

Estudo Cristaloquímico de Dois Derivados
N- acilidrazônicos Utilizando a Difração de Raios X

Givanildo Santos da Silva

Maceió, Agosto de 2009



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - IQB



PROGRAMA PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - PPGQB

Estudo Cristaloquímico de Dois Derivados *N*-acilidrazônicos Utilizando a Difração de Raios X

GIVANILDO SANTOS DA SILVA

Dissertação apresentada ao
Instituto de Química e
Biotecnologia da Universidade
Federal de Alagoas, para
obtenção do título de mestre em
Físico-Química/Cristalografia.

Orientador: Prof. Dr. Mariano Alves Pereira

Maceió, Agosto de 2009

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

S586e Silva, Givanildo Santos da.
Estudo cristaloquímico de dois derivados *N*-acilidrazônicos utilizando a difração de raios X / Givanildo dos Santos da Silva, 2009.
101 f. : il. tabs., graf.

Orientador: Mariano Alves Pereira.
Dissertação (mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2009.

Bibliografia: f. 97-101.

1. Cristalografia. 2. Cristal. 3. *N*-acilidrazônicos. 4. Raios X. 5. Difração.
I. Título.

CDU: 548.73



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA

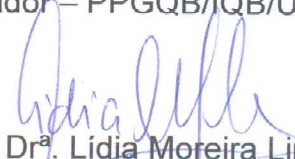


BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384, Fax: (82) 3214-1384
Email: cpqgb@qui.ufal.br

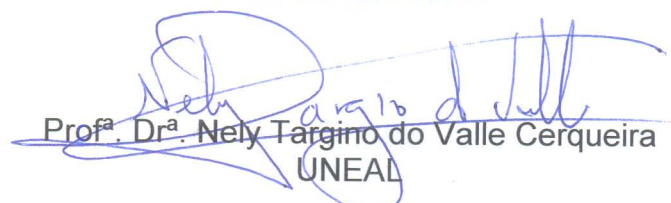
Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Givanildo Santos da Silva**, intitulada: **"Estudo Cristaloquímico de Dois Derivados N-Acildrazônicos Utilizando a Difração de Raios X"**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 31 de agosto de 2009, às 14h, na Sala de Reuniões do IQB/UFAL.

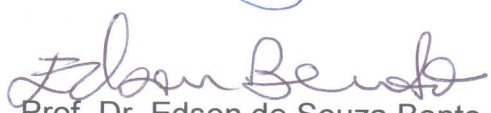
COMISSÃO JULGADORA


Prof. Dr. Mariano Alves Pereira
Orientador – PPGQB/IQB/UFAL


Prof.ª Dr.ª Lídia Moreira Lima
Faculdade de Farmácia/UFRJ


Prof.ª Dr.ª Valéria Rodrigues dos Santos Malta
PPGQB/IQB/UFAL


Prof.ª Dr.ª Nely Targino do Valle Cerqueira
UNEAL


Prof. Dr. Edson de Souza Bento
PPGQB/IQB/UFAL

**A DEUS, FORÇA MAIOR EM
NÓS. DEDICO.**

Aos meus pais e minha irmã , que
sempre estão ao meu lado
lutando e estimulando meus
sonhos e apoiando em todos os
momentos como se fossem os
deles.

Dedico

Ao professor Mariano Alves Pereira pela orientação, confiança, amizade e pela grande contribuição em minha formação profissional. Agradeço pelas inúmeras lições de vida e pela sinceridade.

AGRADECIMENTOS

Aos professores do LaboCriMM, Prof. Mariano Alves Pereira, Prof^a. Valéria Rodrigues Santos Malta e ao Prof. Carlos Alberto de Simone por todo incentivo e amizade.

Aos Professores da Universidade Federal de Alagoas, que fizeram parte da minha formação acadêmica e, agradecimento especial, aos professores do Instituto de Química e Biotecnologia.

Ao Prof. Eliezer J. Barreiro, a Prof^a. Lúcia Moreira Lima e ao Dr. Arthur Eugen Kummerle pelo envio das amostras estudadas, pela colaboração, pela dedicação à ciência e, em especial, à pesquisa de fármacos.

A todos os amigos e colegas do Instituto de Química e Biotecnologia e, de uma maneira particular, aos pertencentes ao Laboratório de Cristalografia e Modelagem Molecular (LaboCriMM)/UFAL.

Um agradecimento especial aos amigos que a vida nos apresenta e que acreditaram que podemos atingir metas e enfrentar dificuldades sem perdermos a alegria: Raquel Meneses, Gilvan Epifânio, Tatiane Balliano, Rodolfo Couto, Nelilma Romeiro e Mariane Duarte.

Enfim, a todos que a memória falhou e conviveram comigo durante a graduação e pós-graduação, sendo ou não aluno deste curso e que direta ou indiretamente colaboraram com este projeto, obrigado

Este trabalho contou com o apoio das seguintes instituições:

UFAL

CNPq

CAPES

INCT-INO FAR

D'Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	viii

Capítulo 1 – Introdução

1.1 - Introdução.....	02
1.2 - O uso de novos fármacos.....	04
1.3 - Importância do conhecimento estrutural.....	05
1.4 - Justificativa da realização deste trabalho e da técnica utilizada.....	07
1.4.1 - As amostras.....	07
1.4.2 - A técnica.....	09
Objetivos.....	11

Capítulo 2 – Fundamentação Teórica e Metodologia

2.1 - Fundamentação Teórica.....	13
2.2 - Raios X.....	13
2.3 - Cristal.....	17
2.4 - Conceito de periodicidade	18
2.5- Cella unitária, simetria e retículo de Bravais.....	21
2.6- Difração dos raios X por um cristal.....	24
2.7- Equação de Bragg.....	25
2.8 - As equações de Laue.....	27
2.9 - Fator de espalhamento atômico.....	28
2.10- Espalhamento por um conjunto de átomos.....	31
2.11- Densidade eletrônica.....	34

2.12-	Problema da fase.....	36
-------	-----------------------	----

Capítulo 3 – Materiais e Métodos

3.1 -	Origem das amostras em estudo.....	39
3.2 -	Obtenção dos compostos LASSBio-123 e LASSBio-1004.....	40
3.3 -	Coleta de dados.....	42
3.4-	Redução de dados.....	45
3.5-	Escala absoluta e fatores de temperatura.....	47
3.6-	Seqüência usada na resolução estrutural da LASSBio-123.....	49

Capítulo 4 – Resultados e Discussão

4.1 -	Determinação das estruturas cristalinas e moleculares dos compostos LASSBio-123 e LASSBio-1004.....	54
4.2 -	Discussões dos resultados.....	77

Considerações Finais.....	95
----------------------------------	-----------

Referências Bibliográficas.....	97
--	-----------

Lista de Figuras

Figura 01 -	Estruturas Bidimensionais dos AINES a) Celecoxibe e b) Rofecoxibe.....	03
Figura 02 -	Espectro Eletromagnético.....	15
Figura 03 -	Tubo de raios X.....	16
Figura 04 -	O espectro de raios X com radiação contínua e característica..	16
Figura 05 -	Aspecto interno de um cristal de cloreto de sódio.....	18
Figura 06 -	Diagrama de Laue ou lauegrama.....	20
Figura 07 -	(a) Retículo cristalino (b) cela unitária	22
Figura 08 -	Os quatorze retículos de Bravais.....	24
Figura 09 -	(a) Interferência construtiva (b) Interferência destrutiva.....	25
Figura 10 -	Espalhamento de raios X por planos cristalinos.....	26
Figura 11 -	Cones de difração.....	27
Figura 12 -	Cones de Laue nas três direções.....	29
Figura 13 -	Modelo atômico simplificado e raios espalhados por um átomo..	30
Figura 14 -	Curvas típicas de fatores de espalhamento atômico.....	32
Figura 15 -	Resultante de N ondas.....	33
Figura 16 -	Planejamento estrutural da LASSBio-294.....	40
Figura 17 -	Difratômetro automático KappaCCD	43
Figura 18 -	Goniômetro de geometria Kappa com detector tipo CCD.....	43
Figura 19 -	Esquema de um Detector do Tipo CCD.....	44
Figura 20 -	Representação do CCD.....	45
Figura 21 -	Metodologia usada na resolução estrutural.....	52
Figura 22 -	Grupo espacial do composto em estudo (International Table, 1952).....	57
Figura 23 -	Estrutura bidimensional e representação ORTEP da LASSBio 123 com os respectivos átomos identificados.....	58
Figura 24 -	Estrutura bidimensional e representação ORTEP da LASSBio-1004 com os respectivos átomos identificados.....	68
Figura 25 -	Fragmentos: (a) LASSBio-123 e (b) LASSBio-1004.....	78
Figura 26 -	Histograma comparando o comprimento de ligação C=O em compostos similares.....	79

Figura 27-	Histograma comparando o comprimento de ligação N1 – N2 em compostos similares.....	80
Figura 28-	Histograma comparando o comprimento de ligação N1 – N2 em compostos similares.....	81
Figura 29 -	Histograma comparando o comprimento de ligação C=N em compostos similares.....	82
Figura 30 -	Anel metileno diox.....	83
Figura 31-	Histograma comparando o comprimento de ligação C-O em compostos similares para a LASSBio-123.....	84
Figura 32 -	Histograma comparando o comprimento de ligação C-O em compostos similares para a LASSBio-123.....	85
Figura 33-	Histograma comparando o comprimento de ligação C-O em compostos similares para a LASSBio-1004.....	86
Figura 34-	Histograma comparando o comprimento de ligação C-O em compostos similares para a LASSBio-1004.....	87
Figura 35 -	Fragmentos: (a) LASSBio-123 e (b) LASSBio-1004.....	89
Figura 36 -	Representação da LASSBio-123 evidenciando regiões planas da molécula.....	90
Figura 37 -	Representação da LASSBio-1004 evidenciando regiões planas da molécula.....	91
Figura 38 -	Empacotamento cristalino da estrutura LASSBio-123 mostrando as ligações de hidrogênio intermoleculares.....	93
Figura 39 -	Empacotamento cristalino da estrutura LASSBio-1004 mostrando as interações secundárias	94

LISTA DE SIGLAS

AINES	Antiinflamatórios não-estereóidais
CCD	Dispositivo de Carga Completa
D_c	Densidade calculada
F_c	Fator de estrutura calculado
F_{hkl}	Fator de espalhamento pelos átomos da cela unitária
F_o	Fator de estrutura observado
I_{hkl}	Intensidade dos feixes de raios X difratados numa dada direção hkl
K_α	Vacância ocorrida no nível K do átomo e elétron decaído da camada L
K_β	Vacância ocorrida no nível K do átomo e elétron decaído da camada M
NAH	<i>N</i> -acilidrazona
OMS	Organização Mundial de Saúde
PDE	Fosfodiesterase
R_{final}	Índice de discordância
S	Índice de verificação da adequação do sistema de pesos utilizado no refinamento
Z	Número de moléculas por cela unitária
$\mu(MoK_\alpha)$	Densidade característica da radiação utilizada
λ_{swl}	Comprimento de onda mínimo

Lista de Tabelas

Tabela 01 -	Os sete sistemas cristalinos com os respectivos parâmetros cristalográficos.	22
Tabela 02 -	Principais dados cristalográficos para a LASSBio-123.	56
Tabela 03 -	Coordenadas de posições atômicas fracionárias ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) para átomos não hidrogênios da LASSBio-123, com os respectivos desvios padrão entre parênteses	59
Tabela 04 -	Coordenadas das posições atômicas fracionárias ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) para átomos de hidrogênio da LASSBio-123, com os respectivos desvios padrão entre parênteses	60
Tabela 05 -	Parâmetros de vibração térmica anisotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) dos átomos, sem os hidrogênios, da estrutura LASSBio-123 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.	61
Tabela 06 -	Distâncias interatômicas ($\text{\AA}$) para a LASSBio-123 com os respectivos desvios padrão entre parênteses	62
Tabela 07 -	Ângulos de ligação ($^\circ$) para a LASSBio-123 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.	63
Tabela 08 -	Ângulos de torção ($^\circ$) para a LASSBio-123 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.	65
Tabela 09 -	Principais dados cristalográficos para a LASSBio-1004	67
Tabela 10 -	Coordenadas de posições atômicas fracionárias ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) para átomos não hidrogênios da LASSBio-1004, com os respectivos desvios padrão entre parênteses.	69
Tabela 11 -	Coordenadas das posições atômicas fracionárias ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) para átomos de hidrogênio da LASSBio-1004, com os respectivos desvios padrão entre parênteses.	70

Tabela 12 -	Parâmetros de vibração térmica anisotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) dos átomos, sem os hidrogênios, da estrutura LASSBio-1004 com os respectivos desvios padrão entre parênteses	71
Tabela 13 -	Distâncias interatômicas ($\text{\AA}$) para a LASSBio-1004 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.	72
Tabela 14 -	Ângulos de ligação ($^\circ$) para a LASSBio-1004 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.	73
Tabela 15 -	Ângulos de torção ($^\circ$) para a LASSBio-1004 com os respectivos desvios padrão entre parênteses	75
Tabela 16 -	Distâncias ($\text{\AA}$) e ângulos ($^\circ$) de interações secundárias intra e intermoleculares com respectivos desvios padrão para a LASSBio-123.	92
Tabela 17 -	Distâncias ($\text{\AA}$) e ângulos ($^\circ$) das interações (hidrogênio e secundárias) intermoleculares com respectivos desvios padrão para a LASSBio-1004.	94

Resumo

Este trabalho apresenta um estudo cristalográfico de dois derivados *N*-acilidrozônicos, aqui denominados de LASSBio 123 e LASSBio 1004, e está dividido em quatro capítulos. No capítulo I foi feita uma breve revisão sobre a descoberta de algumas substâncias bioativas enfatizando a importância do estudo desses compostos. O capítulo II traz os principais conceitos que fundamentam a difração de raios X. No capítulo III são apresentados os materiais e métodos utilizados e no capítulo IV os resultados e discussões dos experimentos para os compostos supracitados. A LASSBio 123 cristaliza no sistema monoclinico $P2_1/c$, com os seguintes parâmetros: $a = 11,4013(3) \text{ \AA}$, $b = 12,6430(4) \text{ \AA}$ e $c = 9,0461(2) \text{ \AA}$; $\beta = 91,563(2)^\circ$, $Z = 4$ e $D_c = 1,367 \text{ g/cm}^3$. Foram coletadas 2976 reflexões únicas com o uso do difratômetro automático kappaCCD, radiação monocromatizada por um cristal de grafite e após a aplicação do critério de aceitação $F > 4 \sigma(F)$ foram consideradas 2216 reflexões observadas. O R final obtido considerando-se todas as reflexões foi de 0,0679 e de 0,0472 considerando-se apenas as reflexões observadas. A LASSBio 1004 cristaliza no sistema monoclinico $P2_1/c$, com parâmetros: $a = 14,9404(7) \text{ \AA}$, $b = 12,4699(6) \text{ \AA}$ e $c = 7,4705(2) \text{ \AA}$; $\beta = 92,590(3)^\circ$, $Z = 4$ e $D_c = 1,349 \text{ g/cm}^3$. Foram coletadas 3158 reflexões únicas com o uso do difratômetro automático kappaCCD, radiação monocromatizada por um cristal de grafite e após a aplicação do critério de aceitação $F > 4 \sigma(F)$ foram consideradas 2224 reflexões observadas. O R final obtido considerando-se todas as reflexões foi de 0,0786 e de 0,0517 considerando-se apenas as reflexões observadas.

Palavras-chave: *N*-acilidrazona, cristal, raios X, difração.

Abstract

This work report a study on two derivated *N*-acilhidrazonics compound, called LASSBio123 and LASSBio1004. The report is divided in four chapters. Chapter I presents a short revision around the discoveries of any bioactive compounds, stress the importance to study these compounds. Chapter II brings the principals concepts that foud the X ray diffraction. Chapter III present the materials and methods used and in chapter IV, a discussion of the results of the crystallographic structure determination is presented. The LASSBio 123 crystalizes in the monoclinic system, space group $P2_1/c$, with cell dimensions $a = 11.4013(3) \text{ \AA}$, $b = 12.6430(4) \text{ \AA}$ e $c = 9.0461(2) \text{ \AA}$; $\beta = 91.563(2)^\circ$, $Z = 4$ e $D_c = 1.367 \text{ g/cm}^3$. The intensities of the reflections were collected on kappaCCD automatic diffractometer equipped with a graphite monochromator and using $\text{MoK}\alpha$ radiation. From the 2976 unique reflections measure, 2216 reflections with $F > 4\sigma(F)$ were considered observed. The final disagreement factor R was 0.0472 for the reflections considered observed and 0.0679 for all the reflections. The LASSBio 1004 crystalizes in the monoclinic system, space group $P12_1/c$, with cell dimensions $a = 14.9404(7) \text{ \AA}$, $b = 12.4699(6) \text{ \AA}$ e $c = 7.4705(2) \text{ \AA}$; $\beta = 92.590(3)^\circ$, $Z = 4$ e $D_c = 1.349 \text{ g/cm}^3$. The intensities of the reflexions were collected on kappaCCD automatic diffractomer equipped with a graphite monochromator and using $\text{MoK}\alpha$ radiation. From the 3158 unique reflexions measure, 2224reflections with $F > 4\sigma(F)$ were considered observed. The final disagreement factor R was 0.0517 for the reflections considered observed and 0,0786 for all the reflexions.

Key words: *N*-acilhidrazonics, crystal, X-ray, diffraction.

Capítulo 1

1.1 – INTRODUÇÃO

O estudo científico da estrutura química dos constituintes das plantas medicinais abriu novos horizontes à quimioterapia. Os compostos naturais extraídos dessas plantas e seus derivados sintéticos constituem novas armas na luta contra as doenças. Dessa forma, podemos chegar a novos compostos que irão enriquecer o catálogo atual de medicamentos ou, no mínimo fornecer bases para novas pesquisas químicas e farmacêuticas (MACIEL et al, 2002).

A descoberta de novos fármacos envolve um bom planejamento de desenvolvimento bastante lento e com etapas distintas, sendo uma delas o uso de informações estruturais tanto do alvo terapêutico quanto da molécula que possui afinidade pelo receptor. A química medicinal procura entender a ação dos fármacos baseada em justificativas a nível molecular (BARREIRO, 2002).

A indústria farmacêutica se desenvolveu muito nos últimos trinta anos, devido aos avanços obtidos nas ciências bioquímicas, biomédicas, biologia molecular e química medicinal, uma revolução metodológica onde se busca inicialmente identificar os alvos moleculares terapêuticos e subsequente desenvolver moléculas específicas que ajam sobre o alvo pretendido. A esta metodologia dá-se o nome de “planejamento racional de fármacos”, que se dirige a alvos específicos, pressupondo inicialmente a seleção do alvo, purificação, elucidação da estrutura do sítio receptor macromolecular e a partir deste, a utilização de programas computacionais para desenhar e planejar moléculas com estruturas que se ajustem ao sítio ativo. As próximas etapas dos trabalhos compreendem a síntese dos compostos e posterior avaliação de efeitos benéficos e colaterais dos mesmos. (ATKINS e JONES, 2001).

Como exemplos de sucessos recentes no planejamento racional de fármacos podemos citar os antiinflamatórios não estereóidais (AINES), inibidores específicos da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) Rofecoxib (Vioxx ®) e Celecoxib (Celebra ®) (Figura1), comercializados pela Merck & Co. e pela Pfizer, respectivamente. As substâncias mencionadas encontram-se, na lista dos 'top 20', que comandou vendas de 4 bilhões de dólares no ano 2000 só nos Estados Unidos (FLOWER, 2003).

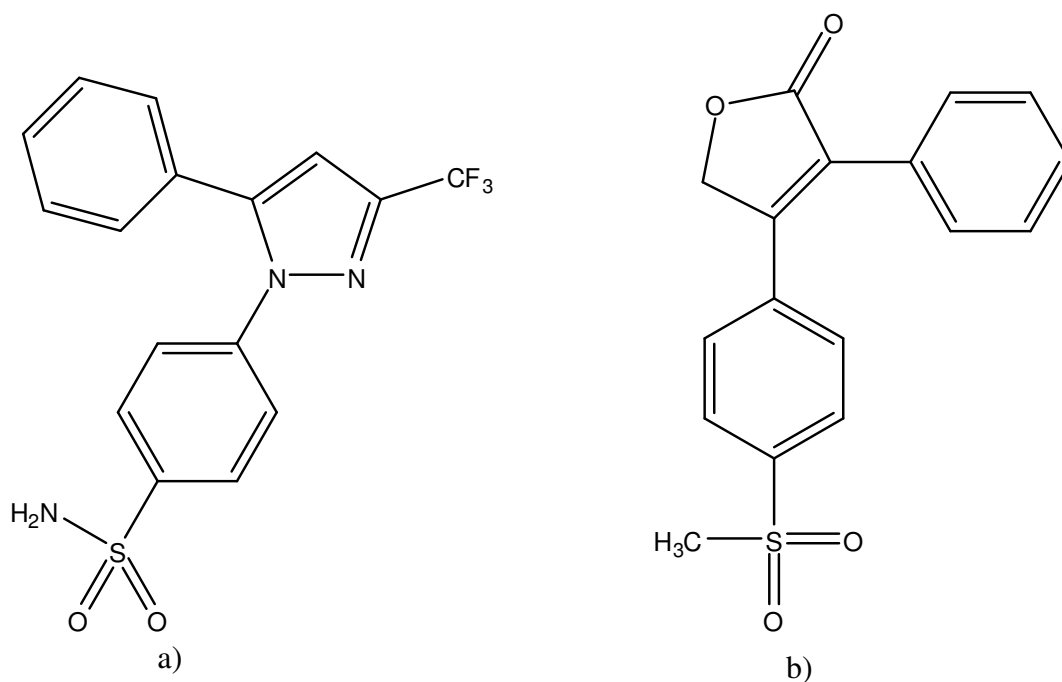


Figura 1 – Estruturas Bidimensionais dos AINES a) Celecoxibe e b) Rofecoxibe. (FLOWER, 2003).

Vários grupos de pesquisa e empresas farmacêuticas estão buscando métodos teóricos que possibilitem criar modelos de interação ligante-receptor, visando o processo de otimização de substâncias candidatas a possíveis fármacos. Os modelos teóricos estabelecidos através destes métodos são de fundamental importância, principalmente nos casos em que haja grande dificuldade na obtenção do produto anteriormente mencionado. Em tais situações, a modelagem molecular, através de estudos quânticos e dados obtidos da quimiometria, desempenham um papel de grande importância no estudo da interação fármaco-receptor. Uma outra ferramenta bastante poderosa para tal finalidade é denominada de ancoramento molecular (*docking*) que faz uso de modelos baseados em mecânica molecular para prever possíveis modelos de interação entre o ligante e seu receptor (CARVALHO *et al*, 2003).

Hipoteticamente, um projeto de um novo fármaco que tem como expectativa levar esse produto novo ao mercado num espaço de tempo de 12 a 15 anos, tem a perspectiva realista de custar em torno de 500 milhões de dólares. Estes recursos vultosos têm sido aplicados em novas tecnologias, com destaque para as ciências

genômicas, biologia estrutural, química combinatória, ensaios de larga escala e química medicinal (DIMASI et al, 2003).

Durante todo o processo de “construção” de um fármaco, várias etapas são necessárias e a caracterização de um composto candidato constitui uma etapa bastante relevante nesta “engenharia”. No processo de caracterização estrutural dos compostos, uma das técnicas utilizadas é a difração de raios X. Trata-se de um método físico que fornece um modelo estrutural sem ambigüidade e também um conjunto de dados estruturais de cuja análise o comportamento de um fármaco pode ser evidenciado. A cristalografia de raios X, a modelagem molecular juntamente com o *docking* e o trabalho com o co-cristal, são de grande importância para o estabelecimento da metodologia visando a obtenção de novos fármacos.

1.2 – USO DE NOVOS FÁRMACOS

A importância dos produtos naturais na terapêutica é reconhecida desde a antiguidade. O conhecimento de plantas alucinógenas pelos ameríndios que as empregavam em seus rituais, bem como das propriedades afrodisíacas de diversas porções preparadas a partir de distintas espécies vegetais, acompanha o homem há muitos milênios (BARREIRO e FRAGA, 2001).

Entretanto, foi com a publicação das primeiras farmacopéias no século XVI e com o enriquecimento do arsenal terapêutico com a descoberta de novos fármacos de origem vegetal e mineral no século seguinte, que a Química teve progresso considerável, onde, produtos isolados, ou seja, puros, passaram a ter preferência aos extratos brutos. A descoberta de Paul Ehrlich (1845-1915) de que certos compostos químicos possuíam toxicidade seletiva contra determinados agente infecciosos, impulsionou fortemente o desenvolvimento da Química Medicinal. A teoria da chave-fechadura, proposta por Emil Fischer, apresentava explicações racionais sobre o mecanismo de ação dos fármacos (WERMUTH, 2003).

Por outro lado, a conformação molecular também se constitui em um dos fatores mais importantes a ser examinado quando se considera atividade farmacológica. Nos últimos 30 anos numerosos estudos, teóricos e práticos, têm sido desenvolvidos com relação à conformação molecular, incluindo notadamente

cálculos cristalográficos e mecânicos-quânticos. Desta forma, uma “descrição” químico-biológica de um fármaco deverá conter os parâmetros que regem as interações fármaco-receptor. Quando se lembra que geralmente os compostos de um fármaco específico devem atingir sítios altamente selecionados de determinados tecidos a fim de fornecer a resposta biológica esperada e que os sistemas receptores são, por sua vez, altamente complexos (por exemplo, uma enzima apresenta massa molecular da ordem de 60.000-100.000 daltons, ou mais), verifica-se a complexidade do problema.

O processo de produção de um novo fármaco é feito através de vários modos e envolvendo diversas etapas. Resumidamente, uma maneira de obtenção de tal substância parte da escolha de um alvo macromolecular, validação deste alvo, do ensaio bioquímico/farmacológico, identificação de um composto-protótipo, modificação/otimização de tal composto e realização de ensaios clínicos. O tempo para a realização de tais etapas está em torno de 15 anos, sendo, em média, um terço deste tempo relacionado com a identificação e otimização do composto-protótipo (DIAS e CORREIA, 2001).

Os pesquisadores envolvidos com tal processo trabalham buscando diminuir o tempo relacionado com o desenvolvimento e otimização do composto-protótipo. Em tal estudo, além dos dados especificamente estruturais, a presença de determinados grupos funcionais são constantemente avaliadas. Dependendo da ação pretendida – inibição enzimática ou agonismo/antagonismo do receptor – diversas estratégias são elaboradas visando desenhar possíveis candidatos a fármacos. Em tais estratégias, o conhecimento da topografia, tanto do ligante como do receptor é de fundamental importância (BARREIRO, 2002).

1.3 – A IMPORTÂNCIA DO CONHECIMENTO ESTRUTURAL

Informações estruturais são dados indispensáveis para perfeita caracterização de determinado composto. Tais dados podem ajudar a entender não somente o mecanismo de reação como também a estabilidade de uma espécie

química cujas propriedades podem ser derivadas ou estar estritamente relacionadas com o arranjo espacial da mesma.

São inúmeros os trabalhos na literatura destacando a estrutura, ou dados derivados da mesma (adsorção, solubilidade, pKa, potencial de redução, reatividade química, forma, tamanho e disposição dos grupos funcionais, efeitos de ressonância, efeitos indutivos, distribuição eletrônica, distância entre átomos ou grupos, planaridade, ligações possíveis com receptor, entre outros) e seu estudo como fatores estruturais possivelmente responsáveis pela ação farmacológica.

Na Química Medicinal, o conhecimento estrutural é de suma importância uma vez que o mecanismo fundamental de ação de uma determinada substância sobre um ser vivo, consiste, geralmente, em uma interação desta com o sistema biológico a nível molecular. Dessa forma, é no “íntimo” das moléculas que se procura encontrar os “porquês” e os “como” da interação entre as substâncias químicas usadas como medicamentos e os efeitos biológicos que eles produzem (KOROLKOVAS e BURCKHANTER, 1982).

São os fatores estereoeletrônicos, determinados pela distribuição eletrônica e espacial dos átomos, tanto do fármaco como do receptor, que possibilitam a formação de um complexo entre eles resultando daí a ação medicamentosa. A substituição de um grupo atômico funcional volumoso por um grupo menor, a “re-disposição” no espaço dos grupos constituintes de uma molécula e a alteração de um dipolo no interior da molécula, podem modificar profundamente a estabilidade do complexo fármaco-receptor.

Na interação fármaco-receptor e nos resultados vindos dessa interação, são de especial importância duas grandezas: a distribuição de carga eletrônica no fármaco e no receptor e a conformação de ambos (ARIËNS, 1964). Decorre daí que a atividade dos fármacos depende, dentre outros, de três fatores estruturais:

- a) Estereoquímica da molécula;
- b) Distância entre átomos e/ou grupos;
- c) Distribuição e configuração eletrônica.

Dessa forma, o conhecimento preciso e acurado das estruturas moleculares é de fundamental importância num estudo químico-medicinal, e torna-se essencial determinar não somente a conformação molecular, mas também a distribuição eletrônica sobre os átomos, nos compostos reconhecidos como ativos, objetivando através da compreensão de suas propriedades físico-químicas, desenhar novos compostos similares que tenham atividades melhores, ou iguais às já conhecidas para o protótipo original e que apresentem menores efeitos colaterais.

Estrutura e atividade de um determinado composto são intimamente relacionadas e desempenham um papel importante dentro dos preceitos da química medicinal. Além do mais, em várias áreas de interesse científico, desde a investigação biomolecular até o esboço de supercondutores, o avanço do conhecimento passa através do entendimento não apenas da composição e reações envolvidas nos processos em estudo como também pelo conhecimento do arranjo dos átomos no espaço (determinação estrutural).

1.4 – JUSTIFICATIVAS DA REALIZAÇÃO DO TRABALHO E DA TÉCNICA UTILIZADA

1.4.1 – As amostras

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo, segundo um relatório divulgado pela OMS (Organização Mundial da Saúde). Essas doenças representam cerca de 32% de todas as mortes de mulheres e 27% das mortes de homens, de acordo com dados de 2004. Em seguida estão as doenças infecciosas e parasitárias e os diferentes tipos de câncer. A explicação para a liderança das doenças cardiovasculares é paradoxal e está associada a melhora na expectativa de vida. A população vive mais, sendo que os mais velhos têm mais risco de ter problemas cardiovasculares. Outras razões são a obesidade, hipertensão e sedentarismo. Observa-se um incremento no índice de obesidade bem como as taxas de gordura no sangue. O importante é que ao menos 80% das mortes

prematuras por essas doenças podem ser evitadas com dieta, exercício físico e evitando o fumo. A doença cardíaca, em muitos casos, é silenciosa (WHO, 2008).

Um alerta aos hipertensos e potenciais vítimas de distúrbios cardiovasculares: controlar a pressão arterial, especialmente no período da manhã, é mais que necessário; pode ser determinante para a sobrevivência. É o que sinalizam os mais recentes estudos científicos em todo o mundo, que chegaram a conclusão de que o pico de incidência de eventos cardiovasculares está associado à elevação da pressão arterial que ocorre ao despertar e ao iniciar as atividades do dia. Cerca de 85% das vítimas de acidente vasculares cerebrais sofrem de pressão alta; entre as vítimas de infarto do miocárdio, 40% a 60% têm hipertensão associada. Outros distúrbios mais freqüentes relacionados a pacientes hipertensos são a isquemia miocárdica e a morte súbita de origem cardiovascular, que tem vitimado um número cada vez maior de pessoas com perfis diversos – inclusive jovens e atletas (VINHAL, 2008).

No passado, o que mais matava os brasileiros eram as doenças infecciosas e parasitárias, tais como as diarreias, tuberculose, malária, entre outras. No entanto, o perfil de mortalidade da população brasileira mudou nas últimas décadas, acompanhando a tendência mundial de mortes por doenças crônicas, principalmente as de origem cardiovascular. Alimentação inadequada, consumo excessivo de álcool, tabagismo e a vida sedentária, achados característicos da vida moderna, contribuíram em muito para que as doenças cardiovasculares passassem a liderar as causas de morte em nosso país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Os dados do relatório Saúde Brasil 2006 mostram que as doenças do aparelho circulatório são as que mais matam homens e mulheres. Ao todo, 283.927 pessoas perderam a vida por problemas do aparelho circulatório em 2005, ano-base do relatório, o equivalente a 32,2% do total de mortes neste ano, representando mais de 1 milhão de pessoas. O Sudeste lidera em número de mortes associadas às doenças cardiovasculares, com 33% dos óbitos. O Norte tem o menor percentual, com 25%. A hipertensão arterial descontrolada, fator de risco muito prevalente entre os adultos de nosso país, é a grande responsável pela liderança do derrame cerebral como a principal causa de morte no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio® [tem esse R?]) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), sob a direção do professor titular Eliezer J. Barreiro, vem desenvolvendo estudos que visam o planejamento, a síntese e a determinação das propriedades farmacológicas de compostos com potencialidades de tornarem futuros fármacos. Já foram obtidas substâncias com comprovadas propriedades antiflogísticas, antitrombóticas e analgésicas (BARREIRO, 2002). E mais recentemente compostos cardioativos (KUMMERLE et al, 2009).

Os compostos estudados, sob o ponto de vista cristaloquímico, neste trabalho foram sintetizados pelo grupo do professor Eliezer tendo como matéria-prima o safrol, que é o principal componente químico do óleo Sassafrás. Os bioensaios farmacológicos a que foram submetidas tais substâncias apontam para as mesmas atuarem como possíveis agentes vasodilatadores que as credenciam como autênticos compostos-protótipos de novo fármaco cardiotônico para tratamento de insuficiência cardíaca e/ou muscular, com efeitos colaterais mínimos (KUMMERLE et al, 2009).

1.4.2 – A técnica

Como visto anteriormente, os dados estruturais são de grande importância para a posterior compreensão do mecanismo da ação de um determinado fármaco. Métodos químicos e físicos são utilizados para a determinação estrutural de um determinado composto. Dentre os métodos físicos, o método espectrométrico (massa) e os métodos espectroscópicos (infravermelho, ultravioleta, ressonância magnética nuclear...) são amplamente utilizados visando a caracterização estrutural do composto em estudo. No entanto, em alguns casos, o conjunto de dados oriundo de tal método pode levar à construção de mais de um modelo estrutural (isomeria geométrica, por exemplo). Os métodos espectroscópicos são capazes de fornecer informações sobre detalhes locais específicos de uma estrutura sem, no entanto, gerar um conjunto importante de dados estruturais, possivelmente responsável pela atividade farmacológica. No tocante aos compostos inorgânicos, cabe salientar que

tais métodos não são suficientes para fazer, por exemplo, uma previsão a cerca da coordenação precisa de íons ligantes.

Quando se defronta com uma das situações mencionadas, isto é, dados espectrométricos e espectroscópicos gerando mais de um modelo estrutural, caracterizar a simetria de diferentes tipos e números de ligantes em torno de um íon central, a estereoquímica do arranjo atômico, comprimentos e ângulos interatômicos e empacotamento da substância, ângulo de ligação, planaridade, comprimento de cadeias, conformação... utiliza-se de outro método físico baseado na difração de raios X (método cristalográfico). Na realidade, a cristalografia de raios X é uma técnica física muito poderosa que fornece de maneira precisa, utilizando uma amostra de tamanho mínimo e de forma não destrutiva, um grande número de informações, desde a estrutura primária, até a presença de interações não-ligadas, vibrações térmicas e, em casos especiais, a configuração das moléculas opticamente ativas.

Objetivos

Geral:

Determinar as estruturas cristalinas e moleculares de compostos que apresentam problemas de interpretação nas análises espectroscópicas ou elementares; realizar estudo cristalográfico de substâncias orgânicas - naturais ou sintéticas - que apresentam comprovada ou potencialmente características de atividade farmacológica.

Específicos:

Determinar as estruturas cristalinas e moleculares de dois compostos derivados *N*- acilidrazônicos através da difração de raios X.

Analisar quimicamente os dados estruturais, tais como: distâncias interatômicas, ângulos de ligação e conformação molecular.

Estudar o empacotamento cristalino visando a verificação de possíveis interações intermoleculares (ligação de hidrogênio, interações de transferência de carga, etc).

Capítulo 2

2.1 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O planejamento de um protótipo e sua determinação estrutural constituem-se em componentes fundamentais para a descoberta de novos fármacos. Existem diferentes técnicas para se efetuar a determinação estrutural dos compostos de interesse. Neste capítulo será apresentada uma breve revisão sobre os fundamentos teóricos de uma destas técnicas, a qual foi utilizada neste trabalho, que é a difração de raios X e sua aplicação na determinação de estruturas moleculares e cristalinas.

Deve ser salientado que os conceitos estão descritos de forma bastante resumida e poderão ser obtidos com mais detalhes nas respectivas referências citadas em cada tópico.

2.2 – RAIOS X

Em 1895, o físico alemão Wilhelm Conrad Röntgen desenvolvia experimentos utilizando um tubo de raios catódicos totalmente envolvidos por um papelão preto. Encontrava-se nas proximidades um pedaço de papel coberto por uma película de um composto (platinocianeto de bário) que emitia luz quando atingido pelos raios catódicos. Trabalhando num recinto fechado, Röntgen observou que o papel fosforescia. Posteriormente, ele observou que chapas fotográficas em caixas fechadas tinham inexplicavelmente sido veladas (expostas). Ele concluiu que alguma radiação desconhecida havia atravessado o vidro do tubo dos raios catódicos, o papel do invólucro e o papelão da caixa, causando o estranho fenômeno. Esta radiação que pela sua natureza, então incógnita, Röntgen chamou de raios X (CHASSOT, 1995).

Observava-se que partes menos densas de um determinado material facilitavam a passagem de tal radiação em maior quantidade do que as partes mais densas do mesmo material. Por essa razão, os raios X podiam ser utilizados para identificar a rachadura em um osso quebrado ou posição de corpos estranhos ao organismo humano. Logo após a descoberta de Röntgen, os raios X foram utilizados na medicina, apesar de sua natureza ser totalmente desconhecida. Sabe-se, atualmente, que a ação prolongada de tal radiação provoca queimaduras ou

pode matar tecido humano. Devido a tal propriedade, tais raios são utilizados como terapia visando a morte de células cancerígenas. Um grande problema relacionado com a utilização de tal radiação reside no fato de que a mesma pode causar uma mutação genética como resultado da degradação celular (CHASSOT, 1995).

A utilização dos raios X no estudo cristalográfico deve-se ao fato destes apresentarem um caráter ondulatório e, conseqüentemente, sofrerem o fenômeno da difração quando atravessam redes ou retículos, (ME PARECE QUE RETICULO É USADO SÓ PARA REDE TRIDIMENSIONAL DO CRISTAL) cujas distâncias entre planos de elementos espalhadores sejam da mesma ordem do comprimento de onda incidente. Os retículos que se enquadram na condição anteriormente mencionada são os retículos cristalinos. Dessa forma, a difração de raios X pelos cristais é um fenômeno de fundamental importância em vários campos de pesquisas, porque pode fornecer informações sobre as posições relativas dos átomos num sólido (CULLITY, 2001).

Os resultados advindos da utilização da técnica em questão fornecem dados valiosos para a determinação da estrutura molecular tridimensional e como esta pode estar relacionada com as propriedades físicas e químicas peculiares da substância em estudo.

Sabe-se hoje que os raios X são radiações eletromagnéticas da mesma natureza que a luz visível, diferindo desta por possuírem um comprimento de onda bem menor, ou seja, 0,1 a 10 Å e, dessa forma, dotados de alta energia. Devido a esta característica são também altamente penetrantes, ou seja, apresentam a propriedade de atravessar corpos opacos, a não ser que a densidade eletrônica dos átomos constituintes da amostra em estudo seja bastante elevada. A Figura 2 mostra a posição do comprimento de onda dos raios X em relação às demais radiações constituintes do espectro eletromagnético (CULLITY, 2001).

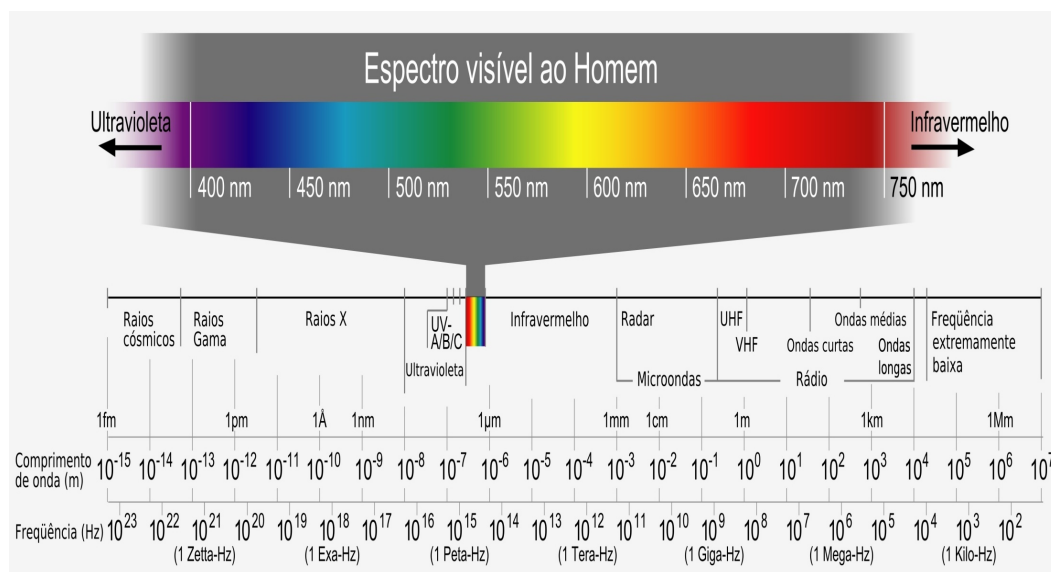


Figura 2 - Espectro Eletromagnético (πon, 2009).

O comprimento de onda dos raios X utilizados na medicina e na cristalografia está compreendido entre 0,2 a 2,3 Å. Os raios X utilizados na medicina apresentam comprimento de onda curto (radiações duras), são mais penetrantes que os utilizados na cristalografia, estes por sua vez apresentam comprimento de onda maior (radiações brandas) e são mais facilmente absorvidos (CULLITY, 2001).

Os raios X são produzidos quando elétrons provenientes de um cátodo e providos de energia cinética bastante elevada são direcionados a uma placa metálica (ânodo). A energia envolvida em tal choque é convertida, na sua maior parte (em torno de 98%), em calor. Dessa forma apenas uma pequena fração é transformada em raios X. Este processo ocorre num ambiente denominado tubos de raios X.

Um tubo de raios X é constituído por um filamento (cátodo) e por um anticátodo e apresenta o mesmo funcionamento que o tubo de raios catódicos utilizados por Röntgen. De tal filamento são oriundos os elétrons envolvidos na produção de raios X. Os primeiros tubos continham um gás a uma pressão de aproximadamente 10⁻⁴ mmHg e a ionização desse gás fornecia os elétrons já mencionados.

Os tubos de raios X atuais (figura 3) apresentam um vácuo permanente (10⁻⁶ mmHg). Os elétrons produzidos pelo filamento são acelerados na direção de

um anticátodo através uma diferença de potencial de 20 a 100Kv. A potência máxima deste tubo de raios X é em media 2,0 kw, entretanto para os trabalhos de resolução estrutural utiliza-se uma potência de 1,6 kw a 1,8 kw para evitar o desgaste do tubo (AMIGO *et al*, 1981).

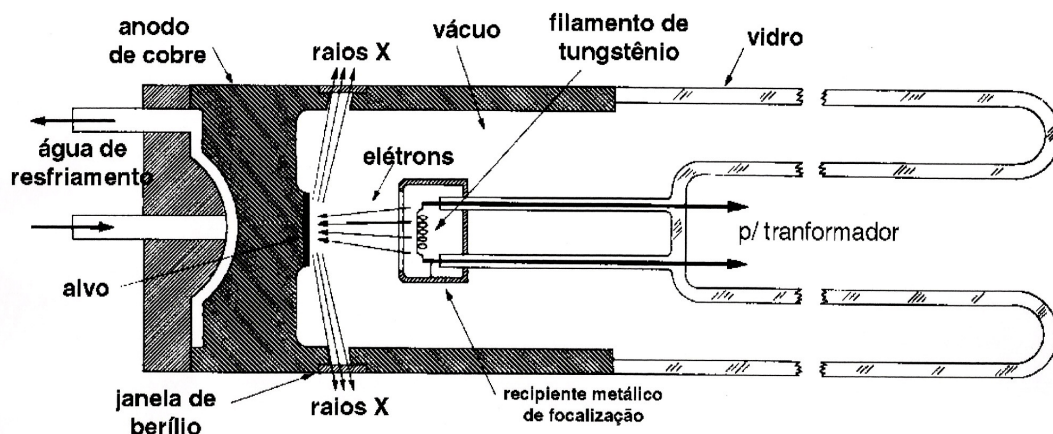


Figura 3 – Tubo de raios X (CULLITY,2001).

Ao analisar os raios X produzidos da forma mencionada, observa-se um espectro denominado contínuo e, caso a voltagem ultrapasse um determinado valor, surge, acoplado a tal espectro, uma radiação denominada característica (figura 4).

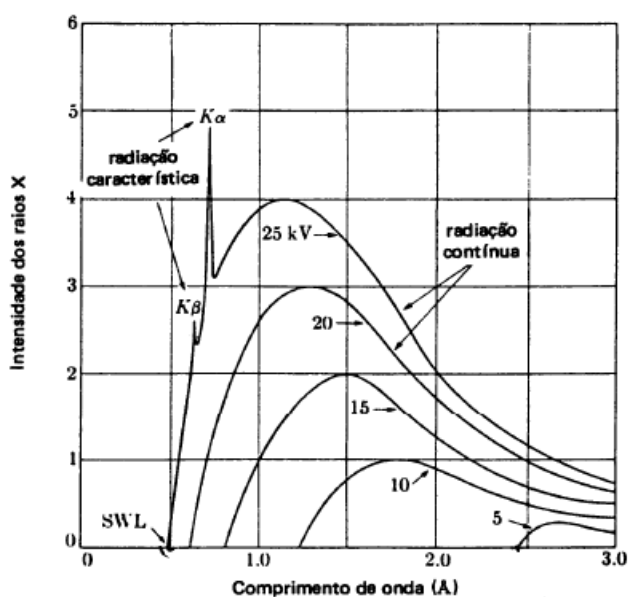


Figura 4 - O espectro dos raios X com radiação contínua e característica (CULLITY,2001).

O espectro contínuo é gerado em função da maneira como o elétron é freado. Se isto é feito em um único estágio ocorre a transferência máxima de energia, gerando raios X de comprimento mínimo (λ_{swl}). No entanto se o elétron é freado em um conjunto de etapas, em cada uma dessas etapas é transferida uma quantidade de energia gerando raios X de diferentes comprimentos de onda. Quando a voltagem é aumentada o λ_{swl} bem como o valor máximo da intensidade da onda do espectro contínuo são deslocados para o lado esquerdo da curva. Em outras palavras tal espectro é limitado à esquerda.

Enquanto o espectro contínuo está relacionado à maneira como o elétron é freado a origem do espectro característico está relacionada com os átomos constituintes do metal alvo do tubo. Quando a voltagem aplicada atinge um valor crítico, que é característico do material do anodo, ocorre um salto eletrônico seguido de um decaimento que se expressa através da emissão de raios X. Tal radiação é representada por duas letras. A primeira indica onde ocorreu a vacância e a segunda onde ocorreu o decaimento. Dessa forma a linha característica K_α indica que a vacância ocorreu no nível K do átomo e o elétron que decaiu é oriundo da camada L. No caso da radiação K_β o elétron envolvido no decaimento vem da camada M. Como a probabilidade do elétron vir da camada L é bem maior do que da camada M, então a intensidade da radiação característica K_α supera à da K_β . Nos experimentos de difração de raios X visando a determinação estrutural, utiliza-se sempre a radiação gerada pelo pico K_α (Figura 4) (CULLITY, 2001).

2.3 – CRISTAL

O termo cristal é de origem grega – *Krystallos* – e foi primeiramente utilizado em relação à substância hoje conhecida como quartzo. A palavra cristal quando se difundiu associou-se a quase tudo que era transparente.

O conceito de cristal evoluiu ao longo do tempo, saindo originalmente de uma idéia nitidamente relacionada com o aspecto de transparência, passando pela predominância da regularidade da forma externa e, finalmente, voltando-se para o aspecto regular de caráter puramente interno.

Um exemplo típico de cristal é mostrado na Figura 5, que ilustra a estrutura cúbica do cloreto de sódio. Este apresenta um arranjo interno altamente ordenado independente da morfologia, ou seja, do aspecto externo. A regularidade externa de um cristal depende das condições da vizinhança em que o cristal em crescimento se encontra.

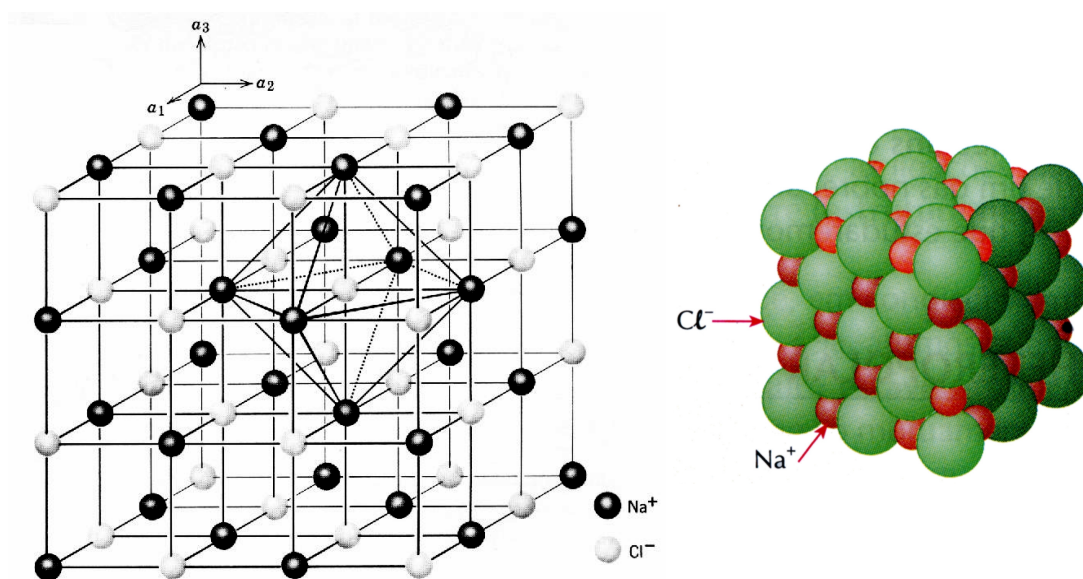


Figura 5 - Aspecto interno do cristal de cloreto de sódio (KLEIN e HURLBUT, Jr, 1985).

2.4 – CONCEITO DE PERIODICIDADE

O conceito de cristal quando foi difundido pela primeira vez, foi resultante do comportamento de um determinado sólido – o quartzo – em relação à luz visível, este termo estava associado nitidamente com a idéia de transparência. Posteriormente, com o desenvolvimento do estudo dos minerais e o incremento na especulação sobre a estrutura da matéria sólida, o interesse deslocou-se para uma outra característica notável nos minerais transparentes: sua forma geométrica externa bem definida. Essa forma era para os primeiros naturalistas a característica mais significativa e, ao mesmo tempo, mais enigmática dos cristais.

Começava-se então a pensar que este aspecto geométrico externo bem definido, só podia ser fruto da existência de uma ordem interna que os cristais deveriam apresentar. O filósofo naturalista francês Abbé Hauy, por volta de 1784,

afirmava que as características anteriormente mencionadas podiam ser entendidas se os cristais fossem constituídos por uma repetição regular de blocos pequenos e idênticos. Muito antes, em 1611, Johannes Kepler, observando a regularidade dos flocos de neve (cristais de gelo) sugeriu que tal regularidade era consequência de um arranjo ordenado, composto por pequenas unidades iguais, isto porque neste período o conceito de átomos, íons ou moléculas, ainda não estavam definidos.

Estudos posteriores com clivagem, propriedades ópticas, adicionadas às formas externas levaram os cientistas a reforçarem a idéia da ordem interna. Em outras palavras, todas as observações se direcionavam para um arranjo regular interno que os cristais deveriam apresentar. No entanto, tudo isto não passava do plano hipotético, pois a ordem interna de um cristal naquele momento não poderia ser confirmada. Esta regularidade interna dos cristais só foi comprovada em 1912 (KLEIN & HURLBUT, 1985).

Alguns pesquisadores e entre eles George Gabriel Stokes, eram defensores da idéia de que os raios X deveriam ter o caráter ondulatório devido os mesmos terem alta capacidade de penetração. Outro grupo de cientistas, e entre eles Willian Henry Bragg, atribuíam aos raios X uma natureza corpuscular pelo fato destes terem a propriedade de ionizar gases e este processo era tido como resultante do fenômeno de colisão entre partículas.

Aos defensores da natureza ondulatória dos raios X caberia realizar um experimento em que tais raios mostrassem alguma propriedade característica do comportamento ondulatório. Uma das propriedades apresentadas pelos sistemas ondulatórios consiste no fenômeno da difração, isto é, fazer a onda passar por um conjunto de pontos separados por uma distância da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da radiação incidente. A dificuldade consistia em se encontrar tal grade, ou seja, algo que tivesse um espaçamento pequeníssimo entre seus constituintes, uma vez que se esperava um comprimento de onda mínimo para os raios X (CASTELLAN, 1978).

Em 1912 ainda persistia nos cientistas a dúvida em relação à regularidade interna dos cristais. Max von Laue imaginava que se realmente os cristais fossem internamente ordenados e se os raios X apresentassem um caráter ondulatório então seria possível realizar um experimento de difração utilizando raios X como

radiação incidente e cristais como grade de difração. Laue, mentor dessa hipótese, propôs tal idéia aos físicos Walter Friedrich e Paul Knipping que aceitaram realizar o experimento. Raios X de uma determinada fonte foram colimados e incidiram sobre uma amostra cristalina. A interação da radiação com a matéria foi registrada num filme. A figura 6 esquematiza o experimento aqui descrito.

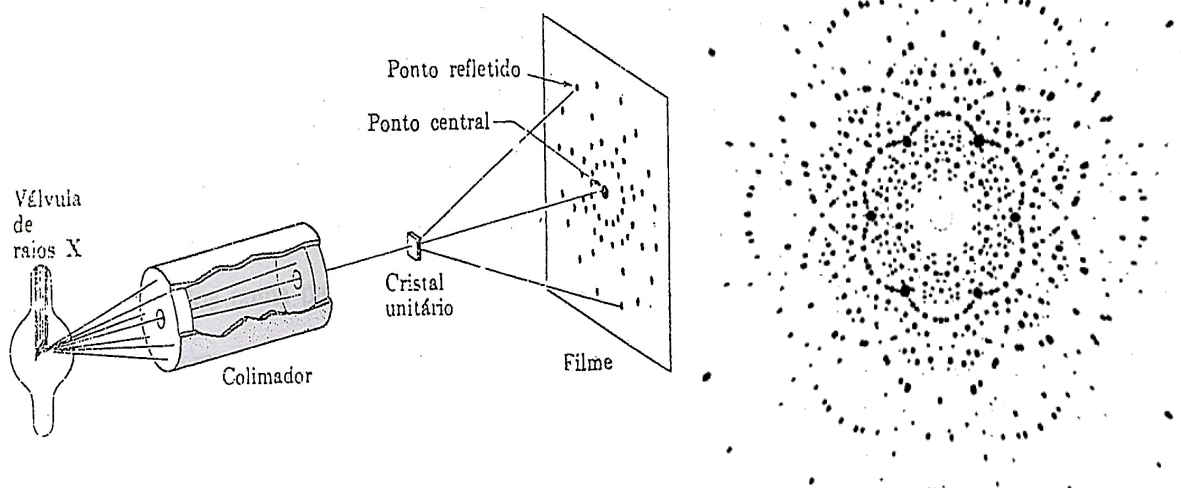


Figura 6 - Diagrama de Laue ou lauegrama (CASTELLAN, 1978)

Analizando a chapa fotográfica utilizada para registrar os raios X difratados, verificou-se um ponto central bastante enegrecido. Esse ponto era resultante do feixe de raios X que atravessou a amostra sem sofrer nenhum desvio. Observou-se, também, que o filme foi impressionado, embora de forma menos intensa, em outras direções, conforme mostrado na Figura 6. Notadamente, eles eram devidos aos raios que sofreram algum tipo de desvio ao atravessarem a amostra em estudo. A figura formada por todos os pontos registrados no filme em questão é chamada de figura de Laue ou diagrama de Laue ou, simplesmente lauegrama.

A experiência idealizada por Max von Laue constituiu um marco para o desenvolvimento da ciência como um todo e para a cristalografia de uma maneira particular. Ela resolveu duas dúvidas conflitantes para os cientistas de então. Não só resolveu a natureza ondulatória dos raios X, como também evidenciou a periodicidade interna de um cristal. Os raios X passaram a ser uma ferramenta

bastante valiosa para os pesquisadores, uma vez que podiam revelar informações relevantes a respeito da natureza íntima da matéria (CASTELLAN, 1978).

Baseado em dados experimentais verifica-se que o número de átomos constituintes de um cristal é enorme. Se pudéssemos imaginar no centro de um dos mais diminutos cristais, verificaríamos que as partículas constituintes do mesmo se estenderiam tão longe quanto pudéssemos observar em todas as direções. Cabe salientar que num cristal de cobre de dimensões em torno de 0,1 mm teria cerca de 400.000 átomos de tal elemento ao longo de uma de suas arestas. Descrever as posições de todas as espécies constituintes do cristal seria, se não impossível, um trabalho longo, árduo e, desnecessário. Uma observação mais detalhada da figura 5 mostra que as espécies constituintes do referido cristal repetem-se em todas as direções. Qualquer padrão repetitivo possui uma periodicidade, ou seja, apresenta um aspecto simétrico, e este aspecto será abordado a seguir.

2.5 - CELA UNITÁRIA, SIMETRIA E RETÍCULO DE BRAVAIS

Um cristal é caracterizado por um arranjo ordenado e periódico tridimensionalmente de seus constituintes. Um arranjo geometricamente regular de pontos no espaço é denominado de **retículo espacial**. Dessa forma, o arranjo interno dos cristais é chamado de **retículo cristalino**, que pode ser imaginado como sendo um arranjo espacial onde pontos são ocupados por átomos, íons, moléculas, ou grupos destes. Esse arranjo repete-se periodicamente em três dimensões até os limites físicos de cada cristal.

A unidade repetitiva dentro do retículo é cristalograficamente denominada **cela unitária** mostrada em vermelho na figura 7a. Ela constitui uma pequena fração do retículo que pode ser usada para gerar ou construir o retículo interno (**INTEIRO**), movendo-a de acordo com certas regras. Dessa forma, a estrutura de um cristal como um todo pode ser vista como resultante de um conjunto de celas unitárias justapostas. Assim sendo, a determinação de uma estrutura cristalina exige que se conheça esta unidade repetidora – a cela unitária - e a maneira como seus constituintes estão arranjos dentro dela.

Uma cela unitária é caracterizada por três parâmetros lineares (a , b , c) localizados ao longo das direções X, Y e Z e de três parâmetros angulares (α , β , γ), como mostra a figura 7b.

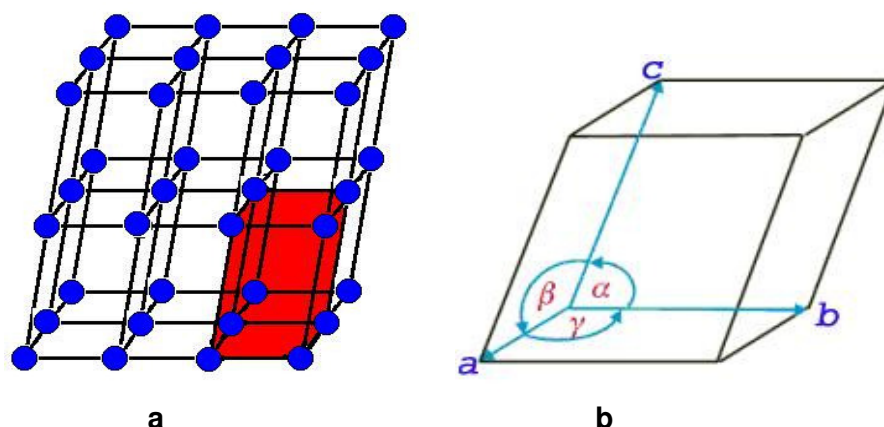


Figura 7 - a) Retículo Cristalino;

b) Cela unitária.

Variações em tais parâmetros geram diferentes tipos de celas unitárias conhecidas na literatura como sistemas cristalinos. Todas as variações possíveis dos parâmetros cristalográficos resultam em 7 sistemas cristalinos que são mostrados na tabela 1.

Tabela 1 – Os sete sistemas cristalinos com os respectivos parâmetros cristalográficos (CULLITY, 2001).

SISTEMAS	COMPRIMENTOS DAS ARESTAS	ÂNGULOS
Cúbico	$a=b=c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90$
Tetragonal	$a=b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Ortorrômico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Monoclínico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \beta = 90^\circ \neq \gamma$ 1º set $\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$ 2º set
Triclínico	$a \neq b \neq c$	$\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$
Romboédrico	$a=b=c$	$\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$
Hexagonal	$a=b \neq c$	$\alpha = \beta = 90^\circ \gamma = 120^\circ$

Além de diferirem em parâmetros lineares e angulares, as celas unitárias também diferem no seu conteúdo. Uma cela que possui apenas pontos nos vértices é denominada de primitiva ou **P**. Se além destes pontos ela contiver mais um ponto no seu centro, ela é dita cela de corpo centrado ou **I**. Se existem pontos nas faces, ela é chamada de centrada **A**, **B** ou **C** dependendo de qual par de faces opostas está centrada. No entanto, se todas as faces estão simultaneamente centradas, ela é dita cela de faces centradas ou **F**. Finalmente, a cela unitária do sistema romboédrico é primitiva, mas geralmente identificada pelo símbolo **R**. À combinação de sistema cristalino com conteúdo de cela unitária é denominada Retículos de Bravais, que estão sumarizados na figura 8 (CULLITY, 2001).

Analisando a figura 7a observa-se que um ponto no vértice participa simultaneamente de oito celas unitárias. Dessa forma apenas $1/8$ deste ponto pertence a uma cela unitária. Como cada cela tem oito vértices, fica claro que apenas um ponto ($1\text{ ponto}/8\text{ vértices} \times 8\text{ vértices}$) está contido numa cela unitária. Dessa forma, uma cela primitiva é mais bem definida como aquela que possui apenas um ponto por cela, esteja ele no vértice ou não. Cabe também salientar que o ponto a que nos referimos é apenas por facilidade de compreensão. Na verdade, ele representa uma espécie química qualquer.

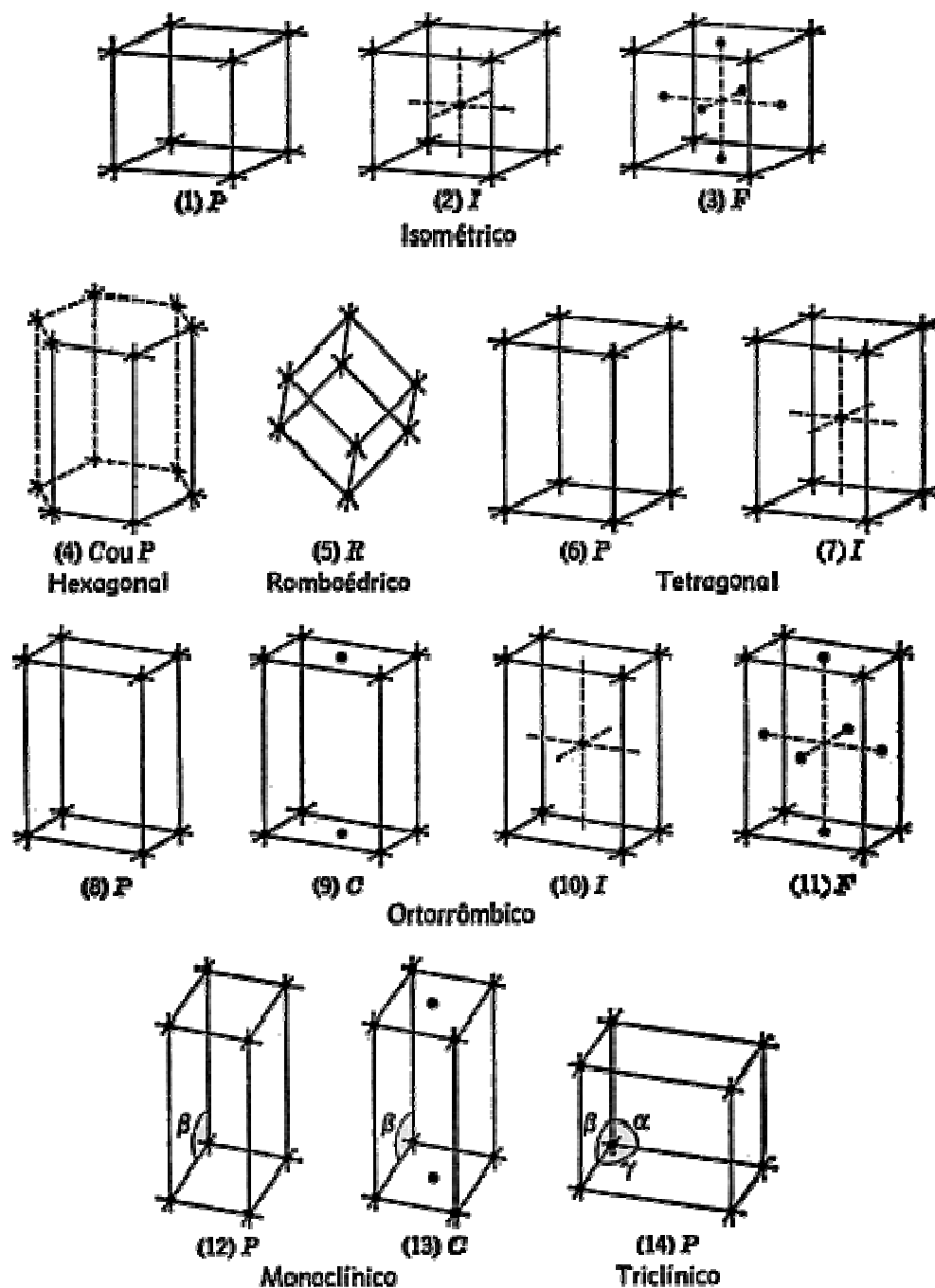


Figura 8 - Os quatorze retículos de Bravais (PADILHA, 2000).

Uma vez conhecido os conceitos de cristal e raios X é de fundamental importância conhecer a interação entre os mesmos a fim de entender a determinação da estrutura cristalina por difração da radiação aqui mencionada.

Em cristalografia de raios X é fundamental conhecer não só a intensidade dos feixes difratados como também a direção em que a difração ocorreu. As direções de

incidência dos raios X nos cristais são definidas por planos que interceptam os eixos cristalográficos em 1, 2 ou 3 pontos. W.H. Miller elaborou um sistema racional de símbolos para a designação das faces (ou planos) por meio de índices. Os índices de Miller são definidos como o inverso do intercepto fracionário que o plano faz com os eixos cristalográficos multiplicados pelos parâmetros lineares. Dessa forma, eles podem ser caracterizados por três números genéricos – (**h**, **k** e **l**) - denominados de **índices de Miller** (CULLITY, 2001). Cabe salientar que a determinação da orientação de um plano dentro do retículo cristalino é de fundamental importância para uma abordagem cristalográfica, uma vez que do ponto de vista experimental os dados coletados referem-se às intensidades (**I**) dos feixes de raios X difratados numa dada direção **hkl**. Tal grandeza é simbolizada por **I_{hkl}**.

2.6 – DIFRAÇÃO DOS RAIOS X POR UM CRISTAL

Quando uma radiação eletromagnética passa através de um orifício que tem um diâmetro da mesma ordem de grandeza que o comprimento de onda da radiação incidente, então o orifício funciona como um centro gerador de novas ondas, semelhante a uma pedra atirada em um lago em repouso. O sistema em questão pode possuir outro centro gerador de ondas. Por exemplo, uma pedra atirada em outro ponto do lago que geraria ondas que interfeririam com as primeiras de uma maneira construtiva ou destrutiva. O fenômeno da difração pode então ser visto como um espalhamento e recombinação de ondas. A figura 9 exemplifica o fenômeno de produção de ondas construtivas (ondas em fase), figura 9a e destrutivas (ondas fora de fase), figura 9b.

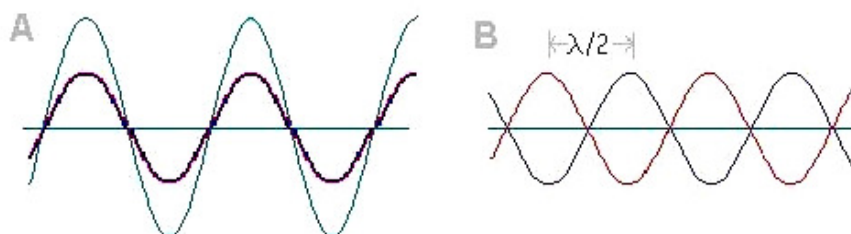


Figura 9 - (a) Interferência construtiva; (b) Interferência destrutiva.

Os espaçamentos entre planos constituintes de um retículo cristalino (d) são de dimensões da mesma ordem de grandeza que o comprimento de onda dos raios

$X(\lambda)$. Por essa razão é que os cristais funcionam como uma grade de difração. Uma relação entre as grandezas mencionadas (d e λ) bem como com ângulo de incidência de tal radiação com o cristal rege o fenômeno da difração e é conhecida como equação de Bragg, que será vista a seguir.

2.7 – EQUAÇÃO DE BRAGG

Em 1914, W.H.Bragg e W.L.Bragg trataram a difração de raios X como se o processo fosse uma reflexão semelhante à da luz por um espelho plano. Nesta abordagem, os raios X que emergem no cristal são tratados como sendo refletidos por camadas sucessivas de partículas constituintes da amostra em estudo, conforme esquematizado na figura 10 (AMIGO *et al*, 1981).

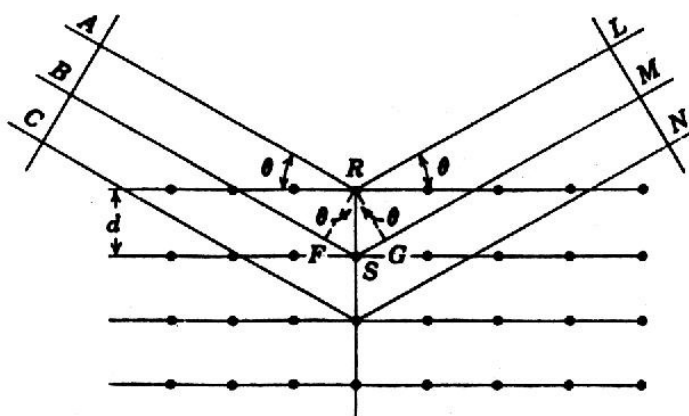


Figura 10 – Espalhamento de raios X por planos cristalinos (PADILHA, 2000).

Considerando a figura 10, temos que as linhas horizontais representam planos de Miller passando pelos elementos espalhadores separados por uma distância d . As linhas **A, B e C** representam um feixe de raios X incidindo sobre o cristal com ângulo θ e as linhas **L, M e N** o respectivo feixe difratado também com ângulo θ . À medida que o ângulo θ é alterado, uma reflexão será obtida apenas quando as ondas estiverem em fase no plano **LMN**, isto é, quando a diferença de caminho percorrido pelos raios incidentes e refletidos é um número inteiro do comprimento de onda, obedecendo assim a equação (2.1) (ALBERTY, 1996).

$$FS + SG = n\lambda \quad (2.1)$$

Uma vez que $\text{sen } \theta = FS / d = SG / d$, e substituindo este valor na equação (2.1), iremos obter a equação (2.2).

$$2d \text{sen } \theta = n\lambda \quad (2.2)$$

Sendo:

$n = 1, 2, 3, \dots$;

d = distância interplanar;

θ = ângulo de incidência ;

λ = comprimento de onda da radiação X.

O local geométrico de todos os possíveis raios difratados é representado por um cone cujo eixo central é a linha dos centros espalhadores. Devido aos feixes espalhados estarem também em fase no mesmo ângulo θ do outro lado do feixe incidente, então haverá um outro cone similar, porém, invertido em relação ao primeiro (figura 11).

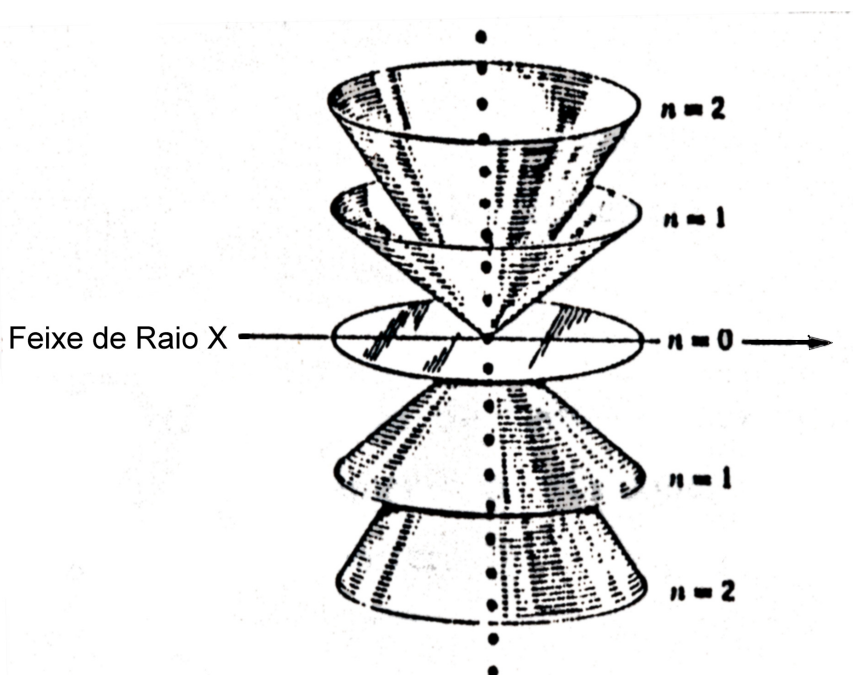


Figura 11- Cones de difração (CULLITY,2001).

A dedução anterior foi feita para uma linha constituída de centros espalhadores. Como o cristal é um sistema tridimensional, haverá outros centros espalhadores em outras direções, com suas respectivas equações de difração, denominadas equações de Laue.

2.8 – AS EQUAÇÕES DE LAUE

As equações de Laue exprimem as condições para que as ondas dispersadas pelos diferentes átomos de um cristal estejam em fase e origemem conseqüentemente, máximos de interferências. Cada direção tem sua equação de difração correspondente, ou seja

$$\mathbf{h \cdot \lambda = 2d \text{ sen } \varphi_1}$$

$$\mathbf{k \cdot \lambda = 2d \text{ sen } \varphi_2} \qquad \qquad \qquad \mathbf{(2.3)}$$

$$\mathbf{l \cdot \lambda = 2d \text{ sen } \varphi_3}$$

consequentemente um cone para cada direção. Um feixe difratado será então produzido apenas quando os três cones em questão intercederem numa linha comum, como mostra a figura 12. A direção desta linha representa a direção de um feixe difratado ($\mathbf{l_{hkl}}$) que pode ser gravado em um filme ou registrado pelos detectores (BORGES, 1980).

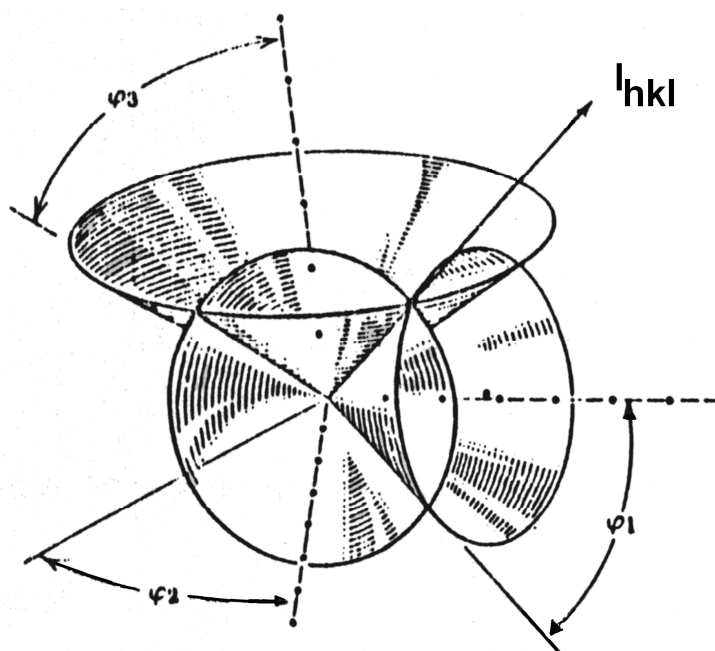


Figura 12 - Cones de Laue nas três direções (CULLITY,2001).

As equações de Laue regem o fenômeno da difração, ou seja, mostram as condições para que um feixe de raios X incidentes numa amostra sejam registrados como feixes difratados. No entanto, deve-se saber o que realmente acontece quando uma radiação X interage com a amostra em estudo, ou seja, procura-se entender tal fenômeno a nível atômico

2.9 – FATOR DE ESPALHAMENTO ATÔMICO

Quando um feixe de raios X incide sobre um cristal, ele faz os elétrons constituintes da amostra vibrarem. Esses elétrons espalham a radiação e re-emitem como raio X de mesma frequência e comprimento de onda da radiação incidente. Em algumas direções, as ondas espalhadas interferem destrutivamente, enquanto que em direções específicas elas se reforçam mutuamente, ou seja, interferem construtivamente resultando num feixe difratado como mostrado anteriormente. O núcleo atômico, pelo fato de possuir uma massa bastante elevada em relação à do elétron, não oscila em extensão apreciável quando atingido por um feixe de raios X e, dessa forma, ele não participa efetivamente do fenômeno de difração. Uma vez que são os elétrons que participam do processo em questão, então a disposição

especial dos elétrons nos átomos é um fator fundamental na produção ou não de um feixe difratado.

A figura 13 ilustra um modelo atômico e um feixe de raios X incidente sobre ele. Podemos ver que para o caso em que a onda transmitida está na direção do feixe incidente, frente X-X', a diferença de caminho é nula, ou seja, não existe diferença de fase entre as ondas, uma vez que, elas percorrem a mesma distância antes e depois da interação com os elétrons.

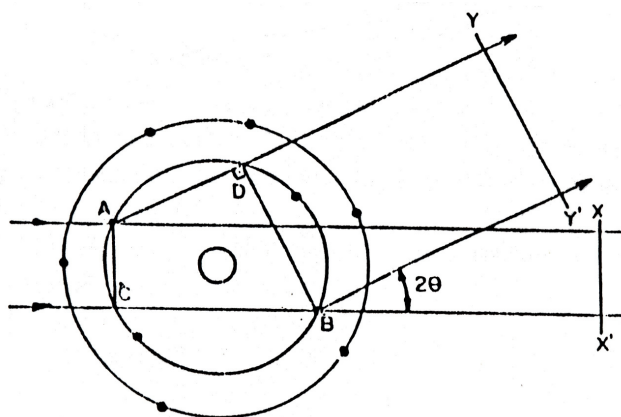


Figura 13 - Modelo atômico simplificado e os raios espalhados por um átomo (CULLITY,2001).

No entanto, para outras direções como a frente Y-Y' haverá uma diferença de fase causada pela diferença de caminho percorrida pelas duas ondas. Conseqüentemente, ocorrerá uma interferência entre as ondas difratadas de modo que a amplitude resultante é menor que a amplitude daquela produzida na direção do feixe incidente.

Cada espécie química possui seu número atômico, onde este é o número de prótons. Com isto, podemos dizer que quanto maior o número atômico maior o poder de difração. Sabendo que a diferença de caminho é uma função do comprimento de onda do raio incidente e da disposição espacial dos elétrons difratantes, podemos concluir que a amplitude das ondas espalhadas além de ser afetada por esses fatores, também é afetada pelo número de elétrons difratantes. Dessa maneira, as considerações acima podem ser representadas pela equação.

$$f \propto \frac{Z \cdot \sin \theta}{\lambda} \quad (2.4)$$

Sendo f , o fator de espalhamento atômico, que descreve a eficiência de espalhamento de um átomo numa dada direção em função do ângulo. O fator de espalhamento atômico é definido como a razão das amplitudes:

$$f = \frac{\text{Amplitude da onda espalhada por um átomo}}{\text{Amplitude da onda espalhada por um elétron}} \quad (2.5)$$

Essas considerações são feitas para um átomo estacionário, porém sabemos que o átomo vibra em torno de sua posição de equilíbrio. A amplitude dessa vibração depende da temperatura, da massa do átomo, bem como de sua interação com os demais átomos da estrutura. Dessa forma, a amplitude da onda espalhada também é afetada por tais fatores.

Em geral, a elevação da temperatura aumenta a vibração levando a uma ampliação do volume da nuvem eletrônica, causando uma diminuição rápida do fator de espalhamento do átomo real, em relação ao fator de espalhamento do modelo do átomo estacionário. Dessa maneira, o fator de espalhamento é afetado por um termo $\exp[-B(\sin^2 \theta) / \lambda^2]$, onde B , está relacionado com a amplitude quadrática média de vibração atômica, $\overline{u^2}$, através da expressão:

$$B = 8\pi^2 \overline{u^2} \quad (2.6)$$

Assim, considerando todas as grandezas anteriormente descritas, o fator de espalhamento para um átomo real, é dado pela expressão:

$$f = f_0 \exp \left[-B \left(\sin^2 \theta \right) / \lambda^2 \right] \quad (2.7)$$

Sendo f_0 , o fator de espalhamento de um átomo estacionário e isolado. A figura 14 ilustra o gráfico do fator de espalhamento de um átomo em função de $\sin \theta / \lambda$, para diferentes valores de B .

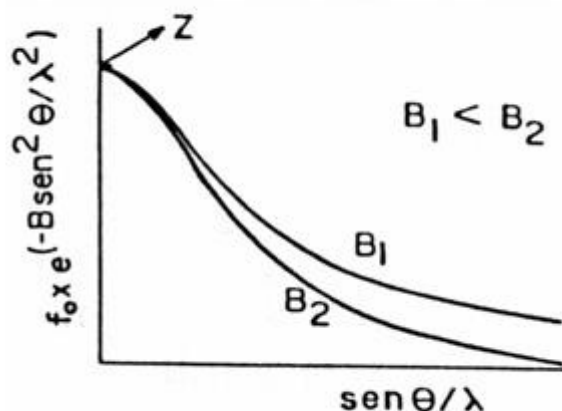


Figura 14 – Curvas típicas de fatores de espalhamento atômico (CULLITY,2001).

Como já mencionado, na interação dos raios X com o cristal, as unidades difratantes são os elétrons. No entanto, quando se trata de estruturas cristalinas, é mais adequado considerar os átomos como sendo as unidades espalhadoras, uma vez que estamos procurando determinar a posição que os mesmos ocupam na cela unitária.

2.10 – ESPALHAMENTO POR UM CONJUNTO DE ÁTOMOS

Cada átomo, para uma determinada direção, tem uma resultante de ondas espalhadas cuja amplitude é proporcional ao fator de espalhamento atômico. A resultante de j ondas espalhadas na direção da reflexão (hkl) pelos j átomos da cela unitária é chamada de fator de estrutura (F_{hkl}). Então, antes de derivarmos uma expressão geral para o fator de estrutura, devemos considerar como somamos N ondas a fim de determinarmos a sua resultante, como ilustrado na figura 15 (CULLITY, 2001).

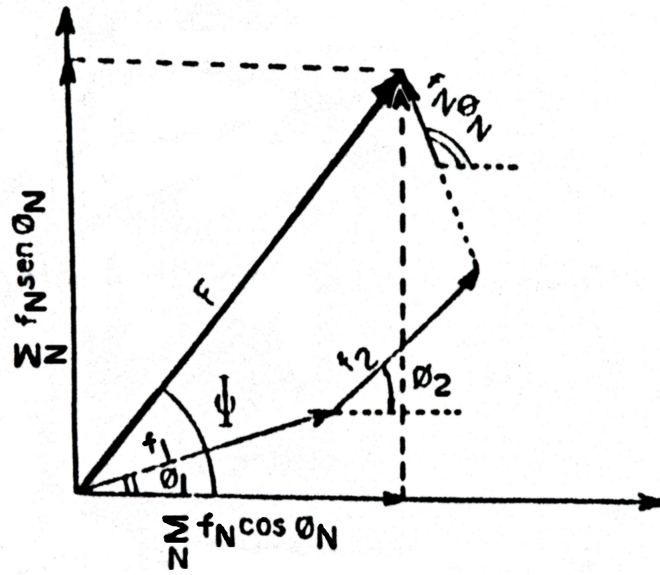


Figura 15 – Resultante de N ondas (CULLITY,2001).

Considerando N ondas de amplitude e fase, respectivamente, $f_1, \phi_1, f_2, \phi_2, \dots, f_N, \phi_N$ teremos que as componentes do vetor resultante, como mostradas na Figura 14, são dadas por:

$$x_r = f_1 \cos \phi_1 + f_2 \cos \phi_2 + \dots + f_N \cos \phi_N = \sum_1^N f_N \cos \phi_N \quad (2.8a)$$

$$y_r = f_1 \sin \phi_1 + f_2 \sin \phi_2 + \dots + f_N \sin \phi_N = \sum_1^N f_N \sin \phi_N \quad (2.8b)$$

O valor absoluto da resultante F e sua fase serão dados então por:

$$|F_{hkl}| = (x^2 + y^2)^{\frac{1}{2}} = \left\{ \left[\sum_1^N f_N \cos \phi_N \right]^2 + \left[\sum_1^N f_N \sin \phi_N \right]^2 \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (2.9)$$

A tangente será:

$$\phi = \operatorname{tg}^{-1} \frac{\sum_{N=1}^N f_N \operatorname{sen} \phi_N}{\sum_{N=1}^N f_N \cos \phi_N} \quad (2.10)$$

Representando sob a forma complexa, teremos:

$$A e^{i\phi} = A (\cos \phi + i \operatorname{sen} \phi) \quad (2.11)$$

Sendo que A é a amplitude e ϕ é a fase da onda considerada.

A amplitude da onda espalhada é proporcional ao fator de espalhamento atômico (equação 2.7) e a diferença de fase entre raios espalhados por dois átomos, estando um deles na origem, é dada por $\phi = 2\pi(hu + kv + lw)$, sendo u v w denominados coordenadas fracionárias. Teremos, então:

$$A e^{i\phi} = f \exp[2\pi i(hu + kv + lw)] \quad (2.12)$$

Se a cela unitária contém átomos 1, 2, 3,... N, com coordenadas fracionárias $u_1, v_1, w_1, u_2, v_2, w_2, \dots, u_N, v_N, w_N$ e fatores de espalhamento atômico $f_1, f_2, f_3, \dots, f_N$, então o fator de estrutura para uma dada reflexão (hkl) será:

$$F = f_1 \exp[2\pi i(hu_1 + kv_1 + lw_1)] + f_2 \exp[2\pi i(hu_2 + kv_2 + lw_2)] + \dots \quad (2.13)$$

Logo:

$$F_{hkl} = \sum_{N=1}^N f_N \exp[2\pi i(hu_N + kv_N + lw_N)] \quad (2.14)$$

Sendo que F , o fator de estrutura, expressa a amplitude e a fase da onda resultante espalhada por N átomos na direção $[hkl]$.

Da mesma forma que o fator de espalhamento atômico, F é definido como a razão das amplitudes:

$$F = \frac{\text{Amplitude da onda espalhada por todos os átomos da cela unitária}}{\text{Amplitude da onda espalhada por um elétron}} \quad (2.15)$$

Enquanto o espalhamento por um único átomo é função do seu arranjo eletrônico (equação 2.7), o espalhamento por uma coleção de átomos dependerá do arranjo dos mesmos (equação 2.14). Dessa forma, as posições dos constituintes de um objeto difratante caracterizam seu modelo de difração e, através dos feixes difratados, podemos prever a distribuição dos átomos num cristal aos quais se associam as regiões de densidade eletrônica.

2.11 – DENSIDADE ELETRÔNICA

A função densidade eletrônica de um cristal é discreta e periódica já que a periodicidade tridimensional é característica do estado cristalino. Devido a esta periodicidade, a referida função pode ser representada matematicamente por meio de uma série de Fourier, como: (LADD e PALMER, 1977)

$$\rho(u, v, w) = \frac{1}{V} \sum_{h=-\infty}^{+\infty} \sum_{k=-\infty}^{+\infty} \sum_{l=-\infty}^{+\infty} |F_{hkl}| \exp(i\phi_{hkl}) \exp[-2\pi i(hu + kv + lw)] \quad (2.16)$$

Vemos então, que as séries de Fourier fornecem uma forma matemática de usarmos os dados experimentais de difração de raios X (as intensidades medidas proporcionais ao quadrado da amplitude) para resolvermos estruturas cristalinas. Dessa forma, a coleta e a medida das intensidades é um passo fundamental na determinação das estruturas, pois, a partir delas podemos deduzir a distribuição da densidade eletrônica e, conseqüentemente, as posições dos átomos constituintes de um retículo cristalino.

Da análise do mapa de densidade eletrônica identificam-se as posições dos constituintes da estrutura em estudo. No caso de apenas um fragmento da referida estrutura ser identificado, os demais constituintes serão localizados através do uso de uma síntese de diferenças de Fourier, utilizando na equação 2.16 a diferença entre os fatores de estrutura observados e calculados como coeficientes (LADD e PALMER, 1977).

$$\Delta\rho = \frac{1}{V} \sum_h \sum_k \sum_l [|F_o| - |F_c|] \exp(i\varphi_c) \exp[-2\pi i(hx+ky+lz)] \quad (2.17)$$

sendo:

$\Delta\rho$ = A diferença entre a densidade eletrônica real e a calculada com o fragmento conhecido da estrutura;

V = Volume da cela unitária;

$|F_o|$ = Fator de estrutura observado;

$|F_c|$ = Fator de estrutura calculado;

Com a inclusão de mais átomos ao fragmento inicial, faz-se um refinamento por mínimos quadrados dos parâmetros atômicos e repete-se o processo de utilização da equação acima até que toda estrutura seja revelada.

Obtido o modelo de estrutura, este deve ser ajustado ao real que é descrito através das medidas das intensidades observadas. Este ajuste é feito através de cálculos iterativos de mínimos quadrados, utilizando-se equações construídas a partir dos dados experimentais e a convergência do refinamento é verificada através do índice de discordância dado por: (GIACOVAZZO et al, 1995).

$$R = \frac{\sum (k|F_o| - |F_c|)}{\sum k|F_o|} \quad (2.18)$$

Num estudo cristalográfico dois problemas podem ser de fundamental importância. Um deles trata-se da obtenção da amostra em estudo e será visto no próximo capítulo enquanto que o outro está relacionado com a construção do mapa

de densidade eletrônica através da utilização das séries de Fourier. Esta situação é conhecida na literatura como problema da fase, que será sumarizada a seguir.

2.12 – O PROBLEMA DA FASE

Conhecendo a estrutura cristalina podemos, por meio dos fatores de estrutura, calcular as intensidades das reflexões. O inverso também é válido, isto é, os valores das intensidades medidas de um cristal de estrutura desconhecida possibilitam-nos calcular as posições atômicas. No entanto, a intensidade do feixe difratado (I_{hkl}) é proporcional a $|F|^2 = F \cdot F^*$ onde F^* é o complexo conjugado de F e substituindo na equação (2.12) resulta:

$$\left| Ae^{i\phi} \right|^2 = Ae^{i\phi} \cdot Ae^{-i\phi} = A^2 \quad (2.19)$$

Dessa forma uma dificuldade fundamental para a determinação direta da estrutura cristalina por meio da análise da densidade eletrônica representada por uma série de Fourier, é a presença de uma componente relativa às fases dos feixes difratados. Como visto, somente as intensidades e, portanto, as amplitudes dos raios difratados podem ser medidas, ou seja, toda informação com respeito à fase é perdida (ver equação 2.19).

Torna-se, então, impossível determinar a estrutura diretamente a partir das medidas no arranjo de difração registrado. A situação aqui abordada constitui o obstáculo básico para a determinação de qualquer estrutura cristalina e é conhecida como o **problema da fase**.

Todos os métodos conhecidos que visam a determinação estrutural através do emprego da técnica de difração de raios X procuram ultrapassar tal dificuldade, ou seja, solucionar o problema anteriormente descrito. Entre tais métodos destacam-se os chamados Métodos Diretos que são os mais indicados para o nosso caso, uma vez que estamos lidando com substâncias constituídas de átomos pequenos e semelhantes (em termos de número de elétrons). O termo "diretos" significa aqueles métodos que tentam obter as fases dos fatores de estrutura diretamente das amplitudes observadas por meio de relações matemáticas.

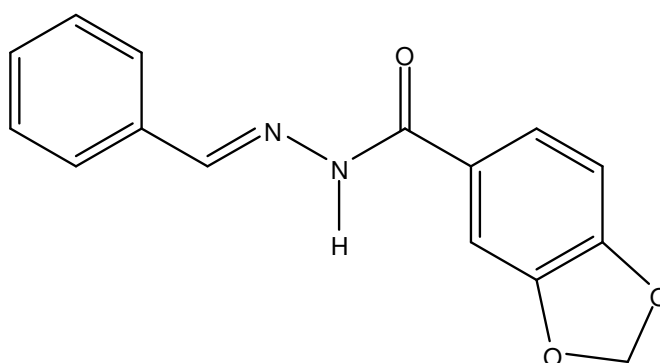
Capítulo 3

3.1 - ORIGEM DAS AMOSTRAS EM ESTUDO

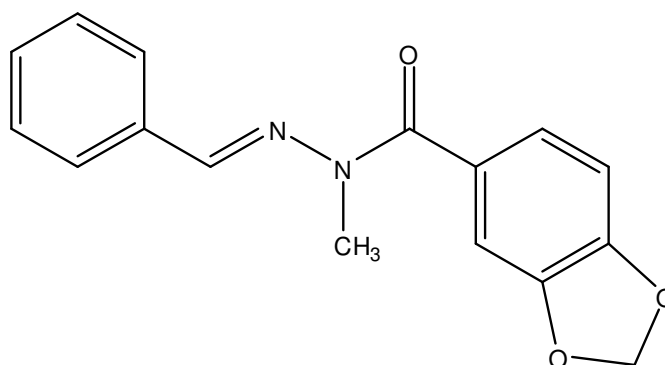
As substâncias estudadas nesse trabalho fazem parte de um grupo de *N*-acilidrazonas fornecidas pelo Prof. Eliezer J. Barreiro do Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas – LASSBio – da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Essas substâncias foram analisadas do ponto de vista cristalquímico com o objetivo de obter informações relevantes ao estudo da estrutura molecular e correlacioná-las com a atividade cadio-inotrópico previamente observada.

Neste trabalho serão apresentados os resultados cristalográficos de dois derivados de *N*-acilidrazona obtidos utilizando-se o safrol como matéria-prima sintética. As representações bidimensionais de tais substâncias são mostradas a seguir:

- 1) (*E*)-*N*-benzilidenobenzo[d][1,3]dioxol-5-carboidrazida, neste trabalho é chamada de LASSBio-123.

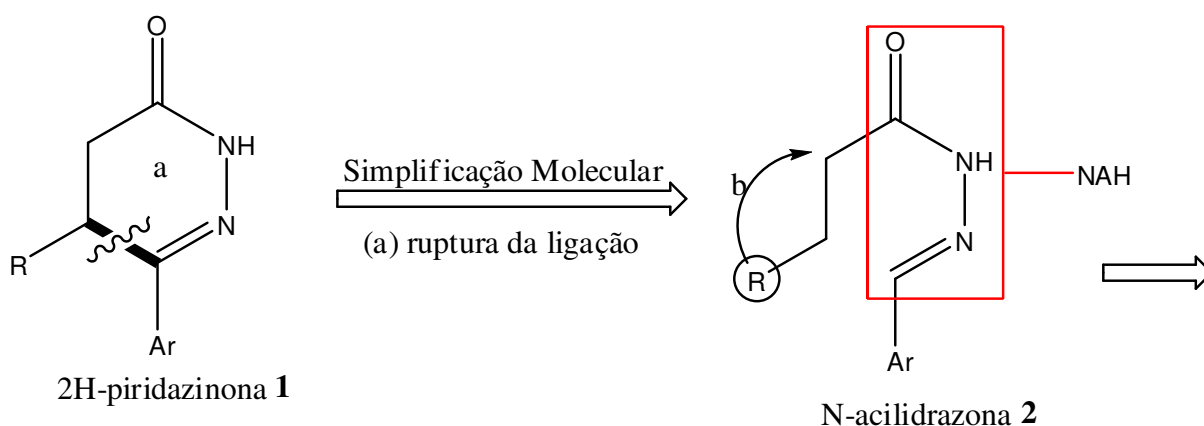


- 2) (*E*)-*N*-benzilideno-*N*-metilbenzo [d][1,3] dioxol-5-carboidrazida, neste trabalho é chamada de LASSBio-1004.



3.2 - OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS LASSBio-123 E LASSBio-1004

A análise a seguir é baseada no esquema ilustrado na figura 16. A estratégia de simplificação molecular sobre inibidores de fosfodiesterases (PDE), a exemplo da piridazona(1), representada por uma ruptura da ligação **(a)** e a eliminação do centro estereogênico, permitiu o desenho de uma nova série de derivados entre *N*-acilidrazona (NAH). Posterior a etapa de ciclização evidenciada em **(b)** permitiu o planejamento da introdução da subunidade benzodioxola, originária do safrol, como subunidade aromática ligada à carbonila da função NAH. A natureza da subunidade arila ligada ao agrupamento imina, permitiu a construção de uma série de derivados congêneres, destacando-se LASSBio-294, com substituinte furila. Este derivado foi descrito como um potente agente cardio-inotrópico devido a um aumento no acúmulo de Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático. Além disso, LASSBio-294 (4), também promoveu vasodilatação em anéis aórticos, mediada via guanilato ciclase/guanilato monofosfato cíclico (KUMMERLE et al, 2009).



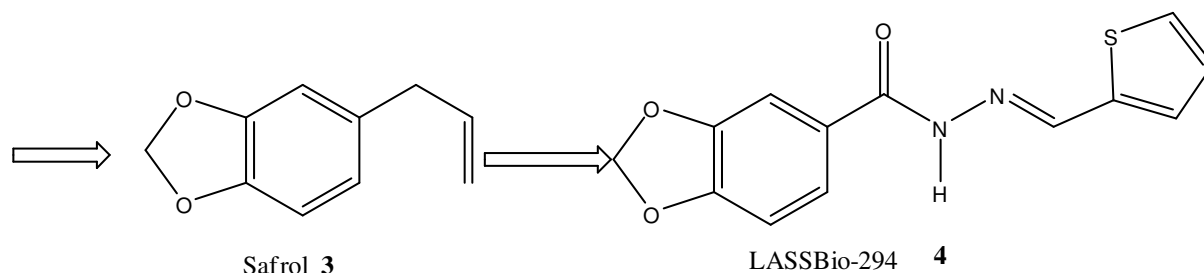
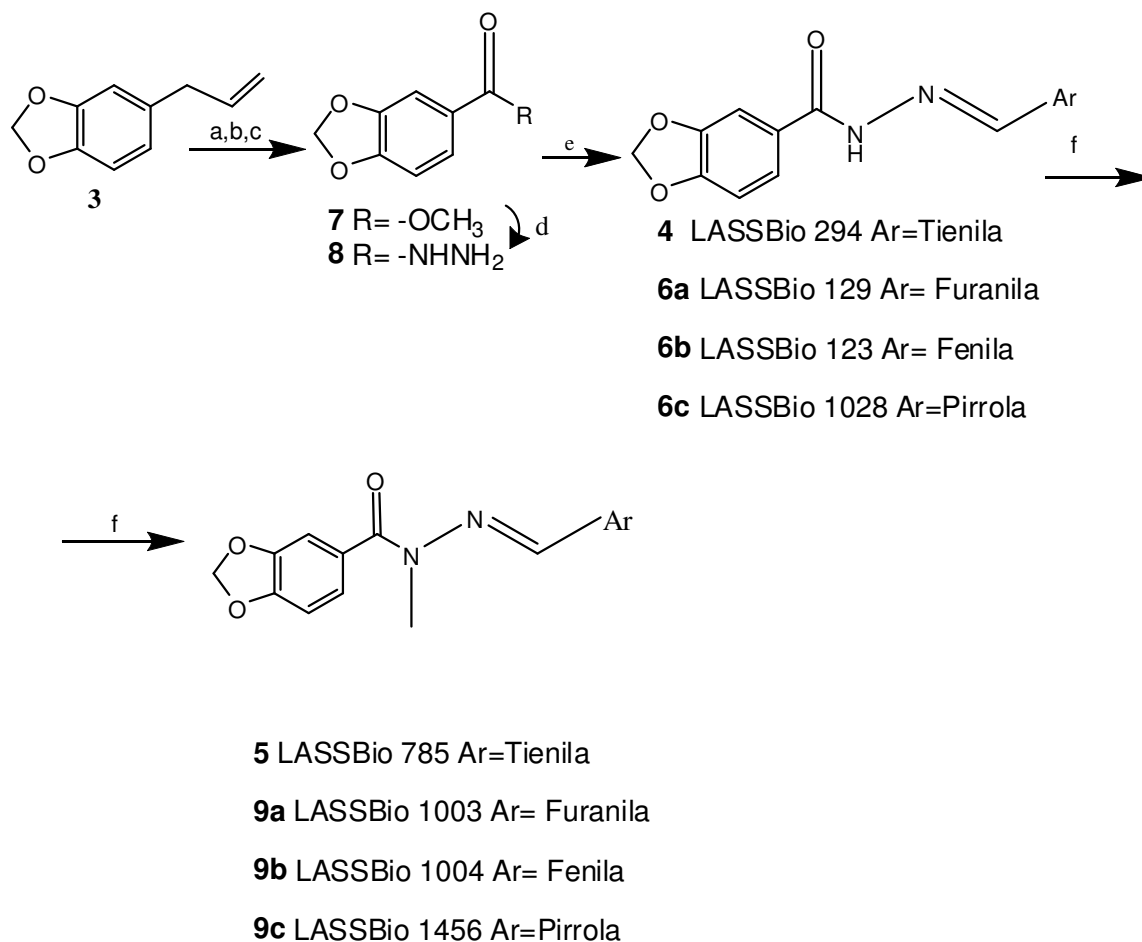


Figura 16– Planejamento estrutural de LASSBio-294.

Considerando que a *N*-acilidrazona, subunidade presente em LASSBio-294 (4), pode possuir relação isostérica com o anel piridazinona presente em inibidores fosfodiesterases (PDE), foram planejados vários análogos sintéticos de LASSBio-294 visando sua otimização estrutural. Estes análogos foram investigados em músculo liso vascular, quanto a capacidade de produzir vasodilatação. Os resultados obtidos com os derivados testados sobre a resposta contrátil do músculo liso vascular de ratos Wistar, indicou que mudanças na densidade eletrônica da subunidade tienila não resulta em aumento dos efeitos vasodilatadores. No entanto, a introdução de pequenos grupos alquila ligados ao nitrogênio amida da NAH, especialmente o grupo metila, levaram à descoberta do derivado LASSBio-785 (5), que apresentou um maior desempenho em relação ao efeito vasodilatador ($Cl_{50} = 10,2 \pm 0,5$ M), sendo sete vezes mais potente do que LASSBio 294 no mesmo bioensaio (KUMMERLE et al, 2009).

A síntese de novos derivados *N*-acilidrazonas (6a-c) foi realizada conforme descrito no esquema 1. O intermediário-chave foi a 3,4-methilenodioxibenzoil hidrazida (8) que pode ser obtido a partir de um alilbenzeno natural, (3) com 57% rendimento global, tal como descrito anteriormente (LIMA, 2000). A condensação ácido-catalisada da hidrazida (8) com os correspondentes aldeídos aromáticos ou heteroaromáticos permitiu a obtenção em bons rendimentos de LASSBio-294 (4) e seus derivados isostéricos LASSBio-129 (6a), LASSBio-123 (6b) e LASSBio-1028 (6c) com bom rendimento (Esquema 1). Posteriormente, a série *N*-metil-NAH foi sintetizada utilizando a correspondentes *N*-acilidrazonas como precursores após o tratamento com carbonato de potássio em acetona seguido pela adição de iodeto de metila a 50 °C. Ao aplicar este procedimento, foi possível obter, regioseletivamente,

os derivados *N*-metilados LASSBio-785 (5), LASSBio-1003 (9a), LASSBio-1004 (9b) e LASSBio-1456 (9c), em rendimentos variando no intervalo de 88% a 95% após a etapa de recristalização.



Esquema 1 - Reagentes e condições: (a) KOH aq. 3N, *n*-BuOH, a temperatura ambiente, 3h, 98%; (b) (i) O₃/O₂, AcOH, 0°C, 1h; (ii) Zn°, AcOH, 93% (75%, 3 passos); (c) I₂, KOH, MeOH 0°C, 1,5h, 90%; (d) NH₂NH₂.H₂O, 80%, EtOH, refluxo, 3,5h, 84%; (e) aldeído aromático, EtOH, HCl (cat.), temperatura ambiente, 30 min., 88-92%; (f) K₂CO₃, acetona, 50 °C, 86-95%.

3.3 - A COLETA DE DADOS

As amostras foram enviadas pelo LASSBio em forma de monocristais, ou seja, adequadas à técnica de difração de raios X e, sendo assim, não foi necessário recristalizá-las. Elas foram colocadas à extremidade de um capilar preso a uma haste e o conjunto levado para o difratômetro automático kappaCCD da Erfan-

Nonius (figura 17), visando coletar os dados de intensidades dos feixes de raios X difratados pela amostra em estudo.



Figura 17 - Difratômetro Automático KappaCCD.

O difratômetro automático KappaCCD, consiste de um goniômetro com três graus de liberdade (goniômetro Kappa) mais um quarto grau de liberdade para a posição do detector. A cabeça goniométrica (e, portanto o cristal) está montada no eixo ϕ que está apoiado no bloco Kappa (k). Este bloco pode girar ao redor do eixo, suportado pela base do difratômetro, figura 18.



Figura 18 – Goniômetro de geometria Kappa com detector tipo CCD.

Os detectores de área modernos utilizados atualmente são os conhecidos CCD's (Charge Coupled Devices), cujo esquema é mostrado na figura 19.

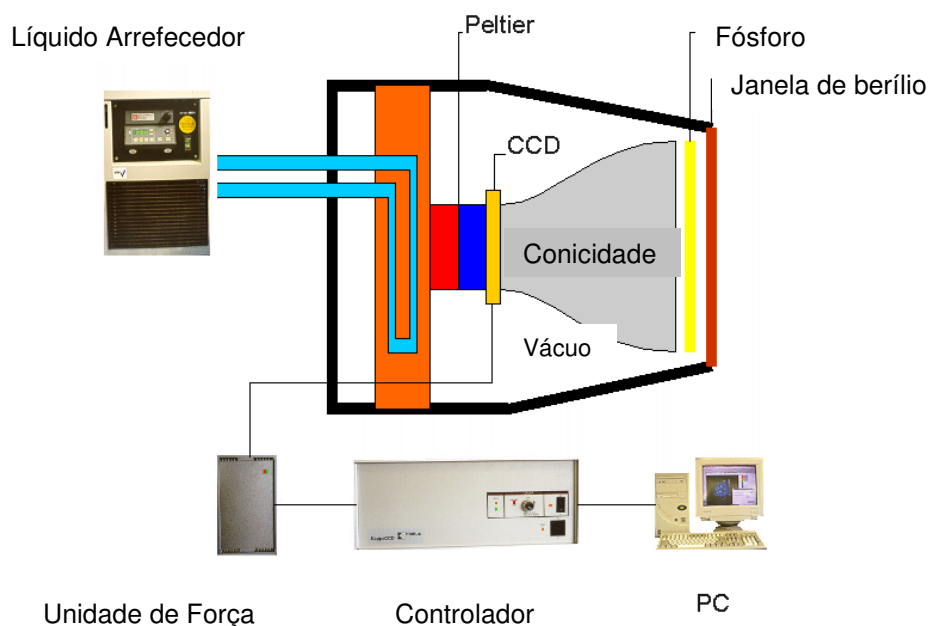


Figura 19 – Esquema de um Detector do Tipo CCD.

Os raios X incidem no detector através de uma janela de berílio e são transformados em luz visível no segundo compartimento (fósforo) constituído de térbio dopado (Gd_2O_2S). Para a radiação do molibdênio é utilizado 25 mg/cm^2 de Gd_2O_2S , e ocorre uma absorção de 75% da radiação. Um filamento de fibra ótica reduz a imagem ao tamanho do CCD que é refrigerado por uma mistura de água e glicol, fornecida por um refrigerador de circuito fechado, e sua temperatura normal de trabalho deve estar em torno de -1°C (ENRAF NONIUS, 2001).

Um CCD consiste em um quadriculado de capacitores de silicone (*pixels*) figura 20. Os fótons de luz geram elétrons, que são presos nestes *pixels*, depois a medida dos *pixels* é transmitida por sinais de pulso ao amplificador, onde converte os elétrons para uma tensão que é digitalizada com um conversor de 16 bits ADC (ENRAF NONIUS, 2001).

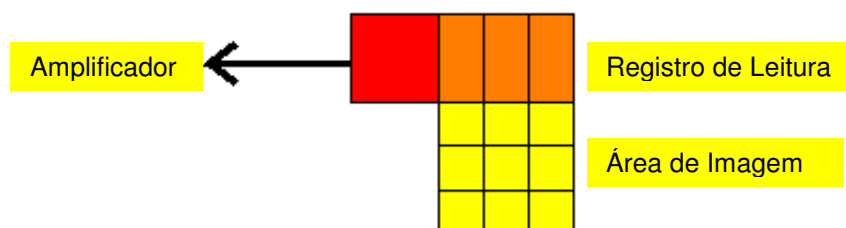


Figura 20 – Representação do CCD.

3.4 - REDUÇÃO DOS DADOS

As intensidades dos feixes de raios X difratados constituem a principal informação obtida neste procedimento experimental. Dessa forma, a determinação de uma estrutura cristalina ficará dependente da extração de informações contidas nestas intensidades observadas.

A redução dos dados tem como objetivo, determinar os módulos dos fatores de estrutura e seus respectivos desvios-padrão a partir das intensidades observadas, corrigidas por alguns fatores que as afetam. Entre eles podemos destacar:

a) fator de polarização (P)

Este fator é introduzido pelo fato dos raios X incidentes não serem polarizados, isto é, os vetores associados aos seus fótons apontarem para qualquer direção normal à propagação do feixe, enquanto que ao passarem pelo cristal e serem difratados, chegam ao detector polarizado.

b) fator de Lorentz (L)

O fator em questão está relacionado ao fato dos diversos pontos do retículo recíproco atravessarem a esfera de reflexão em tempos diferentes.

c) fator de absorção (A)

A absorção da radiação pelo cristal é estritamente dependente da composição química da amostra, do comprimento de onda da radiação incidente e das dimensões do cristal. Muitos fatores influenciam na escolha do comprimento de onda no experimento de difração de raios X, mas quanto menor o comprimento de onda da radiação incidente, menor será a absorção da radiação pelo cristal. Esta é uma das razões do uso da radiação de comprimento de onda da linha K_{α} do Mo para a difração de raios X. Cristais oriundos, naturais ou sintéticos, de produtos naturais são dotados de dimensões pequenas e constituídos por átomos considerados leves (carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio). Por essas razões dificilmente é aplicada a correção por absorção nos feixes de raios X difratados por tais amostras. No entanto, de uma maneira geral, negligenciar a correção por absorção acarreta erros significativos nas distâncias interatômicas, nos ângulos entre átomos da estrutura, no posicionamento e dimensionamento dos elipsóides térmicos e distorções na distribuição de densidade eletrônica calculada (STOUT & JENSEN, 1989).

Dessa forma, a intensidade total transmitida através da amostra é reduzida pelo fator $A(hkl)$ definido por:

$$A(hkl) = \frac{1}{V} \int \exp(-\mu R) dv \quad (3.1)$$

Sendo:

V = volume do cristal;

$R = r_1 + r_2$, o caminho percorrido pelo feixe dentro do cristal;

μ é o coeficiente de absorção linear, dependente da substância considerada, de sua densidade e do comprimento de onda utilizado no experimento, sendo definido por:

$$\mu = \rho \sum (P_N / 100) \cdot (\mu / \rho) \lambda \quad (3.2)$$

Sendo:

ρ = densidade da substância em estudo;

P_N = percentagem do elemento N;

μ / ρ = coeficiente de absorção mássico, para comprimento de onda usado;

λ = comprimento de onda da radiação X.

A transformação do valor de intensidade em fator de estrutura é conhecida na literatura como redução de dados. Como as considerações feitas, a redução de dados é descrita matematicamente pela expressão:

$$I_{(hkl)} = KLpA \left| F_{(hkl)} \right|^2 \quad (3.3)$$

Sendo:

$I_{(hkl)}$ = intensidade do feixe difratado numa dada direção;

K = constante de proporcionalidade;

L = fator de Lorentz;

p = fator de polarização;

$F_{(hkl)}$ = fator de estrutura observado;

A = fator de absorção.

3.5 - ESCALA ABSOLUTA E FATORES DE TEMPERATURA

Os fatores de estrutura então obtidos pela equação 2.14 estão numa escala relativa, sendo necessário colocá-los numa escala absoluta, para que possam ser utilizados nos métodos de determinação estrutural. O reescalonamento dos fatores de estrutura e uma estimativa do efeito térmico devido à vibração atômica podem ser feitos simultaneamente através do processo conhecido como Método de Wilson (STOUT & JENSEN, 1989).

A intensidade média observada, já corrigida pelo fator Lp , é dada pela equação (3.4), enquanto que a intensidade média teórica é obtida pela equação (3.5).

$$\bar{I}_{rel} = \langle |F_o|^2 \rangle \quad (3.4)$$

$$\bar{I}_{abs} = \sum_{j=1}^N f_j^2 \exp[-2B(\sin^2 \theta) / \lambda^2] f_{oj}^2 \quad (3.5)$$

sendo que o termo “B” a ser determinado é assumido idêntico para todos os átomos. Temos, então, que I_{abs} relaciona-se com I_{rel} através de um fator C, isto é:

$$\bar{I}_{rel} = \bar{C} \bar{I}_{abs} = C \exp[-2B(\sin^2 \theta) / \lambda^2] \sum_{j=1}^N f_{oj}^2 \quad (3.6)$$

Rearranjando a equação anterior e tomando o logarítmo natural em ambos os termos, teremos:

$$\ln \bar{I}_{rel} / \sum_{j=1}^N f_{oj}^2 = \ln C - 2B(\sin^2 \theta) / \lambda^2 \quad (3.7)$$

Esta equação (3.7) obtida corresponde à equação de uma reta, logo expressando em um gráfico $\ln \bar{I}_{rel} / \sum_{j=1}^N f_{oj}^2$ em função de $\sin^2 \theta / \lambda^2$, obteremos uma reta cuja inclinação nos dá o valor de -2B, e a extrapolação da referida reta, para o ponto $\sin^2 \theta / \lambda^2 = 0$, nos permite determinar o valor de C.

De modo semelhante, podemos considerar que os fatores de estrutura relativos e os absolutos estão relacionados por uma constante K, ou seja:

$$|F_{abs}| = K |F_{rel}| = 1 / \sqrt{C} |F_{rel}| \quad (3.8)$$

3.6- SEQUÊNCIA USADA NA RESOLUÇÃO ESTRUTURAL DA LASSBio-123

Inicialmente, de posse da amostra cristalina, selecionou-se um monocristal de dimensões milimétricas utilizando um microscópio de polarização e passou-se a coletar dados de intensidade dos feixes de raios X difratados da amostra de LASSBio-123.

Por se tratar de um cristal muito pequeno e contendo na sua estrutura apenas átomos leves, não foi necessário efetuar correção por absorção. Dessa forma, as intensidades dos feixes de raios X difratados foram corrigidas apenas pelos fatores de Lorentz e polarização e, em seguida, transformadas em módulos de fatores de estrutura. Para os cristais estudados as intensidades foram medidas utilizando-se a radiação $K\alpha(\text{Mo})$, $\lambda=0,71073\text{\AA}$, monocromatizada por um cristal de grafite.

Através das imagens de difração obtidas do difratômetro kappaCCD foi possível identificar os parâmetros de rede e por meio da análise da distribuição das intensidades segundo as diversas classes de reflexões foi então determinado o sistema cristalino juntamente como grupo espacial como sendo monoclínico.

Verificou-se as seguintes condições para a presença de uma determinada reflexão:

hkl: nenhuma condição;

h0l: presente apenas quando l for um número par, ou seja, $l=2n$;

0k0: presente apenas quando k for um número par, ou seja, $k=2n$.

A não-ausência sistemática nas reflexões genéricas **hkl** é um indicativo de que a cela unitária da substância em estudo é primitiva, enquanto que as limitações em l e k nas reflexões **h0l** e nas reflexões **0k0**, indicam, respectivamente, a presença de um eixo helicoidal e um glide. Baseado em tais comentários pode-se concluir que o sistema em questão pertence ao grupo de Laue 2/m e ao grupo espacial $P2_1/c$.

Após a obtenção dos fatores de estruturas observados, passou-se à determinação estrutural propriamente dita, ou seja, a escolha de um método conveniente para ultrapassar o problema da fase.

A estrutura foi resolvida pelos Métodos Diretos (GIACOVAZO, 1995) utilizando o programa SHELXS-97 (SHELDRICK,1998), através do pacote de programas WinGX, (FARRUGIA, 1999).

Através da análise do mapa de densidade eletrônica foram examinadas as distâncias interatômicas e ângulos de ligação coerentes com um modelo químico e, dessa forma, foi possível identificar um fragmento da molécula em estudo. Por meio da aplicação de sucessivas diferenças de Fourier, foram localizados os demais átomos componentes da substância em questão, ou seja, quinze átomos de carbono, dois de nitrogênio e três de oxigênio.

O refinamento do modelo inicial foi feito utilizando-se método de mínimos quadrados (STOUT & JENSEN, 1989) com matriz completa e cálculos de Fourier diferença utilizando o programa SHELXL-97 (SHELDRICK,1997), também do pacote WinGX.

O processo de refinamento foi sempre acompanhado de verificação da geometria e confiabilidade química do modelo, através de cálculos de distâncias e ângulos interatômicos.

O refinamento inicialmente foi feito com parâmetros térmicos isotrópicos, e quando estes atingiram a convergência, passou-se à etapa de refinar anisotropicamente os fatores de vibração térmica.

Refinar a estrutura de forma anisotrópica significa dizer que átomos diferentes vibram de maneiras diferentes e que esta vibração depende também da direção considerada. Os ciclos foram realizados até que as variações dos parâmetros não fossem perceptíveis alcançando, dessa forma, uma convergência.

A última etapa do refinamento constituiu no posicionamento dos átomos de hidrogênio, o que foi feito de acordo com a geometria dos átomos a que eles estavam ligados, assumindo-se o parâmetro de vibração térmica igual a $1,5 U_{eq}$ para hidrogênios ligados a metilas e para os demais hidrogênios foi admitido o valor de $1,2 U_{eq}$. As posições dos átomos de hidrogênio não foram refinadas, mas foram recalculadas a cada etapa do refinamento. As distâncias de ligação foram fixadas de acordo com os seguintes valores: 0,93 Å para as ligações C-H (aromático), 0,97 Å e 0,96 Å para as ligações de C-H₂ e C-H₃, respectivamente. Apenas o hidrogênio

ligado ao Nitrogênio (N1) , possível candidato à formação de uma ligação de hidrogênio, foi encontrado no mapa de densidade eletrônica (SHELDRICK, 1997).

Foram feitos ciclos de refinamento até ocorrer a convergência total dos parâmetros refinados. A convergência final foi atingida quando a razão entre o deslocamento e o erro foi menor que 0,01. Neste ponto uma análise no mapa de densidade eletrônica não revelou picos acima de $1\text{e}/\text{\AA}^3$, indicando assim que o composto em estudo tem a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$. O índice de discordância final foi de 0,0472, considerando apenas as reflexões ditas observadas. A metodologia aqui seguida está sumarizada e ilustrada na figura 21.

O índice de verificação da adequação do sistema de pesos utilizado no refinamento foi o “goodness of fit” (GOOF ou S), dado por:

$$GooF = S = \left\{ \frac{\sum [W(F_{obs}^2 - F_{calc}^2)^2]}{n - p} \right\}^{1/2} \quad (3.9)$$

Sendo:

n é o número de reflexões observadas;

p é o numero total de parâmetros refinados;

w é o sistema de pesos.

Quando o valor de GooF tende a (1,0), temos a confiabilidade do modelo estrutural (STOUT & JENSEN, 1989).

O procedimento usado na determinação estrutural da LASSBio-1004 é semelhante ao da LASSBio-123, sendo desnecessária a sua descrição.

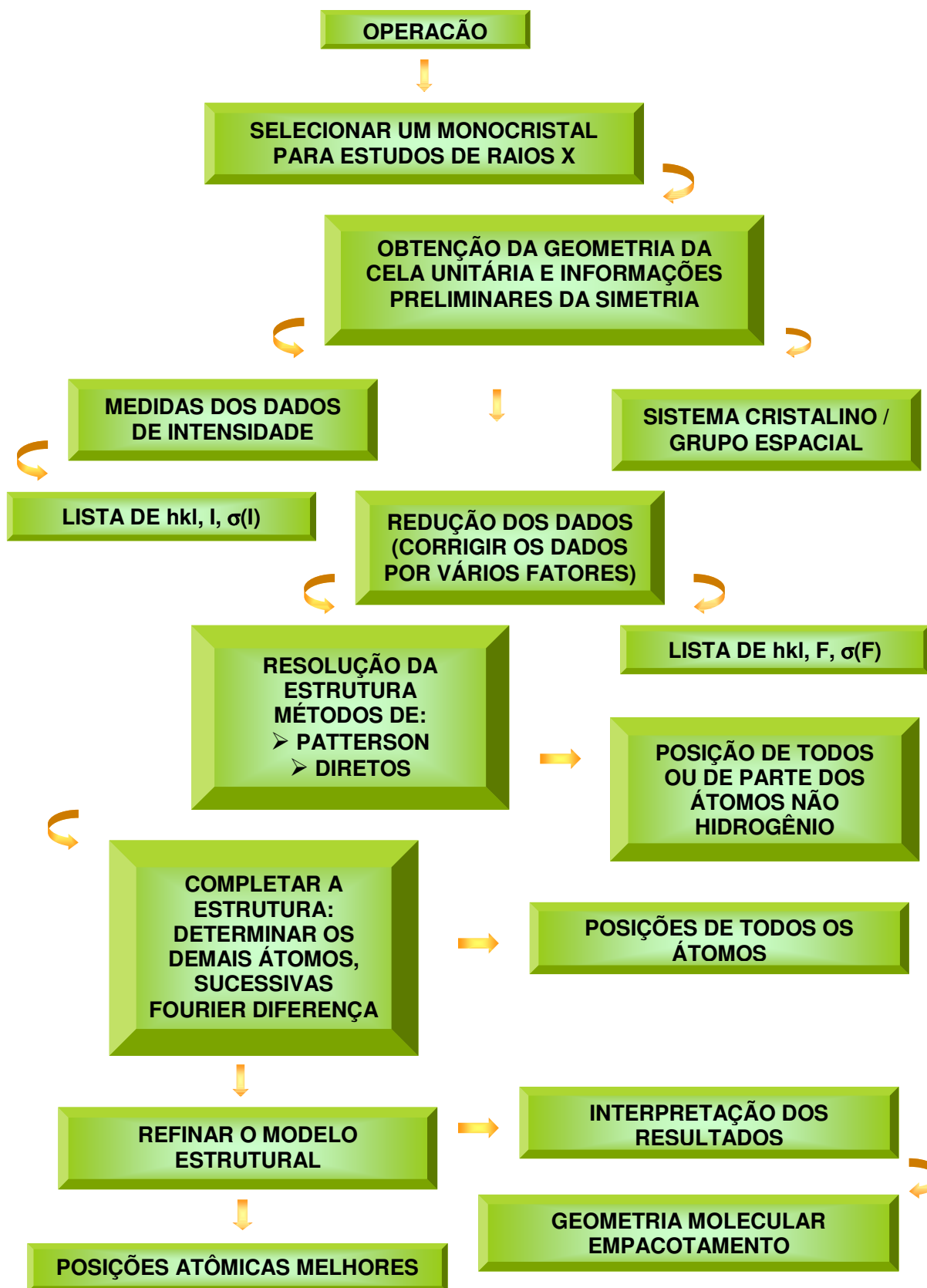


Figura 21– Metodologia usada na resolução estrutural

Capítulo 4

E 4.1 DETERMINAÇÃO DAS ESTRUTURAS CRISTALINAS E MOLECULARES DOS COMPOSTOS LASSBio-123 E LASSBio-1004.

OBS.: Informações precedidas de * referem-se ao composto LASSBio-1004.

Os parâmetros cristalinos da cela unitária bem como outros dados relevantes obtidos na resolução estrutural são mostrados na tabela 2 (*tabela 9). As coordenadas de posições atômicas e parâmetros isotrópicos para todos os átomos, exceto os átomos de hidrogênio, com os respectivos desvios padrão são mostrados na tabela 3 (*tabela 10), e as coordenadas de posições atômicas e parâmetros térmicos isotrópicos para átomos de hidrogênio são mostrados na tabela 4 (*tabela 11).

Na tabela 5 (*tabela 12) estão presentes os parâmetros de vibração térmica anisotrópicos dos átomos, exceto os hidrogênios, da estrutura LASSBio-123 com os respectivos desvio padrão entre parênteses.

As distâncias e ângulos de ligação para átomos, exceto hidrogênio, estão listados nas tabelas 6 e 7 (*tabelas 13 e 14), respectivamente.

O diagrama referente ao grupo espacial $P2_1/c$, no qual foi resolvida a estrutura em questão, é mostrado na figura 22. A estrutura bidimensional e a representação ORTEP da molécula LASSBio-123 com todos os átomos identificados é encontrada na figura 23 (página 57) [(*)figura 24) página 68] e na figura 36 (página 90) [(*)figura 37) página 91] é possível observar as regiões planas desta molécula.

Na figura 38 (página 93) está representada por meio de uma linha tracejada verde a ligação de hidrogênio intermolecular e seu respectivo comprimento é ilustrado por meio da linha tracejada verde. No caso da LASSBio-1004 [(*)figura 39) página 94] a linha em questão mostra as ligações secundárias, uma vez que neste caso não é verificado a presença da ligação de hidrogênio.

Os ângulos de torção referentes a esta estrutura são mostrados na tabela 8 (*tabela 15) e foram calculados a fim de definir de forma mais exata a conformação da molécula em questão. Na consideração de tais ângulos foram excluídos os átomos de hidrogênio.

A tabela 16 (*tabela 17) traz as possíveis ligações de hidrogênio intermolecular clássica e secundária para a respectiva estrutura.

Tabela 2 – Principais dados cristalográficos para a LASSBio-123.

Fórmula Molecular	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₃
Massa molar	268.27
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c
Parâmetros de rede	a=11,4013(3)Å b = 12,6430(4) Å β = 91,563(2) ° c = 9,0461(2) Å
Volume	1303,48(6) Å ³
Z	4
Densidade calculada	1,367 mg/m ³
μ(MoKα)	0,097 mm ⁻¹
F(000)	560
Dimensões do cristal	(0,3 x 0,2 x 0,2)mm

Dados da coleta

Temperatura (K)	298 K
Radiação (MoKα)	0,713073 Å
Método de resolução	Métodos diretos
<u>Intervalo de θ para a coleta</u>	(1,79 a 27,46)°
Intervalo de indexação	-14 ≤ h ≤ 14, -16 ≤ k ≤ 14, -11 ≤ l ≤ 11
Reflexões coletadas	16.207
Reflexões únicas	2.976
Reflexões observadas	2.216
R interno	0,0359
Número de parâmetros refinados	181

Refinamento

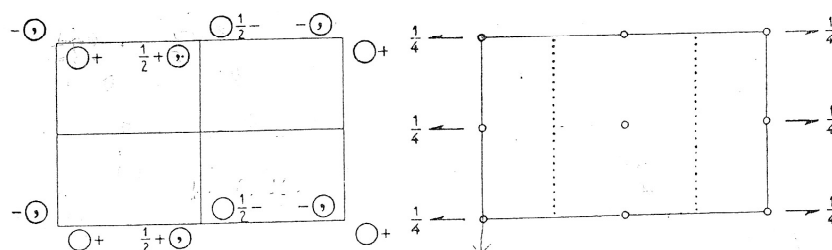
Índice R final [$I > 2\sigma(I)$]	0,0472
Índice R para todos os dados	0,0679
S	1,046
Densidade residual mín. e máx.	(0,160 e -0,178) e. Å ⁻³

Monoclinic $2/m$

$P 1 2_1/c 1$

No. 14

$P 2_1/c$
 C_{2h}^5



Origin at $\bar{1}$; unique axis b

2ND SETTING

Number of positions,
Wyckoff notation,
and point symmetry

Co-ordinates of equivalent positions

Conditions limiting
possible reflections

4 e 1 $x, y, z; \bar{x}, \bar{y}, \bar{z}; \bar{x}, \frac{1}{2} + y, \frac{1}{2} - z; x, \frac{1}{2} - y, \frac{1}{2} + z.$

General:

hkl : No conditions

$h0l$: $l=2n$

$0k0$: $k=2n$

Special: as above, plus

2 d $\bar{1}$ $\frac{1}{2}, 0, \frac{1}{2}; \frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0.$
2 c $\bar{1}$ $0, 0, \frac{1}{2}; 0, \frac{1}{2}, 0.$
2 b $\bar{1}$ $\frac{1}{2}, 0, 0; \frac{1}{2}, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}.$
2 a $\bar{1}$ $0, 0, 0; 0, \frac{1}{2}, \frac{1}{2}.$

hkl : $k+l=2n$

Figura 22 – Grupo espacial do composto em estudo (International Table, 1952).

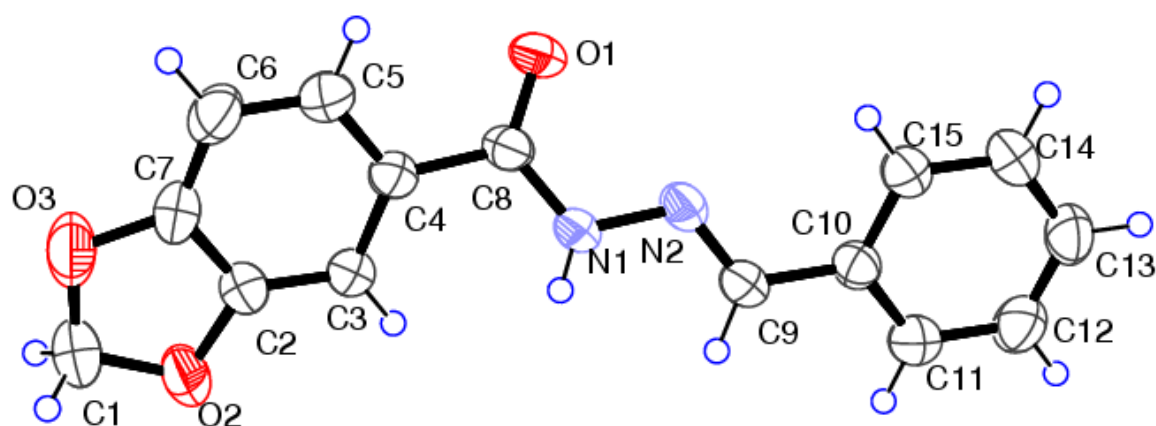
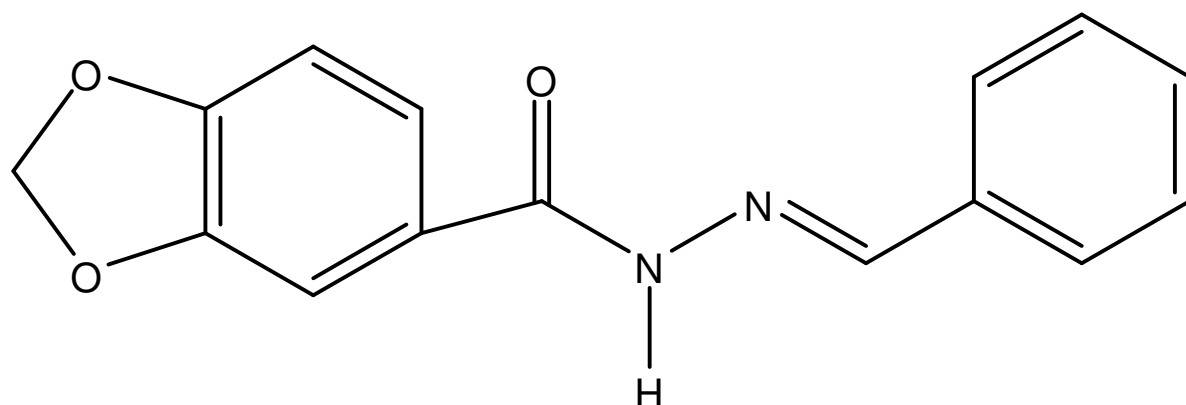


Figura 23 – Estrutura bidimensional e representação ORTEP da LASSBio-123 com os respectivos átomos identificados.

Tabela 3 – Coordenadas de posições atômicas fracionárias ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) para átomos não hidrogênios da LASSBio-123, com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo	x	y	z	U(eq)
C(1)	4703(2)	11117(1)	-3720(2)	68(1)
C(2)	3990(1)	9965(1)	-2112(2)	45(1)
C(3)	3642(1)	9075(1)	-1389(1)	43(1)
C(4)	3138(1)	9225(1)	-7(1)	40(1)
C(5)	3029(1)	10233(1)	578(2)	51(1)
C(6)	3386(2)	11125(1)	-190(2)	60(1)
C(7)	3866(1)	10963(1)	-1536(2)	52(1)
C(8)	2716(1)	8328(1)	900(1)	40(1)
C(9)	1776(1)	5742(1)	306(1)	44(1)
C(10)	1288(1)	4839(1)	1090(1)	41(1)
C(11)	1357(1)	3836(1)	482(2)	52(1)
C(12)	900(2)	2970(1)	1208(2)	60(1)
C(13)	349(2)	3102(1)	2525(2)	59(1)
C(14)	273(1)	4096(1)	3133(2)	57(1)
C(15)	739(1)	4960(1)	2435(2)	48(1)
N(1)	2376(1)	7443(1)	163(1)	43(1)
N(2)	1934(1)	6617(1)	980(1)	43(1)
O(1)	2661(1)	8399(1)	2254(1)	54(1)
O(2)	4500(1)	10022(1)	-3466(1)	70(1)
O(3)	4288(1)	11700(1)	-2499(2)	75(1)

Tabela 4 – Coordenadas das posições atômicas ($\times 10^4$) fracionárias e parâmetros térmicos isotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) para átomos de hidrogênio da LASSBio-123, com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo	x	y	z	U(eq)
H(1A)	5535	11244	-3830	81
H(1B)	4294	11340	-4622	81
H(3)	3735	8404	-1791	51
H(5)	2710	10315	1506	62
H(6)	3301	11802	197	72
H(9)	1972	5677	-681	53
H(11)	1712	3743	-422	63
H(12)	967	2298	802	71
H(13)	30	2523	3003	71
H(14)	-99	4186	4027	69
H(15)	688	5627	2863	57
H(1N1)	2432	7389	-821	65

Tabela 5 – Parâmetros de vibração térmica anisotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) dos átomos, sem os hidrogênios, da estrutura LASSBio-123 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
C(1)	78(1)	58(1)	68(1)	15(1)	12(1)	-17(1)
C(2)	48(1)	46(1)	42(1)	2(1)	5(1)	-6(1)
C(3)	51(1)	39(1)	38(1)	0(1)	2(1)	-3(1)
C(4)	44(1)	40(1)	36(1)	0(1)	-1(1)	-1(1)
C(5)	61(1)	46(1)	48(1)	-9(1)	8(1)	-3(1)
C(6)	71(1)	39(1)	70(1)	-10(1)	12(1)	-5(1)
C(7)	53(1)	39(1)	64(1)	5(1)	4(1)	-9(1)
C(8)	47(1)	43(1)	32(1)	0(1)	3(1)	4(1)
C(9)	55(1)	45(1)	33(1)	3(1)	4(1)	-2(1)
C(10)	44(1)	41(1)	36(1)	5(1)	-2(1)	-1(1)
C(11)	63(1)	49(1)	45(1)	-3(1)	4(1)	-4(1)
C(12)	77(1)	41(1)	60(1)	0(1)	-3(1)	-7(1)
C(13)	70(1)	50(1)	58(1)	12(1)	0(1)	-15(1)
C(14)	67(1)	59(1)	46(1)	7(1)	12(1)	-9(1)
C(15)	57(1)	45(1)	42(1)	2(1)	5(1)	-3(1)
N(1)	62(1)	40(1)	29(1)	3(1)	6(1)	-5(1)
N(2)	53(1)	41(1)	34(1)	7(1)	5(1)	-1(1)
O(1)	78(1)	53(1)	30(1)	-2(1)	6(1)	-2(1)
O(2)	100(1)	54(1)	57(1)	7(1)	30(1)	-14(1)
O(3)	92(1)	46(1)	89(1)	10(1)	28(1)	-12(1)

Tabela 6 – Distâncias interatômicas (Å) para a LASSBio-123 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo 1	Átomo 2	Distância
C(1)	O(3)	1,420(2)
C(1)	O(2)	1,424(2)
C(2)	C(3)	1,3668(9)
C(2)	O(2)	1,3725(8)
C(2)	C(7)	1,374(2)
C(3)	C(4)	1,4042(8)
C(4)	C(5)	1,387(2)
C(4)	C(8)	1,4880(8)
C(5)	C(6)	1,391(2)
C(6)	C(7)	1,364(2)
C(7)	O(3)	1,3731(8)
C(8)	O(1)	1,2325(5)
C(8)	N(1)	1,3544(7)
C(9)	N(2)	1,2744(8)
C(9)	C(10)	1,4632(9)
C(10)	C(11)	1,385(2)
C(10)	C(15)	1,391(2)
C(11)	C(12)	1,385(2)
C(12)	C(13)	1,371(2)
C(13)	C(14)	1,376(2)
C(14)	C(15)	1,376(2)
N(1)	N(2)	1,3836(5)
N(1)	H(1N1)	0,8967

Tabela 7 – Ângulos de ligação (°) para a LASSBio-123 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo 1	Átomo 2	Átomo 3	Ângulo
O(3)	C(1)	O(2)	108,81(3)
C(3)	C(2)	O(2)	127,47(3)
C(3)	C(2)	C(7)	122,81(4)
O(2)	C(2)	C(7)	109,92(13)
C(2)	C(3)	C(4)	116,64(3)
C(5)	C(4)	C(3)	120,56(3)
C(5)	C(4)	C(8)	117,27(2)
C(3)	C(4)	C(8)	122,46(2)
C(4)	C(5)	C(6)	121,75(4)
C(7)	C(6)	C(5)	116,94(14)
C(6)	C(7)	O(3)	128,46(5)
C(6)	C(7)	C(2)	121,78(4)
O(3)	C(7)	C(2)	110,97(4)
O(1)	C(8)	N(1)	121,95(3)
O(1)	C(8)	C(4)	121,37(2)
N(1)	C(8)	C(4)	116,97(1)
N(2)	C(9)	C(10)	119,91(2)
C(11)	C(10)	C(15)	118,83(3)
C(11)	C(10)	C(9)	119,80(3)
C(15)	C(10)	C(9)	121,67(3)
C(10)	C(11)	C(12)	120,67(4)
C(13)	C(12)	C(11)	120,28(5)
C(12)	C(13)	C(14)	119,70(5)
C(13)	C(14)	C(15)	120,90(5)
C(14)	C(15)	C(10)	120,21(5)
C(8)	N(1)	N(2)	117,96(0)

Tabela 7 (continuação)

C(8)	N(1)	H(1N1)	123,7
N(2)	N(1)	H(1N1)	118,4
C(9)	N(2)	N(1)	116,91(1)
C(2)	O(2)	C(1)	105,77(3)
C(7)	O(3)	C(1)	105,83(3)

Tabela 8 – Ângulos de torção (°) para a LASSBio-123 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo 1	Átomo 2	Átomo 3	Átomo 4	Ângulo
O(2)	C(2)	C(3)	C(4)	-179,97(4)
C(7)	C(2)	C(3)	C(4)	0,3(2)
C(2)	C(3)	C(4)	C(5)	-1,2(2)
C(2)	C(3)	C(4)	C(8)	179,84(2)
C(3)	C(4)	C(5)	C(6)	1,6(2)
C(8)	C(4)	C(5)	C(6)	-179,36(4)
C(4)	C(5)	C(6)	C(7)	-1,1(2)
C(5)	C(6)	C(7)	O(3)	-179,78(6)
C(5)	C(6)	C(7)	C(2)	0,2(2)
C(3)	C(2)	C(7)	C(6)	0,1(2)
O(2)	C(2)	C(7)	C(6)	-179,80(5)
C(3)	C(2)	C(7)	O(3)	-179,94(14)
O(2)	C(2)	C(7)	O(3)	0,33(9)
C(5)	C(4)	C(8)	O(1)	-24,7(2)
C(3)	C(4)	C(8)	O(1)	154,52(4)
C(5)	C(4)	C(8)	N(1)	154,19(3)
C(3)	C(4)	C(8)	N(1)	-26,89(9)
N(2)	C(9)	C(10)	C(11)	-165,78(4)
N(2)	C(9)	C(10)	C(15)	15,0(2)
C(15)	C(10)	C(11)	C(12)	-0,8(2)
C(9)	C(10)	C(11)	C(12)	179,92(14)
C(10)	C(11)	C(12)	C(13)	1,5(2)
C(11)	C(12)	C(13)	C(14)	-1,2(3)
C(12)	C(13)	C(14)	C(15)	0,2(3)
C(13)	C(14)	C(15)	C(10)	0,6(2)
C(11)	C(10)	C(15)	C(14)	-0,3(2)
C(9)	C(10)	C(15)	C(14)	179,11(4)

Tabela 8 (continuação)

O(1)	C(8)	N(1)	N(2)	1,4(2)
C(4)	C(8)	N(1)	N(2)	-177,44(1)
C(10)	C(9)	N(2)	N(1)	-178,79(1)
C(8)	N(1)	N(2)	C(9)	-170,37(3)
C(3)	C(2)	O(2)	C(1)	-179,56(6)
C(7)	C(2)	O(2)	C(1)	0,46(9)
O(3)	C(1)	O(2)	C(2)	-0,91(9)
C(6)	C(7)	O(3)	C(1)	179,31(8)
C(2)	C(7)	O(3)	C(1)	-0,82(8)
O(2)	C(1)	O(3)	C(7)	0,94(19)

Tabela 9 – Principais dados cristalográficos para a LASSBio-1004.

Fórmula Molecular	C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₃
Massa molar	282,29
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c
Parâmetros de rede	a = 14,9404(7) Å b = 12,4699(6) Å β = 92,590(3)° c = 7,4705(2) Å
Volume	1390,37(10) Å ³
Z	4
Densidade calculada	1,349 mg/m ³
μ(MoKα)	0,095 mm ⁻¹
F(000)	592
Dimensões do cristal	(0,2 x 0,2 x 0,3) mm veja 123

Dados da coleta

Temperatura (K)	298 K
Radiação (MoKα)	0,713073 Å
Método de resolução	Métodos diretos
<u>Intervalo de θ para a coleta</u>	(3,18 a 27,46)°
Intervalo de indexação	-14 ≤ h ≤ 19, -16 ≤ k ≤ 15, -9 ≤ l ≤ 9
Reflexões coletadas	11.468
Reflexões únicas	3.158
Reflexões observadas	2.224
R interno	0,0337
Número de parâmetros refinados	191

Refinamento

Índice R final [I>2σ(I)]	0,0517
Índice R para todos os dados	0,079
S	1,056
Densidade residual mín. e máx.	(0,146 e -0,163) e. Å ⁻³

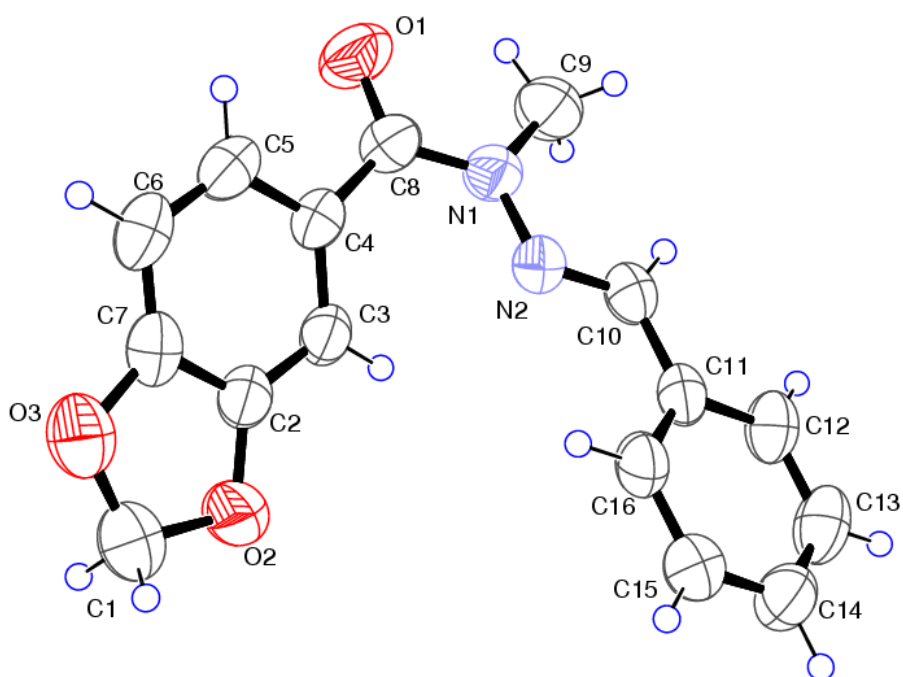
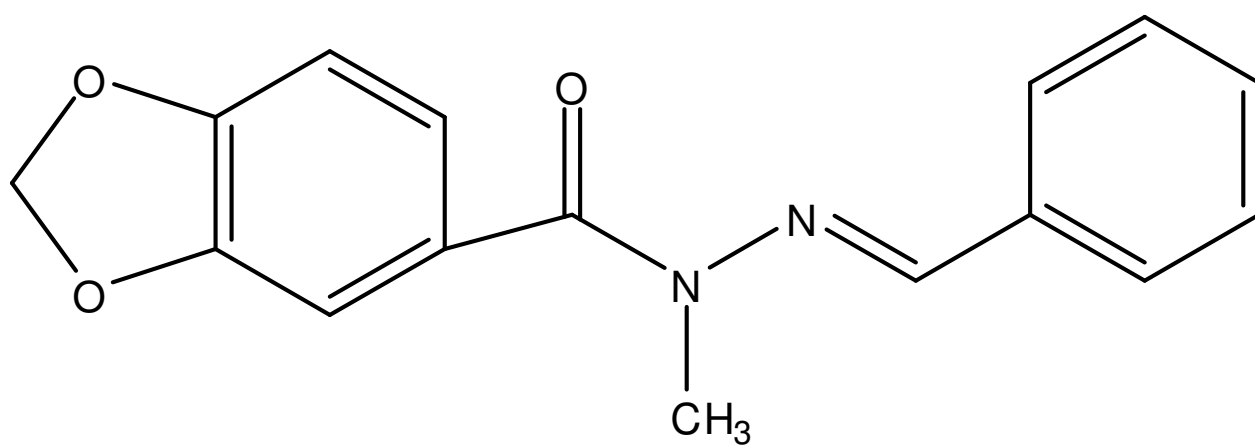


Figura 24 – Estrutura bidimensional e representação ORTEP da LASSBio-1004 com os respectivos átomos identificados.

Tabela 10 – Coordenadas de posições atômicas fracionárias ($\times 10^4$) e parâmetros térmicos isotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) para átomos não hidrogênios da LASSBio-1004, com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo	x	y	z	U(eq)
C(1)	179(2)	3531(2)	895(4)	91(1)
C(2)	1579(1)	4126(1)	1344(2)	56(1)
C(3)	2329(1)	4697(1)	1844(2)	53(1)
C(4)	3155(1)	4259(1)	1408(2)	52(1)
C(5)	3178(1)	3276(1)	519(2)	60(1)
C(6)	2407(1)	2711(1)	19(2)	65(1)
C(7)	1613(1)	3159(1)	447(2)	61(1)
C(8)	4046(1)	4728(1)	1960(2)	61(1)
C(9)	4987(1)	6225(2)	3043(3)	80(1)
C(10)	3527(1)	7485(1)	2030(2)	55(1)
C(11)	2789(1)	8215(1)	1558(2)	51(1)
C(12)	2858(1)	9271(1)	2146(2)	63(1)
C(13)	2169(2)	9983(2)	1822(3)	72(1)
C(14)	1403(1)	9665(2)	901(3)	72(1)
C(15)	1327(1)	8624(2)	278(3)	70(1)
C(16)	2012(1)	7902(1)	607(2)	59(1)
N(1)	4147(1)	5810(1)	2242(2)	59(1)
N(2)	3453(1)	6483(1)	1708(2)	52(1)
O(1)	4698(1)	4138(1)	2208(2)	88(1)
O(2)	702(1)	4394(1)	1609(2)	80(1)
O(3)	760(1)	2777(1)	109(2)	87(1)

Tabela 11 – Coordenadas das posições atômicas ($\times 10^4$) fracionárias e parâmetros térmicos isotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) para átomos de hidrogênio da LASSBio-1004, com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo	x	y	z	U(eq)
H(1A)	-256	3796	-2	109
H(1B)	-142	3190	1840	109
H(3)	2292	5347	2447	63
H(5)	3730	2989	251	72
H(6)	2430	2058	-579	78
H(9A)	5396	5642	3275	120
H(9B)	4873	6583	4148	120
H(9C)	5246	6723	2234	120
H(10)	4054	7752	2569	65
H(12)	3378	9497	2768	76
H(13)	2224	10686	2230	87
H(14)	935	10148	694	86
H(15)	811	8410	-366	84
H(16)	1955	7202	190	71

Tabela 12 – Parâmetros de vibração térmica anisotrópicos ($10^3 \times \text{\AA}^2$) dos átomos, sem os hidrogênios, da estrutura LASSBio-1004 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
C(1)	76(1)	71(1)	125(2)	-14(1)	-2(1)	-17(1)
C(2)	61(1)	43(1)	63(1)	1(1)	2(1)	-1(1)
C(3)	62(1)	38(1)	59(1)	-1(1)	5(1)	0(1)
C(4)	60(1)	42(1)	53(1)	3(1)	1(1)	4(1)
C(5)	73(1)	48(1)	59(1)	1(1)	6(1)	13(1)
C(6)	92(1)	43(1)	59(1)	-6(1)	2(1)	1(1)
C(7)	75(1)	46(1)	60(1)	-1(1)	-4(1)	-9(1)
C(8)	59(1)	56(1)	67(1)	1(1)	2(1)	9(1)
C(9)	56(1)	79(1)	105(2)	-7(1)	-8(1)	-5(1)
C(10)	57(1)	51(1)	56(1)	-2(1)	3(1)	-12(1)
C(11)	61(1)	42(1)	50(1)	-1(1)	10(1)	-10(1)
C(12)	84(1)	45(1)	60(1)	-4(1)	-1(1)	-11(1)
C(13)	108(2)	43(1)	66(1)	-7(1)	9(1)	-1(1)
C(14)	80(1)	55(1)	81(1)	6(1)	17(1)	12(1)
C(15)	61(1)	58(1)	90(1)	2(1)	3(1)	-6(1)
C(16)	63(1)	42(1)	72(1)	-4(1)	7(1)	-10(1)
N(1)	49(1)	56(1)	72(1)	-3(1)	-1(1)	1(1)
N(2)	53(1)	46(1)	58(1)	0(1)	5(1)	-2(1)
O(1)	66(1)	71(1)	127(1)	-5(1)	-13(1)	21(1)
O(2)	57(1)	66(1)	117(1)	-19(1)	3(1)	-8(1)
O(3)	83(1)	71(1)	106(1)	-22(1)	-6(1)	-21(1)

Tabela 13 – Distâncias interatômicas (Å) para a LASSBio-1004 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo 1	Átomo 2	Distância
C(1)	O(2)	1,419(2)
C(1)	O(3)	1,425(3)
C(2)	C(3)	1,365(2)
C(2)	O(2)	1,376(2)
C(2)	C(7)	1,381(2)
C(3)	C(4)	1,402(2)
C(4)	C(5)	1,395(2)
C(4)	C(8)	1,494(2)
C(5)	C(6)	1,387(3)
C(6)	C(7)	1,362(3)
C(7)	O(3)	1,373(2)
C(8)	O(1)	1,229(2)
C(8)	N(1)	1,374(2)
C(9)	N(1)	1,461(2)
C(10)	N(2)	1,275(2)
C(10)	C(11)	1,461(2)
C(11)	C(16)	1,389(2)
C(11)	C(12)	1,390(2)
C(12)	C(13)	1,373(3)
C(13)	C(14)	1,367(3)
C(14)	C(15)	1,382(3)
C(15)	C(16)	1,377(3)
N(1)	N(2)	1,3792(8)

Tabela 14 – Ângulos de ligação (°) para a LASSBio-1004 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo 1	Átomo 2	Átomo 3	Ângulo
O(2)	C(1)	O(3)	108,74(6)
C(3)	C(2)	O(2)	127,62(5)
C(3)	C(2)	C(7)	122,82(6)
O(2)	C(2)	C(7)	109,86(5)
C(2)	C(3)	C(4)	117,10(5)
C(5)	C(4)	C(3)	119,61(6)
C(5)	C(4)	C(8)	115,87(5)
C(3)	C(4)	C(8)	124,62(5)
C(6)	C(5)	C(4)	122,57(6)
C(7)	C(6)	C(5)	116,83(6)
C(6)	C(7)	O(3)	128,78(6)
C(6)	C(7)	C(2)	121,66(6)
O(3)	C(7)	C(2)	109,86(6)
O(1)	C(8)	N(1)	118,97(17)
O(1)	C(8)	C(4)	119,97(7)
N(1)	C(8)	C(4)	121,24(5)
N(2)	C(10)	C(11)	120,57(5)
C(16)	C(11)	C(12)	118,50(6)
C(16)	C(11)	C(10)	123,64(4)
C(12)	C(11)	C(10)	118,12(5)
C(13)	C(12)	C(11)	120,94(8)
C(14)	C(13)	C(12)	120,44(7)
C(13)	C(14)	C(15)	119,85(9)
C(16)	C(15)	C(14)	120,42(9)
C(15)	C(16)	C(11)	120,44(6)
C(8)	N(1)	N(2)	118,65(4)

Tabela 14 (continuação)

C(8)	N(1)	C(9)	119,92(5)
N(2)	N(1)	C(9)	121,71(5)
C(10)	N(2)	N(1)	118,96(14)
C(2)	O(2)	C(1)	105,99(5)
C(7)	O(3)	C(1)	105,94(4)

Tabela 15 – Ângulos de torção (°) para a LASSBio-1004 com os respectivos desvios padrão entre parênteses.

Átomo 1	Átomo 2	Átomo 3	Átomo 4	Ângulo
O(2)	C(2)	C(3)	C(4)	-179,56(6)
C(7)	C(2)	C(3)	C(4)	0,0(2)
C(2)	C(3)	C(4)	C(5)	-0,7(2)
C(2)	C(3)	C(4)	C(8)	-175,47(5)
C(3)	C(4)	C(5)	C(6)	0,9(2)
C(8)	C(4)	C(5)	C(6)	176,13(5)
C(4)	C(5)	C(6)	C(7)	-0,3(3)
C(5)	C(6)	C(7)	O(3)	179,81(7)
C(5)	C(6)	C(7)	C(2)	-0,4(3)
C(3)	C(2)	C(7)	C(6)	0,6(3)
O(2)	C(2)	C(7)	C(6)	-179,92(16)
C(3)	C(2)	C(7)	O(3)	-179,60(5)
O(2)	C(2)	C(7)	O(3)	0,0(2)
C(5)	C(4)	C(8)	O(1)	-25,2(2)
C(3)	C(4)	C(8)	O(1)	149,83(7)
C(5)	C(4)	C(8)	N(1)	156,56(6)
C(3)	C(4)	C(8)	N(1)	-28,7(2)
N(2)	C(10)	C(11)	C(16)	-6,0(2)
N(2)	C(10)	C(11)	C(12)	171,85(5)
C(16)	C(11)	C(12)	C(13)	1,1(3)
C(10)	C(11)	C(12)	C(13)	-176,93(5)
C(11)	C(12)	C(13)	C(14)	-0,4(3)
C(12)	C(13)	C(14)	C(15)	-0,7(3)
C(13)	C(14)	C(15)	C(16)	1,1(3)
C(14)	C(15)	C(16)	C(11)	-0,4(3)
C(12)	C(11)	C(16)	C(15)	-0,7(2)

Tabela 15 (continuação)

C(10)	C(11)	C(16)	C(15)	177,21(6)
O(1)	C(8)	N(1)	N(2)	170,49(6)
C(4)	C(8)	N(1)	N(2)	-11,2(2)
O(1)	C(8)	N(1)	C(9)	-7,8(3)
C(4)	C(8)	N(1)	C(9)	170,67(6)
C(11)	C(10)	N(2)	N(1)	-177,28(3)
C(8)	N(1)	N(2)	C(10)	177,98(5)
C(9)	N(1)	N(2)	C(10)	-4,6(2)
C(3)	C(2)	O(2)	C(1)	-178,54(9)
C(7)	C(2)	O(2)	C(1)	2,1(2)
O(3)	C(1)	O(2)	C(2)	-3,4(2)
C(6)	C(7)	O(3)	C(1)	177,8(2)
C(2)	C(7)	O(3)	C(1)	-2,1(2)
O(2)	C(1)	O(3)	C(7)	3,4(2)

4.2 – DISCUSSÕES DOS RESULTADOS

Como as estruturas deste trabalho diferem apenas em um grupo metila, as discussões serão feitas simultaneamente e os valores em questão serão colocados em forma de pequenas tabelas para melhor visualização dos mesmos. A fim de uma análise mais completa dos resultados aqui em questão, foi feita uma busca no banco de dados do CCDC – Cambridge Crystallographic Data Centre, com o objetivo de observar e comparar valores referentes a comprimentos de ligação de estruturas que possuíssem alguma semelhança com a estrutura que ora está sendo estudada. As informações obtidas deste banco de dados estão expostas através de gráficos construídos a partir de análises estatísticas.

O valor médio para as ligações Csp² – Csp² nos anéis benzênicos é de 1,381(3) Å, um pouco menor que 1,392 Å, o comprimento de ligação característico determinado para o benzeno cristalino por Cox, Cruickshank e Smith (1958). Os valores mínimos e máximos para tais tipos de ligação nos dois compostos são mostrados a seguir:

Composto	Ligação e valor mínimo (Å)	Ligação e valor máximo (Å)
LASSBio-123	C6-C7 ; 1,364(2)	C3-C4 ; 1,404(2)
LASSBio-1004	C6-C7 ; 1,362(3)	C3-C4 ; 1,402(2)

Nos dois compostos em estudo o valor médio do ângulo nos seus respectivos anéis benzênicos é de 120,08(3)°, com valores oscilantes mostrados no quadro a seguir:

Composto	Ângulo e valor mínimo (°)	Ângulo e valor máximo (°)
LASSBio-123	C2-C3-C4 ; 116,54(3)	C6-C7-C2 ; 121,78(5)
LASSBio-1004	C5-C6-C7 ; 116,83(6)	C2-C3-C7 ; 122,82(6)

As regiões mostradas a seguir facilitam a compreensão do conteúdo dos três parágrafos seguintes.

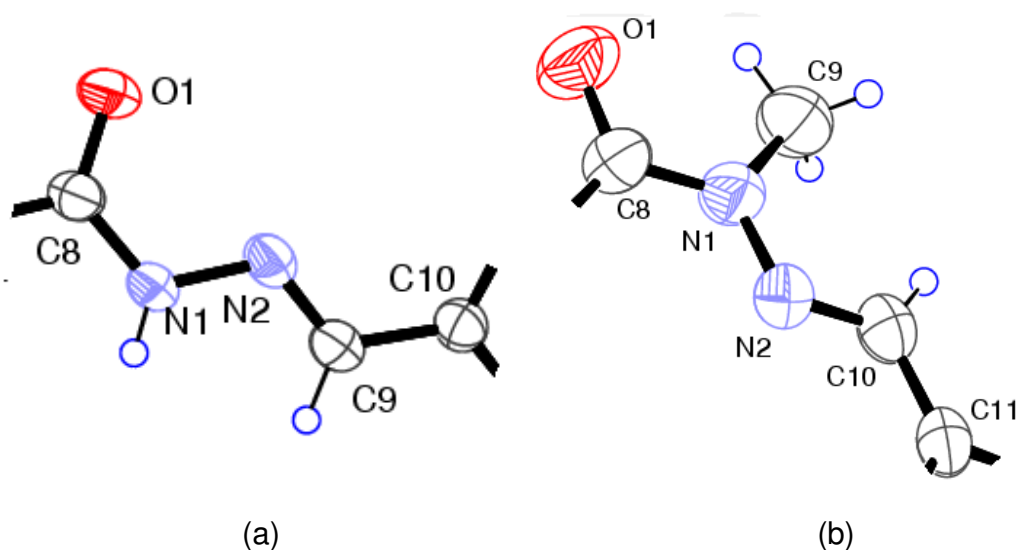


Figura 25 – Fragmentos: (a) LASSBio-123 e (b) LASSBio-1004.

O comprimento de ligação encontrado para a carbonila foi de 1,2325(5) Å para o primeiro composto e de 1,229(2) para o segundo composto (LASSBio-1004), concordando com o valor esperado de 1,24 Å para $C(sp^2) = O$ em amidas. Na figura 26a e na figura *?26b são mostrados gráficos ilustrando o número de estruturas que possuem distâncias de ligação num determinado intervalo de comprimento. O valor experimental para a LASSBio-123 é situada em tal gráfico através da linha vermelha, evidenciando dessa forma que o valor aqui encontrado situa-se na média que sugere o valor de 1,231 Å. Esse gráfico foi construído utilizando dados de 2.012 estruturas. Para a LASSBio-1004 a média sugerida é de 1,229 Å. O segundo gráfico foi construído utilizando dados de 2.515 estruturas.

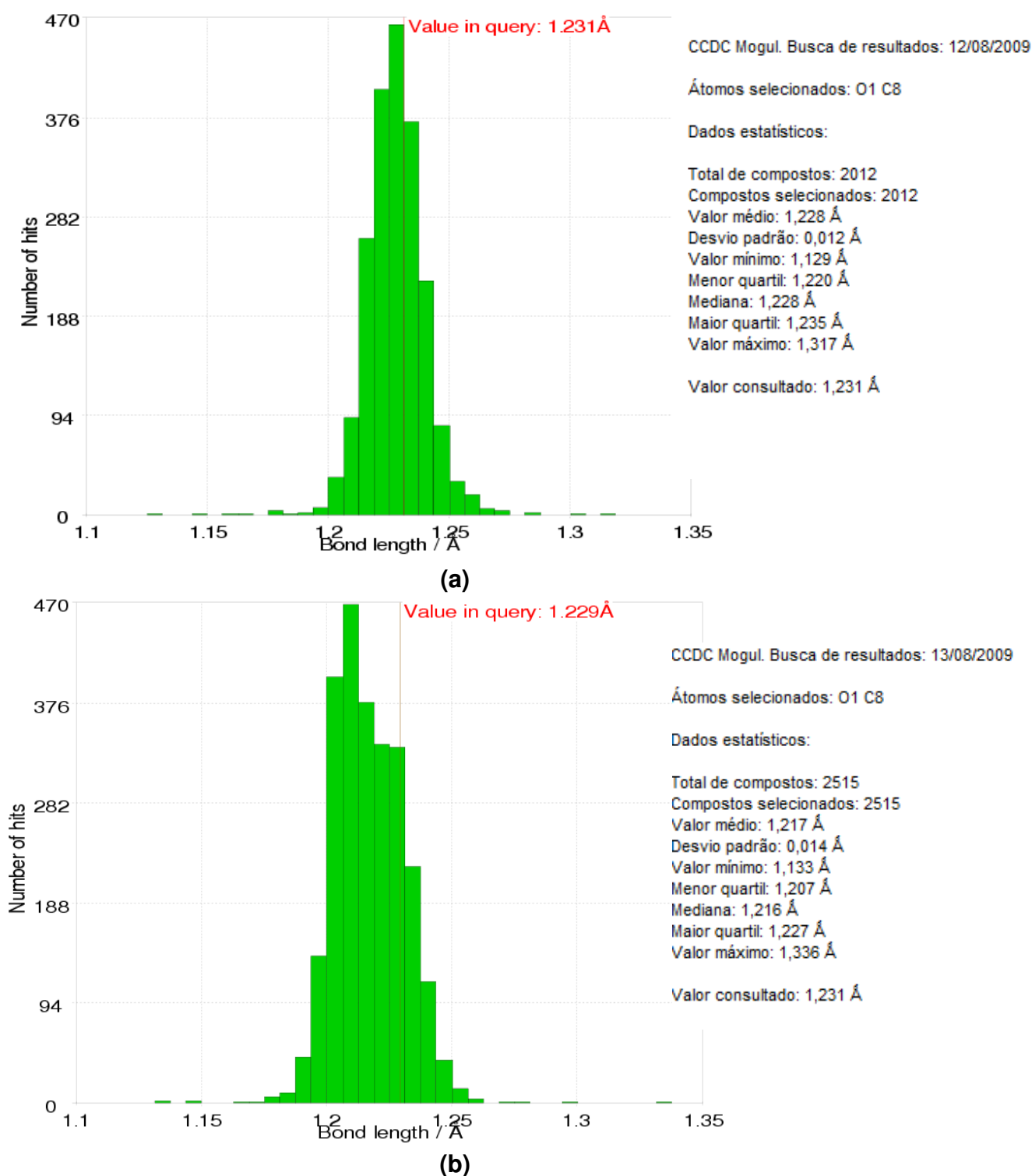


Figura 26 - Histograma comparando o comprimento de ligação C=O em compostos similares.

As ligações N1 – N2 apresentam, respectivamente, comprimentos de 1,3836(5) Å e 1,3792(8) Å para a LASSBio-123 e LASSBio-1004, sendo um pouco abaixo do valor esperado (1,47Å) (International Table, 1962) devido à ligação dupla do N2 com o carbono que precede o anel benzênico. Na análise estatística, valor médio encontrado foi de 1,383 Å e foram utilizadas 421 estruturas para a LASSBio-123, isso pode ser observado na figura 27. A análise estatística para o composto LASSBio-1004 levou em consideração de 9 compostos e o valor médio encontrado foi de 1,378 Å, que pode ser observado na figura 28.

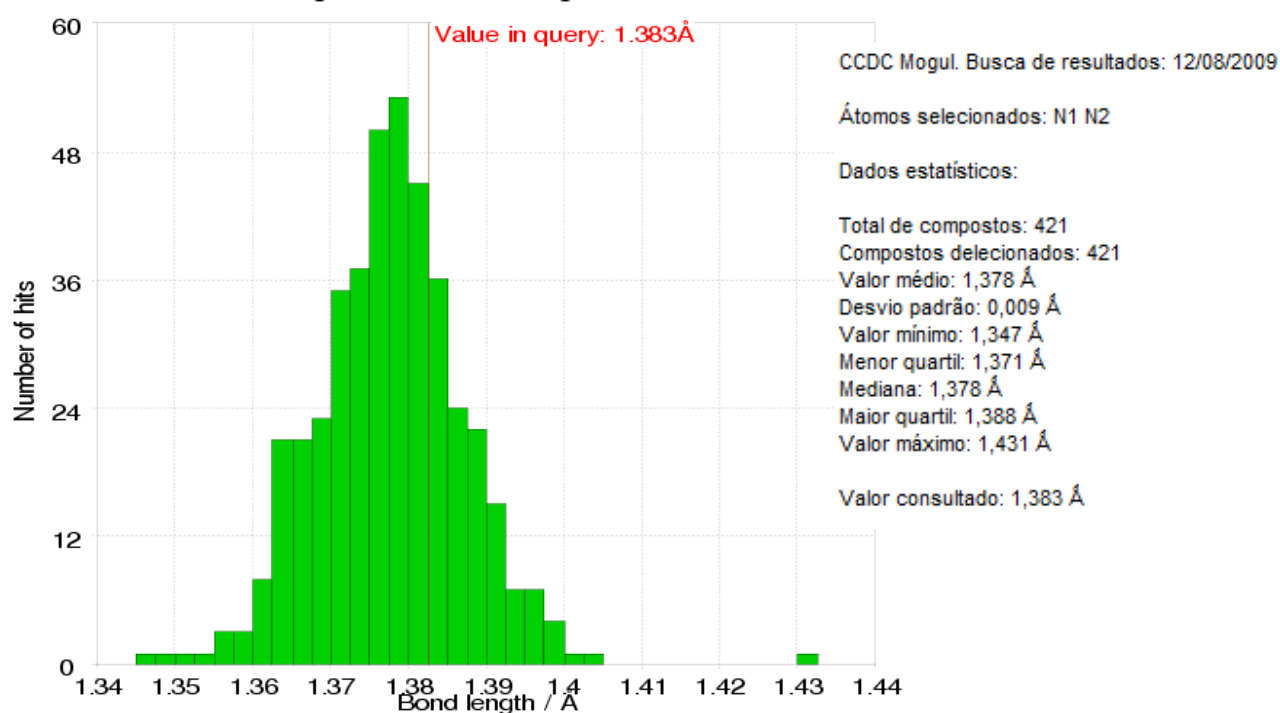


Figura 27 – Histograma comparando o comprimento de ligação N1 – N2 em compostos similares.

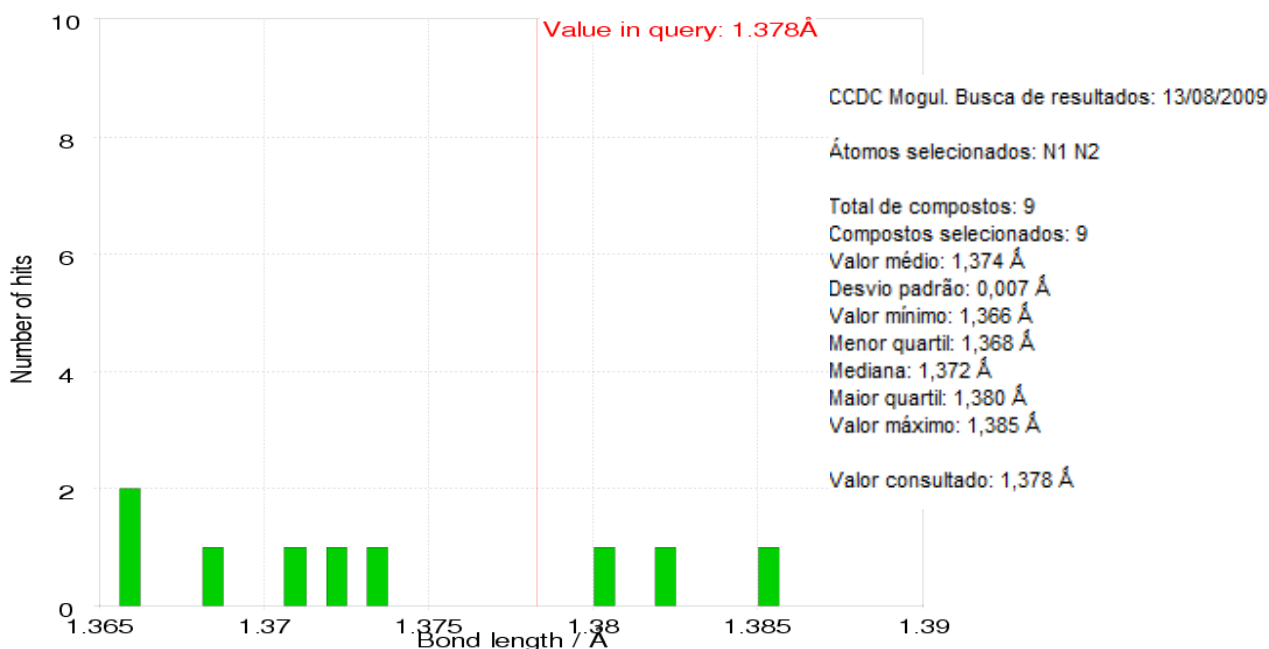


Figura 28 – Histograma comparando o comprimento de ligação N1 – N2 em compostos similares.

Os valores encontrados para os comprimentos da ligação C=N foram de 1,2744(8) Å [C(9)=N(2)] para a LASSBio-123 e de 1,2750(8) Å [C(10)=N(2)] para a LASSBio-1004, podendo ser considerado normal, uma vez que o mesmo se refere a uma ligação dupla envolvendo tais átomos (Tables of Interatomic Distances, 1965). Estatisticamente o valor médio encontrado para a LASSBio-123 em tal ligação foi de 1,273 Å, podendo ser visualizado através da figura 29a. Para o composto LASSBio-1004 foi observado a média de comprimento para tal ligação no valor de 1,275 Å, sendo visualizado na figura 29b.

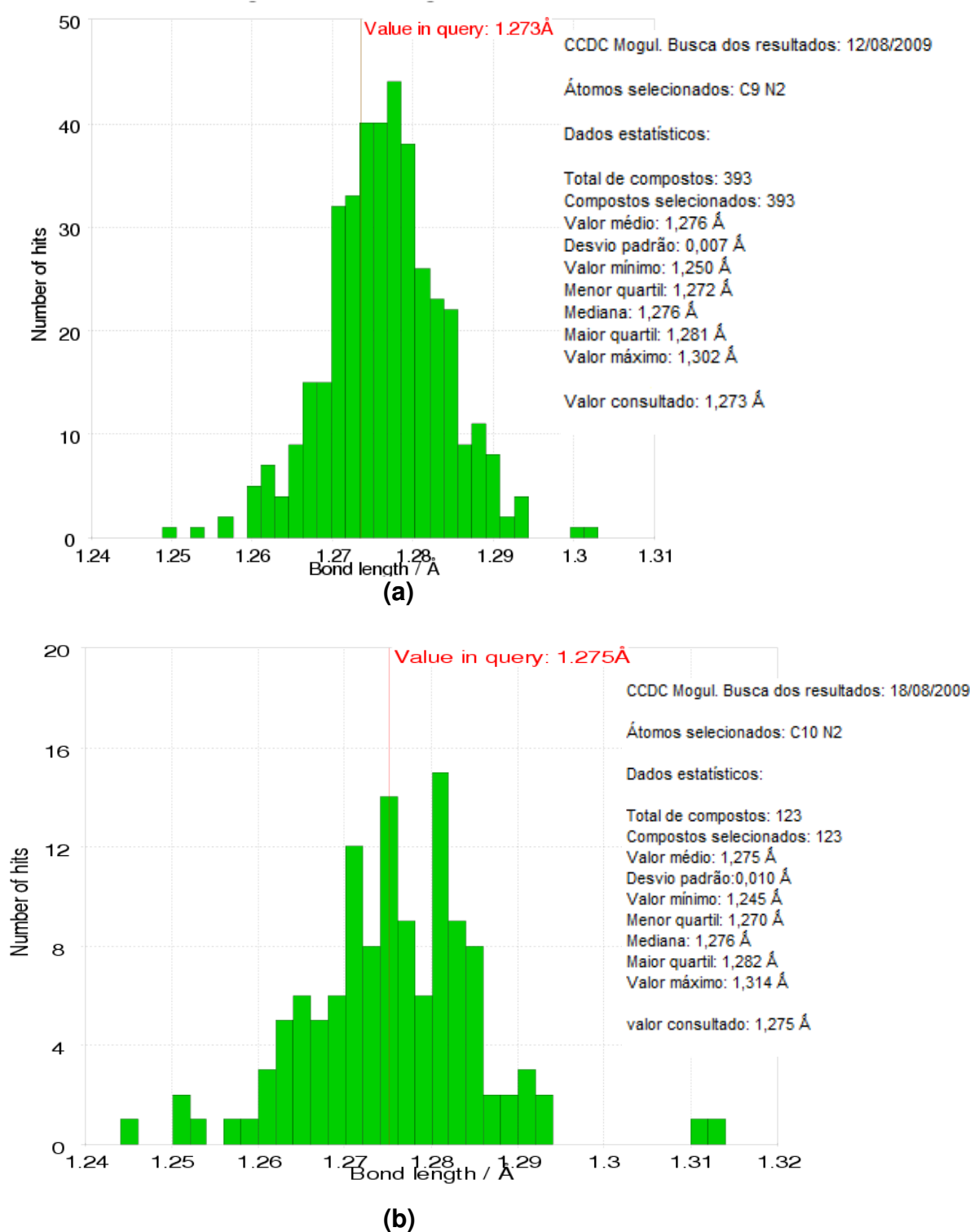


Figura 29 – Histograma comparando o comprimento de ligação C=N em compostos similares.

As ligações C-O do grupo metilenodioxila são mostradas e comparadas no quadro seguinte para os dois compostos. Os valores médios de tais ligações estão de acordo com os encontrados na literatura para estes tipos de ligação (March, 1992).

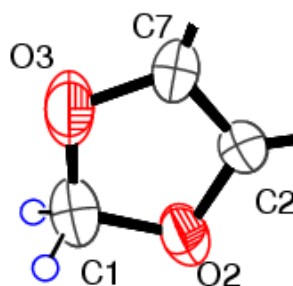


Figura 30 - Anel metilenodiox

Composto	Ligação Csp ² -O átomos envolvidos e valores (Å)	Valor da literatura	Ligação Csp ³ -O átomos envolvidos e valores (Å)	Valor da literatura
LASSBio-123	C2 – O2 ; 1,3725(8)	1,36 Å	O2 – C1 ; 1,420(2)	1,43 Å
	C7 – O3 ; 1,3731(8)		O3 – C1 ; 1,424(2)	
LASSBio-1004	C2 – O2 ; 1,3760(2)		O2 – C1 ; 1,419(2)	
	C7 – O3 ; 1,3730(2)		O3 – C1 ; 1,425(2)	

A análise estatística dos comprimentos de ligação C-O para o composto LASSBio-123 está ilustrada nas figuras 31 e 32 e seus valores médios foram localizados levando-se em consideração compostos com mesmo tipo de ligação. Para a análise das ligações entre C1-O3 e C1-O2, foram levadas em consideração 976 estruturas que apresentaram semelhança com o composto alvo do estudo. Para as ligações envolvendo os átomos C2-O7 e C7-O3, foram verificadas 897 estruturas com tal semelhança.

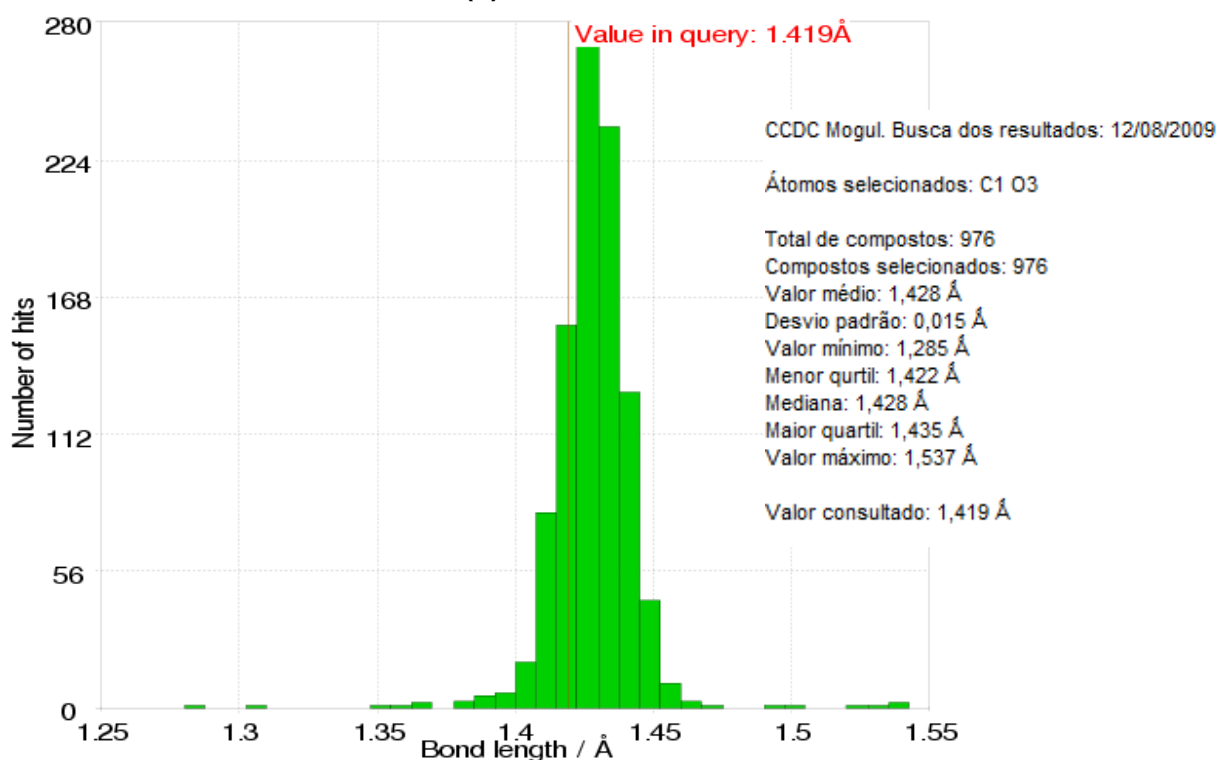
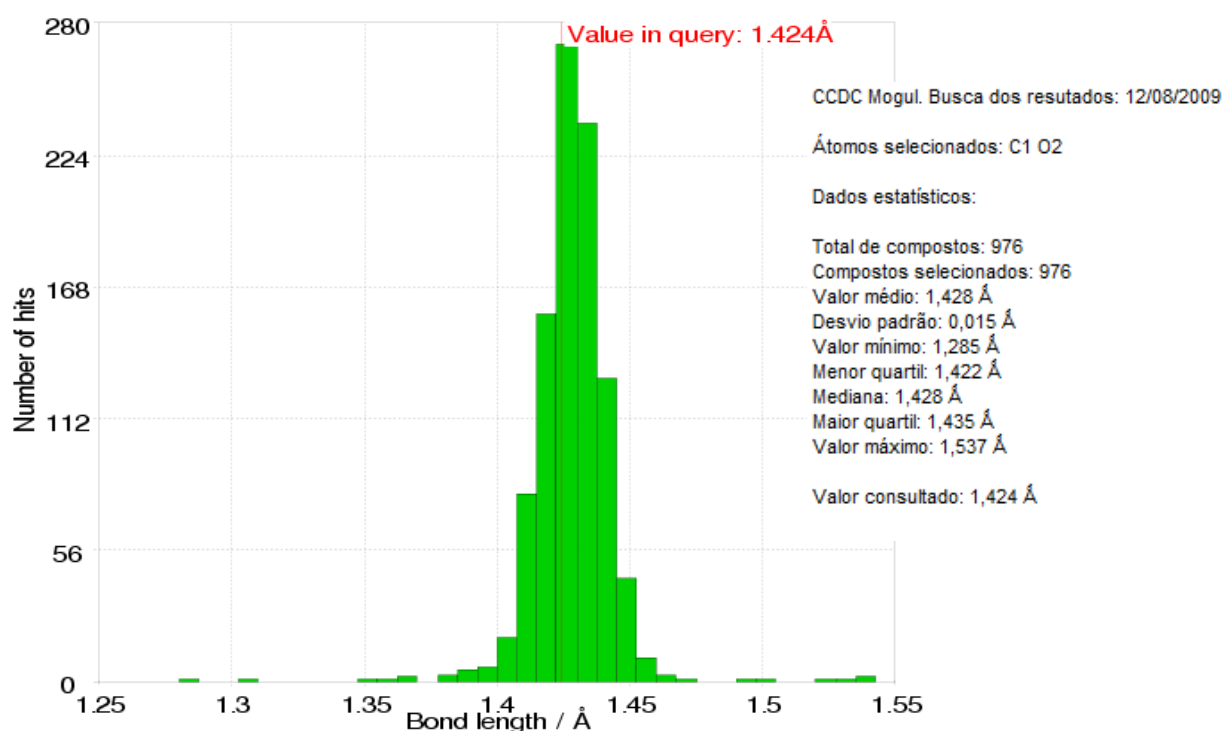


Figura 31 – Histograma comparando o comprimento de ligação C-O em compostos similares para a LASSBio-123.

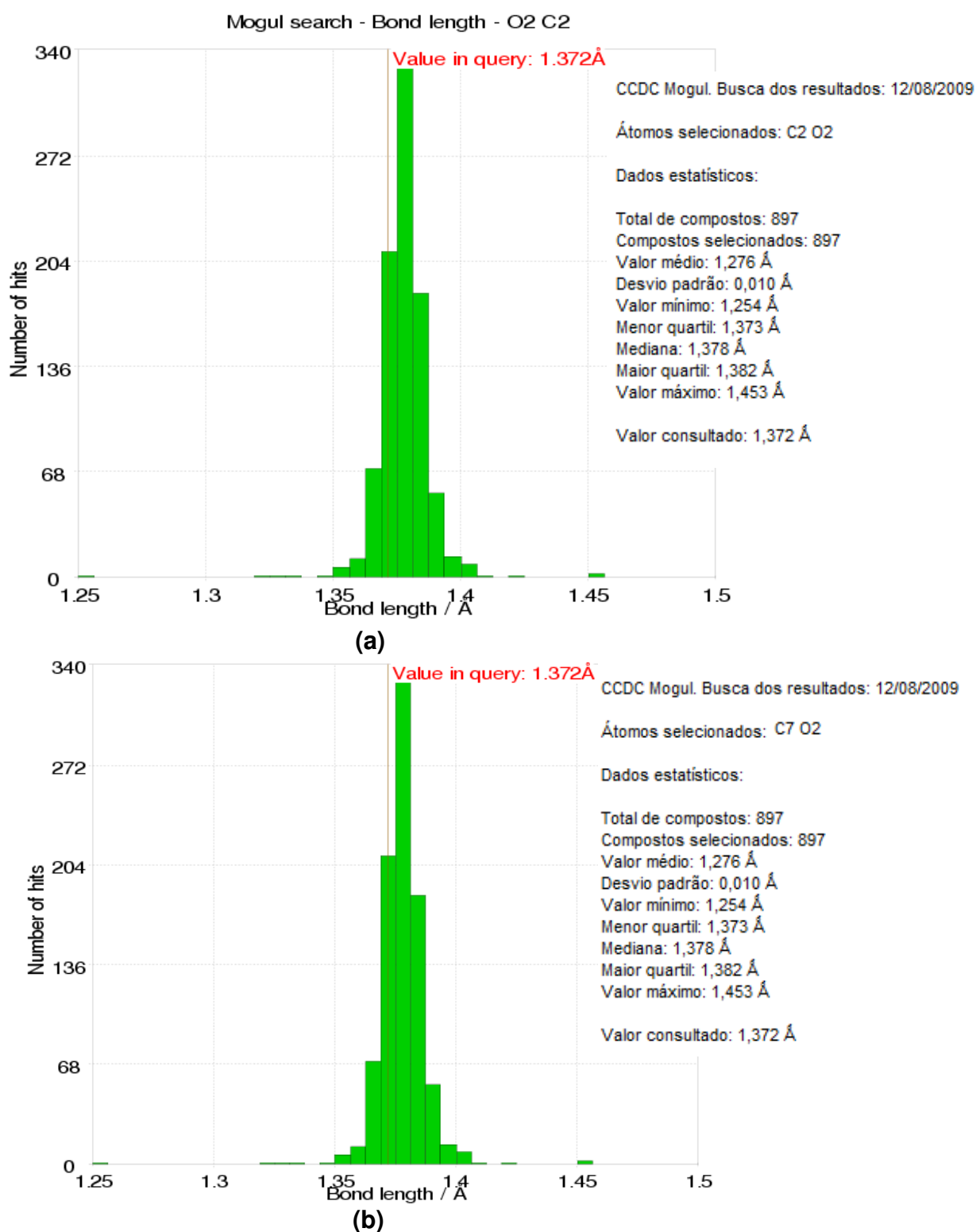


Figura 32 – Histograma comparando o comprimento de ligação C-O em compostos similares para a LASSBio-123.

Para o composto LASSBio-1004, temos tal análise representada nas figuras 33 e 34. Onde nas ligações envolvendo os átomos C1-O2, C1-O3, C2-O2 e C7-O3, foram observadas as mesmas quantidades de estruturas utilizadas na análise da LASSBio-123, para tal tipo de ligação.

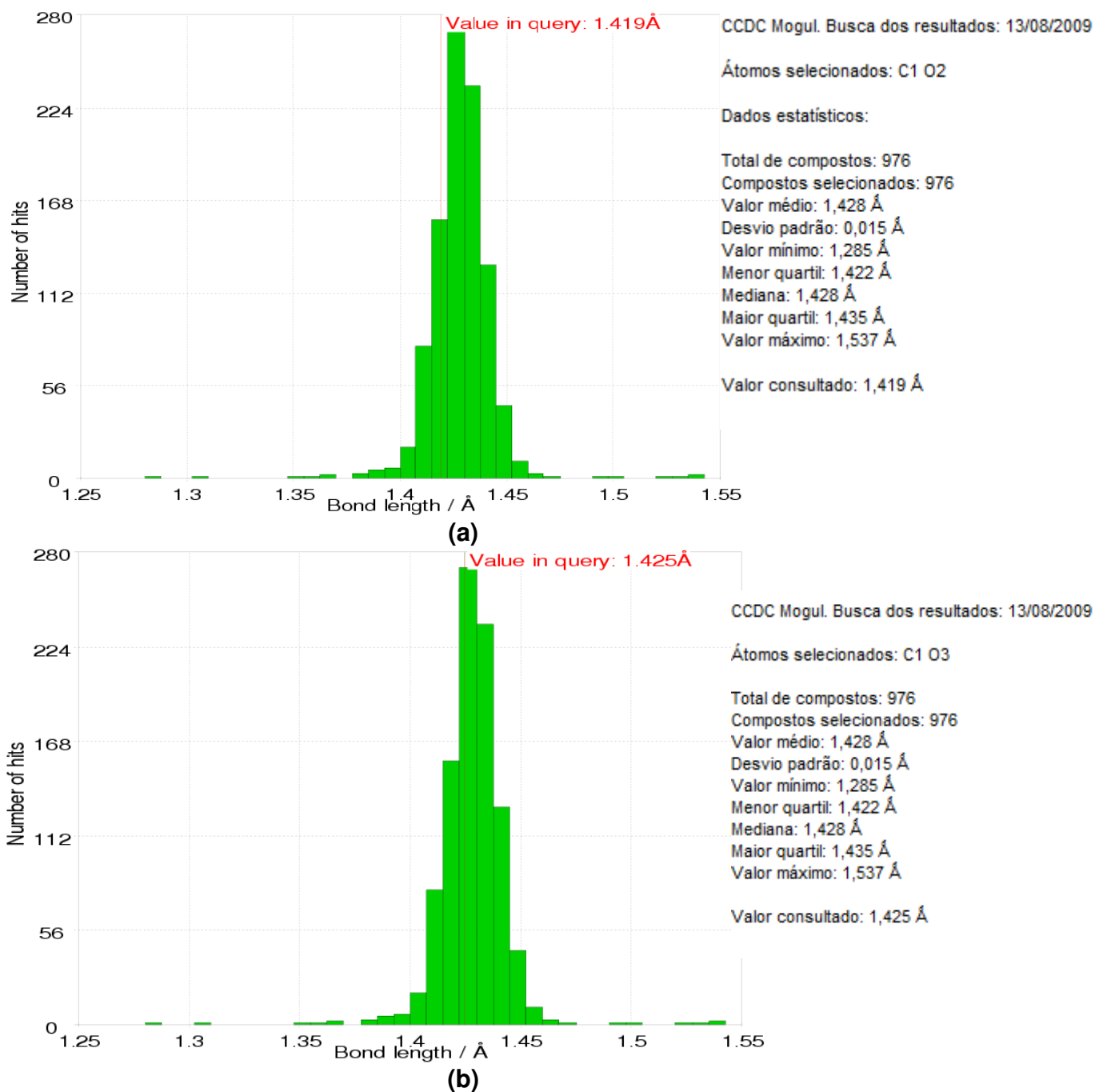


Figura 33 – Histograma comparando o comprimento de ligação C-O em compostos similares para a LASSBio-1004.

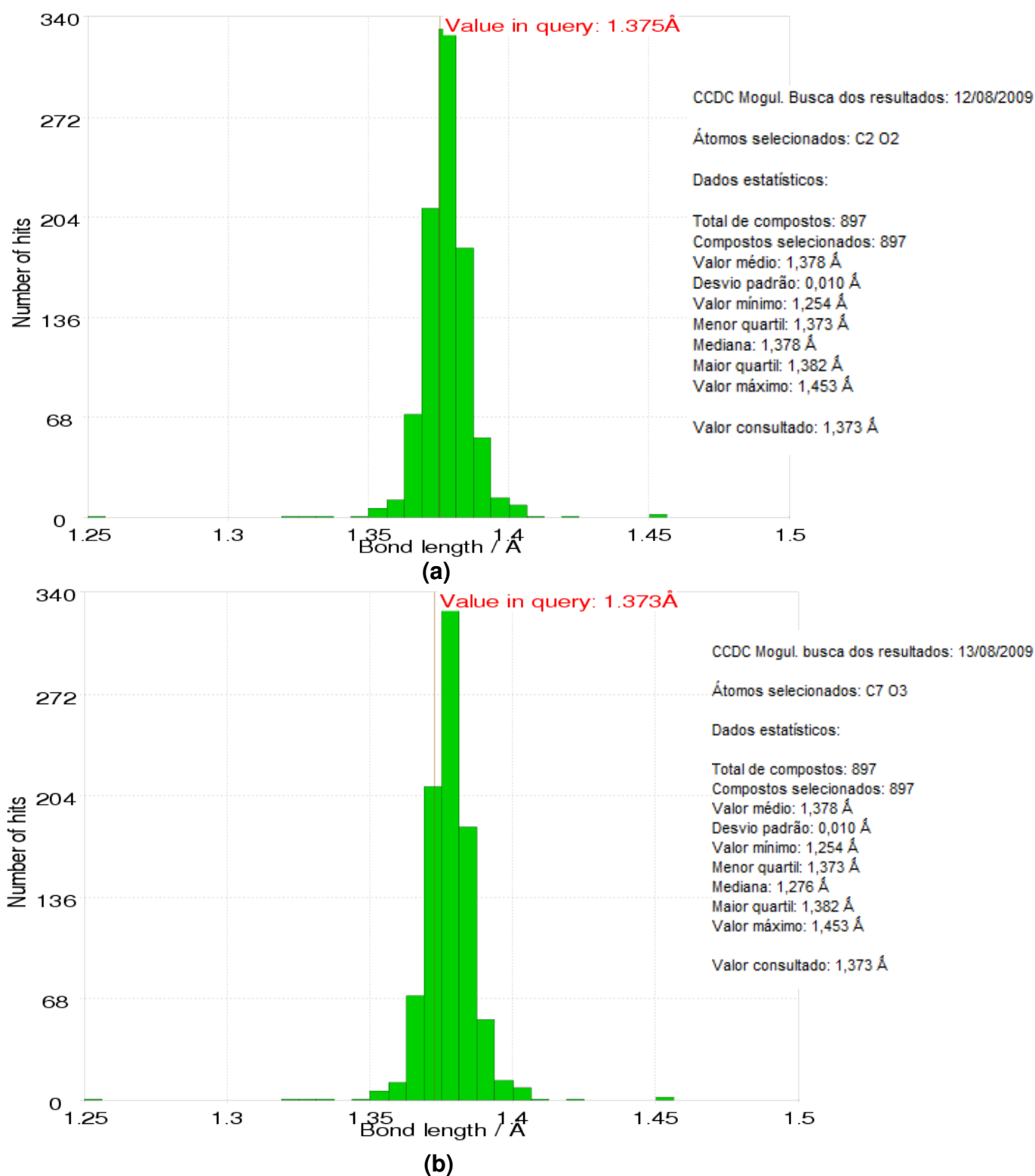


Figura 34 – Histograma comparando o comprimento de ligação C-O em compostos similares para a LASSBio-1004.

Traçando um plano médio ao longo do anel benzênico e do grupamento metilenodioxila, observa-se a planaridade do biciclo uma vez que o ângulo diedro calculado é de $0,4(1)^\circ$ para a LASSBio-123 e de $0,0(1)^\circ$ para a LASSBio-1004. Alguns ângulos de torções como os mostrados a seguir confirmam a afirmação anterior.

Ângulo de torção	Valores ($^\circ$) LASSBio-123	Valores ($^\circ$) LASSBio-1004
C3-C2-C7-C6	0,10(2)	0,60(3)
O2-C1-O3-C7	1,04(9)	3,40(2)
O2-C2-C7-C6	-179,80(5)	-179,90(2)
C1-O2-C2-C3	-179,56(6)	-178,54(9)
C3-C2-C7-O3	-179,90(2)	-179,50(5)

O átomo C8, para o caso da LASSBio-123, também pertence a ambos os planos, uma vez que dista 0,005(2) Å do plano relacionado ao anel benzênico e 0,005(2) Å do plano do anel metilenodioxila. No entanto, este mesmo átomo para a substância LASSBio-1004 encontra-se fora dos planos aqui mencionados uma vez que dista 0,093(2) Å do plano relacionado ao primeiro anel e com ângulo de torção C8-C4-C3-C2= $-175,47(3)^\circ$. Em relação ao segundo anel o átomo em questão está a uma distância de 0,138(2) Å. Os átomos de nitrogênio estão completamente fora do plano do biciclo mencionado como mostram os valores a seguir:

Composto	Átomo	Distância (Å) ao anel benzeno	Distância (Å) ao anel metileno diox
LASSBio-123	N1	0,540(2)	0,553(2)
	N2	0,602(2)	0,619(2)
LASSBio-1004	N1	0,328(2)	0,370(2)
	N2	1,109(2)	1,136(2)

Nos dois casos o oxigênio da carbonila não acompanha o plano do biciclo pois dista 0,433(1) Å do plano do anel benzênico e com o ângulo de torção O1 – C8 – C4 – C3= $-154,52(4)^\circ$ para o caso da LASSBio-123 enquanto que tais

valores para o composto LASSbio-1004 são 0,622(1) Å e 149,83(7)°, respectivamente.

O segundo anel benzênico para os dois compostos são perfeitamente planares como mostram os valores dos ângulos de torção a seguir:

Composto	Ângulos de torção(°)	Composto	Ângulos de torção (°)
LASSBio-123	C10-C11-C12-C13 = 1,5(2)	LASSBio-1004	C16-C11-C12-C13 = 1,1(3)
	C11-C12-C13-C14 = -1,2(3)		C11-C12-C13-C14 = -0,4(3)
	C12-C13-C14-C15 = 0,2(3)		C12-C13-C14-C15 = -0,7(3)
	C13-C14-C15-C10 = 0,6(2)		C13-C14-C15-C16 = 1,1(3)
	C14-C15-C10-C11 = -0,3(2)		C14-C15-C16-C11 = -0,4(3)
	C15-C10-C11-C12 = -0,8(2)		C15-C16-C11-C12 = -0,7(2)

As discussões feitas a seguir são facilitadas com a visualização dos fragmentos das duas estruturas mostradas abaixo.

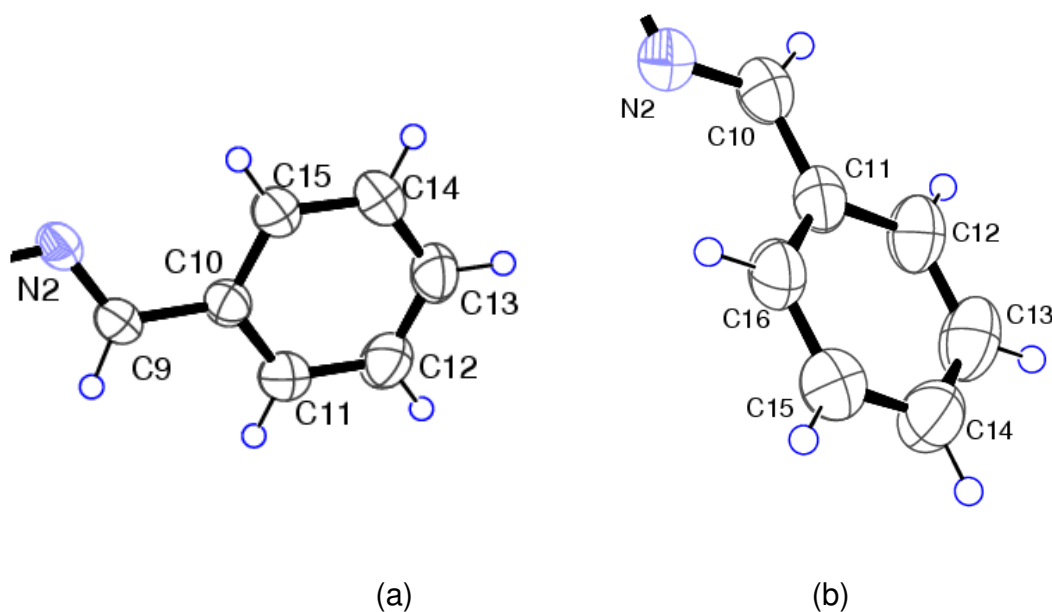


Figura 35 – Fragmentos: (a) LASSBio-123 e (b) LASSBio-1004.

Nas duas substâncias em estudo o carbono que precede tal anel (C9 e *C10) também acompanha o plano dos mesmos, como pode ser visto para ângulo de torção C9-C10-C11-C12 de valor $179,90(1)^\circ$ para o caso da LASSBio-123 e de $-176,90(5)^\circ$ envolvendo os átomos C10-C11-C12-C13 para o caso da LASSBio-1004. Observa-se também que nos dois casos o átomo de nitrogênio (N2) está fora do plano em questão, ou seja, em se tratando de LASSBio-123 o ângulo de torção N2-C9-C10-C15= $15,0(2)^\circ$ e o ângulo de torção envolvendo os átomos N2-C10-C11-C12= $171,80(5)^\circ$ para o caso da LASSBio-1004 confirmam o que foi dito anteriormente.

Até o presente momento foi constatado que as duas moléculas dos compostos alvo deste estudo apresentam duas regiões planares, sendo uma envolvendo o biciclo benzenodioxola e a outra o segundo anel fenila terminal. Cabe salientar que no caso da LASSBio-123 o ângulo entre as regiões planares aqui mencionadas é de $5,2(1)^\circ$, enquanto que o valor do referido ângulo para a LASSBio-1004 é de $29,09(1)^\circ$. As figuras 36 e 37 ilustram as afirmações aqui mencionadas.

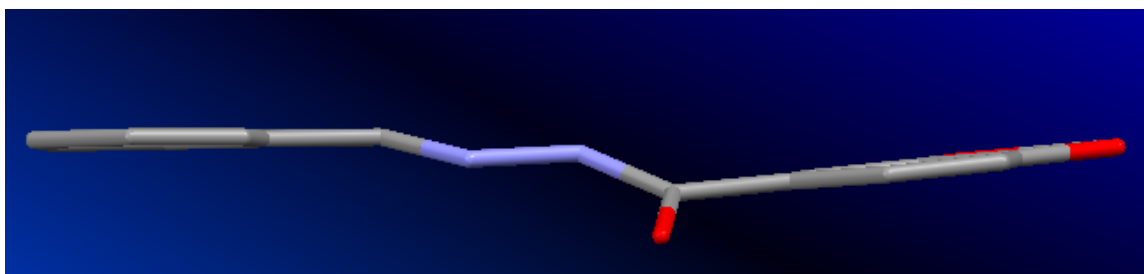


Figura 36 - Representação da LASSBio-123 evidenciando regiões planas da molécula.

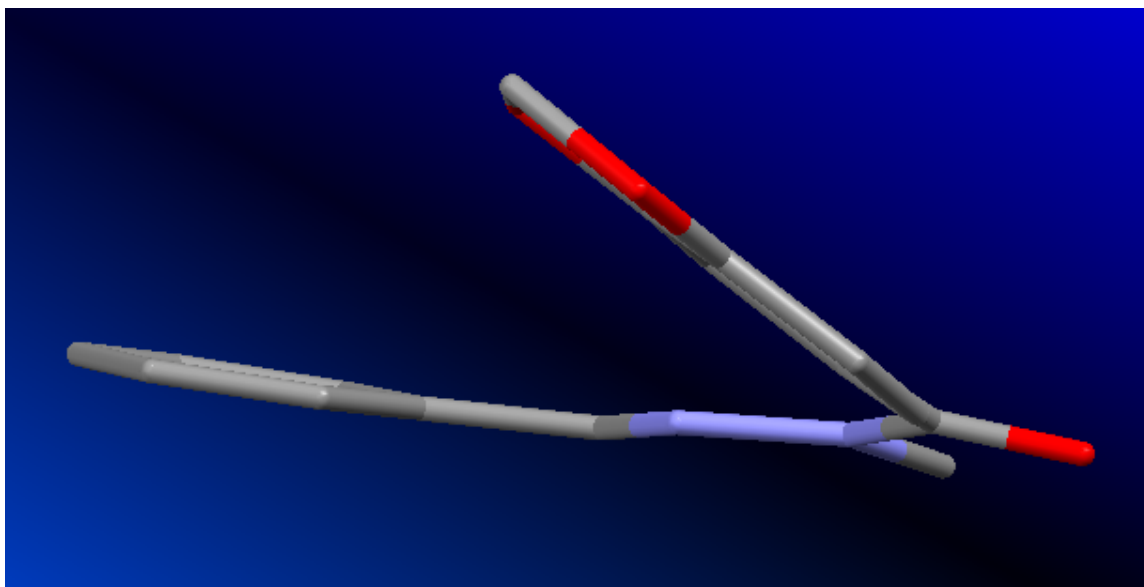


Figura 37 - Representação da LASSBio-1004 evidenciando regiões planas da molécula.

Neste caso como as duas substâncias diferem apenas num grupo metila ligado ao nitrogênio N1 então é perfeitamente concebível tentar entender como um pequeno grupo causa tamanha mudança conformacional nas duas moléculas.

Como já mencionado, para o caso da LASSBio-123 o átomo C8 acompanha o plano médio do biciclo benzodioxola enquanto o oxigênio da carbonila está fora do referido plano. No entanto o conjunto de átomos C8, O1, N1 e N2 são coplanares uma vez que o ângulo de torção envolvendo os mesmos átomos é de $1,4(2)^\circ$. Pode-se dizer que a planaridade entre esses átomos tem grande importância uma vez que favorece a estrutura de ressonância que relaciona o átomo O1 e o átomo N1 e vem contribuir para a estabilidade da molécula, já que o átomo O1 não entra em ressonância com o anel benzênico. A não coplanaridade do O1 com o biciclo evita a perda do caráter aromático do anel benzênico, uma vez que tal perda seria um processo energeticamente inviável.

Em se tratando da LASSBio-1004 não somente o átomo O1 bem como o átomo C8 estão fora do plano do biciclo benzodioxola. Também neste caso não é verificada a coplanaridade dos átomos C8, O1, N1 e N2 uma vez que o ângulo de torção O1-C8-N1-N2 tem valor de $170,39(6)^\circ$. Neste caso a possibilidade do O1 entrar em ressonância com o anel benzênico é bem menor do que no caso da

LASSBio-123 uma vez que tal átomo não pertence nem ao plano do anel benzênico nem ao plano formado pelos átomos C8, N1 e N2.

Como já mencionado, a LASSBio-123 cristaliza no grupo espacial $P2_1/c$ com quatro moléculas por cela unitária. Tais moléculas são mantidas no retículo cristalino através de uma ligação de hidrogênio clássica e duas secundárias. Os átomos envolvidos em tais ligações bem como as distâncias e ângulos são mostradas na tabela 15, enquanto estas mesmas ligações são ilustradas na figura 38.

Tabela 16 – Distâncias (Å) e ângulos (°) das interações (hidrogênio e secundárias) e intermoleculares com respectivos desvios padrão para a LASSBio-123.

D - H...A	d (D-H)(Å)	d(H...A)	d(D...A)(Å)	Ângulo(DHA)
C1 - H1A ... O1	0,970(2)	2,512(2)	3,310(1)	139,54(2) *
N1 -H1N1...O1	0,897(1)	2,029(1)	2,866(1)	154,69(7) **
C9 -H9...O1	0,930(1)	2,356(1)	3,158(2)	144,26(8) **

(*) -x+1, -y+2, -z

(**) x, -y+1/2+1, z-1/2

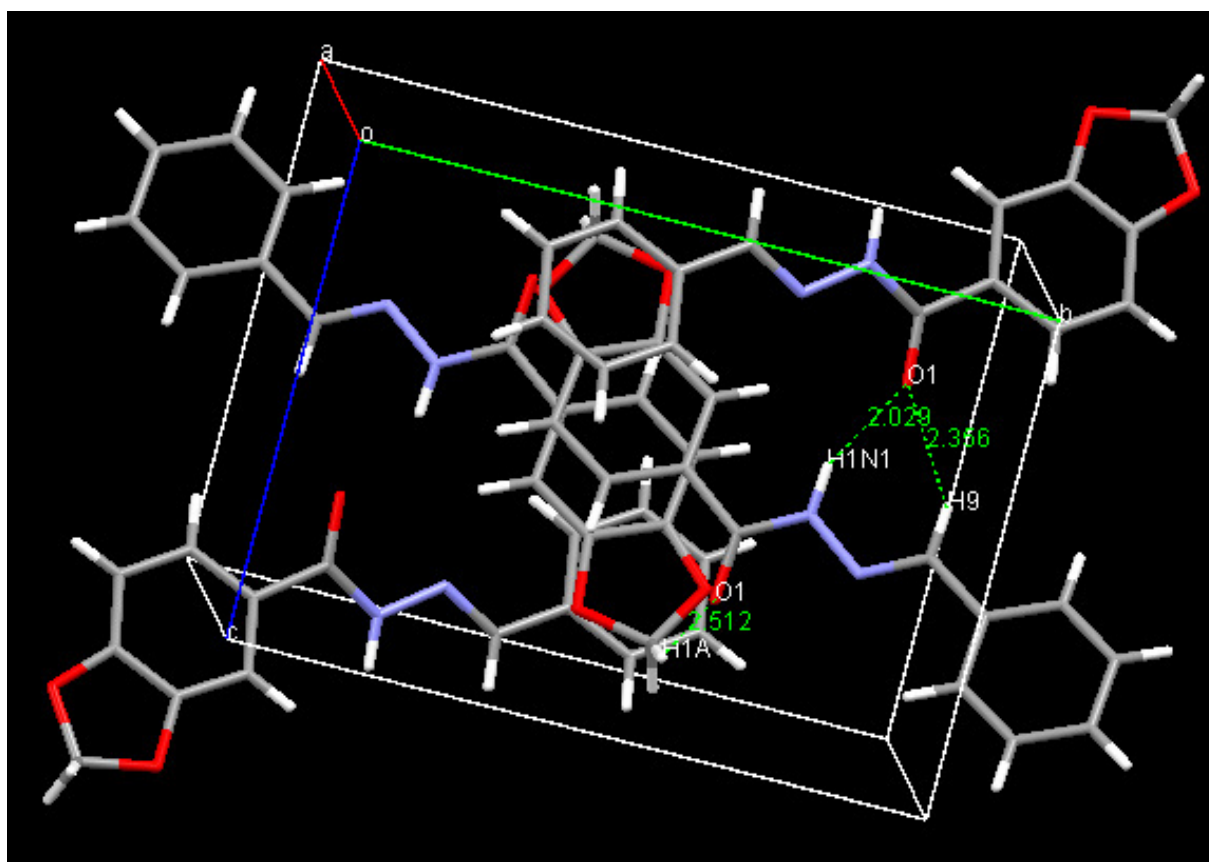


Figura 38 - Empacotamento cristalino da estrutura LASSBio-123 mostrando as ligações de hidrogênio intermoleculares.

A LASSBio-1004 também cristaliza no mesmo grupo espacial $P2_1/c$ e com o mesmo número de moléculas por cela unitária. No entanto, não é observado para tal substância a presença de ligação de hidrogênio clássica intermolecular como foi verificado para a LASSBio-123. Verifica-se a ocorrência de uma ligação secundária intermolecular e duas de tais ligações intramoleculares como mostrados na tabela 17 e ilustradas na figura 39.

Tabela 17 – Distâncias (Å) e ângulos (°) de interações secundárias intra e intermolecular com respectivos desvios padrão para a LASSBio-1004.

D - H...A	d (D-H)(Å)	d(H...A)	d(D...A)(Å)	Ângulo(DHA)
C(3) - H(3) ...N(2)	0,93	2,33	2,795(2)	111
C(9) - H(9A)...O(1)	0,96	2,27	2,707(3)	107
C(10) - H(10) ..O(1)	0,93	2,54	3,386(2)	151 *

(*)1-x,1/2+y,1/2-z

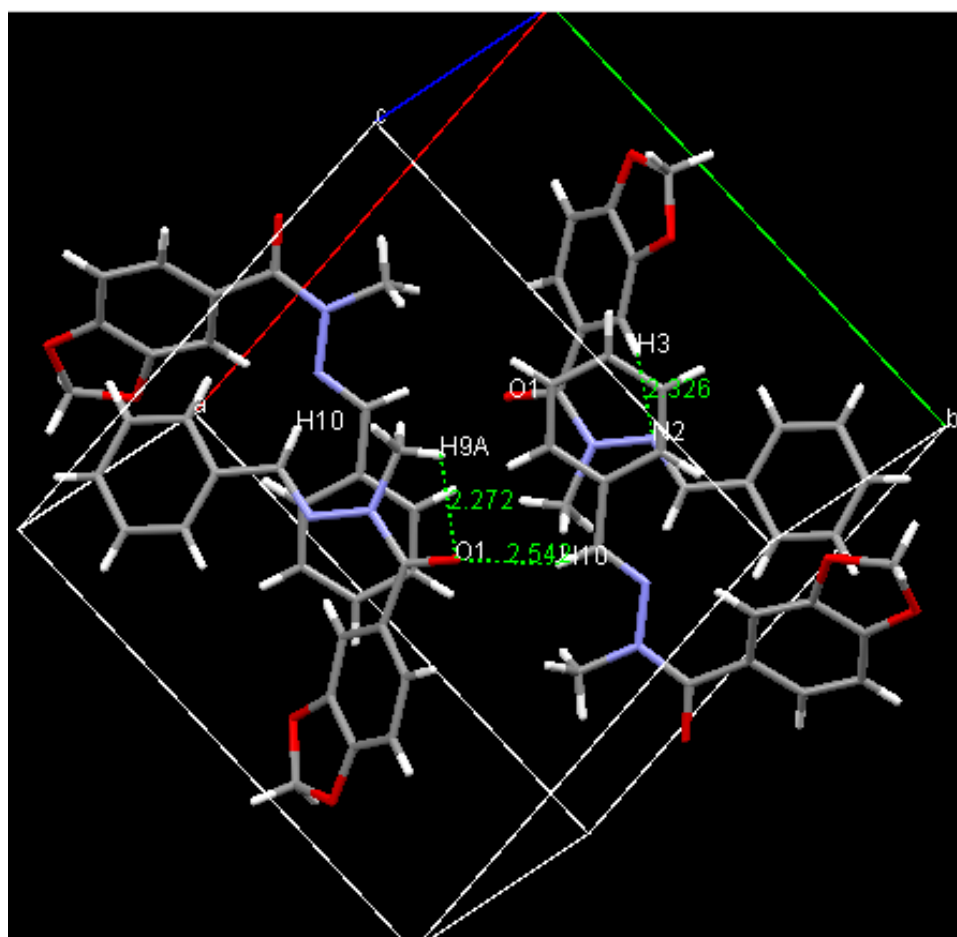
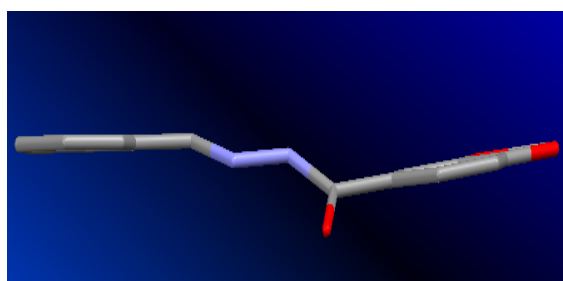


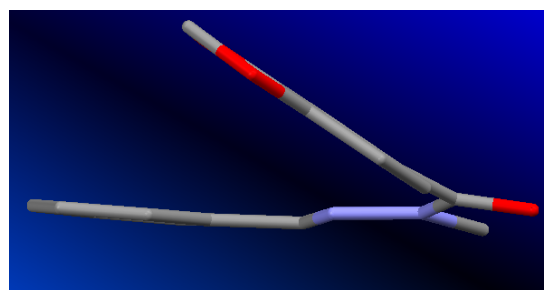
Figura 39 - Empacotamento cristalino da estrutura LASSBio-1004 mostrando as interações secundárias.

Considerações Finais

A determinação estrutural dos dois compostos em estudo foi realizada a partir dos estudos por cristalografia de raios X. A partir destes estudos foi verificado que ocorrem variações conformacionais relacionadas com a substituição dos ligantes do átomo N1 destes compostos, sendo assim pode-se afirmar que quanto mais volumoso o substituinte no átomo N1, mais torcida apresenta-se a estrutura, como pode ser vista na figura 40.



LASSBio-123



LASSBio-1004

Figura 40 – Conformação no estado cristalino dos dois compostos estudados.

Em tais estruturas, quando o átomo de hidrogênio que se liga ao N1 foi substituído por outro ligante, o empacotamento da estrutura cristalina apresentou-se desprovido de ligações de hidrogênio intermoleculares (ver os referidos empacotamentos).

Tais diferenças observadas ao longo do estudo de difração de raios X com LASSBio-123 e LASSBio-1004 podem ser responsáveis pelas diferenças farmacológicas observadas para ambos protótipos. Ademais pressupondo que ambos exerçam sua atividade sobre um mesmo alvo molecular, os resultados obtidos podem sugerir que a conformação dobrada, encontrada para LASSBio-1004, seja a de maior afinidade pelo bioreceptor em questão.

Referências Bibliográficas

ALBERT, A. **Selective Toxicity**, 5ª ed. .Chapman and Hall, London, 1973.

ALBERTY, R. C. **Physical Chemistry**. 2. ed. Massachussets, John Wiley, p. 950, 1996.

AMIGO, J.M.; BRIANSO, M.C.; BRIANSO, J.L.; YLL, R.C.; HUGUET, J.S. **Cristalografia**. Editorial Rueda, Madrid (Espanã), 1981.

ARIENS, E. J. Ed. **Molecular Pharmacology**, vol.I Academic, New York, (1964).

ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de Química. Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente**. Porto Alegre. Bookman Companhia Editora, 2001.

BARREIRO, E. J; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da ação dos Fármacos**. Editora Artmed, Porto Alegre, 2001.

BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1172 – 1180 (2002).

BORGES, F. S. **Elementos de Cristalografia**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1980.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE POLÍTICAS DE SAÚDE. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA. **Manual técnico para o controle da tuberculose: cadernos de atenção básica / Ministério da Saúde**, 6ª ed. rev. e ampl. – Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

CAMARATA, A. Interrelationship of the Regression Models Used for Structure-Activity Analyses. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 6, p. 573-577, (1972).

CAMBRIDGE CRYSTALLOGRAPHIC DATA CENTRE. 12 Union Road. Cambridge, CB2 1EZ, England, disponível em: <http://www.ccdc.cam.ac.uk/> acessado em:12/08/09 e em 13/08/09 .

CARVALHO, L. H.; ROCHA, E. M. M.; RASLAN, D. S.; OLIVEIRA, A. B.; KRETTLI, A. U. BRAZ. **J. Med. Biol. Res.** v. 21, p. 485, 1988.

CARVALHO, I.; PUPO, M. T.; BORGES, A. D. L.; BERNARDES, L. S. C. **Química Nova**, v. 26 n.3, p. 428 - 438, 2003.

CASTELLAN, J. W. **Físico – Química**. Vol. 2. ed. Rio de Janeiro, LTC, p. 490,1978.

CHASSOT, A. I. **Raios X e Radioatividade**. Química Nova na Escola , nº 2, p. 19 - 22, 1995.

KLEIN, C.;HURLBUT JR., C. S. **Manual of Mineralogy**. 20^a ed., ed. John Wiley e Sons, New York, 1985

COX, E. G.; CRUICKSHANK, D. W. J. AND SMITH, J. A. S. **Proc. Roy. Soc.**, London, A, v. 1, p. 247, 1958.

CULLITY, B.D. **Elements of X Ray Diffraction**. Addison - Wesley Publishing Company Inc., USA, 2001.

CUNHA, S. **Química Nova**. v. 31 n.4, 2008, p. 906-909.

DIMASI, J. A.; HANSEN, R. W.; GRABOWSKI, H. G. J. of Health Economics. v. 22, p. 151, 2003.

DIAS, R. L. A.; CORREIA, A. G. Aplicações da Química Combinatória no Desenvolvimento de Fármacos. Química Nova, v. 24, n. 2, p. 236-242, **(2001)**.

ENRAF NONIUS, **Kappa CCD Operation Manual**. Netherlands, p.3, 2001.

FARRUGIA, L. J. WingGX Suite for Small – Molecule Single - Crystal Crystallography. **J. Appl. Cryst.** v. 32, p. 837 -838.

FARRUGIA, L. J. ORTEP3 for Windows **J. Appl. Crystallogr.** 30, 565, 1997.

FLOWER, R. J. **Nature Rev. Drug Discov.** v. 2 p. 179, 2003.

GIACOVAZZO, C.; MONACO, H. L.; VITERBO, D. **Fundamentals of Crystallography**. Vol.2. ed. Oxford Science Publications, p. 654,1995.

INTERNATIONAL TABLES FOR X – RAY CRYSTALLOGRAPHY. Birmingham,lucr,Vol. I, 1962.

INTERNATIONAL TABLES FOR X – RAY CRYSTALLOGRAPHY. Birmingham, lucr,Vol. III, 1962.

KLEIN, C.; HURLBUT, C. S. **Manual de Mineralogia**. 20^a ed. Rio de Janeiro, LTC, 1985.

KÜMMERLE, A.E.; RAIMUNDO, J. M.; LEAL C. M.; SILVA, G. S.; BALLIANO, T. L.; PEREIRA, M. A.; DE SIMONE; C. A.; SUDO, R. T.; ZAPATA-SUDO, G.; FRAGA, C.A.M.; BARREIRO, E.J. Studies towards the identification of putative bioactive conformation of potent vasodilator arylidene N-acylhydrazone derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. V.44, p. 4004-4009.

LADD, M. F. C.; PALMER, R. A. **Structure Determination by X-Ray Crystallography**. Vol 1. Ed. Plenum Press, New York, 1977.

MACIEL, M. A. M. ; PINTO, A. C.; VEIGA Jr.; V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n.3 p. 429-438 (2002).

MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry**. 4^a ed. U. S. A., (1992).

MINISTÉRIO DA SAÚDE. MINISTÉRIO DA SAÚDE, **SAÚDE BRASIL 2006.Uma análise da desigualdade em saúde**. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/saude_brasil_2006.pdf, acessado em 27/03/09.

PADILHA, A. F. **Materiais de Engenharia, Microestrutura e propriedades**.ed.Hemus S.A.,Curitiba, 2000.

PINTO, A. V.; BRITTO, THELMA de BARROS MACHADO; PINTO, M. C. F. R.; LEAL, IVANA, C. R.; AMARAL, ANA CLÁUDIA F.; HUSTER, RICARDO MACHADO; SANTOS, KÁTIA REGINA NETTO dos. In vitro activity of brazilian medicinal plants occurin, naturally ocuring naphthoquinones and their analogs against methiclin – resistant staphylococcus aureus. **International Journal of Atimicrobial Agents**, USA, v.21, p. 279-284, (2003).

SHELDRIK, G. M.; SHELXS 97; **Program for Crystal Structure Resolution**; University of Gottingen, Germany. 1998.

STOUT, G. H.; JENSEN, L. H. **X – Ray Structure Determination**. Vol. 1. ed. Toronto, Macmillan Company, p. 467, 1989.

TABLES OF INTERATOMIC DISTANCES AND CONFIGURATION IN MOLECULES AND IONS (SUPPLEMENT). The chemical society. London, Burlington House, (1965).

VINHAL, M.; **Mortalidade por doença cardíaca são maiores pela manhã**. Disponível em: <http://www.revistavigor.com.br/2008/08/04/mortalidade-por-doenca-cardiaca-sao-maiores-pela-manha/>, acessado em: 26/03/09.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION, **The global burden of disease: 2004 update**. In: www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf, 2008, acessado em 20/06/2009.

WERMUTH, C. G. **The practice of Medicinal Chemistry** 2^a ed. Editor: Elsevier, London, 2003.

πon. **Ligado na Física**. Disponível em: <http://pion.sbfisica.org.br>, acessado em 29/07/09.