



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

JOSÉ AVELAR SOUSA DA SILVA

EFEITO DAS CONDIÇÕES EXTREMAS DE TEMPERATURA E PRESSÃO
NAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DOS DIPEPTÍDEOS
GLICIL-L-FENILALANINA E GLICIL-L-ÁCIDO GLUTÂMICO

FORTALEZA

2024

JOSÉ AVELAR SOUSA DA SILVA

EFEITO DAS CONDIÇÕES EXTREMAS DE TEMPERATURA E PRESSÃO
NAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DOS DIPEPTÍDEOS
GLICIL-L-FENILALANINA E GLICIL-L-ÁCIDO GLUTÂMICO

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Física. Área de concentração: Física da Matéria Condensada.

Orientador: Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S58e

Silva, José Avelar Sousa da.

Efeito das condições extremas de temperatura e pressão nas propriedades estruturais e vibracionais dos dipeptídeos glicil-L-fenilalanina e glicil-L-ácido glutâmico / José Avelar Sousa da Silva. – 2024.
128 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Física, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire.

1. Glicil-L-Fenilalanina. 2. Glicil-L-Ácido glutâmico. 3. Transição de Fase. 4. Altas Pressões. 5. Espectroscopia Raman. I. Título.

CDD 530

JOSÉ AVELAR SOUSA DA SILVA

EFEITO DAS CONDIÇÕES EXTREMAS DE TEMPERATURA E PRESSÃO
NAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DOS DIPEPTÍDEOS
GLICIL-L-FENILALANINA E GLICIL-L-ÁCIDO GLUTÂMICO

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Física da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial à obtenção do título de
Doutor em Física. Área de concentração:
Física da Matéria Condensada.

Aprovada em: 28/05/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Valder Nogueira Freire
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Marcos Sasaki
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dr^a. Gardênia de Sousa Pinheiro
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof. Dr. Marcos Tadeu D'Azeredo Orlando
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

À Deus.

À minha família e a todos os professores.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e saúde concedida.

À minha família, em especial aos meus pais, José Raimundo da Silva e Clotildes Sousa que nunca mediram esforços para que os filhos tivessem uma boa educação, por todo o apoio e por compreenderem as minhas ausências durante o doutorado. Aos meus avós, Maria do Socorro Lira e Antônio José de Sousa (*in memoriam*) pelo apoio e incentivo que sempre me deram.

À minha irmã Antônia Tainara, pelo apoio, incentivo, pelas conversas e momentos de distrações.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire, pelas oportunidades e ensinamentos que me foram passados durante o doutorado, pela sua atenção, paciência, simplicidade e dedicação, influenciando no meu amadurecimento pessoal e profissional.

À Prof.^a Dr.^a. Gardênia de Sousa Pinheiro, por todo apoio, incentivo, humildade e paciência, pelas conversas, conselhos, ensinamentos e sua dedicação profissional.

Ao Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior, pelas sugestões dadas na qualificação, pela sua ajuda e ensinamentos no laboratório.

Ao Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala, pelas sugestões dadas na qualificação, pela sua atenção e disponibilidade para ajudar a resolver problemas no laboratório e o cuidado que tem com o mesmo.

Ao Prof. Dr. João Hermínio da Silva (*in memoriam*), pela experiência compartilhada, pelos ensinamentos, pela confiança e pelos momentos de distração.

Ao Prof. Dr. Valder Nogueira Freire, pelas experiências compartilhadas, pelos ensinamentos em laboratório e pelas discussões envolvendo os cálculos computacionais DFT.

Ao Prof. Dr. Marcos Tadeu D'Azeredo Orlando pela recepção e disponibilidade ao ajudar na realização dos experimentos de difração de raios-X em temperaturas extremas no período que estive na UFES.

Ao Prof. Dr. Daniel Linhares Militão Vasconcelos, por todo o apoio e os ensinamentos, pela sua paciência e experiência compartilhada que foram fundamentais para a conclusão do trabalho.

Ao Dr. Juan Simon e a Dr.^a. Mayra Padrón, pelos ensinamentos em laboratório, pelas experiências compartilhadas e pelas conversas.

Ao Dr. Bruno Poti e Ms. José Barbosa, pelas discussões em laboratório sobre DFT e os momentos de descontração.

Ao Dr. Wemerson José de Alencar, pelas discussões das técnicas aplicadas a Paleontologia e pelo companheirismo.

Ao Dr. César Barreto, pelos ensinamentos em manusear os equipamentos e as discussões em laboratório.

Aos Professores Dr. Carlos Augusto, Dr. José Luis Passamai e Dr. Jefferson Rodrigues Rocha pela recepção e conversas produtivas no período que estive na UFES.

Aos amigos e colegas que compartilharam sala, Raphaela Araujo, Damião, Adrya Jackellyne e Luciano Vieira de Aguiar, pelos momentos de descontração e discussões.

Aos amigos, Wagner Gomes, Lucas Saraiva, Francisco Marciano, Romulo Sampaio, Yuri, Gisele Castro, Renata da Hora, Pedro Henrique, Francisco Nailson, Cintia Raquel, Carlos Henrique, Rai Jucá, Valdir e Vitor pelas discussões e momentos de desconcentração dentro e fora dos laboratórios.

Aos funcionários da oficina mecânica da UFC, por estarem sempre de prontidão na manutenção e desenvolvimento de equipamentos.

A todo pessoal responsável pela limpeza das salas de alunos e laboratórios da pós-graduação.

Aos funcionários do Departamento de Física da UFC, pelos seus trabalhos realizados, em especial a Rejane Coelho e Ana Cleide por todo o trabalho realizado na secretaria da Pós- graduação em Física.

Ao CENAPAD-SP, pela utilização dos clusters e do software Gaussian 09 para a realização de cálculos DFT através do projeto 373.

A CAPES pelo apoio financeiro a todos os estudantes e professores do departamento.

A Funcap e ao CNPq pelo apoio financeiro fornecido a mim para a execução deste trabalho através do projeto PRONEX FUNCAP/CNPq PR 2-0101-0006.01.00/15.

RESUMO

Nesse estudo, foi feita a análise estrutural e vibracional dos dipeptídeos glicil-L-fenilalanina ($C_{11}H_{14}N_2O_3$) e glicil-L-ácido glutâmico hidratado ($C_7H_{12}N_2O_5 \cdot H_2O$). A glicil-L-fenilalanina é um dipeptídeo hidrofílico formado pela junção dos dipeptídeos glicina e fenilalanina, sendo utilizado na síntese de co-cristais e estruturas metal-orgânica (MOFs), enquanto a glicil-L-ácido glutâmico é um dipeptídeo neurotransmissor com potencial de prevenção de certas doenças degenerativas, como o Alzheimer. Num primeiro estágio, realizou-se a cristalização e a determinação das estruturas dos dipeptídeos através de difração de raios-X. Além dessa técnica, também foram utilizados cálculos de primeiros princípios por teoria do funcional de densidade (DFT), análise térmica (calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TGA)), espectroscopia no infravermelho e espectroscopia Raman em condições extremas de temperatura e pressão. No que diz respeito à glicil-L-fenilalanina, cálculos DFT foram utilizados para se obter a conformação molecular de menor energia, variando-se o ângulo diedral ω (C1C2N2C3) em meio aquoso. Também foram obtidos os espectros vibracionais e a atribuição teórica dos modos normais de vibração dos dipeptídeos, encontrando-se uma boa concordância com os dados experimentais. Os experimentos de espectroscopia Raman em altas pressões foram realizadas no dipeptídeo glicil-L-fenilalanina até pressões de 7,1 GPa, utilizando-se uma célula de pressão a extremos de diamante. Desse estudo, foi observada uma transição de fase em torno de 1,0 GPa, acompanhada por mudanças conformacionais de acordo com a análise do comportamento de vários modos internos. Variando-se a temperatura de 300 até 10 K e de 300 até 393 K, observou-se uma transição de fase estrutural entre 100 e 80 K. Notou-se também um comportamento não-linear de alguns números de onda de modos de altas energias, possivelmente devido ao fato de que certas unidades C-H estejam acopladas com modos envolvidos em ligações de hidrogênio. Em relação à glicil-L-ácido glutâmico hidratado, foi feita a resolução da sua estrutura pela técnica de difração de raios-X de monocristal, sendo obtido a sua estrutura cristalina, seu grupo espacial, as posições atômicas e os parâmetros de rede ainda não catalogado na literatura. Foi realizada uma análise minuciosa dos modos vibracionais por cálculos de primeiros princípios e distribuição de energia potencial (PED). Ao ser submetido a temperaturas de 300 até 403 K, notou-se um comportamento não-linear no número de onda de diversas bandas, apontando para uma anarmonicidade antecedendo a amorfização da amostra. O processo de amorfização, ele próprio, envolveu a saída de moléculas de água acima de 400 K,

indicando que a água presente na estrutura desempenha um papel de destaque na estabilidade do cristal à temperatura ambiente. Uma comparação desse último resultado com estudos recentes em outros dipeptídeos também é fornecida.

Palavras-chave: Glicil-L-Fenilalanina; Glicil-L-Ácido glutâmico; Transição de Fase; Altas Pressões; Espectroscopia Raman.

ABSTRACT

In this study, the structural and vibrational analysis of the dipeptides glycyl-L-phenylalanine ($C_{11}H_{14}N_2O_3$) and glycyl-L-hydrated glutamic acid ($C_7H_{12}N_2O_5$) was carried out. Glycyl-L-phenylalanine is a hydrophilic dipeptide formed by joining the dipeptides glycine and phenylalanine and is used in the synthesis of co-crystals and metal-organic frameworks (MOFs), while glycyl-L-glutamic acid is a neurotransmitter dipeptide with the potential to prevent certain degenerative diseases, such as Alzheimer's disease. As a first step, the dipeptides were crystallized and their structures determined using X-ray diffraction. In addition to this technique, first-principles calculations using density functional theory (DFT), thermal analysis (differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA)), infrared spectroscopy and Raman spectroscopy under extreme conditions of temperature and pressure were also used. With regard to glycyl-L-phenylalanine, DFT calculations were used to obtain the lowest energy molecular conformation by varying the dihedral angle ω (C1C2N2C3) in an aqueous medium. Vibrational spectra and the theoretical assignment of the normal modes of vibration of the dipeptides were also obtained, and good agreement was found with the experimental data. Raman spectroscopy experiments at high pressures were carried out on the dipeptide glycyl-L-phenylalanine up to pressures of 7.1 GPa, using a diamond end pressure cell. From this study, a phase transition was observed around 1.0 GPa, accompanied by conformational changes according to the analysis of the behavior of various internal modes. Varying the temperature from 300 to 10 K and from 300 to 393 K, a structural phase transition was observed between 100 and 80 K. A non-linear behavior of some wave numbers of high-energy modes was also noted, possibly due to the fact that certain C-H units are coupled with modes involved in hydrogen bonds. With regard to hydrated glycyl-L-glutamic acid, its structure was solved using the single-crystal X-ray diffraction technique, and its crystal structure, space group, atomic positions and lattice parameters were obtained which have not yet been catalogued in the literature. A detailed analysis of the vibrational modes was carried out using first-principles calculations and potential energy distribution (PED). When subjected to temperatures ranging from 300 to 403 K, a non-linear behaviour was observed in the wave number of several bands, pointing to an anharmonicity preceding the amorphization of the sample. The amorphization process itself involved the exit of water molecules above 400 K, indicating that the water present in the structure plays a major role in the stability of the crystal at room temperature. A

comparison of this last result with recent studies on other dipeptides is also provided.

Keywords: Glycyl-L-Phenylalanine; Glycyl-L-Glutamic Acid; Phase Transition; High Pressures; Raman Spectroscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Aminoácido (a) neutra e (b) zwitteriônica.....	20
Figura 2	– Reação química de formação de um dipeptídeo.....	25
Figura 3	– Reação química de formação do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina.....	26
Figura 4	– Reação química de formação do dipeptídeo glicil-L-ácido glutâmico.....	28
Figura 5	– (a) Amostra em pó, (b) cristais de glicil-L-fenilalanina e (c) imagem MEV da glicil-L-fenilalanina.....	29
Figura 6	– (a) Amostra em pó, (b) cristais e (c) imagem MEV da glicil-L-ácido glutâmico	30
Figura 7	– Difratorômetro de raios-X Bruker D8 Venture.....	31
Figura 8	– Difratorômetro de raios-X Bruker, modelo D8 Advance.....	32
Figura 9	– (a) Difratorômetro de raios-X Rigaku modelo Ultima IV, (b) acessório de altas temperaturas HT 1500 e (c) controlador de temperatura programável Rigaku modelo PTC-30.....	33
Figura 10	– Espectrômetro triplo T64000 da Jobin Yvon-Horiba.....	34
Figura 11	– Esquema óptico do funcionamento do espectrômetro T64000.....	35
Figura 12	– Célula de bigorna de diamante modelo Panoramix.....	36
Figura 13	– (a) Espectrômetro o LabRAM HR Evolution da HORIBA e (b) CCR1000 da Linkam.....	36
Figura 14	– (a) Criostato óptico de ciclo fechado Janis CCS-150, (b) Bomba de vácuo TIC Cart Pumping Stations, (c) Compressor Cryopump 8200 Helium e (d) Controlador de temperatura criogênica Lakeshore modelo 335.....	37
Figura 15	– (a) Espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier VERTEX 70v e (b) Acessório de reflectância atenuada (PLATINUM ATR)	37
Figura 16	– STA 449 F3 Jupiter da Netzsch.....	38
Figura 17	– Refinamento Rietveld do padrão de difração de raios-X do cristal da glicil-L-fenilalanina.....	41
Figura 18	– (a) Estrutura molecular e (b) cristalina da glicil-L-fenilalanina.....	43

Figura 19 – Comparativo entre os espectros Raman experimental e calculado da glicil- L -fenilalanina.....	47
Figura 20 – Comparativo entre os espectros infravermelho experimental e calculado da glicil- L -fenilalanina.....	47
Figura 21 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil- L -fenilalanina na região espectral entre 100 e 350 cm^{-1}	54
Figura 22 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil- L -fenilalanina na região espectral entre 350 e 650 cm^{-1}	55
Figura 23 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil- L -fenilalanina na região espectral entre 650 e 975 cm^{-1}	56
Figura 24 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil- L -fenilalanina na região espectral entre 975 e 1250 cm^{-1}	57
Figura 25 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 1400 e 1750 cm^{-1}	58
Figura 26 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 2800 e 3200 cm^{-1}	61
Figura 27 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 80 e 220 cm^{-1}	65
Figura 28 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 225 e 650 cm^{-1}	66
Figura 29 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 650 e 950 cm^{-1}	67
Figura 30 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 950 e 1250 cm^{-1}	68
Figura 31 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 1250 e 1450 cm^{-1}	69
Figura 32 – Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 1450 e 1700 cm^{-1}	70

Figura 33	– Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 2840 e 3020 cm^{-1}	71
Figura 34	– Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 3020 e 3240 cm^{-1}	72
Figura 35	– Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 80 e 450 cm^{-1}	75
Figura 36	– Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 450 e 900 cm^{-1}	77
Figura 37	– Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 900 e 1250 cm^{-1}	78
Figura 38	– Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 1250 e 1750 cm^{-1}	79
Figura 39	– Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 2800 e 3100 cm^{-1}	80
Figura 40	– Difractogramas de raios-X da glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região entre 4 e 38 $^{\circ}$	83
Figura 41	– Parâmetros estruturais da glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas refinadas.	84
Figura 42	– Experimentos de DSC e TGA realizadas na glicil-L-fenilalanina entre 300 e 630 K.	85
Figura 43	– (a) estrutura molecular e (b) estrutura cristalina da glicil-L-ácido glutâmico..	88
Figura 44	– Comparativo entre os espectros Raman experimental e calculado de glicil-L-ácido glutâmico.	92
Figura 45	– Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 80 e 350 cm^{-1}	99
Figura 46	– Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 350 e 650 cm^{-1}	100
Figura 47	– Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 650 e 1000 cm^{-1}	102

Figura 48 – Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 1000 e 1250 cm^{-1}	103
Figura 49 – Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 1250 e 1750 cm^{-1}	104
Figura 50 – Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 2800 e 3400 cm^{-1}	105
Figura 51 – Difrátogramas de raios-X da glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região entre 4 e 38°.	109
Figura 52 – Parâmetros estruturais da glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas refinadas.	110
Figura 53 – Experimentos de DSC e TGA realizadas na glicil-L-ácido glutâmico entre 270 e 630 K.	112
Figura A.1 – Espectro Raman do meio compressor nujol.....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Aminoácidos proteicos essenciais e não-essenciais.....	21
Tabela 2 – Aminoácidos proteicos classificados por polaridade	22
Tabela 3 – Aminoácidos proteicos classificados por afinidade em meio aquoso.....	23
Tabela 4 – Dados cristalográficos do dipeptídeo Gly-L-Phe.....	41
Tabela 5 – Geometria das ligações de hidrogênio (\AA , $^\circ$) da glicil-L-fenilalanina.....	42
Tabela 6 – Parâmetros geométricos da estrutura molecular da molécula glicil-L-fenilalanina sem os átomos de hidrogênio.....	44
Tabela 7 – Tabela de atribuição dos modos normais de vibração do cristal do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina.....	50
Tabela 8 – Ajuste linear dos números de ondas dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 100 e 3200 cm^{-1}	62
Tabela 9 – Ajustes dos números de ondas experimentais da glicil-L-fenilalanina entre 10 e 300 K na região espectral entre 80 e 3200 cm^{-1}	73
Tabela 10 – Ajustes dos números de ondas experimentais da glicil-L-fenilalanina entre 290 e 470 K na região espectral entre 80 e 3200 cm^{-1}	81
Tabela 11 – Dados cristalográficos do dipeptídeo Gly-L-Glu.....	87
Tabela 12 – Geometria das ligações de hidrogênio (\AA , $^\circ$)	88
Tabela 13 – Tabela comparativa de comprimento, ângulo e diedro das ligações experimental e teórico.....	90
Tabela 14 – Tabela de atribuição dos modos normais de vibração do dipeptídeo glicil-L-ácido glutâmico.....	95
Tabela 15 – Ajustes dos números de ondas experimentais da glicil-L-ácido glutâmico entre 293 e 393 K na região espectral entre 80 e 3400 cm^{-1}	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATR	<i>Attenuated total reflection</i>
B3LYP	<i>Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr</i>
CCD	<i>Charged-Coupled Device</i>
DFT	<i>Density Functional Theory</i>
DRX	Difração de raios-X
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i>
FT-IR	<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PCM	<i>Polarizable Continuum Model</i>
PED	<i>Potential Energy Distribution</i>
TGA	<i>Thermogravimetric Analysis</i>
VEDA	<i>Vibrational Energy Distribution Analysis</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

δ	Deformação angular
δ_{OUT}	Deformação angular fora do plano
ν	Estiramento
ω_{Exp}	Número de onda experimental
ω_0	Número de onda inicial
τ	Torção

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Aminoácidos	19
1.2	Peptídeos	24
1.3	Glicil-L-Fenilalanina (Gly-L-Phe)	26
1.4	Glicil-L-Ácido Glutâmico (Gly-L-Glu)	27
2	METODOLOGIA	29
2.1	Obtenção das Amostras	29
2.2	Difração de Raios-X de Monocristal	30
2.3	Difração de Raios-X de Policristal	31
2.4	Espectroscopia Raman	33
2.4.1	<i>Espectroscopia Raman em Altas Pressões</i>	35
2.4.2	<i>Espectroscopia Raman em Baixas Temperaturas</i>	36
2.4.3	<i>Espectroscopia Raman em Altas Temperaturas</i>	36
2.5	Espectroscopia no Infravermelho	37
2.6	Experimentos Térmicas	38
2.7	Cálculos Computacionais	38
3	PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DA GLICIL-L-FENILALANINA	40
3.1	Análise Estrutural e Conformacional	40
3.2	Análise vibracional e Modos Normais de Vibração	45
3.3	Espectroscopia Raman em Altas Pressões	52
3.4	Espectroscopia Raman em Baixas Temperaturas	63
3.5	Espectroscopia Raman em Altas Temperaturas	74
3.6	Difração de Raios-X e Experimentos Térmicos a Altas Temperaturas	82
4	PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DA GLICIL-L-ÁCIDO GLUTÂMICO	86
4.1	Análise estrutural e conformacional	86
4.2	Análise Vibracional e Modos Normais de Vibração	91
4.3	Espectroscopia Raman em Altas Temperaturas	98
4.4	Difração de Raios-X em Altas Temperaturas	108
5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	113

REFERÊNCIAS	115
ANEXO A - ESPECTRO RAMAN DO MEIO COMPRESSOR NUJOL....	127
ANEXO B - PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA DURANTE O DOUTORADO.....	128

1 INTRODUÇÃO

Os peptídeos são cadeias de aminoácidos formadas a partir da ligação peptídica dos resíduos dos aminoácidos. Dessas ligações peptídicas temos a formação de pequenas cadeias como dipeptídeos e tripeptídeos, até cadeias contendo milhares de resíduos, formando assim as proteínas. Tais materiais apresentam importantes atividades biológicas, podendo atuar como neurotransmissores (Fu *et al.*, 2009), na estimulação do córtex adrenal (Hughes, 2010), na formação de fibrilas amilóides (Barboza *et al.*, 2017; Silva Filho, da *et al.*, 2017), na regulação do pH das células musculares (Fu *et al.*, 2009), entre outras.

Devido às suas funções biológicas, eles podem ser usados no tratamento e controle de diferentes doenças como câncer (Celik *et al.*, 2022; Iglesias *et al.*, 2014) e o Zika vírus (Li *et al.*, 2017), além do desenvolvimento de dispositivos eletrônicos (Gong *et al.*, 2015). Além disso, devido às suas estruturas biocompatíveis, eles vêm sendo utilizados no estudo de automontagem, sendo utilizados na formação de hidrogéis (Banerjee, Das e Maitra, 2009; McAulay *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2020), de nanoestruturas (Keyes-Baig *et al.*, 2004; Talloj, Mohammed e Lin, 2020; Zohrabi *et al.*, 2020) e na construção de dispositivos (Panda e Chauhan, 2014; Villa, Vegt, van der e Peter, 2009).

No presente trabalho, foram estudadas as propriedades vibracionais do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina e a glicil-L-ácido glutâmico hidratado. A glicil-L-fenilalanina é um dipeptídeo formado pelos resíduos da glicina e da L-fenilalanina, com massa molar de 222,24 g/mol. Em sua forma cristalina, o dipeptídeo tem estrutura monoclínica com grupo espacial $P2_1$, tendo duas moléculas por célula unitária, $Z = 2$ (Mukkamala, Zhang e Oldfield, 2007). As propriedades do material foram estudadas em condições ambiente utilizando as técnicas de espectroscopia vibracional (Raman e IR) em condições ambiente e em condições extremas de temperatura e pressão. A estrutura do dipeptídeo foi confirmada por meio da técnica de difração de raios-X. A análise estrutural e a atribuição dos modos normais de vibração foram feitas utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT). Além disso, foram utilizadas as técnicas de análise térmica (DSC/TGA) para estudar a estabilidade do cristal e possíveis transições de fase quando submetido a altas temperaturas.

A glicil-L-ácido glutâmico hidratado é um dipeptídeo neurotransmissor formado pelos resíduos da glicina e do ácido l-glutâmico, com massa molar de 204,18 g/mol. Sua estrutura cristalina foi determinada neste trabalho utilizando a técnica de difração de raios-X de monocristal, no qual o dipeptídeo tem estrutura monoclínica e grupo espacial $P2_1$, com duas moléculas por célula unitária, $Z = 2$. Foram feitos cálculos computacionais utilizando o

funcional de densidade (DFT) para a análise estrutural e a atribuição dos modos normais de vibração. Inicialmente, foram feitos experimentos de espectroscopia vibracional (Raman e IR) em condições ambiente. Em seguida, foram feitos experimentos em altas temperaturas utilizando as técnicas de análise térmica, difração de raios-X em pó e espectroscopia Raman, observando-se a instabilidade do material ao ser submetido a tais condições.

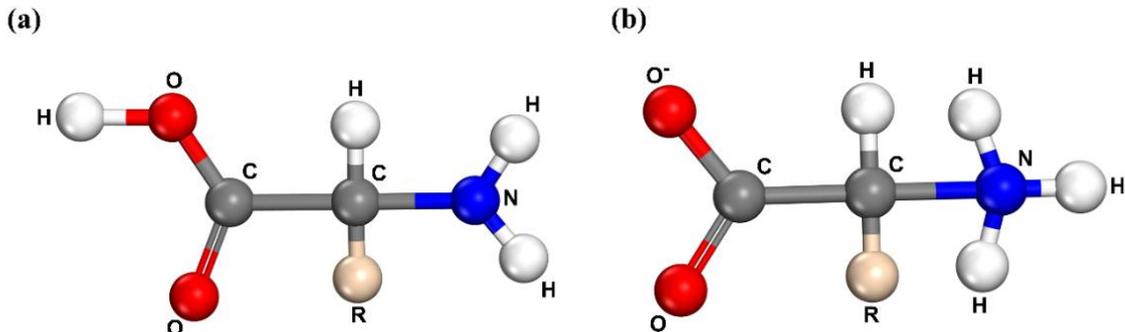
No capítulo 1, é apresentada uma abordagem geral sobre aminoácidos, peptídeos e um histórico dos materiais estudados. No capítulo 2, temos a descrição dos procedimentos experimentais, dos equipamentos utilizados e a obtenção das amostras. No capítulo 3, são apresentadas as propriedades estruturais e vibracionais da glicil-L-fenilalanina, começando com a confirmação da estrutura cristalina e a análise estrutural e vibracional em condições ambiente. Em seguida, é feita a análise das propriedades vibracionais do cristal do dipeptídeo ao ser submetido a altas pressões, altas temperaturas e baixas temperaturas, utilizando as técnicas de espectroscopia Raman, difração de raios-X e análise térmica. No capítulo 4, são apresentadas as propriedades estruturais e vibracionais da glicil-L-ácido glutâmico hidratado e as técnicas utilizadas no estudo do dipeptídeo. Inicialmente, é relatada a confirmação da estrutura cristalina do dipeptídeo, onde é descrita a estrutura do cristal e da molécula. É feita a descrição do comportamento vibracional do dipeptídeo ao ser submetido a altas temperaturas, usando as técnicas de espectroscopia Raman, difração de raios-X e análise térmica. No capítulo 5, temos as conclusões e perspectivas futuras dos materiais estudados.

1.1 Aminoácidos

Aminoácidos são moléculas orgânicas simples constituído por um carbono central (C_α), um grupo amina (NH_2), um grupo carboxílico ($COOH$), um átomo de hidrogênio e uma cadeia lateral (R), responsável pela diferenciação das propriedades químicas e fisiológicas dos aminoácidos no organismo (Barrett e Elmore, 1998). Quando em líquido ou em estado sólido, o grupo carboxílico cede um hidrogênio ao grupo amina, ficando o grupo carboxílico carregado negativamente (COO^-) e o grupo amina carregado positivamente (NH_3^+), assim temos a forma ionizada do aminoácido denominada zwitteriônica (Figura 1), predominante na forma cristalina de aminoácidos, fármacos e peptídeos (D' Mello, 2003). Das centenas de aminoácidos existentes, apenas 22 aminoácidos são proteicos, ou seja, são responsáveis pela formação das proteínas e peptídeos estão presentes no código genético (Rother e Krzycki, 2010). Além dos 20 aminoácidos já amplamente conhecidos, foram adicionados recentemente a selenocisteína

(Johansson, Gafvelin e Arnér, 2005; Liebecq, 1999) e a pirrolisina (Hao *et al.*, 2004; Srinivasan, James e Krzycki, 2002; Zhang e Gladyshev, 2007). Também temos os aminoácidos não proteicos, são que aqueles que não estão presentes na formação de proteínas, por exemplo, o gaba (Dobson e Gerkin, 1996; Watanabe *et al.*, 2002).

Figura 1: Representação de um aminoácido nas formas (a) neutra e (b) zwitteriônica.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os aminoácidos são obtidos a partir da alimentação e da síntese de outros aminoácidos pelo organismo. Os aminoácidos obtidos pela alimentação são chamados de aminoácidos essenciais. Dentre os 20 aminoácidos proteicos, os aminoácidos essenciais são: valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, arginina, lisina, metionina, serina, treonina e triptofano (Rao, 2006). Outros aminoácidos podem ser obtidos a partir de reações químicas dos aminoácidos essenciais no organismo, sendo chamados de aminoácidos não essenciais. Os aminoácidos não-essenciais são: glicina, alanina, histidina, cisteína, asparagina, glutamina, prolina, ácido aspártico, ácido glutâmico e tirosina (Rao, 2006). Todos os aminoácidos proteicos estão mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Aminoácidos proteicos essenciais e não essenciais.

Aminoácidos essenciais	Aminoácidos não essenciais
Valina	Glicina
Leucina	Alanina
Isoleucina	Histidina
Fenilalanina	Cisteína
Arginina	Asparagina
Lisina	Glutamina
Metionina	Prolina
Serina	Ácido aspártico
Treonina	Ácido glutâmico
Triptofano	Tirosina

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os aminoácidos podem ser observados na forma de imagens especulares sem sobreposição, sendo chamados de enantiômeros (Cahn, Ingold e Prelog, 1966; Wu, 2013). Com exceção da glicina, todos os aminoácidos são opticamente ativos e são classificados em: (i) L-aminoácidos, são aminoácidos que desviam o plano de polarização para a esquerda e são os únicos que formam ligação peptídica entre eles, formando peptídeos e proteínas; (ii) Os D-aminoácidos, que desviam o plano de polarização para a direita e são encontrados em algumas bactérias e açúcares (D’Mello, 2003; Genchi, 2017; Kuru *et al.*, 2012; Naganuma *et al.*, 2018; Wolosker *et al.*, 2008); (iii) DL-aminoácidos, é uma forma racêmica formada a partir da mistura em proporções iguais dos aminoácidos do tipo L e D e que não são opticamente ativos (Matthews, 2009).

O radical (R) é responsável pela diferenciação das propriedades químicas entre os aminoácidos, sendo classificados em relação à sua polaridade em apolar, polar não carregado (ou neutro), polar carregado positivamente e polar carregado negativamente. Aminoácidos apolares são aqueles pouco solúveis em água, sendo eles: a alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, triptofano e valina. Já os polares (não carregados ou neutros), são aminoácidos solúveis em água e se ionizam em condições normais, com exceção da serina. Os aminoácidos polares são: glicina, cisteína, serina, tirosina, treonina, glutamina e asparagina. Os aminoácidos carregados positivamente são aqueles que, em uma solução com pH 7,0, têm carga positiva, são eles: a histidina, lisina e arginina. Já os carregados negativamente são aqueles que, em solução com pH 7,0, têm uma carga negativa, onde temos apenas dois

aminoácidos: ácido glutâmico e o ácido aspártico (Hughes, 2010). Na Tabela 2, temos os aminoácidos classificados por sua polaridade.

Tabela 2: Aminoácidos proteicos classificados por polaridade.

Apolar	Polar	Carregados Positivamente	Carregados Negativamente
Alanina	Glicina	Histidina	Ácido Glutâmico
Isoleucina	Cisteína	Lisina	Ácido Aspártico
Leucina	Serina	Arginina	
Metionina	Tirosina		
Fenilalanina	Treonina		
Prolina	Glutamina		
Triptofano	Asparagina		
Valina			

Fonte: Elaborado pelo autor.

É interessante notar que, devido ao radical R, os aminoácidos são classificados de acordo com a sua afinidade com a água, sendo classificados em hidrofóbicos e hidrofílicos. Os aminoácidos hidrofóbicos, que não têm afinidade e são repelidos por moléculas de água, estão listados a seguir: metionina, fenilalanina, leucina, isoleucina, valina, tirosina e triptofano. Já os aminoácidos hidrofílicos, que têm afinidade e se dissolvem com facilidade em água, são: arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutâmico, glutamina, asparagina, histidina, serina e treonina.

Tabela 3: Aminoácidos proteicos classificados por afinidade em meio aquoso.

Hidrofóbicos	Hidrofílicos
Metionina	Arginina
Fenilalanina	Lisina
Leucina	Ácido aspártico
Isoleucina	Ácido glutâmico
Valina	Glutamina
Tirosina	Asparagina
Triptofano	Histidina
	Serina
	Treonina

Fonte: Elaborado pelo autor.

Por serem moléculas simples, os aminoácidos são utilizados como modelo inicial para a compreensão das ligações de hidrogênio e no estudo de peptídeos, proteínas e fármacos. Eles podem ser cristalizados utilizando diferentes rotas de síntese e condições, podendo ser obtidas as suas fases anidra e hidratada. São observadas diferentes quantidades de moléculas nas estruturas cristalinas dos aminoácidos que interagem por ligações de hidrogênio. Essas ligações desempenham papel importante em cristais moleculares, pois são elas que garantem a estabilidade das estruturas cristalinas e em condições extremas. As mudanças nessas ligações indicam modificações no cristal; dessa forma, ele terá uma estrutura cristalina e propriedades físico-químicas diferentes da estrutura inicial. Além disso, os aminoácidos têm facilidade em se ligar com outros materiais, como haletos, metais de transição e outras moléculas pelas ligações de hidrogênio, formando haletos (Cheng *et al.*, 2023; Fleck, 2008; Fleck *et al.*, 2008; Ghazaryan *et al.*, 2016; Gopakumar *et al.*, 2022; Mardirossian *et al.*, 2021; Petrosyan *et al.*, 2020), complexos metálicos (Elius Hossain *et al.*, 2015; Ishida *et al.*, 1980; Joseyphus, Dhanaraj e Nair, 2006; Karpin, Merola e Falkinham, 2013; Mahapatra *et al.*, 2014; Mandal, Das e Askari, 2014a; b; Marcotrigiano, Menabue e Pellacani, 1976; Remko *et al.*, 2011; Remko, Fitz e Rode, 2008), co-cristais (Ahmed *et al.*, 2011; Alagar, Krishnakumar, Rajagopal, *et al.*, 2003; Alagar, Krishnakumar, Subha Nandhini, *et al.*, 2003; Belitzky *et al.*, 2015; Görbitz *et al.*, 2009; Isakov *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2021; Losev e Boldyreva, 2019; Pawlukoje *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2006) e, mais recentemente, com perovskita híbrida (Kaiba *et al.*, 2020; Sirenko *et al.*, 2021; Vasconcelos *et al.*, 2022).

As propriedades estruturais e vibracionais dos aminoácidos já foram investigadas utilizando-se as técnicas de difração de raios-X e espectroscopia Raman em condições extremas de temperatura e pressão. Em baixas temperaturas, o cristal da L-histidina foi investigado pela técnica de espectroscopia Raman em baixas temperaturas, entre 30 e 300 K, na qual não foi observado nenhuma transição de fase (Pinheiro, 2009; Sousa, De *et al.*, 2013). Os espectros do cristal do aminoácido L-metionina, submetido a temperaturas entre 17 e 295 K, não apresentaram mudanças significativas que indicassem modificação estrutural; porém, ao ser submetido a altas pressões, observou-se uma transição de fase em torno de 2,1 GPa, revelando-se reversível com uma histerese de 0,8 GPa (José Alves, 2008; Lima *et al.*, 2008).

A L-leucina foi estudada utilizando a técnica de espectroscopia Raman em altas pressões, medindo na região espectral entre 70 e 3150 cm^{-1} . Entre 0 e 0,46 GPa e entre 0,8 e 1,46 GPa, foram observados o desaparecimento de modos da rede, o aparecimento de modos internos e a separação de modos. Além disso, em aproximadamente 3,6 GPa, foi observada uma mudança conformacional (Façanha Filho *et al.*, 2009). Podemos citar também como exemplo o cristal da L-treonina, no qual, ao ser submetido a pressões de até 27 GPa, foram observadas evidências de possíveis transições de fase em três regiões: entre 1,1 e 1,6 GPa, entre 8,2 e 9,2 GPa e entre 14,0 e 15,5 GPa, sendo as mesmas associadas ao aparecimento e desaparecimento de bandas (Holanda *et al.*, 2015).

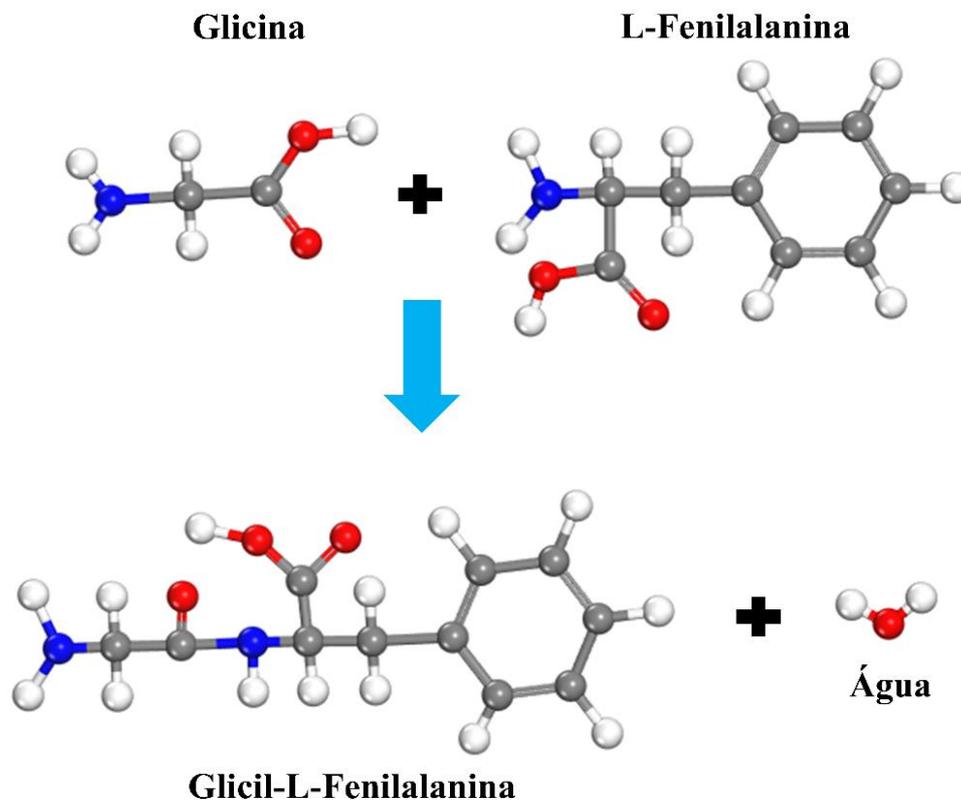
1.2 Peptídeos

Os peptídeos são moléculas formadas por dois ou mais aminoácidos ligados por ligação peptídica. Essas ligações peptídicas ocorrem apenas com os L-aminoácidos a partir da reação entre o grupo carboxílico (COOH) de um aminoácido com o grupo amina (NH_2) de outro, e desta reação química resulta a formação do grupo amida e a liberação de uma molécula de água (H_2O), como mostrado na Figura 2. A partir das ligações peptídicas, podemos ter cadeias de diversos aminoácidos ligados, sendo classificados como dipeptídeos, tripeptídeos, polipeptídeo e proteínas (Gong *et al.*, 2015; Rao, 2006; Silva, 2019). Assim como ocorre com os aminoácidos, quando em líquido ou em estado sólido, o grupo carboxílico cede um hidrogênio ao grupo amina, ficando carregado negativamente (COO^-) e o grupo amina carregado positivamente (NH_3^+), tendo assim a forma zwitteriônica do peptídeo (mostrado na Figura 2).

1.3 Glicil-L-Fenilalanina

A glicil-L-fenilalanina ($C_{11}H_{14}N_2O_3$) é um dipeptídeo formado pelos aminoácidos glicina e L-fenilalanina a partir da ligação química entre o grupo amina da glicina com o grupo carboxila da L-fenilalanina, formando uma ligação peptídica (CO-NH) e a liberação de uma molécula de água (Avelar S. Silva *et al.*, 2024; Ramos *et al.*, 2020). Sua estrutura cristalina foi determinada em 2006 por Mukkamala durante um estudo com diferentes dipeptídeos formados por L-fenilalanina e L-tirosina (Mukkamala, Zhang e Oldfield, 2007). Sua estrutura cristalina é monoclínica, cujo grupo espacial é $P2_1$, com duas moléculas por célula unitária e parâmetros de rede: $a = 6,443 \text{ \AA}$, $b = 5,492 \text{ \AA}$, $c = 16,535 \text{ \AA}$, $\beta = 97,711^\circ$ (Mukkamala, Zhang e Oldfield, 2007). Na sua célula unitária, são observadas ligações inter- e intramoleculares, assim como observado em aminoácidos, além de uma ligação de hidrogênio formada pelo grupo amida da ligação peptídica.

Figura 3: Reação química de formação do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A glicil-L-fenilalanina tem sido usada na formação de complexos com drogas (Buschmann, Schollmeyer e Mutihac, 2003; Ramos *et al.*, 2020; Weng, Ankersen e Larsen,

2004), no transporte de drogas (Morshima, 1977; Mutihac *et al.*, 2001; Reshkin e Ahearn, 2018) e em macrociclos com aplicação em catálise (Buschmann, Mutihac e Schollmeyer, 2003; Mutihac *et al.*, 2001). Além disso, ela também foi sintetizada na formação de sais com os ácidos p-toluenossulfônico e bromobenzenossulfônico (Veen, van der e Low, 1972), no estudo com enzimas (Capellas *et al.*, 1994; Mølgaard *et al.*, 2007) e na adsorção de prata (Kim, Kim e Suh, 1987; Lee, Kim e Suh, 1988). Ela tem potencial para a síntese de novas estruturas de metal orgânico (MOFs), devido à sua capacidade de complexar íons metálicos, sendo sintetizada com zinco (II) (Kumar, Abdul e Akram, 2014; Kumar, Akram e Kabir-ud-Din, 2014; Puškarić *et al.*, 2016), cádmio (Puškarić *et al.*, 2016; Sharifi, Nori-shargh e Bahadory, 2007), cobre (II) (Kumar, Neo e Abdul, 2015), níquel (II) (Akram, Kumar e Kabir-ud-Din, 2014) e paládio (II) (Kozłowski, Formicka - Kozłowska e Jeżowska - Trzebiatowska, 1977), com aplicações na indústria farmacêutica.

1.4 Glicil-Ácido L-Glutâmico

O glicil-L-ácido glutâmico ($C_7H_{12}N_2O_5$) é um dipeptídeo formado pela junção dos aminoácidos glicina e ácido L-glutâmico, havendo a formação de uma ligação peptídica (CO-NH) entre o grupo amina da glicina e o grupo carboxila do ácido L-glutâmico, com a liberação de uma molécula de água (Avelar S. Silva *et al.*, 2024; Biçak *et al.*, 2019; Ioudina e Uemura, 2003), como mostrado na Figura 4. Ele é um dipeptídeo que atua como neurotransmissor e ajuda na prevenção de doenças degenerativas, como o Alzheimer (Biçak *et al.*, 2019; Ioudina e Uemura, 2003). Em estado sólido, o dipeptídeo tem estrutura cristalina monoclinica, $P2_1$, com os parâmetros de rede $a = 9,2352 (2) \text{ \AA}$, $b = 9,2300 (2) \text{ \AA}$, $c = 12,2371 (3) \text{ \AA}$, $\beta = 108,2050 (10)^\circ$.

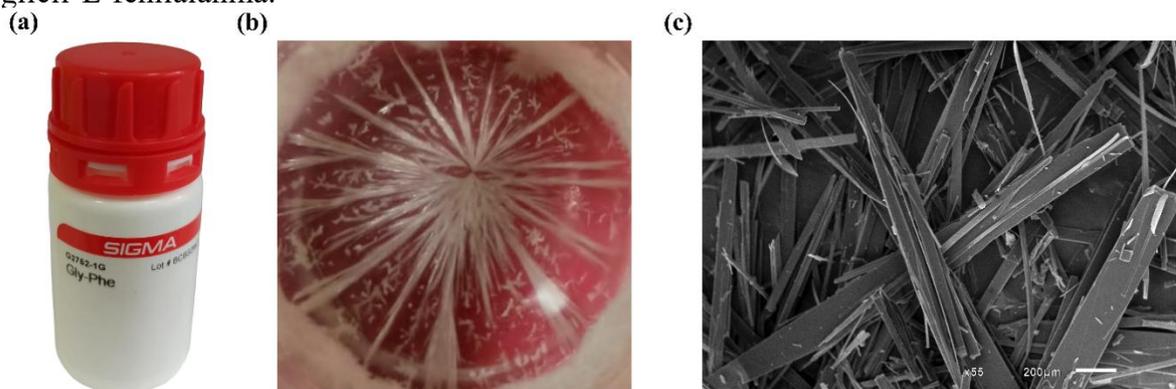
2 METODOLOGIA

Neste capítulo, será feita a descrição dos métodos utilizados para a obtenção dos cristais de glicil-L-fenilalanina (Gly-L-Phe) e glicil-L-ácido glutâmico (Gly-L-Glu). Serão apresentados os equipamentos utilizados para os experimentos experimentais de difração de raios-X (XRD), espectroscopia Raman, espectroscopia no infravermelho e os *softwares* utilizados para os cálculos computacionais. Além disso, serão apresentados os equipamentos utilizados para os experimentos em condições extremas de temperatura e pressão.

2.1 Obtenção das Amostras

As amostras foram obtidas comercialmente da empresa Sigma-Aldrich em forma de pó branco e foram cristalizadas a partir dos reagentes sem posterior purificação. Os cristais de glicil-L-fenilalanina (Gly-L-Phe), $C_{11}H_{14}N_2O_3$, foram obtidos pelo método de evaporação lenta do solvente, no qual 100 mg do pó do dipeptídeo foram dissolvidos em 8 ml de água destilada. A solução foi colocada dentro de um *béquer*, coberto com filme PVC, no qual feitos pequenos furos no invólucro para permitir, a evaporação do solvente. Em seguida, a solução foi colocada em um ambiente com temperatura controlada de 17 °C. Após algumas semanas, foram obtidos os cristais do dipeptídeo na forma de agulhas. A fase cristalina foi confirmada com o experimento de difração de raios-X e refinada utilizando-se o *software* GSAS-II (Toby e Dreele, Von, 2013). A imagem do pó, dos cristais e a imagem a partir do MEV estão mostradas na Figura 5.

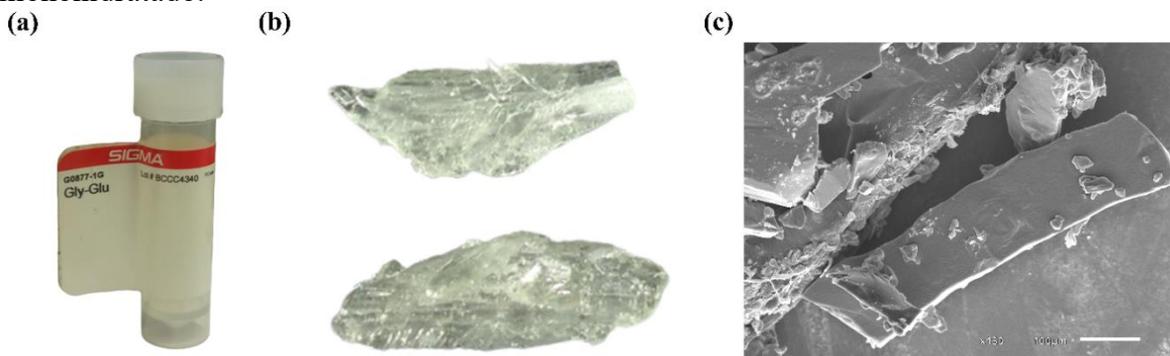
Figura 5: (a) Amostra em pó, (b) cristais de glicil-L-fenilalanina e (c) imagem MEV da glicil-L-fenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A glicil-L-ácido glutâmico monohidratado (Gly-L-Glu), $C_7H_{12}N_2O_5 \cdot H_2O$, foi cristalizada utilizando-se o método de evaporação lenta do solvente, onde 100 mg da amostra foram dissolvidos em uma mistura de 10 ml de água com 4 ml de álcool etílico, sendo utilizado um agitador magnético para misturar a amostra e os solventes em temperatura ambiente. Após 10 minutos de agitação, a solução se apresentou límpida e foi coberta com filme plástico, sendo feitos pequenos orifícios para a evaporação do solvente. Após algumas semanas, foi observada a formação de cristais, que foram coletados do fundo do *béquer*. Os cristais obtidos se apresentavam na forma de pequenas placas cristalinas e transparentes. A estrutura cristalina foi determinada com o experimento de difração de raios-X de monocristal. Na Figura 6, apresentam-se imagens do reagente, dos cristais e uma imagem MEV do dipeptídeo.

Figura 6: (a) Amostra em pó, (b) cristais e (c) imagem MEV do glicil-L-ácido glutâmico monohidratado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.2. Difração de Raios-X em Monocristal

Para a determinação da estrutura cristalina do dipeptídeo glicil-L-ácido glutâmico monohidratado (Gly-L-Glu), foi coletado um monocristal do dipeptídeo e colocado no difratômetro de raios-X Bruker D8 Venture com um goniômetro Kappa, um detetor Photon II e uma fonte de radiação $CuK\alpha$ ($\lambda = 0,15406 \text{ nm}$). Os dados foram recolhidos e integrados utilizando o *software* APEX2. O pacote de *software* Bruker SAINT foi usado para redução de dados e para o refinamento da célula. Usando o *software* Olex2 (Dolomanov *et al.*, 2009) a estrutura foi resolvida pelo método direto usando o SHELXT (Sheldrick, 2015a), e o refinamento foi feito pelo o método dos mínimos quadráticos no SHELXL (Sheldrick, 2015b). Na Figura 7, temos a imagem do difratômetro de raios-X Bruker D8 Venture.

Figura 7: Difratorômetro de raios-X Bruker D8 Venture.



Fonte: Fabricante.

2.3. Difração de Raios-X em Policristal

A estrutura cristalina do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina foi confirmada pelo experimento de difração de raios-X em policristal, usando o difratômetro de raios-X Bruker, modelo D8 Advance com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,15406 \text{ nm}$), operando com corrente de 40 mA e tensão de aceleração de 40 kV com geometria de aquisição do tipo Bragg-Brentano. Foi feita uma varredura $\theta - 2\theta$, com 2θ variando do intervalo de 5 a 50°, com um passo de 0,02 °. O refinamento da estrutura foi feito usando o programa GSAS-II (Toby e Dreele, Von, 2013) pelo método Rietveld (Rietveld, 1969). Na Figura 8, apresenta-se uma fotografia do difratômetro de raios-X Bruker modelo D8 Advance.

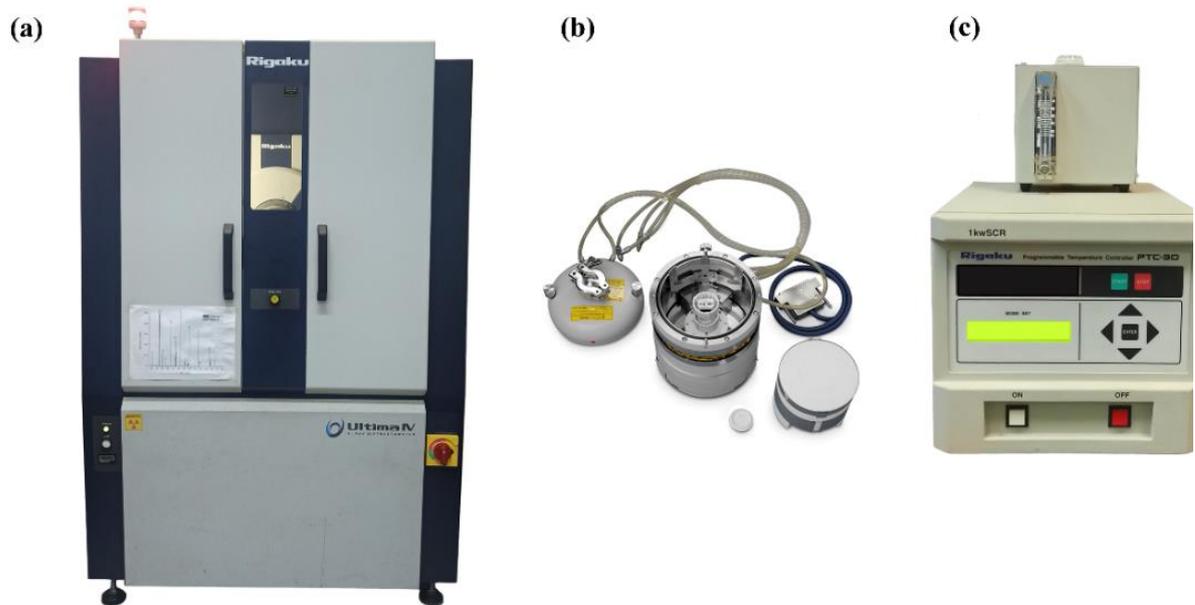
Figura 8: Difratorômetro de raios-X Bruker, modelo D8 Advance.



Fonte: Fabricante.

Os experimentos em altas temperaturas foram realizados utilizando-se o difratômetro de raios-X Rigaku modelo Ultima IV, uma câmara de temperatura HT 1500 com purga de argônio e um controlador de temperatura programável Rigaku modelo PTC-30 (veja-se Figura 5), operando na geometria Bragg-Brentano θ - 2θ com passo angular de $0,02^\circ$ a cada 2 segundos, no intervalo entre 295 e 445 K, com passo de 30 K. Foi utilizada a radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,15406 \text{ nm}$) e os difratogramas foram refinados utilizando-se novamente o programa GSAS-II (Toby e Dreele, Von, 2013) e o método Rietveld (Rietveld, 1969). Os experimentos foram realizados na Universidade Federal do Espírito Santo-UFES, no Laboratório de Altas Pressões e Supercondutividade, com a colaboração do professor Dr. Marcos Tadeu D'Azeredo Orlando.

Figura 9: (a) Difratorômetro de raios-X Rigaku modelo Ultima IV, (b) acessório de altas temperaturas HT 1500 e (c) controlador de temperatura programável Rigaku modelo PTC-30.



Fonte: Fabricante.

2.4 Espectroscopia Raman

Os experimentos de espectroscopia Raman em condições ambiente foram realizadas usando-se o espectrômetro triplo T64000 da Jobin Yvon-Horiba, equipado com um detector tipo CCD (*Charge – Coupled Device*) resfriado com nitrogênio líquido, no modo *single*, mostrado na Figura 6. Foi utilizado como fonte de excitação um laser de criptônio *Coherent* modelo 70c, emitindo na linha 514 nm, com potência de saída de 100 mW. Os espectros foram obtidos na região de 100 a 3200 cm^{-1} , com resolução de aproximadamente 2 cm^{-1} . Todas os experimentos de espectroscopia Raman foram feitos usando os equipamentos do Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Microscopia-LEVM, do departamento de física da Universidade Federal do Ceará - UFC.

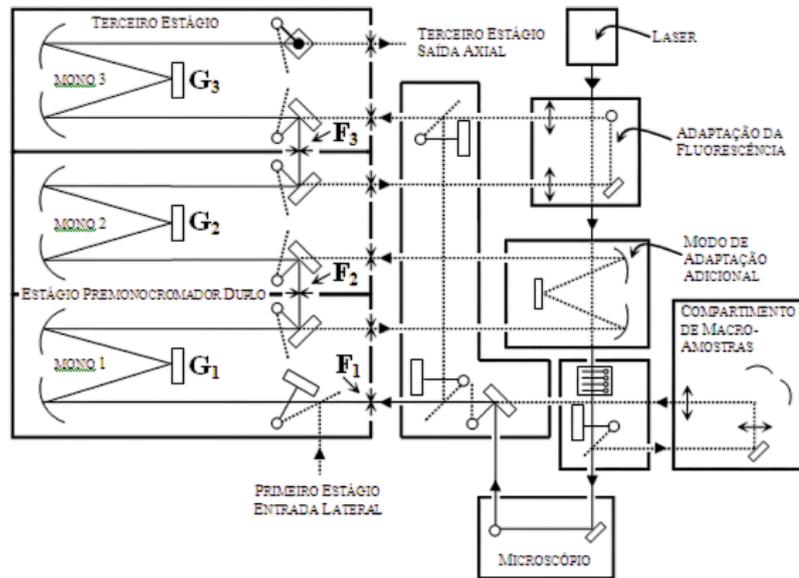
Figura 10: Espectrômetro triplo T64000 da Jobin Yvon-Horiba.



Fonte: Fabricante.

Na Figura 11, temos o esquema óptico do T64000 desde a saída do feixe de laser da fonte, passando pela amostra, até a sua análise pelo espectrômetro. Inicialmente, um feixe de laser é emitido por uma fonte de luz com um comprimento de onda específico, passando por um caminho óptico refletido por espelhos até chegar na amostra. A luz retroespalhada da amostra entra pela fenda **F1** e é dispersa pela grade de difração **G1**. Nesta etapa, é possível utilizar o modo *single* do equipamento, onde a luz dispersa pela grade de dispersão **G1** é detectada pelo dispositivo de cargas acopladas (CCD) sendo obtido o espectro a partir da região de 80 cm^{-1} . Também é possível utilizar o equipamento no modo triplo, onde a luz dispersa em **G1** é orientada a passar pela fenda **F2**, onde a luz se encontra entre dois comprimentos de onda λ_1 e λ_2 . A luz é dispersa na grade **G2** e um novo comprimento de onda é orientado a passar pela fenda **F3**. A luz é novamente dispersa em **G3** e é detectada pela CCD sendo obtido o espectro a partir da região de 10 cm^{-1} .

Figura 11: Esquema óptico do funcionamento do espectrômetro T64000.



Fonte: Fabricante.

2.4.1 Espectroscopia Raman em Altas Pressões

Para a realização de experimentos em altas pressões, foi utilizada uma célula de pressão de bigorna de diamante, do tipo panorâmica, com *cullet* de $350 \mu\text{m}$ (mostrada na Figura 12). Foi usada uma gaxeta de aço inoxidável pré-indentada com furo de diâmetro de $140 \mu\text{m}$, onde foram colocados um pequeno cristal da amostra e um rubi. Como meio compressor, foi utilizado óleo mineral (Nujol), onde a pressão variou de 0,1 a 7,1 GPa. A pressão dentro da célula foi monitorada pelo deslocamento das linhas de luminescência R1 e R2 do rubi ($\text{Al}_2\text{O}_3:\text{Cr}^{3+}$) (Shen *et al.*, 2020). A pressão, em GPa, no interior da célula é calculada pela seguinte equação:

$$P_i(\omega) = \frac{\omega_{R_i} - \omega_{R_i}^0}{7,535}$$

onde $\omega_{R_i}^0$ é a posição do número de onda da linha R1 (ou R2) do rubi na pressão inicial P_i e ω_{R_i} é a posição do número de onda da linha R1 (ou R2) do rubi na pressão acima da inicial.

Figura 12: Célula de bigorna de diamante modelo Panoramix.



Fonte: Fabricante.

2.4.2 Espectroscopia Raman em Altas Temperaturas

Os experimentos em altas temperaturas foram realizados utilizando o espectrômetro LabRAM HR Evolution da HORIBA, excitado com um feixe de laser de 633 nm e o equipamento CCR1000 da Linkam com uma purga de gás nitrogênio e pressão ambiente. Os experimentos foram realizados na Universidade Federal do Pará - UFPA, no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões, com a colaboração do professor Dr. Waldeci Paraguassu Feio.

Figura 13: (a) Espectrômetro o LabRAM HR Evolution da HORIBA e (b) CCR1000 da Linkam.



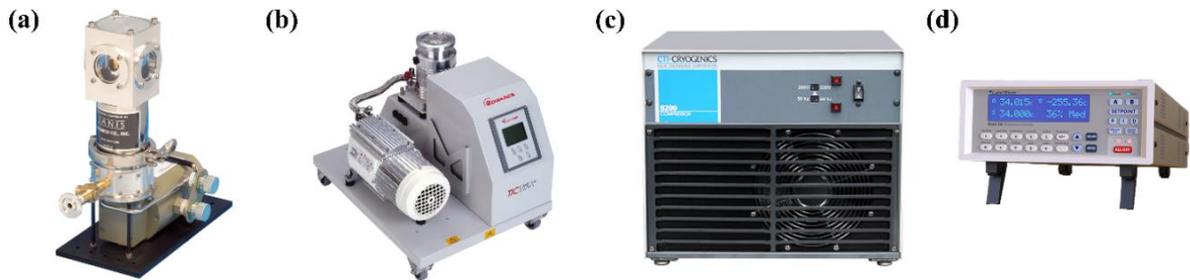
Fonte: Fabricante.

2.4.3 Espectroscopia Raman em Baixas Temperaturas

Os experimentos de espectroscopia Raman em baixas temperaturas foram feitas utilizando um criostato de ciclo fechado com compressão de He Janis modelo CCS-150, onde foi utilizada uma bomba de vácuo TIC Cart Pumping Stations, um compressor cryopump 8200 Helium, podendo atingir a temperatura de 10 K, e o controlador Lakeshore modelo 335, com

precisão em torno de 0,1 K para controlar a temperatura. Ambos os instrumentos estão mostrados na Figura 14.

Figura 14: (a) Criostato óptico de ciclo fechado Janis CCS-150, (b) Bomba de vácuo TIC Cart Pumping Stations, (c) Compressor Cryopump 8200 Helium e (d) Controlador de temperatura criogênica Lakeshore modelo 335.

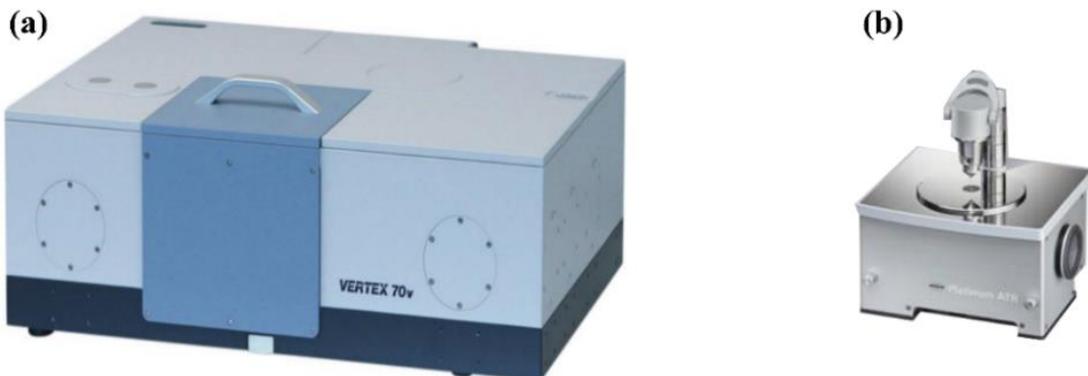


Fonte: Fabricante.

2.5 Espectroscopia no Infravermelho

Os experimentos de espectroscopia no infravermelho foram feitos utilizando-se um espectrômetro infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), modelo Vertex 70v da Bruker Optics, como ilustrado na Figura 15. Os espectros foram coletados usando o acessório de reflectância total atenuada (PLATINUM ATR), com 512 varreduras na região espectral de 130 a 4000 cm^{-1} e resolução espectral de 2 cm^{-1} . Foi utilizado o *software* OPUS 7.0 e os espectros foram convertidos de ATR para absorbância.

Figura 15: (a) Espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier VERTEX 70v e (b) Acessório de reflectância atenuada (PLATINUM ATR).



Fonte: Fabricante.

2.6 Experimentos Térmicas

Os experimentos de análise termogravimétrica (TGA) e de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram feitas utilizando o equipamento STA 449 F3 Jupiter da Netzsch com o objetivo de verificar a estabilidade térmica e indícios de transição de fase do material. Os experimentos foram feitos no intervalo de temperatura de 300 a 630 K com à taxa de aquecimento de 5 K/min em uma atmosfera de nitrogênio, utilizando uma massa de 4,3 mg do cristal do dipeptídeo macerado e um cadinho de alumínio. Na Figura 16, temos o STA 449 F3 Jupiter da Netzsch.

Figura 16: STA 449 F3 Jupiter da Netzsch.



Fonte: Fabricante.

2.7 Cálculos Computacionais

Os cálculos teóricos foram executados utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT) com o programa Gaussian 09 (Frisch *et al.*, 2009). Para a execução dos cálculos, foi utilizado o funcional B3LYP e o conjunto de base 6-311++G (d, p) (Becke, 1993; Hohenberg e Kohn, 1964; Lee, Yang e Parr, 1988), usando o modelo PCM (Modelo de Polarizabilidade Contínua) e a água como meio de solvatação. Para os cálculos, uma molécula do dipeptídeo na forma zwitteriônica foi obtida do cristal do dipeptídeo. Inicialmente, foi feita a análise conformacional, onde foi obtida a molécula do dipeptídeo com energia minimizada e, em seguida, foi feita a otimização da estrutura. Após a otimização da molécula, os modos normais de vibração foram calculados, mostrando que o mínimo global foi encontrado. A atribuição dos modos normais de vibração foi feita usando o programa VEDA (Jamróz, 2013), fornecendo a

distribuição da energia potencial (PED), onde foram consideradas contribuições maiores ou iguais a 10% para a atribuição dos modos normais de vibração. Para obtermos uma melhor correspondência entre o espectro teórico e experimental, foi utilizado um fator de escala para ambos os dipeptídeos (Andersson e Uvdal, 2005; Bauschlicher e Langhoff, 1997; Palafox, 2019). Todos os cálculos DFT foram executados com a utilização dos computadores do Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo (CENAPAD-SP), através do projeto Project373.

3 PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DA GLICIL-L-FENILALANINA

Neste capítulo, serão apresentadas as características estruturais e vibracionais do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina (Gly-L-Phe). Inicialmente, será feita a apresentação das características estruturais do dipeptídeo, análise essa realizada por meio de difração de raios-X. Em seguida, será apresentada uma análise dos modos vibracionais por meio da teoria de grupos, o espectro vibracional em condições ambiente e a atribuição dos modos vibracionais feitas por meio de cálculos de DFT. A seguir, serão apresentados resultados de espectroscopia Raman sob condições de altas pressões e condições diversas de temperatura.

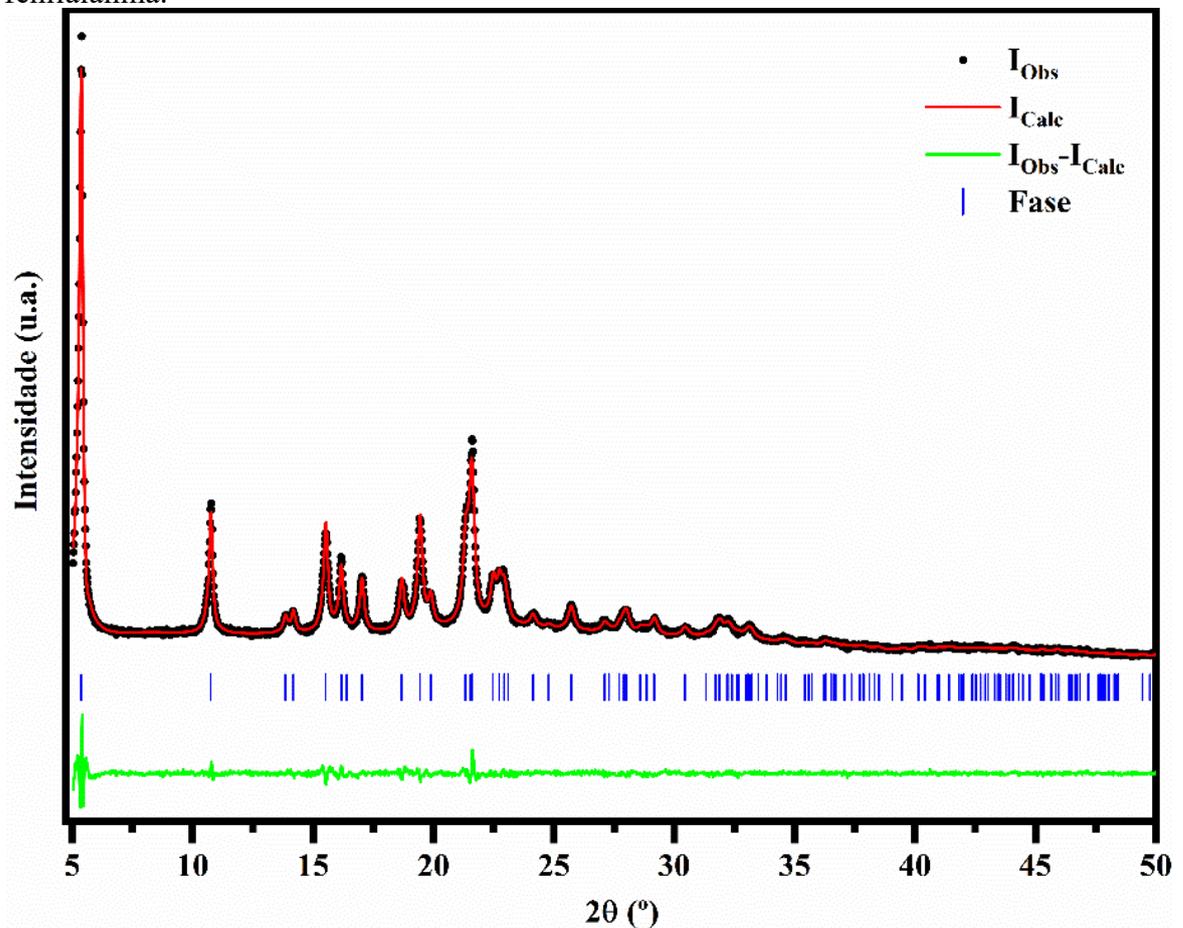
3.1 Análise Estrutural e Conformacional

Em condições ambiente de pressão e temperatura, a glicil-L-fenilalanina, $C_{11}H_{14}N_2O_3$, tem estrutura monoclinica, com duas moléculas por célula unitária ($Z = 2$) e grupo espacial $P2_1(C_2^2)$. Sua estrutura cristalina foi determinada em 2006 por Mukkamala, no estudo de dipeptídeo formado por fenilalanina e tirosina (Mukkamala, Zhang e Oldfield, 2007), cujos parâmetros da célula unitária são: $a = 6,433 (2) \text{ \AA}$, $b = 5,4926 (17) \text{ \AA}$, $c = 16,535 (5) \text{ \AA}$ e $\beta = 97,711 (5)^\circ$; é interessante notar que tal determinação foi realizada há apenas dezessete anos. Com a técnica de difração de raios-X, foi obtido o padrão de difração do cristal estudado. Usando o *software* GSAS-II e o método de refinamento Rietveld, os parâmetros refinados da célula unitária foram determinados: $a = 6,443 \text{ \AA}$, $b = 5,484 \text{ \AA}$, $c = 16,577 \text{ \AA}$ e $\beta = 97,660^\circ$ e os fatores de qualidade foram $R_{wp} = 3,82\%$ e $S = 1,23$, estando em acordo com os parâmetros reportados por Ref. (Mukkamala, Zhang e Oldfield, 2007). Os dados fornecidos pelo refinamento, portanto, confirmam a estrutura do dipeptídeo. Os padrões de difração de raios-X observado e experimental utilizados para o refinamento Rietveld (Rietveld, 1969) estão mostrados na Figura 17; os pontos pretos representam os dados experimentais, o contorno em cor vermelha representa o resultado fornecido pelo refinamento e a linha verde representa a diferença entre o dado experimental e o dado teórico. Verifica-se uma pequena diferença entre os dois dados, indicando um bom ajuste teórico. Na Tabela 4, temos os dados cristalográficos do cristal de Gly-L-Phe.

Tabela 4: Dados cristalográficos do dipeptídeo Gly-L-Phe.

Fórmula molecular	$C_{11}H_{14}N_2O_3$
Massa molar	222,24 g/mol
Estrutura cristalina	monoclínica
Grupo espacial	$P2_1(C_2^2)$
Parâmetros de rede	$a = 6,433 (2) \text{ \AA}$
	$b = 5,4926 (17) \text{ \AA}$
	$c = 16,535 (5) \text{ \AA}$
	$\beta = 97,711 (5)^\circ$
Volume da célula unitária	$579.0(3) \text{ \AA}^3$
Nº moléculas por célula unitária (Z)	2

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figure 17: Refinamento Rietveld do padrão de difração de raios-X do cristal da glicil-L-fenilalanina.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Nas Figuras 18a e 18b, temos a estrutura molecular e a célula unitária do dipeptídeo,

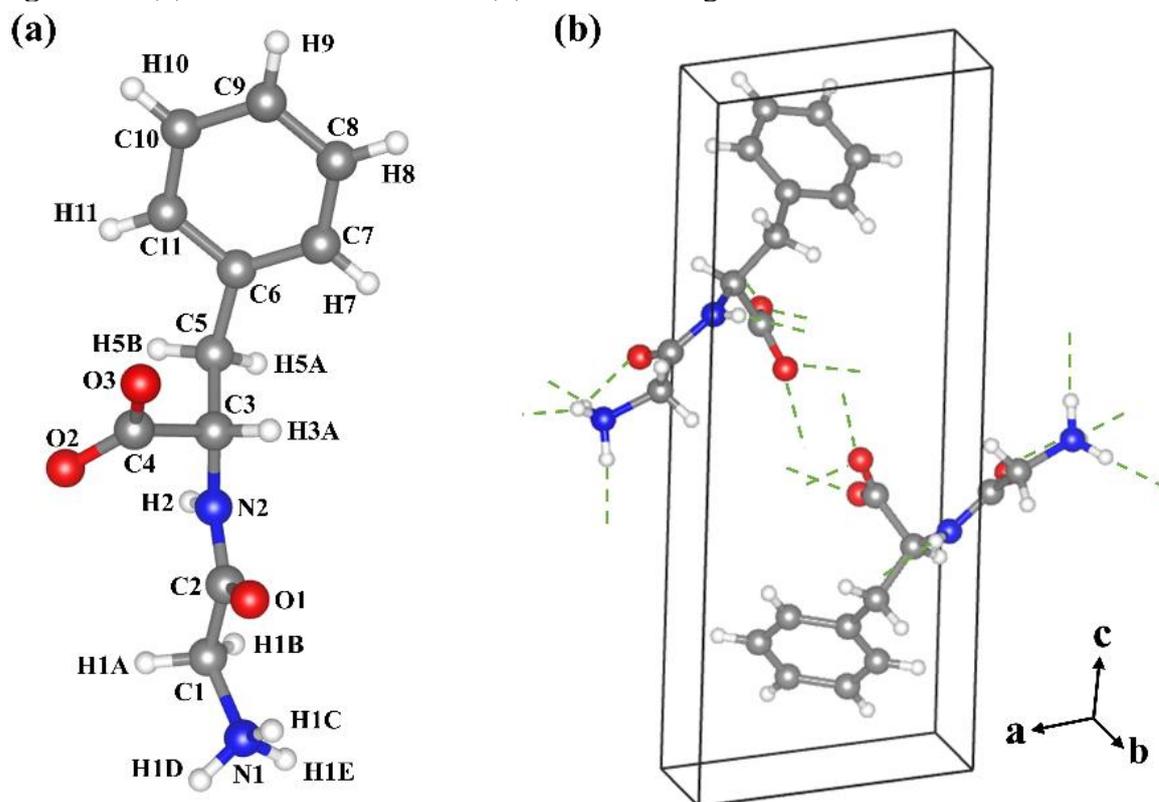
as estruturas foram visualizadas pelo programa VESTA (Momma e Izumi, 2011). A estrutura cristalina é estabilizada por ligações de hidrogênio do tipo $N-H \cdots O$ e $C-H \cdots O$. Ligações de hidrogênio desempenham papéis fundamentais na estabilidade de estruturas cristalinas de aminoácidos e dipeptídeos, como tem sido revelado por diversos estudos realizados em diversos polimorfos da glicina (Bordallo *et al.*, 2008), L-leucina (Harding e Howieson, 1976) e DL-serina (Jarmelo *et al.*, 2006), citando apenas alguns exemplos. No dipeptídeos desta investigação, são observadas interações entre o NH_3^+ de uma molécula com o CO_2^- de outra molécula do dipeptídeo. Também são observadas outras duas ligações de hidrogênio que ocorrem na ligação peptídica: a primeira ocorre devido ao nitrogênio e ao hidrogênio da ligação peptídica de uma molécula com o grupo carboxila de outra molécula. Já segunda, é feita pelo carbono C_1 com os hidrogênios $H1A$ e $H1B$ de uma molécula com o oxigênio da ligação peptídica de outra. Tais interações já foram observadas em dipeptídeos hidrofílicos, como a glicil-glicina, e em dipeptídeos hidrofóbicos, como a L, L-dileucine (Silva *et al.*, 2020) e L, L-difenilalanina (Silva Filho, da *et al.*, 2017). Como podemos observar, as cinco ligações de hidrogênio observadas estão diretamente relacionadas com o grupo carboxila (CO_2^-) da molécula, onde duas estão relacionadas com a ligação peptídica que garante a junção dos aminoácidos da glicina e fenilalanina. O comprimento e os ângulos das ligações de hidrogênio que estabilizam o cristal do dipeptídeo estão mostradas na tabela de acordo com Ref. (Mukkamala, Zhang e Oldfield, 2007). Na Tabela 5, são fornecidos diversos parâmetros associados com as ligações de hidrogênio da glicil-L-fenilalanina.

Tabela 5: Geometria das ligações de hidrogênio da glicil-L-fenilalanina.

$D - H \cdots A$	$D - H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D - H \cdots A$ (°)
$N1 - H1C \cdots O1$	0,930 (2)	2,170 (2)	2,667 (4)	112 (2)
$N1 - H1C \cdots O2$	0,930 (2)	2,010 (2)	2,849 (4)	149 (2)
$N1 - H1D \cdots O2$	0,932 (18)	1,775 (19)	2,697 (3)	170 (2)
$N1 - H1E \cdots O3$	0,930 (2)	1,820 (2)	2,746 (3)	172 (2)
$N2 - H2 \cdots O3$	0,930 (3)	1,960 (3)	2,842 (4)	158 (3)
$C1 - H1B \cdots O1$	0,990	2,440	3,180 (4)	131
$C1 - H1A \cdots O1$	0,950	2,450	3,368 (10)	162

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 18: (a) Estrutura molecular e (b) cristalina da glicil-L-fenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A estrutura da molécula do dipeptídeo foi isolada da sua célula unitária e foi feita uma análise conformacional, sendo obtida conformação de menor energia. Na Figura 18^a, apresenta-se a estrutura molecular da glicil-L-fenilalanina otimizada com os átomos enumerados. Na Tabela 6 apresenta-se a comparação entre o comprimento das ligações, os ângulos de ligação e os ângulos diedros entre os dados experimentais e os otimizados. Podemos destacar o comprimento experimentais das ligações do esqueleto da molécula C1-C2, C2-N2, C3-N2 e C3-C5 são 1,52, 1,33, 1,46 e 1,54 Å, enquanto essas ligações otimizadas são de 1,54, 1,33, 1,46 e 1,55 Å. Também podemos destacar os valores experimentais dos ângulos de ligação formados no esqueleto da molécula e na ligação peptídica C3-C5-C6, C2-N2-C3, N2-C2-O1 e C2-C1-N1 são 112,3°, 119,8°, 124,0° e 109,8°, enquanto os otimizados são 115,3°, 125,1°, 125,8° e 106,4°. Além disso, pode-se destacar os ângulos diedros N2-C3-C5-C6, N1-C1-C2-N2, O1-C2-N2-C3 e N1-C1-C2-O1 que assumem os valores -166,4°, 166,1°, -10,7° e -13,9°, enquanto os otimizados assumem -172,3°, 172,0°, -3,0° e -9,1°. Além disso, a posição do anel aromático da fenilalanina em relação ao esqueleto do dipeptídeo ligado pelo ângulo diedro C3-C5-C6-C7 possui um valor experimental de 76,5° e otimizado de 71,6°. Portanto, podemos observar uma boa concordância dos cálculos DFT com os dados experimentais, o que

mostram que os cálculos apresentaram boa convergência. É válido mencionar que os cálculos foram realizados para uma molécula simples, não sendo consideradas as interações entre as moléculas que existem no cristal, o que justifica as diferenças observadas entre os dados experimentais e otimizados na Tabela 6.

Tabela 6: Parâmetros geométricos da estrutura molecular experimental e otimizados da molécula glicil-L-fenilalanina sem os átomos de hidrogênio.

Comprimento das ligações (Å)			Ângulos de ligação (°)			Ângulos Diedrais (°)		
Átomos	Exp.	Calc.	Átomos	Exp.	Calc.	Átomos	Exp.	Calc.
C1-C2	1,52	1,54	C2-C1-N1	109,8	106,4	N1-C1-C2-N2	166,1	172,0
C1-N1	1,48	1,50	C1-C2-N2	116,0	115,7	N1-C1-C2-O1	-13,9	-9,1
C2-N2	1,33	1,33	C1-C2-O1	120,0	118,5	C1-C2-N2-C3	169,2	175,8
C2-O1	1,23	1,24	N2-C2-O1	124,0	125,8	O1-C2-N2-C3	-10,7	-3,0
C3-C4	1,53	1,56	C4-C3-C5	111,3	112,3	C5-C3-C4-O2	92,6	92,5
C3-C5	1,54	1,55	C4-C3-N2	110,9	107,3	C5-C3-C4-O3	-84,2	-86,8
C3-N2	1,46	1,46	C5-C3-N2	108,9	109,6	N2-C3-C4-O2	-28,8	-28,0
C4-O2	1,25	1,26	C3-C4-O2	118,5	115,7	N2-C3-C4-O3	154,4	152,7
C4-O3	1,27	1,25	C3-C4-O3	117,0	116,5	C4-C3-C5-C6	71,0	68,5
C5-C6	1,53	1,51	O2-C4-O3	124,5	127,8	N2-C3-C5-C6	-166,4	-172,3
C6-C7	1,39	1,40	C3-C5-C6	112,3	115,3	C4-C3-N2-C2	-66,3	-154,1
C6-C11	1,39	1,40	C5-C6-C7	124,3	120,6	C5-C3-N2-C2	170,9	83,8
C7-C8	1,39	1,39	C5-C6-C11	115,6	121,0	C3-C5-C6-C7	76,5	71,6
C8-C9	1,39	1,40	C7-C6-C11	120,0	118,3	C3-C5-C6-C11	-106,2	-109,6
C9-C10	1,39	1,39	C6-C7-C8	120,0	120,9	C5-C6-C7-C8	177,2	179,5
C10-C11	1,39	1,40	C7-C8-C9	120,0	120,2	C11-C6-C7-C8	0,1	0,6
			C8-C9-C10	120,0	119,5	C5-C6-C11-C10	-177,4	-179,3
			C9-C10-C11	120,0	120,1	C7-C6-C11-C10	0,0	-0,5
			C6-C11-C10	120,0	121,0	C6-C7-C8-C9	0,0	-0,3
			C2-N2-C3	119,8	125,1	C7-C8-C9-C10	0,0	-0,1
						C8-C9-C10-C11	0,0	0,3
						C9-C10-C11-C6	0,0	0,0

Fonte: Elaborado pelo autor.

Um ângulo importante devido à sua influência nas conformações nas quais os dipeptídeos podem se encontrar e que é observado na estrutura dos dipeptídeos é o ângulo de torção. Este ângulo é definido a partir dos carbonos alfa e beta, C_α e C_β , como $\theta = \beta C_{1\alpha} C_{1\dots\alpha} C_{2\beta} C_2$. É observado que o ângulo de torção varia em dipeptídeos hidrofóbicos e hidrofílicos. Em dipeptídeos hidrofóbicos, é observado que este ângulo é $|\theta| < 41^\circ$, como observado na L, L-dileucine (Silva *et al.*, 2020). Porém, para dipeptídeos hidrofílicos, são observados ângulos de torção onde $|\theta| > 90^\circ$. Para a gly-L-phe, o ângulo de torção calculado foi $\theta = C1-C2\dots C3-C5$, onde para a molécula otimizada foi de $110,8^\circ$ e energia de 2,00 kJ/mol, estando de acordo com os dados experimentais.

3.2 Análise Vibracional e Modos Normais de Vibração

Nessa seção, faz-se uma análise por teoria de grupos dos modos vibracionais previstos para a glicil-L-fenilalanina e discute-se os modos normais de vibração do material. A glicil-L-fenilalanina possui 30 átomos por molécula, com duas moléculas por célula unitária, totalizando 60 átomos na célula unitária. Sendo assim, são previstos 180 modos normais de vibração. O cristal de Gly-L-Phe pertence ao grupo espacial $C_2^2(P2_1)$, com estrutura monoclinica. Para determinar o número de modos vibracionais do dipeptídeo foi usado o método dos sítios de simetria, tal qual apresentado por Rousseau *et al.* (Rousseau *et al.*, 1981). Pela tabela 3A (Rousseau *et al.*, 1981), temos que os sítios de simetria ocupados são:

$$C_2^2(P2_1) = \infty[aC_1(2)]. \quad (1)$$

Portanto, todos os possíveis sítios possuem simetria local C_1 e são ocupados por dois átomos. Na tabela 3B (Rousseau *et al.*, 1981) temos que os sítios de simetria C_1 contribuem com as seguintes representações irredutíveis do grupo pontual C_2 :

$$\Gamma_{\text{sítio}} = 3A \oplus 3B \quad (2)$$

Logo, a representação total Γ dos modos normais de vibração em termos das representações irredutíveis do grupo pontual C_2 será dada por:

$$\Gamma_{\text{Cristal}} = 30(3A \oplus 3B), \quad (3)$$

$$\Gamma_{\text{Cristal}} = 90A \oplus 90B. \quad (4)$$

Portanto, temos o total de 180 modos normais de vibração, que estão distribuídos em modos acústicos e modos ópticos da seguinte forma:

$$\Gamma_{\text{Acusticos}} = A \oplus 2B, \quad (5)$$

$$\Gamma_{\text{Opticos}} = 89A \oplus 88B. \quad (6)$$

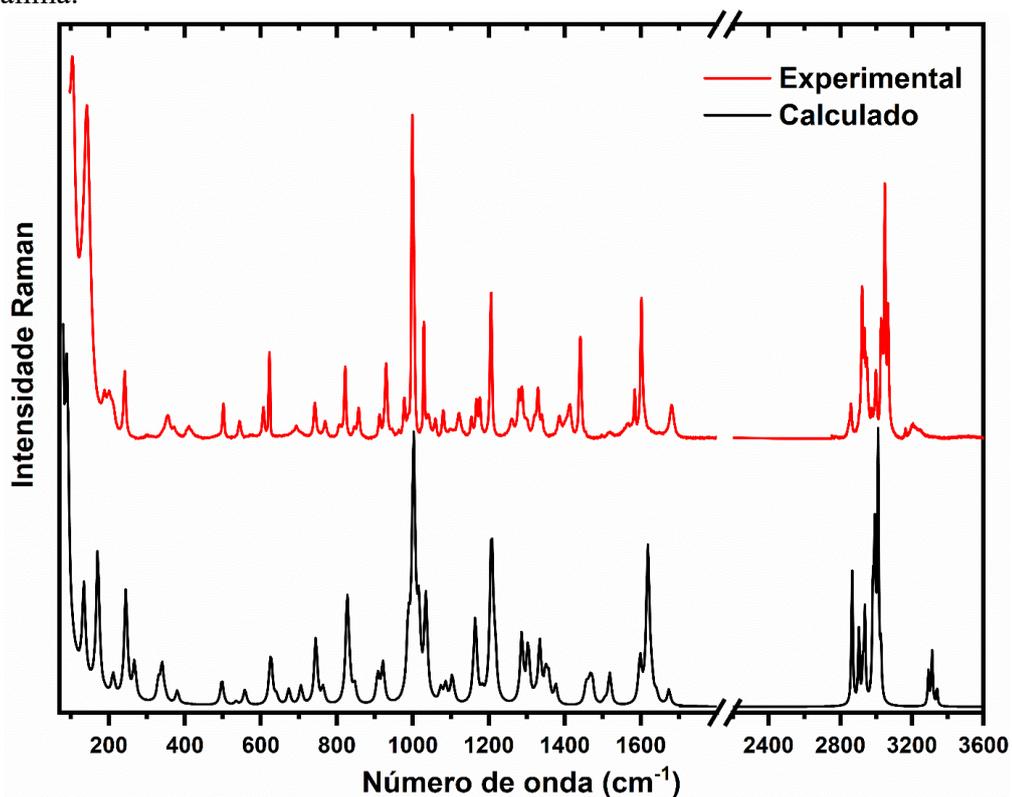
Pela tabela de caracteres do grupo C_2 , temos que todos os modos vibracionais são ativos no Raman e no IR. Dos 177 modos ópticos, 168 são modos internos, $Z(3N-6)$, e os outros 9 modos são vibrações da rede. Dos 9 modos de rede, 6 são libracionais ($3Z$), e 3 são translacionais ($3Z-3$).

A atribuição dos modos normais de vibração (Raman e IR) observados experimentalmente foi feita com o auxílio de cálculos DFT para uma molécula simples do dipeptídeo, onde o espectro Raman foi convertido de atividade Raman para intensidade Raman seguindo a metodologia adotada por (Lima *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2018) e utilizando o

programa VEDA (Jamróz, 2013), sendo obtido o percentual das contribuições de cada vibração da molécula. Foram consideradas apenas contribuições da PED maiores ou iguais a 10%.

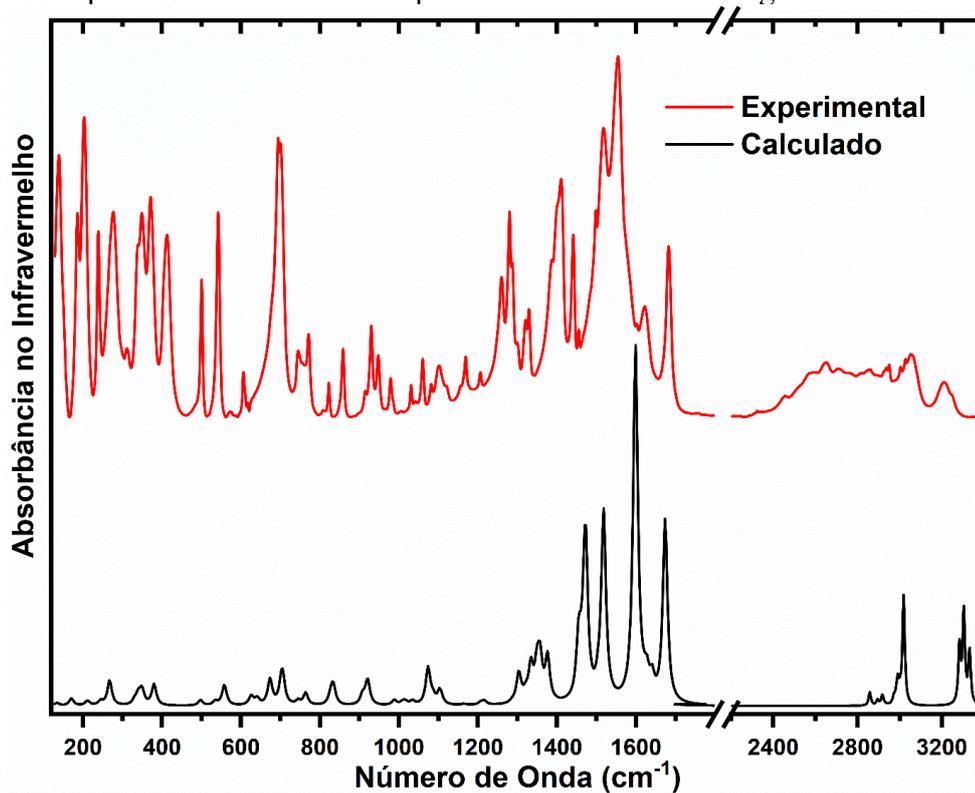
Na Figura 19, faz-se uma comparação entre os espectros Raman experimental e teórico, e na Figura 20 comparam-se os espectros IR experimental e calculado. As atribuições dos modos normais de vibrações estão mostradas na Tabela 7. Uma discussão mais detalhada dos modos normais de vibração é fornecida mais adiante, e servirá de base para as discussões acerca da evolução das bandas Raman em diferentes condições termodinâmicas. Na primeira coluna da Tabela 7, apresentam-se os modos vibracionais calculados (ω_{cal}), enquanto que, na segunda coluna, apresentam-se os modos escalonados (ω_{esc}). Na terceira e quarta coluna, temos os modos vibracionais experimentais ativos no Raman e no IR, respectivamente. Na quinta coluna, apresentam-se as atribuições dos modos normais de vibração com o seu percentual do arquivo PED. Como se pode notar, a maior parte das bandas é o resultado da contribuição de diversos modos de vibração, aliás, como é observado em moléculas orgânicas de uma maneira geral. As atribuições dos modos vibracionais observados experimentalmente nos espectros Raman e IR foram associadas aos modos escalonados. Com a limitação de que os cálculos foram feitos para uma molécula isolada, e não para moléculas na célula unitária, acreditamos que os resultados estejam bastante razoáveis, encontrando-se vibrações típicas em regiões espectrais observadas em outros cristais orgânicos semelhantes.

Figura 19: Comparativo entre os espectros Raman experimental e calculado da glicil-L-fenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 20: Espectros infravermelho experimental e calculado da glicil-L-fenilalanina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A seguir, discute-se os modos vibracionais da glicil-L-fenilalanina em toda a região espectral onde eles foram observados. As atribuições foram feitas para números de onda acima de 200 cm^{-1} , pois os cálculos DFT foram realizados para uma molécula zwitteriônica da glicil-L-fenilalanina. Assim, não foram consideradas interações entre as moléculas devido às ligações de hidrogênio que existem dentro do cristal e são observadas na região dos modos da rede. De qualquer forma, diversos trabalhos existentes na literatura apontam que os modos da rede de cristais de aminoácidos e semelhantes devem se encontrar exatamente nessa região de baixa energia. Como exemplo, pode-se citar a referida classificação na L-alanil-L-fenilalanina (Silva *et al.*, 2018), no haloperidol (Lima *et al.*, 2020), na L-alanil-L-alanina (Silva *et al.*, 2015) e em aminoácidos diversos (Freire *et al.*, 2017).

Entre 200 e 600 cm^{-1} aparecem bandas no espectro Raman associadas a vibrações relacionadas com o esqueleto da molécula, onde observamos deformações e torções do dipeptídeo. Dos modos registrados, podemos destacar aquele em 298 cm^{-1} , que se encontra relacionado com a torção do grupo amina NH_3^+ , sendo observado em alguns dipeptídeos como L, L-difenilalanina em 237 cm^{-1} (Silva Filho, da *et al.*, 2017), em 282 cm^{-1} na L, L-dileucina (Silva *et al.*, 2020) e na L-alanil-L-fenilalanina, em 353 cm^{-1} (Silva *et al.*, 2018).

Também podemos destacar a deformação do anel aromático da fenilalanina em 355 cm^{-1} , $\delta(CCCC)$, onde tal deformação também foi observada na L-alanil-L-fenilalanina em 407 cm^{-1} (Silva *et al.*, 2018). Em 544 cm^{-1} é observado um modo associado à deformação na região da ligação peptídica, tendo uma maior contribuição de $\delta_{OUT}O1C1N2C2$, sendo tal vibração também observada em 524 cm^{-1} na L, L-dileucina (Silva *et al.*, 2020) e em 547 cm^{-1} na L-alanil-L-fenilalanina (Silva *et al.*, 2018).

Na região espectral entre 600 e 1200 cm^{-1} foram observadas bandas que podem ser associadas a deformações, torções e estiramentos da molécula do dipeptídeo. Podemos destacar os modos em 623 cm^{-1} e 693 cm^{-1} , que são associados a deformações do tipo NC e relacionadas com a ligação covalente que há entre os aminoácidos da glicina e fenilalanina. Também existe, em 742 e em 846 cm^{-1} , uma deformação do grupo carboxila CO_2^- , sendo observado em outros dipeptídeos em 663 cm^{-1} como relatado na Ref. (Silva *et al.*, 2020). Em 978 cm^{-1} temos uma vibração do tipo *wagging* do CH pertencente ao anel aromático sendo também observados em 744 e 988 cm^{-1} na L, L-difenilalanina (Silva Filho, da *et al.*, 2017). É interessante notar os modos em 998 e 1029 cm^{-1} onde se encontra localizada uma vibração classificada como respiração do anel aromático. Observamos que nesta região temos muitas deformações e torções fora do plano, como em 742 , 857 , 912 e 930 cm^{-1} do tipo HCCC que são localizadas no anel aromático. A banda observada em 769 cm^{-1} foi associada a uma deformação fora do plano do

grupo carboxila OCOC, e em 989 cm^{-1} a uma deformação do tipo CNCC. Portanto, tratam-se de vibrações fora do plano associadas ao esqueleto do dipeptídeo. Nesta região, também observamos estiramentos do tipo CC entre $998\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$, tal como verificado em diversos cristais de aminoácidos proteicos (Freire *et al.*, 2017) e deformações do tipo HCC do anel aromático entre $1154\text{-}1176\text{ cm}^{-1}$.

Na região espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1} , aparecem vibrações associadas a deformações, torções e estiramentos do esqueleto da molécula do dipeptídeo. Em 1260 cm^{-1} e em 1279 cm^{-1} , por exemplo, temos uma deformação HNC e em 1329 cm^{-1} e 1340 cm^{-1} temos deformações do anel aromático do tipo HCC. Podemos destacar estiramentos do tipo CC que ocorrem no anel aromático; em 1320 cm^{-1} ocorre um estiramento antissimétrico responsável pela respiração do anel aromático nesta região; em 1584 cm^{-1} temos um estiramento simétrico e em 1602 cm^{-1} temos um estiramento antissimétrico. Também há estiramentos do tipo NC em 1518 cm^{-1} e do tipo OC em 1403 cm^{-1} e em 1681 cm^{-1} que é um estiramento do grupo carboxila CO_2^- . Também há torções em 1287 , 1299 , 1441 e em 1611 do tipo HCCN, que ocorrem no esqueleto da molécula.

Entre 2800 e 3300 cm^{-1} foram observados modos associados a estiramentos do tipo CH , CH_2 , CH_3 , NH e NH_3^+ , região onde temos o maior percentual da contribuição dos modos segundo o arquivo PED. Em 2999 cm^{-1} , 3027 cm^{-1} , 3036 cm^{-1} e 3049 cm^{-1} temos estiramentos do CH que são feitos pelo anel aromático. Em 2859 cm^{-1} e em 2989 cm^{-1} temos um estiramento simétrico do CH_2 e em 2921 cm^{-1} temos um estiramento antissimétrico do CH_2 . Também podemos destacar o modo em 3197 cm^{-1} que está relacionado ao estiramento simétrico do NH . Em 3067 cm^{-1} e em 3164 cm^{-1} temos um estiramento simétrico do NH_3^+ e em 3245 cm^{-1} , um estiramento antissimétrico do NH_3^+ . Nesta região, as frequências identificadas são com quase 100% de certeza, de acordo com o arquivo PED, mostrando assim uma boa precisão. Essa região tem uma grande importância na análise dos modos vibracionais de materiais que são unidos por ligação de hidrogênio, porque tais ligações químicas influenciam, em muitas ocasiões, o comportamento das bandas sob condições termodinâmicas extremas. Isso porque, ao se variar a temperatura ou a pressão, ou ambos, ocorre uma acomodação das moléculas na célula unitária, induzindo mudanças nas ligações de hidrogênio. Essas mudanças produzirão influência nas bandas associadas a vibrações que envolvem unidades participantes das ligações de hidrogênio. Assim, por exemplo, se uma determinada ligação de hidrogênio formada pelo átomo de hidrogênio do NH fica mais forte, eventualmente a vibração de estiramento NH ficará mais fraca e a frequência de vibração se desviará para energia mais baixa.

Tabela 7: Tabela de atribuição dos modos normais de vibração do cristal do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina.

ω_{Calc} (cm^{-1})	ω_{Esc} (cm^{-1})	ω_{Raman} (cm^{-1})	ω_{IR} (cm^{-1})	Atribuição (PED%)
3536	3331	3245	3248	νN1H1D (59) + νN1H1E (-41)
—	—	3220	—	—
—	—	3206	3210	—
3507	3303	3197	—	νN2H2 (99)
3485	3283	3164	—	νN1H1D (40) + νN1H1E (58)
3204	3018	3067	3084	νN1H1C (97)
3187	3002	3049	3056	νC8H8 (22) + νC9H9 (46) + νC10H10 (24)
3168	2984	3036	—	νC7H7 (-16) + νC8H8 (-13) + νC9H9 (42) + νC11H11 (-22)
3157	2974	3027	3027	νC7H7 (-12) + νC10H10 (-26) + νC11H11 (58)
3154	2971	—	—	νC7H7 (61) + νC8H8 (-24)
3109	2929	2999	3003	νC1H1A (62) + νC1H1B (38)
—	—	2989	—	—
3097	2917	2975	—	νC3H3A (89)
3074	2895	2948	2951	—
—	—	2935	2934	—
3034	2858	2921	2925	νC3H3A (10) + νC5H5A (-36) + νC5H5B (54)
—	—	2905	—	—
—	—	2859	2853	νC5H5A (61) + νC5H5B (38)
—	—	2848	—	—
—	—	—	2811	—
—	—	—	2748	—
—	—	—	2708	—
—	—	—	2650	—
—	—	—	2569	—
—	—	—	2510	—
—	—	—	2453	—
1695	1674	1681	1683	νO1C2 (58) + νN2C2 (-21)
1648	1627	1611	1623	$\delta\text{H1DN1H1C}$ (-23) + $\delta\text{H1EN1H1D}$ (49) + $\tau\text{H1DN1C1C2}$ (-11)
1639	1618	1602	1602	νC7C8 (29)
1619	1598	1584	1578	νC10C9 (-23) + νC6C11 (17)
1617	1597	1566	1554	νO3C4 (-42) + νO2C4 (26)
1537	1518	1518	1518	νN2C2 (-27) + δH2N2C2 (36)
1524	1504	—	1498	δH7C7C8 (-16) + δH8C8C9 (-17) + $\delta\text{H10C10C11}$ (18) + $\delta\text{H11C11C10}$ (-14)
—	—	—	1483	—
—	—	—	1455	—
1491	1472	1441	1442	$\delta\text{H1DN1H1C}$ (30) + $\delta\text{H1CN1H1E}$ (17) + $\tau\text{H1BC1C2N2}$ (17)
1478	1459	1413	1411	$\delta\text{H5AC5H5B}$ (21) + $\delta\text{H9C9C10}$ (-19)
1393	1376	1403	1400	νO3C4 (-10) + νO2C4 (-25) + $\delta\text{H3AC3N2}$ (11) + $\tau\text{H5AC5C6C7}$ (10)
1374	1357	1386	1387	$\delta\text{H1BC1H1A}$ (-33)
1367	1349	1340	—	$\delta\text{H5BC5C6}$ (-14) + δH7C7C6 (-11) + $\delta\text{H11C11C10}$ (14) + $\tau\text{H3AC3C4O2}$ (11)
1351	1334	1329	1329	δH7C7C8 (13) + $\delta\text{H11C11C10}$ (-11) + $\tau\text{H3AC3C4O2}$ (24)
1337	1321	1320	1320	νC7C8 (-14) + νC6C11 (-15) + νC9C8 (13) + νC11C10 (14)
1322	1306	1299	1300	$\delta\text{H1AC1N1}$ (40) + $\tau\text{H1AC1C2N2}$ (14) +

1319	1303	1287	1287	$\tau\text{H1BC1C2N2}$ (18)
1303	1286	1279	1279	$\tau\text{H3AC3C4O2}$ (-13) + $\tau\text{H5AC5C6C7}$ (-30)
1232	1216	1260	1260	$\delta\text{H3AC3N2}$ (23)
1222	1207	1206	1206	δH2N2C2 (32) + $\delta\text{H3AC3N2}$ (18)
1198	1183	1176	—	νC5C6 (29)
1179	1164	1167	1168	δH7C7C8 (19) + δH8C8C9 (-18) + $\delta\text{H10C10C11}$ (19) + $\delta\text{H11C11C10}$ (16)
1174	1159	1154	1156	$\delta\text{H5BC5C6}$ (27) + $\tau\text{H5AC5C6C7}$ (-14)
1117	1103	1121	1121	δH8C8C9 (16) + $\delta\text{H9C9C10}$ (-31) + $\delta\text{H10C10C11}$ (19)
1100	1086	1100	1101	νN2C3 (-11) + $\tau\text{H1DN1C1C2}$ (-12) + $\tau\text{H1EN1C1C2}$ (29)
1087	1074	1080	1081	νC7C8 (-14) + νC11C10 (17) + δH7C7C8 (-11) + $\delta\text{H9C9C10}$ (12) + $\delta\text{H11C11C10}$ (11)
—	—	1059	1060	νN2C3 (45)
—	—	1041	1041	—
1047	1034	1029	1031	νC10C9 (19) + νC9C8 (24) + δC7C8C9 (-14) + δH8C8C9 (10)
1021	1008	1002	—	νN1C1 (49)
1015	1002	998	—	νC10C9 (11) + νC9C8 (13) + δC7C8C9 (28) + $\delta\text{C10C9C8}$ (-17) + $\delta\text{C11C10C9}$ (13)
1000	988	989	986	νN1C1 (12) + $\delta_{\text{OUT}}\text{C4C5N2C3}$ (11)
990	977	978	979	$\tau\text{H7C7C8C9}$ (-20) + $\tau\text{H8C8C9C10}$ (26) + $\tau\text{H10C10C11C6}$ (-20) + $\tau\text{H11C11C10C9}$ (-17) + $\tau\text{C6C11C10C9}$ (11)
—	—	946	948	—
933	921	930	929	νC1C2 (12) + $\tau\text{H7C7C8C9}$ (14) + $\tau\text{H9C9C10C11}$ (-16) + $\tau\text{H11C11C10C9}$ (-15)
919	908	912	914	νC1C2 (-14) + $\tau\text{H7C7C8C9}$ (12) + $\tau\text{H9C9C10C11}$ (-15) + $\tau\text{H11C11C10C9}$ (-12)
858	847	857	858	$\tau\text{H7C7C8C9}$ (27) + $\tau\text{H8C8C9C10}$ (24) + $\tau\text{H10C10C11C6}$ (-23) + $\tau\text{H11C11C10C9}$ (26)
844	834	846	—	νC4C3 (21) + δO3C4O2 (28)
838	827	822	823	νC5C6 (17) + $\delta\text{C10C9C8}$ (24)
—	—	807	808	—
773	764	769	771	$\tau\text{H3AC3C4O2}$ (-10) + $\tau\text{H5BC5C6C7}$ (10) + $\delta_{\text{OUT}}\text{O3C3O2C4}$ (42)
—	—	—	755	—
754	745	742	744	$\tau\text{H8C8C9C10}$ (12) + $\tau\text{H10C10C11C6}$ (14) + $\tau\text{C6C11C10C9}$ (13) + $\delta_{\text{OUT}}\text{O3C3O2C4}$ (-14)
—	—	—	700	—
715	706	693	694	νC1C2 (20) + δO1C2N2 (-13)
711	702	—	676	$\tau\text{H7C7C8C9}$ (-10) + $\tau\text{H9C9C10C11}$ (-14) + $\tau\text{H11C11C10C9}$ (10) + $\tau\text{C7C8C9C10}$ (15) + $\tau\text{C6C11C10C9}$ (29) + $\tau\text{C11C10C9C8}$ (-14)
649	641	623	626	νC4C3 (-12) + δO1C2N2 (19) + δO3C4O2 (11) + δO2C4C3 (-18)
—	—	—	616	—
635	627	607	606	δC7C8C9 (10) + δC9C8C7 (-14) + $\delta\text{C11C10C9}$ (-12)
632	624	—	572	—
565	558	544	542	$\tau\text{H2N2C2C1}$ (-16) + $\tau\text{N1C1C2N2}$ (16) + $\delta_{\text{OUT}}\text{O1C1N2C2}$ (-35)
504	497	501	500	$\delta_{\text{OUT}}\text{C5C7C11C6}$ (-23)
344	340	411	413	νC4C3 (-10) + δN2C3C5 (15)
335	330	—	404	$\delta\text{C5C6C11}$ (-18) + $\delta_{\text{OUT}}\text{C4C5N2C3}$ (16)

271	267	372	371	$\delta O_2C_4C_3 (-16) + \delta C_1C_2N_2 (13) + \delta N_1C_1C_2 (-19)$ $+ \delta C_4C_3N_2 (-15) + \delta_{OUT}C_4C_5N_2C_3 (12)$
248	245	355	349	$\delta C_1C_2N_2 (10) + \delta C_3C_5C_6 (10) + \tau C_{11}C_{10}C_9C_8$ (11)
—	—	—	339	—
—	—	—	311	—
214	211	298	—	$\tau H_1D N_1C_1C_2 (24) + \tau H_1E N_1C_1C_2 (10) +$ $\tau H_1C N_1C_1C_2 (28) + \tau N_1C_1C_2N_2 (12)$
—	—	—	277	—
173	171	242	239	$\delta N_2C_3C_5 (10) + \delta C_4C_3N_2 (23) + \delta_{OUT}O_3C_3O_2C_4$ (12) + $\delta_{OUT}C_4C_5N_2C_3 (19)$
—	—	210	—	—
136	134	200	203	Modos de rede
—	—	189	186	Modos de rede
—	—	—	150	Modos de rede
91	90	142	139	Modos de rede
66	65	102	—	Modos de rede

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3 Espectroscopia Raman Sobre Altas Pressões

Algumas importantes propriedades dos materiais podem ser modificadas quando se aplica pressão hidrostática. Na verdade, a pressão hidrostática é apenas uma das possíveis propriedades associadas aos materiais e que possuem relação com o tensor tensão. As componentes do tensor podem ser representadas pelas componentes de uma matriz, que, de uma forma geral, é a representação matemática desse tensor de segunda ordem:

$$\begin{bmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{bmatrix} \quad (7)$$

Quando $\alpha_{xx} = \alpha_{yy} = \alpha_{zz}$ e todas as outras componentes são nulas, tem-se a pressão hidrostática. Um dos métodos utilizados para se aplicar pressão hidrostática é submeter um pequeno pedaço de cristal a uma célula de pressão a extremos de diamantes, do tipo apresentado na parte experimental dessa tese. Nesta seção, apresentamos os resultados obtidos por espectroscopia Raman em um cristal de glicil-L-fenilalanina submetido a altas pressões.

No experimento em altas pressões, os espectros foram obtidos para valores entre 0 GPa a 7 GPa na região espectral entre 100 e 3400 cm^{-1} e devido à alta intensidade pico do diamante, a região de 1250-1410 cm^{-1} foi excluída.

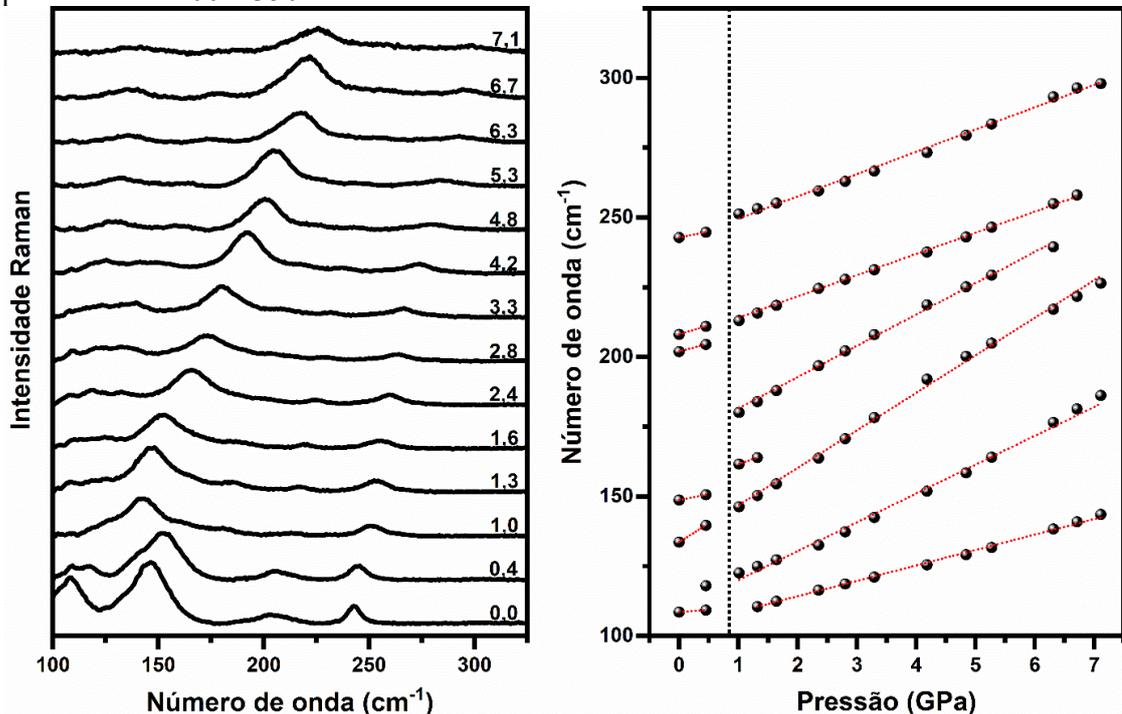
Na Figura 21, temos a evolução dos espectros Raman entre 100 e 325 cm^{-1} . São

observadas modificações nos modos vibracionais registrados em 134, 142 e em 180 cm^{-1} em torno de 1,0 GPa. Como comentado anteriormente, a região entre 0 e 200 cm^{-1} corresponde à região dos modos de rede, onde temos os modos relacionados com as interações que ocorrem entre as moléculas no cristal pelas ligações de hidrogênio. Na pressão de 0,0 GPa (ou seja, pressão atmosférica, cerca de 10^5 Pa) identificamos os modos observado em pressão e temperatura ambiente do dipeptídeo. Em 0,0 GPa temos um modo em 102 cm^{-1} de baixa intensidade que, com o aumento da pressão, perde ainda mais a intensidade, não sendo observados no espectro registrado em 1,0 GPa. Na pressão de 1,0 GPa é possível observar-se modificações nas intensidades dos modos em 142, 118 e 180 cm^{-1} . A mudança na intensidade observada no modo de 142 cm^{-1} está relacionada com o efeito da pressão sobre as interações entre as moléculas que ocorrem na região dos modos de rede, sendo o indicativo de uma mudança conformacional. Vemos um deslocamento no número de onda à medida que aumenta a pressão, acompanhado de uma diminuição da intensidade. O modo em 171 cm^{-1} aparece em 1,0 GPa com uma intensidade baixa e desaparece em 6,3 GPa, havendo apenas um deslocamento para maiores número de ondas e a redução de intensidade com o aumento da pressão. Temos uma banda em torno de 200 cm^{-1} que, em pressão ambiente, apresenta-se com baixa intensidade, sendo relacionada a vibrações do esqueleto da molécula; durante a compressão, essa banda perde intensidade, sendo quase imperceptível em 7,1 GPa. Em 242 cm^{-1} existe um modo de baixa intensidade que está relacionado com deformações do esqueleto dos dipeptídeos, apresentando um comportamento linear do número de onda com a pressão, também sendo possível notar uma diminuição de sua intensidade.

Nesta região, observamos adicionalmente uma descontinuidade nos números de onda dos modos em 134 e 139 cm^{-1} e o surgimento de novos modos em 118 e 180 cm^{-1} , indicando a ocorrência de uma possível transição de fase do cristal do cristal de glicil-L-fenilalanina próximo de 1,0 GPa. Tais mudanças também foram observadas em alguns aminoácidos (Cavalcante Freire *et al.*, 2012) e em alguns dipeptídeos, como a L,L-dialanina (Silva *et al.*, 2015) e a L,L-difenilalanina (Silva Filho, 2017). Na Figura 15, apresenta-se o gráfico das número de onda dos modos de rede em função da pressão com ajuste linear $\omega(P) = \omega_0 + \alpha \cdot P$. Neste gráfico, observamos a descontinuidade e o surgimento de bandas em torno de 1,0 GPa, sendo observada a tendência dos modos em se deslocarem para maiores número de onda após esse valor de pressão, e não sendo observadas mudanças adicionais até a pressão máxima conseguida no experimento, 7,1 GPa. Na Tabela 8, temos os coeficientes do ajuste linear dos espectros Raman em altas pressões. Em destaque, nota-se o coeficiente linear do modo observado originalmente em 134 cm^{-1} , que apresenta um valor de 13,4 $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$,

mostrando, de certa forma, o forte envolvimento da vibração com ligações de hidrogênio, que são mais sensíveis à compressão.

Figura 21: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 100 e 350 cm^{-1} .

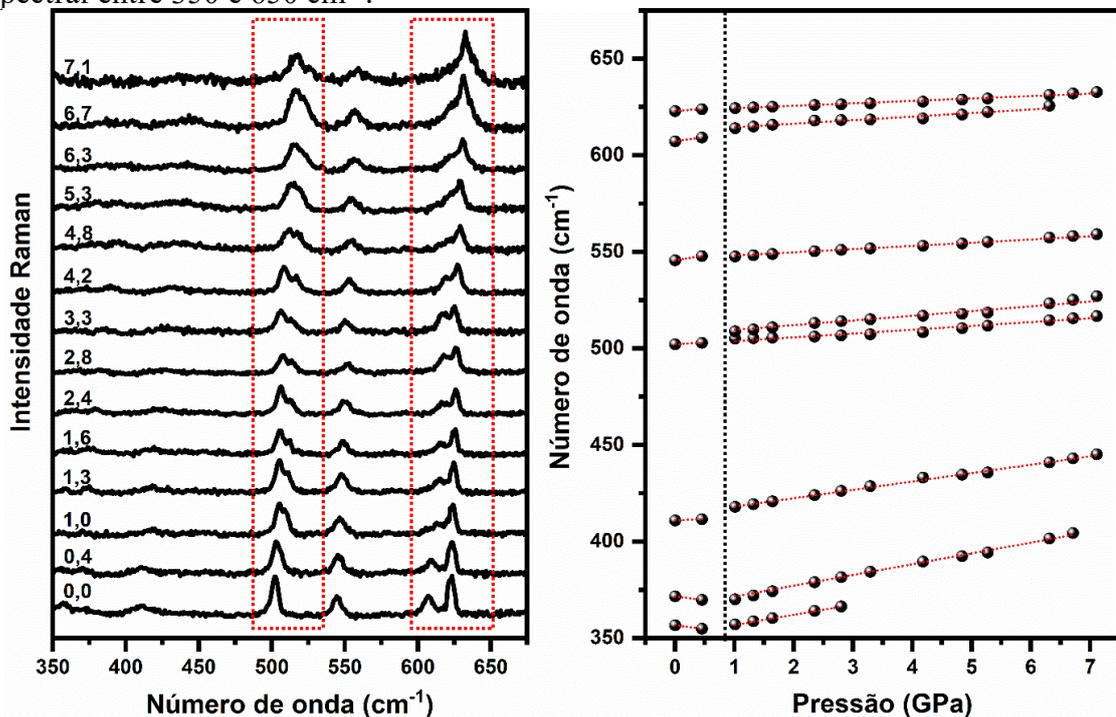


Fonte: Elaborado pelo autor.

A região espectral entre 350 e 650 cm^{-1} com os modos da glicil-L-fenilalanina é apresentada na Figura 22. Nela, inicialmente pode-se notar os modos em 357, 372 e 411 cm^{-1} , que possuem baixas intensidades e estão associados às deformações da molécula. Observamos que o modo 357 cm^{-1} não é possível ser observado acima de 3,3 GPa e o modo 372 cm^{-1} se alarga bastante. Tais modos estão relacionados com as deformações no esqueleto da molécula devido às interações entre as moléculas através de ligações de hidrogênio. Apesar da baixa intensidade desses modos, no gráfico da frequência em função da pressão nota-se uma descontinuidade em torno de 1,0 GPa, indicando mudanças na célula unitária do dipeptídeo devido ao efeito da pressão. O modo em 502 cm^{-1} é um modo de intensidade relativamente alta e, com o aumento da pressão, como acontece com a maioria das bandas Raman, diminui a sua intensidade. Ademais, é possível observar uma mudança em 1,0 GPa com o surgimento de um novo modo em 509 cm^{-1} ; tal modo sofre um pequeno deslocamento com o aumento da pressão, permanecendo estável, como podemos ver através do gráfico $\omega(p)$. O modo em 544 cm^{-1} está associado com uma deformação do esqueleto da molécula e deformações na ligação peptídica, apresentando apenas um pequeno deslocamento com o aumento da pressão. O modo 607 cm^{-1}

está associado com vibrações de estiramento que ocorrem no anel aromático da fenilalanina e o modo 623 cm^{-1} está associado com deformações que ocorrem no grupo carboxila. Como podemos observar, o modo em 607 cm^{-1} tem um deslocamento para maior número de onda e, em $6,3\text{ GPa}$, observa-se uma superposição dos modos 607 cm^{-1} e 623 cm^{-1} , formando-se um modo de alta intensidade. Obviamente, isso representa uma degenerescência de energia por causa das maneiras diversas com que as frequências dos dois modos evoluem com a pressão. Como podemos ver, há mudanças perceptíveis no comportamento dos números de onda nessa região espectral em $1,0\text{ GPa}$, o que mostra uma mudança que ocorre no cristal relacionada à transição de fase.

Figura 22: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 350 e 650 cm^{-1} .

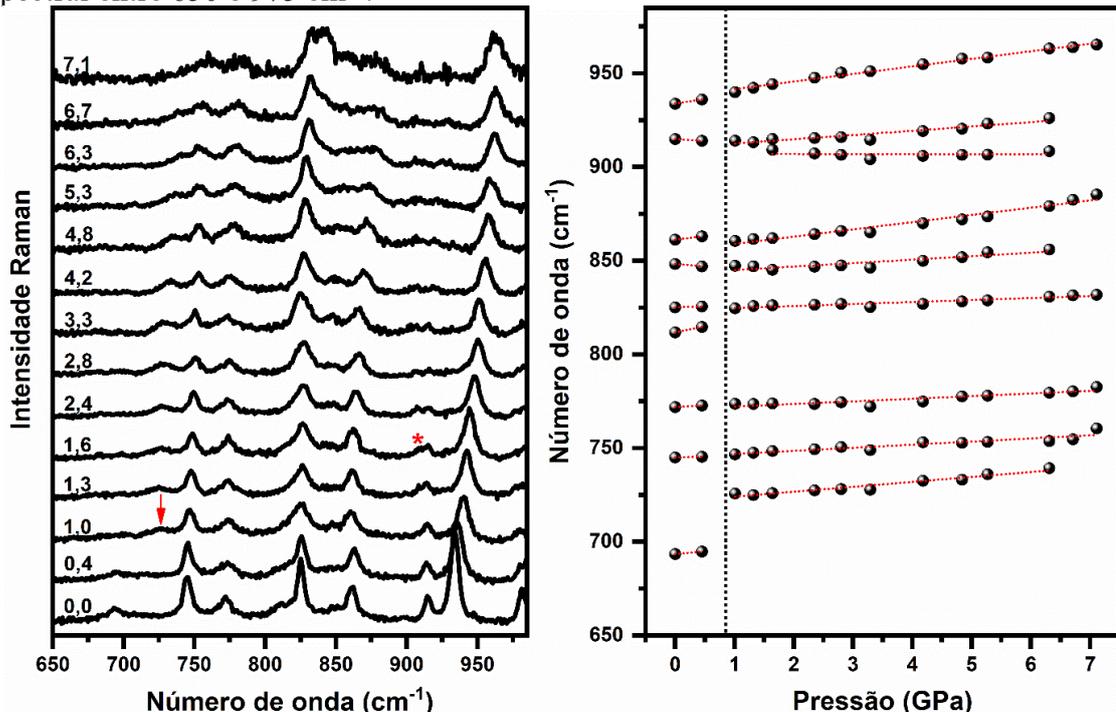


Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 23 apresenta a região espectral entre 650 e 975 cm^{-1} com os modos da glicil-L-fenilalanina quando submetidos à pressão. Observa-se, por exemplo, o surgimento de um modo em torno de 726 cm^{-1} , que com o aumento da pressão, mantém sua intensidade estável; porém, em $6,7\text{ GPa}$, se superpõe ao modo em 745 cm^{-1} . O modo em 772 cm^{-1} é uma banda de baixa intensidade que, em torno de $1,0\text{ GPa}$, torna-se uma banda mais larga, sofrendo um pequeno deslocamento até $7,1\text{ GPa}$. Tal fato pode ser devido às torções que são observadas no esqueleto do dipeptídeo nesta região. Os modos em 812 e 825 cm^{-1} , se superpõem em $1,0\text{ GPa}$ e o modo 825 cm^{-1} tem uma largura de linha como observado em $6,7\text{ GPa}$. Os modos 848 e 861

cm^{-1} são bandas de baixa intensidade, onde observamos o desaparecimento do modo em 848 cm^{-1} em torno de $6,3 \text{ GPa}$ e a perda de intensidade do modo 861 cm^{-1} em $7,1 \text{ GPa}$. Lembrando que o meio compressor utilizado foi o nujol, que eventualmente, acima de 6 GPa , possa não ter uma hidrostaticidade ideal. Isso significa que a largura de linha de todas as bandas no espectro registrado a mais alta pressão possa ser parcialmente devido à pouca hidrostaticidade do meio, embora também parte do aumento da largura seja devido à introdução de desordem pela pressão. O modo em 915 cm^{-1} é um modo de baixa intensidade que está associado com torções que ocorrem no anel aromático da fenilalanina; nota-se o surgimento de um novo modo em 909 cm^{-1} na pressão de $1,6 \text{ GPa}$, e que desaparece em torno de $6,7 \text{ GPa}$. Além disso, temos o modo 934 cm^{-1} que também está associado com torções no anel aromático da fenilalanina, tendo deslocamento para maior número de onda e uma diminuição na sua intensidade com o aumento da pressão, como observado com a grande maioria das bandas Raman registradas nesse estudo. Tal comportamento é similar ao que já foi verificado com os modos de torção no dipeptídeo L,L-difenilalanina (Silva Filho, 2017).

Figura 23: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 650 e 975 cm^{-1} .

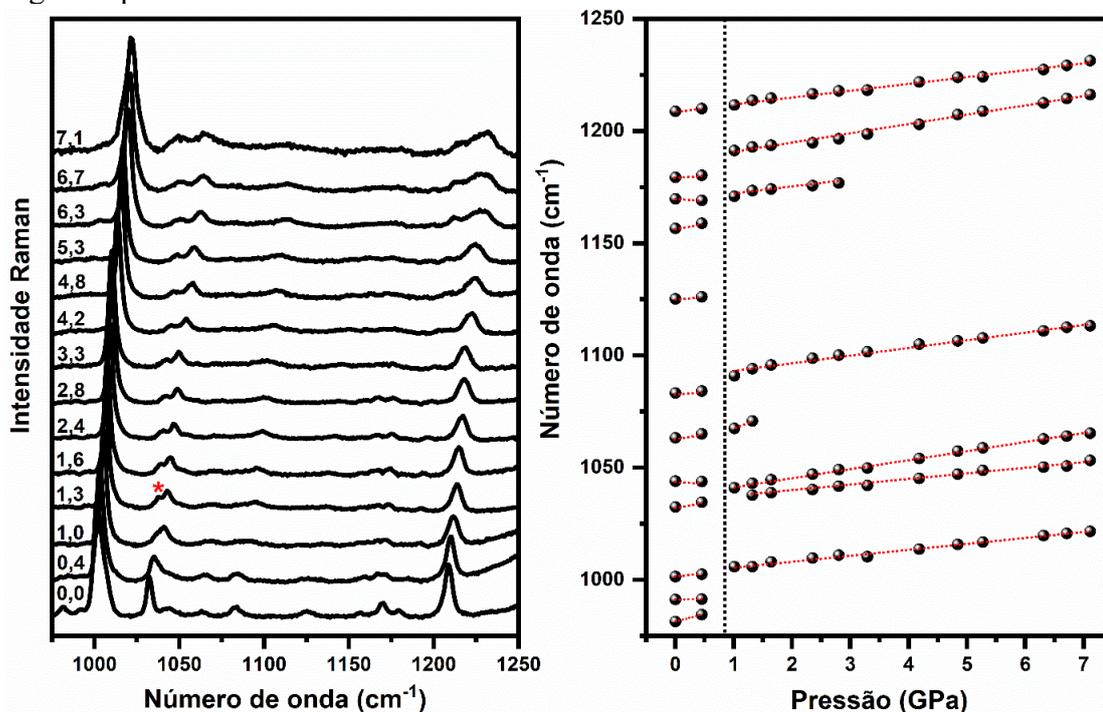


Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 24 apresenta os espectros Raman da glicil-L-fenilalanina no intervalo entre 975 e 1250 cm^{-1} . Inicialmente, temos os modos 981 e 991 cm^{-1} que são de baixa intensidade, não sendo possível ter muita informação sobre a sua evolução. A seguir, temos o

modo 1001 cm^{-1} , que aparece como uma banda com alta intensidade, mas que não apresenta muitas modificações. Algo interessante é observado com o modo 1032 cm^{-1} que, em torno de $1,0\text{ GPa}$, se separa em dois, o novo modo sendo observado em 1037 cm^{-1} . Em $1,3\text{ GPa}$, este modo fica mais evidente, sendo observado como uma banda mais larga e de baixa intensidade. Os modos 1044 , 1063 e 1083 cm^{-1} são modos de baixa intensidade; o primeiro desaparece em torno de $1,0\text{ GPa}$, o segundo não é mais observado em $2,4\text{ GPa}$ e o terceiro deles torna-se uma banda mais larga com o aumento da pressão. O surgimento de modos adicionais não é observado nessa região. Assim como os modos anteriores, os modos em 1125 , 1157 , 1170 e 1179 cm^{-1} aparecem como bandas de baixa intensidade, não sendo observadas modificações significativas acima de $1,0\text{ GPa}$. O modo registrado inicialmente em 1209 cm^{-1} é uma banda intensa que, em torno de $3,3\text{ GPa}$, torna-se mais larga e uma redução na sua intensidade é verificada na pressão de $7,1\text{ GPa}$.

Figura 24: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 975 e 1250 cm^{-1} .

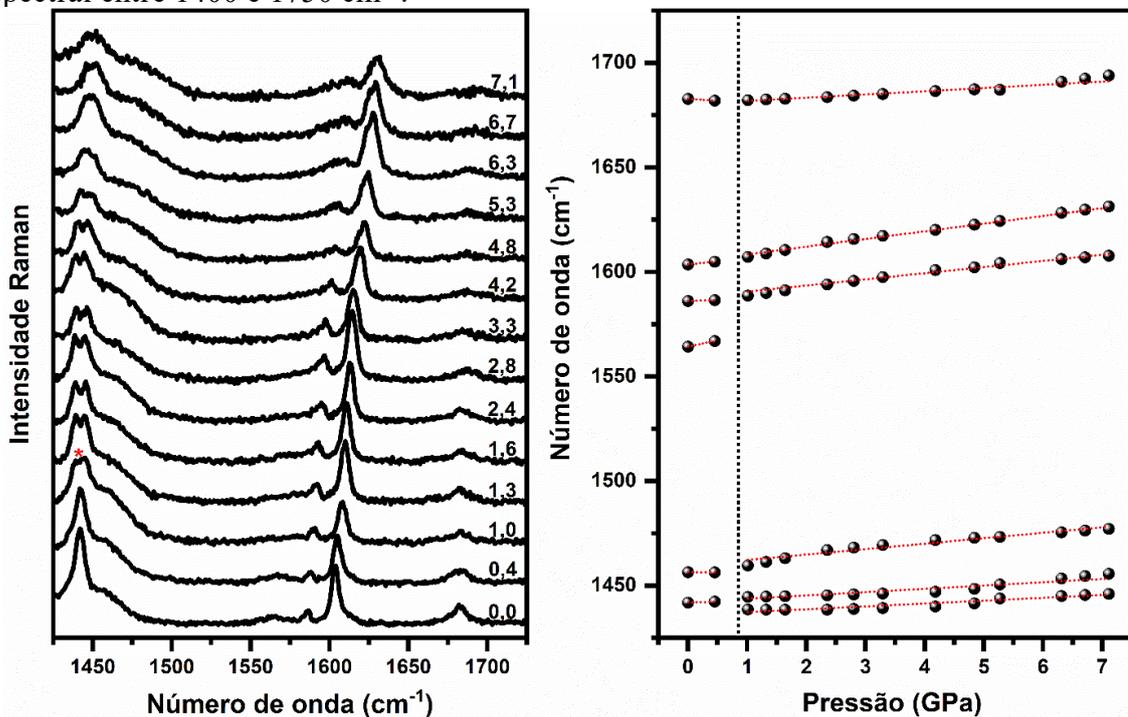


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral entre 1250 e 1410 cm^{-1} , devido à intensidade da banda da vibração C-C do diamante ser alta, não é possível obter-se informações sobre os modos vibracionais do dipeptídeo nesta região. Na Figura 25, apresenta-se o espectro Raman da glicil-L-fenilalanina para a região entre 1425 e 1725 cm^{-1} . Nela, aparece o modo 1442 cm^{-1} , que está associado com deformações do NH_3^+ e observamos o surgimento de dois modos em $1,0\text{ GPa}$,

um em 1439 cm^{-1} e uma banda larga em torno de 1462 cm^{-1} , mostrando mudanças nas vibrações do NH_3^+ . As bandas registradas em 1564 cm^{-1} e 1586 cm^{-1} estão associadas a modos cujas intensidades são baixas; observamos que, com o aumento da pressão, o modo 1564 cm^{-1} desaparece e o modo em 1586 cm^{-1} perde intensidade, embora seja possível observá-lo até $7,1\text{ GPa}$. O modo 1604 cm^{-1} tem uma intensidade alta e está associado com o estiramento CC do anel aromático. Além disso, temos o modo 1683 cm^{-1} com baixa intensidade e que se encontra diretamente relacionado com a ligação covalente que une os dois aminoácidos, ou seja, trata-se de estiramentos NC. É importante acrescentar que uma banda similar associada ao estiramento NC e de baixa intensidade também apresenta um comportamento semelhante a outro dipeptídeo, a L,L-dileucina hidratada (Silva *et al.*, 2020): à pressão ambiente, a respectiva banda aparece bastante fraca e sua intensidade diminui paulatinamente à medida que a pressão aumenta.

Figura 25: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 1400 e 1750 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

A última região analisada compreende bandas entre 2800 e 3200 cm^{-1} e é apresentada na Figura 26. Além dos modos da glicil-L-fenilalanina, também observamos alguns modos do meio hidrostático utilizado no experimento. No entanto, ainda é possível identificar modos relacionados exclusivamente ao dipeptídeo. Os modos 2842 cm^{-1} e 2863 cm^{-1} são modos de baixa intensidade que também são observados no espectro ambiente, mas nos experimentos

a altas pressões tornaram-se quase imperceptíveis devido à sobreposição com os modos do nujol. Assim, devido à superposição das bandas do nujol, o modo em 2863 cm^{-1} é imperceptível em $1,0\text{ GPa}$ e temos um novo modo em $0,4\text{ GPa}$ em 2882 cm^{-1} . Os modos em 2923 , 2937 e 2952 cm^{-1} são modos muito próximos e, com o aumento da pressão, os dois últimos acabam desaparecendo; nota-se um novo modo em $4,2\text{ GPa}$ em 3035 cm^{-1} , que surge com o deslocamento do modo 2923 cm^{-1} . O modo 3003 cm^{-1} , tem baixa intensidade estando relacionado com as vibrações de estiramento do CH que ocorrem no anel aromático da fenilalanina e não há muitas modificações durante o aumento da pressão. Isso certamente tem como significado o fato de que o aumento da pressão não modifica substancialmente o anel aromático, como seria esperado. Os modos 3030 , 3040 , 3052 e 3072 cm^{-1} são os de mais baixa intensidade e com o aumento da pressão suas intensidades apresentam algumas modificações; é observado o surgimento de mais dois modos em 3035 e 3059 cm^{-1} em torno de $1,6\text{ GPa}$. Em $4,2\text{ GPa}$, a intensidade dos modos é muito baixa e observamos apenas o modo 3072 cm^{-1} em $7,1\text{ GPa}$ havendo uma superposição dos modos 3052 e 3072 cm^{-1} . Os modos 3030 , 3040 e 3052 cm^{-1} estão relacionados com vibrações de estiramento no anel aromático da fenilalanina mas devido serem de baixa intensidade, são observados até $4,2\text{ GPa}$.

De modo geral, os espectros Raman a altas pressões da glicil-L-fenilalanina revelam uma série de mudanças em $1,0\text{ GPa}$: (i) o desaparecimento e surgimento de modos na região de baixo número de onda; (ii) descontinuidade no número de onda dos modos de deformação envolvendo carbonos do esqueleto da molécula; (iii) descontinuidade no número de onda dos modos de deformação envolvendo carbonos pertencentes ao anel e ao grupo carboxila; (iv) alteração no número de onda e intensidade das bandas associadas ao modo de torção do anel; (v) divisão de uma banda associada ao grupo NH_3^+ . Tal quadro indica que a transição de fase sofrida pela glicil-L-fenilalanina é acompanhada por mudanças conformacionais da molécula. Vale a pena comparar a evolução da pressão dos modos de baixo número de onda e o de outro material recentemente estudado, a glicil-L-ácido aspártico monohidratado a $2,0\text{ GPa}$ (Lima *et al.*, 2023). Ambos os cristais apresentam transições de fase em baixas pressões, a glicil-L-fenilalanina em $1,0\text{ GPa}$, conforme discutido acima, e a glicil-L-ácido aspártico monohidratado a $2,0\text{ GPa}$. Para o material da Ref. (Lima *et al.*, 2023), a maioria dos modos com números de onda menores do que 300 cm^{-1} diminuem a variação do seu número de onda ($d\omega/dP$) na fase de alta pressão, enquanto que o material estudado nesse capítulo ocorre o oposto. Em outras palavras, os modos da glicil-L-fenilalanina para $\omega < 300\text{ cm}^{-1}$ aumentam seus valores de $d\omega/dP$ na fase de alta pressão ($P > 1,0\text{ GPa}$) quando comparado à fase de baixa

pressão. Esta comparação pode sugerir que a estrutura cristalina da glicil-L-fenilalanina seja menos compacta que a do glicil-L-ácido aspártico monohidratado.

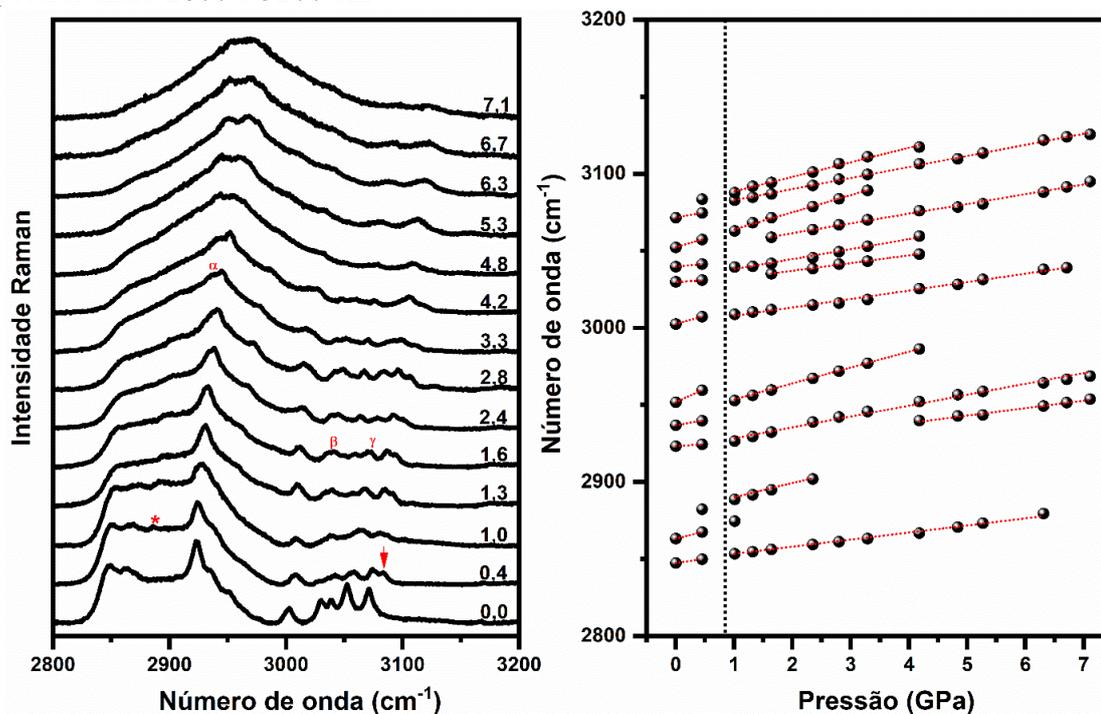
Além disso, se compararmos os resultados da glicil-L-fenilalanina com os da L,L-difenilalanina (Silva Filho, 2017), notamos que, nesse último material, alguns modos na faixa de pressão entre 1 atm e 3,9 GPa apresentam $d\omega/dP$ de 15,1, 17,2 e 18,2 cm^{-1} GPa, variação maior que a observada para o cristal estudado no presente trabalho. Isso, possivelmente, possa ser explicado pelo fato de que a L,L-difenilalanina forma uma estrutura com presença de canais largos onde as moléculas de água eventualmente podem se posicionar. Conseqüentemente, a estrutura pode encolher muito sob pressão, implicando uma maior variação do número de onda com a pressão quando comparada com a glicil-L-fenilalanina. Por outro lado, se compararmos os valores de $d\omega/dP$ para as vibrações de estiramento CC do anel, em $\sim 1604 \text{ cm}^{-1}$, um valor próximo é registrado para a L,L-difenilalanina (3,1 a 3,3 cm^{-1} /GPa) e a glicil-L-fenilalanina (2,89 cm^{-1} /GPa), mostrando que a pressão tem efeito semelhante nesta parte da molécula. Portanto, os dados estabelecem que os modos de baixo número de onda da glicil-L-fenilalanina e da L,L-difenilalanina podem ter comportamentos muito diferentes sob pressão, mesmo com comportamento semelhante para alguns modos internos. Embora a L, L-difenilalanina possua muitos vazios, tais estruturas estão ausentes no material estudado no presente trabalho, dando origem às diferentes evoluções com a pressão. Assim, o presente resultado demonstra que o comportamento da glicil-L-fenilalanina difere significativamente do que foi relatado anteriormente para o dipeptídeo L,L-difenilalanina de canais largos, em particular no que diz respeito ao comportamento geral da molécula na célula unitária cristalina.

Uma última comparação possível pode ser feita com os resultados obtidos com a L,L-dileucina hidratada (Silva *et al.*, 2020). Nota-se que, em altas pressões, em ambos os materiais, ocorre uma banda larga entre aproximadamente 2800 e 3000 cm^{-1} . Mas, diferentemente do que acontece com a L,L-dileucina, que não apresenta bandas visíveis entre 3000 e 3200 cm^{-1} , a glicil-L-fenilalanina apresenta bandas que, embora de baixa intensidade, podem ser visíveis até o mais alto valor de pressão. Como comentado anteriormente, essa região pode fornecer informações importantes sobre eventuais ligações de hidrogênio, quando aparecem bandas associadas aos grupos NH_3^+ e mesmo ao H_2O nos cristais hidratados. No presente estudo, nota-se um comportamento absolutamente linear das número de onda dos modos nessa região, o que implica que as bandas observadas no espectro não dizem respeito a modos envolvidos em ligações de hidrogênio (que, na maioria das vezes, apresentam um comportamento não linear).

Ainda comparando os estudos da glicil-L-fenilalanina com o da L,L-dileucina

hidratada (Silva *et al.*, 2020), é importante destacar que, nesse último caso, foi verificada uma mudança significativa em grupos associados com as interações intermoleculares via ligação de hidrogênio que, em última análise, está relacionada com a estabilidade da estrutura hidratada. De fato, algumas bandas da L,L-dileucina apresentam um comportamento não harmônico, diferentemente do que é observado no presente estudo da glicil-L-fenilalanina. Dessa maneira, podemos imaginar que, acima da transição de fase apresentada em cerca de 1,0 GPa, a estrutura da glicil-L-fenilalanina permaneça estável durante um bom intervalo de pressão. Infelizmente, o meio compressor disponível não permitiu atingir pressões acima de 7 GPa. Uma sugestão para experimentos futuros é investigar o material com pressões até cerca de 30 GPa, utilizando gás neônio ou hélio, de modo a verificar o comportamento do material até eventualmente ele amorfizar. Como informação final, os espectros da glicil-L-fenilalanina são recuperados quando a pressão retorna para a pressão atmosférica após um ciclo de compressão e descompressão, indicando que a transição de fase observada é reversível.

Figura 26: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 2800 e 3200 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 8: Ajuste linear dos números de ondas dos espectros de glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 100 e 3200 cm^{-1} .

ω_{Exp} (cm^{-1})	0,0 GPa < P < 1,0 GPa		1,0 GPa < P < 7,1 GPa	
	ω_0 (cm^{-1})	α (GPa/ cm^{-1})	ω_0 (cm^{-1})	α (GPa/ cm^{-1})
109	108,58	1,62	—	—
118	—	—	109,78	10,34
119	—	—	103,21	5,53
134	133,65	13,42	133,42	13,45
148	148,70	4,31	154,18	7,39
180	—	—	170,42	11,22
202	201,97	5,76	206,58	7,60
208	208,14	6,39	—	—
243	242,86	4,22	241,65	7,99
357	356,74	-4,19	351,41	5,31
372	371,61	-3,91	365,97	5,58
411	410,99	1,32	413,72	4,34
502	502,19	1,52	501,77	1,98
509	—	—	507,24	2,42
546	545,65	4,88	546,49	1,65
607	607,28	4,38	612,64	1,85
623	622,94	2,09	623,16	1,25
693	693,49	2,93	—	—
726	—	—	721,48	2,63
745	745,04	0,91	745,21	1,66
772	771,92	1,89	770,76	1,40
812	811,84	6,44	—	—
825	825,17	1,00	823,68	1,07
848	848,34	-2,89	843,20	1,85
861	861,31	3,82	855,15	3,87
909	—	—	907,08	-0,04
915	914,99	-2,22	910,27	2,28
934	933,87	4,98	937,62	4,03
981	981,45	6,71	—	—
991	991,24	0,32	—	—
1001	1001,41	2,52	1003,12	2,60
1032	1032,46	4,81	1037,71	3,95
1037	—	—	1034,36	2,58
1044	1043,99	-0,40	—	—
1063	1063,28	3,89	1056,94	10,48
1083	1083,26	1,94	1089,81	3,42
1125	1125,21	2,02	—	—
1157	1156,63	5,18	—	—
1170	1169,84	-1,58	1168,97	2,90
1179	1179,38	2,11	1186,22	4,19
1209	1208,86	2,66	1209,35	2,98
1438	—	—	1435,99	1,36
1442	1441,89	1,03	1442,18	1,57
1456	1456,45	-0,27	—	—
1564	1564,29	5,93	—	—
1586	1586,15	0,86	1587,64	2,94

1604	1603,63	2,89	1604,74	3,68
1683	1682,79	-1,81	1680,29	1,53
2847	2847,44	5,51	2848,89	4,59
2863	2863,32	9,38	—	—
2882	—	—	2880,97	9,18
2940	—	—	2918,86	4,84
2923	2923,31	2,65	2921,35	7,06
2937	2936,86	6,63	2943,32	10,33
2952	2951,86	17,32	—	—
3003	3002,56	10,77	3002,37	5,48
3030	3030,02	0,82	—	—
3035	—	—	3026,96	5,03
3040	3039,81	3,72	3031,66	6,49
3052	3052,33	11,34	3052,75	11,14
3060	—	—	3048,79	6,34
3072	3071,62	6,84	3075,75	7,18
3084	—	—	3079,16	9,44

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4 Espectroscopia Raman Sobre Baixas Temperaturas

Estudar cristais moleculares sob o efeito da temperatura é importante para entendermos o comportamento das ligações de hidrogênio e as possíveis mudanças nos materiais que podem indicar eventuais alterações estruturais, implicando em novas propriedades do material. Como os estudos de aminoácidos e dipeptídeos em baixas temperaturas já demonstraram, é possível a ocorrência de transições de fase, como na L,L-dialanina (Silva *et al.*, 2015), que apresentou mudanças ao ser submetida a temperaturas inferiores a 100 K. É importante a identificação dessas mudanças em aminoácidos e fármacos devido ao seu potencial de aplicação, e conhecer as suas alteração em baixas temperatura é de fundamental importância para as aplicações das novas propriedades.

Nesta seção, serão apresentados os resultados de espectroscopia Raman em baixas temperaturas realizados na glicil-L-fenilalanina. Os espectros Raman foram obtidos em um intervalo entre 10 e 300 K a intervalos de 8 K, na região espectral de 80 a 3240 cm^{-1} . Os ajustes foram feitos utilizando-se a equação de Balkanski (Balkanski, Wallis e Haro, 1983), que será apresentada a seguir.

A discussão percorrerá as diversas regiões espectrais, números de onda de mais baixos para mais altos. A região espectral entre 80 e 220 cm^{-1} engloba os modos da rede onde, como já comentado, as interações entre as moléculas são reveladas, e as mudanças observadas nos dão fortes indícios de possíveis mudanças no cristal e nas interações entre as moléculas do dipeptídeo. Portanto, é uma região que nos dá fortes indícios de ocorrência de transição de fase

sofrida pelo cristal, quando tal fenômeno acontece. Na Figura 21, temos o espectro Raman e o ajuste linear da glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas. De um modo geral, o que é observado na maioria dos cristais de aminoácidos, dipeptídeos e fármacos em baixas temperaturas é um comportamento linear do número de onda de onda dos modos, acompanhado do aumento na intensidade e uma diminuição da largura das bandas.

Porém, na Figura 27, observamos um comportamento não linear da frequência de vários modos e o surgimento de novos modos em 100 K. O comportamento não linear dos modos foi ajustado utilizando-se a equação de Balkanski (Balkanski, Wallis e Haro, 1983), dada por:

$$\omega(T) = \omega_0 + \alpha \left(1 + \frac{2}{e^x - 1}\right) + \beta \left(1 + \frac{3}{e^y - 1} + \frac{3}{(e^y - 1)^2}\right) \quad (8)$$

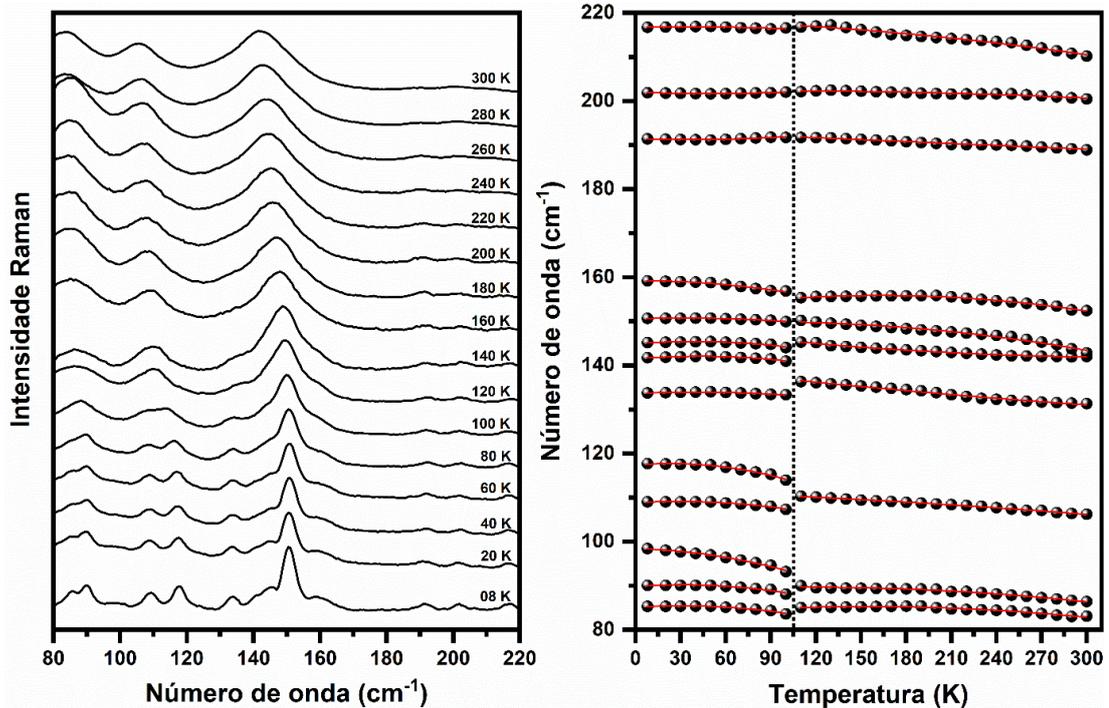
, onde $\omega(T)$ é o número de onda na temperatura T , ω_0 é o número de onda inicial, α e β , dados em cm^{-1} , são os coeficientes de ajuste anarmônicos, $x = \frac{\hbar\omega_0}{2k_bT}$ e $y = \frac{\hbar\omega_0}{3k_bT}$, \hbar é a constante de Planck reduzida e k_b é a constante de Boltzmann. Utilizando a equação de Balkanski, foram feitos os ajustes dos modos antes e depois de 100 K; os coeficientes estão mostrados na Tabela 9.

Nesta região é observada a sobreposição e a separação de modos em torno de 100 K. Mudanças semelhantes também foram observadas no dipeptídeo L-alanil-L-alanina (Silva *et al.*, 2015) em baixas temperaturas, onde tais mudanças foram atribuídas a transição de fase do material, com a amostra indo de uma estrutura ortorrômbica ($P2_12_12_1$) para uma estrutura monoclinica ($C2$). Além dos modos de rede, podemos destacar os modos em 202 e 217 cm^{-1} , que são de baixas intensidades em temperatura ambiente e apresentam o aumento de intensidade com a diminuição da temperatura. Além disso, é observado que as bandas têm uma diminuição das larguras de banda e os modos deslocam-se para os maiores números de onda. Inicialmente, entre 300 e 100 K, nota-se a existência de dois modos em 83 e 88 cm^{-1} , cujas bandas são largas e muito próximas. Quando se atinge a temperatura de 100 K, percebe-se a separação em três modos de baixas intensidades em 85, 90 e 98 cm^{-1} , onde as duas primeiras têm um comportamento linear e a terceira tem um deslocamento rápido para maior número de onda.

Entre 300 e 100 K aparece uma banda larga e de baixa intensidade em 112 cm^{-1} ; nota-se a separação do modo em outros dois modos de baixa intensidade em 109 e 118 cm^{-1} , que não apresentam comportamento linear. Entre as temperaturas de 300 e 100 K temos duas bandas largas em 140 e 149 cm^{-1} . Nota-se que ambas as bandas se separam em 100 K. A banda em 140 cm^{-1} separa-se em duas bandas em 134 e 142 cm^{-1} , cujas as intensidades tornam-se mais

visíveis em 8 K, com um pequeno deslocamento para maiores números de onda. Igualmente, o modo em 149 cm^{-1} separa-se em duas bandas com frequências em 145 cm^{-1} e 151 cm^{-1} em torno de 100 K. Bandas com intensidades muito baixas em 152, 189 e 210 cm^{-1} tornam-se mais visíveis em 8 K, apresentando um ligeiro desvio para maior número de onda.

Figura 27: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 80 e 220 cm^{-1} .

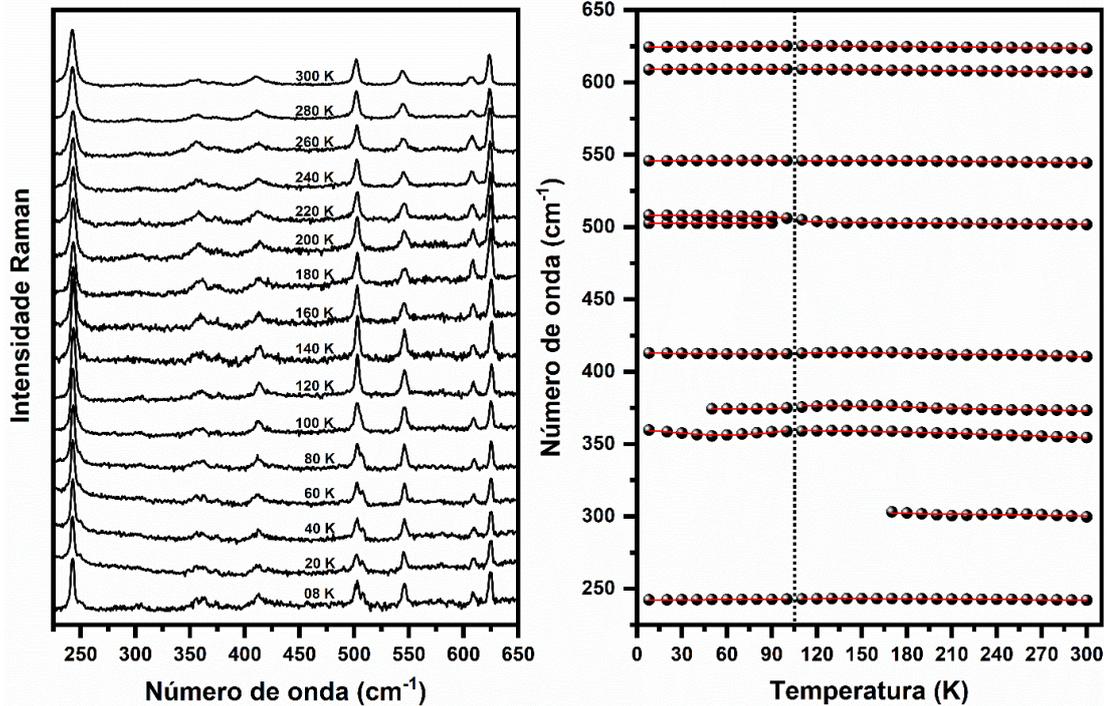


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral entre 225 e 650 cm^{-1} foram observados dez modos normais de vibração, com mudanças em torno de 100 K, além do desaparecimento de uma nova banda. Em 242 cm^{-1} temos uma banda cuja intensidade é alta e de pequena largura, que vai ficando mais estreita com a diminuição da temperatura, mantendo a intensidade constante, como observamos na Figura 28. O modo em 303 cm^{-1} é representado por uma banda larga e de baixa intensidade que desaparece em torno de 170 K. Também podem-se destacar os modos em 360 e 375 cm^{-1} , cujo comportamento dos números de onda não sofre grandes mudanças durante o resfriamento. Isso é bem expresso no ajuste linear, tal estabilidade também pode ser observada com o modo em 413 cm^{-1} . Assim como na região dos modos da rede, observamos uma mudança no modo em 503 cm^{-1} , quando ele se mantém estável até 100 K e observa-se a separação dos modos a partir desta temperatura; nota-se com clareza dois modos em 503 e 508 cm^{-1} . Os modos em 546 , 609 e 625 cm^{-1} apresentam um aumento de intensidade, diminuição da largura de banda e,

analisando os ajustes lineares, observa-se também o deslocamento do número de onda para maior número de onda com a diminuição da temperatura.

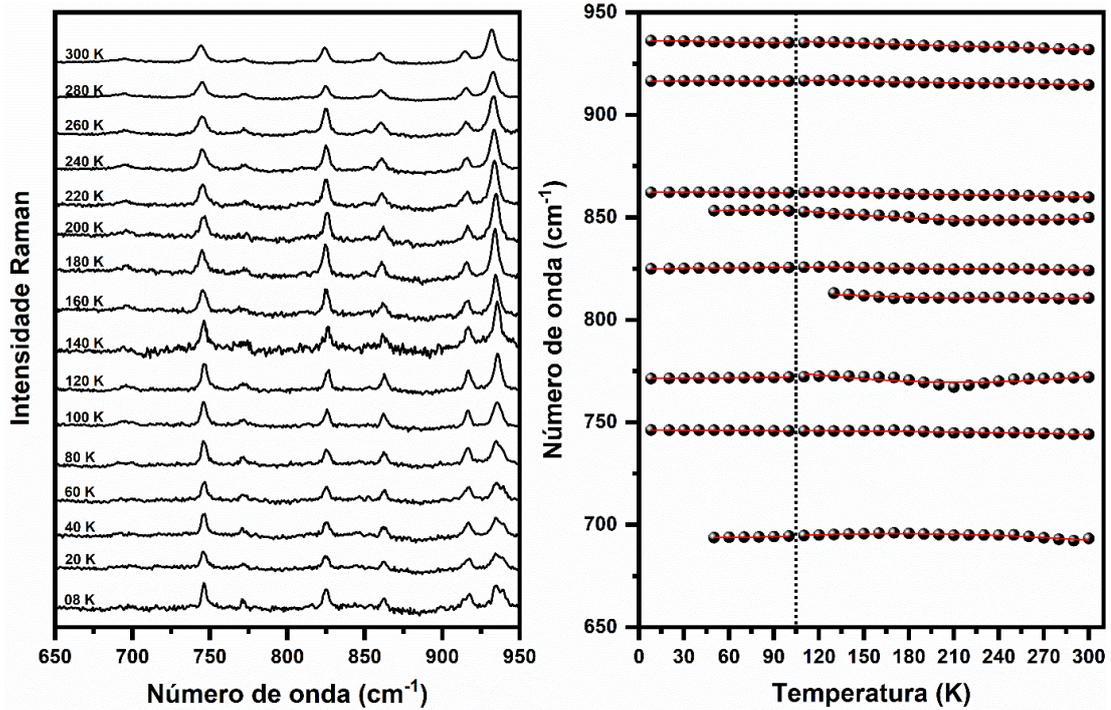
Figura 28: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 225 e 650 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral entre 650 e 950 cm^{-1} encontram-se localizadas vibrações do esqueleto da molécula, porém, analisando o ajuste linear, não são observadas mudanças ou descontinuidades no ajuste teórico aos pontos experimentais, como representado na Figura 29. Os modos que aparecem com frequências de 694, 746 e 825 cm^{-1} não apresentam grandes modificações sob baixas temperaturas. Os modos que aparecem como bandas em 771 e 813 cm^{-1} igualmente não apresentam grandes modificações em baixas temperaturas. As outras bandas, que aparecem em 771, 917 e 936 cm^{-1} , também não apresentam descontinuidades, bem como mostram um comportamento esperado com a diminuição da temperatura. De uma maneira geral, portanto, essa região não apresenta indícios relevantes que reforcem as modificações notadas nos espectros da região dos modos da rede – região de mais baixa energia – indicando, portanto, que a transição em 100 K não afeta os modos internos no intervalo 650-950 cm^{-1} .

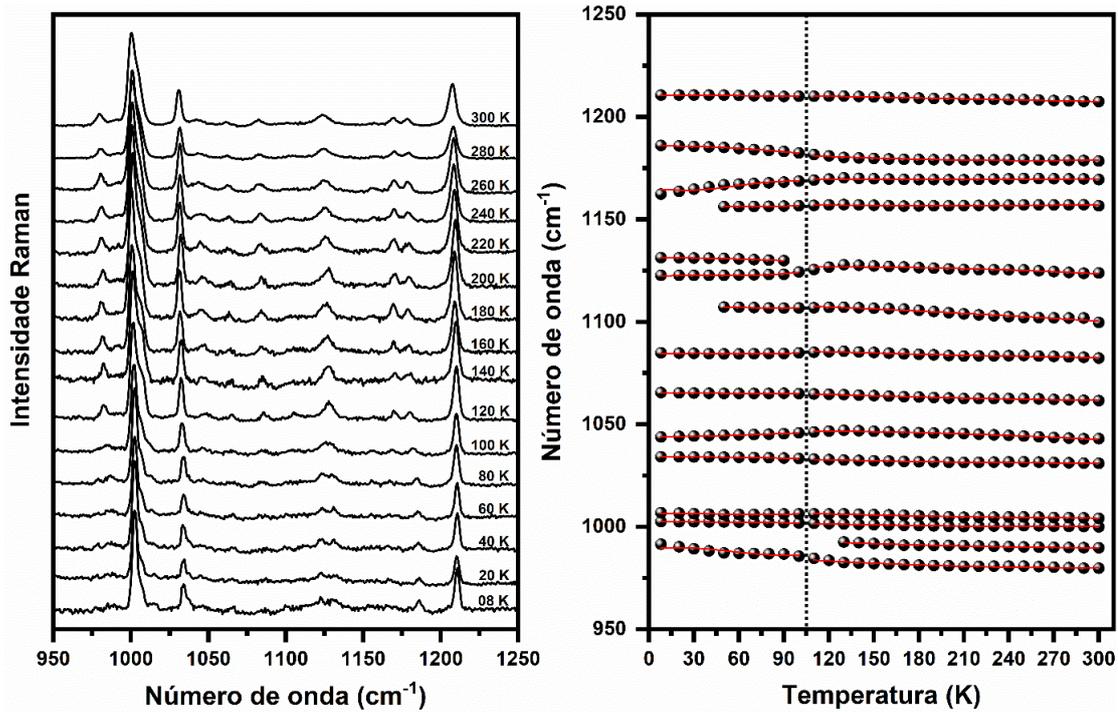
Figura 29: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 650 e 950 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral entre 950 e 1250 cm^{-1} são observados quinze modos, ocorrendo algumas modificações em torno de 100 K, indicando a ocorrência de uma possível transição de fase, como mostrado na Figura 30. Aparecem duas bandas de intensidades relativamente altas em torno de 1003 e 1007 cm^{-1} , sendo possível observar-se uma redução na intensidade do modo em 1007 cm^{-1} . Em 1034 e 1044 cm^{-1} aparecem também duas bandas de baixa intensidade muito próximas cujo comportamento de suas frequências é linear. Dois modos são observados em 1066 e 1085 cm^{-1} , cujas bandas são largas e baixa intensidade, igualmente apresentam números de onda com comportamento linear. A banda em 1107 cm^{-1} é uma banda larga de baixa intensidade que desaparece em torno de 40 K; obviamente, tal desaparecimento está mais associado à intensidade da banda específica do que representa alguma mudança na estrutura do cristal. Por outro lado, a banda em 1123 cm^{-1} , que também apresenta baixa intensidade, mostra uma mudança em 100 K, com o surgimento de uma nova banda larga em 1131 cm^{-1} . Os modos de baixa intensidade em 1156, 1162 e 1186 cm^{-1} não apresentam modificações dignas de nota até 100 K. O que ainda pode ser registrado é que a banda em 1107 cm^{-1} deixa de ser observada em torno de 50 K. As demais bandas não apresentam grandes modificações nesse intervalo de temperatura.

Figura 30: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 950 e 1250 cm^{-1} .

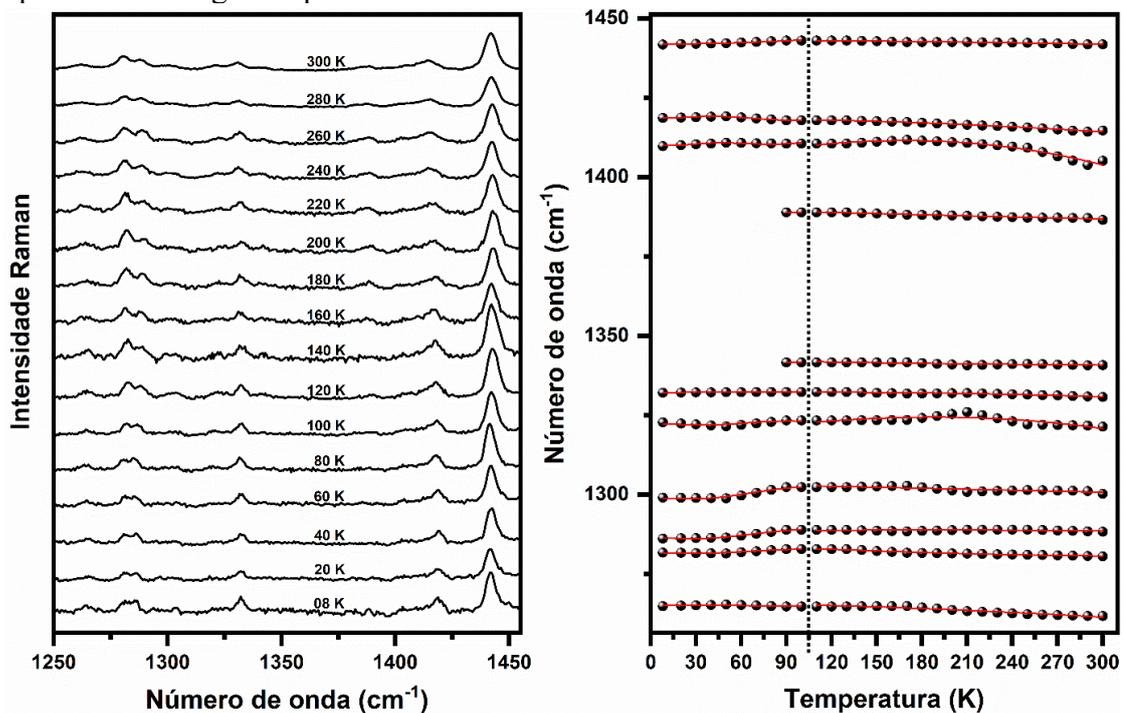


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral entre 1250 e 1450 cm^{-1} são observados onze modos normais de vibração, onde se destaca o desaparecimento de modos em torno de 100 K, além de bandas de baixa intensidade com grande largura de linha. Entre as várias bandas, observa-se o desaparecimento dos modos 1342 e 1389 cm^{-1} em torno de 80 K. O modo em 1389 cm^{-1} é uma banda larga, de baixa intensidade, que também desaparece em torno de 80 K. Os modos em 1410 e 1419 cm^{-1} são bandas de baixas intensidades, porém com grande largura de linha, tornando-se mais bem definidos com a diminuição da intensidade, tendo um deslocamento linear para o maior número de onda. A banda em 1442 cm^{-1} , cuja intensidade mais alta dessa região, mostra um comportamento linear de seu número de onda, como observado na Figura 31. Assim, mesmo na temperatura em que há indícios de ocorrência de uma transição de fase, no caso, próximo de 100 K como inferido dos espectros de baixa frequência, nessa região não se observam grandes mudanças. O modo em 1410 cm^{-1} , em particular, possui uma contribuição do estiramento C-O e apresenta uma certa anarmonicidade entre 300 e 100 K – uma leve parábola com concavidade para baixo – possivelmente devido à influência das ligações de hidrogênio sobre o oxigênio do grupo CO_2 . Tal anarmonicidade associada ao estiramento C-O, de fato, já foi verificada em outro cristal de aminoácido em condições de baixas temperaturas. Um estudo realizado com a L-histidina ($\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$) revelou que o estiramento C-O está presente no espectro Raman do cristal no número de onda de 1411 cm^{-1} . Resfriando-se a amostra,

observa-se que inicialmente o número de onda evolui linearmente com a temperatura até cerca de 160 K e, para temperaturas mais baixas, apresenta um comportamento claramente não linear (Sousa, De *et al.*, 2013). Embora a L-histidina não apresente uma transição de fase estrutural em baixas temperaturas, a mudança de comportamento em torno de 150 K foi interpretada como uma mudança conformacional do material. Assim, comportamentos diferentes para a banda CO₂ na glicil-L-fenilalanina em torno da temperatura de 100 K podem sugerir a mudança conformacional, ou ao menos uma variação de parte da molécula mais próxima ao grupo carboxílico.

Figura 31: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 1250 e 1450 cm⁻¹.

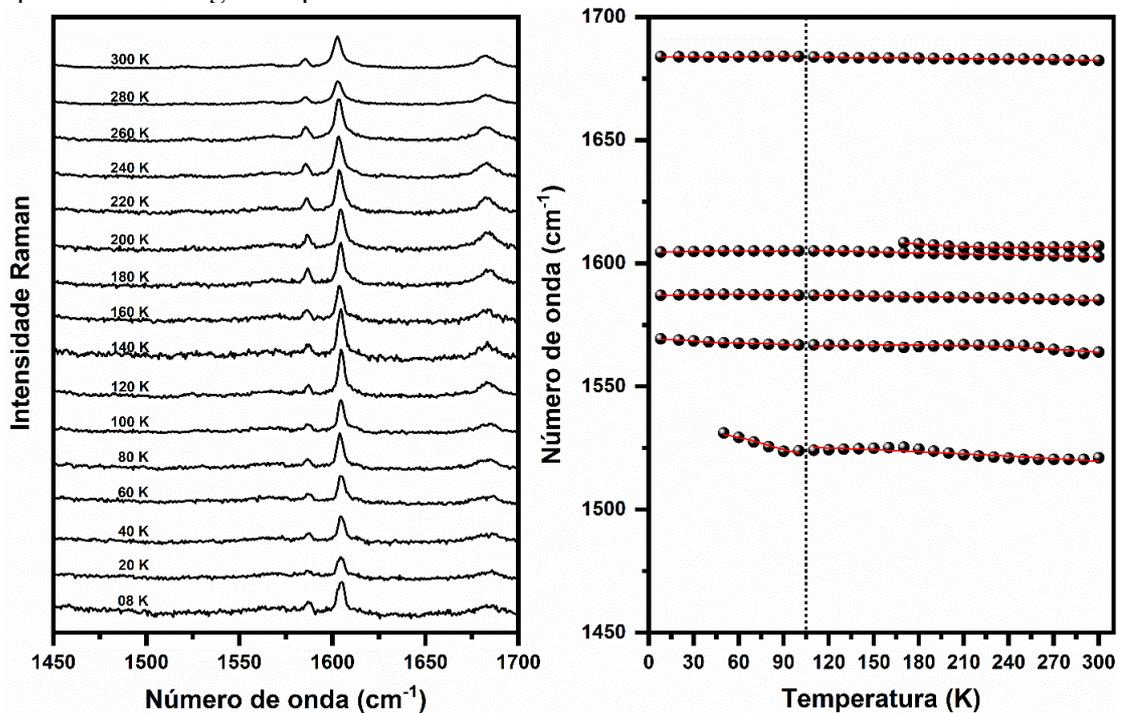


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral entre 1450 e 1700 cm⁻¹ são observados seis modos normais de vibração, sem grandes modificações na intensidade e na largura das bandas, como mostrado na Figura 32. As bandas em 1531 e 1684 cm⁻¹ são bandas de baixa intensidades em particular, a banda associada ao modo em 1531 cm⁻¹ aparece um pouco mais claramente apenas quando se amplia o espectro em um programa computacional de tratamento de dados, como o Origin, por exemplo. A banda mais intensa dessa região, localizada em 1605 / 1608 cm⁻¹, na verdade um dubleto quando observado em baixas temperaturas, apresenta um comportamento linear de seu número de onda. Esse fato está em acordo com o que seria esperado desse tipo de vibração quando se varia a temperatura, uma vez que tal modo foi classificado como devido a um

estiramento C-C de parte do anel da molécula. Como consequência, não são esperadas grandes mudanças nessa vibração quando o material é resfriado. Outro resultado de relevância revelado pelo ajuste aos pontos experimentais é o comportamento linear da banda mais larga localizada em torno de 1680 cm^{-1} . Ela foi classificada como uma vibração de estiramento C2-O1, e mesmo envolvendo um átomo de oxigênio, não seria esperado que ela participasse de uma forte ligação de hidrogênio, uma vez que o átomo C2 encontra-se preso entre os átomos C1 e N2. Já com o grupo CO_2 , os oxigênios O2 e O3, unidos ao átomo de carbono C4, encontram-se mais livres, teoricamente produzindo ligações de hidrogênio mais fortes; essa vibração aparece como o modo em torno de 1566 cm^{-1} , também de muito baixa intensidade. Entretanto, os comportamentos da frequência, harmônico para o estiramento C2-O1, e ligeiramente não anarmônico para os estiramentos C4-O2 e C4-O3, parecem confirmar essa hipótese.

Figura 32: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 1450 e 1700 cm^{-1} .

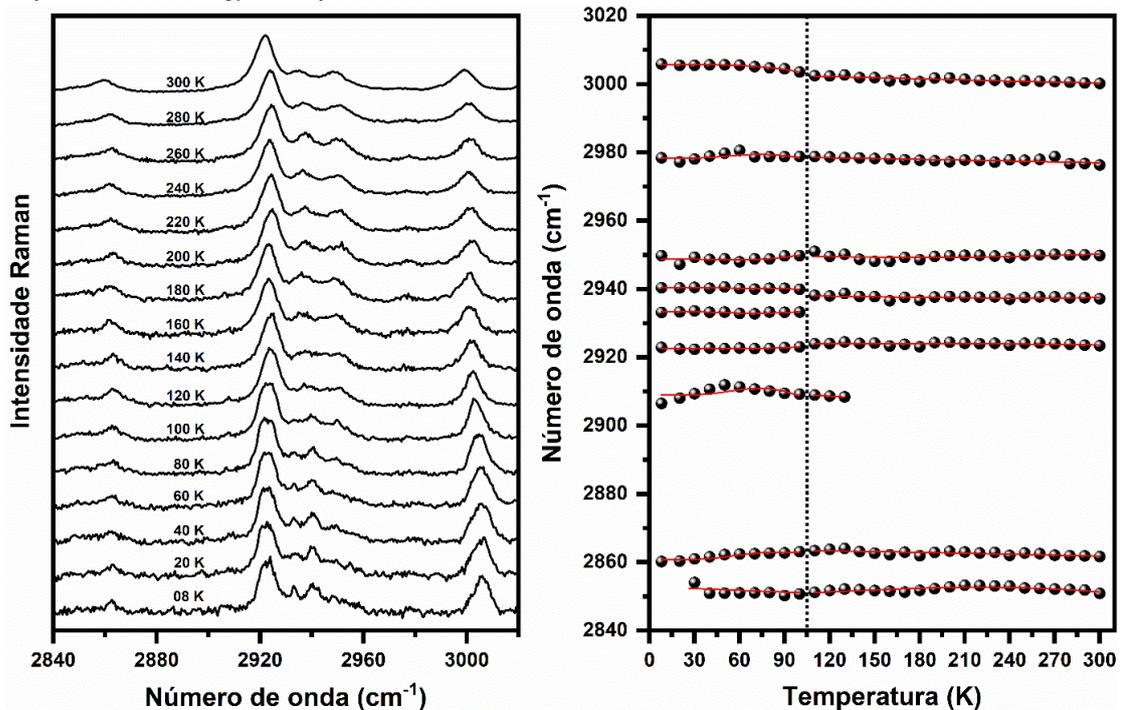


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral entre 2840 e 3020 cm^{-1} são observadas nove bandas em baixas temperaturas, como mostrado na Figura 33. Dos ajustes teóricos aos dados experimentais percebe-se que algumas bandas apresentam um comportamento linear em determinados intervalos de temperatura, enquanto que outras bandas apresentam comportamento claramente não linear. Podemos destacar os modos em 2923 , 2933 , 2940 e 2950 cm^{-1} , onde se percebem descontinuidades em torno de 100 K , indicando possíveis mudanças no cristal do dipeptídeo.

Essas mudanças também foram observadas no dipeptídeo L-alanil-L-alanina (Silva *et al.*, 2015), sendo tais mudanças indicativas de uma transição de fase do dipeptídeo. Perceba que na região espectral 2840 - 3020 cm^{-1} , todos os modos presentes – de acordo com o descrito na Tabela 3 – referem-se a estiramentos C-H. Embora eles não sejam diretamente relacionados com ligações de hidrogênio e, portanto, não haja a princípio uma justificativa direta para apresentarem comportamento anarmônico, alguns modos aqui claramente mostram um comportamento não linear em função da temperatura. Possivelmente isso se deve ao fato de que algumas unidades C-H estejam acopladas com modos envolvidos em ligações de hidrogênio. Mas isso é uma hipótese que exigiria uma comparação, talvez com um material deuturado; caso fosse possível deuturar algumas das unidades C-H, se a ideia estiver correta, os estiramentos C-D, mesmo continuando acoplados com ligações de hidrogênio, deveriam apresentar uma anarmonicidade ainda mais fraca, uma vez que a unidade C-D possui uma massa maior do que a unidade C-H. A deuteração do material fica como uma sugestão para trabalhos futuros.

Figura 33: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 2840 e 3020 cm^{-1} .

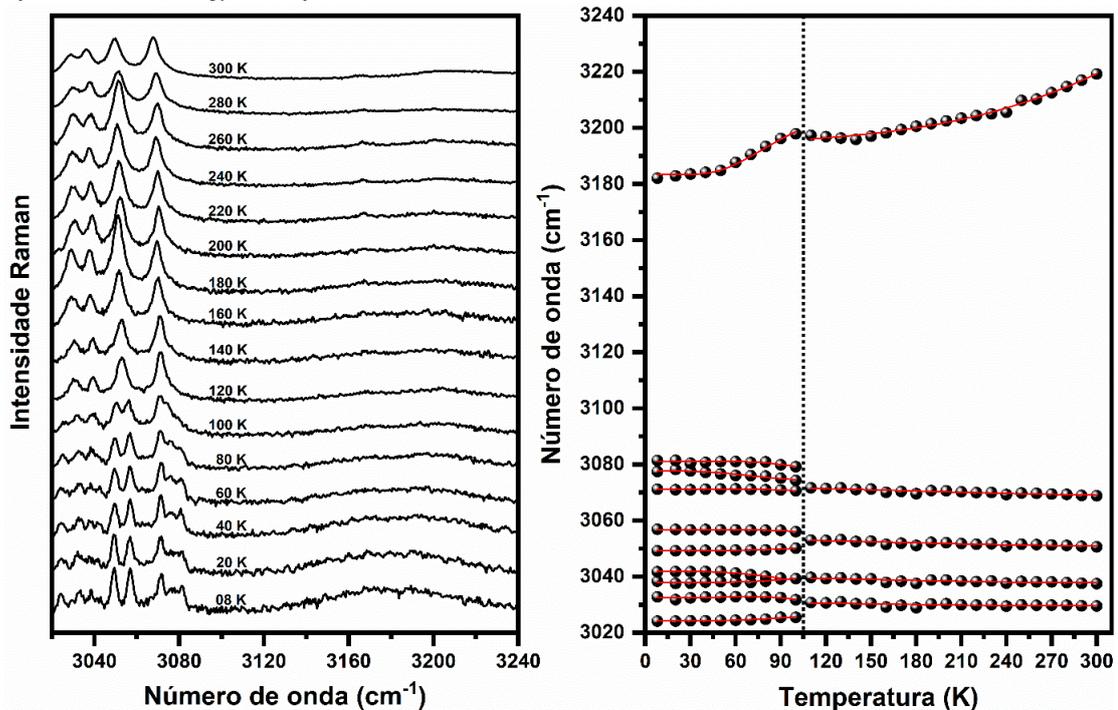


Fonte: Elaborado pelo autor.

Finalmente, na região entre 3020 e 3240 cm^{-1} são observados muitos modos de baixa intensidade, com a ocorrência de descontinuidades no número de onda a partir de 100 K (Figura 34). Nessa região encontram-se modos de estiramento C-H e estiramento N-H. Modos desse último tipo estão envolvidos em ligações de hidrogênio, como é natural para materiais

das famílias dos aminoácidos e dos peptídeos. De fato, entre todas as bandas que aparecem nessa região espectral, aquela que apresenta a maior anarmonicidade está associada a vibrações de estiramento N-H, que é exatamente o modo que aparece em torno de 3200 cm^{-1} . Coincidentemente, em torno da temperatura de transição de fase, a anarmonicidade aparece mais acentuada, sugerindo ao menos que em torno de 100 K , a vibração de estiramento N-H desempenha um papel na mudança sofrida pelo cristal. A separação de outras bandas nessa região também parece fortalecer a ideia da ocorrência de uma transição de fase em baixas temperaturas, como já revelado pelo comportamento de alguns outros modos em outras regiões espectrais. Assim, como conclusão dessa seção, pode-se afirmar que os resultados apontam, de uma forma geral, para a ocorrência de uma transição de fase estrutural em torno de 100 K sofrida pela glicil-L-fenilalanina, acompanhada por mudanças envolvendo as ligações de hidrogênio. Um resumo da análise quantitativa a partir da equação de Balkanski é fornecido na Tabela 6.

Figura 34: Espectro Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas na região espectral entre 3020 e 3240 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 9: Ajustes dos números de ondas experimentais da glicil-L-fenilalanina entre 10 e 300 K na região espectral entre 80 e 3200 cm^{-1} .

ω_{Exp} (cm^{-1})	10 K < T < 100 K			100 K < T < 300 K		
	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1})	β (cm^{-1})	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1})	β (cm^{-1})
85	85	0,11	-0,01	83	0,17	0,00
90	90	0,13	-0,01	88	0,11	0,00
98	98	-0,04	-0,01	—	—	—
109	109	0,12	-0,01	112	-0,07	0,00
118	117	0,21	-0,02	—	—	—
134	134	0,12	-0,01	140	-0,33	0,00
142	141	0,24	-0,01	—	—	—
145	145	0,23	-0,01	149	-0,40	0,00
151	151	0,10	-0,01	149	0,19	-0,01
159	159	0,00	-0,01	152	0,53	-0,01
191	192	-0,15	0,01	189	-0,17	0,00
202	202	-0,16	0,01	200	0,07	0,00
217	217	0,09	-0,01	210	-0,06	-0,01
242	242	0,10	0,00	242	0,17	0,00
303	—	—	—	304	-0,19	0,00
360	364	-5,00	0,50	360	0,20	-0,02
375	377	-1,79	0,16	379	-0,30	0,00
413	414	-0,88	0,08	413	0,14	-0,02
503	503	-0,06	0,02	—	—	—
508	508	0,68	-0,17	508	-1,01	0,03
546	546	0,38	-0,04	545	0,33	-0,03
609	608	1,06	-0,15	610	-0,31	0,00
625	624	0,75	-0,07	626	-0,28	0,00
694	694	-0,37	0,14	689	2,80	-0,19
746	746	-0,18	-0,02	746	0,23	-0,04
771	771	0,75	-0,06	789	-8,05	0,49
813	—	—	—	819	-3,22	0,18
825	824	1,84	-0,26	827	-0,69	0,02
853	848	6,05	-0,99	865	-6,52	0,39
862	862	0,35	-0,09	864	-0,73	0,00
917	916	0,75	-0,18	919	-0,80	0,01
936	940	-0,46	0,78	939	-1,31	0,02
992	1008	-22,07	3,43	991	-4,23	0,25
993	—	—	—	998	-2,80	0,15
1003	1002	0,37	-0,19	1005	-1,89	0,12
1007	1013	-7,86	1,49	1010	-1,82	0,09
1034	1034	0,76	-0,32	1036	-1,96	0,12
1044	1041	3,23	-0,26	1046	0,91	-0,19
1066	1067	-1,64	0,26	1069	-2,32	0,11
1085	1090	-7,78	1,58	1089	-2,05	0,09
1107	1113	-6,86	1,19	1111	-1,50	-0,09
1123	1136	-17,47	3,92	1125	1,81	-0,27
1131	1132	-0,24	-0,41	—	—	—
1156	1158	-2,24	0,59	1158	-1,00	0,09
1162	1132	39,11	-6,67	1170	-0,44	0,04
1186	1188	-1,49	-0,71	1187	-4,24	0,32
1211	1215	-4,62	0,75	1212	-1,21	0,02
1265	1271	-7,46	1,46	1266	-0,27	-0,13
1282	1272	12,45	-2,12	1287	-2,50	0,16
1286	1268	21,25	-3,45	1288	0,72	-0,08
1299	1273	30,83	-5,16	1304	-0,91	0,01
1323	1302	25,19	-4,90	1312	9,25	-1,04
1332	1333	-1,28	0,34	1332	0,64	-0,13
1342	1342	0,00	—	1343	-1,01	0,06
1389	1389	0,00	—	1391	-1,47	0,05

1410	1448	-48,75	10,76	1395	14,28	-1,86
1419	1449	-38,32	7,79	1419	0,13	-0,20
1442	1446	-4,07	1,44	1443	-0,15	-0,04
1531	1655	-155,15	29,55	1528	-1,50	-0,15
1569	1526	56,40	-13,36	1560	6,47	-0,92
1587	1607	-24,87	5,30	1588	-0,78	-0,03
1605	1622	-22,19	5,03	1608	-1,85	0,06
1608	—	—	—	1631	-17,07	1,81
1684	1677	8,38	-1,72	1684	-0,39	-0,04
2854	2853	-0,03	—	2830	25,35	-4,64
2860	2993	-16,46	34,98	2865	-1,53	-0,04
2907	3206	-356,22	58,77	2912	-0,03	—
2923	2904	21,09	-2,78	2922	2,92	-0,61
2933	2891	51,08	-9,21	—	—	—
2940	2932	10,75	-2,83	2943	-6,40	1,10
2950	2890	68,58	-9,62	2957	-9,31	1,93
2978	3118	-169,06	29,15	2981	-2,67	0,17
3006	3041	-36,03	0,74	3008	-6,33	0,77
3024	3023	-3,68	4,47	—	—	—
3033	3129	-114,49	17,86	3038	-9,16	1,56
3038	3012	26,40	-0,76	3048	-9,67	1,48
3042	3052	-0,73	-9,31	—	—	—
3049	3036	13,16	-0,04	3061	-9,52	1,36
3057	3072	-15,94	0,85	—	—	—
3071	3104	-37,94	5,20	3080	-8,99	1,16
3077	3002	101,56	-26,09	—	—	—
3081	3150	-76,57	7,58	—	—	—
3182	3751	-755,00	187,62	3239	-65,51	19,13

Fonte: Elaborado pelo autor.

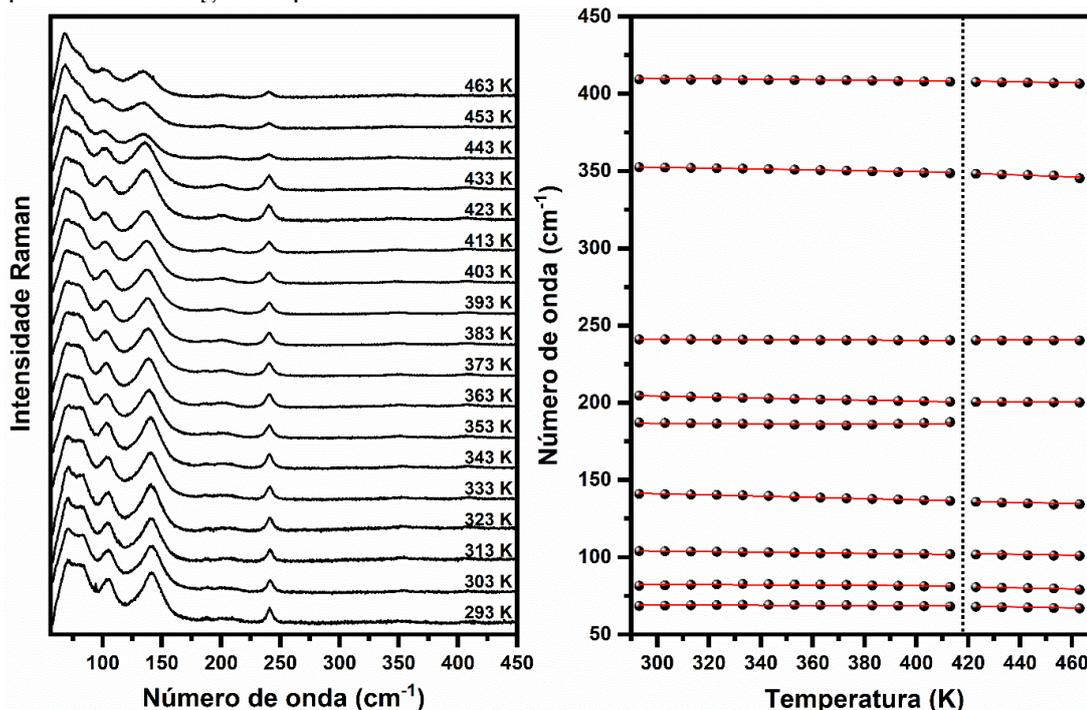
3. 5 Espectroscopia Raman em Altas Temperaturas

Nessa seção serão apresentadas as propriedades vibracionais e estruturais da glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas. O estudo de cristais moleculares (por exemplo, aminoácidos e peptídeos) em altas temperaturas é importante, pois tais materiais podem apresentar instabilidades na sua estrutura cristalina devido à presença das ligações de hidrogênio. Como é sabido, a estabilidade do cristal está relacionada com a maneira com o as ligações de hidrogênio estão dispostas, e eventuais modificações dessas ligações induzem mudanças na estrutura cristalina e na conformação da molécula no cristal. Portanto, nessa seção serão apresentados os resultados dos experimentos de difração de raios-X e espectroscopia Raman em altas temperaturas, analisando-se o comportamento estrutural e conformacional do cristal de glicil-L-fenilalanina.

Na Figura 35, apresenta-se a evolução dos espectros Raman do cristal glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 80 e 450 cm^{-1} para as temperaturas entre 293 e 463 K, em intervalos de 10 K. São observados dois principais efeitos em quase todas as bandas: a diminuição da intensidade e o aumento da largura de linha. Outras grandes mudanças até a

temperatura de 463 K não foram verificadas. É possível que ocorra o desaparecimento de ao menos uma banda, de baixa intensidade. Trata-se da banda observada na frequência de 187 cm^{-1} , que desaparece a 413 K. Na Figura 35, temos o ajuste dos modos observados nos espectros em função da temperatura. Os ajustes lineares foram feitos utilizando-se uma equação do tipo $\omega = \omega_0 + \alpha T$, onde ω é o número de onda em uma temperatura T qualquer, ω_0 é o número de onda na temperatura ambiente, e α é a inclinação da curva ω .

Figura 35: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 80 e 450 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Diferentemente do que acontece com os modos Raman do cristal durante o resfriamento, já discutido na seção anterior, sob altas temperaturas essa região apresenta-se sem modificações significativas, sugerindo, a princípio, uma estabilidade da estrutura. Além disso, a partir do comportamento dessas bandas de baixa energia, também seria possível inferir sobre a decomposição do cristal em altas temperaturas e a força das ligações de hidrogênio. De fato, em um estudo comparativo realizado entre a L-alanina, a L-treonina e a taurina, observou-se um maior valor $d\omega/dT$ dos modos de baixa frequência para a L-alanina, o que foi interpretado como consequência do maior enfraquecimento das ligações intermoleculares entre os três materiais durante o aquecimento (Cavaignac *et al.*, 2016). Compatível com essa interpretação, a L-alanina apresenta uma menor temperatura de decomposição, quando comparada com a

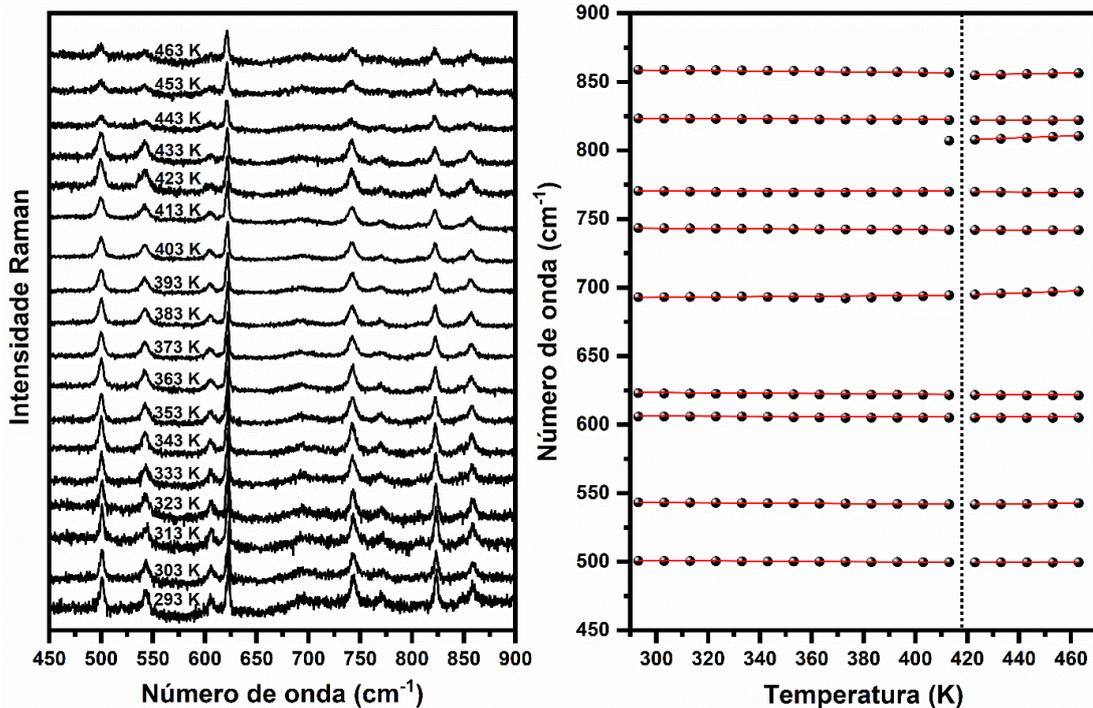
taurina (picos endotérmicos aparecem para a L-alanina a 300 °C e para a taurina a 340 °C (Lima *et al.*, 2013)), embora a mesma argumentação não seja válida para a L-treonina, que se decompõe em aproximadamente 280 °C. Assim, outros fatores seriam importantes para se determinar precisamente a temperatura de decomposição desses materiais.

Como será visto mais adiante, os experimentos de análise térmica mostraram que para a glicil-L-fenilalanina existe um pico associado à decomposição localizado entre 190 e 210 °C, o que significa uma temperatura de decomposição bem inferior à dos três aminoácidos citados no parágrafo anterior. Se forem comparados os valores de $d\omega/dT$ da glicil-L-fenilalanina com a L-alanina, que apresenta valores de $-0,096 \text{ cm}^{-1}/\text{K}$ para a banda em 109 cm^{-1} , $-0,089 \text{ cm}^{-1}/\text{K}$ para a banda em 119 cm^{-1} e $-0,073 \text{ cm}^{-1}/\text{K}$ para a banda localizada em 145 cm^{-1} (para a glicil-L-fenilalanina observou-se $0,02 \text{ cm}^{-1}/\text{K}$ para a banda em 97 cm^{-1} , $-0,04 \text{ cm}^{-1}/\text{K}$ para a banda em 111 cm^{-1} e $-0,02 \text{ cm}^{-1}/\text{K}$ para a banda localizada em 154 cm^{-1}) percebe-se que, em média, a variação da frequência das bandas de baixa energia é bem maior na L-alanina. Seria esperado, então, um maior enfraquecimento das ligações de hidrogênio na L-alanina e uma menor temperatura de decomposição para ela, quando comparada com o cristal estudado nesse capítulo. Isso, entretanto, não acontece. Significa que outros fatores influem fortemente na temperatura de decomposição da glicil-L-fenilalanina, além da intensidade das ligações de hidrogênio.

Na Figura 36, apresenta-se uma série de espectros Raman da glicil-L-fenilalanina na região espectral entre 450 e 900 cm^{-1} , onde é possível observar a largura de linha das bandas e o surgimento de um modo em torno de 410 K . As bandas em 501 ($\delta_{OUT}C5C7C11C6$) e 543 cm^{-1} ($\tau H2N2C2C1 + \tau N1C1C2N2 + \delta_{OUT}O1C1N2C2$) têm intensidades relativamente altas e, com o aumento da temperatura, as bandas tornam-se mais largas e as suas intensidades diminuem. Comportamentos semelhantes são observados para outros modos nessa região espectral, como o modo em 606 cm^{-1} ($\delta C7C8C9 + \delta C9C8C7 + \delta C11C10C9$), o modo em 623 cm^{-1} ($\nu C4C3 + \delta O1C2N2 + \delta O3C4O2 + \delta O2C4C3$) e os modos em 693 ($\nu C1C2 + \delta O1C2N2$) e 771 cm^{-1} , que foi classificado tentativamente como $\tau H3AC3C4O2 + \tau H5BC5C6C7 + \delta_{OUT}O3C3O2C4$. Observa-se ainda, próximo à banda em 823 cm^{-1} ($\nu C5C6 + \delta C10C9C8$), o aparecimento de uma banda em 807 cm^{-1} de baixa intensidade, que posteriormente se desloca para maior número de onda como consequência do aquecimento. As bandas nessa região, que envolvem modos de deformação, os chamados *bendings* (em inglês), via de regra não se modificam bastante em muitas transições de fase. Um exemplo importante que confirma esse fato foi o estudo realizado em um cristal de L-alanina deuterada (L-alanina-

d7), no qual todos os hidrogênios foram trocados por deutério (Souza, de *et al.*, 2007). Embora tenham ocorrido modificações relevantes nos modos de baixa frequência, juntamente com modificações observadas nas dimensões N-D, D...O, C-D e ângulo C-C-C por experimentos de difração de nêutrons e espalhamento inelástico de nêutrons, não foi observada grande modificação na região espectral entre 300 e 1000 cm^{-1} (Souza, de *et al.*, 2007). Aqui também, no caso da glicil-L-fenilalanina, quase nenhuma modificação foi observada, confirmando as poucas modificações verificadas nessa região espectral, ocorra transição de fase estrutural ou não.

Figura 36: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 450 e 900 cm^{-1} .

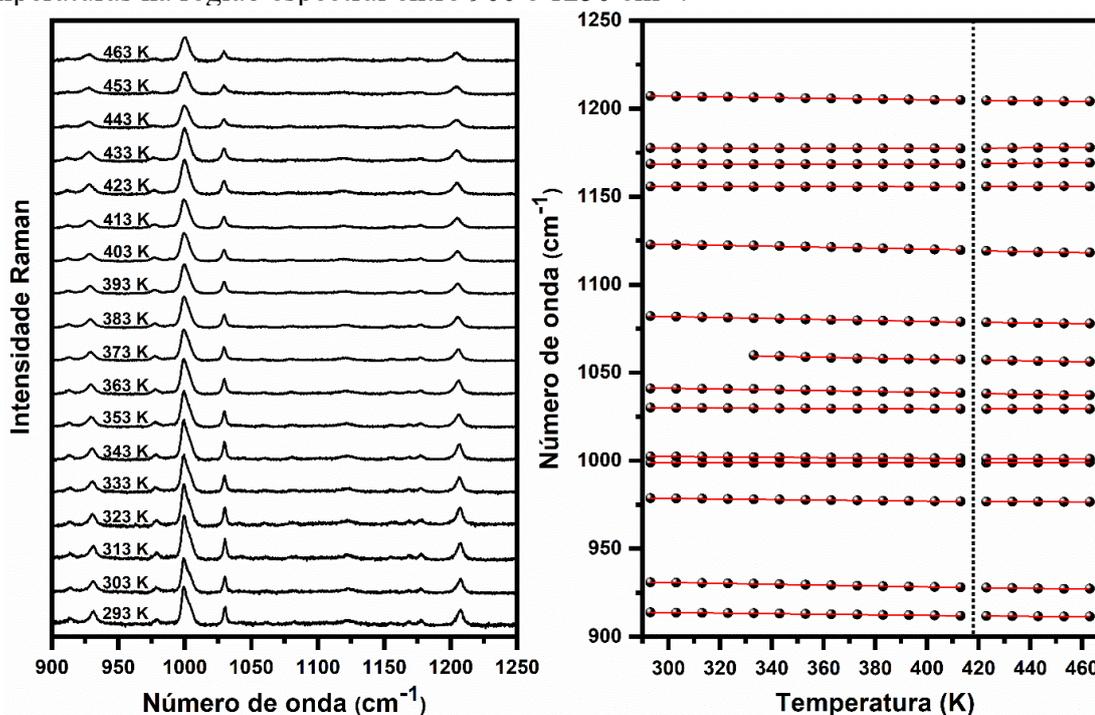


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 37, apresenta-se a região espectral entre 900 e 1250 cm^{-1} , onde podemos destacar a presença de muitos modos de baixa intensidade entre 1050-1200 cm^{-1} , sendo pouco visíveis em temperatura ambiente. Como a maioria dos modos ativos no espectro Raman, com o aquecimento ocorre um aumento da largura de linha das bandas. Nesta região, podemos destacar os modos em 914 cm^{-1} , associado com $\nu\text{C1C2} + \tau\text{H7C7C8C9} + \tau\text{H9C9C10C11} + \tau\text{H11C11C10C9}$, em 931 cm^{-1} ($\nu\text{C1C2} + \tau\text{H7C7C8C9} + \tau\text{H9C9C10C11} + \tau\text{H11C11C10C9}$), e em 909 cm^{-1} , associado com a vibração $\nu\text{C1C2} + \tau\text{H7C7C8C9} + \tau\text{H9C9C10C11} + \tau\text{H11C11C10C9}$. Em torno de 1003 cm^{-1} (νN1C1) são observados dois modos muito próximos

e, com o aumento da temperatura, notamos um ligeiro deslocamento da banda em 1003 cm^{-1} . Também temos os modos de baixa intensidade em 979 cm^{-1} ($\tau\text{H7C7C8C9} + \tau\text{H8C8C9C10} + \tau\text{H10C10C11C6} + \tau\text{H11C11C10C9} + \tau\text{C6C11C10C9}$) e 1030 cm^{-1} ($\nu\text{C10C9} + \nu\text{C9C8} + \delta\text{C7C8C9} + \delta\text{H8C8C9}$) que sofrem poucas mudanças, como uma pequena redução nas suas intensidades. Destaca-se ainda o modo em torno de 1207 cm^{-1} (νC5C6), que tem uma diminuição nas suas intensidades, não apresentando grande variação na sua largura de linha. Essa também é uma região em que não aparecem grandes modificações nos espectros Raman nos estudos de experimentos vibracionais em cristais de aminoácidos e peptídeos. Por exemplo, em um estudo minucioso realizado em um cristal de L,L-difenilalanina (Silva Filho, da *et al.*, 2018), com experimentos realizados em diferentes geometrias de espalhamento, uma impressionante estabilidade das bandas foram verificada mesmo o espectro Raman na região de baixas frequências apresentando importantes modificações. Assim, de uma maneira geral, não são observadas grandes mudanças na região $900 - 1250\text{ cm}^{-1}$, apenas a sobreposição de dois modos em torno de 410 K e o deslocamento dos modos para menores números de onda.

Figura 37: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 900 e 1250 cm^{-1} .

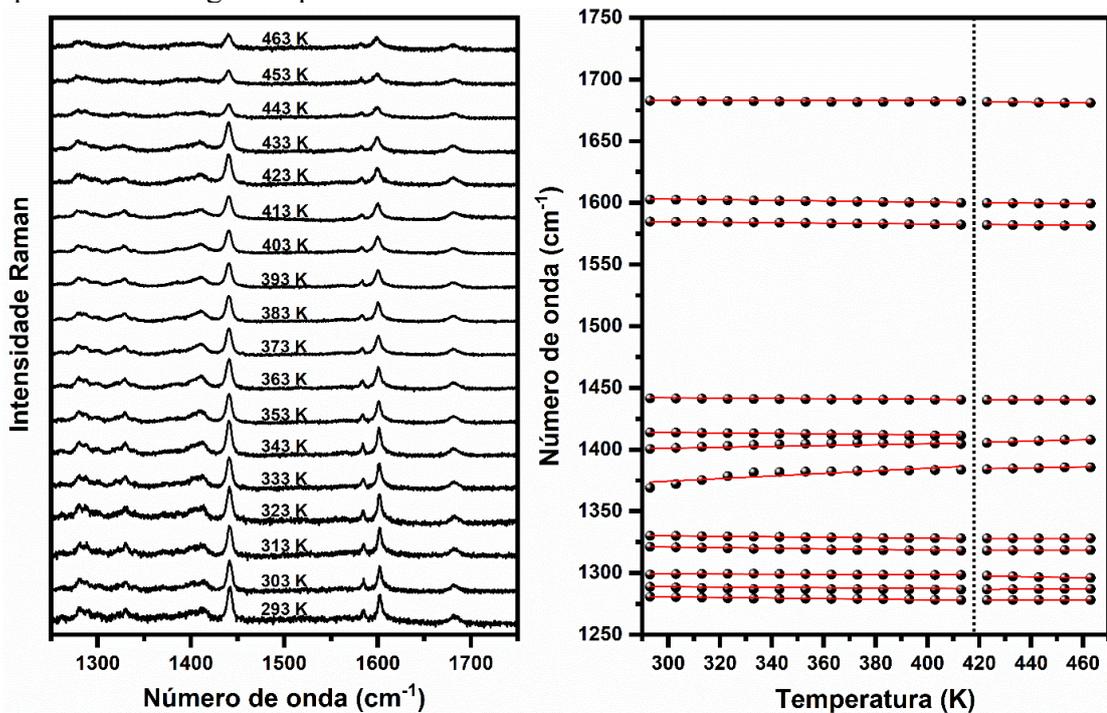


Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral de $1250-1750\text{ cm}^{-1}$ são observados doze modos normais de vibração. Aqueles em torno de 1300 cm^{-1} encontram-se muito próximos uns dos outros com

intensidades bastante baixas (Figura 38). Podemos destacar os modos em 1281 cm^{-1} ($\delta\text{H3AC3N2}$), 1289 cm^{-1} ($\tau\text{H3AC3C4O2} + \tau\text{H5AC5C6C7}$) e 1299 cm^{-1} ($\delta\text{H1AC1N1} + \tau\text{H1AC1C2N2} + \tau\text{H1BC1C2N2}$), cujas intensidades são baixas, bem como os modos em 1321 cm^{-1} ($\nu\text{C7C8} + \nu\text{C6C11} + \nu\text{C9C8} + \nu\text{C11C10}$) e 1330 cm^{-1} ($\delta\text{H7C7C8} + \delta\text{H11C11C10} + \tau\text{H3AC3C4O2}$), que não apresentam mudanças significativas com o aumento da temperatura, apenas um deslocamento para o menor número de onda. A título de comparação, em um outro cristal de dipeptídeo anteriormente estudado, a L,L-difenilalanina, observou-se modificações quantificáveis na temperatura de transição de fase nessa região espectral, em particular com as bandas registradas entre 1400 e 1500 cm^{-1} . Por coincidência, no cristal de glicil-L-fenilalanina aqui estudado, aparentemente ocorre o desaparecimento de um modo, embora tal conclusão não possa ser feita com segurança absoluta, haja vista que as bandas aí observadas são de muito baixa intensidade. De qualquer maneira, aparentemente há alguma modificação nos espectros Raman entre 410 e 420 K .

Figura 38: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 1250 e 1750 cm^{-1} .



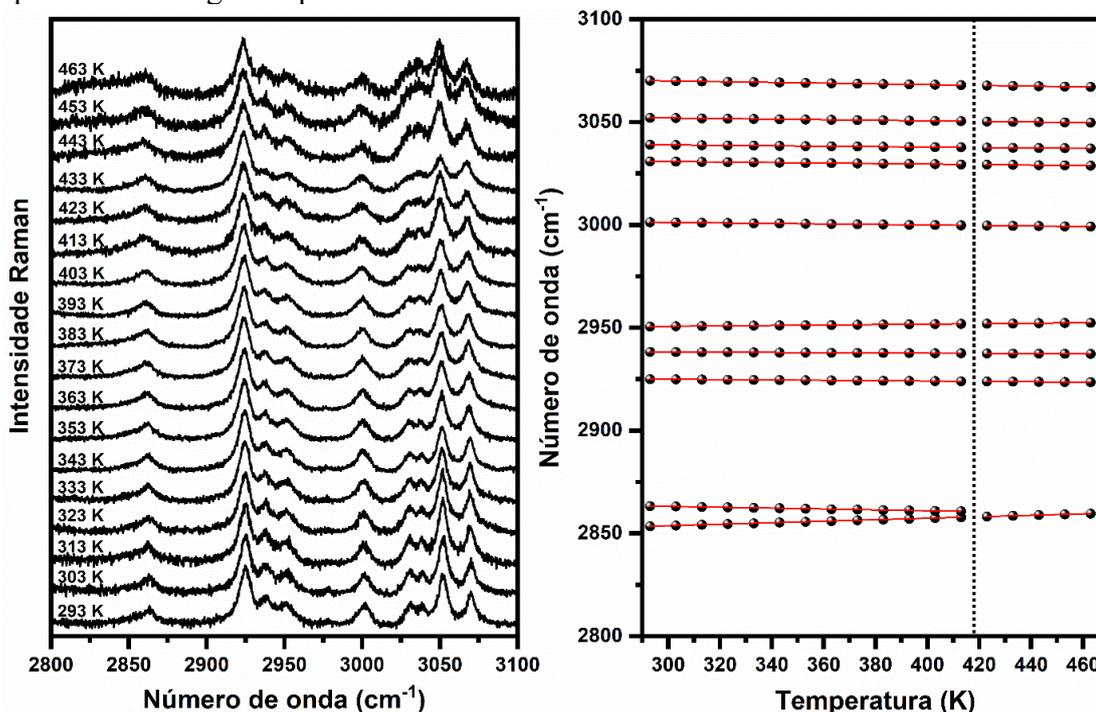
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região de $2800\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ são observados dez modos, conforme pode-se verificar na Figura 39. A intensidade das bandas vai diminuindo durante o aquecimento, sendo que a relação sinal-ruído nos espectros obtidos nas três maiores temperaturas é claramente bem

inferior aos obtidos em outras temperaturas. Podemos destacar, a princípio, os modos em 2854 e 2863 cm^{-1} ($\nu\text{C5H5A} + \nu\text{C5H5B}$) que se sobrepõem a 410 K, onde temos uma banda mais intensa e um aumento na sua largura de linha. Também temos os modos em 2925, 2938 e 2951 cm^{-1} , que são bandas muito próximas e mantêm-se estáveis durante o aquecimento. Quando o material sofre transição de fase, em particular cristais de aminoácidos e dipeptídeos, nota-se mudanças importantes nessa região de maior número de onda. A principal razão para justificar tal fato é que nessa região encontram-se vibrações associadas a estiramentos C-H, estiramentos O-H e estiramentos N-H, como já comentado anteriormente. Como consequência, se ocorre uma transição de fase envolvendo ligações de hidrogênio, é muito provável que mudanças nos espectros Raman ocorram nessa região. Assim, no estudo realizado no dipeptídeo L,L-difenilalanina em condições de altas temperaturas, notou-se inversões de intensidades, surgimento de bandas, união de modos, etc., tudo indicando a ocorrência de uma transição de fase. O estudo aqui apresentado, por outro lado, mostra uma boa estabilidade de todas as bandas, confirmando o comportamento das bandas de baixo número de onda, implicando, portanto, na estabilidade estrutural do cristal.

Um resumo quantitativo dos resultados obtidos a partir dos espectros da glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas é fornecido na Tabela 10.

Figura 39: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região espectral entre 2800 e 3100 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 10: Ajustes dos números de ondas experimentais da glicil-L-fenilalanina entre 290 e 470 K na região espectral entre 80 e 3200 cm^{-1} .

ω_{Exp} (cm^{-1})	290 K < T < 410 K		410 K < T < 470 K	
	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)	ω_0 (cm^{-1})	α (cm^{-1}/K)
69	70	0,00	78	-0,02
82	85	-0,01	97	-0,04
104	109	-0,02	111	-0,02
141	153	-0,04	154	-0,04
187	188	0,00	—	—
205	214	-0,03	205	-0,01
241	243	-0,01	241	0,00
353	362	-0,03	376	-0,06
409	413	-0,01	418	-0,02
501	503	-0,01	500	0,00
543	547	-0,01	544	0,02
606	609	-0,01	605	0,00
623	626	-0,01	625	-0,01
693	692	0,00	670	0,06
744	747	-0,01	743	0,00
771	771	0,00	777	-0,02
807	—	—	780	-0,07
823	826	-0,01	823	0,00
859	864	-0,02	838	0,04
914	919	-0,02	915	-0,01
931	938	-0,03	935	-0,02
979	983	-0,02	979	0,00
999	999	0,00	997	0,01
1003	1006	-0,01	1003	-0,01
1030	1032	-0,01	1029	0,00
1041	1048	-0,02	1048	-0,02
1060	1069	-0,03	1068	-0,03
1082	1090	-0,03	1087	-0,02
1123	1131	-0,03	1131	-0,03
1156	1156	0,00	1155	0,00
1169	1168	0,00	1164	0,01
1178	1178	0,00	1173	0,01
1207	1213	-0,02	1211	-0,01
1281	1286	-0,02	1277	0,00
1289	1293	-0,02	1281	0,01
1299	1302	-0,01	1318	-0,05
1321	1329	-0,03	1314	0,01
1330	1336	-0,02	1328	0,00
1369	1343	0,11	1368	0,04
1401	1391	0,04	1378	0,06
1414	1421	-0,02	—	—
1442	1444	-0,01	1443	-0,01
1585	1591	-0,02	1588	-0,01
1603	1609	-0,02	1605	-0,01
1683	1684	-0,01	1694	-0,03

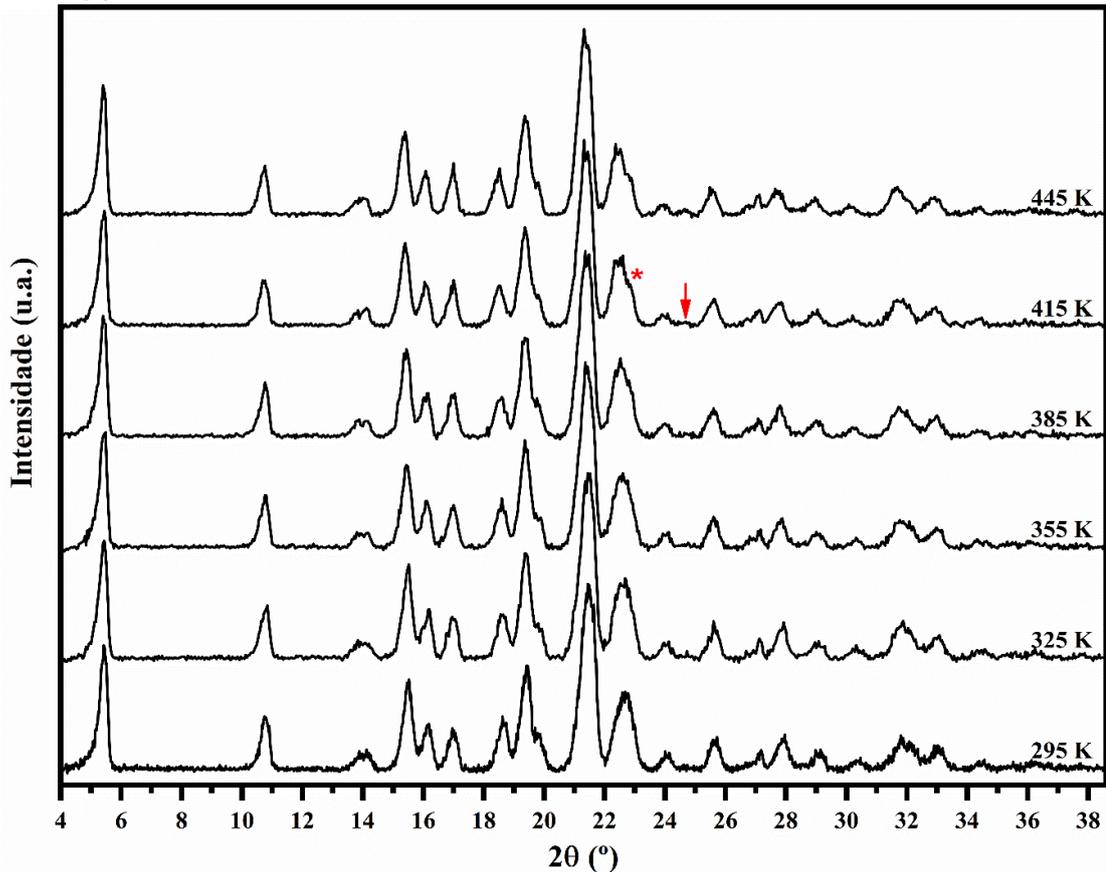
2854	2843	0,04	2843	0,04
2863	2870	-0,02	—	—
2925	2928	-0,01	2928	-0,01
2938	2940	-0,01	2940	-0,01
2951	2947	0,01	2947	0,01
3001	3005	-0,01	3005	-0,01
3031	3034	-0,01	3035	-0,01
3039	3042	-0,01	3042	-0,01
3052	3056	-0,01	3056	-0,01
3070	3075	-0,02	3075	-0,02

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.6 Difração de Raios-X e Experimentos Térmicas a Altas Temperaturas

Com a finalidade de complementar os resultados de espectroscopia em altas temperaturas, foram realizados experimentos de difração de raios-X da glicil-L-fenilalanina, cujos difratogramas estão mostrados na Figura 40, além de experimentos de análise térmica. A amostra foi aquecida de 295 até 445 K em intervalos de 30 K. Foram observadas mudanças sutis entre 22° e 26° a 415 K, onde temos a separação de dois picos em torno de 23° e o aumento de intensidade do pico a 25°. A 445 K é possível observar ambos os picos mais bem definidos nesta temperatura. Portanto, há pequenas mudanças que indicam mudanças sutis no cristal do dipeptídeo. A 463 K foi observada amorfização da amostra, como observado nos experimentos de espectroscopia Raman.

Figura 40: Difratogramas de raios-X da glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas na região entre 4 e 38 °.



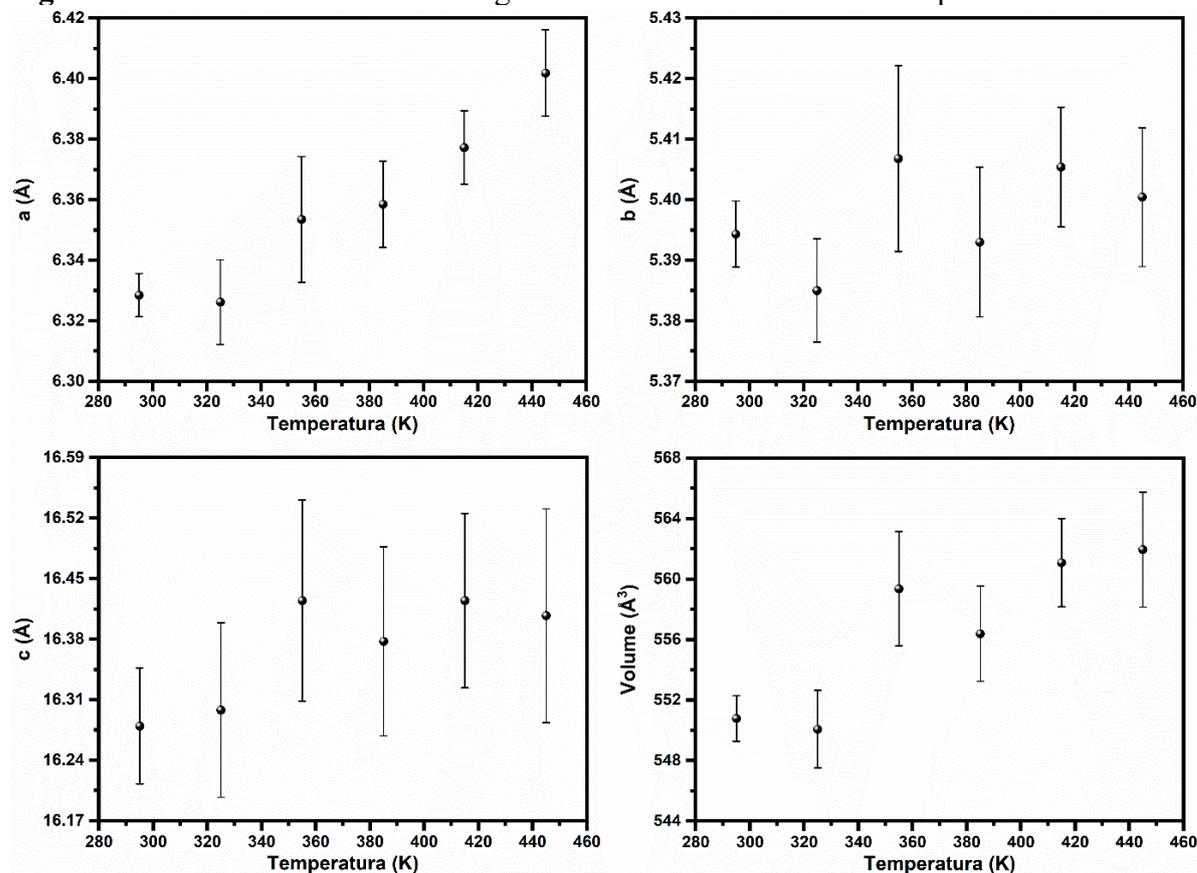
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 41, apresenta-se a variação dos parâmetros de rede em função da temperatura. A partir do refinamento dos difratogramas de raios-X foi feita a análise dos parâmetros de rede, sendo possível determinar os coeficientes de expansão térmica $\alpha(a) = 7,74 \times 10^{-5} \text{ \AA}/^\circ\text{C}$, $\alpha(b) = 0,75 \times 10^{-5} \text{ \AA}/^\circ\text{C}$ e $\alpha(c) = 5,23 \times 10^{-5} \text{ \AA}/^\circ\text{C}$ e o coeficiente de dilatação volumétrica $\gamma(V) = 13,51 \times 10^{-5} \text{ \AA}^3/^\circ\text{C}$. Podemos destacar o aumento de 1,16% do parâmetro a , sendo a direção de maior expansão do cristal em função da temperatura. O parâmetro b sofre uma variação de 0,11% do seu tamanho original, portanto, não tendo muitas mudanças nessa direção. O parâmetro c tem um aumento de 0,78% do seu tamanho original e o seu volume tem uma expansão de 7,47% do volume inicial. Ao realizar o experimento de volta, observou-se que o processo é reversível, ou seja, o difratograma e os parâmetros de rede iniciais foram recuperados.

Portanto, pelo experimento de difração de raios-X, utilizando-se os parâmetros refinados em altas temperaturas, observa-se que a estrutura cristalina não sofre mudanças que indiquem transição de fase estrutural. Porém, no experimento de espectroscopia Raman observam-se algumas mudanças em torno de 413 K em certas regiões do espectro, com o

aparecimento e desaparecimento de modos, como aquele a 187 cm^{-1} , indicando, possivelmente, uma mudança conformacional. A amorfização da amostra acontece a 463 K .

Figura 41: Parâmetros estruturais da glicil-L-fenilalanina em altas temperaturas refinadas.

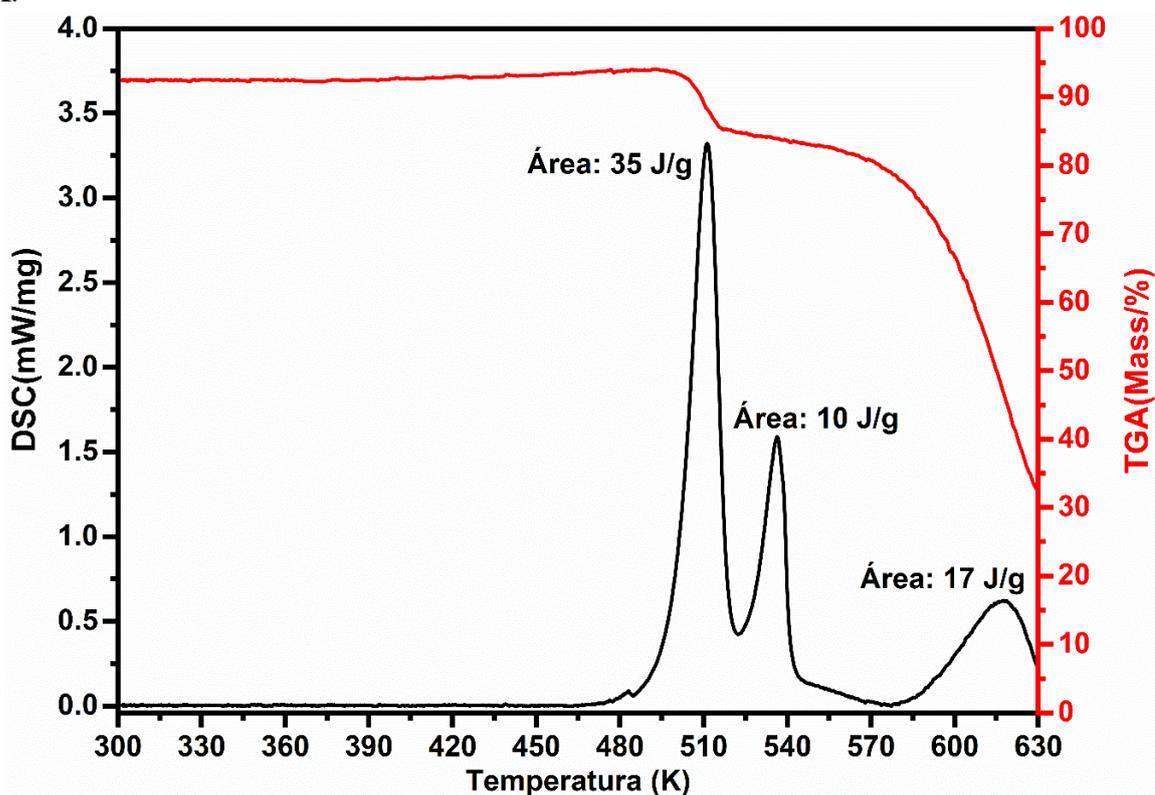


Fonte: Elaborado pelo autor.

Como análise complementar ao estudo da glicil-L-fenilalanina, realizou-se experimentos de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TGA). Tais tipos de experimentos podem fornecer importantes informações acerca da estabilidade dos materiais, mostrar transições de fase estrutural, transições de fase cristal-amorfo, entre outras. Na Figura 42 apresentam-se experimentos de DSC (curva preta) e TGA (curva vermelha) desde a temperatura ambiente até a temperatura de 630 K . Do experimento de DSC percebe-se que até cerca de 463 K não ocorre nenhuma modificação digna de nota. É curioso que tanto nos experimentos de espalhamento Raman quanto nos experimentos de difração de raios-X, discretas modificações – que, entretanto, não estariam associadas a transição de fase estrutural – foram observadas em cerca de 418 K . Desta forma, o experimento de DSC mostra que de fato não há modificação na estrutura até a temperatura de 470 K . Nessa última temperatura, por seu turno, o experimento de TGA indica o começo da decomposição

do material. Tal decomposição ocorreria em duas etapas, até cerca de 543 K e continuaria após a temperatura de 573 K, conforme explicitado pelo experimento de DSC. Como conclusão dessa seção, podemos afirmar que a glicil-L-fenilalanina apresenta-se estável em altas temperaturas, até a sua decomposição, ocorrendo possivelmente uma mudança conformacional em ~ 418 K.

Figura 42: Experimento de DSC e TGA realizadas na glicil-L-fenilalanina entre 300 e 630 K.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4 PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DA GLICIL-L-ÁCIDO GLUTÂMICO

Neste capítulo, serão apresentadas as propriedades estruturais e vibracionais do dipeptídeo glicil-L-ácido glutâmico (Gly-L-Glu). Serão discutidas as características estruturais do dipeptídeo, analisadas por difração de raios-X de monocristal. Em seguida, serão apresentadas as propriedades vibracionais por meio da teoria de grupos, os espectros vibracionais em condições ambiente e a atribuição dos modos com o auxílio de cálculos DFT. Por fim, serão apresentados resultados obtidos por espectroscopia Raman e difração de raios-X sob condições extremas de temperatura.

4.1 Análise Estrutural e Conformacional

A glicil-L-ácido glutâmico monohidratado, $C_7H_{12}N_2O_5 \cdot H_2O$, deve a resolução da sua estrutura no presente trabalho a partir da técnica de difração de raios-X de monocristal sendo obtido a sua estrutura cristalina, parâmetros de rede e posições atômicas ainda não catalogadas na literatura. O dipeptídeo têm estrutura monoclinica, com duas moléculas por célula unitária ($Z = 2$) e grupo espacial $P2_1(C_2^2)$. Sua estrutura cristalina foi determinada na temperatura de 298 K, cujos parâmetros de rede são: $a = 9,2352 (2) \text{ \AA}$, $b = 9,2300 (2) \text{ \AA}$, $c = 12,2371 (3) \text{ \AA}$, $\beta = 108,2050 (10)^\circ$ e $V = 990,89 (4) \text{ \AA}^3$. Também é notado na resolução da estrutura duas moléculas do dipeptídeo em posições atômicas diferentes sendo catalogadas como molécula A e B, e notasse a presença de uma molécula de água na estrutura cristalina que faz ligações de hidrogênio com as moléculas A e B. Na Tabela 11, estão apresentados os dados cristalográficos do dipeptídeo.

Tabela 11: Dados cristalográficos do dipeptídeo Gly-L-Glu.

Fórmula molecular	$C_7H_{12}N_2O_5 \cdot H_2O$
Massa molar	204,18 g/mol
Estrutura cristalina	monoclínica
Grupo espacial	$P2_1(C_2^2)$
Parâmetro de rede	$a = 9,2352 (2) \text{ \AA}$
	$b = 9,2300 (2) \text{ \AA}$
	$c = 12,2371 (3) \text{ \AA}$
	$\beta = 108,2050 (10)^\circ$
Volume da célula unitária	$990,89 (4) \text{ \AA}^3$
Nº moléculas por célula unitária (Z)	2

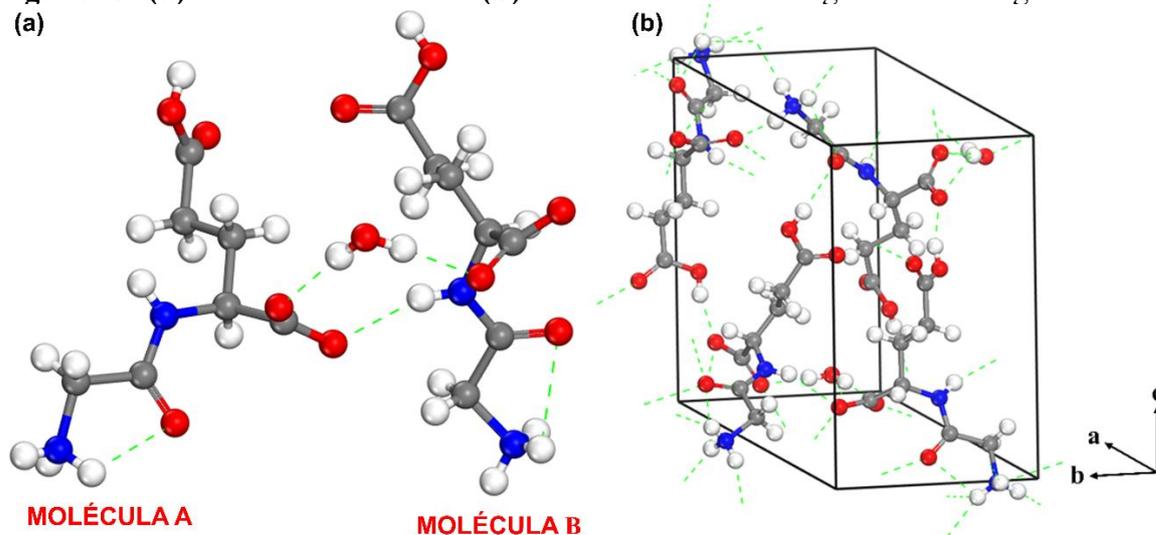
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 43, apresenta-se a imagem das moléculas e do cristal da glicil-L-ácido glutâmico visualizadas pelo programa VESTA (Momma e Izumi, 2011). Observa-se que o cristal do dipeptídeo apresenta diversas ligações entre as duas moléculas do dipeptídeo, tais como ligações do tipo $N - H \cdots O$, $O - H \cdots O$ e $C - H \cdots O$, estando relacionado com o grupo NH_3^+ e CO_2^- . Além disso, são evidentes ligações de hidrogênio do tipo $O - H \cdots O$ e $N - H \cdots O$, cujas interações ocorrem entre o dipeptídeo e a molécula de água presente no cristal. Destacam-se também as ligações de hidrogênio que compõem o grupo amida, onde ocorre a junção dos dois aminoácidos pela ligação peptídica. Nessa região da molécula, observam-se quatro ligações de hidrogênio, onde duas são do tipo $C - H \cdots O$ que ocorrem entre as duas moléculas do dipeptídeo e duas do tipo $N - H \cdots O$ que ocorrem entre o oxigênio do grupo amida com o hidrogênio do grupo amina de ambas as moléculas. As ligações que estabilizam a estrutura cristalina do dipeptídeo estão detalhadas na Tabela 12.

Tabela 12: Geometria das ligações de hidrogênio (Å, °).

$D - H \cdots A$	$D - H$ (Å)	$H \cdots A$ (Å)	$D \cdots A$ (Å)	$D - H \cdots A$ (°)
$N1B - H1BA \cdots O14A$	0,89	1,89	2,741 (3)	162
$N1B - H1BB \cdots O13B$	0,89	1,89	2,756 (3)	165
$N1B - H1BC \cdots O13A$	0,89	2,01	2,865 (3)	161
$Ow - HwA \cdots O14A$	0,85	1,90	2,740 (3)	170
$N4A - H4A \cdots O10A$	0,86	2,09	2,930 (3)	165
$N4B - H4B \cdots O13A$	0,86	2,15	2,751 (3)	155
$Ow - HwB \cdots O13B$	0,85	1,92	2,762 (3)	172
$N1A - H1AA \cdots O13B$	0,89	2,47	3,060 (3)	124
$N1A - H1AA \cdots O14B$	0,89	2,06	2,930 (3)	164
$N1A - H1AB \cdots Ow$	0,89	2,02	2,837 (3)	152
$N1A - H1AB \cdots O11B$	0,89	2,49	2,898 (3)	109
$N1A - H1AC \cdots O11A$	0,89	1,95	2,735 (2)	147
$O9A - H9A \cdots O14B$	0,82	1,80	2,583 (3)	160
$C2A - H2AB \cdots O9B'$	0,97	2,49	3,388 (7)	154
$C2B - H2BB \cdots O10A$	0,97	2,42	3,388 (4)	175

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 43: (a) estrutura molecular e (b) estrutura cristalina da glicil-L-ácido glutâmico.

Fonte: Elaborado pelo autor.

As informações do dipeptídeo foram retiradas dos dados cristalográficos e foi feita a análise estrutural, obtendo-se a conformação de menor energia do dipeptídeo. Como pode ser observado na Tabela 13, a otimização do comprimento das ligações, o ângulo das ligações e os

ângulos diedros foram feitas nas duas moléculas (A e B). No caso da molécula A, destacam-se os comprimentos das ligações do esqueleto da molécula C3A-C2A, C6A-C5A, C6A-C7A, C8A-C7A e C5A-C12A, cujos valores experimentais são 1,52, 1,53, 1,53, 1,50 e 1,53 Å respectivamente. Após a otimização, esses valores passam a ser 1,54, 1,54, 1,54, 1,51 e 1,56 Å, respectivamente, estando próximos dos dados experimentais. Isso indica que os comprimentos das ligações para a molécula A foi bem otimizados. Também foram considerados os ângulos de ligação do esqueleto da molécula A: C3A-N4A-C5A, N4A-C3A-C2A, N1A-C2A-C3A, C5A-C6A-C7A, N4A-C5A-C6A e C6A-C7A-C8A, que são 120,08°, 117,14°, 108,45°, 113,24°, 109,88° e 111,60°. Após a otimização, esses valores passam a ser 124,72°, 115,53°, 106,48°, 113,36°, 112,37° e 112,11°, respectivamente. Os ângulos diedrais C5A-N4A-C3A-C2A, C3A-N4A-C5A-C6A, N4A-C3A-C2A-N1A, C7A-C6A-C5A-N4A e C5A-C6A-C7A-C8A apresentam valores experimentais de 175,84°, 164,64°, 172,74°, -66,76° e 178,81°. Após a otimização, esses valores passam a ser 170,74°, 101,25°, 173,35°, -64,73° e 178,64°. Para a molécula B, também foram otimizados os dados experimentais. Os comprimentos das ligações do esqueleto, como C12B-C5B, C3B-C2B, C5B-C6B', C8B'-C7B' e C7B'-C6B', têm os tamanhos experimentais de 1,53, 1,52, 1,44, 1,48 e 1,51 Å, respectivamente. Após a otimização, esses valores assumem 1,57, 1,53, 1,54, 1,51 e 1,54 Å, respectivamente. Os ângulos de ligação C3B-N4B-C5B, N4B-C3B-C2B, N1B-C2B-C3B, N4B-C5B-C6B', C8B'-C7B'-C6B', C5B-C6B'-C7B' obtidos experimentalmente são 121,54°, 115,86°, 109,20°, 114,76°, 112,61° e 109,37° e, ao ser otimizados passam a ser 122,69°, 115,31°, 106,50°, 110,28°, 111,66° e 112,80°, respectivamente. Finalmente, os ângulos diedros C5B-N4B-C3B-C2B, C3B-N4B-C5B-C6B', N4B-C3B-C2B-N1B, N4B-C5B-C6B'-C7B' e C8B'-C7B'-C6B'-C5B experimentalmente são 179,05°, 143,31°, 169,80°, -56,15° e 177,15° e, após a otimização da estrutura, obtêm-se 171,56°, 150,58°, 166,23°, -64,84° e 179,36°, respectivamente. Portanto, ao compararmos os comprimentos das ligações, os ângulos de ligação e os ângulos diedros experimentais e otimizados das moléculas A e B do dipeptídeo Gly-L-Glu, observamos que os valores obtidos nos cálculos DFT estão próximos dos dados experimentais, o que indica que os cálculos foram bem executados e não houve alterações ou deformações nas moléculas.

Tabela 13: Tabela comparativa do comprimento, ângulo e diedral das ligações experimental e teórico da molécula do glicil-L-fenilalanina.

Comprimento das ligações (Å)			Ângulo das ligações (°)			Ângulos Diedrais (°)		
Átomos	Exp.	Calc.	Átomos	Exp.	Calc.	Átomos	Exp.	Calc.
O11A-C3A	1,22	1,23	C3A-N4A-C5A	120,08	124,72	C5A-N4A-C3A-O11A	4,31	9,07
O13A-C12A	1,25	1,25	O11A-C3A-N4A	122,78	125,85	C5A-N4A-C3A-C2A	175,84	170,74
O14A-C12A	1,25	1,26	O11A-C3A-C2A	120,08	118,63	C3A-N4A-C5A-C6A	164,64	101,25
N4A-C3A	1,33	1,33	N4A-C3A-C2A	117,14	115,53	C3A-N4A-C5A-C12A	-73,69	-137,58
N4A-C5A	1,46	1,46	N1A-C2A-C3A	108,45	106,48	O11A-C3A-C2A-N1A	-7,40	-6,83
N1A-C2A	1,47	1,50	C5A-C6A-C7A	113,24	113,36	N4A-C3A-C2A-N1A	172,74	173,35
O9A-C8A	1,31	1,35	O9A-C8A-O10A	122,67	122,17	C7A-C6A-C5A-N4A	-66,76	-64,73
O10A-C8A	1,19	1,21	O9A-C8A-C7A	112,94	112,23	C7A-C6A-C5A-C12A	169,69	174,57
C3A-C2A	1,52	1,54	O10A-C8A-C7A	124,29	125,59	C5A-C6A-C7A-C8A	178,81	178,64
C6A-C5A	1,53	1,54	N4A-C5A-C6A	109,88	112,37	O9A-C8A-C7A-C6A	-67,28	-66,36
C6A-C7A	1,53	1,54	N4A-C5A-C12A	112,31	108,58	O10A-C8A-C7A-C6A	116,42	113,35
C8A-C7A	1,50	1,51	C6A-C5A-C12A	109,13	109,42	N4A-C5A-C12A-O13A	146,57	167,06
C5A-C12A	1,53	1,56	O13A-C12A-O14A	124,57	127,48	N4A-C5A-C12A-O14A	-35,56	-14,22
O14B-C12B	1,25	1,25	O13A-C12A-C5A	116,69	115,65	C6A-C5A-C12A-O13A	-91,34	-69,96
O13B-C12B	1,25	1,26	O14A-C12A-C5A	118,70	116,86	C6A-C5A-C12A-O14A	86,54	108,75
O11B-C3B	1,22	1,24	C6A-C7A-C8A	111,60	112,11	C5B-N4B-C3B-O11B	-0,01	-6,63
N1B-C2B	1,47	1,50	C3B-N4B-C5B	121,54	122,69	C5B-N4B-C3B-C2B	179,05	171,56
N4B-C3B	1,32	1,33	O14B-C12B-O13B	123,74	126,91	C3B-N4B-C5B-C12B	-83,08	-84,82
N4B-C5B	1,46	1,46	O14B-C12B-C5B	118,11	114,62	C3B-N4B-C5B-C6B'	143,31	150,58
C12B-C5B	1,53	1,57	O13B-C12B-C5B	118,08	118,47	O14B-C12B-C5B-N4B	145,11	172,31
C3B-C2B	1,52	1,53	O11B-C3B-N4B	123,82	126,35	O13B-C12B-C5B-N4B	-37,77	-7,49
C5B-C6B'	1,44	1,54	O11B-C3B-C2B	120,32	118,31	O13B-C12B-C5B-C6B'	95,68	116,96
O1-C8B'	1,33	1,35	N4B-C3B-C2B	115,86	115,31	O11B-C3B-C2B-N1B	11,13	15,43
O9B'-C8B'	1,20	1,21	N1B-C2B-C3B	109,20	106,50	N4B-C3B-C2B-N1B	169,80	166,23
C8B'-C7B'	1,48	1,51	N4B-C5B-C12B	112,00	113,41	N4B-C5B-C6B'-C7B'	-56,15	-64,84
C7B'-C6B'	1,51	1,54	N4B-C5B-C6B'	114,76	110,28	C12B-C5B-C6B'-C7B'	171,68	168,93
—	—	—	C12B-C5B-C6B'	115,08	110,56	O1-C8B'-C7B'-C6B'	64,67	74,60
—	—	—	O1-C8B'-O9B'	122,08	122,10	O9B'-C8B'-C7B'-C6B'	-105,27	-104,38
—	—	—	O1-C8B'-C7B'	112,16	112,24	C8B'-C7B'-C6B'-C5B	177,15	179,36
—	—	—	O9B'-C8B'-C7B'	124,96	125,66	—	—	—
—	—	—	C8B'-C7B'-C6B'	112,61	111,66	—	—	—
—	—	—	C5B-C6B'-C7B'	109,37	112,80	—	—	—

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.2 Análise Vibracional e Modos Normais de Vibração

A glicil-L-ácido glutâmico tem 55 átomos por molécula, com duas moléculas por célula unitária $Z=2$, tendo um total de 110 átomos na célula unitária. São previstos 330 modos normais de vibração. O cristal da Gly-L-Glu pertence ao grupo espacial $C_2^2(P2_1)$ e, para a determinação dos modos normais de vibração, foi usado o método de sítio de simetria por Rousseau *et al.* (Rousseau *et al.*, 1981). Na tabela 3A, os sítios de simetria ocupados são:

$$C_2^2(P2_1) = \infty[aC_1(2)]. \quad (9)$$

Portanto, há um sítio de simetria local C_1 ocupado por dois átomos. Da tabela 3B (Rousseau *et al.*, 1981), observa-se que os sítios de simetria C_1 contribuem com as seguintes representações irredutíveis do grupo pontual C_2 :

$$\Gamma_{\text{Sítio}} = 3A \oplus 3B. \quad (10)$$

A representação total Γ dos modos normais de vibração, em termos das representações irredutíveis do grupo pontual C_2^2 , será dada por:

$$\Gamma_{\text{Cristal}} = 55(3A \oplus 3B), \quad (11)$$

$$\Gamma_{\text{Cristal}} = 165A \oplus 165B. \quad (12)$$

Temos o total de 330 modos normais de vibração, está distribuído em modos acústicos e modos ópticos da seguinte forma:

$$\Gamma_{\text{Acusticos}} = A \oplus 2B, \quad (13)$$

$$\Gamma_{\text{Opticos}} = 164A \oplus 163B. \quad (14)$$

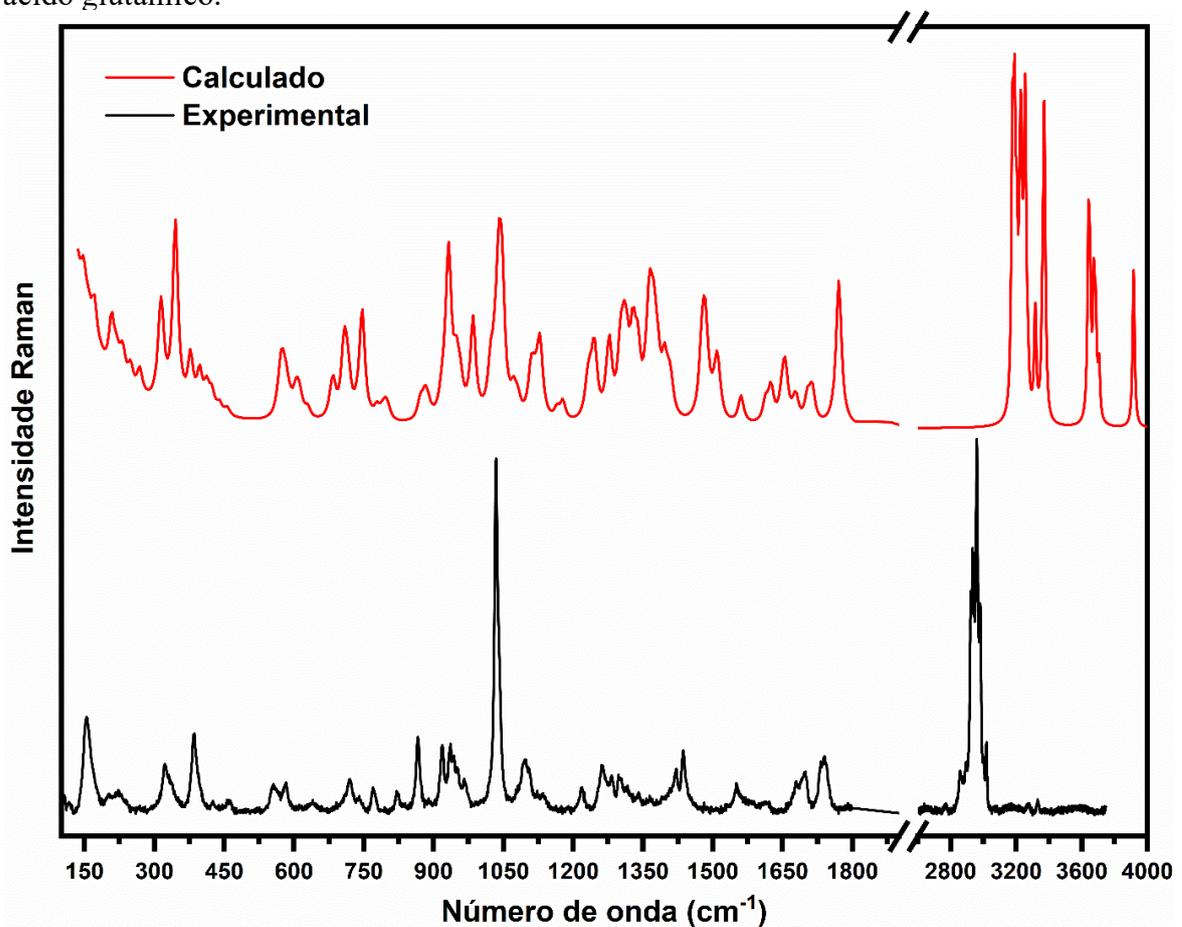
Pela tabela de caracteres do grupo C_2 , nota-se que os modos ópticos são todos ativos no Raman e IR. Dos 327 ópticos, 318 modos internos, $Z(3N-6)$, e 9 modos de rede. Dos 9 modos de rede, 6 são libracionais, $3Z$, e 3 são translacionais ($3Z-3$).

A classificação dos modos normais vibracionais observados experimentalmente foi realizada através de cálculos DFT para as moléculas do dipeptídeo utilizando o programa Gaussian. A conversão da atividade Raman para a intensidade Raman foi realizada usando o programa VEDA (Jamróz, 2013), obtendo-se as contribuições de cada vibração da molécula, considerando atribuições do arquivo PED maiores ou iguais a 10 %.

Na Figura 44, apresenta-se uma comparação entre o espectro Raman experimental e teórico da glicil-L-ácido glutâmico. Na Tabela 14, são fornecidas as atribuições dos modos normais de vibração observados experimentalmente. Na primeira e segunda coluna a tabela 14,

temos os modos vibracionais calculados (ω_{cal}) e os modos escalonados (ω_{esc}) construídos pelos resultados DFT. Na terceira coluna, temos os modos vibracionais Raman (ω_{Raman}) observados experimentalmente e, na quarta coluna, temos as atribuições dos modos normais de vibração com o seu percentual obtido no arquivo PED. São observados modos normais de vibração individuais das moléculas do dipeptídeo muito próximos uns dos outros e combinações da vibração das duas moléculas. Apesar dos resultados computacionais obtidos terem a limitação por serem realizados para uma molécula isolada, são satisfatórios devido à otimização realizada na estrutura ter uma boa convergência com os dados experimentais. Além disso, para a identificação, utilizou-se o conhecimento de modos vibracionais já observados em outros dipeptídeos e moléculas orgânicas.

Figura 44: Comparativo entre os espectros Raman experimental e calculado de glicil-L-ácido glutâmico.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As atribuições dos modos normais de vibração da glicil-L-ácido glutâmico foram feitas para frequência acima de 200 cm⁻¹, pois os cálculos DFT foram realizados para um par de moléculas zwitteriônicas do dipeptídeo, sem considerar interações entre outros pares de

moléculas presentes no cristal e que são observados na região dos modos de rede. Em 201 e 223 cm^{-1} temos modos de deformação do tipo CCC e NCC do esqueleto que ocorrem nas moléculas B e A, respectivamente. É interessante observar os modos em 267 e 314 cm^{-1} , cujas vibrações são deformações do tipo NCC e CCC que ocorrem na porção correspondente ao ácido glutâmico na molécula A. Isso também é observado nos modos 322 e 332 cm^{-1} na molécula B, onde aparecem modos associados a deformações do tipo NCC e CCC referentes apenas à porção correspondente ao ácido glutâmico. É interessante destacar o modo em 426 cm^{-1} observado na molécula e em 459 e 554 cm^{-1} da molécula, cujas vibrações são deformações do tipo NCC, estando relacionadas com a ligação peptídica. Tal vibração na ligação peptídica é característica desta região, sendo observada em 524 cm^{-1} na L,L-dileucina (Silva *et al.*, 2020), em 547 cm^{-1} na L-alanil-L-fenilalanina (Silva *et al.*, 2018) e 544 cm^{-1} na glicil-L-fenilalanina (Avelar S. Silva *et al.*, 2024). Também aparecem os modos em 564 e 582 cm^{-1} , associados a deformações que ocorrem no grupo carboxila CO_2^- da molécula B.

Na região entre 600 e 1200 cm^{-1} , destacam-se as deformações e os estiramentos observados nas moléculas dos dipeptídeos. Em 717 e 720 cm^{-1} observam-se deformações do grupo carboxila CO_2^- e, em 741 e 771 cm^{-1} , aparecem deformações fora do plano do grupo carboxila CO_2^- , nas moléculas A e B em ambos os casos. Em 866, 890 e 918 cm^{-1} são identificados os estiramentos do tipo OC e CC feitos na ligação peptídica, em ambas as moléculas. Por outro lado, os modos em 936 e 944 cm^{-1} correspondem a estiramentos e torções do esqueleto da molécula A. Adicionalmente, são evidenciados estiramentos simétricos do NC, CC e OC na molécula A em 1031, 1040 e 1079 cm^{-1} . Além disso, em 1095, 1106 e 1131 cm^{-1} observam-se torções no esqueleto da molécula do tipo HNCC e estiramento do tipo NC na molécula A. Portanto, nesta região predominam vibrações associadas ao esqueleto da molécula A, com alguns modos também presentes na molécula B.

Na faixa de frequência entre 1200 e 1800 cm^{-1} são observados diversos movimentos de dobramento, torções e estiramentos realizados pelo esqueleto das moléculas dos dipeptídeos, onde iremos observar vibrações próximas em ambas as moléculas. Em 1217 e em 1219 cm^{-1} observam-se deformações do tipo HNC e HCC em ambas as moléculas. Em 1282 cm^{-1} e 1297 cm^{-1} , são notadas deformações do tipo COH e torções do tipo HCCO realizadas pela molécula B. Além disso, destacam-se as torções do esqueleto do tipo HCCC da molécula em 1313 e 1340 cm^{-1} feitas pelas moléculas A e B. Em 1436 e 1531 cm^{-1} observa-se o dobramento do CH_3 observados nas moléculas A e B, respectivamente. Adicionalmente, destacam-se os modos em 1612 e 1621 cm^{-1} , que correspondem aos estiramentos antissimétricos do grupo carboxila CO_2^- , nas moléculas A e B, respectivamente. Também são notados o estiramento da carbonila em 1691

cm^{-1} feito pela molécula B e em 1699 cm^{-1} feito, na molécula A.

Na região entre 2800 e 3300 cm^{-1} são observados modos associados a estiramentos do tipo CH , CH_3 e H_2O , sendo observados os maiores percentuais da contribuição dos modos, segundo o arquivo PED. Em 2922 cm^{-1} é observado estiramento simétrico do grupo CH realizado pela molécula B. Em 2934 e 2980 cm^{-1} , são identificados dois modos como vibrações de estiramentos simétricos do CH_3 , realizados pela molécula A. Nessa mesma faixa, os modos em 2936 e 2960 cm^{-1} correspondem ao estiramento simétrico do CH_3 feito pela molécula B. Em 3001 e 3019 cm^{-1} temos o estiramento assimétrico do grupo CH_3 na molécula A, enquanto em 3016 cm^{-1} temos o estiramento antissimétrico do grupo CH_3 na molécula B. Nesta região, são observadas bandas mais intensas relacionadas à molécula de água (H_2O), como em 3274 cm^{-1} , onde ocorre um estiramento simétrico e em 3331 cm^{-1} aparece o estiramento antissimétrico do H_2O .

Tabela 14: Tabela de atribuição dos modos normais de vibração do dipeptídeo glicil-L-ácido glutâmico.

ω_{calc} (cm^{-1})	ω_{Esc} (cm^{-1})	ω_{Raman} (cm^{-1})	Atribuição (PED%)
3741	3576	—	vO9AH9A (100)
3739	3574	—	v _a O1H1(100)
3539	3383	—	vN1BH1BB (-33) + vN1BH1BA (66)
3538	3382	—	vN1AH1AB (-34) + vN1AH1AC (66)
3519	3364	—	vN4AH4A (95)
3507	3353	3331	vOwHwB (-35) + vOwHwA (57)
3486	3332	—	vN1BH1BB (65) + vN1BH1BA (33)
3485	3331	—	vN1AH1AB (65) + vN1AH1AC (33)
3476	3323	3274	vOwHwB (60) + vOwHwA (38)
3229	3086	—	vN1BH1BC (83) + vN4BH4B (-13)
3218	3076	—	vN1BH1BC (13) + vN4BH4B (85)
3206	3065	—	vN1AH1AA (97)
3166	3027	3019	vC2AH2AA (-36) + vC2AH2AB (64)
3165	3026	3016	vC2BH2BA (-15) + vC2BH2BB (85)
3127	2989	—	vC7B'H7BC (-13) + vC7B'H7BD (55) + vC6B'H6BC (-28)
3123	2985	3001	vC7AH7AA (68) + vC7AH7AB (-20)
3109	2971	2980	vC2AH2AA (64) + vC2AH2AB (36)
3108	2971	—	vC7B'H7BD (26) + vC6B'H6BC (62)
3096	2960	—	vC6AH6AB (37) + vC6AH6AA (-20) + vC5AH5A (32)
3084	2948	—	vC6AH6AB (-27) + vC5AH5A (65)
3081	2946	2960	vC2BH2BA (85) + vC2BH2BB (15)
3074	2939	—	vC5BH5BA (95)
3059	2924	—	vC7AH7AA (17) + vC7AH7AB (75)
3057	2922	2936	vC7B'H7BC (76) + vC7B'H7BD (18)
3045	2911	2934	vC6AH6AB (29) + vC6AH6AA (63)
3033	2899	2922	vC6B'H6BD (85)
—	—	2919	—
—	—	2893	—
—	—	2873	—
—	—	2857	—
—	—	2768	—
1759	1748	1740	vO10AC8A (82)
1758	1747	1730	vO9B'C8B' (82)
1702	1691	1699	vO11AC3A (60) + vN4AC3A (-16)
1692	1681	1691	vO11BC3B (48) + vN4BC3B (-16)
1668	1657	1679	δ H1ABN1AH1AA (48) + δ H1ACN1AH1AB (-18) + δ H1AAN1AH1AC (-13) + τ H1ABN1AC2AC3A (-12)
1666	1655	—	δ H1BBN1BH1BC (53) + δ H1BAN1BH1BB (-14) + δ H1BCN1BH1BA (-10) + τ H1BBN1BC2BC3B (-13)
1662	1651	—	δ HWAOWHwB (70)
1646	1635	—	δ H1ACN1AH1AB (54) + δ H1AAN1AH1AC (-22) + τ H1ACN1AC2AC3A (-12)
1642	1631	—	δ H1BAN1BH1BB (32) + δ H1BCN1BH1BA (-15) + δ C3BN4BH4B (16)
1637	1626	—	vN4BC3B (18) + δ H1BAN1BH1BB (26) + δ C3BN4BH4B (-10)
1614	1604	1621	vO9AAC12A (-44) + vO14AC12A (36)
1603	1592	1612	vO14BC12B (-52) + vO9ABC12B (40)
—	—	1583	—
—	—	1563	—

1550	1540	1551	$vN4AC3A (-25) + \delta H4AN4AC3A (41)$
1502	1492	1531	$\delta H1ABN1AH1AA (-10) + \delta H1AAN1AH1AC (-14) + \delta H2ABC2AH2AA (-12) + \tau H2AAC2AC3AN4A (22) + \tau H2ABC2AC3AN4A (-25)$
—	—	1442	—
1498	1488	1436	$\delta H2BBC2BH2BA (68)$
1493	1483	—	$\delta H7BDC7B'H7BC (-27) + \delta H6BDC6B'H6BC (60)$
1489	1479	—	$\delta H6ABC6AH6AA (65) + \delta H7ABC7AH7AA (-20)$
1477	1467	—	$\delta H1ABN1AH1AA (18) + \delta H1AAN1AH1AC (28) + \delta H2ABC2AH2AA (-22)$
1475	1465	—	$\delta H1BBN1BH1BC (20) + \delta H1BCN1BH1BA (39) + \delta H2BBC2BH2BA (-10)$
1473	1463	1421	$\delta H7BDC7B'H7BC (52) + \delta H6BDC6B'H6BC (27)$
1466	1457	1411	$\delta H6ABC6AH6AA (21) + \delta H7ABC7AH7AA (60)$
1402	1392	1392	$vO9AAC12A (14) + vO14AC12A (22) + \delta H5AC5AN4A (-17)$
1397	1388	1366	$vC2BC3B (-10) + \tau H2BBC2BH2BAOw (-19)$
—	—	1358	—
1388	1379	1340	$vO9ABC12B (-11) + \tau H6BDC6B'C7B'C8B' (24)$
1386	1377	—	$\delta H2ABC2AH2AA (35)$
1373	1364	—	$vO9AAC12A (15) + vO14AC12A (17) + \tau H6AAC6AC7AC8A (10)$
1367	1358	1313	$\delta H5AC5AN4A (28) + \tau H6ABC6AC7AC8A (10)$
1363	1354	1303	$vO9ABC12B (14) + \tau H5BAC5BC12BO9AB (11) + \tau H6BCC6B'C7B'C8B' (-14)$
1356	1347	1297	$\delta H1O1C8B' (-11) + \tau H5BAC5BC12BO14B (26)$
1353	1345	—	$vO14BC12B (-13) + vO9ABC12B (-13) + \delta H1O1C8B' (12) + \delta H7BCC7B'C6B' (-10)$
1349	1340	—	$vO9AC8A (-13) + \delta H9AO9AC8A (-21) + \delta H5AC5AN4A (16) + \delta H7AAC7AC8A (10)$
1330	1321	—	$\delta H2AAC2AC3A (-30) + \tau H1AAN1AC2AC3A (11) + \tau H2ABC2AC3AN4A (31)$
1329	1321	—	$vN4BC3B (10) + \delta H2BAC2BC3B (-11) + \delta N1BC2BH2BA (28)$
1320	1311	1282	$\delta N1BC2BH2BA (10) + \tau H7BDC7B'C8B'O11A (21)$
1319	1311	—	$\delta H7AAC7AC8A (22) + \tau H6AAC6AC7AC8A (11) + \tau H5AC5AN4AC3A (11) + \tau H7AAC7AC8AO9A (11)$
1307	1299	—	$\delta H6AAC6AC7A (-22) + \tau H7ABC7AC8AO9A (14)$
1301	1292	1263	$vN4BC3B (15) + \tau H2BBC2BH2BAOw (28)$
1293	1285	—	$\delta H1O1C8B' (-12) + \delta H7BCC7B'C6B' (-23) + \delta H6BCC6B'C7B' (22)$
1269	1261	—	$vN4AC3A (15) + \delta H4AN4AC3A (23) + \tau H7ABC7AC8AO9A (14)$
1265	1256	1234	$\delta H5BAC5BC6B' (31) + \tau H7BDC7B'C8B'O11A (-14) + \tau H6BCC6B'C7B'C8B' (-14)$
1237	1229	1219	$\delta H4AN4AC3A (12) + \delta H5AC5AN4A (11) + \tau H5AC5AN4AC3A (-37)$
1228	1220	—	$\delta H9AO9AC8A (23) + \delta H6AAC6AC7A (13) + \delta H7AAC7AC8A (25) + \tau H5AC5AN4AC3A (-10)$
1222	1214	1217	$\delta H1O11AC8B' (21) + \delta H5BAC5BC6B' (-15) + \delta H7BCC7B'C6B' (17)$
1170	1162	1131	$vO11AC8B' (-14) + vN4BC5B (-12) + \delta H1O11AC8B' (14) + \tau H6BDC6B'C7B'C8B' (13)$
1157	1150	—	$vO9AC8A (19) + \delta H9AO9AC8A (-17)$
1123	1115	—	$vN4BC5B (-12) + \delta H2BAC2BC3B (22) + \tau H1BCN1BC2BC3B (13)$
1122	1115	—	$\delta H2AAC2AC3A (33) + \tau H1AAN1AC2AC3A (38)$
1120	1113	1106	$vN4AC5A (-15) + \tau H1ABN1AC2AC3A (21) + \tau H1ACN1AC2AC3A (-11)$

1112	1105	—	$vN4BC5B (-13) + vC6B'C5B (14) + \delta H2BAC2BC3B (-10) + \tau H1BCN1BC2BC3B (-17)$
1106	1098	1095	$vN4AC5A (23) + vC6AC5A (-11) + \tau H1ABN1AC2AC3A (16) + \tau H1ACN1AC2AC3A (-12)$
1101	1094	—	$\tau H1BBN1BC2BC3B (25) + \tau H1BAN1BC2BC3B (-10)$
1073	1066	1079	$vO11AC8B' (16)$
1065	1058	—	$vC6AC5A (19) + vC7AC6A (-12) + \delta H7AAC7AC8A (14) + \tau H6AAC6AC7AC8A (-12)$
1040	1033	1040	$vC7AC6A (46)$
1033	1026	1034	$vC7B'C6B' (63)$
1025	1019	1031	$vN1AC2A (66)$
1016	1009	—	$vN1BC2B (65)$
978	972	967	$vC7AC6A (-14) + vC5AC12A (10) + \delta C3AN4AC5A (-10)$
951	945	951	$vN4BC5B (-11) + vC6B'C5B (-12) + vC5BC12B (11)$
943	936	944	$vN4AC5A (-16) + vC6AC5A (-13) + vC5AC12A (10) + \tau H6ABC6AC7AC8A (-12)$
931	925	936	$\delta H2AAC2AC3A (-12) + \tau H1ACN1AC2AC3A (-15) + \tau H2AAC2AC3AN4A (-29) + \delta_{OUT}O1C2AN4AC3A (20)$
927	921	918	$vO11AC8B' (11) + vC5BC12B (13)$
925	919	—	$vC2BC3B (27) + vN1BC2B (11) + \delta C2BC3BN4B (-11)$
922	915	—	$\delta H2BAC2BC3B (-11) + \delta N1BC2BH2BA (-16) + \tau H1BAN1BC2BC3B (-11) + \delta_{OUT}O11BN4BC2BC3B (-10)$
912	906	—	$vC2AC3A (-17) + vC5AC12A (13)$
912	906	890	$vC2AC3A (-17) + vC5AC12A (13)$
883	877	—	$vO9AC8A (-16) + vC8AC7A (-19) + \delta H4BN4BO13A (22)$
876	870	866	$vO11AC8B' (-14) + vC8B'C7B' (-25) + vC5BC12B (14) + \delta O14BC12BO13B (10)$
866	860	—	$vO9AC8A (-10) + vC8AC7A (-13) + \delta H4BN4BO13A (-21)$
798	793	—	$\delta O14BC12BO13B (11) + \tau H6BCC6B'C7B'C8B' (10) + \delta_{OUT}O14BC5BO13BC12B (17) + \delta_{OUT}O9B'C7B'O1C8B' (-13)$
792	787	822	$\delta O13AC12AO14A (12) + \delta_{OUT}C5AO13AO14AC12A (-32)$
785	780	—	$\delta H6AAC6AC7A (-19) + \tau H6AAC6AC7AC8A (17) + \tau H7ABC7AC8AO9A (-11)$
773	768	—	$\delta H6BCC6B'C7B' (-12) + \delta O14BC12BO13B (13) + \tau H7BDC7B'C8B'O11A (10) + \tau H6BCC6B'C7B'C8B' (-14) + \delta_{OUT}O14BC5BO13BC12B (14)$
743	738	771	$\delta_{OUT}O9B'C7B'O11AC8B' (22)$
741	736	—	$\delta_{OUT}O10AC7AO9AC8A (14)$
732	727	—	$\delta O13BHWAOw (29) + \tau C12BO13BHWAOw (-10)$
712	707	—	$vC2AC3A (-16) + \delta O11AC3AN4A (13)$
706	701	741	$\delta_{OUT}O10AC7AO9AC8A (-21) + \delta_{OUT}C5AO13AO14AC12A (-16)$
702	698	—	$vC2BC3B (13) + \delta O11BC3BC2B (26)$
680	676	720	$\delta O14BC12BO13B (10) + \delta_{OUT}O14BC5BO13BC12B (-26)$
676	672	717	$\delta O13AC12AO14A (18) + \delta O11AC3AN4A (12)$
625	621	—	$\delta O11AC3AN4A (13) + \tau H4AN4AC3AC2A (47) + \delta_{OUT}O11AC2AN4AC3A (-22)$
612	607	640	$\delta OwHWBO14A (28) + \delta O13BHWAOw (-10) + \delta O10AC8AO9A (10)$
606	602	582	$\delta O9B'C8B'O11A (38) + \tau H1O11AC8B'C7B' (25) + \delta_{OUT}O11BN4BC2BC3B (10)$

599	596	—	$\delta O10AC8AO9A (44) + \tau H9AO9AC8AC7A (-25)$
587	583	—	$\tau H1O11AC8B'C7B' (-32) + \delta_{OUT}O11BN4BC2BC3B (21)$
581	577	—	$\delta C5AC12AO14A (-18) + \tau H9AO9AC8AC7A (-15)$
579	575	564	$\delta O9B'C8B'O11A (-18) + \tau H1O11AC8B'C7B' (20) + \delta_{OUT}O11BN4BC2BC3B (15)$
571	568	—	$\delta O10AC8AO9A (14) + \tau H9AO9AC8AC7A (37) + \delta_{OUT}O1C2AN4AC3A (-10)$
567	564	554	$\delta C2BC3BN4B (10) + \delta C5BC12BO13B (13) + \tau H1O11AC8B'C7B' (12)$
560	557	—	$\delta_{OUT}O11AC2AN4AC3A (-11)$
454	451	—	$\delta O9AC8AC7A (40)$
437	434	—	$\delta O1C8B'C7B' (69) + \tau H7BCC7B'C8B'O11A (-10)$
421	418	—	$\delta O11BC3BC2B (12) + \delta_{OUT}C6B'N4BC12BC5B (21)$
410	407	—	$\delta O9AC8AC7A (-32) + \delta C6AC5AN4A (21)$
395	392	—	$\delta N1AC2AC3A (-24) + \delta C5AC12AO14A (19)$
375	373	459	$\delta C2BC3BN4B (10)$
343	341	426	$\delta C3AN4AC5A (-12) + \delta C2AC3AN4A (-13)$
342	340	395	$\nu C5BC12B (-11) + \tau C2BC3BN4BC5B (16)$
314	312	385	$\delta C2AC3AN4A (-14) + \delta N1AC2AC3A (26) + \delta_{OUT}C6AC12AN4AC5A (11)$
310	308	332	$\delta N4BC5BC12B (10) + \delta C5BC12BO13B (21)$
267	265	322	$\delta C6B'C5BC12B (20) + \delta C7B'C6B'C5B (21)$
247	245	314	$\delta N4AC5AC12A (-16) + \delta C7AC6AC5A (17)$
231	230	267	$\delta C8AC7AC6A (16) + \delta N4AC5AC12A (14) + \delta C6AC5AN4A (11)$
227	226	240	$\tau H1BBN1BC2BC3B (18) + \tau H1BAN1BC2BC3B (23) + \tau H1BCN1BC2BC3B (28)$
217	216	223	$\delta C8AC7AC6A (11) + \delta C6AC5AN4A (10) + \delta C7AC6AC5A (14)$
207	205	201	$\delta C8B'C7B'C6B' (14) + \delta C6B'C5BC12B (-12) + \delta C7B'C6B'C5B (14)$
184	183	—	Modos de rede
170	169	—	Modos de rede
157	156	167	Modos de rede
147	146	153	Modos de rede
121	120	118	Modos de rede
117	116	—	Modos de rede
110	110	103	Modos de rede
100	100	—	Modos de rede
97	96	—	Modos de rede
87	86	—	Modos de rede

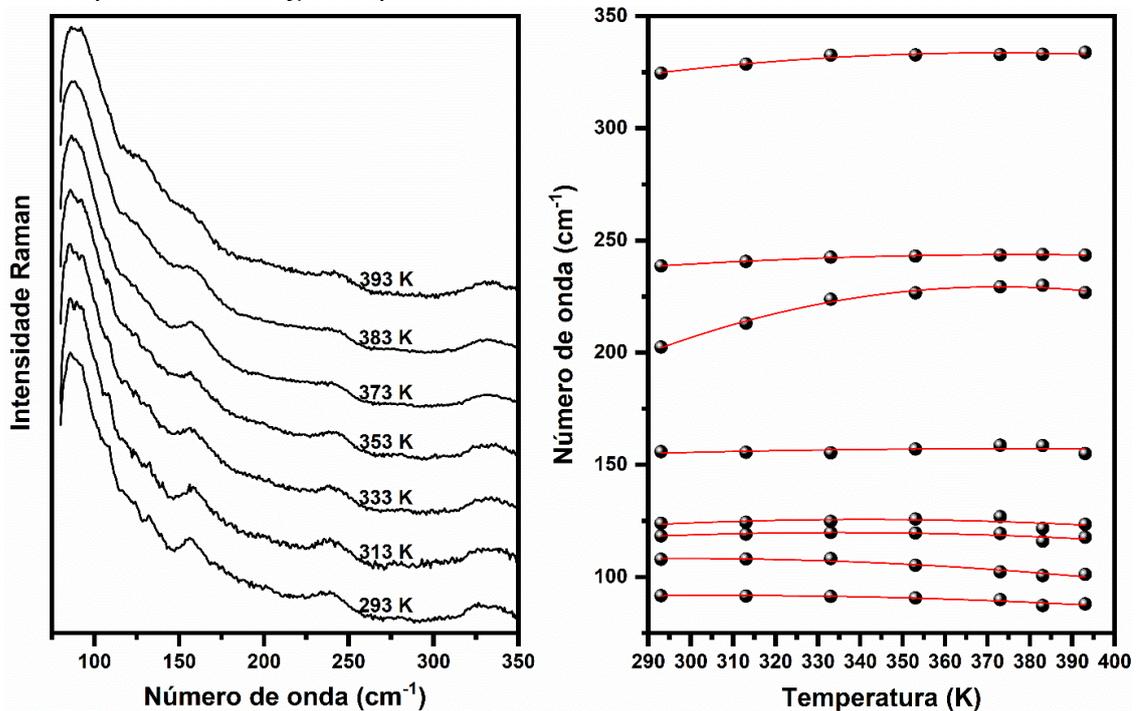
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Espectroscopia Raman em Altas temperaturas

Nesta seção, serão apresentados os espectros Raman em altas temperaturas do cristal da Gly-L-Glu no intervalo de 293 á 393 K. Na faixa de frequência entre 80 e 200 cm^{-1} , são observados os modos da região da rede, onde ocorrem vibrações relacionadas às interações entre as moléculas e onde são detectadas mudanças que podem sugerir a ocorrência de possível transição de fase, como destacado no capítulo anterior. Portanto, não é possível realizar a

atribuição dos modos nesta região, uma vez que os cálculos realizados foram feitos para uma molécula isolada. O primeiro modo após esta região é em 203 cm^{-1} e consiste na vibração de dobramento da molécula B observada na porção referente ao ácido L-glutâmico, $\delta\text{C8B}'\text{C7B}'\text{C6B}' + \delta\text{C6B}'\text{C5BC12B} + \delta\text{C7B}'\text{C6B}'\text{C5B}$. Sua intensidade é baixa e o deslocamento para maior número de onda é pouco perceptível em 293 K. A 239 cm^{-1} ocorre uma torção da molécula B, expressa como $\tau\text{H1BBN1BC2BC3B} + \tau\text{H1BAN1BC2BC3B} + \tau\text{H1BCN1BC2BC3B}$, caracterizada por baixa intensidade e ausência de variação. Já o modo em 325 cm^{-1} consiste em uma banda larga e de baixa intensidade, representando uma deformação da molécula B, expressa como $\delta\text{C6B}'\text{C5BC12B} + \delta\text{C7B}'\text{C6B}'\text{C5B}$. Com o aumento da temperatura, ocorre uma diminuição da largura.

Figura 45: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 80 e 350 cm^{-1} .

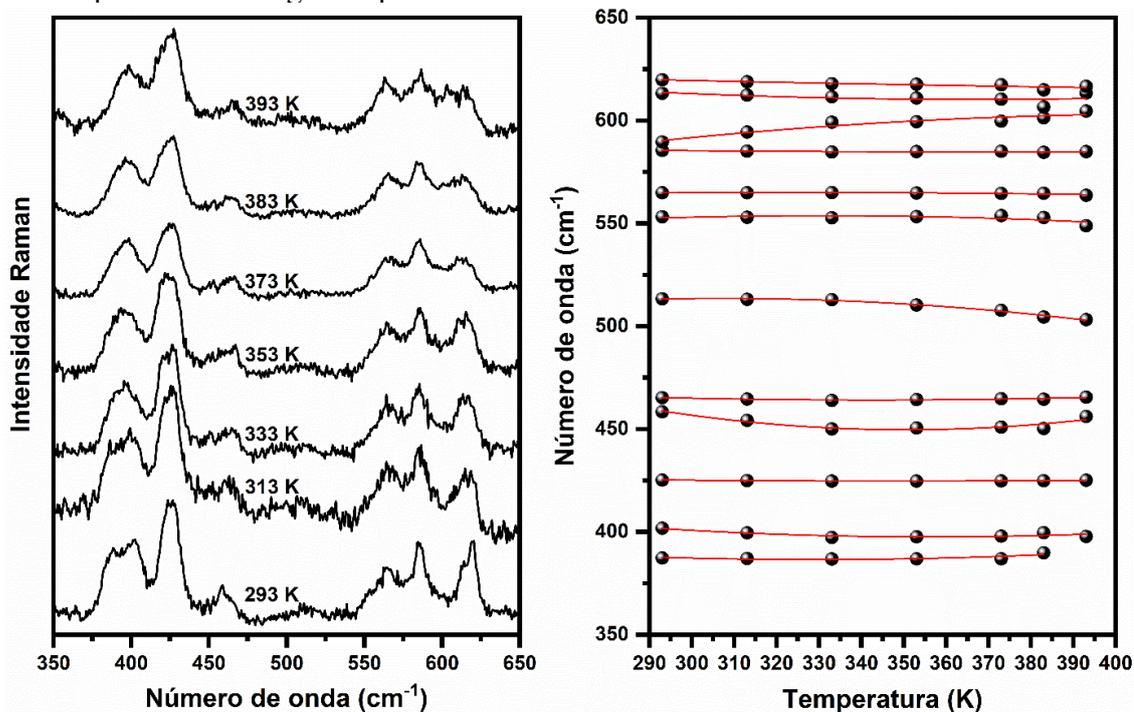


Fonte: Elaborado pelo autor.

A 387 e 402 cm^{-1} , duas bandas próximas são observadas com alta intensidade e largura. O primeiro modo representa uma deformação do esqueleto da molécula A, expressa como $\delta\text{C2AC3AN4A} + \delta\text{N1AC2AC3A} + \delta_{\text{OUT}}\text{C6AC12AN4AC5A}$, enquanto o segundo modo representa uma torção do esqueleto da molécula B, expressa como $\nu\text{C5BC12B} + \tau\text{C2BC3BN4BC5B}$. É importante ressaltar que ambos ocorrem na região da ligação peptídica no esqueleto de ambas as moléculas. Conforme observado no gráfico de ajuste, há a sobreposição dos modos com o aumento da temperatura, resultando em deslocamento para

maior número de onda e redução na largura das bandas sobrepostas em 393 K. A 425 cm^{-1} ocorre uma deformação da molécula A, caracterizada como $\delta\text{C3AN4AC5A} + \delta\text{C2AC3AN4A}$, onde é notada uma diminuição na largura de linha do modo com o aumento da temperatura. Em 458 cm^{-1} ocorre uma deformação da molécula B do tipo $\delta\text{C2BC3BN4B}$, onde entre 353 K e 393 K é evidenciada a diminuição na intensidade, na largura de linha e no deslocamento para maior número de onda. Os modos em 553 e 565 cm^{-1} consistem em bandas largas e de alta intensidade, relacionadas a deformações do esqueleto do tipo $\delta\text{C2BC3BN4B} + \delta\text{C5BC12BO13B} + \tau\text{H1O11AC8B'C7B'}$ e $\delta\text{O9B'C8B'O11A} + \tau\text{H1O11AC8B'C7B'}$ + $\delta_{\text{OUT}}\text{O11BN4BC2BC3B}$, respectivamente. Ambos os modos apresentam um aumento na largura de linha. O modo em 586 cm^{-1} é uma banda de alta intensidade, representando uma vibração do tipo $\delta\text{O9B'C8B'O11A} + \tau\text{H1O11AC8B'C7B'}$ + $\delta_{\text{OUT}}\text{O11BN4BC2BC3B}$, sendo observado um deslocamento para menor número de onda e um aumento da largura de linha da banda com o aquecimento.

Figura 46: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 350 e 650 cm^{-1} .

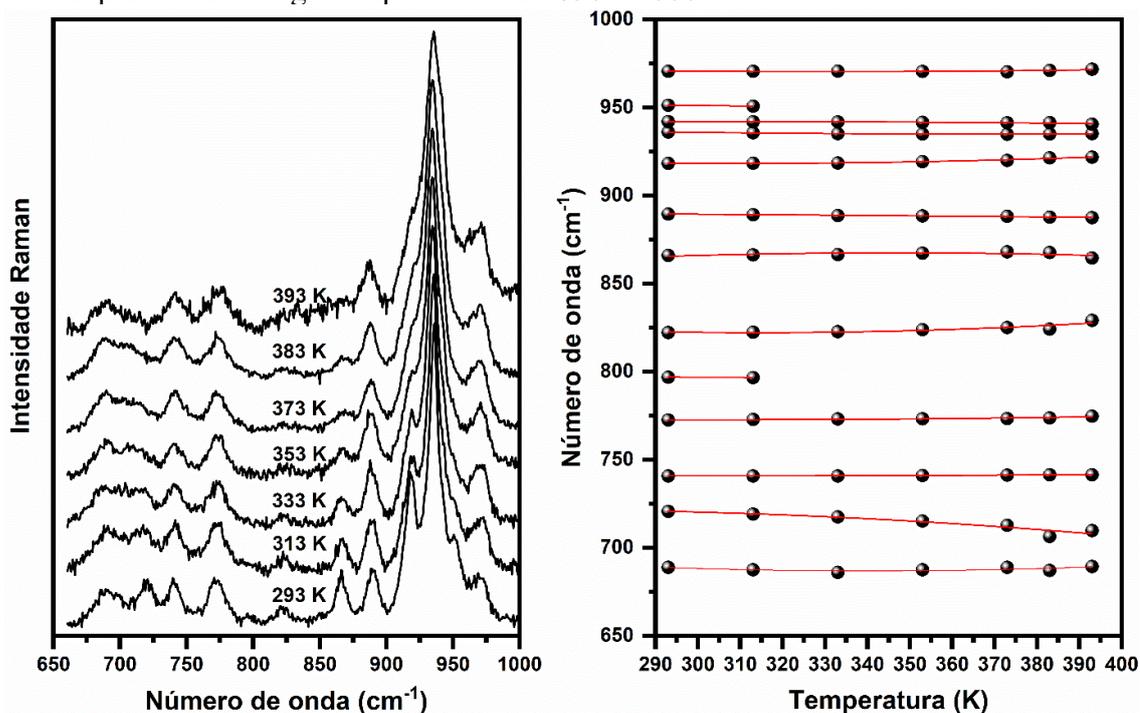


Fonte: Elaborado pelo autor.

O modo em 721 cm^{-1} é uma banda relacionada a deformações da molécula B do tipo $\delta\text{O14BC12BO13B} + \delta_{\text{OUT}}\text{O14BC5BO13BC12B}$, que em condições ambiente de temperatura apresenta uma intensidade baixa, porém com o aumento da temperatura é observado que a banda se desloca para menor número de onda, sendo pouco perceptível em 393

K devido à superposição de bandas. A banda em 741 cm^{-1} , identificada como $\delta_{\text{OUT}}\text{O10AC7AO9AC8A} + \delta_{\text{OUT}}\text{C5AO13AO14AC12A}$, constitui-se em modo de baixa intensidade, sendo observado um aumento na largura da banda e um pequeno deslocamento da frequência com a temperatura. Já em 773 cm^{-1} , o modo caracterizado como $\delta_{\text{OUT}}\text{O9B'C7B'O11AC8B'}$, apresenta-se com baixa intensidade e pequena largura de linha, que não sofre muitas mudanças com o aumento da temperatura. Em 822 cm^{-1} existe um modo associado a uma deformação do CO^{2-} , cuja banda tem baixa intensidade, sendo observado igualmente aumento da largura de linha, tornando-se pouco perceptível em 393 K. Os modos em 866 e 890 cm^{-1} estão associados a estiramentos das moléculas A e B, $\nu\text{O11AC8B}' + \nu\text{C8B'C7B}' + \nu\text{C5BC12B} + \delta\text{O14BC12BO13B}$ e $\nu\text{C2AC3A} + \nu\text{C5AC12A}$, respectivamente. Tratam-se de duas bandas de baixa intensidade que diminuem de intensidade em 393 K. Já a banda em 918 cm^{-1} , identificada como $\nu\text{O11AC8B}' + \nu\text{C5BC12B}$, aparece com alta intensidade e pequena largura; com o aquecimento, ocorre uma diminuição da intensidade, tendo um pequeno deslocamento para maior número de onda e uma sobreposição dos modos. Em 936, 942 e 951 cm^{-1} temos três modos muito próximos que estão associados às vibrações das moléculas A e B, $\delta\text{H2AAC2AC3A} + \tau\text{H1ACN1AC2AC3A} + \tau\text{H2AAC2AC3AN4A} + \delta_{\text{OUT}}\text{O1C2AN4AC3A}$, $\nu\text{N4AC5A} + \nu\text{C6AC5A} + \nu\text{C5AC12A} + \tau\text{H6ABC6AC7AC8A}$ e $\nu\text{N4BC5B} + \nu\text{C6B'C5B} + \nu\text{C5BC12B}$, respectivamente. A banda em 951 cm^{-1} se desloca para menor número de onda, sobrepondo-se aos outros dois modos em 393 K. O modo em 971 cm^{-1} é um modo de baixa intensidade com vibração do tipo $\nu\text{C7AC6A} + \nu\text{C5AC12A} + \delta\text{C3AN4AC5A}$, apresentando uma variação de número de onda e largura de linha similar ao que acontece com outras bandas durante o aumento da temperatura.

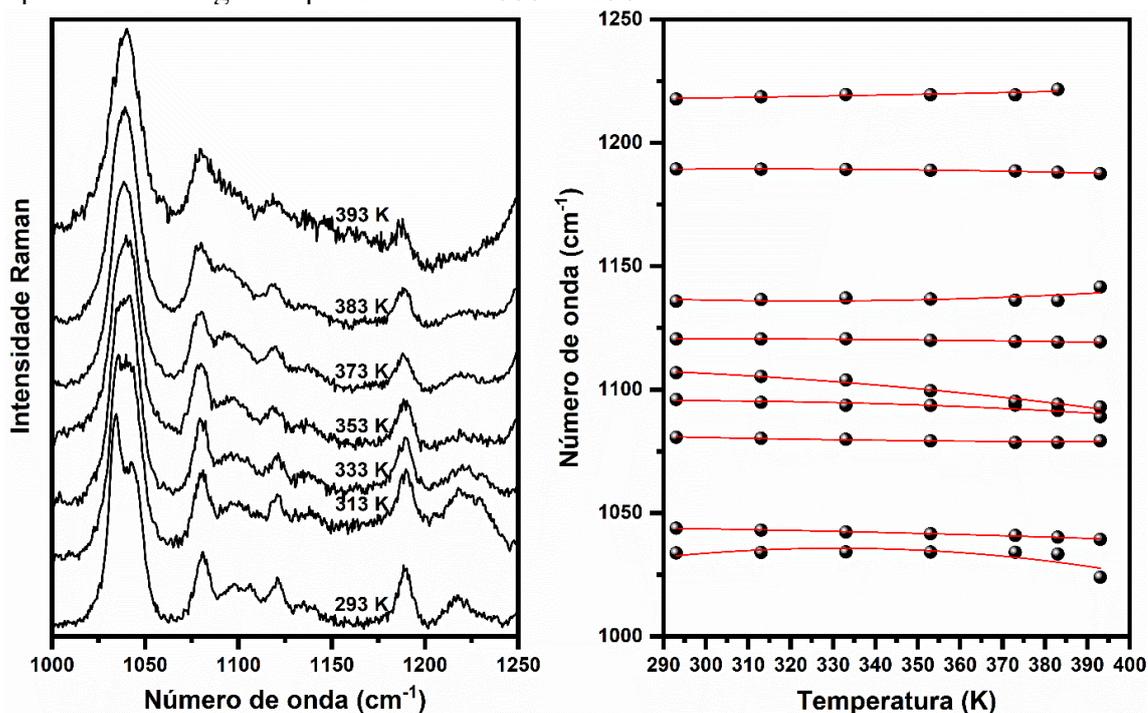
Figura 47: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 650 e 1000 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região entre 1000 e 1250 cm^{-1} , destacam-se os modos em 1034 e 1044 cm^{-1} , que são modos de alta intensidade. Ambos são classificados como estiramento do tipo CC (ν_{CC}) observados nas moléculas A e B, observando-se deslocamento dos modos para menores números de onda, bem como diminuição nas intensidades com o aumento da temperatura. Em 1081 cm^{-1} observa-se um modo com intensidade alta e largura de linha pequena cuja vibração é um estiramento do tipo CO na molécula A; não é observada uma grande variação na posição do modo, como nota-se no gráfico do ajuste. É interessante observar os modos em 1096 e 1107 cm^{-1} , cujas vibrações correspondem a torções do tipo HNCC que ocorrem em todo o esqueleto da molécula A. Essas bandas são de baixa intensidade e apresentam um rápido deslocamento para frequências mais baixas, além de ser observada uma sobreposição dos modos com o aumento da temperatura, tornando difícil diferenciá-los em 393 K. Da mesma forma, observam-se os modos em 1136 e 1218 cm^{-1} cujas bandas estão relacionadas com vibrações no esqueleto da molécula B. Ambos os modos são caracterizados por bandas largas e de baixa intensidade, apresentando um comportamento linear, conforme observado no gráfico dos ajustes.

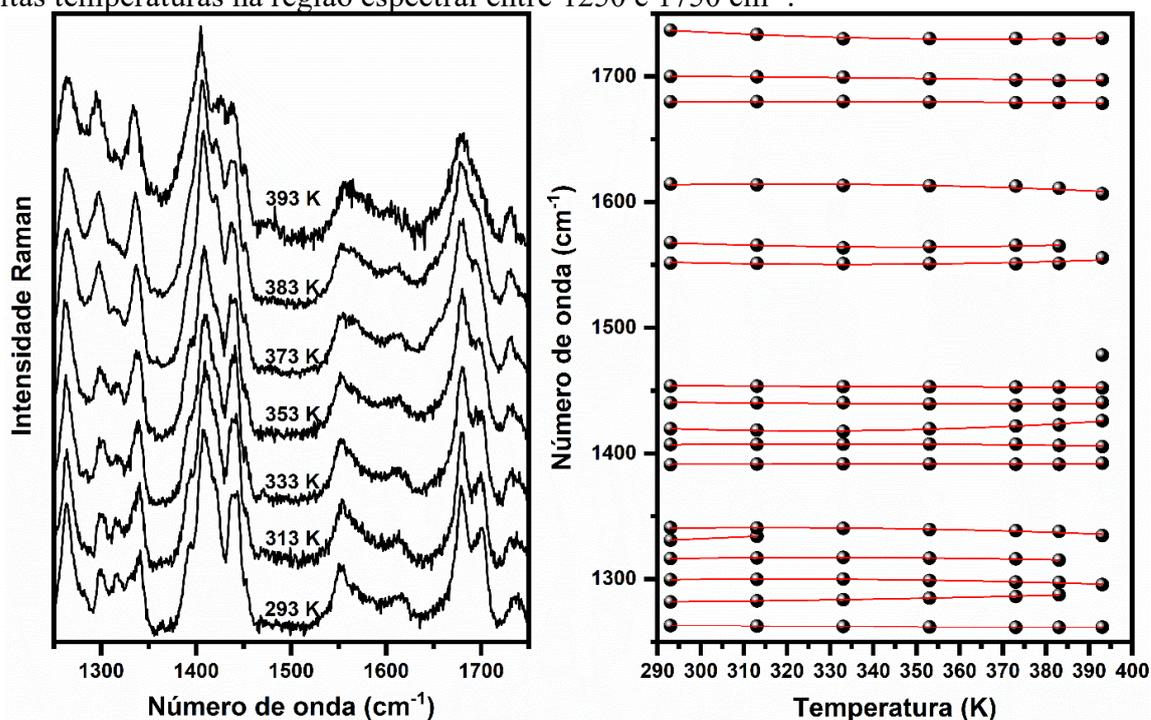
Figura 48: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 1000 e 1250 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na região espectral entre 1250 e 1750 cm^{-1} , são observadas diversas bandas que, com o aumento da temperatura, de maneira geral, apresentam um acréscimo na largura de linha e um desvio do número de ondas para valores mais baixos. As exceções à diminuição do número de onda possivelmente estejam associadas a modos relacionados a ligações de hidrogênio que, próximos à transição de fase, ou seja, à mudança da estrutura por causa da perda das moléculas de água, ocorrem um rearranjo das moléculas, eventualmente fortalecendo algumas ligações $\text{O}\cdots\text{H}$ e enfraquecendo outras.

Figura 49: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 1250 e 1750 cm^{-1} .

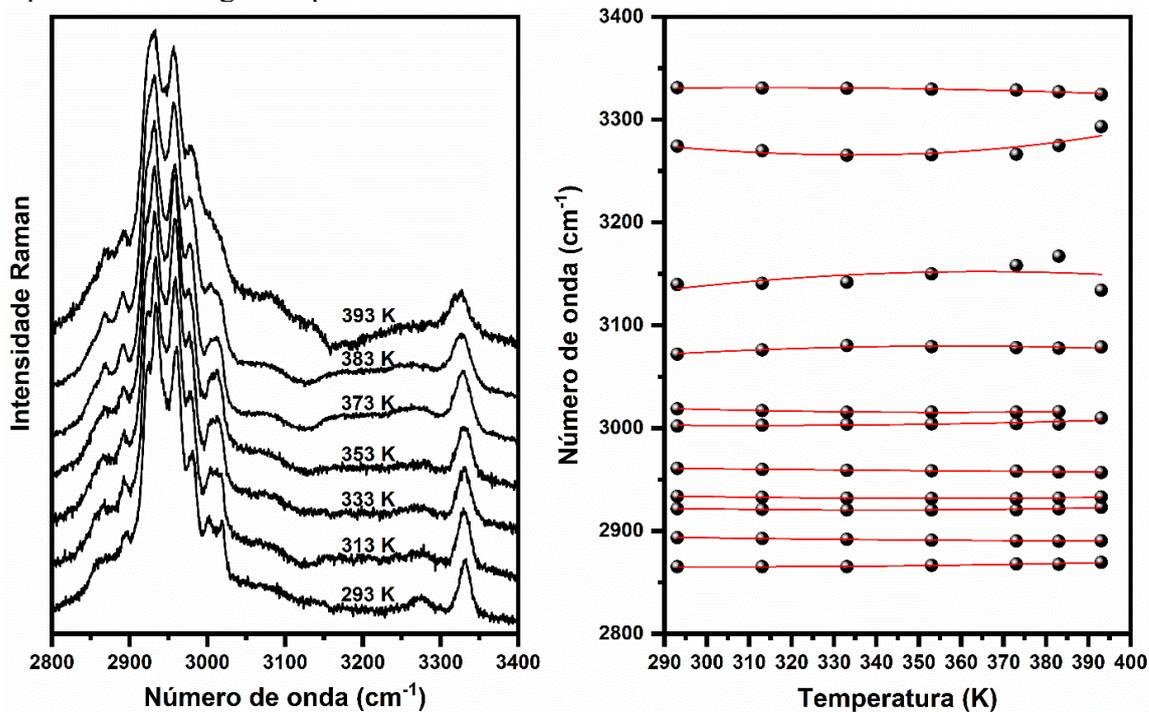


Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesta região, observamos estiramentos do tipo CH, CH₃, NH, NH₃ e H₂O, onde observa-se o modo em 2921 cm^{-1} identificado com o estiramento CH ($\nu\text{C6B}'\text{H6BD}$) da molécula B. É interessante notar os modos em 2934 cm^{-1} e 2961 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos CH₂ observados nas moléculas A e B, respectivamente. Esses modos são caracterizados por uma alta intensidade e um deslocamento para frequências mais baixas, além de ser observada uma sobreposição com o aumento da temperatura. Também há dois modos de baixa intensidade em 3002 e 3019 cm^{-1} , $\nu\text{C7AH7AA} + \nu\text{C7AH7AB}$ e $\nu\text{C2AH2AA} + \nu\text{C2AH2AB}$, ambos associados a estiramentos do CH₂ observado na molécula A. Observa-se um rápido deslocamento do modo 3019 cm^{-1} para menor número de onda, e uma sobreposição dos modos em 393 K. Os modos em 3274 cm^{-1} ($\nu\text{OwHWB} + \nu\text{OwHWA}$) e 3331 cm^{-1} ($\nu\text{OwHWB} + \nu\text{OwHWA}$) são modos de estiramento da molécula de água presentes na estrutura cristalina. São observados pequenos deslocamentos desses modos para maior número de onda, e a partir da temperatura de 373 K é observado um rápido deslocamento do modo 3274 cm^{-1} para maior número de onda e o modo 3331 cm^{-1} para menor número de onda, sendo observada diminuição de intensidade em ambos os modos com o aumento da temperatura. Com a temperatura acima de 393 K, ocorre a evaporação da molécula e a estrutura cristalina do dipeptídeo não é mais observada. Não são observados modos espectrais nem picos no difratograma acima dessa temperatura que possam ser indexados a uma estrutura cristalina

conhecida. Portanto, com a evaporação das moléculas de água, a estrutura cristalina não é mais estável. Observa-se que a presença da molécula de água é essencial para a estabilidade da estrutura. Portanto, a molécula de água é estrutural, necessária para a estabilidade da estrutura cristalina.

Figura 50: Espectros Raman e ajuste linear dos espectros de glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região espectral entre 2800 e 3400 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 15: Ajustes dos números de ondas experimentais da glicil-L-ácido glutâmico entre 293 e 393 K na região espectral entre 80 e 3400 cm^{-1} .

ω_{Exp} (cm^{-1})	293 K < T < 393 K		
	ω_0 (cm^{-1})	α (K/ cm^{-1})	β (K/ cm^{-1})
92	37	0,75147	-0,00151
108	28	0,86362	-0,00138
118	25	0,80364	-0,00101
124	19	0,6877	-6,58448E-4
156	114	1,50894	-0,00785
203	202	-67,34902	-1,12609
239	145	4,33767	-0,0282
325	139	8,32449	-0,05273
387	479	-15,25092	0,37516
402	528	-21,98239	0,5508
425	447	-3,32815	0,07268
458	797	-89,67852	3,43931
465	521	-9,84138	0,25331
513	378	19,08899	-0,3977
553	465	14,19529	-0,33775
565	542	4,46859	-0,12624
586	602	-3,26611	0,09074
590	454	18,60147	-0,34376
613	697	-18,8551	0,60618
620	639	-3,13959	0,05557
689	789	-26,719	1,04328
721	673	14,63533	-0,64837
741	748	-2,16638	0,09251
773	792	-5,60564	0,24745
797	799	-0,00643	—
822	912	-29,53755	1,44163
866	784	21,37524	-0,81562
890	891	0,25598	-0,05392
918	971	-18,51143	0,97263

936	965	-9,03743	0,40095
942	927	5,05988	-0,2587
951	957	-0,02107	—
971	1001	-10,53659	0,5361
1034	798	64,83259	-2,63557
1044	1038	4,04783	-0,33477
1081	1107	-8,88763	0,41168
1096	1048	18,94639	-1,13577
1107	1067	21,08027	-1,58307
1121	1108	5,39239	-0,34393
1136	1214	-32,53691	2,03673
1189	1162	11,4271	-0,71222
1218	1218	-1,78624	0,24149
1263	1281	-6,82214	0,36006
1282	1307	-14,5446	1,23291
1300	1221	33,98622	-2,17669
1316	1245	30,36948	-1,92503
1331	1285	0,15553	—
1341	1250	40,20388	-2,66552
1391	1387	1,68859	-0,09016
1407	1354	24,61339	-1,67967
1420	1619	-109,23095	8,97024
1440	1477	-16,86294	1,13793
1454	1447	4,1464	-0,36776
1552	1677	-69,55266	5,7647
1568	1728	-89,30734	7,34348
1615	1493	62,69749	-4,86862
1680	1656	13,65133	-1,17672
1700	1700	2,93012	-0,53054
1737	1945	-125,26436	10,98485
2865	2938	-68,95124	10,23383
2894	2949	-44,24757	5,11143
2921	3058	-123,44137	17,29616

2934	3044	-97,27088	13,12174
2961	2984	-15,40772	1,17341
3002	3114	-107,8076	16,50849
3019	3197	-162,40249	22,70022
3072	2768	248,53906	-30,55522
3140	2584	422,08399	-48,05429
3274	5330	-2569,67087	534,55203
3331	3187	141,5607	-21,84604

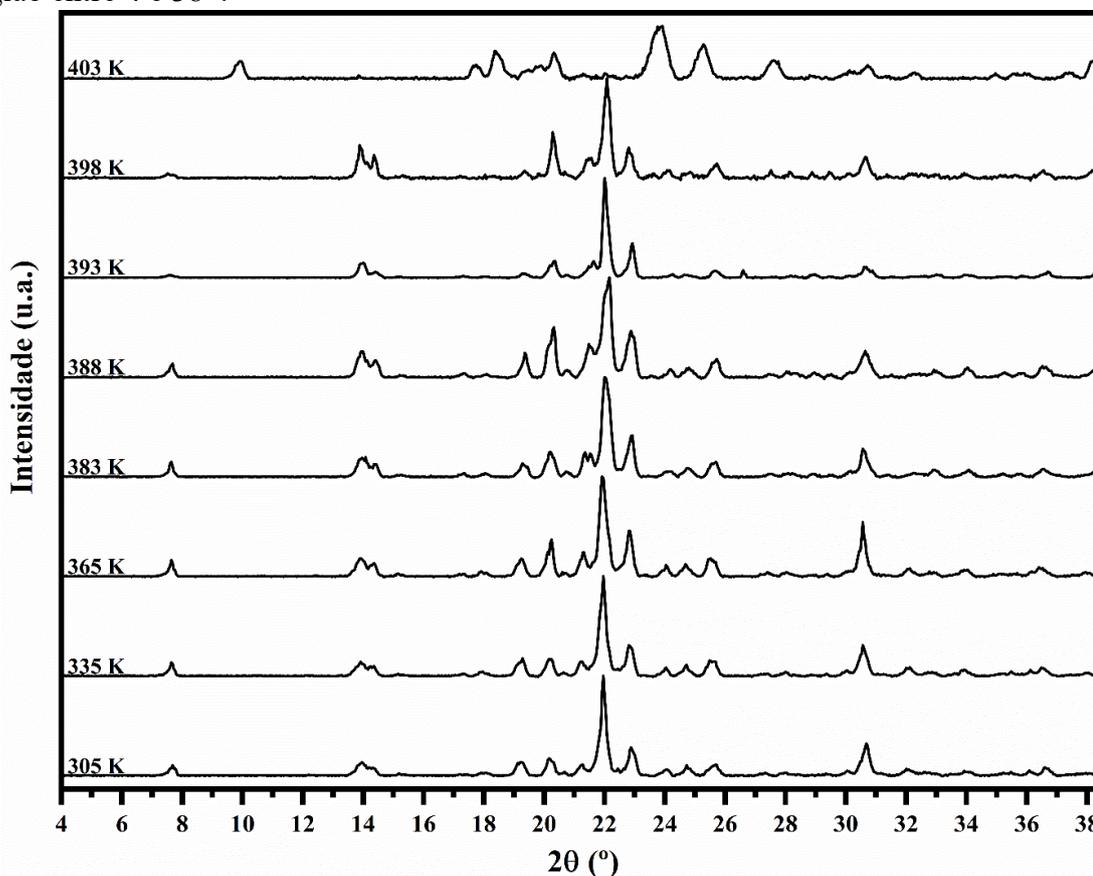
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4 Difração de Raios-X a Altas Temperaturas

Para complementar os resultados da espectroscopia Raman em altas temperaturas, foram feitos experimentos de difração de raios-X da glicil-L-ácido glutâmico (Gly-L-Glu), cujos difratogramas estão mostrados na Figura 51. Os experimentos de difração de raios-X foram realizados na região 2θ entre 4 e 38 °, com a amostra aquecida de 305 até 403 K. Inicialmente, a amostra foi aquecida entre 305 K e 383 K em intervalos de 30 K. Posteriormente, entre 383 e 403 K, a amostra foi aquecida em intervalos de 5 K. Durante esse processo, observaram-se mudanças importantes no cristal do dipeptídeo. Entre 7 e 8 °, é observado um pico de baixa intensidade a 305 K, que aumenta em intensidade até 388 K, seguido de uma diminuição de intensidade em 393 K e não sendo mais observado em 403 K. Além disso, os dois picos em 14 °, que são inicialmente largos e de baixa intensidade a temperatura ambiente, apresentam um aumento em suas intensidades entre 305 e 388 K; ambos os modos se tornam mais definidos. Entretanto, em 393 K, é observada uma diminuição abrupta na intensidade dos modos. A 398 K, três picos de alta intensidade e pequena largura de linha são identificados, e em 403 K, ocorre o aparecimento de um pico em 10 °, enquanto os picos em 14 ° desaparecem. Na região entre 18 e 26 ° observam-se muitos planos cristalinos com diferentes intensidades, destacando-se os planos cristalinos entre 19 e 21 °, onde dois planos de baixa intensidade são evidenciados em 305 K e sua intensidade aumenta até 388 K. Posteriormente, ocorre uma diminuição da intensidade em 393 K, seguida por um aumento abrupto da intensidade em 398 K, sendo observados vários picos nesta região em 403 K. A 22 °, identifica-se o plano cristalino mais intenso do difratograma, mantendo-se estável até 398 K e desaparecendo em 403 K. Entre 23 e 26 °, destaca-se o surgimento de dois planos cristalinos de grande intensidade e largura de linha em 403 K. Entre 30 e 31 °, um plano cristalino de alta intensidade é observado, enquanto

se percebe um aumento na largura de linha, sendo identificado um novo plano cristalino em 403 K.

Figura 51: Difratogramas de raios-X da glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas na região entre 4 e 38°.



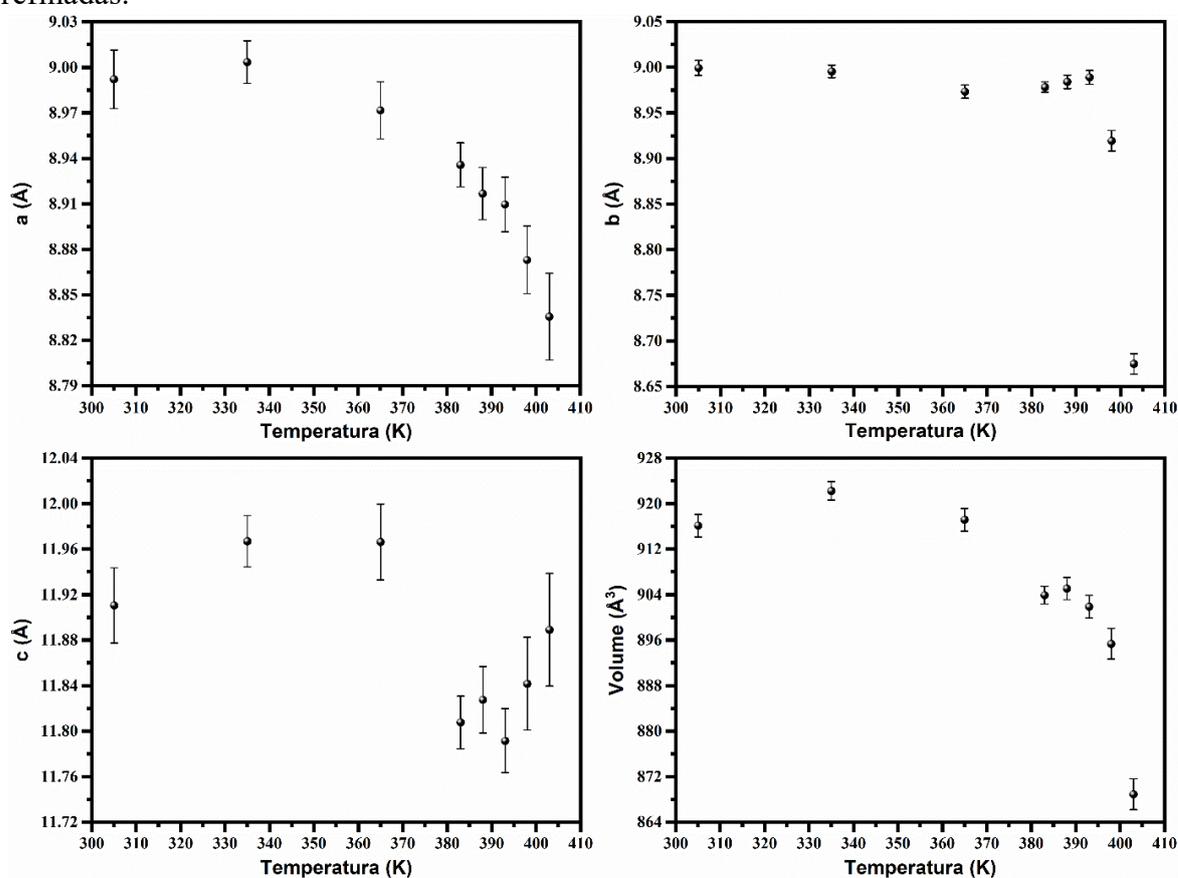
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 52, apresenta-se a variação dos parâmetros de rede em função da temperatura obtidos pelo refinamento Rietveld (Rietveld, 1969) através do programa GSAS-II (Toby e Dreele, Von, 2013). A partir do refinamento dos difratogramas de raios-X, obtêm-se os coeficientes de expansão térmica $|\alpha(a)| = 18,99 \times 10^{-5} \text{ \AA}/^\circ\text{C}$, $|\alpha(b)| = 0,73 \times 10^{-5} \text{ \AA}/^\circ\text{C}$ e $|\alpha(c)| = 7,91 \times 10^{-5} \text{ \AA}/^\circ\text{C}$ e o coeficiente de dilatação volumétrica $|\gamma(V)| = 43,09 \times 10^{-5} \text{ \AA}^3/^\circ\text{C}$. Analisando os parâmetros de rede, observa-se que há uma redução do parâmetro a de 1,77%, do parâmetro b de 3,60%, parâmetro c de 0,18% e do volume de 5,16%. Tal redução da célula unitária do dipeptídeo se deve-se à saída das moléculas de água, que ocorre em 403 K. Ao se tentar determinar a estrutura cristalina após a saída das moléculas de água, não foi encontrada nenhuma que se encaixasse com os planos cristalinos do difratograma. Além disso, ao aquecer-se a amostra mais 5 K acima da temperatura após a saída da água, observou-se que ocorreu a amorfização completa da amostra. Também foi observado através de experimentos de

espectroscopia Raman em altas temperaturas o desaparecimento de modos durante o aquecimento, porém após a temperatura de 393 K, com a saída da molécula de água da estrutura, foi obtido um espectro Raman com um *background* alto e sem modos muito bem definidos, principalmente na região de baixos números de onda.

A partir da análise dos resultados de espectroscopia Raman e DRX em altas temperaturas, pode-se concluir que o cristal do dipeptídeo sofre uma transição de fase em 403 K, ocasionada pela saída das moléculas de água da estrutura cristalina. Após a saída da água, uma estrutura cristalina do dipeptídeo não é formada e, portanto, a molécula de água é necessária para a estabilização do cristal do dipeptídeo, constituindo uma molécula estrutural, ao menos à pressão ambiente.

Figura 52: Parâmetros estruturais da glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas refinadas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

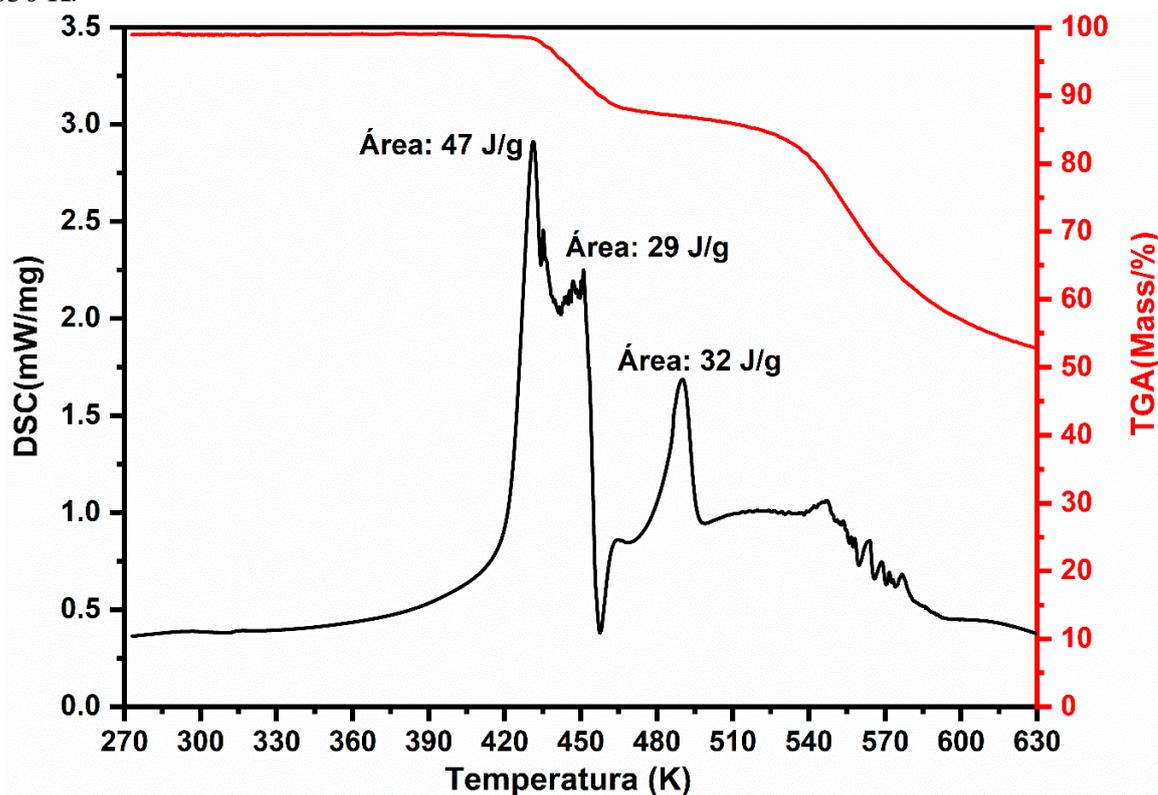
É interessante realizar uma comparação entre os resultados obtidos neste capítulo, relativos aos modos vibracionais do glicil-L-ácido glutâmico, com os da glicil-L-fenilalanina, como descrito no capítulo anterior. Observou-se que o cristal de glicil-L-fenilalanina permanece estável, ou seja, não apresenta indícios de transição de fase entre as temperaturas de 300 e 460

K. Quanto à decomposição da glicil-L-fenilalanina, ocorre aproximadamente a 418 K, sendo que outros fatores além do enfraquecimento das ligações de hidrogênio são responsáveis por esse fenômeno. No caso do glicil-L-ácido glutâmico, uma vez que o cristal cresce hidratado, com moléculas de água em sua estrutura, ele manifesta uma mudança estrutural (não observada no outro cristal), que foi interpretada como sendo devido à perda da água estrutural.

Outro dipeptídeo hidratado recentemente investigado a altas temperaturas foi a L, L-difenilalanina ($C_{18}H_{20}N_2O_3 \cdot xH_2O$), que se cristaliza em um arranjo tubular preenchido por moléculas de água. Ao aquecer a amostra, observa-se que os espectros Raman do cristal sofrem consideráveis modificações acima de 400 K. Com o auxílio da técnica de DSC, percebeu-se que a temperatura exata da transição de fase é 412 K. As moléculas de água começam a se dissociar da estrutura em temperaturas inferiores, e a 412 K, as moléculas remanescentes abandonam os canais (Silva Filho, da *et al.*, 2018). Assim, de maneira similar ao que ocorre com o cristal de L, L-difenilalanina, o glicil-L-ácido glutâmico apresenta uma alteração estrutural originada pela quebra de diversas ligações de hidrogênio, com a participação das moléculas de água, e o subsequente rearranjo das moléculas dos dipeptídeos.

Para complementar a análise da glicil-L-ácido glutâmico em altas temperaturas, foram feitos experimentos de calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise termogravimétrica (TGA). Na Figura 53, temos os experimentos de DSC (curva preta) e TGA (curva vermelha) da temperatura ambiente até 630 K. Analisando o experimento de DSC, vemos que não são observadas muitas mudanças até a temperatura de 360 K, porém em 390 K temos o início de modificações no gráfico de DSC. No experimento de TGA, entre 270 e 360 K, observa-se que a massa do dipeptídeo permaneceu estável, porém é notado o início de sua decomposição em 390 K. A decomposição da amostra acontece em dois estágios: o primeiro ocorre entre 390 e 450 K e o segundo entre 480 e 570 K. Nota-se que se trata de uma decomposição lenta do material com muitas mudanças no gráfico DSC. Portanto, a glicil-L-ácido glutâmico tem um comportamento estável em altas temperaturas, até sua decomposição em ~ 393 K.

Figura 53: Experimento de DSC e TGA realizadas na glicil-L-ácido glutâmico entre 270 e 630 K.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Nesta tese, foi realizado o estudo das propriedades estruturais e vibracionais dos dipeptídeos glicil-L-fenilalanina e glicil-L-ácido glutâmico hidratado em condições ambientes e extremas de temperatura e pressão, ampliando-se o conhecimento sobre um sistema físico com diversas aplicações científicas.

A análise estrutural da glicil-L-fenilalanina foi feita inicialmente por cálculos DFT. Eles se mostraram satisfatórios, como pode ser conferido pela boa otimização da estrutura do dipeptídeo. Com a análise conformacional, foi determinada a conformação de menor energia do dipeptídeo, cujo ângulo de torção é de $\theta=C1-C2\cdots C3-C5$ é $110,8^\circ$ e energia de 2,00 kJ/mol. Com a otimização da estrutura do dipeptídeo, foram feitos os cálculos vibracionais (Raman e IR), que também se revelaram consistentes, obtendo-se modos de vibração dos grupos funcionais (CO_2^- e NH_3^+) e da ligação peptídica (N-C) em regiões já observadas em trabalhos publicados, mostrando uma boa execução dos cálculos DFT.

Em altas pressões, a glicil-L-fenilalanina apresenta uma transição de fase em 1,0 GPa, sendo observadas mudanças nos modos da rede e em todo o espectro. Tais mudanças no espectro estão relacionadas a mudanças na estrutura cristalina do dipeptídeo, sendo observadas modificações nas intensidades das bandas, largura de linha dos modos normais de vibração e descontinuidade nas bandas.

Em altas temperaturas, a glicil-L-fenilalanina mostra uma estabilidade de sua estrutura cristalina, havendo algumas modificações que indicam uma mudança conformacional, também observada no experimento de DRX em altas temperaturas. O experimento de DRX mostrou poucas mudanças nos parâmetros de rede, sendo observada uma maior dilatação do parâmetro **a** com o aumento da temperatura. Também concluímos pelos experimentos de análises térmicas dois pontos de decomposição dos dipeptídeos. Pelo gráfico TG, vemos a variação da massa iniciando em 500 K e terminando em 525 K e a segunda iniciando em 525 K e terminando em 570 K. Pelo gráfico DSC, observou-se a ocorrência de três mudanças: em 511 K com a variação de entalpia de 35 J/g, em 536 K com entalpia de 10 J/g e o último em 618 K, com entalpia de 17 J/g. Os dois primeiros picos estão relacionados com a decomposição do dipeptídeo pois os mesmos estão na região do gráfico TG onde a variação da massa é observada. O terceiro pico está relacionado com resquícios da amostra das duas decomposições anteriores, não sendo mais observada nenhuma mudança. Em baixas temperaturas, a glicil-L-fenilalanina apresentou mudanças em torno de 100 K, indicando uma possível transição de fase. Tais mudanças são observadas de forma lenta a partir de 100 K em todo o espectro e

completando a transição em 60 K. Esse tipo de transição de fase nos dipeptídeos havia sido relatado apenas no dipeptídeo L, L-alanina, que em 80 K apresenta um espectro que se modifica até completar a transição em 60 K, não sendo observado tal fato nos demais dipeptídeos até o momento.

A estrutura da glicil-L-ácido glutâmico foi determinada pela técnica de difração de raios-X de monocristal e utilizada para a realização dos cálculos computacionais. A estrutura do dipeptídeo foi bem otimizada, em seguida, obtida a conformação de menor energia e foi feita a atribuição dos modos normais de vibração Raman observados experimentalmente. Em altas temperaturas, observou-se mudanças na estrutura cristalina do dipeptídeo em 403 K, indicando uma transição de fase devido à saída de moléculas de água da estrutura cristalina. Além disso, é observada a variação dos parâmetros de rede em função da temperatura, sendo também observadas mudanças em 403 K em todos os parâmetros. No experimento de espectroscopia Raman em altas temperaturas, também observou-se mudanças nos modos normais de vibração. Um dado importante foi que após a temperatura de 398 K, não foi possível obter-se um espectro, indicando que após a saída de moléculas de água a amostra amorfizou, ou seja, perdeu a ordem de longo alcance. Além disso, após a saída de moléculas de água, não foi possível obter a nova estrutura cristalina, pois os planos cristalinos obtidos não se encaixam nenhuma estrutura cristalina conhecida. Ao se tentar indexar o difratograma no programa GSAS-II, embora a estrutura cristalina do dipeptídeo seja estável com a molécula de água, não é possível a indexação de estruturas com a saída da molécula de água.

Como perspectiva de trabalhos futuros, pretende-se realizar experimentos de difração de raios-X e determinar a estrutura cristalina do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina em baixas temperaturas. Além disso, pretende-se realizar experimentos de difração de raios-X em altas pressões do dipeptídeo glicil-L-fenilalanina e resolver a sua estrutura cristalina. Para o dipeptídeo glicil-L-ácido glutâmico, pretende-se realizar experimentos de espectroscopia Raman e difração de raios-X em altas pressões e baixas temperaturas. Com tais informações, um quadro geral sobre as propriedades estruturais dos dois dipeptídeos explorados na presente tese será completado.

REFERÊNCIAS

- AHMED, A. BEN; ELLEUCH, N.; FEKI, H.; ABID, Y.; MINOT, C. Vibrational spectra and non linear optical proprieties of l-histidine oxalate: DFT studies. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 79, n. 3, p. 554–561, ago. 2011.
- AKRAM, M.; KUMAR, D.; KABIR-UD-DIN. Catalytic Behavior of a Series of Cationic Gemini (16-s-16 Type, s = 4, 5, 6) and CTAB Surfactants on the Reaction of Ninhydrin with [Ni(II)–Gly-Phe]⁺. **Journal of Solution Chemistry**, v. 43, n. 3, p. 648–660, 13 mar. 2014.
- ALAGAR, M.; KRISHNAKUMAR, R. V.; RAJAGOPAL, K.; SUBHA NANDHINI, M.; NATARAJAN, S. L-Phenylalanine fumaric acid. **Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online**, v. 59, n. 7, p. o952–o954, 15 jul. 2003.
- ALAGAR, M.; KRISHNAKUMAR, R. V.; SUBHA NANDHINI, M.; CAMERON, T. S.; NATARAJAN, S. Bis(DL-aspartic acid) oxalate. **Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online**, v. 59, n. 2, p. o108–o110, 15 fev. 2003.
- ALVAREZ, N.; LEITE, C. M.; NAPOLEONE, A.; MENDES, L. F. S.; FERNÁNDEZ, C. Y.; RIBEIRO, R. R.; ELLENA, J.; BATISTA, A. A.; COSTA-FILHO, A. J.; FACCHIN, G. Tetramethyl-phenanthroline copper complexes in the development of drugs to treat cancer: synthesis, characterization and cytotoxicity studies of a series of copper(II)-l-dipeptide-3,4,7,8-tetramethyl-phenanthroline complexes. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 27, n. 4–5, p. 431–441, 7 maio 2022.
- ANDERSSON, M. P.; UVDAL, P. New scale factors for harmonic vibrational frequencies using the B3LYP density functional method with the triple-zeta basis set 6-311+G(d,p). **The journal of physical chemistry. A**, v. 109, n. 12, p. 2937–2941, 2005.
- AVELAR S. SILVA, J.; MILITÃO VASCONCELOS, D. L.; ARAÚJO DE LIMA, R.; CORDEIRO, A. J. P.; TARSO C. FREIRE, P. Structural and vibrational analysis of glycyl-L-phenylalanine and phase transition under high-pressure. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 304, n. September 2023, p. 123383, jan. 2024.
- BALKANSKI, M.; WALLIS, R. F.; HARO, E. Anharmonic effects in light scattering due to optical phonons in silicon. **Physical Review B**, v. 28, n. 4, p. 1928–1934, 15 ago. 1983.
- BANERJEE, S.; DAS, R. K.; MAITRA, U. Supramolecular gels ‘in action’. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, n. 37, p. 6649, 2009.
- BAPTISTA, R. M. F. *et al.* A Polymorph of Dipeptide Halide Glycyl-L-Alanine Hydroiodide Monohydrate: Crystal Structure, Optical Second Harmonic Generation, Piezoelectricity and Pyroelectricity. **Materials**, v. 16, n. 10, p. 3690, 12 maio 2023.
- BARANNIKOV, V. P.; YU. TYUNINA, E.; TARASOVA, G. N. Changes in the volumetric properties of uracil in a buffered saline upon interaction with peptides: The effect of glycyl-L-tyrosine and glycyl-L-glutamic acid. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 185, n. June, p. 107113, out. 2023.

BARBOZA, F. M.; SILVA FILHO, J. G. DA; FREIRE, P. T. C.; FILHO, P. F. F.; LIMA, J. A.; MELO, F. E. A.; JOYA, M. R.; BARBA-ORTEGA, J. High-pressure Raman spectra of thymidine crystals. **Vibrational Spectroscopy**, v. 89, p. 62–68, 2017.

BARRETT, G. C.; ELMORE, D. T. **Amino Acids and Peptides**. [s.l.] Cambridge University Press, 1998.

BAUSCHLICHER, C. W.; LANGHOFF, S. R. The calculation of accurate harmonic frequencies of large molecules: the polycyclic aromatic hydrocarbons, a case study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 53, p. 1225–1240, 1997.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, abr. 1993.

BELITZKY, A.; WEISSBUCH, I.; POSNER-DISKIN, Y.; LAHAV, M.; LUBOMIRSKY, I. Design of Pyroelectric Mixed Crystals Having a Varying Degree of Polarity: The L-Asparagine·H₂O/L-Aspartic Acid System. **Crystal Growth & Design**, v. 15, n. 5, p. 2445–2451, 6 maio 2015.

BIÇAK, B.; KECEL GUNDUZ, S.; KOKCU, Y.; E. OZEL, A.; AKYUZ, S. Molecular Docking and Molecular Dynamics Studies of L-Glycyl-L-Glutamic Acid Dipeptide. **Bilge International Journal of Science and Technology Research**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 30 mar. 2019.

BORDALLO, H. N.; BOLDYREVA, E. V.; BUCHSTEINER, A.; KOZA, M. M.; LANDSGESELL, S. Structure–Property Relationships in the Crystals of the Smallest Amino Acid: An Incoherent Inelastic Neutron Scattering Study of the Glycine Polymorphs. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 112, n. 29, p. 8748–8759, 1 jul. 2008.

BUSCHMANN, H. J.; SCHOLLMEYER, E.; MUTIHAC, L. The formation of amino acid and dipeptide complexes with α -cyclodextrin and cucurbit[6]uril in aqueous solutions studied by titration calorimetry. **Thermochemica Acta**, v. 399, n. 1–2, p. 203–208, 2003.

BUSCHMANN, H.; MUTIHAC, L.; SCHOLLMEYER, E. Complexation of Some Amino Acids and Peptides by p -Sulfonatocalix [4] arene and Hexasodium p -Sulfonatocalix [6] arene in Aqueous Solution. p. 133–137, 2003.

CAHN, R. S.; INGOLD, C.; PRELOG, V. Specification of Molecular Chirality. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 5, n. 4, p. 385–415, 17 abr. 1966.

CAPELLAS, M.; SERRA, P.; BENAIGES, M. D.; CAMINAL, G.; GONZALEZ, G.; LOPEZ-SANTIN, J. Papain Immobilization Study in Enzymatic Synthesis of Dipeptide Gly-Phe. **Biocatalysis**, v. 11, n. 4, p. 273–281, 11 jan. 1994.

CASE, D. R.; BRENNESSEL, W. W.; ZUBIETA, J.; DOYLE, R. P. Synthesis, characterization and crystal structure of a glycyglycinate chelate of zinc(II). **Results in Chemistry**, v. 4, n. December 2021, p. 100274, jan. 2022.

CAVAIGNAC, A. L. O.; LIMA, R. J. C.; FAÇANHA FILHO, P. F.; MORENO, A. J. D.;

FREIRE, P. T. C. High-temperature Raman study of L-alanine, L-threonine and taurine crystals related to thermal decomposition. **Physica B: Condensed Matter**, v. 484, p. 22–26, mar. 2016.

CAVALCANTE FREIRE, P. DE T.; LIMA JUNIOR, J. A.; OLIVEIRA ABAGARO, B. T. DE; SOUSA PINHEIRO, G. DE; FREITAS E SILVA, J. DE A.; MENDES, J.; ABREU MELO, F. E. DE. High Pressure Raman Spectra of Amino Acid Crystals. *Em: **Vibrational Spectroscopy***. [s.l.] InTech, 2012. .

CELIK, S.; YILMAZ, G.; OZEL, A. E.; AKYUZ, S. Structural and spectral analysis of anticancer active cyclo(Ala–His) dipeptide. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n. 2, p. 660–672, 22 jan. 2022.

CHENG, J.; QIAN, P.; YANG, M.; HUANG, L.; ZENG, H.; ZOU, G.; LIN, Z. Second-Harmonic Generation in Homochiral Antimony Halides Directed by L-Histidine. **Inorganic Chemistry**, v. 62, n. 41, p. 16673–16676, 16 out. 2023.

DEY, I.; MUKHOPADHYAY, B. P.; DAS, B. N.; CHAKRABORTY, S.; BANERJEE, A. Structure of a Cu(II)-containing peptide, diaquo-gly-l-tyr Cu(II) dihydrate, [Cu(C₁₁N₂O₄H₁₃)(H₂O)₂].2H₂O. **Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research**, v. 23, n. 1, p. 65–68, jan. 1993.

D’MELLO, J. P. F. Amino Acids in Animal Nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 109, n. 1–4, p. 217, out. 2003.

DOBSON, A. J.; GERKIN, R. E. γ -Aminobutyric Acid: a Novel Tetragonal Phase. **Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, v. 52, n. 12, p. 3075–3078, 15 dez. 1996.

DOLOMANOV, O. V.; BOURHIS, L. J.; GILDEA, R. J.; HOWARD, J. A. K.; PUSCHMANN, H. OLEX2 : a complete structure solution, refinement and analysis program. **Journal of Applied Crystallography**, v. 42, n. 2, p. 339–341, 1 abr. 2009.

ELIUS HOSSAIN, M.; MAHMUDUL HASAN, M.; HALIM, M. E.; EHSAN, M. Q.; HALIM, M. A. Interaction between transition metals and phenylalanine: A combined experimental and computational study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 138, p. 499–508, mar. 2015.

EMAMI, S.; PAZ, F. A. A.; MENDES, A.; GALES, L. Toward the Construction of 3D Dipeptide–Metal Frameworks. **Crystal Growth & Design**, v. 14, n. 9, p. 4777–4780, 3 set. 2014.

FAÇANHA FILHO, P. F.; FREIRE, P. T. C.; MELO, F. E. A.; LEMOS, V.; MENDES FILHO, J.; PIZANI, P. S.; ROSSATTO, D. Z. Pressure-induced phase transitions in L-leucine crystal. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 40, n. 1, p. 46–51, 15 jan. 2009.

FLECK, M. Compounds of glycine with halogen or metal halogenides: review and comparison. **Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials**, v. 223, n. 3, p. 222–232, 1 mar. 2008.

FLECK, M.; LENGAUER, C.; BOHATÝ, L.; TILLMANN, E. Syntheses, crystal structures and thermal behaviour of novel L-alanine halogenide compounds. **Acta Chimica Slovenica**, v. 55, n. 4, p. 880–888, 2008.

FLOOK, R. J.; FREEMAN, H. C.; MOORE, C. J.; SCUDDER, M. L. Model Compounds for Metal-Protein Interaction : Crystal Structures of Seven Cadmium(II) Complexes of Amino-acids and Peptides. **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, n. 19, p. 753–754, 1973.

FREEMAN, H. C. Crystal Structures of Metal-Peptide Complexes. *Em: Advances in Protein Chemistry*. [s.l.: s.n.]. v. 22p. 257–424.

FREEMAN, H. C.; SZYMANSKI, J. T. Crystallographic studies of metal-peptide complexes. V. (β -Alanyl-L-histidinato)copper(II) dihydrate. **Acta Crystallographica**, v. 22, n. 3, p. 406–417, 10 mar. 1967.

FREIRE, P. T. C.; BARBOZA, F. M.; LIMA, J. A.; MELO, F. E. A.; FILHO, J. M. Raman Spectroscopy of Amino Acid Crystals. *Em: Raman Spectroscopy and Applications*. [s.l.] InTech, 2017.

FRISCH, M. J. *et al.* **Gaussian09**, 2009.

FU, H.; KATSUMURA, Y.; LIN, M.; MUROYA, Y.; HATA, K.; FUJII, K.; YOKOYA, A.; HATANO, Y. Free radical scavenging and radioprotective effects of carnosine and anserine. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 78, n. 12, p. 1192–1197, 2009.

GAHAN, L. R.; CUSACK, R. M. Metal complexes of synthetic cyclic peptides. **Polyhedron**, v. 153, p. 1–23, out. 2018.

GENCHI, G. An overview on d-amino acids. **Amino Acids**, v. 49, n. 9, p. 1521–1533, 5 set. 2017.

GERGELY, A.; FARKAS, E. Studies on transition-metal-peptide complexes. Part 6. Influence of side-chain donor group on the equilibrium and thermodynamics of binary and ternary copper(II)-dipeptide complexes. **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, n. 2, p. 381–386, 1982.

GHAZARYAN, V. V.; MINKOV, V. S.; BOLDYREVA, E. V.; PETROSYAN, A. M. L-Cysteine halogenides: A new family of salts with an -cysteine \cdots -cysteinium dimeric cation. **Journal of Molecular Structure**, v. 1121, p. 60–69, out. 2016.

GONG, Y.; CHEN, X.; LU, Y.; YANG, W. Self-assembled dipeptide-gold nanoparticle hybrid spheres for highly sensitive amperometric hydrogen peroxide biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 66, p. 392–398, 2015.

GOPAKUMAR, G.; UNGER, I.; SAAK, C.-M.; ÖHRWALL, G.; NAVES DE BRITO, A.; RIZUTI DA ROCHA, T. C.; NICOLAS, C.; CALEMAN, C.; BJÖRNEHOLM, O. The surface composition of amino acid – halide salt solutions is pH-dependent. **Environmental Science: Atmospheres**, v. 2, n. 3, p. 441–448, 2022.

GÖRBITZ, C. H.; RISSANEN, K.; VALKONEN, A.; HUSABØ, Å. Molecular aggregation in selected crystalline 1:1 complexes of hydrophobic D- and L-amino acids. IV. The L-

phenylalanine series. **Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications**, v. 65, n. 6, p. 267–272, 2009.

HAO, B.; ZHAO, G.; KANG, P. T.; SOARES, J. A.; FERGUSON, T. K.; GALLUCCI, J.; KRZYCKI, J. A.; CHAN, M. K. Reactivity and Chemical Synthesis of L-Pyrrolysine—the 22nd Genetically Encoded Amino Acid. **Chemistry & Biology**, v. 11, n. 9, p. 1317–1324, set. 2004.

HARDING, M. M.; HOWIESON, R. M. L-Leucine. **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 32, n. 2, p. 633–634, 1 fev. 1976.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Physical Review**, v. 136, n. 3B, p. B864–B871, 9 nov. 1964.

HOLANDA, R. O.; LIMA, J. A.; FREIRE, P. T. C.; MELO, F. E. A.; MENDES FILHO, J.; POLIAN, A. New pressure-induced phase transitions of l-threonine crystal: A Raman spectroscopic study. **Journal of Molecular Structure**, v. 1092, p. 160–165, jul. 2015.

HUGHES, A. B. **Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry**. [s.l.] Wiley, 2010.

IGLESIAS, S.; ALVAREZ, N.; TORRE, M. H.; KREMER, E.; ELLENA, J.; RIBEIRO, R. R.; BARROSO, R. P.; COSTA-FILHO, A. J.; KRAMER, M. G.; FACCHIN, G. Synthesis, structural characterization and cytotoxic activity of ternary copper (II) – dipeptide – phenanthroline complexes. A step towards the development of new copper compounds for the treatment of cancer. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 139, p. 117–123, 2014.

IOUDINA, M.; UEMURA, E. A three amino acid peptide, Gly-Pro-Arg, protects and rescues cell death induced by amyloid β -peptide. **Experimental Neurology**, v. 184, n. 2, p. 923–929, dez. 2003.

ISAKOV, A. I.; LORENZ, H.; ZOLOTAREV, A. A.; KOTELNIKOVA, E. N. Heteromolecular compounds in binary systems of amino acids with opposite and same chiralities. **CrystEngComm**, v. 22, n. 5, p. 986–997, 2020.

ISHIDA, N.; OKUBO, A.; KAWAI, H.; YAMAZAKI, S.; TODA, S. Interaction of Amino Acids with Transition Metal Ions in Solution (I) Solution Structure of L-Lysine with Co (II) and Cu(II) Ions as Studied by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 263–270, 9 fev. 1980.

JAMRÓZ, M. H. Vibrational Energy Distribution Analysis (VEDA): Scopes and limitations. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 114, p. 220–230, out. 2013.

JARMELO, S.; REVA, I.; ROZENBERG, M.; CAREY, P. R.; FAUSTO, R. Low-temperature infrared spectra and hydrogen bonding in polycrystalline dl-serine and deuterated derivatives. **Vibrational Spectroscopy**, v. 41, n. 1, p. 73–82, maio 2006.

JOHANSSON, L.; GAFVELIN, G.; ARNÉR, E. S. J. Selenocysteine in proteins—properties and biotechnological use. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v.

1726, n. 1, p. 1–13, out. 2005.

JOSÉ ALVES, L. J. **Espectroscopia Raman dos Aminoácidos L-metionina, DL-alanina e de Nanotubos de Carbono**. 2008. 215 f. Tese (Doutorado em Física) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

JOSEYPHUS, R. S.; DHANARAJ, C. J.; NAIR, M. S. Synthesis and characterization of some Schiff base transition metal complexes derived from vanillin and L(+)-alanine. **Transition Metal Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 699–702, set. 2006.

KAIBA, A.; GEESI, M. H.; GUIONNEAU, P.; ALJOHANI, T. A.; BIH, L.; BIH, H.; KASSOU, S. Synthesis, structural and Raman spectroscopic in organic–inorganic halide perovskites based on β -Alanine. **Journal of Molecular Structure**, v. 1204, p. 127380, mar. 2020.

KARPIN, G. W.; MEROLA, J. S.; FALKINHAM, J. O. Transition Metal– α -Amino Acid Complexes with Antibiotic Activity against Mycobacterium spp. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 7, p. 3434–3436, jul. 2013.

KEYES-BAIG, C.; DUHAMEL, J.; FUNG, S. Y.; BEZAIRE, J.; CHEN, P. Self-assembling peptide as a potential carrier of hydrophobic compounds. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 24, p. 7522–7532, 2004.

KIM, S. K.; KIM, M. S.; SUH, S. W. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) of aromatic amino acids and their glycylic dipeptides in silver sol. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 18, n. 3, p. 171–175, 1987.

KOZLOWSKI, H.; FORMICKA-KOZLOWSKA, G.; JEŻOWSKA-TRZEBIATOWSKA, B. ^1H n.m.r. conformational studies of glycylic-L-phenylalanine and L-phenylalanyl-glycine dipeptides and their complexes with palladium (II). **Organic Magnetic Resonance**, v. 10, n. 1, p. 146–150, 14 dez. 1977.

KUMAR, D.; ABDUL, M.; AKRAM, M. Role of gemini surfactants (m- s -m type ; m = 16 , s = 4 – 6) on the reaction of [Zn (II) -Gly-Phe] + with ninhydrin. n. July, 2014.

KUMAR, D.; AKRAM, M.; KABIR-UD-DIN. Kinetic and Mechanistic Studies on [Zn(II)-Gly-Phe] + –Ninhydrin Reaction in Aqueous and Cationic CTAB Surfactant Micelles. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 35, n. 12, p. 1709–1716, 2 nov. 2014.

KUMAR, D.; NEO, K.; ABDUL, M. Interaction between copper (II) complex of glycylicphenylalanine and ninhydrin in aqueous – micellar solutions of gemini surfactants. **Journal of Molecular Liquids**, v. 212, p. 872–878, 2015.

KURBATOVA, M. S.; BARANNIKOV, V. P. Complexes of Ionized Dipeptides of Glycyl-L-Glutamic Acid and Alanyl-L-Tyrosine with Nucleic Bases of the Pyrimidine Series. **Journal of Structural Chemistry**, v. 64, n. 11, p. 2213–2225, 29 nov. 2023.

KURU, E.; HUGHES, H. V.; BROWN, P. J.; HALL, E.; TEKKAM, S.; CAVA, F.; PEDRO, M. A. DE; BRUN, Y. V.; VANNIEUWENHZE, M. S. In Situ Probing of Newly Synthesized Peptidoglycan in Live Bacteria with Fluorescent D-Amino Acids. **Angewandte Chemie**

International Edition, v. 51, n. 50, p. 12519–12523, 7 dez. 2012.

KUZDEROVÁ, G.; RENDOŠOVÁ, M.; GYEPES, R.; SOVOVÁ, S.; SABOLOVÁ, D.; VILKOVÁ, M.; OLEJNÍKOVÁ, P.; BAČOVÁ, I.; STOKIČ, S.; KELLO, M.; VARGOVÁ, Z. Antimicrobial and Anticancer Application of Silver(I) Dipeptide Complexes. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6335, 20 out. 2021.

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

LEE, H. I.; KIM, M. S.; SUH, S. W. Raman Spectroscopy of L-Phenylalanine9 L-Tyrosine , and their Peptides Adsorbed on Silver Surface. v. 9, n. 4, p. 218–223, 1988.

LI, Y.; ZHANG, Z.; PHOO, W. W.; LOH, Y. R.; WANG, W.; LIU, S.; CHEN, M. W.; HUNG, A. W.; KELLER, T. H.; LUO, D.; KANG, C. B. Structural Dynamics of Zika Virus NS2B-NS3 Protease Binding to Dipeptide Inhibitors. **Structure**, v. 25, n. 8, p. 1242-- 1250.e3, 2017.

LIEBECQ, C. IUPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN) and Nomenclature Committee of IUBMB (NC-IUBMB). **European Journal of Biochemistry**, v. 264, n. 2, p. 607–609, 9 set. 1999.

LIMA, J. A.; FREIRE, P. T. C.; MELO, F. E. A.; LEMOS, V.; MENDES FILHO, J.; PIZANI, P. S. High pressure Raman spectra of L-methionine crystal. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 39, n. 10, p. 1356–1363, 28 out. 2008.

LIMA, R. A.; QUIMBAYO, J. S. M.; VASCONCELOS, D. L. M.; SILVA, C. B.; SANTANA, J. V.; ZANATTA, G.; FREIRE, V. N.; FREIRE, P. T. C. Study of the vibrational properties of haloperidol under high-pressure. **Vibrational Spectroscopy**, v. 109, n. June, 2020.

LIMA, R. A.; VASCONCELOS, D. L. M.; SILVA, J. A. S. DA; SANTANA, J. V.; CORDEIRO, A. J. P.; AYALA, A. P.; FREIRE, P. T. C. Crystal structure, vibrational and chemical properties and phase transitions in Glycyl-DL-Aspartic acid and Glycyl-DL-Aspartic acid monohydrated. **Journal of Molecular Structure**, v. 1286, n. January, p. 135651, ago. 2023.

LIMA, R. J. C.; SANTOS-JUNIOR, E. C.; MORENO, A. J. D.; FAÇANHA-FILHO, P. F.; FREIRE, P. T. C.; YOSHIDA, M. I. Thermal study of l-alanine, l-threonine, and taurine crystals related to hydrogen bonding. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 1, p. 627–631, 18 jan. 2013.

LIN, B.; LIU, Y.; WANG, M.; WANG, Y.; DU, S.; GONG, J.; WU, S. Intermolecular Interactions and Solubility Behavior of Multicomponent Crystal Forms of Orotic Acid: Prediction and Experiments. **Crystal Growth & Design**, v. 21, n. 3, p. 1473–1481, 3 mar. 2021.

LOSEV, E. A.; BOLDYREVA, E. Concomitant cocrystal and salt: no interconversion in the solid state. **Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry**, v. 75, n. 3, p. 313–319, 1 mar. 2019.

MAHAPATRA, M.; BURKHOLDER, L.; BAI, Y.; GARVEY, M.; BOSCOBOINIK, J. A.;

HIRSCHMUGL, C.; TYSOE, W. T. Formation of Chiral Self-Assembled Structures of Amino Acids on Transition-Metal Surfaces: Alanine on Pd(111). **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 118, n. 13, p. 6856–6865, 3 abr. 2014.

MANDAL, S.; DAS, G.; ASKARI, H. Physicochemical investigations of the metal complexes of L-valine with doubly charged ions of nickel, copper and zinc: a combined experimental and computational approach. **RSC Adv.**, v. 4, n. 47, p. 24796–24809, 2014a.

MANDAL, S.; DAS, G.; ASKARI, H. Experimental and Quantum Chemical Modeling Studies of the Interactions of L-Phenylalanine with Divalent Transition Metal Cations. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 54, n. 9, p. 2524–2535, 22 set. 2014b.

MARCOTRIGIANO, G.; MENABUE, L.; PELLACANI, G. C. Coordination properties of β -alanine: new complexes with some transition metals cobalt(II), nickel(II), and copper(II). **Canadian Journal of Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 2426–2431, 1 ago. 1976.

MARDIROSSIAN, M.; RUBINI, M.; ADAMO, M. F. A.; SCOCCHI, M.; SAVIANO, M.; TOSSI, A.; GENNARO, R.; CAPORALE, A. Natural and Synthetic Halogenated Amino Acids—Structural and Bioactive Features in Antimicrobial Peptides and Peptidomimetics. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7401, 6 dez. 2021.

MATTHEWS, B. W. Racemic crystallography—Easy crystals and easy structures: What's not to like? **Protein Science**, v. 18, n. 6, p. 1135–1138, 26 jun. 2009.

MCAULAY, K.; WANG, H.; FUENTES-CAPARRÓS, A. M.; THOMSON, L.; KHUNTI, N.; COWIESON, N.; CUI, H.; SEDDON, A.; ADAMS, D. J. Isotopic Control over Self-Assembly in Supramolecular Gels. **Langmuir**, v. 36, n. 29, p. 8626–8631, 2020.

MØLGAARD, A.; ARNAU, J.; LAURITZEN, C.; LARSEN, S.; PETERSEN, G.; PEDERSEN, J. The crystal structure of human dipeptidyl peptidase I (cathepsin C) in complex with the inhibitor Gly-Phe-CHN₂. **Biochemical Journal**, v. 401, n. 3, p. 645–650, 1 fev. 2007.

MOMMA, K.; IZUMI, F. VESTA 3 for three-dimensional visualization of crystal, volumetric and morphology data. **Journal of Applied Crystallography**, v. 44, n. 6, p. 1272–1276, 1 dez. 2011.

MORSHIMA. Tracheal Barrier and the Permeability of Hydrophilic Drugs and Dipeptides. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 534, p. 364–370, 1977.

MUKKAMALA, D.; ZHANG, Y.; OLDFIELD, E. A solid state ¹³C NMR, crystallographic, and quantum chemical investigation of phenylalanine and tyrosine residues in dipeptides and proteins. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 23, p. 7385–7392, 2007.

MUTIHAC, L.; BUSCHMANN, H. J.; JANSEN, K.; WEGO, A. Interactions and transport through liquid membranes of some dipeptide complexes with macrocyclic receptors. **Materials Science and Engineering C**, v. 18, n. 1–2, p. 259–264, 2001.

NAGANATHAN, P. S.; VENKATESAN, K. Crystal and molecular structure of glycyl-L-alanine hydrochloride. **Acta Crystallographica Section B**, v. 28, n. 2, p. 552–556, 1 fev.

1972.

NAGANUMA, T.; IINUMA, Y.; NISHIWAKI, H.; MURASE, R.; MASAKI, K.; NAKAI, R. Enhanced Bacterial Growth and Gene Expression of D-Amino Acid Dehydrogenase With D-Glutamate as the Sole Carbon Source. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. SEP, p. 1–13, 4 set. 2018.

PALAFIX, M. A. DFT computations on vibrational spectra: Scaling procedures to improve the wavenumbers. **Physical Sciences Reviews**, v. 3, n. 6, p. 1–30, 2019.

PANDA, J. J.; CHAUHAN, V. S. Short peptide based self-assembled nanostructures: implications in drug delivery and tissue engineering. **Polymer Chemistry**, v. 5, n. 15, p. 4431, 2014.

PAWLUKOJĆ, A.; HETMAŃCZYK, J.; NOWICKA-SCHEIBE, J.; MAURIN, J. K.; SCHILF, W.; ROZWADOWSKI, Z. Spectroscopic, thermal and structural studies of new -leucine and -leucine complexes with chloranilic acid. **Journal of Molecular Structure**, v. 1133, p. 464–471, abr. 2017.

PETROSYAN, A. M.; GIESTER, G.; GHAZARYAN, V. V.; FLECK, M. Halogenides of β -alanine. **Journal of Molecular Structure**, v. 1222, p. 128825, dez. 2020.

PINHEIRO, G. S. **Espectroscopia vibracional em cristais de L-histidina**. 2009. 122 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

POLAT, S.; AN, Q.; ERAL, H. B. Influence of Glycyl-L-Glutamic Acid Dipeptide on Calcium Pyrophosphate Dihydrate Crystallization. **Chemical Engineering & Technology**, v. 46, n. 11, p. 2301–2309, 21 nov. 2023.

PUŠKARIĆ, A.; HALASZ, I.; GREDIČAK, M.; PALČIĆ, A.; BRONIĆ, J. Synthesis and structure characterization of zinc and cadmium dipeptide coordination polymers. **New Journal of Chemistry**, v. 40, n. 5, p. 4252–4257, 2016.

RAMOS, M. L.; DIAS, D. C.; JUSTINO, L. L. G.; VERISSIMO, L. M. P.; VALENTE, A. J. M.; ESTESO, M. A.; RIBEIRO, A. C. F.; LEAIST, D. G.; PINA, J.; CABRAL, A. M. T. D. P. V.; RODRIGO, M. M. Interactions between glycyl-L-phenylalanine and β -cyclodextrin from diffusion, spectroscopic and computational studies. **Journal of Molecular Liquids**, v. 315, p. 113704, out. 2020.

RAO, N. M. **Medical Biochemistry**. 2 Revised ed. [s.l.] New Age International Pvt Ltd Publishers, 2006.

REMKO, M.; FITZ, D.; BROER, R.; RODE, B. M. Effect of metal Ions (Ni^{2+} , Cu^{2+} and Zn^{2+}) and water coordination on the structure of L-phenylalanine, L-tyrosine, L-tryptophan and their zwitterionic forms. **Journal of Molecular Modeling**, v. 17, n. 12, p. 3117–3128, 2 dez. 2011.

REMKO, M.; FITZ, D.; RODE, B. M. Effect of Metal Ions (Li^{+} , Na^{+} , K^{+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , and Zn^{2+}) and Water Coordination on the Structure and Properties of l -

Arginine and Zwitterionic L-Arginine. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 112, n. 33, p. 7652–7661, 1 ago. 2008.

RESHKIN, S. J.; AHEARN, G. A. Intestinal transport glycyl + phenylalanine in a euryhaline teleost. **American Physiological Society**, v. 260, n. 3, p.R563-R569, 1. mar. 1991.

RIETVELD, H. M. A Profile Refinement Method for Nuclear and Magnetic Structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 2, n. 2, p. 65–71, 1969.

RODRIGUES, V. H.; COSTA, M. M. R. R.; MATOS GOMES, E. DE; NOGUEIRA, E.; BELSLSEY, M. S. L-Phenylalanine 4-nitrophenol (1/1). **Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, v. 62, n. 12, p. o699–o701, 15 dez. 2006.

ROTHER, M.; KRZYCKI, J. A. Selenocysteine, Pyrrolysine, and the Unique Energy Metabolism of Methanogenic Archaea. **Archaea**, v. 2010, p. 1–14, 2010.

ROUSSEAU, D. L.; BAUMAN, R. P.; PORTO, S. P. S.; LABORATORIES, B. T.; HILL, M.; BAUMAN, R. P. Normal mode determination in crystals. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 10, n. 1, p. 253–290, jan. 1981.

SHARIFI, S.; NORI-SHARGH, D.; BAHADORY, A. Complexes of thallium(I) and cadmium(II) with dipeptides of L-phenylalanyl-glycine and glycyl-L-phenylalanine. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 5, p. 1011–1016, 2007.

SHELDRICK, G. M. SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination. **Acta Crystallographica Section A Foundations and Advances**, v. 71, n. 1, p. 3–8, 1 jan. 2015a.

SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 3–8, 1 jan. 2015b.

SHEN, G. *et al.* Toward an international practical pressure scale: A proposal for an IPPS ruby gauge (IPPS-Ruby2020). **High Pressure Research**, v. 40, n. 3, p. 299–314, 2 jul. 2020.

SILVA, C. B. **Propriedades estruturais e vibracionais dos dipeptídeos L-alanil-L-fenilalanina e L,L-dileucina**. 2019. 134 f. Tese (Doutorado em Física) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

SILVA, C. B.; SILVA FILHO, J. G. DA; PINHEIRO, G. S.; TEIXEIRA, A. M. R.; FREIRE, P. T. C. Vibrational and structural properties of L-Alanyl-L-Phenylalanine dipeptide by Raman spectroscopy, infrared and DFT calculations. **Vibrational Spectroscopy**, v. 98, n. February, p. 128–133, 2018.

SILVA, C. B.; SILVA FILHO, J. G. DA; PINHEIRO, G. S.; TEIXEIRA, A. M. R.; SOUSA, F. F. DE; FREIRE, P. T. C. High-pressure studies on L,L-dileucine crystals by Raman spectroscopy and synchrotron X-ray diffraction combined with DFT calculations. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 229, p. 117899, 2020.

SILVA FILHO, J. G. **Propriedades vibracionais do dipeptídeo L,L-difenilalanina sob**

condições extremas de temperatura e pressão. Tese (Doutorado em Física) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, p. 140, 2017.

SILVA FILHO, J. G. DA; FILHO, J. M.; MELO, F. E. A.; LIMA, J. A.; FREIRE, P. T. C. Raman spectroscopy of L,L-diphenylalanine crystal under high pressure. **Vibrational Spectroscopy**, v. 92, p. 173–181, set. 2017.

SILVA FILHO, J. G. DA; MELO, F. E. A.; LIMA, J. A.; PINHEIRO, G. S.; FREIRE, P. T. C. High-temperature Raman spectroscopy of L,L-diphenylalanine single-crystal. **Vibrational Spectroscopy**, v. 97, n. February, p. 75–84, jul. 2018.

SILVA, J. G.; ARRUDA, L. M.; PINHEIRO, G. S.; LIMA, C. L.; MELO, F. E. A.; AYALA, A. P.; FILHO, J. M.; FREIRE, P. T. C. The temperature-dependent single-crystal Raman spectroscopy of a model dipeptide: l-Alanyl-l-alanine. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 148, p. 244–249, set. 2015.

SIRENKO, V. Y.; KUCHERIV, O. I.; NAUMOVA, D. D.; FESYCH, I. V.; LINNIK, R. P.; DASCĂLU, I.-A.; SHOVA, S.; FRITSKY, I. O.; GURAL'SKIY, I. A. Chiral organic–inorganic lead halide perovskites based on α -alanine. **New Journal of Chemistry**, v. 45, n. 28, p. 12606–12612, 2021.

SOUSA, G. P. DE; FREIRE, P. T. C.; FILHO, J. M.; MELO, F. E. A.; LIMA, C. L. Low-Temperature Raman Spectra of l-Histidine Crystals. **Brazilian Journal of Physics**, v. 43, n. 3, p. 137–144, 3 jun. 2013.

SOUZA, J. M. DE; FREIRE, P. T. C.; BORDALLO, H. N.; ARGYRIOU, D. N. Structural Isotopic Effects in the Smallest Chiral Amino Acid: Observation of a Structural Phase Transition in Fully Deuterated Alanine. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, n. 19, p. 5034–5039, 1 maio 2007.

SRINIVASAN, G.; JAMES, C. M.; KRZYCKI, J. A. Pyrrolysine Encoded by UAG in Archaea: Charging of a UAG-Decoding Specialized tRNA. **Science**, v. 296, n. 5572, p. 1459–1462, 24 maio 2002.

SUN, Y.; KAPLAN, J. A.; SHIEH, A.; SUN, H.-L.; CROCE, C. M.; GRINSTAFF, M. W.; PARQUETTE, J. R. Self-assembly of a 5-fluorouracil-dipeptide hydrogel. **Chem. Commun.**, v. 52, n. 30, p. 5254–5257, 2016.

SURESH, C. G.; VIJAYAN, M. X-ray studies on crystalline complexes involving amino acids and peptides. **International Journal of Peptide and Protein Research**, v. 26, n. 3, p. 329–336, 12 set. 1985.

TALLOJ, S. K.; MOHAMMED, M.; LIN, H. C. Construction of self-assembled nanostructure-based tetraphenylethylene dipeptides: Supramolecular nanobelts as biomimetic hydrogels for cell adhesion and proliferation. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 8, n. 33, p. 7483–7493, 2020.

TOBY, B. H.; DREELE, R. B. VON. GSAS-II : the genesis of a modern open-source all purpose crystallography software package. **Journal of Applied Crystallography**, v. 46, n. 2, p. 544–549, 1 abr. 2013.

TRANTER, T. C. Crystal Structure of Glycyl-L-Alanine Hydrobromide. **Nature**, v. 173, n. 4396, p. 221–222, jan. 1954.

TRANTER, T. C. Crystal Structure of Glycyl-L-Alanine Hydrochloride. **Nature**, v. 177, n. 4497, p. 37–38, jan. 1956.

VASCONCELOS, N.; ARAÚJO, B. S.; ABREU, D. S.; P. GÓMEZ, M. A.; AYALA, A. P.; PASCHOAL, C. W. A. Exciton–phonon coupling in alanine-based hybrid lead bromide. **Materials Advances**, v. 3, n. 23, p. 8597–8607, 2022.

VEEN, J. M. VAN DER; LOW, B. W. The crystal structures of glycyl- L -phenylalanine p -toluenesulfonate and glycyl- L -phenylalanine p -bromobenzenesulfonate. **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 28, n. 12, p. 3548–3559, 1972.

VILLA, A.; VEGT, N. F. A. VAN DER; PETER, C. Self-assembling dipeptides: including solvent degrees of freedom in a coarse-grained model. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 11, n. 12, p. 2068, 2009.

WATANABE, M.; MAEMURA, K.; KANBARA, K.; TAMAYAMA, T.; HAYASAKI, H. GABA and GABA Receptors in the Central Nervous System and Other Organs. *Em: International Review of Cytology*. [s.l.: s.n.]. v. 213p. 1–47.

WENG, S.; ANKERSEN, M.; LARSEN, C. Kinetics of degradation and oil solubility of ester prodrugs of a model dipeptide (Gly-Phe). **European Journal of Pharmaceutical Sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 22, n. 5, p. 399–408, aug. 2004.

WOLOSKER, H.; DUMIN, E.; BALAN, L.; FOLTYN, V. N. D-Amino acids in the brain: d-serine in neurotransmission and neurodegeneration. **The FEBS Journal**, v. 275, n. 14, p. 3514–3526, 3 jul. 2008.

WU, G. **Amino Acids**. [s.l.] CRC Press, 2013.

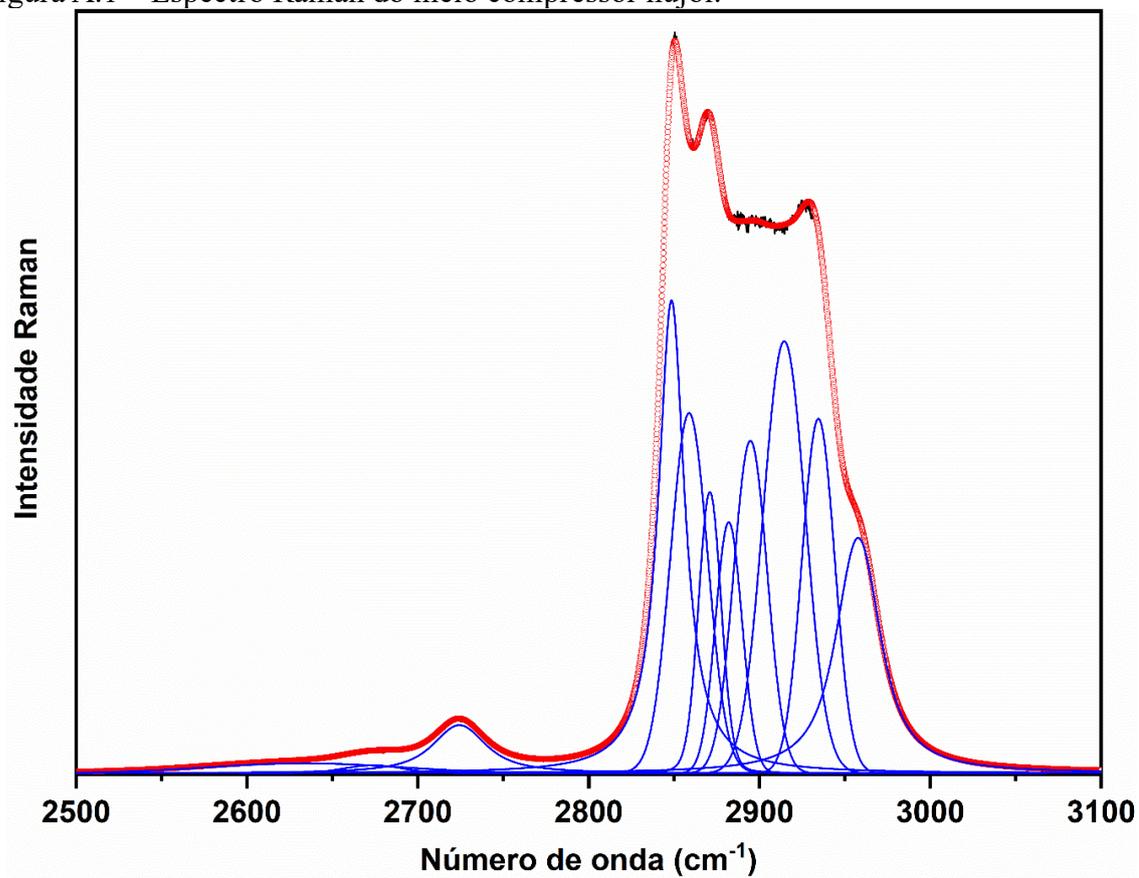
ZHANG, G.; ZHANG, L.; RAO, H.; WANG, Y.; LI, Q.; QI, W.; YANG, X.; SU, R.; HE, Z. Role of molecular chirality and solvents in directing the self-assembly of peptide into an ultra-pH-sensitive hydrogel. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 577, p. 388–396, 2020.

ZHANG, Y.; GLADYSHEV, V. N. High content of proteins containing 21st and 22nd amino acids, selenocysteine and pyrrolysine, in a symbiotic deltaproteobacterium of gutless worm *Olavius algarvensis*. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. 15, p. 4952–4963, ago. 2007.

ZOHRABI, T.; AMIRI-SADEGHAN, A.; GANJALI, M. R.; HOSSEINKHANI, S. Diphenylalanin nanofibers-inspired synthesis of fluorescent gold nanoclusters for screening of anti-amyloid drugs. **Methods and Applications in Fluorescence**, v. 8, n. 4, p. 045002, 28 jul. 2020.

ANEXO A – ESPECTRO RAMAN DO MEIO COMPRESSOR NUJOL

Figura A.1 – Espectro Raman do meio compressor nujol.



Fonte: Elaborado pelo autor.

ANEXO B – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA DURANTE O DOUTORADO

B.1 Artigos Publicados em Periódicos Referentes à Tese

- J. Avelar S. Silva, D.L. Militão Vasconcelos, R. Araújo de Lima, A.J.P. Cordeiro, P. Tarso C. Freire, Structural and vibrational analysis of glyceryl-L-phenylalanine and phase transition under high-pressure, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 304 (2024) 123383. DOI: 10.1016/j.saa.2023.123383.

B.2 Artigos Publicados Durante o Período de Doutorado

- M. Mączka, J.A.S. Silva, W.P. Gomes, D.L.M. Vasconcelos, F. Dybała, A.P. Herman, R. Kudrawiec, P.T.C. Freire, Temperature- and Pressure-Dependent Raman and Photoluminescence Studies of Corrugated Imidazolium-Methylhydrazinium Lead Bromide, *J. Phys. Chem. C.* (2024). DOI: 10.1021/acs.jpcc.4c01662.
- R.A. Lima, D.L.M. Vasconcelos, J.A.S. da Silva, J. V. Santana, A.J.P. Cordeiro, A.P. Ayala, P.T.C. Freire, Crystal structure, vibrational and chemical properties and phase transitions in Glyceryl-DL-Aspartic acid and Glyceryl-DL-Aspartic acid monohydrated., *J. Mol. Struct.* 1286 (2023) 135651. DOI: 10.1016/j.molstruc.2023.135651.
- W.J. Alencar, J.H. da Silva, F.I.B. de Oliveira, A. Ghosh, D.L.M. Vasconcelos, J.A.S. da Silva, C.R.D. de Freitas, T.A. de Moura, F.M. Rufino, P.T.C. Freire, Vibrational spectroscopy, X-ray diffraction and EDS applied to reveal the fossilization pathways of fossil shells from the Jandaíra Formation, Upper Cretaceous Northeast Brazil, *Vib. Spectrosc.* 123 (2022) 103430. DOI: 10.1016/j.vibspec.2022.103430.