



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

CRISTIANO BALBINO DA SILVA

**Propriedades estruturais e vibracionais dos dipeptídeos
L-alanil-L-fenilalanina e L,L-dileucina**

FORTALEZA

15 de fevereiro de 2019

CRISTIANO BALBINO DA SILVA

**Propriedades estruturais e vibracionais dos dipeptídeos
L-alanil-L-fenilalanina e L,L-dileucina**

Tese de Doutorado submetida ao programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Física.

Universidade Federal do Ceará – CE

Departamento de Física

Programa de Pós-Graduação

Orientador: Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Gardênia de Sousa Pinheiro

Fortaleza-CE

15 de fevereiro de 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S579p Silva, Cristiano Balbino da.
Propriedades estruturais e vibracionais dos dipeptídeos L-alanil-L-fenilalanina e L,L-dileucina /
Cristiano Balbino da Silva. – 2019.
134 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em
Física, Fortaleza, 2019.

Orientação: Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire.
Coorientação: Profa. Dra. Gardênia de Sousa Pinheiro.

1. Dipeptídeos. 2. Espectroscopia Raman. 3. Espectroscopia infravermelho. 4. Difração de raios-X. 5.
DFT. I. Título.

CDD 530

CRISTIANO BALBINO DA SILVA

**Propriedades estruturais e vibracionais dos dipeptídeos
L-alanil-L-fenilalanina e L,L-dileucina**

Tese de Doutorado submetida ao programa de Pós-Graduação em Física da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Física.

Fortaleza-CE, Comissão julgadora:

**Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante
Freire - UFC**
Orientador

**Prof.^a Dr.^a Gardênia de Sousa
Pinheiro - UFPI**
Coorientadora

**Prof. Dr. Francisco Erivan de Abreu
Melo - UFC**

**Prof. Dr. Alexandre Magno Rodrigues
Teixeira - URCA**

**Prof. Dr. João Hermínio da Silva
-UFCA**

Fortaleza-CE
15 de fevereiro de 2019

*Este trabalho é dedicado à minha família
e a todos os professores.*

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire, meu orientador, pela confiança, boa vontade, compreensão, profissionalismo e amor à pesquisa. Pelo apoio, sugestões e orientação do mestrado e doutorado. E acima de tudo por inspirar, através do exemplo, um futuro na vida acadêmica.

À Prof.^a Dr.^a Gardênia de Sousa Pinheiro, minha coorientadora, pela enorme contribuição na realização deste trabalho, por sempre mostrar-se solícita a colaborar, seja nos experimentos ou na orientação de trabalhos, aos quais sempre deu um toque especial. Por sua amizade, preocupação e acima de tudo por servir de modelo de profissional que desempenha suas funções com competência e determinação.

Ao Prof. Dr. Alexandre Magno Rodrigues Teixeira, responsável por despertar em mim o interesse pela vida acadêmica, além de ter dado todo o suporte inicial para que tivesse êxito nesse ingresso. Pela colaboração nos trabalhos, por acompanhar de perto minha evolução, por sua amizade, e pelos momentos que pude desfrutar junto a sua família. Por ter aceito participar da banca examinadora desta tese.

Ao Prof. Dr. Francisco Erivan de Abreu Melo, pelas sugestões dadas na qualificação desta tese e por ter aceito convite para compor a banca examinadora da mesma.

Ao Prof. Dr. João Hermínio da Silva por ter aceito convite para compor a banca examinadora desta tese.

Ao Dr. José Gadelha de Sousa Filho, pela disponibilidade em ensinar a manusear os equipamentos dos laboratórios. Pela enorme contribuição na realização dos experimentos e discussões dos resultados, por sua amizade e por sempre mostrar-se disposto a ajudar.

Aos meus pais Raimundo Fernandes da Silva e Francisca Balbino da Silva que mesmo sem ter tido acesso a educação sempre fizeram de tudo para que todos os filhos tivessem, deixando sempre em mente que isso seria a maior herança que podiam nos deixar e que seria a única coisa que ninguém poderia nos tirar. Bem como a todos os meus familiares que sempre estiveram na torcida pelo meu sucesso.

Ao amigo e companheiro Carlos Augusto Hortêncio de Medeiros Cavalcanti, pela motivação e apoio incondicional durante todo esse período. Por sempre me estimular a crescer e a buscar a realização dos meus sonhos.

Ao Prof. Francisco Gomes Ximenes, que despertou em mim não somente o interesse pela Física durante o ensino médio, mas como me fez acreditar em um futuro melhor por meio da educação. Pelos conselhos e por ter acompanhando de perto o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos ex-professores e agora amigos Luiz Ozório de Oliveira Filho, Antônio de Pádua Soeiro e Luis Carlos de Mesquita pelo incentivo e apoio que me motivaram e me impulsionaram na busca desse objetivo.

Aos amigos e colegas de sala Rocicler Holanda, Fellipe Rêgo, Roberto Namor, Daniel Militão, João Victor, Wanessa Façanha e Thiago Moura que sempre estiveram presentes em todo esse tempo, auxiliando, debatendo e também pelos momentos de descontração.

A todos os professores do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, pelas valiosas aulas ministradas nas disciplinas.

À Secretaria de Educação do Estado do Ceará, SEDUC-CE por conceder afastamento para realização deste doutorado.

Ao Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo, CENAPAD-SP pelo uso do software Gaussian 09 e facilidades computacionais através do projeto de referência proj373.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron LNLS-CNPEM (Campinas, Brasil) por conceder acesso à instalação da linha de luz-XDS.

Ao suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

À Funcap e ao CNPq pelo financiamento parcial, em particular pelos recursos para adquirir os reagentes, através do projeto PRONEX PR 2-0101-0006.00/15, Núcleo de Excelência em estudos físico-químicos sob condições extremas.

Aos funcionários do Departamento de Física da UFC.

À Rejane e Ana Cleide, pela atenção e paciência.

*Não é a força, mas a perseverança
que realiza grandes coisas.
(Samuel Johnson)*

Resumo

No presente trabalho os dipeptídeos hidrofóbicos L-alanil-L-fenilalanina ($C_{12}H_{16}N_2O_3$) e L,L-dileucina hidratado ($C_{12}H_{24}N_2O_3 \cdot 0,87H_2O$) foram estudados utilizando técnicas de espectroscopia Raman e infravermelho, em conjunto com modelos computacionais baseados na Teoria do Funcional de Densidade (DFT), com o objetivo de investigar as propriedades estruturais e vibracionais desses materiais. Os cálculos de primeiros princípios utilizando a Teoria do Funcional de Densidade foram realizados em uma molécula isolada na forma zwitteriônica e com o uso do Modelo de Polarização Contínua para simular efeitos do solvente. As estruturas foram inicialmente obtidas a partir de um arquivo cristalográfico, otimizadas para a conformação de menor energia, e então submetidas ao cálculo de frequência para obtenção dos modos normais de vibração, onde fizemos uso do pacote Gaussian09 em conjunto com o funcional B3LYP e a série de bases 6-31 G (d,p)++. As atribuições para cada modo normal de vibração foram feitas com o auxílio de *softwares* de visualização molecular e do programa *VEDA4* (que fornece a distribuição de energia potencial para cada modo). Os experimentos de espectroscopia Raman e infravermelho foram feitos, primeiramente, em condições ambientes, na região de 40 a 3500 cm^{-1} e de 130 a 4000 cm^{-1} , respectivamente. Para o dipeptídeo L,L-dileucina, foram realizados experimentos de análise térmica DSC da temperatura ambiente até 473 K (~ 200 °C), experimentos de espectroscopia Raman com variação de pressão até 8,2 GPa, difração de raios-X síncrotron com variação de pressão até 26,1 GPa, e ainda, experimentos de difração de raios-X em baixas temperaturas até 103 K (~ -170 °C) e em altas temperaturas até 473 K (~ 200 °C). Esses estudos foram realizados na perspectiva de entender o comportamento do dipeptídeo L,L-dileucina hidratado sob a variação desses parâmetros termodinâmicos. Os experimentos sob altas pressões, tanto Raman como difração de raios-X com radiação síncrotron, mostraram mudanças significativas, sugerindo uma transição de fase entre 2,3 e 2,9 GPa. Os resultados de difração de raios-X a baixas temperaturas apresentam sutis alterações indicando uma possível mudança conformacional no intervalo de 223 a 233 K (~ -50 a -40 °C), enquanto que, em altas temperaturas ocorrem mudanças drásticas entre 373 e 403 K (~ 100 e 130 °C), indicando a ocorrência de uma transição de fase neste intervalo de temperatura. Possíveis explicações para essas modificações estruturais são também fornecidas.

Palavras-chave: Dipeptídeos. Espectroscopia Raman. Espectroscopia infravermelho. Difração de raios-X. DFT.

Abstract

In the present study the hydrophobic dipeptides L-alanyl-L-phenylalanine ($C_{12}H_{16}N_2O_3$) and L,L-dileucine hydrate ($C_{12}H_{24}N_2O_3 \cdot 0.87H_2O$) were studied using Raman and infrared spectroscopy techniques, together with computational models, based on Functional Density Theory (DFT), with the purpose of investigating the structural and vibrational properties of these materials. First-principles calculations using the Functional Density Theory were carried out on an isolated molecule in the zwitterionic form, and the Polarizable Continuum Model was used to simulate solvent effects. The structures were initially obtained from a crystallographic file, optimized for the molecular conformation of lower energy, and then subjected to the frequency calculation to obtain the normal modes of vibration, where we made use of the Gaussian09 package together with the B3LYP functional and the 6-31 G(d,p)++ basis sets. The assignments for each normal mode of vibration were made with the aid of molecular visualization software and the VEDA4 program (which provides the potential energy distribution for each mode). The Raman and infrared spectroscopy experiments were made, at ambient conditions in the region of 40 to 3500 cm^{-1} and 130 to 4000 cm^{-1} , respectively. For the L,L-dileucine dipeptide, were performed DSC thermal analysis experiments (from room temperature up to 473 K (~ 200 °C)), Raman spectroscopy experiments with pressure variation up to 8.2 GPa, X-ray synchrotron with pressure up to 26.2 GPa, and experiments of X-ray diffraction at low temperatures down to 103 K (~ -170 °C), and at high temperatures up to 473 K (~ 200 °C), in order to understand the behavior of the dipeptide L,L-dileucine hydrate under the variation of these thermodynamic parameters. The experiments under high pressures, both Raman and X-ray diffraction with synchrotron radiation, showed significant changes, suggesting a phase transition between 2.3 and 2.9 GPa. The results of X-ray diffraction at low temperatures present subtle changes indicating a possible conformational change in the range of 223 to 233 K (~ -50 to -40 °C), while at high temperatures drastic changes occur between 373 and 403 K (~ 100 and 130 °C), indicating the occurrence of phase transition in this temperature range. Some explanations for these modifications are also furnished.

Keywords: Dipeptides. Raman spectroscopy. Infrared spectroscopy. X-Ray diffraction. DFT.

Lista de ilustrações

Figura 1.1 – Estrutura básica de um aminoácido.	24
Figura 1.2 – Representação da forma zwitteriônica do aminoácido fenilalanina.	25
Figura 1.3 – Numeração dos carbonos dos aminoácidos na forma numérica e em letras gregas.	25
Figura 1.4 – Isômeros L- e D-leucina e analogia com a formação de uma imagem no espelho.	26
Figura 1.5 – (a-b) Determinação da configuração absoluta dos aminoácidos em relação ao D-gliceraldeído e L-gliceraldeído; (c-d) Exemplo do aminoácido alanina nas configurações D e L.	27
Figura 1.6 – Nome e abreviaturas dos aminoácidos protéicos.	28
Figura 1.7 – Formação de um dipeptídeo.	31
Figura 1.8 – Características da ligação peptídica	32
Figura 1.9 – Representação esquemática das várias nanoestruturas formadas pela automontagem do dipeptídeo L,L-difenilalanina.	34
Figura 2.1 – Pó comercial utilizado nos experimentos com os dipeptídeos : (a) L-alanil-L-fenilalanina e (b) L,L-dileucina.	35
Figura 2.2 – (a) Cristais do dipeptídeo L,L-dileucina hidratado obtidos pela técnica de evaporação lenta do solvente; e (b) Cristais do dipeptídeo L,L-dileucina sob a lente de um microscópio ótico.	36
Figura 2.3 – (a) Espectrômetro Vertex70v da Bruker; e (b) Acessório de reflectância total atenuada (Platinum- ATR).	37
Figura 2.4 – DSC 200 F3 da Netzsch utilizado no experimento de calorimetria exploratória diferencial (DSC).	37
Figura 2.5 – (a) Difratômetro de raios-X (modelo D8 Advance); e (b) Câmara de temperatura utilizada no experimento de difração de raios-X.	38
Figura 2.6 – (a) <i>Layout</i> ótico da linha XDS; (b) Cabana experimental da linha de luz XDS; (c) Célula de bigorna de diamantes durante o experimento de difração de raios-X em condições extremas de pressão; e (d) Esquema ilustrativo do funcionamento da linha de luz XDS.	40
Figura 2.7 – (a) Espectrômetro LabRam adaptado os experimentos de espectroscopia Raman em função da pressão; (b) Célula de bigorna de diamantes; e (c) Esquema de altas pressões em extremos de diamantes.	41
Figura 3.1 – Representação da estrutura molecular do dipeptídeo AF, na forma zwitteriônica, com a correspondente numeração atômica utilizada neste trabalho e identificação dos ângulos de torção θ , ϕ e ψ	45

Figura 3.2 – Variação de energia potencial em função dos ângulos de torção no dipeptídeo AF.	46
Figura 3.3 – Conformações do dipeptídeo AF: (a) $ \theta = 110^\circ$ (mínimo global) e mínimos locais de energia (b) $ \theta = 150^\circ$ e (c) $ \theta = 20^\circ$	47
Figura 3.4 – Diferentes estruturas de um mesmo dipeptídeo em função do solvente utilizado na cristalização.	48
Figura 3.5 – Variação do ângulo de torção θ do dipeptídeo AF em relação a diferentes solventes.	49
Figura 3.6 – Comparação teórico-experimental dos espectros Raman e infravermelho do dipeptídeo AF.	50
Figura 3.7 – Alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF entre 150 e 600 cm^{-1}	52
Figura 3.8 – Alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF entre 600 e 1200 cm^{-1}	53
Figura 3.9 – Alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF entre 1200 e 1800 cm^{-1}	54
Figura 3.10 – Alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF entre 2800 e 3500 cm^{-1}	55
Figura 4.1 – Dipeptídeo LL interagindo com moléculas de água formando canais. . .	60
Figura 4.2 – Padrão de difração de raios-X por refinamento Rietveld do dipeptídeo LL e comparação com o difratograma experimental.	61
Figura 4.3 – (a) Unidade assimétrica do dipeptídeo LL; (b) Ligações de hidrogênio entre moléculas de água e moléculas do dipeptídeo LL; (c) Célula unitária do dipeptídeo LL; (d) Estrutura molecular do dipeptídeo LL otimizada com a correspondente numeração atômica utilizada neste trabalho.	62
Figura 4.4 – Comparação dos espectros Raman experimental e calculado (abaixo) e dos espectros no infravermelho, experimental e calculado (acima). . . .	66
Figura 4.5 – (a) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 50 a 200 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (b) Números de onda versus pressão de algumas bandas contidas nesta região.	72
Figura 4.6 – (a) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 200 a 700 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (b) Números de onda versus pressão das bandas contidas nesta região. . .	74
Figura 4.7 – (a) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 700 a 1000 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (b) Números de onda versus pressão das bandas contidas nesta região. . .	76

Figura 4.8 – (a) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 1000 a 1700 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (b) Números de onda versus pressão das bandas contidas nesta região.	77
Figura 4.9 – (a-c) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 2700 a 3500 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (d) Números de onda versus pressão das bandas contidas nesta região.	79
Figura 4.10–Comparação entre os processos de compressão e descompressão do experimento de espectroscopia Raman sob altas pressões do dipeptídeo LL (os valores de pressão são dados em GPa).	81
Figura 4.11–Difratogramas de raios-X com luz síncrotron do dipeptídeo LL sob altas pressões na faixa angular de: (a) 2 a 6°; (b) 6 a 10°; e (c) 10 a 15° (pressão dada em GPa).	84
Figura 4.12–Parâmetros de rede e volume da célula unitária do dipeptídeo LL em função da pressão.	85
Figura 4.13–Comparação entre o processo de compressão e descompressão do experimento de difração de Raios-X síncrotron para o dipeptídeo LL. Os valores de pressão são dados em GPa.	86
Figura 4.14–Curva de DSC para o cristal do dipeptídeo L,L-dileucina.	87
Figura 4.15–Difratogramas de raios-X do dipeptídeo LL submetidos a baixas temperaturas na faixa angular de 5 a 15°.	89
Figura 4.16–Difratogramas de raios-X do dipeptídeo LL submetido a baixas temperaturas na faixa angular de 15 a 25°.	90
Figura 4.17–Difratogramas de raios-X do dipeptídeo LL submetido a baixas temperaturas na faixa angular de 25 a 40°.	91
Figura 4.18–Parâmetros da célula unitária do dipeptídeo LL submetidos a baixas temperaturas no intervalo entre 30 e -170 °C.	92
Figura 4.19–Difratograma de raios-X do dipeptídeo LL submetido a altas temperaturas na faixa angular de 5 a 15°.	93
Figura 4.20–Difratogramas de raios-X do dipeptídeo LL submetido a altas temperaturas na faixa angular de: (a) 15 a 25°; e (b) 25 a 40°.	94
Figura 4.21–Evolução dos parâmetros da célula unitária do dipeptídeo LL submetido a altas temperaturas no intervalo entre 30 e 130 °C.	95
Figura A.1–Representação de um sistema massa mola.	112
Figura A.2–Diferentes tipos de vibrações moleculares.	113
Figura A.3–Vibrações do tipo torção.	114

Figura A.4–Princípio do espalhamento Raman: (a) quanta de energia interage com a molécula; (b) a radiação incidente de leva a molécula transição de estados; e (c) espectro Raman, mostrando as linhas de espalhamento Rayleigh, Stokes e Anti-stokes.	116
Figura A.5–Princípio de absorção no infravermelho: (a) quanta de energia $h\nu_1$, $h\nu_s$ e $h\nu_2$ interagem com a molécula, e somente $h\nu_s$ é absorvido; (b) diagrama de energia ilustrando as possíveis diferença de energia entre os estados e os quanta de energia; e (c) espectro de absorção no infravermelho. . .	120
Figura B.1–O espectro de um tubo de raios-X tem linhas fluorescentes discretas sobrepostas na radiação contínua de <i>bremstrahlung</i>	122
Figura B.2–Processos básicos envolvidos na difração de raios-X.	123
Figura B.3–Analogia ótica com planos cristalográficos refletindo raios-X.	123
Figura D.1–Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento de pressão (em GPa).	132
Figura E.1–Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento de pressão no experimento de difração de raios-X (em GPa).	133

Lista de tabelas

Tabela 1.1 – Classificação dos aminoácidos quanto às necessidades nutricionais. . . .	29
Tabela 1.2 – Classificação dos aminoácidos quanto à natureza do grupo radical R. . .	30
Tabela 3.1 – Propriedades do dipeptídeo AF.	44
Tabela 3.2 – Efeito do solvente no ângulo de torção (θ) do dipeptídeo AF.	49
Tabela 3.3 – Números de onda calculados e escalados e os números de onda Raman e IR experimentais (em unidades por centímetro), bem como a classificação dos modos vibracionais do dipeptídeo AF com PED (%). . .	57
Tabela 4.1 – Algumas propriedades do dipeptídeo LL.	60
Tabela 4.2 – Parâmetros geométricos da estrutura otimizada do dipeptídeo LL e comparação com dados experimentais.	63
Tabela 4.3 – Tabela de caracteres do grupo D_2	65
Tabela 4.4 – Números de onda calculados e escalados, números de onda Raman e IR experimentais (em unidades por centímetro) e classificação dos modos normais de vibração do dipeptídeo LL com PED (%)	68
Tabela 4.5 – Coeficientes de variação de pressão do número de onda de alguns modos do dipeptídeo LL à pressão ambiente (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) para os pontos experimentais. Valores de pressão (P) estão em GPa, os valores de ω_{calc} , ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} , e os valores de α encontram-se em $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$	82
Tabela A.1 – Números de onda característicos Raman e IR de grupos em compostos orgânicos.	128
Tabela B.1 – Coordenadas atômicas (Å) da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina.	129
Tabela B.2 – Parâmetros geométricos da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina.	130
Tabela C.1 – Coordenadas atômicas (Å) da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo LL.	131

Lista de abreviaturas e siglas

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ATR	<i>Attenuated total reflection</i>
CIF	<i>Crystallographic Information File</i>
DFT	<i>Density Functional Theory</i>
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i>
FT-IR	<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>
IUBMB	<i>International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i>
MDAC	<i>Membrane Diamond Anvil Cell</i>
PCM	<i>Polarizable Continuum Model</i>
PED	<i>Potential Energy Distribution</i>
PES	<i>Potential Energy Surface</i>
PTM	<i>Pressure Transmission Medium</i>

Lista de símbolos

δ	Deformação angular
ν	Estiramento
ν_{as}	Estiramento antissimétrico
ν_s	Estiramento simétrico
r	<i>Rocking</i>
γ	Torção
γ_{out}	Torção fora do plano
τ	<i>Twisting</i>
wag	<i>Wagging</i>

Sumário

	INTRODUÇÃO	21
1	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	24
1.1	Aminoácidos	24
1.2	Peptídeos	31
1.3	A automontagem molecular	33
2	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS E TEÓRICOS	35
2.1	Obtenção das amostras	35
2.2	Experimentos de espectroscopia infravermelho	36
2.3	Experimentos de análise térmica	36
2.4	Experimentos de raios-X em função da temperatura	37
2.5	Experimentos de raios-X em função da pressão	39
2.6	Experimento de espectroscopia Raman em função da pressão	40
2.7	Procedimentos teóricos	42
3	PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DO DIPEP- TÍDEO L-ALANIL-L-FENILALANINA	44
3.1	Superfície de energia potencial	44
3.2	Efeito do solvente na otimização da estrutura molecular do dipep- tídeo AF	47
3.3	Análise vibracional do dipeptídeo AF	48
3.3.1	Região espectral entre 150 e 600 cm^{-1}	52
3.3.2	Região espectral entre 600 e 1200 cm^{-1}	52
3.3.3	Região espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1}	53
3.3.4	Região espectral entre 2800 e 3500 cm^{-1}	54
3.4	Considerações sobre os resultados obtidos para o dipeptídeo AF	56
4	PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E VIBRACIONAIS DO DIPEP- TÍDEO L,L-DILEUCINA	59
4.1	Introdução	59
4.2	Análise estrutural do dipeptídeo L,L-dileucina	61
4.3	Análise vibracional do dipeptídeo L,L-dileucina	64
4.4	Espectroscopia Raman em função da pressão	70
4.4.1	Região espectral abaixo de 200 cm^{-1}	71
4.4.2	Região espectral entre 200 e 700 cm^{-1}	73

4.4.3	Região espectral entre 700 e 1000 cm^{-1}	74
4.4.4	Região espectral entre 1000 e 1700 cm^{-1}	76
4.4.5	Região espectral entre 2700 e 3500 cm^{-1}	78
4.5	Difração de raios-X utilizando radiação síncrotron sob altas pressões	83
4.6	Calorimetria exploratória diferencial (DSC) no cristal do dipeptídeo L,L-Dileucina	87
4.7	Difração de raios-X em função da temperatura	88
4.7.1	Difração de raios-X sob baixas temperaturas	88
4.7.2	Difração de raios-X sob altas temperaturas	92
4.8	Considerações sobre os experimentos no dipeptídeo L,L-dileucina .	96
5	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	97
	REFERÊNCIAS	99
	APÊNDICE A – ASPECTOS TEÓRICOS DA ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL	110
A.1	Vibrações moleculares	111
A.1.1	Tipos de vibrações moleculares	112
A.2	O espectro Raman	114
A.3	O espectro infravermelho	119
	APÊNDICE B – DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	121
B.1	Radiação síncrotron	124
	APÊNDICE C – TEORIA DO FUNCIONAL DE DENSIDADE (DFT)	126
	ANEXO A – NÚMEROS DE ONDA CARACTERÍSTICOS RAMAN E IR	128
	ANEXO B – COORDENADAS ATÔMICAS E PARÂMETROS GEOMÉTRICOS DA ESTRUTURA MOLECULAR DO DIPEPTÍDEO L-ALANIL-L-FENILALANINA	129
	ANEXO C – COORDENADAS ATÔMICAS DA ESTRUTURA MOLECULAR OTIMIZADA DO DIPEPTÍDEO LL	131
	ANEXO D – EVOLUÇÃO DA BANDA DE FLUORESCÊNCIA DO RUBI COM O AUMENTO DE PRESSÃO NO EXPERIMENTO DE ESPECTROSCOPIA RAMAN DO DIPEPTÍDEO LL	132

	ANEXO E – EVOLUÇÃO DA BANDA DE FLUORESCÊNCIA DO RUBI COM O AUMENTO DE PRESSÃO NO EXPERIMENTO DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X DO DIPEPTÍDEO LL	133
	ANEXO F – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA DURANTE O DOUTORADO	134
F.1	Artigos completos publicados em periódicos	134
F.2	Artigos em fase de escrita	134

Introdução

Peptídeos são cadeias de aminoácidos conectados por uma ligação covalente resultante da interação dos grupos amina e carboxílico, chamada de ligação peptídica. Eles podem conter alguns poucos resíduos de aminoácidos (oligopeptídeos) ou dezenas deles (polipeptídeos). As proteínas, por exemplo, são macromoléculas peptídicas que podem conter milhares de resíduos de aminoácidos. Apesar de apresentarem estruturas menos complexas que as proteínas, os peptídeos apresentam atividades biológicas importantes e têm despertado o interesse da comunidade científica em diversas áreas.

Alguns venenos extremamente tóxicos (como a amantina) ou vários antibióticos são peptídeos. Apesar dos aminoácidos serem atóxicos, é a sequência dos mesmos em peptídeos que determina sua especificidade de ação e efeitos biológicos. Outros exemplos de peptídeos com intensa atividade biológica são o glucagon (hormônio pancreático que se opõe à ação da insulina) e a corticotrofina que estimula o córtex adrenal [1]. Os dipeptídeos carnosina e anserina atuam como reguladores de pH de células musculares [2]. O aspartame, adoçante de baixa caloria, é um dipeptídeo formado pelos aminoácidos fenilalanina e aspartato, obtido por processos industrializados bastante utilizados em dietas de emagrecimento [3]. O tripeptídeo glutathione (GSH, γ -L-glutamil-L-cistienil-glicina) contém uma ligação incomum γ -amida, onde o grupo γ -carboxílico participa da ligação peptídica. Encontrada em quase todos os organismos, a glutathione está envolvida em diferentes processos, tais como: síntese de proteínas e DNA; transporte de aminoácidos e metabolismo de fármacos e substâncias tóxicas; atua como um antioxidante, evitando a oxidação de moléculas orgânicas e de metais; ajuda no controle glicêmico [4], tendo sido utilizada para auxiliar pacientes com diabetes tipo 2 [5]. A glutathione também atua como agente redutor e protege as células dos efeitos destrutivos da oxidação com substâncias como o peróxido (R-O-O-R) que são metabólitos reativos de O_2 [6].

Estruturas supramoleculares oriundas de oligopeptídeos têm se mostrado promissoras em várias aplicações biomédicas, como na construção de biossensores [7], na entrega de fármacos/genes [8–10] e na formação de imagens biomédicas [11]. Além disso, os dipeptídeos apresentaram diferentes propriedades bioativas, dentre elas anti-inflamatória [12], agente antitumoral [13], inibidor da entrada do HIV [11], antifungi e antioxidante [14, 15]. Além disso, o uso de dipeptídeos está sendo estudado no combate a doenças como zica vírus, câncer, osteoporose, malária e diabetes tipo 2 [16–19]. Hidrogéis formados pela automontagem de peptídeos têm sido usados em culturas de células 3D [20, 21], além de apresentarem propriedades regenerativas atuando no reparo de tecidos ósseo, dentário, isquêmico e cartilagem [22–25], dentre outros.

Os dipeptídeos hidrofóbicos constituem um grupo bastante diversificado de estruturas cristalinas e têm sido uma fonte de materiais orgânicos microporosos estáveis [26, 27], originados por automontagem molecular a partir da formação de ligação de hidrogênio pelas cadeias principais do peptídeo e pela agregação de entidades hidrofóbicas nas cadeias laterais [28]. Uma série de trabalhos, utilizando diversos solventes, mostra que os dipeptídeos deste gênero possuem uma tendência para incorporar moléculas de solventes orgânicos em sua estrutura, e então atuam como aceitadores para um dos três átomos de hidrogênio do grupo amino N-terminal carregado (NH_3^+) [29–34]. Isto tem resultado na formação de estruturas dos tipos nanotubos, nanoesferas, nanofios, nanocamadas, vesículas e hidrogéis [35].

Neste trabalho apresentam-se estudos das propriedades estruturais e vibracionais de dois dipeptídeos: o L-alanil-L-fenilalanina (AF) e o L,L-dileucina hidratado (LL). Estruturas cristalinas de dipeptídeos contendo o aminoácido fenilalanina mostram-se bons candidatos para a formação de hidrogéis quando combinados com determinados solventes orgânicos. Estudos anteriores de estruturas cristalinas contendo o dipeptídeo AF mostram que ele pode ser obtido utilizando os mais variados solventes, como 2-propanol [36] e amônia [37], além da solução cloro dihidratada [38]. Além disso, estruturas cristalinas contendo o dipeptídeo AF e metais como ouro e cobre também foram reportados [39, 40], o que amplia o campo de aplicação deste material.

A estrutura cristalina do dipeptídeo L,L-dileucina hidratado, reportado primeiramente por Görbitz [41], forma nanotubos com moléculas de água no seu interior. Individualmente o aminoácido leucina desempenha importantes funções no organismo humano, pois atua na regulação e manutenção da quantidade de açúcar no sangue, na produção hormonal, na cicatrização de feridas e na quebra de proteínas musculares após trauma ou estresse severo [42]. Alguns estudos já foram reportados para o dipeptídeo L,L-dileucina, que relataram o efeito do substrato e da umidade do ar, mostrando que a morfologia de um filme do dipeptídeo L,L-dileucina depende do substrato [43]. Propriedades ópticas e estruturais mostram que o efeito térmico induz uma transição de fase, fazendo com que os nanotubos mudem para estruturas em forma de nanofibras sob altas temperaturas, regidas por um processo de ciclização [44, 45]. Foram demonstradas, ainda, propriedades não-zeolíticas [46] para o dipeptídeo L,L-dileucina. É possível encontrar estruturas cristalinas contendo o dipeptídeo L,L-dileucina com diferentes solventes, como 2-metil-1-propanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-propanol-2-propanol e DMSO, resultando na obtenção de estruturas nas fases monoclinica ou ortorrômbica [47–49].

O escopo deste trabalho está distribuído em quatro capítulos da seguinte forma: No capítulo 1 apresentamos uma breve fundamentação teórica acerca dos aminoácidos, peptídeos e o processo de automontagem, possibilitando assim uma maior apropriação sobre as substâncias em estudo. No capítulo 2, apresentamos os procedimentos experimentais

e teóricos que foram necessários para o desenvolvimento do trabalho. No capítulo 3, apresentamos o estudo realizado para o dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina, bem como os resultados e discussões. No capítulo 4 são apresentados os resultados e discussões para os experimentos realizados no dipeptídeo L,L-dileucina hidratado. Por fim, são apresentadas as conclusões e as perspectivas para trabalhos futuros.

1 Fundamentação teórica

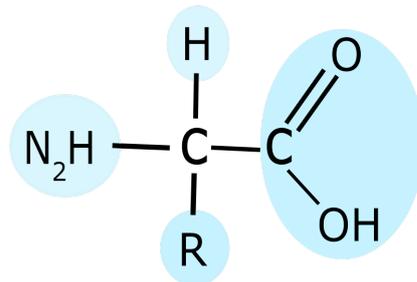
Os aminoácidos são precursores de várias moléculas complexas, como peptídeos e proteínas. As amostras objetos de pesquisa desta tese são classificadas como oligopeptídeos, resultantes da agregação de alguns resíduos de aminoácidos. Assim, faremos uma breve exposição conceitual, buscando apresentar algumas de suas propriedades, como estruturas químicas, classificação e diferenciação. Além disso, introduzimos alguns conceitos sobre a automontagem molecular, que é responsável pelas diversas formas de materiais com estruturas cristalinas microporosas produzidos por dipeptídeos hidrofóbicos.

1.1 Aminoácidos

Os químicos europeus no século XIX foram os pioneiros no estudo dos aminoácidos. Desde então, grandes avanços têm surgido para o entendimento dessas substâncias, sendo elas estudadas por cientistas de diversas áreas.

Os aminoácidos são as unidades estruturais fundamentais de moléculas orgânicas. A estrutura básica de um aminoácido apresenta um átomo de carbono (C_α) ligado a um grupo carboxila (-COOH), um grupo amina (-NH₂), um átomo de hidrogênio (H) e uma cadeia lateral (R), como ilustrado na Fig. 1.1. O radical R é o responsável pela diferenciação dos aminoácidos, a mudança do radical resulta em notáveis diferenças em suas propriedades químicas e funções fisiológicas [50].

Figura 1.1 – Estrutura básica de um aminoácido.

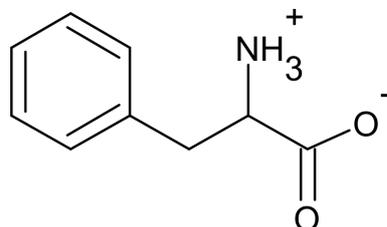


Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* ChemSketch da ACD/Labs.

Os aminoácidos em pH 7,0 são encontrados na forma ionizada, isto é, o grupo carboxila cede um hidrogênio para o grupo amino, tornando-os COO⁻ e NH₃⁺, como ilustrado na Fig. 1.2. Essa forma ionizada do aminoácido é denominada íon dipolar, íon híbrido ou zwitteriônico (do termo alemão *zwitterion* que significa íon híbrido) [51].

Observa-se também uma predominância da forma zwitteriônica nas estruturas cristalinas dos aminoácidos.

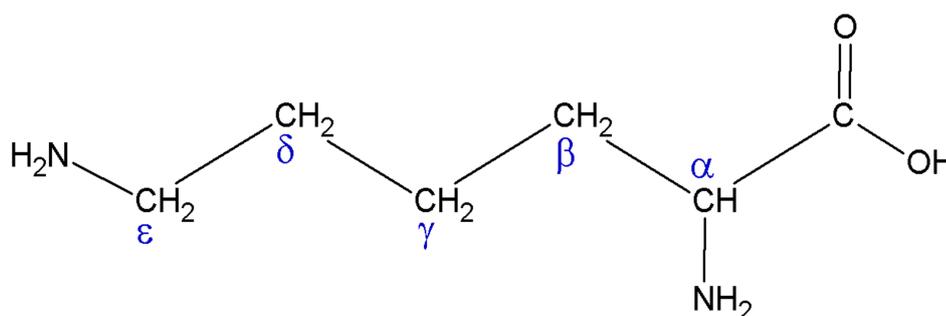
Figura 1.2 – Representação da forma zwitteriônica do aminoácido fenilalanina.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* ChemSketch da ACD/Labs.

Os átomos de carbono de um aminoácido podem ser identificados usando as letras do alfabeto grego. Quando o grupo amino está ligado ao carbono adjacente ao grupo carboxílico (carbono α), o aminoácido é denominado α -aminoácido. Da mesma forma, se o grupo amino está ligado ao carbono β , γ , δ ou ϵ , o aminoácido é denominado um β , γ , δ ou ϵ -aminoácidos, respectivamente, conforme ilustrado na Fig. 1.3. As proteínas são constituídas por 20 α -aminoácidos padrões ou primários, reunidos em combinações praticamente infinitas [50].

Figura 1.3 – Numeração dos carbonos dos aminoácidos na forma numérica e em letras gregas.



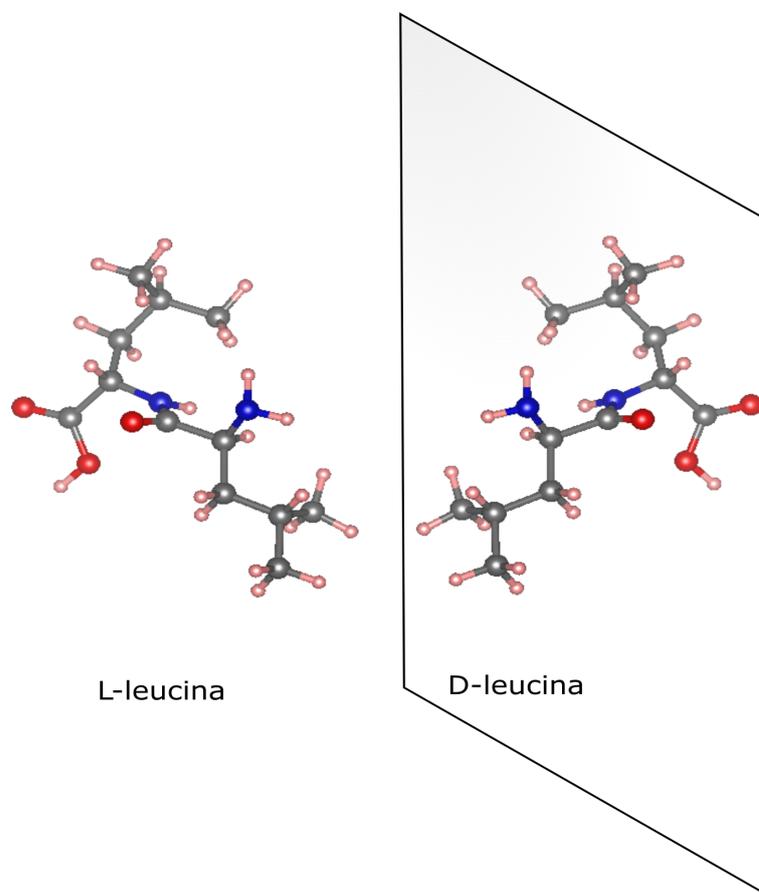
Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* ChemSketch da ACD/Labs.

Com exceção da glicina, todos os aminoácidos são opticamente ativos, isto é, quando um feixe de luz em um plano polarizado passa através da amostra, a luz será desviada para a direita ou esquerda. Isso decorre do fato de que o átomo de carbono C_α é um centro quiral¹. Os aminoácidos com átomos quirais podem existir como estereoisômeros² [42]. A Fig. 1.4, ilustra um exemplo de isomeria com o aminoácido leucina e faz uma analogia com a formação de uma imagem em um espelho.

¹ Átomo ligado a quatro substituintes diferentes arranjados numa configuração tetraédrica e assimétrica.

² Moléculas que diferem apenas no arranjo espacial dos átomos.

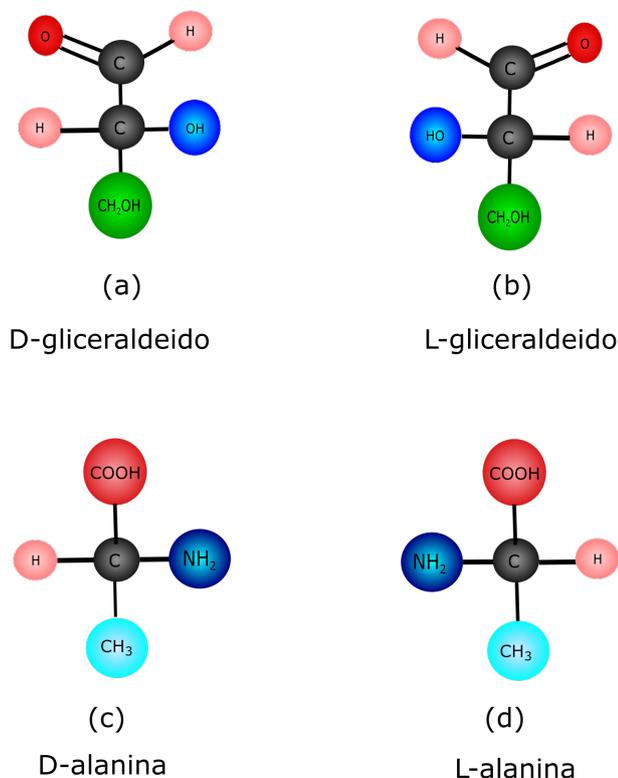
Figura 1.4 – Isômeros L- e D-leucina e analogia com a formação de uma imagem no espelho.



Fonte: Produzida pelo autor usando o software Inkscape da Software Freedom Conservancy.

Em 1908, Emil Fisher introduziu o conceito de configuração absoluta para os aminoácidos (projeção de Fischer), onde foi introduzida a simbologia L e D para uma dada configuração de um aminoácido. Essa simbologia é arbitrariamente definida tendo como referência o gliceraldeído. Nesta projeção o grupo amino (NH_2) e o átomo de hidrogênio (H) localizam-se no plano horizontal da molécula e a cadeia lateral na parte inferior. Se o grupo (NH_2) estiver para o lado direito, coincidindo com a mesma posição da hidroxila (OH) do D-gliceraldeído (Fig. 1.5(a)), diz-se que a configuração do aminoácido é D; se o grupo (NH_2) estiver para a esquerda, coincidindo com a mesma posição da hidroxila (OH) no L-gliceraldeído (Fig. 1.5(b)), a configuração será L. Nas Figs. 1.5(c) e 1.5(d), ilustramos como exemplo a configuração D e L da alanina, respectivamente. Para se referir ao desvio da luz plano polarizada são utilizados os símbolos (+) para dextrorrotatório e (-) para levorrotatório, escritos após a letra D e L, seguida do nome do aminoácido. Por exemplo, aminoácido L(-) serina, apresenta configuração absoluta L e é levorrotatória, enquanto L(+) serina, apresenta configuração absoluta L e é dextrorrotatória [51].

Figura 1.5 – (a-b) Determinação da configuração absoluta dos aminoácidos em relação ao D-gliceraldeído e L-gliceraldeído; (c-d) Exemplo do aminoácido alanina nas configurações D e L.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

Quase todos os α -aminoácidos livres e aminoácidos ligados à proteínas em organismos têm a configuração absoluta L. Os L-aminoácidos são os isômeros³ fisiológicos predominantes na natureza. No entanto, os D-aminoácidos também existem em animais, micro-organismos e plantas [52]. Podemos ter também uma mistura em quantidades iguais de aminoácidos na forma D e L, por exemplo, DL-alanina, a essa mistura dá-se o nome de mistura racêmica, não apresentando atividade óptica.

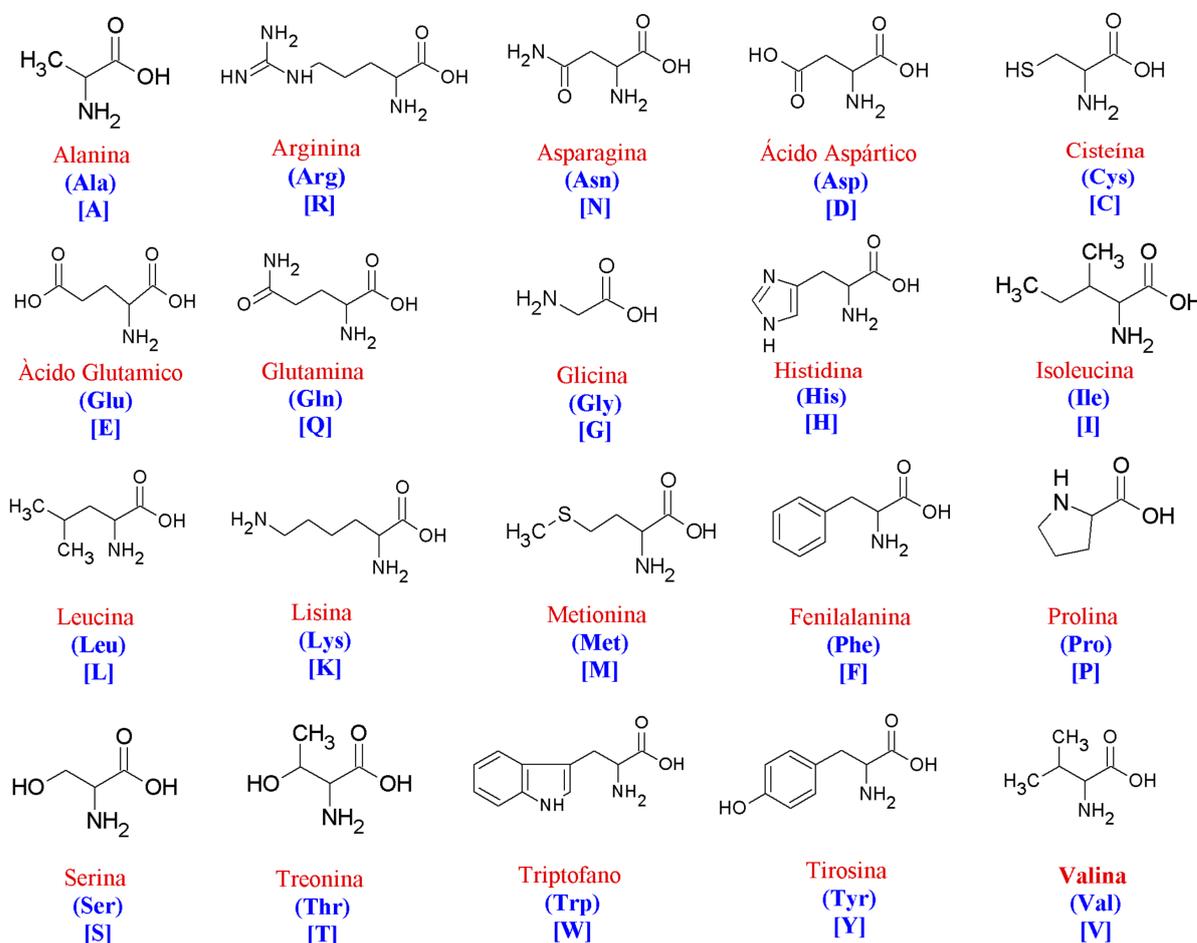
Existem centenas de aminoácidos na natureza, mas apenas 20 α -aminoácidos servem como blocos de construção de proteínas, são os chamados aminoácidos protéicos, denominados também como padrões ou primários, como por exemplo arginina, metionina e prolina. Aqueles aminoácidos que não são blocos de construção de proteínas, são chamados aminoácidos não protéicos, ou ainda, derivados ou especiais, como por exemplo citrulina e hidroxiprolina [50]. A partir desses 20 aminoácidos padrões são formados aminoácidos

³ Isômeros são moléculas de substâncias orgânicas que apresentam a mesma fórmula molecular, mas possuem propriedades e características estruturais diferentes.

derivados ou especiais, que são resultantes de modificações químicas sofridas por um dos aminoácidos padrão, após a sua formação no organismo.

A União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (do inglês, *International Union of Biochemistry and Molecular Biology - IUBMB*) atribui uma abreviatura de três letras para designar um aminoácido protéico, uma letra maiúscula seguida por duas letras minúsculas (por exemplo Leu para leucina). Uma abreviatura de uma letra é usada para representar um aminoácido em sequência de proteínas ou polipeptídeos, por exemplo: A, P e L para alanina, fenilalanina e leucina, respectivamente. Na Fig. 1.6 estão representados os 20 aminoácidos protéicos e suas abreviaturas.

Figura 1.6 – Nome e abreviaturas dos aminoácidos protéicos.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* ChemSketch da ACD/Labs.

Os nomes comuns ou triviais dos aminoácidos estão relacionados com: (i) A fonte a partir da qual eles foram isolados pela primeira vez, como a tirosina, termo que vem de *tyros* (do grego) que significa queijo, nomeada assim por ter sido obtida do queijo. A asparagina, por exemplo, assim denominada porque foi obtida do aspargo; (ii) uma característica química do aminoácido, como, por exemplo, a fenilalanina, assim nomeada

por apresentar um grupo fenil ligado ao aminoácido alanina; e (iii) uma propriedade do aminoácido, como a glicina que recebe este nome por ter o sabor doce, lembrando os glicídeos (açúcares) [42].

Quanto às necessidades nutricionais, os aminoácidos são classificados em essenciais e não essenciais. Os aminoácidos essenciais são aqueles que não são produzidos pelo organismo e, portanto, devem ser obtidos por meio externo, através da alimentação, por exemplo. Os aminoácidos não essenciais são os que podem ser produzidos pelo organismo. A Tab. 1.1 lista os aminoácidos quanto às necessidades nutricionais para a espécie humana, visto que, essa necessidade nutricional varia de uma espécie para outra.

Tabela 1.1 – Classificação dos aminoácidos quanto às necessidades nutricionais.

Aminoácidos essenciais	Aminoácidos não essenciais
histidina	alanina
isoleucina	asparagina
leucina	ácido aspártico
lisina	ácido glutâmico
metionina	arginina
fenilalanina	cisteína
treonina	glutamina
triptofano	glicina
valina	prolina
	serina
	tirosina

Fonte: Obtida a partir da referência [6].

Como mencionado anteriormente, a cadeia lateral (grupo R) determina as propriedades de cada aminoácido. Os α -aminoácidos também podem ser classificados em classes, com base na natureza das cadeias laterais, que podem variar de tamanho, forma, carga, capacidade de formação de ligação de hidrogênio, características hidrofóbicas e reatividade química [1].

Quanto à polaridade⁴ da cadeia lateral, os aminoácidos são classificados em apolares (hidrofóbicos ou pouco solúveis em água), polar neutro (hidrofílico ou solúveis em água), polar com carga negativa (ou ácido) e polares com carga positiva (ou básico). A Tab. 1.2 apresenta a classificação dos 20 aminoácidos padrões, de acordo com a natureza polar do

⁴ A polaridade é a capacidade de um grupo químico formar pólos elétricos, o que possibilita a esse grupo se solubilizar em água, interagindo com ela por ligações de hidrogênio.

radical R. Os aminoácidos apolares são poucos solúveis em água por apresentarem em sua cadeia lateral apenas hidrocarbonetos. Os aminoácidos polares são mais solúveis em água porque apresentam em suas cadeias laterais, grupos polares, como OH, NH e C=O, que fazem ligações de hidrogênio com a água. Aminoácidos básicos apresentam carga líquida positiva no pH 7,0, enquanto os aminoácidos ácidos apresentam carga líquida negativa no pH 7,0 [1]. Os aminoácidos que apresentam em sua cadeia lateral um grupo fenil ou anel aromático são denominados aminoácidos aromáticos, que são tirosina, triptofano e fenilalanina.

Tabela 1.2 – Classificação dos aminoácidos quanto à natureza do grupo radical R.

Aminoácidos hidrofóbicos	Aminoácidos hidrofílicos	Aminoácidos básicos	Aminoácidos ácidos
valina (Val)	glicina (Gli)	histidina (His)	ácido aspártico (Asp)
leucina (Leu)	serina (Ser)	lisina (Lis)	ácido glutâmico (Glu)
isoleucina (Ile)	treonina (Ter)	arginina (Arg)	
metionina (Met)	cisteína (Cis)		
fenilalanina (Fen)	tirosina (Tir)		
alanina (Ala)	asparagina (Asp)		
prolina (pro)	glutamina (Gln)		
triptofano (Tri)			

Fonte: Obtida a partir da referência [6].

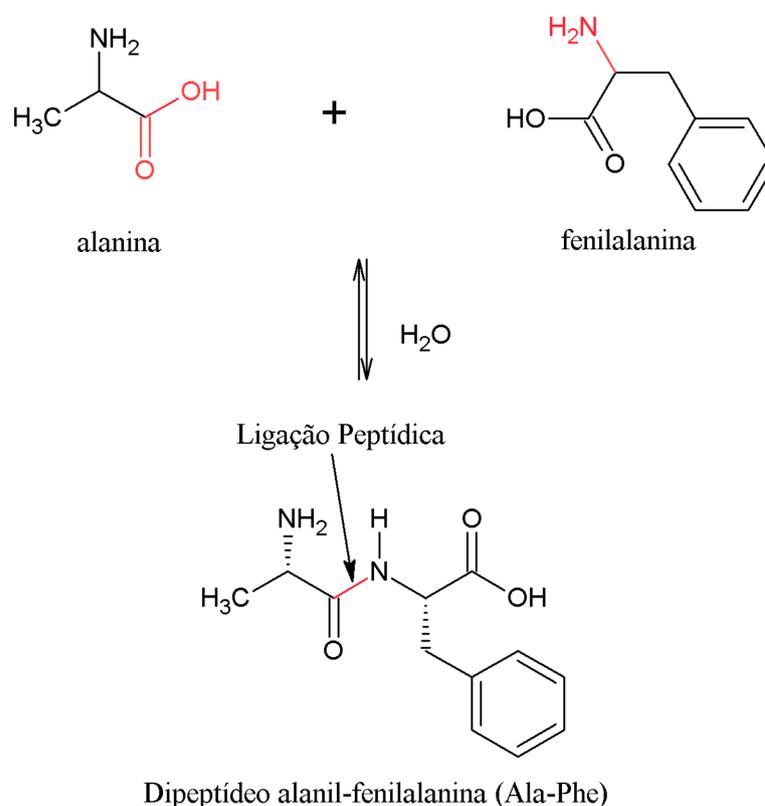
Todos os aminoácidos, com exceção da glutamina e cisteína, têm um ponto de fusão superior a 200 °C. A glutamina e cisteína têm pontos de fusão de 185 °C e 178 °C, respectivamente. Sob condições de altas pressões e altas temperaturas em uma autoclave, a glutamina e asparagina são quase completamente destruídas, e a cisteína é oxidada em cistina; enquanto os outros aminoácidos (incluindo cistina) são estáveis. Contudo, na forma de dipeptídeo (por exemplo, L-alanil-glutamina, glicil-glutamina, L-leucil-asparagina e glicil-asparagina), a glutamina e a asparagina são estáveis nestas condições [6].

Além de servirem de blocos de formação de proteínas e peptídeos, os aminoácidos são substâncias essenciais para a manutenção da vida. Cada aminoácido individualmente possui diversas funções. Por exemplo, a tirosina é um aminoácido importante para o metabolismo, em geral, é um precursor da adrenalina e da dopamina, que regulam o humor. Desta forma cada aminoácido apresenta funções vitais para o bom funcionamento do organismo [6].

1.2 Peptídeos

Os peptídeos são pequenas cadeias de aminoácidos formadas a partir da reação entre eles. Nessa reação, o grupo carboxila (-COOH) de um aminoácido reage com o grupo amina (-NH₂) de outro aminoácido, produzindo uma ligação covalente denominada ligação peptídica ou ligação amida (-CONH-). Nesse processo há perda de uma molécula de água H₂O (reação de desidratação), conforme ilustrado na Fig. 1.7, onde colocamos como exemplo o caso do dipeptídeo L-alanyl-L-fenilalanina (Ala-Phe), objeto desta pesquisa. Uma unidade de aminoácido na cadeia polipeptídica é denominado resíduo, devido à perda de uma hidroxila pelo grupo carboxila de um aminoácido e a eliminação de um hidrogênio pelo grupo amina [50].

Figura 1.7 – Formação de um dipeptídeo.



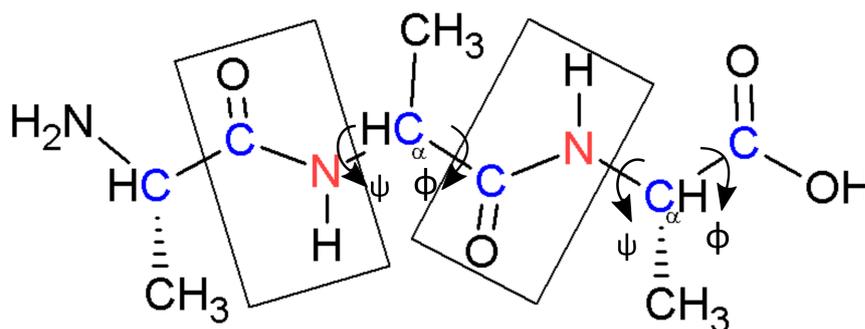
Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* ChemSketch da ACD/Labs.

As principais características das ligações peptídicas são: i) Os seis átomos que formam a ligação C_α-CO-NH-C_α estão no mesmo plano (C_α é o carbono α de aminoácidos adjacentes); ii) As ligações C=O e N-H são *trans*⁵ uma em relação à outra; iii) A ligação C-N apresenta características de ligação parcial não podendo girar livremente; iv) Tem

⁵ Indica que os átomos estão em posições transversais ou opostas. A palavra *trans* vem do latim e significa "além de".

caráter de ligação dupla (sp^2), ou seja, são planares e rígidas, sendo que somente a ligação simples do carbono α (C_α) permite rotação [53]. A Fig. 1.8 ilustra essas características dos aminoácidos, nela podemos observar que há uma regularidade nas estruturas do peptídeo. A parte central da figura apresenta uma sequência de átomos de nitrogênio (N) intercalados por dois átomos de carbono (C), formando uma espécie de esqueleto, onde a livre rotação do carbono α (indicada pelos ângulos ψ e ϕ) possibilita as variações de conformação.

Figura 1.8 – Características da ligação peptídica



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* ChemSketch da ACD/Labs.

Vale salientar que a ligação peptídica não ocorre através da reação direta como está descrito, mas através de um complexo aparato de síntese protéica. Essa representação mostra apenas o resultado líquido do processo.

A nomenclatura dos peptídeos é feita da seguinte forma: A extremidade da cadeia polipeptídica que contém o grupo amino livre, também chamado de amino-terminal ou N-terminal, corresponde ao primeiro resíduo de aminoácido. A extremidade que contém o grupo carboxila livre, também chamado carboxi-terminal ou C-terminal, corresponde ao último resíduo de aminoácido. Os resíduos de aminoácidos na cadeia polipeptídica são nomeados pelo sufixo *il*, como leucina que passa a ser denominada leucil e alanina de alanil. Assim são relacionados todos os aminoácidos que formam o polipeptídeo, com exceção do que contém o grupo carboxila livre (carboxila-terminal) que permanece com o nome original. Aminoácidos como tirosina, são nomeados apenas por substituição da letra *a* por *il*, portanto, tirosinil [42]. Como exemplo podemos citar o dipeptídeo ilustrado na Fig. 1.7 constituído de uma L-alanina com uma L-fenilalanina, sendo nomeado por esse processo como L-alanil-L-fenilalanina.

Os peptídeos que apresentam até dez resíduos de aminoácidos, são nomeados empregando os prefixos *di*, *tri*, *tetra*, *penta*, *hexa*, *hepta*, *octa*, *nona* e *deca* ao nome do peptídeo. Por exemplo, o dipeptídeo formado por dois aminoácidos é denominado dipeptídeo; o que é formado por três, tripeptídeo; por quatro, tetrapeptídeo, etc. Para os

peptídeos que apresentam mais de dez aminoácidos utilizamos o termos oligopeptídeos⁶ ou polipeptídeos⁷. As proteínas são polipeptídeos de elevado peso molecular constituído por α -aminoácidos com ligações peptídicas entre grupos α -amino e α -carboxila de aminoácidos adjacentes.

A linha divisória entre polipeptídeos e proteínas é usualmente o seu peso molecular. De um modo geral, polipeptídeos com peso molecular superior a 8000 unidades de massa atômica, aproximadamente, 72 resíduos de aminoácidos, são considerados como proteínas. Os polipeptídeos com peso inferior a 8000 são considerados peptídeos. No entanto, essa divisão entre peptídeos e proteínas com base no peso molecular não é absoluta. As proteínas podem conter centenas de milhares de resíduos de aminoácidos.

1.3 A automontagem molecular

A automontagem molecular consiste da organização espontânea de moléculas, devido a interações mútuas entre elas do tipo não covalente, sem interferência de ações externas. Esse processo é responsável pela formação natural de uma variedade de estruturas biológicas. Inspirados nesse fenômeno natural, pesquisadores em todo o mundo têm tentado criar materiais artificiais para fabricação de dispositivos funcionais [54–59].

A estrutura simples de peptídeos torna-os uma excelente família de unidades para formar estruturas automontadas com diferentes configurações moleculares. Além de serem biocompatíveis, física e quimicamente estáveis, suas habilidades de reconhecimento biológico os tornam importantes para a formação de nanoestruturas [58].

As interações que possibilitam a automontagem podem ser de natureza eletrostática, hidrofóbica, ligação de hidrogênio, interação de Van der Waals, empilhamento aromático ou coordenação metálica. O efeito hidrofóbico é uma força organizadora única, baseada na repulsão do soluto pelo solvente. As moléculas não-polares tendem a evitar um ambiente aquoso. Empilhamento aromático (empilhamento π - π), refere-se à interação atrativa entre anéis aromáticos quando orientados “cara a cara” como em uma pilha de moedas, sendo responsável pela estabilidade intramolecular.

A ligação do hidrogênio é uma ligação química formada entre um átomo eletropositivo (tipicamente hidrogênio) e um átomo fortemente eletronegativo, como oxigênio ou nitrogênio. O átomo ao qual o hidrogênio está conectado é referido como aceitador de ligação de hidrogênio, e o hidrogênio é chamado doador na ligação de hidrogênio. As interações de ligação de hidrogênio são altamente direcionais e podem ser de natureza curta ou de longo alcance. As ligações de hidrogênio podem ser intermoleculares ou intra-

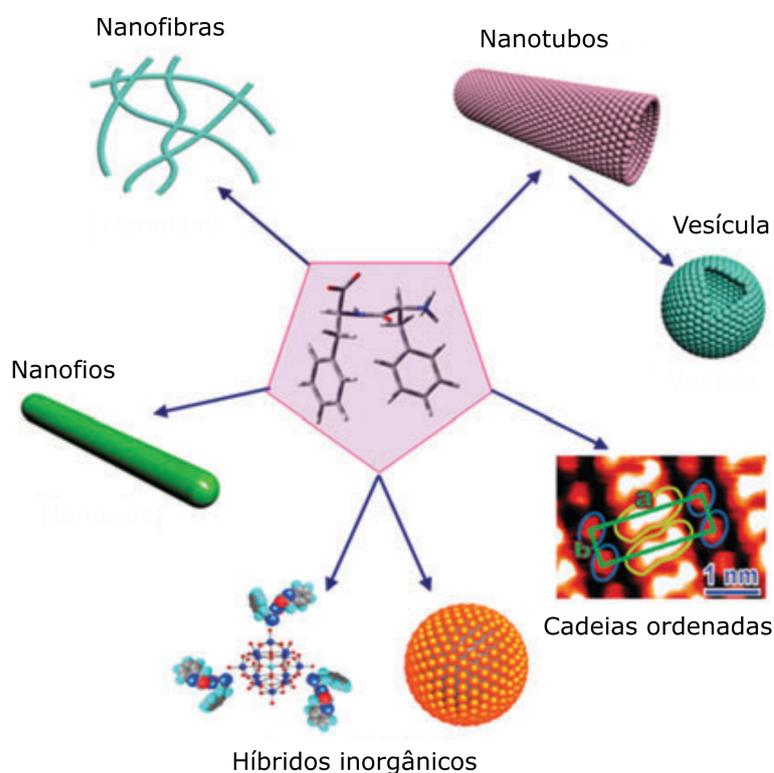
⁶ Os oligopeptídeos são cadeias pequenas de aminoácidos. Esse termo se aplica a peptídeos com um número máximo de 20 resíduos de aminoácidos.

⁷ Polipeptídeo é um termo usado para se referir a peptídeos com mais de 20 aminoácidos

moleculares, e a força destas ligações depende principalmente da natureza do doador ou do aceitador, embora seja influenciada em maior medida pelo solvente.

Estruturas automontadas com dipeptídeos estão sendo aplicadas na construção de biossensores, dispositivos para transporte de fármacos e genes, encapsulamento de drogas, bioimagens, hidrogéis, e novas aplicações têm surgido com o passar do tempo [60]. A Fig. 1.9 apresenta várias estruturas que podem ser obtidas pelo processo de automontagem de dipeptídeos.

Figura 1.9 – Representação esquemática das várias nanoestruturas formadas pela automontagem do dipeptídeo L,L-difenilalanina.



Fonte: Adaptada da referência [60].

2 Procedimentos experimentais e teóricos

Neste capítulo apresentamos todo o aparato instrumental utilizado no desenvolvimento do trabalho de pesquisa de Doutorado, bem como os procedimentos experimentais e teóricos. Os experimentos foram realizados no Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará-UFC e no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron-LNLS (Campinas-SP). Foram realizados experimentos de espectroscopia Raman e espectroscopia infravermelho em condições ambientes, espectroscopia Raman em função da pressão, difração de raios-X com variação de pressão e de temperatura, calorimetria diferencial exploratória e cálculos de primeiros princípios utilizando a teoria do funcional de densidade.

2.1 Obtenção das amostras

A amostra do dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina (AF), que consiste de um pó policristalino e branco, foi utilizada da forma adquirida da Sigma-Aldrich, sob o código A3128 (Fig. 2.1(a)). A amostra do dipeptídeo L,L-dileucina a partir do reagente adquirido, sob o código L2752, também da Sigma-Aldrich (Fig. 2.1(b)). Nesta última amostra realizamos um processo de cristalização por meio da técnica de evaporação lenta do solvente¹, onde diluímos 29 mg de soluto em 10 ml de água, conforme processo descrito em estudo anterior [41].

Figura 2.1 – Pó comercial utilizado nos experimentos com os dipeptídeos : (a) L-alanil-L-fenilalanina e (b) L,L-dileucina.

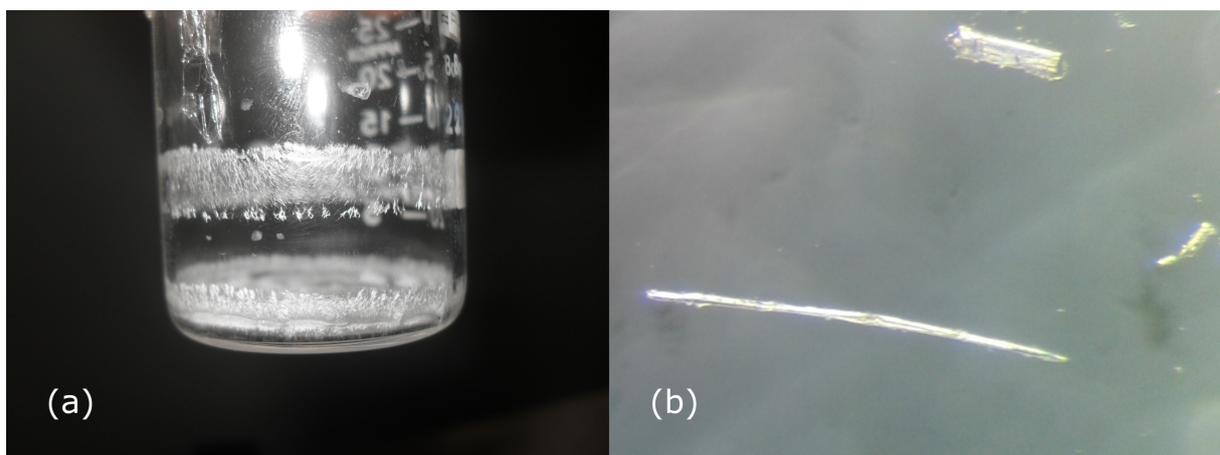


Fonte: Produzida pelo autor.

¹ No processo de evaporação lenta o composto pode ser dissolvido num único solvente ou mistura de dois solventes e deixado para evaporar lentamente. Isso pode ser feito sob condições atmosféricas ou sob atmosfera inerte.

Após aproximadamente 15 dias, foi possível observar pequenos cristais se sedimentando ao redor do béquer, conforme ilustrado na Fig. 2.2(a) e decorridos 2 meses do início do processo de cristalização, todo o solvente evaporou e obtivemos pequenos cristais em forma de agulhas. Na Fig. 2.2(b) exibimos os pequenos cristais obtidos utilizando um microscópio ótico.

Figura 2.2 – (a) Cristais do dipeptídeo L,L-dileucina hidratado obtidos pela técnica de evaporação lenta do solvente; e (b) Cristais do dipeptídeo L,L-dileucina sob a lente de um microscópio ótico.



Fonte: Produzida pelo autor.

2.2 Experimentos de espectroscopia infravermelho

Os experimentos de espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foram realizados usando um espectrômetro Bruker, modelo Vertex 70v, ilustrado na Fig. 2.3(a). A região espectral analisada foi de 130 a 4000 cm^{-1} . As amostras foram manuseadas à temperatura ambiente utilizando o acessório de reflectância total atenuada (PLATINUM ATR), ilustrado na Fig. 2.3(b). Todos os experimentos foram realizados sob vácuo, com 128 varreduras e resolução espectral de 2 cm^{-1} .

2.3 Experimentos de análise térmica

Para verificar a estabilidade do material e possíveis transições de fase, foram realizados experimentos de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Os experimentos de DSC foram realizados utilizando o equipamento DSC 200 F3, ilustrado na Fig. 2.4, fabricado pela Netzsch, no intervalo de temperatura de 303 a 473 K (30 a 200 °C) a uma taxa de aquecimento de 5 K/min em atmosfera de nitrogênio (N_2), onde foram utilizados

Figura 2.3 – (a) Espectrômetro Vertex70v da Bruker; e (b) Acessório de reflectância total atenuada (Platinum- ATR).



Fonte: Fabricante.

2,25 mg da amostra em um cadinho de alumínio. Para a etapa de resfriamento da amostra, foi utilizado nitrogênio líquido (N_2).

Figura 2.4 – DSC 200 F3 da Netzsch utilizado no experimento de calorimetria exploratória diferencial (DSC).



Fonte: Fabricante.

2.4 Experimentos de raios-X em função da temperatura

Após obtenção dos cristais do dipeptídeo L,L-dileucina, realizamos um experimento de difração de raios-X a temperatura ambiente, tendo como objetivo a confirmação

da estrutura cristalina. O experimento foi efetuado utilizando-se um difratômetro de raios-X (modelo D8 Advance, da Bruker Optics), ilustrado na Fig. 2.5(a), com radiação monocromática de $\text{Cu K}\alpha$, com 2θ variando no intervalo entre 5° e 40° e passos de $0,02^\circ$.

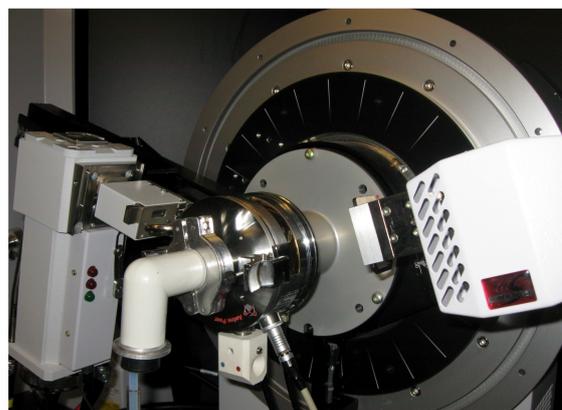
Após confirmação da estrutura cristalina, foram realizados experimentos de difração de raios-X de policristais em função da temperatura no intervalo de -170°C a 30°C , para observar o comportamento da amostra em condições de baixa temperatura, e, posteriormente, no intervalo de 30°C a 200°C , para observar o comportamento da amostra em altas temperaturas.

O difratômetro utilizado em nossos experimentos, ilustrado na Fig. 2.5(a), é regido segundo a geometria de Bragg-Bretano, onde a medida que o feixe de radiação monocromática rotaciona de um ângulo θ , os dados são registrados pelo detector numa gama de valores 2θ . Na Fig. 2.5(b) ilustramos a câmara de temperatura utilizada no experimento de difração de raios-X com variação de temperatura.

Figura 2.5 – (a) Difratômetro de raios-X (modelo D8 Advance); e (b) Câmara de temperatura utilizada no experimento de difração de raios-X.



(a)



(b)

Fonte: Fabricante.

2.5 Experimentos de raios-X em função da pressão

Os experimentos de difração de raios-X síncrotron sob altas pressões foram realizados na Linha de Luz de Difração de Raios-X e Espectroscopia (XDS), do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS, Campinas-SP, Brasil), utilizando configuração de dispersão angular monocromática, usando um feixe com $110 \mu\text{m}$ de largura e um comprimento de onda de $0,61990 \text{ \AA}$. A linha XDS usa a radiação emitida pela fonte *Superconducting Wiggler* e é empregada em experimentos multiuso, opera com um espelho colimador com dobrador (com listras Si, Rh e Pt), um monocromador de cristal duplo (DCM) com dois conjuntos de cristais intercambiáveis [plano Si (111), plano sagital Si (111) e plano Si (311)], e um espelho de foco com três faixas (Rh toroidal, plano Rh e Pt toroidal) e um mecanismo de flexão para permitir ajustes de foco, esquema ilustrado na Fig. 2.6(a). A Fig. 2.6(b) ilustra uma visão geral da cabana experimental da linha de luz XDS mostrando algumas das configurações experimentais. A Fig. 2.6(c) mostra a célula de bigorna de diamantes sendo iluminada durante o experimento de difração de raios-X em condições extremas de pressão, enquanto a Fig. 2.6(d) apresenta um esquema ilustrativo do funcionamento da linha de luz XDS.

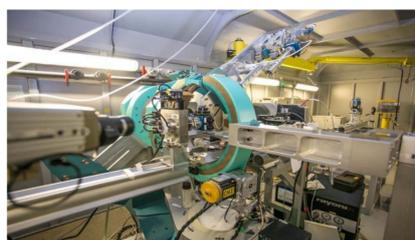
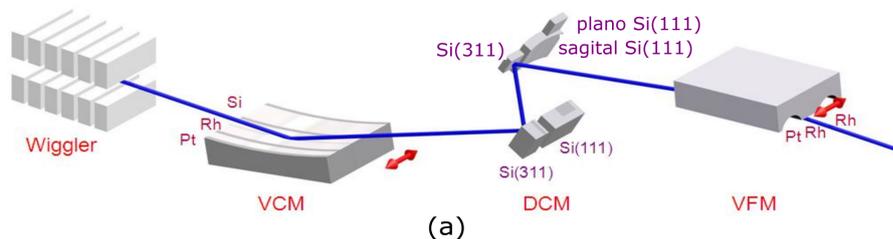
A pressão foi aplicada por uma célula de bigorna de diamantes com um sistema de controle de pressão por membrana (MDAC). A amostra e uma pequena amostra de rubi foram colocados em um orifício de $\sim 150 \mu\text{m}$ de diâmetro em uma gaxeta de rênio pré-indentada com uma espessura de $\sim 60 \mu\text{m}$. Como meio de transmissão de pressão (PTM) foi utilizado o neônio. Os padrões de difração bidimensional foram convertidos para intensidade versus 2θ usando o software FIT2D [61]. O método Rietveld [62] do pacote de software GSAS [63] foi usado para refinar os parâmetros estruturais da amostra.

Para controlar a pressão aplicada à amostra, utilizou-se o método da fluorescência do rubi. Esse método consiste em determinar os valores de pressão levando em consideração a relação entre a pressão e o deslocamento das duas linhas de emissão do rubi. Até 80 GPa, esta relação tem a forma da Eq. 2.1, com precisão de aproximadamente $\pm 6\%$ [66].

$$P(\text{GPa}) = \left\{ \frac{1904}{7,665} \left(1 + \frac{\Delta\lambda}{\lambda_0} \right)^{7,665} - 1 \right\}, \quad (2.1)$$

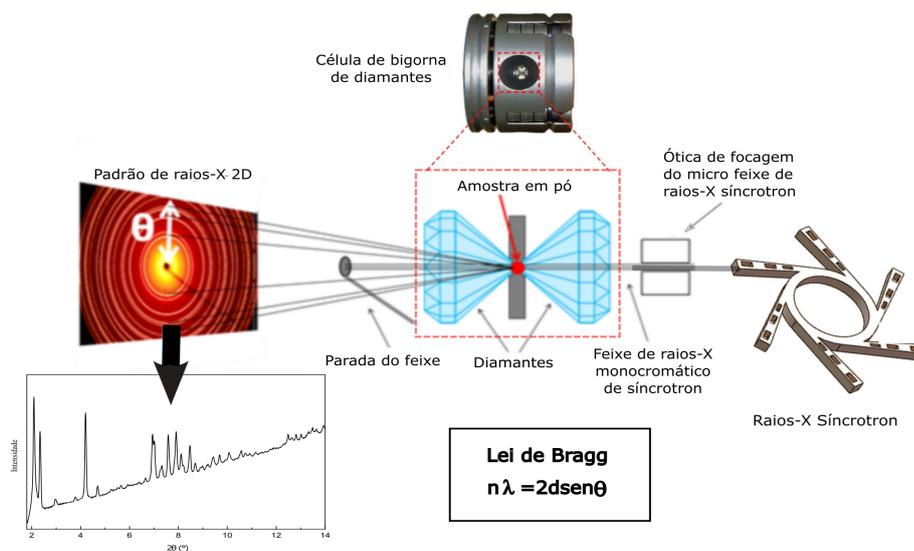
onde P é a pressão em GPa, λ é o comprimento de onda da linha R_1 do rubi, $\lambda_0 = 694,2 \text{ nm}$ é o comprimento de onda de R_1 em pressão ambiente e $\Delta\lambda$ é o “deslocamento” de R_1 em um determinado valor de pressão.

Figura 2.6 – (a) *Layout* ótico da linha XDS; (b) Cabana experimental da linha de luz XDS; (c) Célula de bigorna de diamantes durante o experimento de difração de raios-X em condições extremas de pressão; e (d) Esquema ilustrativo do funcionamento da linha de luz XDS.



(b)

(c)



(d)

Fonte: (a) adaptada da referência [64]; (b-c) produzida pelo autor; (d) adaptada da referência [65].

2.6 Experimento de espectroscopia Raman em função da pressão

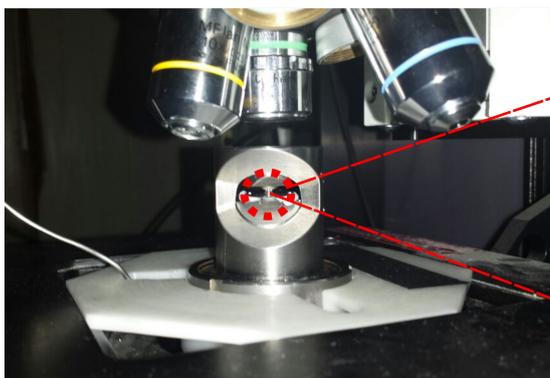
O experimento de espectroscopia Raman em função da pressão foi realizado à temperatura ambiente usando um espectrômetro LabRam HR-Horiba, ilustrado na Fig. 2.7(a), em aparato adaptado para este fim. A detecção utilizada foi um sistema CCD

refrigerado a nitrogênio líquido. Utilizamos o laser He/Ne de comprimento de onda 632,8 nm. A amostra e uma pequena amostra de rubi foram colocados em um orifício de 120 μm de diâmetro em uma gaxeta de aço inoxidável pré-indentada, onde usamos como meio transmissor de pressão o óleo mineral (Nujol). O equipamento possui resolução espectral de $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$. Na Fig. 2.7(b) podemos ver o aparato adaptado para os experimentos com variação de pressão, e na Fig. 2.7(c) o esquema de uma célula de pressão do tipo bigorna de diamantes utilizado na realização do experimento.

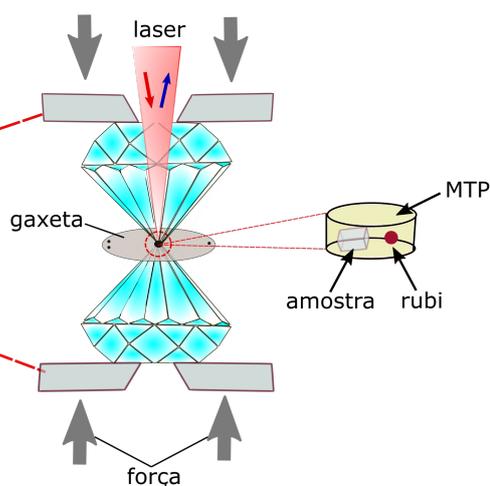
Figura 2.7 – (a) Espectrômetro LabRam adaptado os experimentos de espectroscopia Raman em função da pressão; (b) Célula de bigorna de diamantes; e (c) Esquema de altas pressões em extremos de diamantes.



(a)



(b)



(c)

Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software Inkscape* da freedom Conservancy.

Como nos experimentos de difração de raios-X em função da pressão, utilizamos o método de fluorescência do rubi [66], governado pela equação 2.1, para aferir os valores de pressão durante o experimento.

2.7 Procedimentos teóricos

Vários códigos para computação molecular de energia, estrutura e frequências vibracionais são disponíveis, tais como HyperChem, Spartan, Gamess, Materials Studio, e Quantum Espresso, onde os dois últimos são capazes de realizar cálculos DFT de frequências vibracionais em cristais. O código Gaussian permite realizar o cálculo para uma molécula isolada usando diferentes métodos de aproximação, como Hartree-Fock e DFT em conjunto com séries de bases diversas. Nossos cálculos foram estabelecidos para uma única molécula da célula unitária do cristal. Sendo então, restrito para modos óticos do cristal, portanto não sendo capaz de calcular modos vibracionais com números de onda de baixa frequência correspondente a vibrações de rede $\sim 200 \text{ cm}^{-1}$.

A identificação dos modos normais de vibração das substâncias em estudo foi feita usando a Teoria do Funcional de Densidade — DFT (do inglês, *Density Functional Theory*), que é um cálculo de primeiros princípios ou, pelo termo latino, cálculos *ab initio*, já que esses são feitos com o mínimo de dados experimentais. Neste método resolve-se as equações *quantum*-mecânicas que governam o sistema. As únicas informações necessárias para se efetuar os cálculos são os números atômicos e as posições dos átomos dentro do sistema, que podem ser obtidos a partir de dados cristalográficos, bem como de estruturas desenhadas usando programas específicos, por exemplo, ChemsSketch da ACD/Labs que é de código livre.

Os cálculos computacionais baseados na DFT, para as substâncias em estudo, foram realizados com o pacote Gaussian09 [67]. O funcional B3LYP foi usado com a série de base 6-31 G(d,p)++ em conjunto com o modelo de polarização contínua (PCM), para simular efeitos do solvente. Os cálculos foram determinados para uma molécula isolada das substâncias em estudo, por isso algumas diferenças foram perceptíveis, como a quantidade de modos normais de vibração, a largura das bandas, entre outras. Como as interações entre as moléculas na rede cristalina não são consideradas fortes, a aproximação é considerada boa. Fizemos o uso de um fator de escala, conforme sugerido na referência [68]. O uso do fator de escala proporciona uma melhor aproximação do resultado teórico do experimental.

Partindo de uma estrutura inicial, é preciso otimizar a estrutura da molécula em estudo antes de calcular as frequências dos modos vibracionais, ou seja, deixá-la numa conformação que represente o mínimo de energia (estado fundamental). Isso tornará o cálculo mais preciso, visto que estruturas otimizadas têm menos elétrons livres, assim, o cálculo para descrever o sistema, torna-se mais rápido e preciso.

A estrutura otimizada é submetida então ao cálculo computacional, gerando um arquivo de saída contendo informações das frequências vibracionais, na aproximação harmônica, e os deslocamentos atômicos para cada modo. Para as estruturas otimizadas das moléculas nenhuma frequência imaginária foi obtida, mostrando que o mínimo verdadeiro da superfície de energia potencial tinha sido bem encontrado. O programa Gaussian calcula todos os $3N-6$ (para uma molécula não linear) ou $3N-5$ (para uma molécula linear) modos normais de vibração e sua interface permite visualizar cada modo normal de vibração, sendo possível ver em uma animação, os movimentos característicos dos tipos de vibrações de um determinado modo.

Para classificar com precisão os modos normais de vibração das substâncias usamos o programa VEDA4 [69], o qual faz uma análise das coordenadas normais do sistema, indicando o percentual de contribuição de cada parte/grupo molecular para um dado modo normal de vibração.

3 Propriedades estruturais e vibracionais do dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina

Nesse capítulo são apresentadas informações sobre as propriedades da estrutura molecular do dipeptídeo L-alanil-l-fenilalanina obtidos através de cálculos teóricos, bem como propriedades vibracionais da estrutura cristalina.

O dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina $C_{12}H_{16}N_2O_3$ (Ala-Phe ou AF) é constituído pelos aminoácidos L-alanina e L-fenilalanina, que individualmente possuem diversas funções biológicas. A alanina, por exemplo, fortalece o sistema imunológico produzindo anticorpos. A fenilalanina é utilizada pelo cérebro para produzir a neropinefrina, uma substância química que transmite sinais entre células nervosas, promove a vitalidade, além de elevar o humor, diminuir a dor, tendo sido usada para tratar a depressão, artrite, câibras menstruais, enxaqueca, obesidade, doença de Parkinson e esquizofrenia [42].

A estrutura molecular do dipeptídeo AF, ilustrado na Fig. 3.1, é constituído por 33 átomos, peso molecular de 236,27 g/mol e uma área molecular de aproximadamente 95,5 Å². Na Tab. 3.1 apresentamos algumas propriedades deste material. Os dados referentes às posições atômicas e aos parâmetros geométricos (comprimento de ligações, ângulos e diedros) da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo AF estão listados nos anexos deste trabalho, nas Tabs. B.1 e B.2, respectivamente.

Tabela 3.1 – Propriedades do dipeptídeo AF.

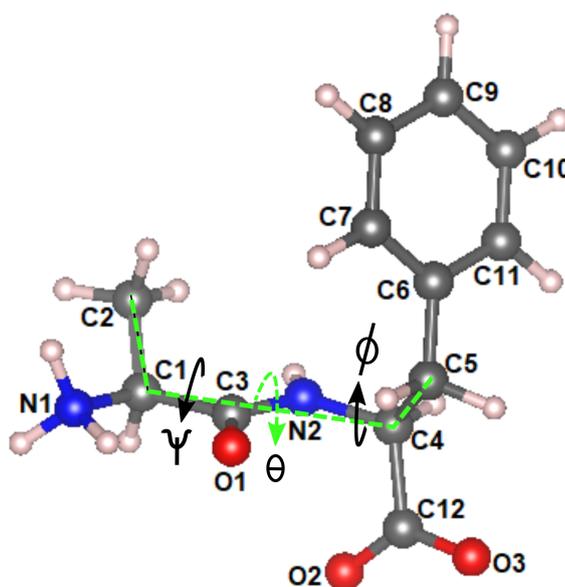
Nome na IUPAC	(S)-2-((S)-2-Aminopropanamido)-3-fenilpropanóico ácido
Formula molecular	$C_{12}H_{16}N_2O_3$
Massa molar	236,267 g/mol
Volume Molar	$299,0 \pm 3,0 \text{ cm}^3$
Densidade	$1,2 \pm 1 \text{ g/cm}^3$
Índice de refração	1,565
Ponto de decomposição	$248,7 \pm 28,7 \text{ }^\circ\text{C}$

3.1 Superfície de energia potencial

Um importante ângulo de torção nos dipeptídeos merece atenção por influenciar consideravelmente a conformação dessas moléculas, e, conseqüentemente, a conformação dos peptídeos e proteínas. Este ângulo é definido pelos carbono alfa (C_α) e carbono beta (C_β) do primeiro resíduo de aminoácido com o carbono alfa e carbono beta do segundo

resíduo de aminoácido, intercambiados pelo plano amida (OCNH), $\theta = C_1^\beta - C_1^\alpha \dots C_2^\alpha - C_2^\beta$. Alterações nesse ângulo definem as posições relativas das cadeias laterais dos dipeptídeos, por isso, muitas vezes é também chamado de ângulo dipeptídico [41]. Este ângulo de torção é o caminho mais simples para descrever a configuração conformacional de um dipeptídeo, caracterizando a influência das interações intra e intermolecular no meio cristalino. Na cadeia polipeptídica, a definição de dobramento de proteínas depende dos ângulos de torção que contornam o carbono alfa (onde ocorre a livre rotação). Dessa forma, os ângulos antes do carbono alfa, chamado ângulo phi (ϕ), e o ângulo de torção após o carbono alfa, chamado de ângulo psi (ψ) [70] merecem destaque, pois fornecem informações importantes sobre a conformação destas estruturas. Na Fig. 3.1 podemos ver o ângulo de torção θ , tracejado por uma linha verde e os ângulos diedrais ψ e ϕ para o dipeptídeo AF.

Figura 3.1 – Representação da estrutura molecular do dipeptídeo AF, na forma zwitteriônica, com a correspondente numeração atômica utilizada neste trabalho e identificação dos ângulos de torção θ , ϕ e ψ .



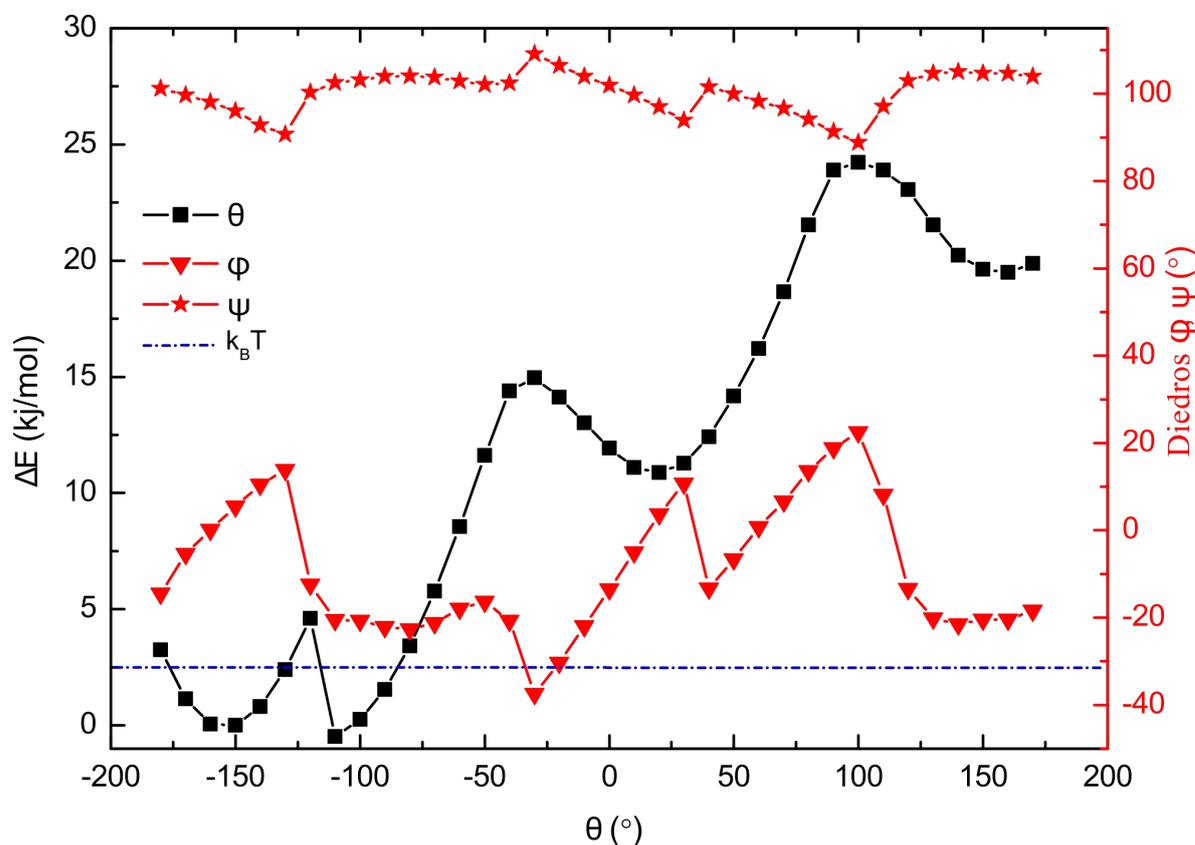
Fonte: Produzida pelo autor com os softwares VESTA e Inkscape.

Para investigar a estabilidade energética de diferentes possíveis configurações conformacionais para o dipeptídeo AF, foi realizado o cálculo da superfície de energia potencial (PES) em função do ângulo de torção θ , variando o ângulo de torção $C2 - C1 \dots C4 - C5$ do dipeptídeo AF de -180° a $+180^\circ$ em passos de 10° . A energia relativa em relação à conformação de menor energia (mínimo global), ΔE , que se deu em torno de -110° , foi plotada em relação ao ângulo diedral, como mostrado na Fig. 3.2, onde podemos ver que há mínimos locais em torno de -150° , $+20^\circ$ e $+150^\circ$. À temperatura ambiente, a energia térmica (kT) é de aproximadamente $2,45 \text{ kJ/mol}$, que corresponde à

linha azul tracejada no gráfico da Fig. 3.2. Podemos, ainda, observar duas regiões abaixo da energia térmica à temperatura ambiente, a primeira região entre -85° e -115° e a segunda região entre -177° e -130° , separada por uma barreira de 1,96 kJ/mol. O entorno desses mínimos locais pode indicar possíveis configurações para o dipeptídeo AF, o que depende das interações com o meio em que o sistema cristalino vai se formar.

A análise da rotação dos ângulos ϕ e ψ leva à identificação de regiões onde não há sobreposição dos átomos, que são chamadas de regiões permitidas. Na Fig. 3.2, ilustramos, como variam os ângulos ϕ e ψ (eixo y à direita) em função do ângulo θ , na mesmo intervalo adotado para o cálculo da PES. Neste caso, enquanto o ângulo θ varia de -180° a $+180^\circ$, o ângulo ϕ varia entre -40° e 25° e o ângulo ψ varia entre 80° e 110° , respectivamente.

Figura 3.2 – Variação de energia potencial em função dos ângulos de torção no dipeptídeo AF.

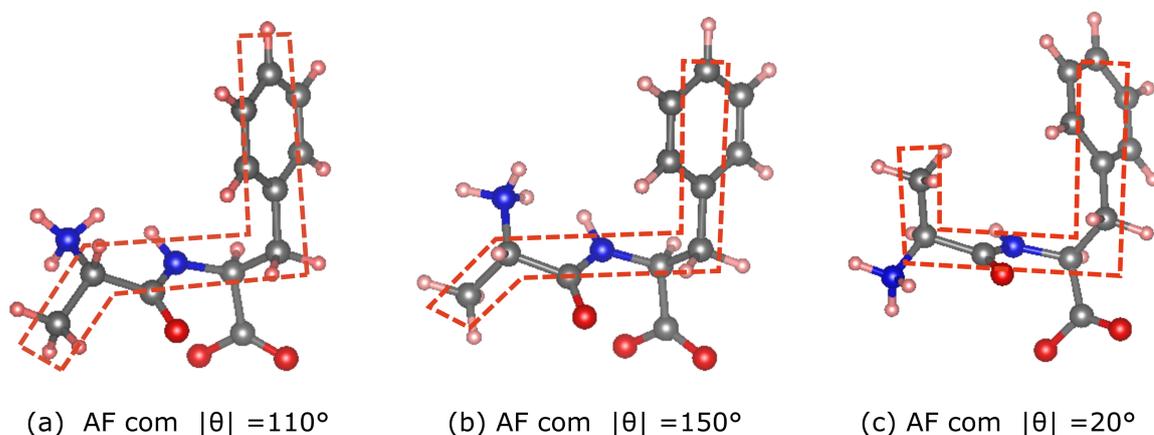


Fonte: Dados da pesquisa.

Dependendo das interações moleculares na estrutura cristalina, podemos observar as diferentes conformações à temperatura ambiente. Esta ampla faixa angular que observamos abaixo da linha da energia térmica à temperatura ambiente, pode deixar as cadeias laterais praticamente em lados opostos, em relação ao esqueleto molecular, como, ilustrado nas Figs. 3.3(a-b). Em contrapartida, observa-se um mínimo local de energia em torno de 20° , onde

as cadeias laterais encontram-se no mesmo lado em relação ao esqueleto molecular, vide Fig. 3.3(c). Este fato tem sido observado na formação de estruturas cristalinas microporosas de dipeptídeos hidrofóbicos, fazendo com que haja uma formação de regiões hidrofílicas e hidrofóbicas nos cristais [28,71]. A maioria dos dipeptídeos conhecidos tem o ângulo de torção θ (em valores absolutos) superior a 135° e outra porção considerável possui um módulo entre 90° e 135° , como mostrado por Gorbitz [41]. Os dois intervalos apresentados no PES para o ângulo θ do dipeptídeo AF estão compreendidos exatamente dentro dessas faixas angulares.

Figura 3.3 – Conformações do dipeptídeo AF: (a) $|\theta| = 110^\circ$ (mínimo global) e mínimos locais de energia (b) $|\theta| = 150^\circ$ e (c) $|\theta| = 20^\circ$.

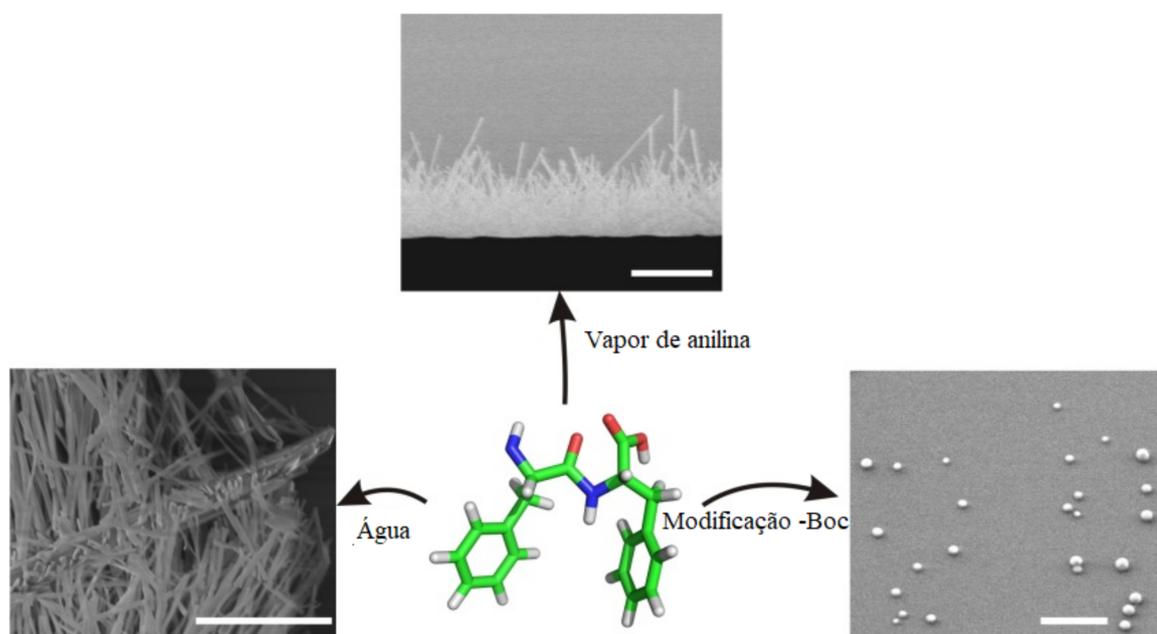


Fonte: Produzido pelo autor a partir de dados teóricos.

3.2 Efeito do solvente na otimização da estrutura molecular do dipeptídeo AF

Outro efeito importante nas estruturas formadas por dipeptídeos hidrofóbicos é a interação destes com solventes orgânicos, usados no processo de síntese ou crescimento, para a estabilidade de estruturas cristalinas. O que se tem observado é que a mudança do solvente, às vezes, leva à obtenção de diferentes formas cristalinas de um mesmo dipeptídeo, como ilustrado na Fig. 3.4. Isso resulta na formação de estruturas com diferentes formas para o mesmo dipeptídeo, como, por exemplo, nanotubos, hidrogéis, nanocamadas, vesículas, filmes finos, entre outros. Por esse motivo, submetemos a estrutura molecular do dipeptídeo AF para otimizar utilizando diferentes solventes disponíveis no código *Gaussian*. Escolhemos aqueles solventes comumente usados na cristalização de algumas estruturas cristalinas de dipeptídeos, como 1-propanol, 2-propanol, metanol, etanol, 2,2,2-trifluoroetanol e água.

Figura 3.4 – Diferentes estruturas de um mesmo dipeptídeo em função do solvente utilizado na cristalização.



Fonte: Adaptada da referência [72].

A Tab. 3.2 apresenta a constante dielétrica de cada solvente e o correspondente ângulo de torção do dipeptídeo AF na conformação mais estável, para cada um deles, obtida do processo de otimização. As duas conformações de menor energia foram obtidas quando utilizamos metanol e a água como solventes, respectivamente. Podemos ainda observar que o ângulo dipeptídico de torção apresenta uma pequena variação em relação à variação da constante dielétrica do solvente, aumentando ligeiramente conforme mostrado na Fig. 3.5.

Na literatura são reportados alguns trabalhos de estruturas cristalinas contendo o dipeptídeo AF utilizando 2-propanol e amônia como solvente, onde observou-se traços do solvente na estrutura cristalina dos cristais obtidos [36,37]. Trabalhos com dopagem do dipeptídeo AF no quais há uma interação com metais como ouro (Au) [39] e cobre (Cu) [73] também são reportados, o que ressalta a versatilidade do material, as possibilidades de utilização do mesmo em diferentes campos, como na medicina, na utilização em medicamentos ou tratamentos e engenharia e na construção de novos materiais.

3.3 Análise vibracional do dipeptídeo AF

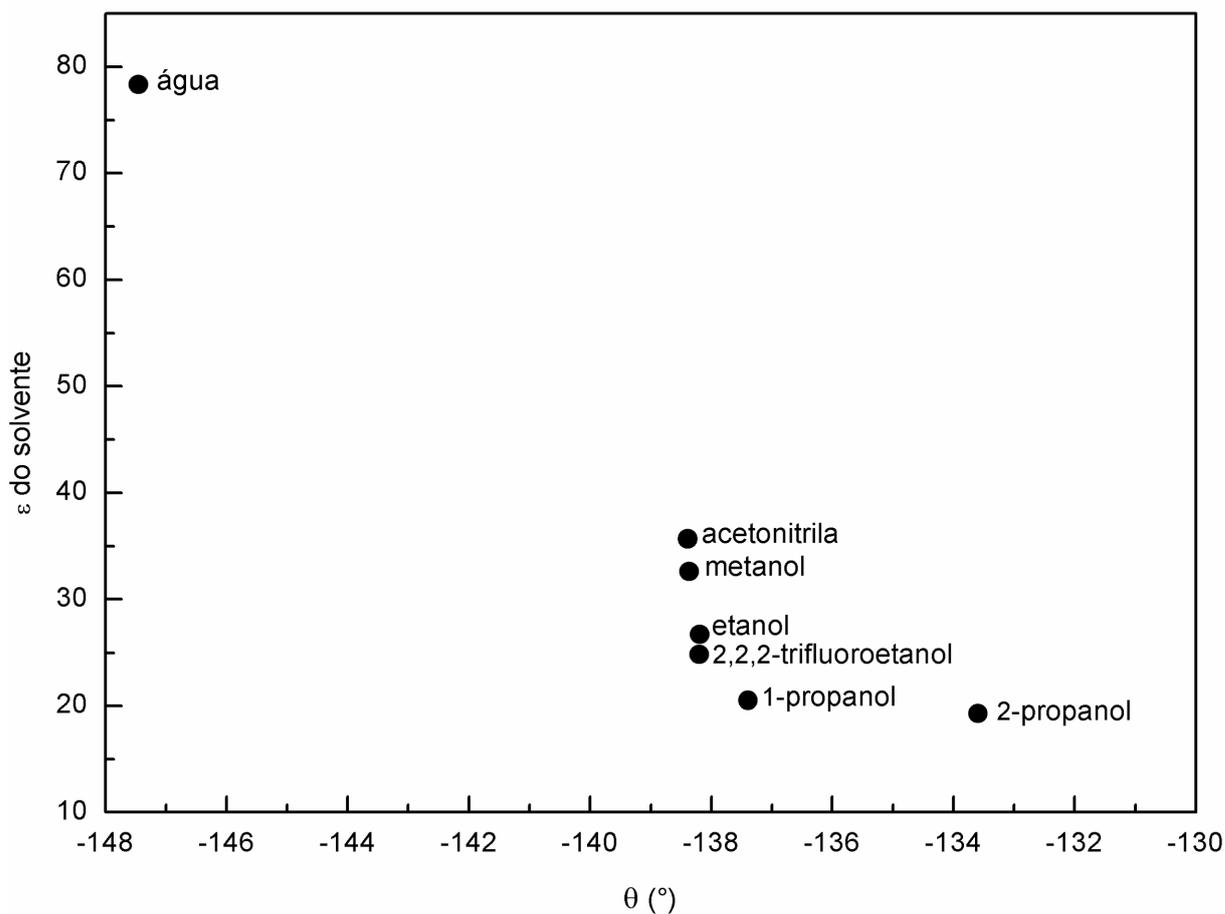
Para o estudo das propriedades vibracionais do dipeptídeo AF, a estrutura inicial foi isolada da estrutura cristalina reportada na referência [36], otimizada e, então, submetida ao

Tabela 3.2 – Efeito do solvente no ângulo de torção θ do dipeptídeo AF.

solvente	constante dielétrica (ϵ)	ângulo diedral (θ)	ΔE (kJ/mol)
2-propanol	19,264	-133,594	6,934
1-propanol	20,524	-137,392	9,998
2,2,2-trifluoroetanol	26,726	-138,191	10,859
etanol	24,852	-138,199	7,701
metanol	32,613	-138,365	0
acetonitrila	35,688	-138,389	4,365
água	78,355	-147,456	0,287

Fonte: Dados da pesquisa.

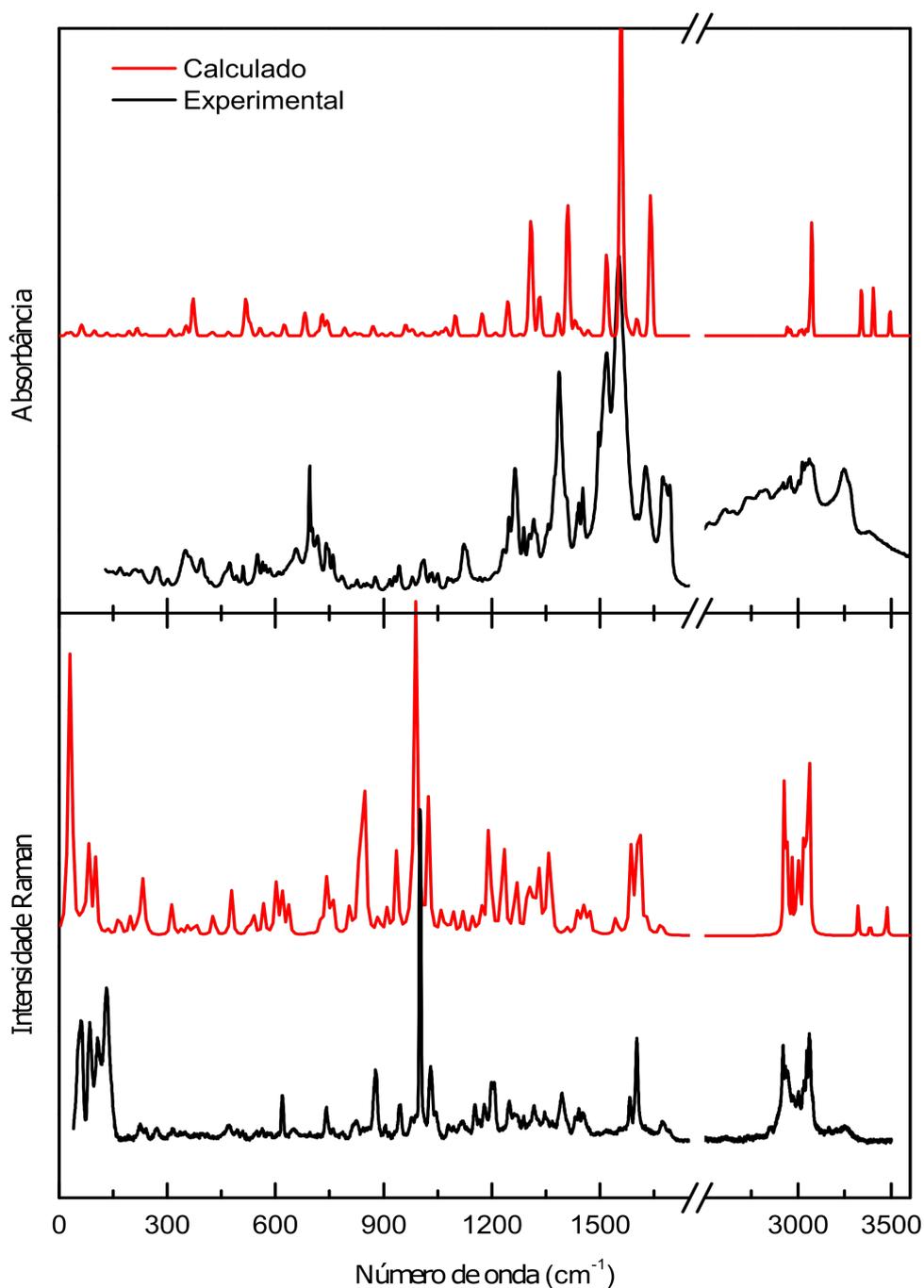
Figura 3.5 – Variação do ângulo de torção θ do dipeptídeo AF em relação a diferentes solventes.



Fonte: Dados da pesquisa.

cálculo para a obtenção das frequências dos modos normais de vibração, onde encontramos os $3N - 6$ modos relativos à molécula do dipeptídeo. A Fig. 3.6 ilustra a comparação teórico-experimental dos espectros Raman (abaixo) e infravermelho (acima) para o dipeptídeo AF.

Figura 3.6 – Comparação teórico-experimental dos espectros Raman e infravermelho do dipeptídeo AF.



Fonte: Dados da pesquisa.

Os espectros teóricos foram escalados utilizando os fatores de escala 0,977 para modos abaixo de 1800 cm^{-1} e 0,955 para modos acima de 1800 cm^{-1} como sugerido

na referência [68]. O espectro Raman calculado, fornecido em atividade Raman, foi convertido para intensidade Raman (RI), utilizando a Eq. 3.1, oriunda da teoria básica do espalhamento Raman [74]:

$$RI = C(\nu_0 - \nu_i)^4 \cdot \nu_i^{-1} \cdot B_i \cdot S_i, \quad (3.1)$$

onde C é uma constante de escala (10^{-13}), ν_0 é a frequência de excitação do laser, ν_i é a frequência calculada do i -ésimo modo normal e S_i é a correspondente atividade Raman para este modo. O fator B_i explica a contribuição dos estados vibracionais excitados para as intensidades:

$$B_i = \left\{ 1 - e^{(-h \cdot \nu_i \cdot c / kT)} \right\}, \quad (3.2)$$

onde nesta expressão h, k, c e T correspondem às constantes de Planck e Boltzmann, à velocidade da luz e à temperatura em Kelvin. Lorentzianas com largura de banda de 10 cm^{-1} foram usadas para todos os gráficos do espectro calculado.

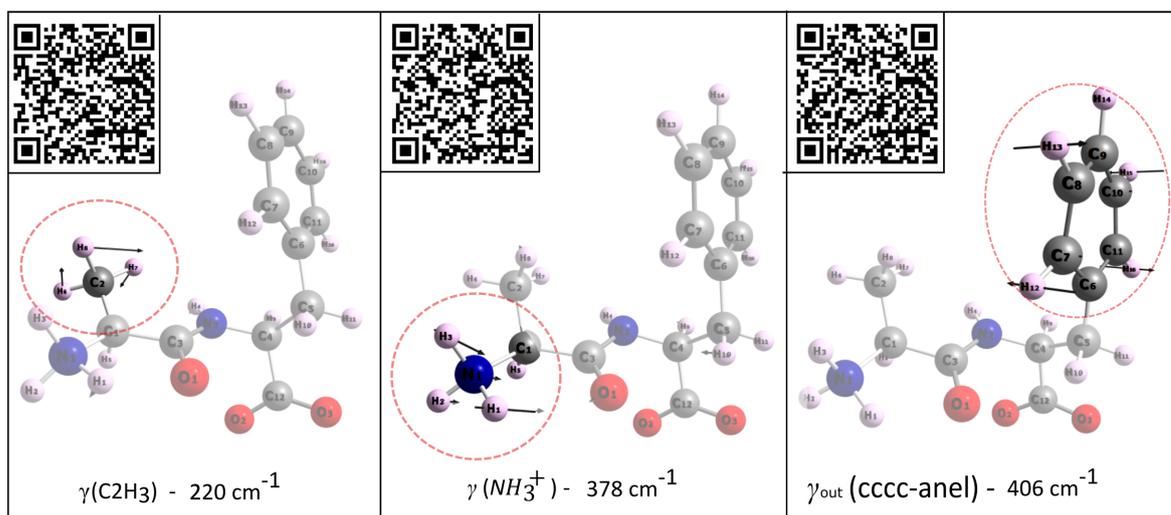
A Tab. 3.3 apresenta uma descrição detalhada das atribuições de todos os modos vibracionais da molécula do dipeptídeo AF. A primeira coluna apresenta os números de onda calculados (ω_{calc}) usando DFT, na segunda coluna temos os números de onda escalados (ω_{escal}), onde utilizamos os fatores de escalas de 0,977 para valores até 1800 cm^{-1} e 0,955 para valores acima de 1800 cm^{-1} , conforme mencionado no procedimento teórico. A terceira e quarta colunas fornecem os números de onda das medidas dos espectros Raman e infravermelho experimentais. Por fim, na quinta coluna, apresentamos a atribuição relativa a cada modo normal de vibração com o correspondente valor da distribuição de energia potencial (PED), onde consideramos apenas contribuições superiores a 10%. Para facilitar a discussão, separamos os intervalos espectrais em quatro regiões, onde comentaremos cada uma delas em subseções.

A região de baixo número de onda (menor que 150 cm^{-1}) está associada em termos gerais a modos de rede, de modo que o cálculo em uma única molécula não fornece muita informação para essa região. Na Tab. 3.3, fornecemos uma atribuição tentativa dos modos com número de onda inferior a 150 cm^{-1} , conforme obtido do cálculo de DFT para uma molécula. Isso indica que, embora a maioria das bandas nessa região esteja associada a modos de rede, possivelmente elas são acopladas a alguns modos internos. No entanto, o ponto mais importante é a possibilidade de usar as bandas que aparecem nesta região para definir ou não a ocorrência de transições de fase sob pressão [75] ou sob variações de temperatura [76], conforme relatado anteriormente. Reconhecidamente, o entendimento desta região espectral nos ajuda a entender a estabilidade da estrutura sob diversos parâmetros termodinâmicos.

3.3.1 Região espectral entre 150 e 600 cm^{-1}

Na região entre 150 e 600 cm^{-1} predominam vibrações do tipo torção no plano e fora do plano e deformação de grupos de átomos que compõem o esqueleto molecular. Em 166 cm^{-1} , podemos observar uma banda no espectro infravermelho que corresponde a contribuições de vibrações do tipo torção que envolvem o grupo de átomos que compõem o plano amida; observa-se que a mesma banda não é perceptível no espectro Raman. Em 220 cm^{-1} observamos outra banda no espectro IR que não tem correspondente no espectro Raman associado a uma vibração do tipo torção do grupo metil, $\gamma(\text{C}2\text{H}_3)$ tendo também contribuições de vibrações do tipo torção no plano do CNCC e CCCC , e fora do plano, $\gamma(\text{CNCC})$ e $\gamma_{\text{out}}(\text{CCCC})$. A vibração do tipo torção do grupo NH_3^+ é observada entre 359 e 378 cm^{-1} . Registra-se que em outros dipeptídeos e aminoácidos banda similar foi reportada próximo à essa região espectral [77]. Essa região também apresenta vibrações do tipo torção do grupo CO_2^- , associada à banda situada em 340 cm^{-1} , observada no espectro Raman. A banda situada em 406 cm^{-1} foi associada a uma vibração do tipo torção fora do plano dos átomos que compõem o anel aromático da estrutura, $\gamma_{\text{out}}(\text{CCCC} - \text{anel})$ observada no espectro IR. A Fig. 3.7 ilustra alguns modos normais de vibração selecionados do dipeptídeo AF nesta região, onde também podem ser visualizadas as animações referente a cada modo por meio da leitura dos respectivos *QR code*.

Figura 3.7 – Alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF entre 150 e 600 cm^{-1} .



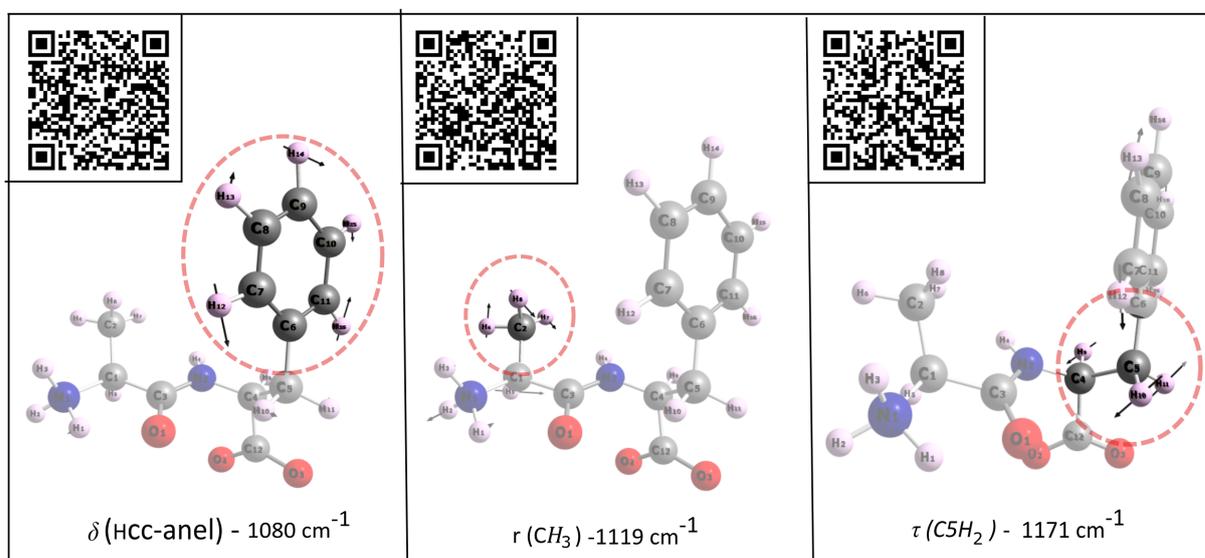
Fonte: Dados da pesquisa.

3.3.2 Região espectral entre 600 e 1200 cm^{-1}

Na região espectral predominam vibrações do tipo deformações, torções e estiramentos CC e NC. Deformações HCC pertencentes ao anel ocorrem de 1080 a 1171 cm^{-1} .

A vibração do tipo *rocking* do grupo CH_3 foi atribuída à banda situada em 1119 cm^{-1} , enquanto o *rocking* do grupo CH_2 apresenta-se nos modos situados entre 990 e 998 cm^{-1} , onde também observamos um *rocking* do grupo NH_3^+ . Torções fora do plano do tipo HCCC pertencentes ao anel aromático são observadas de 694 a 981 cm^{-1} , onde também ocorrem torções fora do plano dos grupos CCCC, CCNC, OCNC, OCOC que estão associados ao esqueleto da estrutura molecular. A deformação do grupo CO_2^- contribui para as bandas situadas em 622 e 806 cm^{-1} . Deformação fora do plano do tipo HCCC do anel apresenta contribuições nas bandas situadas de 698 a 981 cm^{-1} . Modos de vibração do tipo *twisting* do grupo CH_2 contribuem nas bandas situadas em 1168 e 1171 cm^{-1} . Os modos de vibração do tipo *rocking* dos grupos CH_2 , CH_3 e NH_3^+ estão presentes nas bandas entre 990 e 1119 cm^{-1} . O estiramento CC tem contribuição em bandas da região entre 601 e 1062 cm^{-1} , enquanto o estiramento NC apresenta contribuições em bandas localizadas em 827 , 848 , 886 e 1047 cm^{-1} . Na Fig. 3.8 apresentamos alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF nesta região, com as animações referente a cada modo disponível para visualização por meio da leitura dos respectivos *QR code*.

Figura 3.8 – Alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF entre 600 e 1200 cm^{-1} .



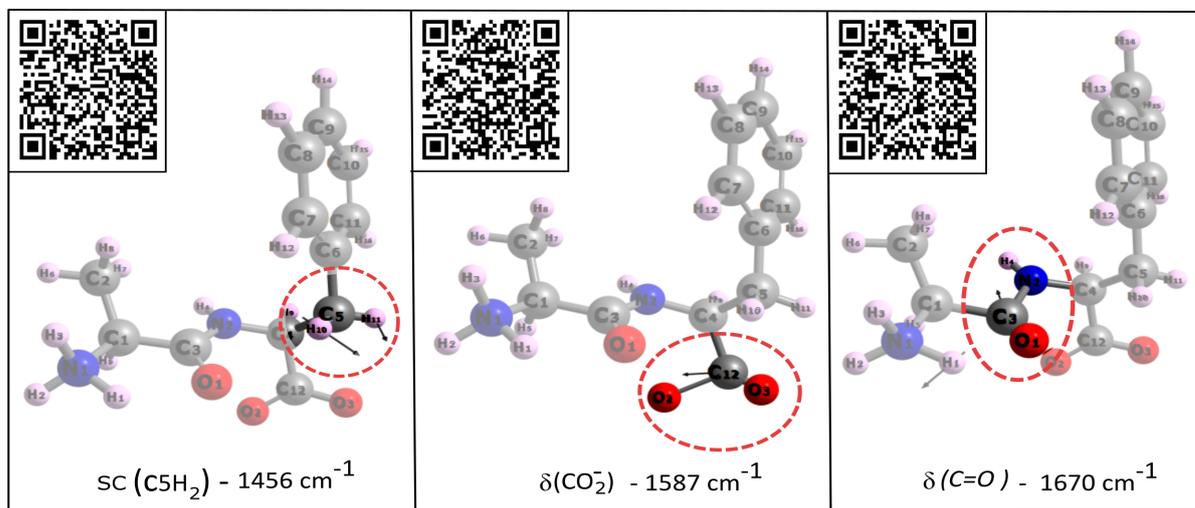
Fonte: Dados da pesquisa.

3.3.3 Região espectral entre 1200 e 1800 cm^{-1}

Nesta região, os modos mistos começam a surgir devido a vibrações de diferentes partes/grupos da molécula. Em 1670 cm^{-1} observamos uma banda atribuída ao estiramento do grupo $\text{C}=\text{O}$ tendo contribuição também do estiramento N_2C_3 , onde o último está associado com a ligação peptídica. Esse modo é visível tanto no espectro Raman, quanto no

espectro infravermelho, possuindo baixa intensidade Raman e alta intensidade no espectro infravermelho. O estiramento antissimétrico do grupo CO_2^- ocorre em 1587 cm^{-1} , enquanto o estiramento simétrico deste grupo é observado em 1349 e 1357 cm^{-1} . A deformação do grupo NH_3^+ é observada entre 1599 e 1632 cm^{-1} . As vibrações de estiramentos $\text{C}=\text{C}$ que constituem o anel da estrutura são observadas de 1588 a 1609 cm^{-1} e as deformações do tipo CCH entre 1322 e 1493 cm^{-1} . A banda situada em 1546 cm^{-1} está relacionada a uma deformação $\text{C}_3\text{N}_1\text{H}$, possuindo também contribuição de um estiramento N_2C_3 (plano amida), onde observa-se, novamente, uma banda muito intensa no espectro infravermelho, enquanto que no espectro Raman a mesma aparece com baixa intensidade. Deformações do grupo CH_3 ocorrem entre 1447 e 1470 cm^{-1} . As vibrações do tipo *wagging* do grupo metil CH_3 são observadas de 1409 a 1436 cm^{-1} , onde ainda podemos observar um *wagging* do NH_3^+ . A vibração do tipo *wagging* do CH_2 ocorre em 1301 cm^{-1} , e os modos vibracionais do tipo *scissoring* do grupo CH_2 são observados em 1447 e 1456 cm^{-1} . Torções no plano do tipo HCCN e HCCO e deformações no plano de CCH e CNH são comuns nesta região espectral. Observamos também estiramento do tipo NC e CC entre 1195 e 1267 cm^{-1} . Na Fig. 3.9 ilustramos alguns modos normais de vibração atribuídos nessa faixa espectral, onde também disponibilizamos por meio de *QR code* as respectivas animações.

Figura 3.9 – Alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF entre 1200 e 1800 cm^{-1} .



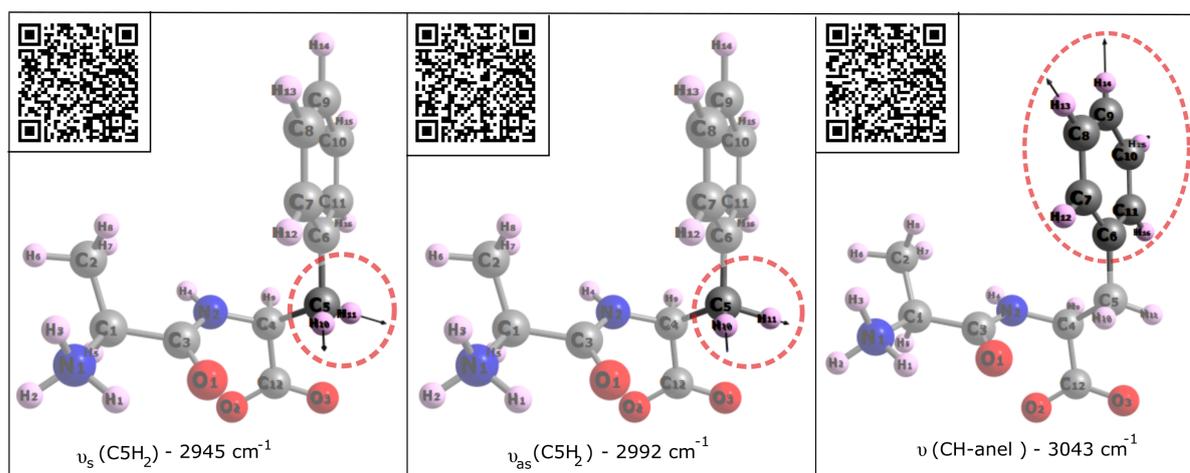
Fonte: Dados da pesquisa.

3.3.4 Região espectral entre 2800 e 3500 cm^{-1}

Os modos vibracionais nesta região são características das vibrações de estiramentos dos grupos funcionais NH , NH_3^+ , CH , CH_2 e CH_3 . A distribuição de energia potencial

apresentou uma alta contribuição dessas porções da molécula nos modos normais (entre 90 e 100 %). A banda observada no espectro de IR em 3386 cm^{-1} é atribuída a um estiramento antissimétrico do grupo NH_3^+ . Estiramento simétrico do grupo NH_3^+ foi observado em 3058 e em 3322 cm^{-1} , presente em ambos os espectros (IR e Raman). Em 3061 cm^{-1} , observamos uma vibração do tipo estiramento em fase do grupo CH pertencente ao anel da estrutura, enquanto o estiramento fora de fase no anel aromático pode ser observado entre 3017 e 3049 cm^{-1} . Um estiramento antissimétrico do grupo CH_3 é observado em 3003 e 3009 cm^{-1} , e o estiramento simétrico do mesmo grupo é atribuído a partir de 2928 a 3009 cm^{-1} . O estiramento simétrico do grupo CH_2 é atribuído à banda em 2992 cm^{-1} , enquanto o estiramento antissimétrico do CH_2 corresponde à banda em 2945 cm^{-1} . As bandas situadas em 2969 e 2929 cm^{-1} são atribuídas à vibração do tipo estiramento do grupo CH. A Fig. 3.10 ilustra alguns modos normais de vibração contidos nessa região, bem como as respectivas animações disponibilizadas nos respectivos *QR code*.

Figura 3.10 – Alguns modos normais de vibração do dipeptídeo AF entre 2800 e 3500 cm^{-1} .



Fonte: Dados da pesquisa.

Finalmente, entre 1800 e 2800 cm^{-1} , os espectros Raman e FT-IR mostraram a ausência de bandas. Isso é característico da maioria dos aminoácidos, já que as unidades que formam a estrutura molecular não possuem vibrações com energia nessa região. Assim, espera-se que um comportamento semelhante ocorra nos dipeptídeos. Essa ausência foi reproduzida pelos cálculos DFT, mostrando boa concordância com os resultados experimentais. Além disso, atribuições para outros dipeptídeos reportados na literatura indicam uma boa concordância com o presente trabalho [39, 77–79].

3.4 Considerações sobre os resultados obtidos para o dipeptídeo AF

As propriedades estruturais e vibracionais da estrutura molecular do dipeptídeo AF, na forma zwitteriônica, foram investigadas através de técnicas de espectroscopia Raman, FT-IR e cálculos de primeiros princípios através da Teoria do Funcional de Densidade. A análise do ângulo de torção característico da estrutura molecular do dipeptídeo ($\theta = C_1^\beta - C_1^\alpha \dots C_2^\alpha - C_2^\beta$) mostrou duas regiões susceptíveis à conformação de baixa energia do dipeptídeo AF à temperatura ambiente. A primeira região, encontrada entre $85^\circ \leq |\theta| \leq 115^\circ$ e a segunda região entre $130^\circ \leq |\theta| \leq 177^\circ$, separadas por uma barreira de 1,96 kJ/mol. Nestes intervalos angulares, as cadeias laterais podem apresentar-se praticamente em lados opostos, no entanto, observamos em torno de 20° um mínimo local onde as cadeias laterais apresentam-se no mesmo lado em relação ao esqueleto molecular, o que pode facilitar a formação de estruturas com propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas, como ocorre com alguns dipeptídeos que formam cristais porosos. Confôrmeros de menor energia foram obtidos para diferentes solventes usando o modelo de polarização contínua (CPMC). Os cálculos mostraram que há uma pequena variação de energia e o ângulo de torção do dipeptídeo aumenta sutilmente em relação à constante dielétrica do solvente. Para o dipeptídeo AF, conformações com menor energia foram obtidas usando metanol e água. Com relação às propriedades vibracionais do material, os números de onda calculados reproduziram os resultados experimentais com boa concordância, permitindo-nos atribuir todos os modos normais de vibração do dipeptídeo AF com a respectiva distribuição de energia potencial (PED).

Tabela 3.3 – Números de onda calculados e escalados e os números de onda Raman e IR experimentais (em unidades por centímetro), bem como a classificação dos modos vibracionais do dipeptídeo AF com PED [%].

ω_{calc}	ω_{escal}	ω_{Raman}	ω_{IR}	Classificação dos modos normais de vibração com PED[%]
22	21			$\gamma(N2C4C5C6)$ [65] + $\gamma(C1C3N2C5)$ [10]
33	32			$\gamma(C4C5C6C7)$ [46] + $\gamma(C1C3N2C5)$ [19]
34	33			$\gamma(C4C5C6C7)$ [54] + $\gamma(C1C3N2C5)$ [16] + $\gamma(O3C12C4C5)$ [11]
61	60			$\gamma(C1C3N2C4)$ [42] + $\gamma(N1C1C3N2)$ [18] + $\gamma(N2C4C5C6)$ [11]
66	64			$\gamma(N1C1C3N2)$ [47]
83	81	85		$\delta(C4C5C6)$ [34] + $\gamma_{out}(C5C7C11C6)$ [33]
102	100			$\gamma(C3N2C4C5)$ [56]
138	135	133		$\delta(C3N2C4)$ [44] + $\delta(C1C3N2)$ [10]
170	166		168	$\delta(C12C4N2)$ [20] + $\delta(C1C3N2)$ [14] + $\delta(N2C4C5)$ [11]
202	197			$\gamma(N1H_3^+)$ [66]
225	220		210	$\gamma(C2H_3)$ [18] + $\gamma_{out}(C2N1C3C1)$ [16] + $\gamma_{out}(C12C9C8C7)$ [11]
237	232	229	228	$\delta(C4C5C6)$ [14] + $\gamma(C10C9C8C7)$ [12]
250	244	241	270	$\gamma(C2H_3)$ [33]
348	340	340		$\gamma(CO_2^-)$ [13] + $\delta(C5C6C7)$ [11]
367	359	353	350	$\delta(C1C2N1)$ [11] + $\delta(N1C1C3)$ [10] + $\gamma(N1H_3^+)$ [10]
387	378	398	395	$\gamma(N1H_3^+)$ [37] + $\delta(O1C3N2)$ [17]
416	406		407	$\gamma_{out}(CCCC - anel)$ [53]
436	426		422	$\delta(N2C4C5)$ [28] + $\delta(O3C12C4)$ [18]
444	434			$\delta(C1C2N1)$ [26] + $\delta(N2C4C5)$ [15] + $\gamma_{out}(N1C1C2C3)$ [12]
489	478	493	471	$\gamma_{out}(C2N1C3C1)$ [24] + $\gamma(C7C8C9C10)$ [15]
539	527			$\gamma(HN2C3C1)$ [78]
552	539	547	548	$\delta(O3C4C12)$ [27] + $\delta(C1C3N2)$ [10]
581	568	566	564	$\delta(C6C7C8)$ [15] + $\delta(C4C12N2)$ [15] + $\delta(O3C4C12)$ [11]
615	601			$\nu(C1C3)$ [20] + $\delta(O1C3N2)$ [12] + $\gamma_{out}(O1C1N2C3)$ [12]
632	617			$\delta(C9C10C11 - anel)$ [75]
651	636	622	621	$\delta(CO_2^-)$ [14] + $\gamma_{out}(O2C4O3C12)$ [14]
710	694	698	696	$\gamma_{out}(CCCC)$ [53] + $\gamma_{out}(HCCC - anel)$ [41]
746	729	721	718	$\gamma_{out}(O1C1N2C3)$ [30] + $\delta(CO_2^-)$ [12] + $\gamma_{out}(O2C4O3C12)$ [11]
760	743	743	742	$\gamma_{out}(HCCC - anel)$ [48] + $\gamma_{out}(C6C7C8C9)$ [10]
775	757	761	761	$\delta(CO_2^-)$ [23] + $\gamma_{out}(O1C1N2C3)$ [15] + $\gamma_{out}(O2C4O3C12)$ [10]
825	806	819	811	$\delta(C8C9C10)$ [24] + $\nu(C5C6)$ [16] + $\delta(CO_2^-)$ [13]
854	834	827	827	$\nu(N1C1)$ [26] + $\nu(C1C2)$ [15] + $\delta(O1C16N2)$ [13]
859	839	844	844	$\gamma_{out}(HCCC - anel)$ [96]
868	848	854	853	$\nu(N2C4)$ [17] + $\nu(C4C5)$ [10]
907	886	880	876	$\nu(N1C1)$ [20] + $\nu(C1C3)$ [16]
932	911	918	917	$\gamma_{out}(HCCC - anel)$ [65]
959	937	948	942	$\nu(C12C4)$ [19] + $\gamma_{out}(C12C5N2C4)$ [13]
987	964			$\gamma_{out}(HCCC - anel)$ [78]
1001	978	980	978	$\nu(C1C2)$ [23] + $r(N1H_3^+)$ [17] + $r(C2H_2)$ [12]
1004	981			$\gamma_{out}(HCCC - anel)$ [67] + $\gamma_{out}(C8C9C10C11)$ [16]
1012	989	989		$\delta(CCC)$ [62] + $\nu(C9C10)$ [12]
1013	990			$r(N1H_3^+)$ [21] + $\gamma(HC1C2N1)$ [18] + $r(C2H_2)$ [15]
1022	998		1012	$r(C2H_2)$ [39]
1048	1024	1029	1028	$\nu(C8C9)$ [47] + $\delta(C9C10C11)$ [13] + $\delta(HC7C8)$ [11]

Tabela 3.3 (Continuação). Números de onda calculados e escalados e os números de onda Raman e IR experimentais (em unidades por centímetro), bem como a classificação dos modos vibracionais do dipeptídeo AF com PED [%].

ω_{calc}	ω_{escal}	ω_{Raman}	ω_{IR}	Classificação dos modos normais de vibração com PED[%]
1087	1062	1047	1050	$\nu(C4C5)[22] + \nu(N2C4)[20]$
1105	1080	1081	1088	$\delta(HCC - anel)[32] + \nu(CC)[25]$
1145	1119	1120	1124	$r(C2H_3)[17] + \gamma(HN1C1C2)[10] + \gamma_{out}(C2N1C3C1)[11]$
1176	1149	1155		$\delta(HCC - anel)[78]$
1196	1168	1169	1167	$\delta(HCC - anel)[24] + \tau(C2H_2)[10]$
1199	1171	1182	1181	$\delta(HCC - anel)[39] + \tau(C2H_2)[12]$
1223	1195	1202		$\nu(C5C6)[33] + \delta(HC7N8)[10]$
1261	1232	1248	1231	$\gamma(HN2C1C2)[45] + \delta(HC4N2)[26]$
1297	1267	1250	1264	$\nu(N2C3)[26] + \delta(C3N2H)[20] + \delta(C1C2H)[18]$
1332	1301	1290	1289	$wagg(C5H_2)[33]$
1346	1315	1317	1318	$\delta(C2C1H)[35]$
1353	1322			$\nu(CC - anel)[50] + \delta(CCH - anel)[20]$
1359	1328			$\delta(CCH - anel)[37] + \delta(C5N2H)[10]$
1364	1333	1349		$\nu_s(CO_2^-)[51]$
1388	1356	1357	1356	$\delta(N2C4H)[24] + \gamma(HC4C12O3)[23] + \nu_s(CO_2^-)[11]$
1398	1366	1369		$\gamma(HC1C3N2)[62] + \delta(C1C2H)[14]$
1441	1409	1398	1389	$wagg(C2H_3)[81]$
1470	1436			$wagg(N1H_3^+)[63] + wagg(C2H_3)[13]$
1481	1447	1444	1443	$sc(C5H_2)[27] + \delta(CCH - anel)[18]$
1490	1456			$sc(C5H_2)[53]$
1492	1458	1457	1453	$\delta(C2H_3)[77]$
1505	1470			$\delta(C2H_3)[89]$
1528	1493	1497	1497	$\delta(CCH - anel)[67]$
1582	1546		1555	$\delta(C3N1H)[55] + \nu(N2C3)[21]$
1624	1587	1583	1565	$\nu_{as}(CO_2^-)[78]$
1625	1588			$\nu(C = C - anel)[41]$
1637	1599			$\delta(N1H_3^+)[91]$
1647	1609		1603	$\nu(C10 = C11 - anel)[30]$
1670	1632		1631	$\delta(N1H_3^+)[85]$
1709	1670	1673	1678	$\nu(C = O)[63] + \nu(N2C3)[19]$
3066	2928	2920	2922	$\nu_s(C2H_3)[100]$
3068	2929	2933	2829	$\nu(C4H)[94]$
3084	2945	2946	2955	$\nu_s(C5H_2)[95]$
3109	2969	2974	2971	$\nu(C1H)[95]$
3133	2992	2981		$\nu_{as}(C5H_2)[98]$
3145	3003	3003	3006	$\nu_{as}(C2H_3)[96]$
3151	3009			$\nu_s(C2H_3)[99]$
3170	3027	3026	3025	$\nu_{as}(CH - anel)[95]$
3175	3032	3035		$\nu_{as}(CH - anel)[90]$
3186	3043	3047		$\nu_{as}(CH - anel)[99]$
3193	3049			$\nu_{as}(CH - anel)[93]$
3202	3058	3058	3058	$\nu_s(N1H_3^+)[96]$
3205	3061	3062	3063	$\nu_s(CH - anel)[93]$
3479	3322	3255	3256	$\nu_s(N1H_3^+)[98]$
3546	3386		3381	$\nu_{as}(N1H_3^+)[100]$
3638	3474			$\nu(N2H)[100]$

Fonte: Dados da pesquisa.

4 Propriedades estruturais e vibracionais do dipeptídeo L,L-dileucina

Neste capítulo apresentaremos todos os resultados obtidos para o dipeptídeo L,L-dileucina, bem como os resultados e discussões. Para esta amostra realizamos experimentos de espectroscopia Raman e infravermelho à temperatura ambiente, bem como cálculos de primeiros princípios via DFT para uma comparação teórico-experimental, espectroscopia Raman em função da pressão, difração de raios-X síncrotron em função da pressão, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e difração de raios-X em função da temperatura.

4.1 Introdução

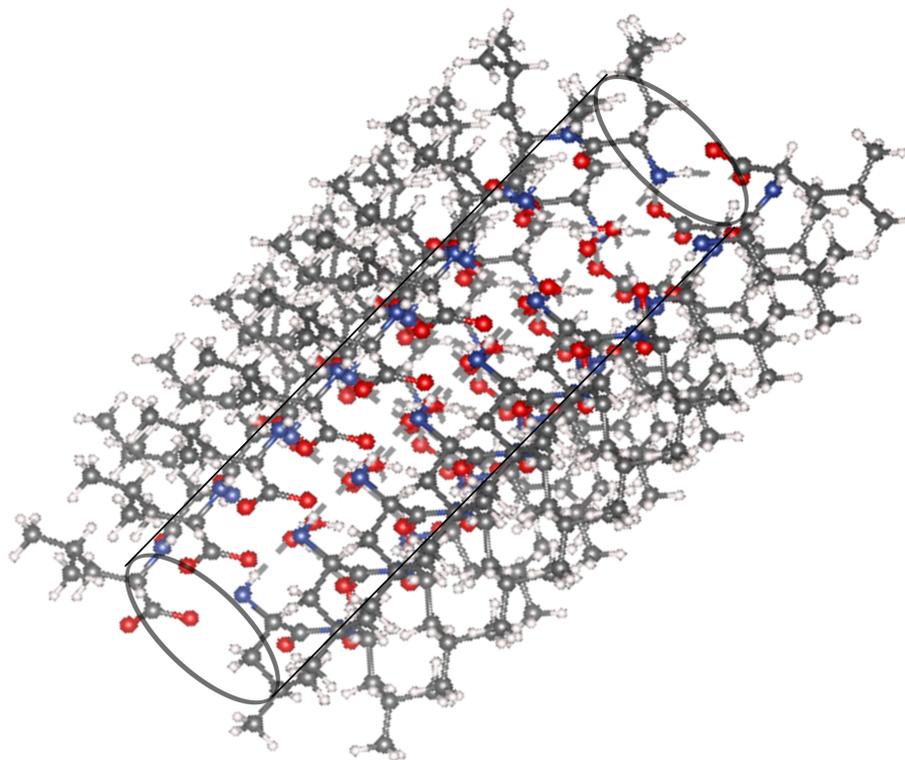
Peptídeos com estruturas porosas têm aplicação em armazenamento de gases e em absorção seletiva, sendo capaz de armazenar ou perder moléculas em suas cavidades sem perder a cristalinidade [80].

O dipeptídeo L-leucil-L-leucina hidratado (Leu-Leu, L,L-dileucina ou LL), cuja fórmula molecular é $C_{12}H_{24}N_2O_3 \cdot 0,87H_2O$, é constituído por dois resíduos do aminoácido leucina. Dentre suas funções, a leucina interage com os aminoácidos isoleucina e valina para promover a cicatrização da pele, músculos, tecidos e ossos, além de reduzir o nível de açúcar no sangue e aumentar a produção do hormônio do crescimento [42].

O dipeptídeo L,L-dileucina tem se mostrado uma fonte promissora para novos materiais, podendo interagir com moléculas de alguns solventes orgânicos, seja durante a síntese ou no processo de cristalização e, com isso, formar substâncias cristalinas distintas. Por exemplo, cristais de L,L-dileucina obtidos utilizando água no crescimento da estrutura cristalina, origina estruturas em forma de nanotubos, onde as moléculas de água participam de forma efetiva da estabilidade da rede cristalina [41].

A Fig. 4.1 ilustra o dipeptídeo L,L-dileucina e a interação destes com moléculas de água. Podemos observar regiões hidrofílicas, onde se concentram os grupos amina, grupo carboxílico e moléculas de água, e regiões hidrofóbicas, constituídas pelas cadeias laterais, resultando na formação de canais.

Figura 4.1 – Dipeptídeo LL interagindo com moléculas de água formando canais.



Fonte: Produzida pelo autor usando os softwares Vesta e Inkscape.

Na Tab. 4.1 apresentamos algumas propriedades do dipeptídeo LL. Além do dipeptídeo LL hidratado, são reportados na literatura, o crescimento de cristais do dipeptídeo LL utilizando os solventes 1-propanol, 2-propanol, etanol e combinações de solventes, resultando na formação de materiais com variadas formas e diferentes fases [31, 47, 48, 81]. Neste trabalho temos como objeto de pesquisa o dipeptídeo L,L-dileucina hidratado, que, por conveniência, chamaremos a partir de então de LL.

Tabela 4.1 – Algumas propriedades do dipeptídeo LL.

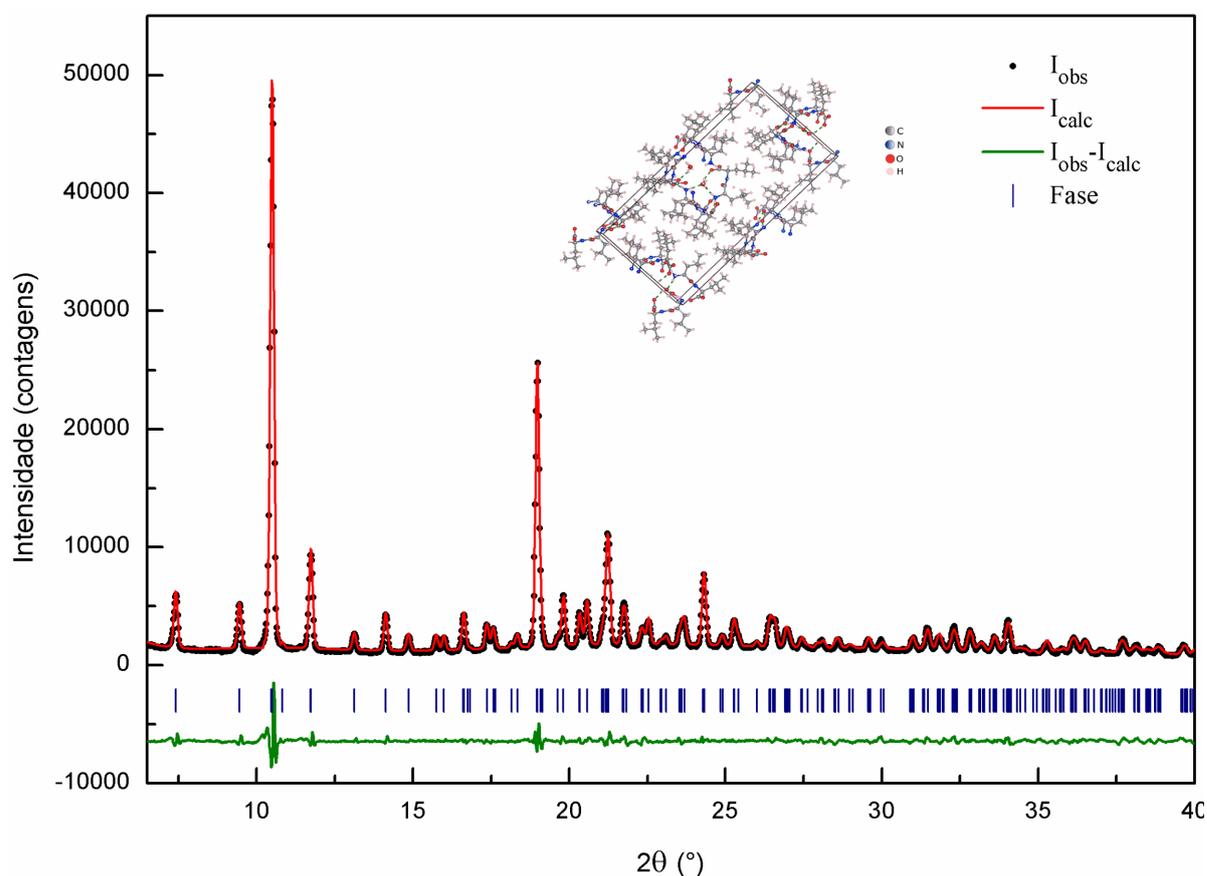
Nome na IUPAC	(S)-2-((S)-2-amino-4-metilpentanamido)-4-metilpentanóico ácido
Fórmula molecular	$C_{12}H_{24}N_2O_3$
Massa molar	244,33 g/mol
Volume Molar	$232,4 \pm 3,0 \text{ cm}^3$
Densidade	$1,1 \pm 0,1 \text{ g/cm}^3$
Índice de refração	1,482
Ponto de decomposição	$215,5 \pm 24,6 \text{ }^\circ\text{C}$

Fonte: Dados da pesquisa.

4.2 Análise estrutural do dipeptídeo L,L-dileucina

O padrão de difração de raios-X em condições ambientes foi obtido utilizando fonte radiação C_uK_α (0,15406 nm). A estrutura cristalina do dipeptídeo LL foi confirmada usando o programa GSAS [63] com os parâmetros iniciais relatados em um estudo anterior [41], por meio do método de refinamento Rietveld. Os parâmetros de rede refinados foram $a = 5,36$, $b = 16,87$ e $c = 33,82$ Å, apresentando uma boa concordância com os dados experimentais, que são respectivamente $a = 5,35$, $b = 16,76$ e $c = 33,31$ Å. A Fig. 4.2 mostra o padrão de refinamento Rietveld. A qualidade do refinamento foi baseada nos parâmetros Rwp 11,91% e $S=1,83$.

Figura 4.2 – Padrão de difração de raios-X por refinamento Rietveld do dipeptídeo LL e comparação com o difratograma experimental.



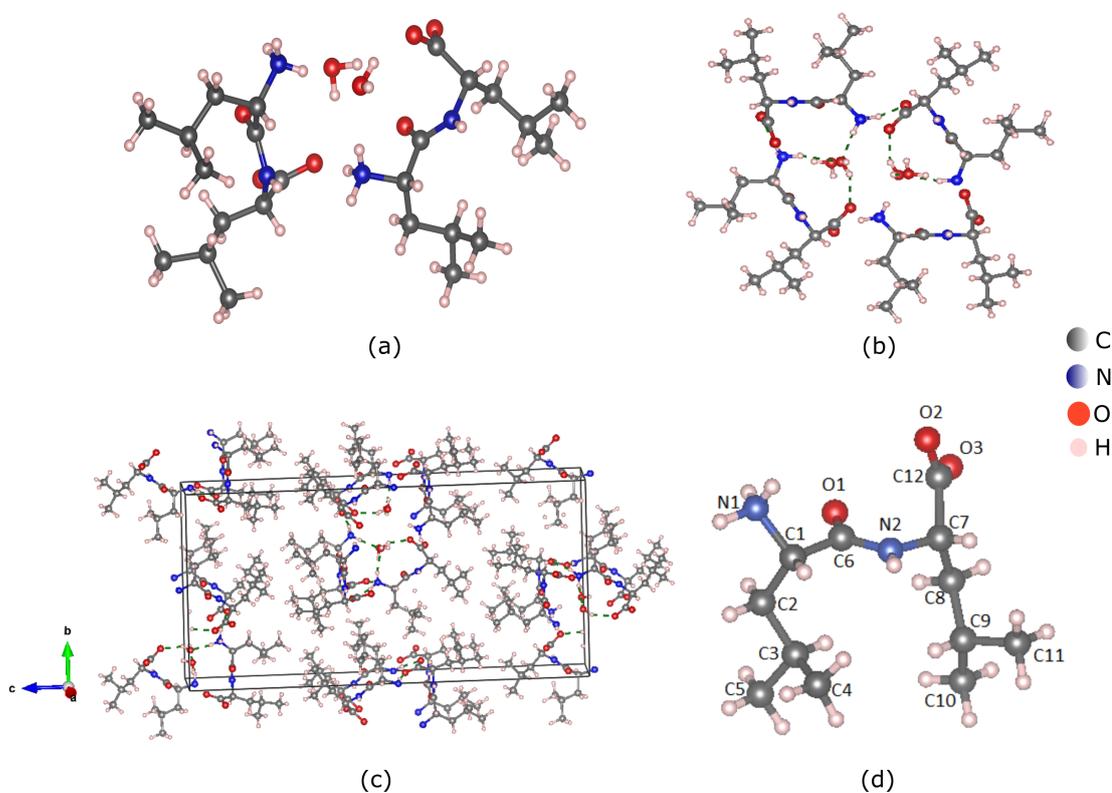
Fonte: Dados da pesquisa.

O dipeptídeo LL cristaliza-se em condições ambientes na fase ortorrômbica pertencendo ao grupo espacial $P2_12_12_1$ (D_2^4), com quatro unidades assimétricas¹ por célula unitária, onde cada unidade assimétrica é composta por duas moléculas de água e duas

¹ A unidade assimétrica é a menor porção de um cristal que, quando duplicado e movido por operações de simetria, pode produzir a célula unitária do cristal.

moléculas do dipeptídeo LL, Fig. 4.3(a). A Fig. 4.3(b) mostra a interação entre moléculas de água e as unidades assimétricas do dipeptídeo LL, onde pode-se observar que as quatro moléculas do dipeptídeo LL constituem uma região hidrofílica por meio da interação via ligações de hidrogênio entre o grupo amina NH_3^+ , o grupo carboxílico CO_2^- e as moléculas de água, gerando canais por meio de processos de automontagem molecular. A Fig. 4.3(c) ilustra a célula unitária do cristal do dipeptídeo LL.

Figura 4.3 – (a) Unidade assimétrica do dipeptídeo LL; (b) Ligações de hidrogênio entre moléculas de água e moléculas do dipeptídeo LL; (c) Célula unitária do dipeptídeo LL; (d) Estrutura molecular do dipeptídeo LL otimizada com a correspondente numeração atômica utilizada neste trabalho.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Vesta.

Uma única molécula de dipeptídeo LL foi isolada da célula unitária da estrutura cristalina e depois otimizada para a conformação de menor energia. A Fig. 4.3 (c) mostra a estrutura molecular otimizada do dipeptídeo LL com a respectiva numeração atômica utilizada neste trabalho. Os valores das posições dos átomos nas coordenadas cartesianas x , y , z são apresentados na Tab. C.1 (Anexo C). Na Tab. 4.2 apresentamos os parâmetros geométricos da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo LL, onde fornecemos a comparação entre os dados teóricos e experimentais. Os parâmetros calculados apresentaram boa concordância com os dados experimentais. Por exemplo, alguns comprimentos de

ligação que correspondem ao esqueleto molecular, como N2-C6, C2-C3 e C7-C8 têm dimensões de 1,3399, 1,5332 e 1,5246 Å, enquanto os valores calculados são 1,3369, 1,5440 e 1,5387 Å, respectivamente. Alguns ângulos de ligação, por exemplo, N2-C6-C1, O1-C6-N2 e C6-N2-C7 que formam o plano amida, têm valores experimentais de 116,6849, 123,5075 e 121,8281°, em contrapartida, os valores calculados são 116,6752, 125,6841 e 124,6422°, respectivamente. Podemos também observar os ângulos diedrais, tais como C6-C1-C2-C3, N2-C7-C8-C9, e C7-N2-C6-C1 que apresentam valores experimentais de 58,9344, -65,8204 e 174,8616°, respectivamente, enquanto os valores calculados correspondentes foram de 76,6512, -58,1322 e 175,2308°. Algumas diferenças são esperadas, visto que o cálculo é feito para uma molécula e as interações intermoleculares na estrutura cristalina não são consideradas.

Tabela 4.2 – Parâmetros geométricos da estrutura otimizada do dipeptídeo LL e comparação com dados experimentais.

Comprimento de ligação (Å)			Ângulos de ligação (°)			Ângulos diedrais (°)		
ligação	exp.	cal.	ligação	exp.	cal.	ligação	exp.	cal.
O1-C6	1,2291	1,2407	C6-N2-C7	121,8281	124,6422	C7-N2-C6-O1	-2,7725	6,4789
O2-C12	1,2643	1,2620	N1-C1-C2	108,3481	108,7239	C7-N2-C6-C1	174,8616	175,2308
O3-C12	1,2470	1,2595	N1-C1-C6	108,1796	103,9145	C6-N2-C7-C8	-79,2969	-65,7996
N1-C1	1,4959	1,5112	C2-C1-C6	109,7588	112,6498	C6-N2-C7-C12	47,9404	64,3466
N2-C6	1,3399	1,3369	C1-C2-C3	114,9365	115,2107	N1-C1-C2-C3	176,8651	168,7308
N2-C7	1,4606	1,4722	C2-C3-C4	112,7171	112,2260	C6-C1-C2-C3	58,9344	76,6512
C1-C2	1,5358	1,5409	C2-C3-C5	108,8681	109,3925	N1-C1-C6-O1	-52,6558	-36,8254
C1-C6	1,5171	1,5467	C4-C3-C5	110,5298	110,5311	N1-C1-C6-N2	129,6166	144,7419
C2-C3	1,5332	1,5440	O1-C6-N2	123,5075	125,6841	C2-C1-C6-O1	65,3795	80,6733
C3-C4	1,5219	1,5379	O1-C6-C1	119,7657	117,6198	C2-C1-C6-N2	-112,3480	-97,7594
C3-C5	1,5325	1,5371	N2-C6-C1	116,6849	116,6752	C1-C2-C3-C4	59,2364	69,5747
C7-C8	1,5246	1,5387	N2-C7-C8	112,2195	112,8285	C1-C2-C3-C5	-177,7487	-167,3670
C7-C12	1,5403	1,5742	N2-C7-C12	109,6165	111,9809	N2-C7-C8-C9	-65,8204	-58,1322
C8-C9	1,5270	1,5421	C8-C7-C12	113,6229	113,9428	C12-C7-C8-C9	169,1165	172,7249
C9-C10	1,5315	1,5375	C7-C8-C9	114,5350	116,0088	N2-C7-C12-O2	50,5849	17,7548
C9-C11	1,5222	1,5375	C8-C9-C10	109,5033	109,7723	N2-C7-C12-O3	-130,5194	-165,7230
			C8-C9-C11	112,1305	112,8475	C8-C7-C12-O2	177,0300	147,3238
			C10-C9-C11	110,3956	110,3838	C8-C7-C12-O3	-4,0742	-36,1539
			O2-C12-O3	124,3187	127,1498	C7-C8-C9-C10	168,3976	174,4280
			O2-C12-C7	116,8960	115,3514	C7-C8-C9-C11	-68,7036	-61,9919
			O3-C12-C7	118,7752	117,3925			

Fonte: Dados da pesquisa.

Outro fator importante da estrutura molecular de um dipeptídeo é o ângulo de torção definido pelos carbonos alfa e beta de um resíduo de aminoácido, com os carbonos alfa e beta do segundo resíduo de aminoácido, $\theta = C_1^\beta - C_1^\alpha \dots C_2^\alpha - C_2^\beta$, esse ângulo nos fornece as posições relativas das cadeias laterais. Para alguns dipeptídeos hidrofóbicos que formam nanoestruturas tubulares como L,L-dileucina, L,L-difenilalanina, L-leucil-L-

fenilalanina e L-fenilalanil-L-leucina observou-se que o módulo de ângulo de torção $|\theta| < 41^\circ$. Isso faz com que, na maioria dos casos, as cadeias laterais fiquem localizadas no mesmo lado do plano definido pela ligação peptídica. O ângulo de torção calculado $\theta = \text{C2-C1} \cdots \text{C7-C8}$ da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo LL foi de $33,8^\circ$ apresentando um arranjo semelhante ao da estrutura molecular na célula unitária no cristal obtido por Görbitz [41].

4.3 Análise vibracional do dipeptídeo L,L-dileucina

A estrutura cristalina do dipeptídeo LL forma uma rede tridimensional estabilizada por (i) ligações de hidrogênio do tipo $O - H \cdots O$, $N - H \cdots O$ e $C - O \cdots H$ e (ii) interações com moléculas de água. Enquanto os primeiros tipos são característicos de uma série de cristais de aminoácidos, os segundos tipos são encontrados em diversos cristais de aminoácidos hidratados.

Como mencionado anteriormente, o dipeptídeo LL pertence ao grupo espacial $P2_12_12_1$ (D_2^4), e sua célula unitária é composta por 8 unidades moleculares do dipeptídeo LL, que compõem quatro unidades assimétricas, onde cada unidade assimétrica é composta por duas moléculas do peptídeo LL e duas moléculas de água. A estrutura cristalina pertence ao grupo espacial:

$$D_2^4 = [aC_1(4)], \quad (4.1)$$

indicando que todos os possíveis sítios disponíveis possuem simetria C_1 e são ocupados por quatro átomos (ver tabela 6A da referência [82]). Analisando as tabelas 6B e 6C da referência [82], concluímos que os modos vibracionais provenientes do sítio a ocupado, podem ser decompostos em termos das representações irreduzíveis do grupo pontual D_2 da seguinte forma:

$$3A + 3B_1 + 3B_2 + 3B_3. \quad (4.2)$$

Assim, temos para o cristal,

$$\Gamma_{\text{cristal}} = 264A + 264B_1 + 264B_2 + 264B_3. \quad (4.3)$$

Portanto, é previsto a existência de um total de 1056 modos vibracionais presentes no cristal LL, dos quais há três modos acústicos (Tabela 6E da referência [82]) caracterizados pelas representações irreduzíveis:

$$\Gamma_{\text{acústico}} = B_1 + B_2 + B_3. \quad (4.4)$$

Sendo assim, o restante são modos óticos dados por:

$$\Gamma_{\text{ótics}} = \Gamma_{\text{cristal}} - \Gamma_{\text{acústico}} = 264A + 263B_1 + 263B_2 + 263B_3. \quad (4.5)$$

Logo, há um total de 1053 modos óticos, dos quais 1008 $[Z(3N - 6)]$ são modos internos das moléculas presentes no cristal. E 45 são modos de rede, sendo 24 $(3Z)$ librações e 21 $(3Z - 3)$ translações.

Consultando a Tabela 6E da referência [82], vemos que os modos com representações irredutível A, B_1, B_2, B_3 são ativos no Raman, enquanto os modos com simetrias B_1, B_2, B_3 são ativos no infravermelho. A Tab. 4.3 corresponde a tabela de caracteres do grupo D_2 onde aparecem em destaque as regras de seleção. Assim, mostra-se claramente que existem componentes do tensor polarizabilidade em todas as quatro representações irredutíveis do grupo D_2 , enquanto que as translações (e portanto, o dipolo elétrico) se transformam como as representações B .

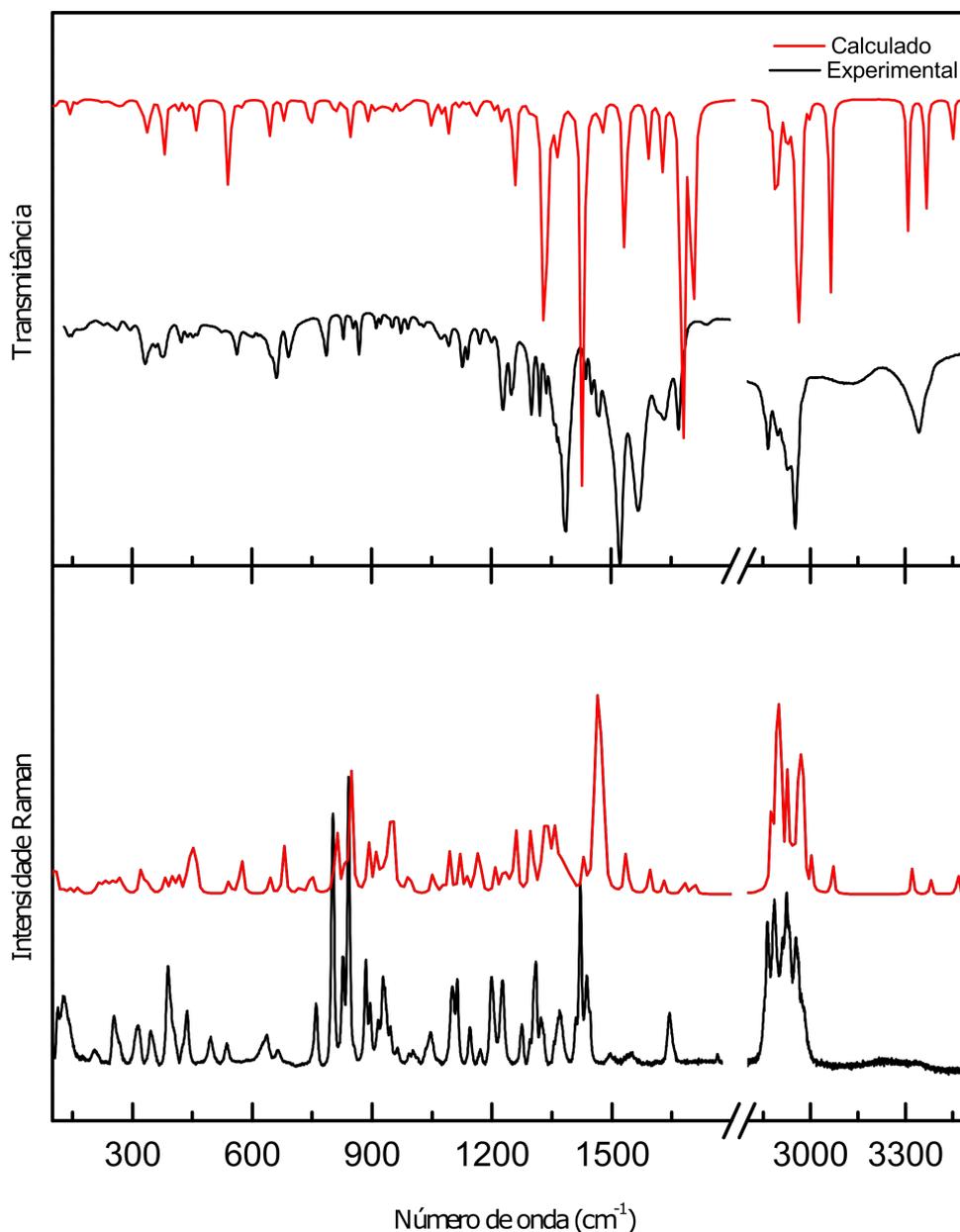
Tabela 4.3 – Tabela de caracteres do grupo D_2 .

D_2	E	C_2^z	C_2^y	C_2^x	Regras de seleção	
A	1	1	1	1		$\alpha_{xx}, \alpha_{yy}, \alpha_{zz}$
B_1	1	1	-1	-1	$T_z; R_z$	α_{xy}^z
B_2	1	-1	1	-1	$T_y; R_y$	α_{xz}^y
B_3	1	-1	-1	-1	$T_x; R_x$	α_{yz}^x
χ_T	3	-1	-1	-1		

Fonte: Extraída da referência [82].

Para as atribuições dos modos normais de vibração observados em nossos experimentos, realizamos cálculos de primeiros princípios em uma única molécula do dipeptídeo LL, utilizando a Teoria do Funcional da Densidade. Desta forma, foi possível determinar os $3N-6$ modos vibracionais para a molécula do dipeptídeo LL, e, então, associar a atribuição dos modos normais de vibração observados em nossos resultados experimentais. Os modos vibracionais abaixo de 150 cm^{-1} são característicos dos modos de rede da estrutura cristalina e os cálculos de DFT em uma única molécula não descrevem muito bem essa região. Obviamente, é possível que nessa região de baixa frequência existam modos internos. No caso do cristal, tais modos podem estar acoplados com modos translacionais. A Fig. 4.4 mostra a comparação entre os espectros Raman e infravermelho teóricos e experimentais do dipeptídeo LL. A região espectral coberta nesses espectros engloba números de onda entre 130 e 3450 cm^{-1} . Dessa forma, espera-se observar a grande maioria dos modos normais de vibração do material.

Figura 4.4 – Comparação dos espectros Raman experimental e calculado (abaixo) e dos espectros no infravermelho, experimental e calculado (acima).



Fonte: Dados da pesquisa.

Os espectros teóricos foram escalados utilizando os fatores de escala 0,977 para modos abaixo de 1800 cm⁻¹ e 0,955 para modos acima de 1800 cm⁻¹ como sugerido na referência [68]. A Tab. 4.4 apresenta a atribuição para todos os modos normais de vibração da molécula do dipeptídeo LL. Na primeira e segunda colunas são fornecidos os números de onda calculados e escalados (conforme fatores sugeridos no procedimento teórico). Na terceira e quarta coluna estão os valores experimentais em correspondência com aqueles calculados. E, por fim, a quinta coluna contém a atribuição de cada modo com a respectiva

contribuição de energia potencial (PED). A nomenclatura usada na Tab. 4.4 e adotada em todo o texto é a seguinte: γ = torção, γ_{out} = torção fora do plano, wag = *wagging*, δ = deformação, ν = estiramento, ν_s = estiramento simétrico, ν_{as} = estiramento antissimétrico, r = *rocking* e τ = *twisting*.

Neste ponto vale a pena fazer um comentário geral sobre algumas bandas observadas no dipeptídeo LL. Em primeiro lugar deve-se destacar a banda Raman de baixa intensidade em 524 cm^{-1} que foi classificada como $\gamma_{out}[\text{HN2C6C1}]$. Em muitos cristais de aminoácidos, vibrações registradas nos espectros Raman entre 520 e 565 cm^{-1} , são classificadas como *rocking* do CO_2^- , ou seja, correspondem a uma vibração envolvendo os átomos C12O2O3. Além do mais, esse último tipo de vibração possui intensidade média. Desse modo, poder-se-ia pensar que a maioria das classificações tentativas anteriores possam não estar completamente corretas, uma vez que não são acompanhadas por cálculos DFT. Também, por outro lado, existe a possibilidade de que no caso do dipeptídeo LL, o *rocking* do CO_2^- esteja acoplado com outro tipo de vibração nessa região, embora isso não seja visível a partir dos cálculos de DFT aqui apresentados, que considera apenas contribuições maiores que 10%.

Os cálculos de primeiros princípios realizados no dipeptídeo LL também foram importantes para entender a região em torno de 930 cm^{-1} . De acordo com identificações tentativas realizadas em estudos anteriores, essa região seria caracterizada por estiramentos CC, $\nu(\text{CC})$; veja-se, por exemplo, os casos da L-leucina [83], da L-valina [84] e da isoleucina [85]. No presente estudo, embora seja possível observar contribuição de vibrações $\nu(\text{CC})$ na banda em 943 cm^{-1} no espectro Raman, nota-se que entre 912 e 955 cm^{-1} existem fortes contribuições do *rocking* do CH_3 , $r(\text{CH}_3)$. Destaca-se ainda a observação de uma banda no infravermelho em 1634 cm^{-1} que é quase totalmente oriunda da deformação do NH_3^+ , $\delta(\text{NH}_3)$, e uma banda no Raman em 1574 cm^{-1} que é oriunda em sua totalidade do estiramento antissimétrico do CO_2^- , $\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$.

Finalmente, para encerrar essa discussão do assinalamento dos modos do dipeptídeo LL, destaca-se a região de números de onda acima de 2700 cm^{-1} . De uma maneira geral, a identificação das bandas nesta região, que congrega vibrações do tipo estiramento do CH, CH_2 , CH_3 , NH e do NH_3^+ , é realizada através de cálculos de primeiros princípios com grande precisão. De fato, a Tab. 4.4 apresenta uma série de modos vibracionais que o PED atinge o valor de 100% ou próximo disto, como o estiramento simétrico do NH_3^+ observado em 3343 cm^{-1} no infravermelho, e o estiramento do CH, observado em 2982 cm^{-1} no Raman. Outros modos de estiramento nessa região apresentam PED com valores superiores a 80 %; assim, podemos considerar que essa região espectral é entendida com grande acurácia.

Tabela 4.4 – Números de onda calculados e escalados, números de onda Raman e IR experimentais (em unidades por centímetro) e classificação dos modos normais de vibração do dipeptídeo LL com PED (%).

ω_{calc}	ω_{escal}	ω_{Raman}	ω_{IR}	Classificação dos modos normais de vibração com PED(%)
20	19			γ [C8C7N2C6](41) + γ [O3C12C7C8](28) + γ [N1C1C6N2](10)
34	33			γ [C7N2C6C1](42) + γ [C9C8C7N2](13)
36	35			γ [N1C1C6N2](46) + γ [O3C12C7C8](18) + γ [C7N2C6C1](10)
42	41			γ [CCCN](84)
53	52			γ [C3C2C1N1](64) + γ [C4C3C2C1](14)
67	65			γ [CCCN](45)
79	77			γ [C4C3C2C1](31) + γ [C3C2C1N1](16)
102	100			γ [CCNC](50)
123	120			γ_{out} [C12C8N2C7](14) + δ [C9C8C7](14) + δ [N2C6C1](12)
146	143		141	δ [C9C8C7](23) + δ [C3C2C1](11)
159	155		171	δ [C7N2C6](20)
213	208			γ_{out} [C2N1C6C1](14) + δ [C3C2C1](11)
223	218			γ [CH ₃](46)
241	235			γ [C10H ₃](20) + δ [N2C6C1](13)
251	245		228	δ [C12C7N2](12) + δ [C9C8C7](11)
258	252			γ [N1H ₃ ⁺](28)
266	260		260	γ [CH ₃](37)
273	267			γ [CH ₃]
280	273	282		γ [N1H ₃ ⁺](11)
323	316			δ [NCC](30) + γ_{out} [HN1C1C2](11)
330	322			δ [C8C9C10](20)
342	334	340	331	δ [O3C12C7](20) + δ [C5C3C4](16)
375	366	373	377	δ [C2C3C4](15) + δ [N1C2C1](12)
395	386			δ [C2C3C4](27) + δ [C5C3C4](20)
415	405			δ [C11C9C10](46)
426	416	421	422	δ [N1C2C1](12)
445	435			δ [C5C3C4](10)
463	452			δ [C8C7N2](14)
474	463	462	463	γ_{out} [C5C2C4C3](22) + δ [N1C2C1](19) + δ [O3C12C7](10)
561	548	524		γ_{out} [HN2C6C1](79)
571	558		562	δ [O3C12C7](21) + δ [N2C6C1](11)
648	633	663		γ_{out} [CO ₂ ⁻](25) + δ [CO ₂ ⁻](18) + δ [C7C8C9](10)
685	669	693	691	ν [C1C6](26) + δ [O1C6N2](17)
747	730			γ_{out} [O1C1N2C6](49)
763	745	786		δ [CO ₂ ⁻](48) + γ_{out} [O1C1N2C6](10)
823	804			ν [C11C9](30) + δ [CO ₂ ⁻](12)
829	810			ν [CC](57)
850	830	830	831	ν [N2C7](12)
863	843	855		δ [O1C6N2](13)
908	887	869	870	ν [C1C2](10)
926	905			ν [CC](21) + ν [N1C1](11)
929	908			r[CH ₃](37)
940	918	912	911	r[CH ₃](10)

Tabela 4.4 (Continuação). Números de onda calculados e escalados, números de onda Raman e IR experimentais (em unidades por centímetro) e classificação dos modos normais de vibração do dipeptídeo LL com PED (%).

ω_{calc}	ω_{escal}	ω_{Raman}	ω_{IR}	Classificação dos modos normais de vibração com PED(%)
944	922	921	923	r[CH ₃](22)
962	940		940	r[CH ₃](13)
966	944	943		ν [C3C2](10) + r[CH ₃](10)
968	946			ν [CC](33) + r[CH ₃](26)
973	951	955	951	r[CH ₃](10)
996	973	965	973	δ [HC8C9](11)
1009	986	992	991	ν [C2C1](23) + ν [N1C1](20)
1068	1043	1034	1031	r[N1H ₃ ⁺](26)
1098	1073	1063	1073	ν [C7C8](20) + ν [N2C7](18)
1120	1094	1078	1093	r[N1H ₃ ⁺](26)
1141	1115			γ [HC5C3C2](10)
1145	1119			γ [HC5C3C2](10)
1159	1132	1128	1127	r[CH ₃](29) + r[C8H ₂](13)
1183	1156	1140	1141	γ [HC4C3C2](12) + ν [C5C3](11)
1188	1161			γ_{out} [C11C8C9C10](13) + ν [C9C8](11)
1195	1168	1174	1171	γ [HC5C3C2](16) + δ [C5C3C4](12)
1243	1214	1200	1199	γ [HC7C12O3](25) + τ [C8H ₂](24)
1255	1226	1230	1228	τ [C2H ₂](19) + δ [HC1C2](12)
1269	1240			δ [HC8C9](20) + δ [HC7N2](18) + γ [HC7C12O3](11)
1288	1258	1253	1251	ν [N2C6](22) + δ [HN2C6](16) + δ [HC2C3](15)
1329	1298			γ_{out} [C9C10C8H](24) + δ [HC9C11](22) + δ [HC7N2](11)
1331	1300	1303	1300	δ [HC3C5](39) + γ [HC2C3C4](12)
1355	1324	1323	1322	δ [HCC](39) + γ [HC3C5H](19)
1362	1331			ν [CO ₂ ⁻](36) + δ [HC7N2](18)
1365	1334			ν [CO ₂ ⁻](33) + γ [HC8C9C10](13)
1369	1338	1337	1338	ν [C9C8](22) + δ [HC9C11](19) + γ_{out} [HC8C9C10](19)
1377	1345			γ [HC3C5H](31) + γ [HC1C6N2](26) + δ [HC2C3](14)
1386	1354	1350		δ [HCC](29) + γ [HC2C3C4](23)
1394	1362			γ [HC8C9C10](19) + γ [HC7C12O3](17)
1400	1368			wag[CH ₃](63)
1407	1375			wag[CH ₃](58)
1410	1378			γ [HC1C6N2](26) + δ [HC2C3](11)
1417	1384		1385	wag[CH ₃](84)
1428	1395	1394		wag[CH ₃](76)
1479	1445	1438		sc[C2H ₂](50) + δ [C11H ₃](20)
1481	1447			δ [CH ₃](59)
1483	1449	1449	1449	δ [CH ₃](68) + sc[C2H ₂](13)
1484	1450			δ [CH ₃](63) + sc[C2H ₂](15)
1491	1457			wag[N1H ₃ ⁺](33) + δ [C5H ₃](70)
1492	1458			δ [CH ₃](49) + sc[C2H ₂](15)
1495	1461			δ [C5H ₃](32) + sc[C2H ₂](22) + wag[N1H ₃ ⁺](11)
1496	1462			δ [CH ₃](61)
1500	1465	1466	1467	δ [CH ₃](70)
1503	1468			δ [CH ₃](76)
1504	1469			δ [CH ₃](71)
1573	1537	1523		δ [N2C6H](52) + ν [N2C6](24)

Tabela 4.4 (Continuação). Números de onda calculados e escalados, números de onda Raman e IR experimentais (em unidades por centímetro) e classificação dos modos normais de vibração do dipeptídeo LL com PED (%).

ω_{calc}	ω_{escal}	ω_{Raman}	ω_{IR}	Classificação dos modos normais de vibração com PED(%)
1618	1581	1574		$\nu_{as}[\text{CO}_2^-](94)$
1635	1597			$\delta[\text{N1H}_3^+](82)$
1672	1634		1634	$\delta[\text{N1H}_3^+](90)$
1713	1674	1673		$\nu[\text{C6=O1}](65) + \nu[\text{N2C6}](17)$
3020	2884	2719		$\nu[\text{C9H}](88)$
3021	2885	2760		$\nu_s[\text{CH}_3](87)$
3026	2890	2772		$\nu_s[\text{CH}_3](83)$
3029	2893	2869	2867	$\nu_s[\text{C2H}_2](66)$
3030	2894	2891		$\nu_s[\text{C5H}_3](59) + \nu_s[\text{C2H}_2](13)$
3035	2898		2898	$\nu_s[\text{C4H}_3](71) + \nu[\text{C3H}](16)$
3042	2905	2914	2914	$\nu[\text{C3H}](63)$
3061	2923		2928	$\nu_s[\text{C8H}_2](91)$
3073	2935	2932		$\nu[\text{C7H}](87)$
3083	2944			$\nu_{as}[\text{C2H}_2](95)$
3085	2946			$\nu_{as}[\text{CH}_3](98)$
3090	2951		2953	$\nu_{as}[\text{CH}_3](88)$
3096	2957			$\nu_{as}[\text{C10H}_3](97)$
3097	2958			$\nu_{as}[\text{CH}_3](87)$
3100	2961			$\nu_{as}[\text{C11H}_3](95)$
3102	2962	2962		$\nu_{as}[\text{CH}_3](79)$
3108	2968			$\nu_{as}[\text{CH}_3](98)$
3109	2969			$\nu_{as}[\text{C8H}_2](92)$
3110	2970			$\nu_{as}[\text{CH}_3](88)$
3138	2997	2982		$\nu[\text{C1H}](98)$
3342	3192		3134	$\nu_s[\text{N1H}_3^+](88)$
3474	3318		3343	$\nu_s[\text{N1H}_3^+](100)$
3523	3364	3364		$\nu_{as}[\text{N1H}_3^+](100)$
3635	3471			$\nu[\text{N2H}](100)$

Fonte: Dados da pesquisa.

4.4 Espectroscopia Raman em função da pressão

Quando um material é submetido a altas pressões, de modo geral, o seu volume diminui, o que implica (i) na diminuição das ligações químicas intramoleculares e intermoleculares, além, obviamente, (ii) na mudança da polarizabilidade, que depende da distribuição eletrônica do material. Como consequência desse último efeito são esperados variações no espectro Raman dos materiais e devido ao fator (i), eventualmente, pode-se esperar a ocorrência de alguma transição de fase estrutural. Nesta seção reportaremos os resultados do experimento de espectroscopia Raman do dipeptídeo LL sob o efeito de altas pressões até 8,2 GPa. Para facilitar as nossas discussões dividimos o espectro Raman em regiões e, então, comentamos cada uma delas. A identificação dos modos normais realizada na seção anterior auxiliará a análise dos resultados obtidos no dipeptídeo LL sob essa

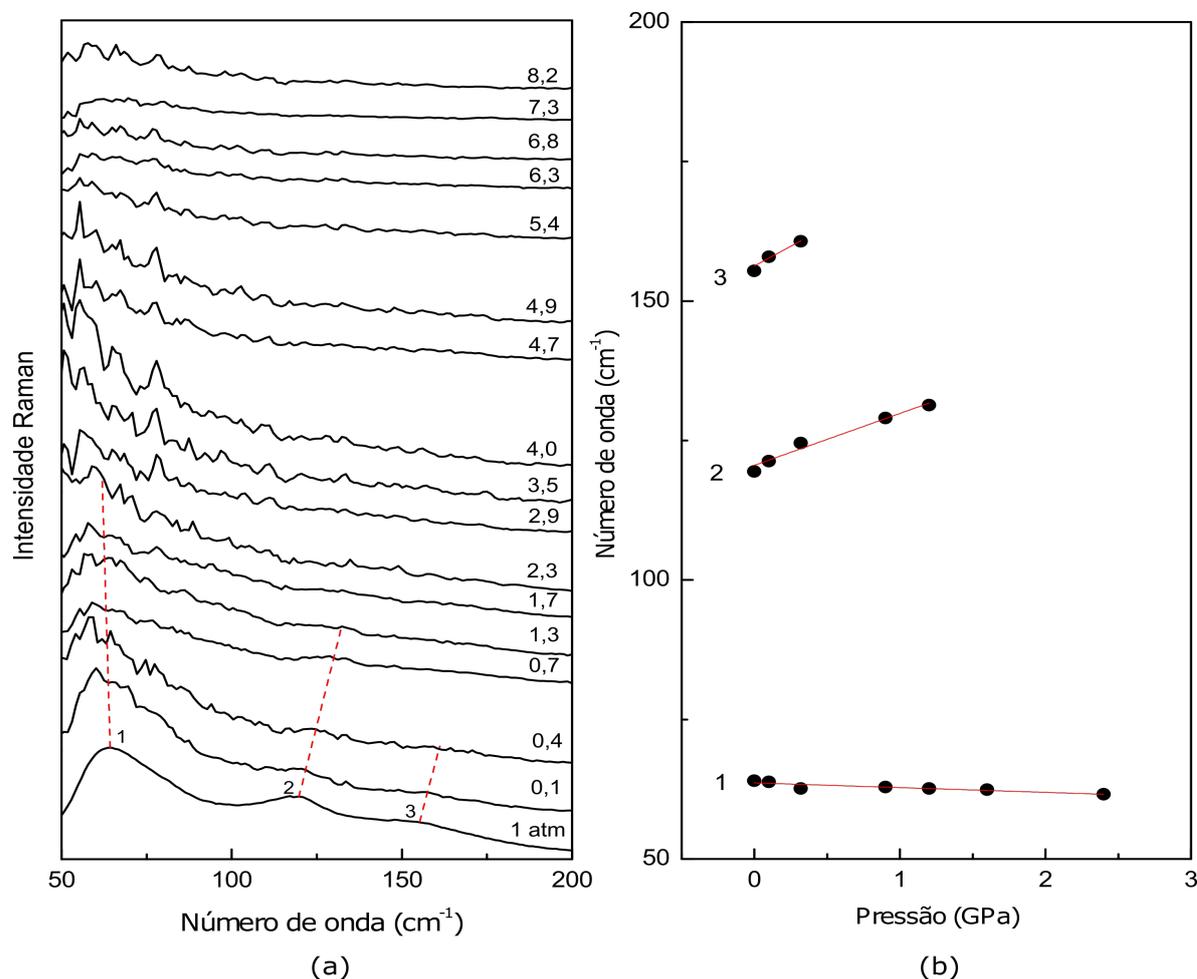
condição termodinâmica particular.

4.4.1 Região espectral abaixo de 200 cm^{-1}

A região inicialmente analisada compreende os modos com número de onda menor do que 200 cm^{-1} , que são geralmente atribuídos aos modos de rede da estrutura cristalina. Como discutido na seção anterior, é possível também que alguns modos internos, correspondentes a vibrações de partes da molécula, estejam também presentes acoplados aos modos da rede. A Fig. 4.5(a) apresenta o espectro Raman do dipeptídeo LL para diversos valores de pressão na região espectral $50\text{-}200\text{ cm}^{-1}$, e a Fig. 4.5(b) exibe o número de onda versus pressão de alguns modos contidos nessa região espectral. Os modos da rede, mesmo em condições ambientes, apresentaram baixa intensidade e mostraram-se muito sensíveis ao aumento de pressão. Na Fig. 4.5(a), observamos três bandas largas centradas em 65 , 119 e 155 cm^{-1} a $P = 1\text{ atm}$, numeradas por 1, 2 e 3, respectivamente. As bandas em 119 e 155 cm^{-1} , de menor intensidade, tornam-se indistinguíveis mesmo em baixos valores de pressão, e a banda situada em 65 cm^{-1} permanece visível no espectro Raman apenas até $2,3\text{ GPa}$. De fato, durante a compressão, é conhecido que a polarizabilidade decresce e, conseqüentemente, a intensidade das bandas Raman decrescem sob altas pressões. Devido essas bandas na região de menor número de onda possuírem baixa intensidade, elas desaparecem após $2,3\text{ GPa}$. Curiosamente, em estudos anteriores no aminoácido L-leucina sob altas pressões, observa-se um comportamento similar na relação sinal-ruído nesta região [83]. Na Fig. 4.5(a) podemos ver que acima de $2,3\text{ GPa}$ não é possível observar bandas abaixo de 200 cm^{-1} no espectro Raman do dipeptídeo LL. Na Fig. 4.5(b) podemos ver que, enquanto os modos 2 e 3 deslocam-se para maiores números de onda com o aumento da pressão, o modo 1 centrado em 65 cm^{-1} desloca-se para menor número de onda.

Na verdade, muitos cristais de aminoácidos possuem modos de baixos números de onda com baixa intensidade. Por exemplo, enquanto a DL-serina apresenta bandas ativas no Raman com números de onda menores que 200 cm^{-1} com intensidades relativamente altas, a L-serina apresenta bandas com baixíssimas intensidades [86]. Outro exemplo no qual não se pode observar com clareza a região dos modos externos é o da L-metionina, onde apenas com muito esforço conseguiu-se observar os referidos modos até pressões de $3,3\text{ GPa}$ [87]. Nesse caso, na L-metionina, todas as informações importantes foram obtidas através da análise dos modos vibracionais com números de onda acima de 200 cm^{-1} , ou seja, o estudo dos modos da rede não permitiram fornecer informações relevantes sobre a transição de fase induzida por pressão na L-metionina. No caso específico do cristal do dipeptídeo LL, os espectros com bandas de baixa intensidade não permitem obter-se um bom entendimento do que esteja acontecendo com o cristal. Entretanto, o fato de duas bandas estarem se deslocando para a região de maiores números de onda, como é esperado, e a banda de menor energia deslocar-se para menor número de onda pode sugerir que esta

Figura 4.5 – (a) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 50 a 200 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (b) Números de onda versus pressão de algumas bandas contidas nesta região.



Fonte: Dados da pesquisa.

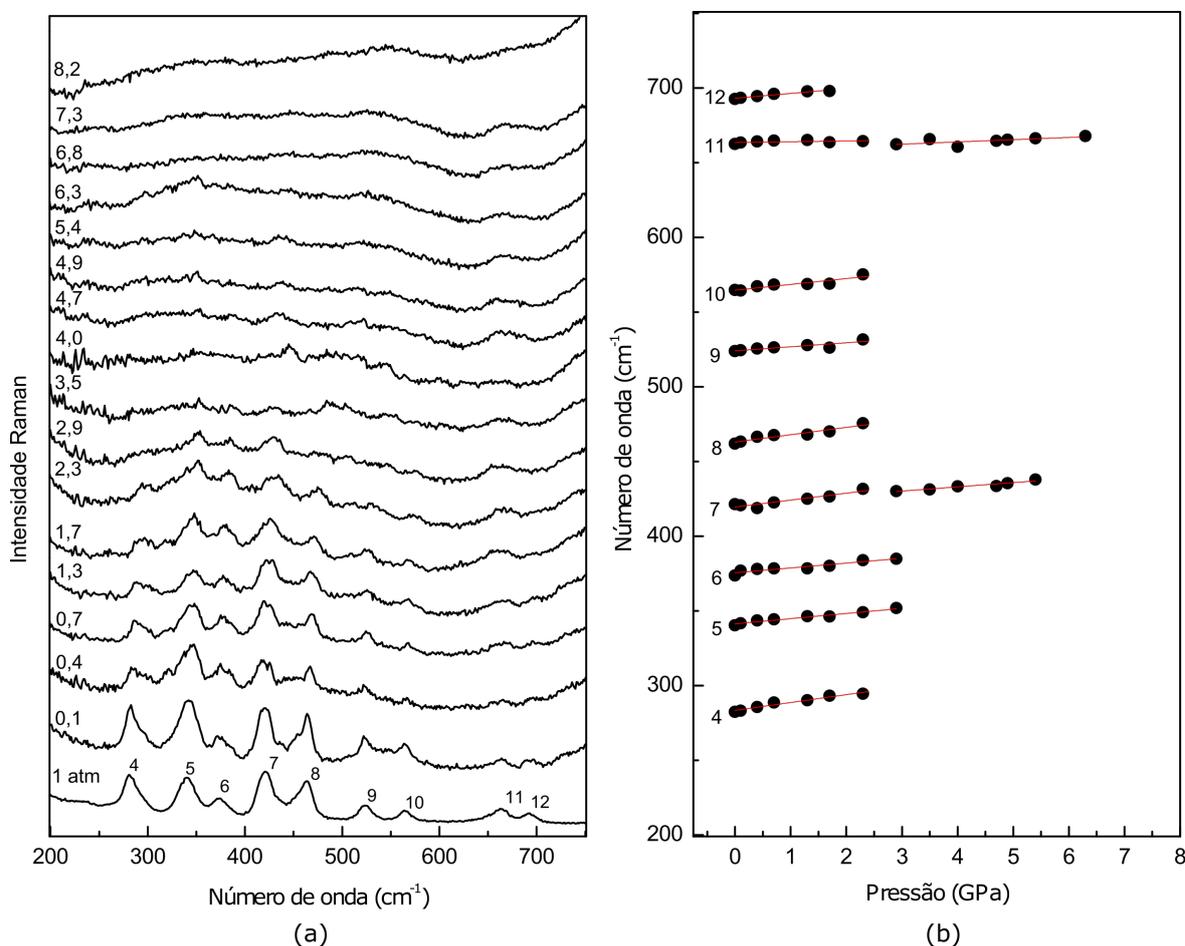
última tenha contribuição de ligações de hidrogênio. De fato, quando parte da molécula participa de uma ligação de hidrogênio torna-se mais forte e a ligação covalente daquela unidade torna-se mais fraca. Isso ficará mais claro na discussão mais à frente sobre as vibrações de estiramento da água. Este efeito já foi notado em um modo de energia médio, no caso, no modo associado ao dobramento do CO_2 , $\delta(\text{CO}_2^-)$, em um estudo realizado na α -glicina [88]. No referido estudo percebeu-se que entre 1 atm e aproximadamente 3 GPa, o número de onda do modo $\delta(\text{CO}_2^-)$ diminui com o aumento da pressão e a partir daquele último valor, começa a aumentar, como ocorre com o restante dos modos vibracionais.

4.4.2 Região espectral entre 200 e 700 cm^{-1}

A Fig. 4.6(a) mostra o espectro Raman do dipeptídeo LL em vários pontos de pressão na região espectral 200-700 cm^{-1} , e a Fig. 4.6(b) exibe o número de onda versus pressão das bandas desta região espectral. A banda numerada por 4, situada em 282 cm^{-1} , está associada a uma vibração do tipo torção do grupo NH_3^+ , $\gamma(NH_3^+)$. Esta vibração apresenta-se nos espectros Raman como modos de baixa intensidade. Em alguns cristais de aminoácidos ela não é visível, o que torna o seu estudo de grande dificuldade. No caso do espectro do dipeptídeo LL, a banda $\gamma(NH_3^+)$ apresenta-se com intensidade entre média e baixa. Os modos numerados de 5 a 10 situados em 340, 421, 462, 524 e 564 cm^{-1} , respectivamente, estão associados a modos normais de vibração do esqueleto molecular do dipeptídeo LL, correspondendo a deformações do tipo OCC, CCC e NCC. A banda situada em 663 cm^{-1} tem contribuição de uma torção e de uma deformação do grupo CO_2^- , que permanece visível para valores de pressão de até 6,2 GPa. É interessante notar que o comportamento do número de onda desse modo é anômalo em relação aos outros modos: ele apresenta $d\omega/dp \simeq 0$ até aproximadamente 3 GPa, e a partir desse valor ele é ligeiramente positivo (Tab. 4.5). Tal comportamento apresenta uma certa semelhança com o modo $\gamma(CO_2)$ no estudo da α -glicina com a pressão, conforme comentado na seção 4.4.1. A banda em 693 cm^{-1} , numerada por 12, está associada com um estiramento CC no plano amida e uma deformação OCN, $\nu[C1C6] + \delta[O1C6N2]$. Podemos notar que com o aumento de pressão todas as bandas perdem intensidade, e em torno de 2,3 GPa poucas permanecem visíveis. Adicionalmente, na Fig. 4.6(b) podemos notar mudanças no coeficiente α ($d\omega/dp$) para os modos remanescentes acima de 2,3 GPa.

Dois pontos nos espectros Raman apresentados na Fig. 4.6(a) merecem comentários. O primeiro diz respeito à largura de linha das bandas com o aumento de pressão, e o segundo se refere à perda da intensidade de todas as bandas nessa região espectral de tal modo que, para valores de pressão superiores a 4,0 GPa, todas as bandas já não são mais visíveis. A questão do aumento da largura de linha está associada a defeitos que eventualmente são introduzidos com o aumento de pressão. Esse fato é percebido na maioria dos experimentos de espectroscopia Raman em função da pressão. A questão da diminuição da intensidade requer uma resposta um pouco mais longa. Como já comentado, de uma maneira geral as intensidades das bandas Raman diminuem com o aumento da pressão, resultado da mudança da polarizabilidade com esse parâmetro termodinâmico. Obviamente, dependendo do material investigado e do intervalo de pressão coberto no experimento, a diminuição de intensidade será mais crítica ou não. Por exemplo, em um estudo realizado num cristal de taurina em função da pressão entre 1 atm e 5,4 GPa observou-se que nessa mesma região espectral, embora as bandas diminuam um pouco de intensidade, por outro lado permaneciam bem visíveis até o último valor de pressão [89]. Já em um estudo realizado no cristal de DL-alanina observou-se a lenta diminuição das

Figura 4.6 – (a) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 200 a 700 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (b) Números de onda versus pressão das bandas contidas nesta região.



Fonte: Dados da pesquisa.

bandas Raman, mas em um intervalo de pressão maior, entre 1 atm e aproximadamente 13 GPa [90]. Por fim, quando se investigou a *L*-asparagina monohidratada até 29,6 GPa notou-se que a maioria das bandas permaneciam bem visíveis nos espectros Raman [91] até os mais altos valores de pressão obtidos nos experimentos. Diante do quadro acima, pode-se afirmar que a diminuição de intensidade de todas as bandas Raman nessa região espectral é um fenômeno intrínseco ao cristal do dipeptídeo LL e cujo entendimento completo exigirá o auxílio de outra técnica experimental cuja análise será apresentada na seção 4.5.

4.4.3 Região espectral entre 700 e 1000 cm^{-1}

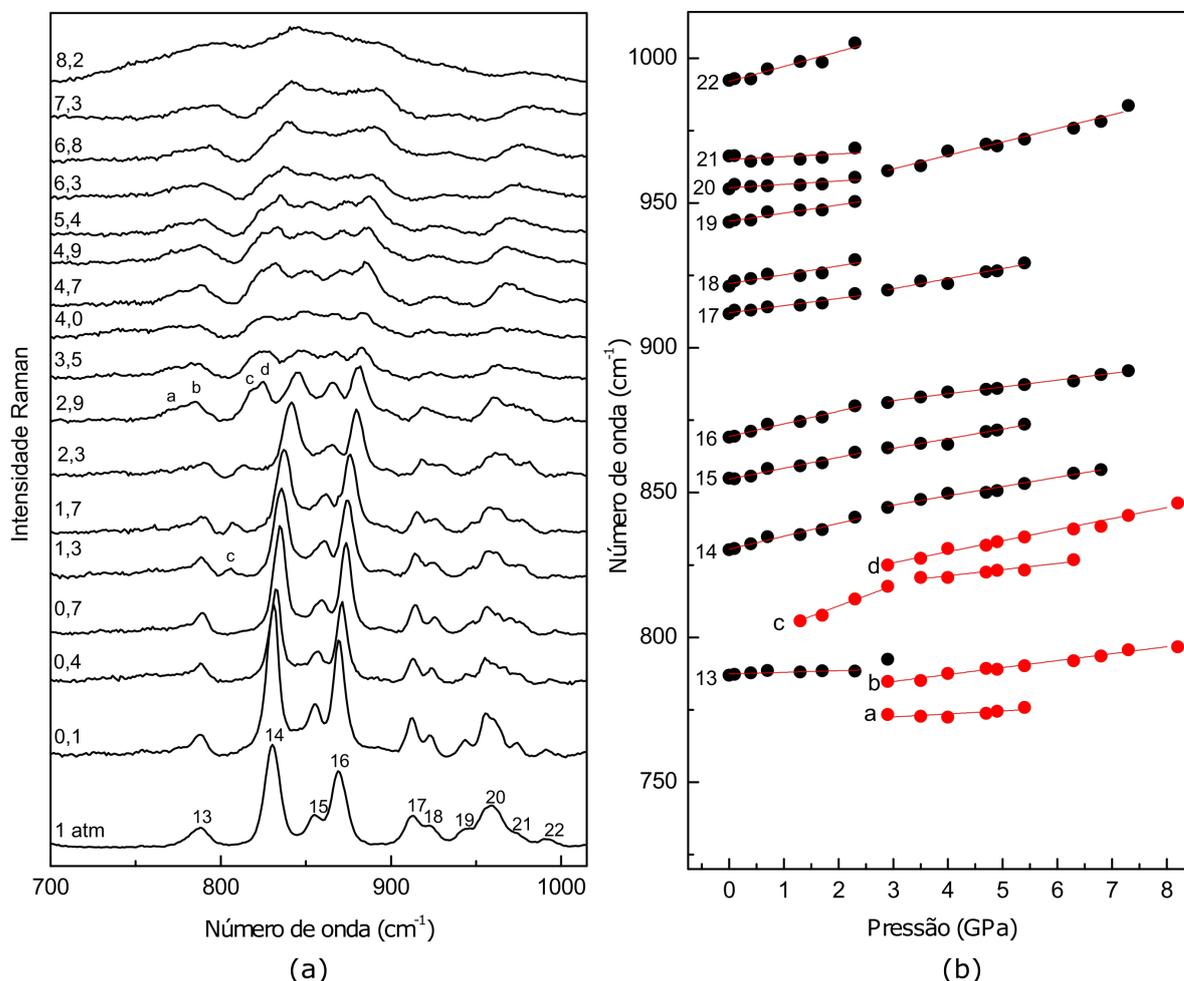
A Fig. 4.7(a) mostra os espectros Raman do dipeptídeo LL com variação de pressão na região espectral 700-1000 cm^{-1} , e a Fig. 4.7(b) exhibe o número de onda versus pressão

das bandas desta região espectral. A banda numerada pelo número 13, situada em 786 cm^{-1} , foi associada a uma deformação do grupo CO_2^- , $\delta(\text{CO}_2^-)$. Esta banda desaparece por volta de 2,9 GPa, onde notamos que surgem duas bandas de baixa intensidades, que nomeamos de *a* e *b*. Esse grupo funcional desempenha um importante papel na estabilidade da estrutura cristalina do dipeptídeo LL, formando pontes de hidrogênio com o grupo amina e interagindo com moléculas de água. Em 1,3 GPa, é possível observar o surgimento de uma nova banda, nomeada por *c*. Por sua vez, a banda *c* divide-se em duas bandas em torno de 2,9 GPa, e a nova banda nomeamos de *d*. As bandas localizadas em 830, 855 e 869 cm^{-1} (numeradas como 14, 15 e 16) são atribuídas a estiramentos NC, deformações do tipo OCN e estiramentos CC, respectivamente. Estas bandas mudam gradualmente suas intensidades de tal forma que, por volta de 2,9 GPa, as intensidades relativas dessas bandas são praticamente as mesmas. As bandas situadas em 912, 921, 943 e 955 cm^{-1} , numeradas de 17 a 20, estão associadas à vibrações do tipo *rocking* do grupo CH_3 , $r(\text{CH}_3)$; acima de 2,3 GPa essas bandas perdem intensidade e aumentam a largura de banda. A banda numerada por 21 possui contribuição de uma deformação HCC e estiramento CC, enquanto a banda numerada como 22 é atribuída a estiramentos NC. Na Fig. 4.7(b) é possível perceber mudanças no coeficiente de inclinação α acima de 2,3 GPa.

Como nas outras regiões espectrais já analisadas observa-se que a intensidade de todas as bandas Raman é drasticamente diminuída com o aumento de pressão. Aqui, entretanto, o perfil de algumas bandas, em particular das bandas *c*, *d*, 14, 15 e 16, permanece visível até os maiores valores de pressão obtidos. Entretanto, há de se destacar que o perfil nos espectros obtidos acima de aproximadamente 6,3 GPa é extremamente alargado, característico de um material amorfo.

Nesse ponto também é interessante fazer uma comparação desse achado com o de alguns materiais semelhantes estudados em condições de altas pressões. Entre os cristais de aminoácidos já investigados, por exemplo, apenas a L-alanina aparenta amorfizar sob altas pressões, no caso, em torno de 15 GPa. De fato, isso é bem curioso, pois estudos realizados na L-asparagina monohidratada em pressões de até 30 GPa mostrou que apesar de ocorrerem transições de fase estruturais no material, entretanto, sua estrutura permanece com a ordem de longo alcance intacta [91]. Assim, de uma forma resumida, os cristais de aminoácidos podem ser considerados estáveis quanto a amorfização, tendo apenas como exceção o caso da L-alanina. O material aqui estudado não é exatamente um aminoácido, mas dois aminoácidos com uma ligação peptídica os unindo. Além disso, ele possui canais onde estão localizadas moléculas de água unidas ao dipeptídeo por ligações de hidrogênio. Quando a pressão é aumentada, as moléculas de dipeptídeos se aproximam e forçam a água no interior dos canais a mudarem de posição e assim construir uma certa desordem no interior da estrutura.

Figura 4.7 – (a) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 700 a 1000 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (b) Números de onda versus pressão das bandas contidas nesta região.



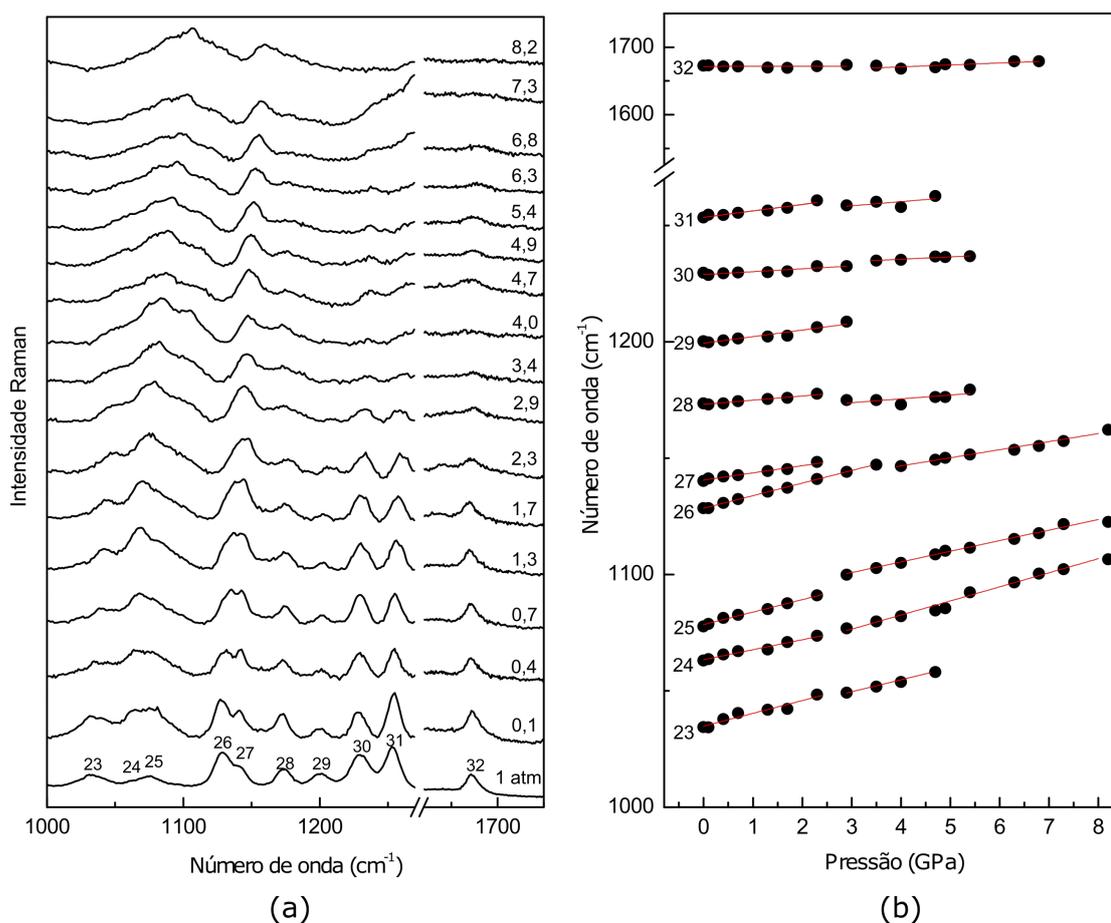
Fonte: Dados da pesquisa.

4.4.4 Região espectral entre 1000 e 1700 cm^{-1}

A Fig. 4.8(a) mostra a evolução do espectro Raman do dipeptídeo LL com variação da pressão na região espectral compreendida entre 1000 e 1700 cm^{-1} , e a Fig. 4.8(b) exhibe o número de onda versus pressão das bandas desta região espectral. Nesta região observamos dez bandas no espectro Raman em condições ambientes que foram numerados de 23 a 32. As bandas 23 e 25, centradas em 1034 e 1078 cm^{-1} , respectivamente, foram atribuídas a vibrações do tipo *rocking* do grupo NH_3^+ , $r(\text{NH}_3^+)$. A banda situada em 1063 cm^{-1} e numerada como 24 tem contribuições de estiramentos do tipo CC e NC. As bandas centradas em 1128 e 1140 cm^{-1} , numeradas por 26 e 27, possuem contribuições de vibrações do tipo *rocking* dos grupos CH_3 e CH_2 , estiramento CC e torção do tipo HCCC, respectivamente. Nota-se que, com o aumento de pressão estas bandas invertem

suas intensidades, e acima de 2,3 GPa percebemos uma única banda. Como esses grupos estão associados às cadeias laterais, possivelmente, isto indica uma torção das cadeias laterais. As bandas numeradas por 28 e 29 situadas em 1174 e 1200 cm^{-1} estão associadas a vibrações do tipo torções e deformações HCCC e CCC. As bandas numeradas por 30 e 31, centradas em 1230 e 1253 cm^{-1} , respectivamente, possuem contribuição de um *twisting* do grupo CH_2 , estiramento NC e deformação HCC. A banda situada em 1673 cm^{-1} e numerada por 32 corresponde a um estiramento do $C=O$, $\nu(C=O)$; acima de 2,3 GPa esta banda perde intensidade drasticamente e a largura da banda aumenta consideravelmente, praticamente desaparecendo acima de 6,8 GPa. Adicionalmente, uma pequena descontinuidade do coeficiente de inclinação α nesta região é perceptível, como podemos ver na Fig. 4.8(b).

Figura 4.8 – (a) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 1000 a 1700 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (b) Números de onda versus pressão das bandas contidas nesta região.



Fonte: Dados da pesquisa.

Entre 1300 e 1600 cm^{-1} , dois fatores impossibilitaram o registro das bandas ativas nesta região: (i) O pico do diamante situado em torno de 1332 cm^{-1} ; e (ii) A banda de

fluorescência do rubi que para o laser utilizado (633 nm) surge em torno de 1400 cm^{-1} , deslocando-se para maior número de onda com o aumento de pressão, ambos muitos intensos. De 1800 a 2700 cm^{-1} não há bandas ativas neste intervalo, como esperado, uma vez que, a estrutura molecular do dipeptídeo LL não possui grupos funcionais ou elementos com energia ativos nessa região.

Assim como foi observado em outras regiões espectrais, as bandas vão se tornando largas à medida que a pressão é aumentada. Além disso, são observadas algumas descontinuidades nos números de onda entre 2 e 3 GPa, indicando possivelmente um rearranjo na estrutura molecular. Esse ponto será revisitado mais a frente na discussão dos resultados de difração de raios-X.

É interessante também notar que a banda associada ao estiramento C=O permanece visível até o espectro registrado em 6,8 GPa. De certa forma esse é um resultado surpreendente, pois, uma vez sendo uma banda de baixa intensidade, é difícil de ser observada em experimentos de altas pressões. Para citar uns poucos exemplos: a L-metionina [87], onde em um estudo dos seus modos normais sob altas pressões não foi possível acompanhar a evolução do modo $\nu(C=O)$; e a L-leucina [83], onde foi possível observar-se o referido modo de vibração apenas até cerca de 0,8 GPa devido à sua baixa intensidade.

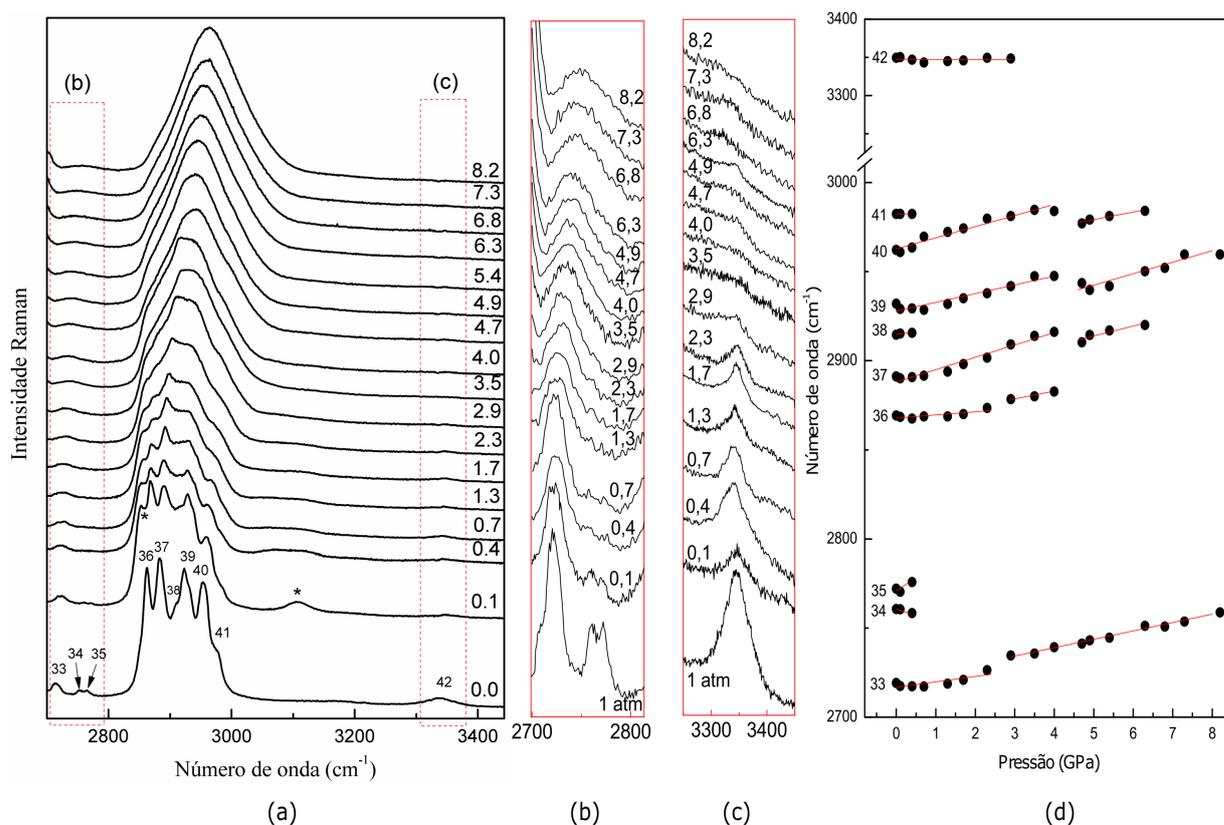
Por outro lado, em um estudo realizado no ácido sórbico foram observadas algumas mudanças no modo $\nu(C=O)$ - alargamento da banda e uma evolução não linear da seu número de onda com a pressão - que foram interpretados como mudanças conformacionais, principalmente devido a modificações do grupo COOH [92]. Um efeito também impressionante relacionado com essa banda, com o ácido esteárico na forma C, diz respeito ao comportamento a baixas temperaturas. No trabalho da Ref. [93] percebeu-se a existência de duas bandas no intervalo de temperatura entre 300 e 25 K em um experimento de resfriamento da temperatura. Quando a temperatura atingiu 8 K, percebeu-se que a intensidade de uma das bandas foi a zero, implicando que a vibração se tornou degenerada devido a algum vínculo de simetria. Esses exemplos, portanto, sugerem que muita informação pode ser obtida a partir da análise do comportamento do modo $\nu(C=O)$ com a pressão (ou com a temperatura). Retornando ao caso do material estudado nessa Tese, o dipeptídeo LL, percebeu-se que a seu número de onda é aproximadamente linear em todo o intervalo em que o modo é visível. Entretanto, aparentemente há uma pequena descontinuidade entre 2 e 3 GPa, indicando mudança discreta na conformação molecular, conforme sugerido anteriormente.

4.4.5 Região espectral entre 2700 e 3500 cm^{-1}

Na região espectral 2700 - 3500 cm^{-1} exibida na Fig. 4.9(a), predominam vibrações do tipo estiramento dos grupos funcionais CH, CH₂, CH₃ e NH₃⁺. A Fig. 4.9(d) exibe o

número de onda versus pressão das bandas desta região espectral. As bandas situadas em 2719, 2914, 2932 e 2982 cm^{-1} , numeradas como 33, 38, 39 e 41, respectivamente, são atribuídas a vibrações de estiramento do grupo CH, $\nu(\text{CH})$. Já as bandas centradas em 2760, 2772 e 2891 cm^{-1} , numeradas por 34, 35 e 37 correspondem a estiramentos antissimétricos do grupo CH_3 , $\nu_{as}(\text{CH}_3)$. A banda situada em 2869 cm^{-1} (numerada por 36) foi atribuída a um estiramento simétrico do grupo CH_2 , $\nu_s(\text{CH}_2)$. A banda em 2962 cm^{-1} , numerada por 40, corresponde a um estiramento antissimétrico do grupo CH_3 , $\nu_{as}(\text{CH}_3)$. Finalmente, a banda situada em 3349 cm^{-1} e numerada por 42 está associada ao estiramento OH da molécula de água presente na estrutura. As Figs. 4.9 (b-c) mostram bandas com baixa intensidade quando comparadas com a banda centrada em torno de 2900 cm^{-1} , o que praticamente impede de acompanhá-las no espectro nessa região, para isto destacamos as mesmas separadamente.

Figura 4.9 – (a-c) Espectros Raman do dipeptídeo LL na faixa espectral de 2700 a 3500 cm^{-1} sob variação de pressão (os valores de pressão são dados em GPa); (d) Números de onda versus pressão das bandas contidas nesta região.



Fonte: Dados da pesquisa.

O meio transmissor de pressão utilizado (Nujol) apresenta bandas intensas nesta região, as bandas marcadas com asterisco são atribuídas ao líquido compressor, visto

que eram as únicas que não estavam presentes no espectro tomado em condições ambiente, quando foi realizada uma medida na ausência deste. Esta região apresenta um comportamento curioso sob compressão, algumas bandas desaparecem e outras em torno de 2900 cm^{-1} formam gradualmente uma única banda muito larga. Também notamos uma mudança no coeficiente α de algumas bandas, como, por exemplo, as numeradas por 33 e 36, como pode ser visto na Fig. 4.9(d). Lembramos que a molécula de água desempenha um importante papel na estabilidade da estrutura cristalina do dipeptídeo LL. Até 2,3 GPa, a banda associada ao estiramento OH da molécula de água é visível, mas acima de 2,3 GPa perde intensidade de forma abrupta e aumenta a sua largura de banda, dificultando a análise dos dados para valores maiores que 2,3 GPa, apesar de indícios de que continue presente.

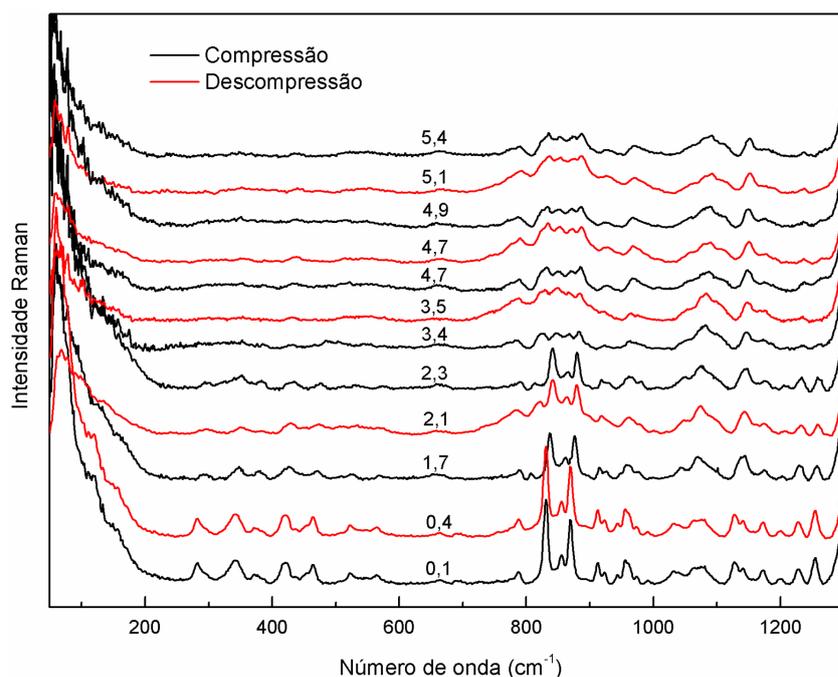
Essa região de estiramento de diversos grupos funcionais também pode fornecer informações variadas sobre o comportamento de materiais os quais as ligações de hidrogênio desempenham importantes papéis. Sabe-se que, em geral, as intensidades dos modos que participam de ligações de hidrogênio podem depender: (i) do número total de ligações; (ii) da intensidade das ligações de hidrogênio; e (iii) do ângulo D-H \cdots A da ligação de hidrogênio [94]. Foi observado estudando um cristal de L-cisteína que durante o aquecimento os números de onda do estiramento NH_3^+ , $\nu(\text{NH}_3^+)$, apresentaram um aumento, como consequência do enfraquecimento das ligações de hidrogênio relacionadas ao grupo NH_3^+ , que, por sua vez, é consequência da expansão da estrutura e do aumento dos parâmetros da célula unitária [94]. Mais interessante ainda foi o comportamento da banda correspondente ao mesmo modo no cristal de L-asparagina monohidratada submetido a altas pressões. Observou-se que no intervalo entre 1 atm e 4,7 GPa seu número de onda diminui com o aumento de pressão, sugerindo o fortalecimento da ligação de hidrogênio envolvida [91]. No caso específico do cristal do dipeptídeo LL, infelizmente, a banda de estiramento NH_3^+ não é bem visível e tal análise fica comprometida. A sugestão aqui deixada é de um trabalho futuro de espectroscopia infravermelho e altas pressões para se analisar esta banda.

Por outro lado, é possível realizar uma análise com o modo de estiramento da água. Na Fig. 4.9 (c) percebe-se que a banda associada ao estiramento OH da água é bem visível até a pressão de apenas 2,9 GPa. Isso é um intervalo de pressão bastante pequeno, mas de qualquer forma, nota-se que o número de onda do modo permanece aproximadamente constante. Tal fato sugere, à princípio, que as ligações de hidrogênio construídas a partir das moléculas de água não variam muito nesse intervalo inicial de pressão. Também é possível notar que apesar do número de onda do modo de estiramento OH da água ser aproximadamente linear, como já afirmado, também percebe-se que entre 1 atm e $\sim 1,0$ GPa o número de onda parece diminuir. Obviamente, são poucos pontos experimentais para se ter uma grande confiança no resultado, mas, se considerarmos que ele é seguro, poder-se-ia imaginar que entre 1 atm e 1,0 GPa o número de onda do modo $\nu(\text{H}_2\text{O})$

diminui ligeiramente. Isso implicaria que, no referido intervalo de pressão, as ligações de hidrogênio seriam ligeiramente fortalecidas, assim como já foi verificado em determinados intervalos de pressão na L-asparagina monohidratada [91].

Um aspecto importante que sempre é observado nos estudos do comportamento vibracional ou estrutural sob altas pressões refere-se à reversibilidade das mudanças observadas. Particularmente, se há amorfização ou pelo menos uma pré-amorfização, como parece ser o caso discutido aqui, é de interesse entender como o cristal se caracteriza quando o material está novamente submetido à pressão atmosférica. O processo de descompressão no dipeptídeo LL analisado por espectroscopia Raman mostrou que as mudanças observadas são reversíveis, como podemos observar na Fig. 4.10; e o processo apresenta pequena ou nenhuma histerese.

Figura 4.10 – Comparação entre os processos de compressão e descompressão do experimento de espectroscopia Raman sob altas pressões do dipeptídeo LL (os valores de pressão são dados em GPa).



Fonte: Dados da pesquisa.

A Tab. 4.5 mostra a evolução de cada banda observada em nossos experimentos com o aumento da pressão, bem como, os correspondentes coeficientes α . Algumas bandas apresentam coeficiente α acima da média, como as bandas 3 e 35, ambas possuem baixa intensidade, além disso desaparecem nos valores iniciais de pressão. A diferença nos valores do coeficiente de inclinação nas bandas mencionadas acima também pode está associado a uma desordem no grupo funcional correspondente àquele modo normal de vibração.

Tabela 4.5 – Coeficientes de variação de pressão do número de onda de alguns modos do dipeptídeo LL à pressão ambiente (ω_{exp}) e parâmetros obtidos a partir do ajuste linear ($\omega = \omega_0 + \alpha P$) para os pontos experimentais. Valores de pressão (P) estão em GPa, os valores de ω_{calc} , ω_{exp} e ω_0 estão em cm^{-1} , e os valores de α encontram-se em $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$.

Modo	ω_{calc}	ω_{exp}	Atribuição com PED (%)	0,1 MPa \leq P \leq 2,3 GPa		2,9 GPa \leq P \leq 8,2 GPa	
				ω_0	α	ω_0	α
1		65	lattice	63,64	-0,85		
2		119	lattice	120,56	9,29		
3		155	lattice	156,28	14,13		
4	273	282	$\gamma[\text{N1H}_3^+](11)$	283,37	5,27		
5	334	340	$\delta[\text{O3C12C7}](20)$ + $\delta[\text{C5C3C4}](16)$	341,33	3,45		
6	366	373	$\delta[\text{C2C3C4}](15)$ + $\delta[\text{N1C2C1}](12)$	375,49	3,22		
7	416	421	$\delta[\text{N1C2C1}](12)$	419,53	4,62	421	2,84
8	463	462	$\gamma_{out}[\text{C5C2C4C3}](22)$ + $\delta[\text{N1C2C1}](19)$	463,04	4,90		
9	548	524	$\delta[\text{O3C12C7}](10)$	524,12	2,67		
10	558	564	$\gamma_{out}[\text{HN2C6C1}](79)$ + $\delta[\text{O3C12C7}](21)$	564,64	3,88		
11	663	663	$\delta[\text{N2C6C1}](11)$ + $\gamma_{out}[\text{CO}_2^-](25)$ + $\delta[\text{CO}_2^-](18)$	663,57	0,50	657,93	1,50
12	669	693	$\delta[\text{C7C8C9}](10)$ + $\nu[\text{C1C6}](26)$ + $\delta[\text{O1C6N2}](17)$	693,19	3,24		
a						769,39	1,04
b						777,56	2,40
13	745	786	$\delta[\text{CO}_2^-](48)$	787,37	0,56		
c				796,77	7,04	812,77	2,12
d						814,32	3,81
14	830	830	$\nu[\text{N2C7}](12)$	830,48	4,45	836,09	3,20
15	843	855	$\delta[\text{O1C6N2}](13)$	854,67	3,75	855,30	3,33
16	887	869	$\nu[\text{C1C2}](10)$	869,40	4,35	874,81	2,33
17	918	912	r[CH3](10)	912,08	2,48	909,85	3,48
18	922	921	r[CH3](22)	922,16	3,06		
19	944	943	r[CH3](13)	943,68	2,83		
20	951	955	r[CH3](10)	955,27	1,17	947,74	4,68
21	973	965	$\delta[\text{HC8C9}](11)$	965,10	0,94		
22	986	992	$\nu[\text{C2C1}](23)$ + $\nu[\text{N1C1}](20)$	992,03	5,13		
23	1043	1034	r[N1H_3^+](26)	1034,84	5,49	1034,20	5,12
24	1073	1063	$\nu[\text{C7C8}](20)$ + $\nu[\text{N2C7}](18)$	1063,41	4,29	1058,36	6,05
25	1094	1078	r[N1H_3^+](26)	1078,51	5,34	1087,21	4,58
26	1132	1128	r[CH3](29) + r[C8H2](13)	1128,47	5,41	1132,84	3,47
27	1156	1140	$\gamma[\text{HC4C3C2}](12)$ + $\nu[\text{C5C3}](11)$	1140,61	3,08		
28	1168	1174	$\gamma[\text{HC5C3C2}](16)$ + $\delta[\text{C5C3C4}](12)$	1173,15	1,80	1168,95	1,64
29	1214	1200	$\gamma[\text{HC7C12O3}](25)$ + $\tau[\text{C8H2}](24)$	1199,43	2,82		
30	1226	1230	$\tau[\text{C2H2}](19)$ + $\delta[\text{HC1C2}](12)$	1228,94	1,23	1231,39	1,03
31	1258	1253	$\nu[\text{N2C6}](22)$ + $\delta[\text{HN2C6}](16)$ + $\delta[\text{HC2C3}](15)$	1252,60	2,71	1252,81	1,91
32	1674	1673	$\nu[\text{C6=O1}](65)$ + $\nu[\text{N2C6}](17)$	1671,50	0,09	1659,36	2,89
33	2884	2719	$\nu[\text{C9H}](88)$	2716,77	3,04	2721,59	4,35
34	2885	2760	$\nu_s[\text{CH3}](87)$	2760,65	-7,17		
35	2890	2772	$\nu_s[\text{CH3}](83)$	2770,99	14,42		
36	2893	2869	$\nu_s[\text{C2H2}](66)$	2867,82	7,75	2865,74	4,29
37	2894	2891	$\nu_s[\text{C5H3}](59)$ + $\nu_s[\text{C2H2}](13)$	2888,11	6,91	2886,07	5,56
38	2905	2914	$\nu[\text{C3H}](63)$	2914,84	2,73		
39	2935	2932	$\nu[\text{C7H}](87)$	2927,87	4,89	2910,26	6,43
40	2962	2962	$\nu_{as}[\text{CH3}](87)$	2962,79	6,24	2957,84	4,27
41	2997	2982	$\nu[\text{C1H}](98)$	2982,31	0,14		
42	3364	3349	$\nu[\text{H2O}]$	3347,32	-0,03		

Fonte: Dados da pesquisa.

4.5 Difração de raios-X utilizando radiação síncrotron sob altas pressões

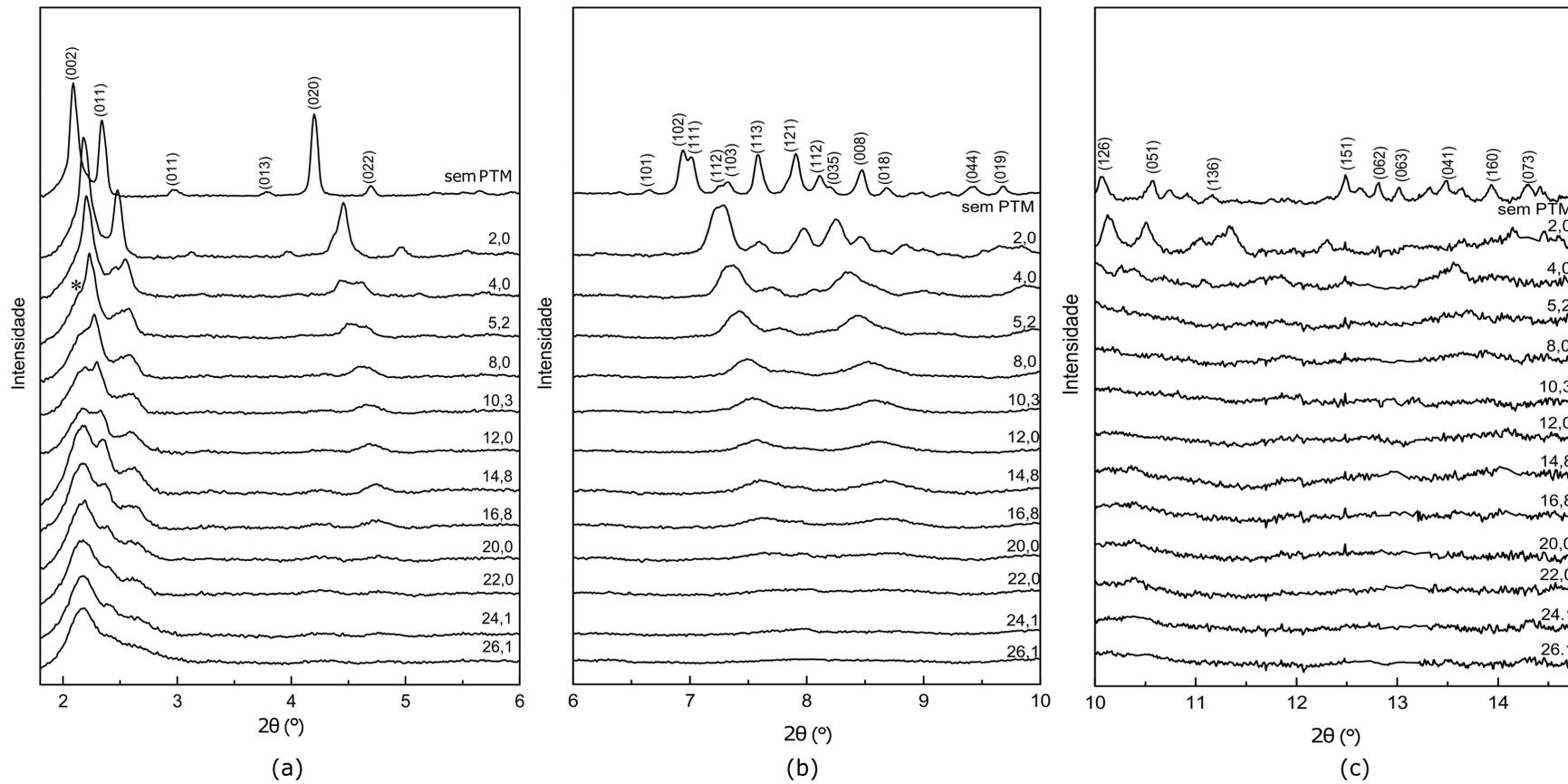
A difração de raios-X é a ferramenta mais indicada para se inferir a estrutura cristalina de um material. A partir das posições e intensidades dos picos de difração, muitas informações podem ser fornecidas pelos cristais. Obviamente, muitos fatores influenciam o difratograma de raios-X de um material. Desde as primeiras investigações com essa técnica experimental sabe-se, por exemplo, que a intensidade das reflexões de raios-X diminuem com a ordem da reflexão e, de uma forma mais geral, com o aumento do ângulo de difração θ . Vários fatores influenciam a intensidade dos picos de difração, incluindo o fator de forma atômica, o fator de Lorentz, o fator de Debye-Waller e a polarização, entre outros [95]. Nesta seção discutiremos os resultados de difração de raios-X no dipeptídeo LL sob altas pressões utilizando radiação síncrotron. Os experimentos foram realizados a temperatura ambiente com a pressão variando até 26 GPa. Para facilitar a visualização e discussão, dividimos o difratograma em regiões.

A Fig. 4.11(a) apresenta o padrão de difração do dipeptídeo LL, no intervalo de 2 a 6°, em vários valores de pressão. No padrão de difração em condições ambientes, observamos picos de difração muitos intensos e bem definidos que permanecem visíveis até 2 GPa. Até esse ponto, apenas um deslocamento nos picos devido ao efeito de pressão foi observado. Entre 2 e 4 GPa observamos modificações significativas, os picos intensos que correspondem aos planos (002) e (011) apresenta notáveis mudanças, decrescendo drasticamente suas intensidades e aumentando suas larguras. O pico associado com o plano (020) duplica e sua intensidade cai drasticamente. Outros picos de menor intensidade, como os correspondentes aos planos (011), (013) e (022), praticamente desaparecem entre 2 e 4 GPa. Destacamos ainda o aparecimento de um pico de difração em torno de 2,3° no difratograma tomado a 4,0 GPa, e marcado com um asterisco na Fig. 4.11(a).

A Fig. 4.11(b) apresenta o padrão de difração do dipeptídeo LL, no intervalo de 6 a 10°. Nesta faixa angular podemos observar mudanças significativas no difratograma. Até 2 GPa é possível notar algumas modificações na forma dos picos presentes nesta região, como (i) diminuição de intensidade e (ii) aumento de largura dos picos; no entanto, ainda persiste o mesmo padrão obtido em condições ambiente. Após 2 GPa, os picos dessa faixa angular decrescem e aumentam a largura, além disso, alguns deles desaparecem, relativo aos planos (018), (044) e (019), uma vez que possuíam baixa intensidade.

A Fig. 4.11(c), mostra o difratograma na faixa angular de 10 a 15°. Esta região apresenta picos de baixa intensidade, dos quais muitos deles desaparecem nos primeiros valores de pressão entre as condições ambientes e 2 GPa. Entre 2 e 4 GPa a maioria dos picos já não estão visíveis e após 4 GPa todos os picos dessa região desaparecem.

Figura 4.11 – Difratoogramas de raios-X com luz síncrotron do dipeptídeo LL sob altas pressões na faixa angular de: (a) 2 a 6°; (b) 6 a 10°; e (c) 10 a 15° (pressão dada em GPa).

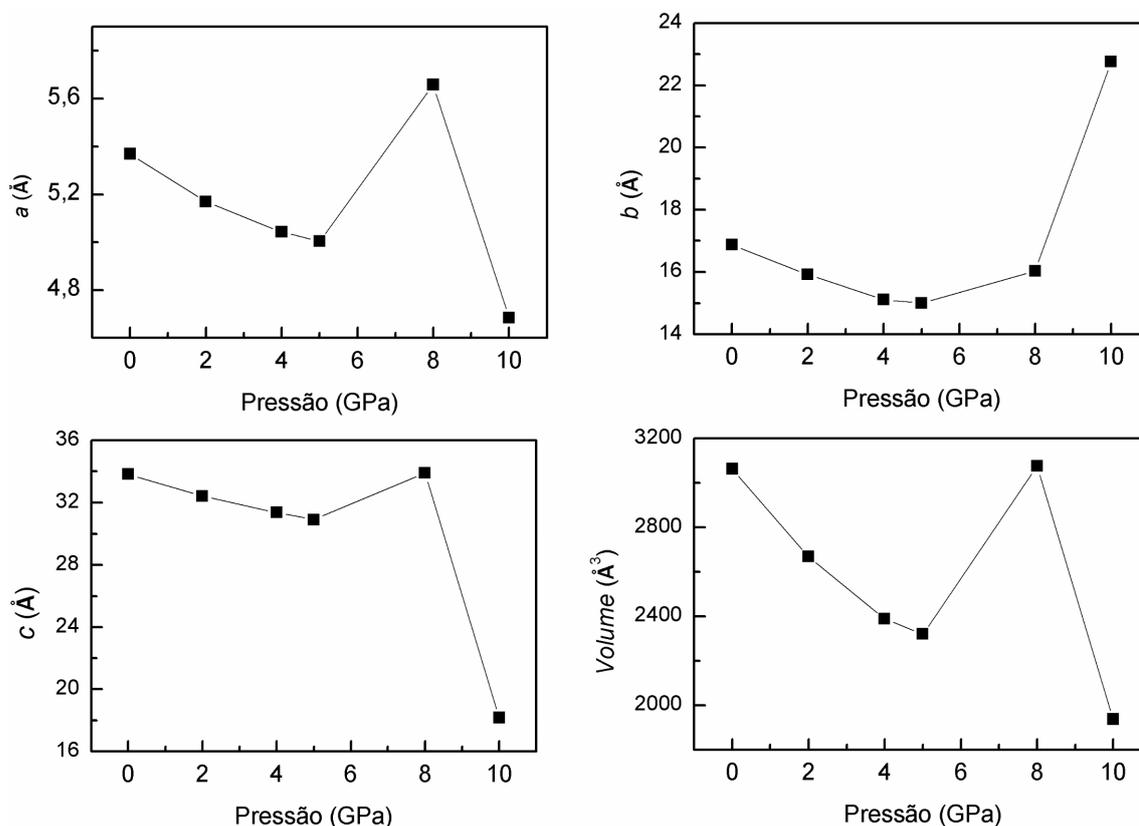


Fonte: Dados da pesquisa.

Analisando todo o difratograma, vemos que, acima de 16,8 GPa, a maioria dos picos desaparecem, o que pode ser o indício de que a amostra começa um processo de amorfização.

Na Fig. 4.12 mostramos a evolução dos parâmetros de rede e do volume da célula unitária do dipeptídeo LL com aumento de pressão no experimento de difração de raios-X utilizando radiação síncrotron. Os parâmetros a , b e c , assim como o volume da célula unitária decrescem com o aumento de pressão. Podemos notar também uma ligeira mudança de inclinação entre 2 e 4 GPa. Acima de 5,2 GPa já não é possível refinar os difratogramas e acompanhar a evolução dos parâmetros de rede, os valores obtidos divergem drasticamente, o que pode estar associado a um alto grau de desordem do sistema cristalino.

Figura 4.12 – Parâmetros de rede e volume da célula unitária do dipeptídeo LL em função da pressão.

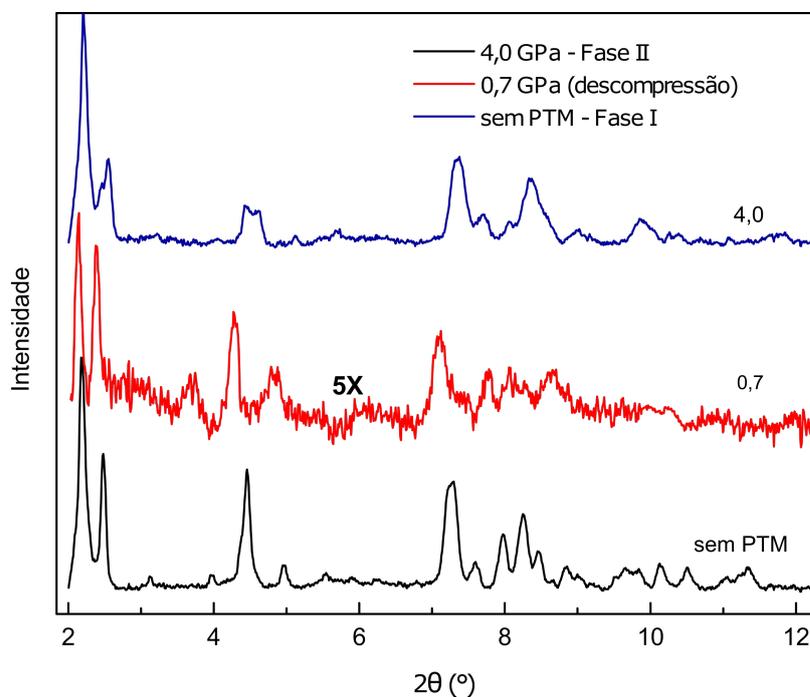


Fonte: Dados da pesquisa.

No processo de descompressão podemos ver que alguns picos presentes no difratograma em condições ambientes são recuperados, indicando a reversibilidade do processo, como ilustrado na Fig. 4.13.

Após a apresentação dos resultados de espalhamento Raman e de difração de raios-X no cristal do dipeptídeo LL submetido a altas pressões, poderemos tentar fornecer

Figura 4.13 – Comparação entre o processo de compressão e descompressão do experimento de difração de Raios-X síncrotron para o dipeptídeo LL. Os valores de pressão são dados em GPa.



Fonte: Dados da pesquisa.

uma visão unitária a respeito dos fenômenos que estão acontecendo com ele. Entre 1 atm e 1,0 GPa as ligações de hidrogênio formadas pelas moléculas de água são discretamente fortalecidas uma vez que é observada uma ligeira diminuição do número de onda dos modos de estiramento OH da água. A partir de 2 GPa, um desordem no cristal começa a se verificar de uma forma mais clara como revelam tanto o aumento da largura das bandas Raman quanto o aumento da largura dos picos no difratograma de raios-X. Esta desordem, que é introduzida pela pressão, também é acompanhada por uma discreta mudança na conformação molecular principalmente entre 2 e 3 GPa conforme sugere a leve descontinuidade no número de onda do modo de estiramento C=O neste mesmo intervalo de pressão. Obviamente, durante todo o processo da compressão as ligações de hidrogênio desempenham um importante papel; isso fica particularmente claro no intervalo de 1 atm a 3,0 GPa, onde um modo de baixo número de onda diminui de energia durante o aumento da pressão. A partir de 4 GPa o cristal fica completamente desordenado como pode ser visto pelo alargamento generalizado de todas as bandas Raman e desaparecimento de outras, além do desaparecimento de diversos picos de difração no correspondente difratograma de raios-X. Acima de 5,2 GPa a divergência nos parâmetros da célula unitária do dipeptídeo LL ilustra o auto grau de desordem do cristal, como já comentado.

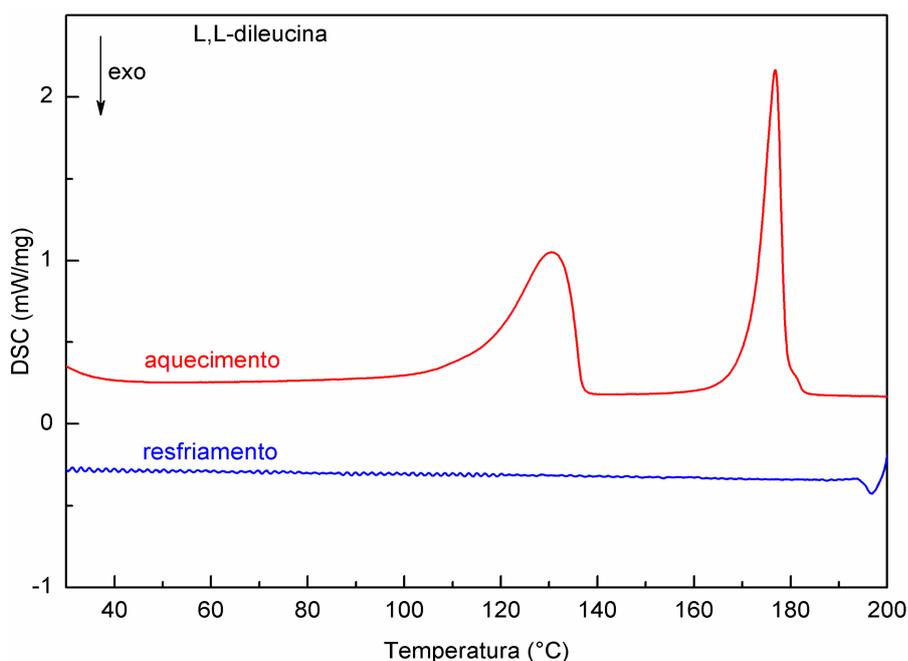
É interessante notar que apesar de uma certa desordem, o dipeptídeo LL permanece

monocristalino pelo menos até 2,0 GPa, como mostramos difratogramas de raios-X. Essa pressão é no mínimo quatro vezes mais alta do que a pressão na qual um outro cristal de peptídeo passa a ser policristalino [44].

4.6 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) no cristal do dipeptídeo L,L-Dileucina

A partir dessa seção iremos apresentar alguns aspectos do cristal do dipeptídeo LL sob variação de temperatura. Inicialmente, realizamos experimentos de calorimetria exploratória diferencial (DSC) no intervalo de 30 a 200 °C, e a Fig. 4.14 apresenta o resultado obtido do experimento de DSC. Podemos observar dois processos endotérmicos, onde o primeiro ocorre em uma ampla faixa de temperatura, iniciando em 116,4 °C e finalizando em 136,9 °C. Lembrando que a estrutura do dipeptídeo LL estabiliza-se com moléculas de água, podemos inferir que esse processo é favorecido pela saída de água da estrutura cristalina do material, o que acarreta mudanças que fazem com que o material modifique sua configuração ou mude de fase cristalina. O segundo evento está associado ao processo de decomposição da amostra que inicia-se em 171,7 °C e finaliza em 179,1 °C. O processo de resfriamento da amostra nos permite inferir que a transição observada neste material é do tipo irreversível, uma vez que apresenta decomposição e perda das moléculas de água.

Figura 4.14 – Curva de DSC para o cristal do dipeptídeo L,L-dileucina.



Fonte: Dados da pesquisa.

4.7 Difração de raios-X em função da temperatura

Buscando investigar o comportamento da estrutura cristalina do dipeptídeo LL sob o efeito de temperatura, realizamos experimentos de difração de raios-X a baixas temperaturas (~ -170 °C) e a altas temperaturas (~ 200 °C). Os resultados serão apresentados nesta seção.

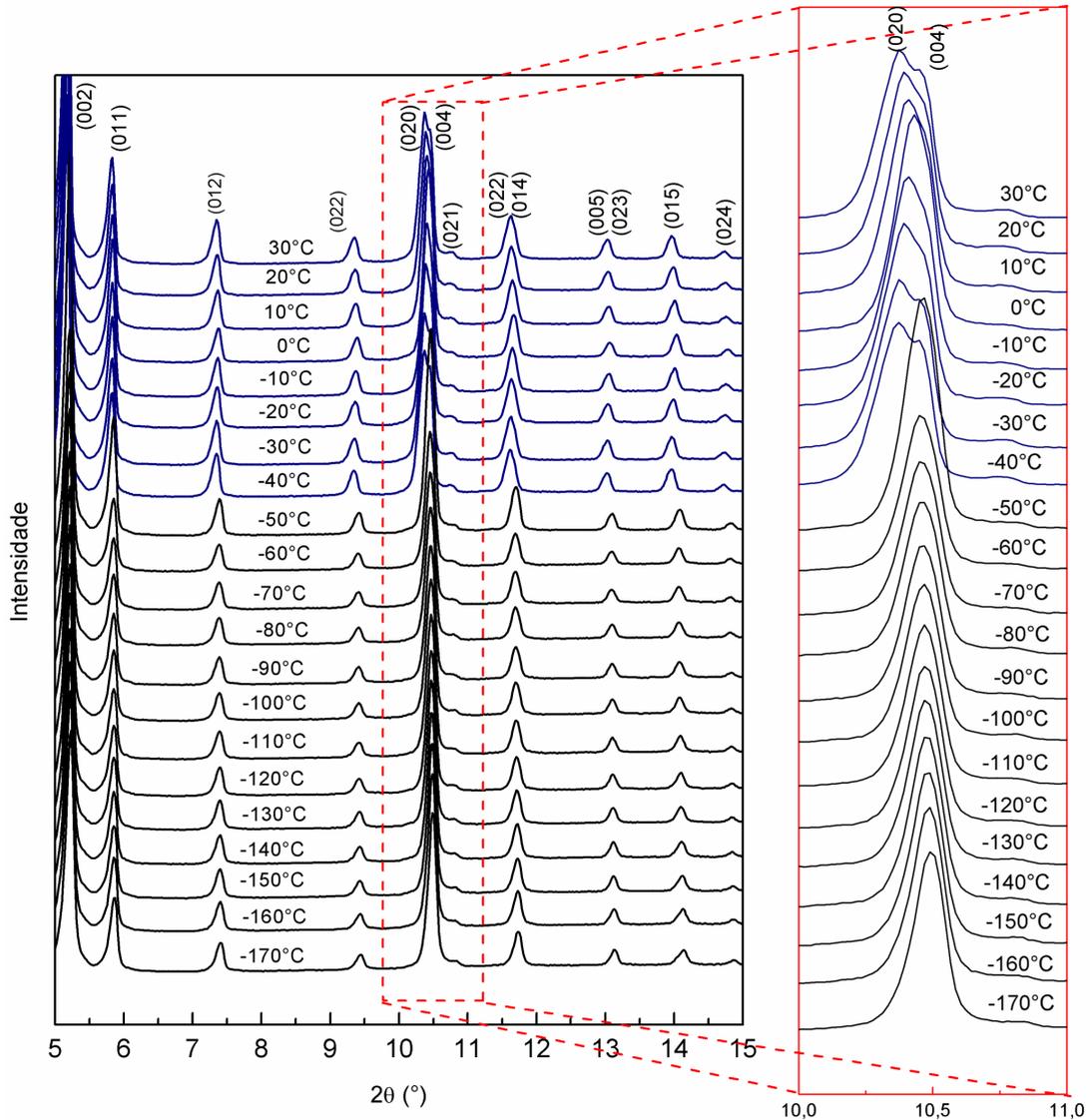
4.7.1 Difração de raios-X sob baixas temperaturas

Para a realização dos experimentos de difração de raios-X a baixas temperaturas, a amostra foi resfriada a partir da temperatura ambiente até -170 °C (103 K) e, em seguida, realizado o experimento aquecendo-a em intervalos de 10 °C. Para uma melhor visualização dos resultados, dividimos o difratograma que foi obtido no intervalo de 2θ de 5° a 40° em regiões de menor faixa angular.

A Fig. 4.15 mostra os difratogramas sob variação de temperatura no intervalo angular (2θ) compreendido entre 5 e 15° . À primeira vista não notamos mudanças significativas à medida que a amostra vai sendo resfriada, exceto, por um sutil deslocamento dos picos de difração para menores valores de ângulos, causados pelo efeito do resfriamento da amostra. Porém, quando olhamos com atenção para um dos picos mais intensos do difratograma, localizado entre 10 e 11° e associado aos planos (020) e (004), destacados na Fig. 4.15, notamos que entre -40 e -50 °C um dos picos associado ao planos (020) e (004) desaparece, permanecendo apenas um pico bem simétrico. Tal fato difere do visto anteriormente, sendo de maior intensidade e associado possivelmente ao plano (004). Outro detalhe a se observar nesses picos mencionados, está no deslocamento dos mesmos: da temperatura ambiente até -40 °C deslocam-se para valores de menores ângulos, e após -50 °C descolam-se para ângulos de maiores valores. É possível observar ainda que entre -40 e -50 °C há um deslocamento mais acentuado em alguns picos de difração para ângulos de maiores valores, o que fica evidenciado, por exemplo, nos picos associados aos planos (012), (022) e (015).

A Fig. 4.16 mostra os difratogramas sob variação de temperatura no intervalo angular de 15 a 25° . Nesta região podemos notar que há uma diminuição do número de picos presentes no difratograma à medida que baixamos a temperatura de -40 a -50 °C. Alguns picos que apareciam bem próximos até -40 °C, como os relacionados aos planos (101) e (032), (110) e (111), (041) e (027), (120) e (121), dentre outros, após este valor de temperatura aparece apenas um único pico. Isso pode se dar devido à superposição dos mesmos, ou pelo desaparecimento de algum deles.

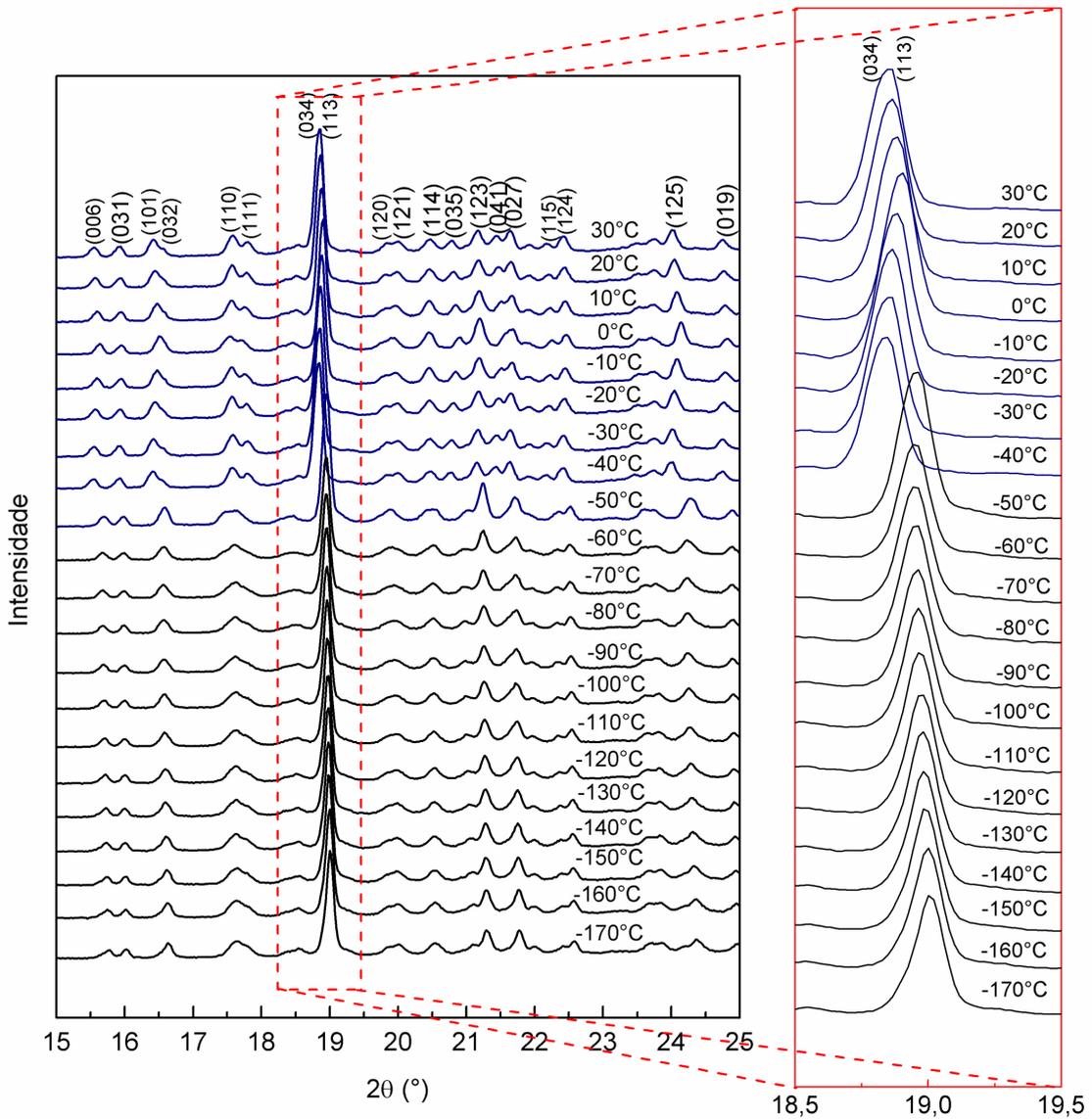
Figura 4.15 – Difratoformas de raios-X do dipeptídeo LL submetidos a baixas temperaturas na faixa angular de 5 a 15°.



Fonte: Dados da pesquisa.

Notamos ainda o desaparecimento de alguns picos no intervalo de -40 a -50 °C, como, por exemplo, os relacionados aos planos (035) e (041). Assim como na região anterior, uma mudança na posição dos picos com a variação de temperatura pode ser observada aqui. Tal fato fica acentuado quando olhamos para o pico de maior intensidade nesta região, situado em torno de 19° e relacionados aos planos (034) e (113). Enquanto entre 0 e -40 °C ele se desloca para menores ângulos, no intervalo de -40 a -50 °C ele passa a deslocar-se para valores maiores de ângulos. Este comportamento também pode ser visto em outros picos de menor intensidade, como é o caso dos picos referentes aos planos (006), (031) e (123).

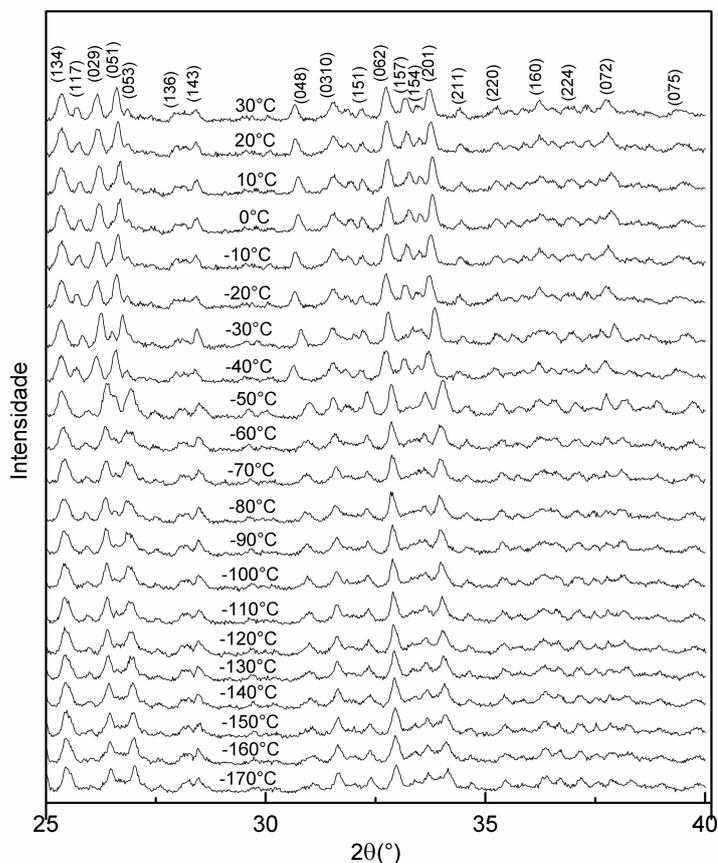
Figura 4.16 – Difratogramas de raios-X do dipeptídeo LL submetido a baixas temperaturas na faixa angular de 15 a 25°.



Fonte: Dados da pesquisa.

Na Fig. 4.17 mostra-se o padrão de difração de raios-X do dipeptídeo LL sob baixas temperaturas no intervalo de 2θ de 25 a 40°. Nessa região estão presente picos de baixa intensidade, onde podemos observar que à medida que a amostra vai sendo resfriada, alguns picos perdem intensidade, como podemos observar nos picos referentes aos planos (117), (157) e (211). Além disso, assim como no restante do difratograma notamos também uma sutil mudança no deslocamento dos picos de difração, bem como uma diferença do perfil do difratograma entre -40 e -50 °C.

Figura 4.17 – Difratogramas de raios-X do dipeptídeo LL submetido a baixas temperaturas na faixa angular de 25 a 40°.



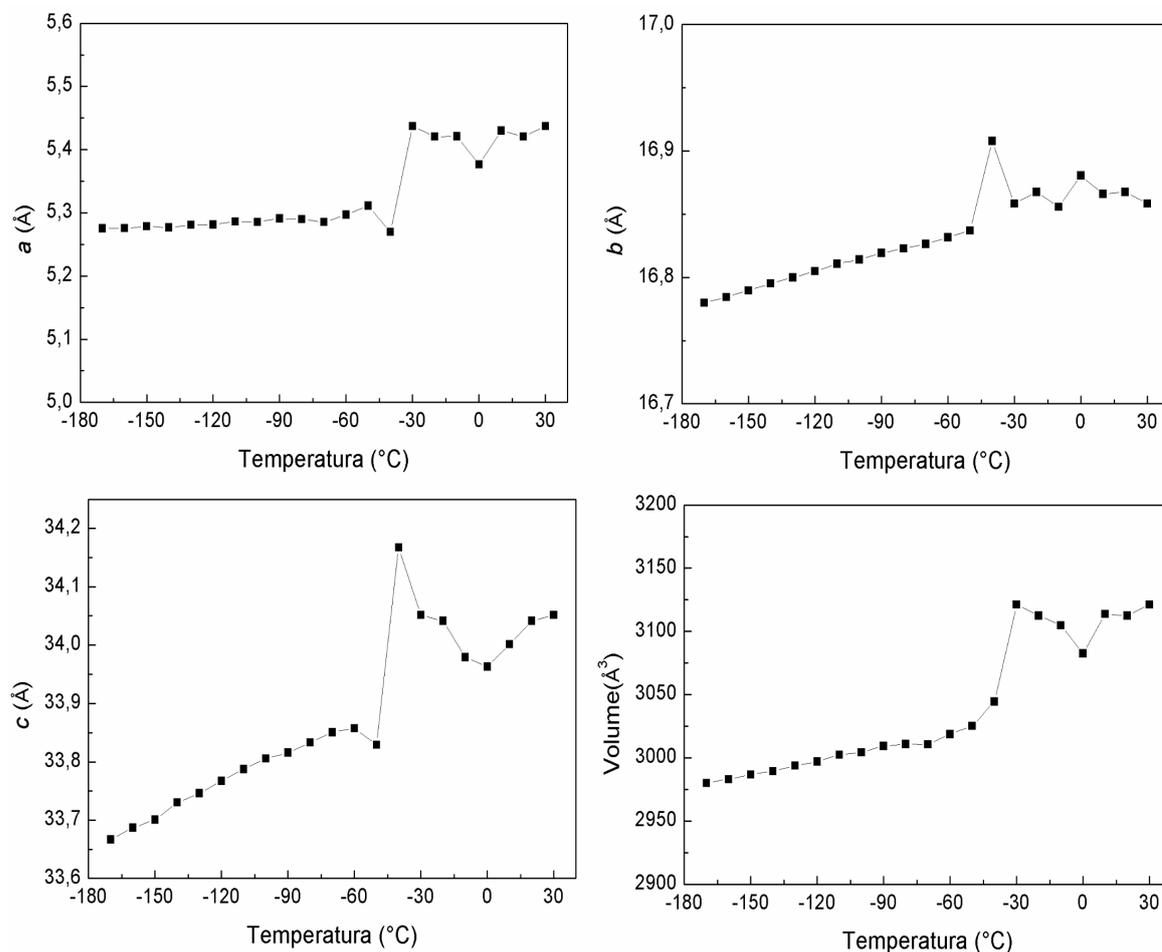
Fonte: Dados da pesquisa.

A Fig. 4.18 mostra a evolução dos parâmetros de rede à medida que a amostra vai sendo resfriada. No intervalo entre -40 e -50 °C, podemos observar uma mudança abrupta nos parâmetros de rede, o que corrobora com o que foi observado nos difratogramas. Outro fato curioso se dá no ponto de fusão da água 0 °C, que desempenha um importante papel na estabilidade da estrutura cristalina do dipeptídeo LL. De fato, podemos observar uma sutil mudança na evolução dos parâmetros de rede em torno desse valor de temperatura.

As mudanças observadas ao longo de todo o difratograma e a evolução dos parâmetros de rede sugerem uma transição de fase sofrida pelo dipeptídeo LL. Essa transição deve ocorrer provavelmente no intervalo entre -40 e -60 °C com os parâmetros da célula unitária diminuindo de forma lenta e linear com a temperatura a partir dessa região.

O comportamento dos parâmetros a , b e c da célula unitária, mostrou-se linear com a temperatura com no intervalo de -50 a -170 °C, o que nos permitiu calcular os coeficientes de dilatação linear dos mesmos, que foram, respectivamente, $\alpha_a = 5,513 \times 10^{-5} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, $\alpha_b = 3,25 \times 10^{-5} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ e $\alpha_c = 5,23 \times 10^{-5} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$.

Figura 4.18 – Parâmetros da célula unitária do dipeptídeo LL submetidos a baixas temperaturas no intervalo entre 30 e -170 °C.



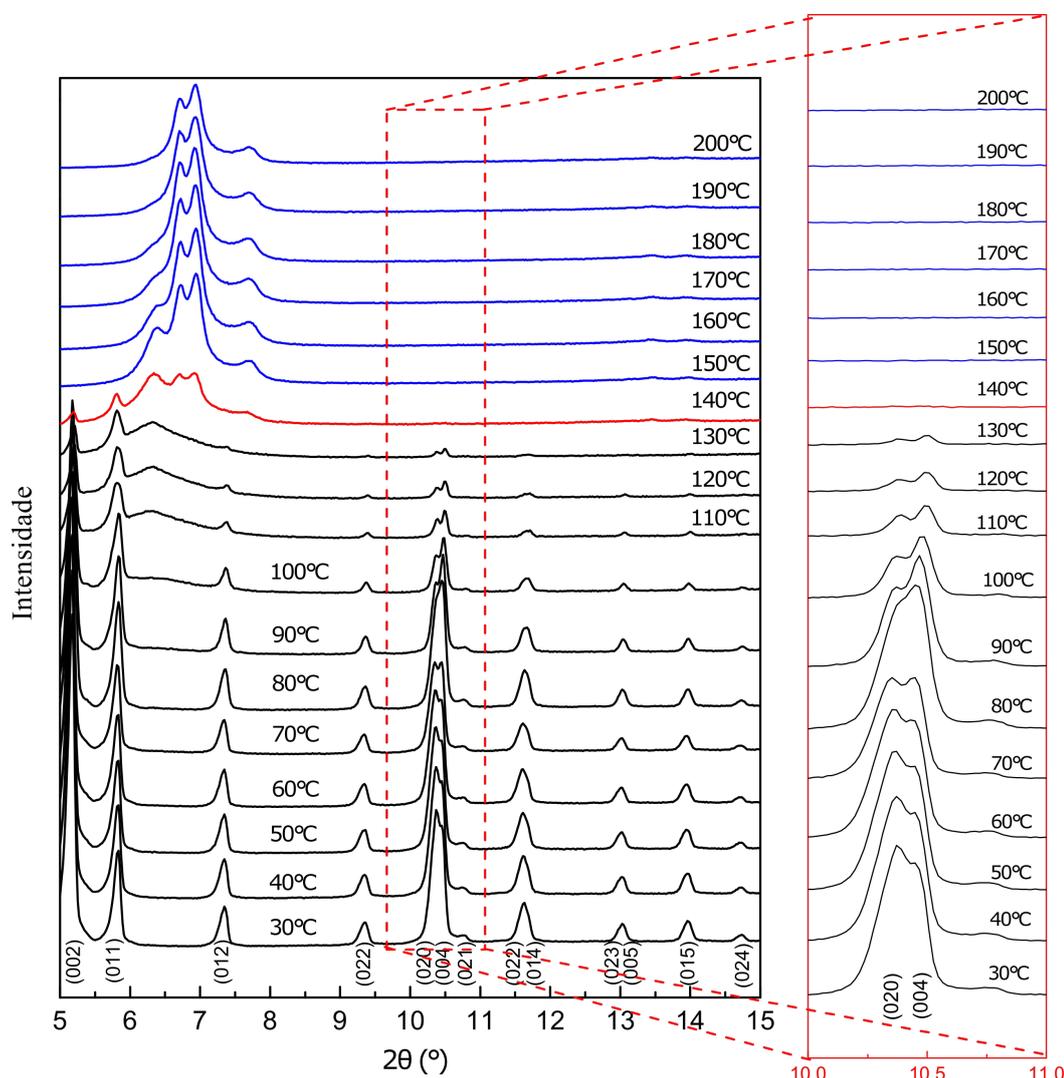
Fonte: Dados da pesquisa.

4.7.2 Difração de raios-X sob altas temperaturas

Vimos na subseção anterior que as evidências do estudo de difratogramas de raios-X indicam a ocorrência de uma transição de fase em baixas temperaturas. Agora, será discutido o comportamento do cristal de dipeptídeo LL sob altas temperaturas utilizando-se a mesma técnica experimental. Para a realização dos experimentos de difração de raios-X a altas temperaturas, a amostra foi aquecida a partir da temperatura ambiente até 200 °C (573 K), aquecendo-a em passos de 10 °C. Novamente, para uma melhor visualização dos resultados dividimos o difratograma em intervalos de menores faixas angulares. Na Fig. 4.19 apresentamos os difratogramas obtidos para valores de altas temperaturas no intervalo de 5 a 15°.

Da temperatura ambiente até por volta de 70 °C, notamos uma certa estabilidade na estrutura cristalina, onde a intensidade e a posição dos picos (ressalva-se um sutil

Figura 4.19 – Difratograma de raios-X do dipeptídeo LL submetido a altas temperaturas na faixa angular de 5 a 15°.



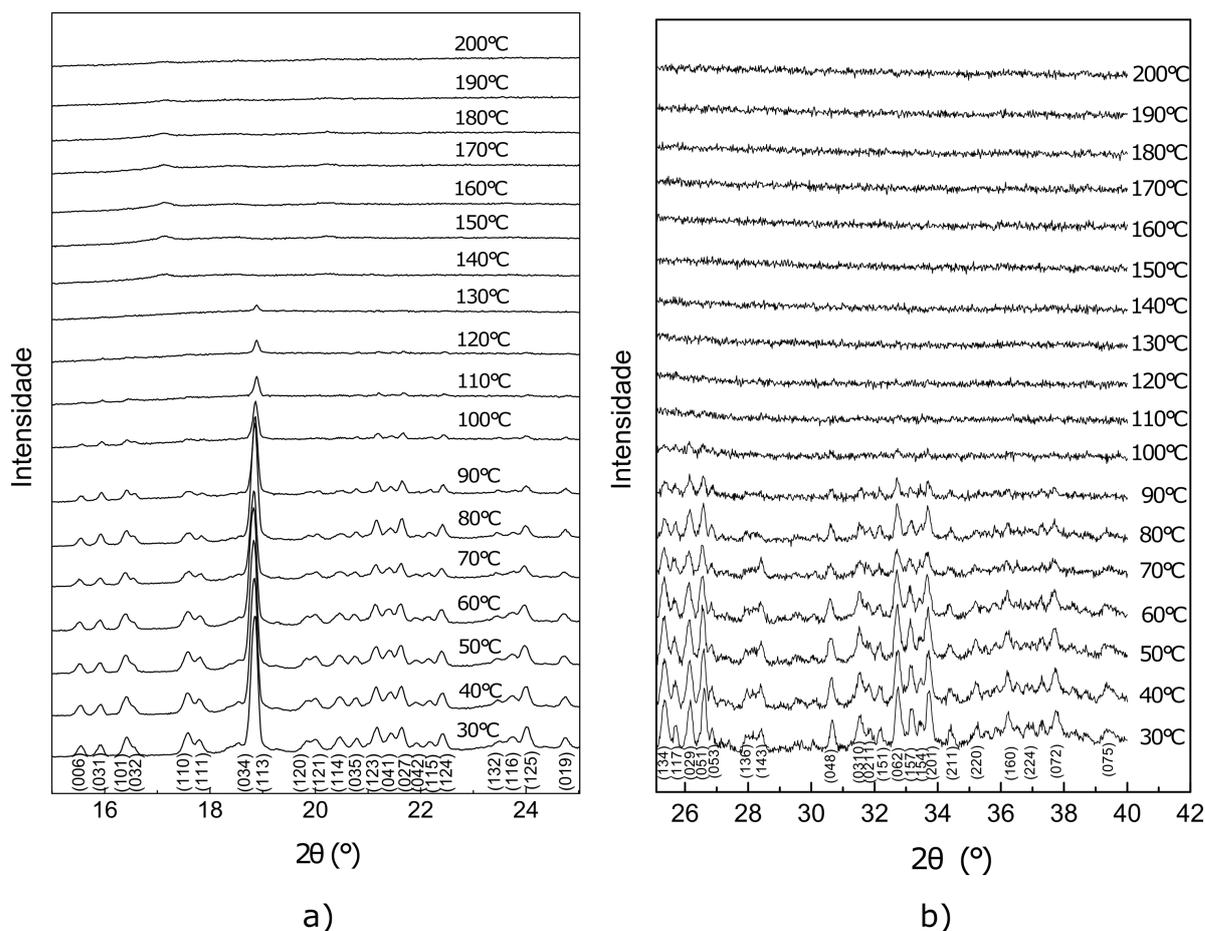
Fonte: Dados da pesquisa.

deslocamento dos picos para menores ângulos devido ao efeito de temperatura) são preservadas. A partir de 70 °C podemos observar algumas modificações no padrão de difração do dipeptídeo LL. Um dos picos de maior intensidade nessa região, associados aos planos (020) e (004) e destacados na Fig. 4.19, começam a apresentar alterações nas intensidades. Inicia-se neste ponto uma inversão de intensidade entre esses dois picos, o que fica mais evidente nos difratogramas em valores de temperatura posteriores. Por volta de 100 °C (ponto de ebulição da água), inicia-se uma drástica diminuição na intensidade de todos os picos nesta região, bem como a formação de um *background* no difratograma entre 6 e 7°, o que perdura até 130 °C, onde ainda é possível observar alguns picos originários da fase cristalina à temperatura ambiente. A partir de 140 °C, medida destacada em vermelho na Fig. 4.19, notamos a formação de quatro picos situados entre 6 e 8° que não pertencem

a fase inicial e que ficam bem definidos nos valores de temperatura que se sucedem, no entanto ainda persistem picos presentes na fase anterior, como o pico associado ao plano (011), o que sugere uma possível coexistência de fases nesse valor de temperatura. Após 140 °C (difratogramas destacados em azul) os picos da fase a temperatura ambiente não são mais observados. Tais fatos estão em concordância com o que foi reportado em um estudo anterior [44], onde constatou-se que aquecendo o dipeptídeo LL até 140 °C e mantendo a amostra sob vapor de água a estrutura recupera a sua forma inicial, e que aquecendo a amostra até 180 °C, tem-se uma transição irreversível.

A Fig. 4.20(a-b) ilustra os difratogramas nas faixas angulares de 15 a 25° e 25 a 40°, respectivamente. Podemos observar em ambas as regiões uma drástica diminuição da intensidade de todos os picos iniciando em 100 °C. Observa-se que em 140 °C todos os picos desaparecem. Este processo se mostrou irreversível quando a amostra foi resfriada de 200 °C à temperatura ambiente.

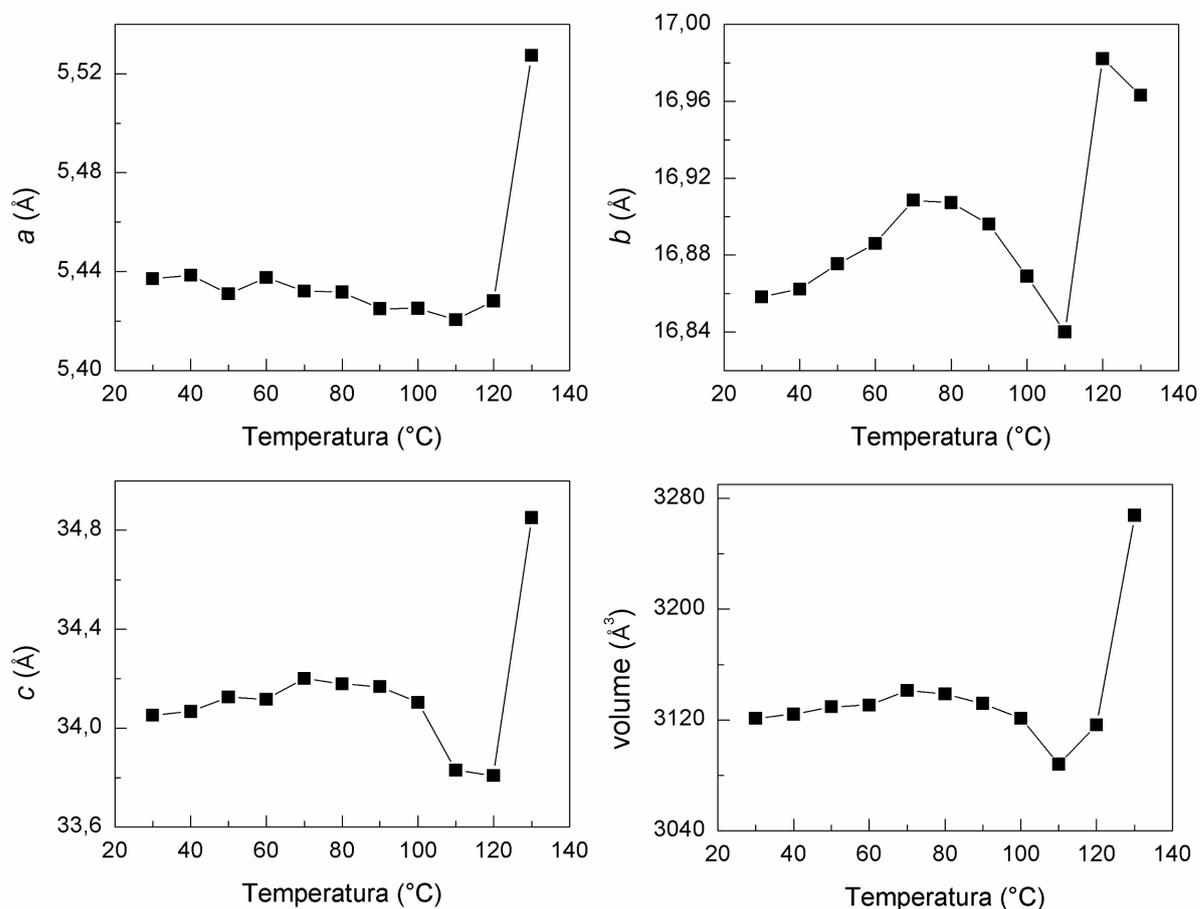
Figura 4.20 – Difratogramas de raios-X do dipeptídeo LL submetido a altas temperaturas na faixa angular de: (a) 15 a 25°; e (b) 25 a 40°.



Fonte: Dados da pesquisa.

A Fig. 4.21 mostra a evolução dos parâmetros de rede e do volume da célula unitária do dipeptídeo LL para o intervalo de temperatura entre 30 e 140 °C. Podemos observar mudanças significativas nos difratogramas quando nos aproximamos da temperatura de ebulição da água (100 °C), que se dá de forma mais acentuada nos parâmetros *b* e *c*. Após 100 °C os valores de *a*, *b* e *c*, e conseqüentemente o do volume, divergem drasticamente impossibilitando acompanhar a evolução dos mesmos após 130 °C. O conjunto desses resultados permite-nos afirmar que em altas temperaturas a estrutura cristalina do dipeptídeo LL perde a água dos canais, havendo uma diminuição do volume da célula unitária captaniada por mudanças que ocorrem, originalmente, no eixo *b*.

Figura 4.21 – Evolução dos parâmetros da célula unitária do dipeptídeo LL submetido a altas temperaturas no intervalo entre 30 e 130 °C.



Fonte: Dados da pesquisa.

4.8 Considerações sobre os experimentos no dipeptídeo L,L-dileucina

Os experimentos de difração de raios-X e espectroscopia Raman sob altas pressões sugerem uma transição de fase entre 2,3 e 2,9 GPa, onde observamos significativas mudanças como uma diminuição substancial nas intensidades das bandas e modificações de bandas associadas aos grupos funcionais CO_2^- , NH_3^+ e da molécula de água, que estão diretamente envolvidas no processo de estabilidade da estrutura cristalina do dipeptídeo LL. As modificações sugerem uma mudança no arranjo tubular, com diminuição do diâmetro dos nanocanais com o aumento de pressão. O aumento da largura das bandas associadas com os modos de estiramentos dos grupos CH_3 , $\text{C}=\text{O}$ e da molécula de água, com o aumento de pressão, também sugerem um grau de desordem no sistema cristalino. Após 16 GPa, as mudanças no padrão de raios-X indicam um processo de amorfização da estrutura. Em ambos experimentos o processo de descompressão mostrou-se ser reversível.

Nos experimentos de difração de raios-X em baixas temperaturas, observamos mudanças sutis na faixa angular entre -40 a -60 °C, com desaparecimento/acoplamento de alguns picos no difratograma, o que sugere indícios de uma mudança conformacional da estrutura cristalina do dipeptídeo LL neste intervalo de temperatura. Em altas temperaturas, mudanças significativas ocorrem a partir de 100 °C (ponto de ebulição da água) onde a intensidade dos picos diminuem drasticamente ao longo de todo o difratograma, e após 130 °C a maioria dos picos observados a temperatura ambiente desaparecem, surgindo alguns picos na faixa de menor valor angular. A transição de fase observada se dá pela saída da água da estrutura cristalina devido ao aumento de temperatura, e os picos remanescentes observados em baixo valor angular indicam que permanece um grau de cristalinidade do material. Os resultados dos experimentos de calorimetria exploratória diferencial sugerem uma transição em torno de 130 °C o que corrobora com o experimento de difração de raios-X em altas temperaturas.

5 Conclusões e Perspectivas

Nesta Tese foram estudados as propriedades estruturais e/ou vibracionais de dois dipeptídeos, o L-alanil-L-Fenilalanina (AF) e o L,L-dileucina (LL).

A análise do dipeptídeo AF por meio de cálculos de primeiros princípios usando a teoria do funcional de densidade possibilitou a determinação dos 3N-6 modos normais de vibração da molécula. O cálculo mostrou uma boa correspondência dos modos referentes a grupos funcionais comuns em dipeptídeos e aminoácidos, como, por exemplo, os modos referentes aos grupos funcionais CO_2^- , NH_3^+ e $\text{C}=\text{O}$. Variando-se o ângulo diedral característico de um dipeptídeo $\theta = C_1^\beta - C_1^\alpha \cdots C_2^\alpha - C_2^\beta$ encontramos possíveis conformações para o dipeptídeo AF, duas delas susceptíveis de ocorrer em condições ambientes, a primeira entre $85^\circ \leq |\theta| \leq 115^\circ$ e a segunda entre $130^\circ \leq |\theta| \leq 177^\circ$. Além disso, os cálculos realizados com diferentes solventes mostrou uma variação do ângulo θ em relação a constante dielétrica do solvente, e como reportado na literatura, diferentes formas são obtidas quando são usados diferentes solventes.

Os experimentos com variação de pressão para o dipeptídeo LL, tanto Raman, quanto difração de raios-X utilizando luz síncrotron sugerem uma transição de fase entre 2,3 e 2,9 GPa, onde observamos um conjunto de mudanças nos modos vibracionais que participam diretamente da estabilidade da estrutura cristalina. Nos modos referentes aos grupos funcionais CO_2^- , NH_3^+ e $\text{C}=\text{O}$, e no modo referente ao estiramento da molécula de água, notou-se também uma drástica mudança de intensidade, largura de bandas e descontinuidades no coeficiente de inclinação α . Além disso, após 16 GPa os experimentos em altas pressões sugerem que a amostra inicia um processo de amorfização.

Os experimentos de difração de raios-X para o dipeptídeo LL em baixas temperaturas sugerem uma transição de fase estrutural entre -60 e -40 °C, sendo observados deslocamentos de alguns picos, bem como o desaparecimento/acoplamento de vários outros.

Em altas temperaturas, os experimentos de difração de raios-X para o dipeptídeo LL mostram que mudanças abruptas ocorrem entre 100 e 140 °C, sendo isso associado com a saída da molécula de água da estrutura cristalina. O experimento de calorimetria exploratória diferencial corrobora com o experimento de difração de raios-X em altas temperaturas mostrando uma transição de fase em torno de 130 °C, ambos os experimentos mostram que esse processo se dá de forma irreversível.

Como perspectivas de trabalhos futuros, pretendemos resolver a estrutura cristalina do dipeptídeo AF e realizar experimentos de espectroscopia Raman e difração de raios-X com variação de temperatura e pressão. Para o dipeptídeo LL pretende-se realizar

experimentos de espectroscopia Raman em altas e baixas temperaturas para corroborar com os dados obtidos nos experimentos de difração de raios-X. Finalmente, espera-se realizar estudos em outros dipeptídeos hidrofóbicos visando correlacionar suas propriedades.

Referências

- [1] A. B. Hughes, *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry*. Victoria: Wiley-VCH, 2009. Citado 3 vezes nas páginas 21, 29 e 30.
- [2] H. Fu, Y. Katsumura, M. Lin, Y. Muroya, K. Hata, K. Fujii, A. Yokoya, and Y. Hatano, “Free radical scavenging and radioprotective effects of carnosine and anserine,” *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 78, pp. 1192–1197, 2009. Citado na página 21.
- [3] A. D. Mooradian, M. Smith, and M. Tokuda, “The role of artificial and natural sweeteners in reducing the consumption of table sugar: A narrative review,” *Clinical Nutrition ESPEN*, vol. 18, pp. 1–8, 2017. Citado na página 21.
- [4] Y. Dinçer, Z. Alademir, H. Ilkova, and T. Akçay, “Susceptibility of glutathione and glutathione-related antioxidant activity to hydrogen peroxide in patients with type 2 diabetes: Effect of glycemic control,” *Clinical Biochemistry*, vol. 35, pp. 297–301, 2002. Citado na página 21.
- [5] Y. Dinçer, T. Akçay, Z. Alademir, and H. Ilkova, “Assessment of DNA base oxidation and glutathione level in patients with type 2 diabetes,” *Mutation research*, vol. 505, pp. 75–81, 2002. Citado na página 21.
- [6] N. M. Rao, *Medical Biochemistry*. New Delhi: New Age International (P) Ltd., 2 revised ed., 2006. Citado 3 vezes nas páginas 21, 29 e 30.
- [7] Y. Gong, X. Chen, Y. Lu, and W. Yang, “Self-assembled dipeptide-gold nanoparticle hybrid spheres for highly sensitive amperometric hydrogen peroxide biosensors,” *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 66, pp. 392–398, 2015. Citado na página 21.
- [8] J. J. Panda and V. S. Chauhan, “Short peptide based self-assembled nanostructures: implications in drug delivery and tissue engineering,” *Polymer Chemistry*, vol. 5, pp. 4418–4436, 2014. Citado na página 21.
- [9] S. Ketabi and L. Rahmani, “Carbon nanotube as a carrier in drug delivery system for carnosine dipeptide: A computer simulation study,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 73, pp. 173–181, 2017. Citado na página 21.
- [10] S. Manchineella and T. Govindaraju, “Molecular Self-Assembly of Cyclic Dipeptide Derivatives and Their Applications,” *ChemPlusChem*, vol. 82, pp. 88–106, 2017. Citado na página 21.

- [11] Z. Zha, K. Ploessl, B. P. Lieberman, L. Wang, and H. F. Kung, "Alanine and glycine conjugates of (2S,4R)-4-[18F]fluoroglutamine for tumor imaging," *Nuclear Medicine and Biology*, vol. 60, pp. 19–28, 2018. Citado na página 21.
- [12] X. Wang, Y. Zhao, Y. Yao, M. Xu, H. Du, M. Zhang, and Y. Tu, "Anti-inflammatory activity of di-peptides derived from ovotransferrin by simulated peptide-cut in TNF- α -induced Caco-2 cells," *Journal of Functional Foods*, vol. 37, pp. 424–432, 2017. Citado na página 21.
- [13] S. N. Vasconcelos, C. C. Drewes, L. De Vinci Kanda Kupa, S. H. Farsky, and H. A. Stefani, "Evaluation of toxicity on epithelial and tumor cells of biaryl dipeptide tyrosines," *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 114, pp. 1–7, 2016. Citado na página 21.
- [14] M. K. Kwak, R. Liu, and S. O. Kang, "Antimicrobial activity of cyclic dipeptides produced by *Lactobacillus plantarum* LBP-K10 against multidrug-resistant bacteria, pathogenic fungi, and influenza A virus," *Food Control*, vol. 85, pp. 223–234, 2018. Citado na página 21.
- [15] A. A. S. Saleh, "Anti-neuroinflammatory and antioxidant effects of N-acetyl cysteine in long-term consumption of artificial sweetener aspartame in the rat cerebral cortex," *The Journal of Basic & Applied Zoology*, vol. 72, pp. 73–80, 2015. Citado na página 21.
- [16] Y. Li, Z. Zhang, W. W. Phoo, Y. R. Loh, W. Wang, S. Liu, M. W. Chen, A. W. Hung, T. H. Keller, D. Luo, and C. B. Kang, "Structural Dynamics of Zika Virus NS2B-NS3 Protease Binding to Dipeptide Inhibitors," *Structure*, vol. 25, pp. 1–9, 2017. Citado na página 21.
- [17] L. Pérez-Picaso, H. F. Olivo, R. Argotte-Ramos, M. Rodríguez-Gutiérrez, and M. Y. Rios, "Linear and cyclic dipeptides with antimalarial activity," *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 22, pp. 7048–7051, 2012. Citado na página 21.
- [18] A. Trochine, D. J. Creek, P. Faral-Tello, M. P. Barrett, and C. Robello, "Bestatin induces specific changes in *Trypanosoma cruzi* dipeptide pool.," *Antimicrobial agents and chemotherapy*, vol. 59, pp. 2921–2925, 2015. Citado na página 21.
- [19] S. Celik, A. E. Ozel, and S. Akyuz, "Comparative study of antitumor active cyclo(Gly-Leu) dipeptide: A computational and molecular modeling study," *Vibrational Spectroscopy*, vol. 83, pp. 57–69, 2016. Citado na página 21.
- [20] R. V. Ulijn and A. M. Smith, "Designing peptide based nanomaterials," *Chemical Society Reviews*, vol. 37, pp. 664–675, 2008. Citado na página 21.

- [21] S. Zhang, F. Gelain, and X. Zhao, “Designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds for 3D tissue cell cultures,” *Seminars in Cancer Biology*, vol. 15, pp. 413–420, 2005. Citado na página 21.
- [22] T. D. Sargeant, S. M. Oppenheimer, D. C. Dunand, and S. I. Stupp, “Titanium foam-bioactive nanofiber hybrids for bone regeneration,” *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, vol. 2, pp. 455–462, 2008. Citado na página 21.
- [23] R. N. Shah, N. A. Shah, M. M. Del Rosario Lim, C. Hsieh, G. Nuber, and S. I. Stupp, “Supramolecular design of self-assembling nanofibers for cartilage regeneration,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 107, pp. 3293–3298, 2010. Citado na página 21.
- [24] F. F. Demarco, M. C. Conde, B. N. Cavalcanti, L. Casagrande, V. T. Sakai, and J. E. Nor, “Dental pulp tissue engineering,” *Braz Dent J*, vol. 22, pp. 3–13, 2011. Citado na página 21.
- [25] F. Gelain, D. Bottai, A. Vescovi, and S. Zhang, “Designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds for adult mouse neural stem cell 3-dimensional cultures,” *PLoS ONE*, vol. 1, pp. 1–11, 2006. Citado na página 21.
- [26] V. N. Yadav, A. Comotti, P. Sozzani, S. Bracco, T. Bonge-Hansen, M. Hennum, and C. H. Görbitz, “Microporous Molecular Materials from Dipeptides Containing Non-proteinogenic Residues,” *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 127, pp. 15910–15914, 2015. Citado na página 22.
- [27] C. H. Görbitz, M. Nilsen, K. Szeto, and L. W. Tangen, “Microporous organic crystals: an unusual case for L-leucyl-L-serine,” *Chemical communications (Cambridge, England)*, pp. 4288–4290, 2005. Citado na página 22.
- [28] C. H. Görbitz, “Microporous organic materials from hydrophobic dipeptides,” *Chemistry - A European Journal*, vol. 13, pp. 1022–1031, 2007. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 47.
- [29] C. H. Görbitz and E. Gundersen, “L-Valyl-L-alanine,” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. C52, pp. 1764–1767, 1996. Citado na página 22.
- [30] T. Andrade-Filho, T. C. Martins, F. F. Ferreira, W. A. Alves, and A. R. Rocha, “Water-driven stabilization of diphenylalanine nanotube structures,” *Theoretical Chemistry Accounts*, vol. 135, pp. 185–192, 2016. Citado na página 22.
- [31] C. H. Görbitz, “Crystal structure of L-Leucyl-L-isoleucine 2,2,2-trifluoroethanol monosolvate,” *Acta Crystallographica Section E Crystallographic Communications*, vol. E72, pp. 635–638, 2016. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 60.

- [32] C. H. Görbitz, K. Rissanen, A. Valkonen, and Å. Husabø, “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*, vol. 65, pp. 267–272, 2009. Citado na página 22.
- [33] B. Dalhus and C. H. Gorbitz, “Molecular aggregation in crystalline 1 : 1 complexes of hydrophobic D- and L-amino acids. I. The L-isoleucine series,” *Acta Crystallographica Section B-Structural Science*, vol. 55, pp. 424–431, 1999. Citado na página 22.
- [34] C. H. Görbitz and F. Rise, “Template-directed supramolecular assembly of a new type of nanoporous peptide-based material‡,” *Journal of peptide science*, vol. 14, pp. 210–216, 2008. Citado na página 22.
- [35] A. C. Mendes, E. T. Baran, R. L. Reis, and H. S. Azevedo, “Self-assembly in nature: Using the principles of nature to create complex nanobiomaterials,” *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, vol. 5, pp. 582–612, 2013. Citado na página 22.
- [36] C. H. Görbitz, “L-Alanyl-L-phenylalanine-2-propanol, L-valyl-L-phenylalanine-2-propanol and L-leucyl-L-phenylalanine-2-propanol,” *Acta Crystallographica Section C*, vol. C55, pp. 2171–2177, 1999. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 48.
- [37] C. H. Görbitz, “Ammonium L-alanyl-L-phenylalaninate,” *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, vol. 60, pp. 2065–2067, 2004. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 48.
- [38] R. F. Silva, D. R. Araujo, E. R. Silva, R. A. Ando, and W. A. Alves, “L - Diphenylalanine microtubes as a potential drug-delivery system: Characterization, release kinetics, and cytotoxicity,” *Langmuir*, vol. 29, pp. 10205–10212, 2013. Citado na página 22.
- [39] B. B. Koleva, T. Kolev, S. Y. Zareva, and M. Spitteller, “The dipeptide alanylphenylalanine (H-Ala-Phe-OH) - protonation and coordination ability with Au(III),” *Journal of Molecular Structure*, vol. 831, pp. 165–173, 2007. Citado 3 vezes nas páginas 22, 48 e 55.
- [40] Y. Y. Qi, Q. Gan, Y. X. Liu, Y. H. Xiong, Z. W. Mao, and X. Y. Le, “Two new Cu(II) dipeptide complexes based on 5-methyl-2-(2-pyridyl)benzimidazole as potential antimicrobial and anticancer drugs: Special exploration of their possible anticancer mechanism,” *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 154, pp. 220–232, 2018. Citado na página 22.

- [41] C. H. Görbitz, “Nanotube formation by hydrophobic dipeptides,” *Chemistry - A European Journal*, vol. 7, no. 23, pp. 5153–5159, 2001. Citado 7 vezes nas páginas 22, 35, 45, 47, 59, 61 e 64.
- [42] G. Wu, *Amino acids : Biochemistry and Nutrition*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2010. Citado 6 vezes nas páginas 22, 25, 29, 32, 44 e 59.
- [43] M. Ziganshin, A. Bikmukhametova, A. Gerasimov, V. Gorbachuk, S. Ziganshina, and A. Bukharaev, “The effect of substrate and air humidity on morphology of films of L-leucyl-L-leucine dipeptide,” *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*, vol. 50, pp. 49–54, 2014. Citado na página 22.
- [44] S. A. Moggach, C. H. Görbitz, and J. E. Warren, “The effect of pressure on the porous peptide l-alanyl-l-valine,” *CrystEngComm*, vol. 12, pp. 2322–2324, 2010. Citado 3 vezes nas páginas 22, 87 e 94.
- [45] M. A. Ziganshin, A. S. Safiullina, A. V. Gerasimov, S. A. Ziganshina, A. E. Klimovitskii, K. R. Khayarov, and V. V. Gorbachuk, “Thermally Induced Self-Assembly and Cyclization of l -Leucyl- l -Leucine in Solid State,” *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 121, pp. 8603–8610, 2017. Citado na página 22.
- [46] M. A. Ziganshin, A. S. Safiullina, S. A. Ziganshina, A. V. Gerasimov, and V. V. Gorbachuk, “Non-zeolitic properties of the dipeptide l-leucyl-l-leucine as a result of the specific nanostructure formation,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 19, pp. 13788–13797, 2017. Citado na página 22.
- [47] C. H. Görbitz, “L-Leucyl-L-Leucine 2-methyl-1-propanol solvate,” *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, vol. 55, pp. 670–672, 1999. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 60.
- [48] C. H. Görbitz, “Solvent Site Preferences in the Crystal Structures of L-Leucyl-L-Leucine Alcohol Complexes,” 1998. Citado 2 vezes nas páginas 22 e 60.
- [49] S. N. Mitra and E. Subramanian, “Observation of a sterically unfavorable side-chain conformation in a leucyl residue: Crystal and molecular structure of L-leucyl-L-leucine · DMSO solvate,” *Biopolymers*, 1994. Citado na página 22.
- [50] G. Barrett and D. Elmore, *Amino acids and peptides*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2004. Citado 4 vezes nas páginas 24, 25, 27 e 31.
- [51] N. L. Benoiton, *Chemistry of Peptide Synthesis*. Boca Raton: Crc Press, 2006. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 26.
- [52] J. D’Mello, *Amino Acids in Animal Nutrition*, vol. 1. Cambridge, MA: CABI Publishing, 2 ed., 2015. Citado na página 27.

- [53] S. S. Schiffman and H. H. Engelhard, “Taste of dipeptides,” *Physiology and Behavior*, vol. 17, pp. 523–535, 1976. Citado na página 32.
- [54] J. J. Panda and V. S. Chauhan, “Short peptide based self-assembled nanostructures: implications in drug delivery and tissue engineering,” *Polymer Chemistry*, vol. 5, no. 15, p. 4431, 2014. Citado na página 33.
- [55] V. Percec, A. E. Dulcey, V. S. K. Balagurusamy, Y. Miura, J. Smidrkal, M. Peterca, S. Nummelin, U. Edlund, S. D. Hudson, P. A. Heiney, H. Duan, S. N. Magonov, and S. A. Vinogradov, “Self-assembly of amphiphilic dendritic dipeptides into helical pores,” *Nature*, vol. 430, pp. 764–768, 2004. Citado na página 33.
- [56] Y. Sun, J. A. Kaplan, A. Shieh, H.-L. Sun, C. M. Croce, M. W. Grinstaff, and J. R. Parquette, “Self-assembly of a 5-fluorouracil-dipeptide hydrogel,” *Chem. Commun.*, vol. 52, pp. 5254–5257, 2016. Citado na página 33.
- [57] X. Yan, P. Zhu, and J. Li, “Self-assembly and application of diphenylalanine-based nanostructures,” *Chemical Society Reviews*, vol. 39, p. 1877, 2010. Citado na página 33.
- [58] C. Keyes-Baig, J. Duhamel, S. Y. Fung, J. Bezaire, and P. Chen, “Self-assembling peptide as a potential carrier of hydrophobic compounds,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, pp. 7522–7532, 2004. Citado na página 33.
- [59] A. Villa, N. F. van der Vegt, and C. Peter, “Self-Assembling dipeptides: including solvent degrees of freedom in a coarse-grained model,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 11, pp. 2068–2076, 2009. Citado na página 33.
- [60] X. Yan, P. Zhu, and J. Li, “Self-assembly and application of diphenylalanine-based nanostructures,” *Chemical Society Reviews*, vol. 39, p. 1877, 2010. Citado na página 34.
- [61] A. P. Hammersley, “FIT2D: A multi-purpose data reduction, analysis and visualization program,” *Journal of Applied Crystallography*, vol. 49, pp. 646–652, 2016. Citado na página 39.
- [62] P. Thompson, D. E. Cox, and J. B. Hasting, “Rietveld Refinement of Debye-Scherrer Synchrotron X-ray Data from A1203,” *J. Appl. Cryst.*, vol. 20, pp. 79–83, 1987. Citado na página 39.
- [63] Larson A C, “General Structure Analysis System (GSAS),” tech. rep., 1994. Citado 2 vezes nas páginas 39 e 61.

- [64] LNLS, “Visão geral sobre a linha de luz XDS. Disponível em: <<https://www.lnls.cnpem.br/linhas-de-luz/xds/overview/>>. Acesso em: 19, janeiro 2019.” Citado na página 40.
- [65] Michael Lufaso, “High Pressure measurements using a Diamond Anvil Cell and synchrotron XRD with colleagues at UNLV. Disponível em: <<http://www.unf.edu/~michael.lufaso/equip.html>>. Acesso em: 05, janeiro 2019.” Citado na página 40.
- [66] H. K. Mao, J. Xu, and P. M. Bell, “Calibration of the ruby pressure gauge to 800 kbar under quasi-hydrostatic conditions,” *Journal of Geophysical Research*, 1986. Citado 2 vezes nas páginas 39 e 42.
- [67] M. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, “Gaussian09,” 2009. Citado na página 42.
- [68] C. W. Bauschlicher and S. R. Langhoff, “The calculation of accurate harmonic frequencies of large molecules : the polycyclic aromatic hydrocarbons , a case study,” *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, vol. 53, pp. 1225–1240, 1997. Citado 3 vezes nas páginas 42, 51 e 66.
- [69] M. H. Jamróz, “Vibrational energy distribution analysis (VEDA): Scopes and limitations,” *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 114, pp. 220–230, 2013. Citado na página 43.
- [70] J. Heller, D. D. Laws, M. Tomaselli, D. S. King, D. E. Wemmer, A. Pines, R. H. Havlin, and E. Oldfield, “Determination of dihedral angles in peptides through experimental and theoretical studies of alpha-carbon chemical shielding tensors,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 119, pp. 7827–7831, 1997. Citado na página 45.

- [71] C. H. Görbitz, “Nanotubes from hydrophobic dipeptides: pore size regulation through side chain substitution,” *New Journal of Chemistry*, vol. 27, pp. 1789–1793, 2003. Citado na página 47.
- [72] J. Wang, K. Liu, L. Yan, A. Wang, S. Bai, and X. Yan, “Trace Solvent as a Predominant Factor to Tune Dipeptide Self-Assembly,” *ACS Nano*, vol. 10, pp. 2138–2143, 2016. Citado na página 48.
- [73] S. Iglesias, N. Alvarez, M. H. Torre, E. Kremer, J. Ellena, R. R. Ribeiro, R. P. Barroso, A. J. Costa-filho, M. G. Kramer, and G. Facchin, “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*, vol. 139, pp. 117–123, 2014. Citado na página 48.
- [74] J. Tang and A. C. Albrecht, *Raman Spectroscopy - Theory and Practice*, vol. 2. New York: Plenum Press, 1970. Citado na página 51.
- [75] P. Vennila, M. Govindaraju, G. Venkatesh, and C. Kamal, “Molecular structure, vibrational spectral assignments (FT-IR and FT-RAMAN), NMR, NBO, HOMO-LUMO and NLO properties of O-methoxybenzaldehyde based on DFT calculations,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 1111, pp. 151–156, 2016. Citado na página 51.
- [76] N. Sundaraganesan, S. Ilakiamani, H. Saleem, P. M. Wojciechowski, and D. Michalska, “FT-Raman and FT-IR spectra, vibrational assignments and density functional studies of 5-bromo-2-nitropyridine,” *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 61, pp. 2995–3001, 2005. Citado na página 51.
- [77] G. S. Pinheiro, *Propriedades Vibracionais do Dipeptídeo L-Aspartil-L-Alanina em Condições Extremas de Temperatura*. Tese, Universidade Federal do Ceará, 2013. Citado 2 vezes nas páginas 52 e 55.
- [78] J. G. Silva, L. M. Arruda, G. S. Pinheiro, C. L. Lima, F. E. A. Melo, A. P. Ayala, J. M. Filho, and P. T. C. Freire, “The temperature-dependent single-crystal Raman spectroscopy of a model dipeptide: L-Alanyl-L-alanine,” *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 148, pp. 244–249, 2015. Citado na página 55.
- [79] J. G. S. Filho, *Propriedades vibracionais do dipeptídeo L,L-difilalanina sob condições extremas de temperatura e pressão*. Tese, Universidade Federal do Ceará, 2017. Citado na página 55.

- [80] C. H. Görbitz, “An exceptionally stable peptide nanotube system with flexible pores,” *Acta Crystallographica Section B Structural Science*, vol. B58, pp. 849–854, oct 2002. Citado na página 59.
- [81] P. Lucaioli, E. Nauha, I. Singh, and N. Blagden, “First Steps for the Direct Purification of l -Leu- l -Leu Dipeptide through Co-Crystallization,” *Crystal Growth and Design*, vol. 18, pp. 1062–1069, 2018. Citado na página 60.
- [82] D. L. Rousseau, R. Bauman, and S. P. S. Porto, “Normal mode determination in crystals,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 10, pp. 253–290, 1981. Citado 2 vezes nas páginas 64 e 65.
- [83] P. F. Façanha Filho, P. T. Freire, F. E. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P. S. Pizani, and D. Z. Rossatto, “Pressure-induced phase transitions in L-leucine crystal,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 40, pp. 46–51, 2009. Citado 3 vezes nas páginas 67, 71 e 78.
- [84] J. A. Lima, P. T. Freire, R. J. Lima, A. J. Moreno, J. Mendes Filho, and F. E. Melo, “Raman scattering of L-valine crystals,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 36, no. 11, pp. 1076–1081, 2005. Citado na página 67.
- [85] F. M. Almeida, P. T. C. Freire, R. J. C. Lima, C. M. R. Remédios, J. Mendes Filho, and F. E. A. Melo, “Raman spectra of L-isoleucine crystals,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 37, pp. 1296–1301, nov 2006. Citado na página 67.
- [86] E. N. Kolesnik, S. V. Goryainov, and E. V. Boldyreva, “Different behavior of L- and DL-serine crystals at high pressures: Phase transitions in L-serine and stability of the DL-serine structure,” *Doklady Physical Chemistry*, vol. 404, pp. 169–172, 2005. Citado na página 71.
- [87] J. A. Lima, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, and P. S. Pizani, “High pressure Raman spectra of L-methionine crystal,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 39, pp. 1356–1363, oct 2008. Citado 2 vezes nas páginas 71 e 78.
- [88] C. Murli, S. M. Sharma, S. Karmakar, and S. K. Sikka, “ α -Glycine under high pressures: A Raman scattering study,” *Physica B: Condensed Matter*, vol. 339, pp. 23–30, 2003. Citado na página 72.
- [89] R. J. C. Lima, A. M. R. Teixeira, P. T. C. Freire, J. M. Sasaki, A. P. Ayala, F. E. A. Melo, and J. Mendes Filho, “High-pressure Raman study of taurine crystal,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 32, pp. 27–32, jan 2001. Citado na página 73.
- [90] E. A. Belo, J. A. Lima, P. T. Freire, F. E. Melo, J. M. Filho, H. N. Bordallo, and A. Polian, “High-pressure Raman spectra of racemate dl-alanine crystals,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 54, pp. 107–111, 2010. Citado na página 74.

- [91] J. A. Silva, P. T. Freire, J. A. Lima, J. M. Filho, F. E. Melo, A. J. Moreno, and A. Polian, “Raman spectroscopy of monohydrated l-asparagine up to 30 GPa,” *Vibrational Spectroscopy*, vol. 77, pp. 35–39, 2015. Citado 4 vezes nas páginas 74, 75, 80 e 81.
- [92] G. D. Saraiva, J. R. Maia, J. A. Lima, C. E. Nogueira, P. T. Freire, F. F. de Sousa, A. M. Teixeira, and J. Mendes Filho, “Pressure induced transformations in sorbic acid,” *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 184, pp. 327–334, 2017. Citado na página 78.
- [93] F. F. De Sousa, P. T. Freire, A. S. De Menezes, G. S. Pinheiro, L. P. Cardoso, P. Alcantara, S. G. Moreira, F. E. Melo, J. Mendes Filho, and G. D. Saraiva, “Low-temperature phase transformation studies in the stearic acid: C form,” *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 148, pp. 280–288, 2015. Citado na página 78.
- [94] B. A. Kolesov, V. S. Minkov, E. V. Boldyreva, and T. N. Drebuschak, “Phase Transitions in the Crystals of L- and DL-Cysteine on Cooling: Intermolecular Hydrogen Bonds Distortions and the Side-Chain Motions of Thiol-Groups. 1. L-Cysteine,” *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 112, pp. 12827–12839, oct 2008. Citado na página 80.
- [95] A. Authier, *Early Days of X-ray Crystallography*. Oxford: Oxford University Press, 2013. Citado na página 83.
- [96] J. R. Ferraro, K. Nakamoto, and C. W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*. 2 ed ed., 2003. Citado 3 vezes nas páginas 111, 116 e 118.
- [97] B. H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, vol. 8. Stuart2004: Wiley-VCH, 2004. Citado na página 112.
- [98] E. Smith and G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy - A Practical Approach*. Wiley-VCH, 2005. Citado 2 vezes nas páginas 113 e 115.
- [99] B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy-Methods and Applications*. New York: VCH Publishers, 1994. Citado 3 vezes nas páginas 114, 115 e 128.
- [100] D. A. Long, *The Raman Effect: A United Treatment of the Theory of Raman Scattering by Molecules*. John Willey & sons,LTD, 2002. Citado na página 115.
- [101] G. M. de Oliveira, *Simetria de Moléculas e Cristais : Fundamentos da espectroscopia vibracional*. Porto Alegre: Bookman, 2009. Citado na página 119.
- [102] B. Cullity, *Elements of X-Ray Diffraction*. Massachussts: Addison-Wesley Publishing Company, 1956. Citado na página 121.

- [103] R. Jenkins and R. L. Snyder, *Introduction to X-ray Powder Diffractometry*. New York: John Wiley & Sons, Ltd, 2005. Citado 2 vezes nas páginas 121 e 123.
- [104] W. Koch and M. C. Holthausen, *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, vol. 3. Wiley-VCH, 2 ed., 2001. Citado 2 vezes nas páginas 126 e 127.
- [105] P. Hohenberg and W. Kohn, "Inhomogeneous Electron Gas," *Physical Review B*, vol. 136, pp. 864—871, 1964. Citado 2 vezes nas páginas 126 e 127.
- [106] M. Born and R. Oppenheimer, "Zur Quantentheorie der Molekeln," *Annalen der Physik*, vol. 389, pp. 457–484, 1927. Citado na página 127.
- [107] W. Kohn and L. J. Sham, "Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects," *Phys. Rev.*, vol. 140, pp. 1133–1138, 1965. Citado na página 127.
- [108] A. D. Becke and R. M. Dickson, "Numerical solution of Schrödinger's equation in polyatomic molecules," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 92, pp. 3610–3612, 1990. Citado na página 127.
- [109] C. Lee, W. Yang, and R. G. Parr, "Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density," *Physical Review B*, vol. 37, pp. 785–789, 1988. Citado na página 127.
- [110] S. F. Sousa, P. A. Fernandes, and M. J. Ramos, "General performance of density functionals," *Journal of Physical Chemistry A*, vol. 111, pp. 10439–10452, 2007. Citado na página 127.

APÊNDICE A – Aspectos teóricos da espectroscopia vibracional

A configuração de uma molécula consiste de um grupo de átomos interligados por meio de ligações covalentes/iônicas as quais pode-se atribuir uma certa elasticidade. Como resultado, elas podem apresentar movimentos periódicos, com graus de liberdade vibracionais. Os movimentos relativos de cada átomo em relação aos outros, em que todos os átomos estão vibrando com a mesma fase e mesma frequência são chamados modos normais de vibração. Moléculas poliatômicas com N átomos possuem $3N-6$ modos normais de vibração (para uma molécula linear tem-se $3N-5$).

Um espectro é uma espécie de impressão digital de um composto químico, que dependem da massa dos átomos, de seus arranjos geométricos e da força de suas ligações químicas, ou seja, cada substância fornecerá um espectro singular. Os agregados moleculares tais como cristais ou complexos comportam-se como “super moléculas” nas quais as vibrações dos componentes individuais são acopladas.

Hoje são conhecidos inúmeros métodos espectroscópicos com diferentes finalidades. Neste trabalho estamos interessados sobretudo nas propriedades vibracionais e estruturais de substâncias orgânicas, e para isso utilizamos duas técnicas espectroscópicas: a espectroscopia Raman e a espectroscopia infravermelho (IR), em conjunto com cálculos computacionais. Os espectros infravermelho e Raman são importantes ferramentas para o estudo de espectros vibracionais. Dependendo da natureza da vibração, que é determinada pela simetria da molécula, as vibrações podem ser ativas ou proibidas no espectro infravermelho ou Raman. Portanto, os espectros mostram certas bandas, isto é, vibrações características, que são típicas de grupos particulares de átomos e que são definidas por intervalos de frequência e intensidades no espectro IR e Raman, bandas que podem ser muito intensas no Raman e pouco intensas ou não aparecerem no infravermelho, e vice-versa. As intensidades das bandas no espectro de uma mistura são proporcionais a concentração dos componentes individuais, assim é possível determinar a concentração de uma substância ou efetuar uma análise de vários componentes. Os espectros podem ser registrados em qualquer estado (sólido, líquido ou gasoso) e podem ser obtidos de uma forma não destrutiva. Depois de os espectros terem sido registrados, a amostra pode ser recuperada e utilizada para outros fins.

A.1 Vibrações moleculares

O modelo mais simples de uma vibração molecular pode ser descrita por um átomo de massa muito grande ligado a uma mola sem peso (Fig. A.1 (a)). A força \mathbf{F} que é necessária para mover o átomo a uma certa distância x de uma posição de equilíbrio é proporcional à constante de força f , que neste caso está relacionado com o tipo de ligação entre os átomos da molécula [96]. Conforme a lei de Hooke, $F = -f \cdot x$. O sinal negativo indica que a força é restauradora, ou seja, tem direção oposta ao alongamento. De acordo com a lei de Newton, a força é também proporcional à massa m e à aceleração (a segunda derivada da posição com relação ao tempo t), $F = m \cdot \frac{d^2x}{dt^2}$, de forma que podemos escrever:

$$m \cdot \frac{d^2x}{dt^2} = -f \cdot x. \quad (\text{A.1})$$

Esta equação diferencial de segunda ordem tem como solução: $x = x_0 \cdot \cos(2\pi\nu t + \alpha)$, descrevendo o movimento do átomo como um oscilador harmônico, onde ν é a frequência da radiação incidente e α é o ângulo de fase. A segunda derivada dessa solução com relação ao tempo, é dada por,

$$\frac{d^2x}{dt^2} = -4\pi^2\nu^2 x_0 \cos(2\pi\nu t + \alpha) = -4\pi^2\nu^2 x, \quad (\text{A.2})$$

substituindo na equação A.1, teremos como resultado:

$$4\pi^2\nu^2 m = f \quad \text{ou} \quad \nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{f}{m}}. \quad (\text{A.3})$$

Esta é a frequência de vibração de uma massa muito grande, conectada por uma mola elástica sem peso. Se da mesma forma considerarmos uma molécula diatômica, com átomos de massa m_1 e m_2 conforme a Fig. A.1(b), teremos:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{f \left(\frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2} \right)}, \quad (\text{A.4})$$

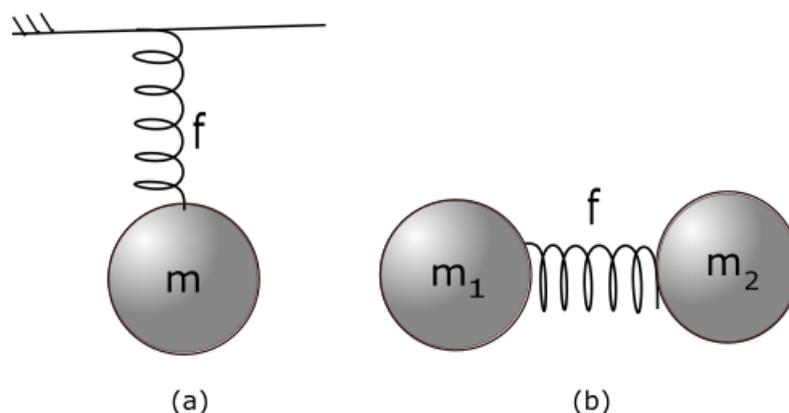
descrevendo a frequência de vibração de uma molécula diatômica.

A equação A.4 fornece a frequência da vibração ν em Hz (s^{-1}). Em espectroscopia vibracional, é comum medir “frequências” em número de onda $\tilde{\nu}$ (ondas por unidade de comprimento), que é o inverso do comprimento de onda λ ($\tilde{\nu} = \nu/c = 1/\lambda$).

Se as unidades de massa atômica são empregadas e as constantes de força são medidas em N/cm ($= \text{mdina}/\text{Å}$), a frequência de uma vibração de uma molécula diatômica é dada por:

$$\frac{\tilde{\nu}}{cm} = 1303 \sqrt{f \left(\frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_2} \right)}. \quad (\text{A.5})$$

Figura A.1 – Representação de um sistema massa mola.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

Um grupo C-H com massas atômicas de 12 e 1 unidade, respectivamente, em que os átomos estão conectados por uma ligação com uma constante de força f de 5 N/cm, nos fornece um número de onda de $\tilde{\nu} = 3033 \text{ cm}^{-1}$. Este valor nos dá uma noção da região em que um estiramento C-H estará localizado no espectro [97].

Para moléculas poliatômicas a frequência das vibrações normais podem ser calculadas aplicando a equação de Lagrange para expressões da energia cinética e potencial da molécula.

O número teórico de vibrações fundamentais raramente é observado, pois, alguns fatores reduzem o número de bandas como, por exemplo bandas com intensidades muito fracas para serem observadas, vibrações fundamentais tão próximas que se juntam no espectro, ocorrência de bandas degeneradas provenientes de várias absorções de mesma frequência em moléculas de alta simetria, entre outras [97].

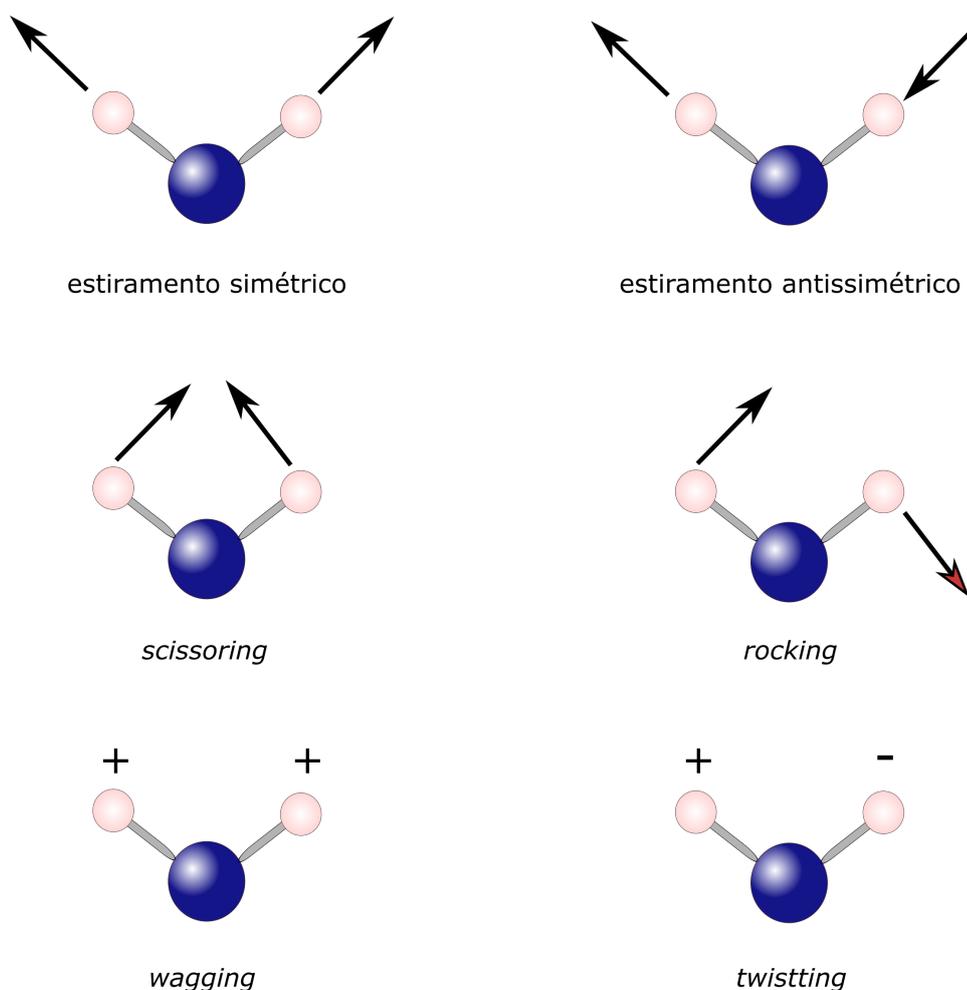
A.1.1 Tipos de vibrações moleculares

As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformações axiais que é um movimento ao longo do eixo de ligação, fazendo com que as distâncias interatômicas variem, e deformações angulares que correspondem às vibrações que envolvem átomos ligados formando um ângulo entre si, ou de um grupo de átomos em relação ao restante da molécula, podendo ser de diferentes tipos: estiramento (ou *stretching*), flexão ou dobramento (*bending*) e torção.

Na vibração do tipo estiramento ocorre alteração no comprimento da ligação entre os átomos, podendo ser do tipo estiramento simétrico (ocorre quando os átomos se estiram e se contraem em fase) e estiramento antissimétrico (ocorre quando os átomos se estiram e se contraem fora de fase).

As flexões ou dobramentos são identificados como modificações vibracionais cuja direção é perpendicular à ligação entre os átomos. Neste caso existem as seguintes nomenclaturas: i) *rocking* ou oscilação, os átomos oscilam em fase no mesmo plano; ii) *scissoring* ou corte, caracteriza-se como um movimento dos átomos na direção da mudança de ângulo, mantendo-se no plano; iii) *wagging* ou balanço em fase, os átomos movimentam-se em fase para fora do plano molecular; iv) *twisting* ou balanço fora de fase, os átomos movimentam-se para fora do plano molecular para lados opostos alternadamente [98]. A Fig. A.2 ilustra os tipos de vibrações mencionados acima.

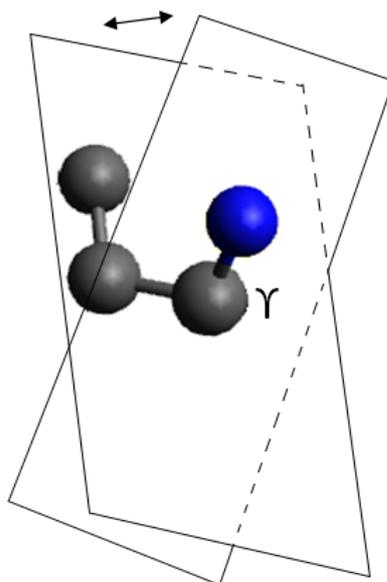
Figura A.2 – Diferentes tipos de vibrações moleculares.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

Nas torções os ângulos e as distâncias atômicas praticamente não se alteram, e os átomos giram em torno de um eixo que passa pelo centro da molécula. Para esse tipo de vibração é necessário um mínimo de 4 átomos. Um exemplo de torção está ilustrado na Fig. A.3.

Figura A.3 – Vibrações do tipo torção.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

A Tab. A.1 (anexo A) mostra algumas frequências características e suas respectivas regiões de número de onda (aproximadamente) de grupos em compostos orgânicos [99].

Vibrações do tipo estiramento de átomos com diferentes valores de eletronegatividade são modulados pelo momento de dipolo, mostrando bandas fortes no infravermelho. Vibrações de ligações entre átomos iguais mostram bandas de intensidades muito fracas, entretanto, elas são moduladas pela polarizabilidade e, portanto, mostram bandas fortes no Raman.

A.2 O espectro Raman

A espectroscopia Raman consiste em linhas gerais na análise da luz espalhada, após a interação de um feixe de luz monocromática com um dado material.

Quando uma molécula é exposta a um campo elétrico externo, elétrons e núcleos são forçados a se mover em direções opostas, dessa forma, é induzido um momento de

dipolo que é proporcional à intensidade do campo elétrico aplicado. A capacidade de formação de um momento de dipolo induzido pela radiação está associado a chamada polarizabilidade molecular α [98]. A vibração só pode ser observada no espectro Raman se houver uma variação da polarizabilidade molecular com a coordenada normal de vibração, ou seja,

$$\left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right) \neq 0. \quad (\text{A.6})$$

Se um quanta de luz $h\nu_0$ de luz atinge uma molécula, a maior parte sofre um espalhamento elástico [100]. Mas, em contrapartida, uma pequena fração dessa radiação sofrerá um espalhamento inelástico, que é o chamado espalhamento Raman.

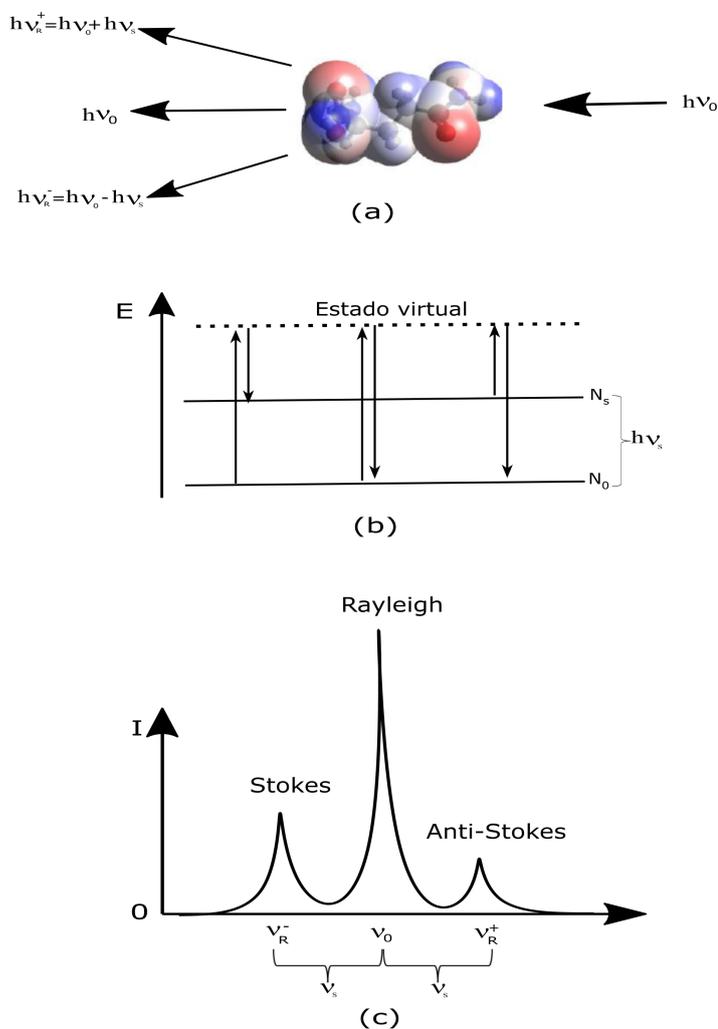
Acredita-se que quando o sistema interage com a radiação incidente de frequência ν_0 , ele deve sofrer uma transição, primeiramente indo para um estado virtual. Como os estados excitados têm tempo de vida muito curto, logo após a interação o sistema tende a decair, podendo voltar para o mesmo estado de energia $h\nu_0$, ou ir para um nível de maior energia, ou ainda ir para um de menor energia nos casos em que o mesmo já estiver em um estado excitado. No segundo caso, ocorre aniquilação de um fóton da radiação incidente de energia $h\nu$ e a simultânea criação de um fóton de menor energia, $h(\nu_0 - \nu_s)$; a este processo dá-se o nome de espalhamento Raman Stokes. No terceiro caso, ocorre a aniquilação de um fóton da radiação incidente de energia $h\nu_0$ e a simultânea criação de um fóton de energia maior $h(\nu_0 + \nu_s)$, este processo é classificado como espalhamento Raman anti-Stokes. O espalhamento sem mudança de frequência é chamado espalhamento *Rayleigh* [98].

No espectro da radiação espalhada as novas frequências são denominadas linhas Raman ou bandas, que coletivamente constituem o espectro Raman. Bandas Raman de frequências menores do que as frequências incidentes do tipo $\nu_0 - \nu_s$ são chamadas bandas Stokes, e aquelas de frequências maiores do que a frequência incidente do tipo $\nu_0 + \nu_s$ como bandas anti-Stokes. A Fig. A.4 ilustra os princípios do espalhamento Raman. Podemos notar que as bandas Stokes são muito mais intensas que as bandas anti-Stokes e que tendo como referência a banda do espalhamento *Rayleigh*, as bandas Stokes e anti-Stokes são simétricas. A Fig. A.4 ilustra o princípio do espalhamento Raman [99].

A diferença entre a intensidade do efeito Stokes, que é muito superior a do efeito anti-Stokes, faz com que habitualmente se trabalhe somente com o efeito Stokes e, por comodidade, se situe o resultado na parte positiva do eixo.

O espalhamento Raman, por si, não depende da frequência da radiação incidente, embora a intensidade espalhada sim. Isso se deve ao fato de que a frequência depende apenas dos estados de energia final e inicial da molécula. Por fim, estes estados são também relacionados a estados de vibrações (modos normais) [100]. A luz espalhada que

Figura A.4 – Princípio do espalhamento Raman: (a) quanta de energia interage com a molécula; (b) a radiação incidente de leva a molécula transição de estados; e (c) espectro Raman, mostrando as linhas de espalhamento Rayleigh, Stokes e Anti-stokes.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

apresenta números de ondas distintos da radiação incidente $\nu = \nu_0 \pm \nu_s$ é a que proporciona informações sobre a composição molecular da amostra, características de natureza química e do estado físico. Cada molécula tem um conjunto de valores ν_s característicos de sua estrutura poliatômica e da natureza da interação química que as formam [96].

Toda molécula tem um momento de dipolo intrínseco ou efetivo. Entretanto, quando o campo elétrico da radiação incidente interage sobre a molécula, teremos o aparecimento de um novo momento de dipolo induzido pela radiação [96]. Esse momento de dipolo \mathbf{P} apresenta uma relação linear com o campo elétrico de radiação incidente, de acordo com a expressão

$$\vec{P} = \alpha \vec{E}, \quad (\text{A.7})$$

onde α é a polarizabilidade molecular, uma propriedade intrínseca de cada sistema físico, mas que somente se manifesta quando há interação da radiação eletromagnética com o composto em questão. A polarizabilidade pode ser considerada como a medida da facilidade com que os elétrons podem se deslocar para produzir um dipolo elétrico sob a ação de um campo elétrico, sendo que α é uma constante de proporcionalidade, que descreve uma propriedade molecular relacionada à deformação de uma ligação em um campo elétrico \vec{E} que pode ser escrito pela equação:

$$\vec{E} = \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t). \quad (\text{A.8})$$

Assim, quando o campo elétrico da radiação interage com uma nuvem eletrônica de uma ligação da amostra, temos, ao substituir A.8 em A.7 a seguinte equação:

$$\vec{P} = \alpha \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t). \quad (\text{A.9})$$

Para ser ativa no Raman, a polarizabilidade α de uma ligação precisa variar em função da distância entre os núcleos. Expandindo a função polarizabilidade em torno da posição de equilíbrio do sistema, temos:

$$\alpha \approx \alpha_0 + (q - q_{eq}) \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right), \quad (\text{A.10})$$

sendo que α_0 é a polarizabilidade da ligação na distância internuclear de equilíbrio (q_{eq}) e a separação internuclear em qualquer instante é q (os termos de ordem superior são desprezíveis). A variação na separação internuclear se altera com a frequência vibracional ν_s sendo dada por, $q - q_{eq} = q_0 \cos(2\pi\nu_s t)$, onde q_0 é a separação internuclear máxima relativa à posição de equilíbrio. Assim, a equação A.10 fica sendo:

$$\alpha \approx \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) q_0 \cos(2\pi\nu_s t). \quad (\text{A.11})$$

Podemos então, obter uma expressão para o momento dipolar induzido \vec{P} substituindo a equação A.11 na A.9:

$$\begin{aligned} \vec{P} &= \left[\alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) q_0 \cos(2\pi\nu_s t) \right] \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t), \\ \vec{P} &= \alpha_0 \vec{E}_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \vec{E}_0 q_0 \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) \cos(2\pi\nu_s t) \cos(2\pi\nu_0 t). \end{aligned}$$

Aplicando a identidade trigonométrica $\cos x \cos y = [\cos(x + y) + \cos(x - y)]/2$ obtemos:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{E_0 q_0}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) \cos[2\pi(\nu_v + \nu_0)t] + \frac{E_0 q_0}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) \cos[2\pi(\nu_v - \nu_0)t]. \quad (\text{A.12})$$

O espalhamento Raman exige que a polarizabilidade de uma ligação varie em função da distância, isto é, $\frac{\partial \alpha}{\partial q}$ na equação A.12 precisa ser maior que zero para que as linhas Raman apareçam. Observando os termos da equação A.12 vemos que no primeiro termo não temos variação de frequência, este termo, portanto, representa o espalhamento *Rayleigh*, no segundo termo temos um acréscimo na frequência e este representa o espalhamento Raman anti-Stokes, no terceiro termo temos um decréscimo na frequência representando o espalhamento Raman Stokes [96].

Embora este tratamento clássico forneça uma informação correta acerca do exigido para uma transição Raman, ele não nos fornece todas as informações. Os estados envolvidos na transição devem satisfazer outro requisito relativo a sua simetria.

De uma maneira geral, as componentes do momento de dipolo induzido e as componentes do vetor campo elétrico estão relacionadas a partir da equação A.7. Matricialmente, esta equação toma a forma:

$$\begin{bmatrix} P_x \\ P_y \\ P_z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{bmatrix}$$

No efeito Raman normal, as componentes α_{ij} que relacionam os dois vetores \vec{P} e \vec{E} formam um tensor simétrico, portanto, $\alpha_{ij} = \alpha_{ji}$. Para a polarizabilidade da molécula, a expressão que corresponde ao momento de transição do dipolo se escreve como

$$\alpha_{if} = \int \psi_i \alpha \psi_f d\tau, \quad (\text{A.13})$$

onde ψ_i e ψ_f correspondem as funções de ondas dos estados inicial e final envolvidos na transição, respectivamente.

É possível escrever, para cada transição entre os estados vibracionais i e f descritos acima, as componentes $(\alpha_{ij})_{if} = \int \psi_i \alpha_{ij} \psi_f d\tau$, são seis integrais da forma acima e para haver atividade no Raman pelo menos uma das componentes destas seis integrais deve, necessariamente, ser diferente de zero. Substituindo a equação A.10 em A.13 e chamando $(q - q_{eq})$ de q_s , teremos:

$$\alpha_{if} = \int \psi_i \left[\alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) q_s + \dots \right] \psi_f d\tau,$$

$$\alpha_{if} = \alpha_0 \int \psi_i \psi_f d\tau + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) \int \psi_i q_s \psi_f d\tau. \quad (\text{A.14})$$

O primeiro termo é igual a zero devido a ortogonalidade dos estados ψ_i e ψ_f . Assim, para que a expressão (A.14) seja diferente de zero é necessário que $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right) \neq 0$, o resultado obtido classicamente, e $\int \psi_i q_s \psi_f d\tau \neq 0$, resultado obtido somente por meio do tratamento quântico. O último termo implica que somente há uma polarizabilidade de transição para determinadas transições selecionadas. É o que chamamos de regra de seleção. Para que essa integral seja diferente de zero é necessário que o integrando seja uma função totalmente simétrica, o que implica, em termos de Teoria de Grupos, que o estado final da transição deva ter uma simetria igual a da coordenada normal q_s [101].

A.3 O espectro infravermelho

De acordo com a mecânica quântica, a molécula pode absorver uma quantidade de energia $h\nu_s$ para atingir o primeiro estado excitado. Os quanta de luz na região do infravermelho com um comprimento de onda de 2,5 ... 1000 μm possuem energia de $h\nu = hc\tilde{\nu}$ com $\tilde{\nu} = 4000 \dots 10 \text{ cm}^{-1}$. A molécula que é irradiada com um espectro contínuo de radiação infravermelho pode absorver quanta de luz que tem essa energia. O espectro de radiação remanescente mostra uma banda de absorção de frequência ν_s .

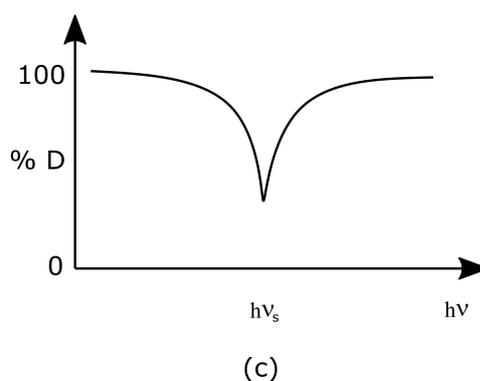
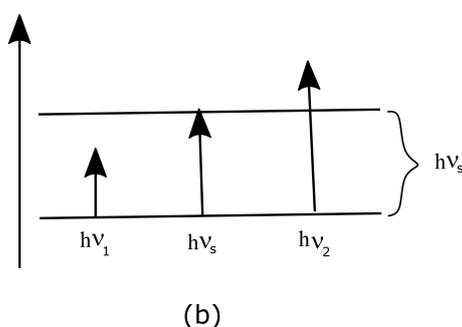
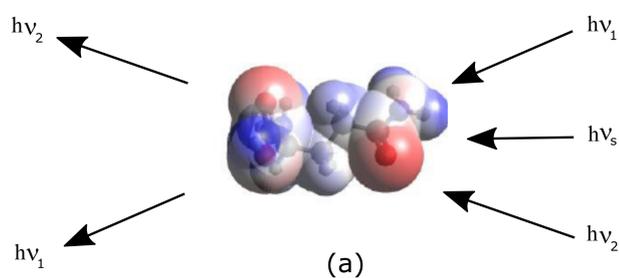
A interação da radiação infravermelha com uma molécula arbitrária só é possível se o vetor campo elétrico da radiação oscila com a mesma frequência do momento de dipolo da molécula, ou seja, uma vibração é ativa no infravermelho se o momento de dipolo molecular é modulado pela vibração normal,

$$\left(\frac{\partial \mu}{\partial q} \right) \neq 0, \quad (\text{A.15})$$

onde μ é o momento de dipolo molecular e q representa a coordenada normal que descreve o movimento dos átomos durante uma vibração normal.

O espectro infravermelho é habitualmente registrado através da medição da transmitância de quanta de luz com uma distribuição contínua da amostra. As frequências das bandas de absorção ν_s são proporcionais à diferença de energia entre o estado fundamental (menor energia) e os estados excitados. A Fig. A.5 mostra o princípio de absorção no infravermelho. O espectro pode ser obtido pegando a quantidade de radiação absorvida em função do número de onda da radiação. Uma absorção envolve a transição da molécula de um nível de energia menor (E_1) para um nível mais elevado (E_2). Quando a energia da radiação for igual à diferença de energia entre esses níveis, ocorrerá então absorção.

Figura A.5 – Princípio de absorção no infravermelho: (a) quanta de energia $h\nu_1$, $h\nu_s$ e $h\nu_2$ interagem com a molécula, e somente $h\nu_s$ é absorvido; (b) diagrama de energia ilustrando as possíveis diferenças de energia entre os estados e os quanta de energia; e (c) espectro de absorção no infravermelho.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

O espectro infravermelho é característico da molécula como um todo, mas certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem na mesma frequência independente da estrutura da molécula. Esse importante fato tem auxiliado bastante na identificação de estruturas.

APÊNDICE B – Difração de raios-X

A região dos raios-X é normalmente considerada como sendo a parte do espectro eletromagnético situada entre 0,1 a 100 Å, sendo limitada pela região de raios- γ de curto comprimento de onda e região dos raios ultravioleta de longo comprimento de onda. Em termos de energia, a região dos raios-X cobre o intervalo de 0,1 a 100 keV [102].

A radiação X surge quando a matéria é irradiada por um feixe de partículas carregadas de alta energia ou fótons. Quando um elemento é bombardeado por elétrons, o espectro obtido é semelhante ao ilustrado na Fig. B.1, que ilustra as principais características do espectro que seria obtido a partir de um tubo de raios-X. O espectro consiste de uma banda larga de radiação contínua (radiação branca ou *bremsstrahlung*) a qual são sobrepostas comprimentos de ondas discretos de intensidade variável [103]. A radiação contínua é produzida quando os elétrons de alta energia são desacelerados pelos elétrons do elemento alvo. O espectro contínuo é tipificado por um comprimento de onda mínimo (λ_{min}), que está relacionado ao potencial máximo de aceleração V dos elétrons. Toda radiação eletromagnética é caracterizada pelo seu caráter ondulatório usando seu comprimento de onda, sua frequência ou por meio de sua energia E [102]. As seguintes equações apresentam as relações entre essas quantidades:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad e \quad E = h\nu, \quad (\text{B.1})$$

onde c é a velocidade da luz e h é a constante de Plank. Da combinação das equações em B.1, segue-se o equivalente da energia de um fóton:

$$E = \frac{hc}{\lambda}. \quad (\text{B.2})$$

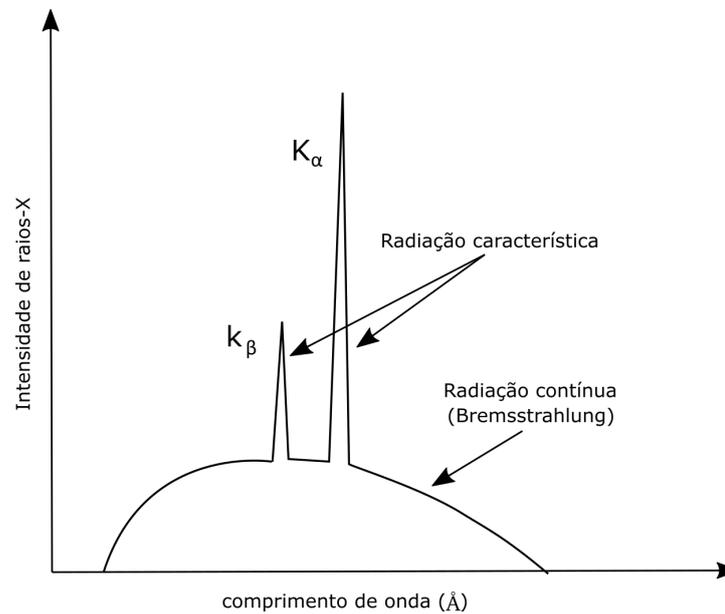
Inserindo os valores apropriados para as constantes fundamentais dadas, temos:

$$E = \frac{12,398}{\lambda}, \quad (\text{B.3})$$

onde E está em keV e λ em Å (Angstroms). Por exemplo, o duplete de C_u (K_{α_1} e K_{α_2}) tem uma energia de cerca de 8,05 keV correspondendo a um comprimento de onda de $\lambda = 12,398/8,05 = 1,541$ Å.

Também podemos ver da Fig. B.1 que aparecem linhas estreitas sobrepostas ao espectro contínuo. Estas linhas foram denominadas por Moseley como comprimentos de onda característicos, uma vez que seus valores são únicos para cada elemento alvo.

Figura B.1 – O espectro de um tubo de raios-X tem linhas fluorescentes discretas sobrepostas na radiação contínua de *bremsstrahlung*.

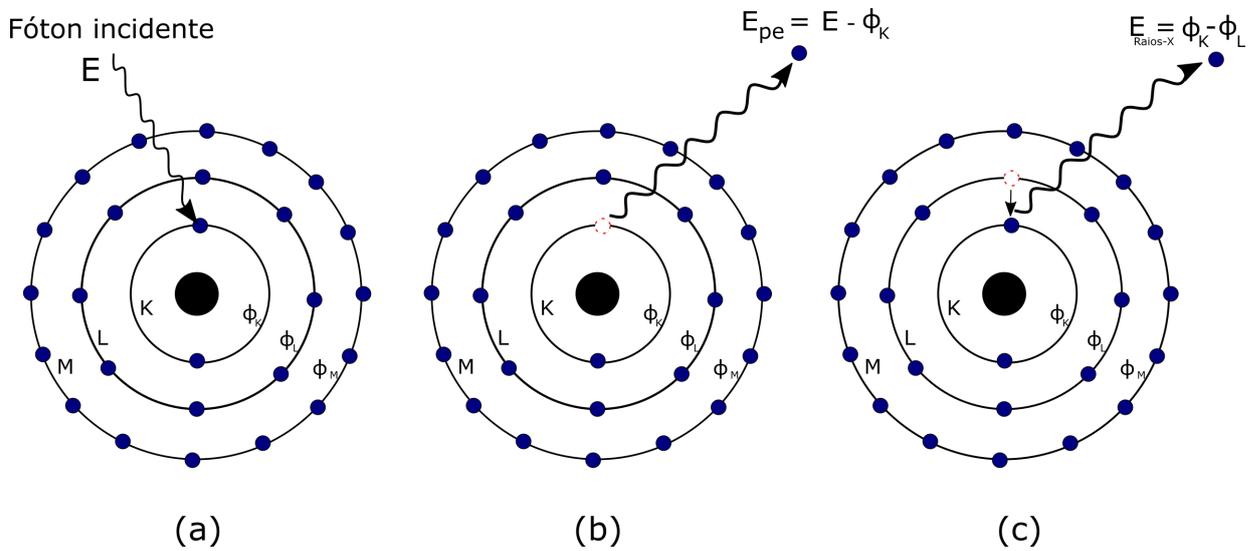


Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

O processo pelo qual a radiação característica é produzida em um tubo de raios-X são baseados em interações entre os elétrons do átomo alvo e as partículas incidentes, que podem ser elétrons, raios-X, raios- γ ou prótons. Cada um produzirá efeitos similares se a energia da partícula for maior que a energia que liga o elétron ao núcleo. O elétron do átomo alvo pode ser removido de sua posição atômica original deixando o átomo em um estado ionizado. O elétron livre, chamado fotoelétron, deixará o átomo com uma energia $E - \phi_e$, igual a diferença entre a energia (E) do fóton incidente e a energia de ligação ϕ_e , do elétron. A Fig. B.2 mostra os processos básicos envolvidos em uma interação fotoelétrica. A Fig. B.2 (a) mostra um átomo com seus vários níveis de energia ϕ_K , ϕ_L , ϕ_M , etc, e incidindo sobre ele um fóton de energia E . A Fig. B.2 (b) mostra o fotoelétron ejetado saindo do átomo com uma energia igual a $E - \phi_K$. Esse processo cria uma vacância no átomo, neste caso com uma energia equivalente a ϕ_K . Um dos processos pelos quais essa vaga pode ser preenchida é transferindo um elétron do orbital externo para preencher seu lugar, como ilustrado na Fig. B.2 (c). Associada a esta transferência de elétrons (e subsequente redução da energia ionizada do átomo) produzirá um fóton de raios-X com uma energia $E_{\text{raios-X}}$ igual a $\phi_K - \phi_L$, chamado de fóton K_{α} .

A radiação característica surge do rearranjo dos elétrons orbitais do elemento alvo após a ejeção de um ou mais elétrons no processo de excitação. Como todo nível de energia tem uma energia de ligação única, cada elemento terá um conjunto único de energias de

Figura B.2 – Processos básicos envolvidos na difração de raios-X.

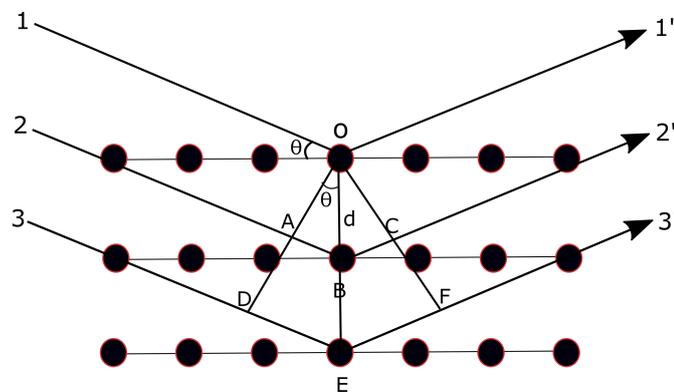


Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

ligação e as diferenças de estado de energia também serão únicas [103].

Um cristal tem muitas relações periódicas tridimensionais entre os átomos que o compõem. Assim, um cristal pode difratar uma onda monocromática em várias direções no espaço tridimensional. Em 1903, Willian Henry Bragg e seu filho Willian Lawrence Bragg desenvolveram uma maneira alternativa de entender os fenômenos de difração em um cristal usando algumas analogias [103]. A Fig B.3 mostra três planos cristalográficos que podem ser descritos com índices de Miller (hkl).

Figura B.3 – Analogia ótica com planos cristalográficos refletindo raios-X.



Fonte: Produzida pelo autor utilizando o *software* Inkscape da Software Freedom Conservancy.

A analogia vê os feixes de raios-X incidentes vindo da esquerda e refletindo de cada um dos planos da família. Se assumirmos que as ondas refletem de cada plano da família, cada onda refletida do segundo plano deve percorrer uma distância ABC a mais que a onda refletida do plano superior. Da mesma forma, a onda refletida do terceiro plano deve percorrer a distância DEF a mais. Assim, todas as ondas refletindo de planos abaixo da superfície serão retardadas pela fase em relação a primeira onda, causando interferência. A geometria plana mostra que quando a distância ABC é exatamente igual a um comprimento de onda (λ), a distância DEF será igual a 2λ e a reflexão de todos os planos em qualquer profundidade no cristal emergirá em fase, produzindo a interferência construtiva conhecida como difração. A conhecida equação de Bragg segue prontamente a partir de uma análise do triângulo retângulo OAB. A distância AB pode ser obtida tomando o seno de θ :

$$AB = d_{hkl} \text{sen} \theta. \quad (\text{B.4})$$

Quando a difração ocorre ($ABC = \lambda$) então a equação de Bragg resulta

$$\lambda = 2d_{hkl} \text{sen} \theta. \quad (\text{B.5})$$

De fato, todas as ondas que penetram mais profundamente no cristal também terão um atraso de fase de um múltiplo integral de comprimento de onda, de modo que todas as ondas emergentes no ângulo de Bragg estarão em fase. Neste desenvolvimento da equação de Bragg assumiu-se que os raios-X incidentes estão em fase e que refletem a partir de planos imaginários.

B.1 Radiação síncrotron

Radiação síncrotron é o nome dado à radiação que ocorre quando as partículas carregadas são aceleradas em um caminho curvo ou órbita. Para produzir radiação síncrotron é necessário manter elétrons viajando em velocidades próximas à da luz. Ao terem sua trajetória desviada por campos magnéticos essas partículas emitem luz síncrotron. Classicamente, qualquer partícula carregada que se mova em um caminho curvo ou seja acelerada em um caminho linear emitirá radiação eletromagnética.

Particularmente, na aplicação a aceleradores de partículas circulares como os síncrotron, onde as partículas carregadas são aceleradas a velocidades muito altas, a radiação é referida como radiação síncrotron. Essa energia irradiada é proporcional à quarta potência da velocidade da partícula e é inversamente proporcional ao quadrado do raio do caminho. A fórmula clássica para o poder irradiador de um elétron acelerado é:

$$I = \frac{2Ke^2}{3c^3} a^2. \quad (\text{B.6})$$

Para uma órbita circular não relativística, a aceleração é apenas a aceleração centrípeta (v^2/r). As órbitas de interesse em aceleradores são altamente relativistas, então a aceleração relativística pode ser obtida a partir de:

$$a = \frac{1}{m} \frac{dp}{d\tau} = \frac{1}{m} \gamma \frac{d(\gamma mv)}{dt} = \gamma^2 \frac{dv}{dt} = \gamma^2 \frac{v^2}{r}, \quad (\text{B.7})$$

onde $\tau = t/\gamma$ e $\gamma = 1/\sqrt{1 - \frac{v^2}{c^2}}$.

A potência irradiada é então:

$$I = \frac{2Ke^2}{3c^3} \left[\gamma^2 \frac{v^2}{r} \right]^2 = \frac{2Ke^2 \gamma^4 v^4}{3c^3 r^2}. \quad (\text{B.8})$$

Como a velocidade se torna quase constante para partículas altamente relativísticas, o termo γ^4 se torna a variável dominante na determinação da taxa de perda. Isto significa que a perda é escalada como a quarta potência da energia da partícula mc^2 . Para um acelerador como um síncrotron, o raio é fixo após a construção, mas a dependência inversa da perda de radiação síncrotron no raio defende a construção do acelerador o maior possível.

As fontes de luz síncrotron são compostas por um acelerador linear – ou Linac, um acelerador injetor – ou Booster – e um anel de armazenamento. Após sua produção nos aceleradores, a luz síncrotron é guiada para as estações experimentais, chamadas linhas de luz, instaladas ao redor do anel de armazenamento. É nas linhas de luz que a radiação passa pelas amostras a serem analisadas, possibilitando as medições experimentais. As fontes de luz síncrotron comportam diversas linhas de luz, e nelas são realizados experimentos usando diferentes técnicas, como espectroscopia infravermelho ao raios-X, espalhamento de raios-X, cristalografia, tomografia, dentre outras.

A versatilidade das fontes de luz síncrotron permite o estudo da matéria nas suas mais variadas formas e aplicações em praticamente todas as áreas do conhecimento científico e tecnológico, como Física, Química, Engenharia dos Materiais, Nanotecnologia, Biotecnologia, Farmacologia, Medicina, Geologia e Geofísica, Agricultura, Oceanografia, Petróleo e gás, Paleontologia e muitas outras.

APÊNDICE C – Teoria do Funcional de Densidade (DFT)

A Teoria do Funcional de Densidade - DFT (do inglês, *Density Functional Theory*) é uma das abordagens quânticas mais populares e bem sucedidas da matéria. Tem sido usada para estudar a estrutura eletrônica (principalmente do estado fundamental) de sistemas de muitos corpos, em particular átomos, moléculas e sólidos. Com essa teoria, as propriedades de um sistema de muitos elétrons podem ser determinadas usando-se funcionais, isto é, funções da densidade eletrônica [104].

O formalismo DFT foi concebido em sua versão inicial e aproximativa por Thomas e Fermi, imediatamente após a fundação da Mecânica Quântica em 1927 [104]. Em meados dos anos 60, Hohenberg, Kohn e Sham, por outro lado, estabeleceram uma teoria do funcional de densidade a partir dos teoremas de Hohenberg e Kohn (1964) [105]. Eles demonstraram que, em princípio, a densidade eletrônica contém toda a informação que pode ser obtida da função de onda do sistema. O funcional de densidade pode ser resumida pela seguinte sequência:

$$\rho(\vec{r}) \Rightarrow \psi(r_1, r_2, \dots, r_N) \Rightarrow V(\vec{r}). \quad (\text{C.1})$$

O conhecimento da $\rho(\vec{r})$ implica conhecimento da função de onda e do potencial, e, portanto, de todos os outros observáveis. Essa sequência descreve a estrutura conceitual da DFT.

De um modo mais geral, um funcional $f[n]$ pode ser entendido como uma regra para ir de uma função para um número, como uma função $y = f(x)$ é uma regra (f) para ir de um número x para um número y . De certa forma, um funcional é uma função de uma função. Um exemplo simples de um funcional é o número de partículas:

$$N = \int dr^3 \rho(\vec{r}) = N[\rho], \quad (\text{C.2})$$

que é uma regra para obter um número N dada a função $\rho(\vec{r})$.

Hohenberg e Kohn provaram que todas as grandezas físicas que podem ser medidas em um sistema, são unicamente determinadas por $\rho(\vec{r})$, que é a densidade eletrônica do sistema. Além disso, o estado fundamental do sistema pode ser encontrado minimizando a energia total em função da densidade. Como a energia total é um observável, podemos escrevê-la em termos de $\rho(\vec{r})$, isto é, $E[\rho]$. Minimizando este funcional, obtemos o estado

fundamental do sistema e a sua densidade. Por sua vez, a partir desta densidade podemos calcular qualquer outra propriedade [105].

A DFT tornou-se bastante popular nos últimos anos, pois apresenta uma série de vantagens computacionais quando comparadas com outras técnicas com precisões similares. A vantagem de utilizar a densidade eletrônica é que as integrais de repulsão de Coulomb são feitas sobre a densidade eletrônica, que depende apenas de 3 coordenadas da posição, enquanto a função de onda depende de $3N_e$ variáveis (função de onda para cada elétron). Além disso, a DFT considera um termo chamado correlação, escrevendo a energia de maneira mais completa que outras teorias, como a Hartree-Fock, por exemplo [104].

Uma série de aproximações foram feitas para tornar a descrição de um sistema de muitos corpos, possível computacionalmente, tais como a aproximação de Born-Oppenheimer que desacopla o movimento dos núcleos e dos elétrons, considerando que o movimento eletrônico ocorre num campo nuclear fixo [106]; aproximação de Kohn-Sham [107] e aproximações para o termo de troca-correlação.

Para representar os orbitais atômicos utilizamos funções de base que são combinações de L funções matemáticas utilizadas para representar os orbitais atômicos. Assim, devemos fazer uma escolha adequada do conjunto de funções de base que irá descrever o sistema em estudo. Existem diversos métodos que empregam o uso de funções de base. Aqueles que apresentam melhor desempenho do ponto de vista computacional são os que usam funções localizadas para construção dos orbitais atômicos.

Na maioria dos cálculos envolvendo moléculas orgânicas onde se fazem presentes ligações químicas $C - C$ ou ligações químicas $C - N$, o funcional de Becke [108] de troca e correlação (não local, híbrido, de três parâmetros) é usado juntamente com a fórmula de correlação de Lee-Yang-Parr [109]. Esse funcional é conhecido como B3LYP (Becke, três parâmetros, Lee-Yang-Parr). A base 6-31G (d,p) é geralmente usada nesses casos, onde se tem que os orbitais internos são descritos por uma gaussiana contraída de seis primitivas, e as camadas de valência são descritas por duas contrações, uma com três primitivas e outra com uma. Os termos entre parênteses significam que foram adicionadas funções de polarização, para garantir maior flexibilidade de forma à função de onda, incluindo orbitais d para átomos que não o hidrogênio, e p para os hidrogênios [110].

ANEXO A – Números de onda característicos Raman e IR

Tabela A.1 – Números de onda característicos Raman e IR de grupos em compostos orgânicos.

Vibração[a]	Região [cm ⁻¹]	Intensidade[b]	
		Raman	IR
$\nu(\text{O-H})$	3650-3000	w	s
$\nu(\text{N-H})$	3500-3300	m	m
$\nu(\equiv\text{C-H})$	3300	w	s
$\nu(=\text{C-H})$	3100-3000	s	m
$\nu(-\text{C-H})$	3000-2800	s	s
$\nu(-\text{S-H})$	2600-2550	s	w
$\nu(\text{C}\equiv\text{N})$	2255-2220	m-s	s-0
$\nu(\text{C}\equiv\text{C})$	2250-2100	vs	w-0
$\nu(\text{C}=\text{O})$	1820-1680	s-w	vs
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1900-1500	vs-m	0-w
$\nu(\text{C}=\text{N})$	1680-1610	s	m
$\nu(\text{N}=\text{N})$, subst. alif.	1580-1550	m	0
$\nu(\text{N}=\text{N})$, subst. arom.	1440-1410	m	0
$\nu_a((\text{C-})\text{NO}_2)$	1590-1530	m	s
$\nu_s((\text{C-})\text{NO}_2)$	1380-1340	vs	m
$\nu_a((\text{C-})\text{SO}_2(-\text{C}))$	1350-1310	w-0	s
$\nu_s((\text{C-})\text{SO}_2(-\text{C}))$	1160-1120	s	s
$\nu((\text{C-})\text{S}(\text{-C}))$	1270-1020	m	s
$\nu(\text{C}=\text{S})$	1250-1000	s	w
$\delta(\text{C-H}_2)$, $\delta_a(\text{CH}_3)$	1470-1400	m	m
$\delta(\text{CH}_3)$	1380	m-w	m-s
$\nu(\text{CC})$, aromáticos	1600, 1580	s-m	m-s
$\nu(\text{CC})$, alicíclicos, alif.	1300-600	s-m	m-w
$\nu_a(\text{C-O-C})$	1150-1060	w	s
$\nu_s(\text{C-O-C})$	970-800	s-m	w-0
$\nu(\text{O-O})$	900-845	s	0-w
$\nu(\text{S-S})$	550-430	s	0-w
$\nu(\text{Se-Se})$	330-290	s	0-w
$\nu(\text{C}(\text{arom.})-\text{S})$	1100-1000	s	sm
$\nu(\text{C}(\text{alif.})-\text{S})$	790-630	s	sm
$\nu(\text{C-Cl})$	800-550	s	s
$\nu(\text{C-Br})$	700-500	s	s
$\nu(\text{C-I})$	660-480	s	s
Modos de rede	200-20	vs	s-0

Nomenclatura: [a] ν (estiramento), δ (deformação), ν_s (estiramento simétrico), ν_a (estiramento antissimétrico) e [b] vs (muito forte), s (forte), m (médio), w (fraco), 0 (muito fraco ou inativo).

Fonte: Dados retirados da referência [99].

ANEXO B – Coordenadas atômicas e parâmetros geométricos da estrutura molecular do dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina

Tabela B.1 – Coordenadas atômicas (Å) da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina.

Átomos	x	y	z
O1	2,23150112	2,17660531	0,57287929
O2	1,94982882	-0,08117896	1,39868235
O3	0,26493617	2,96322280	1,33572814
N1	0,82461914	-0,05934181	-0,57953056
N2	1,23897989	-2,67690794	-0,99702745
C1	0,23332260	1,25455011	-0,39999406
C2	-1,25119093	0,99559270	-0,04464594
C3	-1,99704134	0,26807707	-1,14138217
C4	2,14158496	-2,04521581	-0,01857787
C5	1,64315265	-0,62918790	0,33934061
C6	0,87915642	2,20123860	0,62204357
C7	-2,47219415	0,96048806	-2,26651411
C8	-2,22671150	-1,11315153	-1,06639692
C9	3,63480202	-2,30404381	-0,25618504
C10	-3,14834690	0,29318705	-3,29040509
C11	-2,90543318	-1,78583557	-2,08679249
C12	-3,36612114	-1,08527308	-3,20420656
H1	0,27137138	1,80186828	-1,35088782
H2	-1,28224233	0,42885668	0,88903181
H3	-1,71358925	1,96676225	0,15281793
H4	0,64892156	-0,60401921	-1,41578970
H5	1,86837628	-2,44774259	0,96610503
H6	-2,32223842	2,03606722	-2,33578926
H7	-1,87946266	-1,66236304	-0,19491637
H8	4,24021750	-1,78722851	0,49167829
H9	3,93685346	-1,93585254	-1,24378262
H10	3,84331906	-3,37783305	-0,20884551
H11	-3,51262238	0,84958131	-4,14961353
H12	-3,07825163	-2,85549113	-2,00553525
H13	1,63865806	-2,60952019	-1,91120263
H14	-3,89681513	-1,60563861	-3,99630142
H15	1,11101858	-3,63977975	-0,75932221
H16	0,35468924	-2,21013634	-0,98460493

Tabela B.2 – Parâmetros geométricos da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo L-alanil-L-fenilalanina.

Comprimento de ligação (Å)		Ângulo de ligação (°)		Ângulo de torção (°)	
Átomos	Valor	Átomos	Valor	Átomos	Valor
O1-C3	1,24240	C3-N2-C4	124,5965	C6-C7-C8-C9	0,022700
C7-C8	1,39955	N1-C1-C3	104,6147	C8-C7-C6-C5	-179,4081
C7-C6	1,40317	N1-C1-C2	111,0520	C8-C7-C6-C11	0,267700
C5-C6	1,51472	C2-C1-C3	116,1782	C4-C5-C6-C7	104,4457
C5-C4	1,54526	O1-C3-C1	118,4919	C4-C5-C6-C11	-75,40130
C8-C9	1,39788	C5-C4-C12	113,8068	C6-C5-C4-C12	170,1014
N1-C1	1,50881	N2-C4-C5	112,6420	C7-C8-C9-C10	-0,221000
C6-C11	1,40538	C4-C5-C6	113,8299	C7-C6-C11-C10	-0,366400
O3-C12	1,26123	C5-C6-C7	121,1694	C5-C6-C11-C10	179,4850
C3-C1	1,51100	C7-C6-C11	118,1420	O1-C3-C1-N1	7,162700
C3-N2	1,33494	C5-C6-C11	120,6884	O1-C3-C1-C2	129,9717
C12-C4	1,57438	C7-C6-C11	118,1420	N2-C3-C1-N1	-173,7421
C12-O2	1,25878	C5-C6-C11	120,6884	N2-C3-C1-C2	-50,93310
C9-C10	1,39983	C6-C7-C8	119,3508	O1-C3-N2-C4	8,710000
C4-N2	1,46949	C7-C8-C9	120,1529	C1-C3-N4-C4	-170,3160
C11-C10	1,39746	C8-C9-C10	119,4285	O3-C12-C4-C5	-33,86770
C1-C2	1,52748	C9-C10-C11	120,1445	O3-C12-C4-N2	-165,3711
		C8-C11-C10	121,0689	C8-C9-C10-C11	0,123500
		O3-C12-C4	115,3322	C5-C4-C2-C3	-66,59850
		O2-C12-O3	127,4359	C12-C4-N2-C3	63,50480
		O2-C12-C4	117,1274	C6-C11-C10-C9	0,174900

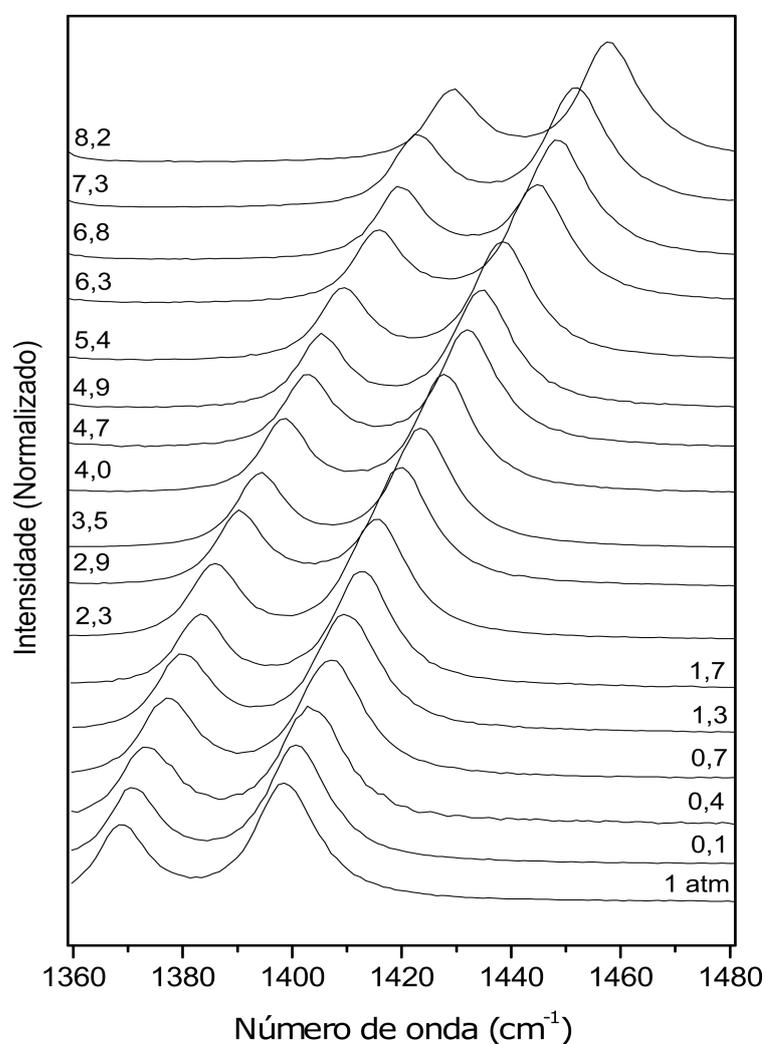
ANEXO C – Coordenadas atômicas da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo LL

Tabela C.1 – Coordenadas atômicas (Å) da estrutura molecular otimizada do dipeptídeo LL.

Átomos	x	y	z
O	-0,106769000	-1,362175000	-1,467104000
O	-2,162088000	-2,656189000	0,769450000
O	-3,904016000	-1,373584000	0,121719000
N	2,032731000	-2,745994000	-0,786611000
H	3,026606000	-2,912595000	-0,963076000
H	1,530350000	-2,660047000	-1,684562000
H	1,658717000	-3,567076000	-0,302199000
N	-0,391433000	-0,564242000	0,664599000
H	0,034646000	-0,546776000	1,580759000
C	1,789055000	-1,468971000	-0,016091000
H	1,952421000	-1,698355000	1,037633000
C	2,767579000	-0,391559000	-0,522123000
H	3,771505000	-0,834239000	-0,564105000
H	2,487060000	-0,132507000	-1,549779000
C	2,839836000	0,887936000	0,339127000
H	1,817670000	1,248979000	0,512376000
C	3,505689000	0,634877000	1,702164000
H	2,982518000	-0,119839000	2,298715000
H	3,528274000	1,556645000	2,292553000
H	4,540436000	0,296159000	1,568680000
C	3,593518000	1,981844000	-0,434228000
H	3,098758000	2,213256000	-1,383615000
H	4,620853000	1,667258000	-0,655322000
H	3,645409000	2,904041000	0,153883000
C	0,312885000	-1,124745000	-0,323925000
C	-1,830011000	-0,258334000	0,598041000
H	-2,073071000	0,131880000	1,591960000
C	-2,162221000	0,826332000	-0,441583000
H	-3,246671000	0,970410000	-0,404238000
H	-1,929043000	0,440719000	-1,439542000
C	-1,460371000	2,185836000	-0,248344000
H	-0,374623000	2,015525000	-0,246759000
C	-1,782458000	3,110589000	-1,433697000
H	-1,257482000	4,068254000	-1,341959000
H	-2,858268000	3,323109000	-1,481931000
H	-1,488586000	2,654983000	-2,386262000
C	-1,833098000	2,866824000	1,078871000
H	-1,535615000	2,273978000	1,950337000
H	-2,916447000	3,033045000	1,140343000
H	-1,340999000	3,842166000	1,165420000
C	-2,703824000	-1,560920000	0,463829000

ANEXO D – Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento de pressão no experimento de espectroscopia Raman do dipeptídeo LL

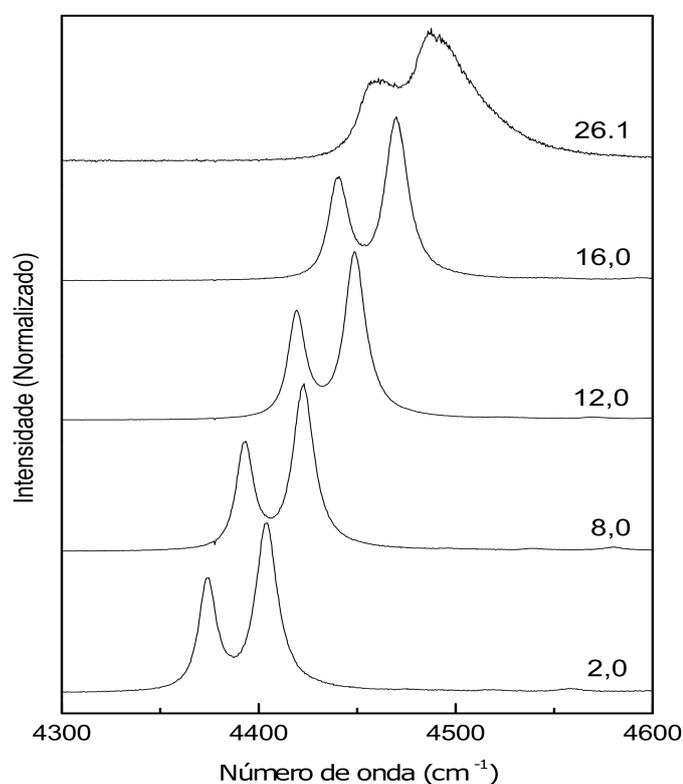
Figura D.1 – Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento de pressão (em GPa).



Fonte: Produzida pelo autor a partir de dados experimentais.

ANEXO E – Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento de pressão no experimento de difração de raios-X do dipeptídeo LL

Figura E.1 – Evolução da banda de fluorescência do rubi com o aumento de pressão no experimento de difração de raios-X (em GPa).



Fonte: Produzida pelo autor a partir de dados experimentais.

ANEXO F – Produção bibliográfica durante o doutorado

F.1 Artigos completos publicados em periódicos

1. C. B. Silva, J. G. da Silva Filho, G. S. Pinheiro, A. M. R. Teixeira, P. T. C. Freire. “Vibrational and structural properties of L-Alanyl-L-Phenylalanine dipeptide by Raman spectroscopy, infrared and DFT calculations”. *Vibrational Spectroscopy*, v. 98, pp. 128-133, 2018.
2. R. O. Holanda, C. B. Silva, J. G. Silva Filho, C. L. Lima, J. A. Lima, P. T. C. Freire. “Raman spectroscopy under high pressures and DFT calculations of the amino acid l-glutamine”. *Vibrational Spectroscopy*, v. 98, pp. 69-76, 2018.
3. M. S. Pereira, T. S. Ribeiro, F. A. S. Lima, L. P. M. Santos, C. B. Silva, P. T. C. Freire, I. F. Vasconcelos. “Synthesis and properties of Sn₁xFe_xO₂ nanoparticles obtained by a proteic sol-gel method”. *Journal of Nanoparticle Research*, v. 20, pp. 212-222, 2018.
4. M. S. Pereira, F. A. S. Lima, C. B. Silva, P. T. C. Freire, I. F. Vasconcelos. “Structural, morphological and optical properties of SnO₂ nanoparticles obtained by a proteic sol-gel method and their application in dye-sensitized solar cells”. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 84, pp. 206-213, 2017.
5. C. B. Silva, P. T. C. Freire, A. M. R. Teixeira, G. O. M. Gusmão, H. S. Santos, M. R. J. R. Albuquerque, P. N. Bandeira. “Vibrational properties of diterpene rel-(1S, 4aS, 7S,8aS)-7-(vinyl)-tetradecahydro-1,4a-dimethylphenanthrene-7,8a-carbolactone-1-carboxylic acid studied by Raman and infrared spectroscopy together with ab initio calculations”. *Vibrational Spectroscopy*, v. 85, pp. 139-145, 2016.

F.2 Artigos em fase de escrita

1. C. B. Silva, J. G. da Silva Filho, G. S. Pinheiro, A. M. R. Teixeira, F. F. Sousa, P. T. C. Freire. “High-pressure study of L,L-dileucine by Synchrotron X-ray diffraction and Raman spectroscopy”.