



KENIA SEBASTIANA CARLA ANDRADE OLIVEIRA

**O PAPEL DO EXTRATO DE PRÓPOLIS NO AUMENTO
DO FATOR DE PROTEÇÃO DE FILTROS SOLARES
COMERCIAIS: UM ESTUDO TEÓRICO E
EXPERIMENTAL**

**LAVRAS-MG
2019**

KENIA SEBASTIANA CARLA ANDRADE OLIVEIRA

**O PAPEL DO EXTRATO DE PRÓPOLIS NO AUMENTO DO FATOR DE
PROTEÇÃO DE FILTROS SOLARES COMERCIAIS: UM ESTUDO TEÓRICO
E EXPERIMENTAL**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Química (Licenciatura Plena), para a obtenção do título de Licenciado.

Prof^a. Dr^a. Katia Júlia de Almeida
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Barbara Sayuri Bellete
Coorientador

**LAVRAS-MG
2019**

KENIA SEBASTIANA CARLA ANDRADE OLIVEIRA

**O PAPEL DO EXTRATO DE PRÓPOLIS NO AUMENTO DO FATOR DE
PROTEÇÃO DE FILTROS SOLARES COMERCIAIS: UM ESTUDO TEÓRICO E
EXPERIMENTAL**

**PROPOLIS EXTRACT EFFECT INTO INCREASING SUN PROTECTION FACTOR
OF COMMERCIAL SUNSCREENS: A THEORETICAL AND EXPERIMENTAL
STUDY**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Química (Licenciatura Plena), para a obtenção do título de Licenciado.

Aprovada em

Dr. Jonas Leal Neto UFLA

Dr^a. Katia Júlia de Almeida UFLA

Dr. Paulo Sérgio Castilho Preté UFLA

Prof^a. Dr^a. Katia Júlia Almeida
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Barbara Sayuri Bellete
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2019**

Dedico

*A minha filha Julya e ao meu
esposo Marcelo, pelo amor e
carinho, sem eles essa conquista
não seria possível.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus e à Maria por guiar e iluminar meus caminhos, dando sabedoria e força para que eu pudesse cumprir mais esta etapa em minha vida.

Aos meus pais (in memoriam) João e Jovita, agradeço pela chance da reencarnação e pela base sólida que me foi dada, o que contribuiu para mais esta conquista.

A minha filha e ao meu marido pelo apoio, companheirismo e incentivo nos momentos difíceis que passamos juntos ao longo desta caminhada.

A minha sogra Maria Catarina e minha amiga Daniela por não me deixarem desistir de completar minha jornada dentro desta instituição.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pela oportunidade oferecida. Ao Departamento de Química (professores, funcionários e colegas de curso).

Ao Laboratório de Química Fundamental e Inorgânica (LQFI) pela oportunidade de realização dos trabalhos e as amizades ali contruídas.

Agradeço a minha orientadora Katia Júlia de Almeida por confiar e acreditar em mim, muito obrigada pela amizade, paciência, incentivo, dedicação e pela chance de realização do meu sonho.

A minha amiga Thais Duque pela amizade, paciência, tempo e ensinamentos passados durante a realização deste trabalho.

Aos professores do curso de Química da Universidade Federal de Lavras que contribuíram para minha formação, dos quais alguns jamais serão esquecidos.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A propólis é uma mistura de compostos químicos orgânicos e inorgânicos, apresentando diversas aplicações biológicas, farmacêuticas, entre outras. Dados experimentais obtidos em um estudos recentes demonstraram que a propólis ao ser misturada com um protetor solar comercial aumenta, sobremaneira, o fator de proteção deste produto. Contudo, ao medir o fator de proteção da propólis isolada não é observada, praticamente, nenhuma ação protetora. O mecanismo de ação da propólis não é, ainda, entendido na literatura. Nesse sentido, o presente trabalho de conclusão de curso (TCC) tem como objetivo determinar, por meio de metodologias de cálculos *ab initio*, o efeito de um dos componentes da propólis no aumento do fator de proteção de filtros solares. Cálculos baseados na teoria do funcional de densidade (Density Functional Theory (DFT)) com os funcionais B3LYP e M06 com o conjunto de bases atômico def2-TZVP foram utilizados nos respectivos cálculos de geometria e frequência molecular bem como nos espectros de absorção na região do ultravioleta visível (UV-Vis). Vários possíveis mecanismos químicos envolvendo efeitos de pH, interações de H e do solvente foram investigados com o objetivo de entender o efeito da propólis no aumento do fator de proteção dos protetores solares comerciais. As estruturas moleculares termodinamicamente favoráveis dos princípios ativos dos protetores solares comerciais estudados por Almeida (2019) (ácido-2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico; hidroxi-4-metoxi-benzofenona) e de uma substância presente em maior quantidade na propólis (ácido-3-prenil-hidroxiâmico) foram utilizadas para a presente investigação. Os principais resultados obtidos indicam que diferentes efeitos estão, a princípio, envolvidos no aumento do fator de proteção do filtro solar comercial estudado. Dentre eles, se destaca o efeito de pH do meio, que mostrou ser o de maior relevância com um aumento significativo da intensidade de absorção UV, quando as espécies ativas presentes no protetor solar estão no seu estado totalmente protonado. Os efeitos dos solventes e as interações de hidrogênio inter e intramolecular nos princípios ativos mostraram atuar com um papel coadjuvante nesse caso.

Palavras chave: DFT, Propólis, Filtros solares, UV-Vis.

LISTA DE ABREVIATURAS

AFS	ácido-2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico
HMB	hidroxi-4-metoxi-benzofenona
APH	ácido-3-prenil-hidroxicinâmico
COX	ciclooxigenase
FP	fator de proteção
PABA	ácido para-aminobenzóico

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Retirada de própolis	16
Figura 2: Alguns Compostos fenólicos encontrados na própolis	18
Figura 3: Estruturas químicas da Artepilina C: forte poder antioxidante, antimicrobiano e anticâncer.	19
Figura 4: Compostos químicos encontrados na própolis vermelha do nordeste baileiro	20
Figura 5: Espectro eletromagnético	24
Figura 6 : Salicilato de Benzila (A) e Cinamato de Benzila (B)	25
Figura 7: Acido para-aminobenzóico (PABA)	25
Figura 8: Transições envolvendo os níveis de energia eletrônicos na região UV-Vis de moléculas orgânicas.....	27
Figura 9: Estruturas moleculares otimizadas dos protetores solares e da própolis.	37
Figura 10: Espectros M06L/def2-SVP UV-Vis das estruturas AFS protonadas e desprotonadas	38
Figura 11: ácido-2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico (AFS) em sua forma desprotonada (acima) e seus respectivos contribuintes de ressonância (abaixo).....	39
Figura 12: Espectros M06L/def2-SVP UV-Vis da estrutura HMB (na figura como H4MB) sem e com interação de hidrogênio (acima); e espectro da estrutura APH (abaixo).....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:Transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$ de acordo com a classificação dos grupos cromóforos.....	27
Tabela 2:Valores de pHs do protetor solar, própolis e os dois juntos.	39

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVO GERAL.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1. PRÓPOLIS.....	16
3.1.1. HISTÓRICO.....	17
3.1.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	17
3.1.3. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS.....	20
3.1.3.1. ANTIBACTERIANA E ANTIFUNGICAS.....	20
3.1.3.2. ANTI-INFLAMATÓRIA.....	21
3.1.3.3. ANTIOXIDANTE.....	21
3.1.3.4. ANTICICATRIZANTE.....	22
3.1.3.5. IMUNOMODULATÓRIA.....	22
3.1.4. COMERCIALIZAÇÃO.....	22
3.2. RADIAÇÃO SOLAR – ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO.....	23
3. 3. PROTETOR SOLAR.....	24
3. 4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL (UV-VIS).....	26
3. 5. TEORIA DO FUNCIONAL DE DENSIDADE.....	29
3.5.1. TEOREMAS HOHENBERG-KOHN.....	31
3.5.2. MÉTODO KOHN-SHAM.....	31
3.5.3. FUNCIONAIS DE DENSIDADE.....	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37
6. CONCLUSÃO.....	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1- INTRODUÇÃO

A própolis é uma mistura de compostos químicos orgânicos e inorgânicos, apresentando diversas aplicações biológicas, farmacêuticas, etc. (Lustosa 2008). Por outro lado, o filtro solar é um produto de uso tópico que tem a capacidade de refletir e/ou absorver as radiações do sol, que atinge a pele, com o objetivo de minimizar seus efeitos prejudiciais. As radiações nocivas emitidas pelo sol são: ultravioleta A (UVA), que compreende as radiações entre 320 a 400nm, Ultravioleta B (UVB) com radiações entre 290 a 320nm e Ultravioleta C (UVC), com radiações entre 100 a 290nm, sendo que essa última não ultrapassa a camada de ozônio. Esses valores, relativamente pequenos de comprimentos de onda (λ), apresentam, por sua vez, altos valores de energias (E) de acordo com a equação 1, que são as mais prejudiciais à saúde humana.

$$E = \frac{h}{\lambda} \quad (1)$$

Nos últimos anos houve um maior interesse na otimização do fator de proteção dos filtros solares (Ribeiro 2004). Um estudo experimental recente do nosso grupo de colaboradores na Universidade federal de Ouro Preto (UFOP) indicou que a adição da própolis em um determinado protetor solar comercial pode aumentar em torno de 70% seus fatores de proteção (Almeida, et.al., 2019). Entretanto, o mecanismo de ação da própolis no protetor não é entendido, uma vez que a própolis não apresenta fator de proteção quando medido de forma isolada. Além deste, diversos outros estudos envolvendo mecanismos de reação vem sendo realizados, em particular, aqueles com interesse biológico, farmacêutico e/ou industrial. (Marino 2001, Gutten 2011, Ash 2016, Madkour 2018).

As análises teóricas podem ser uma ferramenta eficaz, desde que diferentes possibilidades de caminho de reação podem ser avaliadas com baixo custo econômico, e em menor tempo, de modo que comparações com resultados espectroscópicos experimentais disponíveis podem levar ao melhor modelo teórico que descreve o problema em questão. Além disso, a análise teórica pode ajudar a discriminar problemas experimentais tais como ruídos e os artefatos das análises experimentais, uma vez que os resultados computacionais são obtidos na ausência do solvente e efeitos do meio.

Nesse trabalho, utilizou-se a metodologia de cálculo baseado na mecânica quântica, especificamente, a teoria do funcional de densidade (*Density Functional Theory* (DFT)) usando a aproximação dependente e independente do tempo (DFT e TD-DFT,

respectivamente). Esses cálculos foram utilizados para otimizar as geometrias, frequências vibracionais e espectros de absorção UV-Vis dos sistemas moleculares investigados. A espectrofotometria óptica está entre as técnicas analíticas mais utilizadas nas análises farmacêuticas, possuindo várias vantagens práticas e econômicas, tais como procedimentos simples e rápidos com ação não destrutiva da amostra. As desvantagens desse método é a presença de ruídos, efeitos do solvente e artefatos espectrais, que alargam as bandas, dificultando a derivada da linha de base (JUAN et al., 2000). Nesse sentido, a metodologia utilizada nesse TCC é computacionalmente otimizada para tratar sistemas moleculares orgânicos e inorgânicos, de modo simples, barato e apresenta uma oportunidade de investigar e compreender os mecanismos químicos envolvidos em diferentes processos químicos, físicos entre outros.

2. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho de conclusão de curso (TCC) tem como objetivo determinar o papel da própolis no aumento do fator de proteção de filtros solares. De modo geral, foram investigadas as propriedades moleculares e fotoquímicas das principais espécies ativas presentes no protetor solar comercial utilizado (ácido-2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico (AFS) e hidroxi-4-metoxi-benzofenona (HMB)) e determinar o perfil espectral da substância mais abundante ácido-3-prenil-hidroxicinâmico (APH) presente na própolis.

2. 1. Objetivos Específicos

- i) Fazer cálculos de otimização de geometria e frequência vibracional das estruturas moleculares AFS, AMB e APH no nível de cálculo B3LYP/def2-TZVP em fase gasosa e em soluções aquosa, de hexano e clorofórmio.
- ii) Obter os respectivos espectros de absorção UV-Vis no nível de cálculos M06/def2-TZVP das estruturas termodinamicamente favoráveis das estruturas moleculares AFS, AMB e APH no nível de cálculo B3LYP/def2-TZVP em fase gasosa e em soluções aquosa, de hexano, água, clorofórmio e gás.
- iii) Fazer comparações e validação da metodologia utilizada com os resultados experimentais disponíveis.
- iv) Investigar os mecanismos de ação da própolis via diferentes pH e interações de Hidrogênio intramolecular.
- v) Fazer as interpretações dos resultados teóricos e comparar com resultados experimentais disponíveis.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Própolis

A própolis é uma substância química natural complexa produzida pelas abelhas, tendo em sua constituição cerca de 50 – 60% de resina e bálsamo, 30 – 40% de cera, 5 – 10% de óleos essenciais, 5% de grão de pólen e alguns elementos químicos como cálcio, ferro, estrôncio, cobre, alumínio, manganês, além das vitaminas B1, B2, B6, C e E (Lustosa et al., 2008, Menezes, 2005). Seu odor é perfumado do tipo aromático balsâmico, tendo seu sabor amargo e picante variando de suave a forte. A própolis tem sua tonalidade variada de acordo com sua procedência, podendo ser marrom escuro, esverdeada ou até mesmo marrom avermelhado (Marcucci, 1996, Lustosa et al., 2008). Sua origem está relacionada com a parte da qual ela foi retirada das plantas, ou seja, ramos, flores, pólen, brotos e da saída de líquidos provenientes do interior de árvores (Pereira et al., 2002,). De estrutura sólida, a própolis tem seu ponto de fusão entre 60-70 °C podendo atingir até 100°C, mas podendo ser flexível a partir da temperatura de 30°C (Hojo, Paula Ashikawa, 2017).

O processo de coleta usado pelos apicultores são caixas, das quais aberturas em forma de fendas são feitas nas laterais das melgueiras e quadros coletores são introduzidos. As abelhas preenchem essas fendas com própolis e com uma faca ou espécúlo os apicultores recolhem as mesmas, como mostra a Figura 1 (Pereira et al, 2015).

Figura 1: Retirada de própolis



Fonte: www.mel.com.br/propolis-como-fonte-de-renda-na-apicultura/

3.1.1. Histórico

Usados pela humanidade por séculos, alguns produtos naturais se destacam devido a seu poder medicinal, sendo a própolis utilizada pelos Assírios, Gregos, Romanos, incas e Egípcios (Capasso & Castaldo, 2002). Os gregos, tal como Hipócrates a usavam como cicatrizantes, e o historiador romano Plínio usufruía da própolis como medicamento para dor e inchaço, e os egípcios a utilizavam para embalsamar seus mortos. (Pereira, et al, 2002).

Durante o século XIX ao longo da segunda guerra mundial foi utilizada em clinicas soviéticas, onde teve uma atenção especial em medicina humana e veterinária, com grande eficiência no tratamento da tuberculose, obtendo a regressão dos problemas pulmonares e recuperação do apetite (Pereira et al.,2002).

No início do século XX, a própolis teve seus primeiros estudos científicos realizados sobre sua composição química e suas propriedades (HELFEMBERG, 1908), sendo que em 1968 a primeira patente aplicada a própolis Romena para loções de banho foi indexada no Chemical Abstracts (IULIU,1965).

Na metade do ano 2000, totalizaram 450 trabalhos publicados e mencionados no Chemical Abstract, proveniente de 39 países e mais de 239 patentes (Pereira et al., 2002).

Entre 2003 e início de 2008, por meio de dados mostrados no European Patent Office, foram apresentados mais de 500 pedidos de patentes referente à própolis, mostrando assim o grande interesse por ela, podendo ser explicado pelos estudos de sua composição química e efeitos biológicos (Lustosa et al, 2008).

Na década de 80 a própolis tornou-se importante na complementação para a medicina (LUSTOSA, 2007), sendo utilizada como medicina alternativa nas indústrias farmacêuticas (LOTTI et al, 2010). Nessa mesma época no Brasil Ernesto Ulrich Breyer descreveu as propriedades terapêuticas e antibióticas natural utilizando à própolis em seu livro “Abelhas e Saúde” (Lima, 2006; Bueno Silva et al, 2017).

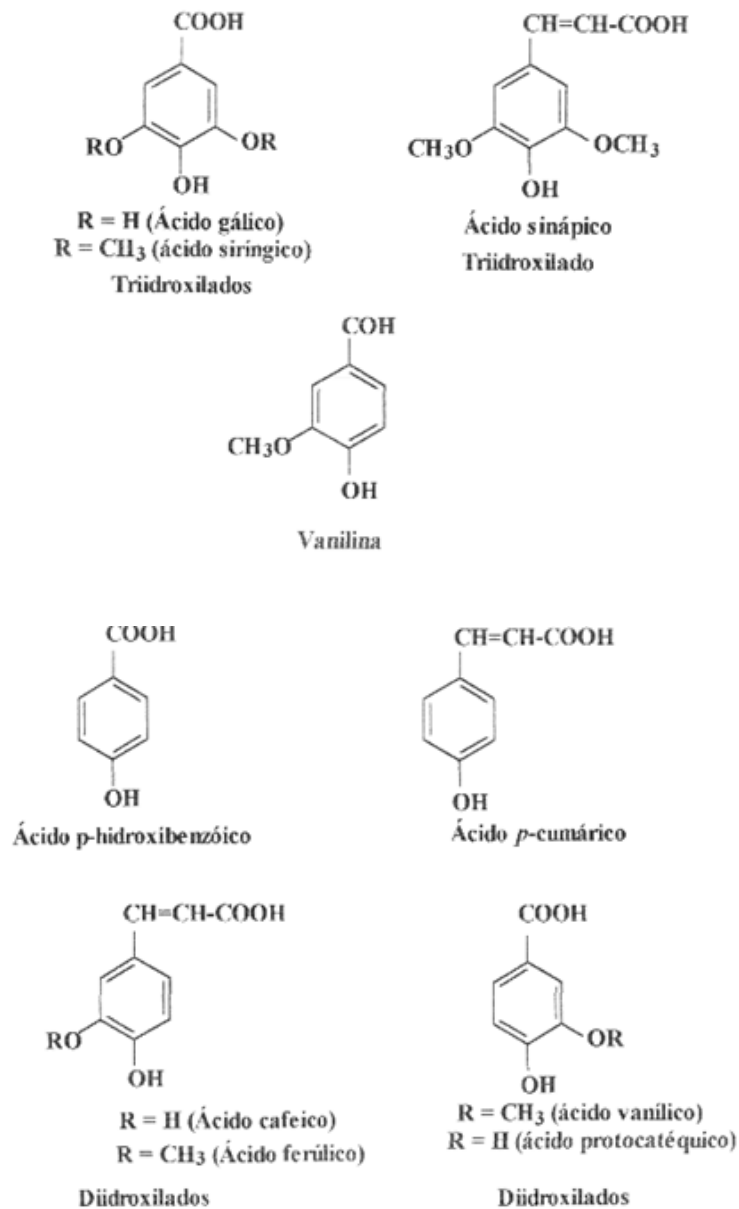
3.1.2. Composição Química

Vários trabalhos publicados comprovaram a grande variedade da composição química da própolis, que depende da flora da região, época de colheita, espécie de abelha e à mudança genética da rainha, fazendo-se então necessário um maior controle de qualidade e uma eficácia na aplicação terapêutica (Lustosa et al, 2008). Enquanto algumas moléculas se

encontram na maioria das amostras de própolis, outras são encontradas apenas em amostras específicas (Vargas et al., 2004).

A própolis possui em sua composição química flavonoides, ácidos aromáticos e ésteres, aldeídos e cetonas, terpenóides e fenilpropanóides (como os ácidos caféico e clorogênico), esteróides, aminoácidos, polissacarídeos, hidrocarbonetos, ácidos graxos e outros compostos (Hu et al., 2005; Bueno Silva et al, 2017; Sanpa, 2015), sendo os ácidos Fenólicos e os flavonoides (Figura 2) os mais estudados pelos pesquisadores devido à sua propriedade antibacteriana, antiviral e antioxidante (Volpi & Bergonzini, 2006).

Figura 2: Alguns Compostos fenólicos encontrados na própolis



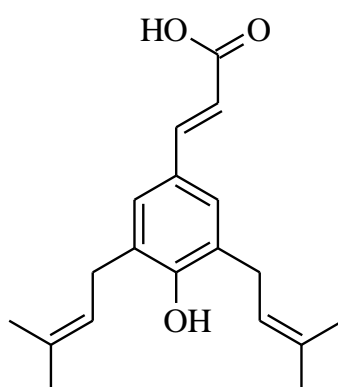
A própolis brasileira pode apresentar diferentes propriedades biológicas e composição química distintas, de acordo com amostras coletadas em diferentes partes do país. Já em regiões temperadas (por exemplo, na Europa) foram encontrados, em alguns trabalhos, uma composição química diferente com menor quantidade de metabólitos secundários. (Trusheva et al., 2006)

O primeiro trabalho publicado sobre a própolis brasileira foi em 1984, onde estudos compararam a própolis com antibióticos na inibição de *Staphylococcus aureus* (bactérias gram-positivas, encontradas na pele e nas fossas nasais, podendo causar desde uma simples infecção até as mais graves) (Santos et al., 2007). Nesse estudo a própolis brasileira apresentou desempenho superior ao antibiótico estudado. (Pereira, et al., 2015).

Na literatura a maioria dos trabalhos é referente à própolis verde, constituída majoritariamente de derivados prenilados do ácido p-cumárico e com maior quantidade de flavonoides, moléculas estas não encontradas em própolis da Europa, América do Norte e Ásia (Simões et al., 2004).

Em 1994, pesquisadores japoneses publicaram um trabalho sobre a própolis verde brasileira, sendo o ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (Artepillin C) a principal molécula encontrada no extrato bruto etanólico, apresentando significativa atividade antimicrobiana (AGA, et al 1994). Em 1998 outro artigo publicado sobre a Artepillin C (Figura 3) comprova a ação desta contra células tumorais humanas (KIMOTO, et al 1998).

Figura 3: Estruturas químicas da Artepillina C: forte poder antioxidante, antimicrobiano e anticâncer.



Fonte: Do autor

Nos últimos anos, estudos vêm sendo realizados também sobre a própolis vermelha encontrada no Nordeste brasileiro, onde novos compostos bioativos (Figura 4) foram

(Lu et al., 2005; Marcucci et al., 2001). A técnica Gram idealizada por um médico dinamarquês Hans Christian Gram, é utilizada para distinguir as bactérias nas formas e na sua aptidão de ser corada pelo corante Gram (cristal violeta) e não ser descorada quando tratada com álcool, sendo que após esse tratamento as Gram-positivas mantêm o corante enquanto as Gram-negativas o perdem.

A principal diferença na coloração Gram é a parede celular das bactérias, essa diferença é caracterizada na composição química dessa parede. As bactérias Gram-positivas tem em sua parede celular uma espessa camada de peptidoglicano, conhecido como mureína ou muco-peptidio (Moreira et al, 2015). São exemplos de doenças causadas pelas bactérias Gram-positivas, pneumonia, tétano, difteria, etc. Já nas Gram-negativas a parede de peptidoglicano é mais fina por isso não retém o cristal violeta durante o processo de descoloração. Algumas doenças são causadas por essa bactéria, por exemplos meningite, gastroenterite, intoxicação alimentar entre outras. O que se pode dizer até o momento é que quimicamente a parede celular das bactérias Gram-negativas é mais complexa e tem um maior teor de lipídios, podendo assim explicar essa maior resistência da propolis (Vargas et al., 2004).

Teste *in vitro* demonstra que a própolis tem ótimos resultados contra levedura que são causadoras de onicomicose (é uma infecção ungueal causada por dermatófitos, leveduras e fungos filamentosos não dermatófitos), caracterizando sua atividade fungicida e fungistática (Oliveira et al., 2006).

3.1.3.2. Anti-inflamatória

A propriedade anti-inflamatória da própolis, aparentemente é devida à presença de flavonoides, principalmente galangina, o qual é capaz de inibir a enzima ciclooxigenase (COX) que é uma glicoproteína dimérica integral da membrana, encontrada predominantemente no retículo endoplasmático. Atua como efetor secundário na via metabólica da cascata do ácido araquidônico (Lustosa, 2007). Também é notória a atividade anti-inflamatória da própolis na atividade fagocítica e agindo na imunidade celular, devido a sua ação na inibição da síntese prostaglandinas e na ativação da glândula timo (Kosalec et al., 2005).

3.1.3.3. Antioxidante

A grande quantidade e diversidade de flavonóides encontrados na própolis podem ser utilizadas para prevenir e tratar a pele deteriorada, devido sua propriedade antioxidante (Marquele et al., 2006). Há uma concomitância entre a grande quantidade de flavonoides totais e a ação antirradicais livres em extrato de própolis da Argentina (KUMAZAWA, et al, 2010). O extrato de própolis brasileira possui importante papel na propriedade antioxidante por possuir flavonoides e outros fatores envolvidos (Lustosa, 2008). Apesar de estudos com extratos etanólicos de própolis serem mais comuns, o extrato aquoso também apresentou eficiente atividade antioxidante, devido ao seu alto teor de compostos fenólicos (Mani et al., 2006).

3.1.3.4. Anticicatrizante

Também referente aos flavonoides e aos ácido fenólicos, a atividade cicatrizante da própolis foi mostrada em estudos, onde foi comparado um creme de sulfadiazina e um de própolis no tratamento de ferimentos, apresentando mais agilidade na cicatrização e menor inflamação os tratados com a própolis que os de sulfadiazina. (Gregory et al., 2002).

3.1.3.5. Imunomodulatória

A própolis mostrou-se eficaz como antiprotozoário, como a Doença de Chagas e a Leishimaniose. Na doença de chagas, a própolis tem uma ação contra o *Trypanosoma cruzi* em sua forma epimastigotas (forma encontrada no tubo digestivo do barbeiro), contudo na Leishimaniose, foi comprovado que a própolis vermelha, natural do nordeste brasileiro, teve uma atividade maior no tratamento sem ser prejudicial as células células macrófagos infectadas (células que intervêm na defesa do organismo contra infecções) (Lustosa,2008).

Utilizada em várias áreas da odontologia, a própolis está em enxagüatórios bucais e cremes dentais para prevenir cáries, no controle da placa bacteriana controlando a gengivite e problemas periodontais, sem que a coloração dentária se prejudique, sendo uma patente publicada recentemente (Lustosa, 2007).

3.1.4. Comercialização

A própolis é comercializada na forma de cápsula, extratos, pó e em alimentos funcionais. No Brasil a própolis comercializada apresenta registro no Ministério da

Agricultura, que indica os limites para fixação de identidade e qualidade da própolis na Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Segundo a Resolução-RDC nº 132, de 29 de maio de 2003, D.O.U. de 02/10/2003, produtos a base de própolis apropriados para funções terapêuticas, podem ser classificados como opoterápicos, sendo comprovada a segurança e eficácia conforme a nota técnica da Câmara Técnica de Medicamentos Fitoterápicos (Lustosa, et al, 2008).

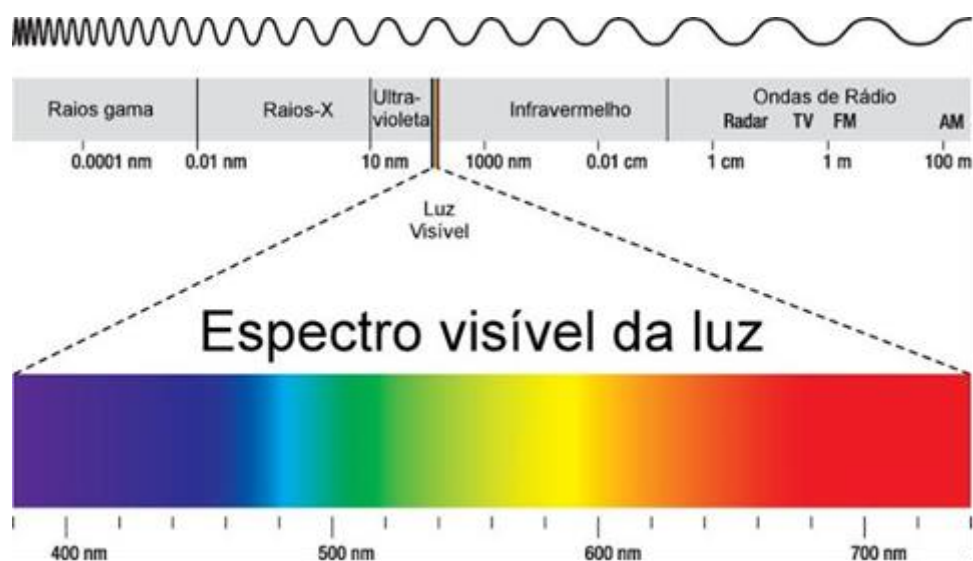
Aproximadamente noventa produtos a base de própolis foram confirmados no mercado brasileiro, dentre eles cápsulas, condicionador, xampu, sabonete, dentifício, batom, bala, chá, protetor solar, gel pós-barba, creme, pomada, etc.(Pereira et al.,2015)

O consumo mundial da própolis é estimado em 700-800 tonelada/ano, no Brasil não se sabe ao certo a quantidade do que é exportado e consumido internamente. Os produtores brasileiros avaliam entre 49 a 150 toneladas, sendo o segundo maior produtor ficando atrás da China (Lima, 2006).

3.2. Radiação Solar – Espectro eletromagnético

A radiação emitida pelo sol tem uma grande faixa de comprimento de onda (λ), podendo ser dividida em de acordo com a ionização atômica em duas regiões: radiação ionizante que são os raios X e os raios gama e a radiação não ionizante que compreende radiação ultravioleta, luz visível e radiação infravermelha. A radiação ultravioleta é subdividida de acordo com o comprimento de onda, que varia de 100 a 400 nm, estando esse relacionado com a radiação que a pele absorve e sendo inversamente proporcional a sua energia. A pele absorve mais UVA (320 à 400 nm) e UVB (290 à 320 nm), o UVC (100 à 290 nm) devido a seu comprimento de onda é em sua grande parte absorvido pela camada de ozônio (Figura 5) (Seixas, 2014).

Figura 5: Espectro eletromagnético



Fonte: <https://www.todamateria.com.br/espectro-eletromagnético/>

Ao ser absorvida por várias moléculas na pele, como melanina, DNA, RNA, proteínas, aminoácidos aromáticos, entre outros, a radiação ultravioleta (UV) pode causar várias alterações químicas nas mesmas. O DNA é a molécula que mais absorve a radiação UV, podendo sofrer mutações malignas (GONZALEZ et al., 2008).

Ao penetrar a derme, a radiação UVA provoca diversos danos, os quais podem ser citados o envelhecimento precoce e a fotosensibilidade da pele, alterações no tecido da derme, hiperpigmentação, diminuição do colágeno e dos vasos sanguíneos e câncer de pele (MANAIA, 2012).

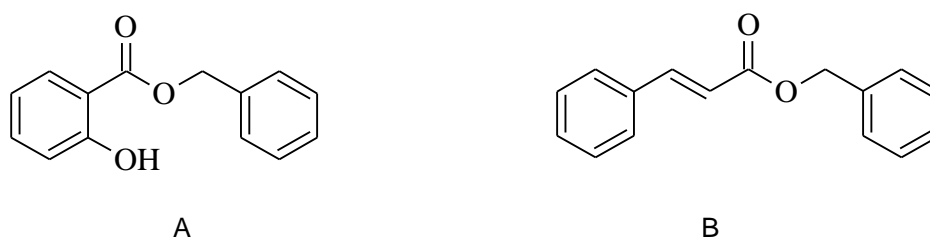
A radiação UVB, por sua vez, embora possua menor comprimento de onda e, conseqüentemente, menor poder de penetração cutânea, é a mais energética, o que faz com que seja intensamente absorvida pela epiderme e provoca danos agudos e crônicos, tais como manchas, queimaduras, e descamação (PINTO et al., 2013).

3. 3. Protetor solar

A exposição a radiação solar pode causar queimaduras graves a pele humana e para sua proteção sempre foram utilizados métodos como roupas e acessórios ou não se expor ao sol. No final do século XIX surgem os primeiros estudos sobre a eficiência dos protetores solares (Schalka e Reis, 2011).

O primeiro filtro solar foi comercializado nos Estados Unidos em 1928 contendo Salicilato de benzila e Cinamato de Benzila (Smith, 2014) como princípios ativos (Figura 6).

Figura 6 : Salicilato de Benzila (A) e Cinamato de Benzila (B)

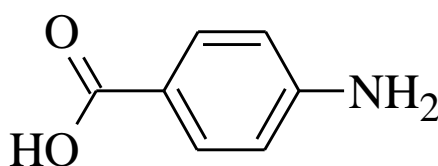


Fonte: Do autor.

O primeiro protetor solar patentado foi o ácido para-aminobenzoico (PABA) (Figura 7) em 1943, e apenas na década de 70 diferentes filtros UVB como cremes e loção foram popularizados (Schalka, 2009).

Devido à conscientização da população sobre os danos causados pela radiação solar e a procura de fotoprotetores terem aumentado nas duas últimas décadas, hoje há disponíveis uma grande variedade de filtros solares comerciais, com novas fórmulas desenvolvidas ligadas à eficácia ao fator de proteção e de absorção UVA e UVB (Milesi e Guterres, 2002).

Figura 7: Ácido para-aminobenzoico (PABA)



Fonte: Do autor.

Há dois tipos de protetores solares, os protetores físicos e os químicos. Os físicos são aqueles que refletem a radiação, atuam como uma barreira impedindo a passagem da radiação, enquanto os protetores químicos são os que absorvem um ou mais comprimentos de ondas específicos, convertendo-as em outros tipos de energias (Ribeiro, 2004).

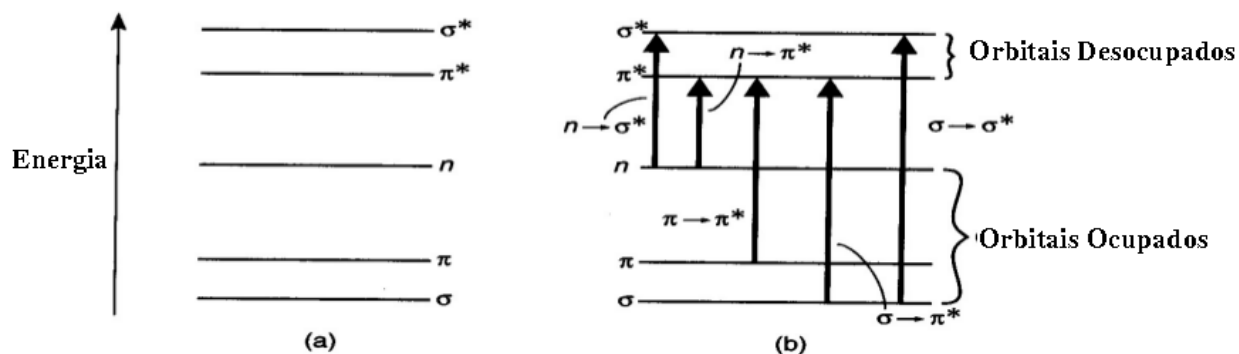
3. 4. Espectroscopia de absorção na região ultravioleta-visível (UV-vis)

Os métodos espectroscópicos em diferentes regiões do espectro eletromagnético, são ferramentas valiosas para análises e investigações de sistemas atômicos e moleculares e seus processos químicos e físicos. A espectroscopia de absorção UV-Vis fornece informações úteis para caracterização estrutural bem como informações sobre processos e efeitos químicos tais como transferência de cargas, distorções moleculares e efeito Jahn-Teller. A espectroscopia de absorção eletrônica compreende a faixa entre 200-400 nm, correspondendo a região do ultravioleta, e a faixa entre 400-800 nm correspondendo a região do visível. Com a absorção de luz nesses comprimentos de ondas específicos, que são relativos a uma diferença de energia de ressonância (quantizada), as transições ocorrem entre os níveis de energia eletrônicos. Em moléculas, essas transições eletrônicas acontecem a partir de orbitais moleculares ocupados para orbitais moleculares virtuais (PAIVA et al., 2010).

A transição eletrônica de menor energia envolve frequentemente a excitação de um elétron do orbital molecular ocupado com maior energia, “*Highest Occupied Molecular Orbital* (HOMO)” para o orbital molecular vazio de menor energia “*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*”. Enquanto em grande parte dos sistemas orgânicos, essa transição cai na região UV do espectro eletromagnético, em compostos orgânicos, com sistema π conjugado extenso, e em complexos metálicos, a transição HOMO-LUMO cai na região do visível, sendo atribuída como o valor de $10Dq$ (HUHEEY; KEITER; KEITER, 1993).

Na formação dos orbitais moleculares, os orbitais ocupados com menores energias são atribuídos como sendo do tipo σ , envolvendo a formação de ligações σ . Os orbitais do tipo π apresentam energias maiores, sendo seguidos dos orbitais não ligantes (n), que ficam em níveis de energia relativamente mais altos, na região dos orbitais de fronteira. Em contrapartida os orbitais vazios apresentam as respectivas atribuições dos orbitais ocupados só que agora com características antiligantes (π^* e σ^*) como mostrados na Figura 8. Como pode ser visto nesta figura, as transições eletrônicas são então atribuídas como sendo $\sigma \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$, essas transições são permitidas por regra de seleção do dipolo elétrico apresentando dessa forma altas intensidades. As transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ são proibidas por essas regras de seleção apresentando, portanto, baixas intensidades e frequentemente localizadas na região do visível (PAIVA et al., 2010). Esse tipo de transição eletrônica envolve transições localizadas em orbitais envolvendo a presença de heteroátomos como mostrando na Tabela 1.

Figura 8: Transições envolvendo os níveis de energia eletrônicos na região UV-Vis de moléculas orgânicas



Fonte: Adaptado de Paiva (2010)

Durante as transições eletrônicas, modos vibracionais e rotacionais são também excitados. Isso ocorre devido ao fato que os valores de energias envolvidas nas transições eletrônicas são muito maiores do que aqueles envolvidos nas transições entre os níveis vibracionais e rotacionais. Informações dessas transições podem ser observadas no espectro UV-Vis experimental quando ele se encontra bem resolvido (SKOOG, 2002).

Apesar de a radiação ultravioleta resultar na excitação de elétrons do estado fundamental, a interação dos núcleos com os elétrons tem papel muito importante na determinação de quais comprimentos de onda da radiação são absorvidos. Os núcleos determinam com que força os elétrons estão ligados, e assim influenciam no espaçamento de energia entre os estados fundamental e excitado.

Tabela 1: Transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$ de acordo com a classificação dos grupos cromóforos

Classe	Transição	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Log ϵ	Classe	Transição	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	Log ϵ
R-OH		180	2,5	R-NO ₂	$n \rightarrow \sigma^*$	271	<1,0
R-O-R	$n \rightarrow \sigma^*$	180	3,5	R-CHO	$n \rightarrow \sigma^*$	190	2,0
R-NH ₂	$n \rightarrow \sigma^*$	190	3,5	R ₂ CO	$n \rightarrow \sigma^*$	290	1,0
R-SH	$n \rightarrow \sigma^*$	210	3,0		$\pi \rightarrow \pi^*$	180	3,0
R ₂ C=CR ₂	$\pi \rightarrow \pi^*$	175	3,0	$n \rightarrow \sigma^*$	280	1,5	
R-C=C-R	$\pi \rightarrow \pi^*$	170	3,0	RCOOH	$n \rightarrow \sigma^*$	205	1,5
R-C≡N	$n \rightarrow \pi^*$	160	<1,0	RCOOR'	$n \rightarrow \sigma^*$	205	1,5
R-N=R-C	$n \rightarrow \pi^*$	340	<1,0	RCONH ₃	$n \rightarrow \sigma^*$	210	1,5

Fonte: Pavia et al. (2010)

A energia característica ligada a essa transição e o comprimento de onda da radiação absorvida passam a ser propriedades de um grupo e não apenas dos elétrons individualmente. Esse grupo de átomos capaz de produzir tal absorção é denominado cromóforo (PAVIA et al., 2010). A seletividade da absorção do ultravioleta permite que grupos característicos das moléculas com graus de complexidade variáveis possam ser reconhecidos (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRIL, 1994).

As bandas de absorção são constituídas por linhas muito próximas entre si. Em uma molécula real a banda de absorção típica contém um grande número de linhas. Presente em solução, a molécula é cercada pelo solvente e a natureza da banda de absorção molecular se torna difícil de ser distinguida, devido as suas colisões que tendem a desdobrar as energias do estado quântico, promovendo alargamento da banda de modo que os picos de absorção se tornam suavizados e contínuos (SKOOG, 2002).

Para dosagem de substâncias por meio da espectroscopia UV-Vis, a expressão empírica, conhecida como Lei de Lambert-Beer (Equação 1) é usada, mostrando que quanto maior o número moléculas em uma amostra (maior concentração) maior será a extensão dessa absorção.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon c L \quad (1)$$

Na equação 1 A é a absorbância da amostra, I_0 e I são as intensidades da luz incidente e transmitida na amostra, respectivamente. Enquanto, L é o caminho óptico, que corresponde ao comprimento da cubeta de quartzo, pelo o qual a luz percorre dentro da amostra, c é a concentração da amostra e ϵ é a absorvidade molar (anteriormente conhecida como coeficiente de extinção).

A lei de Lambert-Beer pode não ser obedecida quando diferentes formas da molécula absorvente estão em equilíbrio, ou quando existe equilíbrio térmico entre os estados fundamental e excitado da molécula absorvente de baixa energia (SKOOG, 2002).

Na espectroscopia UV-Vis, alguns termos são bastante explorados na interpretação e atribuições das transições eletrônicas. Termos esses tais como deslocamento batocrômico (deslocamento para o vermelho) ou deslocamento hipsocrômico (deslocamento para o azul), que correspondem ao deslocamento do pico máximo de absorção para maiores e menores comprimentos de onda, respectivamente. Esses termos geralmente se referem ao deslocamento do pico máximo de absorção de uma banda devido à natureza do solvente (efeito solvatocrômico), ou efeito de conjugação eletrônica, ou, devido à presença de grupos doadores

ou retiradores de densidade eletrônica, geralmente ligados a grupo cromóforos, que tem seus valores de comprimentos de onda tabelados na literatura (PAIVA,2010).

3. 5. Teoria do Funcional de Densidade

A mecânica quântica obteve uma grande contribuição em 1926, com o desenvolvimento da equação de Schrödinger (Equação 2) .

$$H\psi = E\psi \quad (2)$$

Em que a função de onda (Ψ), mesmo não apresentando um significado físico claro, contém todas as informações para determinar completamente o estado do sistema, seja ele um átomo, uma molécula ou um sólido. Por outro lado, o Hamiltoniano (H) contém todos os operadores capazes de descrever as características físicas desse sistema e suas interações.

Apesar da aparente simplicidade dessa equação, sua resolução analítica somente é possível para sistemas monoelétrônicos, tais como o átomo de hidrogênio. No caso de sistemas multieletrônicos, o primeiro método quântico (*ab initio*) utilizado para resolver essa equação utiliza a aproximação Hartree-Fock (HF) (CRAMER,2004). Essa aproximação falha, entretanto, na descrição completa da correlação eletrônica dos sistemas moleculares, característica essa de fundamental importância para descrever as propriedades químicas do sistema.

Os métodos pós-HF surgiram, de modo geral, para tentar resolver o problema da correlação eletrônica, que no método HF é descrito de forma aproximada. Basicamente, a correlação eletrônica pode ser dividida em duas partes, sendo a primeira conhecida como correlação eletrônica estática (CEE) e a segunda como correlação eletrônica dinâmica (CED). Os métodos *ab initio* pós-HF, que tentam descrever a CEE, são os métodos multiconfiguracionais (CAS, RAS, etc.), que utilizam mais de um determinante de Slater para descrever a configuração eletrônica do estado fundamental do sistema (função de onda), que no método Hartree-Fock é descrita por apenas um determinante de Slater (JENSEN, 2007). Esses cálculos são importantes somente para descrever sistemas envolvendo átomos pesados onde cruzamentos dos níveis de energias podem ocorrer, levando à necessidade de mais de uma configuração eletrônica para descrever corretamente o seu estado fundamental do sistema. Um bom exemplo desse caso seria sistemas moleculares envolvendo Cu(II), onde os estados

eletrônicos $3d^9 4s^2$ e precisam ser considerados pois eles apresentam uma diferença de energia muito pequena.

A maioria dos métodos pós-HF (CI, MP2, CCSD(T)...) descreve apenas a correlação eletrônica dinâmica, que corresponde a 90% da correlação eletrônica total do sistema. Alguns métodos como CASPT2 descrevem ambos os tipos de correlação. Contudo, todos esses cálculos pós-HF apresentam um problema de grande demanda computacional (JENSEN, 2007). Enquanto no método HF, o custo computacional aumenta de acordo com N^4 , onde N é o número de elétrons, os métodos pós-HF escalonam no mínimo com N^5 , N^6 , (...). Nesse sentido, esse problema foi amenizado com o desenvolvimento da teoria do funcional de densidade “*Density Functional Theory*” (DFT) (MORGON; COUTINHO, 2007) (CRAMER, 2004) (JENSEN, 2007). Esse método tem o custo computacional similar ao método HF, mesmo avaliando a correlação eletrônica.

O método DFT é baseado na aproximação de se usar a densidade eletrônica, no lugar da função de onda do sistema, como variável da equação de Schrödinger. Essa ideia foi proposta por Thomas e Fermi em 1927, que ficou conhecida como modelo de Thomas-Fermi. Os dois pesquisadores, trabalhando de forma independente, empregaram um modelo estatístico para aproximar a distribuição dos elétrons nos átomos, como a densidade do sistema, que corresponde ao quadrado da função de onda (Equação 3) e apresenta um significado físico claro, que é a densidade de probabilidade, ou seja, a região onde se tem maior probabilidade de encontrar os elétrons.

$$\rho(\mathbf{r}) = \langle \psi | \psi \rangle \quad (3)$$

A vantagem de se usar a densidade eletrônica está no fato de que a função de onda de N elétrons depende de $4N$ (três coordenadas espaciais (x, y, z) e a coordenada de spin de cada elétron), enquanto, a densidade eletrônica ρ , independentemente do número de elétrons envolvidos, depende apenas das três coordenadas espaciais, x, y, z . O único problema é que mesmo sabendo que cada densidade eletrônica produz uma energia para o estado fundamental, o funcional que conecta a densidade eletrônica à energia real do estado fundamental não é conhecido. O desafio do método DFT foi então encontrar esse funcional, que somente foi possível em 1964 com as ideias de Hohenberg e Kohn (Teoremas Hohenberg-Kohn).

3.5.1. Teoremas Hohenberg-Kohn

Os dois teoremas de Hohenberg- Kohn (HK) são as ideias básicas da teoria do funcional da densidade (DFT). Eles mostram, de modo geral, que:

Teorema 1 - Um potencial externo ($V_{\text{ext}}(\mathbf{r})$) para os elétrons do sistema, ou seja, aquele que descreve a interação nuclear com os elétrons, é determinado unicamente pela densidade do estado fundamental, de modo que para descrever a dependência da energia do estado fundamental com relação a essa densidade, basta mostrar que essa densidade determina o operador Hamiltoniano (H) do sistema e que a sua integração fornece o número de elétrons do sistema (Equação 4).

$$\int \rho(\mathbf{r}) = N \quad (4)$$

Em outras palavras, $V_{\text{ext}}(\mathbf{r})$ é um único funcional da $\rho(\mathbf{r})$, desde que $V_{\text{ext}}(\mathbf{r})$ estabelece o operador hamiltoniano, H. Esse teorema estabelece então que toda observável física, principalmente a energia, pode ser descrita como um funcional da densidade eletrônica do estado fundamental. Para ter certeza de que uma determinada densidade é a densidade no estado fundamental o Teorema 2 estabelece que:

Teorema 2: A densidade eletrônica do estado fundamental poder ser calculada, a princípio, usando o método variacional, onde a energia total calculada desta densidade ($E[\rho(\mathbf{r})]$) não pode ser menor do que a energia real do estado fundamental (E_0), como mostrado na equação 5. O nome “funcional vem do fato de que a energia depende de uma função, que na DFT é a densidade, que por sua vez depende das variáveis espaciais, *i.e.*, $E[\rho(\mathbf{r})]$. No caso dos métodos baseados em função de onda, a energia é um funcional da função de onda ($E[\psi(\mathbf{r})]$).

$$E[\rho(\mathbf{r})] \geq E_0 \quad (5)$$

3.5.2. Método Kohn-Sham

Antes de descrever brevemente sobre o método Kohn-Sham, é importante mencionarmos a definição do hamiltoniano H independentemente do tempo e não relativístico. Como mostrado na equação 6 o hamiltoniano contém os termos de energia cinética dos núcleos e dos elétrons, bem como os termos de interação eletrostática entre eles.

$$\mathcal{H} = \mathbf{T}_N + \mathbf{T}_e + \mathbf{V}_{Ne} + \mathbf{V}_{NN} + \mathbf{V}_{ee} \quad (6)$$

Em que os índices N e e são relativos ao núcleo e elétrons, respectivamente. Cada termo dessa equação representa uma parcela das interações físicas existentes no sistema. A expressão para cada um desses termos, em unidades atômicas, pode ser vista a seguir.

- Energia cinética nuclear

$$\mathbf{T}_N = -\sum_A \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 \quad (7)$$

- Energia potencial entre os núcleos

$$\mathbf{V}_{NN} = \sum_A \sum_{B>A} \frac{Z_A Z_B}{|\mathbf{R}_A - \mathbf{R}_B|} \quad (8)$$

- Energia cinética eletrônica

$$\mathbf{T}_e = -\sum_i \frac{1}{2} \nabla_i^2 \quad (9)$$

- Energia potencial entre os elétrons

$$\mathbf{V}_{ee} = \sum_i \sum_{j>i} \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} \quad (10)$$

- Energia potencial elétron-núcleo

$$\mathbf{V}_{Ne} = -\sum_i \sum_A \frac{Z_A}{|\mathbf{R}_A - \mathbf{r}_i|} \quad (11)$$

No método DFT, assim como no HF, a aproximação Born-Oppenheimer é utilizada. Essa aproximação consiste na separação do movimento nuclear do movimento eletrônico. O argumento lógico para efetuar essa aproximação é que os elétrons possuem massa muito menor

que os núcleos se adaptam quase que instantaneamente a qualquer disposição nuclear. Desse modo, o termo de energia cinética nuclear no hamiltoniano é considerado como sendo igual a zero, enquanto o termo de energia potencial elétron-núcleo se torna uma constante.

De acordo com os teoremas HK, a energia do estado eletrônico fundamental é então expressa como sendo:

$$E_0 \leq E[\rho(\mathbf{r})] = T_e[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] + E_{Ne}[\rho_0] \quad (12)$$

Os teoremas de HK não fornecem, entretanto, qualquer orientação sobre como construir os funcionais de densidade apresentados acima. Somente o funcional de densidade $E_{Ne}[\rho_0]$ é exatamente conhecido. Esse problema foi resolvido em 1965, quando os trabalhos de Kohn em conjunto com Lu Sham possibilitaram o desenvolvimento do método Kohn-Sham (KS), tornando os teoremas de HK viáveis para aplicações diretas em sistemas atômicos e moleculares (ALVES, 2016).

No esquema KS, a densidade de um sistema fictício com elétrons não interagentes é considerada como sendo capaz de representar a densidade do estado fundamental de um sistema real. A função de onda de tal sistema não interagente pode ser representada por um determinante de Slater. Dessa maneira, a parte cinética de tal sistema não interagente é similar a parte cinética do método Hartree-Fock. Usando este funcional da energia cinética para o sistema real, um termo de correção é, portanto, adicionado de modo que:

$$T[\rho] = T_s[\rho] + T_c[\rho] \quad (13)$$

Em que $T_s[\rho]$ é a energia cinética de um sistema não interagente e $T_c[\rho]$ é a correção cinética devido a interação elétron-elétron. Comparado a $T_s[\rho]$, $T_c[\rho]$ é considerado ser uma pequena contribuição.

O funcional de densidade exato para parte clássica de coulomb da interação de dois elétrons é

$$J[\rho] = \iint_{R_{12}} \frac{\rho(\mathbf{x}_1)\rho(\mathbf{x}_2)}{|\mathbf{x}_1 - \mathbf{x}_2|} d\mathbf{x}_1 d\mathbf{x}_2 \quad (14)$$

Enquanto faltam ainda conhecer as interações elétron-elétron não-clássicas, conhecidas como interações de troca e correlação. No método KS, esse termo e a parte de correção da energia cinética são colocados dentro do funcional aproximado, que é chamado de funcional de troca e correlação,

$$\text{Exc}[\rho] = \text{Ex}[\rho] + \text{Ec}[\rho] + \text{Tc}[\rho] \quad (15)$$

Dessa maneira, a energia eletrônica total é expressa como sendo:

$$E_{\text{elect}}[\rho] = T_s[\rho] + \int V_{\text{ext}} q(x) + J[q] + \text{Exc}[q] \quad (16)$$

A expressão exata do funcional da energia de troca e correlação $\text{Exc}[\rho]$ não é conhecida. Assim, para que seja possível utilizar as Equações de Kohn-Sham é necessário determinar uma boa aproximação para o termo de troca e correlação, que é o termo de interpretação física mais difícil da DFT. Entre as aproximações mais utilizadas para este termo desconhecido estão os funcionais baseados na Aproximação da Densidade Local (LDA) e um aperfeiçoamento chamado de Aproximação do Gradiente Generalizado (GGA). (SILVA,2018)

3.5.3. Funcionais de Densidade

Desde que o funcional de troca e correlação, $\text{Exc}[\rho]$, não é conhecido, o desenvolvimento desse funcional tem sido um importante tópico através da história do DFT (JENSEN,2007). O primeiro passo desse processo é o conhecimento claro das características químicas do sistema a ser investigado. Isso porque existem vários funcionais disponíveis para os cálculos DFT, conhecer as características químicas que eles descrevem nos guia na melhor escolha do funcional a ser empregado para o nosso sistema. Contudo ainda existem problemas, que ainda não foram contornados pelos diferentes funcionais disponíveis. Conhecê-los claramente é um importante passo para realizarmos investigações eficientes.

O primeiro problema observado nos funcionais disponíveis é conhecido como comportamento assintótico. Em sistemas moleculares, se um elétron é localizado longe do núcleo da molécula, ele estará blindado pela presença dos demais elétrons. Portanto, a carga formal desse elétron é dada como sendo $(Z-(N-1))$, onde Z é o número total de carga nuclear e N é número de elétrons do sistema. Dessa maneira, esse elétron é considerado se movendo num campo eletrônico dado por:

$$V(r) = \frac{Z-(N-1)}{R_{12}} \quad (17)$$

Analisando a interação de coulomb entre elétrons e aquela entre elétrons e núcleos, nós descobrimos que no limite assintótico $r \rightarrow \infty$, o potencial de troca do um elétron é $-1/r$. O funcional de troca HF mostra corretamente esse decaimento ($-1/r$) para grandes distâncias (r) enquanto a maioria dos funcionais disponíveis da DFT falha nessa descrição. De fato, esses funcionais mostram um decaimento exponencial ao invés de $-1/r$. Essa falha gera problemas nas energias dos orbitais obtidos na DFT. Dessa maneira, propriedades químicas envolvendo as diferenças de energias orbitais, como energia de ionização, eletroafinidade, etc, não são adequadamente descritas quando comparadas os valores experimentais.

Outro problema dos funcionais da DFT é conhecido como descontinuidade derivada. O potencial de troca e correlação na verdade salta a menos de uma constante quando o número de elétrons passa através de uma quantidade inteira. Esse fenômeno reflete o potencial químico para transferência de carga entre dois sistemas. Novamente, a parte de troca HF modela bem esse comportamento enquanto nenhum dos funcionais da DFT disponíveis, que são caracterizados por potencias contínuos em relação à variações no número de elétrons, é capaz de descrever.

Finalmente, outro problema dos funcionais da DFT é auto-interação do elétron, que ocorre devido ao erro que aparece quando a parte de auto-interação do funcional de troca e correlação não cancela completamente com a correspondente parte na interação de Coulomb. Cancelamento esse que ocorre corretamente no esquema HF. Devido essa interação residual de um elétron com ele mesmo, a DFT fornece resultados errados quando aplicados a sistemas de camada aberta, paramagnéticos. A solução para esses problemas mencionados acima tem sido os funcionais híbridos (B3LYP, B3PW91), que incorporam em alguma extensão a parte de troca HF.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os cálculos da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) foram utilizados para avaliar as propriedades eletrônicas, geométricas e espectroscópicas do protetor solar comercial e da própolis. O funcional híbrido de Becke, em conjunto com o funcional de correlação de Lee- Yang-Parr (B3LYP) (LEE; YANG; PARR, 1988), foi usado para descrever a densidade eletrônica dos sistemas moleculares investigados. O conjunto de base atômico def2-TZVP foi usado para todos os átomos (MONTGOMERY, 2000). A abordagem restrita (RHS) e não-restrita (UHS) foram usadas em cálculos de otimização e frequência dos sistemas com número par e ímpar de elétrons, respectivamente. As geometrias foram totalmente otimizadas sem restrições de simetria. Todas as geometrias otimizadas foram confirmadas no mesmo nível de teoria como os mínimos locais, calculando suas respectivas frequências vibracionais dentro da abordagem harmônica.

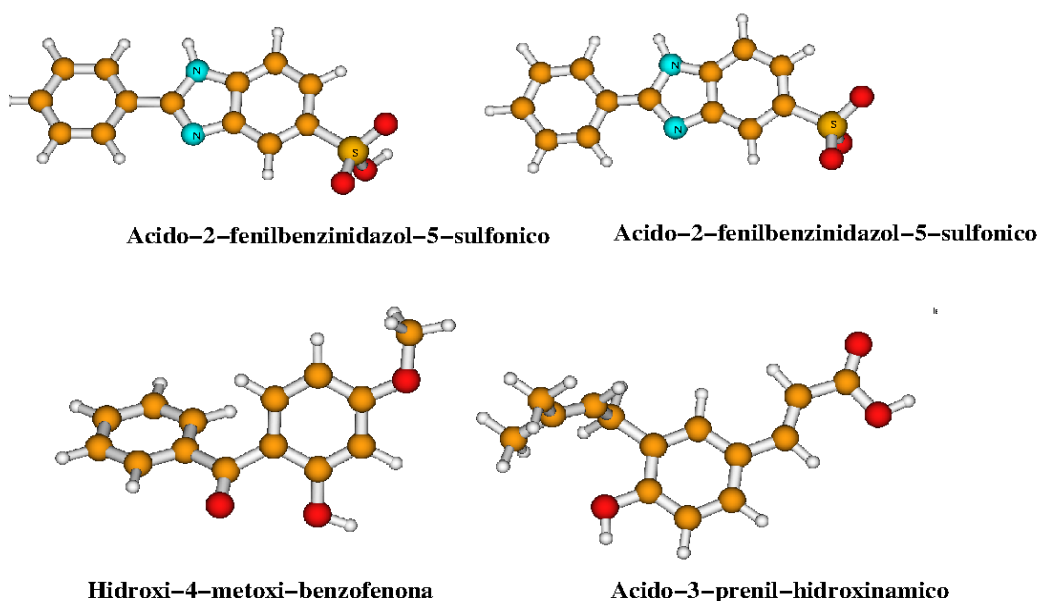
Os espectros de absorção eletrônica UV-*vis* de todas as espécies moleculares investigadas foram realizados dentro da abordagem da Teoria da Densidade Funcional Dependente do Tempo (TD-DFT) usando M06L funcional e o conjunto de base atômico def2-SVP ajustada para todos os átomos (SCHÄFER; HORN; AHLRICHS, 1992). Vinte estados eletrônicos com menores energias das equações de autovalores foram computados para obter as energias de excitação verticais (Princípio Franck-Condon). As forças do oscilador para cada transição eletrônica foram calculadas usando os elementos da matriz de transição dipolar considerando o mesmo estado de spin dos estados eletrônicos fundamentais de cada espécie. Todos os cálculos foram realizados no programa Orca (NEESE, 2006).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As representação das estruturas moleculares otimizadas B3LYP/Def2-SVP dos princípios ativos APH (própolis) e AFS e HMB (protetor solar) estão mostrados na Figura 9, enquanto seus respectivos espectros M06L/Def2-SVP na região UV-*Vis*, estão mostrados na Figura 10. Como pode ser visto na Fig. 9, as estruturas protonada e desprotonada do AFS foram consideradas nesses cálculos, devido ao fato que o pKa do AFS é 4.0 (Ji, et. al., 2013). Interessante notar que o pH de protetores comerciais são em torno de 6 a 7 (veja Tabela 2), e, portanto, as espécies AFS e APH devem ser consideradas nos cálculos, para averiguar o efeito do pH no espectro de absorção eletrônica UV-*Vis*. Esse efeito não deve ser observado para HMB e, cabe ressaltar, uma característica já constatada na literatura, que a própolis não tem fator de proteção significativo (FP) (Almeida, et. al., 2019) No caso do HMB, existe ainda a possibilidade de haver interação de hidrogênio intramolecular, logo foram consideradas as espécies sem e com interação de hidrogênio.

Todas as estruturas da Figura 9 mostraram-se estruturas de mínimo termodinâmico, uma vez que nenhuma frequência vibracional harmônica apresentou resultados negativos nos cálculos. Logo, pode-se concluir que todas essas estruturas são caracterizadas como espécies moleculares estáveis presentes na natureza à pressão e temperatura ambiente.

Figura 9: Estruturas moleculares otimizadas dos protetores solares e da própolis.



Pode-se observar na Figura 10 que cada estrutura reproduz um perfil espectral distinto uma das outras, com picos máximos de absorção (intensidades) localizadas em diferentes regiões do espectro UV-Vis. Primeiramente, nos espectros da AFS, os picos máximos de absorção encontram-se localizados em torno de 310 e 575 nm na forma protonada, e 380 e 550 na forma desprotonada. Verifica-se dessa maneira que enquanto uma alta absorção é observada na forma protonada dessa molécula, uma baixa absorção é verificada para a forma desprotonada. Uma vez que os espectros de UV-Vis diferem-se para as formas protonada e desprotonada da molécula, fez-se necessário medir o pHs do protetor solar e da própolis, bem como dos dois em conjunto.

Como pode ser visto na Tabela 2, os pH de todos os casos foram medidos, (de acordo com a metodologia de Almeida e colaboradores) ficando acima de 6, sendo possível considerar a prevalência da espécie desprotonada da AFS no meio. Sugere-se a presença dessa espécie em solução uma vez que a base conjugada formada pela desprotonação do molécula AFS será estabilizada por ressonância, como pode ser verificada na Figura 11, justificando assim o pka de 4.

Figura 10: Espectros M06L/def2-SVP UV-Vis das estruturas AFS protonadas e desprotonadas

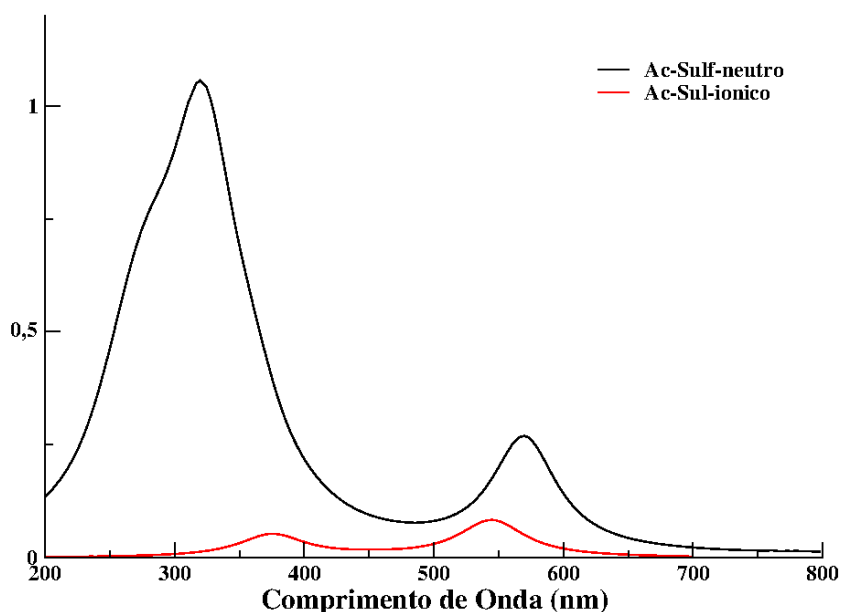


Figura 11: ácido-2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico (AFS) em sua forma desprotonada (acima) e seus respectivos contribuintes de ressonância (abaixo).

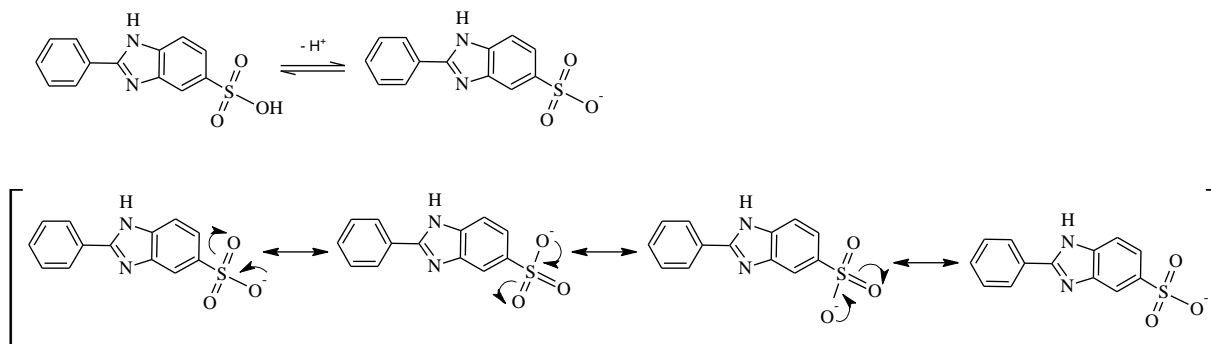


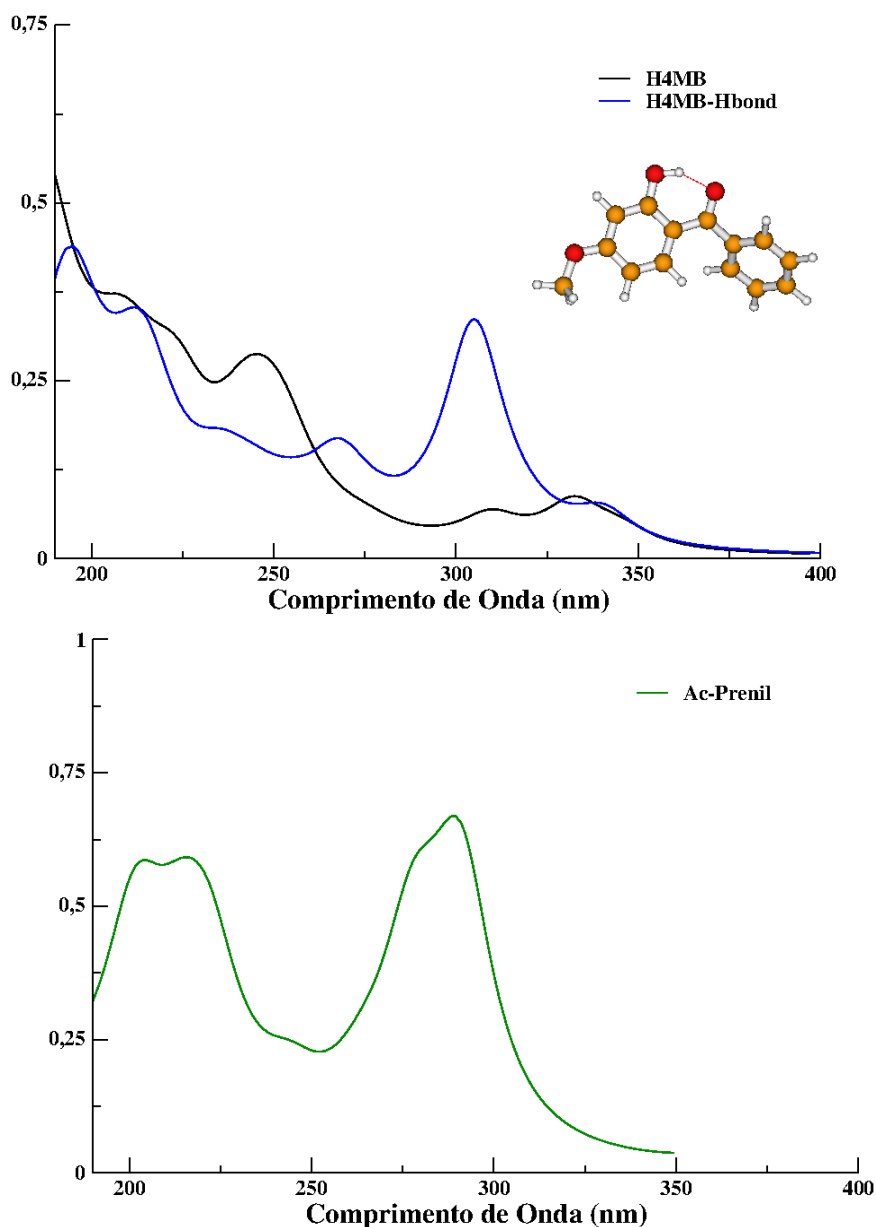
Tabela 2: Valores de pHs do protetor solar, própolis e os dois juntos.

Protetor solar	Porcentagem %	pH	Porcentagem %	Ph
Gel quente	70	6,81	75	6,84
Gel frio	70	7,02	75	6,82
Gel quente + própolis	70	7,17	75	7,35
Gel frio + própolis	70	7,14	75	7,49
Própolis vermelha quente	-----	-----	75	8,12
Própolis vermelha fria	70	7,87	-----	-----

O espectro apresentado na Figura 12 mostra as estruturas HMB com e sem interação de hidrogênio, com os picos máximos de absorção estão localizados 190, 225, 270, 290, 320 e 380 nm e 210, 225, 240, 315 e 330 nm, respectivamente, e o APH com os picos máximos de absorção em aproximadamente 210, 220, 245 e 285 nm. Como pode ser visto, as intensidades de absorção das estruturas HMB ficam abaixo de 0,5, enquanto no APH essa intensidade de absorção fica em torno de 0,6 e 0,75, para a primeira e segunda banda respectivamente. Esses resultados sugerem que as interações de hidrogênio intramolecular e intermoleculares com os componentes da própolis, não devem apresentar efeitos significativos sobre o aumento do fator de proteção dos filtros solares comerciais. Adicionalmente os componentes da própolis apresentaram uma absorção mais interessante do ponto de vista de proteção solar. Portanto, os próximos passos de estudo para um futuro trabalho são averiguar se outros componentes da

própolis podem interagir ou mesmo reagir com os princípios ativos presentes nos protetores solares comerciais.

Figura 12: Espectros M06L/def2-SVP UV-Vis da estrutura HMB (na figura como H4MB) sem e com interação de hidrogênio (acima); e espectro da estrutura APH (abaixo).



Finalmente, o estudo teórico realizado nesse trabalho indica processos de transferência de carga com altas intensidades na região UV, para o componente investigado da própolis, mostrando que esse componente ao ser isoladamente e diretamente adicionado ao protetor solar, pode apresentar um efeito ainda maior no aumento do fator de proteção de filtros solares.

6. CONCLUSÃO

Nesse trabalho um estudo experimental em conjunto com análises computacionais baseadas na teoria do funcional de densidade foi realizado para avaliar propriedades eletrônicas, geométricas e espectroscópicas de um protetor solar comercial e da própolis vermelha. Diferentes efeitos foram avaliados para entender o mecanismo de ação de um componente da própolis no aumento do fator de proteção solar desse filtro solar. Foram utilizados para todas as moléculas, as metodologias de cálculos baseados na teoria do funcional de densidade (DFT) independente e dependente do tempo, DFT e TD-DFT, respectivamente, usando o seus correspondentes conjunto de base atômico B3LYP/CBSB7 e M06L/def2-SPV. As geometrias e frequências vibracionais harmônicas, bem como os espectros de absorção eletrônica na região do ultravioleta visível (UV-*Vis*) foram usadas nos cálculos mencionados anteriormente, respectivamente.

As estruturas termodinamicamente favoráveis dos princípios ativos dos protetores solares comerciais, ácido-2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico (AFS) e hidroxí-4-metoxibenzofenona (HMB), e uma estrutura de maior quantidade presente na própolis - ácido-3-prenil-hidroxinâmico (APH) foram utilizados nessa investigação. Os resultados obtidos indicam que diferentes efeitos estão envolvidos para melhorar a eficácia dos filtros solares comerciais, dentre eles, as interações de hidrogênio presente em cada sistema isolado e neles juntos, bem como, e de modo particular, as altas absorções UV do princípio ativo investigado, do qual, mostrou ser o de maior relevância. No entanto, o efeito de pH do meio não apresentou atuar com magnitude nessa investigação.

Pode-se concluir que a utilização de técnicas espectroscópicas UV-*Vis*, aliadas a análises computacionais, constituem ferramentas eficientes para investigação de sistemas moleculares com importância farmacêutica e industrial. Perspectivas futuras desse trabalho estão focadas em utilizar essa investigação computacional como um guia de estudos experimentais, nos quais o ponto principal estará voltado para as possíveis interações e reações entre AFS e HMB com o APH, presentes respectivamente nos princípios ativos do protetor solar e da própolis.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGA, H. et al. **Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis.** Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, v. 58, n. 5, p. 945-946, 1994.

ALENCAR, S. M. et al. **Composição química de Baccharis dracunculifolia**, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. Ciência Rural, 2005.

ALMEIDA, W. A. da S. et al. **Photoprotective activity and increase of SPF in sunscreen formulation using lyophilized red propolis extracts from Alagoas.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 2019.

ALVES, A. C. **Estudo de estrutura e propriedades eletrônicas de filmes finos de β -PbO₂.** 63f. Dissertação de mestrado em Ciência dos materiais, Ilha Solteira, São Paulo, 2016.

AWALE, S. et al. **Constituents of Brazilian red propolis and their preferential cytotoxic activity against human pancreatic PANC-1 cancer cell line in nutrient-deprived condition.** Bioorganic & medicinal chemistry, v. 16, n. 1, p. 181-189, 2008.

BANKOVA, V. **Chemical diversity of propolis and the problem of standardization.** Journal of ethnopharmacology, v. 100, n. 1-2, p. 114-117, 2005.

BUENO-SILVA, Bruno. et al. **The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity.** Natural Product Research, 31(11), 1318-1324, 2017.

CASTALDO, S.; CAPASSO, F. **Propolis, an old remedy used in modern medicine.** Fitoterapia, v. 73, p. S1-S6, 2002.

CRAMER, C. J. **Essentials of Computational Chemistry theories and models.** 2 ed, Wiley, 2004.

DOS SANTOS PEREIRA, A.; SEIXAS, F. R. M. S; DE AQUINO NETO, F. R. **Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras.** Quim. Nova, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

DOS SANTOS, A. L. et al. **Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

GONZÁLEZ, S.; FERNÁNDEZ-LORENTE, M.; GILABERTE-CALZADA, Y. **The latest on skin photoprotection.** Clinics in dermatology, v. 26, n. 6, p. 614-626, 2008.

GREGORY, S. R. et al. **Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns.** The Journal of Alternative & Complementary Medicine, v. 8, n. 1, p. 77-83, 2002.

HELFENBERG, K. D. **The analysis of beeswax and propolis.** Chemiker zeitungm, v. 31, p. 987-998, 1908.

HOJO, P. A. et al. **Extração de compostos bioativos de própolis verde por alta pressão isostática.** 2017.

HU, F. et al. **Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models.** Journal of Ethnopharmacology, v. 100, n. 3, p. 276-283, 2005.

HUHEEY J. E.; KEITER, E. A.; KEITER R. L. **Inorganic Chemistry: Principles of structure and reactivit.** 4 ed, 1993.

IULIU, P. **Patente No. 1965.**

JI, Y. et al. **Photochemical degradation of sunscreen agent 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid in different water matrices.** Water research, v. 47, n. 15, p. 5865-5875, 2013.

JENSEN, F. **Introduction to computational chemistry,** 2 ed., Wiley. 2007

KIMOTO, T. et al. **Apoptosis and suppression of tumor growth by artepillin C extracted from Brazilian propolis.** Cancer detection and prevention, v. 22, n. 6, p. 506-515, 1998.

KOSALEC, I. et al. **Flavonoid analysis and antimicrobial activity of commercially available propolis products.** Acta Pharmaceutica, v. 55, n. 4, p. 423-430, 2005.

KUMAZAWA, S. et al. **Radical-scavenging activity and phenolic constituents of propolis from different regions of Argentina.** Natural Product Research, v. 24, n. 9, p. 804-812, 2010.

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 37 (2), 785-789, 1988.

LIMA, M. G. **A produção de própolis no Brasil.** São João da Boa Vista: São Sebastião Editora e Gráfica, 2006.

LOTTI, C. et al. **Chemical constituents of red Mexican propolis.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 58, n. 4, p. 2209-2213, 2010.

LU, Li-Chang; CHEN, Yue-Wen; CHOU, Cheng-Chun. **Antibacterial activity of propolis against Staphylococcus aureus.** International Journal of Food Microbiology, v. 102, n. 2, p. 213-220, 2005.

LUSTOSA, S. R. et al. **Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 18, n. 3, p. 447, 2008.

MANAIA, E. B. **Desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos multifuncionais contendo nanopartículas de TiO₂ para proteção solar e liberação controlada de terpinem-4-ol.** 2012.

MANI, F. et al. **Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables.** Journal of ethnopharmacology, v. 105, n. 1-2, p. 95-98, 2006

MARCUCCI, M. C. et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of ethnopharmacology,** v. 74, n. 2, p. 105-112, 2001.

MARCUCCI, M. C. et al. **Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis.** Química Nova, v. 19, n. 5, p. 529-536, 1996.

MARQUELE, F. D. et al. **Propolis extract release evaluation from topical formulations by chemiluminescence and HPLC.** Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 41, n. 2, p. 461-468, 2006.

MENEZES, H. **Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas.** Arq. Inst. Biol, v. 72, n. 3, p. 405-411, 2005.

MILESI, S. S.; GUTERRES, Silvia Stanisquaski. **Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores.** Caderno de farmácia. Porto Alegre, RS. Vol. 18, n. 2 (jul./dez. 2002), p. 81-87, 2002

MONTGOMERY, J. A; FRISCH, M. J.; OCHTERSKI, J. W.; PETERSSON, G. A. **A complete basis set model chemistry. VII. Use of minimum population localization method,** Journal of Chemical Physics, 112 (15), 6532–6542, 2000.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular,** 1 Ed., São Paulo, Editora Livraria da Física: São Paulo, 2007.

NEESE, F. **A critical evaluation of DFT, including time-dependent DFT, applied to bioinorganic chemistry,** Journal of biological Inorganic Chemistry, 11(6), 702-711, 2006.

OLIVEIRA, A. C. Pozzi et al. **Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 101, n. 5, p. 493-497, 2006.

PAIVA, D. L.; LAMPMAN G. M.; KRIZ G. S.; VYVYAN J. R. **Introdução a espectroscopia.** 4 ed., norte americana Cengage learning, 2010.

PEREIRA, D. S. et al. **Histórico e principais usos da própolis apícola.** Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2015.

PINTO, J. E. S. et al. **Estudo da atividade fotoprotetora de diferentes extratos vegetais e desenvolvimento de formulação de filtro solar.** In: VIII EPCC–Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar. 2013

RIBEIRO, R. P. (2004). **Desenvolvimento e validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS in vitro em formulações fotoprotetoras comerciais** (Doctoral dissertation, PhD Thesis, UFRJ, Rio de Janeiro).

RODRIGUES LUSTOSA, S. **Padronização de extrato de própolis e avaliação da atividade antimicrobiana.** 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SANPA, S. et al. **Antibacterial compounds from propolis of *Tetragonula laeviceps* and *Tetrigona melanoleuca* (Hymenoptera: Apidae) from Thailand.** PLoS One, 10(5), e0126886/1, 2015.

SCHÄFER, A.; HORN, H.; AHLRICHS, R. **Fully optimized contracted Gaussian-basis sets for atoms li to Kr.** Journal of Chemical Physics, 97 (4), 2571–2577, 1992.

SCHALKA, S. **Influência da quantidade aplicada de protetores solares no fator de proteção solar (FPS): avaliação de dois protetores solares com os mesmos ingredientes em diferentes concentrações.** 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SCHALKA, S; DOS REIS, V. M. S. REVISÃO 507. **An Bras Dermatol**, v. 86, n. 3, p. 507-15, 2011.

SEIXAS, V. C. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade e eficácia de formulações cosméticas contendo fosfato de cério com propriedades fotoprotetoras.** 2014. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C.; **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 5ª ed., LTC: Rio de Janeiro, 1994.

SIMÕES, C. C.; ARAÚJO, D. B. de; ARAÚJO, R. P. C. de. **Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos.** 2008.

SIMÕES, L. M. C. et al. **Effect of Brazilian green propolis on the production of reactive oxygen species by stimulated neutrophils.** *Journal of ethnopharmacology*, v. 94, n. 1, p. 59-65, 2004

SKOOG, D. A. et al. **Princípios de análise instrumental.** 5ª. ed. Bookman: Porto Alegre, 2002.

SZLISZKA, E. et al. **Artepillin C (3, 5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid) sensitizes LNCaP prostate cancer cells to TRAIL-induced apoptosis.** *International Journal of Oncology*, v. 41, n. 3, p. 818-828, 2012

TRUSHEVA, B. et al. **Bioactive constituents of Brazilian red propolis.** *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 3, n. 2, p. 249-254, 2006.

VOLPI, N.; BERGONZINI, G. **Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC-electrospray mass spectrometry.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 42, n. 3, p. 354-361, 2006