção de propostas para o entendimento dos processos relacionados às propriedades eletrônicas dos estados fundamental e excitado associados ao *fator-g* da S-cânfora e L-triptofano.

O máximo de absorção no espectros ECD da S-cânfora experimental e teórico foi de 282 e 290 nm, respectivamente. A molécula de L-triptofano apresentou o mesmo comportamento. Considerando-se o valor máximo do coeficiente de absortividade molar os valores obtidos, experimentalmente e teoricamente, iguais a 16,2 e 30,2 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$, respectivamente. O mesmo comportamento foi observado para o *fator-g*: -0,0445 (teórico) e -0,0886 (experimental). Após a obtenção de uma excelente

concordância entre os espectros teóricos e experimentais, o próximo passo foi buscar uma explicação para o valor relativamente alto para a molécula de S-cânfora. A hipótese levantada neste estudo foi que a resposta estava na magnitude e no ângulo formado entre os momentos de dipolo elétrico e magnético associados aos valores de comprimentos de onda máximos. A intensidade da absorção de luz (UV-Vis) depende somente do momento de transição do dipolo elétrico, dada pela Equação (3), então como esperado a magnitude do componente elétrico para S-cânfora é menor quando comparado com o L-triptofano, o que está em concordância com sua baixa absorvidade molar.

O comportamento oposto foi observado em relação ao componente magnético, onde a intensidade da força rotacional é dada pelo produto escalar dos vetores momentos elétrico e magnético dado pela Equação (4). A proposta apresentada neste estudo foi a de que a alta magnitude do componente magnético poderia compensar o baixo valor da componente elétrica, levando então à um sinal de ECD similar ao obtido para o L-triptofano. Este comportamento também pode ser explicado pelo valor do ângulo entre os dois vetores, elétrico e magnético: para o valor igual a 104,89° (S-cânfora) obtém-se

$$\cos(E-M) = -0,257,$$

e para 90,54°, o valor de

$$\cos(E-M) = -0,009.$$

Elucidação da quiralidade induzida (ICD) na molécula dansilglicina quando da complexação com a proteína Albumina do Soro Humano (HSA)

Neste estudo buscou-se entender as interações intermoleculares responsáveis pelo ICD (*Induced Circular Dichroism*) na molécula de dansilglicina (DanG) quando da interação com a proteína HSA, como um subsídio teórico para a explicação dos fatos experimentais [29].

A proteína HSA está envolvida no transporte de substância endógenas e exógenas no sangue, conferindo-lhe papel importante na farmacocinética de drogas e outras moléculas de interesse biológico. A HSA apresenta-se como um monômero com massa molar de 67kDa e possui três domínios globulares, divididos em dois subdomínios: IA, IIA, IB, IIB, IIIA e IIIB. Os sítios de ligação para fármacos, conhecidos como sítio I (Sudlow 1) e II (Sudlow 2), estão localizados nas cavidades hidrofóbicas dos subdomínios IIA e IIIA, respectivamente [30].

A importância de se entender as bases estruturais, em nível atômico e molecular, da especificidade das interações entre a HSA e moléculas ligantes, está na busca de novas possibilidades de abordagens terapêuticas que podem definir, dessa forma, tratamentos de enfermidades e no alívio de sintomas advindos de doenças ou síndromes. As Figuras 3a e 3b apresentam as estruturas moleculares da DanG e da proteína HSA, respectivamente, com os domínios de ligação de fármacos.

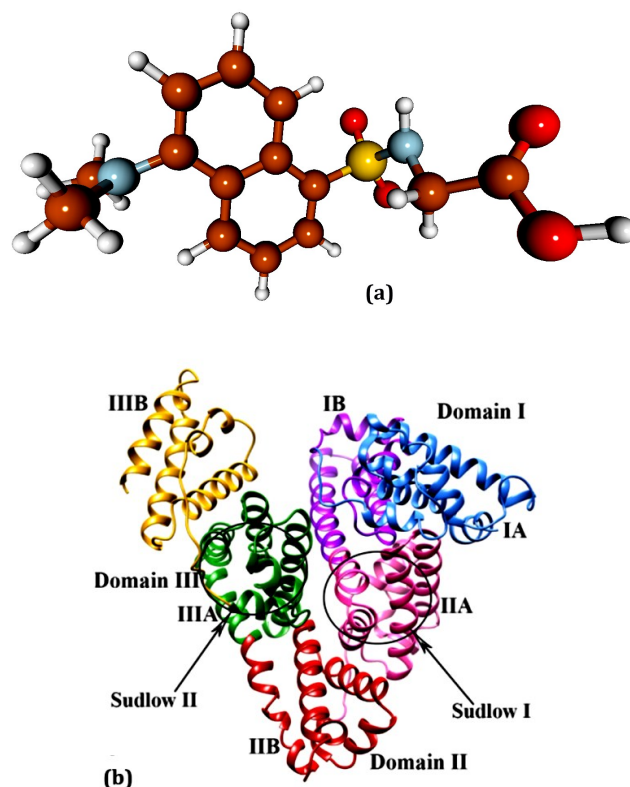


Figura 3. Estruturas moleculares da (a) dansilglicina - DanG, e (b) HSA [30].

Os resultados dos cálculos computacionais (TD-DFT) indicaram que a DanG, nos solventes: água, metanol, etanol, acetonitrila e THF, possui um comprimento de onda de absorção em 340 nm, indicando uma transição $n \rightarrow \pi^*$, compatível com os resultados obtidos experimentalmente. Os dados indicaram também, com auxílio de cálculos de docagem molecular (*Molecular Docking*, MD)⁽¹⁾, que os espectros com as configurações R e S da DanG não apresentaram mudanças significativas em relação ao comprimento de onda de absorção máximo.

Por meio dos resultados de ECD obtidos nos cálculos TD-DFT, demonstrou-se que a complexação com a proteína HSA induz o aparecimento de uma banda centrada em 364 nm. Este fenômeno foi explicado como a indução de quiralidade na DanG produzida pelo ambiente do sítio II da HSA; os estudos de MD permitiram concluir que a DanG forma um complexo com a HSA na configuração R.

⁽¹⁾ A docagem molecular é uma técnica computacional usada para prever como duas moléculas, como uma proteína e um fármaco, se encaixam e interagem entre si. Essa técnica ajuda a estimar a afinidade de ligação e priorizar moléculas que se ligam melhor a um alvo, sendo muito utilizada na descoberta e desenvolvimento de medicamentos. A docagem considera diferentes conformações e orientações do ligante para encontrar a melhor interação com o sítio ativo da proteína, simulando o processo de reconhecimento molecular que ocorre na natureza.

Outros estudos realizados pelo grupo de pesquisa sobre quiralidade molecular

Outros estudos realizados pelo grupo de pesquisa sobre quiralidade molecular e da interação entre fármacos e corantes com as proteínas HSA e Albumina do Soro Bovino (BSA), com a finalidade de mostrar a importância deste tipo de estudo na compreensão dos eventos em termos de estrutura eletrônica para uma real interpretação de dados obtidos experimentalmente.

Os efeitos do solvente no espectro de dicroísmo circular eletrônico nos isômeros do fármaco naproxeno, foram analisados numa abordagem TD-DFT. Os isômeros R e S apresentam uma inversão não usual nos sinais de ECD na presença dos solventes etanol e água quando comparado com outros solventes apróticos polares como acetonitrila. Do ponto de vista experimental, este resultado merece atenção pelo fato que os solventes estudados são utilizados em análises cromatográficas no controle de qualidade de fármacos quirais. O isômero R-naproxeno apresenta hepatotoxicidade, enquanto o outro isômero possui atividade anti-inflamatória, analgésica e antitérmica. O ECD dos isômeros foi calculado por simulação computacional e a contribuição de cada um foi obtida por uma distribuição de Boltzmann, onde foi encontrado que a inversão do sinal pode estar associada a uma menor ou maior contribuição de diferentes conformeros do naproxeno.

A indução da quiralidade na molécula de divanilina, devido a complexação com a proteína BSA foi estudada através de cálculos teóricos (TD-DFT) e medidas experimentais (ECD). A vanilina é um metabólito secundário com inúmeros benefícios à saúde humana. A divanilina é um homodímero da vanilina usado na indústria alimentícia e também como fármaco anticâncer. A molécula de divanilina foi sintetizada e a sua interação com a BSA foi examinada através da obtenção de espectros de ECD. Encontrou-se que a divanilina, quando complexada à BSA, adquire quiralidade; este fenômeno foi observado através de um forte sinal de ICD (sinal de ECD induzido), onde os cálculos computacionais concordaram com os dados obtidos experimentalmente. Este sinal de ICD foi utilizado na obtenção da constante de associação entre a divanilina e a BSA, demonstrando a reversibilidade da interação e revelando que o sítio I é o preferencial para a ligação. Estes dados foram confirmados através de experimentos de deslocamento de sondas fluorescentes: sítio I para a varfarina e dansil-L-prolina para o sítio II. Estudos de docagem molecular confirmaram a maior afinidade da divanilina pela sítio I da BSA. Demonstrou-se que a interação da divanilina com a cavidade quiral na BSA induz ao aparecimento do fenômeno de atropoisomeria, isto é, o impedimento da rotação de uma ligação simples num sistema bifenílico leva ao aparecimento do sinal de ICD.

A atropoisomeria é tipo especial de isomeria que ocorre quando a rotação livre em torno de uma ligação simples é impedida por uma barreira energética suficientemente alta, permitindo que diferentes conformações (rotâmeros) sejam isoladas ou detectadas separadamente. A atropoisomeria ocorre em moléculas que possuem um eixo de ligação (geralmente entre dois anéis aromáticos,

como em bifenis) que não pode girar livremente devido a impedimentos estéricos (bloqueios causados pelo volume dos grupos ligados). Compostos como derivados de bifenil e antibióticos como a vancomicina apresentam atropoisomeria. O fenômeno é importante na química orgânica, farmacologia e desenvolvimento de fármacos, pois a atividade biológica pode depender do atropoisômero específico. Assim os resultados obtidos podem ser utilizados no estudo das propriedades farmacológicas desta molécula.

Conclusões

O tratamento matemático do ECD fundamenta-se na interação entre luz circularmente polarizada e os momentos de dipolo elétrico e magnético de moléculas quirais. A força rotatória $R_{i \rightarrow f}$ constitui o parâmetro central que quantifica a assimetria na absorção de luz polarizada circularmente esquerda (LCP) e direita (RCP). Métodos computacionais, como DFT e TD-DFT, revelam-se indispensáveis para prever e interpretar espectros de CD, especialmente em sistemas complexos como proteínas e moléculas orgânicas quirais.

Em cálculos de TD-DFT dos fatores de dissimetria (fator-g) para S-cânfora e L-triptofano, dois fatores explicam os fenômenos observados: (i) O momento de transição do dipolo magnético não acompanha o comportamento do dipolo elétrico, exibindo valor significativamente maior na S-cânfora versus L-triptofano; (ii) Os ângulos entre os vetores μ e m , onde o valor de R (produto escalar das intensidades dos campos) é compensado pela magnitude do campo magnético e pelo ângulo entre os dipolos.

Resultados de ECD via TD-DFT demonstraram que a complexação com a HSA induz o surgimento de uma banda a 364 nm na dansilglicina. Esse fenômeno é atribuído à indução de quiralidade na DanG pelo ambiente do sítio II da HSA, com estudos de dicroísmo magnético (DM) confirmando a formação do complexo DanG-HSA na configuração R.

A sinergia entre dados experimentais e cálculos teóricos de estrutura eletrônica (especialmente TD-DFT) mostra-se crucial e vantajosa para explorar o Dicroísmo Circular Eletrônico em suas múltiplas dimensões.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto de Química da UNICAMP, ao Departamento de Química da UNESP, o Núcleo de Computação Científica (NCC/GridUNESP), ao *Center for Computing in Engineering and Sciences* (Fapesp Proc. 2013/08293-7) e o Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo (CENAPAD-SP) pelas facilidades computacionais. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) (310665/2021-3) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (2019/18445-5 e 2015/22338-9) pelo apoio financeiro.

Referências

- 1 - **Berova N, Polavarapu PL, Nakanishi K, Woody RW.** Comprehensive Chiroptical Spectroscopy. vol. 1. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2012.
- 2 - **Greenfield NJ.** Using Circular Dichroism Spectra to Estimate Protein Secondary Structure. *Nature Protocols*, 2006, 1: 2876-2890.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2006.202>
- 3 - **Rodger A, Norden B.** Circular Dichroism and Linear Dichroism. Oxford Chemistry Masters, 1997, p.1-30.
- 4 - **Barron LD.** Molecular Light Scattering and Optical Activity. Cambridge University Press, 2004.
- 5 - **Berova N, Nakanishi K, Woody RW.** Circular Dichroism: Principles and Applications, 2nd ed., New York, Wiley -VCH, 2000.
- 6 - **Greenfield NJ.** Methods to Estimate the Conformation of Proteins and Polypeptides from Circular Dichroism Data. *Anal. Biochem.*, 1996, 235: 1-10.
<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0084>
- 7 - **Chen GC, Yang JT.** Two-point Calibration of Circular Dichrometer with d-10- Camphorsulfonic Acid, *Anal. Lett.*, 1977, 10: 1195-207.
<https://doi.org/10.1080/00032717708067855>
- 8 - **Pescitelli G, Bruhn T.** Good Computational Practice in the Assignment of Absolute Configurations by TDDFT Calculations of ECD Spectra. *Chirality*. 2016, 28: 466-474.
<https://doi.org/10.1002/chir.22600>
- 9 - **Pescitelli G, Woody RW.** The Exciton Origin of the Visible Circular Dichroism Spectrum of Bacteriorhodopsin. *J. Phys. Chem. B.*, 2012, 116: 6751-6763.
<https://doi.org/10.1021/jp212166k>
- 10 - **Condon EU.** Theories of Optical Rotatory Power, *Rev. Mod. Phys.*, 1937, 9: 432-57.
<https://doi.org/10.1103/RevModPhys.9.432>
- 11 - **Norden B.** Applications of Linear Dichroism Spectroscopy. *Appl. Spectrosc. Rev.*, 1980, 16: 389-426.
<https://dx.doi.org/10.1080/05704927808060393>
- 12 - **Kelly SM, Jess TJ, Price NC.** How to Study Proteins by Circular Dichroism, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2005, 1751: 119-139.
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.06.005>
- 13 - **Berova N, Polavarapu PL, Nakanishi K, Woody RW.** Comprehensive Chiroptical Spectroscopy: Applications in Stereochemical Analysis of Synthetic Compounds, Natural Products and Biomolecules, Vol. 2, Wiley, 2012.
- 14 - **Stephens PJ.** Theory of Vibrational Circular Dichroism. *J. Phys. Chem.*, 1985, 89:748-752.
<https://doi.org/10.1021/j100251a006>
- 15 - **Goulon, J, Goulon-Ginet, C, Rogalev, AF, Gotte, V, Malgrange, C, Brouder, C, Natoli, CR.** X-ray Natural Circular Dichroism in a Uniaxial Gyrotropic Single Crystal of LiO₃. *J. Chem. Phys.* 1998, 108: 6394-6403.
<https://doi.org/10.1063/1.476046>
- 16 - **Rikken GLJA, Raupach E.** Observation of Magneto-Chiral Dichroism. *Nature*, 1997, 390(6659): 493-494.
<http://dx.doi.org/10.1038/37323>.
- 17 - **Bustamante C, Tinoco I, Maestre MF.** Circular Differential Scattering can be an Important Part of the Circular Dichroism of Macromolecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1985, 82: 7978-7982.
- 18 - **Morgon, NF, Custodio, R.** Teoria do Funcional de Densidade, *Quim. Nova*. 1995, 18: 44-56.
- 19 - **Ximenes VF, Morgon NH, Robinson de Souza A.** Solvent-Dependent Inversion of Circular Dichroism Signal in Naproxen: An Unusual Effect! *Chirality*, 2018, 30: 1049-1053. <http://dx.doi.org/10.1002/chir.22988>.
- 20 - **Grandini GS, Ximenes VF, Morgon NH, de Souza AR.** Induced Chirality in Sulfasalazine by Complexation With Albumins: Theoretical and Experimental Study, *Chirality*. 2024, 36: e23696.
<http://dx.doi.org/10.1002/chir.23696>.
- 21 - **Grandini GS, Morgon NH, de Souza AR.** Theoretical Study of the Interaction Between The Antibiotic Linezolid and the Active Site of the 50S Ribosomal Subunit of the Bacterium *Haloarcula marismortui*, *Chirality*, 2024, 36: e23629. <http://dx.doi.org/10.1002/chir.23629>.
- 22 - **Venturini D, de Souza AR, Caracelli I, Morgon NH, da Silva-Filho LC, Ximenes VF.** Induction of Axial Chirality in Divanillin by Interaction with Bovine Serum Albumin. *PLOS ONE* 12(6): e0178597.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0178597>.
- 23 - **de Vasconcelos DN, Lima AN, Philot EA, Scott AL, Ferreira Boza IA, de Souza AR, et al.** Methyl Divanillate: Redox Properties and Binding Affinity with Albumin of an Antioxidant and Potential NADPH Oxidase Inhibitor, *RSC Advances*, 2019, 9: 19983-19992.
<http://dx.doi.org/10.1039/c9ra02465d>.
- 24 - **Venturini D, Pastrello B, Zeraik ML, Pauli I, Andricopulo AD, Silva-Filho LC, et al.** Experimental, DFT and Docking Simulations of the Binding of Diapocynin to Human Serum Albumin: Induced Circular Dichroism. *RSC Advances*, 2015. 5: 62220-62228.
<http://dx.doi.org/10.1039/C5RA10960D>.
- 25 - **Sousa I, Heerdt G, Ximenes V, de Souza A, Morgon NH.** TD-DFT Analysis of the Dissymmetry Factor in Camphor. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2020, 31: 613-618.
<http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190226>.
- 26 - **Polavarapu PL.** Optical Rotation: Recent Advances in Determining the Absolute Configuration. *Chirality*, 2002, 14: 768-781. <http://dx.doi.org/10.1002/chir.10145>.

27 - **Raghavan V, Johnson JL, Stec DF, Song B, Zajac G, Baranska M, et al.** Absolute Configurations of Naturally Occurring [5]- and [3]- Ladderanoic Acids: Isolation, Chiroptical Spectroscopy, and Crystallography. *J. Nat. Prod.*, 2018, 81: 2654–2666.

<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00458>.

28 - **Gaussian 16**. Wallingford, CT: Gaussian, Inc.; 2016. Software para cálculos de química quântica.

<https://gaussian.com>.

29 - **Souza A, Boza I, Ximenes V, Yoguín M, Da vila-Rodriguez MJ, Morgon NH, et al.** Elucidación da quiralidade induzida na molécula dansilglicina na complexação com a proteína albumina do soro humano (HSA). *Quím. Nova*. 2019, 42: 135-142.

<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170341>.

30 - **T PL, Mondal M, Ramadas K, Natarajan S.** Molecular interaction of 2, 4- diacetylphloroglucinol (DAPG) with human serum albumin (HSA): The spectroscopic, calorimetric and computational investigation. *Spectrochim. Acta - Part A*, 2017, 183: 90–102.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2017.04.012>.