

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Debora Luana Monego

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIRRADICALAR DO
NEUROSPORENO: UM ESTUDO TEÓRICO**

Santa Maria, RS
2016

Debora Luana Monego

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIRRADICALAR DO NEUROSPORENO: UM ESTUDO TEÓRICO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento


Santa Maria, RS
2016

Debora Luana Monego

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIRRADICALAR DO NEUROSPORENO: UM ESTUDO TEÓRICO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovado em 23 de junho de 2016:



Paulo Cícero do Nascimento, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Marcos Antonio Villetti, Dr. (UFSM)



Sérgio Roberto Mortari, Dr. (Unifra)

Santa Maria, RS
2016

AGRADECIMENTOS

Apesar de somente o meu nome aparecer na capa deste trabalho, muitas pessoas contribuíram de alguma forma para sua realização. Devo meus agradecimentos a todas as pessoas que tornaram esta dissertação possível e que fizeram de meu mestrado um período inesquecível.

Meus mais sinceros agradecimentos vão para meus “orientadores”, Dr. Marcelo da Rosa, Dr. Leandro da Silva e Dr. Paulo do Nascimento. Obrigada por confiar-me a liberdade de explorar a ciência por mim mesma e, ao mesmo tempo, guiar-me quando me perdi. Vocês me ensinaram como questionar e expressar ideias. Sua paciência e suporte me ajudam a superar muitas situações de crise e a concluir o presente trabalho.

Obrigada aos professores Dr. Marcos Villetti e Dr. Robert Burrow pelas contribuições durante e após a defesa de qualificação. Suas considerações auxiliaram muito no processo de aprimorar meu conhecimento na área e a resolver os detalhes técnicos do meu trabalho.

Também sou grata aos colegas do LACHEM e do LeelMat, que não mediram esforços para me auxiliar nesta jornada, mesmo que com palavras de apoio. Agradecimentos especiais ao Guilherme Lorenset, que sempre tinha uma explicação lógica quando meus cálculos falhavam, enchendo-me de esperança.

Muitos amigos ajudaram-me a permanecer sã de espírito nestes últimos dois anos. Seu suporte e cuidado ajudaram-me a superar dificuldades e permanecer focada. Eu valorizo imensamente sua amizade e aprecio profundamente sua fé em mim.

Mais importante, nada disso teria sido possível sem o amor e a paciência do meu namorado e da minha família. Dedico este trabalho a eles, que foram constante fonte de amor, preocupação, suporte e força, e que por nenhum momento deixaram de acreditar em mim.

Finalmente, expresso meu agradecimento ao CNPq pelo apoio financeiro que proporcionou a realização deste estudo.

*You can't blame gravity for falling in love.
(Albert Einstein)*

RESUMO

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIRRADICALAR DO NEUROSPORENO: UM ESTUDO TEÓRICO

AUTORA: Debora Luana Monego
ORIENTADOR: Paulo Cícero do Nascimento

Carotenóides são pigmentos naturais conhecidos por serem precursores da vitamina A e por apresentarem importantes atividades biológicas, tais como atividade antioxidante. Neste estudo, a capacidade de captura de radicais livres do neurosporeno foi estudada e comparada à do licopeno, que é tido como o mais eficiente antioxidante de sua classe de compostos. Utilizou-se a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) combinada com o funcional B3LYP e a base 6-31G(d) para otimizar as estruturas moleculares das moléculas neutras em fase gasosa e calcular a energia da configuração mais estável das mesmas. Foi possível então calcular os parâmetros que regem a capacidade de desativar radicais livres através do mecanismo de transferência de elétrons, sendo eles a energia de ionização e a afinidade eletrônica. A partir destes valores, comparou-se o potencial antirradicalar apresentado pelo neurosporeno com o do licopeno. O neurosporeno apresentou menor capacidade antioxidante do que o licopeno, resultado que está de acordo com o esperado, visto que esta molécula possui um número menor de ligações duplas conjugadas. Entretanto, a pequena diferença entre eles mostra que o neurosporeno pode ser considerado um bom antioxidante. Os resultados indicam que a transferência de elétrons entre estes carotenóides e o ânion radical superóxido ocorre preferencialmente do radical para o carotenóide, devido à carga negativa do primeiro. Entretanto, estudos termodinâmicos são necessários para se ter uma melhor descrição desta reação e, com isso, prever sua ocorrência em organismos vivos.

Palavras-chave: Carotenóides. Atividade antioxidante. Neurosporeno. Transferência de elétrons. Teoria do funcional da densidade.

ABSTRACT

THE FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF NEUROSPORENE: A THEORETICAL STUDY

AUTHOR: Debora Luana Monego
ADVISOR: Paulo Cícero do Nascimento

Carotenoids are natural pigments known for being vitamin A precursors and for their important biological activities, such as antioxidant activity. In this study, the free radical scavenger capacity of neurosporene was evaluated and compared to the one of lycopene, which is the most efficient radical scavenger amongst carotenoids. The Density Functional Theory (DFT), combined with the B3LYP functional and 6-31G(d) basis set, were employed to optimize the geometries of the studied molecules in gas phase and to calculate their correspondent single-point energies. Thus, the ionization energy and the electron affinity were calculated in order to assess the antiradical capacity according to the electron transfer mechanism. From these values, neurosporene and lycopene's radical potentials were compared. Neurosporene presented lower antioxidant activity than lycopene, what was already expected due to the number of conjugated double bonds. Notwithstanding, neurosporene may still be considered a good free radical scavenger. The electron-transfer between neurosporene and the superoxide radical anion is more likely to occur with electrons being transferred from the free radical to the carotenoid, due to the negative charge of this radical. This interaction must be further evaluated and thermodynamic energies must be assessed to understand how it occurs *in vivo*.

Keywords: Carotenoids. Antioxidant activity. Neurosporene. Electron Transfer. Density Functional Theory.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Estrutura molecular básica dos carotenóides..... | 15 |
| Figura 2 – Estrutura molecular dos carotenóides licopeno e neurosporeno..... | 18 |
| Figura 3 – Representação gráfica da superfície de energia potencial e sua variação com o curso da reação..... | 19 |
| Figura 4 – Representação gráfica da cavidade onde a molécula de soluto se encontra envolta pelo solvente, que no modelo PCM é considerado uma meio dielétrico contínuo.... | 25 |
| Figura 5 – Mapa que determina a capacidade de uma molécula de doar e receber elétrons com relação a outra, através da relação entre a sua energia de ionização (EI) e afinidade eletrônica (AE)..... | 27 |
| Figura 6 – Comparação entre os formatos do orbital atômico 1s e das funções gaussianas e exponenciais. Observa-se que a função exponencial representa melhor o formato do orbital, principalmente nos seus limites..... | 29 |
| Figura 7 – Variação da energia (vermelho) e do gradiente máximo (preto) com o número de iterações..... | 31 |
| Figura 8 – Geometria otimizada da molécula de licopeno. Esta configuração molecular representa o estado de menor energia do sistema..... | 32 |
| Figura 9 – Geometria otimizada da molécula de neurosporeno. Esta configuração molecular representa o estado de menor energia do sistema..... | 32 |
| Figura 10 – Mapa (FEDAM) relacionando a energia de ionização e a afinidade eletrônica dos compostos avaliados. Elétrons são transferidos de espécies localizadas na extremidade inferior esquerda para espécies na extremidade superior direita..... | 34 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Concentração média de neurosporeno em diferentes fontes..... | 17 |
| Tabela 2 – Distâncias interatômicas em Å entre os carbonos dos compostos avaliados neste estudo..... | 33 |
| Tabela 3 – Valores de energia de ionização e afinidade eletrônica em eV para as espécies licopeno (LIC), neurosporeno (NP) e ânion radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$)..... | 34 |
| Tabela 1 – Valores de eletronegatividade (χ), dureza (η), potencial químico (μ) e índice eletrofilico (ω) (todos em eV) dos carotenóides licopeno e neurosporeno e do radical superóxido..... | 36 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------|--|
| EROs | Espécies Reativas de Oxigênio |
| EI | Energia de Ionização |
| AE | Afinidade Eletrônica |
| DFT | Teoria do Funcional de Densidade |
| ES | Equação de Schrödinger |
| SEP | Superfície de Energia Potencial |
| OA | Orbitais Atômicos |
| LCAO | Combinação Linear de Orbitais Atômicos |
| OM | Orbitais Moleculares |
| STO | Orbitais do tipo Slater |
| GTO | Orbitais do tipo Gaussiano |
| GGA | Aproximação de Gradiente Generalizado |
| PCM | Modelo do Contínuo Polarizável |
| FEDAM | <i>Full-electron Donor-Acceptor Map</i> |
| LIC | Licopeno |
| NP | Neurosporeno |
| SUP | Ânion Radical Superóxido |
| HPLC | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 15 |
| 2.1 | CAROTENÓIDES | 15 |
| 2.1.1 | Neurosporeno..... | 17 |
| 2.2 | INTRODUÇÃO À MECÂNICA QUÂNTICA..... | 18 |
| 2.2.1 | A equação de Schrödinger | 18 |
| 2.2.2 | Aproximação de Born-Oppenheimer | 19 |
| 2.2.3 | Superfície de energia potencial..... | 19 |
| 2.2.4 | Determinante de Slater | 20 |
| 2.2.5 | Conjunto de funções de base | 20 |
| 2.3 | TEORIA DO FUNCIONAL DE DENSIDADE (DFT) | 21 |
| 2.3.1 | Teorema de Hohenberg-Kohn..... | 21 |
| 2.3.2 | Equações de Kohn-Sham | 22 |
| 2.3.3 | Termo de troca e correlação: o funcional híbrido B3LYP | 23 |
| 2.4 | MODELO DO CONTÍNUO POLARIZÁVEL (PCM)..... | 24 |
| 2.5 | ESTUDO TEÓRICO DA CAPACIDADE ANTIRRADICALAR DE CAROTENÓIDES DE ACORDO COM O MECANISMO DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS | 25 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 29 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 31 |
| 4.1 | OTIMIZAÇÃO DA GEOMETRIA MOLECULAR..... | 31 |
| 4.2 | TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS..... | 34 |
| 5 | CONCLUSÃO | 37 |
| | REFERÊNCIAS | 39 |
| | APÊNDICE A – OPERADORES DIFERENCIAIS | 44 |
| | APÊNDICE B – ARQUIVOS DE ENTRADA | 46 |
| | APÊNDICE C – COORDENADAS CARTESIANAS DAS ESTRUTURAS DOS CAROTENÓIDES OTIMIZADAS | 52 |
| | ANEXO A - ARTIGO DE REVISÃO DOS MÉTODOS COMPUTACIONAIS NO ESTUDO DE CAROTENÓIDES COMO ANTIOXIDANTES | 56 |

1 INTRODUÇÃO

A geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) constitui um processo contínuo e fisiológico essencial para o cumprimento das funções biológicas aeróbicas do organismo, visto que estes radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons em diversas reações bioquímicas (BARBOSA et al., 2010, p. 629). Em situações normais, a produção de radicais livres nas células é baixa ($240 \mu\text{M s}^{-1} \text{O}_2^-$) (MITTLER, 2002, p. 405). Entretanto, existem diversos fatores que podem perturbar este equilíbrio e provocar a produção excessiva destas espécies reativas, tais como estresse salino, presença de metais pesados e radiação ultravioleta. Este desequilíbrio altera a capacidade do organismo de reparar os danos causados por estas espécies, sendo a principal causa do envelhecimento e de doenças degenerativas (FIMOGNARI, 2015, p. 1). A fim de limitar os níveis intracelulares de radicais livres, inúmeros mecanismos de defesa foram desenvolvidos pelo organismo, seja pela ação da própria célula ou pela presença de substâncias antioxidantes, tais como os carotenóides (MITTLER, 2002, p. 405).

O ânion radical superóxido está associado ao desenvolvimento de várias doenças ligadas ao estresse oxidativo, além de ser a fonte de outras EROs (GALANO; VARGAS; MARTÍNEZ, 2010, p. 193). Carotenóides, por outro lado, são pigmentos encontrados em plantas, algas e bactérias fotossintéticas, conferindo-lhes as suas colorações vermelha, laranja ou amarela características. Mais de 700 compostos deste tipo já foram identificados na natureza (RODRIGUES-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008), dos quais pelo menos 40 fazem parte da dieta humana, desempenhando papel fundamental na manutenção de diversas funções importantes, como a visão (LANDRUM; BONE, 2001, p. 28). Ainda, estes compostos são adicionados em alimentos por serem precursores da vitamina A, além de serem amplamente utilizados como corantes. Evidências sugerem que muitos carotenóides auxiliam na prevenção de doenças degenerativas, certos tipos de câncer e outras doenças provocadas pela presença de radicais livres (DELGADO-VARGASA; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000, p. 173).

O licopeno (Ψ, Ψ -caroteno) é um caroteno de coloração vermelha muito utilizado como aditivo em alimentos devido às suas propriedades corantes e funcionais (MORTENSEN, 2006, p. 1477). As principais fontes deste carotenóide para a dieta humana são o tomate e os produtos derivados do mesmo (AGARWAL; RAO, 2011, p. 189). A ingestão regular de

tomates previne a oxidação do LDL e reduz o risco de desenvolvimento de doenças coronárias (AGARWAL; RAO, 1998, p. 981).

Diversos estudos tem sido realizados com o objetivo de determinar a atividade antioxidante de carotenóides. Entretanto, a lista de compostos avaliados limita-se quase que exclusivamente a compostos amplamente encontrados nos alimentos (β -caroteno, licopeno, etc.) e compostos da mácula ocular (zeaxantina e luteína). Outros carotenóides menos abundantes ou não coloridos são pouco descritos na literatura e, apesar de apresentarem atividade antioxidante comprovada, não possuem suas propriedades e mecanismos de ação avaliados.

Um dos compostos pouco estudados é o neurosporeno (7,8-dihidro- Ψ , Ψ -caroteno), que atua como precursor para mais de 600 carotenóides e é comumente encontrado em pequenas quantidades em plantas e algas (RAMAPRASAD; SASIKALA; RAMANA, 2013, p. 1093). Este perfil é surpreendente, visto que o neurosporeno é facilmente encontrado no corpo humano: no plasma sanguíneo (KHACHIK et al., 1992, p. 2111), leite (KHACHIK et al., 1997, p. 1873) e tecidos do olho (BERNSTEIN et al., 2001, p. 215). Embora este composto não esteja comercialmente disponível, Sandmann, Kuhn & Böger (1998) demonstraram que ele apresenta proteção contra radiação UV-B, bem como atividade antioxidante, o que mostra a importância de entender sua ação frente a EROs.

A reação entre o carotenóide e a ERO pode ocorrer por três mecanismos diferentes: transferência de elétrons, adição de espécies radicalares e abstração do hidrogênio (YOUNG; LOWE, 2001, p. 20). A importância relativa dos diferentes caminhos reacionais depende de fatores como a natureza da ERO e a estrutura do carotenóide envolvidos (EVERETT et al., 1996, p. 3988; WOODALL; BRITTON; JACKSON, 1997, p. 575). Neste trabalho será avaliado apenas o mecanismo de transferência de elétrons, visto que, a princípio, esta reação determina a capacidade antirradicalar do carotenóide. A principal diferença entre o licopeno e o neurosporeno é o número de ligações duplas conjugadas. A presença destas ligações afeta suas propriedades de absorção de luz e atividade oxidante, visto que são elas que determinam seu estado tripleto de mais baixa energia (STAHL; SIES, 2005, p. 101).

Este trabalho tem como objetivo discutir a transferência de elétrons entre o neurosporeno e o radical superóxido e, através de simulações computacionais, avaliar sua atividade antioxidante, comparando-a com a do licopeno. Serão calculadas a energia de ionização vertical (EI) e a afinidade eletrônica vertical (AE) para as duas moléculas e será construído um mapa relacionado sua capacidade doadora e aceptora de elétrons.

Adicionalmente, índices de reatividade importantes, tais como a eletronegatividade e a dureza destes compostos serão calculados a fim de melhor descrever a transferência de elétrons eles e o ânion radical superóxido.

Os cálculos serão realizados utilizando o software GAMESS. Inicialmente, serão propostas estruturas para as moléculas estudadas e serão realizados cálculos de otimização de geometria e frequências. Estas operações serão realizadas por teoria do funcional de densidade (DFT, do inglês *Density Functional Theory*), utilizando B3LYP como funcional e a base 6-31G(d), visto que estas condições já foram testadas para moléculas semelhantes e geraram resultados satisfatórios (CERÓN-CARRASCO et al., 2010, p. 4366; GUIDO et al., 2013, p. 2209). As energias das moléculas já otimizadas serão então aprimoradas por cálculos de energia *single-point* utilizando a base 6-311+G(d,p), que considera um maior número de funções e por isso gera resultados mais exatos.

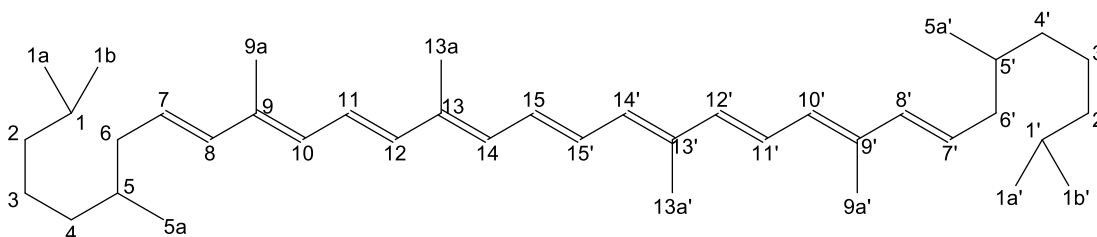
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CAROTENÓIDES

Carotenóides são isoprenóides biossintetizados pela união de duas moléculas de geranylgeranyl-difosfato de 20 carbonos cada, formando um esqueleto C₄₀, do qual todas as moléculas derivam. A modificação deste esqueleto pode ocorrer por ciclização nas extremidades da molécula, mudanças no nível de hidrogenação e pela adição de grupos funcionais. Os carotenóides que possuem um ou mais átomos de oxigênio são conhecidos como xantofilas, e os hidrocarbonetos originais como carotenos. Na nutrição humana, estas moléculas constituem as fontes majoritárias de retinol, além de apresentar atividade provitamina A e desempenharem uma importante função como antioxidantes (KRINSKY, 1989, p. 617; LACHANCE, 1988, p. 118). Devido a este potencial antioxidante, uma dieta rica em carotenóides está associada à redução no risco de desenvolvimento de inúmeras doenças causadas pelo estresse oxidativo, como vários tipos de câncer e doenças oftalmológicas e cardiovasculares (KRINSKY, 1988, p. 107; MAYNE, 1996, p. 690; PETO et al., 1981, p. 201).

A estrutura dos carotenóides é caracterizada pela longa cadeia de ligações duplas conjugadas, na qual os elétrons π se encontram efetivamente deslocalizados (Figura 1). Esta característica é responsável pela estrutura molecular, reatividade química e propriedades de absorção de radiação, determinando, portanto, a coloração dos carotenóides (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995, p. 126)

Figura 1. Estrutura molecular básica dos carotenóides.



Fonte: Estruturas produzidas com o software KnowItAll Academic Edition da Bio-Rad.

Além disso, outras propriedades estruturais estão relacionadas à função antioxidante desempenhada pelos carotenóides, são elas: 1) presença de vários níveis de energia pouco

espaçados entre os estados fundamental e excitado, de modo que o carotenóide dissipe facilmente a energia do estado excitado via pequenas colisões com as moléculas do solvente, 2) baixa tendência do estado excitado do carotenóide de excitar outras moléculas, 3) presença de estados de ressonância no estado excitado do carotenóide, proporcionando uma deslocalização e estabilização do mesmo, e 4) presença de inúmeros sítios potenciais de ataque pelo radical livre (HANDELMAN, 1996, p. 259). *In vivo*, os carotenóides são comumente encontrados em membranas. Sua elevada estabilidade está diretamente relacionada a sua interação com outras moléculas, como as proteínas, por exemplo, que atuam mantendo o carotenóide na posição correta com relação às outras moléculas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995, p. 126). A associação com proteínas (carotenoproteínas) também possibilita a solubilidade destes compostos em água, visto que os carotenóides são moléculas lipossolúveis quando isoladas (LITVAK, 1960).

Os carotenóides podem interagir quimicamente com EROs por três mecanismos diferentes (esquematizados nas equações 2.1, 2.2 e 2.3): transferência de elétrons, remoção de íons de hidrogênio ou adição de espécies radicalares. Todos estes mecanismos ocorrem em paralelo no processo de desativação do radical livre pelo carotenóide. A importância relativa dos mesmos dependerá das propriedades químicas dos reagentes (carotenóide e radical) e da polaridade do solvente no qual a reação acontece (EVERETT et al., 1996, p. 3988; WOODALL; BRITTON; JACKSON, 1997, p. 575).



Estes compostos são geralmente estudados por métodos cromatográficos e espectrométricos, o que impõe limitações no que diz respeito a fatores importantes que podem influenciar suas funções biológicas, tais como solubilidade e efeitos sinérgicos (BÖHM et al., 1998, p. 387; YOUNG; LOWE, 2001, p. 20). Ainda, o elevado tamanho molecular dos carotenóides restringe muitos desses estudos a avaliações de nível semi-empírico. O uso da química computacional na análise de carotenóides surge como uma alternativa muito útil, pois proporciona uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nestas funções, aumentando a precisão da previsão de suas ações *in vivo*.

Apesar de os três mecanismos citados acima acontecerem em paralelo, o mecanismo de transferência de elétrons é o que determina, na prática, a capacidade antirradicalar dos carotenóides. Baseando-se nisso, optou-se por discutir e avaliar somente este mecanismo neste

trabalho. As seções 2.2 e 2.3 trazem uma breve introdução à mecânica quântica e à teoria do funcional de densidade a fim de facilitar a compreensão de suas aplicações ao estudo destas moléculas.

2.1.1 Neurosporeno

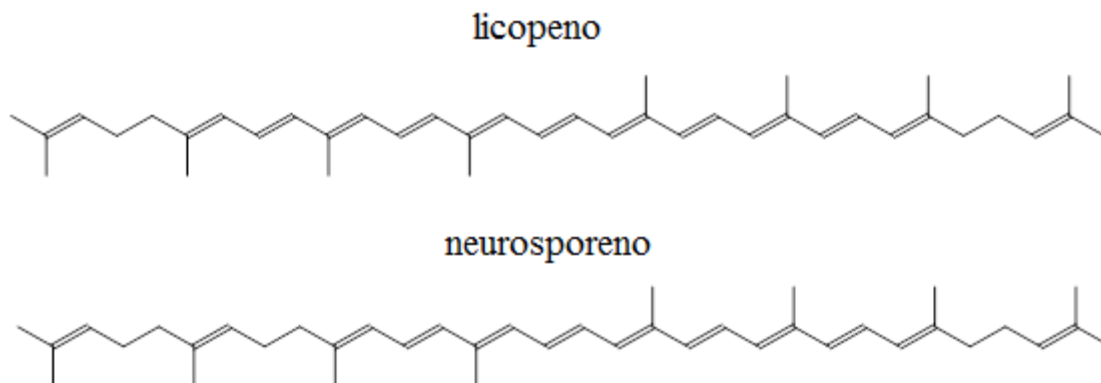
O neurosporeno (7,8-dihidro- Ψ,Ψ -caroteno) (Figura 2) é um tetra-terpenóide de coloração amarela-escura, isolado pela primeira vez como componente majoritário do fungo *Neurospora crassa* (HAXO, 1949, p. 400). Além de ser precursor na síntese de mais de 600 carotenóides, o neurosporeno tem seu consumo recomendado, visto que protege contra a radiação UV-B e possui ação antioxidante (SANDMANN; KUHN; BÖGER, 1998, p. 1972).

O neurosporeno também é encontrado em pequenas quantidades em plantas, algas, outras espécies de fungos e bactérias (Tabela 1). No corpo humano, este carotenóide encontra-se presente no plasma sanguíneo, leite e tecidos do olho (BERNSTEIN et al., 2001, p. 215; KHACHIK et al., 1992, p. 2111, 1997, p. 1873). Como os carotenóides não são sintetizados pelo organismo e devido ao fato de que o neurosporeno não está disponível comercialmente, o consumo de fontes naturais deste composto torna-se indispensável, dada sua ação comprovada.

Tabela 1. Concentração média de neurosporeno em diferentes fontes.

| Fonte de neurosporeno | Concentração detectada (Matéria seca) | Referência |
|--|--|---|
| PLANTAS: tomate, carambola, <i>Sinton citrangequat</i> | 1,2 – 5,8 µg/g | GROSS; IKAN; ECKHARDT, 1983, p. 1479; RAYMUNDO; CHICHESTER; SIMPSON, 1976, p. 59; YOKOYAMA; COGGINS; HENNING, 1971, p. 1831 |
| FUNGOS: espécies das famílias <i>Helvellaceae</i> e <i>Morchellaceae</i> | 0,1 – 0,22 µg/g | (CZECZUGA, 1979, p. 225) |
| BACTÉRIAS: cianobactérias, <i>Rhodobacter viridis</i> JA737 | 7,0 – 7,3 mg/g | (RAMAPRASAD; SASIKALA; RAMANA, 2013, p. 1093) |

Figura 2. Estrutura molecular dos carotenóides licopeno e neurosporeno.



Fonte: Estruturas produzidas com o software KnowItAll Academic Edition da Bio-Rad.

2.2 INTRODUÇÃO À MECÂNICA QUÂNTICA

2.2.1 A equação de Schrödinger

Neste trabalho, tem-se o interesse de resolver a equação de Schrödinger (ES) independente do tempo, para N elétrons, em um regime não relativístico, para as moléculas dos carotenóides e do radical livre:

$$\hat{H}\Psi_n = E_n\Psi_n \quad , \quad (2.4)$$

onde \hat{H} é o operador hamiltoniano eletrônico, Ψ_n são as autofunções ou auto-estados, e E_n as energias correspondentes.

O operador hamiltoniano eletrônico pode ser escrito como:

$$\hat{H} = \frac{1}{2} \sum_{A \neq B}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} - \frac{1}{2} \sum_i^N \nabla_i^2 - \sum_i^N \sum_A^M \frac{Z_A}{r_{Ai}} + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad , \quad (2.5)$$

onde N é o número de elétrons, M é o número de núcleos, Z_A é a carga do núcleo A , R_{AB} é a distância entre os núcleos A e B , r_{ij} é a distância entre os dois elétrons i e j e r_{Ai} é a distância entre o núcleo A e o elétron i . Esta equação compreende o operador da energia potencial repulsiva núcleo-núcleo, o operador de energia cinética eletrônica, o operador referente à atração núcleo-elétron e o operador da energia potencial repulsiva elétron-elétron. O significado de outros operadores importantes, como o Laplaciano (∇^2) presente na equação 2.5, pode ser encontrado no Apêndice A deste trabalho.

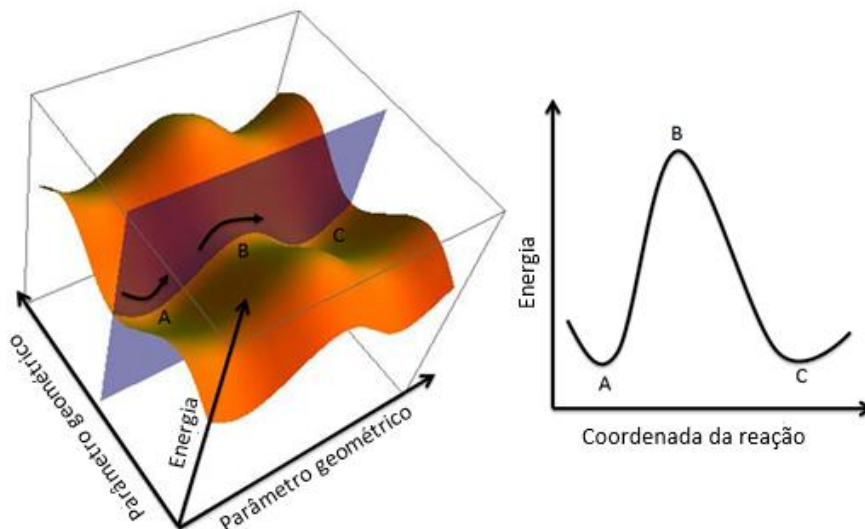
2.2.2 Aproximação de Born-Oppenheimer

Embora o estado de muitas partículas dependa de todas as partículas envolvidas (neste caso, núcleos e elétrons), os núcleos possuem massa muito maior que a dos elétrons (três ou mais ordens de magnitude) e, portanto, suas transições no espaço são muito mais lentas. Baseando-se nisso, a aproximação de Born-Oppenheimer (BORN; OPPENHEIMER, 1927, p. 457) define que o estado eletrônico do sistema é independente do movimento dos núcleos, dependendo somente de suas posições. É importante notar que, embora esta aproximação introduza erros muito baixos para a maioria dos sistemas (JENSEN, 2007), ela falha quando duas soluções da ES se aproximam energeticamente.

2.2.3 Superfície de energia potencial

A superfície de energia potencial (SEP) (Figura 3) é gerada pela equação de onda eletrônica e corresponde à superfície onde se dá o movimento do núcleo. O conhecimento da SEP é muito importante no estudo de moléculas e da interação entre elas. Um ponto estacionário na SEP pode ser um mínimo ou um ponto de sela. Ambas situações apresentam particular importância, visto que o primeiro permite calcular diversas propriedades químicas, como propriedades elétricas e magnéticas, e o segundo representa estruturas de transição, sendo fundamental para o estudo das barreiras energéticas de reações, por exemplo.

Figura 3. Representação gráfica da superfície de energia potencial e sua variação com o curso da reação.



2.2.4 Determinante de Slater

Os sistemas eletrônicos discutidos neste trabalho são compostos por férmions (partículas de spin semi-inteiro) idênticos e, portanto, a sua função de onda deve ser antissimétrica com respeito à troca de quaisquer dois elétrons (princípio de Pauli). Uma das formas mais simples de escrever a função de onda sem violar este princípio é utilizando os determinantes de Slater $|SD\rangle$, que são combinações lineares antissimetrizadas dos produtos das funções de um elétron:

$$|SD\rangle = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \Phi_1(\mathbf{r}_1) & \Phi_1(\mathbf{r}_2) & \dots & \Phi_1(\mathbf{r}_N) \\ \Phi_2(\mathbf{r}_1) & \Phi_2(\mathbf{r}_2) & \dots & \Phi_2(\mathbf{r}_N) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \Phi_N(\mathbf{r}_1) & \Phi_N(\mathbf{r}_2) & \dots & \Phi_N(\mathbf{r}_N) \end{vmatrix} \quad (2.6)$$

onde $\Phi_i(r)$ representam os spin-orbitais para um elétron e dependem de três coordenadas espaciais e da coordenada de spin, sendo chamados assim pois são o produto entre os orbitais $\phi_i(x)$ e as funções de spin $\sigma(s)$.

2.2.5 Conjunto de funções de base

Os orbitais podem ser expandidos em uma base $\{\chi_a\}$ de funções tridimensionais, como segue:

$$\phi_i(x) = \sum_a C_{ai} \chi_a(x) \quad (2.7)$$

As funções de base $\{\chi_a\}$ são denominadas orbitais atômicos (OAs), e esta expansão é conhecida como combinação linear de orbitais atômicos (LCAO, *linear-combination of atomic-orbitals*). Os coeficientes C_{ai} são os coeficientes de orbital molecular (OM). O conjunto de todos os OAs forma o conjunto de funções de base, que é composto por funções exponenciais (STO – *Slater Type Orbitals*) ou por funções gaussianas (GTO – *Gaussian Type Orbitals*), dependendo da abordagem. Para cálculos *ab initio* de moléculas poliatômicas, como as estudadas neste trabalho, as bases GTO produzem resultados comprovadamente satisfatórios (HUZINAGA, 1985, p. 281).

2.3 TEORIA DO FUNCIONAL DE DENSIDADE (DFT)

A determinação das propriedades do estado fundamental de um sistema de muitos corpos é um dos problemas fundamentais da mecânica quântica e é formulado em termos da solução da ES. A função de onda, entretanto, depende de $3N$ variáveis espaciais, sendo N o número de elétrons do sistema. Este procedimento é adequado somente para sistemas que não possuem um número muito elevado de elétrons interagentes ($N < O(10)$) (KOHN, 1999, p. 1253).

O objetivo da teoria do funcional de densidade é substituir a função de onda de muitos corpos pela função de densidade eletrônica ($\rho(r)$), a qual depende apenas de três coordenadas espaciais. Além de ser muito empregada no estudo de novos materiais, a DFT pode ser utilizada para prever uma grande variedade de propriedades, tais como estrutura molecular, energia de atomização, caminho de reação, entre outras. Logo, além de constituir uma importante ferramenta teórica, este tipo de simulação pode ser empregado em conjunto com a análise experimental, complementando e confirmando os resultados obtidos (LI, 2009).

2.3.1 Teorema de Hohenberg-Kohn

A teoria do funcional de densidade surgiu em 1964, com o trabalho de Hohenberg e Kohn (HOHENBERG; KOHN, 1973, p. B864). Os dois resultados importantes deste estudo foram: (i) o potencial externo $v(r)$ experimentado pelos elétrons do sistema é um funcional único de $\rho(r)$, exceto por uma constante trivial aditiva; e (ii) qualquer densidade diferente do

estado fundamental $\rho'(r) \neq \rho_0(r)$ conduzirá a uma energia $E[\rho'(r)]$ maior do que a energia do estado fundamental $E[\rho'(r)] > E_0[\rho_0(r)]$.

O primeiro resultado foi provado pelos autores usando o princípio do *reductio ad absurdum*, considerando que o estado fundamental não é degenerado. Inicialmente, considera-se elétrons dentro de uma caixa influenciados por um potencial externo $v(r)$ e assume-se que a densidade eletrônica do sistema é conhecida e determina $v(r)$ e, portanto, todas as propriedades do sistema. Se existir outro potencial $v'(r)$ que difere de $v(r)$ por mais de uma constante e que resulta na mesma densidade eletrônica $\rho(r)$ para o estado fundamental, existirão dois hamiltonianos diferentes \hat{H} e \hat{H}' , que possuem mesma densidade eletrônica do estado fundamental, porém funções de onda normalizadas Φ e Φ' diferentes. Ou seja:

$$E_0 < \langle \Phi' | \hat{H} | \Phi' \rangle = \langle \Phi' | \hat{H}' | \Phi' \rangle + \langle \Phi' | \hat{H} - \hat{H}' | \Phi' \rangle \\ E_0' + \int \rho(r)[v(r) - v'(r)]dr \quad , \quad (2.8)$$

onde E_0 e E_0' são as energias do estado fundamental para \hat{H} e \hat{H}' , respectivamente. Da mesma forma:

$$E_0' < \langle \Phi | \hat{H} | \Phi \rangle = \langle \Phi | \hat{H}' | \Phi \rangle + \langle \Phi | \hat{H} - \hat{H}' | \Phi \rangle \\ E_0 - \int \rho(r)[v(r) - v'(r)]dr \quad . \quad (2.9)$$

Somando-se as equações 2.8 e 2.9, tem-se que

$$E_0 + E_0' < E_0' + E_0 \quad , \quad (2.10)$$

o que é obviamente uma contradição. Portanto, não existem dois potenciais diferentes que resultam na mesma densidade eletrônica.

É possível escrever a energia E como uma função explícita da densidade eletrônica $\rho(r)$:

$$E(\rho) = T(\rho) + T_{ne}(\rho) + V_{ee}(\rho) \\ \int \rho(r)v(r)dr + F_{HK}(\rho) \quad , \quad (2.11)$$

onde $F_{HK}(\rho) = T(\rho) + V_{ee}(\rho)$. F_{HK} depende somente de ρ e não do potencial externo $v(r)$ e é, por isso, um funcional universal de ρ .

O segundo resultado torna possível o uso do princípio variacional para determinar a densidade eletrônica do estado fundamental. Pela minimização da energia, tem-se que:

$$E_0(\rho_0) \leq E_v(\rho) \quad , \quad (2.12)$$

onde $E_v(\rho)$ é o funcional da energia da equação 2.11.

Considera-se a função de onda do estado fundamental Φ e sua densidade eletrônica ρ correspondente, que, como já demonstrado, define o potencial externo $v(r)$. Se existir outra

função de onda Φ' , diferente de Φ , com densidade eletrônica ρ' , segue que:

$$\langle \Phi' | \hat{H} | \Phi' \rangle = \int \rho'(r) v(r) dr + F_{HK}(\rho') = E(\rho') \geq E(\rho) \quad (2.13)$$

Portanto, a energia será mínima somente quando a densidade eletrônica for a do estado fundamental.

2.3.2 Equações de Kohn-Sham

Ainda que o teorema de Hohenberg-Kohn tenha provado que a energia total do sistema pode ser obtida pela densidade eletrônica no estado fundamental, não se conhecia uma forma de determinar $\rho(\mathbf{r})$ e F_{HK} (equação 2.11). Em 1965, Kohn e Sham publicaram o trabalho que tornava possível a aplicação prática da DFT (KOHN; SHAM, 1965, p. 1133). Através da introdução da ideia de orbitais eletrônicos e considerando que a energia cinética do sistema poderia ser aproximada pela energia cinética de elétrons não-interagentes, surgiu a equação principal da DFT de Kohn-Sham:

$$\left(\frac{-1}{2} \nabla^2 + v(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|} dr' + v_{xc}(r) \right) \phi_i = \varepsilon \phi_i \quad , \quad (2.14)$$

que equivale à ES para um elétron. ϕ são os orbitais de Kohn-Sham, a densidade eletrônica é dada por:

$$\rho(r) = \sum_i^N |\phi_i|^2 \quad , \quad (2.15)$$

e ε é a energia do orbital de Kohn-Sham. A soma dos termos do lado esquerdo da equação 2.14, que correspondem à energia cinética do sistema de referência não-interagente, ao potencial externo, ao potencial de Hartree, e ao potencial de troca e correlação, respectivamente, pode ser definida como o potencial efetivo (v_{ef}). O termo $v_{xc}(r)$ pode ser expresso como:

$$v_{xc}(r) = \frac{\delta E_{xc}(\rho)}{\delta \rho(r)} \quad , \quad (2.16)$$

onde $E_{xc}(\rho)$ é o funcional de troca e correlação.

Ao resolver-se esta equação, através de um processo iterativo, obtém-se a energia total do sistema, que é igual a:

$$E = \sum_i^N \varepsilon_i - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} dr dr' + E_{xc}(\rho) - \int v_{xc}(r)\rho(r) dr \quad (2.17)$$

As equações 2.14, 2.15 e 2.16 são as equações de Kohn-Sham. Como, de acordo com a equação 2.12, (v_{ef}) depende de $\rho(r)$, a solução deve ser obtida por um processo recursivo. Logo, inicia-se com uma estimativa da densidade eletrônica e calcula-se o potencial efetivo

v_{ef} , construindo-se os orbitais de Kohn-Sham. A partir desses orbitais, uma nova densidade eletrônica pode ser obtida (equação 2.15). O processo é repetido até a convergência, quando finalmente a energia pode ser calculada (equação 2.17). Infelizmente, não é possível obter a energia e a densidade eletrônica do estado fundamental com exatidão, visto que o termo $E_{xc}(\rho)$ não pode ser determinado, dadas as aproximações iniciais.

2.3.3 Termo de troca e correlação: o funcional híbrido B3LYP

Os funcionais híbridos unem o termo de troca da teoria de Hartree-Fock, que é exato, ao tratamento convencional de troca e correlação da DFT, que utiliza aproximações. O funcional híbrido mais utilizado na química quântica é o B3LYP, visto que fornece resultados exatos para uma grande variedade de propriedades químicas. A energia de troca e correlação calculada utilizando o funcional B3LYP pode ser escrita como uma combinação do termo de troca de Becke (B88) (BECKE, 1988, p. 3098), advindo do método de Hartree-Fock, com o termo de correlação de Lee-Yang-Parr (LYP) (LEE; YANG; PARR, 1988, p. 785), que são funcionais de aproximação de gradiente generalizado (GGA). Dos três parâmetros utilizados para escrever a energia de acordo com o funcional B3LYP, dois podem ser eliminados, gerando a seguinte equação:

$$E_{xc} = E_{xc-GGA} + a(E_{x-HF} - E_{x-GGA}) \quad . \quad (2.18)$$

A constante a é determinada com base na teoria da perturbação (PERDEW; BURKE; ERNZERHOF, 1996, p. 3865) e é igual a $\frac{1}{4}$.

2.4 MODELO DO CONTÍNUO POLARIZÁVEL (PCM)

Modelos contínuos consideram o solvente como um meio dielétrico contínuo caracterizada por uma constante dielétrica ϵ , enquanto que a molécula de soluto localizada no interior de uma cavidade preenchida por este meio (Figura 4) é descrita pela mecânica quântica.

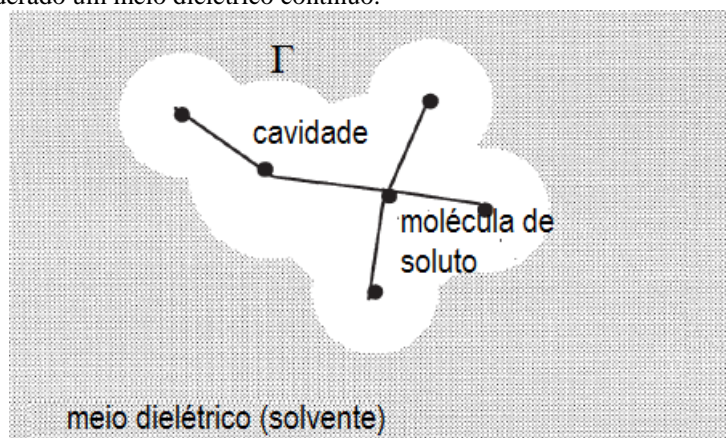
No modelo do contínuo polarizável (PCM, *polarizable continuum model*) (CAMMI; TOMASI, 1995, p. 1449), o solvente é descrito de maneira implícita por uma cavidade que circunda o soluto. As equações de Poisson a seguir descrevem as interações eletrostáticas entre o soluto e o solvente dentro (2.19) e fora (2.20) da cavidade:

$$\nabla^2 V(\mathbf{r}) = 4\pi\rho(\mathbf{r}) \quad (2.19)$$

$$-\epsilon\nabla^2 V(\mathbf{r}) = 0 \quad (2.20)$$

$V(\mathbf{r})$ é o potencial eletrostático gerado pela densidade de carga dentro da cavidade e $\rho(\mathbf{r})$ é a densidade eletrônica do solvente.

Figura 4. Representação gráfica da cavidade onde a molécula de soluto se encontra envolta pelo solvente, que no modelo PCM é considerado um meio dielétrico contínuo.



2.5 ESTUDO TEÓRICO DA CAPACIDADE ANTIRRADICALAR DE CAROTENÓIDES DE ACORDO COM O MECANISMO DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS

Carotenóides são capazes de capturar radicais livres através da doação ou do recebimento de elétrons desemparelhados (BURTON; INGOLD, 1984, p. 569; EDGE; MCGARVEY; TRUSCOTT, 1997, p. 189; GALANO, 2007; MARTÍNEZ; VARGAS; GALANO, 2009, p. 12113; MORTENSEN; SKIBSTED; TRUSCOTT, 2001, p. 13; MORTENSEN et al., 1997, p. 91; POLYAKOV et al., 2001, p. 43). Esta ação previne o dano

oxidativo pela oxidação ou redução de radicais livres. Portanto, para avaliar o potencial antirradicalar de um carotenóide em termos deste mecanismo, é necessário considerar o seu potencial de oxidação e de redução, o que é feito pela determinação da energia de ionização (EI) e da afinidade eletrônica (AE), respectivamente (GALANO, 2007, p. 12898). Moléculas com baixa EI são mais facilmente oxidáveis. Por outro lado, valores positivos e elevados de AE caracterizam moléculas com grande capacidade de receber elétrons, sendo portanto mais facilmente reduzidas. Conseqüentemente, moléculas com maior efeito antirradicalar possuem baixas EI e altas AE.

A EI adiabática de um sistema com n elétrons pode ser calculada como a diferença de energia entre a espécie iônica com $(n-1)$ elétrons, calculada em uma geometria g_{n-1} , e a espécie neutra, calculada em uma geometria g_n . Da mesma forma, a AE adiabática é a diferença de energia entre a espécie iônica com $(n+1)$ elétrons e a espécie neutra, ambas calculadas nas respectivas geometrias de menor energia. Assim, para calcular os parâmetros adiabáticos de um sistema, duas otimizações de energia são necessárias, de modo que os resultados consideram a relaxação da molécula iônica após a transferência de carga. Neste contexto, uma aproximação conhecida como EI vertical (e AE vertical) é utilizada, sendo obtida quando somente uma otimização de geometria é realizada, isto é, assumindo que todas as espécies (iônicas e neutra) apresentam configuração nuclear do estado fundamental igual à da molécula neutra.

Acredita-se que a transferência de elétrons em carotenóides aconteça predominantemente por tunelamento, devido ao sistema conjugado dos mesmos (RAMACHANDRAN et al., 2003, p. 6162). Além disso, os elétrons movimentam-se significativamente mais rápido do que os núcleos e, por isso, espera-se que este processo aconteça muito rapidamente. Como resultado, pode-se considerar que as transições eletrônicas ocorram em posições fixas, as quais não tem tempo para relaxar no momento da transferência. Então, EI vertical pode ser considerada como um limite superior da barreira energética de ativação da reação, representando um critério mais adequado para prever qual carotenóide irá transferir elétrons para outra espécie mais facilmente. A mesma análise pode ser aplicada para a AE.

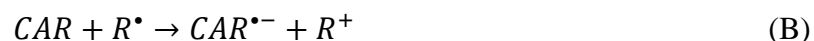
Galano (2007) mostrou que diferenças energéticas calculadas como verticais são adequadas para avaliar o potencial antirradicalar de carotenóides. O autor comparou a ordem de reatividade de 9 carotenóides (em termos da facilidade em oxidar-se), calculadas como verticais, utilizando a metodologia DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) com dados experimentais

(EDGE et al., 1998, p. 4087; MORTENSEN et al., 1997, p. 91). Os resultados concordaram completamente, o que não foi observado quando energias adiabáticas eram consideradas. Quando muitos sistemas diferentes são estudados, a possibilidade de não se otimizar todas as geometrias representa um ganho significativo em termos de custo computacional.

O mapa que relaciona a capacidade de doar e receber elétrons (FEDAM, do inglês *full-electron donor-acceptor map*), que foi introduzido por Martínez e colegas (GALANO; VARGAS; MARTÍNEZ, 2010, p. 193; MARTÍNEZ; VARGAS; GALANO, 2009, p. 12113; MARTÍNEZ et al., 2008, p. 9037), é uma ferramenta importante quando se investiga o processo de transferência de elétrons entre carotenóides e radicais livres. O FEDAM é uma representação gráfica da EI contra a AE (Figura 5), que fornece informação qualitativa a respeito da capacidade de doar e receber elétrons de uma molécula. Elétrons são transferidos por moléculas localizadas na região 3 do mapa (boas doadoras de elétrons) para aquelas localizadas na região 1 (boas receptoras). Se a capacidade de receber elétrons do carotenóide é menor do que a do radical livre, espera-se que ele esteja localizado na região que compreende os bons doadores no mapa. Neste caso, o mecanismo dominante é



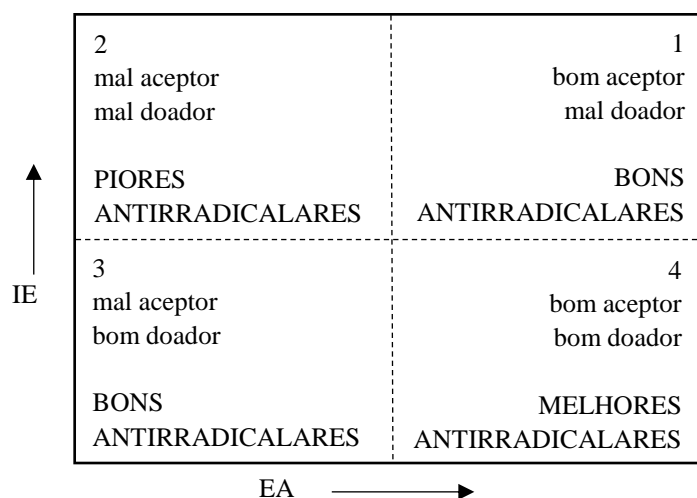
Esta situação ocorre para a maioria dos radicais livres, mas algumas destas espécies são melhores doadoras de elétrons do que os carotenóides (por exemplo, R-C e R-N) e, ao invés de receber elétrons como na reação A, são desativadas através da perda de elétrons, os quais são absorvidos pelo carotenóide de acordo com a reação



Desta forma, a localização do radical livre no FEDAM é de suma importância, visto que a capacidade de doar ou receber elétrons desta espécie parece ser o fator dominante na determinação de qual mecanismo será preferido (GALANO; VARGAS; MARTÍNEZ, 2010, p. 193)

Os autores também avaliaram a validade dos resultados previstos pelo FEAM, a qual foi confirmada pela comparação com os valores de energia livre de Gibbs. É importante salientar que este gráfico fornece informação acerca da capacidade relativa de uma molécula de receber ou doar elétrons (isto é, com relação a outra molécula). Portanto, não há razão para se esperar que os dados sigam qualquer tipo de relação matemática, visto que somente as posições relativas de duas espécies no mapa são importantes.

Figura 5. Mapa que determina a capacidade de uma molécula de doar e receber elétrons com relação a outra, através da relação entre a sua energia de ionização (EI) e afinidade eletrônica (EA).



Fonte: Adaptado de (MARTÍNEZ; VARGAS; GALANO, 2009, p. 12113)

Diferentes funcionais e conjuntos de funções de base foram empregados em conjunto com o formalismo da DFT para analisar carotenóides. Galano (2007) obteve melhora significativa na relação quantitativa entre dados experimentais e valores previstos teoricamente através da mudança no conjunto de funções de base de 6-31F(d,p) para 6-311++G(d,p), devido ao fato de que o último inclui funções difusas. Martínez et al. (2008), por outro lado, avaliaram a influência da base nos valores relativos de EI e AE, pela comparação dos valores obtidos neste estudo para 6 carotenóides, utilizando a metodologia BPW91/D95V (TUNNING; HAY, 1977), com os resultados obtidos por Galano (2007). Eles obtiveram resultados muito semelhantes e concluíram que os valores relativos dos índices de reatividade não dependem do funcional e/ou da base empregados. Portanto, como a utilização de um maior conjunto de funções de base nem sempre é viável a um custo computacional razoável devido ao tamanho molecular consideravelmente grande dessas moléculas, o uso de um conjunto menor de funções representa uma escolha racional quando apenas relações qualitativas são avaliadas.

Outro importante fator a ser considerado no estudo da transferência de elétron é a polaridade do solvente no qual a reação acontece. As contribuições do solvente são geralmente incluídas, como já citado, pelo modelo PCM, e água e benzeno são frequentemente empregados na simulação de solventes com alta e baixa polaridade, respectivamente. Apesar de o solvente também não influenciar nas posições relativas dos

carotenóides no FEDAM (GALANO, 2007, p. 12898; MARTÍNEZ et al., 2008, p. 9037), demonstrou-se que os valores absolutos da EI e da AE são afetados por este fator (MARTÍNEZ; VARGAS; GALANO, 2009, p. 12113). Os autores observaram que a reação de transferência de elétrons é favorecida pela presença de solvente, independentemente da polaridade do mesmo, e que as moléculas estudadas eram melhores aceptoras de elétrons em água do que em benzeno.

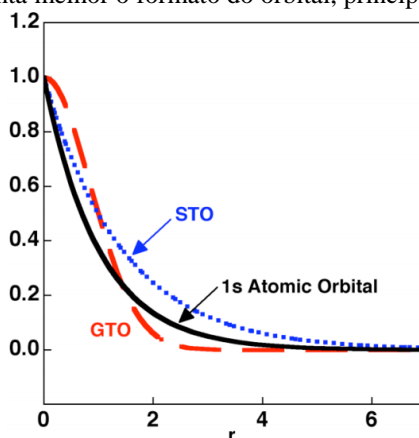
Este trabalho gerou um artigo de revisão que contemplou, além dos estudos computacionais relativos ao mecanismo de transferência de elétrons, estudos avaliando os demais mecanismos: captura de oxigênio singleto, abstração de hidrogênio e formação de aduto pela adição do radical livre. Este artigo encontra-se disponível no Anexo A.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O procedimento geral de todas as simulações realizadas neste trabalho baseia-se em um método recursivo de primeiros princípios (*ab initio*). O programa utilizado foi o GAMESS (SCHMIDT et al., 1993, p. 1347), e o trabalho foi desenvolvido no ambiente Cenapad SP – Unicamp.

Inicialmente, a geometria das moléculas de neurosporeno e licopeno na configuração neutra foram otimizadas em fase gasosa, sem fixar nenhuma coordenada, a fim de obter uma melhor descrição da configuração molecular destas espécies. Esta operação foi realizada no âmbito da DFT, utilizando o funcional B3LYP em combinação com a base 6-31G(d). Como já discutido, o funcional híbrido B3LYP fornece bons resultados, reproduzindo adequadamente as propriedades química de um sistema. Apesar das funções exponenciais simularem com maior precisão o formato dos orbitais atômicos (Figura 6), a sua utilização confere um grande aumento no custo computacional. Desta forma, opta-se por utilizar-se um conjunto de funções gaussianas para representar um orbital de Slater.

Figura 6. Comparação entre o formato do orbital atômico 1s e das funções gaussianas e exponenciais. Observa-se que a função exponencial representa melhor o formato do orbital, principalmente nos seus limites.



Fonte: (ZHANG, [s.d.]).

Estudos mostraram que a utilização do funcional B3LYP, em conjunto com a base 6-31G(d), reproduz adequadamente as geometrias do estado fundamental e a entalpia de formação de moléculas orgânicas, justificando o bom nível de confiança dos resultados obtidos neste trabalho (GUIDO et al., 2013, p. 2209; TIRADO-RIVES; JORGENSEN, 2008,

p. 297).

Para iniciar a simulação, definiu-se uma estimativa da estrutura molecular através do programa Avogadro: uma ferramenta de código aberto de visualização e construção molecular, versão 1.1.1 (HANWELL et al., 2012, p. 1). Com base nestas posições atômicas iniciais, o programa GAMESS gerou uma densidade eletrônica $\rho(r)$ e um funcional de densidade eletrônica $F_0(\rho)$ e, com base nestes valores, calculou uma nova $\rho(r)$ e um novo $F_1(\rho)$. Esta repetição ocorreu até que o parâmetro estabelecido para a diferença entre dois valores consecutivos de funcional da densidade fosse alcançado e o método convergisse (método recursivo). Após a convergência dos métodos, a média das forças interatômicas foi calculada e a geometria molecular determinada. Se este resultado não tivesse sido satisfatório, as novas posições atômicas (de menor energia) seriam utilizadas para repetir o processo. Em cada passo do processo iterativo, o gradiente da função ρ com relação aos parâmetros r foi calculado. O gradiente indica a direção ao longo da superfície de energia potencial na qual a energia diminui mais rapidamente a partir do ponto em que se encontra no momento. A posição de equilíbrio encontra-se no ponto mínimo desta superfície, ou seja, quando o gradiente está próximo de zero. A convergência da geometria foi definida de modo a requerer que o maior componente do gradiente fosse menor que 0,0001 Hartree/Bohr, e que a média quadrática fosse menor do que 1/3 deste valor.

Ainda, foi realizada a análise das frequências vibracionais no mesmo nível de teoria utilizado para a otimização. Esta análise permitiu verificar se as geometrias otimizadas correspondiam a mínimos de energia globais ou a estados de transição, isto é, pontos de sela na superfície de energia potencial (Figura 4).

As energias para estas espécies foram aprimoradas por cálculos de energia de *single-point*, utilizando o mesmo funcional e a base 6311+G(d,p), que considera um número maior de funções para descrever os orbitais e, portanto, deve fornecer resultados com maior correlação com os valores experimentais. O procedimento para determinação da energia de *single-point* é semelhante ao descrito para a otimização. As energias foram utilizadas para obter a EI e a AE, ambas calculadas verticalmente, isto é, considerando que todas as espécies tem configuração molecular do estado fundamental igual à da molécula neutra. Estes parâmetros foram utilizados para comparar a capacidade de receber ou doar elétrons do neurosporeno com a do licopeno, através da construção do FEDAM.

O Apêndice B traz três exemplos de arquivos de input: uma para cada etapa de cálculo, isto é, geometria, análise das frequências vibracionais, e cálculo da energia de *single-*

point.

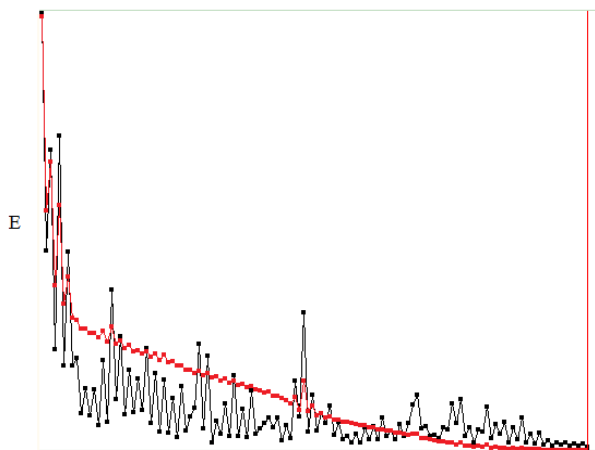
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OTIMIZAÇÃO DA GEOMETRIA MOLECULAR

Hernandez-Marin, Galano e Martínez (2013) estudaram teoricamente os isômeros cis-trans do licopeno. Segundo os autores, os isômeros trans são ligeiramente mais estáveis que os cis, mas as propriedades antirradicalares dos mesmos, em termos do mecanismo de transferência de elétrons, são muito similares. Outro estudo conduzido por Martinez, Stinco e Meléndez-Martínez (2014), que utilizou metodologia semelhante à utilizada neste trabalho para avaliar a atividade antirradicalar de dois carotenóides incolores, mostra que a diferença de energia entre os isômeros avaliados é menor do que limite de exatidão do cálculo, isto é, todos apresentam estabilidade semelhante. Com base nestes relatos, os diferentes isômeros dos carotenóides licopeno e neurosporeno não foram avaliados, visto que esta análise não contribuiria com o objetivo do estudo.

A Figura 7 mostra a variação de energia durante a otimização da geometria da molécula de neurosporeno (vermelho), bem como o comportamento do gradiente (preto). Observa-se que a energia inicial do sistema, que era consideravelmente elevada, diminui conforme o software GAMESS executa as iterações, mas que, mesmo quando ela é bastante baixa, é necessário avaliar a diferença no gradiente até que o nível de confiança desejado seja atingido.

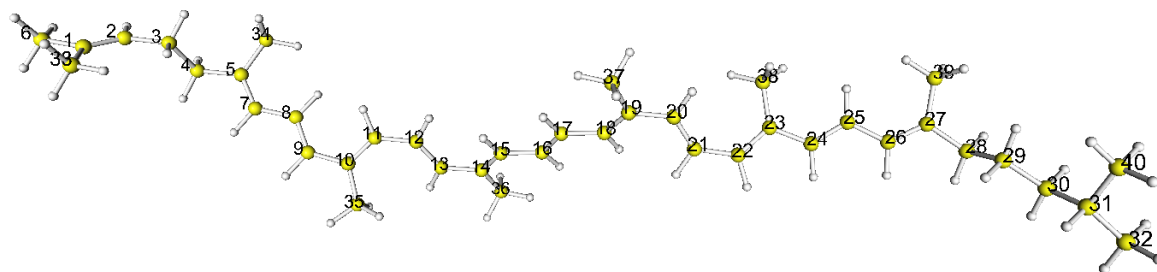
Figura 7. Variação da energia (vermelho) e do gradiente máximo (preto) com o número de iterações para o neurosporeno.



Fonte: Diagrama produzido pelo software Facio 19.1.6 com base nos dados calculados pelo autor utilizando o software químico GAMESS.

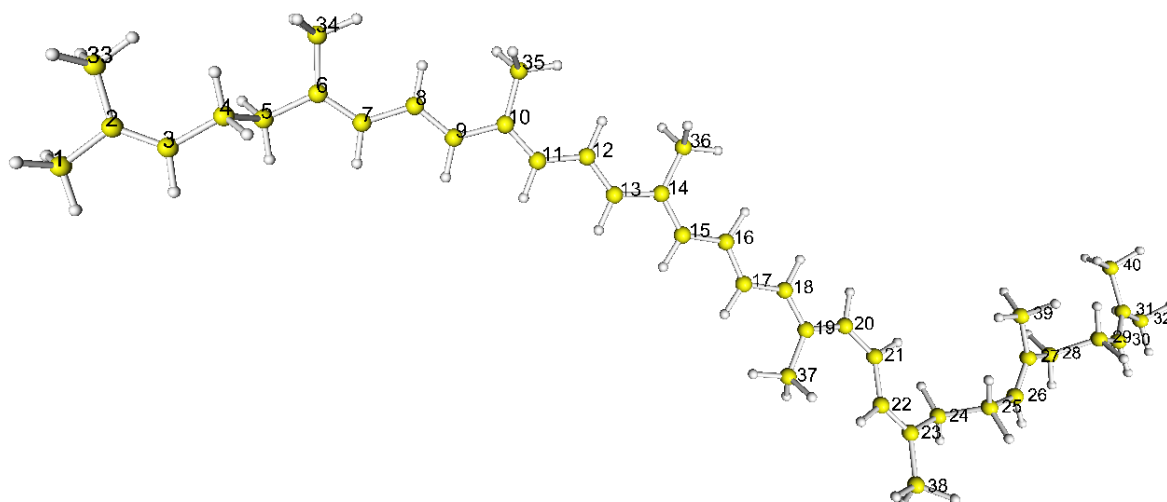
As geometrias dos carotenóides licopeno e neurosporeno na configuração neutra são mostradas nas Figuras 8 e 9, respectivamente. A análise das frequências vibracionais confirmou, pela ausência de frequências imaginárias, que estas estruturas correspondem a mínimos globais de energia. A Tabela 2 mostra os comprimentos das ligações, os quais estão de acordo com os valores aceitos para hidrocarbonetos (FEILCHENFELD, 1957, p. 1133).

Figura 8. Geometria otimizada da molécula de licopeno. Esta configuração molecular representa o estado de menor energia do sistema.



Fonte: Coordenadas (x,y,z) calculadas pelo autor. Figura produzida através do software Facio 19.1.6.

Figura 9. Geometria otimizada da molécula de neurosporeno. Esta configuração molecular representa o estado de menor energia do sistema.



Fonte: Coordenadas (x,y,z) calculadas pelo autor. Figura produzida através do software Facio 19.1.6.

As coordenadas no espaço x, y e z das duas moléculas avaliadas neste estudo estão disponíveis no Apêndice C. Observa-se que, apesar de a diferença entre as estruturas moleculares destas moléculas ser de apenas uma ligação dupla, as geometrias das mesmas diferem consideravelmente.

Tabela 2. Distâncias interatômicas em Å entre os carbonos dos compostos avaliados neste estudo.

| Licopeno | | Neurosporeno | |
|----------|-----------------|--------------|-----------------|
| Ligação | Comprimento (Å) | Ligação | Comprimento (Å) |
| C1-C2 | 1,3382 | C1-C2 | 1,5117 |
| C1-C6 | 1,5099 | C2-C3 | 1,3427 |
| C1-C33 | 1,5089 | C2-C33 | 1,5103 |
| C2-C3 | 1,5038 | C3-C4 | 1,5055 |
| C3-C4 | 1,5511 | C4-C5 | 1,5527 |
| C4-C5 | 1,5109 | C5-C6 | 1,5132 |
| C5-C34 | 1,5081 | C6-C7 | 1,3559 |
| C5-C7 | 1,3516 | C6-C34 | 1,5085 |
| C7-C8 | 1,4450 | C7-C8 | 1,4459 |
| C8-C9 | 1,3553 | C8-C9 | 1,3596 |
| C9-C10 | 1,4574 | C9-C10 | 1,4480 |
| C10-C11 | 1,3666 | C10-C11 | 1,3702 |
| C10-C35 | 1,5099 | C10-C35 | 1,5109 |
| C11-C12 | 1,4411 | C11-C12 | 1,4337 |
| C12-C13 | 1,3623 | C12-C13 | 1,3663 |
| C13-C14 | 1,4541 | C13-C14 | 1,4428 |
| C14-C36 | 1,5122 | C14-C36 | 1,5113 |
| C14-C15 | 1,3675 | C14-C15 | 1,3734 |
| C15-C16 | 1,4294 | C15-C16 | 1,4298 |
| C16-C17 | 1,3644 | C16-C17 | 1,3682 |
| C17-C18 | 1,4296 | C17-C18 | 1,4306 |
| C18-C19 | 1,3665 | C18-C19 | 1,3745 |
| C19-C20 | 1,4554 | C19-C20 | 1,4521 |
| C19-C37 | 1,5128 | C19-C37 | 1,5104 |
| C20-C21 | 1,3607 | C20-C21 | 1,3648 |
| C21-C22 | 1,4421 | C21-C22 | 1,4481 |
| C22-C23 | 1,3680 | C22-C23 | 1,3571 |
| C23-C24 | 1,4491 | C23-C24 | 1,5130 |
| C23-C38 | 1,5078 | C23-C38 | 1,5087 |
| C24-C25 | 1,3558 | C24-C25 | 1,5552 |
| C25-C26 | 1,4451 | C25-C26 | 1,5059 |
| C26-C27 | 1,3518 | C26-C27 | 1,3432 |
| C27-C28 | 1,5129 | C27-C28 | 1,5175 |
| C27-C39 | 1,5051 | C27-C39 | 1,5122 |
| C28-C29 | 1,5444 | C28-C29 | 1,5504 |
| C29-C30 | 1,5339 | C29-C30 | 1,5066 |
| C30-C31 | 1,5403 | C30-C31 | 1,3421 |

| | | | |
|---------|--------|---------|--------|
| C31-C32 | 1,5349 | C31-C32 | 1,5120 |
| C31-C40 | 1,5360 | C31-C40 | 1,5099 |

4.2 TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRONS

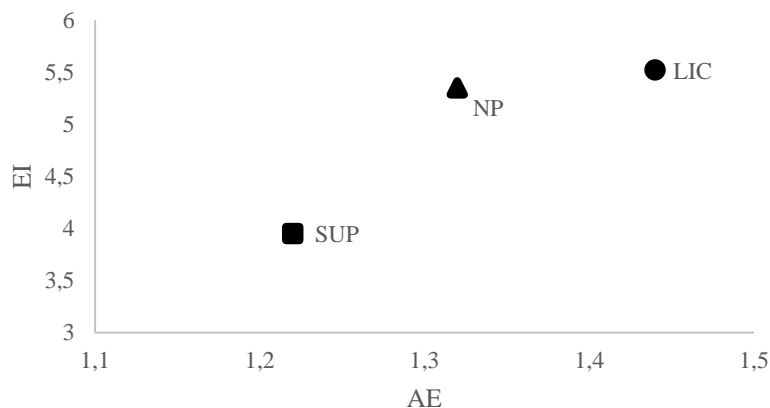
A facilidade de receber ou doar elétrons na reação de transferência de elétrons foi avaliada através do cálculo da energia de ionização e da afinidade eletrônica. A Tabela 3 mostra estes valores para os carotenóides (licopeno e neurosporeno) e para o ânion radical superóxido, calculados em fase gasosa.

Tabela 3. Valores de energia de ionização e afinidade eletrônica em eV para as espécies licopeno (LIC), neurosporeno (NP) e ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$).

| | EI (eV) | AE (eV) |
|------------------|---------|---------|
| LIC | 5,52 | 1,44 |
| NP | 5,35 | 1,32 |
| $O_2^{\bullet-}$ | 3,95 | 1,22 |

Ao plotar-se um gráfico de EI contra AE, obtém-se o FEDAM em fase gasosa (Figura 10). Comparando a posição dos dois carotenóides neste mapa, observa-se que o licopeno é melhor antirradicalar do que o neurosporeno no que diz respeito à reação de transferência de elétrons. Este resultado deve-se ao fato de que a cadeia de ligações duplas conjugadas é maior no licopeno do que no neurosporeno. Entretanto, pode ser notado que esta diferença é pequena e, portanto, o neurosporeno também pode ser considerado um bom antirradicalar.

Figura 10. Mapa (FEDAM) relacionando a energia de ionização e a afinidade eletrônica dos compostos avaliados. Elétrons são transferidos de espécies localizadas na extremidade inferior esquerda para espécies na extremidade superior direita.



Outro resultado importante que pode ser extraído do FEDAM está relacionado com a posição do ânion radical superóxido. O radical $O_2^{\bullet-}$ está à esquerda inferior dos carotenóides no mapa, indicando que os elétrons serão transferidos do radical para os carotenóides, ao contrário do que é observado para a maioria dos radicais livres. Este comportamento está relacionado ao fato de que, além do desbalanceamento de spin, este radical livre possui elétrons em excesso (carga negativa). Esta observação confirma que o licopeno é melhor antirradicalar, inclusive para esta reação específica, visto que este carotenóide é melhor aceptor de elétrons do que o neurosporeno.

Ao otimizar a geometria do radical superóxido e dos produtos da reação de transferência de elétrons (reações A e B), obteve-se que o comprimento da ligação covalente O-O é de 1,23 Å para a molécula O_2 , 1,35 Å para o radical $O_2^{\bullet-}$, e 1,55 Å para o ânion O_2^{2-} . Estas diferenças estão de acordo com o esperado e representam uma redução na ordem de ligação de 2 (O_2 , ligação dupla), para 1,5 ($O_2^{\bullet-}$, ligação covalente mista), e para 1 (O_2^{2-} , ligação covalente simples). Portanto, para a reação A, a ordem de ligação aumenta ($O_2^{\bullet-} \rightarrow O_2$), ao contrário do que ocorre para a reação B, onde a ordem de ligação diminui ($O_2^{\bullet-} \rightarrow O_2^{2-}$), confirmando que a última rota é a mais favorável.

Em posse dos valores de EI e AE, é possível também calcular outros índices de reatividade importantes e que podem auxiliar no entendimento do mecanismo de transferência de elétrons (PARR et al., 1978, p. 3801). A eletronegatividade (χ), por exemplo, indica a tendência de receber elétrons que um átomo apresenta em uma ligação química. Este parâmetro é dado pelo potencial químico com sinal contrário e pode ser calculada como:

$$\chi = \frac{(EI+AE)}{2} \quad (4.1)$$

Neste contexto, outro índice que apresenta utilidade na análise de reações deste caráter é a dureza (η), que é uma medida da resistência ao fluxo de elétrons e pode ser calculada como:

$$\eta = \frac{EI-AE}{2} \quad (4.2)$$

Estes valores são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores de eletronegatividade (χ), dureza (η), potencial químico (μ) e índice eletrofílico (ω) (todos em eV) dos carotenóides licopeno e neurosporeno e do radical superóxido.

| | χ | η | μ | ω |
|------------------|--------|--------|-------|----------|
| LIC | 3,48 | 2,04 | -3,48 | 2,97 |
| NP | 3,34 | 2,02 | -3,34 | 2,76 |
| $O_2^{\bullet-}$ | 2,58 | 1,36 | -2,58 | 2,45 |

Considerando a escala de Linus Pauling para a eletronegatividade, na qual o valor máximo de 4,0 eV é atribuído ao elemento flúor, observa-se que os dois carotenóides apresentam altos valores para este parâmetro. Portanto, estes compostos são capazes de atrair elétrons para suas ligações, sendo consideradas, portanto, bons antirradicales. Ainda, nota-se que a diferença nestes valores não é muito grande, confirmando o a elevada capacidade antirradicalar do neurosporeno mostrada pelo FEDAM. Os valores de dureza também foram muito semelhantes, indicando que a reatividade dos dois carotenóides avaliados é praticamente a mesma, visto que ambos apresentam a mesma resistência à transferência de cargas. No caso do radical, como esperado, esta resistência é menor, o que justifica sua ação nociva no organismo, visto que esta espécie é muito reativa.

Com base no potencial químico (negativo da eletronegatividade) e na dureza de uma molécula, também é possível calcular seu índice eletrofílico (PARR; SZENTPÁLY; LIU, 1999, p. 1922) de acordo com:

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (4.3)$$

Pela análise destes valores, também expostos na Tabela 4, observa-se que todas as espécies analisadas possuem índices eletrofílicos globais muito próximos e não elevados, indicando que estas moléculas apresentam capacidade de receber elétrons e, conseqüentemente, reatividades semelhantes. Os baixos valores indicam que estes compostos são capazes de receber elétrons até atingir saturação de cargas, o que favorece a transferência de elétrons pelo ânion radical superóxido.

5 CONCLUSÃO

Carotenóides são moléculas corantes com grande potencial farmacológico, devido principalmente à sua ação antirradicalar. O estudo destes compostos é realizado majoritariamente pelo emprego de técnicas analíticas como HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) e métodos espectrométricos. Entretanto, esta abordagem apresenta limitações, especialmente no que diz respeito à representação adequada dos diversos fatores que moldam a ação dos carotenóides *in vivo*. Neste sentido, os métodos de química teórica surgem como uma excelente alternativa, visto que possibilitam a análise conjunta destes fatores, resultando em uma avaliação mais representativa de sua influência na ação biológica destas moléculas.

Os inúmeros estudos que utilizam metodologia semelhante à utilizada neste trabalho mostram que a DFT fornece uma boa correlação entre os dados teóricos e experimentais para moléculas de carotenóides. A validação dos resultados deste estudo foi feita pela comparação dos dados obtidos para o licopeno com a literatura, visto que este carotenóide já foi extensivamente estudado.

Existem poucos estudos na literatura avaliando o potencial apresentado pelo neurosporeno para captura de radicais livres. Apesar de este carotenóide não ser encontrado em grandes quantidades em frutas e vegetais, principais fontes de carotenóides para a dieta humana, ele encontra-se presente em várias partes do corpo humano, o que demonstra a importância de estudar seu comportamento com relação a radicais livres.

É possível determinar a capacidade antirradicalar de carotenóides pela avaliação de sua energia de ionização e afinidade eletrônica verticais, as quais podem ser relacionadas através do mapa FEDAM. É importante salientar que este não é um mapa de correlação e, portanto, não se deve esperar que os dados sigam algum tipo de tendência. A leitura do FEDAM deve ser feita em pares, dando atenção às posições relativas dos compostos no mapa.

Para o cálculo destes parâmetros, considerou-se a energia das espécies carregadas, visto que a diferença de energia entre estas espécies e a espécie neutra determina a facilidade ou dificuldade de receber ou doar elétrons. Observou-se pela análise do FEDAM que, como esperado, o licopeno apresenta maior ação antirradicalar que o neurosporeno. No entanto, é importante notar que a diferença não foi muito significativa e que, portanto, o neurosporeno pode ser considerado um eficiente antioxidante. Este resultado foi confirmado pela análise dos índices de reatividade, que mostraram que o neurosporeno é quase tão reativo quanto o licopeno.

Outro resultado importante, é a indicação de que o ânion radical superóxido, devido à sua natureza carregada, inverte a direção da transferência de elétrons. Este resultado é muito importante pois determinadas moléculas com maior capacidade de receber elétrons podem ser ainda melhores antirradicalares contra este radical específico. No entanto, sugere-se que estudos futuros sejam conduzidos a fim de avaliar as energias envolvidas nestas reações, as quais definirão se elas são termodinamicamente possíveis e qual o meio (solvente) mais adequado para que elas aconteçam a uma maior taxa, possibilitando a previsão do comportamento destas espécies *in vivo*.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, S.; RAO, A. V. Carotenoids and chronic diseases. **Drug metabolism and drug interactions**, v. 17, n. 1-4, p. 189–210, 2011.
- AGARWAL, S.; RAO, A. V. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: A human dietary intervention study. **Lipids**, v. 33, n. 10, p. 981–984, 1998.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.
- BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. **Physical review A**, v. 38, n. 6, p. 3098–3100, 1988.
- BERNSTEIN, P. S. et al. Identification and quantitation of carotenoids and their metabolites in the tissues of the human eye. **Experimental eye research**, v. 72, n. 3, p. 215–23, Mar. 2001.
- BÖHM, F. et al. β -Carotene with vitamins E and C offers synergistic cell protection against NO(x). **FEBS Letters**, v. 436, n. 3, p. 387–389, 1998.
- BORN, M.; OPPENHEIMER, R. Quantum theory of the molecules. **Annalen der physik**, v. 84, n. 20, p. 457–484, 1927.
- BURTON, G. W.; INGOLD, K. U. β -Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. **Science**, v. 224, n. 4649, p. 569–573, May 1984.
- CAMMI, R.; TOMASI, J. Remarks on the use of the apparent surface charges (ASC) methods in solvation problems: Iterative versus matrix-inversion procedures and the renormalization of the apparent charges. **Journal of computational chemistry**, v. 16, n. 12, p. 1449–1458, Dec. 1995.
- CERÓN-CARRASCO, J. P. et al. A theoretical study of the reaction of beta-carotene with the nitrogen dioxide radical in solution. **The journal of physical chemistry. B**, v. 114, n. 12, p. 4366–72, 2010.
- CZECZUGA, B. Investigations on carotenoids in fungi VI . Representatives of the Helvellaceae and Morchellaceae. **Phyton (Austria)**, v. 19, n. 3-4, p. 225–232, 1979.
- DELGADO-VARGASA, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173–289, 2000.
- EDGE, R. et al. Relative one-electron reduction potentials of carotenoid radical cations and the interactions of carotenoids with the vitamin E radical cation. **Journal of the american chemical society**, v. 120, n. 17, p. 4087–4090, May 1998.
- EDGE, R.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. G. The carotenoids as anti-oxidants - A

review. **Journal of photochemistry and photobiology B: biology**, v. 41, n. 3, p. 189–200, 1997.

EVERETT, S. A. et al. Scavenging of nitrogen dioxide, thiyl, and sulfonyl free radicals by the nutritional antioxidant β -carotene. **Journal of biological chemistry**, v. 271, n. 8, p. 3988–3994, 1996.

FEILCHENFELD, H. Bond length and bond energy in hydrocarbons. **The journal of physical chemistry**, v. 61, n. 9, p. 1133–1135, Sep. 1957.

FIMOGNARI, C. Role of oxidative RNA damage in chronic-degenerative diseases. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2015, p. 1–8, 2015.

GALANO, A. Relative antioxidant efficiency of a large series of carotenoids in terms of one electron transfer reactions. **Journal of physical chemistry B**, v. 111, n. 44, p. 12898–12908, 2007.

GALANO, A.; VARGAS, R.; MARTÍNEZ, A. Carotenoids can act as antioxidants by oxidizing the superoxideradical anion. **Physical chemistry chemical physics**, v. 12, n. 1, p. 193–200, 2010.

GROSS, J.; IKAN, R.; ECKHARDT, G. Carotenoids of the fruit of *Averrhoa carambola*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 6, p. 1479–1481, Jan. 1983.

GUIDO, C. A. et al. Benchmarking time-dependent density functional theory for excited state geometries of organic molecules in gas-phase and in solution. **Journal of chemical theory and computation**, v. 9, n. 5, p. 2209–2220, 2013.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free radical biology and medicine**, v. 18, n. 1, p. 125–126, 1995.

HANDELMAN, G. J. Carotenoids as scavengers of active oxygen species. In: GADENAS, E.; PACKER, L. (Eds.). . **Handbook of Antioxidants**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 259–314.

HANWELL, M. D. et al. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal of cheminformatics**, v. 4, n. 1, p. 1–17, 2012.

HAXO, F. Studies on the carotenoid pigments of *Neurospora*. 1. Composition of the pigment. **Archives of biochemistry**, v. 20, p. 400–421, 1949.

HERNANDEZ-MARIN, E.; GALANO, A.; MARTÍNEZ, A. Cis carotenoids: colorful molecules and free radical quenchers. **The journal of physical chemistry. B**, v. 117, n. 15, p. 4050–61, 2013.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Physical review B**, v. 7, n. 5, p. 1912–1919, 1973.

HUZINAGA, S. Basis sets for molecular calculations. **Computer physics reports**, v. 2, n. 6,

p. 281–339, 1985.

JENSEN, F. **Introduction to Computational Chemistry**. 2nd. ed. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd, 2007. v. 1.

KHACHIK, F. et al. Separation and identification of carotenoids and their oxidation products in the extracts of human plasma. **Analytical Chemistry**, v. 64, n. 18, p. 2111–2122, Sep. 1992.

KHACHIK, F. et al. Identification, Quantification, and Relative Concentrations of Carotenoids and Their Metabolites in Human Milk and Serum. **Analytical Chemistry**, v. 69, n. 10, p. 1873–1881, May 1997.

KOHN, W. Nobel Lecture: Electronic structure of matter - wave functions and density functionals. **Reviews of Modern Physics**, v. 71, n. 5, p. 1253–1266, 1999.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review A**, v. 385, n. 1951, p. 1133–1138, 1965.

KRINSKY, N. I. The evidence for the role of carotenes in preventive health. **Clinical Nutrition**, v. 7, p. 107–114, 1988.

KRINSKY, N. I. Antioxidant functions of carotenoids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 7, n. 6, p. 617–635, 1989.

LACHANCE, P. Dietary intake of carotenes and carotene gap. **Clinical Nutrition**, v. 7, p. 118–122, 1988.

LANDRUM, J. T.; BONE, R. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 385, n. 1, p. 28–40, Jan. 2001.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785–789, 1988.

LI, B. **Density-functional theory and quantum chemistry studies on “dry” and “wet” NaCl(001)**. [s.l.] Technischen Universität Berlin, 2009.

LITVAK, G. **Experimental Biochemistry. A Laboratory Manual**. 1960.

MARTÍNEZ, A. et al. Donator acceptor map for carotenoids, melatonin and vitamins. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 112, n. 38, p. 9037–9042, 2008.

MARTINEZ, A.; STINCO, C. M.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. Free Radical Scavenging Properties of Phytofluene and Phytoene Isomers as Compared to Lycopene : a Combined Experimental and Theoretical Study. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, p. 9819–9825, 2014.

MARTÍNEZ, A.; VARGAS, R.; GALANO, A. What is important to prevent oxidative stress?

A theoretical study on electron-transfer reactions between carotenoids and free radicals. **Journal of physical chemistry B**, v. 113, p. 12113–12120, 2009.

MAYNE, S. T. Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. **The FASEB Journal**, v. 10, n. 7, p. 690–701, 1996.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, 2002.

MORTENSEN, A. et al. Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. **FEBS Letters**, v. 418, n. 1-2, p. 91–97, 1997.

MORTENSEN, A. Carotenoids and other pigments as natural colorants. **Pure applied chemistry**, v. 78, n. 8, p. 1477–1491, 2006.

MORTENSEN, A.; SKIBSTED, L. H.; TRUSCOTT, T. G. The interaction of dietary carotenoids with radical species. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 385, n. 1, p. 13–19, 2001.

PARR, R. G. et al. Electronegativity: The density functional viewpoint. **The journal of chemical physics**, v. 68, n. 8, p. 3801–3807, 1978.

PARR, R. G.; SZENTPÁLY, L. V.; LIU, S. Electrophilicity index. **Journal of the american chemical society**, v. 121, n. 9, p. 1922–1924, 1999.

PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized gradient approximation made simple. **Physical review letters**, v. 77, n. 18, p. 3865–3868, 1996.

PETO, R. et al. Can dietary β -carotene materially reduce human cancer rates? **Nature**, v. 290, p. 201–208, 1981.

POLYAKOV, N. E. et al. Carotenoids as antioxidants: Spin trapping EPR and optical study. **Free radical biology and medicine**, v. 31, n. 1, p. 43–52, 2001.

RAMACHANDRAN, G. K. et al. Electron transport properties of a carotene molecule in a metal–(single molecule)–metal junction. **Journal of physical chemistry B**, v. 107, n. 25, p. 6162–6169, 2003.

RAMAPRASAD, E. V. V.; SASIKALA, C.; RAMANA, C. V. Neurosporene is the major carotenoid accumulated by *Rhodobacter viridis* JA737. **Biotechnology letters**, v. 35, n. 7, p. 1093–1097, 2013.

RAYMUNDO, L. C.; CHICHESTER, C. O.; SIMPSON, K. L. Light-dependent carotenoid synthesis in the tomato fruit. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 24, n. 1, p. 59–64, Jan. 1976.

RODRIGUES-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes Brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. 2. ed. Brasília: MMA/SBF, 2008.

SANDMANN, G.; KUHN, S.; BÖGER, P. Evaluation of structurally different carotenoids in *Escherichia coli* transformants as protectants against UV-B radiation. **Applied and environmental microbiology**, v. 64, n. 5, p. 1972–4, 1998.

SCHMIDT, M. W. et al. General atomic and molecular electronic structure system. **Journal of computational chemistry**, v. 14, n. 11, p. 1347–1363, Nov. 1993.

STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1740, n. 2, p. 101–107, 2005.

TIRADO-RIVES, J.; JORGENSEN, W. L. Performance of B3LYP density functional methods for a large set of organic molecules. **Journal of chemical theory and computation**, v. 4, n. 2, p. 297–306, Feb. 2008.

TUNNING, T. H. J.; HAY, P. J. Modern theoretical chemistry, Vol. 3. In: SHAEFER III, H. F. (Ed.). . **Methods of electronic structure theory**. New York: Plenum Press, 1977. v. 1. p. 27.

WOODALL, A. A.; BRITTON, G.; JACKSON, M. J. Carotenoids and protection of phospholipids in solution or in liposomes against oxidation by peroxy radicals: Relationship between carotenoid structure and protective ability. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1336, n. 3, p. 575–586, Oct. 1997.

YOKOYAMA, H.; COGGINS, C. W.; HENNING, G. L. The effect of 2-(4-chlorophenylthio)-triethylamine hydrochloride on the formation of carotenoids in citrus. **Phytochemistry**, v. 10, n. 8, p. 1831–1834, Aug. 1971.

YOUNG, A. J.; LOWE, G. M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 385, n. 1, p. 20–27, 2001.

ZHANG, Y. **MO-1: Localized Basis Sets**.

APÊNDICE A – OPERADORES DIFERENCIAIS

A1. CAMPO GRADIENTE

Seja um campo escalar $f = f(x, y, z)$ diferenciável no domínio $\Omega \subset R^3$. As derivadas parciais de primeira ordem de f existem neste domínio e formam as componentes do vetor gradiente do campo escalar f , isto é

$$\nabla f = \frac{\partial f}{\partial x} \hat{i} + \frac{\partial f}{\partial y} \hat{j} + \frac{\partial f}{\partial z} \hat{k} \quad , \quad (\text{A.1})$$

onde \hat{i}, \hat{j} e \hat{k} são vetores unitários canônicos. ∇f aponta na direção de máximo crescimento de f .

A2. ROTACIONAL DO CAMPO VETORIAL

Dado um campo vetorial $v = (v_x, v_y, v_z)$ em um domínio Ω de R^3 , representa-se o rotacional deste campo vetorial pelo produto vetorial entre $\nabla = \left(\frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z} \right)$ e v , ou seja

$$\nabla \times v = \begin{vmatrix} \hat{i} & \hat{j} & \hat{k} \\ \frac{\partial}{\partial x} & \frac{\partial}{\partial y} & \frac{\partial}{\partial z} \\ v_x & v_y & v_z \end{vmatrix} = \left(\frac{\partial v_z}{\partial y} - \frac{\partial v_y}{\partial z} \right) \hat{i} + \left(\frac{\partial v_x}{\partial z} - \frac{\partial v_z}{\partial x} \right) \hat{j} + \left(\frac{\partial v_y}{\partial x} - \frac{\partial v_x}{\partial y} \right) \hat{k} \quad (\text{A.2})$$

A3. DIVERGENTE DO CAMPO VETORIAL

Seja $v = (v_x, v_y, v_z)$ um campo vetorial em um domínio Ω de R^3 , e v_x, v_y e v_z funções escalares diferenciáveis em Ω . Representa-se o divergente deste campo vetorial pelo produto interno entre $\nabla = \left(\frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z} \right)$ e v , ou seja

$$\nabla \cdot v = \left(\frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z} \right) \cdot (v_x, v_y, v_z) = \frac{\partial v_x}{\partial x} + \frac{\partial v_y}{\partial y} + \frac{\partial v_z}{\partial z} \quad (\text{A.3})$$

Laplaciano

Ao expandir o produto interno

$$\nabla \cdot \nabla f = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 f}{\partial z^2} \quad , \quad (\text{A.4})$$

tem-se o que se chama de divergente do gradiente. O lado direito de (A.4) é conhecido como laplaciano de f e é também denotado por $\nabla^2 f$.

APÊNDICE B – ARQUIVOS DE ENTRADA

B1 OTIMIZAÇÃO DA GEOMETRIA

```
$BASIS GBASIS=N31 NGAUSS=6 NDFUNC=1 $END
$CONTRL SCFTYP=RHF DFTTYP=B3LYP RUNTYP=OPTIMIZE $END
$SYSTEM MWORDS=50 $END
$STATPT OPTTOL=0.0001 NSTEP=500 $END
```

```
$DATA
```

```
Neurosporeno_Neutra_Geometria_Gás
```

```
C1
```

| | | | | |
|---|-----|-----------|----------|----------|
| C | 6.0 | -11.79898 | -1.78094 | 0.41371 |
| C | 6.0 | -10.47051 | -2.30641 | -0.06444 |
| C | 6.0 | -9.37647 | -1.52002 | -0.05390 |
| C | 6.0 | -7.98963 | -1.87078 | -0.52325 |
| C | 6.0 | -7.06530 | -2.19272 | 0.65653 |
| C | 6.0 | -5.63582 | -2.47803 | 0.22293 |
| C | 6.0 | -4.66147 | -1.59239 | 0.51060 |
| C | 6.0 | -3.25768 | -1.69995 | 0.17138 |
| C | 6.0 | -2.35297 | -0.77860 | 0.54278 |
| C | 6.0 | -0.91496 | -0.79827 | 0.25388 |
| C | 6.0 | -0.15586 | 0.20710 | 0.73896 |
| C | 6.0 | 1.27611 | 0.38414 | 0.59309 |
| C | 6.0 | 1.93278 | 1.42426 | 1.13435 |
| C | 6.0 | 3.37462 | 1.68343 | 1.06003 |
| C | 6.0 | 3.85783 | 2.77180 | 1.69564 |
| C | 6.0 | 5.23725 | 3.20794 | 1.77682 |
| C | 6.0 | 5.60682 | 4.31651 | 2.43929 |
| C | 6.0 | 6.98746 | 4.74905 | 2.53429 |
| C | 6.0 | 7.45214 | 5.82344 | 3.20931 |
| C | 6.0 | 8.89547 | 6.06770 | 3.19950 |
| C | 6.0 | 9.59653 | 7.20617 | 3.32733 |
| C | 6.0 | 9.09708 | 8.56151 | 3.38072 |
| C | 6.0 | 9.80018 | 9.65536 | 3.73773 |
| C | 6.0 | 11.22900 | 9.64405 | 4.24487 |
| C | 6.0 | 12.24194 | 9.97013 | 3.14260 |
| C | 6.0 | 13.65069 | 9.95124 | 3.67375 |
| C | 6.0 | 14.58773 | 8.99996 | 3.48701 |
| C | 6.0 | 15.97299 | 9.16031 | 4.08904 |
| C | 6.0 | 17.05480 | 9.39957 | 3.02973 |
| C | 6.0 | 18.40228 | 9.62437 | 3.66284 |
| C | 6.0 | 19.42389 | 8.75069 | 3.75483 |
| C | 6.0 | 20.72558 | 9.15593 | 4.39596 |
| C | 6.0 | -10.49884 | -3.74015 | -0.51755 |
| C | 6.0 | -5.44372 | -3.79603 | -0.48214 |
| C | 6.0 | -0.38986 | -1.95154 | -0.56618 |
| C | 6.0 | 4.21536 | 0.70451 | 0.27714 |
| C | 6.0 | 6.58179 | 6.70717 | 4.06633 |
| C | 6.0 | 9.15602 | 11.01814 | 3.69176 |
| C | 6.0 | 14.35789 | 7.71383 | 2.73872 |
| C | 6.0 | 19.39066 | 7.32834 | 3.26759 |
| H | 1.0 | -12.15385 | -2.36685 | 1.26789 |
| H | 1.0 | -12.54242 | -1.84709 | -0.38743 |

| | | | | |
|---|-----|-----------|----------|----------|
| H | 1.0 | -11.74306 | -0.73375 | 0.72916 |
| H | 1.0 | -7.59432 | -1.01210 | -1.08126 |
| H | 1.0 | -8.01213 | -2.70004 | -1.23703 |
| H | 1.0 | -7.44844 | -3.06064 | 1.20936 |
| H | 1.0 | -7.08645 | -1.35704 | 1.36917 |
| H | 1.0 | 11.32133 | 10.36878 | 5.06510 |
| H | 1.0 | 11.47209 | 8.67543 | 4.69852 |
| H | 1.0 | 12.12140 | 9.28376 | 2.29798 |
| H | 1.0 | 12.04989 | 10.97201 | 2.73847 |
| H | 1.0 | 16.21135 | 8.26278 | 4.67487 |
| H | 1.0 | 15.98010 | 9.99238 | 4.80608 |
| H | 1.0 | 16.80575 | 10.29118 | 2.43980 |
| H | 1.0 | 17.08612 | 8.57251 | 2.31380 |
| H | 1.0 | 20.71679 | 10.19778 | 4.73315 |
| H | 1.0 | 21.54913 | 9.04465 | 3.68302 |
| H | 1.0 | 20.93166 | 8.52628 | 5.26771 |
| H | 1.0 | -9.50781 | -4.14647 | -0.73254 |
| H | 1.0 | -11.10760 | -3.83704 | -1.42228 |
| H | 1.0 | -10.93759 | -4.37205 | 0.26228 |
| H | 1.0 | -5.94401 | -4.59715 | 0.07283 |
| H | 1.0 | -4.39695 | -4.09257 | -0.57686 |
| H | 1.0 | -5.87148 | -3.75551 | -1.48862 |
| H | 1.0 | -0.88424 | -1.98304 | -1.54369 |
| H | 1.0 | -0.56902 | -2.90151 | -0.05025 |
| H | 1.0 | 0.68253 | -1.90127 | -0.76434 |
| H | 1.0 | 4.15438 | -0.29486 | 0.72233 |
| H | 1.0 | 5.27467 | 0.96564 | 0.23675 |
| H | 1.0 | 3.87113 | 0.64881 | -0.76179 |
| H | 1.0 | 5.73405 | 6.16215 | 4.49333 |
| H | 1.0 | 6.18507 | 7.54372 | 3.48321 |
| H | 1.0 | 7.13273 | 7.10233 | 4.92690 |
| H | 1.0 | 9.15066 | 11.46943 | 4.68934 |
| H | 1.0 | 8.11861 | 10.97641 | 3.34312 |
| H | 1.0 | 9.70508 | 11.67851 | 3.01330 |
| H | 1.0 | 13.30055 | 7.50796 | 2.55498 |
| H | 1.0 | 14.74354 | 6.86605 | 3.31526 |
| H | 1.0 | 14.87150 | 7.73682 | 1.77280 |
| H | 1.0 | 20.09002 | 7.19926 | 2.43527 |
| H | 1.0 | 18.40212 | 7.00834 | 2.93036 |
| H | 1.0 | 19.68541 | 6.64796 | 4.07390 |
| H | 1.0 | -9.47397 | -0.49916 | 0.31603 |
| H | 1.0 | -4.93735 | -0.68352 | 1.04649 |
| H | 1.0 | -2.94853 | -2.56215 | -0.40779 |
| H | 1.0 | -2.70278 | 0.07440 | 1.12469 |
| H | 1.0 | -0.64484 | 0.99005 | 1.32012 |
| H | 1.0 | 1.82114 | -0.36482 | 0.03156 |
| H | 1.0 | 1.35410 | 2.15706 | 1.69725 |
| H | 1.0 | 3.15622 | 3.41412 | 2.22961 |
| H | 1.0 | 5.99783 | 2.60504 | 1.29180 |
| H | 1.0 | 4.84961 | 4.92626 | 2.92362 |
| H | 1.0 | 7.69654 | 4.13741 | 1.97535 |
| H | 1.0 | 9.49474 | 5.16240 | 3.07828 |
| H | 1.0 | 10.68079 | 7.10321 | 3.32611 |
| H | 1.0 | 8.07117 | 8.69938 | 3.04842 |
| H | 1.0 | 13.91499 | 10.83363 | 4.25696 |
| H | 1.0 | 18.53780 | 10.62658 | 4.06995 |

\$END

B2 FREQUÊNCIAS VIBRACIONAIS

```
$BASIS GBASIS=N31 NGAUSS=6 NDFUNC=1 $END  
$CONTRL SCFTYP=RHF RUNTYP=HESSIAN DFTTYP=B3LYP $END  
$SYSTEM MWORDS=20 $END  
$FORCE METHOD=SEMINUM VIBSIZ=0.010000 VIBANL=.TRUE. $END
```

\$DATA

Neurosporeno_Neutra_Frequências_Gás

```
C1  
C 6.0 -11.8107376266 -1.9320831881 0.5219821214  
C 6.0 -10.5332229669 -2.4040024482 -0.1333484082  
C 6.0 -9.4033306412 -1.6857739163 -0.0306440508  
C 6.0 -8.0358338793 -2.0022856487 -0.5766381005  
C 6.0 -7.0295073401 -2.3512903500 0.5534383852  
C 6.0 -5.6109845514 -2.5923225772 0.0856902763  
C 6.0 -4.6234841322 -1.7364370000 0.4462646408  
C 6.0 -3.2143132468 -1.8141924213 0.1311667394  
C 6.0 -2.3100310833 -0.8881208899 0.5483404110  
C 6.0 -0.8801491314 -0.9070157368 0.3205383607  
C 6.0 -0.1275955347 0.1229944005 0.8224672568  
C 6.0 1.2934613246 0.3033847249 0.7594564502  
C 6.0 1.9231385080 1.4012676161 1.2731349233  
C 6.0 3.3430048488 1.6559233956 1.2885403561  
C 6.0 3.7860805200 2.8393842049 1.8278961961  
C 6.0 5.1311708944 3.2980412208 1.9849317304  
C 6.0 5.4511349099 4.5271890181 2.4941892556  
C 6.0 6.7931909057 4.9860115495 2.6812962237  
C 6.0 7.2190559704 6.2138991917 3.1279757652  
C 6.0 8.6519354863 6.4087823329 3.2585548886  
C 6.0 9.4111736193 7.5013684795 3.5664453627  
C 6.0 9.0316495155 8.8851277039 3.7614994359  
C 6.0 9.8612561896 9.8932309990 4.1325370742  
C 6.0 11.3283427423 9.7119578504 4.4556570478  
C 6.0 12.2672720830 9.9627614346 3.2415677587  
C 6.0 13.7192298107 9.9106415618 3.6380372525  
C 6.0 14.6353219040 8.9718340055 3.3490136884  
C 6.0 16.0436553225 9.0847802478 3.9010514326  
C 6.0 17.1613045003 9.1358788729 2.8269619561  
C 6.0 18.5148716880 9.3919440307 3.4361395185  
C 6.0 19.5394530071 8.5379576383 3.5888090372  
C 6.0 20.8197118776 8.9779756071 4.2606235088  
C 6.0 -10.6608324858 -3.7159658013 -0.8699131780  
C 6.0 -5.3994608812 -3.8180326020 -0.7672706590  
C 6.0 -0.2919288716 -2.0630732002 -0.4536622294  
C 6.0 4.2701083937 0.6101779464 0.7139092754  
C 6.0 6.2486076115 7.3111623322 3.4975292323  
C 6.0 9.3443482741 11.3067815141 4.2296213279  
C 6.0 14.3644775960 7.7512893815 2.4994618509  
C 6.0 19.5370392444 7.0968153013 3.1376471372  
H 1.0 -12.1623531449 -2.6587136584 1.2691117205  
H 1.0 -12.6209562105 -1.8281789057 -0.2138423071  
H 1.0 -11.6814549348 -0.9676160653 1.0238858503  
H 1.0 -7.6494899125 -1.1292522522 -1.1225596513  
H 1.0 -8.0809460035 -2.8231020854 -1.2999191930
```

| | | | | |
|---|-----|----------------|---------------|---------------|
| H | 1.0 | -7.4037036788 | -3.2482074337 | 1.0708720936 |
| H | 1.0 | -7.0381800407 | -1.5410709514 | 1.2937061111 |
| H | 1.0 | 11.6052385144 | 10.4108618710 | 5.2579443692 |
| H | 1.0 | 11.5283407227 | 8.7088954550 | 4.8466212198 |
| H | 1.0 | 12.0301261442 | 9.2383193309 | 2.4558406364 |
| H | 1.0 | 12.0440613765 | 10.9536348056 | 2.8196177651 |
| H | 1.0 | 16.2483522917 | 8.2244663235 | 4.5574890386 |
| H | 1.0 | 16.1192274087 | 9.9786821030 | 4.5332139251 |
| H | 1.0 | 16.9255874094 | 9.9440401052 | 2.1188014326 |
| H | 1.0 | 17.1592326860 | 8.2069507274 | 2.2475769955 |
| H | 1.0 | 20.7821345138 | 10.0289565199 | 4.5652961089 |
| H | 1.0 | 21.6842113398 | 8.8464819283 | 3.5941322600 |
| H | 1.0 | 21.0240076477 | 8.3717188260 | 5.1551352853 |
| H | 1.0 | -9.7338582936 | -4.0353209964 | -1.3526880611 |
| H | 1.0 | -11.4391923718 | -3.6552132483 | -1.6436976931 |
| H | 1.0 | -10.9723902631 | -4.5147414267 | -0.1814700942 |
| H | 1.0 | -5.7850524489 | -4.7136581206 | -0.2595394856 |
| H | 1.0 | -4.3496020827 | -3.9976097398 | -1.0096088250 |
| H | 1.0 | -5.9472487810 | -3.7403212900 | -1.7165428826 |
| H | 1.0 | -0.7066815745 | -2.1018411175 | -1.4697854009 |
| H | 1.0 | -0.5331175601 | -3.0205680238 | 0.0255656880 |
| H | 1.0 | 0.7942605148 | -2.0001258830 | -0.5438671850 |
| H | 1.0 | 4.1646296513 | -0.3443254953 | 1.2458645050 |
| H | 1.0 | 5.3198153395 | 0.9053182639 | 0.7645734320 |
| H | 1.0 | 4.0324335129 | 0.4163171540 | -0.3400954567 |
| H | 1.0 | 5.2215916809 | 6.9467040181 | 3.5700208819 |
| H | 1.0 | 6.2537791271 | 8.1194735801 | 2.7542872047 |
| H | 1.0 | 6.5114723675 | 7.7569423120 | 4.4632529367 |
| H | 1.0 | 9.4170188833 | 11.6864690692 | 5.2594591276 |
| H | 1.0 | 8.2998324173 | 11.3835884706 | 3.9108425035 |
| H | 1.0 | 9.9376368890 | 11.9926838074 | 3.6074633795 |
| H | 1.0 | 13.3063138739 | 7.6244059530 | 2.2581371929 |
| H | 1.0 | 14.7032878678 | 6.8407198036 | 3.0128917602 |
| H | 1.0 | 14.9145139477 | 7.7961366318 | 1.5496647662 |
| H | 1.0 | 20.3657967897 | 6.9047255745 | 2.4415295420 |
| H | 1.0 | 18.6086369226 | 6.7972194269 | 2.6452180246 |
| H | 1.0 | 19.6922625613 | 6.4254432234 | 3.9944308442 |
| H | 1.0 | -9.4529770300 | -0.7610527630 | 0.5484726241 |
| H | 1.0 | -4.9078009968 | -0.8840018559 | 1.0659661865 |
| H | 1.0 | -2.8682231563 | -2.6624974802 | -0.4543935170 |
| H | 1.0 | -2.6829619594 | -0.0414050038 | 1.1272427466 |
| H | 1.0 | -0.6693955950 | 0.9110887623 | 1.3484989972 |
| H | 1.0 | 1.8927807975 | -0.4722900747 | 0.2894081904 |
| H | 1.0 | 1.2990555480 | 2.1719568752 | 1.7284225476 |
| H | 1.0 | 3.0182951407 | 3.5250121521 | 2.1907169152 |
| H | 1.0 | 5.9484398878 | 2.6411992919 | 1.6908102450 |
| H | 1.0 | 4.6285934419 | 5.1861538211 | 2.7675217688 |
| H | 1.0 | 7.5688831101 | 4.2607534183 | 2.4310185577 |
| H | 1.0 | 9.2221647371 | 5.4952716962 | 3.0879800709 |
| H | 1.0 | 10.4785003778 | 7.2993501117 | 3.6394031281 |
| H | 1.0 | 7.9993549984 | 9.1539035194 | 3.5630025110 |
| H | 1.0 | 14.0367379023 | 10.7383529560 | 4.2766663193 |
| H | 1.0 | 18.6489633204 | 10.4036092004 | 3.8255130915 |

\$END

B3 ENERGIA DE *SINGLE-POINT*

```

$BASIS GBASIS=N311 NGAUSS=6 NDFUNC=1 NPFUNC=1 DIFFSP=.TRUE. $END
$CONTRL SCFTYP=RHF DFTTYP=B3LYP RUNTYP=ENERGY $END
$SYSTEM MWORDS=50 $END
$STATPT OPTTOL=0.0001 NSTEP=500 $END

```

\$DATA

Neurosporeno_Neutra_Energia_Gás

C1

| | | | | |
|---|-----|----------------|---------------|---------------|
| C | 6.0 | -11.8107376266 | -1.9320831881 | 0.5219821214 |
| C | 6.0 | -10.5332229669 | -2.4040024482 | -0.1333484082 |
| C | 6.0 | -9.4033306412 | -1.6857739163 | -0.0306440508 |
| C | 6.0 | -8.0358338793 | -2.0022856487 | -0.5766381005 |
| C | 6.0 | -7.0295073401 | -2.3512903500 | 0.5534383852 |
| C | 6.0 | -5.6109845514 | -2.5923225772 | 0.0856902763 |
| C | 6.0 | -4.6234841322 | -1.7364370000 | 0.4462646408 |
| C | 6.0 | -3.2143132468 | -1.8141924213 | 0.1311667394 |
| C | 6.0 | -2.3100310833 | -0.8881208899 | 0.5483404110 |
| C | 6.0 | -0.8801491314 | -0.9070157368 | 0.3205383607 |
| C | 6.0 | -0.1275955347 | 0.1229944005 | 0.8224672568 |
| C | 6.0 | 1.2934613246 | 0.3033847249 | 0.7594564502 |
| C | 6.0 | 1.9231385080 | 1.4012676161 | 1.2731349233 |
| C | 6.0 | 3.3430048488 | 1.6559233956 | 1.2885403561 |
| C | 6.0 | 3.7860805200 | 2.8393842049 | 1.8278961961 |
| C | 6.0 | 5.1311708944 | 3.2980412208 | 1.9849317304 |
| C | 6.0 | 5.4511349099 | 4.5271890181 | 2.4941892556 |
| C | 6.0 | 6.7931909057 | 4.9860115495 | 2.6812962237 |
| C | 6.0 | 7.2190559704 | 6.2138991917 | 3.1279757652 |
| C | 6.0 | 8.6519354863 | 6.4087823329 | 3.2585548886 |
| C | 6.0 | 9.4111736193 | 7.5013684795 | 3.5664453627 |
| C | 6.0 | 9.0316495155 | 8.8851277039 | 3.7614994359 |
| C | 6.0 | 9.8612561896 | 9.8932309990 | 4.1325370742 |
| C | 6.0 | 11.3283427423 | 9.7119578504 | 4.4556570478 |
| C | 6.0 | 12.2672720830 | 9.9627614346 | 3.2415677587 |
| C | 6.0 | 13.7192298107 | 9.9106415618 | 3.6380372525 |
| C | 6.0 | 14.6353219040 | 8.9718340055 | 3.3490136884 |
| C | 6.0 | 16.0436553225 | 9.0847802478 | 3.9010514326 |
| C | 6.0 | 17.1613045003 | 9.1358788729 | 2.8269619561 |
| C | 6.0 | 18.5148716880 | 9.3919440307 | 3.4361395185 |
| C | 6.0 | 19.5394530071 | 8.5379576383 | 3.5888090372 |
| C | 6.0 | 20.8197118776 | 8.9779756071 | 4.2606235088 |
| C | 6.0 | -10.6608324858 | -3.7159658013 | -0.8699131780 |
| C | 6.0 | -5.3994608812 | -3.8180326020 | -0.7672706590 |
| C | 6.0 | -0.2919288716 | -2.0630732002 | -0.4536622294 |
| C | 6.0 | 4.2701083937 | 0.6101779464 | 0.7139092754 |
| C | 6.0 | 6.2486076115 | 7.3111623322 | 3.4975292323 |
| C | 6.0 | 9.3443482741 | 11.3067815141 | 4.2296213279 |
| C | 6.0 | 14.3644775960 | 7.7512893815 | 2.4994618509 |
| C | 6.0 | 19.5370392444 | 7.0968153013 | 3.1376471372 |
| H | 1.0 | -12.1623531449 | -2.6587136584 | 1.2691117205 |
| H | 1.0 | -12.6209562105 | -1.8281789057 | -0.2138423071 |
| H | 1.0 | -11.6814549348 | -0.9676160653 | 1.0238858503 |
| H | 1.0 | -7.6494899125 | -1.1292522522 | -1.1225596513 |
| H | 1.0 | -8.0809460035 | -2.8231020854 | -1.2999191930 |

| | | | | |
|---|-----|----------------|---------------|---------------|
| H | 1.0 | -7.4037036788 | -3.2482074337 | 1.0708720936 |
| H | 1.0 | -7.0381800407 | -1.5410709514 | 1.2937061111 |
| H | 1.0 | 11.6052385144 | 10.4108618710 | 5.2579443692 |
| H | 1.0 | 11.5283407227 | 8.7088954550 | 4.8466212198 |
| H | 1.0 | 12.0301261442 | 9.2383193309 | 2.4558406364 |
| H | 1.0 | 12.0440613765 | 10.9536348056 | 2.8196177651 |
| H | 1.0 | 16.2483522917 | 8.2244663235 | 4.5574890386 |
| H | 1.0 | 16.1192274087 | 9.9786821030 | 4.5332139251 |
| H | 1.0 | 16.9255874094 | 9.9440401052 | 2.1188014326 |
| H | 1.0 | 17.1592326860 | 8.2069507274 | 2.2475769955 |
| H | 1.0 | 20.7821345138 | 10.0289565199 | 4.5652961089 |
| H | 1.0 | 21.6842113398 | 8.8464819283 | 3.5941322600 |
| H | 1.0 | 21.0240076477 | 8.3717188260 | 5.1551352853 |
| H | 1.0 | -9.7338582936 | -4.0353209964 | -1.3526880611 |
| H | 1.0 | -11.4391923718 | -3.6552132483 | -1.6436976931 |
| H | 1.0 | -10.9723902631 | -4.5147414267 | -0.1814700942 |
| H | 1.0 | -5.7850524489 | -4.7136581206 | -0.2595394856 |
| H | 1.0 | -4.3496020827 | -3.9976097398 | -1.0096088250 |
| H | 1.0 | -5.9472487810 | -3.7403212900 | -1.7165428826 |
| H | 1.0 | -0.7066815745 | -2.1018411175 | -1.4697854009 |
| H | 1.0 | -0.5331175601 | -3.0205680238 | 0.0255656880 |
| H | 1.0 | 0.7942605148 | -2.0001258830 | -0.5438671850 |
| H | 1.0 | 4.1646296513 | -0.3443254953 | 1.2458645050 |
| H | 1.0 | 5.3198153395 | 0.9053182639 | 0.7645734320 |
| H | 1.0 | 4.0324335129 | 0.4163171540 | -0.3400954567 |
| H | 1.0 | 5.2215916809 | 6.9467040181 | 3.5700208819 |
| H | 1.0 | 6.2537791271 | 8.1194735801 | 2.7542872047 |
| H | 1.0 | 6.5114723675 | 7.7569423120 | 4.4632529367 |
| H | 1.0 | 9.4170188833 | 11.6864690692 | 5.2594591276 |
| H | 1.0 | 8.2998324173 | 11.3835884706 | 3.9108425035 |
| H | 1.0 | 9.9376368890 | 11.9926838074 | 3.6074633795 |
| H | 1.0 | 13.3063138739 | 7.6244059530 | 2.2581371929 |
| H | 1.0 | 14.7032878678 | 6.8407198036 | 3.0128917602 |
| H | 1.0 | 14.9145139477 | 7.7961366318 | 1.5496647662 |
| H | 1.0 | 20.3657967897 | 6.9047255745 | 2.4415295420 |
| H | 1.0 | 18.6086369226 | 6.7972194269 | 2.6452180246 |
| H | 1.0 | 19.6922625613 | 6.4254432234 | 3.9944308442 |
| H | 1.0 | -9.4529770300 | -0.7610527630 | 0.5484726241 |
| H | 1.0 | -4.9078009968 | -0.8840018559 | 1.0659661865 |
| H | 1.0 | -2.8682231563 | -2.6624974802 | -0.4543935170 |
| H | 1.0 | -2.6829619594 | -0.0414050038 | 1.1272427466 |
| H | 1.0 | -0.6693955950 | 0.9110887623 | 1.3484989972 |
| H | 1.0 | 1.8927807975 | -0.4722900747 | 0.2894081904 |
| H | 1.0 | 1.2990555480 | 2.1719568752 | 1.7284225476 |
| H | 1.0 | 3.0182951407 | 3.5250121521 | 2.1907169152 |
| H | 1.0 | 5.9484398878 | 2.6411992919 | 1.6908102450 |
| H | 1.0 | 4.6285934419 | 5.1861538211 | 2.7675217688 |
| H | 1.0 | 7.5688831101 | 4.2607534183 | 2.4310185577 |
| H | 1.0 | 9.2221647371 | 5.4952716962 | 3.0879800709 |
| H | 1.0 | 10.4785003778 | 7.2993501117 | 3.6394031281 |
| H | 1.0 | 7.9993549984 | 9.1539035194 | 3.5630025110 |
| H | 1.0 | 14.0367379023 | 10.7383529560 | 4.2766663193 |
| H | 1.0 | 18.6489633204 | 10.4036092004 | 3.8255130915 |

\$END

APÊNDICE C - COORDENADAS CARTESIANAS DAS ESTRUTURAS DOS CAROTENÓIDES OTIMIZADAS

C1 LICOPENO

COORDINATES OF ALL ATOMS ARE (ANGS)

| ATOM | CHARGE | X | Y | Z |
|------|--------|----------------|---------------|---------------|
| C | 6.0 | -16.4708565283 | -1.9225783755 | 1.7901543842 |
| C | 6.0 | -15.8007177441 | -1.5543893908 | 0.6916178380 |
| C | 6.0 | -14.3169320099 | -1.4139668210 | 0.4933041377 |
| C | 6.0 | -13.7808520397 | -2.3906809916 | -0.5864852529 |
| C | 6.0 | -12.3080868676 | -2.2369973579 | -0.8847005468 |
| C | 6.0 | -17.9783863888 | -2.0151427144 | 1.7784427929 |
| C | 6.0 | -11.4445100278 | -3.2292562095 | -0.5722006637 |
| C | 6.0 | -10.0143627685 | -3.2471988930 | -0.7721926916 |
| C | 6.0 | -9.2233996328 | -4.2915501889 | -0.4268168116 |
| C | 6.0 | -7.7756867140 | -4.3838938954 | -0.5741223013 |
| C | 6.0 | -6.9977177223 | -3.2608197355 | -0.6073673008 |
| C | 6.0 | -5.5807188585 | -3.1023810147 | -0.8159787041 |
| C | 6.0 | -4.6882737870 | -3.9652823310 | -1.3761158708 |
| C | 6.0 | -3.2600950214 | -3.7518152511 | -1.5492743002 |
| C | 6.0 | -2.5707045150 | -2.8111654638 | -0.8351547699 |
| C | 6.0 | -1.1880873495 | -2.4688762537 | -0.9510807102 |
| C | 6.0 | -0.5763434945 | -1.5087247275 | -0.1985310366 |
| C | 6.0 | 0.8097441479 | -1.1766462910 | -0.3112523881 |
| C | 6.0 | 1.4963608143 | -0.2139154294 | 0.3744759696 |
| C | 6.0 | 2.9328890667 | -0.0411646088 | 0.2210142167 |
| C | 6.0 | 3.8203452546 | -0.9929629135 | -0.1769202346 |
| C | 6.0 | 5.2480981818 | -0.8897264286 | -0.3496747849 |
| C | 6.0 | 6.0473507257 | 0.1901337733 | -0.6081807642 |
| C | 6.0 | 7.4782678392 | -0.0321288451 | -0.6624625249 |
| C | 6.0 | 8.4523731925 | 0.8969339391 | -0.8254256343 |
| C | 6.0 | 9.8574872243 | 0.5590708231 | -0.8370829541 |
| C | 6.0 | 10.9170087166 | 1.3905774642 | -0.9449677405 |
| C | 6.0 | 12.3224504162 | 0.8329385043 | -0.8850025708 |
| C | 6.0 | 12.9885391273 | 0.9823251953 | 0.4998412918 |
| C | 6.0 | 14.4228344026 | 0.4377314726 | 0.5259126340 |
| C | 6.0 | 15.0822941601 | 0.3803043729 | 1.9173626745 |
| C | 6.0 | 16.4172173340 | -0.3744556012 | 1.8447181922 |
| C | 6.0 | -15.8372856071 | -2.2723413660 | 3.1135204578 |
| C | 6.0 | -11.8975744727 | -0.9334305287 | -1.5223542625 |
| C | 6.0 | -7.2149529372 | -5.7841848118 | -0.6457322405 |
| C | 6.0 | -2.6037189868 | -4.6528186627 | -2.5713957964 |
| C | 6.0 | 0.8332855400 | 0.7491124394 | 1.3335239755 |
| C | 6.0 | 5.5107372542 | 1.5760070769 | -0.8628561338 |
| C | 6.0 | 10.8154701169 | 2.8840757961 | -1.1059587303 |
| C | 6.0 | 15.2784119761 | 1.7721416094 | 2.5364619233 |
| H | 1.0 | -13.7644123074 | -1.5784871057 | 1.4212800986 |
| H | 1.0 | -14.1000959871 | -0.3848584641 | 0.1806303569 |
| H | 1.0 | -14.3543466124 | -2.2280592722 | -1.5098593579 |
| H | 1.0 | -13.9893643612 | -3.4147174155 | -0.2634765287 |
| H | 1.0 | -18.3923951406 | -1.7590027591 | 0.8011699390 |
| H | 1.0 | -18.4202202628 | -1.3425546349 | 2.5237501285 |

| | | | | |
|---|-----|----------------|---------------|---------------|
| H | 1.0 | -18.3110411846 | -3.0276386789 | 2.0365692668 |
| H | 1.0 | 12.9500412642 | 1.3348537022 | -1.6335720445 |
| H | 1.0 | 12.3072466154 | -0.2291512078 | -1.1515104864 |
| H | 1.0 | 12.3789951586 | 0.4476569925 | 1.2380590547 |
| H | 1.0 | 12.9797586607 | 2.0359789234 | 0.7965637211 |
| H | 1.0 | 15.0545670061 | 1.0379132455 | -0.1438913215 |
| H | 1.0 | 14.4181964686 | -0.5768961981 | 0.1065184629 |
| H | 1.0 | 16.2801751693 | -1.3851024869 | 1.4483075179 |
| H | 1.0 | 16.8810315364 | -0.4617183101 | 2.8319173059 |
| H | 1.0 | 17.1253174051 | 0.1465483920 | 1.1905032765 |
| H | 1.0 | -16.1121434896 | -3.2912324613 | 3.4108577825 |
| H | 1.0 | -16.2077534988 | -1.6078285073 | 3.9032657586 |
| H | 1.0 | -14.7495886120 | -2.2069989554 | 3.1039496829 |
| H | 1.0 | -10.8939823124 | -0.9639910242 | -1.9460944323 |
| H | 1.0 | -11.9221239139 | -0.1111584513 | -0.7971336445 |
| H | 1.0 | -12.5919923882 | -0.6636235467 | -2.3257277934 |
| H | 1.0 | -7.8743069522 | -6.4879487539 | -0.1304256003 |
| H | 1.0 | -6.2202673824 | -5.8496860772 | -0.1987022450 |
| H | 1.0 | -7.1333631141 | -6.1295233910 | -1.6837798693 |
| H | 1.0 | -1.5159659307 | -4.6046908143 | -2.5513659156 |
| H | 1.0 | -2.9336835069 | -4.3977846085 | -3.5849303006 |
| H | 1.0 | -2.8927151096 | -5.6947650257 | -2.3974803735 |
| H | 1.0 | -0.2545484726 | 0.7283653147 | 1.2777323933 |
| H | 1.0 | 1.1559944162 | 1.7742331869 | 1.1222843724 |
| H | 1.0 | 1.1232814172 | 0.5336622575 | 2.3685468128 |
| H | 1.0 | 5.5241774495 | 2.1911119604 | 0.0446576991 |
| H | 1.0 | 4.4820849498 | 1.5385313469 | -1.2231486577 |
| H | 1.0 | 6.1133156449 | 2.0933127657 | -1.6132672529 |
| H | 1.0 | 9.7916331169 | 3.2565723312 | -1.0723632119 |
| H | 1.0 | 11.2525011476 | 3.1931281081 | -2.0637888458 |
| H | 1.0 | 11.3827309168 | 3.4032347944 | -0.3250038488 |
| H | 1.0 | 14.4114405676 | -0.1886719446 | 2.5761927398 |
| H | 1.0 | 15.7475198673 | 1.6968002871 | 3.5219492095 |
| H | 1.0 | 14.3313020752 | 2.3025799396 | 2.6620615573 |
| H | 1.0 | 15.9284779646 | 2.3899087197 | 1.9061414522 |
| H | 1.0 | -16.3914894110 | -1.3340436674 | -0.1978880813 |
| H | 1.0 | -11.8610405980 | -4.1253668004 | -0.1142321442 |
| H | 1.0 | -9.5537629657 | -2.3813493216 | -1.2373339977 |
| H | 1.0 | -9.7121154805 | -5.1783332764 | -0.0246898444 |
| H | 1.0 | -7.5135038469 | -2.3255435704 | -0.4061729599 |
| H | 1.0 | -5.2027172467 | -2.1266537725 | -0.5184751899 |
| H | 1.0 | -5.0631904839 | -4.8907327089 | -1.8000666578 |
| H | 1.0 | -3.1232295512 | -2.2572816048 | -0.0801936086 |
| H | 1.0 | -0.5824470749 | -2.9971000207 | -1.6827500946 |
| H | 1.0 | -1.1798929582 | -0.9760602938 | 0.5317467506 |
| H | 1.0 | 1.3703692975 | -1.7592026136 | -1.0384760970 |
| H | 1.0 | 3.3162636287 | 0.9253965293 | 0.5339051764 |
| H | 1.0 | 3.4297273404 | -1.9980591057 | -0.3234328394 |
| H | 1.0 | 5.7660813147 | -1.8444994649 | -0.2794898881 |
| H | 1.0 | 7.7916873327 | -1.0663850113 | -0.5288033577 |
| H | 1.0 | 8.1785117647 | 1.9405935234 | -0.9367812839 |
| H | 1.0 | 10.0737706419 | -0.5040383581 | -0.7372155092 |

C2 NEUROSPORENO

COORDINATES OF ALL ATOMS ARE (ANGS)

| ATOM | CHARGE | X | Y | Z |
|------|--------|----------------|---------------|---------------|
| C | 6.0 | -11.8107376266 | -1.9320831881 | 0.5219821214 |
| C | 6.0 | -10.5332229669 | -2.4040024482 | -0.1333484082 |
| C | 6.0 | -9.4033306412 | -1.6857739163 | -0.0306440508 |
| C | 6.0 | -8.0358338793 | -2.0022856487 | -0.5766381005 |
| C | 6.0 | -7.0295073401 | -2.3512903500 | 0.5534383852 |
| C | 6.0 | -5.6109845514 | -2.5923225772 | 0.0856902763 |
| C | 6.0 | -4.6234841322 | -1.7364370000 | 0.4462646408 |
| C | 6.0 | -3.2143132468 | -1.8141924213 | 0.1311667394 |
| C | 6.0 | -2.3100310833 | -0.8881208899 | 0.5483404110 |
| C | 6.0 | -0.8801491314 | -0.9070157368 | 0.3205383607 |
| C | 6.0 | -0.1275955347 | 0.1229944005 | 0.8224672568 |
| C | 6.0 | 1.2934613246 | 0.3033847249 | 0.7594564502 |
| C | 6.0 | 1.9231385080 | 1.4012676161 | 1.2731349233 |
| C | 6.0 | 3.3430048488 | 1.6559233956 | 1.2885403561 |
| C | 6.0 | 3.7860805200 | 2.8393842049 | 1.8278961961 |
| C | 6.0 | 5.1311708944 | 3.2980412208 | 1.9849317304 |
| C | 6.0 | 5.4511349099 | 4.5271890181 | 2.4941892556 |
| C | 6.0 | 6.7931909057 | 4.9860115495 | 2.6812962237 |
| C | 6.0 | 7.2190559704 | 6.2138991917 | 3.1279757652 |
| C | 6.0 | 8.6519354863 | 6.4087823329 | 3.2585548886 |
| C | 6.0 | 9.4111736193 | 7.5013684795 | 3.5664453627 |
| C | 6.0 | 9.0316495155 | 8.8851277039 | 3.7614994359 |
| C | 6.0 | 9.8612561896 | 9.8932309990 | 4.1325370742 |
| C | 6.0 | 11.3283427423 | 9.7119578504 | 4.4556570478 |
| C | 6.0 | 12.2672720830 | 9.9627614346 | 3.2415677587 |
| C | 6.0 | 13.7192298107 | 9.9106415618 | 3.6380372525 |
| C | 6.0 | 14.6353219040 | 8.9718340055 | 3.3490136884 |
| C | 6.0 | 16.0436553225 | 9.0847802478 | 3.9010514326 |
| C | 6.0 | 17.1613045003 | 9.1358788729 | 2.8269619561 |
| C | 6.0 | 18.5148716880 | 9.3919440307 | 3.4361395185 |
| C | 6.0 | 19.5394530071 | 8.5379576383 | 3.5888090372 |
| C | 6.0 | 20.8197118776 | 8.9779756071 | 4.2606235088 |
| C | 6.0 | -10.6608324858 | -3.7159658013 | -0.8699131780 |
| C | 6.0 | -5.3994608812 | -3.8180326020 | -0.7672706590 |
| C | 6.0 | -0.2919288716 | -2.0630732002 | -0.4536622294 |
| C | 6.0 | 4.2701083937 | 0.6101779464 | 0.7139092754 |
| C | 6.0 | 6.2486076115 | 7.3111623322 | 3.4975292323 |
| C | 6.0 | 9.3443482741 | 11.3067815141 | 4.2296213279 |
| C | 6.0 | 14.3644775960 | 7.7512893815 | 2.4994618509 |
| C | 6.0 | 19.5370392444 | 7.0968153013 | 3.1376471372 |
| H | 1.0 | -12.1623531449 | -2.6587136584 | 1.2691117205 |
| H | 1.0 | -12.6209562105 | -1.8281789057 | -0.2138423071 |
| H | 1.0 | -11.6814549348 | -0.9676160653 | 1.0238858503 |
| H | 1.0 | -7.6494899125 | -1.1292522522 | -1.1225596513 |
| H | 1.0 | -8.0809460035 | -2.8231020854 | -1.2999191930 |
| H | 1.0 | -7.4037036788 | -3.2482074337 | 1.0708720936 |
| H | 1.0 | -7.0381800407 | -1.5410709514 | 1.2937061111 |

| | | | | |
|---|-----|----------------|---------------|---------------|
| H | 1.0 | 11.6052385144 | 10.4108618710 | 5.2579443692 |
| H | 1.0 | 11.5283407227 | 8.7088954550 | 4.8466212198 |
| H | 1.0 | 12.0301261442 | 9.2383193309 | 2.4558406364 |
| H | 1.0 | 12.0440613765 | 10.9536348056 | 2.8196177651 |
| H | 1.0 | 16.2483522917 | 8.2244663235 | 4.5574890386 |
| H | 1.0 | 16.1192274087 | 9.9786821030 | 4.5332139251 |
| H | 1.0 | 16.9255874094 | 9.9440401052 | 2.1188014326 |
| H | 1.0 | 17.1592326860 | 8.2069507274 | 2.2475769955 |
| H | 1.0 | 20.7821345138 | 10.0289565199 | 4.5652961089 |
| H | 1.0 | 21.6842113398 | 8.8464819283 | 3.5941322600 |
| H | 1.0 | 21.0240076477 | 8.3717188260 | 5.1551352853 |
| H | 1.0 | -9.7338582936 | -4.0353209964 | -1.3526880611 |
| H | 1.0 | -11.4391923718 | -3.6552132483 | -1.6436976931 |
| H | 1.0 | -10.9723902631 | -4.5147414267 | -0.1814700942 |
| H | 1.0 | -5.7850524489 | -4.7136581206 | -0.2595394856 |
| H | 1.0 | -4.3496020827 | -3.9976097398 | -1.0096088250 |
| H | 1.0 | -5.9472487810 | -3.7403212900 | -1.7165428826 |
| H | 1.0 | -0.7066815745 | -2.1018411175 | -1.4697854009 |
| H | 1.0 | -0.5331175601 | -3.0205680238 | 0.0255656880 |
| H | 1.0 | 0.7942605148 | -2.0001258830 | -0.5438671850 |
| H | 1.0 | 4.1646296513 | -0.3443254953 | 1.2458645050 |
| H | 1.0 | 5.3198153395 | 0.9053182639 | 0.7645734320 |
| H | 1.0 | 4.0324335129 | 0.4163171540 | -0.3400954567 |
| H | 1.0 | 5.2215916809 | 6.9467040181 | 3.5700208819 |
| H | 1.0 | 6.2537791271 | 8.1194735801 | 2.7542872047 |
| H | 1.0 | 6.5114723675 | 7.7569423120 | 4.4632529367 |
| H | 1.0 | 9.4170188833 | 11.6864690692 | 5.2594591276 |
| H | 1.0 | 8.2998324173 | 11.3835884706 | 3.9108425035 |
| H | 1.0 | 9.9376368890 | 11.9926838074 | 3.6074633795 |
| H | 1.0 | 13.3063138739 | 7.6244059530 | 2.2581371929 |
| H | 1.0 | 14.7032878678 | 6.8407198036 | 3.0128917602 |
| H | 1.0 | 14.9145139477 | 7.7961366318 | 1.5496647662 |
| H | 1.0 | 20.3657967897 | 6.9047255745 | 2.4415295420 |
| H | 1.0 | 18.6086369226 | 6.7972194269 | 2.6452180246 |
| H | 1.0 | 19.6922625613 | 6.4254432234 | 3.9944308442 |
| H | 1.0 | -9.4529770300 | -0.7610527630 | 0.5484726241 |
| H | 1.0 | -4.9078009968 | -0.8840018559 | 1.0659661865 |
| H | 1.0 | -2.8682231563 | -2.6624974802 | -0.4543935170 |
| H | 1.0 | -2.6829619594 | -0.0414050038 | 1.1272427466 |
| H | 1.0 | -0.6693955950 | 0.9110887623 | 1.3484989972 |
| H | 1.0 | 1.8927807975 | -0.4722900747 | 0.2894081904 |
| H | 1.0 | 1.2990555480 | 2.1719568752 | 1.7284225476 |
| H | 1.0 | 3.0182951407 | 3.5250121521 | 2.1907169152 |
| H | 1.0 | 5.9484398878 | 2.6411992919 | 1.6908102450 |
| H | 1.0 | 4.6285934419 | 5.1861538211 | 2.7675217688 |
| H | 1.0 | 7.5688831101 | 4.2607534183 | 2.4310185577 |
| H | 1.0 | 9.2221647371 | 5.4952716962 | 3.0879800709 |
| H | 1.0 | 10.4785003778 | 7.2993501117 | 3.6394031281 |
| H | 1.0 | 7.9993549984 | 9.1539035194 | 3.5630025110 |
| H | 1.0 | 14.0367379023 | 10.7383529560 | 4.2766663193 |
| H | 1.0 | 18.6489633204 | 10.4036092004 | 3.8255130915 |

ANEXO A – ARTIGO DE REVISÃO DOS MÉTODOS COMPUTACIONAIS NO ESTUDO DE CAROTENÓIDES COMO ANTIOXIDANTES

Applications of computational chemistry to the study of the antiradical activity of carotenoids: a review

Debora Luana Monego^{a*}, Marcelo Barcellos da Rosa^a, Paulo Cícero do Nascimento^a

^aDepartment of Chemistry, Federal University of Santa Maria, Avenida Roraima, 1000, Santa Maria 97105900 RS, Brazil

*Corresponding author: Tel. +55 55 32208870.

Email address: debora.monego@gmail.com (D. L. Monego)

Abstract

The carotenoids are fat-soluble natural pigments found frequently in fruits, vegetables, algae, fungi and bacteria. Known for their pro-vitamin A and antiradical activity, carotenoids are very beneficial to human health. Computational chemistry techniques, especially quantum chemistry, have more frequently become the choice of approach employed to the study of such molecules, focusing on their structural, energetic and dynamical aspects. A summary of the various quantum chemical analyses that have been employed to evaluate the free radical scavenger capacity of carotenoid molecules are tabulated in this review and the most important observations are discussed.

Keywords: carotenoids, free radicals, antiradical activity, quantum chemistry calculations.

1. Introduction

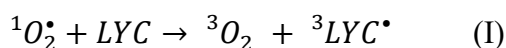
Carotenoids are a class of natural pigments derived from a basic structure of 40 carbon atoms in a polyene chain. In human nutrition, these molecules are the major sources of retinol, besides showing pro-vitamin A activity and important role as antioxidant agents (Krinsky, 1989; Lachance, 1988). Due to this antioxidant potential, a diet rich in carotenoids is associated with a reduced risk of development of several disorders caused by oxidative stress, such as various types of cancer, cardiovascular and ophthalmologic diseases (Krinsky, 1988; Mayne, 1996; Peto, Doll, Buckley, & Sporn, 1981).

Computational chemistry is a multidisciplinary field of research with applications to many important problems in chemistry, biology and materials science. The study of the fundamental properties of atoms and molecules using quantum mechanics and thermodynamics is nowadays a consolidated approach and long considered as a “must-have” tool by the scientific community (Krieger, 1997).

Uses of computational chemistry in the area of carotenoids have gained attention especially in the last two decades. Carotenoids are usually studied by chromatographic and spectrometric methods, which impose limitations concerning important factors that may influence their biological functions, such as solubility and synergistic effects (Böhm, Edge, McGarvey, & Truscott, 1998; Young & Lowe, 2001). Also, the large molecular size of carotenoids has restricted many of these studies to the semiempirical level. This makes computations on them very useful in order to develop a better understanding of the mechanisms underlying these functions, improving the accuracy of predictions of their in vivo actions.

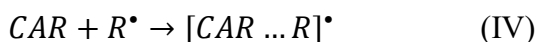
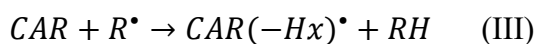
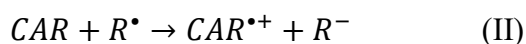
Based on the study of the reaction of carotenoid molecules with different radical species, mechanisms through which carotenoids react with active oxygen species have been

suggested (Burton & Ingold, 1984; Everett et al., 1996; Hill et al., 1995; Liebler & McClure, 1996). Since then, a great number of splendid reviews have been written aiming to elucidate the mechanisms and the effects of this interaction on human health. Edge, McGarvey, and Truscott (1997) for instance, analyzed relevant data regarding the antioxidant activity of carotenoids and discussed their possible mechanisms of action. According to the authors, carotenoids have the ability to act as a catalyst and quench singlet oxygen ($^1O_2^*$). They also observed that the extent of this capacity is directly related to the number of conjugated double bonds and to the carotenoid triplet energy level. Among the biological occurring carotenoids, lycopene presents the greatest ability to quench $^1O_2^*$ (Di Mascio, Kaiser, & Sies, 1989) by the direct energy transfer, as follows:



The carotenoid then returns to the ground state by dissipating its energy as heat through rotational and vibrational interactions with the surrounding solvent.

Additionally, carotenoids are able to chemically interact with free radicals in vivo by many different mechanisms (Krinsky & Yeum, 2003; Krinsky, 2001; Mortensen, Skibsted, & Truscott, 2001; Rice-Evansa, Sampson, Bramley, & Holloway, 1997). The most important are the electron transfer (II), hydrogen atom abstraction by the radical (III), and radical addition to the carotenoid to form adduct (IV):

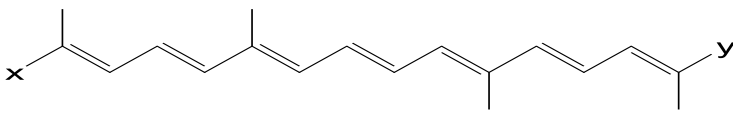
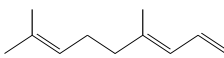
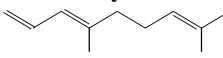
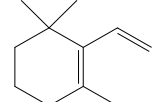
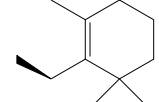
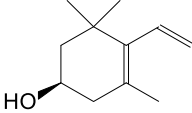
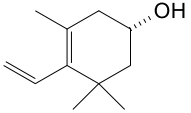
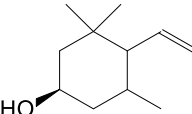
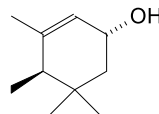
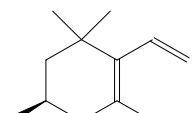
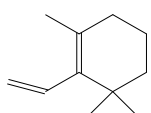


Another review with a similar ambition is the one written by Young and Lowe (2001), that considered the effect of structural and physicochemical features of carotenoid molecules on their biological activity. The authors suggest that the mechanism of interaction is not the only factor to be considered when evaluating the antioxidant behavior of such compounds.

Several further aspects seem to be particularly noteworthy: the structure of the species participating in the reaction (carotenoid and radical), the concentration of carotenoid, and the nature of the solvent where the reaction occurs.

Providing details about the mechanisms of action of carotenoids was not the aim of this review as they can be easily found in the review articles cited above. In the following sections, we examine the computational studies analyzing carotenoids interaction with free radicals through the aforementioned mechanisms, highlighting the more significant ones in this author's opinion. Table 1 shows some of the most important carotenoid molecules.

Table 1. Structure of common carotenoid molecules.

| BASIC STRUCTURE OF CAROTENOIDS | | |
|---|--|---|
| |  | |
| Compound | x | y |
| Lycopene/ Ψ - Ψ -carotene/ $C_{40}H_{56}$ |  |  |
| β -carotene/ β - β -carotene/ $C_{40}H_{56}$ |  |  |
| Zeaxanthin/ (3R,3'R)- β - β -carotene-3,3'-diol/ $C_{40}H_{56}O_2$ |  |  |
| Lutein/ (3R,3'R,6'R)- β - ϵ -carotene-3,3'-diol/ $C_{40}H_{56}O_2$ |  |  |
| B-cryptoxanthin/ (3R)- β - β -carotene-3-ol/ $C_{40}H_{56}O$ |  |  |

2. Computational studies evaluating free radical scavenging activity of carotenoids

2.1. Quenching singlet oxygen mechanism

Carotenoid molecules interact with singlet oxygen mainly by physical quenching, i.e., by direct energy transfer. As a result of this process, a ground state oxygen molecule and a triplet carotenoid molecule are produced (Conn, Schalch, & Truscott, 1991; Wilkinson & Hoa, 1978). Since the excited carotenoid molecule is not very reactive, it easily dissipates its energy of excitation, returning rapidly to the ground state energy level. Therefore, the same molecule can repeat the process several times, what is a great advantage over other antiradical species. The ability of carotenoids to deactivate the singlet oxygen molecule depends on the ionization energy and on the difference between the energy of its singlet and triplet states, which is related to the HOMO-LUMO (Highest Occupied Molecular Orbital-Lowest Unoccupied Molecular Orbital) gap (Ma, Li, & Jiang, 2002; Vázquez-Mayagoitia, Vargas, Nichols, Fuentealba, & Garza, 2006). If this energy difference is low, the deactivation of the $^1\text{O}_2^*$ by the carotenoid is favored in terms of this mechanism.

One of the first studies that employed a quantum mechanical method to investigate the reactions between singlet-oxygen and carotenoids was conducted by Garavelli, Bernardi, Olivucci, and Robb (1998). In this paper, the authors used a density functional theory (DFT) (Hohenberg & Kohn, 1973; Kohn, Becke, & Parr, 1996; Kohn & Sham, 1965) approach combined with the 6-31G* basis set (Blaudeau, McGrath, Curtiss, & Radom, 1997; Krishnan, Binkley, Seeger, & Pople, 1980) and the unrestricted Becke3-LYP functional (UB3LYP) (Becke, 1993; Lee, Yang, & Parr, 1988) to study the nature and energetics of the reactions involved in the attack of $^1\text{O}_2^*$ to the all-trans-decaoctanonaene, which represents a common fragment of many carotenoids. According to the results obtained, different types of reactions are possible including energy transfer, 1,2-addition of $^1\text{O}_2^*$, triplet dissociation, and triplet-

triplet recombination, from which the former is the most favored one since it consists of an almost barrierless pathway. The authors also observed that the singlet-triplet energy decreases with an increasing polyene chain, indicating that the energy transfer process should be even easier in longer carotenoids since the crossing between the two diabatic surfaces should occur closer to the singlet-singlet reactant. This is by far the most complete assessment to date concerning the singlet-oxygen and carotenoid interaction.

Carotenoids are mostly found as trans-isomers in natural foods. However, during the food processing, these compounds are susceptible to cis-trans isomerization reactions, what may alter significantly their biological activity (Chandler & Schwartz, 1988). In this sense, a study of the cis-trans isomerizations of polyenes and two carotenes with the same molecular weight, β -carotene and lycopene, at the ground singlet and triplet states was conducted by Guo, Tu, and Hu (2008). They employed two different quantum chemical approaches, namely, complete active space Møller–Plesset 2nd order perturbation theory (CASMP2) (Andersson, Malmqvist, Roos, Sadlej, & Wolinski, 1990) and DFT. The inverse relationship between the length of the polyene chain and the singlet-triplet energy was once again detected and was attributed to the presence of the extended π -conjugation system, being therefore directly related to the stability of the polyene. Additionally, the authors observed that, although DFT includes the spin correction, being in theory a better approach to describe the singlet transition states of carotenoid molecules, the differences from one method to another were very small (within 1 kcal/mol). Accordingly, they concluded that both approaches are valid and encourage the use of DFT/B3LYP/6-31G(d) (Becke, 1988; Lee et al., 1988; Miehlich, Savin, Stoll, & Preuss, 1989), since it represents a more complete theory. Between the two carotenes assessed, lycopene presented the lower triplet state energy (by ~ 2 kcal/mol), which, according to the authors, is related to the reduced electron delocalization of β -carotene

caused by the presence of the β -ionone ring. This explains the greater ability to quench singlet-oxygen by lycopene, even though both molecules have eleven conjugated π -bonds.

Furthermore, the all-trans isomers seemed to be more stable than the all-cis ones, what suggests that molecules in this configuration show a greater antioxidant capacity in relation to this mechanism. Later in this review, we will cover papers that confirm this enhanced stability of trans-isomers but show that the difference is not sufficient to represent an improvement on the antioxidant activity.

Carotenoids are widely employed in the food industry by their strong coloration. This characteristic is a result of light absorption stemming from the presence of the long polyene chain, which is also in a great extent responsible for the antioxidant activity of these compounds (Boon, McClements, Weiss, & Decker, 2010). Therefore, we could anticipate that this biological action would be much lower for colorless carotenoids, due to their structure. In order to evaluate the free radical scavenging properties of two colorless carotenoids and their isomers, Martínez, Stinco, & Meléndez-Martínez (2014) conducted a combined experimental and theoretical study where these compounds were compared to the colored lycopene. The authors used DFT and B3LYP functional combined with the 6-31G(d) basis set for geometry optimizations of phytofluene, phytoene and lycopene. In order to obtain the singlet-triplet energies, single-point energies were computed at these geometries, using the m062x functional (Zhao & Truhlar, 2008) and the 6-311+G(d,p) basis set. Although the m062x functional is expected to describe medium-range electron correlations and van der Waals interactions more effectively than B3LYP (Giroday, Montero-Campillo, & Mora-Diez, 2014), this choice is not well justified in this paper and is not used by Martínez's group in other similar works that will be discussed later in this review. As expected, the lower energy difference was of lycopene (0.63 eV), followed by phytofluene (1.22 eV) and phytoene (1.74

eV), what was in accordance with the experimental results that appointed that lycopene was the best antiradical and phytoene the worst.

The importance of this mechanism of free radical scavenging by carotenoids is evident, but satisfactory experimental measurements of $^1\text{O}_2^*$ are very difficult to achieve, given its strongly reduced lifetime (Niedre, Patterson, & Wilson, 2002). This limitation restricts the investigation of the interaction between these two species and may sometimes lead to inaccurate results, especially for in vivo assays. In this sense, quantum based methods arise as a great alternative, since they enable the account of the diverse factors that may affect the biological activity of these species in relation to this mechanism. Nevertheless, very few carotenoid molecules were studied regarding the singlet oxygen scavenging mechanism under the light of computational chemistry aiming the evaluation of the antioxidant potential.

2.2. Electron transfer mechanism

Carotenoids are able to scavenge free radicals either by donating or by accepting unpaired electrons (Burton & Ingold, 1984; Edge et al., 1997; Galano, 2007; Martínez, Vargas, & Galano, 2009; Mortensen et al., 2001; Mortensen, Skibsted, Sampson, Rice-Evans, & Everett, 1997; Polyakov, Kruppa, Leshina, Konovalova, & Kispert, 2001). This action prevents radical damage by oxidation or reduction of free radicals. Therefore, in order to evaluate the antiradicalar potential of a carotenoid molecule in terms of this mechanism, its oxidation and reduction potential must be considered. This can be achieved by determining the ionization energy (IE) and the electron affinity (EA), respectively (Galano, 2007). Compounds with low IE values are more easily oxidized. Large and positive values of EA, on the other hand, represent molecules with a greater capacity for accepting electrons, being

more easily reduced. Accordingly, the most efficient antiradicals are molecules with low IE and high EA values.

The adiabatic IE of an n -electron system is calculated as the energy difference between the $(n-1)$ -electron ionic species calculated at a geometry g_{n-1} and the n -electron neutral species calculated at a geometry g_n . Similarly, the adiabatic EA of this system is the energy difference between the $(n+1)$ -electron ionic species and the n -electron neutral species, both calculated at their respective geometries. Hence, in order to compute the adiabatic parameters of the studied system, two geometry optimizations are necessary and the results take into account the relaxation of the ionic species after charge transfer. A useful approximation, known as the vertical IE (and EA), is obtained when only one geometry optimization is performed, i.e., assuming that all species considered have the ground-state nuclear configuration of the neutral molecule.

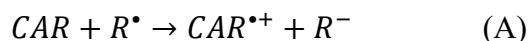
The electron transport in carotenoid molecules is believed to be dominated by tunneling due to the π -electron system of these species (Ramachandran et al., 2003). Additionally, electrons are significantly faster than nuclei and this process is expected to occur very fast. As a result, electronic transitions can be considered to take place in fixed nuclear configurations, which have no time for relaxation at the moment of the transfer. Thus, vertical IE can be considered as an upper limit of the activation barrier of the reaction, representing a better criterion to predict which carotenoid would more readily transfer one of its electrons to another species. The same analysis can be applied to the EA.

In this regard, computational studies evaluating carotenoids' electron donor-acceptor capability have been carried out aiming to calculate vertical IEs and vertical EAs and, by the comparison of the obtained values, to map a relative scale between the antioxidant potential of different carotenoids. The most successful methodology was developed and described in detail by a series of papers by Martínez and Galano's research groups (Galano & Francisco-

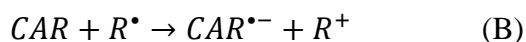
Marquez, 2009; Galano & Martínez, 2012; Galano, Vargas, & Martínez, 2010; Galano, 2007; Martínez & Melendez-Martínez, 2016; Martínez, Rodríguez-Girones, Barbosa, & Costas, 2008; Martínez et al., 2009; Martinez et al., 2014), and involves the following: (1) Geometry optimizations without symmetry constraints to locate energy minima. (2) Harmonic vibrational frequency calculations to determine whether the optimized structures are true minima or transition states, and to evaluate the contributions to the Gibbs free energy. (3) Energy single point calculations, usually at an improved level of theory, in order to compute the electron donor-acceptor indexes (IE and EA).

Galano (2007) confirmed that energy differences calculated as vertical are adequate for evaluating the antioxidant potential of carotenoids. The author compared the order of reactivity of 9 selected carotenoids (in terms of the ease of oxidation) calculated as vertical using the DFT/B3LYP/6-311++G(d,p) approach with experimental data (Edge, Land, McGarvey, Mulroy, & Truscott, 1998; Mortensen et al., 1997). The results showed to be in complete agreement, what was not observed when considering adiabatic energies. When dealing with a large number of different compounds, this behavior represents a significant gain in terms of computational cost.

The full-electron donor-acceptor map (FEDAM) is a useful tool to evaluate the electron-transfer process between carotenoids and free radicals, and was first introduced by Martínez and co-workers (Galano et al., 2010; Martínez et al., 2008, 2009). The FEDAM is a graphic representation of IE versus EA (Figure 1) that provides qualitative information on the electron-donor and electron-accepting potential of a molecule. Electrons will be transferred from molecules located at region 3 of the map (good electron-donors) to those at region 1 (good acceptors). If the carotenoid's electron-accepting capability is worse than the free radical's, the molecule is expected to be located in the good-electron-donors section of the map. In this case, the prevailing mechanism is



This is true for most free radicals, but some of these species are better electron-donors than carotenoids (R-C and R-N) and, instead of accepting electrons as in the previous reaction, are deactivated by donating electrons to the carotenoid molecule according to the reaction



A deeper analysis of the FEDAM shows that both mechanisms are possible for scavenging free radicals, i.e., the carotenoid molecule can either lose or accept electrons in order to prevent oxidative damage (Martínez et al., 2009). Therefore, the free radical should be also placed at the FEDAM, since the electron-donor-accepting potential of this species appears to be the dominant factor on determining which mechanism is preferred (Galano et al., 2010). The authors also evaluated the validity of the FEDAM results, which was confirmed through confrontation with the adiabatic Gibbs free energy values. It is important to notice that this chart provides the relative ability of a molecule to donate or accept electrons in relation to another. Therefore, there is no reason to expect that data should behave as any specific function, but attention should be paid to the relative position of two species in the map.

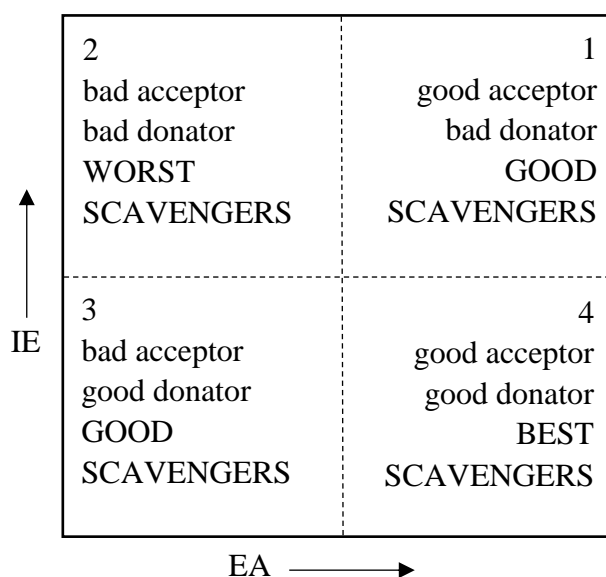


Figure 1. Full-electron donor-acceptor map (FEDAM). Adapted from Martínez et al. (2009).

Different functionals and basis sets have been used within the DFT formalism to analyze carotenoids. Galano (2007) obtained significant improvement on the quantitative correlation between experimental and theoretical predicted data by changing the basis set from 6-31G(d,p) to 6-311++G(d,p), since the later includes diffuse functions. Martínez et al. (2008), on the other hand, evaluated the influence of the basis set on the relative values of IE and EA by comparing their results for 6 carotenoid molecules, obtained using the BPW91/D95V (Tunning & Hay, 1976), with the ones calculated by Galano (2007). They found very similar results and concluded that IE and EA relative values do not depend on the functional and/or basis employed. Therefore, since the use of a larger basis set is not always possible in a reasonable computational time due to carotenoid molecules' size, the use of a smaller set of functions is a rational choice when pursuing qualitative relationships.

Another important factor to be taken into consideration when studying electron transfer reactions is the medium polarity. Solvent contributions are usually included by the Polarizable Continuum Model (PCM) (Cammi & Tomasi, 1995; Miertuš, Scrocco, & Tomasi,

1981), and water and benzene are frequently employed in order to represent high- and low-polarity solvents, respectively. Despite the fact that the solvent, too, does not change the relative positions of carotenoids at the FEDAM (Galano, 2007; Martínez et al., 2008), Martínez et al. (2009) demonstrated that IE and EA values are affected by this factor. The authors presented the FEDAM for four carotenoids and more than 30 free radicals (including R-OO and R-O species) in water and benzene. They observed that the reactions in question are favored by the presence of a solvent, and that the studied molecules are better electron acceptors in water than in benzene.

However, in order to obtain a more precise information on how solvent affects the electron-transfer reaction, the FEDAM is not sufficient. Therefore, the authors considered thermal corrections to the optimized structures and the corresponding single-point energies to obtain the adiabatic Gibbs free energy for all reactions studied. With the exception of R-O7, reactions of carotenoids with free radicals in benzene were thermodynamically unfavored (positive ΔG^0), for both paths A and B. This finding is attributed to the fact that, when reacting with free radicals, carotenoids convert into their ionic forms (as well as the free radical itself), which are expected to be stabilized through electrostatic interactions with the surrounding molecules of solvent. Hence, in this sense, a nonpolar solvent does not represent a good environment. In water solution, on the other hand, the electron transfer reactions of various free radicals with the carotenoids through path A exhibited negative ΔG^0 , i.e., were found to be exergonic. The same was not observed for path B, indicating that, regardless of the solvent, charge is only transferred from the carotenoid to the radical.

This work was followed by a similar one focusing on the reaction between carotenoids and the superoxide radical anion in solution (Galano et al., 2010). Surprisingly, Galano et al. (2010) observed that the charged nature of the $O_2^{\bullet-}$ inverts the direction of the transfer. As a result, path B is preferred, which, in this case, yields the carotenoid ion and a neutral molecule

of oxygen, representing a gain in stability only if the reaction occurs in a nonpolar solvent. The authors state that the “antioxidant” activity of carotenoids towards $O_2^{\bullet-}$ lies in their capacity to prevent the formation of oxidant reactive oxygen species.

Additionally, Hernandez-Marin, Galano, & Martínez (2013) assessed the stability and relative free radical scavenging potential of cis carotenoids in relation to the trans isomers. In accordance with previous results (Britton, 1995; Guo et al., 2008), they noticed that cis isomers are, in most cases, slightly less stable, with the 15-cis-isomers being the least stable conformation. However, this difference in stability does not seem to represent any significant loss on these molecules’ antiradical properties. The same outcome was observed by Martinez et al., (2014) when analyzing phytoene and phytofluene isomers (view Table 2 for details on methodology). The authors showed that all trans-cis isomers are located in the same position at the FEDAM, endorsing the fact that they all present the same electron donor-acceptor capacity.

A summary of quantum mechanical calculations on the electron transfer mechanism (listed in chronological order) is presented in Table 2. The earliest calculation presented (Soffers et al., 1999) used the Parametric Method 3 (PM3) (Stewart, 1989), a parametrized Hamiltonian constructed to reproduce a large number of molecular properties, strongly relying on statistical data. This approach was very popular in the quantum analysis of other properties of carotenoids (Hashimoto, Yoda, Kobayashi, & Young, 2002; Jomová et al., 2009; Martins et al., 2009; Pichierri, 2004), but the emphasis has switched to first principle calculations using DFT in combination with hybrid functionals.

The electron transfer mechanism determines, in principle, the antiradical capacity of carotenoids. Therefore, the introduction of new tools developed to study this mechanism and to better relate the capacity of scavenge free radicals with structural aspects and medium

polarity is paramount. In this sense, the FEDAM arises as an exceptional instrument that can also be applied to the study of other free radical scavenger species.

Table 2. Published studies using quantum mechanics calculations to evaluate the antiradical potential of carotenoids according to the electron transfer mechanism. *only for β -carotene.

| level of theory | carotenoids analyzed | solvents | ref |
|-----------------------------|---|--|--|
| PM3 | lycopene, β -carotene, α -carotene, β -cryptoxanthin, zeaxanthin, lutein, echinenone, astaxanthin, canthaxanthin | PCM - dichloromethane* | Jomová et al., 2009; Soffers et al., 1999 |
| DFT/B3LYP/ 6-311++G(d,p) | astaxanthin, β -apo-8'-carotenal, canthaxanthin, lutein, zeaxanthin, <i>all-trans</i> - β -carotene, lycopene, 7,7'-dihydro- β -carotene, echinenone, nostoxanthin, okenone, sproxanthin, torulene, capsanthin, capsorubin, cryptocapsin, neoxanthin, violaxanthin, mytiloxanthinone, antheraxanthin, neochrome, luteoxanthin, mutatoxanthin, violaxanthin | PCM - benzene/water/heptane*/methanol* | Cerón-Carrasco, Bastida, Requena, Zúñiga, & Miguel, 2010; Galano, 2007; Hernandez-Marin et al., 2013 |
| DFT/ BPW91/ D95V | <i>all-trans</i> - β -carotene, β -cryptoxanthin, zeaxanthin, lutein, 3-dehydro-lutein, 3-hydroxy- ϵ,ϵ -carotene-3-one, ϵ,ϵ -caroten-3,3'-dione, 4-oxo-rubixanthin, echinenone, 3-hydroxy-echinenone, canthaxanthin, adonirubin, astaxanthin | PCM - benzene/water | Martínez et al., 2008 |
| DFT/B3LYP/ 6-311+G(d) | <i>all-trans</i> - β -carotene, β -cryptoxanthin, zeaxanthin, lutein, 3-dehydro-lutein, 3-hydroxy- ϵ,ϵ -caroten-3-one, ϵ,ϵ -caroten-3,3'-dione, 4-oxo-rubixanthin, echinenone, 3-hydroxy-echinenone, canthaxanthin, adonirubin, astaxanthin, 3,3'-dihydroxyisorenieratene, torulene, lycopene, β -doradexanthin, 2',3'-anhydrolutein, phytoene (and isomers), phytofluene (and isomers) | PCM - benzene/water | Galano et al., 2010; Martínez et al., 2014; Martínez et al., 2009 |
| DFT/UB3LYP/ 6-311+G(d) | <i>all-trans</i> - β -carotene and other β -carotene isomers, crocin | PCM - benzene*/water* | Akhtari et al., 2013; Cerezo et al., 2012 |

2.3. Hydrogen atom transfer and radical adduct formation mechanisms

The first researchers to consider hydrogen abstraction as a possible mechanism for chemical interaction between carotenoids and oxidizing agents were Woodall, Lee, Weesie, Jackson, & Britton (1997). This and further studies (Krinsky & Yeum, 2003; Krinsky, 2001; Woodall, Britton, & Jackson, 1997) suggest that the abstraction is more likely to occur from the position 4 (see Figure 2) of cyclohexene ring and that, as a consequence, carotenoids without a H atom in this position are less effective scavengers when considering this particular mechanism. The abstraction of the H atom from the C4 position results in a highly stabilized carbon-centered radical, and the unpaired electron is delocalized over the polyene chain. The other carbons in the ring are not allylic, i.e., are much less reactive, what is also true for the ones along the polyene chain, since the C-C=H bonds are very strong.

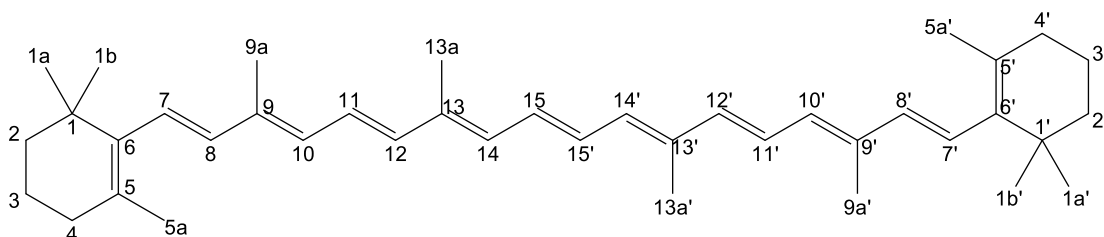


Figure 2. Scheme of a carotenoid molecule showing each reaction site.

In order to understand the occurrence of H abstraction in carotenoids, it is necessary to study in detail the abstraction of each relevant H atom in the molecule. The efficiency of this reaction can be estimated for each H atom by evaluating the dissociation energy (ΔE) of the respective atom, i.e., the energy involved in its removal from the carotenoid. This analysis enables to identify which H atom will be dissociated with the lowest energetic cost and, as a result, to define its reactive position. In order to calculate the dissociation energy, first the sum of the energies of the carotenoid molecule radical without the H atom abstracted

($CAR(-Hx)^*$) and the energy of the H atom must be accounted, and then the energy of the neutral carotenoid molecule must be subtracted from this quantity. Accordingly, the lower the ΔE value, the more favored the H abstraction and the better is the carotenoid as an antiradical.

The study of the radical addition employs similar concepts to the H abstraction, i.e., the evaluation of the energy difference between the species formed in each stage of the reaction. In this case, special attention must be paid to the transition states and to the fact that a unique product will be formed, according to reaction IV. It is also important to consider that the radical can add to the π -conjugated systems of carotenoids in several possible ways, which should all be evaluated.

Martínez and Barbosa (2008) were the first to employ quantum chemical calculations to study the H abstraction mechanism in carotenoids aiming the evaluation of these molecules' antiradical capacity. They employed DFT in the calculations of geometry optimization, harmonic frequencies and single-point energies, which were all carried out using the BPW91/D5DV (Perdew et al., 1992; Tunning & Hay, 1976) methodology. Initially, they have analyzed the effects of solvents (water and benzene) and different functionals and basis sets on the ΔE values, and found out that the relative values are independent of such factors. The authors evaluated 13 different carotenoid molecules, including the most common showed at Table 1, comparing the ΔE values obtained for all possible H abstractions. They observed that C4 or C4' is not always the reactive position if these atoms are unsubstituted. For lutein and other four carotenoids with unsubstituted C4, the reactive position was C6 or C6', what represented an increase in the number of conjugated double bonds and, consequently, in the stability of the product. Additionally, carotenoids without H atoms in the 4 position may be as effective against free radicals as the ones with H atoms at C4 or C4'. According to the ΔE values, lutein represents the best antiradical. This result was attributed to the increment in the electron delocalization aforementioned. The authors also call attention to

the fact that this analysis is important to explain several experimental results in terms of the antioxidant capacity of carotenoid molecules.

This work was followed by a detailed analysis of the hydrogen transfer and radical addition reactions between the OOH radical and three carotenoid molecules, namely, β -Carotene, lycopene, and torulene (Galano & Francisco-Marquez, 2009). Similarly to the previously described study, the authors used the BPW91 functional, but opted for the 6-31G(d,p) basis set. They also evaluated the effect of the medium polarity by performing single point calculations using the PCM, and water and benzene as solvents. They observed that, regardless of the polarity of the solvent, the reactions involving H abstraction from site 4 are the most favored for the three carotenoids tested.

Another important result noticed by the authors was that, if compared to adduct formation process, the hydrogen abstraction does not represent a significant reaction path. However, it is still a possible mechanism for radical deactivation by carotenoids. This result was also observed by other studies (Guo, Hsieh, & Hu, 2009; Guo & Hu, 2010; Liao & Hu, 2013; Prasad & Mishra, 2014) and is attributed to the fact that, although H abstraction is thermodynamically more favored than radical addition, kinetically it is less favorable. This conclusion is in perfect agreement with experimental observations (Martin et al., 1999) and demonstrates the importance of studying the hydrogen abstraction and radical adduct formation mechanisms through theoretical methods, since they give insight into the energetics of these reactions and predicts its rate of occurrence in relation to other mechanisms.

3. Conclusions

In this review, we summarized computational chemistry as it pertains the antiradical potential of carotenoids. Quantum chemical techniques have been used to this purpose with

most applications using the density functional theory approach. A significant number of these applications have been directed towards understanding the electron transfer mechanism, which theoretically determines the antiradical capacity of the molecule. We have also provided examples from the literature where the other possible mechanisms, namely, scavenging of singlet oxygen, hydrogen abstraction, and radical adduct formation are assessed by computational chemistry.

Even though there is a significant number of papers reported in this review that have carefully evaluated structural and energetic aspects of carotenoids, many studies fail to take into account important aspects that may affect the radical scavenging capacity of carotenoids. Synergistic effects, for instance, are seldom considered. Another important observation is that, from more than 700 carotenoid molecules identified so far in the literature, less than a tenth has been theoretically studied. Considering that these species have proven importance on reducing the risk of development of several disorders related to lipid oxidation, the authors identify the necessity of studying new carotenoid molecules and relate them to their food sources.

Acknowledgements

To the National Council of Scientific and Technological Development – CNPq (Process 152087/2014-1) for the financial support.

References

Andersson, K., Malmqvist, P. A., Roos, B. O., Sadlej, A. J., & Wolinski, K. (1990). Second-order perturbation theory with a CASSCF reference function. *The Journal of Physical Chemistry*, *94*(14), 5483–5488. <http://doi.org/10.1021/j100377a012>

- Becke, A. D. (1988). Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Physical Review A*, 38(6), 3098–3100.
<http://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.3098>
- Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648. <http://doi.org/10.1063/1.464913>
- Blaudeau, J.-P., McGrath, M. P., Curtiss, L. A., & Radom, L. (1997). Extension of Gaussian-2 (G2) theory to molecules containing third-row atoms K and Ca. *The Journal of Chemical Physics*, 107(13), 5016. <http://doi.org/10.1063/1.474865>
- Böhm, F., Edge, R., McGarvey, D. J., & Truscott, T. G. (1998). β -Carotene with vitamins E and C offers synergistic cell protection against NO(x). *FEBS Letters*, 436(3), 387–389.
[http://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)01173-9](http://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01173-9)
- Boon, C. S., McClements, D. J., Weiss, J., & Decker, E. (2010). Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(6), 515–532. <http://doi.org/10.1080/10408390802565889>
- Britton, G. (1995). Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal*, 9(15), 1551–1558.
- Burton, G. W., & Ingold, K. U. (1984). β -Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science (New York, N.Y.)*, 224(4649), 569–573. <http://doi.org/10.1126/science.6710156>
- Cammi, R., & Tomasi, J. (1995). Remarks on the use of the apparent surface charges (ASC) methods in solvation problems: Iterative versus matrix-inversion procedures and the renormalization of the apparent charges. *Journal of Computational Chemistry*, 16(12), 1449–1458. <http://doi.org/10.1002/jcc.540161202>
- Chandler, L. A., & Schwartz, S. J. (1988). Isomerization and losses of *trans*- β -carotene in sweet potatoes as affected by processing treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(1), 129–133. <http://doi.org/10.1021/jf00079a033>

- Conn, P. F., Schalch, W., & Truscott, T. G. (1991). The singlet oxygen and carotenoid interaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *11*, 41–47.
- Di Mascio, P., Kaiser, S., & Sies, H. (1989). Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *274*(2), 532–538. [http://doi.org/10.1016/0003-9861\(89\)90467-0](http://doi.org/10.1016/0003-9861(89)90467-0)
- Edge, R., Land, E. J., McGarvey, D., Mulroy, L., & Truscott, T. G. (1998). Relative One-Electron Reduction Potentials of Carotenoid Radical Cations and the Interactions of Carotenoids with the Vitamin E Radical Cation. *Journal of the American Chemical Society*, *120*(17), 4087–4090. <http://doi.org/10.1021/ja974191q>
- Edge, R., McGarvey, D. J., & Truscott, T. G. (1997). The carotenoids as anti-oxidants - A review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *41*(3), 189–200. [http://doi.org/10.1016/S1011-1344\(97\)00092-4](http://doi.org/10.1016/S1011-1344(97)00092-4)
- Everett, S. A., Dennis, M. F., Patel, K. B., Maddix, S., Kundu, S. C., & Willson, R. L. (1996). Scavenging of nitrogen dioxide, thiyl, and sulfonyl free radicals by the nutritional antioxidant β -carotene. *Journal of Biological Chemistry*, *271*(8), 3988–3994. <http://doi.org/10.1074/jbc.271.8.3988>
- Galano, A. (2007). Relative antioxidant efficiency of a large series of carotenoids in terms of one electron transfer reactions. *Journal of Physical Chemistry B*, *111*(44), 12898–12908. <http://doi.org/10.1021/jp074358u>
- Galano, A., & Francisco-Marquez, M. (2009). Reactions of OOH radical with beta-carotene, lycopene, and torulene: hydrogen atom transfer and adduct formation mechanisms. *The Journal of Physical Chemistry. B*, *113*, 11338–11345. <http://doi.org/10.1021/jp904061q>
- Galano, A., & Martínez, A. (2012). Capsaicin, a tasty free radical scavenger: Mechanism of action and kinetics. *Journal of Physical Chemistry B*, *116*(3), 1200–1208. <http://doi.org/10.1021/jp211172f>

- Galano, A., Vargas, R., & Martínez, A. (2010). Carotenoids can act as antioxidants by oxidizing the superoxideradical anion. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, *12*(1), 193–200. <http://doi.org/10.1039/B917636E>
- Garavelli, M., Bernardi, F., Olivucci, M., & Robb, M. (1998). DFT Study of the Reactions between Singlet-Oxygen and a Carotenoid Model. *Journal of American Chemical Society*, *120*(11), 10210–10222. <http://doi.org/10.1021/ja9805270>
- Giroday, T., Montero-Campillo, M. M., & Mora-Diez, N. (2014). Thermodynamic stability of PFOS: M06-2X and B3LYP comparison. *Computational and Theoretical Chemistry*, *1046*, 81–92. <http://doi.org/10.1016/j.comptc.2014.08.003>
- Guo, J. J., Hsieh, H. Y., & Hu, C. H. (2009). Chain-breaking activity of carotenes in lipid peroxidation: A theoretical study. *Journal of Physical Chemistry B*, *113*, 15699–15708. <http://doi.org/10.1021/jp907822h>
- Guo, J. J., & Hu, C.-H. (2010). Mechanism of Chain Termination in Lipid Peroxidation by Carotenes: A Theoretical Study. Retrieved from <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp108660c#.V1LXMGTsnhg.mendeley>
- Guo, W. H., Tu, C. Y., & Hu, C. H. (2008). Cis-trans isomerizations of β -carotene and lycopene: A theoretical study. *Journal of Physical Chemistry B*, *112*(38), 12158–12167. <http://doi.org/10.1021/jp8019705>
- Hashimoto, H., Yoda, T., Kobayashi, T., & Young, A. J. (2002). Molecular structures of carotenoids as predicted by MNDO-AM1 molecular orbital calculations. *Journal of Molecular Structure*, *604*(2-3), 125–146. [http://doi.org/10.1016/S0022-2860\(01\)00648-2](http://doi.org/10.1016/S0022-2860(01)00648-2)
- Hernandez-Marin, E., Galano, A., & Martínez, A. (2013). Cis carotenoids: colorful molecules and free radical quenchers. *The Journal of Physical Chemistry. B*, *117*(15), 4050–61. <http://doi.org/10.1021/jp401647n>

- Hill, T. J., Land, E. J., McGarvey, D. J., Schalch, W., Tinkler, J. H., & Truscott, T. G. (1995). Interactions between Carotenoids and the CCl₃O₂ Radical. *J. Am. Chem. Soc.*, *117*(101), 8322–8326.
- Hohenberg, P., & Kohn, W. (1973). Inhomogeneous electron gas. *Physical Review B*, *7*(5), 1912–1919. <http://doi.org/10.1103/PhysRevB.7.1912>
- Jomová, K., Kysel, O., Madden, J. C., Morris, H., Enoch, S. J., Budzak, S., Young, A. J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Valko, M. (2009). Electron transfer from all-trans β -carotene to the t-butyl peroxy radical at low oxygen pressure (an EPR spectroscopy and computational study). *Chemical Physics Letters*, *478*(4-6), 266–270. <http://doi.org/10.1016/j.cplett.2009.07.088>
- Kohn, W., Becke, A. D., & Parr, R. G. (1996). Density Functional Theory of Electronic Structure. *The Journal of Physical Chemistry*, *100*(31), 12974–12980. <http://doi.org/10.1021/jp960669l>
- Kohn, W., & Sham, L. J. (1965). Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review A*, *385*(1951), 1133–1138. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>
- Krieger, J. H. (1997). Computational chemistry impact - New developments in underlying software propel technology into activities spanning discovery cycle. *Chemical & Engineering News*, *75*(19), 30–30. <http://doi.org/10.1021/cen-v075n019.p030>
- Krinsky, N. I. (1988). The evidence for the role of carotenes in preventive health. *Clinical Nutrition*, *7*, 107–114.
- Krinsky, N. I. (1989). Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*, *7*(6), 617–635. [http://doi.org/10.1016/0891-5849\(89\)90143-3](http://doi.org/10.1016/0891-5849(89)90143-3)
- Krinsky, N. I. (2001). Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*, *17*(10), 815–817. [http://doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00651-7](http://doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00651-7)

- Krinsky, N. I., & Yeum, K.-J. (2003). Carotenoid-radical interactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 305(3), 754–760. [http://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)00816-7](http://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)00816-7)
- Krishnan, R., Binkley, J. S., Seeger, R., & Pople, J. A. (1980). Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *The Journal of Chemical Physics*, 72(1), 650. <http://doi.org/10.1063/1.438955>
- Lachance, P. (1988). Dietary intake of carotenes and carotene gap. *Clinical Nutrition*, 7, 118–122.
- Lee, C., Yang, W., & Parr, R. G. (1988). Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, 37(2), 785–789. <http://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>
- Liao, F.-X., & Hu, C.-H. (2013). A density functional theory study for the role of end groups on the antioxidative potency of carotenoids. *Theoretical Chemistry Accounts*, 132(5), 1–13. <http://doi.org/10.1007/s00214-013-1357-5>
- Liebler, D. C., & McClure, T. D. (1996). Antioxidant reactions of β -carotene: identification of carotenoid-radical adducts. *Chemical Research in Toxicology*, 9(1), 8–11. <http://doi.org/10.1021/tx950151t>
- Ma, J., Li, S., & Jiang, Y. (2002). A Time-Dependent DFT Study on Band Gaps and Effective Conjugation Lengths of Polyacetylene, Polyphenylene, Polypentafulvene, Polycyclopentadiene, Polypyrrole, Polypyrrole, Polypyrrole, Polysilole, Polyphosphole, and Polythiophene. *Macromolecules*, 35(3), 1109–1115. <http://doi.org/10.1021/ma011279m>
- Martin, H. D., Ruck, C., Schmidt, M., Sell, S., Beutner, S., Mayer, B., & Walsh, R. (1999). Chemistry of carotenoid oxidation and free radical reactions. *Pure and Applied Chemistry*, 71(12), 2253–2262. <http://doi.org/10.1351/pac199971122253>

- Martínez, A., & Barbosa, A. (2008). Antiradical power of carotenoids and vitamin E: testing the hydrogen atom transfer mechanism. *Journal of Physical Chemistry B*, *112*(51), 16945–16951. <http://doi.org/10.1021/jp808684q>
- Martínez, A., & Melendez-Martínez, A. J. (2016). Lycopene, oxidative cleavage derivatives and antiradical activity. *Computational and Theoretical Chemistry*, *1077*, 92–98. <http://doi.org/10.1016/j.comptc.2015.11.001>
- Martínez, A., Rodríguez-Girones, M. A., Barbosa, A., & Costas, M. (2008). Donator acceptor map for carotenoids, melatonin and vitamins. *Journal of Physical Chemistry A*, *112*(38), 9037–9042. <http://doi.org/10.1021/jp803218e>
- Martinez, A., Stinco, C. M., & Meléndez-Martínez, A. J. (2014). Free Radical Scavenging Properties of Phytofluene and Phytoene Isomers as Compared to Lycopene : a Combined Experimental and Theoretical Study. <http://doi.org/10.1021/jp503227j>
- Martínez, A., Vargas, R., & Galano, A. (2009). What is important to prevent oxidative stress? A theoretical study on electron-transfer reactions between carotenoids and free radicals. *J.Phys.Chem.B.*, *113*, 12113–12120. <http://doi.org/10.1021/jp903958h>
- Martins, J. B. L., Durães, J. A., Sales, M. J. A., Vilela, A. F. A., e Silva, G. M., & Gargano, R. (2009). Theoretical investigation of carotenoid ultraviolet spectra. *International Journal of Quantum Chemistry*, *109*(4), 739–745. <http://doi.org/10.1002/qua.21845>
- Mayne, S. T. (1996). Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *The FASEB Journal*, *10*(7), 690–701. Retrieved from <http://www.fasebj.org/content/10/7/690.long>
- Miehlich, B., Savin, A., Stoll, H., & Preuss, H. (1989). Results obtained with the correlation energy density functionals of becke and Lee, Yang and Parr. *Chemical Physics Letters*, *157*(3), 200–206. [http://doi.org/10.1016/0009-2614\(89\)87234-3](http://doi.org/10.1016/0009-2614(89)87234-3)

- Miertuš, S., Scrocco, E., & Tomasi, J. (1981). Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of AB initio molecular potentials for the prediction of solvent effects. *Chemical Physics*, 55(1), 117–129. [http://doi.org/10.1016/0301-0104\(81\)85090-2](http://doi.org/10.1016/0301-0104(81)85090-2)
- Mortensen, A., Skibsted, L. H., Sampson, J., Rice-Evans, C., & Everett, S. (1997). Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS Letters*, 418(1-2), 91–97. [http://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01355-0](http://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01355-0)
- Mortensen, A., Skibsted, L. H., & Truscott, T. G. (2001). The Interaction of Dietary Carotenoids with Radical Species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385(1), 13–19. <http://doi.org/10.1006/abbi.2000.2172>
- Niedre, M., Patterson, M. S., & Wilson, B. C. (2002). Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells in vitro and tissues in vivo. *Photochemistry and Photobiology*, 75(4), 382–91. [http://doi.org/10.1562/0031-8655\(2002\)0750382DNILDO2.0.CO2](http://doi.org/10.1562/0031-8655(2002)0750382DNILDO2.0.CO2)
- Perdew, J. P., Chevary, J. A., Vosko, S. H., Jackson, K. A., Pederson, M. R., Singh, D. J., & Fiolhais, C. (1992). Atoms, molecules, solids, and surfaces: Applications of the generalized gradient approximation for exchange and correlation. *Physical Review B*, 46(11), 6671–6687. Retrieved from <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevB.46.6671>
- Peto, R., Doll, R., Buckley, J. D., & Sporn, M. B. (1981). Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? *Nature*, 290, 201–208. <http://doi.org/doi:10.1038/290201a0>
- Pichierri, F. (2004). Electric field effects on a single carotene molecule. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 21(1), 108–110. <http://doi.org/10.1016/j.physe.2003.09.036>

- Polyakov, N. E., Kruppa, A. I., Leshina, T. V., Konovalova, T. A., & Kispert, L. D. (2001). Carotenoids as antioxidants: Spin trapping EPR and optical study. *Free Radical Biology and Medicine*, *31*(1), 43–52. [http://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00547-0](http://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00547-0)
- Prasad, A. K., & Mishra, P. C. (2014). Modeling the mechanism of action of lycopene as a hydroxyl radical scavenger. *Journal of Molecular Modeling*, *20*, 2233. <http://doi.org/10.1007/s00894-014-2233-5>
- Ramachandran, G. K., Tomfohr, J. K., Li, J., Sankey, O. F., Zarate, X., Primak, A., Terazono, Y., Moore, T. A., Moore, A. L., Gust, D., Nagahara, L. A., & Lindsay, S. M. (2003). Electron Transport Properties of a Carotene Molecule in a Metal–(Single Molecule)–Metal Junction. *The Journal of Physical Chemistry B*, *107*(25), 6162–6169. <http://doi.org/10.1021/jp0343786>
- Rice-Evansa, C. A., Sampson, J., Bramley, P. M., & Holloway, D. E. (1997). Why Do We Expect Carotenoids to be Antioxidants in vivo? *Free Radical Research*, *26*(4), 381–398. <http://doi.org/10.3109/10715769709097818>
- Soffers, A. E. M. F., Van Haandel, M. J. H., Boersma, M. G., Tyrakowska, B., Laane, C., & Rietjens, I. M. C. M. (1999). Antioxidant Activities of Carotenoids: Quantitative Relationships Between Theoretical Calculations and Experimental Literature Data. *Free Radical Research*, *30*(3), 233–240. <http://doi.org/10.1080/10715769900300251>
- Stewart, J. J. P. (1989). Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method. *Journal of Computational Chemistry*, *10*(2), 209–220. <http://doi.org/10.1002/jcc.540100208>
- Tunning, T. H. J., & Hay, P. J. (1976). Modern Theoretical Chemistry, Vol. 3. *Methods of Electronic Structure Theory. Schaefer III, HF (Ed.) Plenum, New York, 1.*
- Vázquez-Mayagoitia, Á., Vargas, R., Nichols, J. A., Fuentealba, P., & Garza, J. (2006). Relationship between singlet–triplet excitation energies and the Kohn–Sham orbitals

- obtained with potentials that exhibit a wrong asymptotic behavior. *Chemical Physics Letters*, 419(1-3), 207–212. <http://doi.org/10.1016/j.cplett.2005.11.075>
- Wilkinson, F., & Hoa, W.-T. (1978). Electronic Energy Transfer from Singlet Molecular Oxygen to Carotenoids, *11*(7), 1978. <http://doi.org/10.1080/00387017808067769>
- Woodall, A. A., Britton, G., & Jackson, M. J. (1997). Carotenoids and protection of phospholipids in solution or in liposomes against oxidation by peroxy radicals: Relationship between carotenoid structure and protective ability. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1336(3), 575–586. [http://doi.org/10.1016/S0304-4165\(97\)00007-X](http://doi.org/10.1016/S0304-4165(97)00007-X)
- Woodall, A. A., Lee, S. W.-M., Weesie, R. J., Jackson, M. J., & Britton, G. (1997). Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1336(1), 33–42. [http://doi.org/10.1016/S0304-4165\(97\)00006-8](http://doi.org/10.1016/S0304-4165(97)00006-8)
- Young, A. J., & Lowe, G. M. (2001). Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385(1), 20–27. <http://doi.org/10.1006/abbi.2000.2149>
- Zhao, Y., & Truhlar, D. G. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. *Theoretical Chemistry Accounts*, 120(1-3), 215–241. <http://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x>