

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE FÍSICA
GRUPO DE CRISTALOGRAFIA

**Análise Estrutural Cristalográfica de Protótipos de Fármacos
Derivados de N-fenilpiperazina e de N-acilidrazona**

Rosane de Paula Castro

Goiânia - 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE FÍSICA
GRUPO DE CRISTALOGRAFIA

Análise Estrutural Cristalográfica de Protótipos de Fármacos Derivados de N-fenilpiperazina e de N-acilidrazona

Rosane de Paula Castro

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal de Goiás como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Física.

ORIENTADOR: *Prof. Dr. José Ricardo Sabino*

Goiânia - 2012

”A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso, passará pela vida sem ver nada.”

Albert Einstein

Aos meus pais.

Agradecimentos

- Primeiramente, um agradecimento mais que especial aos meus pais pela dedicação, amor, incentivo e carinho. Aos meus irmãos, companheiros sempre presentes.
- Ao professor Dr. José Ricardo Sabino pela orientação, apoio e pelos valiosos ensinamentos.
- Ao professor Dr. Carlos Basílio Pinheiro pela hospitalidade no Laboratório de Cristalografia da UFMG, na ocasião da coleta de dados.
- Aos amigos do Instituto de Física, pelos momentos agradáveis, que serão sempre lembrados com carinho.
- Ao Instituto de Física da UFG pela oportunidade.
- À CAPES pela concessão da bolsa.

Resumo

Neste trabalho será feita, inicialmente, uma revisão dos fundamentos de cristalografia, além da descrição dos Métodos Diretos, correntemente utilizados na determinação estrutural de pequenas moléculas, e do processo de refinamento da estrutura obtida. Serão apresentadas técnicas de crescimento de cristais e, também, uma discussão sobre o processo de coleta de dados no Difrátômetro CAD4. Posteriormente, serão apresentados o processo de obtenção dos monocristais e as análises cristalográficas de cinco compostos inéditos, que foram sintetizados pelo Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Estes compostos são análogos de fármacos, derivados de N-fenilpiperazina e de N-acilidrazona, fragmentos que apresentam importantes atividades biológicas. Foram elucidadas as estruturas cristalográficas dos seguintes derivados de N-fenilpiperazina: LASSBio-1597, bastante ativo como anti-inflamatório, e o complexo de inclusão do protótipo antipsicótico, LASSBio-579, um agonista do receptor de dopamina, em β -ciclodextrina. Os outros compostos elucidados por cristalografia de raios X foram os derivados de N-acilidrazona LASSBio-1606, análogo do medicamento Piroxicam, e os compostos LASSBio-1586 polimorfo I e LASSBio-1586 polimorfo II, análogos da Combretastatina - A4 com potente atividade citotóxica tendo aplicações no tratamento de câncer, cuja análise cristalográfica teve como objetivo verificar a existência do polimorfismo sugerido pela análise de DSC (*Differential scanning calorimetry*).

Abstract

In this work will be done initially, a review of the fundamentals of crystallography, besides the description of Direct Methods, commonly used in structural determination of small molecules, and the process of refinement of the obtained structure. The techniques for crystal growth will be presented and also a discussion about the process of data collection in the CAD4 diffractometer. Next, the process of obtaining single crystals and the crystallographic analysis of five novel compounds, which were synthesized by the *Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas* (LASSBio) of *Universidade Federal do Rio de Janeiro* (UFRJ), are presented. These compounds are analogues of drugs, derivatives of N-phenylpiperazine and N-acylhydrazones, fragments that have important biological activities. The crystallographic structures of the following derivatives of N-phenylpiperazine were elucidated : LASSBio-1597, very active as anti-inflammatory, and an inclusion complex of the antipsychotic prototype, LASSBio-579, a dopamine receptor agonist, in β -cyclodextrin. The other compounds elucidated by X-ray crystallography are the N-acylhydrazones derivatives LASSBio-1606 analogue of Piroxicam, and compounds LASSBio-1586 polymorph I and LASSBio-1586 polymorph II , combretastatin-A4 analogue having potent anti-cancer activity, whose crystallographic analysis aimed to verify the existence of polymorphism suggested by DSC analysis (Differential scanning calorimetry).

Lista de Abreviações

β CD	Beta-ciclodextrina
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAD4	Computerized Automatic Diffractometer 4 Circles
DSC	Differential scanning calorimetry
INCT-INOVAR	Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fármacos e Medicamentos
LABCRI	Laboratório de Cristalografia
LABEC	Laboratório de Biologia Estrutural e Cristalografia
LASSBio	Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
Unicamp	Universidade de Campinas
UnB	Universidade de Brasília

Lista de Figuras

2.1	Representação dos vetores e ângulos que definem a célula unitária	4
2.2	(a)Rede primitiva - P, (b)Rede centrada no corpo - I, (c)Rede centrada em todas as faces - F, (d)Rede centrada na face - C	5
2.3	Estereograma das cinco rotações cristalograficamente permitidas. Os círculos indicam as posições dos objetos após a atuação da rotação. As elipses, triângulos, quadrados e hexágonos representam a ordem da rotação: 2,3,4 e 6 respectivamente	6
2.4	Estereograma das cinco rotações impróprias	6
2.5	Diagrama das 14 Redes de Bravais representando os sistemas cristalinos e os tipos possíveis de centragem.	9
2.6	Geometria da interpretação de Bragg para a difração de raios X para planos cristalinos paralelos	13
2.7	Representação do vetor diferença entre os feixes incidente e difratado	14
2.8	Plano interceptando os eixos da cela unitária em h,k e l , sendo h,k,l os índices de Miller	15
2.9	Representação esquemática de um tubo de raios X	16
2.10	Transições eletrônicas no processo de produção de raios X	16
2.11	Esquema de funcionamento do monocromador de níquel	17
2.12	Espectro de raios-X de um alvo de Molibdênio, em função da voltagem aplicada.	18
2.13	Primeira radiografia de um membro do corpo humano	19
2.14	Feixe de raios X incidindo em um elétron situado na origem	20
3.1	Dependência do fator de espalhamento atômico f com $\sin \theta/\lambda$. (A) Comportamento qualitativo para um átomo qualquer. (B) Representação quantitativa de f para alguns átomos típicos em estruturas cristalinas	25
4.1	Diagrama de solubilidade	37
4.2	Representação esquemática do método de evaporação lenta	38
4.3	Representação esquemática do método de difusão de vapor	38
4.4	Representação esquemática do método de difusão de líquidos	39

4.5	CAD4 instalado nas dependências do Instituto de Física da UFG	40
4.6	Goniômetro com geometria Kappa do difratômetro CAD4	42
4.7	Cristal visto em um microscópio com luz polarizada.	43
5.1	Representação da estrutura plana do composto LASSBio-1597	45
5.2	Fotografia obtida em microscópio óptico de monocristais do composto LASSBio-1597	46
5.3	Representação ORTEP [23] da unidade assimétrica do composto LASSBio-1597 com elipsóides a 30% de probabilidade.	48
5.4	Representação ORTEP [23] do empacotamento do composto LASSBio-1597 evi- denciando a interação C-H... π^i (i : -1+x,y,z)	49
5.5	Representação ORTEP [23] do empacotamento do composto LASSBio-1597 evi- denciando a interação C-H...O ii (ii : -x, -1/2+y, 1/2-z)	50
5.6	Representação da estrutura plana da molécula de β -ciclodextrina	53
5.7	Representação ORTEP [23] do composto LASSBio-579	54
5.8	Cristais do complexo de inclusão LASSBio-579 em β -ciclodextrina	54
5.9	Representação WINCOOT da densidade eletrônica no interior da β -ciclodextrina . .	55
5.10	Representação Ortep [23] do complexo de inclusão do composto LASSBio-579 em β -ciclodextrina	56
5.11	Representação Ortep [23] do complexo de inclusão do composto LASSBio-579 em β -ciclodextrina	57
5.12	Representação Olex2 [28] do empacotamento do sistema β -ciclodextrina + fármaco .	58
5.13	Cristais do composto LASSBio-1586	59
5.14	Representação ORTEP [23] da unidade assimétrica do composto LASSBio-1586 polimorfo I com elipsóides a 30% de probabilidade.	61
5.15	Representação [28] do empacotamento do composto LASSBio-1586 polimorfo I (i : -1/2+x, -y, z)	62
5.16	Representação [27] da sobreposição dos compostos Lassbio-1586 polimorfo I e LASSBio-1586 polimorfo II.	63
5.17	Representação plana do composto LASSBio-1606	66
5.18	Representação plana do anti-inflamatório Piroxicam	66
5.19	Cristais do composto LASSBio-1606	67
5.20	Representação ORTEP [23] da unidade assimétrica do composto LASSBio-1606 com elipsóides a 30% de probabilidade.	69
5.21	Representação Olex2 [28] do empacotamento do composto LASSBio-1606 (i : 1/2-x, 1/2-y, -z; ii : -x, -y, -z)	70

Lista de Tabelas

2.1	Os sete sistemas cristalinos e as restrições em seus parâmetros de rede	7
2.2	Os 32 grupos de ponto distribuídos entre os sete sistemas cristalinos	8
2.3	Extinções sistemáticas geradas por elementos de simetria	11
3.1	Valores teóricos relacionados a distribuição de amplitudes de E's	26
5.1	Dados cristalográficos e experimentais do composto LASSBio-1597	48
5.2	Ligações de hidrogênio para o composto LASSBio-1597	49
5.3	Comprimentos de ligações (Å) do composto LASSBio-1597.	50
5.4	Ângulos de ligações do composto LASSBio-1597 (°).	51
5.5	Ângulos torsionais do composto LASSBio-1597 (°).	52
5.6	Dados cristalográficos e experimentais do composto LASSBio-1586 polimorfo I	60
5.7	Ligações de hidrogênio para o composto LASSBio-1586	62
5.8	Comprimentos de ligações (Å) do composto LASSBio-1586 polimorfo I.	64
5.9	Ângulos de ligações do composto LASSBio-1586 polimorfo I (°).	64
5.10	Ângulos torsionais do composto LASSBio-1586 polimorfo I (°).	65
5.11	Dados cristalográficos e experimentais para o composto LASSBio-1606	69
5.12	Ligações de hidrogênio para o composto LASSBio-1606	70
5.13	Comprimentos de ligações (Å) do composto LASSBio-1606.	71
5.14	Ângulos de ligações do composto LASSBio-1606 (°).	72
5.15	Ângulos torsionais do composto LASSBio-1606 (°).	73

Conteúdo

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de Abreviações	iii
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	vi
Sumário	ix
1 Introdução	1
2 Tópicos em Cristalografia	3
2.1 Rede cristalina e Célula unitária	3
2.2 Elementos de simetria	4
2.2.1 Eixos de rotação	5
2.2.2 Eixos de roto-inversão	5
2.2.3 Eixos de roto-translação	6
2.2.4 Planos de deslizamento	7
2.3 Sistemas Cristalinos	7
2.4 Grupos de ponto	8
2.5 Rede de Bravais	9
2.6 Grupos de espaço	10
2.6.1 Determinação do grupo de espaço	10
2.7 Lei de Bragg	11
2.8 Equações de Laue	12
2.9 Rede Recíproca	14
2.10 Propriedades e produção dos raios X	14

2.10.1	Nota histórica	17
2.11	Interação da radiação com a matéria	19
2.12	Espalhamento por uma densidade eletrônica	21
3	Métodos de solução e refinamento de estruturas cristalográficas	24
3.1	Métodos Diretos	24
3.1.1	Fatores de estrutura unitário e normalizado	25
3.1.2	Desigualdades de Harker-Kasper	27
3.1.3	Invariantes e seminvariantes de estrutura	28
3.1.4	Equação de Sayre	29
3.1.5	Fórmula da tangente	30
3.1.6	Método da adição simbólica	31
3.1.7	Figuras de mérito para as fases	31
3.2	Mapas de densidade eletrônica	31
3.3	Refinamento de estruturas cristalográficas	32
3.3.1	Refinamento pelo método dos mínimos quadrados	32
3.3.2	Fatores residuais	33
3.3.3	Refinamento de estruturas apresentando desordem	33
4	Metodologia	36
4.1	Crescimento de cristais	36
4.1.1	Evaporação lenta	37
4.1.2	Difusão de vapor	37
4.1.3	Difusão de líquido	39
4.2	Coleta de dados de difração de raios X por monocristal	40
4.2.1	O difratômetro CAD4	40
4.2.2	A geometria do CAD4	41
4.2.3	Preparação da amostra e Coleta de dados	41
4.2.4	Redução de dados	44
5	Resultados e discussões	45
5.1	Análise cristalográfica de derivados de N-fenilpiperazina	45
5.1.1	Cristalização e determinação da estrutura cristalográfica e molecular do composto LASSBio-1597	45
5.1.2	Cristalização, determinação da estrutura cristalográfica e molecular e modelagem estrutural do complexo de inclusão N-fenilpiperazina, LASSBio-579, em β -ciclodextrina	52

5.2	Análise cristalográfica de derivados de N-acilidrazona	58
5.2.1	Cristalização e determinação da estrutura cristalográfica e molecular do com- posto LASSBio-1586 polimorfo I	59
5.2.2	Cristalização e determinação da estrutura cristalográfica e molecular do com- posto LASSBio-1606	65
6	Comentários e Conclusões	74
	Referências Bibliográficas	76

Capítulo 1

Introdução

O conhecimento da estrutura tridimensional e supramolecular de compostos sintéticos ou naturais é muito importante visto que, a partir de tais informações, é possível compreender melhor suas propriedades químicas, físicas e biológicas. Além disso, no desenvolvimento e melhoria de fármacos já existentes, a interação entre o fármaco e o receptor irá depender de suas estruturas.

Algumas técnicas estão disponíveis atualmente para a elucidação estrutural, tais como, ressonância magnética nuclear, espectroscopia no infravermelho, microscopia eletrônica, difração de raios x por monocristais, etc. Dentre estas técnicas, a difração de raios X por monocristais é a que fornece a densidade eletrônica com mais alta resolução permitindo determinar, com precisão atômica, a estrutura tridimensional da molécula e, além disso, determinar como as moléculas estão distribuídas ao longo do espaço do cristal.

O principal problema na resolução de estruturas por meio de difração de raios X é que os dados disponíveis para a análise são somente as intensidades do espectro de difração pelo cristal e, a partir destes valores, obtemos apenas os módulos dos fatores de estrutura. Isso é limitante porque impossibilita o cálculo da função de densidade eletrônica por Séries de Fourier, já que as fases são perdidas no processo de medida. Esse problema é conhecido como O Problema das Fases na Cristalografia. Um dos métodos mais utilizados para se resolver esse problema é o chamado Métodos Diretos que, devido a sua robustez, em termos computacionais, e eficácia, é o método mais utilizado para pequenas moléculas. Nesse método, conjuntos de fases são obtidos a partir de relações entre os fatores de estrutura.

Seguindo na linha de pesquisa de análise cristalográfica de fármacos, foi firmada em 2011, uma parceria entre o Grupo de Cristalografia da Universidade Federal de Goiás (UFG) e o Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Graças à frutífera parceria, o Grupo de Cristalografia foi incluído como membro do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fármacos e Medicamentos (INCT-INOVAR). Dessa parceria, foram propostos vários projetos de análise cristalográfica por parte do Grupo de Cristalografia de fármacos sintetizados pelo LASSBio. Neste trabalho, apresentamos os resultados de cristalização, coleta de dados, determinação de estrutura cristalográfica e molecular de cinco desses fármacos.

Foram caracterizados dois derivados de N-fenilpiperazina: o composto LASSBio-1597, um anti-inflamatório bastante ativo, e o complexo de inclusão do agonista na pré sinapse do receptor D2 da dopamina, LASSBio-579, em β -ciclodextrina. Foram caracterizados também três derivados de N-acilidrazona: os compostos LASSBio-1586 polimorfo I e LASSBio-1586 polimorfo II, análogos da Combretastatina A-4, um produto natural com atividade anti-cancerígena, cuja análise cristalográfica teve como objetivo principal a verificação da existência do polimorfismo, e o composto LASSBio-1606, análogo do medicamento Piroxicam.

Este trabalho está dividido em seis capítulos. No capítulo 2 serão abordados conceitos básicos de cristalografia estrutural importantes para a compreensão dos capítulos subsequentes. No capítulo 3 serão discutidos os Métodos Diretos e como é possível obter relações de fases entre os fatores de estrutura e, também, métodos de refinamento de estruturas cristalinas. No capítulo 4 serão apresentados aspectos práticos do processo de crescimento de cristais além de uma descrição do processo de coleta de dados no difratômetro CAD4, instalado nas dependências do Grupo de Cristalografia da UFG. A discussão dos resultados da análise cristalográfica dos cinco compostos será feita no capítulo 5. As considerações finais e propostas de trabalhos futuros estão no capítulo 6.

Capítulo 2

Tópicos em Cristalografia

A grande importância da Cristalografia Estrutural reside no fato de que é a única técnica que nos fornece com precisão atômica e de maneira inequívoca a estrutura tridimensional de uma molécula e, tendo esses resultados, é possível obter uma série de informações, como propriedades físicas e químicas.

Desde o século XVII, os cientistas já haviam notado a regularidade da forma externa dos cristais e especulavam se tal fato era consequência de uma ordem interna [1]. Na época, concluiu-se que, independente da forma externa ou do tamanho do cristal, os ângulos entre certos pares de faces eram sempre os mesmos. Ainda hoje, análise da morfologia cristalina é importante para identificar certos compostos.

2.1 Rede cristalina e Célula unitária

Com o objetivo de descrever a estrutura cristalina de um material e compreender como o motivo (átomos, moléculas ou grupos de moléculas) está distribuído pelo espaço do cristal, é necessário definir dois conceitos: rede cristalina e célula unitária. A rede cristalina é uma construção matemática invariante sob translações do tipo $\mathbf{T} = n_1\mathbf{a} + n_2\mathbf{b} + n_3\mathbf{c}$, sendo n_1, n_2 e n_3 números inteiros e \mathbf{a}, \mathbf{b} e \mathbf{c} os vetores que definirão esta rede, que consiste em um conjunto infinito de pontos, onde cada ponto tem uma vizinhança idêntica. Uma vez que a rede tenha sido definida, é possível dividir o espaço em paralelepípedos, formados por vetores dessa rede que, por meio de translações $\mathbf{T} = n_1\mathbf{a} + n_2\mathbf{b} + n_3\mathbf{c}$ irão preencher todo o espaço. Esses paralelepípedos são definidos como células unitárias, que são a

menor unidade de volume que contém toda a informação estrutural do material. A célula unitária, figura 2.1, é especificada por meio dos vetores da rede, **a**, **b** e **c** e dos ângulos entre eles, α , β e γ , sendo α o ângulo compreendido entre os eixos **b** e **c**, β o ângulo entre **a** e **c** e γ o ângulo entre **a** e **b**. A estrutura cristalina será então a rede adicionada do motivo.

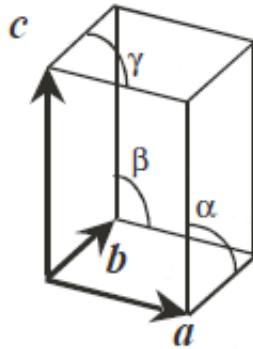


Figura 2.1: Representação dos vetores e ângulos que definem a célula unitária

O tipo de rede é caracterizado pelo número de pontos por célula unitária. Se houver somente um ponto da rede por célula, esta será uma célula do tipo primitiva e será representada pela letra P. Caso haja mais de um ponto da rede por célula, a célula será denominada centrada. Se, além dos pontos nos vértices, houver um ponto no centro da célula unitária, esta será chamada célula centrada no corpo, denotada pela letra I. Caso, além dos pontos dos vértices, houver um ponto em uma das faces a centragem será denotada pela letra referente à face na qual o ponto está situado, conforme representado na figura 2.2(d), onde a célula tem centragem C. Como último caso, se todas as faces tiverem um ponto em seus centros, a célula será do tipo F [3].

2.2 Elementos de simetria

Para analisar a estrutura cristalográfica de um material, deve-se compreender as operações que levam um objeto numa dada posição a se sobrepor a outro. Essas são as chamadas operações de simetria. Tais operações mantêm a vizinhança do objeto invariante após serem aplicadas. Um elemento de simetria pode ser um ponto, um plano ou um eixo, em torno dos quais a operação de

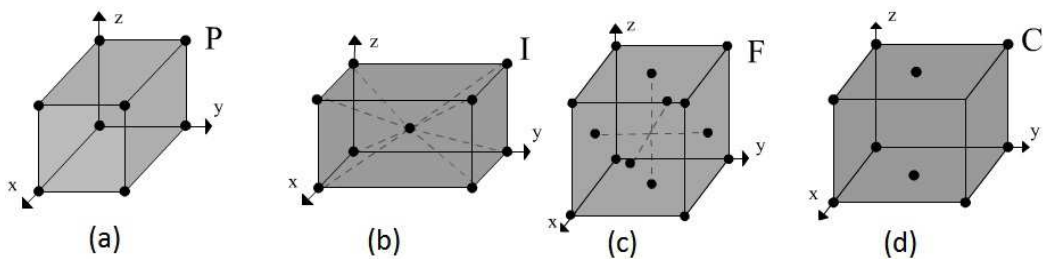


Figura 2.2: (a) Rede primitiva - P, (b) Rede centrada no corpo - I, (c) Rede centrada em todas as faces - F, (d) Rede centrada na face - C

simetria é realizada. Operações de simetria possuem a seguinte forma geral:

$$\mathbf{x}' = R\mathbf{x} + \mathbf{t} = \{R|\mathbf{t}\}\mathbf{x} \quad (2.1)$$

onde a matriz R representa operações que mantêm pelo menos um ponto fixo e \mathbf{t} , a parte translacional.

As operações de simetria são classificadas em dois tipos: próprias e impróprias. As operações próprias mantêm a quiralidade do objeto enquanto que as impróprias mudam a quiralidade [3].

2.2.1 Eixos de rotação

Essa operação de simetria representa a rotação de $2\pi/n$ em torno de um eixo, onde n é a ordem da rotação ($n = 1, 2, 3, \dots$), conforme a figura 2.3. Para sistemas cristalinos, as rotações permitidas são as de ordem 1, ± 2 , ± 3 , ± 4 , ± 6 [6]. Eixos de ordem 1 são triviais já que, após uma rotação de 2π , qualquer objeto ficará invariante. Essa operação é chamada identidade. Rotações de ordem 5 não são cristalograficamente permitidas pois não obedecem a periodicidade da rede. No entanto, tais rotações ocorrem nos quasicristais, que são um tipo de sólido com estrutura ordenada porém sem a periodicidade típica de um cristal.

2.2.2 Eixos de roto-inversão

Esta é uma operação imprópria e consiste em uma rotação de ordem n em torno de um eixo, seguida por uma inversão com relação a um ponto sobre este eixo. O símbolo associado a essa operação é \bar{n} . Os eixos de rotoinversão possíveis serão: $\bar{1}$, $\bar{2}$, $\bar{3}$, $\bar{4}$ e $\bar{6}$ [6] e estão ilustrados na figura

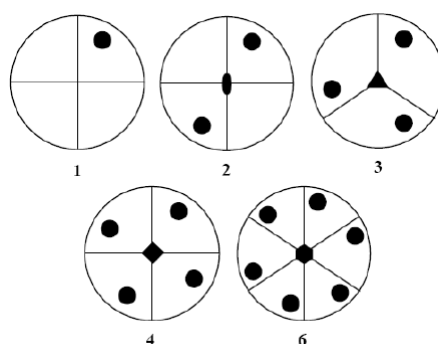


Figura 2.3: Estereograma das cinco rotações cristalograficamente permitidas. Os círculos indicam as posições dos objetos após a atuação da rotação. As elipses, triângulos, quadrados e hexágonos representam a ordem da rotação: 2,3,4 e 6 respectivamente

2.4. Os círculos cheios estão situados acima do plano da figura enquanto que os círculos abertos representam o oposto quiral abaixo do plano da figura.

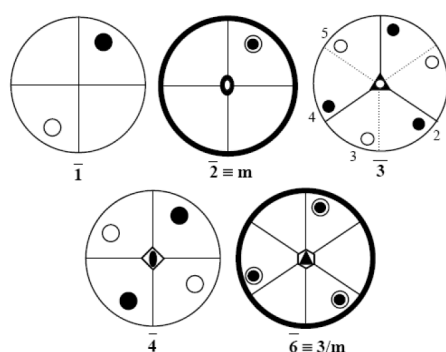


Figura 2.4: Estereograma das cinco rotações impróprias

2.2.3 Eixos de roto-translação

O eixo de roto-translação é um operador translacional e consiste de uma rotação seguida de uma translação ao longo do eixo em torno do qual a rotação foi realizada. O símbolo para o eixo de roto-translação é dado por n_m onde n se refere à ordem da rotação e m descreve a translação. A componente translacional m representada no símbolo do eixo de roto-translação n_m , significa uma translação de m/n vezes o vetor da rede na direção do eixo em torno do qual a rotação foi efetuada [6].

2.2.4 Planos de deslizamento

Esta operação combina a reflexão por um espelho seguida por uma translação paralela ao plano desse espelho. Planos de deslizamento podem ser axiais, diagonais ou do tipo diamante. Nos planos de deslizamento axiais, após a reflexão é efetuada uma translação de metade da célula unitária ao longo de uma das três direções cristalográficas [100], [010] ou [001]. Planos de deslizamento diagonais são compostos por uma reflexão seguida de uma translação de metade da célula unitária em duas direções axiais, $(a + b)/2$, $(a + c)/2$ ou $(b + c)/2$. Planos de deslizamento do tipo diamante envolvem uma reflexão seguida de uma translação de um quarto da célula unitária em duas direções axiais, ou seja, $(a + b)/4$, $(a + c)/4$ ou $(b + c)/4$. Este último plano de deslizamento ocorre em três dimensões desde que os lados da célula unitária sejam iguais [6].

2.3 Sistemas Cristalinos

Com base em combinações entre os parâmetros de rede da célula unitária (**a**, **b**, **c** e α , β , γ), define-se sete sistemas cristalinos. Usualmente, os eixos cristalográficos são paralelos aos eixos de rotação e perpendiculares aos planos de espelho. Dessa forma, os 32 grupos de ponto são divididos em sete sistemas cristalinos. Na tabela 2.1 estão descritos os sistemas cristalinos e os respectivos parâmetros de rede.

Sistema cristalino	Parâmetros de rede	
Cúbico	$a = b = c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Hexagonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = 90^\circ, \gamma = 120^\circ$
Trigonal ou romboédrico	$a = b = c$	$\alpha = \beta = \gamma < 90^\circ$
Tretragonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Ortorrômico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Monoclínico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \beta = 90^\circ, \gamma \neq 90^\circ$
Triclínico	$a \neq b \neq c$	$\alpha \neq \gamma \neq \beta \neq 90^\circ$

Tabela 2.1: Os sete sistemas cristalinos e as restrições em seus parâmetros de rede

2.4 Grupos de ponto

Os elementos de simetria podem se combinar formando grupos de simetria. Considerando todos os elementos de simetria e as possíveis combinações entre eles, 32 grupos de simetria serão construídos [3]. Existem restrições quanto ao tipo de eixos de rotação que podem ser combinados. Se dois eixos de rotação próprios se intersectam, será gerado, então, um terceiro eixo próprio, pois é necessário que a quiralidade seja mantida. Se um eixo impróprio e um próprio se combinam, o eixo gerado deverá ser impróprio. Dessa forma, verifica-se que não é possível combinar três eixos de rotação impróprios. Além disso, essas combinações devem obedecer aos seguintes axiomas da teoria de grupos:

1. A multiplicação de dois elementos do grupo é associativa.
2. Deve existir o elemento identidade no grupo.
3. O produto de dois elementos do grupo deve ser também um elemento do grupo.
4. Para cada elemento do grupo, deve haver um inverso, que também pertence ao grupo.

Esses 32 grupos de simetria são os Grupos de Ponto, pois os elementos de simetria de cada grupo têm, pelo menos, um ponto em comum e, após serem aplicados, mantêm pelo menos um ponto do objeto fixo [3]. Na tabela 2.2, estão listados os grupos de ponto para cada um dos sete sistemas cristalinos.

Sistema cristalino	Centrossimétrico	Não-centrossimétrico Não-enantiomorfo	Não-centrossimétrico Enantiomorfo
Triclínico	$\bar{1}$	—	1
Monoclínico	2/m	$\bar{2} = m$	2
Ortorrômbico	2/m 2/m 2/m (mmm)	mm2	222
Tetragonal	4/m 2/m 2/m (4/mmm) 4/m	4mm, $\bar{4}m2$ $\bar{4}$	422 4
Trigonal	$\bar{3}2/m$ ($\bar{3}m$) $\bar{3}$	3m —	32 = 322 3
Hexagonal	6/m 2/m 2/m (6/mmm) 6/m	6mm, $\bar{6}2m$ $\bar{6}=3/m$	622 6
Cúbico	2/m $\bar{3}$ ($m\bar{3}$) 4/m $\bar{3}$ 2/m ($m\bar{3}m$)	— $\bar{4}3m$	23 = 332 432

Tabela 2.2: Os 32 grupos de ponto distribuídos entre os sete sistemas cristalinos

Onze desses grupos são centrossimétricos e 21 são não-centrossimétricos. Desses 21 grupos de ponto, onze são enantiomorfos e 10 são não-enantiomorfos.

2.5 Rede de Bravais

Em 1848, Bravais demonstrou que há 14 diferentes maneiras de arranjar os pontos de uma rede cristalina de forma compatível com a simetria dos sete sistemas cristalinos. Bravais considerou as combinações de celas primitivas (que possuem um ponto da rede por cela unitária) e de celas com centragens (com mais de um ponto da rede por cela unitária) que satisfazem a maior simetria de ponto possível [7], conforme está mostrado na figura 2.5.

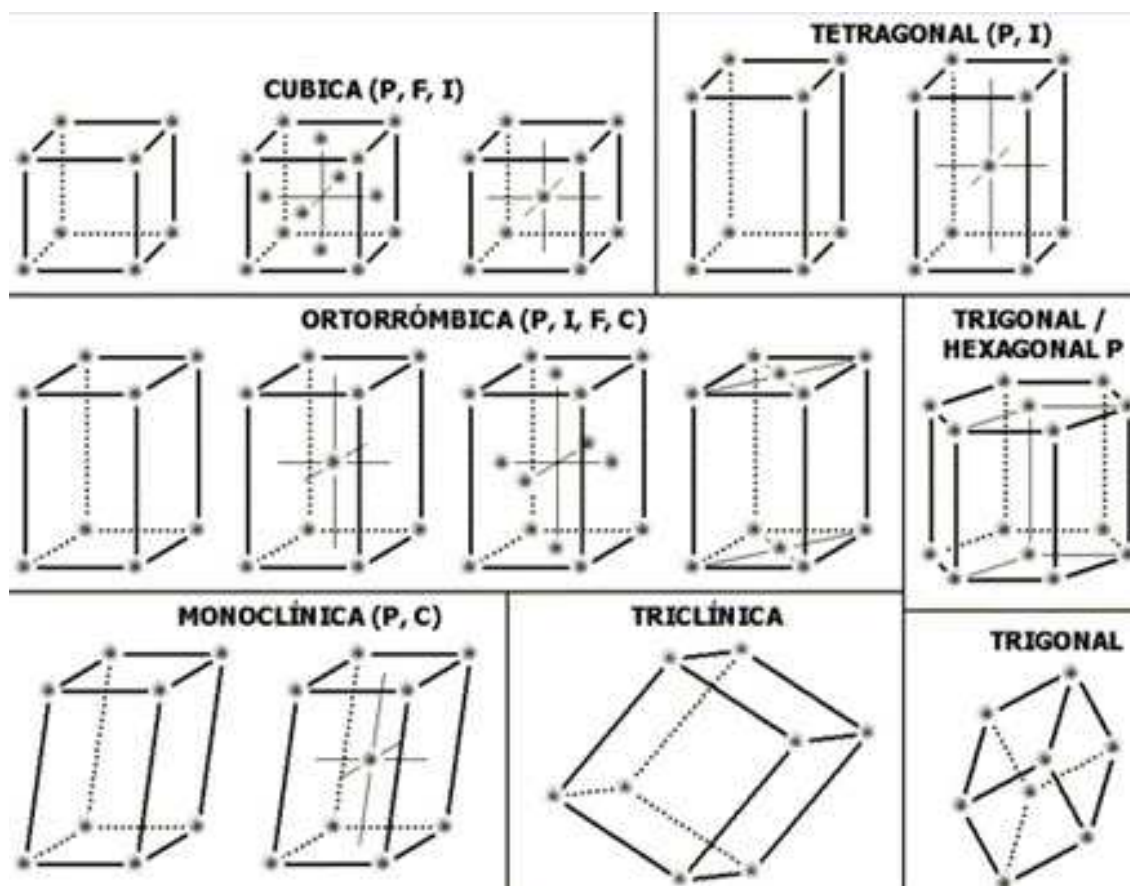


Figura 2.5: Diagrama das 14 Redes de Bravais representando os sistemas cristalinos e os tipos possíveis de centragem.

2.6 Grupos de espaço

Com o agrupamento das 32 simetrias de ponto dos sete sistemas cristalinos condizentes com as 14 redes de Bravais teremos 73 grupos de simetria possíveis. Levando-se em consideração as operações de simetria translacionais (os eixos e planos de deslizamento), obtêm-se mais 157 grupos, totalizando 230 grupos de simetria, conhecidos como grupos de espaço, que estão tabulados detalhadamente na Tabela Internacional de Cristalografia [8]. Os grupos espaciais foram derivados no fim do século XIX, pelos matemáticos Fedorov e Schoenflies [8].

A menor fração da célula unitária que, após aplicadas as operações de simetria do grupo de espaço, gera todo o restante da célula é chamada unidade assimétrica. Uma vez que tenha sido determinado o sistema cristalino e o grupo de ponto, é possível determinar a unidade assimétrica. Isso é importante, principalmente no momento da coleta de dados, pois é necessário coletar somente a parte única dos dados, visto que o restante será gerado pelas operações de simetria do grupo.

A nomenclatura do grupo de espaço é feita de acordo com a notação de Hermann-Mauguin e consiste na letra indicando o tipo de centragem da rede seguida pelos símbolos que indicam os elementos de simetria. Os eixos de simetria são paralelos aos eixos cristalinos correspondentes e os planos de espelho ou de deslizamento são perpendiculares aos mesmos. Por exemplo, no grupo de espaço $P2_1/c$, o grupo de espaço no qual a maioria dos compostos orgânicos cristaliza [5], a rede é do tipo primitiva e os elementos de simetria presentes são um eixo de rototranslação 2_1 paralelo ao eixo **b**, que por convenção é o eixo único desse grupo de espaço, e um plano de deslizamento ao longo de **c**, que é perpendicular ao eixo **b**. Para se obter o grupo de ponto de um dado grupo de espaço, retira-se o símbolo referente à centragem da rede, e substitui todos os elementos de simetria com componente translacional pelos seus equivalentes sem translação. No caso do grupo $P2_1/c$ o grupo de ponto referente será $2/m$ [8].

2.6.1 Determinação do grupo de espaço

A intensidade de uma reflexão pode ser extinta devido à interferência das ondas espalhadas por átomos em posições relacionadas por operações de simetria translacionais. Informações sobre

o grupo espacial podem ser obtidas pela análise das Extinções Sistemáticas (reflexões que possuem zero de intensidade) de algumas famílias de reflexões. Eixos de roto-translação ocasionam extinções em reflexões ao longo da linha axial a qual o eixo é paralelo e os planos de deslizamento provocam extinções em reflexões no plano paralelo ao elemento de simetria, cortando a origem da rede recíproca. Na Tabela 2.3 estão relacionados os elementos de simetria translacionais e as extinções sistemáticas que eles provocam [8].

Família de reflexões	Elementos de simetria translacional	Condições
Nenhuma	P-rede primitiva	Nenhuma
hkl	A-rede centrada	$k + l = 2n + 1$
hkl	B-rede centrada	$h + l = 2n + 1$
hkl	C-rede centrada	$h + k = 2n + 1$
hkl	F-rede centrada	$k + l = 2n + 1$ $h + l = 2n + 1$ $h + k = 2n + 1$
hkl	I-corpo centrado	$h + k + l = 2n + 1$
Ok1	b-planos de deslizamento \parallel (100) c-planos de deslizamento \parallel (100) n-planos de deslizamento \parallel (100) d-planos de deslizamento \parallel (100)	$k = 2n + 1$ $l = 2n + 1$ $k + l = 2n + 1$ $k + l = 4n + 1$
h0l	a-planos de deslizamento \parallel (010) c-planos de deslizamento \parallel (010) n-planos de deslizamento \parallel (010) d-planos de deslizamento \parallel (010)	$h = 2n + 1$ $l = 2n + 1$ $h + l = 2n + 1$ $h + l = 4n + 1$
hk0	a-planos de deslizamento \parallel (001) b-planos de deslizamento \parallel (001) n-planos de deslizamento \parallel (001) d-planos de deslizamento \parallel (001)	$h = 2n + 1$ $k = 2n + 1$ $h + k = 2n + 1$ $h + k = 4n + 1$
h00	2_1 -eixo helicoidal ao longo de a	$h = 2n + 1$
0k0	2_1 -eixo helicoidal ao longo de b	$k = 2n + 1$
00l	$2_1, 4_2$ -eixo helicoidal ao longo de c	$l = 2n + 1$

Tabela 2.3: Extinções sistemáticas geradas por elementos de simetria

2.7 Lei de Bragg

A fim de explicar o espalhamento de raios X por cristais em direções bem definidas, W. L. Bragg e W. H. Bragg deduziram, em 1912, uma equação fazendo analogia da difração com reflexões por famílias de planos paralelos, formados pelos pontos do retículo cristalino. Feixes de raios X

incidem sobre uma família de planos paralelos do cristal e sofrem reflexões de maneira semelhante a do espelho plano, portanto, o ângulo de incidência e o de reflexão medidos em relação ao plano são iguais. Máximos de intensidade serão observados quando ocorrer interferência construtiva, ou seja, as ondas espalhadas por planos consecutivos estiverem em fase. Ondas de mesma frequência e amplitude A propagando-se na mesma direção, resultam em uma nova onda de mesma frequência e de amplitude igual a $2A \cos(\phi/2)$, onde ϕ é a diferença de fase. Se as cristas de uma onda corresponderem às cristas da outra, a diferença de fase entre ambas será nula ($\phi = 0$), e a amplitude da onda resultante será o dobro da amplitude de cada onda componente. Diz-se, nesse caso, que as ondas interferem construtivamente [3]. Como se pode ver na figura 2.6, considerando que a separação entre planos sucessivos é igual a d , verifica-se que a diferença de caminho entre os raios ABC e DEF, será:

$$GE + EH = 2d \sin \theta \quad (2.2)$$

Se a radiação espalhada estiver em fase, a diferença de caminho entre os feixes deve ser um múltiplo inteiro do comprimento de onda. Assim, para uma interferência construtiva tem-se:

$$2d \sin \theta = n\lambda \quad (2.3)$$

onde λ é comprimento de onda dos raios X e n é um número inteiro. A equação acima é conhecida como lei de Bragg.

2.8 Equações de Laue

As equações de Laue exprimem a condição para que as ondas refletidas por diferentes átomos no cristal estejam em fase e origem um máximo de interferência construtiva. Seja uma linha de átomos com espaçamento \mathbf{a} , um feixe incidente de raios X dado pelo vetor \mathbf{S}_0 e um feixe espalhado dado pelo vetor \mathbf{S} , conforme ilustrado na figura 2.7. A difração ocorrerá quando a diferença de caminho entre os feixes difratados por dois pontos diferentes da rede for igual a um múltiplo inteiro do comprimento de onda, ou seja:

$$\mathbf{a} \cdot \mathbf{S} - \mathbf{a} \cdot \mathbf{S}_0 = \mathbf{a} \cdot (\mathbf{S} - \mathbf{S}_0) = h\lambda \quad (2.4)$$

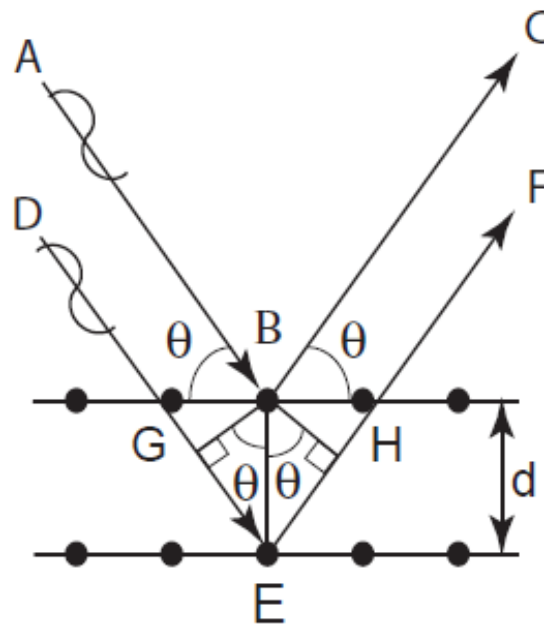


Figura 2.6: Geometria da interpretação de Bragg para a difração de raios X para planos cristalinos paralelos

Para representar a rede cristalina, são necessários três vetores \mathbf{a} , \mathbf{b} e \mathbf{c} . Dessa forma, a difração ocorrerá somente nas direções que satisfaçam o sistema de três equações que são definidas como as três equações de Laue, 2.5.

$$\begin{aligned} \mathbf{a} \cdot (\mathbf{S} - \mathbf{S}_0) &= h\lambda \\ \mathbf{b} \cdot (\mathbf{S} - \mathbf{S}_0) &= k\lambda \\ \mathbf{c} \cdot (\mathbf{S} - \mathbf{S}_0) &= l\lambda \end{aligned} \quad (2.5)$$

Com base no sistema de equações 2.5, define-se um vetor proporcional à diferença entre o feixe incidente e o feixe difratados, que será dado por:

$$|\mathbf{H}| = h\mathbf{a}^* + k\mathbf{b}^* + l\mathbf{c}^* = (\mathbf{S} - \mathbf{S}_0)/\lambda \quad (2.6)$$

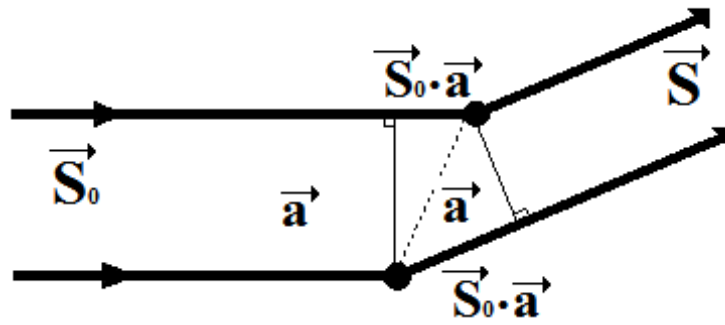


Figura 2.7: Representação do vetor diferença entre os feixes incidente e difratado

2.9 Rede Recíproca

Um recurso útil para associar as orientações dos planos cristalinos e as respectivas distâncias interplanares é conhecido como Rede Recíproca, um conceito que foi introduzido por Paul P. Ewald, em 1921 [7]. No espaço recíproco os eixos da cela unitária são definidos como vetores \mathbf{a}^* , \mathbf{b}^* e \mathbf{c}^* e obedecem as seguintes relações:

$$\begin{aligned} \mathbf{a}^* &= \frac{\mathbf{b} \times \mathbf{c}}{V} \\ \mathbf{b}^* &= \frac{\mathbf{c} \times \mathbf{a}}{V} \\ \mathbf{c}^* &= \frac{\mathbf{a} \times \mathbf{b}}{V} \end{aligned} \quad (2.7)$$

A cada família de planos são associados números inteiros (h, k, l) , os índices de Miller, que são índices utilizados para identificar uma família de planos cristalinos através de um ponto da Rede Recíproca. Os três índices inteiros h , k e l correspondem ao inverso da posição fracionária em que o plano cristalino corta os eixos da cela unitária convencional, conforme ilustrado na figura 2.8.

2.10 Propriedades e produção dos raios X

A estrutura cristalina da matéria é analisada principalmente com base na interação de raios X¹ com a matéria por meio do fenômeno da difração de raios X. Este fenômeno ocorre quando uma determinada onda atravessa um orifício de espaçamento com a mesma ordem de grandeza do

¹apesar de se utilizar também nêutrons ou elétrons

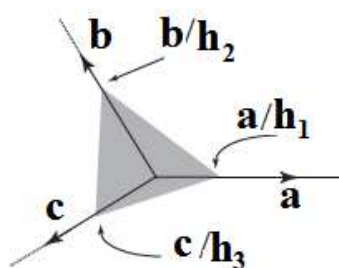


Figura 2.8: Plano interceptando os eixos da célula unitária em h, k e l , sendo h, k, l os índices de Miller

comprimento de onda da radiação incidente. Essa é a razão pela qual se utiliza raios X para esse fim, pois o comprimento de onda destes encontra-se na faixa de interesse da cristalografia estrutural, 0,5 a 3,0 Å, o intervalo que engloba todos os comprimentos de ligação entre átomos.

A radiação conveniente para experimentos de difração por cristais, é gerada em um tubo de raios X pela colisão de elétrons com um alvo metálico. O tubo de raios X, representado na figura 2.9, consiste de um cátodo, que é um filamento aquecido de tungstênio onde os elétrons são emitidos e acelerados até colidirem com um alvo metálico (usualmente feito de Cobre, Molibdênio, Prata ou Cromo). Esse efeito da emissão de elétrons é dito emissão termiônica. No interior desse tudo é feito vácuo para diminuir ao máximo a dissipação de energia via colisões dos elétrons com moléculas do ar. A radiação liberada pelo alvo consiste de uma mistura de um espectro contínuo e de diferentes linhas intensas de comprimentos de onda bem definidos que dependem do material do alvo metálico. A intensidade dessas linhas será proporcional à corrente do tubo e da voltagem. O espectro característico será obtido quando os elétrons incidentes tiverem energia suficiente para excitar um elétron da camada K do átomo do alvo. Um elétron da camada da camada L irá então ocupar essa vancância e, então, um fóton de raio X será emitido como consequência da transição eletrônica para um estado de mais baixa energia. Esse processo está representado na figura 2.10. A energia da radiação emitida será característica do material do alvo, visto que os níveis de energia para cada átomo são específicos, logo o comprimento de onda da radiação emitida será uma característica do átomo que constituiu o alvo.

Raios X possuem o comprimento de onda característico, que irá depender das camadas entre as

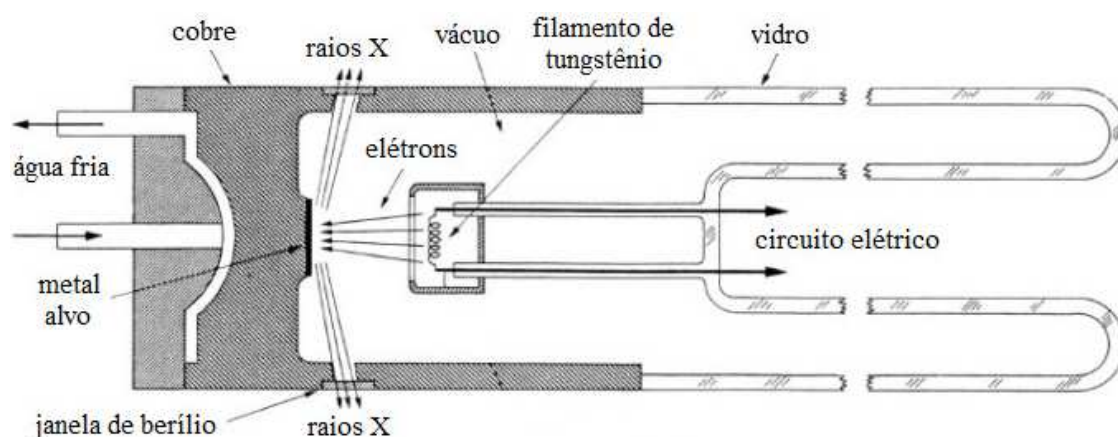


Figura 2.9: Representação esquemática de um tubo de raios X

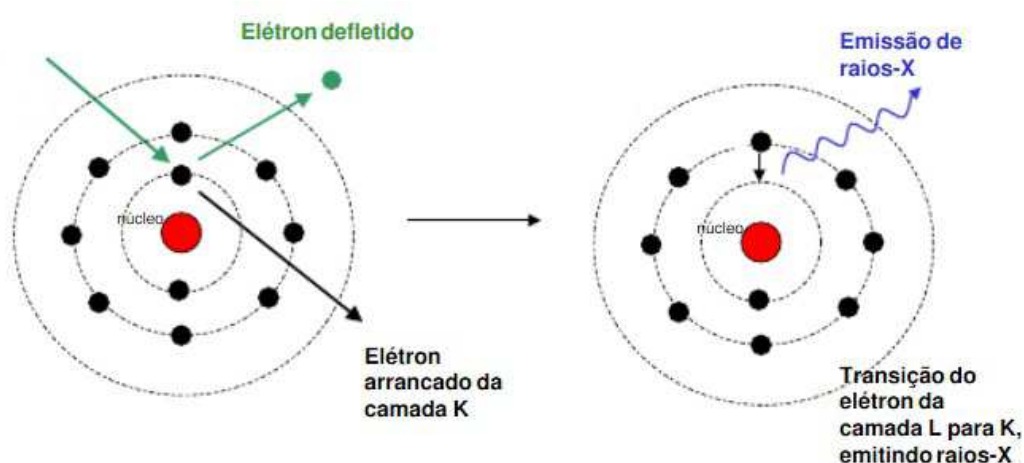


Figura 2.10: Transições eletrônicas no processo de produção de raios X

quais o elétron irá transicionar. Por exemplo, transições da camada L para a camada K darão origem às linhas características $K\alpha_1$, $K\alpha_2$ e transições da camada M para a camada K darão origem às linhas características $K\beta$, que são mais intensas que a radiação para outros comprimentos de onda - *bremstrahlung* ou radiação branca - que consiste de uma mistura de comprimentos de onda e são gerados pela desaceleração dos elétrons conforme vão atravessando o material do alvo. O feixe monocromático é obtido por meio de filtros de materiais com borda de absorção no comprimento de onda $K\beta$, restando somente a componente $K\alpha$ com uma pequena redução de intensidade. Para radiação de cobre usa-se filtros de níquel, figura 2.11, e para molibdênio usa-se filtro de zircônio. Uma segunda alternativa é o uso de cristais monocromadores situados na saída do tubo de raios X

que, pela lei de Bragg, permitem que somente um determinado comprimento de onda satisfaça a condição de interferência construtiva, visto que o cristal irá se manter fixo, ou seja, se manterão fixos o ângulo θ e o espaçamento entre os planos cristalinos, d_{hkl} . Para esse fim, normalmente usa-se cristal monocromador de grafite.

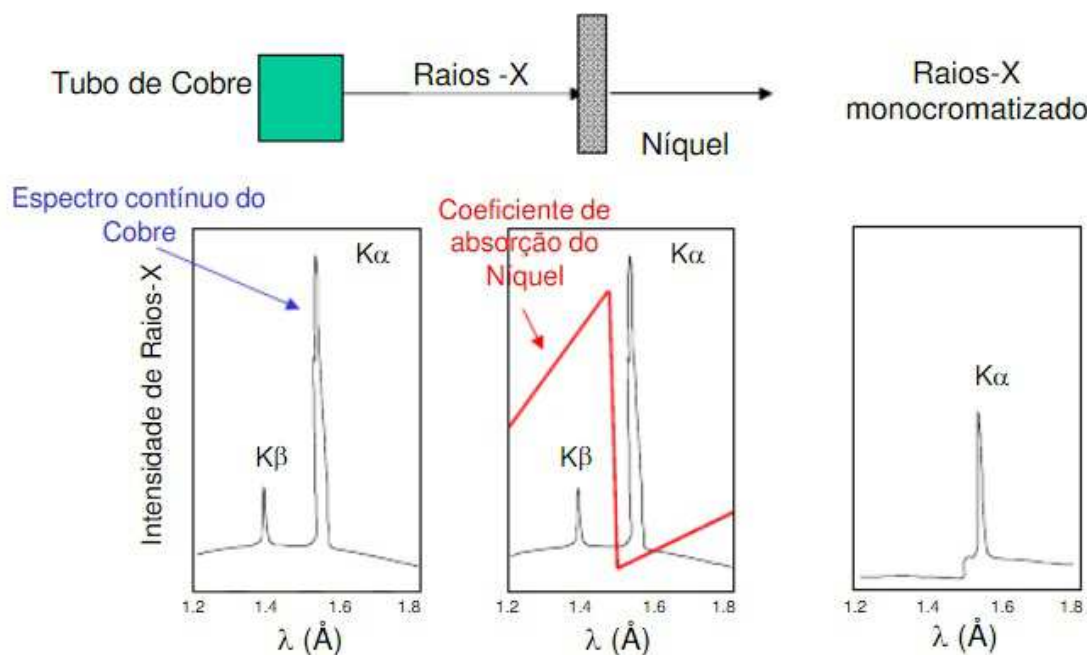


Figura 2.11: Esquema de funcionamento do monocromador de níquel

2.10.1 Nota histórica

Em 8 novembro de 1895, Wilhelm C. Röntgen havia montado um aparato para estudar o tubo de raios catódicos, descoberto alguns anos antes por William Crookes. Esse aparato consistia de um tubo de raios catódicos no interior de uma caixa. Ao ligar o tubo, ele notou que uma placa de platinocianeto de bário, situada próxima à caixa, brilhava. Intrigado com este comportamento, Röntgen colocou vários materiais no caminho do suposto feixe, e verificou que o máximo que esses materiais faziam era diminuir a intensidade verificada na placa. Enquanto segurava os materiais diante do feixe, ele notou a imagem dos ossos de sua mão projetada na placa. Dessa forma, ele convenceu sua esposa, Sra. Bertha, a posicionar sua mão sobre um feixe fotográfico diante do feixe

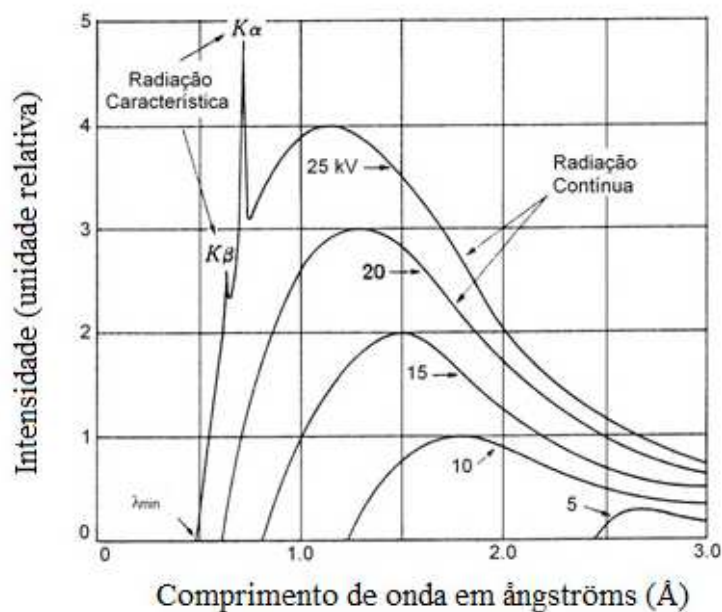


Figura 2.12: Espectro de raios-X de um alvo de Molibdênio, em função da voltagem aplicada.

e manteve a exposição durante 15 minutos. Após revelar o filme, Röntgen havia obtido claramente a imagem dos ossos da mão, figura 2.13. A partir daí, uma nova era em métodos de obtenção de imagens e de análises de materiais se iniciava. Além disso, Röntgen também verificou que um ânodo de metal pesado emitia raios X mais penetrantes que ânodos feitos de metais leves. Röntgen foi laureado em 1901 com o primeiro prêmio Nobel em Física.

Charles Glover Barkla recebeu, em 1917, o prêmio nobel pela descoberta de emissões características de raios X pelos elementos. Em 1912, P.P. Ewald finalizava sua tese de doutorado, na qual realizou um estudo teórico da propagação da luz através de um cristal, usando um modelo tridimensional de osciladores distanciados entre si por 10^{-8} cm. Nessa época já era sabido que o comprimento de onda dos raios X tinha essa ordem de grandeza. Max von Laue, que tinha conhecimento do trabalho realizado por Ewald, sugeriu que os cristais poderiam ser grades de difração ideais para os raios X. Sob orientação de Laue, W. Friedrich e P. Knipping realizaram a primeira medida de difração por um cristal de sulfato de cobre. Por esse resultado, foi conferido a Laue, em 1914, o prêmio Nobel em Física [1].



Figura 2.13: Primeira radiografia de um membro do corpo humano

2.11 Interação da radiação com a matéria

As propriedades da difração e da interferência, que decorrem do espalhamento dos raios X por monocristais, são utilizadas para se obter informações sobre a estrutura dos sólidos. Os experimentos mostram que quando um feixe de raios X, com intensidade I_0 , atravessa um objeto de espessura x , a intensidade transmitida será dada por [10]:

$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (2.8)$$

onde μ é o coeficiente de atenuação linear e depende da substância irradiada, sua densidade e do comprimento de onda dos raios X.

Para um feixe polarizado com intensidade I_0 incidindo em um elétron situado na origem O, figura 2.14, a intensidade detectada no ponto P será:

$$I = I_0 \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \left(\frac{e^4}{R^2 m^2} \right) \sin^2 \phi_z \quad (2.9)$$

sendo R o módulo do vetor \mathbf{R} que define a posição do observador e que faz um ângulo ϕ_z com o

eixo z . Se a radiação incidente for não polarizada, então o campo elétrico pode ser dividido em duas

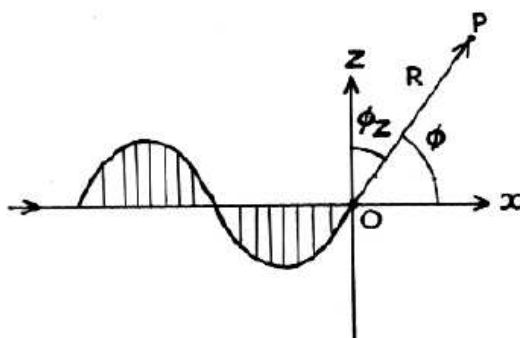


Figura 2.14: Feixe de raios X incidindo em um elétron situado na origem

componentes perpendiculares entre si, cada uma se comportando como uma onda polarizada. Se a intensidade total for I_0 , então cada componente terá uma intensidade de $I_0/2$. A intensidade da radiação espalhada será dada por:

$$I = I_0 \left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \left(\frac{e^4}{r^2 m^2} \right) \left(\frac{1 + \cos^2 \phi}{2} \right) \quad (2.10)$$

sendo ϕ o ângulo que o vetor posição faz com o eixo x .

As possíveis interações dos fótons de raios X com a matéria são o efeito fotoelétrico, o espalhamento Thomson e o espalhamento Compton. Na absorção fotoelétrica, quando um fóton de raios X interage com o átomo absorvedor, este fóton é absorvido completamente. Em seu lugar, um fotoelétrico é ejetado por uma das camadas mais internas do átomo. No espalhamento Thomson o campo elétrico oscilante, associado ao feixe de raios X que incide sobre os elétrons, força-os a executar um movimento oscilatório. Sabemos que toda partícula carregada acelerada emite radiação, então o elétron submetido ao campo elétrico oscilante emite uma onda eletromagnética que possui o mesmo comprimento de onda e mesma frequência da radiação incidente (espalhamento elástico ou coerente) [3, 10]. O efeito Compton ocorre quando raios X incidem sobre elétrons livres ou fracamente ligados, sendo que parte da energia do fóton é transferida ao elétron. Assim, partindo da conservação do momento linear e da energia na colisão do fóton com o elétron, obtém-se a expressão

abaixo:

$$\Delta\lambda = 0,0243(1 - \cos 2\theta) \quad (2.11)$$

em que 2θ é o ângulo de espalhamento e $\Delta\lambda$ é a diferença entre os comprimentos de onda das radiações incidente e espalhada. Dessa maneira, a radiação espalhada possui um comprimento de onda maior que o da radiação incidente devido à transferência de energia do fóton para o elétron.

2.12 Espalhamento por uma densidade eletrônica

A informação obtida por meio dos raios X espalhados é a distribuição eletrônica visto que são os elétrons que os espalham. A distribuição de densidade eletrônica é uma função contínua que varia suavemente em cada ponto do cristal. Por questões de praticidade com relação aos cálculos realizados durante a determinação dessa função, ela é tida como discreta, sendo que cada pico irá corresponder à uma posição atômica. Nesse tipo de tratamento, os átomos são considerados como sendo esféricos, ou seja, efeitos de valência, como pares de elétrons isolados, são ignorados. Dessa forma, a onda total espalhada por um pequeno volume em uma posição \mathbf{r} terá uma amplitude proporcional à densidade eletrônica e defasada por um termo de fase. Para se obter a expressão para o espalhamento de um átomo é necessário realizar o somatório sobre toda a distribuição espacial de elétrons atômicos (nuvem eletrônica). Assim, pode-se escrever a expressão para o fator de espalhamento atômico f como a integral:

$$f(\mathbf{H}) = \int_V \rho(\mathbf{r}) e^{2\pi i \mathbf{r} \cdot \mathbf{H}} dv \quad (2.12)$$

sendo que esta grandeza irá depender do ângulo de Bragg.

O espalhamento total da cela unitária é escrito como o somatório sobre as contribuições de todos os átomos dentro da célula unitária. Esta grandeza é definida como Fator de Estrutura que é uma função da distribuição da densidade eletrônica na cela unitária, dado por:

$$F(hkl) = \sum_{j=1}^N f_j e^{2\pi i (hx+ky+lz)} = |F(hkl)| e^{i\alpha(hkl)} \quad (2.13)$$

onde f_j é o fator de espalhamento atômico para o j -ésimo átomo na cela unitária, com coordenadas x_j, y_j, z_j e α_{hkl} é a fase do fator de estrutura F_{hkl} . Os inteiros (hkl) são os índices de Miller para a reflexão ocorrendo em uma dada direção.

Como as equações 2.12 e 2.13 sugerem, a estrutura cristalina e seu padrão de difração (densidade eletrônica) são relacionados entre si por uma Transformada de Fourier [7]. O padrão de difração é a transformada de Fourier da densidade eletrônica da estrutura.

$$F(hkl) = \sum_{j=1}^N \rho(xyz) e^{2\pi i(hx+ky+lz)} \quad (2.14)$$

$$\rho(xyz) = \frac{1}{V} \sum_{hkl} |F(hkl)| e^{i\alpha_{hkl}} e^{2\pi i(hx+ky+lz)} \quad (2.15)$$

A equação 2.14 pode ser utilizada para calcular o padrão de difração esperado para a estrutura modelo e, então, ser usado durante o refinamento da estrutura cristalina comparando com os padrão de difração observado. Esses valores encontrados são os Fatores de Estrutura Calculados, $F_c(hkl)$. Essa equação descreve, matematicamente, a amplitude observada quando os raios X são difratados por um cristal.

Analisando a equação 2.15 verifica-se que é possível encontrar os máximos de $\rho(xyz)$ por meio de uma varredura sobre todos os valores medidos de h, k e l e fazendo pequenos incrementos nos valores de x, y e z mapeando, assim, todo o espaço da célula unitária. O resultado final será um mapa de densidade eletrônica no qual os máximos corresponderão às posições atômicas. Esse procedimento é conhecido como Síntese de Fourier [9]. O principal problema na resolução de estruturas cristalográficas, é que os dados disponíveis para a análise são somente as intensidades do espectro da difração de raios X pelo cristal e, destes valores, obtemos apenas os módulos dos Fatores de Estrutura. Isso é um fator limitante para a resolução de estruturas porque impossibilita o cálculo da função de densidade eletrônica por meio da Síntese de Fourier com a ausência das fases, que não são diretamente medidas durante o experimento. Esse problema é conhecido como o Problema das Fases na Cristalografia. Um dos métodos mais utilizados para se resolver esse problema é o método Métodos

Diretos que, devido a sua robustez, em termos computacionais, e eficácia, é o método correntemente utilizado para pequenas moléculas.

Capítulo 3

Métodos de solução e refinamento de estruturas cristalográficas

O objetivo principal da análise dos dados de difração de raios X por monocristal é obter detalhes da estrutura cristalográfica em nível atômico, ou seja, a distribuição da densidade eletrônica a partir da qual uma série de informações será fornecida, como por exemplo: posições dos átomos, comprimentos de ligação, ângulos entre átomos, ângulos torsionais, etc. A grande dificuldade para se calcular a densidade eletrônica a partir das intensidades medidas é o fato de que, conforme dito anteriormente, as fases ficam perdidas no processo de medida, ou seja, somente uma parte dos dados está disponível para a análise.

Para resolver esse problema, alguns métodos foram propostos, dentre os quais destacam-se o Método de Patterson, utilizado quando átomos pesados estão presentes na estrutura, e os Métodos Diretos, utilizados para moléculas com átomos leves. A seguir, serão abordados, em detalhes, os Métodos Diretos.

3.1 Métodos Diretos

O termo Métodos Diretos é usado para descrever a determinação da estrutura molecular diretamente a partir das intensidades da radiação difratada sem nenhum conhecimento a priori das fases, por nenhum outro método. Ele parte da hipótese de que as fases não foram realmente perdidas no processo de medida, mas estão ocultas nas relações entre intensidades medidas dos fatores de estrutura.

Os primeiros passos no desenvolvimento dos Métodos Diretos foram dados por David Harker e John Kasper em 1948, quando eles mostraram que existiam relações de desigualdade entre os fatores de estrutura e que tais relações forneceriam informações a respeito das fases. Baseando-se nas relações entre as amplitudes e as fases e nas desigualdades desenvolvidas por Harker e Kasper, Karle e Hauptman (1950) desenvolveram também relações probabilísticas entre estas desigualdades [11].

Os Métodos Diretos se baseiam nas hipóteses de que a densidade eletrônica é sempre positiva, de que há um pico discreto para cada átomo e considera os átomos como possuindo fatores de espalhamento similares, o que é verificado para a maioria dos compostos orgânicos que apresentam átomos semelhantes em termos de seus números atômicos.

É sabido que o fator de espalhamento atômico tem dependência com a variação de $\sin \theta / \lambda$ conforme está ilustrado na figura 3.1, mas o interesse é encontrar as posições atômicas sem detalhes da distribuição da densidade eletrônica. Dessa forma, são definidos dois fatores de estrutura que não levam em conta a forma do átomo. São eles os fatores de estrutura unitário e normalizado [11].

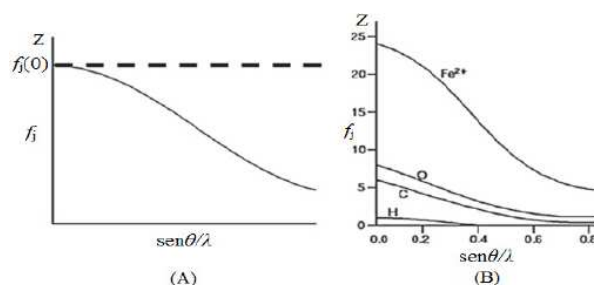


Figura 3.1: Dependência do fator de espalhamento atômico f com $\sin \theta / \lambda$. (A) Comportamento qualitativo para um átomo qualquer. (B) Representação quantitativa de f para alguns átomos típicos em estruturas cristalinas

3.1.1 Fatores de estrutura unitário e normalizado

Esses fatores de estrutura consideram os átomos como pontuais e fazem com que o tratamento estatístico seja mais simples. Seja:

$$hx + ky + lz = \mathbf{H} \cdot \mathbf{r} \quad (3.1)$$

O fator de estrutura dado na equação 2.13 pode ser reescrito como:

$$F(\mathbf{H}) = \sum_{j=1}^N f_j e^{2\pi i(\mathbf{H}\cdot\mathbf{r}_j)} \quad (3.2)$$

Então, o fator de estrutura unitário, cujo valor máximo é 1, é definido como:

$$U(\mathbf{H}) = \frac{F(\mathbf{H})}{\sum_{j=1}^N f_j} = \sum_{j=1}^N n_j e^{2\pi i(\mathbf{H}\cdot\mathbf{r}_j)} \quad (3.3)$$

onde n_j é o fator de espalhamento unitário, dado por:

$$n_j = \frac{f_j}{\sum_{j=1}^N f_j} \quad (3.4)$$

Outra definição importante nesse modelo, é o fator de estrutura normalizado, $E(\mathbf{H})$, dado por

$$E(\mathbf{H}) = \frac{F(\mathbf{H})}{(\epsilon \sum_{j=1}^N f_j^2)^{1/2}} \quad (3.5)$$

onde ϵ é um inteiro que representa a multiplicidade da simetria do grupo espacial sobre as intensidades.

No modelo que utiliza os fatores de estrutura normalizados, considera-se os átomos pontuais, sem vibração térmica, além de não levar em consideração o efeito do ângulo de espalhamento. Quando todos os átomos são considerados idênticos, o fator de espalhamento unitário se reduz a $1/N$, onde N é o número de átomos na cela unitária.

A distribuição dos valores de $|E(\mathbf{H})|$ fornece informações a respeito do fato de o grupo espacial ser centrossimétrico ou não, conforme mostrado na tabela 3.1 [12]. Apesar de essa informação ser útil, ela não deve ser considerada conclusiva baseando somente na estatística do mapa de $|E(\mathbf{H})|$. Será possível afirmar com certeza se a estrutura é ou não centrossimétrica somente após o refinamento dos parâmetros obtidos.

	Centrossimétrica	Não-centrossimétrica
$\langle E_H ^2 - 1 \rangle$	0,968	0,736
$\langle E_H \rangle$	0,798	0,886

Tabela 3.1: Valores teóricos relacionados a distribuição de amplitudes de E's

3.1.2 Desigualdades de Harker-Kasper

No cálculo das desigualdades [11], duas importantes propriedades da densidade eletrônica são levadas em consideração: a sua não-negatividade e a simetria esférica dos átomos. Com base nas desigualdades de Cauchy-Schwarz, é possível obter outras desigualdades utilizando os fatores de estrutura unitários. Pela equação 3.3 e assumindo que a estrutura é centrossimétrica, portanto todos o fatores de estrutura serão reais, tem-se que:

$$U(\mathbf{H}) = \sum_{j=1}^N n_j \cos 2\pi(hx_j + ky_j + lz_j) \quad (3.6)$$

que pode ser reescrita como:

$$U(\mathbf{H}) = \sum_{j=1}^N \sqrt{n_j} \sqrt{n_j} \cos 2\pi(hx_j + ky_j + lz_j) \quad (3.7)$$

A desigualdade de Cauchy-Schwarz é dada por:

$$\left| \sum_j a_j b_j \right|^2 \leq \left| \sum_j a_j^2 \right| \left| \sum_j b_j^2 \right| \quad (3.8)$$

Identificando $a_j = \sqrt{n_j}$, $b_j = \sqrt{n_j} \cos 2\pi(hx_j + ky_j + lz_j)$ e $\sum_j a_j b_j = U(\mathbf{H})$, tem-se:

$$|U(\mathbf{H})|^2 \leq \sum_j n_j \sum_j n_j \cos^2 2\pi(hx_j + ky_j + lz_j) \quad (3.9)$$

Sabe-se que $\sum_j n_j = 1$ e $\cos^2 \theta = \frac{1}{2}(1 + \cos 2\theta)$, então:

$$\begin{aligned} U(\mathbf{H})^2 &\leq \sum_j \frac{n_j}{2} (1 + \cos 2\pi 2(hx_j + ky_j + lz_j)) \\ U(\mathbf{H})^2 &\leq \frac{1}{2} \left(\sum_j n_j + \sum_j n_j \cos 2\pi 2(hx_j + ky_j + lz_j) \right) \\ \therefore U(\mathbf{H})^2 &\leq \frac{1}{2} (1 + U_{2\mathbf{H}}) \end{aligned} \quad (3.10)$$

Sendo a magnitude e o sinal de $U(\mathbf{H})$ conhecidos, a única incógnita será a fase de $U(2\mathbf{H})$, que será escolhida de modo a obedecer a desigualdade. Para que a fase de $U(2\mathbf{H})$ fique definida sem nenhuma dúvida, a intensidade $U(\mathbf{H})$ deve ser alta. Como nesse tipo de abordagem lida-se com cristais centrossimétricos, os sinais possíveis serão +1 para fase de 0 e -1 para fase de π

3.1.3 Invariantes e seminvariantes de estrutura

Na equação 2.12, se a origem for deslocada por um certo vetor \mathbf{r}' , a nova posição do j-ésimo átomo será $\mathbf{R}_j = \mathbf{r}_j - \mathbf{r}'_j$. Portanto, o fator de estrutura será dado por:

$$\begin{aligned}
 F'(\mathbf{H}) &= F(\mathbf{H})e^{-2\pi i(\mathbf{H}\cdot\mathbf{r}'_j)} \\
 &= |F(\mathbf{H})|e^{i(\alpha(\mathbf{H})-2\pi(\mathbf{H}\cdot\mathbf{r}'_j))} \\
 &= |F(\mathbf{H})|e^{i(\alpha'(\mathbf{H}))}
 \end{aligned} \tag{3.11}$$

Nota-se que a amplitude do fator de estrutura se manteve inalterada para essa mudança de origem, o mesmo não ocorrendo com a fase. É sabido que se a estrutura for centrossimétrica, a origem é definida no centro de inversão. Caso contrário, o elemento de simetria de mais alta ordem é tomado como origem. Para certos conjuntos de fases, quando a origem for transladada para pontos equivalentes por simetria, as fases sofrerão uma variação de um múltiplo inteiro de 2π , o que é uma mudança trivial. Tais conjuntos de fatores de estrutura são os semi-invariantes de estrutura. Todavia, existem certos conjuntos de fases que não mudam, independente da escolha da origem. Estes são os invariantes de estrutura [12].

Como exemplo, consideremos o seguinte produto triplo:

$$\begin{aligned}
 F'(\mathbf{H}_1) \cdot F'(\mathbf{H}_2) \cdot F'(\mathbf{H}_3) &= |F(\mathbf{H}_1) \cdot F(\mathbf{H}_2) \cdot F(\mathbf{H}_3)| \\
 &\quad \times \exp i[\alpha(\mathbf{H}_1) + \alpha(\mathbf{H}_2) + \alpha(\mathbf{H}_3)] - 2\pi i[(\mathbf{H}_1 + \mathbf{H}_2 + \mathbf{H}_3) \cdot \mathbf{r}']
 \end{aligned} \tag{3.12}$$

Para que os dois lados dessa equação sejam iguais, não importando para qual vetor r' , devemos ter

$$\mathbf{H}_1 + \mathbf{H}_2 + \mathbf{H}_3 = 0$$

ou

$$\mathbf{H}_1 + \mathbf{H}_2 = -\mathbf{H}_3$$

Conclui-se, a partir dessa relação, que o conjunto de fases $\alpha(\mathbf{H}_1) + \alpha(\mathbf{H}_2) + \alpha(-\mathbf{H}_1 - \mathbf{H}_2)$ não depende da escolha de origem. Esse conjunto recebe o nome de invariante triplo de fase. Se as reflexões envolvidas nesse produto possuírem altos valores de $|E(\mathbf{H})|$, então a probabilidade de que o sinal resultante do produto desse triplete seja positivo é grande, para o caso de estruturas centrossimétricas. A relação que decorre disso é a \sum_2 , dada por:

$$s(F(\mathbf{H}_1)) \cdot s(F(\mathbf{H}_2)) \cdot s(F(-\mathbf{H}_1 - \mathbf{H}_2)) \approx + \quad (3.13)$$

onde $s(F(\mathbf{H}))$ representa o sinal de $F(\mathbf{H})$ e \approx significa provavelmente igual.

Outra relação de suma importância é a fórmula \sum_1 , dada por:

$$p_+(2\mathbf{H}|\mathbf{H}) = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \tanh \left[\left(\frac{\sigma_3}{2\sigma_2^{3/2}} \right) |E(2\mathbf{H})| (|E(\mathbf{H})|^2 - 1) \right] \quad (3.14)$$

que diz a probabilidade de que $E(2\mathbf{H})$ seja positivo dadas as magnitudes de $E(\mathbf{H})$ e de $E(2\mathbf{H})$. Nessa equação, $\sigma_n = \sum_j Z_j^n$, onde Z_j é o número atômico do j-ésimo átomo [9].

3.1.4 Equação de Sayre

Em 1952, Sayre demonstrou que, para estruturas nas quais os átomos não diferissem muito em número atômico e tivessem posições bem definidas, a função de densidade eletrônica, $\rho(\mathbf{r})$, apresenta picos nas mesmas posições que tal função ao quadrado [9]. Dessa forma, seja:

$$\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{V} \sum_{\mathbf{H}} F(\mathbf{H}) e^{-2\pi i(\mathbf{H} \cdot \mathbf{r})}$$

então

$$\rho^2(\mathbf{r}) = \frac{1}{V^2} \sum_{\mathbf{H}_1} \sum_{\mathbf{H}_2} F(\mathbf{H}_1) F(\mathbf{H}_2) e^{-2\pi i[(\mathbf{H}_1 + \mathbf{H}_2) \cdot \mathbf{r}]} \quad (3.15)$$

Definindo $\mathbf{H} = \mathbf{H}_1 + \mathbf{H}_2$, pode-se reescrever a equação 3.15 como

$$\rho^2(\mathbf{r}) = \frac{1}{V} \sum_{\mathbf{H}_1} \frac{1}{V} \sum_{\mathbf{H} - \mathbf{H}_1} F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1) F(\mathbf{H}_2) e^{-2\pi i(\mathbf{H} \cdot \mathbf{r})} \quad (3.16)$$

que pode ser vista como uma série de Fourier com coeficientes

$$G(\mathbf{H}) = \frac{1}{V} \sum_{\mathbf{H}_1} F(\mathbf{H}_1) F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1) \quad (3.17)$$

Além do mais, $G(\mathbf{H})$ pode ser visto como um "Fator de Estrutura". Então da mesma forma que

$$F(\mathbf{H}) = f \sum_j e^{2\pi i(\mathbf{H}\cdot\mathbf{r}_j)}$$

podemos escrever

$$G(\mathbf{H}) = g \sum_j e^{2\pi i(\mathbf{H}\cdot\mathbf{r}_j)}$$

Dividindo as expressões anteriores uma pela outra, teremos

$$\begin{aligned} G(\mathbf{H}) &= \frac{g}{f} F(\mathbf{H}) = \frac{1}{V} \sum_{\mathbf{H}_1} F(\mathbf{H}_1) F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1) \\ F(\mathbf{H}) &= \frac{\theta}{V} \sum_{\mathbf{H}_1} F(\mathbf{H}_1) F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1) \end{aligned} \quad (3.18)$$

Essa é a equação de Sayre. Se $F(\mathbf{H})$ tiver um valor alto, então a série tenderá a um sinal bem definido (+ ou -). Dessa forma:

$$s(F(\mathbf{H})) \approx s(F(\mathbf{H}_1)) \cdot s(F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1)) \quad (3.19)$$

3.1.5 Fórmula da tangente

É sabido que o fator de estrutura é um número complexo e pode ser escrito na forma $F(\mathbf{H})=A(\mathbf{H})+iB(\mathbf{H})$.

Portanto:

$$\tan \alpha(\mathbf{H}) = \frac{I(F(\mathbf{H}))}{R(F(\mathbf{H}))}$$

Utilizando a equação de Sayre, podemos escrever:

$$\tan \alpha(\mathbf{H}) = \frac{I(\sum_{\mathbf{H}_1} F(\mathbf{H}_1) F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1))}{R(\sum_{\mathbf{H}_1} F(\mathbf{H}_1) - F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1))} \quad (3.20)$$

$$\tan \alpha(\mathbf{H}) = \frac{\sum_{\mathbf{H}_1} (F(\mathbf{H}_1) F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1)) \sin(\alpha(\mathbf{H}_1) + \alpha(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1))}{\sum_{\mathbf{H}_1} (F(\mathbf{H}_1) - F(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1)) \cos(\alpha(\mathbf{H}_1) + \alpha(\mathbf{H} - \mathbf{H}_1))} \quad (3.21)$$

A equação 3.19 é a chamada fórmula da tangente. Se os fatores de estrutura das reflexões \mathbf{H}_1 e $\mathbf{H} - \mathbf{H}_1$ tiverem valores altos, a soma de suas fases, assumindo que elas já tenham sido determinadas, fornece aproximadamente a fase da reflexão \mathbf{H} , que agora pode ser utilizada na aproximação de novas fases. Conforme novas fases são determinadas, todas as fases conhecidas são permutadas utilizando a fórmula da tangente. Esse processo é repetido até que todas as fases tenham sido determinadas [3,9]

3.1.6 Método da adição simbólica

Com a origem fixada, é possível determinar algumas fases iniciais. Fases adicionais receberão símbolos, + ou -, no caso centrossimétrico e receberão valores numéricos, como por exemplo $\pi/4$, $3\pi/4$, etc, no caso não-centrossimétrico. Esses símbolos são fixados utilizando a equação 3.18. Com esse conjunto inicial de fases é possível, utilizando a fórmula da tangente, expandi-lo e obter conjuntos maiores de fases, que servirão de base para o cálculo de mapas de densidade eletrônica [9].

3.1.7 Figuras de mérito para as fases

Uma vez que tenha sido obtido um conjunto inicial de fases, sua confiabilidade é testada utilizando as figuras de mérito, que mostram o quanto tal conjunto satisfaz a fórmula da tangente ou a equação de Sayre, por exemplo. Uma figura de mérito que testa a confiabilidade das fases é a R_α , dada por:

$$R_\alpha = \frac{\sum_{\mathbf{H}} \alpha(\mathbf{H}) - \langle \alpha(\mathbf{H}) \rangle}{\sum_{\mathbf{H}} \langle \alpha(\mathbf{H}) \rangle} \quad (3.22)$$

onde $\langle \alpha(\mathbf{H}) \rangle$ é o valor médio das fases. Portanto, R_α indica o quanto a fase $\alpha(\mathbf{H})$ desvia do valor esperado. Dessa forma, quanto menor o valor de R_α , melhor será o conjunto de fases proposto. Outra figura de mérito importante que verifica a concordância entre a estrutura proposta e a estrutura real é o índice residual R_E definido como:

$$R_E = \frac{\sum_{\mathbf{H}} E_{obs} - \langle E_{calc} \rangle}{\sum_{\mathbf{H}} \langle E_{obs} \rangle} \quad (3.23)$$

onde E_{obs} é o fator de estrutura normalizado observado e $\langle E_{calc} \rangle$ é a média dos fatores de estrutura normalizados calculados. Para que o modelo seja satisfatório R_E deve apresentar um valor próximo de zero [3].

3.2 Mapas de densidade eletrônica

Com as fases fixadas, pode ser calculado o mapa de densidade eletrônica utilizando a equação 2.14. Como coeficientes, pode-se utilizar $|F_{obs}|$, $|F_{calc}|$, $|E_H|$, dentre outros, onde F_{obs} é o fator de

estrutura observado, F_{calc} é o fator de estrutura calculado e E_H é o fator de estrutura normalizado. Os picos encontrados no mapa que utiliza $|E_H|$ como coeficiente servem para definir coordenadas iniciais para a estrutura, visto que nesse cálculo os átomos são puntiformes e os picos terão uma forma mais bem definida. Um mapa de especial interesse é o que utiliza como coeficientes $|F_{obs} - F_{calc}|$. Esse é o mapa Fourier diferença e tem como finalidade encontrar partes da estrutura que ainda não foram determinadas, identificar erros na estrutura proposta e, uma vez que os átomos não-hidrogenóides tenham sido encontrados, verificar se o mapa gerado não possui picos remanescentes. O cálculo com F_{obs} fornece a densidade eletrônica do cristal com a precisão do experimento [7].

3.3 Refinamento de estruturas cristalográficas

Uma vez que todos os átomos não hidrogenóides tenham sido encontrados o modelo proposto precisa ser refinado. O refinamento é realizado com o objetivo de obter parâmetros atômicos mais precisos que os do modelo inicial, tais como posições atômicas e parâmetros de deslocamento térmico. O objetivo é melhorar a concordância entre o modelo proposto e os dados coletados. No final do refinamento, o mapa Fourier diferença não deve conter nenhum pico ou buraco significativo.

3.3.1 Refinamento pelo método dos mínimos quadrados

Os problemas que surgem na cristalografia não são lineares, o que impede a solução direta dos parâmetros. Uma solução é fazer uso da expansão em séries de Taylor, visto que funções como seno e cosseno podem ser expandidas em termos de séries de potências. Nesse método, um conjunto de fatores de estrutura é calculado por meio de Transformada de Fourier a partir do modelo atômico [2]. As intensidades calculadas são, então, comparadas com as intensidades medidas. O melhor modelo irá minimizar a função:

$$S = \sum w(|F_{obs}^2| - |F_{calc}^2|)^2 \quad (3.24)$$

onde ω é um fator de peso dado por:

$$w = \frac{1}{\sigma^2(F_{obs}^2) + (aP)^2 + bP} \quad (3.25)$$

onde $P = (F_{obs}^2 + 2F_{calc}^2)/3$, a e b são parâmetros de ajuste.

3.3.2 Fatores residuais

A convergência do refinamento é julgada por fatores residuais que devem ser minimizados a cada ciclo. Esses fatores irão mostrar o quanto o modelo concorda com os dados [13].

Os fatores residuais utilizados são:

$$wR2 = \left[\frac{\sum w(|F_{obs}^2| - |F_{calc}^2|)^2}{\sum w|F_{obs}^2|} \right]^{1/2} \quad (3.26)$$

$$R = \frac{\sum ||\mathbf{F}_{obs}| - |\mathbf{F}_{calc}||}{\sum |\mathbf{F}_{obs}|} \quad (3.27)$$

e por fim,

$$Goof = \left[\frac{\sum w(F_{obs}^2 - F_{calc}^2)^2}{n - p} \right]^{1/2} \quad (3.28)$$

onde n é o número de reflexões únicas por simetria e p o número de parâmetros refinados. O fator residual *Goof*, *goodness of fit*, indica a qualidade do ajuste e depende tanto da diferença entre valores observados experimentalmente e calculados quanto dos números de parâmetros e dados observados e seu valor final deverá ser próximo de 1. Para um bom conjunto de dados, os fatores residuais $wR2$ e R devem ser menores que 0,15 e 0,05 respectivamente.

3.3.3 Refinamento de estruturas apresentando desordem

A estrutura cristalográfica é a média espacial sobre todo o volume de um cristal (*bulk*), a representação de toda a estrutura por somente uma célula unitária. Em muitos casos, partes da molécula são encontradas em mais de uma orientação cristalográfica. Essa situação pode ser decorrente de geminação ou, ainda, de desordem. Moléculas desordenadas possuem fragmentos que

apresentam duas ou mais orientações, ou seja, dois ou mais conjuntos de coordenadas para cada átomo [13].

O modelo obtido após a determinação e refinamento das coordenadas atômicas é constituído de parâmetros que descrevem as posições médias dos átomos na célula unitária e as amplitudes dos deslocamentos atômicos médios destas posições. Para átomos não-hidrogenóides esses deslocamentos são modelados por tensores de segunda ordem, matrizes 3 x 3, e representam o volume no qual o átomo pode ser encontrado. Os componentes desse tensor são chamados parâmetros de deslocamento anisotrópico, U_{aniso} . Quando os elementos fora da diagonal principal do tensor são elevados, o refinamento se torna instável sendo, portanto, um indicativo de que a estrutura apresenta desordem

Os principais tipos de desordem são: substitucional e posicional, sendo esta última dinâmica ou estática. Na desordem substitucional, um mesmo sítio pode ser ocupado por dois ou mais tipos diferentes de átomos. Na desordem posicional, um átomo ocupa mais de um sítio, podendo ser em uma mesma célula unitária (desordem dinâmica devido à uma movimentação real do estado sólido) ou distribuído em diferentes células unitárias (desordem estática). No caso da desordem estática, a molécula pode possuir duas ou mais conformações bem definidas e energeticamente similares. A desordem dinâmica pode ser distinguida da desordem estática realizando a coleta de dados em duas temperaturas distintas, visto que a vibração térmica diminui quando a temperatura é reduzida. Um caso especial de desordem, chamado *mess*, ocorre quando grandes vazios ou cavidades no interstício molecular são preenchidos por moléculas do solvente, orientadas de maneira randômica, que não contribuem no padrão de difração já que seu espalhamento é difuso.

A introdução de desordem no modelo aumenta consideravelmente o número de parâmetros a serem refinados. Portanto, para melhorar a convergência do refinamento utiliza-se vínculos: *restraints* e *constraints*. *Constraints* são equações que relacionam ou atribuem valores numéricos fixos a dois ou mais parâmetros, reduzindo o número de parâmetros independentes a serem refinados. *Restraints* são tratados como dados experimentais, fornecendo valores para certos parâmetros ou, ainda, os vinculando. Assim, os *restraints* permitem introduzir informações químicas e físicas provenientes de outras fontes que não do experimento de difração de raios X, no processo de refinamento. Os *res-*

straints são utilizados para assegurar que certos parâmetros geométricos e de deslocamento térmico estejam dentro de valores esperados para tais situações.

Os *restraints* comumente utilizados em cristalografia são:

- *Restraints* geométricos: restrição de distâncias, ângulos de ligação e ângulos torsionais a certos valores, seja diretamente ou fixando coordenadas atômicas.

- *Restraint* de grupos rígidos: fixa distâncias entre átomos ligados diretamente ou não, sendo que os átomos envolvidos se comportarão como grupos rígidos.

- *Restraint* anti-bumping: controla relações entre átomos não ligados, evitando que moléculas do solvente ou de grupos desordenados se "choquem" com outras partes da estrutura.

- *Restraint* de parâmetros de deslocamento atômico:

i) Aproximadamente esférico: a componente U_{ij} é restrita de modo que o elipsóide fique fracamente distorcido com relação a uma esfera

ii) Estiramento da ligação: a magnitude do deslocamento médio de pares de átomos é restrita a ser igual ao longo da direção que une os átomos.

iii) Similaridade: as componentes individuais U_{ij} de átomos adjacentes são restritas a serem similares.

iv) Fator de ocupação de sítios: a ocupação para átomos desordenados sobre dois sítios na cela unitária. A relação dos dois fatores de ocupação pode ser refinada mas geralmente a soma é fixada em 1.0.

Capítulo 4

Metodologia

4.1 Crescimento de cristais

A cristalização é um fenômeno que é favorecido quando a concentração de um determinado composto em uma solução é maior que a solubilidade do mesmo, ou seja, a solução encontra-se na região de sobressaturação, conforme mostrado na figura 4.1. Para alcançar a sobressaturação diversas técnicas são utilizadas, cujo objetivo comum é alcançar essa condição e manter a solução estável enquanto os cristais se formam lentamente. Quanto maior a taxa em que moléculas chegam na superfície, menor o tempo que elas possuem para se orientar em relação às moléculas já presentes no cristal, resultando num crescimento aleatório produzindo cristais geminados ou desordenados. Para qualquer uma das técnicas, alguns cuidados devem ser tomados:

- a amostra deve ser moderadamente solúvel no solvente escolhido;
- o frasco utilizado para o preparo da amostra deve estar o mais limpo possível, pois pequenas partículas estranhas à solução podem funcionar como sítios de nucleação interferindo no crescimento dos cristais;
- a cristalização deve ser realizada em áreas do laboratório onde os níveis de vibração sejam mínimos, a temperatura se mantenha relativamente constante e sem incidência direta de luz.

As principais técnicas de cristalização serão analisadas a seguir.

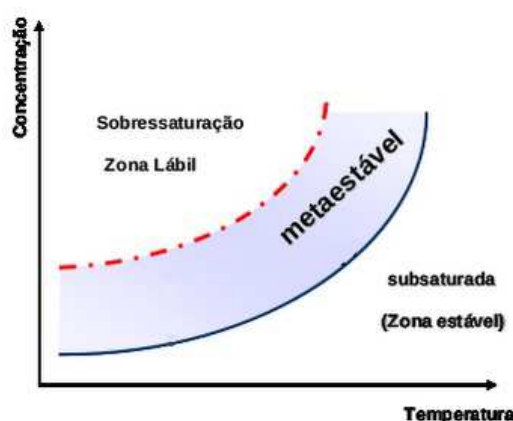


Figura 4.1: Diagrama de solubilidade

4.1.1 Evaporação lenta

Esta é a técnica mais comum, dada a sua simplicidade na execução, porém é mais demorada. Prepara-se uma solução próxima da supersaturação de modo que, uma vez que tenha sido alcançada pela evaporação do solvente, iniciará a formação de cristais. Os solventes mais utilizados nessa técnica são metanol, etanol, isopropanol, diclorometano, DMSO e clorofórmio. Para aumentar a solubilidade da amostra em um dado solvente é interessante aquecer a solução (desde que a molécula não sofra alterações com o aumento da temperatura) e, durante o resfriamento, é possível que alguns cristais comecem a se formar. Um cuidado especial deve ser tomado ao aquecer solventes inflamáveis pois forma-se uma chama invisível. Uma alternativa é aquecê-los em "banho-maria". É importante garantir que não restaram partículas em suspensão na solução pois as moléculas podem se ligar a esses fragmentos formando, assim, um material amorfo [14, 15].

Na figura 4.2 tem-se a representação esquemática do aparato para o processo de evaporação lenta.

4.1.2 Difusão de vapor

O método de difusão de vapor fornece os cristais de melhor qualidade, pois os mesmos crescem lentamente. Se baseia na saturação da solução por meio da difusão de um solvente mais volátil na solução que contém a amostra dissolvida. Para a execução do método, prepara-se uma solução do

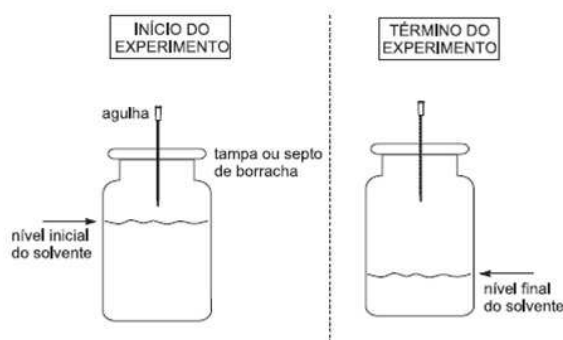


Figura 4.2: Representação esquemática do método de evaporação lenta

composto de interesse e, em seguida, o recipiente contendo esta solução é colocado no interior de outro recipiente com um certo volume de um outro solvente com polaridade menor que o primeiro e no qual o composto em questão seja insolúvel. O recipiente é então fechado hermeticamente permitindo a difusão do vapor do solvente mais volátil no interior da solução levando à formação dos cristais. As combinações típicas utilizadas nesse método são clorofórmio/pentano, álcoois/hexano, álcoois/éter de petróleo, diclorometano/hexano e diclorometano/éter de petróleo [14, 15].

Na figura 4.3 tem-se a representação esquemática do aparato para o processo de difusão de vapor.

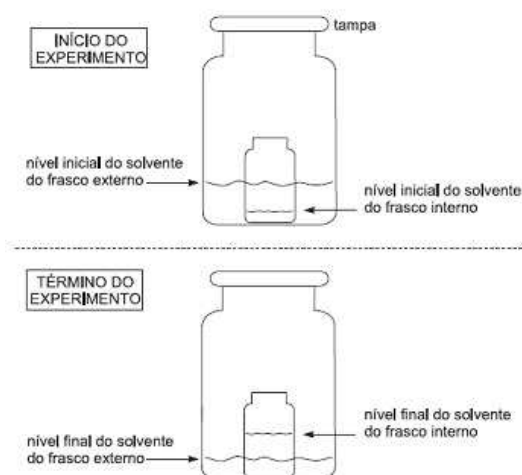


Figura 4.3: Representação esquemática do método de difusão de vapor

4.1.3 Difusão de líquido

O método de difusão de líquido é bastante útil quando há uma pequena quantidade de material disponível. É preparada uma solução supersaturada do composto em um tubo de vidro longo e diâmetro reduzido. Em seguida é adicionado cuidadosamente um segundo solvente, menos polar que o primeiro, no qual o composto não é solúvel. Se o sistema não for perturbado, os dois solventes irão se misturar lentamente e os cristais se formarão na interface dos solventes. Uma alternativa é o uso de um terceiro solvente na interface dos dois primeiros. Maiores chances de sucesso são obtidas utilizando benzeno como esse terceiro solvente ². O tubo deve ser selado hermeticamente. Um melhor resultado é obtido nesse método quando o aparato é mantido na geladeira a fim de reduzir a taxa de difusão de um solvente no outro. As combinações mais comuns de solventes para esse método são: clorofórmio/hexano, diclorometano/hexano, etanol/éter de petróleo e água/acetona [14, 15].

Na figura 4.4 tem-se a representação esquemática do aparato para o processo de difusão de líquidos.

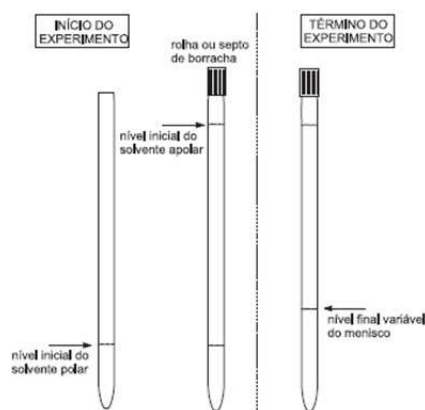


Figura 4.4: Representação esquemática do método de difusão de líquidos

²Deve ser tomado um cuidado adicional ao se utilizar benzeno. É um solvente extremamente inflamável, causa irritação à pele e olhos, se inalado pode causar dores de cabeça, tonturas, sonolência e náusea, podendo levar a inconsciência. Perigoso ou fatal se afetar os pulmões. Pode causar câncer.

4.2 Coleta de dados de difração de raios X por monocristal

Nesta seção será feita a descrição da rotina de coleta de dados utilizando o difratômetro CAD4 (Computerized Automatic Diffractometer 4 Circles), instalado no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da UFG.

4.2.1 O difratômetro CAD4

O difratômetro CAD4, figura 4.5, está em operação na UFG desde 2003 quando foi doado pelo IFSC-USP por gentileza da Prof^a Dra. Yvonne P. Mascarenhas e do Prof^o Dr. Eduardo E. Castellano. Foi um dos primeiros difratômetros com essa configuração construído pela Enraf-Nonius e está em operação desde meados da década de 70. Foi o primeiro difratômetro instalado no hemisfério sul e serviu no treinamento da maioria dos cristalógrafos em atividade no Brasil. A capacidade de medida varia e pode atingir cerca de 100 medidas de intensidades espalhadas por hora sob tensão de 40 kV e 32 mA de corrente no tubo.

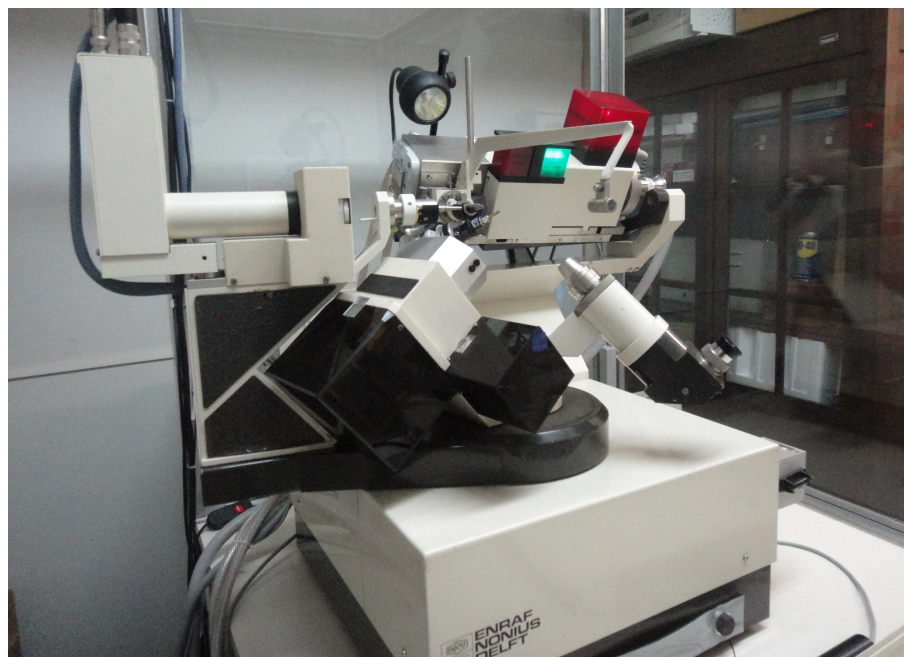


Figura 4.5: CAD4 instalado nas dependências do Instituto de Física da UFG

4.2.2 A geometria do CAD4

O CAD4 consiste de um goniômetro com a geometria Kappa, diferentemente dos outros difratômetros de quatro círculos que empregam a geometria euleriana. A cabeça goniométrica mantém o cristal no centro do difratômetro. São três eixos de rotação independentes que se interceptam no centro do difratômetro mais um quarto grau de liberdade para o detector. A cabeça goniométrica gira em torno do eixo ϕ e está apoiada no bloco κ , que, por sua vez, gira em torno do eixo de mesmo nome. O bloco κ está sobre o bloco ω que gira em torno do eixo vertical (z) e se apoia na base do difratômetro. Por fim, o detector gira em torno do eixo 2θ , que é paralelo ao eixo ω . O feixe primário se encontra no plano perpendicular ao eixo ω , sendo o eixo x definido na direção da fonte de raios X [17]. O sistema cartesiano XYZ tem origem no centro do difratômetro. O eixo X está dirigido para a fonte de raios X enquanto que o eixo Z está na mesma direção que o eixo ω . O eixo Y completa o sistema dextrógiro. As posições zero dos ângulos ϕ , κ , ω e 2θ são definidas em termos da geometria do equipamento. O ângulo κ , para o qual os eixos ω e ϕ coincidem, é definido como sendo $\kappa = 0$. A posição na rotação do eixo ω para a qual o eixo κ está no plano XZ e o bloco Kappa é oposto à direção $+X$ é definido como $\omega = 0$. A posição $2\theta = 0$ é definida como a rotação θ na qual o detector coincide com a direção $-X$. A posição para $\phi = 0$ é arbitrariamente definida como sendo a posição para a qual a trava da cabeça goniométrica está paralela ao eixo $+Y$, quando κ e ω são simultaneamente zero. Quando isso ocorre, diz-se que o difratômetro está alinhado. Essa geometria está representada na figura 4.6.

4.2.3 Preparação da amostra e Coleta de dados

A coleta de dados consiste na medida da intensidade da radiação difratada. Inicialmente é escolhido um monocristal com faces bem definidas e cor homogênea. O tamanho da amostra deve ser de aproximadamente 0.3 mm em cada dimensão para que ela fique totalmente dentro do feixe de raios X. É importante verificar se todos os monocristais da amostra apresentam formas semelhantes, pois misturas de formas (agulhas e placas, por exemplo) podem ser uma indicação da existência de polimorfismo, ou seja, diferentes estruturas cristalinas com a mesma composição química. O

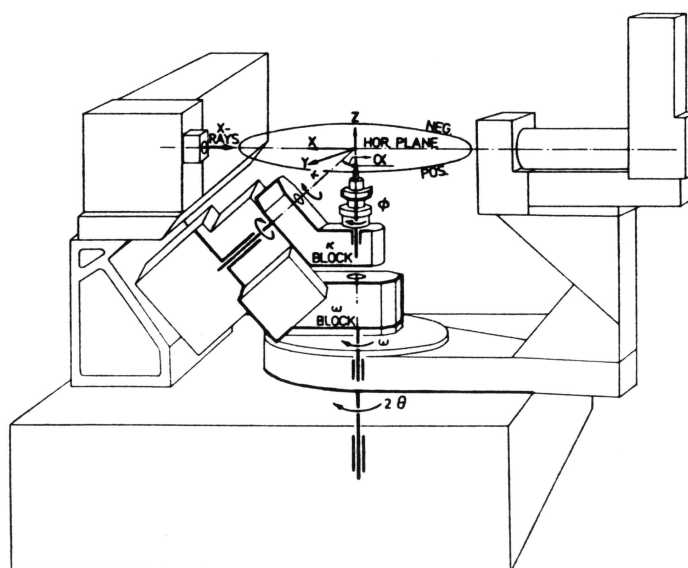


Figura 4.6: Goniômetro com geometria Kappa do difratômetro CAD4

uso de um microscópio com luz polarizada permite verificar a monocristalinidade da amostra, pois monocristais de boa qualidade rotacionam o plano de polarização da luz, como pode ser visto na figura 4.7 [16].

Muitos cristais perdem solvente quando são retirados da solução na qual cresceram. Embora a parte externa continue intacta, a perda de solvente pode tornar o cristal impróprio para a análise por difração de raios X. Isso ocorre frequentemente para cristais crescidos em solventes como diclorometano e clorofórmio, mas também afeta cristais crescidos em qualquer outro solvente, inclusive água. Uma maneira de evitar esse problema, caso não seja possível realizar a coleta em baixa temperatura, é envolver o cristal em óleo mineral, o que irá criar uma película protetora impedindo a evaporação. A amostra selecionada também poderá ser colocada em um capilar de vidro selado.

Com o cristal centrado no difratômetro é necessário encontrar a orientação dos eixos cristalinos com relação ao sistema de coordenadas do goniômetro. Para isso, o difratômetro irá medir, centrar e armazenar as posições angulares de 25 reflexões. Inicialmente, a busca por essas 25 reflexões é feita aleatoriamente sendo armazenados os valores dos ângulos θ , ϕ , ω e κ e a intensidade correspondente à essa reflexão. Com esses ângulos é possível determinar um vetor \mathbf{V} , no sistema de coordenadas cartesiano. A partir desses 25 vetores \mathbf{V} , são encontradas as componentes mínimas \mathbf{a}^* , \mathbf{b}^* e \mathbf{c}^* que,



Figura 4.7: Cristal visto em um microscópio com luz polarizada.

a partir de uma expansão linear com coeficientes inteiros, reproduziriam todos os vetores. Essas três componentes mínimas serão os eixos da célula unitária recíproca e os coeficientes inteiros serão os índices de Miller para tais reflexões. A matriz orientação irá, portanto, relacionar no sistema de coordenadas do laboratório, um dado vetor no espaço recíproco, e seus elementos serão as componentes da rede recíproca no sistema de coordenadas XYZ do goniômetro. A partir desta matriz, a posição angular de uma certa reflexão já será conhecida antes que a medida seja realizada. Dessa forma, inicia-se a coleta automaticamente escolhendo uma das rotinas a seguir:

- 1 - Modo ZIG-ZAG: minimiza o movimento do goniômetro.
- 2 - Por meio de uma lista previamente preparada pelo operador.
- 3 - Excluindo-se extinções sistemáticas a partir de condições pré-estabelecidas.

No início da coleta, seleciona-se duas reflexões para controle de intensidade e uma para controle de orientação, que serão medidas periodicamente. Este controle irá recalcular a matriz orientação ou parar a coleta caso o cristal não possa ser recentrado apropriadamente ou caso as intensidades das reflexões de controle tenham reduzido abaixo de uma fração específica de seus valores originais. Reflexões menos intensas podem ser medidas mais lentamente que as mais fortes. Isso é feito diminuindo a velocidade na varredura do ângulo θ .

4.2.4 Redução de dados

A intensidade da radiação difratada está relacionado com o fator de estrutura pela seguinte relação:

$$|I(hkl)| = K L_p A g |F(hkl)|^2 \quad (4.1)$$

Na equação 4.1, K depende do tamanho do cristal, da intensidade do feixe e da sensibilidade do detector, ou seja, é uma constante para um conjunto de medidas, L_p é o fator de Lorentz-polarização que leva em conta o fato de que os pontos da rede recíproca atravessam com velocidades diferentes a esfera de Ewald. O ajuste desse fator corrige as diferentes oportunidades temporais e geométricas que diferentes pontos da rede recíproca têm para difratar. Esse fator também leva em conta a redução na intensidade do feixe provocada pelo cristal monocromador e, em seguida, pela amostra, ou seja, é um fator que carrega informações a respeito da polarização do feixe incidente. O fator A é a correção do efeito da absorção dos raios X pela amostra. O fator g é a correção dos efeitos causados pela extinção primária, que ocorre quando os raios X penetram a amostra, e secundária que é a redução do feixe difratado devido aos espalhamento múltiplos. E, por fim, o $|F(hkl)|^2$ é o módulo do fator de estrutura ao quadrado [9].

Capítulo 5

Resultados e discussões

5.1 Análise cristalográfica de derivados de N-fenilpiperazina

5.1.1 Cristalização e determinação da estrutura cristalográfica e molecular do composto LASSBio-1597

O composto LASSBio-1597, $C_{21}H_{23}N_5O$, figura 5.1, foi planejado inicialmente para ser inibidor de tirosina-quinase e usado no tratamento de câncer, porém o composto se mostrou extremamente ativo como anti-inflamatório. A elucidação da estrutura cristalográfica desse composto poderá ajudar no entendimento do mecanismo farmacológico por meio da determinação das interações entre as moléculas e da distribuição tridimensional dos átomos.

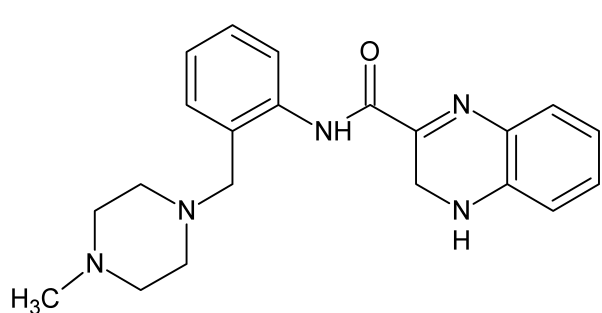


Figura 5.1: Representação da estrutura plana do composto LASSBio-1597

Os monocristais foram obtidos pelo método de evaporação lenta solubilizando 4,5 mg do composto em uma solução de 0,2 ml de metanol à temperatura ambiente. Após 17 dias do preparo da

solução foi observado o surgimento de monocristais, figura 5.2.

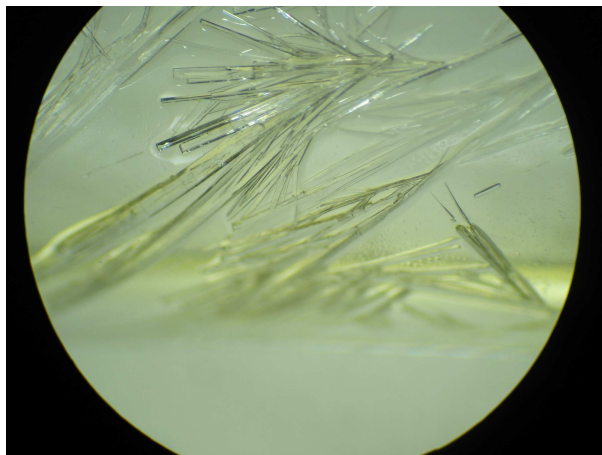


Figura 5.2: Fotografia obtida em microscópio óptico de monocristais do composto LASSBio-1597

Uma amostra de formato prismático com dimensões 0,2 mm x 0,125mm x 0,10mm foi selecionada para a coleta de dados de difração de raios X com o auxílio de um microscópio com luz polarizada. A coleta foi realizada à temperatura de 293 K utilizando radiação de cobre ($\text{Cu-K}\alpha = 1.54180 \text{ \AA}$) no difratômetro Enraf-Nonius CAD4 instalado no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da UFG.

Com a amostra colada no capilar e centrada na cabeça goniométrica, foi feita a busca por 25 reflexões, através das quais foi possível a determinação da matriz orientação e da célula unitária. A célula inicial foi obtida com os seguintes parâmetros de rede: $a = 5,8029(14) \text{ \AA}$, $b = 16,6277(20) \text{ \AA}$, $c = 19,6994(11) \text{ \AA}$, $\alpha = 90,0057(83)^\circ$, $\beta = 90,203(130)^\circ$ e $\gamma = 90,0434(141)^\circ$, sendo 2/m o grupo de ponto. Após a exclusão de algumas reflexões e uma busca manual por reflexões com altos valores para os índices de Miller, foi feita uma reindexação para definir uma nova célula unitária. A célula unitária final teve os seguintes parâmetros: $a = 5,8068(7) \text{ \AA}$, $b = 16,6297(36) \text{ \AA}$, $c = 19,6957(26) \text{ \AA}$, $\alpha = 90,0350(144)^\circ$, $\beta = 90,2326(132)^\circ$ e $\gamma = 89,9680(143)^\circ$, volume = $1901,9260(5270) \text{ \AA}^3$. O valor do ângulo β se apresentou ligeiramente maior que 90° e mesmo levando em conta o baixo erro nesse parâmetro, não foi plausível definir o sistema cristalino como sendo ortorrômbico. Nesse sentido, decidiu-se proceder a coleta considerando-o como monoclinico. Após terem sido medidas aproximadamente 1200 reflexões notou-se que as mesmas apresentavam valores muito baixos. Dessa

forma, mudou-se o tempo de exposição do cristal ao feixe de raios X de 60 segundos para 180 segundos para obter mais contagens para cada uma das reflexões. No fim do experimento, foram medidas 4650 reflexões, sendo 3244 independentes e 1959 observadas ($I > 2\sigma$). O valor do fator de concordância R_{int} foi de 0,0344 e R_{sigma} foi de 0,0601. O intervalo de varredura do ângulo θ foi de $3,5^\circ$ até $68,1^\circ$.

O composto LASSBio-1597 (figura 5.3), $C_{21}H_{23}N_5O$, cristalizou no grupo de espaço $P2_1/c$ com quatro moléculas por célula unitária. A estrutura foi resolvida usando o SHELXS-97 [25], por Métodos Diretos. Durante a determinação da estrutura, verificou-se que a célula unitária não estava na representação convencional, $P2_1/c$. Nesse sentido foi feita uma transformação que levou à seguinte célula unitária: $a = 5,801(8) \text{ \AA}$, $b = 16,61(4) \text{ \AA}$, $c = 20,506(3) \text{ \AA}$, $\beta = 106,157(14)^\circ$. Após a determinação estrutural, obteve-se o mapa de densidade eletrônica com a posição dos átomos de carbono, oxigênio e nitrogênio. Inicialmente as posições destes átomos foram refinadas isotropicamente pelo método de mínimos quadrados, minimizando a diferença entre os fatores de estrutura observados e calculados em F^2 usando o programa SHELXL-97 [26]. Em seguida, os átomos foram refinados anisotropicamente. Nos ciclos seguintes do refinamento, os picos referentes aos átomos de hidrogênio surgiram nos mapas de diferença de Fourier. O refinamento convergiu em $R1 = 10,1\%$ e $wR2 = 11,2\%$ para todos os dados e $R1 = 3,6\%$ e $wR2 = 9,0\%$ para os dados observados. O fator de concordância entre o modelo proposto e os dados medidos, goodness-of-fit, foi de 1,004.

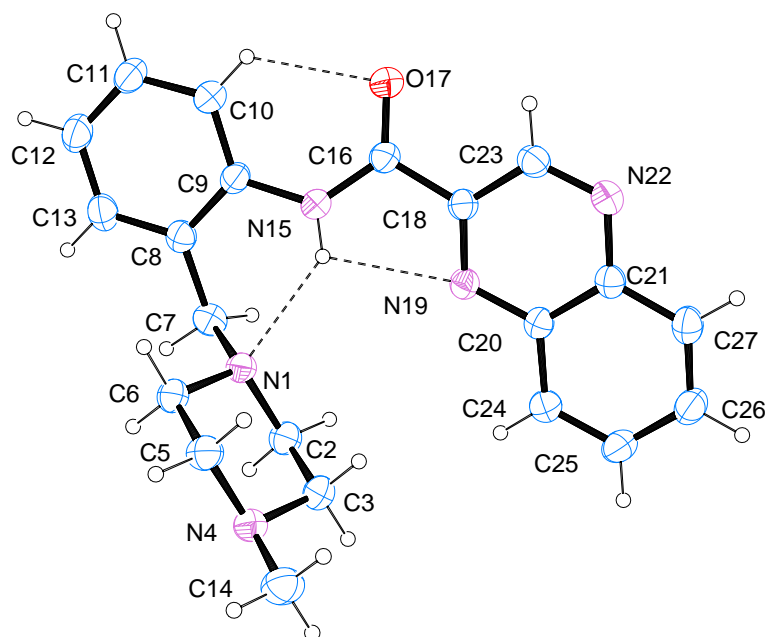


Figura 5.3: Representação ORTEP [23] da unidade assimétrica do composto LASSBio-1597 com elipsóides a 30% de probabilidade.

Os dados cristalográficos referentes ao composto LASSBio-1597 estão sumarizados na tabela

5.1.

Peso Molecular	361,4	F(000)	767,8
Temperatura (K)	293(2)	Tamanho do cristal(mm)	0,2 x 0,125 x 0,10
Cor	Transparente	Densidade(g/cm ³)	1,26
a (Å)	5,081(8)	Varição de θ para coleta de dados (°)	3,5 até 68,1
b (Å)	16,61(4)	Dados/Parâmetros	3244/245
c (Å)	20,506(3)	Goodness-of-fit - F ²	1,004
β °	106,157(14)	μ (mm ⁻¹)	0,647
Sistema cristalino	Monoclínico	Grupo espacial	P2 ₁ /c
Volume (Å ³)	1898(5)	Z	4
$\Delta\rho_{max}$ (e Å ⁻³)	0,185	Reflexões coletadas / independentes / R(int)	4650/3244/0,034
$\Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³)	-0,157		
Fatores Residuais [obs]	R1=0,036 wR2=0,090	Fatores Residuais [all]	R1=0,101 wR2= 0,112

Tabela 5.1: Dados cristalográficos e experimentais do composto LASSBio-1597

O anel N1-C2-C3-N4-C5-C6 se apresentou na conformação do tipo cadeira enquanto os demais

anéis se apresentaram planares. A molécula é estabilizada pela interação de hidrogênio intramolecular bifurcada do tipo N-H...N sendo N15-H15 o centro doador e os átomos N19 do anel pirazina e N1 do anel piperazina, os centros aceitadores e, também, pela interação de hidrogênio C10-H10...O17. O empacotamento é mediado por uma interação de hidrogênio não clássica do tipo C-H... π , entre os átomos C7-H7a e o centro de gravidade do anel 1 (Cg1ⁱ), composto pelos átomos C18-N19-C20-C21-N22-C23, de uma molécula gerada pelo código de simetria [ⁱ: -1+x,y,z]] além do contato curto C5-H5b...O17ⁱⁱ [ⁱⁱ: -x, -1/2+y, 1/2-z]. Estas ligações estão detalhadas na tabela 5.2 e ilustradas, separadamente por questão de clareza, nas figuras 5.4 e 5.5

D-H...A	D-H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (°)	Operação de simetria
N15-H15...N1	0,86	2,24	2,922(7)	136,0	
N15-H15...N19	0,86	2,35	2,739(7)	108,0	
C10-H10...O17	0,93	2,31	2,880(7)	119,0	
C7-H7a...Cg1 ⁱ	0,97	2,461	3,374(8)	115,69	ⁱ : -1+x,y,z
C5-H5b...O17 ⁱⁱ	0,97	2,52	3,271(8)	119,0	ⁱⁱ : -x, -1/2+y, 1/2-z

Tabela 5.2: Ligações de hidrogênio para o composto LASSBio-1597

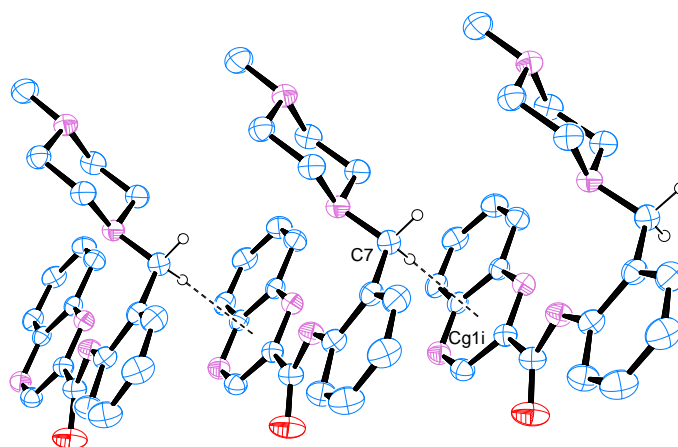


Figura 5.4: Representação ORTEP [23] do empacotamento do composto LASSBio-1597 evidenciando a interação C-H... π ⁱ (ⁱ: -1+x,y,z)

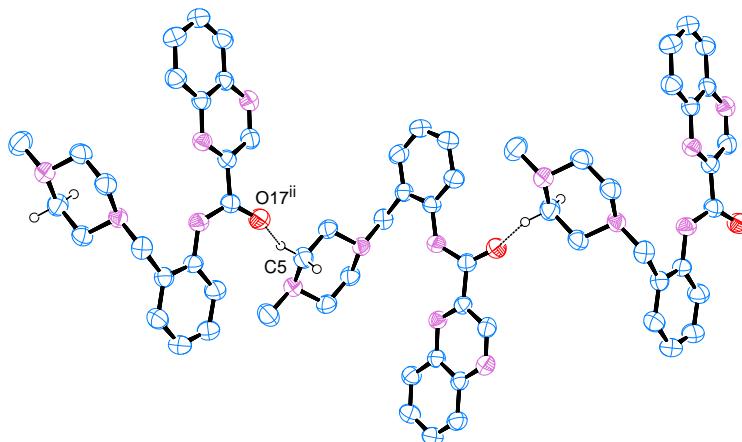


Figura 5.5: Representação ORTEP [23] do empacotamento do composto LASSBio-1597 evidenciando a interação C-H...Oⁱⁱ (ⁱⁱ : -x, -1/2+y, 1/2-z)

Os comprimentos de ligação e ângulos do fragmento C9-N15-C16-O17-C18 se apresentaram de acordo com os de estruturas similares encontradas na literatura e estão listados nas tabelas 5.3, 5.4, 5.5.

O17 - C16	1.218(4)	C7 - C8	1.500(4)
N1 - C2	1.461(4)	C8 - C13	1.389(5)
N1 - C6	1.462(4)	C8 - C9	1.396(5)
N1 - C7	1.468(5)	C9 - C10	1.385(4)
N4 - C3	1.453(4)	C10 - C11	1.384(5)
N4 - C5	1.454(4)	C11 - C12	1.367(5)
N4 - C14	1.457(5)	C12 - C13	1.377(5)
N15 - C9	1.414(4)	C16 - C18	1.499(5)
N15 - C16	1.350(4)	C18 - C23	1.410(5)
N19 - C18	1.315(4)	C20 - C24	1.411(4)
N19 - C20	1.372(4)	C20 - C21	1.411(4)
N22 - C21	1.368(4)	C21 - C27	1.408(4)
N22 - C23	1.311(4)	C24 - C25	1.363(4)
C2 - C3	1.498(5)	C25 - C26	1.396(5)
C5 - C6	1.505(5)	C26 - C27	1.360(4)

Tabela 5.3: Comprimentos de ligações (Å) do composto LASSBio-1597.

C2 - N1 - C6	109.74(15)	N15 - C16 - C18	114.65(16)
C2 - N1 - C7	109.93(16)	C16 - C18 - C23	118.53(17)
C6 - N1 - C7	111.10(16)	N19 - C18 - C23	122.46(19)
C3 - N4 - C5	109.04(15)	N19 - C18 - C16	119.01(19)
C3 - N4 - C14	110.95(17)	N19 - C20 - C21	121.38(16)
C5 - N4 - C14	111.17(17)	N19 - C20 - C24	119.35(17)
C9 - N15 - C16	127.83(16)	C21 - C20 - C24	119.27(17)
C18 - N19 - C20	115.92(17)	N22 - C21 - C20	121.09(17)
C21 - N22 - C23	116.04(18)	C20 - C21 - C27	119.53(17)
N22 - C21 - C27	119.38(18)	C20 - C24 - C25	119.8(2)
N22 - C23 - C18	123.08(18)	C24 - C25 - C26	120.7(2)
N1 - C2 - C3	110.63(17)	C25 - C26 - C27	121.1(2)
N4 - C3 - C2	110.61(17)	C21 - C27 - C26	119.6(2)
N4 - C5 - C6	110.65(17)	C8 - C9 - C10	120.30(19)
N1 - C6 - C5	111.15(17)	C9 - C10 - C11	119.7(2)
N1 - C7 - C8	114.29(18)	C10 - C11 - C12	120.8(2)
C7 - C8 - C13	121.2(2)	C11 - C12 - C13	119.4(2)
C7 - C8 - C9	120.39(18)	C8 - C13 - C12	121.6(2)
C9 - C8 - C13	118.21(17)	O17 - C16 - C18	120.21(19)
N15 - C9 - C10	122.24(19)	O17 - C16 - N15	125.1(2)
N15 - C9 - C8	117.46(16)		

Tabela 5.4: Ângulos de ligações do composto LASSBio-1597 (°).

C6 - N1 - C2 - C3	56.5(2)	C13 - C8 - C9 - N15	-178.97(18)
C7 - N1 - C2 - C3	179.03(17)	C13 - C8 - C9 - C10	1.0(3)
C2 - N1 - C6 - C5	-55.8(2)	C7 - C8 - C13 - C12	174.3(2)
C7 - N1 - C6 - C5	-177.55(16)	C9 - C8 - C13 - C12	-0.7(3)
C2 - N1 - C7 - C8	166.17(17)	N15 - C9 - C10 - C11	179.6(2)
C6 - N1 - C7 - C8	-72.2(2)	C8 - C9 - C10 - C11	-0.4(3)
C5 - N4 - C3 - C2	59.6(2)	C9 - C10 - C11 - C12	-0.6(3)
C14 - N4 - C3 - C2	-177.64(17)	C10 - C11 - C12 - C13	0.9(4)
C3 - N4 - C5 - C6	-58.5(2)	C11 - C12 - C13 - C8	-0.2(4)
C14 - N4 - C5 - C6	178.85(17)	O17 - C16 - C18 - N19	158.7(2)
C16 - N15 - C9 - C8	-160.4(2)	O17 - C16 - C18 - C23	-21.1(3)
C16 - N15 - C9 - C10	19.6(3)	N15 - C16 - C18 - N19	-21.9(3)
C9 - N15 - C16 - O17	-1.1(3)	N15 - C16 - C18 - C23	158.34(19)
C9 - N15 - C16 - C18	179.52(18)	N19 - C18 - C23 - N22	0.8(3)
C20 - N19 - C18 - C16	-178.63(17)	C16 - C18 - C23 - N22	-179.39(19)
C20 - N19 - C18 - C23	1.2(3)	N19 - C20 - C21 - N22	0.8(3)
C18 - N19 - C20 - C21	-1.9(3)	N19 - C20 - C21 - C27	-179.79(18)
C18 - N19 - C20 - C24	178.06(18)	C24 - C20 - C21 - N22	-179.17(18)
C23 - N22 - C21 - C20	1.1(3)	C24 - C20 - C21 - C27	0.3(3)
C23 - N22 - C21 - C27	-178.28(19)	N19 - C20 - C24 - C25	-179.69(19)
C21 - N22 - C23 - C18	-1.9(3)	C21 - C20 - C24 - C25	0.3(3)
N1 - C2 - C3 - N4	-59.3(2)	N22 - C21 - C27 - C26	178.42(19)
N4 - C5 - C6 - N1	57.5(2)	C20 - C21 - C27 - C26	-1.0(3)
N1 - C7 - C8 - C9	-62.4(2)	C20 - C24 - C25 - C26	0.0(3)
N1 - C7 - C8 - C13	122.6(2)	C24 - C25 - C26 - C27	-0.7(3)
C7 - C8 - C9 - N15	6.0(3)	C25 - C26 - C27 - C21	1.3(3)
C7 - C8 - C9 - C10	-174.04(19)		

Tabela 5.5: Ângulos torsionais do composto LASSBio-1597 (°).

5.1.2 Cristalização, determinação da estrutura cristalográfica e molecular e modelagem estrutural do complexo de inclusão N-fenilpiperazina, LASSBio-579, em β -ciclodextrina

β -ciclodextrinas (β CD), $C_{42}H_{70}O_{35}$, figura 5.6, são oligossacarídeos cíclicos consistindo de sete unidades de D-glucopiranosose ligadas na conformação mais estável, do tipo chair. A aplicação farmacêutica mais comum das ciclodextrinas é o encapsulamento de fármacos com características hidrofóbicas, alterando-lhes a solubilidade, aumentando a estabilidade e melhorando a biodisponibilidade. O encapsulamento ocorre quando uma molécula hóspede preenche, totalmente ou parcial-

mente, a cavidade da ciclodextrina. A da cavidade das ciclodextrinas é relativamente apolar quando comparado com a água, o que propicia às ciclodextrinas a facilidade em formar complexos de inclusão com compostos orgânicos. O uso prático da β CD é interessante devido, principalmente, ao fato de sua cavidade ser um espaço finito, ou seja, uma vez que esse espaço tenha sido ocupado por uma molécula hóspede, outras moléculas são impedidas de ocupar esse espaço ao mesmo tempo. Isso evita interações e reações com outras moléculas [18].

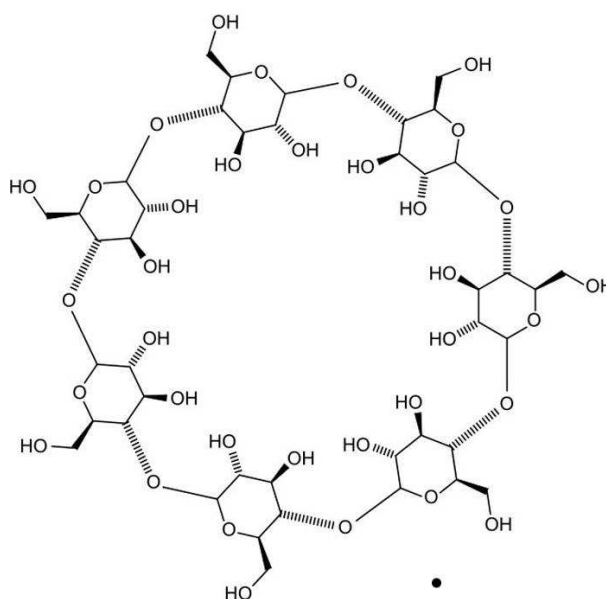


Figura 5.6: Representação da estrutura plana da molécula de β -ciclodextrina

Nesse trabalho, a cavidade da β CD foi preenchida com um derivado de N-fenilpiperazina, LASSBio-579 ($C_{20}H_{21}N_4Cl$) representado na figura 5.7, que atua como agonista na pré sinapse do receptor D2 da dopamina, que foi planejado a partir da simplificação estrutural do fármaco antipsicótico atípico Clozapina, utilizado no tratamento de esquizofrenia quando outros medicamentos não surtem efeitos [19]. O composto LASSBio-579 foi sintetizado pelo LASSBio-UFRJ, onde o encapsulamento também foi feito.

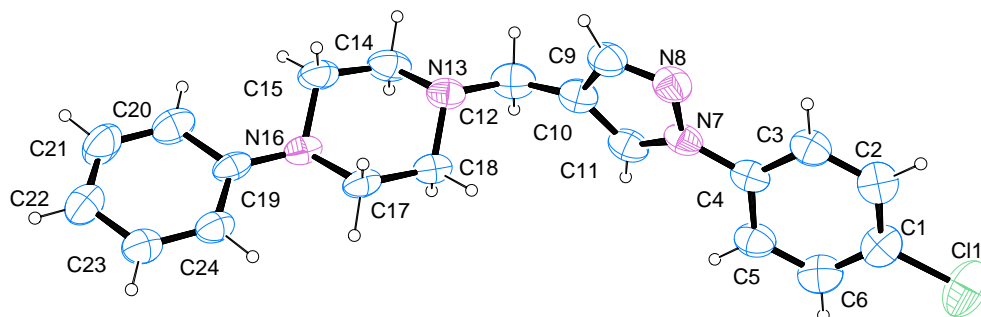


Figura 5.7: Representação ORTEP [23] do composto LASSBio-579

Os monocristais foram obtidos pelo método de evaporação lenta dissolvendo 4,1 mg do composto em 0,5 ml de água deionizada à temperatura ambiente. Após três meses, foi observado o aparecimento de monocristais, figura 5.8. Os dados de difração foram coletados no Laboratório de Cristalografia (LabCri) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em um difratômetro Oxford-Diffraction GEMINI, usando radiação de Cobre, à temperatura de 120 K e até a resolução de 0,9 Å. No pré-experimento, que é o procedimento realizado com o objetivo de determinar a célula unitária e a estratégia de coleta, foi verificado que seria necessário um tempo de coleta de cinco dias para se alcançar resolução de 0,8 Å. Esse tempo de coleta foi impraticável na ocasião e, por essa razão, outra estratégia de coleta foi estabelecida, dessa vez com duração de 32 horas, mas com resolução menor, de 0,9 Å. Foram coletadas 9438 reflexões, sendo 4719 independentes ($R_{int} = 0.0535$) e 3853 observadas ($I > 2\sigma$). O coeficiente de absorção, μ , foi de 0.821 mm^{-1} .

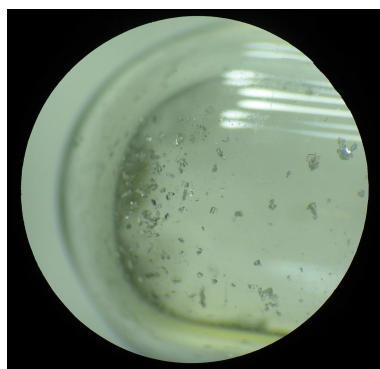


Figura 5.8: Cristais do complexo de inclusão LASSBio-579 em β -ciclodextrina

A célula unitária é do sistema monoclinico com parâmetros de rede: $a = 18,674(1) \text{ \AA}$, $b = 24,446(1) \text{ \AA}$, $c = 15,5542(9) \text{ \AA}$ e $\gamma = 110,399(6)^\circ$, grupo de espaço C2 e volume de $6654,98 \text{ \AA}^3$ com oito moléculas por célula unitária.

A estrutura da β CD foi determinada utilizando Métodos Diretos mas a densidade eletrônica do composto hóspede teve sua determinação dificultada devido à baixa resolução dos dados, o que comprometeu a resolução atômica e a possibilidade de uma solução ab initio. A estrutura cristalográfica do composto hóspede havia sido determinada separadamente e as coordenadas obtidas foram usadas como modelo para o refinamento do complexo de inclusão usando o software SHELXL-97 [26], uma vez que uma densidade eletrônica razoável foi observada no interior da cavidade da β CD. Essa densidade eletrônica está representada na figura 5.9, utilizando o software WINCOOT [31]. Nessa modelagem, o fármaco foi rotacionado e transladado no interior da cavidade de modo a se ajustar à densidade eletrônica observada. No mapa diferença de Fourier, não foram observados picos bem localizados, efetivamente. Esse fato corrobora com a possibilidade de que o fármaco esteja desordenado, podendo estar em mais de uma orientação na cavidade. Tendo em vista essa possível desordem e a ocorrência de elementos de simetria, o fármaco foi modelado com fator de ocupação 0,25.

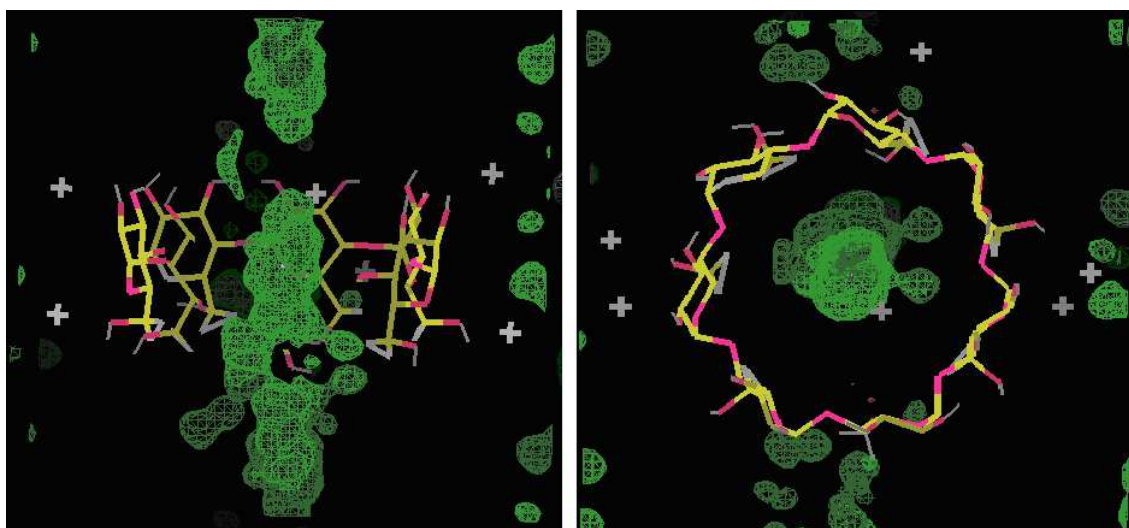


Figura 5.9: Representação WINCOOT da densidade eletrônica no interior da β -ciclodextrina

Além disso, nenhuma ligação de hidrogênio foi observada entre a β CD e o fármaco. Esse comportamento é esperado nesse tipo de sistema pois as hidroxilas da β CD estarão envolvidas em

ligações de hidrogênio com outras β CDs e com numerosas moléculas de água que, inevitavelmente, irão ocupar os interstícios entre as moléculas. Dessa maneira, não haverá interação de hidrogênio entre o composto hóspede e a β CD. A interação é basicamente eletrostática devido ao fato de o fármaco apresentar protonação no átomo N2. O empacotamento é mediado por interações de hidrogênio do tipo C-H...O e O-H...O entre β CD's. Com a modelagem do fármaco, o fator wR2 reduziu de 0,54 para 0,39. Os fatores residuais finais tiveram os seguintes valores: R1(todos os dados) = 0,1706, R1(dados observados) = 0,1503 e Goof = 1,777. Como o refinamento ainda não convergiu satisfatoriamente, a proposta é que os dados sejam recoletados até uma resolução maior, a fim de visualizar com mais precisão a densidade eletrônica referente ao fármaco e realizar uma modelagem da possível desordem do fármaco.

Nas figuras 5.10 e 5.11 tem-se a representação da modelagem da estrutura cristalográfica da β -ciclodextrina com o fármaco e, na figura 5.12, o empacotamento.

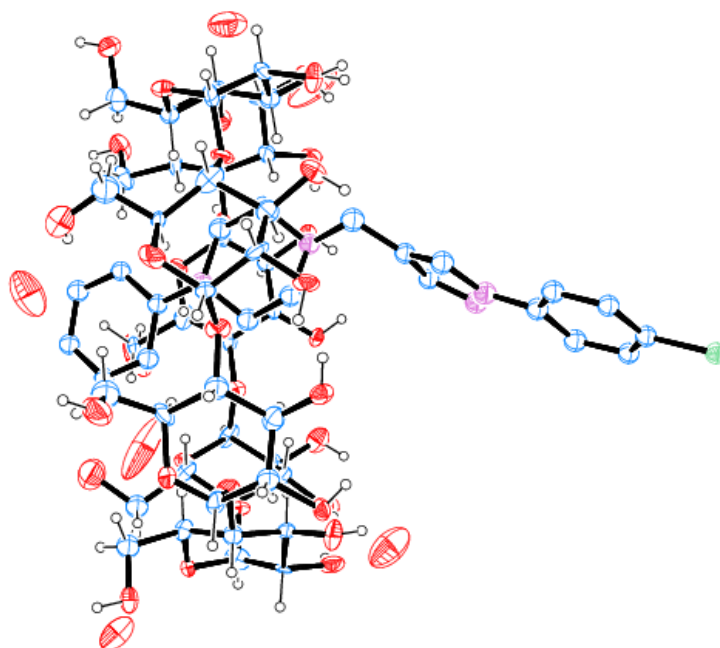


Figura 5.10: Representação Ortep [23] do complexo de inclusão do composto LASSBio-579 em β -ciclodextrina

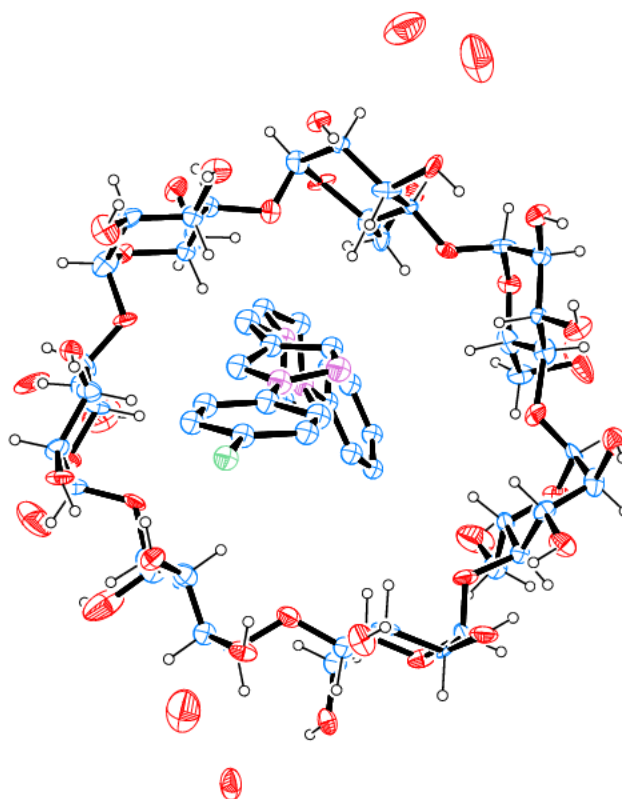


Figura 5.11: Representação Ortep [23] do complexo de inclusão do composto LASSBio-579 em β -ciclodextrina

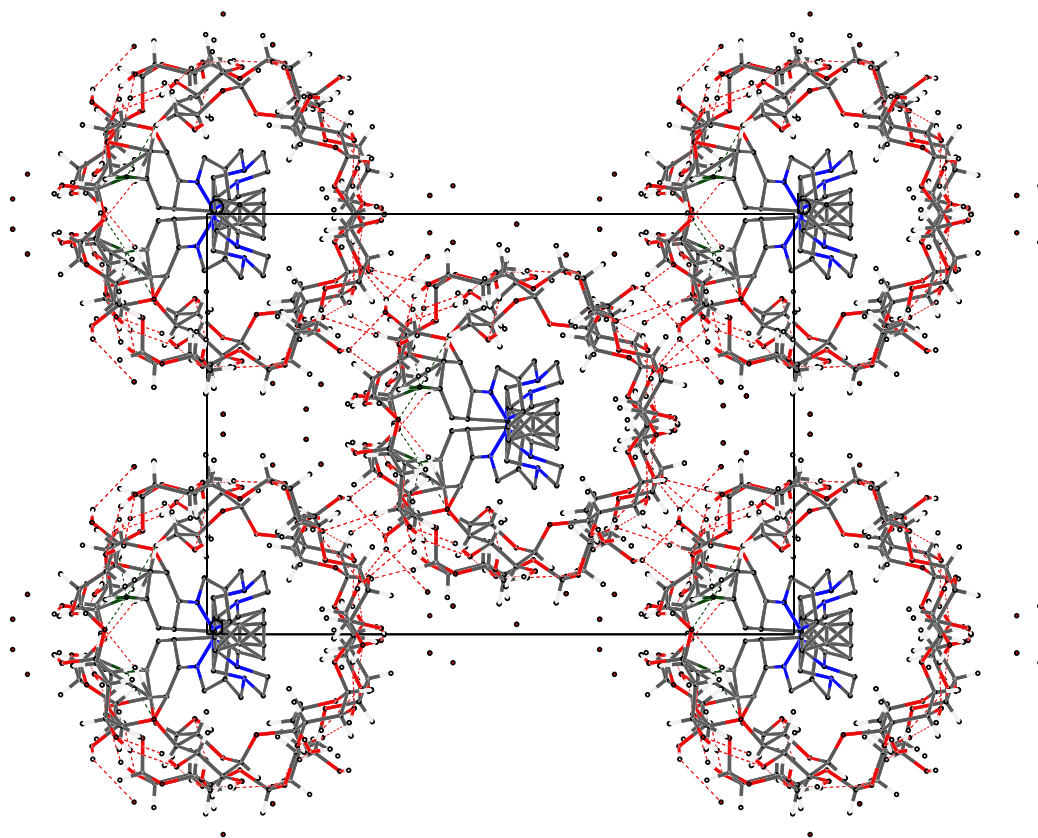


Figura 5.12: Representação Olex2 [28] do empacotamento do sistema β -ciclodextrina + fármaco

5.2 Análise cristalográfica de derivados de N-acilidrazona

O fragmento N-acilidrazona tem sido considerado uma estrutura privilegiada pois, a partir desse fragmento, vários estudos estão sendo realizados e, até o presente momento, já foram desenvolvidos vários compostos tendo as mais diversas atividades biológicas dentre as quais podemos citar: aplicações no tratamento de câncer, trombose, inflamações, etc. Nesse sentido, foram selecionados dois derivados de N-acilidrazonas, LASSBio-1586 e LASSBio-1606, para se realizar a determinação das estruturas molecular e cristalográfica.

5.2.1 Cristalização e determinação da estrutura cristalográfica e molecular do composto LASSBio-1586 polimorfo I

O composto LASSBio-1586 polimorfo I é um análogo da Combretastatina A-4 que é um produto natural bastante estudado por apresentar potente atividade citotóxica e aplicações no tratamento de câncer.

Os monocristais foram obtidos pelo método de evaporação lenta solubilizando 3 mg do composto em uma solução de 0,1 ml de metanol e 0,05 ml de dimetilformamida à temperatura ambiente. Após 24 horas do preparo da solução foi observado o surgimento dos monocristais, figura 5.13.



Figura 5.13: Cristais do composto LASSBio-1586

A coleta foi realizada à temperatura de 296 K utilizando radiação de cobre ($\text{Cu-K}\alpha = 1,542 \text{ \AA}$) em um difratômetro Bruker Apex Duo no Instituto de Química/Unicamp. Foram coletadas 8336 reflexões ($R_{int} = 0,0438$) com redundância média de 3,102, sendo 2687 reflexões independentes e 2461 observadas. O intervalo de varredura do ângulo θ foi de $3,9^\circ$ até $68,0^\circ$. A completude dos dados foi 98,4%. A resolução alcançada foi de $0,83 \text{ \AA}$. A correção por absorção foi feita por meio do método multi-scan.

O composto, de fórmula química $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{N}_2$, cristalizou no sistema cristalino ortorrômbico, grupo de espaço $Pca2_1$, com os seguintes parâmetros de rede: $a = 8,126(1) \text{ \AA}$ $b = 11,266(1) \text{ \AA}$ $c =$

17,3650(2) Å, volume de 1589.6(3) Å³ e tendo um total de quatro moléculas por célula unitária.

A estrutura foi resolvida usando o SHELXS-97 [25], via Métodos Diretos. Após a determinação estrutural, obteve-se o mapa de densidade eletrônica com a posição dos átomos de carbono, oxigênio e nitrogênio. Inicialmente as posições destes átomos foram refinadas isotropicamente pelo método de mínimos quadrados, minimizando a diferença entre os fatores de estrutura observados e calculados em F^2 , usando o programa SHELXL-97 [25]. Em seguida, os átomos foram refinados anisotropicamente. Nos ciclos seguintes do refinamento, os picos referentes aos átomos de hidrogênio surgiram nos mapas de diferença de Fourier. O refinamento com o método dos mínimos quadrados convergiu em R1= 4,4% e wR2 = 13,52% para os dados observados. O fator de concordância entre o modelo proposto e os dados medidos, goodness-of-fit, foi de 1,136.

Os dados cristalográficos referentes à este composto estão sumarizados na tabela 5.6

Peso Molecular	314,3	F(000)	663,9
Temperatura (K)	296(2)	Densidade (g/cm ³)	1,31
a (Å)	8,126(1)	Varição de θ para coleta de dados (°)	3,9 até 68,0
b (Å)	11,266(1)	Dados/Parâmetros	2687/208
c (Å)	17,3650(2)	Goodness-of-fit - F^2	1,136
Sistema cristalino	Ortorrômbico	Grupo espacial	Pca2 ₁
Volume (Å ³)	1589.6(3)	Z	4
$\Delta\rho_{max}$ (e Å ⁻³)	0,280	μ (mm ⁻¹)	0,781
$\Delta\rho_{min}$ (e Å ⁻³)	-0,270	Reflexões coletadas / independentes / R(int)	8336/2687/0,044
Fatores Residuais [obs]	R1=0,044 wR2=0,124	Fatores Residuais [all]	R1=0,053 wR2= 0,135

Tabela 5.6: Dados cristalográficos e experimentais do composto LASSBio-1586 polimorfo I

Na figura 5.14 está a representação da unidade assimétrica do composto LASSBio-1586.

N15

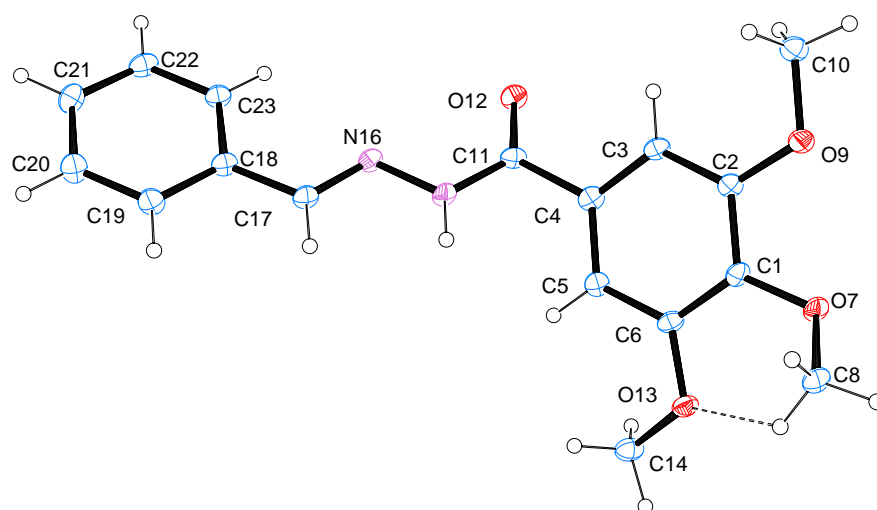


Figura 5.14: Representação ORTEP [23] da unidade assimétrica do composto LASSBio-1586 polimorfo I com elipsóides a 30% de probabilidade.

Ambos os anéis aromáticos se apresentaram planares. Alguns comprimentos de ligação se apresentaram maiores do que o esperado e estão citados a seguir: C11-C4 = 1,501(3) Å, C11-O12 = 1,234(3) Å. Os valores esperados para esses comprimentos de ligação são: C11-C4 = 1,47 Å e C11-O2 = 1,21 Å. Em contrapartida, outras se mostraram menores que o esperado: C17-N16 = 1,275(3) Å, N15-C11 = 1,347(3) Å. Os valores esperados para esses comprimentos de ligação são: C17-N16 = 1,29 Å e C11-N15 = 1,43 Å. A geometria verificada neste composto é similar a de outros derivados de N-acilidrazona encontrados na literatura [29, 30]. O empacotamento é mediado pela ligação de hidrogênio N15-H15...O12ⁱ (ⁱ: -1/2+x, -y, z), que forma uma cadeia linear na direção [100] e está representado na figura 5.15. A molécula é estabilizada pela ligação de hidrogênio intramolecular C8-H8b...O9. Estas interações estão listadas na tabela 5.7.

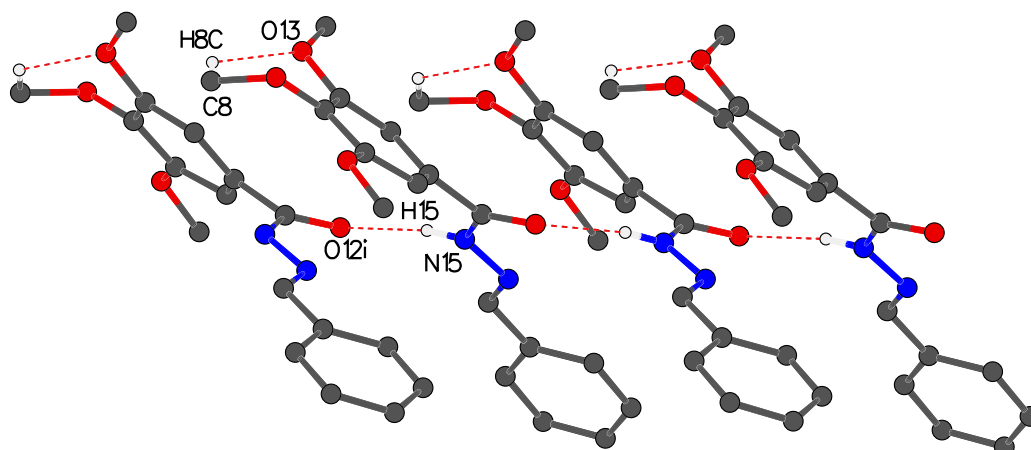


Figura 5.15: Representação [28] do empacotamento do composto LASSBio-1586 polimorfo I (i : $-1/2+x, -y, z$)

D-H...A	D-H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (°)	Operação de simetria
N15-H15...O12 ⁱ	0,86	2,11	2,949(2)	166,0	ⁱ : $-1/2+x, -y, z$
C8-H8b...O13	0,96	2,18	2,825(3)	123,0	

Tabela 5.7: Ligações de hidrogênio para o composto LASSBio-1586

O composto LASSBio-1586 polimorfo II foi cristalizado pelo método de evaporação lenta utilizando metanol como solvente. A coleta de dados desse composto foi realizada no Instituto de Química da UnB. Uma análise por DSC desses dois compostos, realizada pelo LASSBio, mostrou um padrão que sugeria o polimorfismo, porém a análise da estrutura cristalográfica refutou essa possibilidade. Na figura 5.16, tem-se a sobreposição dos dois compostos [27].

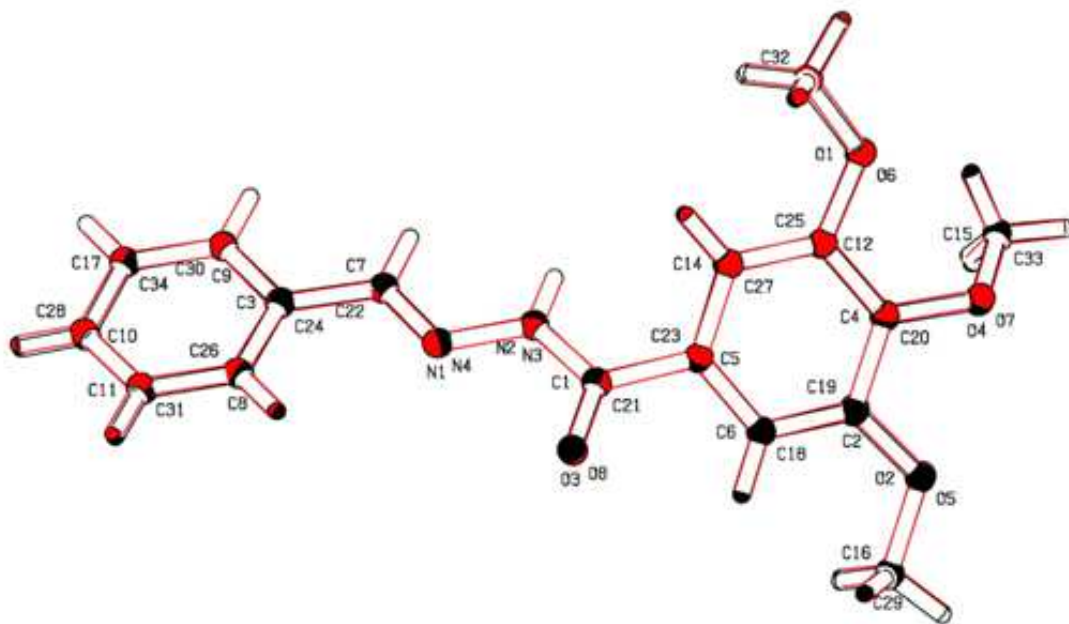


Figura 5.16: Representação [27] da sobreposição dos compostos Lassbio-1586 polimorfo I e LASSBio-1586 polimorfo II.

Os comprimentos de ligação, ângulos e torsionais para o composto LASSBio-1586 polimorfo I estão listados nas tabelas 5.8, 5.9 e 5.10.

O7 - C1	1.367(3)	C2 - C3	1.385(3)
O7 - C8	1.450(3)	C3 - C4	1.382(3)
O9 - C2	1.361(3)	C4 - C11	1.501(3)
O9 - C10	1.432(3)	C4 - C5	1.394(3)
O12 - C11	1.234(3)	C5 - C6	1.390(3)
O13 - C6	1.376(3)	C17 - C18	1.464(3)
O13 - C14	1.431(4)	C18 - C23	1.405(3)
N15 - N16	1.376(3)	C18 - C19	1.392(3)
N15 - C11	1.348(3)	C19 - C20	1.388(4)
N16 - C17	1.275(3)	C20 - C21	1.389(4)
N15 - H15	0.8600	C21 - C22	1.387(3)
C1 - C6	1.397(3)	C22 - C23	1.379(4)
C1 - C2	1.408(3)		

Tabela 5.8: Comprimentos de ligações (Å) do composto LASSBio-1586 polimorfo I.

C1 - O7 - C8	116.03(18)	C1 - C6 - C5	120.9(2)
C2 - O9 - C10	117.22(18)	O13 - C6 - C5	123.4(2)
C6 - O13 - C14	117.08(18)	O13 - C6 - C1	115.7(2)
N16 - N15 - C11	119.10(18)	O12 - C11 - C4	122.3(2)
N15 - N16 - C17	115.85(19)	O12 - C11 - N15	123.8(2)
N16 - N15 - H15	120.00	N15 - C11 - C4	113.9(2)
C11 - N15 - H15	120.000	N16 - C17 - C18	120.4(2)
O7 - C1 - C2	117.5(2)	C17 - C18 - C19	119.6(2)
O7 - C1 - C6	123.1(2)	C19 - C18 - C23	119.1(2)
C2 - C1 - C6	119.1(2)	C17 - C18 - C23	121.3(2)
O9 - C2 - C1	115.3(2)	C18 - C19 - C20	120.2(2)
C1 - C2 - C3	120.1(2)	C19 - C20 - C21	120.3(3)
O9 - C2 - C3	124.6(2)	C20 - C21 - C22	119.9(3)
C2 - C3 - C4	119.5(2)	C21 - C22 - C23	120.1(2)
C3 - C4 - C5	121.7(2)	C18 - C23 - C22	120.4(2)
C3 - C4 - C11	118.2(2)		
C5 - C4 - C11	120.1(2)		
C4 - C5 - C6	118.4(2)		

Tabela 5.9: Ângulos de ligações do composto LASSBio-1586 polimorfo I (°).

C8 - O7 - C1 - C2	129.7(2)	C2 - C3 - C4 - C5	-5.0(4)
C8 - O7 - C1 - C6	-55.7(3)	C2 - C3 - C4 - C11	173.2(2)
C10 - O9 - C2 - C1	-175.1(2)	C3 - C4 - C5 - C6	1.4(4)
C10 - O9 - C2 - C3	5.3(4)	C11 - C4 - C5 - C6	-176.8(2)
C14 - O13 - C6 - C1	-165.0(2)	C3 - C4 - C11 - O12	41.5(4)
C14 - O13 - C6 - C5	14.0(3)	C3 - C4 - C11 - N15	-137.0(2)
C11 - N15 - N16 - C17	-178.0(2)	C5 - C4 - C11 - O12	-140.2(3)
N16 - N15 - C11 - O12	-1.5(4)	C5 - C4 - C11 - N15	41.2(3)
N16 - N15 - C11 - C4	177.1(2)	C4 - C5 - C6 - O13	-175.6(2)
N15 - N16 - C17 - C18	177.9(2)	C4 - C5 - C6 - C1	3.4(4)
O7 - C1 - C2 - O9	-4.0(3)	N16 - C17 - C18 - C19	-174.9(2)
O7 - C1 - C2 - C3	175.6(2)	N16 - C17 - C18 - C23	3.2(4)
C6 - C1 - C2 - O9	-178.9(2)	C17 - C18 - C19 - C20	176.7(3)
C6 - C1 - C2 - C3	0.7(4)	C23 - C18 - C19 - C20	-1.6(4)
O7 - C1 - C6 - O13	0.0(4)	C17 - C18 - C23 - C22	-176.8(2)
O7 - C1 - C6 - C5	-179.0(2)	C19 - C18 - C23 - C22	1.4(4)
C2 - C1 - C6 - O13	174.6(2)	C18 - C19 - C20 - C21	-0.5(4)
C2 - C1 - C6 - C5	-4.4(4)	C19 - C20 - C21 - C22	2.7(4)
O9 - C2 - C3 - C4	-176.5(2)	C20 - C21 - C22 - C23	-2.9(4)
C1 - C2 - C3 - C4	3.9(4)	C21 - C22 - C23 - C18	0.8(4)

Tabela 5.10: Ângulos torsionais do composto LASSBio-1586 polimorfo I (°).

5.2.2 Cristalização e determinação da estrutura cristalográfica e molecular do composto LASSBio-1606

O composto LASSBio-1606, $C_{17}H_{15}O_4N_3S$, (figura 5.17), é um análogo do Piroxicam, $C_{15}H_{13}O_4N_3S$, (figura 5.18), um anti-inflamatório clássico, sendo obtido pela introdução de um nova ligação dupla N=C na função amida original, transformando-o em um derivado de N-acilidrazona e a substituição do átomo de nitrogênio por um átomo de carbono no anel piridínico. O composto apresentou-se mais ativo que o Piroxicam como anti-inflamatório.

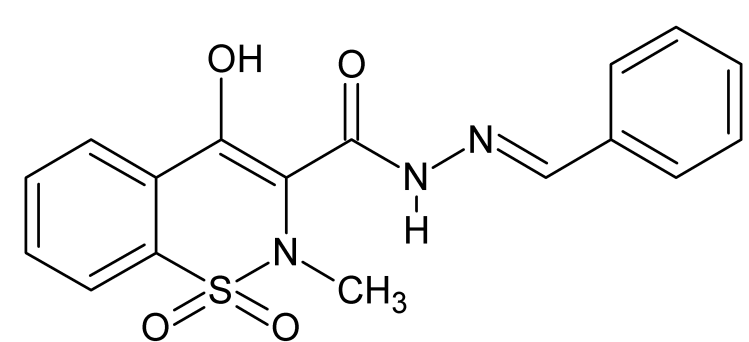


Figura 5.17: Representação plana do composto LASSBio-1606

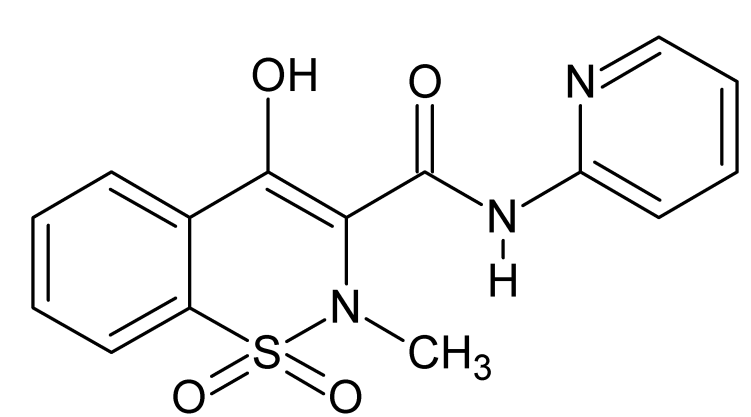


Figura 5.18: Representação plana do anti-inflamatório Piroxicam

Os monocristais (figura 5.19) foram obtidos pelo método de evaporação lenta solubilizando 6,2 mg do composto em uma solução de 0,3 ml de diclorometano e 0,02 ml de DMSO à temperatura ambiente.

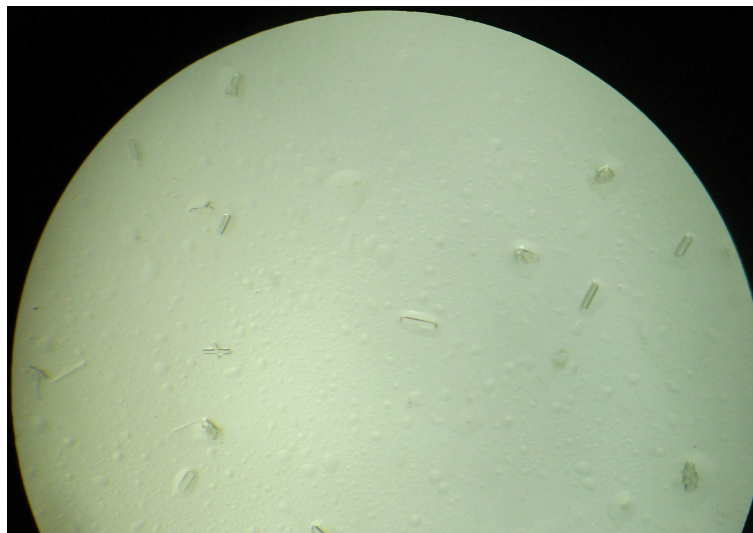


Figura 5.19: Cristais do composto LASSBio-1606

A amostra selecionada para a coleta de dados de difração de raios X foi de formato prismático com dimensões 0,45mm x 0,15mm x 0,15mm. A coleta foi realizada à temperatura de 293 K utilizando radiação de cobre ($\text{Cu-K}\alpha = 1,542 \text{ \AA}$) no difratômetro Enraf-Nonius CAD4 instalado no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física da UFG.

Após a seleção do monocristal com o auxílio de um microscópio com luz polarizada, a amostra foi colada no capilar e centrada na cabeça goniométrica. Foi feita a busca pelas 25 reflexões através das quais é possível a determinação da matriz orientação e da célula unitária. A célula unitária inicial foi obtida com os seguintes parâmetros: $a = 9,7558(25) \text{ \AA}$, $b = 9,7723(19) \text{ \AA}$, $c = 19,0324(28) \text{ \AA}$, $\alpha = 100,6875(161)^\circ$, $\beta = 100,2583(172)^\circ$ e $\gamma = 106,9256(254)^\circ$. Após a exclusão de algumas reflexões e uma busca manual por outras melhores, foi feita uma mudança na rede cristalina de primitiva para centrada C, sendo $2/m$ o grupo de ponto. A célula unitária final teve os seguintes parâmetros: $a = 15,693(1) \text{ \AA}$, $b = 11,629(2) \text{ \AA}$, $c = 19,789(2) \text{ \AA}$, $\beta = 113,624(7)^\circ$, volume = $3308,429 \text{ \AA}^3$. Como verificou-se que a célula unitária possui rede com centragem C, foi determinado que não seriam medidas reflexões que estivessem extintas, ou seja, reflexões cuja soma $h+k$ fosse um número ímpar. Dessa forma, reduz-se o tempo de coleta, fator importante quando se trata de um difratômetro com detector pontual. No fim do experimento, foram medidas 3718 reflexões, sendo 3004 independentes

e 2633 observadas ($I \geq 2\sigma$). O valor do fator de concordância R_{int} foi de 0,0267 e R_{sigma} foi de 0,0232. O intervalo de varredura do ângulo θ foi de $2,3^\circ$ até $68,0^\circ$.

Este composto apresenta um átomo de enxofre, que possui uma quantidade relativamente grande de elétrons, sendo um átomo que contribui para a absorção de raios X e pode influenciar no experimento. Esta influência é observada pelo valor do coeficiente de absorção linear μ que, neste caso, foi igual a $0,224 \text{ mm}^{-1}$. Apesar de ser um valor baixo, ele não era conhecido no início do experimento, portanto, com o objetivo de corrigir este possível problema de absorção, foi feita a coleta ψ . Nesta coleta são selecionadas sete reflexões com alta intensidade e valores do ângulo kappa próximos de 100 graus. Durante esta coleta, os índices h,k e l são mantidos fixos para cada reflexão, o ângulo Ψ inicia com valor zero com passo de 10 graus. Dessa forma, será gerada uma superfície de absorção que irá servir para corrigir as intensidades medidas. Se não houvesse absorção, as intensidades teriam valor constante, a menos do erro experimental.

O composto LASSBio-1606 (figura 5.20) cristalizou no sistema cristalino monoclinico e grupo de espaço C2/c com oito moléculas por célula unitária. A estrutura foi resolvida usando o SHELXS-97 [25], via Métodos Diretos. Após a determinação estrutural, obteve-se o mapa de densidade eletrônica com a posição dos átomos de carbono, oxigênio, nitrogênio e enxofre. Inicialmente as posições destes átomos foram refinadas isotropicamente pelo método de mínimos quadrados, minimizando a diferença entre os fatores de estrutura observados e calculados em F^2 usando o programa SHELXL-97 [26]. Em seguida, os átomos foram refinados anisotropicamente. Nos ciclos seguintes do refinamento, os picos referentes aos átomos de hidrogênio surgiram nos mapas de diferença de Fourier.

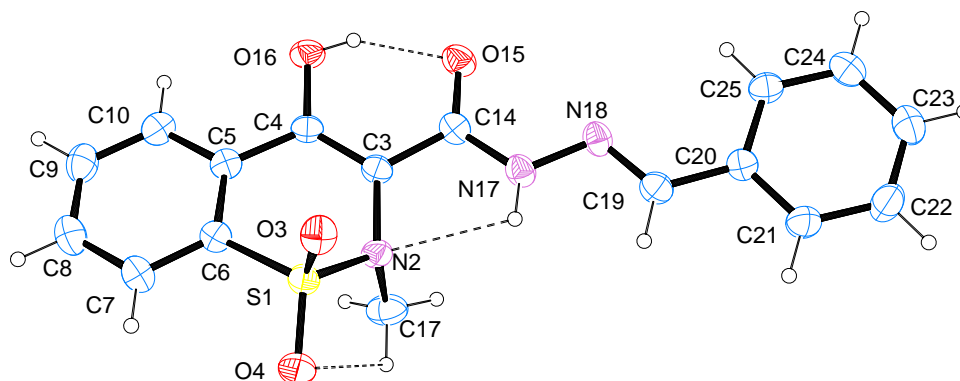


Figura 5.20: Representação ORTEP [23] da unidade assimétrica do composto LASSBio-1606 com elipsóides a 30% de probabilidade.

Os anéis C5-C6-C7-C8-C9-C10 e C20-C21-C22-C23-C24-C25 se apresentaram planares enquanto que o anel S1-N2-C3-C4-C5-C6 se apresentou na conformação do tipo envelope. Esse isômero é do tipo trans.

Ao fim do refinamento os fatores residuais assumiram os seguintes valores: $wR2(\text{all}) = 0,20$, $R1(\text{all}) = 0,074$, $wR2(\text{obs}) = 0,15$, $R1(\text{obs}) = 0,06$ e $\text{Goof} = 1,1520$.

Os dados cristalográficos referentes a este composto estão sumarizados na tabela 5.11

Peso Molecular	714,8	F(000)	1487,7
Temperatura (K)	296(2)	Tamanho do cristal(mm)	0,45x0,15x0,15
Cor	Transparente	Densidade(g/cm^3)	1,43
a (Å)	15,693(1)	Variação de θ para coleta de dados ($^\circ$)	2,3 $^\circ$ até 68,0 $^\circ$
b (Å)	11,628(2)	Dados/Parâmetros	3004/228
c (Å)	19,789(2)	Goodness-of-fit - F^2	1,148
β ($^\circ$)	113,624(7)	μ (mm^{-1})	1,993
Sistema cristalino	Monoclínico	Grupo espacial	C2/c
Volume (Å 3)	3308,429(6)	Z	8
$\Delta\rho_{\text{max}}$ (e Å $^{-3}$)	0,638	Reflexões coletadas / independentes / R(int)	3718/3004/0,030
$\Delta\rho_{\text{min}}$ (e Å $^{-3}$)	-0,677		
Fatores Residuais [obs]	R1=0,056 wR2=0,148	Fatores Residuais [all]	R1=0,071 wR2= 0,199

Tabela 5.11: Dados cristalográficos e experimentais para o composto LASSBio-1606

A molécula é estabilizada pelas ligações intramoleculares de hidrogênio O16-H16...O15, C17-H17a...O4 e N17-H17...N2. O empacotamento é mediado pelos contatos curtos N17-17H...O3 i (i :

$1/2-x, 1/2-y, -z$) e $C17-H17b...O15^{ii}$ ($^{ii}: -x, -y, -z$). Por meio dessas interações, o composto forma dímeros ao longo da direção $[110]$. Estas ligações estão sumarizadas na tabela 5.12 e o empacotamento está representado na figura 5.21.

D-H...A	D-H (Å)	H...A (Å)	D...A (Å)	D-H...A (°)	Operação de simetria
O16-H16...O15	0,82	1,82	2,541(3)	147,0	
N17-H17...N2	0,86	2,33	2,723(3)	108,0	
C17-H17a...O4	0,96	2,39	2,813(5)	106,0	
N17-H17...O3 ⁱ	0,86	2,39	3,157(3)	149,0	ⁱ : $1/2-x, 1/2-y, -z$
C17-H17b...O15 ⁱⁱ	0,96	2,55	3,466(4)	159,0	ⁱⁱ : $-x, -y, -z$

Tabela 5.12: Ligações de hidrogênio para o composto LASSBio-1606

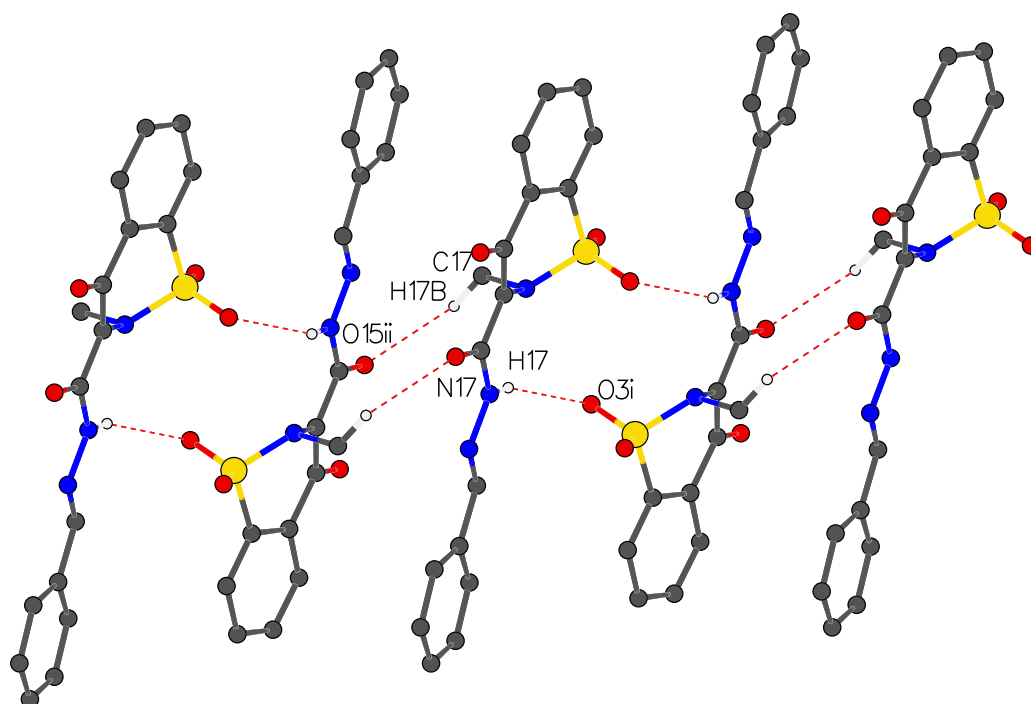


Figura 5.21: Representação Olex2 [28] do empacotamento do composto LASSBio-1606 (ⁱ: $1/2-x, 1/2-y, -z$; ⁱⁱ: $-x, -y, -z$)

Os comprimentos de ligação do anel que contém o grupamento sulfonamida se apresentaram de acordo com outros compostos semelhantes [21, 22], exceto pela ligação C3-C4 que apresentou caráter de ligação dupla (1,359 Å). Esta ligação é de caráter simples nos outros compostos. O

encurtamento nesta ligação pode ser explicado pelas ligações de hidrogênio intramoleculares N17-H17...N2 e O16-H16...O15. Ambos os anéis benzênicos apresentaram ligações delocalizadas com distância C-C variando de 1,372 Å até 1,398 Å.

Os comprimentos de ligação, ângulos e torsionais estão listados nas tabelas 5.13, 5.14, 5.15

S1 - O3	1.430(2)	C5 - C10	1.384(4)
S1 - O4	1.420(3)	C5 - C6	1.398(4)
S1 - N2	1.639(2)	C6 - C7	1.387(4)
S1 - C6	1.755(3)	C7 - C8	1.386(5)
O15 - C14	1.240(4)	C8 - C9	1.375(5)
O16 - C4	1.332(3)	C9 - C10	1.381(5)
N2 - C17	1.483(4)	C19 - C20	1.458(4)
N2 - C3	1.435(4)	C20 - C25	1.388(4)
N17 - N18	1.382(3)	C20 - C21	1.382(4)
N17 - C14	1.342(4)	C21 - C22	1.385(5)
N18 - C19	1.282(4)	C22 - C23	1.374(5)
C3 - C4	1.360(4)	C23 - C24	1.371(5)
C3 - C14	1.464(3)	C24 - C25	1.377(5)
C4 - C5	1.471(3)		

Tabela 5.13: Comprimentos de ligações (Å) do composto LASSBio-1606.

O3 - S1 - O4	118.80(15)	C4 - C5 - C6	119.7(2)
O3 - S1 - N2	108.30(12)	C4 - C5 - C10	121.9(3)
O3 - S1 - C6	108.15(13)	S1 - C6 - C5	118.41(19)
O4 - S1 - N2	108.27(13)	S1 - C6 - C7	120.2(2)
O4 - S1 - C6	109.88(14)	C5 - C6 - C7	121.4(3)
N2 - S1 - C6	102.16(13)	C6 - C7 - C8	118.9(3)
C4 - O16 - H16	109.00	C7 - C8 - C9	120.2(3)
S1 - N2 - C3	113.60(17)	C8 - C9 - C10	120.8(3)
S1 - N2 - C17	115.6(2)	C5 - C10 - C9	120.4(3)
C3 - N2 - C17	115.7(3)	O15 - C14 - C3	121.4(3)
N18 - N17 - C14	120.7(2)	O15 - C14 - N17	123.3(2)
N17 - N18 - C19	114.4(2)	N17 - C14 - C3	115.3(2)
N18 - N17 - H17	120.00	N18 - C19 - C20	122.5(3)
C14 - N17 - H17	120.00	C19 - C20 - C21	118.6(3)
C4 - C3 - C14	120.3(2)	C19 - C20 - C25	123.2(3)
N2 - C3 - C14	118.3(2)	C21 - C20 - C25	118.2(3)
N2 - C3 - C4	121.4(2)	C20 - C21 - C22	121.1(3)
O16 - C4 - C3	122.0(2)	C21 - C22 - C23	120.1(4)
O16 - C4 - C5	115.0(2)	C22 - C23 - C24	119.1(3)
C3 - C4 - C5	123.0(2)	C23 - C24 - C25	121.2(3)
C6 - C5 - C10	118.4(2)	C20 - C25 - C24	120.3(3)

Tabela 5.14: Ângulos de ligações do composto LASSBio-1606 (°).

O3 - S1 - N2 - C3	62.8(2)	C4 - C3 - C14 - N17	-172.0(2)
O3 - S1 - N2 - C17	-160.0(3)	O16 - C4 - C5 - C6	165.0(2)
O4 - S1 - N2 - C3	-167.2(2)	O16 - C4 - C5 - C10	-14.2(4)
O4 - S1 - N2 - C17	-30.0(3)	C3 - C4 - C5 - C6	-13.6(4)
C6 - S1 - N2 - C3	-51.2(2)	C3 - C4 - C5 - C10	167.2(3)
C6 - S1 - N2 - C17	86.0(3)	C4 - C5 - C6 - S1	-4.9(3)
O3 - S1 - C6 - C5	-79.7(2)	C4 - C5 - C6 - C7	178.4(2)
O3 - S1 - C6 - C7	97.1(2)	C10 - C5 - C6 - S1	174.4(2)
O4 - S1 - C6 - C5	149.2(2)	C10 - C5 - C6 - C7	-2.4(4)
O4 - S1 - C6 - C7	-34.0(3)	C4 - C5 - C10 - C9	-179.9(3)
N2 - S1 - C6 - C5	34.4(2)	C6 - C5 - C10 - C9	0.9(4)
N2 - S1 - C6 - C7	-148.8(2)	S1 - C6 - C7 - C8	-174.5(2)
S1 - N2 - C3 - C4	42.2(3)	C5 - C6 - C7 - C8	2.3(4)
S1 - N2 - C3 - C14	-138.2(2)	C6 - C7 - C8 - C9	-0.6(5)
C17 - N2 - C3 - C4	-94.9(3)	C7 - C8 - C9 - C10	-0.8(5)
C17 - N2 - C3 - C14	84.6(3)	C8 - C9 - C10 - C5	0.6(5)
C14 - N17 - N18 - C19	175.5(3)	N18 - C19 - C20 - C21	-180.0(3)
N18 - N17 - C14 - O15	1.4(4)	N18 - C19 - C20 - C25	-1.9(5)
N18 - N17 - C14 - C3	-178.9(2)	C19 - C20 - C21 - C22	177.7(3)
N17 - N18 - C19 - C20	178.5(3)	C25 - C20 - C21 - C22	-0.4(5)
N2 - C3 - C4 - O16	175.6(2)	C19 - C20 - C25 - C24	-178.0(3)
N2 - C3 - C4 - C5	-5.9(4)	C21 - C20 - C25 - C24	0.1(5)
C14 - C3 - C4 - O16	-3.9(4)	C20 - C21 - C22 - C23	0.3(5)
C14 - C3 - C4 - C5	174.5(2)	C21 - C22 - C23 - C24	0.2(5)
N2 - C3 - C14 - O15	-171.9(2)	C22 - C23 - C24 - C25	-0.5(5)
N2 - C3 - C14 - N17	8.5(3)	C23 - C24 - C25 - C20	0.3(5)
C4 - C3 - C14 - O15	7.7(4)		

Tabela 5.15: Ângulos torsionais do composto LASSBio-1606 (°).

Capítulo 6

Comentários e Conclusões

Neste trabalho foi proposta a obtenção de monocristais e a análise cristalográfica de protótipos de fármacos derivados de N-fenilpiperazina e de N-acilidrazona sintetizados pelo LASSBio-UFRJ.

Os monocristais do composto LASSBio-1597, derivado de N-fenilpiperazina, foram obtidos pelo método de evaporação lenta e sua estrutura cristalográfica foi elucidada com êxito, apesar de o monocristal ter um poder de difração muito pequeno devido ao fato de a estrutura ser composta somente por átomos de carbono, oxigênio e nitrogênio e, também, devido ao tamanho reduzido das amostras obtidas. Durante a coleta de dados no CAD4, a partir de uma certa quantidade de reflexões medidas, o tempo de exposição do monocristal ao feixe de raios X foi aumentado com o objetivo de obter mais contagens para cada uma das reflexões. Essa decisão foi fundamental para o bom resultado final. Este composto apresentou uma importante interação de hidrogênio intramolecular bifurcada do tipo N-H...N e o empacotamento foi mediado por interações do tipo C-H... π e C-H...O. Está sendo realizada a cristalização de dois outros compostos, LASSBio-1598 e LASSBio-1599, que são os regioisômeros meta e para. O estudo comparativo dos três regioisômeros será de grande valia para conhecer as propriedades estruturais desta classe de novos compostos bioativos.

A resolução estrutural do complexo de inclusão do protótipo antipsicótico N-fenilpiperazina, LASSBio-579, em β -ciclodextrina foi dificultada devido à baixa resolução dos dados. Inicialmente foi determinada a estrutura da β -ciclodextrina, mas não foi possível resolver ab initio a densidade eletrônica no interior da cavidade mesmo sendo visível em um mapa diferença de Fourier. Todavia, a estrutura cristalográfica do composto LASSBio-579 havia sido elucidada separadamente e suas

coordenadas foram utilizadas para modelar essa densidade eletrônica. Como a densidade eletrônica não apresentou picos bem definidos na cavidade, é muito provável que o fármaco esteja em mais de uma orientação. A proposta para resolver esse problema é refazer a coleta até alcançar resolução maior e refinar a possível desordem deste composto.

Os compostos LASSBio-1586 polimorfo I e LASSBio-1586 polimorfo II foram cristalizados com o objetivo de verificar o polimorfismo sugerido por uma análise prévia por DSC. Após análises dos dados de difração de raios X de ambos os compostos, comprovou-se tratar de compostos idênticos. Serão feitas novas medidas de difração de raios X para esses compostos em várias temperaturas a fim de determinar se ocorrerá transição de fase que justifique o resultado de DSC.

O composto LASSBio-1606 apresentou duas interessantes ligações de hidrogênio do tipo C-H...O e N-H...O que levaram à formação de um dímero ao longo da direção [110]. A estereoquímica da insaturação N=C é do tipo trans. Foi feita a coleta psi para proceder a correção por absorção pois há um átomo de enxofre no composto. Todavia, o coeficiente de absorção apresentou um valor muito baixo, $0,22 \text{ mm}^{-1}$, sendo irrelevante essa correção. O refinamento convergiu satisfatoriamente.

Bibliografia

- [1] Glusker, J. P., Trueblood, K. N., *Crystal Structure Analysis: A Primer*, Oxford University Press, 1972.
- [2] Clegg, W. *Crystal Structure Determination*, 3^a ed., Oxford Science Publications, 2008.
- [3] Giacovazzo, C., Monaco, H. L., Viterbo, D., Scordari, F., Gilli, G., Zanotti, G., Catti, M., *Fundamentals of Crystallography*, 3^a ed., Oxford: IUCR - Oxford University Press, 2002.
- [4] *International Table for Crystallography*, vol. A, Space Group Symmetry, 5th edição, editada por Theo Hahn. The Netherlands: Springer, 2005.
- [5] Allen, F. H., *Acta Cryst.* **B58**, 380-388, 2002.
- [6] Sands, D. E., *Introduction to Crystallography*, Dover publications inc., 1993.
- [7] Stout, G. H., Jensen, L. H., *X-Ray Structure Determination: A Practical Guide*, Macmillan Publishing Company, 1989.
- [8] Hahn, T (editor), *International tables for crystallography: Volume A Space-group symmetry*, Kluwer Academic Publishers, 2006.
- [9] Sherwood, D., Cooper, J., *Crystals, X-ray and Proteins: Comprehensive Protein Crystallography*, Oxford University Press, 2011.
- [10] Woolfson, M. M., *An Introduction to X-Ray Crystallography*, Cambridge University Press, 1970.
- [11] Woolfson, M. M., *Direct Methods in Crystallography*. *Rep. Prog. Phys.* **34**, 369-434, 1971.
- [12] Shmueli, U., *Theories and techniques of crystal structure determination*, IUCr Texts on Crystallography - 9, Oxford Science Publications, 2007
- [13] Muller, P., Irmer, R. H., Spek, A. L., Schneider, T. R., Sawaya, M. R., *Crystal Structure Refinement: A Crystallographer's Guide to SHELXL*, IUCr Texts on Crystallography - 8, Oxford Science Publications, 2006.
- [14] Cunha, S., *Método simples de formação de monocristal de substância orgânica para estudo estrutural por difração de raios X*, *Química Nova*, **31**, n.4, 906-909, 2008.

- [15] Jones, P. G., *Crystal growing*, Chemistry in Britain, **17**, n.5, 1981.
- [16] Muller, P., *Practical suggestions for better crystal structures*, Crystallography Reviews, **15**, 57-83, 2009.
- [17] Schagen, J. D., Straver, L., Meurs, F. V., Williams, G., *CAD4 manual version 5.0*, 1988.
- [18] Challa, R., Ahuja, A., Ali, J., Khar, R. K., *Cyclodextrins in Drug Delivery: An Updated Review*, AAPS PharmSciTech, **6**, E329-E357, 2005.
- [19] Conrado, D. J., Verli, H., Neves, G.; Fraga, C. A. M., Barreiro, E. J., Rates, S. M. K., Costa, T. D., *Pharmacokinetic evaluation of LASSBio-579: an N-phenylpiperazine antipsychotic prototype*, Journal of Pharmacy and Pharmacology, **60**, 699-707, 2008.
- [20] Greig, I.R.; Tozer, M.J.; Wright, T.P.; *Synthesis of Cyclic Sulfonamides through Intramolecular Diels Alder Reactions*, Organic Letters, **3**, 369-371, 2001.
- [21] King, J. F., Yuyitung, G., Gill, M. S., Stewart, J. C., Payne, N. C., *Stereoelectronic effects in sulfonyl compounds: axial orientation of an N methyl group in a six membered sultam.*, Canadian Journal of Chemistry, **76**, 164-170, 1998.
- [22] Hanessian, S., Sailes, H., Therrien, E., *Synthesis of functionally diverse bicyclic sulfonamides as constrained proline analogues and application to the design of potential thrombin inhibitors*, Tetrahedron, **59**, 7047-7056, 2003.
- [23] Farrugia, L. J., *ORTEP-3 for Windows - A version of ORTEP-III with a graphical user interface (GUI)*, J. Appl. Cryst., **30**, 565, 1997
- [24] Farrugia, L. J., *WinGX - suite for small molecule single crystal crystallography*. J. Appl. Cryst., **32**, 837-838, 1999.
- [25] Sheldrick, G. M., *SHELXS-97 - Program for the Solution of Crystal Structures*. University of Göttingen. Germany, 1997.
- [26] Sheldrick, G. M., *SHELXL-97 Program for the Refinement of Crystal Structures*, Germany: University of Göttingen, 1997.
- [27] Spek, A. L., *PLATON, A Multipurpose Crystallographic Tool*, Acta Cryst. **A46**, C34. 1990
- [28] Dolomanov, O. V., Bourhis, L. J., Gildea, R. J., Howard, J. A. K., Puschmann, H., *OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program* J. Appl. Cryst. **42**, 339-341, 2009.

-
- [29] Jiang, Q. H., Xu, Y. H., Jian, L. Y., Zhao, L. M., *3,5-Dihydroxy-N'-(2-hydroxybenzylidene)benzohydrazide monohydrate*, *Acta Cryst.*, **E64**, o338, 2008.
- [30] Zhu, Y. C., He, D. H., *N'-(2-Bromobenzylidene)-3,4,5-trimethoxy benzohydrazide methanol solvate* *Acta Cryst.*, **E64**, o1630, 2008.
- [31] Lohkamp, B., Emsley, P., Cowtan, K., *Coot News*, *CCP4 Newsletter*, **42**, 2005