



CLAUDIMAR JUNKER DUARTE

**ANÁLISE CONFORMACIONAL DE ALGUNS ÉSTERES METÁLICOS DE
AMINOÁCIDOS E SEUS N- ACETIL-DERIVADOS**

CAMPINAS

2015



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

CLAUDIMAR JUNKER DUARTE

**ANÁLISE CONFORMACIONAL DE ALGUNS ÉSTERES METÁLICOS DE
AMINOÁCIDOS E SEUS N-ACETIL-DERIVADOS**

ORIENTADOR: PROF. DR. ROBERTO RITTNER NETO

**TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM CIÊNCIAS.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA POR
CLAUDIMAR JUNKER DUARTE, E ORIENTADA PELO PROF.DR. ROBERTO RITTNER NETO.**

Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2015

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Química
Simone Lucas Gonçalves de Oliveira - CRB 8/8144

D85a Duarte, Claudimar Junker, 1984-
Análise conformacional de alguns ésteres metílicos de aminoácidos e seus
N-acetil-derivados / Claudimar Junker Duarte. – Campinas, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: Roberto Rittner Neto.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Análise conformacional. 2. Aminoácidos - Derivados. 3. Efeitos estereoeletrônicos. I. Rittner Neto, Roberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Conformational analysis of some methyl esters of amino acids and their *N*-acetyl-derivatives

Palavras-chave em inglês:

Conformational analysis

Amino acids - Derivatives

Stereoelectronic effects

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Roberto Rittner Neto [Orientador]

Jarbas Magalhães Resende

Sebastião Ferreira Fonseca

Rogério Custodio

Teodorico de Castro Ramalho

Data de defesa: 05-03-2015

Programa de Pós-Graduação: Química

Aos meus pais, irmãos e demais familiares e amigos, pelo carinho, amizade, confiança e credibilidade. "Se eu vi mais longe foi porque me apoiei em ombros de gigantes."

À minha noiva Elisângela, pelo amor e cumplicidade.
Em especial, por tornar singular cada instante de minha vida...

Dedico.

Invictus

Dentro da noite que me rodeia
Negra como um poço de lado a lado
Eu agradeço ao Deus que existe
Por minha alma indomável

Nas garras cruéis da circunstância
Eu não tremo ou me desespero
Sob os duros golpes da sorte
Minha cabeça sangra, mas não se curva

Além deste lugar de raiva e choro
Paira somente o horror da sombra
E ainda assim a ameaça do tempo
Vai me encontrar, e deve me achar, destemido

Não importa se o portão é estreito
Não importa o tamanho do castigo
Eu sou dono do meu destino
Eu sou capitão de minha alma.

William Ernest Henley

[texto adaptado]

Agradecimentos

- ✓ A Deus, pelo dom da vida e por estar comigo a todo instante.
- ✓ Ao meu orientador, professor Roberto Rittner, pela oportunidade de realizar este trabalho, pelo exemplo de espírito científico e por todo aprendizado que me proporcionou para a ciência e para a vida.
- ✓ Ao professor Cláudio Tormena, pelas discussões que tive e que muito serviram para o meu aprendizado.
- ✓ Ao professor Matheus Puggina de Freitas, pelo exemplo profissional, pela oportunidade e fascínio para estudar análise conformacional e também por contribuir para o meu crescimento pessoal.
- ✓ Aos meus Pais, Satilo e Deja, que tanto prezaram pela educação dos filhos.
- ✓ Aos meus irmãos Gilberto (*in memorian*), Gilmar, Cláudio e Cleonice.
- ✓ A Elisângela e seus familiares, pelo apoio constante e amizade.
- ✓ A Julieta, Zenaide e Arlete, que tanto me apoiaram.
- ✓ Aos amigos do Laboratório: Lucas Martins, Lucimara, Marco, Karen, Kristerson, Láis, Daniela, Kennedy, Renan, Carlyne, Thais, Amanda, Guilherme Borghi, Guilherme Poggetto, Victor, Denise, Monique, Janaina, Caio e Cesar. Agradeço em especial, aos amigos Raphael (Thetha), pela amizade e momentos de descontração e ao Rodrigo (Deildo), pela amizade que temos desde os tempos de graduação e por todo suporte no desenvolvimento deste trabalho. Agradeço também ao Lucas Ducati, pela colaboração na fase inicial deste projeto.
- ✓ A toda comunidade da Unicamp e em especial ao Instituto de Química.
- ✓ A Fapesp, pela bolsa de estudos concedida e a CAPES e CNPq pelo financiamento de diversos projetos no laboratório.

Curriculum Vitae

Claudimar Junker Duarte

Contato: Rua Emília Raimundo da Costa, 19, Vila São João
Teófilo Otoni-MG, CEP: 39802-261.
claudimar.duarte@iqm.unicamp.br; claudimarjunker@gmail.com

Dados pessoais

Brasileiro, solteiro, natural de Teófilo Otoni-MG, nascido em 18 de abril de 1984.

Formação

- ✓ Doutorado em Química Orgânica, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), bolsista FAPESP. **2015**
- ✓ Mestre em Química Orgânica, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), bolsista CAPES, concluído em agosto de **2011**.
- ✓ Graduação em Química (modalidade licenciatura), Universidade Federal de Lavras (UFLA), bolsista FAPEMIG, concluída em julho de **2009**.
- ✓ Ensino fundamental e médio: E. E. Dr. Lourenço Porto e E. E. Waldemar Neves da Rocha, concluídos em dezembro de **1995** e dezembro de **2002**, respectivamente.

Cursos e Formação Complementar

- ✓ Introdução ao Fortran, Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo (CENAPAD), **2013**.
- ✓ Understanding NMR Spectroscopy, Universidade Estadual de Campinas, **2013**.
- ✓ Modern Topics In Magnetic Resonance, Universidade de São Paulo, **2013**.
- ✓ Teoria do Funcional de Densidade, Universidade Federal de Lavras, **2008**.

Encontros científicos

- ✓ International Workshop: Frontiers in computational NMR and IR spectroscopy in Chemistry, Universidade Federal de Lavras, **2014**.
- ✓ 9th Workshop of Computational Chemistry and Molecular Spectroscopy (WCCMS), Punta de Tralca (Chile), **2014**.
- ✓ Small Molecule NMR Conference (SMASH), Santiago de Compostela (Espanha), **2013**.
- ✓ IV Ibero-American NMR Meeting, Aveiro (Portugal), **2012**.
- ✓ 13th Nuclear Magnetic resonance Users Meeting, Angra dos Reis-RJ, **2011**.
- ✓ School of Advanced Topics on Molecular Modeling, Universidade Federal de São Carlos, **2009**.
- ✓ XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química (ERSBQ), Belo Horizonte-MG, **2008**.

Publicações

1. Duarte, C. J.; Ducati, L. C.; Freire, K. R.; Rittner, R. *Biological and Chemical Research*, 65, **2015**.
2. Silla, J. M.; Duarte, C. J.; Cormanich, A. R.; Rittner, R.; Freitas, M. P. *Beiltein J. Org. Chem.* 10, 877, **2014**.
3. Silva, T. F. B.; Andrade, A. F.; Silla, J. M.; Duarte, C. J.; *J. Phys. Chem. A* 118, 6266, **2014**.
4. Andrade, L. A. F.; Silla, J. M.; Duarte, C. J.; Rittner, R.; Freitas, M. P. *Org. Biom. Chem.* 11, 6766, **2013**.
5. Duarte, C. J.; Cormanich, R. A.; Ducati, L. D.; Rittner, R. *J. Mol. Struct.* 1050, 174, **2013**.
6. Duarte, C. J.; Colnago, L. A.; Azeredo, R. V. B.; Venâncio, T. *Appl Mag Reson* 44, 1265, **2013**.
7. Silla, J. M.; Duarte, C. J.; Rittner, R.; Freitas, *RSC Adv.* 3, 25765, **2013**.
8. Silla, J. M.; Cormanich, C. J.; Duarte, C. J.; Freitas, M. P.; Ramalho, T. C.; Barbosa, T. M.; Santos, F. P.; Tormena, C. F.; Rittner, R. *J. Phys. Chem. A* 115, 10122, **2011**.
9. Silla, J. M.; Duarte, C. J.; Freitas, M. P.; Ramalho, T. C.; Cormanich, R. A.; Santos, F. P.; Tormena, C. F.; Rittner *Spectrochim. Acta Part A* 81, 359, **2011**.
10. Duarte, C. J.; Freitas, M. *J. Mol. Struct.* 930, 135, **2009**.

Análise conformacional de alguns ésteres metílicos de aminoácidos e seus *N*-acetil-derivados

Neste trabalho, o equilíbrio conformacional de alguns ésteres metílicos de aminoácidos não acetilados (L-serina, L-treonina e L-triptofano) e *N*-acetilados (glicina, L-alanina, L-serina, L-treonina e L-triptofano) foi avaliado através de cálculos teóricos e técnicas experimentais de espectroscopias no infravermelho e de Ressonância Magnética Nuclear. A metodologia aplicada baseou-se em Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (através do comportamento da constante de acoplamento *spin-spin* $^3J_{\text{HH}}$) e deconvolução analítica do espectro no infravermelho na região de estiramento da carbonila. Os resultados obtidos foram utilizados para determinar a variação populacional de cada derivado de aminoácido em vários solventes. Além disso, cálculos teóricos em fase isolada e também considerando o efeito do solvente foram realizados para determinar os valores de $^3J_{\text{HH}}$ e a frequência de estiramento C=O. Os resultados calculados estão em boa concordância com os valores experimentais e proporcionam informações sobre o comportamento conformacional induzido por cada solvente. Adicionalmente, a análise dos Orbitais Naturais de Ligação e a Teoria Quântica dos Átomos em Moléculas foram empregadas para investigar a importância de efeitos clássicos e não clássicos sobre o equilíbrio conformacional dos sistemas supracitados. Diferente de várias propostas da literatura, foi demonstrado que efeitos estéricos e de hiperconjugação são interações importantes para o equilíbrio conformacional dos diversos derivados de aminoácidos avaliados, enquanto que ligações de hidrogênio apresentam contribuição secundária.

Conformational analysis of some methyl esters of amino acids and their *N*-acetyl-derivatives

In this work, the conformational equilibrium of some methyl esters of amino acids non-acetylated (L-serine, L-threonine and L-tryptophan) e *N*-acetylated (glycine, L-alanine, L-serine, L-threonine and L-tryptophan) was evaluated by theoretical calculations and infrared and ^1H Nuclear Magnetic Resonance spectroscopies. The applied methodology was based on the ^1H Nuclear Magnetic Resonance data (through the behavior of the $^3J_{\text{HH}}$ spin spin coupling constant) and analytical deconvolution of infrared spectra on the C=O stretching region. The obtained results were used to determine the populational variation of each amino acid derivative in several solvents. In addition, theoretical calculations in isolated phase and taking into account the solvent effect were carried out in order to obtain the values of $^3J_{\text{HH}}$ and C=O stretching vibration. The calculated results are in good agreement with the experimental data and provide insights into the conformational behavior induced by each solvent. Additionally, Natural Bond Orbital analysis and the Quantum Theory Atoms In Molecules were employed to investigate the importance of classic and non-classic effects over the conformational isomerism of aforementioned systems. In disagreement of several publications in the literature, it was found that steric effect and hyperconjugation are interactions important to conformational preferences of all amino acid derivatives evaluated whereas H-bonding plays a secondary role.

Sumário

Índice de Abreviaturas e Símbolos.....	xxi
Índice de Tabelas.....	xxiii
Índice de Figuras.....	xxv
Índice de Esquemas.....	xxix
1 Introdução	1
1.1 Métodos de análise conformacional.....	2
1.1.1 Métodos Espectroscópicos	2
1.1.2 Cálculos Teóricos	5
1.2 Teoria Quântica dos Átomos em Moléculas.....	7
1.2.1 Atribuição de ligações de hidrogênio: Critérios de Popelier	13
1.3 Análise conformacional de aminoácidos	13
1.3.1 Glicina, alanina, serina, treonina e triptofano	16
2. Objetivos	19
3. Parte Experimental	21
3.1 Desprotonação dos aminoésteres.....	21
3.1.1 Desprotonação com pó de Zinco	21
3.1.2 Desprotonação com Na ₂ CO ₃	21
3.2 Espectroscopia de RMN de ¹ H.....	22
3.3 Espectroscopia no Infravermelho.....	23
3.3 Cálculos teóricos.....	23
4. Resultados e discussão.....	27
4.1 Éster metílico do L-triptofano	27
4.2 Ésteres metílicos da L-serina e L-treonina.....	40
4.3 Ésteres metílicos da <i>N</i> -acetil-glicina e <i>N</i> -acetil-L-alanina	52
4.4 Éster metílico do <i>N</i> -acetil-L-triptofano	59
4.4 Éster metílico da <i>N</i> -acetil-L-serina	66
4.5 Éster metílico da <i>N</i> -acetil-L-treonina	73
5. Conclusão	81
6. Referências	83
7. Anexos.....	89

Índice de Abreviaturas e Símbolos

- AcAlaOMe**—Éster metílico da *N*-acetil-L-alanina
AcGliOMe—Éster metílico da *N*-acetil-glicina
AcSerOMe— Éster metílico da *N*-acetil-L-serina
AcThrOMe – Éster metílico da *N*-acetil-L-treonina
AcTrpOMe –Éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano
AIM – Átomos em Moléculas (*Atoms in molecules*).
BCP – Ponto Crítico de Ligação (*Bond Critical Point*).
BP – Trajetória de Ligação (*Bond Path*).
CCP – Ponto Crítico de Gaiola (*Cage Critical Point*).
d – dubleto
dd –dubleto de dubletes
ddd – duplo dublete de dubletes
DFT – Teoria do Funcional de Densidade (*Density Funcional Theory*)
dq – dublete de quarteto.
 ${}^3J_{HH}$ – Constante de acoplamento *spin-spin* entre dois hidrogênios separados por três ligações.
LH – Ligação de Hidrogênio.
LP – Par de elétrons livres.
m – multiplete
 $M_1(H)$ – Primeiro momento de dipolo do átomo de hidrogênio.
NCP – Ponto Crítico Nuclear (*Nuclear Critical Point*).
NBO – Orbitais Naturais de Ligação (*Natural Bond Orbital*).
 $q(H)$ – Carga atômica do átomo do átomo de hidrogênio.
q – quarteto
s –Simpleto
sl –Simpleto largo
t – tripleto
QTAIM – Teoria Quântica dos Átomos em Moléculas (*Quantum Theory Atoms In Molecules*).

SerOMe – Éster metílico da L-serina

ThrOMe – Éster metílico da L-treonina

TMS – Tetrametilsilano

TrpOMe – Éster metílico do L-triptofano

RCP – Ponto Crítico de Anel (*Ring Critical Point*).

RMN – Ressonância Magnética Nuclear.

V(H) – Volume atômico do átomo de Hidrogênio.

δ – Deslocamento químico

ϵ – Constante dielétrica ou Elipicidade.

$\bar{\nu}_{C=O}$ – Frequência de estiramento da carbonila (função ester)

ρ – Densidade eletrônica

$\nabla^2\rho$ – Laplaciano da densidade eletrônica.

Índice de Tabelas

Tabela 1: Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamentos para o éster metílico da triptofano em vários solventes.....	29
Tabela 2: Energia relativa (kcal mol^{-1}), População (n, %) e número de onda $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ (cm^{-1}) calculados para o Trp-OMe em THF e acetonitrila (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ).....	34
Tabela 3: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP de LH e propriedades atômicas integradas em u.a.	36
Tabela 4: Energia relativa ^[a] (ΔE_{rel}), de Lewis ^[a] (ΔE_{Lewis}) e de hiperconjugação ^[a] para o Trp-OMe em fase isolada (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ).....	37
Tabela 5: Principais energias de hiperconjugação (kcal mol^{-1}) envolvendo os átomos de N e O e correspondente ângulos diedros ($^\circ$) para o Trp-OMe.	38
Tabela 6: Ângulos diedros ($^\circ$) e energia relativa (kcal mol^{-1}) dos 5 confôrmers da Ser-OMe e Thr-OMe obtidos em nível B3LYP/aug-cc-pVDZ)	43
Tabela 7: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP de LH e propriedades atômicas integradas (em u.a) para o SerOMe e ThrOMe.....	45
Tabela 8: Energia relativa (ΔE_{rel}), Energia de Lewis (ΔE_{Lewis}) e energia de hiperconjugação (ΔE_{hip}) para SerOMe e ThrOMe.	46
Tabela 9: Constantes de acoplamento (J , em Hz) e deslocamentos químicos, (δ , em ppm) para Ser-OMe e Thr-OMe obtidos em solventes de constante dielétrica ϵ	48
Tabela 10: Constantes de acoplamento (J , em Hz) e deslocamentos químicos (δ , em ppm) para o AcAlaOMe dissolvido em CCl_4 , clorofórmio e DMSO.....	53
Tabela 11: Energia relativa (ΔE_{rel}), Energia de Lewis (ΔE_{Lewis}), energia de hiperconjugação (ΔE_{hip}) (em kcal mol^{-1}) e ângulos diedros ψ [N-C α -C=O] e ϕ [H-N-C α -C(O)] para AcGliOMe e AcAlaOMe.	57
Tabela 12: Constantes de acoplamento (J , em Hz) e deslocamentos químicos (δ , em ppm) para o AcTrpOMe em vários solventes.	59

Tabela 13: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu Laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP e propriedades atômicas integradas em unidades atômicas (u.a).	64
Tabela 14: Energia relativa (ΔE_{rel}), Energia de Lewis (ΔE_{Lewis}) e energia de hiperconjugação (ΔE_{hip}) (em kcal mol ⁻¹) e ângulos diedros (°) χ_1 [N-C _{α} -C _{β} -C γ] e χ_2 [C _{α} -C _{β} -C γ -C _{δ_1}] obtidos para o AcTrpOMe (B3LYP/aug-cc-pVDZ).	65
Tabela 15: Valores de constante dielétrica ϵ , constantes de acoplamento ($^3J_{\text{HH}}$, em Hz) e deslocamentos químicos (δ , em ppm).	67
Tabela 16: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP de LH e propriedades atômicas integradas em u.a.	70
Tabela 17: Relação das energias (em kcal mol ⁻¹) relativa (ΔE_{rel}), de Lewis (ΔE_{Lewis}) e de hiperconjugação (ΔE_{hiper}) e ângulos diedros (°) dos confôrmeros da Ac-Ser-OMe.	71
Tabela 18: Constante dielétrica ϵ , constantes de acoplamento ($^3J_{\text{HH}}$, em Hz) e deslocamentos químicos (δ , em ppm) para o Ac-Thr-OMe.	74
Tabela 19: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP de LH e propriedades atômicas integradas em u.a.	77
Tabela 20: Relação das energias (em kcal mol ⁻¹) relativa (ΔE_{rel}), de Lewis (ΔE_{Lewis}) e de hiperconjugação (ΔE_{hiper}) e ângulos diedros (°) dos confôrmeros da Ac-Thr-OMe.	78

Índice de Figuras

Figura 1: a) Mapa tridimensional e b) superfície de contorno da densidade eletrônica para a molécula do indol.....	7
Figura 2: a) Gráfico molecular mostrando pontos críticos de ligação (em verde) e de anel (vermelho) e b) superposição da bacia atômica do oxigênio com superfície de contorno (alguns átomos fora do plano da página foram omitidos) para o éster metílico do triptofano.	10
Figura 3: Orientação espacial dos autovalores λ_1 , λ_2 e λ_3	11
Figura 4: Éster metílico da alanina e seus respectivos ângulos diedros variados. ⁷⁶	24
Figura 5: Ésteres metílicos da a) serina, b) treonina e c) triptofano e seus respectivos ângulos diedros variados.	24
Figura 6: Representação da rotação dos ângulos diedros do éster metílico da <i>N</i> -acetil-L-alanina.	25
Figura 7: Representação dos rotâmeros alternados relativos à cadeia lateral do Trp-OMe.....	28
Figura 8: Curvas de energia para o éster metílico do triptofano, obtidas a partir da rotação do ângulo diedro χ	30
Figura 9: Representação dos 8 confôrmeros de menor energia do éster metílico do triptofano otimizados em nível DFT-B3LYP/aug-cc-pVDZ.	31
Figura 10: População relativa (<i>n</i>) versus a) $^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e b) $^3J_{H\alpha H\beta 2}$ calculados para TrpOMe.	32
Figura 11: Deconvolução do espectro de infravermelho na região de estiramento da carbonila do éster metílico do triptofano em a) THF e b) acetonitrila. Linhas em preto e representam a banda experimental de $\nu_{C=O}$ e linhas em vermelho o somatório das bandas deconvoluídas (azul, verde e rosa).	33
Figura 12: Gráficos moleculares obtidos para o AcTrpOMe: Pontos verdes e vermelhos representam pontos críticos de ligação e de anel, respectivamente....	35

Figura 13: Mínimos de energia obtidos para os ésteres metílicos da L-serina e L-treonina.	42
Figura 14: Gráficos moleculares obtidos para os ésteres metílicos da serina e treonina: Pontos verdes e vermelhos representam pontos críticos de ligação e de anel, respectivamente.	44
Figura 15: Projeções de Newman para os ésteres metílicos da serina (R=H) e treonina (R=CH ₃).	48
Figura 16: População relativa (n) <i>versus</i> a) ³ J _{H_αH_{β1} e b) ³J_{H_αH_{β2} calculados para a Ser-OMe e c) ³J_{H_αH_{β1} para Thr-OMe.}}}	49
Figura 17: Espectro de infravermelho na região de estiramento da carbonila. Ser-OMe dissolvido em a) THF e em b) acetonitrila e Thr-OMe dissolvido em c) THF e d) acetonitrila.	50
Figura 18: Espectro de infravermelho deconvoluído na região de estiramento da carbonila C=O (éster) para AcGliOMe nos solventes a) CCl ₄ e b) DMSO e AcAlaOMe também nos solventes c) CCl ₄ e d) DMSO.	54
Figura 19: Mínimos de energia calculados para AcGliOMe e AcAlaOMe (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ).	55
Figura 20: Constantes de acoplamento <i>versus</i> frações molares calculadas para o AcAlaOMe em CCl ₄ e DMSO.	56
Figura 21: Gráficos moleculares obtidos para os mínimos de energia do AcGliOMe e AcAlaOMe.	56
Figura 22: Projeções de Newman para três rotâmeros do AcTrpOMe.	60
Figura 23: Valores calculados da população relativa (n) de cada confômero <i>versus</i> acoplamentos a) ³ J _{H_αH_{β1} e b) ³J_{H_αH_{β2} e população relativa do AcTrp-OMe...}}	61
Figura 24: Espectro de infravermelho deconvoluído na região de estiramento da carbonila (éster) para o AcTrpOMe dissolvido em a) diclorometano e b) acetonitrila.	63
Figura 25: Projeções de Newman para os arranjos a), b) e c).	66
Figura 26: Deconvolução do espectro de infravermelho na região de estiramento da carbonila do Ac-Ser-OMe em a) diclorometano e b) acetonitrila.	68

Figura 27: Fração molar (n) <i>versus</i> a) $^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e b) $^3J_{H\alpha H\beta 2}$ calculadas (B3LYP/aug-cc-pVDZ) para AcSerOMe.....	69
Figura 28: Representação das projeções de Newman para o Ac-Thr-OMe.....	73
Figura 29: Região de estiramento da carbonila (éster) da Ac-Thr-OMe em a) diclorometano e b) acetonitrila.	75
Figura 30: População relativa <i>versus</i> $^3J_{H\alpha H\beta}$ calculados para os confôrmeros do AcThrOMe.....	76

Lista de Esquemas

Esquema 1: Representação da cadeia de um depsipeptídeo. "X" e "Y" são substituintes presentes nas extremidades.	15
Esquema 2: Representação esquemática de ligações de hidrogênio para aminoácidos. "R" representa a cadeia lateral.	18
Esquema 3: Estrutura dos aminoácidos-derivados em estudo.	19
Esquema 4: Deprotonação de aminoésteres através a) da reação envolvendo Zn^0 e b) utilizando se de carbonato de sódio.	22

1 Introdução

O termo conformação é referente às diferentes geometrias que as moléculas podem adotar no espaço através da rotação de grupos de átomos em torno de uma ligação simples. Essas diferentes geometrias são denominadas confôrmeros,¹ isômeros conformacionais ou ainda rotâmeros. Grupos de átomos em uma molécula podem girar em torno de uma ou mais ligações simples de modo que durante uma rotação completa de 360° podem assumir conformações.² Os confôrmeros de maior estabilidade, quando separados por barreiras de energia baixas, se interconvertem rapidamente à temperatura ambiente e assim são difíceis de serem isolados.

Desde o trabalho clássico de Sachse sobre a preferência conformacional do cicloexano,³ vários estudos têm sido desenvolvidos na busca das conformações mais estáveis e os fatores que regem o equilíbrio conformacional de uma infinidade de moléculas. Este interesse se deve principalmente às informações que podem ser obtidas a respeito das características físico-químicas e mecanismos de ação biológica, como interação enzima substrato e o planejamento racional de fármacos.⁴ Por exemplo, em um estudo realizado por Kay *et al.*⁵ foi demonstrado que o isômero *trans* (forma equatorial) do acetato de 2-*N,N*-dimetilaminocicloexila era ativo como substrato da acetilcolinesterase, ao contrário do isômero *cis*, que se mostrou inativo. Assim, o conhecimento sobre as interações que governam a estabilidade de compostos, de preferência sistemas mais simples, permitem por analogia a compreensão de sistemas mais complexos.

Para atribuir uma determinada conformação como a mais estável é necessário conhecer quais interações atuam em um determinado sistema. Basicamente, estas interações são classificadas como efeitos clássicos e não clássicos. O primeiro grupo compreende interações relacionadas à estrutura perfeita de Lewis e se dividem em efeitos estéricos e eletrostáticos. Os efeitos estéricos derivam da posição dos átomos no espaço, cuja proximidade pode promover a sobreposição de nuvens eletrônicas, sendo que esta condição resulta

numa maior demanda de energia enquanto que efeitos eletrostáticos (ou interação Coulômbica) envolvem repulsão entre cargas de mesmo sinal. Por outro lado, a hiperconjugação representa um efeito não clássico relacionado à interação entre orbitais com uma determinada simetria, geralmente orbitais envolvidos em uma ligação σ (usualmente C-C ou C-H) com aqueles envolvidos em uma ligação π adjacente (C=C, por exemplo) ou outra σ .⁶ O equilíbrio entre estas interações tem efeito crítico sobre a geometria, densidade eletrônica, energia de dissociação e, conseqüentemente, modificações espectrais dentre vários outros observáveis físico-químicos.

1.1 Métodos de análise conformacional

1.1.1 Métodos Espectroscópicos

Para reconhecer as conformações mais estáveis e compreender as interações que as governam, várias técnicas espectroscópicas tem sido utilizadas como espectroscopia no microondas,⁷ raios-x⁸ e no ultravioleta (UV).⁹ Na prática, todas elas apresentam alguma limitação. No primeiro caso, informações importantes sobre os compostos, alvos de estudo, podem ser fornecidas em fase isolada, mas não em solução. Por outro lado, estudos em espectroscopia de raios-X devem ser realizados somente em amostras cristalinas, enquanto que em UV, um número enorme de moléculas orgânicas e grupos funcionais não é observado em função de serem transparentes nesta região do espectro eletromagnético.¹⁰

Contudo, é importante ressaltar a aplicação da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) em análise conformacional. RMN em solução¹¹ e no estado sólido¹² tem sido bastante difundida principalmente após o advento das técnicas pulsadas, magnetos supercondutores e sondas cada vez mais sensíveis.

Para a RMN de ^1H , os parâmetros principais obtidos são o deslocamento químico (δ) e a constante de acoplamento (J). O δ é uma característica da

blindagem magnética de um determinado núcleo pelos elétrons.¹³ Um aumento na densidade eletrônica resulta, de um modo geral, numa maior proteção dos núcleos sendo que o inverso também é verdadeiro. O deslocamento químico está sujeito à influência do solvente. Isto porque este apresenta diversos efeitos, dentre eles o anisotrópico e de campo elétrico, que são responsáveis pela diferença na interação com o soluto, proporcionando assim uma mudança na densidade eletrônica em determinadas regiões da molécula.¹⁴ Assim, um mesmo composto pode exibir espectros com deslocamentos químicos diferentes, dependendo dos solventes utilizados e, dessa forma, sinais sobrepostos podem ser separados. Em relação à análise conformacional, vários trabalhos tem sido publicados demonstrando mudanças na população dos confôrmeros com a alteração do solvente.^{15,16}

Já a constante de acoplamento *spin-spin* é uma característica da energia de interação indireta dos momentos magnéticos de núcleos não equivalentes¹³ e é transmitida através dos elétrons que compõem as ligações químicas. O uso da constante de acoplamento ^1H - ^1H a três ligações, 3J , para obter informações sobre a estereoquímica e a conformação, é um procedimento estabelecido, baseado na relação de Karplus.¹⁷ Assim informações importantes a respeito dos rotâmeros de maior estabilidade podem ser obtidas.

Como na maioria dos casos, o sinal de RMN representa a média entre os confôrmeros, muitas vezes experimentos a baixas temperaturas devem ser realizados a fim de se detectarem as estruturas de menor energia.¹⁸ Mesmo assim, muitas críticas têm surgido na literatura a respeito da escolha dos compostos alvos de estudo. Além disso, dificuldades experimentais relacionadas com propriedades do soluto e do solvente (como, por exemplo, precipitação do soluto ou solidificação do solvente) limitam o uso de experimentos a temperaturas baixas. Em muitos casos, a contribuição de cada confôrmero para o equilíbrio conformacional pode ser obtida através dos valores da constante de acoplamento entre dois núcleos (geralmente $^3J_{\text{HH}}$). Isso porque o valor experimental observado para este parâmetro representa a média ponderada dos valores das frações

molares (η) e a respectiva constante de acoplamento isolada de cada confômero presente num dado sistema molecular, conforme a equação abaixo:

$$I_{obs} = \sum_{i=1}^n \frac{\eta_i}{\eta_T} J_i \quad eq. 1$$

onde η_i/η_T representa a população relativa do confômero i num determinado sistema molecular. Esta mesma relação pode ser obtida (teoricamente) através da distribuição de Boltzmann:

$$\frac{\eta_i}{\eta_T} = e^{-\Delta E_i/RT} \quad eq. 2$$

em que ΔE_i representa a energia relativa do confômero i , R a constante de Boltzmann e T a temperatura. Dessa forma, a contribuição do confômero i , num determinado equilíbrio conformacional, pode ser obtida em conjunto com cálculos teóricos.

Além de RMN, a espectroscopia no Infravermelho (IV) é bastante difundida em estudos conformacionais. Normalmente, a frequência escolhida apresenta-se livre da sobreposição de outras bandas.¹⁹ Neste caso, o método utilizado para determinar a população relativa dos confômeros é baseado na obtenção da intensidade relativa de seus respectivos sinais. Uma vez que a superposição de bandas seja observada, o uso da deconvolução se faz necessário a fim de se obter uma medida precisa das frações molares. Assim, a população relativa a cada confômero é obtida através do quociente entre a área de um sinal referente a uma determinada conformação e área total (soma de todas as bandas resultantes da deconvolução) do sinal escolhido. Uma vez que a população relativa entre os confômeros pode variar conforme a constante dielétrica do solvente, o uso de solventes diversos também se aplica.

1.1.2 Cálculos Teóricos

A química computacional tem se destacado através do desenvolvimento de softwares que contêm vários métodos da mecânica quântica para aproximação da equação de Schrödinger e assim, se consolidando como ferramenta útil na análise e interpretação de dados experimentais, que muitas vezes não são possíveis de serem obtidos diretamente de um experimento ou na previsão de propriedades diversas.⁴

Dentre os métodos da mecânica quântica, estão inclusos os semi-empíricos, que utilizam parâmetros derivados de dados experimentais para simplificar os cálculos; os *ab initio* que, ao contrário do primeiro, não fazem uso de dados experimentais e sim apenas de um número reduzido de constantes físicas (constante de Planck, massa/carga do elétron, etc.) e Teoria do Funcional de Densidade, DFT.²⁰ Este último que também inclui efeitos de correlação eletrônica, isto é, interações entre elétrons num mesmo sistema molecular, tendo se destacado em função da velocidade computacional e espaço de memória.

A possibilidade de estudar sistemas moleculares com elevado número de átomos a um custo relativamente menor em relação aos *ab initio* tradicionais, além da confiabilidade nos resultados obtidos, tem conduzido ao uso da DFT no cálculo de várias propriedades como, por exemplo, energia total e eletrônica, barreiras rotacionais de energia, geometria molecular e estudos de ligações químicas.²¹

Por outro lado, o conjunto de bases descreve os elétrons em um átomo ou molécula. Para construção dos orbitais moleculares, é necessário um conjunto de bases que contemple todos os elétrons presentes em diferentes átomos, para uma representação confiável do sistema. Como exemplo, o conjunto de bases aug-cc-pVTZ (*augmented correlation consistent polarized Valence Triple Zeta*) apresenta um cálculo bastante refinado, principalmente devido à descrição precisa dos orbitais.²²

Dentre as grandes contribuições da Química Computacional contemporânea, pode-se citar a capacidade de levar em conta o efeito do solvente. Embora

predições na fase gasosa sejam apropriadas para muitas propostas, são inadequadas para descrever características de uma infinidade de moléculas em solução.²³ Assim, os chamados modelos de solvatação, têm sido cada vez mais difundidos em estudos teóricos.²⁴ De um modo geral, estes modelos consideram uma molécula (ou poucas moléculas), o soluto, inserido numa cavidade que apresenta um meio contínuo dielétrico que simula o solvente. Modelos do tipo PCM (*Polarizable Continuum Model*) são uma das abordagens mais utilizadas²⁵ que descrevem como a densidade eletrônica é afetada pelo campo elétrico criado pelo volume ocupado pelo solvente. Há várias formas de construir uma cavidade molecular que, em geral, consiste em selecionar um conjunto de raios (de Van der Waals) e um método para definir a superfície molecular a partir destes raios.²⁴ Em especial, o método CPCM (*Conductor-like PCM*) representa uma alternativa muito eficiente em estudos de solvatação, por proporcionar interações de caráter eletrostático e não eletrostático para o cálculo de energia livre do soluto.^{26,27} Dessa forma, medidas experimentais, como frequências de Infravermelho ou deslocamentos químicos e constantes de acoplamento (RMN), podem ser também calculadas e seus valores analisados em conjunto, para um determinado sistema em um dado solvente.

Em conjunto com os modelos de solvatação, a análise dos Orbitais Naturais de Ligação (*Natural Bond Orbital*, NBO) tem se mostrado como uma ferramenta efetiva para determinação de interações orbitales que contribuem ou mesmo define a estabilidade de um dado sistema.²⁰ Isto porque todos os orbitais antiligantes σ^* , π^* e também de Rydberg podem ser desconsiderados. Conforme discutido anteriormente, as interações que governam a conformação de um determinado sistema são de origem clássica e não clássica. Assim, o efeito de hiperconjugação pode ser removido por considerar o sistema, alvo de estudo, uma estrutura perfeita de Lewis em que orbitais estão localizados e duplamente ocupados. Dessa forma a contribuição hiperconjugativa pode ser obtida através da diferença entre a energia total de um determinado confôrmero e a energia de Lewis.

1.2 Teoria Quântica dos Átomos em Moléculas

Segundo a Teoria Quântica dos Átomos em Moléculas (QTAIM), proposta por Richard Bader,²⁸ as propriedades de uma molécula podem ser descritas a partir das propriedades de seus átomos, com base na densidade eletrônica $\rho(r)$. Este método representa um grande avanço no estudo das ligações químicas,²⁹ principalmente devido à possibilidade de seus resultados serem observados experimentalmente, como por exemplo, por difração de Raios-X³⁰ e representa uma ferramenta poderosa para análise conformacional.

A $\rho(r)$ pode ser matematicamente definida como um campo escalar e sua topologia é investigada com base no vetor gradiente de campo $\nabla \rho(r)$, que representa o conjunto de trajetórias de gradientes.³¹ As trajetórias de um gradiente são sempre ortogonais ao contorno da densidade eletrônica e nunca se cruzam, exceto num ponto crítico. A Figura 1a mostra uma mapa tridimensional da densidade eletrônica para o indol, e sua superfície de contorno (Figura 1b).

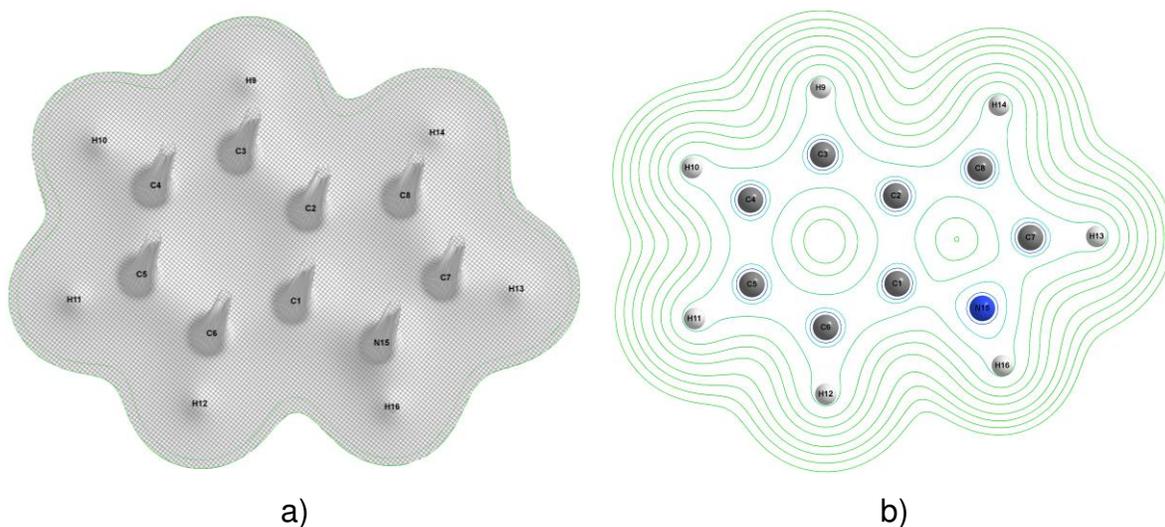


Figura 1: a) Mapa tridimensional e b) superfície de contorno da densidade eletrônica para a molécula do indol.

Conforme a Figura 1a, a densidade eletrônica é máxima na posição dos núcleos e decai rapidamente à medida que se afasta desta posição. A maior $\rho(r)$

observada na região nuclear resulta da carga positiva desta região tornando o núcleo um atrator de densidade eletrônica.

O conjunto de trajetórias que terminam num determinado núcleo define uma região discreta do espaço ao redor de cada núcleo que é conhecido como bacia atômica e determina como os átomos existem em uma molécula. Estas trajetórias da densidade eletrônica não se originam do espaço, mas de um ponto específico localizado entre dois atratores, denominado de ponto crítico de ligação (BCP, *Bond Critical Point*). O conjunto completo de gradientes que terminam num ponto crítico de ligação constitui a superfície entre os átomos, ou superfície interatômica, ou ainda, superfície de fluxo zero.³² As superfícies interatômicas não se cruzam em ponto algum da trajetória e, além disso, todos os pontos nesta superfície tem um produto escalar $\nabla \rho(r) \times n(r)=0$, onde $n(r)$ representa um vetor normal à superfície. Assim, o fluxo de densidade de carga é nulo em qualquer ponto desta superfície.

A topologia de $\rho(r)$ envolve o particionamento de uma molécula em regiões mononucleares, Ω , denominadas como átomos em moléculas. Um átomo em uma molécula pode ser definido como a união de núcleos e suas bacias. Cada bacia está ligada por uma superfície de fluxo zero que pode existir até o infinito.³³ Esta subdivisão do espaço molecular em bacias atômicas permite particionar propriedades eletrônicas em contribuições atômicas. Assim, a energia de um átomo em uma molécula, em uma situação de equilíbrio, é obtida a partir da soma das energias atômicas, que proporciona a energia total de uma molécula. O mesmo é válido para volume e população eletrônica atômica $N(\Omega)$, carga atômica $q(\Omega)$ entre outras propriedades. Porém este processo de divisão molecular em pequenas regiões é um procedimento nada trivial.²⁸

Os pontos de início e fim de uma trajetória de gradiente representam valores extremos da densidade eletrônica (pontos de máximo, pontos de mínimo e pontos de sela), sendo conhecidos como pontos críticos. Estes são classificados como: Ponto crítico de anel (RCP, *Ring Critical Point*), que ocorre no interior de anéis, sendo um mínimo na densidade eletrônica no plano do anel e ao mesmo tempo um máximo em um outro plano perpendicular ao primeiro; Ponto crítico de gaiola

(CCP, *Cage Critical Point*), de ocorrência no interior de moléculas que incluem anéis em sua estrutura, sendo representado pelo valor mínimo de $\rho(r)$ em todas as direções; ponto crítico nuclear (NCP, *Nuclear Critical Point*), que apresenta um máximo local de $\rho(r)$ e o ponto crítico de ligação (BCP).^{33, 34} Este último é representado por um ponto de sela, ou seja, um mínimo de $\rho(r)$ ao longo de uma trajetória de ligação (BP, *Bond Path*) e um máximo de $\rho(r)$ num plano perpendicular ao BP. A presença de um BCP e uma BP, do ponto de vista da QTAIM, é uma condição necessária e suficiente para que dois átomos estejam ligados.³⁵ Trajetórias de ligação, uma propriedade mensurável de um sistema que segue os teoremas da mecânica quântica, pode ser definida como uma linha de máxima densidade eletrônica que une pares de átomos ligados em uma geometria em equilíbrio.³⁶ A BP é considerada um indicador universal de ligação química de todos os tipos.³³ O conjunto de trajetórias e pontos críticos de ligação formam um gráfico molecular. Este último proporciona uma definição inequívoca de estrutura molecular.

A Figura 2a mostra o gráfico molecular para um dos confôrmeros do éster metílico do triptofano, um dos sistemas estudados neste trabalho. Os BCPs (em verde) permanecem mais afastados dos átomos de maior densidade eletrônica, que possuem maior bacia atômica. Esta é construída com base no ambiente químico a que pertence. Além disso, as bacias atômicas não são sobrepostas. O oxigênio carbonílico, por exemplo (Figura 2b), apresenta trajetórias de gradiente curvas nas proximidades do átomo de carbono a que está ligado enquanto que permanece quase que linear nas outras regiões espaciais.

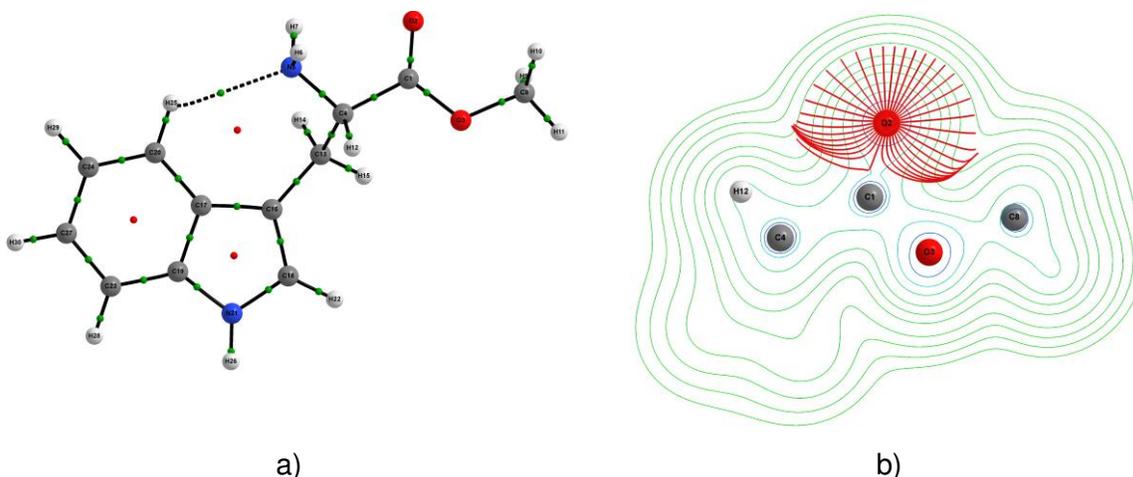


Figura 2: a) Gráfico molecular mostrando pontos críticos de ligação (em verde) e de anel (vermelho) e b) superposição da bacia atômica do oxigênio com superfície de contorno (alguns átomos fora do plano da página foram omitidos) para o éster metílico do triptofano.

A natureza de um ponto crítico pode ser obtida a partir da derivada segunda da densidade eletrônica ($\nabla^2\rho$). Existem nove $\nabla^2\rho$, que podem ser rearranjadas em uma matriz Hessiana. Na forma diagonalizada, esta matriz proporciona três autovalores λ_1 , λ_2 e λ_3 que apontam a curvatura de $\rho(r)$. Assim, o laplaciano da densidade eletrônica é representado pela soma destes três autovalores, sendo que dois deles (λ_1 e λ_2) são negativos por definição, enquanto que o terceiro, situado ao longo de uma trajetória de ligação, é positivo. Através do sinal do laplaciano, é possível descrever a concentração da densidade eletrônica em uma determinada zona de ligação.³⁷ O valor negativo do laplaciano indica que existe, numa determinada situação, uma concentração local de carga. Por outro lado, um valor positivo indica que há ausência local de cargas entre dois átomos. Estas características de $\nabla^2\rho$ podem ser utilizadas como parâmetro para atribuir o caráter eletrostático ou covalente de uma ligação.³¹

Além do laplaciano, os autovalores λ_1 , λ_2 e λ_3 permitem a análise da curvatura de $\rho(r)$ através da proporção entre os mesmos descrita pela elipicidade (ϵ). Este parâmetro mede a extensão com que $\rho(r)$ é preferencialmente acumulada num dado plano contendo uma trajetória de ligação e pode ser definida como:

$$\varepsilon = \frac{\lambda_1}{\lambda_2} - 1 \quad \text{eq. 3}$$

Uma vez que λ_1 é definido ser maior ou igual a λ_2 , ε é sempre maior ou igual a zero. Conforme a Figura 3, λ_1 e λ_2 estão orientados em um mesmo plano perpendicular ao eixo da ligação entre os átomos A e B. Se λ_1 apresenta valor muito elevado, tem-se uma ligação de caráter π enquanto que $\lambda_1 = \lambda_2$ resulta de uma ligação simples, com uma forma cilíndrica perfeita.^{33 38} Assim, a elipicidade contém informação sobre o caráter de uma ligação. Quando $\lambda_1 = \lambda_2$, significa que as ligações (simples ou tripla) são cilíndricamente simétricas enquanto que em situações de $|\lambda_1| > |\lambda_2|$ indicam que há maior concentração de densidade eletrônica na direção de λ_1 do que na direção de λ_2 , o que representa uma situação típica de ligação dupla. Neste último caso, a distribuição da densidade eletrônica é aproximadamente elíptica em relação a ambos vetores. Assim, por exemplo, no etano, a ligação simples C-C apresenta $\varepsilon = 0,00$. Para o eteno ε cresce para 0,45 em relação a dupla ligação C=C enquanto que para todas as ligações C=C do benzeno $\varepsilon = 0,230$. Portanto, ligações com ε próximos de 0 possuem caráter simples, enquanto que ligações com ε próximos de 0,300 têm maior caráter de dupla ligação. Em função disso, ε pode ser utilizada para determinar a ressonância, a estabilidade molecular e força interatômica.³⁹

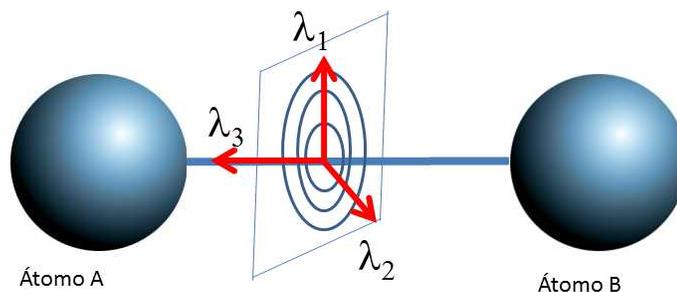


Figura 3: Orientação espacial dos autovalores λ_1 , λ_2 e λ_3 .

Além das informações obtidas sobre as ligações químicas, QTAIM permite avaliar diversas propriedades atômicas. Por exemplo, a população eletrônica total $N(\Omega)$ de um átomo em uma molécula, a qual deve ser idêntica ao número total de elétrons, pode ser obtida através da integração da densidade eletrônica sobre o volume ocupado pelo átomo:

$$N(\Omega) = \int_{\Omega} \rho d\tau \quad \text{eq. 4}$$

Por outro lado, a carga $q(\Omega)$ em cada átomo é obtida pela diferença entre o número atômico Z e a população eletrônica:

$$q(\Omega) = z_{\Omega} - N(\Omega) \quad \text{eq. 5}$$

O desvio da soma das populações (ou cargas) atômicas de um correspondente valor molecular é um indicador da qualidade das integrações numéricas.

Outro parâmetro também importante é momento de dipolo M_1 , obtido segundo a equação:

$$M_1(\Omega) = \int_{\Omega} r(\Omega)\rho d\tau \quad \text{eq. 6}$$

onde $r(\Omega)$ é um vetor com mesma orientação da carga eletrônica atômica em relação ao núcleo. O M_1 , juntamente com os demais parâmetros, são variáveis importantes utilizadas por Popelier para a caracterização de ligações de hidrogênio (LH).⁴⁰

1.2.1 Atribuição de ligações de hidrogênio: Critérios de Popelier

A QTAIM é uma metodologia clara e rigorosa na descrição de ligações químicas e tem sido utilizada recentemente com muito sucesso na caracterização de interações inter e intramoleculares nos mais variados sistemas.⁴¹ Em especial, critérios topológicos da existência de LHs foram propostos por Koch e Popelier⁴⁰:

- Uma ligação de hidrogênio deve apresentar uma topologia compatível com sua formação, ou seja, é necessária a existência de uma BP e um BCP entre o átomo de hidrogênio e o receptor que esteja envolvido na ligação.
- Os valores da densidade eletrônica ρ e de seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) obtidos para um determinado arranjo espacial, devem estar contidos nos intervalos 0,002-0,040 ua e 0,024-0,139 ua, respectivamente.
- O átomo de hidrogênio, envolvido numa LH, deve perder carga atômica $q(H)$. Como consequência desta redução, este átomo deve apresentar um aumento de energia $E(H)$, um decréscimo do seu primeiro momento de dipolo $M_1(H)$ e do volume atômico $V(H)$.

Todas estas alterações devem ser mensuradas e comparadas com um confôrmero de referência cuja conformação não seja propícia a uma LH.

Outro parâmetro descrito por Popelier envolve a interpenetração do átomo de hidrogênio com o átomo receptor de hidrogênio. Porém este parâmetro se aplica ao estudo de LHs do tipo intermolecular.

1.3 Análise conformacional de aminoácidos

Aminoácidos (Aas) são compostos bifuncionais, que contêm os grupos amino e ácido carboxílico bem como uma cadeia lateral, que é específica para cada aminoácido. Estas biomoléculas são essenciais à vida, uma vez que representam

unidades estruturais básicas de peptídeos e proteínas e suas propriedades químicas têm sido investigados teórica e experimentalmente proporcionando informações importantes sobre a natureza de sistemas biológicos.⁴²

Em particular, os aminoácidos apresentam muitos confôrmeros que resultam de interações entre a cadeia principal e lateral destes compostos.⁴³ Várias estratégias têm sido traçadas, a fim de obter informações a respeito das geometrias mais estáveis e os fatores que regem seu equilíbrio conformacional. Mesmo assim, várias limitações têm sido reportadas. Por exemplo, para considerar a forma neutra do aminoácido, os estudos têm sido conduzidos na fase gasosa, em uma atmosfera livre de interações intermoleculares. Embora informações importantes possam ser obtidas sem influência do meio onde as moléculas estão inseridas, esta situação está longe de representar as condições *in situ* do meio condensado, em que as reações bioquímicas ocorrem. Além disso, grande parte dos aminoácidos apresenta elevado ponto de fusão e baixa pressão de vapor e se decompõe muito facilmente quando utilizados métodos clássicos de vaporização.⁴³

O estudo de aminoácidos e peptídeos de cadeia curta em solução, de preferência em solventes diferentes, é de grande interesse, dada a sua importância biológica,⁴⁴ como em mecanismos de transporte através de membranas e barreiras. Por exemplo, quando um fármaco atravessa uma membrana biológica, experimenta diversas zonas de polaridades distintas.⁴⁵ Contudo, estes compostos, quando dissolvidos, aparecem como espécies iônicas, cuja natureza é determinada pelo pH da solução e por sua estrutura particular. Além disso, a solubilidade em solventes orgânicos representa uma difícil barreira e, dessa forma, a maior parte dos estudos experimentais é descrita no estado sólido.⁴⁶ Mesmo assim, aminoácidos nesta forma, exibem uma estrutura bipolar zwitteriônica (“*zwitterion*”, do tipo ${}^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{R})-\text{COO}^-$), que, por sinal, não está presente nas cadeias polipeptídicas (exceto nas extremidades).⁴⁷ As interações com a vizinhança levam a uma considerável estabilidade da forma bipolar, quando comparada à forma neutra.

Uma alternativa para superar as dificuldades experimentais é a derivatização dos aminoácidos através da acetilação ou esterificação. Dessa forma dois problemas são resolvidos: o da solubilidade e a ausência da forma bipolar. A acetilação dos aminoácidos torna-se interessante também devido aos *N*-acetil-derivados serem importantes no estudo da deficiência de aminoacilase, erro inato do metabolismo, marcado por uma característica padrão de excreção de aminoácidos *N*-acetilados.⁴⁸ Um estudo recente⁴⁹ mostrou o uso de RMN de ¹H na determinação de *N*-acetilaspártato na urina de pacientes com epilepsia (resultante da ausência da *N*-apartoilacilase) e de outros *N*-acetil-derivados em casos de diversas enfermidades.⁵⁰ Além disso, a acetilação e a esterificação de aminoácidos podem ser utilizadas como sondas, para compreender o comportamento conformacional seguida da relação estrutura-atividade de diversos decapeptídeos,⁵¹ isto é, pseudopeptídeos que possuem um grupo amida substituído por um grupo éster (Esquema 1). Estes compostos apresentam diversas propriedades de interesse biológico como: antibióticos, antifúngico, anti-inflamatório, antitumoral, imunossupressor e combate ao vírus HIV.⁵²



Esquema 1: Representação da cadeia de um decapeptídeo. "X" e "Y" são substituintes presentes nas extremidades.

Em função das dificuldades reportadas acima, grande parte dos estudos envolvendo aminoácidos é exclusivamente teórico. Geralmente, a metodologia adotada envolve a identificação dos confôrmeros de menor energia, utilizando-se de um nível de teoria mais simples e, em seguida, a otimização dos mesmos empregando cálculos mais refinados que envolvem métodos e conjuntos de bases mais sofisticados. Por exemplo, Gronert e O'Hair⁵³ demonstraram que o método AM1 (*Austin Modelo One*), um método semi-empírico, é incapaz de caracterizar energias relativas de biomoléculas de maior complexidade que envolvem

interações do tipo LH. Por outro lado, os estudos teóricos mais recentes em nível B3LYP, empregando diversos conjuntos de bases, têm sido comparados com sucesso a medidas experimentais.⁵⁴⁻⁵⁶

1.3.1 Glicina, alanina, serina, treonina e triptofano

Glicina (Gli) e alanina (Ala) são aminoácidos não essenciais de grande importância para o metabolismo humano. A Gli ajuda a converter muitas substâncias tóxicas, incluindo materiais fenólicos, em formas menos tóxicas além de participar da produção de açúcar no sangue. Por outro lado, Ala é considerado um dos mais importantes nutrientes para o metabolismo de aminoácidos no sangue.^{57,58} Além disso, ambos os aminoácidos representam os sistemas mais simples sendo, portanto, utilizados como modelos em análise conformacional.⁵⁹

Em contrapartida, Serina (Ser) e Treonina (Thr) são aminoácidos de cadeias polares, que incluem o grupo hidroxila na cadeia lateral, de grande importância biológica,^{60,61} como em biossíntese e reações de fosforilação.

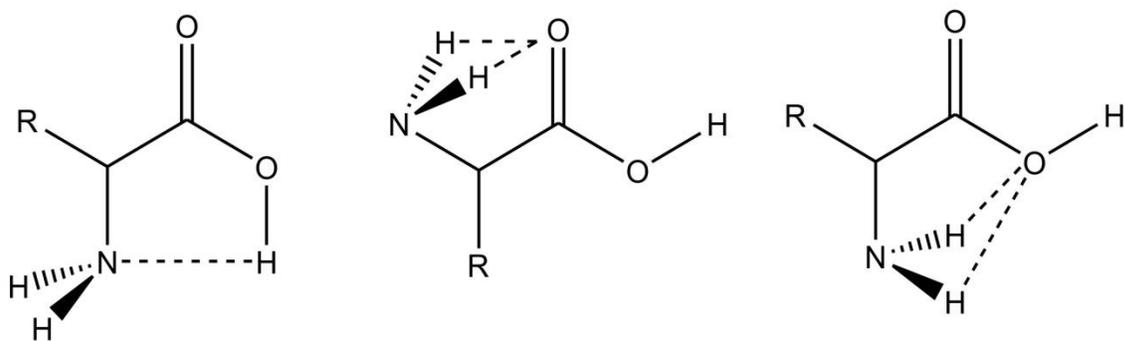
Para a Ser, a investigação teórica, provavelmente a mais completa, foi realizada por Gronert e O'Hair,⁵³ através da rotação de todos os ângulos diedros presentes no aminoácido na fase gasosa, o que resultou na seleção de 51 mínimos cuja diferença de energia pode chegar a 12 kcal mol⁻¹. Ainda na fase gasosa, Blanco e colaboradores,⁷ encontraram sete confôrmeros neutros a partir de estudos combinados entre espectroscopia de microondas e cálculos teóricos (MP2/6-311++G). Além disso, foi reportado por Lambie e colaboradores que apenas 4 confôrmeros de menor energia são estáveis o suficiente para serem detectados por meio de espectroscopia no infravermelho.⁶⁰ Estudos também recentes relacionados à afinidade por prótons⁶² e frequências vibracionais⁶³ têm sido reportados.

A Thr tem recebido atenção especial pelo fato de apresentar, em conjunto com a Isoleucina, dois centros quirais. Um estudo recente, realizado através de espectroscopia de microondas e cálculos teóricos em nível *ab initio* revelou sete

confôrmeros como os mais estáveis na fase gasosa.⁶⁴ Mao *et al.*⁶⁵ através da RMN de ¹³C e ¹⁵N, estudaram o efeito dos grupos laterais hidroxila e metila na conformação de proteínas do tipo “anti-congelante”. Em meio aquoso, um estudo detalhado da energia, conformação e características vibracionais tanto para a Ser quanto para a Thr, demonstrou a influência do solvente (através da interação de ligação de hidrogênio, LH) sobre as conformações mais estáveis para ambos os aminoácidos.⁶⁶ Outro estudo envolvendo espécies neutras, zwitteriônicas, protonada e deprotonada para a Thr foi realizado.⁶⁷

Por outro lado, o triptofano (Trp) é muito importante em processos que envolvem transferência de elétrons, como fotossíntese e respiração, além de ser um precursor do neurotransmissor serotonina.⁶⁸ Além disso, por ser um aminoácido aromático (cadeia apolar), apresenta forte banda de absorção na região do ultravioleta (250-285 nm)⁶⁹ e assim tem sido muito estudado por técnicas espectroscópicas para análise de dinâmica e estrutura de proteínas. Mais recente, Snoerk *et al.* empregaram métodos de dupla ressonância combinada (UV-UV e IR-UV), para o entendimento do equilíbrio conformacional do Trp.⁷⁰ Além disso, vários trabalhos reportados na literatura foram publicados para o aminoácido derivatizado,^{54, 69} por razões já discutidas acima.

Contudo, grande parte dos estudos envolvendo aminoácidos^{55, 71} atribui as ligações de hidrogênio (veja Esquema 2 ou interações π entre o anel aromático e a cadeia principal de aminoácidos aromáticos)⁷² como sendo as interações responsáveis pela estabilidade conformacional destes sistemas. Na maior parte dos estudos, pouca ou nenhuma atenção tem sido dada às discussões a respeito de efeitos estéricos e de origem hiperconjugativa, tão fundamentais para Química, Bioquímica e Farmacologia,⁷³ com forte influência sobre a dinâmica de enzimas, cinética de interação entre ligante e receptor, etc.



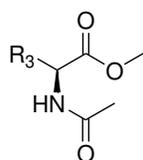
Esquema 2: Representação esquemática de ligações de hidrogênio para aminoácidos. “R” representa a cadeia lateral.

Recentemente, cálculos teóricos envolvendo análises NBO e QTAIM demonstraram que efeitos estéricos e de hiperconjugação, e não ligações de hidrogênio, são os que governam as estabilidades dos confôrmeros de diversos aminoácidos e derivados.⁷³⁻⁷⁸

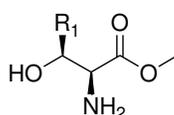
Assim, uma investigação sistemática das interações, tanto de natureza clássica como não clássica, pode contribuir para o entendimento das conformações mais estáveis de aminoácidos e derivados de cadeias maiores bem como de outros sistemas biológicos mais complexos.

2. Objetivos

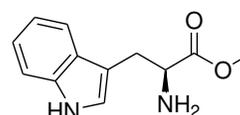
Considerando o potencial das informações obtidas a partir de equilíbrios conformacionais de aminoácidos e derivados, para entendimento de sistemas biológicos maiores como peptídeos, o objetivo deste trabalho é estudar o comportamento conformacional de alguns ésteres metílicos de aminoácidos não acetilados (L-serina, L-treonina e L-triptofano) e *N*-acetilados (glicina, L-alanina, L-serina, L-treonina e L-triptofano) através de cálculos teóricos e técnicas experimentais de espectroscopia no Infravermelho e de Ressonância Magnética Nuclear (Esquema 3)



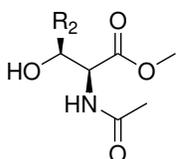
Éster metílico da *N*-acetil-glicina ($R_3=H$)
Éster metílico da *N*-acetil-L-alanina ($R_3=CH_3$)



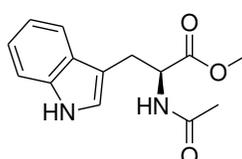
Éster metílico da L-serina ($R_1=H$)
Éster metílico da L-treonina ($R_1=CH_3$)



Éster metílico do L-triptofano



Éster metílico da *N*-acetil-L-serina ($R_2=H$)
Éster metílico da *N*-acetil-L-treonina ($R_2=CH_3$)



Éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano

Esquema 3: Estrutura dos aminoácido-derivados em estudo.

3. Parte Experimental

3.1 Desprotonação dos aminoésteres

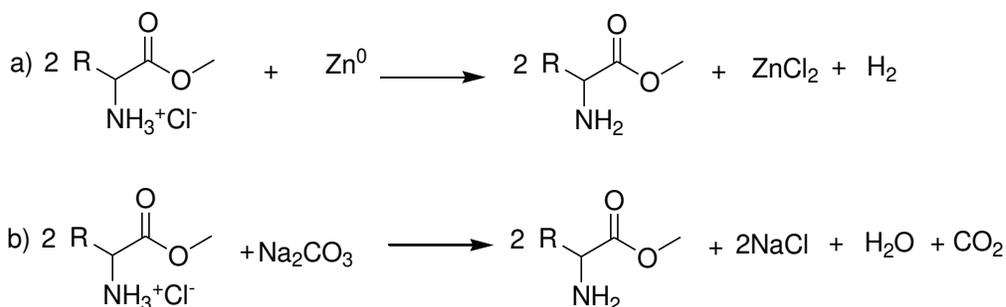
Os L-aminoésteres foram adquiridos na forma de cloridratos. Dentre as várias metodologias empregadas para a desprotonação, duas são listadas a seguir (Esquema 4). Os compostos *N*-acetilados (*Sigma Aldrich*) foram adquiridos na forma deprotonada e não foram purificados para as análises em infravermelho e RMN.

3.1.1 Desprotonação com pó de Zinco

Em uma suspensão de 1 mmol do éster metílico do triptofano (*Acros Organics*) ou da treonina (*Sigma Aldrich*), na forma de cloridrato e dissolvido em THF (10 mL), foi adicionado pó de Zn (100 mg), conforme descrito na literatura.⁷⁹ A solução foi agitada por cerca de uma hora e após a reação estar completa, o produto foi filtrado, evaporado e cristalizado em éter seco, apresentando rendimento de 76 e 80%, respectivamente.

3.1.2 Desprotonação com Na₂CO₃

Em uma suspensão de 1 mmol do éster metílico da L-serina (*Sigma Aldrich*), na forma de cloridrato e dissolvido em 10 mL de acetonitrila, foi adicionado 0,5 mmol de carbonato de sódio, conforme descrito na literatura.⁸⁰ A solução foi agitada por cerca de 2 h à temperatura ambiente e, em seguida, filtrada. O sólido resultante foi previamente seco e o rendimento foi cerca de 30%.



Esquema 4: Desprotonação de aminoésteres através a) da reação envolvendo Zn^0 e b) utilizando se de carbonato de sódio.

A desprotonação utilizando-se de zinco em pó apresentou alto rendimento e assim foi utilizada com sucesso para éster metílico do triptofano e da treonina. Contudo, a desprotonação, aplicando esta mesma metodologia, para o éster metílico da serina não ocorreu. Assim, a reação empregando carbonato de sódio foi utilizada. Embora com rendimento bastante inferior (cerca de 30%), possibilitou a desprotonação da serina.

3.2 Espectroscopia de RMN de ^1H

Espectrômetros de RMN Bruker (400, 500 ou 600 MHz, dependendo do equipamento utilizado, para a frequência do Hidrogênio) modelos Avance. Foram utilizadas as sequências de pulsos zg30 e zgcprr (neste último caso para supressão do sinal residual da água).

Para avaliar a preferência conformacional sob influência da polaridade do meio, aproximadamente 10 mg de cada amostra foram dissolvidas nos solventes (*Aldrich*): CCl_4 , CDCl_3 , CD_3CN , CD_3OD , Piriridina- d_5 e $\text{DMSO-}d_6$. Além disso, foi utilizado o TMS (Tetrametilsilano) como referência interna. Os espectros foram obtidos a uma temperatura de 25°C e foram realizadas 8 acumulações. Outros parâmetros utilizados para aquisição estão especificados nos respectivos espectros (Anexo 1).

3.3 Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros no infravermelho (espectrômetro Shimadzu FT-IR Prestige 21) foram obtidos na região de 400 a 4000 cm^{-1} , utilizando-se de 32 acumulações e resolução de 1 cm^{-1} . As amostras foram preparadas em concentração de 0,03 M nos solventes acetonitrila, THF, diclorometano e/ou DMSO. Foram utilizadas celas de NaCl e CaF_2 com espaçador de 5 mm de espessura. Para obtenção das populações relativas de cada confômero, foi realizada a deconvolução analítica (*Grams Spectroscopy Software Suite*⁸¹) das bandas sobrepostas, correspondentes à vibração fundamental de estiramento da ligação C=O (função éster) na região de ~ 1800 a 1600 cm^{-1} . Foram utilizadas correções da linha de base.

3.3 Cálculos teóricos

Os cálculos foram realizados utilizando o pacote Gaussian 09.⁸² De início, foram construídas superfícies de energia potencial (PES) para todos os sistemas supracitados. Para os ésteres metílicos (não acetilados), foram utilizados como ponto de partida, os confômeros mais estáveis (6 mínimos de energia) do éster metílico da alanina (Ala-OMe),⁷⁶ os quais foram obtidos a partir da rotação dos ângulos diedros ϕ , θ e ψ (Figura 4). Para tanto, um hidrogênio do grupo metila (cadeia lateral) do Ala-OMe foi substituído pela cadeia lateral específica para a serina, treonina e triptofano (Veja Figura 5).

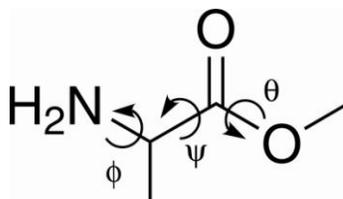


Figura 4: Éster metílico da alanina e seus respectivos ângulos diedros variados.⁷⁶

Para os ésteres metílicos da serina (SerOMe) e treonina (ThrOMe), foram variados os ângulos diedros da cadeia lateral χ_1 [O-C $_{\beta}$ -C $_{\alpha}$ -N] e χ_2 [H-O-C $_{\beta}$ -C $_{\alpha}$] em passos de 10°, de modo que χ_2 variasse de 0 a 360° para χ_1 a 0°, depois 10° e assim sucessivamente até 360° (Figura 5a e Figura 5b), obtendo-se assim uma PES em três dimensões. Para o triptofano, variou-se apenas o diedro χ_1 [N-C $_{\alpha}$ -C $_{\beta}$ -C $_{\gamma}$] de 0 a 360°, em passos de 10°, obtendo-se deste modo uma PES bidimensional (Figura 5c).

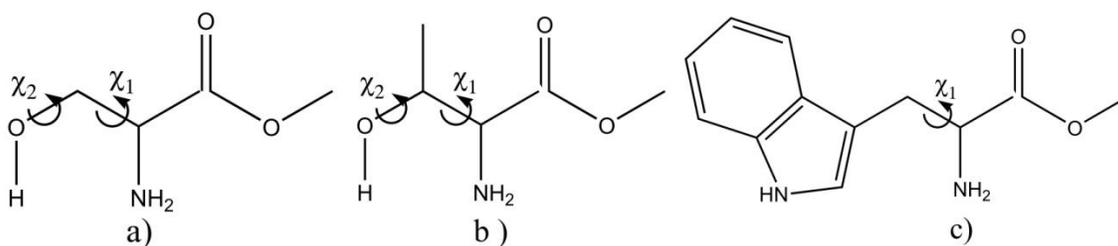


Figura 5: Ésteres metílicos da a) serina, b) treonina e c) triptofano e seus respectivos ângulos diedros variados.

Para os compostos *N*-acetilados, foram utilizados como ponto de partida os mínimos de energia obtidos do éster metílico da *N*-acetil-alanina (Ac-Ala-OMe), pela rotação dos diedros ψ [N-C $_{\alpha}$ -C=O] e ϕ [H-N-C $_{\alpha}$ -C(O)] enquanto que θ [H $_3$ C-O-C=O] foi mantido na forma *cis*⁸³ e ω [H-N-C=O] na forma *trans* (Figura 6).⁸⁴ Os mínimos de energia dos ésteres metílicos *N*-acetilados da serina (Ac-Ser-OMe), da treonina (Ac-Thr-OMe) e do triptofano (Ac-Trp-OMe) foram obtidos pela

substituição de um hidrogênio do grupo metila da Ac-Ala-OMe, pelas respectivas cadeias laterais, seguida pela rotação dos diedros χ_1 [O-C $_{\beta}$ -C $_{\alpha}$ -N] e χ_2 [H-O-C $_{\beta}$ -C $_{\alpha}$] para Ac-Ser-OMe e Ac-Thr-OMe e χ_1 [N-C $_{\alpha}$ -C $_{\beta}$ -C $_{\gamma}$] e χ_2 [C $_{\alpha}$ -C $_{\beta}$ -C $_{\gamma}$ -C $_{\delta 1}$] para Ac-Trp-OMe. A nomenclatura dos ângulos selecionados segue as recomendações da IUPAC.⁸⁵ Todos os cálculos foram realizados em nível B3LYP/cc-pVDZ.

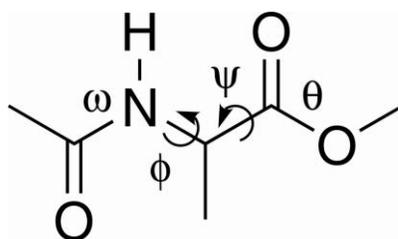


Figura 6: Representação da rotação dos ângulos diedros do éster metílico da *N*-acetil-L-alanina.

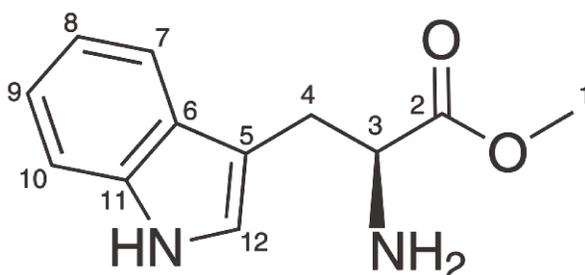
Em seguida, os mínimos de energia foram otimizados, utilizando-se da base aug-cc-pVDZ para uma descrição mais rigorosa dos pares de elétrons não ligantes dos átomos de nitrogênio e oxigênio. Em especial, este nível de teoria tem sido utilizado com êxito em estudos envolvendo diversos aminoácidos e derivados.⁷³⁻⁷⁷

Além disso, cálculos de otimização para os confôrmeros mais estáveis, utilizando o método de solvatação implícito CPCM, foram realizados utilizando diferentes solventes. Os resultados obtidos foram utilizados para obtenção do número de onda correspondente ao estiramento da ligação C=O e valores das constantes de acoplamento $^3J_{HH}$ entre os hidrogênios α e β dos respectivos derivados de aminoácidos estudados. Além disso, foi realizada a análise detalhada de NBO⁸⁶ para os confôrmeros de menor energia em fase isolada e análise topológica por QTAIM para obtenção dos parâmetros de integração das bacias atômicas.⁸⁷ Como usual, a precisão destes cálculos foi analisada pelos valores do Laplaciano da densidade de carga em cada átomo, que não apresentou valores absolutos maiores que 10^{-3} u.a.

4. Resultados e discussão

4.1 Éster metílico do L-triptofano

A atribuição completa dos sinais do Trp-OMe foi realizada com base nos experimentos de RMN de ^1H , ^{13}C , COSY (*Correlation spectroscopy*), HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence spectroscopy*), HMBC (*Hetero Multiple Bond Correlation*) e NOESY (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*).



Trp-OMe. RMN de ^1H (DMSO-*d*₆, 600MHz) (deslocamento químico δ em ppm, multiplicidade, constante de acoplamento J em Hz): H₁ (3,58; s), H₃ (3,82; dd; 6,39 e 5,83), H₄ (3,11; dd; 6,39 e 14,35), H_{4'} (3,17; dd; 5,86 e 14,35), H₇ (7,48; d; 8,0 Hz), H₈ (6,98-6,96; m), H₉ (7,08-7,05; m), H₁₀ (7,34; d; 8,0), H(N) (10,90; s), H(NH₂) (4,26, s); H₁₂ (7,15; d; 2,34). RMN de ^{13}C (DMSO-*d*₆): C₁ (52,20), C₂ (174,34), C₃ (54,91), C₄ (29,81), C₅ (109,23), C₆ (127,69), C₇ (118,60), C₈ (118,87), C₉ (121,47), C₁₀ (111,87), C₁₁ (136,61) e C₁₂ (124,50).

O isomerismo rotacional de aminoácidos e derivados é usualmente representado por uma mistura de rotâmeros alternados conforme a Figura 7. Neste contexto, a constante de acoplamento vicinal $^3J_{\text{HH}}$ entre os hidrogênios α e β é um parâmetro importante, dependente do ângulo diedro de rotação em torno da ligação simples $\text{C}_\alpha\text{-C}_\beta$ e útil para avaliar a relação entre a cadeia lateral e principal destes compostos. A Figura 7 mostra três arranjos (“a”, “b” e “c”) esperados, devido a variação do ângulo diedro χ [$\text{N-C}_\alpha\text{-C}_\beta\text{-C}_\gamma$]. Os arranjos “a” e “b” apresentam acoplamentos $^3J_{\text{HH}}$ *anti* e *gauche* entre os hidrogênios H _{α} , H _{β 1} e

$H_{\beta 2}$ enquanto que em “c” apenas acoplamento *gauche* são esperados. Por esta razão, variações nas medidas experimentais de ${}^3J_{HH}$, devido a mudança do solvente, podem estar associadas ao aumento ou diminuição populacional dos três arranjos.

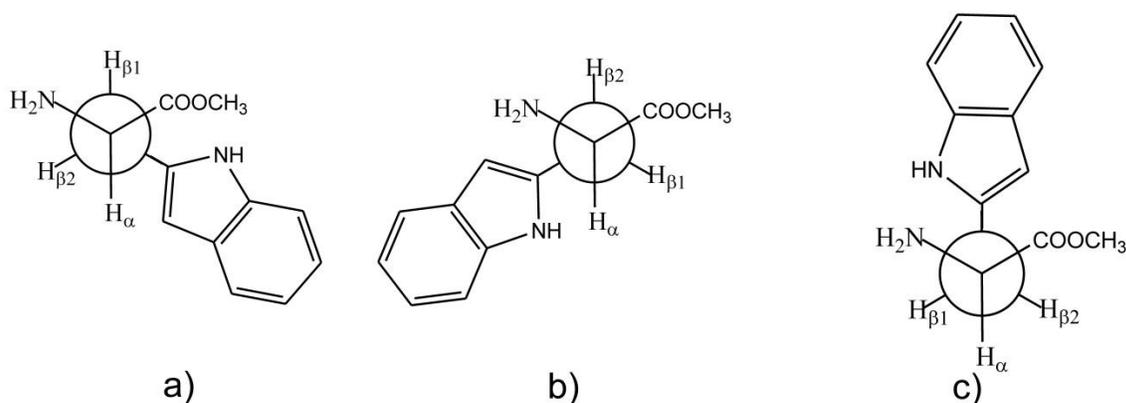


Figura 7: Representação dos rotâmeros alternados relativos à cadeia lateral do Trp-OMe.

Portanto, para compreender as mudanças conformacionais induzidas pelo meio, espectros de RMN de 1H (Anexo 1) foram obtidos em solventes de constantes dielétricas diferentes: acetonitrila, piridina, metanol e DMSO. Conforme a Tabela 1, os valores de ${}^3J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ não apresentam mudanças significativas (valores entre 6,39 e 7,14 Hz para ${}^3J_{H_{\alpha}H_{\beta 1}}$ e entre 5,57 e 5,86 Hz para ${}^3J_{H_{\alpha}H_{\beta 2}}$) e, portanto, indicam que não há variação populacional dos confôrmeros em relação à cadeia lateral com a mudança do meio. Uma vez que a rotação em torno da ligação C_α-C_β é suficientemente rápida, os valores das constantes de acoplamento observadas representam valores médios para os três rotâmeros e assim a RMN de 1H apenas, não permite explicar o isomerismo conformacional do Trp-OMe.

Tabela 1: Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamentos para o éster metílico da triptofano em vários solventes.

Solvente	ϵ	$\delta_{H\alpha}$	$\delta_{H\beta 1}$	$\delta_{H\beta 2}$	${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$	${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$
Piridina- <i>d</i> ₅	12,3	3,89	3,12	3,18	6,46	5,78
Metanol- <i>d</i> ₄	32,7	4,13	3,28	3,37	7,14	5,57
CD ₃ CN	37,5	4,12	3,34	3,34	-----	-----
DMSO- <i>d</i> ₆	46,7	3,89	3,11	3,17	6,39	5,86

Com o objetivo de confirmar, compreender e justificar os resultados experimentais, cálculos teóricos foram realizados a partir de seis confômeros mais estáveis, obtidos do éster metílico da alanina.⁷⁶ Para tanto, um átomo de hidrogênio, pertencente ao grupo metila (cadeia lateral), foi substituído pelo grupo indolila e os 6 novos confômeros foram utilizados para construção de 6 curvas de energia. Neste caso, foi promovida a rotação do ângulo χ (N-C α -C β -C γ) enquanto que os diedros ϕ [LP_N-N-C α -C(O)] (LP_N representa o par de elétrons não ligante do átomo de nitrogênio) e ψ [N-C α -C=O] foram mantidos congelados. Os ângulos ϕ e ψ foram mantidos fixos a fim de preservar a geometria otimizada da cadeia principal dos ésteres metílicos de aminoácidos.⁷⁶ A Figura 8 mostra as seis curvas de energia obtidas que forneceram os 18 mínimos de energia (três para cada curva de energia) para o derivado do triptofano. Os mínimos de energia, assim obtidos, foram otimizados em nível B3LYP/aug-cc-pVDZ desta vez com todos os ângulos diedros livres para rotação.

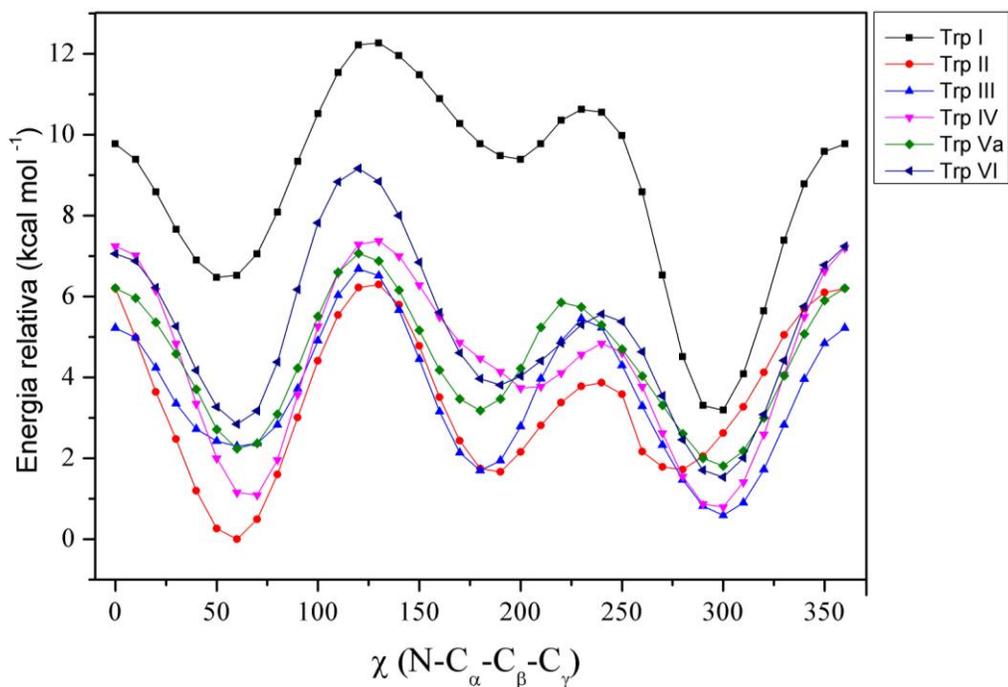


Figura 8: Curvas de energia para o éster metílico do triptofano, obtidas a partir da rotação do ângulo diedro χ .

Embora todas as 18 estruturas sejam teoricamente possíveis, algumas delas apresentaram energia relativa muito alta ($\sim 6 \text{ kcal mol}^{-1}$) e, desta forma, praticamente não contribuem para o equilíbrio conformacional, segundo a distribuição de Boltzmann. Além disso, o confômero **Trp9** se interconverte em **Trp4** e, portanto, não foi considerado para os cálculos seguintes. Assim, apenas 8 (Figura 9) destas estruturas (nomeados de acordo com a ordem crescente de energia,) foram consideradas para os cálculos seguintes.

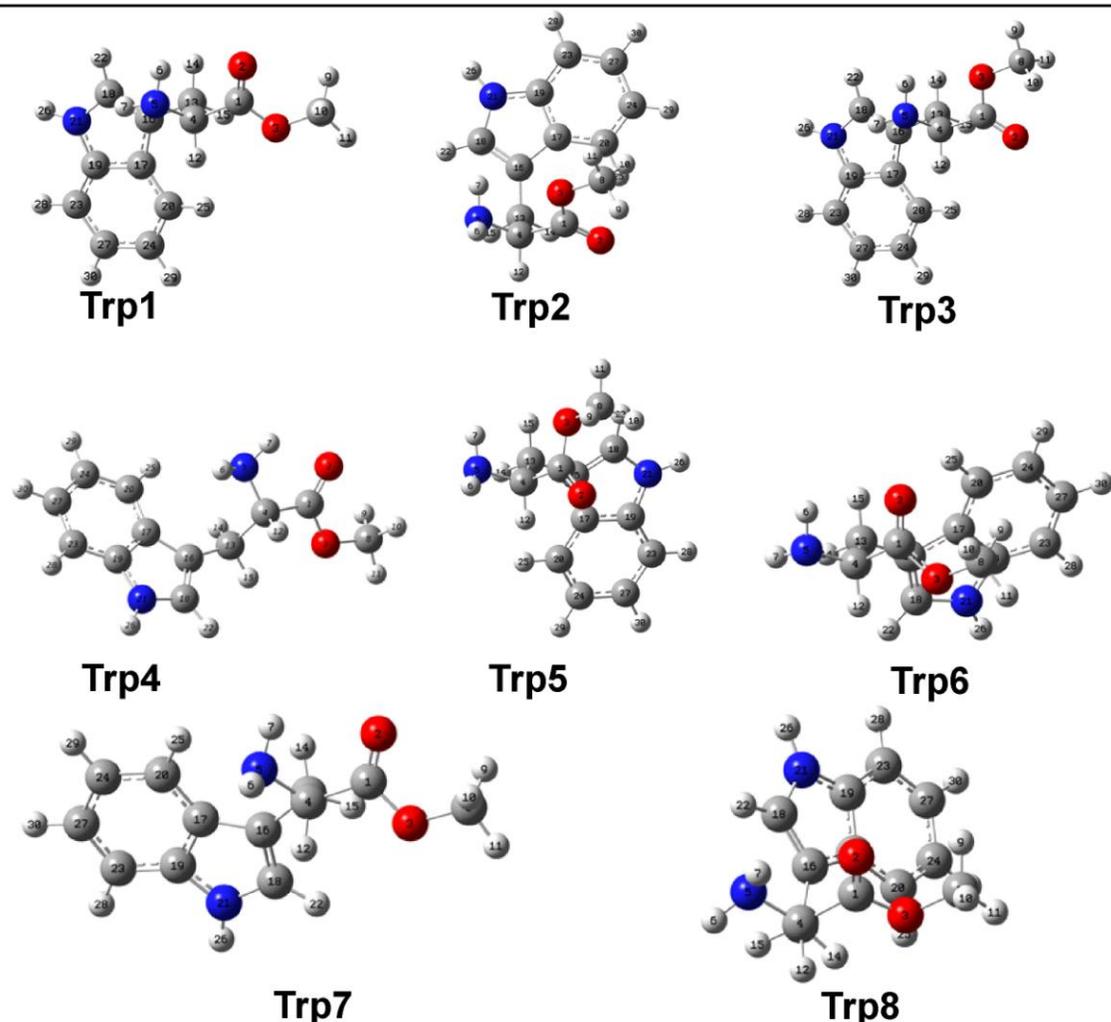


Figura 9: Representação dos 8 confôrmeros de menor energia do éster metílico do triptofano otimizados em nível DFT-B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Em seguida, os 8 confôrmeros foram otimizados nos solventes (modelo de solvatação CPCM) acetonitrila, piridina, DMSO e metanol e os resultados foram utilizados para a obtenção dos valores das constantes de acoplamento ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ para átomos de nitrogênio e oxigênio e B3LYP/EPR-III para átomos hidrogênio e carbono). A contribuição relativa de cada confôrmero para o valor de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$ observado experimentalmente em cada solvente, pode ser determinada a partir do produto entre as frações molares de cada confôrmero e os valores calculados da respectiva constante de acoplamento (vide seção 1.1.1). Conforme a Figura 10, os valores de ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ não

variam significativamente de um solvente para outro, demonstrando assim não haver mudança significativa na população dos confôrmeros com a mudança do meio. Estes resultados corroboram com aqueles obtidos experimentalmente.

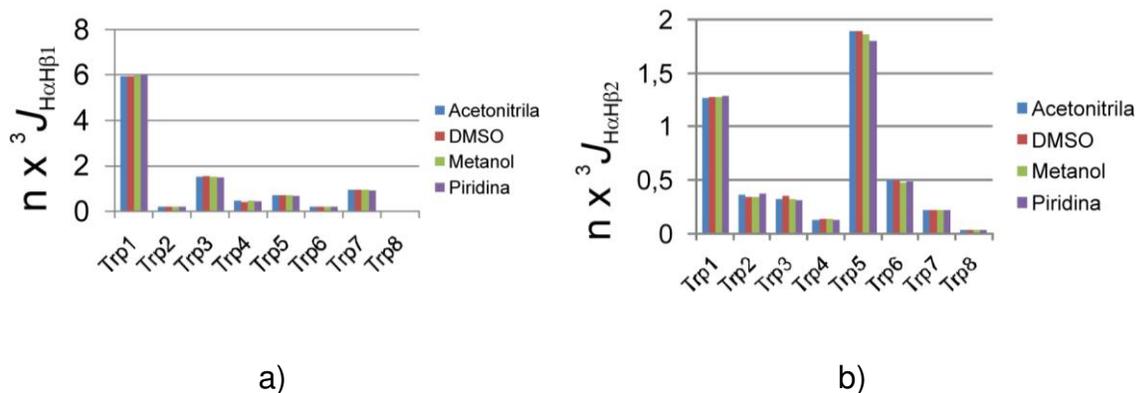


Figura 10: População relativa (n) versus a) ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e b) ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ calculados para TrpOMe.

Além disso, a banda do estiramento da carbonila $\bar{\nu}_{C=O}$, que absorve numa região livre de interferências, foi utilizada para atribuir as populações dos confôrmeros. Foram obtidos os espectros de infravermelho para o Trp-OMe em acetonitrila e THF. A Figura 11 mostra a região de absorção da carbonila nos respectivos solventes.

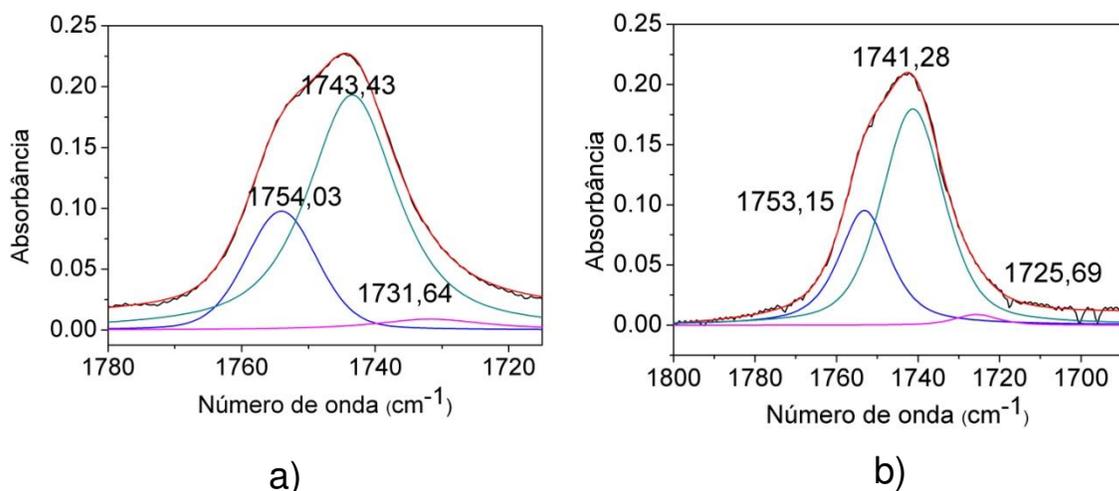


Figura 11: Deconvolução do espectro de infravermelho na região de estiramento da carbonila do éster metílico do triptofano em a) THF e b) acetonitrila. Linhas em preto e representam a banda experimental de $\bar{\nu}_{C=O}$ e linhas em vermelho o somatório das bandas deconvoluídas (azul, verde e rosa).

Conforme a Figura 11, para ambos os solventes utilizados, embora com polaridades bastante distintas ($\epsilon = 7,6$ para THF e $\epsilon = 37,5$ para acetonitrila), os resultados obtidos demonstram não ocorrer variação significativa na população dos conformeros com a mudança do meio conforme frações molares obtidas a partir da área relativa de cada banda [0,03 (1754,03 cm^{-1}); 0,66 (1743,43 cm^{-1}) e 0,31 (1731,64 cm^{-1}) em THF e 0,04 (1753,15 cm^{-1}); 0,71 (1741,28 cm^{-1}) e 0,25 (1725,69 cm^{-1})].

Para analisar os resultados experimentais, foram obtidos os valores da população n , energia relativa e $\bar{\nu}_{C=O}$ para os oito mínimos de energia otimizados em THF e acetonitrila. Em concordância com os resultados experimentais, as populações relativas calculadas para cada conformero não apresentam variação significativa com a mudança do meio (Tabela 2).

Tabela 2: Energia relativa (kcal mol⁻¹), População (n, %) e número de onda $\bar{\nu}_{C=O}$ (cm⁻¹) calculados para o Trp-OMe em THF e acetonitrila (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ).

Confômero	CD ₃ CN			THF		
	E _{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$	E _{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$
Trp1	0,00	51	1741,74	0,00	52	1747,23
Trp2	1,32	6	1726,37	1,21	7	1731,64
Trp3	0,81	13	1736,96	0,85	12	1743,35
Trp4	1,51	4	1743,85	1,56	4	1747,82
Trp5	0,75	14	1733,90	0,84	13	1740,24
Trp6	1,47	4	1742,14	1,48	4	1747,03
Trp7	1,11	7	1737,67	1,17	7	1742,89
Trp8	2,46	1	1742,16	2,35	1	1746,35

A formação de LHs é geralmente invocada para explicar o isomerismo conformacional de aminoácidos e derivados. De fato, vários confômeros do éster metílico do triptofano apresentam geometrias propícias à formação de LHs intramoleculares. Contudo, outras interações, do tipo efeitos estéricos e hiperconjugativos, podem operar nestes sistemas. Assim, com o objetivo de investigar os efeitos que governam o isomerismo conformacional do Trp-OMe, foram empregadas as metodologias QTAIM e NBO.

Os critérios de Popelier,⁴⁰ que envolvem parâmetros de QTAIM, são úteis para a caracterização de LHs. Assim, foram obtidos os gráficos moleculares (Figura 12) para os oito confômeros analisados. Destes, apenas **Trp2**, **Trp4**, **Trp6** e **Trp8** exibem BPs e BCPs relativos a LHs não usuais,²⁹ envolvendo as cadeias principal e lateral do Trp-OMe. Estes parâmetros QTAIM foram observados mesmo em nível de teoria superior (B3LYP/aug-cc-pVTZ) e otimizados em solventes (DMSO e metanol). Uma vez que a presença destes dois parâmetros é uma condição necessária para que dois átomos estejam ligados, apenas estes confômeros poderiam formar LHs estáveis.

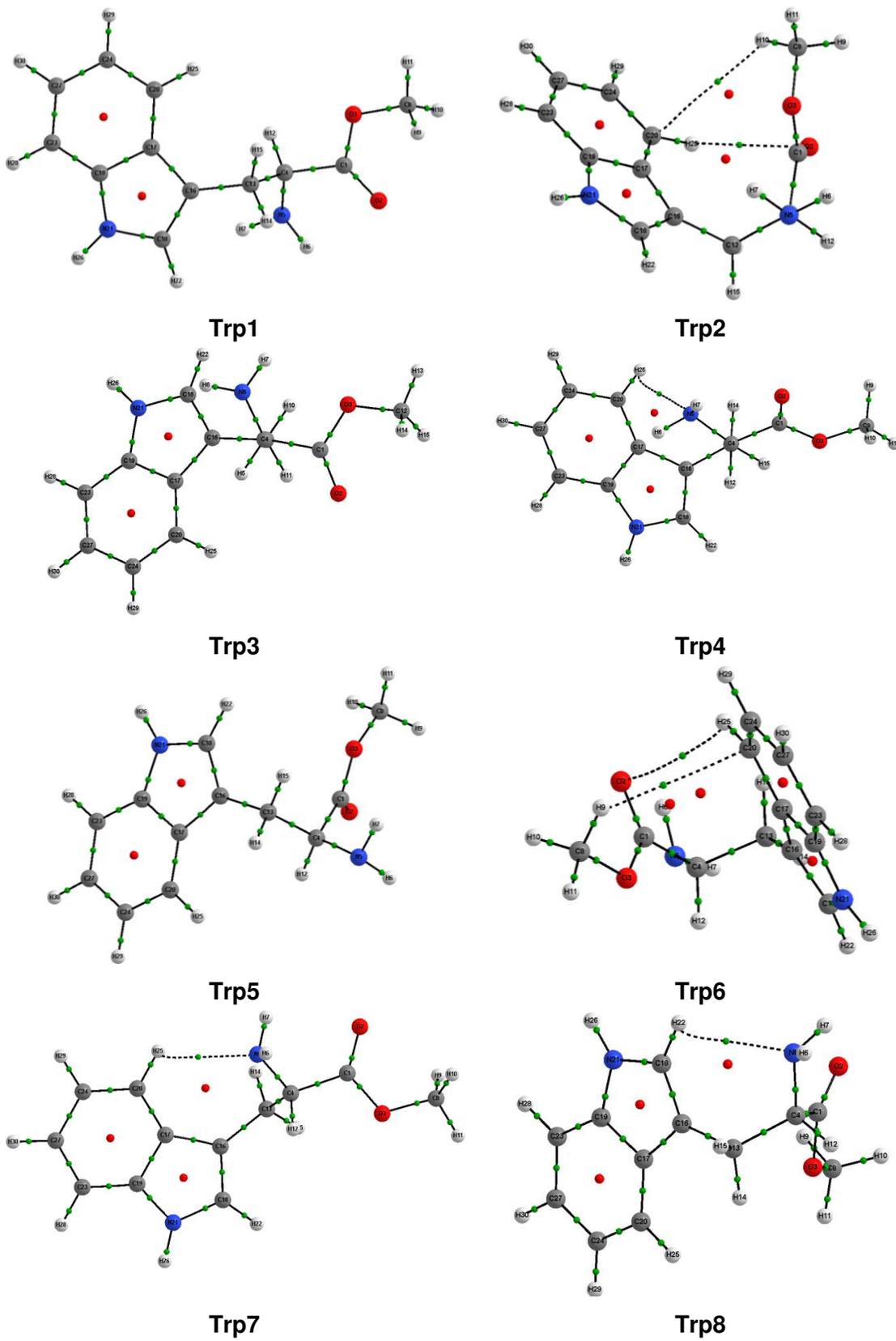


Figura 12: Gráficos moleculares obtidos para o AcTrpOMe: Pontos verdes e vermelhos representam pontos críticos de ligação e de anel, respectivamente.

Para avaliar os demais critérios, foram obtidos os valores da densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) bem como a energia atômica $E(\text{H})$, a carga atômica $q(\text{H})$, momento de dipolo $M_I(\text{H})$ e volume atômico $V(\text{H})$ para os átomos possivelmente envolvidos em uma LH intramolecular (Tabela 3). Além disso, o confômero **Trp1** que não apresenta ligação de hidrogênio, foi utilizado como referência.

Tabela 3: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP de LH e propriedades atômicas integradas em u.a.

Confômero	H	Parâmetro					
		$\rho_{\text{BCP}}(\text{H})$	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}}(\text{H})$	$q(\text{H})$	$E(\text{H})$	$M_I(\text{H})$	$V(\text{H})$
Trp1	H(9)	---	---	+0,020	-0,605	0,135	47,84
	H(10)	---	---	+0,025	-0,603	0,134	47,47
	H(22)	---	---	+0,032	-0,596	0,130	49,40
	H(25)	---	---	-0,003	-0,612	0,129	51,40
Trp2	H(10)	0,002	+0,007	+0,030	-0,603	0,132	49,06
	H(25)	0,006	+0,020	+0,022	-0,606	0,118	47,59
Trp4	H(10)	0,002	+0,007	+0,030	-0,603	0,132	49,06
	H(25)	0,006	+0,020	+0,022	-0,606	0,118	47,59
Trp6	H(9)	0,003	+0,008	+0,030	-0,603	0,131	48,72
	H(25)	0,005	+0,017	+0,016	-0,608	0,121	48,72
Trp7	H(25)	0,007	+0,022	+0,020	-0,606	0,129	48,15
Trp8	H(22)	0,009	+0,029	+0,066	-0,585	0,129	45,43

Em concordância com os critérios de Popelier, os resultados mostram que apenas o confômero **Trp8** exibe uma ligação de hidrogênio. Os confômeros **Trp2**, **Trp4**, **Trp6** e **Trp7** apresentam valores para $\nabla^2\rho_{\text{BCP}}$ fora do intervalo 0,024-0,139 au. Portanto **Trp8** é o único confômero, de todos avaliados, que satisfaz a todos os critérios e portanto apresenta uma LH estável. No entanto, este confômero é relativamente instável (1,32 kcal mol⁻¹) e assim, LH não é a interação responsável pela estabilidade do Trp-OMe.

Para compreender as contribuições dos efeitos estéricos e eletrostáticos sobre o isomerismo conformacional do Trp-OMe, foi realizada a análise NBO. Todas as interações envolvendo orbitais antiligantes e de Rydberg foram deletadas, isto é, as energias dos confôrmeros foram computadas como uma estrutura perfeita de Lewis, que não leva em conta a hiperconjugação. Nesta situação hipotética, é possível obter as contribuições dos efeitos estéricos e de hiperconjugação devido a energia dos confôrmeros antes e após a deleção serem conhecidas. Quando todas as interações são computadas, **Trp1** é o confôrmero de menor energia ($E_{rel}=0$). Contudo, quando a hiperconjugação é removida, **Trp5** é o confôrmero mais estável por uma diferença de energia maior que 14 kcal mol^{-1} (E_{Lewis} , Tabela 4). Estes resultados demonstram que esta conformação é a que sofre menor efeito estérico, mas sobretudo indica que a hiperconjugação tem importância marcada para a estabilização de **Trp1**. A contribuição dos efeitos hiperconjugativos é $15,82 \text{ kcal mol}^{-1}$ maior para **Trp1** em comparação com **Trp5**, o menos estabilizado pela hiperconjugação, seguido pelos confôrmeros **Trp3** e **Trp7**.

Tabela 4: Energia relativa^[a] (ΔE_{rel}), de Lewis^[a] (ΔE_{Lewis}) e de hiperconjugação^[a] para o Trp-OMe em fase isolada (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ).

	Confôrmero							
	Trp 1	Trp 2	Trp 3	Trp 4	Trp 5	Trp 6	Trp 7	Trp 8
ΔE_{rel}	0,00	0,52	0,92	1,01	1,15	1,28	1,30	1,32
ΔE_{Lewis}	14,68	12,50	3,50	5,06	0,00	11,64	4,45	11,93
ΔE_{hiper}	15,82	13,13	3,73	5,20	0,00	11,51	4,28	11,75

^[a] em kcal mol^{-1}

A importância da hiperconjugação pode ser destacada pelos valores mostrados na Tabela 5, que mostra as principais interações orbitales envolvendo os pares de elétrons não ligantes dos átomos de nitrogênio (LP_{N5}) e oxigênio (LP_{O3}) (veja Figura 9 para a numeração dos átomos) e também os ângulos diedros das cadeias principal e lateral. Os confôrmeros **Trp1**, **Trp3** e **Trp6**

apresentam LP_{N5} direcionado para o orbital antiligante da ligação entre os átomos C_4-C_{13} ($\phi \approx 300^\circ$), que resulta na energia de interação ($LP_{(N5)} \rightarrow \sigma^*_{C4-C13}$) contribuindo para uma estabilização efetiva destes confôrmeros. Os confôrmeros **Trp2**, **Trp5** e **Trp7** ($\phi \approx 180^\circ$) são estabilizados pela interação $LP_{(N5)} \rightarrow \sigma^*_{C1-C4}$ com influência maior para **Trp2** devido ao arranjo espacial entre estes orbitais. Adicionalmente, para **Trp2**, $LP_{(N5)}$ está suficientemente afastado de $LP_{(O2)}$, o que diminui a repulsão estérica entre estes pares de elétrons. Portanto, a orientação de $LP_{(N5)}$ tem um papel importante nas energias de interações orbitales e contribui efetivamente para o equilíbrio conformacional deste composto. Para as interações hiperconjugativas envolvendo os pares de elétrons não ligantes dos átomos de oxigênio, os valores observados são muito próximos para todos os confôrmeros devido o arranjo *cis* do grupo metila em relação à carbonila, como observado para outros ésteres metílicos.⁸³

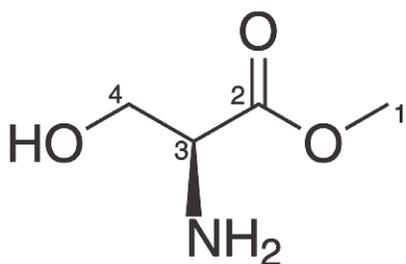
Tabela 5: Principais energias de hiperconjugação (kcal mol^{-1}) envolvendo os átomos de N e O e correspondente ângulos diedros ($^\circ$) para o Trp-OMe.

	Confôrmero							
	Trp1	Trp2	Trp3	Trp4	Trp5	Trp6	Trp7	Trp8
ψ (N-C-C=O)	332	347	144	16	105	312	25	11
ϕ (LP-N-C-C(O))	300	183	300	80	180	301	161	93
χ (N-C α -C β -C γ)	60	60	63	64	175	183	76	291
$LP_{N5} \rightarrow \sigma^*_{C1-C4}$	-----	10,08	0,83	-----	7,71	-----	7,31	-----
$LP_{N5} \rightarrow \sigma^*_{C4-H12}$	2,98	1,16	1,64	-----	0,79	2,13	-----	6,40
$LP_{N5} \rightarrow \sigma^*_{C4-C13}$	8,87	0,70	9,97	2,06	0,90	8,19	2,07	2,85
$LP(1)_{O(3)} \rightarrow \sigma^*_{C1=O2}$	9,36	9,16	8,88	8,91	8,81	9,80	9,32	9,38
$LP(2)_{O(3)} \rightarrow \pi^*_{C1=O2}$	48,21	49,46	46,65	47,79	46,12	50,81	48,50	49,41

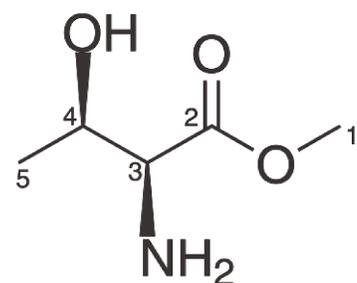
Estes resultados indicam que os arranjos espaciais do Trp-OMe não podem ser atribuídos à formação de ligação de hidrogênio intramolecular, uma vez que esta interação está presente em apenas um confôrmero relativamente instável.

Em contrapartida, efeitos estéricos e de hiperconjugação são determinantes para o equilíbrio conformacional deste sistema.

4.2 Ésteres metílicos da L-serina e L-treonina



Ser-OMe. RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) (deslocamento químico δ em ppm, multiplicidade, constante de acoplamento J em Hz): H_1 (3,60; s), H_3 (3,36; t; 4,86), H_4 (3,50; dd; 4,86 e 10,50), H_4' (3,55; dd; 4,86 e 10,50), $\text{H}(\text{NH}_2)$ (4,8; s), $\text{H}(\text{OH})$ (2,0; s)



Thr-OMe. RMN de ^1H (Piridina- d_5 , 600 MHz) (deslocamento químico δ em ppm, multiplicidade, constante de acoplamento J em Hz): H_1 (3,58; s), H_3 (3,73; d; 3,86), H_4 (3,11; dq; 3,86 e 6,40), H_5 (1,46; d; 6,40).

Os ésteres metílicos da serina e treonina apresentam cadeias laterais polares (-OH) e se diferem apenas pela substituição de um hidrogênio da cadeia lateral (serina) por um grupo metila (treonina). Em ambos os sistemas, o grupo hidroxila pode estabelecer ligações de hidrogênio intramoleculares adicionais como doador de próton para os grupos amina ou éster ou como acceptor de próton através dos pares de elétrons não ligantes do átomo de oxigênio. Além disso, a presença de um grupo metila adicional na treonina em comparação com a serina pode ser utilizada como sonda para avaliar a contribuição de efeitos estéricos sobre a preferência conformacional destes sistemas. Por esta razão foram realizados cálculos teóricos e medidas experimentais de espectroscopia no infravermelho e de RMN de ^1H e os resultados obtidos foram comparados para ambos os derivados de aminoácidos.

A partir das 6 superfícies de energia potencial construídas para cada sistema supracitado (Anexo 2), foram obtidos 27 e 41 mínimos de energia para a Ser-OMe e Thr-OMe, respectivamente. No entanto, após a otimização, na fase isolada e em

solução, foi encontrado que o equilíbrio conformacional de cada um destes sistemas é governado por não mais que 4 confôrmeros.

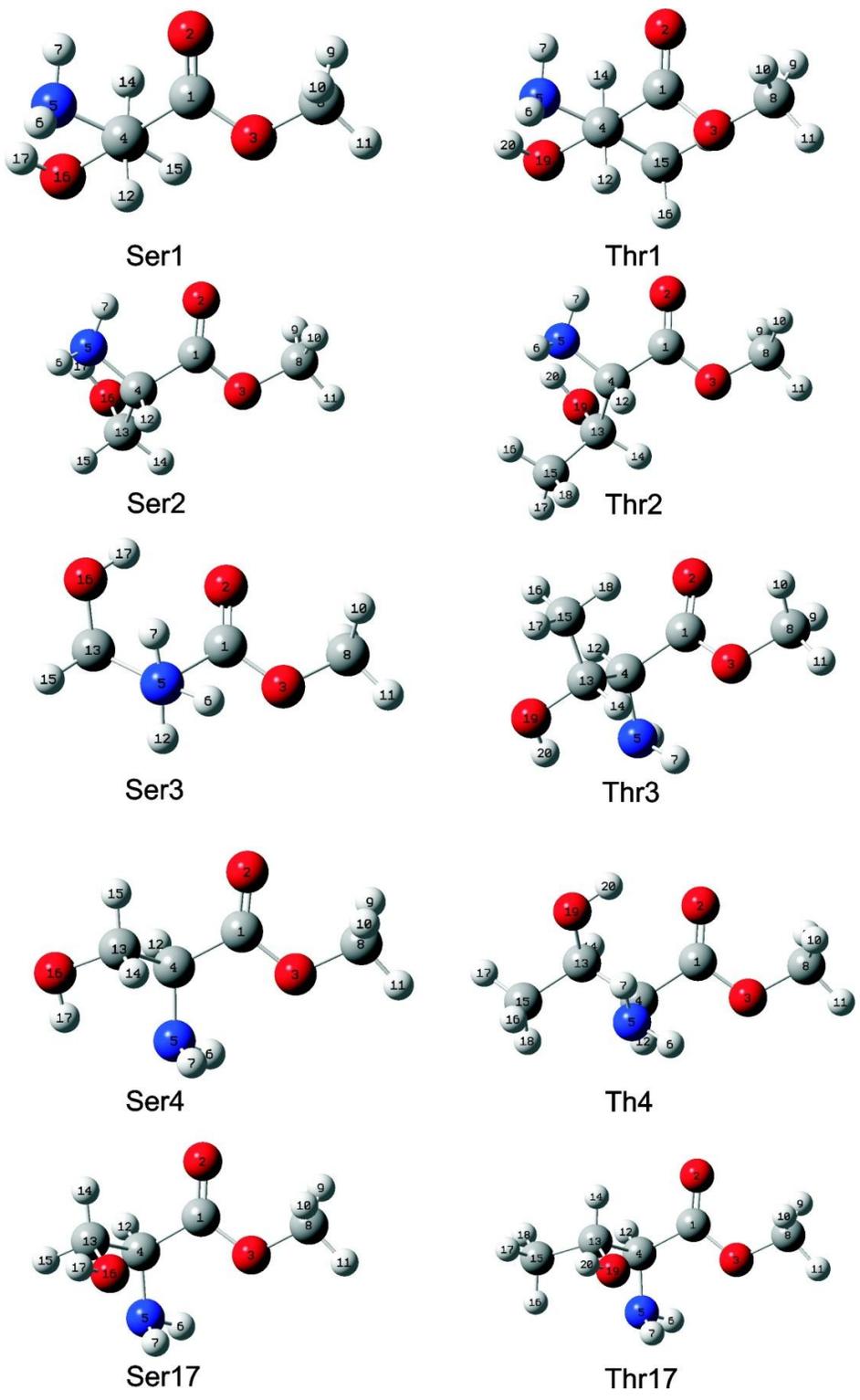


Figura 13: Mínimos de energia obtidos para os ésteres metálicos da L-serina e L-treonina.

Os confôrmeros remanescentes migraram para uma das estruturas já existentes ou mostram energia relativa alta, ou seja, apresentam reduzida população conforme distribuição de Boltzmann. Contudo, um quinto confôrmero, que é relativamente instável e não apresenta geometria propícia à formação de ligações de hidrogênio, foi utilizado como referência para atribuição de LHs. Assim, 5 confôrmeros (nomeados conforme ordem crescente de energia) foram considerados neste trabalho (Figura 13).

Assim, a análise comparativa dos vários confôrmeros de ambos os sistemas, apresenta desvios muito pequenos para os ângulos diedros χ_1 , χ_2 , ψ e ϕ (Tabela 6). Além disso, as energias relativas para a **Ser1** e **Ser2**, que representam as geometrias mais estáveis para a Ser-OMe, são, respectivamente, idênticas às energias relativas dos confôrmeros **Thr1** e **Thr2** enquanto a diferença de energia entre **Thr3** e **Thr4** ($0,10 \text{ Kcal mol}^{-1}$) é muito pequena. Estes resultados sugerem que o grupo metila não é grande o suficiente para causar perturbações na Thr-OMe e assim, não apresenta importância significativa para a preferência conformacional deste sistema em comparação com a Ser-OMe.

Tabela 6: Ângulos diedros ($^\circ$) e energia relativa (kcal mol^{-1}) dos 5 confôrmeros da Ser-OMe e Thr-OMe obtidos em nível B3LYP/aug-cc-pVDZ)

	Confôrmero									
	Ser1	Ser2	Ser3	Ser4	Ser17	Thr1	Thr2	Thr3	Thr4	Thr17
χ_1	55	305	300	56	297	54	306	54	302	299
χ_2	317	46	297	317	181	318	46	319	300	180
ψ	18	351	100	196	1	38	355	231	94	3
ϕ	203	241	170	196	172	200	256	193	172	175
E_{rel}	0,00	0,86	1,31	1,69	4,11	0,00	0,86	1,22	1,32	3,39

Para avaliar a formação de LHs na Ser-OMe e Thr-OMe, foram obtidos os gráficos moleculares (Figura 14) e os critérios de Popelier para ambos derivados de aminoácidos (Tabela 7).

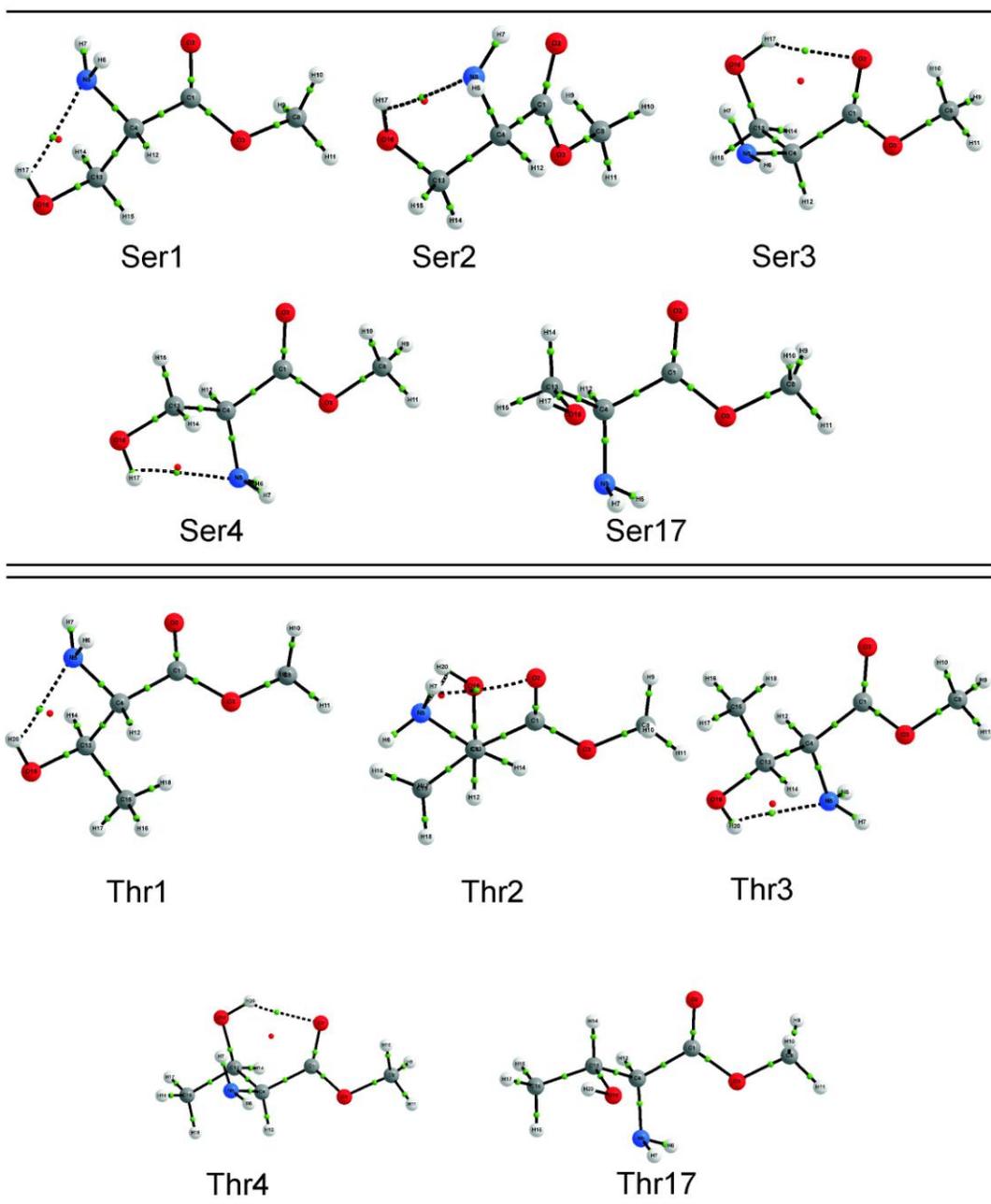


Figura 14: Gráficos moleculares obtidos para os ésteres metálicos da serina e treonina: Pontos verdes e vermelhos representam pontos críticos de ligação e de anel, respectivamente.

De acordo com a análise QTAIM, todos os confôrmeros atendem aos critérios avaliados (exceto **Ser17** e **Thr17**, que não apresentam geometria propícia para a formação de LH e foram utilizados apenas como referência). Neste sentido, todos os confôrmeros apresentam topologias consistentes com a formação de

LHs. No entanto, como reportado por Bader,⁸⁸ a proximidade entre um ponto crítico de ligação e um ponto crítico de anel (*Ring Critical Point*, RCP), promove a formação de um ponto de catástrofe, um ponto em que o RCP e um BCP coalescem, e assim estes pontos críticos deixam de existir e obviamente a interação (LH). Assim, do ponto de vista da QTAIM, de todos os confôrmeros do SerOMe, apenas **Ser3** (que não representa mínimo global) apresenta LH instável. Além disso, apenas este confôrmero apresenta LH em anel de seis membros, enquanto que os demais correspondem a anéis tensionados envolvendo 5 átomos. Por outro lado, todos mínimos de energia avaliados do ThrOMe (exceto Thr17) apresenta LH estáveis. Uma vez que ambos os sistemas apresentam confôrmeros com geometrias e ordem de estabilidade muito semelhantes, os resultados da QTAIM mostram que a ausência de LHs em SerOMe, não implica em mudança no equilíbrio conformacional deste sistema quando comparado com ThrOMe e portanto é possível que efeitos estereoeletrônicos sejam predominantes sobre ambos os sistemas.

Tabela 7: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP de LH e propriedades atômicas integradas (em u.a) para o SerOMe e ThrOMe.

SerOMe							
	H	ρ_{BCP} (H)	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}}$ (H)	$q(\text{H})$	$E(\text{H})$	$M_1(\text{H})$	$V(\text{H})$
Ser1	H17	0,019	+0,067	+0,588	-0,348	0,173	20,58
Ser2	H17	0,018	+0,067	+0,587	-0,349	0,173	20,88
Ser3	H17	0,020	+0,059	+0,600	-0,347	0,156	18,23
Ser4	H17	0,019	+0,067	+0,587	-0,349	0,173	20,71
Ser17	H17	-----	-----	+0,577	-0,361	0,177	22,86
ThrOMe							
	H	ρ_{BCP} (H)	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}}$ (H)	$q(\text{H})$	$E(\text{H})$	$M_1(\text{H})$	$V(\text{H})$
Thr1	H20	0,022	+0,072	+0,589	-0,349	0,170	20,00
Thr2	H7	0,020	+0,085	+0,432	-0,431	0,189	26,81
	H20	0,019	+0,066	+0,584	-0,351	0,174	20,89
Thr3	H20	0,021	+0,070	+0,587	-0,350	0,171	20,23
Thr4	H20	0,021	+0,064	+0,600	-0,348	0,154	17,83
Thr17	H7	-----	-----	+0,403	-0,444	0,198	29,73
	H20	-----	-----	+0,572	-0,362	0,180	23,63

Para avaliar as contribuições dos efeitos estéricos e de hiperconjugação, a análise NBO foi empregada. A Tabela 8 apresenta as contribuições relativas a partir das interações hiperconjugativas e de Lewis, indicando que **Ser1** apresenta menor efeito estérico que os demais confôrmeros. Este resultado mostra que hiperconjugação tem importância secundária nesta geometria, isto é, mesmo quando o efeito hiperconjugativo não é levado em consideração, **Ser1** permanece como o confôrmero mais estável para o Ser-OMe. Por outro lado, **Ser2** e **Ser3** apresentam contribuições de origem estérica e hiperconjugativa equivalentes. Nos confôrmeros da Thr-OMe, em ocorre aumento da energia de ΔE_{Lewis} , provocada pela presença adicional do grupo metila, ocorre também elevação da energia de hiperconjugação. Estes resultados mostram que um equilíbrio entre efeitos estéricos e eletrostáticos governam o equilíbrio conformacional de ambos os sistemas, embora efeitos estéricos apresentam uma contribuição dominante para SerOMe.

Tabela 8: Energia relativa (ΔE_{rel}), Energia de Lewis (ΔE_{Lewis}) e energia de hiperconjugação (ΔE_{hip}) para SerOMe e ThrOMe.

	Confôrmero									
	Ser1	Ser2	Ser3	Ser4	Ser17	Thr1	Thr2	Thr3	Thr4	Thr17
E_{rel}	0,00	0,86	1,31	1,69	4,11	0,00	0,86	1,22	1,32	3,39
E_{Lewis}	0,00	1,65	2,89	0,81	3,55	1,26	0,63	0,00	1,88	1,88
E_{Hip}	0,87	1,67	2,46	0,00	0,31	2,75	0,76	0,04	1,68	0,00

Os resultados obtidos na Tabela 8 podem ser corroborados através das energias de hiperconjugação (Anexo 6). Para **Ser1**, LP_{N5} , $LP(2)_{O(H)}$, $LP(2)_{O2}$ e $LP(2)_{O3}$ (em que LP= par de elétrons livres, veja Figura 13 para atribuição da numeração) permanecem distantes um em relação ao outro, diminuindo assim a repulsão estérica entre eles. Por outro lado, quando ocorre a introdução do grupo metila na cadeia lateral, a interação repulsiva entre LP_{O3} e $-CH_3$ aumenta a energia de Lewis (ΔE_{Lewis}) em **Thr1**. Mesmo assim, esta geometria permanece como a mais estável, entre os confôrmeros da Thr-OMe, devido a interação

hiperconjugativa adicional $\sigma_{C4-N5} \rightarrow \sigma^*_{C13-C15}$ que ocorre em **Thr1** em substituição a $\sigma_{C4-N5} \rightarrow \sigma^*_{C13-H5}$ de menor intensidade, presente em **Ser1**. **Ser17** apresenta a contribuição mais significativa de $LP_{N5} \rightarrow \sigma^*_{C1-C4}$. No entanto, este confômero apresenta elevada energia de Lewis devido à superposição das nuvens eletrônicas de N₅ e O(H) e assim apresenta uma geometria altamente instável. Além disso, a delocalização eletrônica $LP_{N5} \rightarrow \sigma^*_{C1-C4}$ é operante para **Ser1**, **Ser3** e **Ser4**, enquanto que **Ser2** é estabilizada por $LP_{N5} \rightarrow \sigma^*_{C4-H12}$.

Do ponto de vista NBO, ligações de hidrogênio podem ser atribuídas a interações hiperconjugativas.¹⁹ Neste sentido, a análise NBO mostra que a delocalização eletrônica através do espaço entre o par de elétrons não-ligante $LP(2)_{O2}$ e o orbital antiligante σ^*_{OH} tem importância significativa para **Ser3** (3,53 Kcal mol⁻¹) enquanto que para **Ser1**, **Ser2** e **Ser4** foram calculados valores de $LP_{N5} \rightarrow \sigma^*_{O-H}$ (3,41; 3,14 e 3,23 kcal mol⁻¹, respectivamente). A subtração destas energias de interação a partir dos valores de energia relativa (Tabela 8), ou seja, considerando apenas a deleção de $LP(2)_{O2} \rightarrow \sigma^*_{O-H}$ (para **Ser3**) ou $LP_{N5} \rightarrow \sigma^*_{O-H}$ (para **Ser1**, **Ser2** e **Ser4**), não altera a ordem de estabilidade entre os confômeros. Em outras palavras, mesmo na ausência das interações hiperconjugativas que caracterizam LH em ambos os sistemas supracitados, a ordem de estabilidade dos confômeros se mantém. Assim, do ponto de vista NBO, LHs de hidrogênio não podem ser invocadas como única interação estabilizante destes sistemas. Contudo, o equilíbrio entre os efeitos estereoeletrônicos é operante sobre os confômeros da Ser-OMe e Thr-OMe. Assim, a análise NBO e QTAIM sugere que um equilíbrio entre a hiperconjugação e interações estéricas, governam o equilíbrio conformacional para ambos os sistemas.

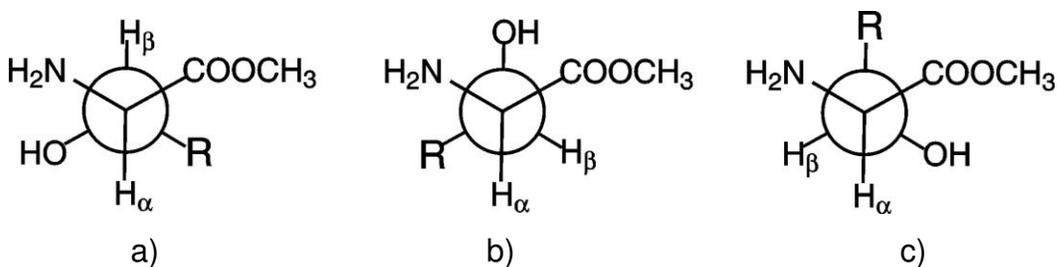


Figura 15: Projeções de Newman para os ésteres metílicos da serina (R=H) e treonina (R=CH₃).

Por outro lado, os valores de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$ para o Ser-OMe e o Thr-OMe, podem proporcionar informações a respeito do isomerismo rotacional nestes sistemas (Figura 15). Para o SerOMe, os arranjos “a” e “c” apresentam dois acoplamentos distintos (*gauche* e *anti*) enquanto que em “b” apenas acoplamentos *gauche* devem ser observados. Para o ThrOMe, apenas acoplamentos *anti* são esperados em “a” enquanto que “b” e “c” devem apresentar somente acoplamentos *gauche*. Contudo, os valores observados (Tabela 9) de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$ não apresentam variação significativa com a mudança do meio e portanto, não refletem mudança populacional para ambos os sistemas.

Além disso, os valores experimentais de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$ mostram que a substituição de H por CH₃ na cadeia lateral da Ser-OMe, não modifica o equilíbrio conformacional da Thr-OMe, uma vez que os valores de ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ apresentados são da mesma magnitude que aqueles observados para o Ser-OMe.

Tabela 9: Constantes de acoplamento (J , em Hz) e deslocamentos químicos, (δ , em ppm) para Ser-OMe e Thr-OMe obtidos em solventes de constante dielétrica ϵ .

Solvente	ϵ	δ_α	$\delta_{\beta 1}$	$\delta_{\beta 2}$	${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$	${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$
Ser-OMe						
Piridina- d_5	12,3	3,85	4,15	3,20	4,44	4,74
CD ₃ CN	37,5	3,45	3,61	3,63	4,38	5,04
DMSO- d_6	46,7	3,36	3,50	3,52	4,86	4,80
Thr-OMe						
Piridina- d_5	12,3	3,62	4,08	----	4,26	----
CD ₃ CN	37,5	3,63	4,16	----	4,44	----
DMSO- d_6	46,7	3,20	3,90	----	4,40	----

Além disso, os valores de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$ calculados para ambos os sistemas (Figura 16) estão em boa concordância com os valores experimentais e indicam que não ocorrem mudanças no equilíbrio conformacional, com a mudança do meio.

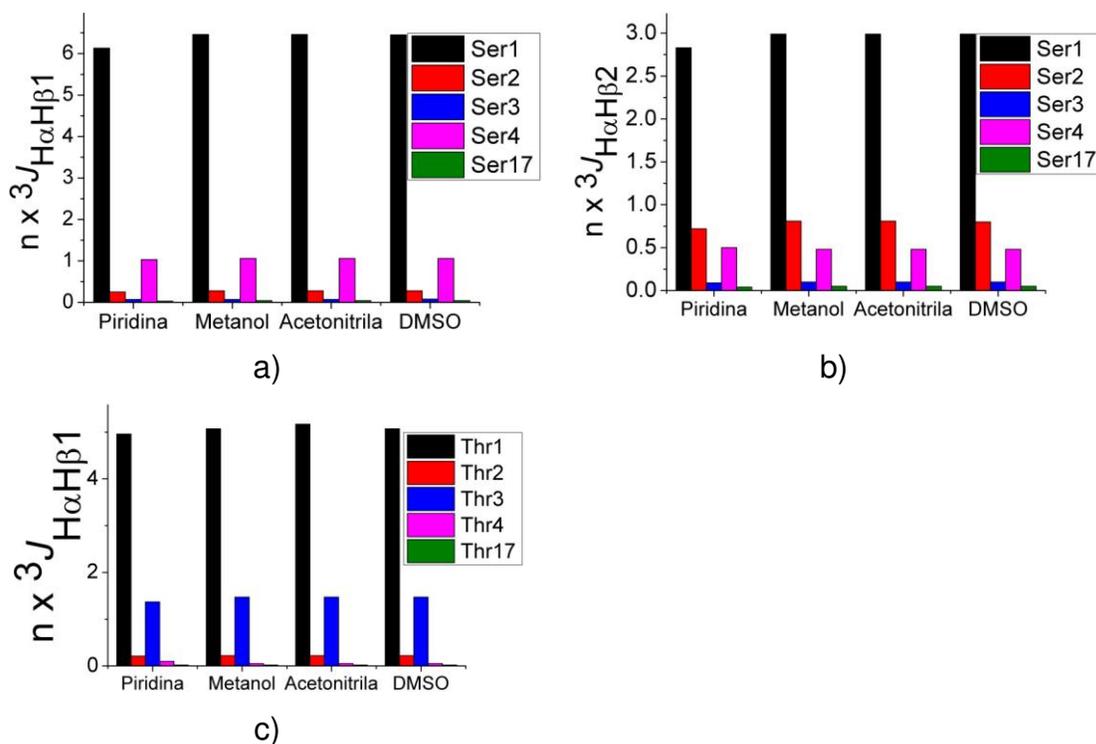


Figura 16: População relativa (n) versus a) ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e b) ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ calculados para a Ser-OME e c) ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ para Thr-OME.

Foram obtidos também os espectros de infravermelho para ambos os derivados de aminoácidos nos solventes THF e acetonitrila. A Figura 17 mostra a região do espectro de infravermelho referente ao estiramento da carbonila. Para o Ser-OME, as frações molares obtidas a partir das áreas relativas de cada sinal (0,66 para $\bar{\nu}_{C=O} = 1746,00$ e 0,33 para $\bar{\nu}_{C=O} = 1739,9$ cm^{-1} em THF e 0,70 $\bar{\nu}_{C=O} = 1742,8$ cm^{-1} e 0,30 $\bar{\nu}_{C=O} = 1737,0$ cm^{-1} em acetonitrila) são equivalentes mesmo com a mudança do meio enquanto para o Thr-OME, bandas simétricas foram observadas e assim, a deconvolução não foi possível. Estes resultados corroboram com os cálculos de população relativa obtidos para cada um dos confôrmeros supracitados C=O (Anexo 6). **Ser1** apresenta as maiores frações

molares calculadas para ambos os solventes (0,66 em THF e 0,63 em acetonitrila) enquanto que o somatório de populações de **Ser2**, **Ser3** e **Ser4** correspondem à banda de menor intensidade observada . Assim, os valores de frações molares calculados estão em boa concordância com os valores experimentais e mostram que **Ser1** é predominante sobre os demais confôrmeros independentemente do meio. Para o ThrOMe, os resultados calculados são semelhantes àqueles obtidos para o SerOMe, o que indica que ambos os sistemas devem ser governados pelos mesmos efeitos .

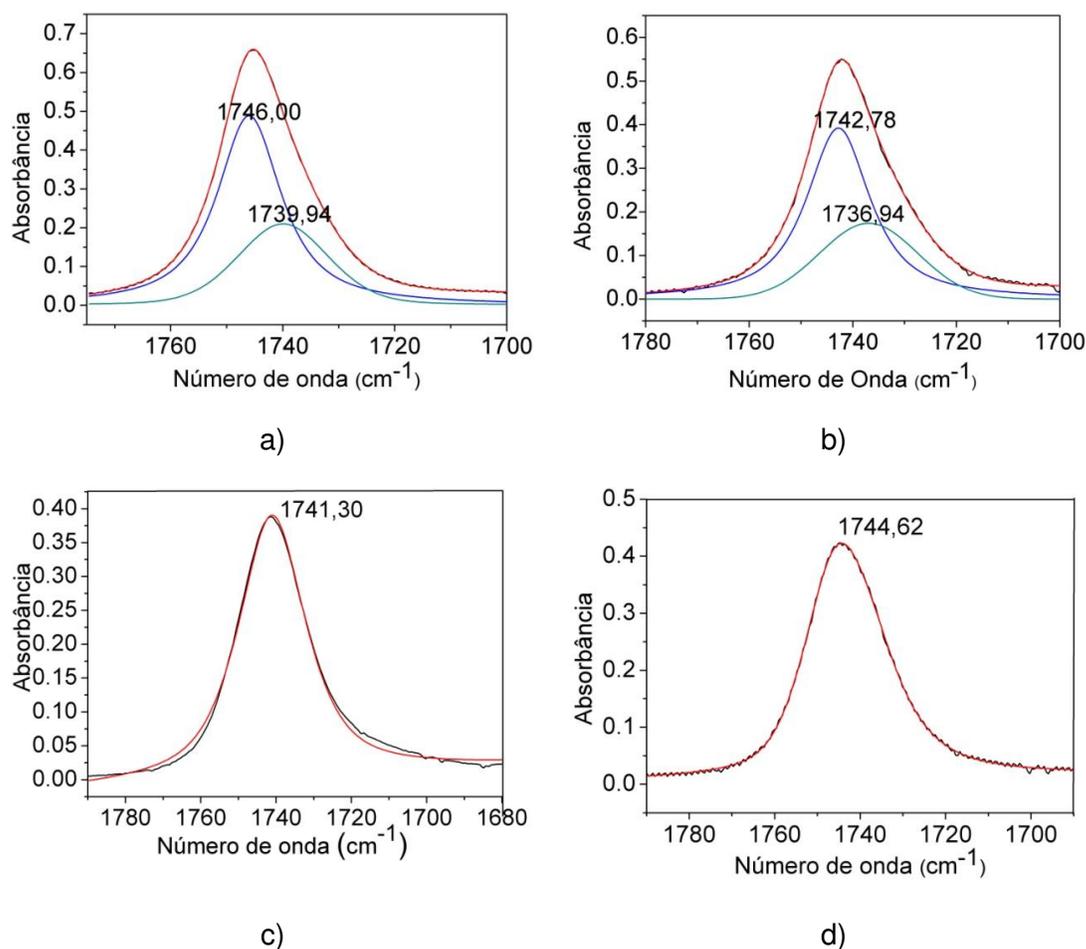
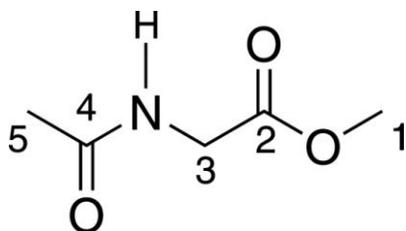


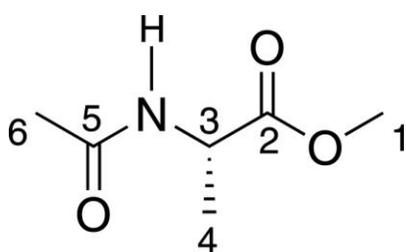
Figura 17: Espectro de infravermelho na região de estiramento da carbonila. Ser-OMe dissolvido em a) THF e em b) acetonitrila e Thr-OMe dissolvido em c) THF e d) acetonitrila.

Adicionalmente, os resultados da QTAIM, mostraram que ligações de hidrogênio apresentam efeito secundário para os confôrmeros da SerOMe e ThrOMe uma vez que não foram encontradas relações claras entre as geometrias observadas e a existência desta interação. Em contrapartida, do ponto de vista NBO, foi demonstrado que a ausência de LHs não altera a ordem de estabilidades dos mínimos de energia de SerOMe e ThrOMe enquanto que efeitos de origem estérica e hiperconjugativa são determinantes para a estabilidade conformacional estes sistemas.

4.3 Ésteres metílicos da *N*-acetil-glicina e *N*-acetil-L-alanina



AcGliOMe. RMN de ^1H (CDCl_3), 600 MHz) (deslocamento químico δ em ppm, multiplicidade, constante de acoplamento J em Hz): H_1 (3,80; s); H_3 (4,05; s); H_5 (2,08; s); $\text{H}(\text{N})$ (5,95; s)



AcAlaOMe. RMN de ^1H (CDCl_3 , 600 MHz) (deslocamento químico δ em ppm, multiplicidade, constante de acoplamento J em Hz): H_1 (3,80; s); H_3 (4,63; m); H_4 (1,42; d; 7,20); H_6 (2,08; s); $\text{H}(\text{N})$ (6,1; s)

Os ésteres metílicos *N*-acetilados da glicina e da L-alanina representam derivados de aminoácidos simples e portanto são bons modelos para o entendimento dos efeitos que governam o equilíbrio conformacional de biomoléculas.

Caso ocorresse a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares do tipo $\text{NH}\cdots\text{O}=\text{C}$ nos derivados não acetilados de aminoácidos, seria esperado que a substituição de um grupo amino por um grupo *N*-acetila diminuisse a estabilização destes sistemas, devido a perda de LHs. Porém, foi demonstrado por Cormanich e colaboradores⁷⁶ que, mesmo para sistemas mais simples, como o éster metílico da L-alanina (ou seja, a forma não acetilada) a formação e atribuição de estabilidade envolvendo LHs é equivocada. Portanto, para elucidar as interações que governam o equilíbrio conformacional do AcGliOMe e do AcAlaOMe, foram realizados cálculos teóricos e medidas experimentais de RMN e infravermelho.

Diferente dos demais sistemas estudados neste trabalho, AcGliOMe e AcAlaOMe não apresentam hidrogênios diastereotópicos e assim foram utilizados

como referência os acoplamentos entre o(s) hidrogênio(s) ligado(s) ao carbono α e o hidrogênio ligado ao nitrogênio (*N*-acetila).

A Tabela 10 mostra as constantes de acoplamento ${}^3J_{H\alpha H(N)}$ da AcAlaOMe obtidos em tetracloreto de carbono, clorofórmio e DMSO enquanto que, para o AcGliOMe, os sinais não se desdobram e, portanto, os acoplamentos ${}^3J_{H\alpha 1H(N)}$ e ${}^3J_{H\alpha 2H(N)}$ não foram considerados para a análise conformacional. Em CCl₄, um solvente de baixa polaridade, ${}^3J_{H\alpha H(N)}$ é igual a 7,14 Hz enquanto que em DMSO, cuja constante de dielétrica é 20 vezes maior que CCl₄, o valor medido é praticamente constante (7,02 Hz). Estes resultados mostram que a mudança do meio não altera o equilíbrio conformacional para este sistema.

Tabela 10: Constantes de acoplamento (J , em Hz) e deslocamentos químicos (δ , em ppm) para o AcAlaOMe dissolvido em CCl₄, clorofórmio e DMSO.

Solvente	ϵ	$\delta_{H\alpha}$	$\delta_{H(N)}$	${}^3J_{H\alpha H(N)}$
CCl ₄ *	2,2	4,48	5,98	7,14
CDCl ₃	4,8	4,63	6,10	7,44
DMSO-d ₆	46,7	4,24	8,20	7,02

*Mistura de CCl₄/C₆D₆ (9:1)

Além disso, foram obtidos espectros de IV para ambos os compostos em CCl₄ e DMSO. A deconvolução dos sinais de estiramento $\nu_{C=O}$ de cada sistema resultou em duas bandas que correspondem a dois confôrmeros, em concordância com interpretação prévia.⁸⁹ As frações molares correspondentes a cada banda obtida para o AcGliOMe [0,61 (1755,8 cm⁻¹) e 0,39 (1745,8 cm⁻¹) em CCl₄ e 0,70 (1736,6 cm⁻¹) e 0,30 (1752,8 cm⁻¹) em DMSO] e também para o AcAlaOMe [0,71 (1742,8 cm⁻¹) e 0,29 (1753,6) em CCl₄ e 0,70 (1738,3 cm⁻¹) e 0,30 (1748,7 cm⁻¹) em DMSO] mostram que a mudança do meio não provoca variação populacional significativa nos confôrmeros de ambos os sistemas.

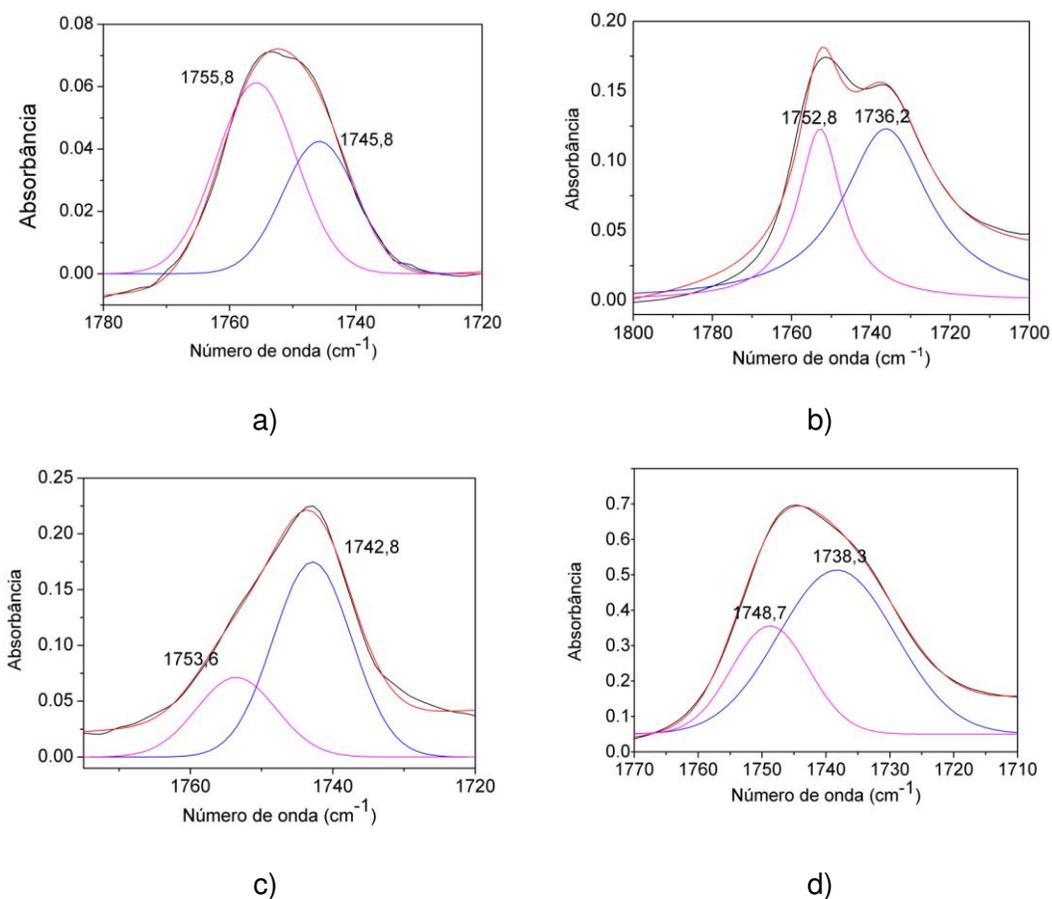


Figura 18: Espectro de infravermelho deconvoluído na região de estiramento da carbonila C=O (éster) para AcGliOMe nos solventes a) CCl₄ e b) DMSO e AcAlaOMe também nos solventes c) CCl₄ e d) DMSO.

Por outro lado, a frequência de estiramento (ν_{N-H}) da ligação N-H pode ser utilizada como sonda para atribuição de LH. Quando livre, ν_{N-H} apresenta número de onda maior que na forma associada (3300 a 3400 cm⁻¹)⁸⁹, como uma consequência do enfraquecimento da ligação. Assim, os valores de estiramento obtidos em 3442,6 cm⁻¹ e 3436,7 cm⁻¹ para AcGliOMe e AcAlaOMe, respectivamente, não correspondem à formas associadas de N-H (Anexo 5).

Além disso, foram construídas superfícies de energia (Anexo 2) a partir da rotação dos ângulos diedros ϕ e ψ . Através das PESs foram obtidos dois mínimos de energia para cada derivado de aminoácido (Figura 19). Em seguida, os mínimos de energia foram otimizados (B3LYP/aug-cc-pVDZ) em fase isolada e nos solventes (CPCM) tetracloreto de carbono e DMSO. Os resultados foram

utilizados para calcular os valores das constantes de acoplamento (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ para átomos de nitrogênio e oxigênio e B3LYP/EPR-III para átomos hidrogênio e carbono) e das frequências de estiramento $\bar{\nu}_{C=O}$ (Anexo 6). Assim, os valores de ${}^3J_{H\alpha H(N)}$ calculados (Figura 20) estão em razoável concordância com os valores experimentais e indicam que mudança do meio não altera de forma significativa o equilíbrio conformacional para ambos os sistemas, enquanto que a população relativa “n” calculada apresentou valores muito distintos dos experimentais (Anexo 6).

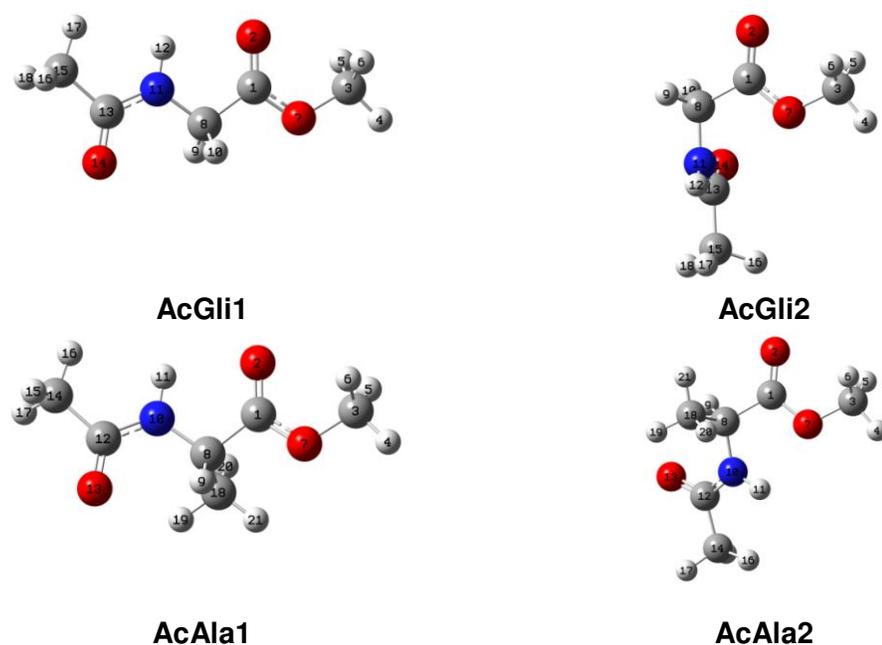


Figura 19: Mínimos de energia calculados para AcGliOME e AcAlaOME (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ).

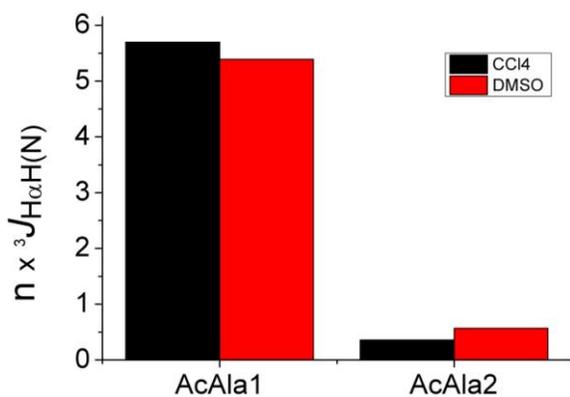


Figura 20: Constantes de acoplamento *versus* frações molares calculadas para o AcAlaOMe em CCl₄ e DMSO.

Para investigar a formação de ligação de hidrogênio intramolecular, foram obtidos os gráficos moleculares (Figura 21). Os resultados obtidos não revelaram a presença de BCP e BP, que são condições necessárias para a formação de LH intramolecular. Portanto, do ponto de vista QTAIM, a atribuição de LH como fonte de estabilização da AcGliOMe e AcAlaOMe é arbitrária. Além disso, estes resultados estão em concordância com aqueles obtidos por meio de IV.

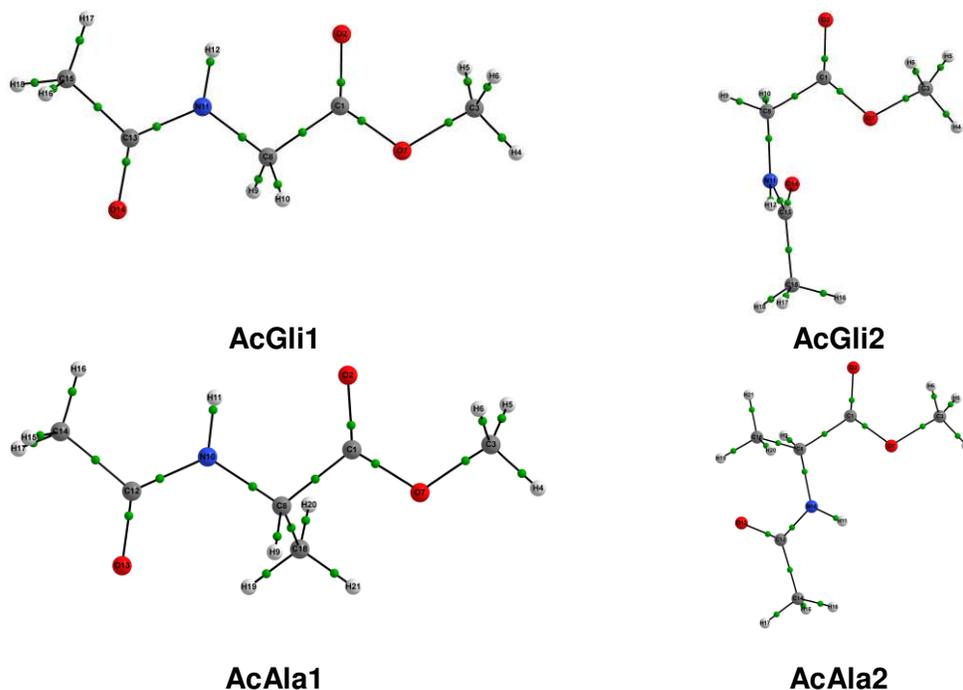


Figura 21: Gráficos moleculares obtidos para os mínimos de energia do AcGliOMe e AcAlaOMe.

Adicionalmente, cálculos de deleção dos orbitais naturais de ligação foram realizados, para avaliar a contribuição de fatores clássicos e não clássicos operantes sobre o equilíbrio conformacional do AcGliOMe e AcAlaOMe.

Tabela 11: Energia relativa (ΔE_{rel}), Energia de Lewis (ΔE_{Lewis}), energia de hiperconjugação (ΔE_{hip}) (em kcal mol⁻¹) e ângulos diedros ψ [N-C α -C=O] e ϕ [H-N-C α -C(O)] para AcGliOMe e AcAlaOMe.

	ΔE_{rel}	ΔE_{Lewis}	$\Delta E_{Hip.}$	ψ	ϕ
AcGli1	0,00	2,54	5,25	0	0
AcGli2	2,71	0,00	0,00	183	63
AcAla1	0,00	0,00	5,19	11	14
AcAla2	2,35	2,84	0,00	161	28

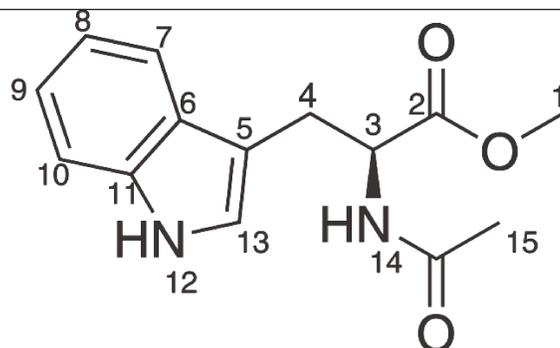
Conforme a Tabela 11, quando todas as interações são consideradas, **AcGli1** apresenta menor energia. Porém, quando removida a hiperconjugação, ou seja, considerando-se apenas a estrutura perfeita de Lewis, **AcGli2** se torna mais estável, por uma diferença de energia maior que 2 kcal mol⁻¹. As interações de caráter estérico que elevam a E_{Lewis} para a **AcGli1** derivam das repulsões entre as ligações σ_{C1-C8} e $\sigma_{N11-H12}$ e também das interações de LP(2)O₂ com as ligações σ_{C8-C11} e $\sigma_{N11-H12}$. Mesmo assim, as energias hiperconjugativas $\sigma_{C8-N11} \rightarrow \sigma^*_{C1-O7}$ e $\sigma_{C1-C8} \rightarrow \sigma^*_{N11-C13}$, que operam em **AcGli1**, tornam este confômero a forma mais estável de AcGliOMe. O confômero **AcGli2**, para minimizar as interações estéricas observadas em **AcGli1**, sofre rearranjo do ângulo ϕ , o que resulta numa menor E_{hip} . Neste sentido, a hiperconjugação é uma interação importante que atua como fonte de estabilização para a AcGliOMe.

Para a AcAlaOMe, em especial para **AcAla2**, a presença do grupo metila em substituição a um hidrogênio da cadeia lateral a aumenta E_{Lewis} , devido à repulsão entre o substituinte -CH₃ e o hidrogênio H(N). Para minimizar a repulsão entre a metila e a ligação σ_{N-H} , **AcAla2** sofre um desvio no ângulo diedro ϕ . Por outro lado, a contribuição dos efeitos hiperconjugativos como fonte de estabilização é praticamente constante para ambos os sistemas. Estes resultados mostram que o

aumento da cadeia lateral provoca aumento na contribuição dos efeitos estéricos sobre o equilíbrio conformacional destes sistemas mais simples que podem mimetizar o comportamento de depsipetídeos. Resultados semelhantes foram observados para ambos os aminoácidos na forma isolada^{73, 74} e também para os respectivos aminoésteres não acetilados.⁷⁶

Portanto, LH não representam forças determinantes no equilíbrio conformacional da AcGliOMe e AcAlaOMe, uma vez que a análise das frequências de estiramento ν_{N-H} de ambos os sistemas mostraram números de onda distantes do esperado para formas associadas de N-H. Estes resultados foram corroborados com cálculos teóricos. Em especial, a análise topológica de ambos os sistemas não revelou BCPs e RCPs, que representam condição necessária para estabelecimento de LH, do ponto de vista QTAIM. Em contrapartida, baseado na análise NBO, foi demonstrado que efeitos de origem hiperconjugativa são determinantes para AcGliOMe enquanto o aumento da cadeia é acompanhado pelo aumento da contribuição de efeitos de origem estérica, como observado para AcAlaOMe. Uma vez que os efeitos estereoeletrônicos são determinantes para o equilíbrio conformacional de compostos modelos mais simples, é possível também que sejam operantes sobre derivados de aminoácidos *N*-acetilados mais complexos. Para realizar esta análise, outros sistemas foram estudados, conforme demonstrado mais adiante.

4.4 Éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano



RMN de ^1H (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), (deslocamento químico δ em ppm, multiplicidade, constante de acoplamento J em Hertz): H_1 (3,70; s); H_3 (4,49; m), H_4 (3,02; dd; 8,40 e 14,52); H_4' (3,13; dd; 5,70 e 14,52); H_7 (7,48; d, 7,80); H_8 (6,98; m); H_9 (7,05-7,08; m); H_{10} (7,34; d; 8,10); H_{12} (10,87; s); H_{13} (7,15; d, 2,34); H_{14} (8,31; d; 7,57); H_{15} (1,81; s).

Para avaliar o equilíbrio conformacional do éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano (AcTrpOMe), foram obtidos espectros de RMN de ^1H em vários solventes conforme a Tabela 12.

Tabela 12: Constantes de acoplamento (J , em Hz) e deslocamentos químicos (δ , em ppm) para o AcTrpOMe em vários solventes.

Solvente	ϵ	$\delta_{\text{H}\alpha}$	$\delta_{\text{H}\beta 1}$	$\delta_{\text{H}\beta 2}$	$^3J_{\text{H}\alpha\text{H}\beta 1}$	$^3J_{\text{H}\alpha\text{H}\beta 2}$
CDCl_3	4,8	4,96	3,30	3,35	5,10	5,46
CD_2Cl_2	8,9	4,87	3,26	3,31	5,46	5,52
Piridina- d_5	12,4	5,44	3,53	3,64	7,20	5,93
Acetona- d_6	20,7	4,76	3,16	3,26	7,26	5,70
Metanol- d_4	32,7	4,71	3,14	3,27	7,81	5,81
$\text{DMSO-}d_6$	46,7	4,48	3,02	3,13	8,40	5,72

Em solventes apróticos e de baixa polaridade, como clorofórmio e diclorometano, os valores de acoplamentos entre os hidrogênios α e β são equivalentes. Por outro lado, devido ao aumento da constante dielétrica do meio, os acoplamentos ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ começam a diferenciarem (piridina, acetona e metanol), até que em DMSO ($\epsilon = 46,7$) assumem valores muito distintos. Este comportamento é muito interessante, uma vez que a forma não acetilada (TrpOMe) não é sensível à mudança de solvente. Portanto, a presença do grupo *N*-acetila é de grande importância para o equilíbrio conformacional do AcTrpOMe.

Para explicar a variação de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$ com a mudança do meio, duas hipóteses podem ser consideradas. A primeira é que, em solventes de baixa polaridade, os arranjos “a” e “c” estariam em proporções equivalentes, justificando assim os valores semelhantes de ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ enquanto que em ambientes de constante dielétrica ϵ maior, o deslocamento do equilíbrio conformacional deve favorecer um destes arranjos. A outra hipótese é que em meio apolar, o isomerismo conformacional é governado pelo arranjo “b” enquanto que o aumento da polaridade do meio favorece a forma “a” ou “c” (Figura 22). Neste sentido, para compreender a variação conformacional com a mudança do solvente, cálculos teóricos foram realizados.

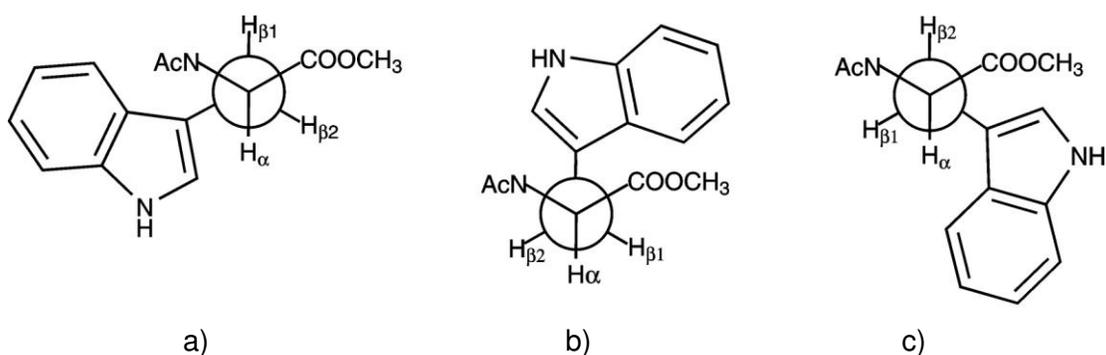


Figura 22: Projeções de Newman para três rotâmeros do AcTrpOMe.

A partir dos mínimos de energia obtidos para o AcAlaOMe, foram construídas PESs para o AcTrpOMe, através da troca de um hidrogênio da cadeia lateral (-

CH₃) pelo anel indolila. As PESs assim obtidas resultaram em 8 confôrmeros (Anexo 2) que foram otimizados (B3LYP/aug-cc-pVDZ) em fase isolada e também nos solventes (modelo de solvatação CPCM) clorofórmio, diclorometano, piridina, acetona e DMSO. Para as geometrias resultantes da otimização nos respectivos solventes, foram calculados os valores das constantes de acoplamento ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$. A contribuição de cada confôrmero para os valores experimentais de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$ é dada pelo produto entre os valores calculados referente a cada confôrmero *versus* a respectiva fração molar obtida em um determinado solvente (Figura 23).

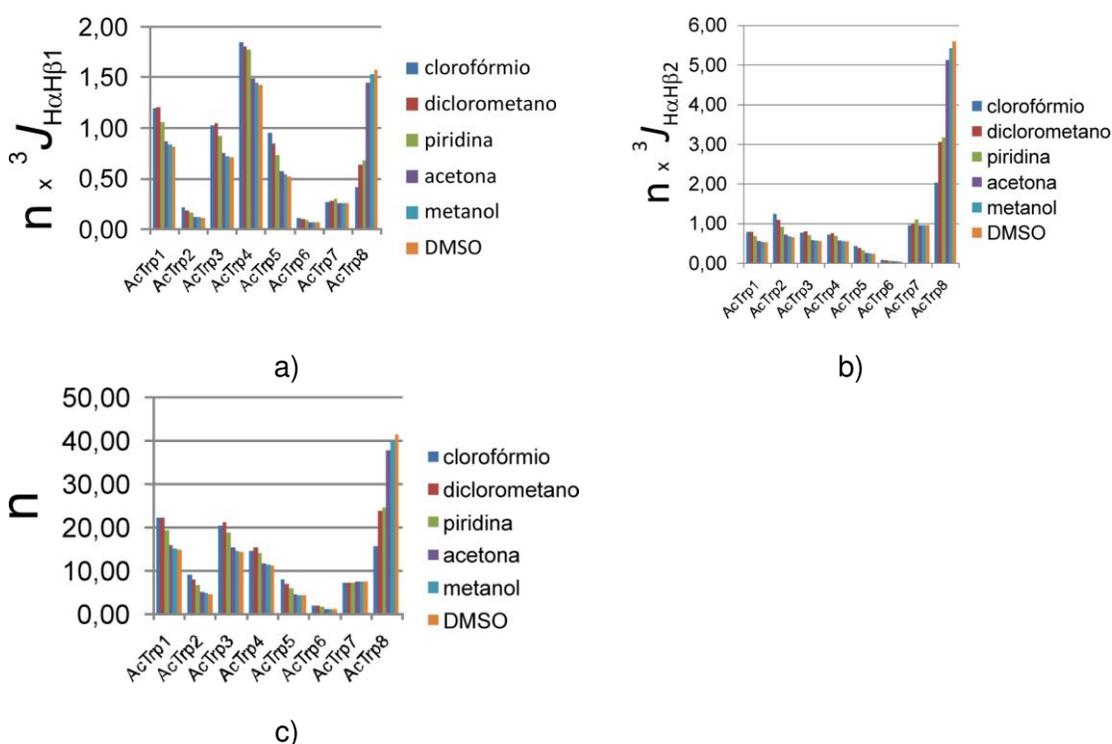


Figura 23: Valores calculados da população relativa (n) de cada confôrmero *versus* acoplamentos a) ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e b) ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ e população relativa do AcTrp-OME.

Conforme a Figura 23, os confôrmeros **AcTrp1** e **AcTrp3**, que correspondem ao arranjo “b” da cadeia lateral (veja Figura 22) diminuem suas respectivas contribuições populacionais com o aumento da polaridade do solvente enquanto que **AcTrp6** apresenta fração molar muito baixa em todos os solventes analisados

e **AcTrp7** praticamente não sofre mudança de “n” e portanto não contribuem para as mudanças dos valores experimentais observados de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$. Finalmente **AcTrp8**, que corresponde ao arranjo conformacional “a”, é o confômero que mais sofre variação populacional, com aumento de “n” maior que 25% (do clorofórmio para DMSO). Os demais confômeros, embora também demonstrem variação populacional, apresentam papel secundário nas mudanças dos valores experimentais observados de ${}^3J_{H\alpha H\beta}$. Estes resultados corroboram com a segunda hipótese, ou seja, a mudança do meio induz ao deslocamento do equilíbrio conformacional da forma “b”, em que ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ são equivalentes, para “c” em que os respectivos acoplamentos assumem valores muito distintos.

Além disso, foram obtidos também os espectros de infravermelho para o AcTrpOMe. A Figura 24 mostra a região de estiramento da carbonila (éster) nos solventes diclorometano e acetonitrila. Em ambiente menos polar, uma banda mais intensa ($\bar{\nu}_{C=O} = 1743,4 \text{ cm}^{-1}$), que corresponde aos confômeros **AcTrp1-AcTrp5**, predomina sobre uma segunda banda de menor intensidade ($\bar{\nu}_{C=O} = 1727,7 \text{ cm}^{-1}$) que corresponde **AcTrp8**. Por outro lado, o aumento da polaridade do meio induz a um decréscimo na fração molar de **AcTr1-AcTrp5** e conseqüentemente um aumento na fração molar de **AcTrp8**. Por outro lado, o confômero **AcTrp6** apresenta reduzida fração molar em todos os solventes utilizados enquanto que **AcTrp7** não é sensível à mudança do meio. Estes resultados são congruentes com os valores experimentais e calculados de constante de acoplamento e de população relativa (Anexo 6), ou seja, mostram que a mudança do meio têm efeito crítico sobre o equilíbrio conformacional de AcTrpOMe.

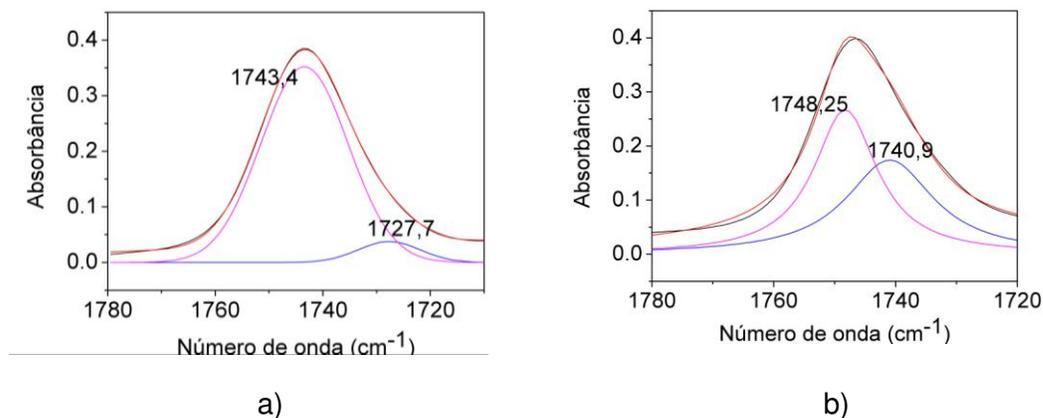


Figura 24: Espectro de infravermelho deconvoluído na região de estiramento da carbonila (ester) para o AcTrpOMe dissolvido em a) diclorometano e b) acetonitrila.

Para avaliar a formação de LH intramolecular, foram obtidos os gráficos moleculares (Anexo 4) e demais parâmetros (Tabela 13) para os 8 mínimos de energia do AcTrpOMe. Os confôrmeros **AcTrp3**, **AcTrp7** e **AcTrp8** não apresentam pontos críticos (BCP) e trajetórias de ligação (BP) enquanto que **AcTrp1**, **AcTrp4** e **AcTrp5** apresentam $\nabla^2\rho_{\text{BCP}}$ menor que 0,024 e portanto não atendem a todos os critérios de Popelier. Neste sentido, do ponto de vista QTAIM, apenas os mínimos **AcTrp2** e **AcTrp6** apresentam LH intramoleculares estáveis. Porém, assim como observado para a forma não acetilada, estas geometrias apresentam associações envolvendo oxigênio (*N*-acetila) e um hidrogênio da cadeia lateral (anel indolila), que são consideradas fracas e não usuais.²⁹ Desta forma, LHs não são interações determinantes no equilíbrio conformacional de AcTrpOMe.

Tabela 13: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu Laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP e propriedades atômicas integradas em unidades atômicas (u.a).

	H	ρ_{bcp} (H)	$\nabla^2\rho_{\text{bcp}}$ (H)	q (H)	E (H)	M_f (H)	V (H)
AcTrp1	H(30)	0,005	+0,019	-0,006	-0,616	0,122	49,25
AcTrp2	H(27)	0,013	+0,037	+0,092	-0,577	0,109	40,23
AcTrp3	H(5)	-----	-----	+0,022	-0,606	0,135	48,04
	H(27)	-----	-----	+0,027	-0,600	0,127	50,07
	H(30)	-----	-----	+0,009	-0,611	0,120	50,18
AcTrp4	H(30)	0,004	+0,016	+0,035	-0,600	0,113	47,88
AcTrp5	H(5)	0,003	+0,009	+0,032	-0,602	0,131	48,86
AcTrp6	H(27)	0,008	+0,028	+0,044	-0,598	0,116	44,62

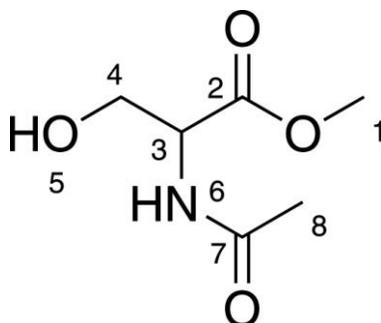
Para avaliar a contribuição dos efeitos estereoeletrônicos para o AcTrpOMe, a análise NBO foi empregada (Tabela 14). Uma vez que o AcTrpOMe representa um sistema relativamente complexo, com diversos pares de elétrons livres (N e O), a análise das interações hiperconjugativas torna-se extensa. Mesmo assim, os resultados da Tabela 13 mostram que o equilíbrio entre as interações de origem estérica e hiperconjugativa prevalece sobre todos os mínimos de energia obtidos para o AcTrpOMe. Por exemplo, **AcTrp1-AcTrp3** são os confôrmeros que apresentam maior repulsão estérica. Mesmo assim, apresentam alta estabilidade em função da elevada energia de hiperconjugação. Por outro lado, para **AcTrp7** e **AcTrp8** apresentam as menores E_{Lewis} . Todavia, estes confôrmeros são pouco estabilizados por efeitos hiperconjugativos e assim representam os mínimos de energia menos estáveis, quando analisados na forma isolada. Esta análise, que leva em conta o equilíbrio entre os efeitos estereoeletrônicos também se estende às demais geometrias.

Tabela 14: Energia relativa (ΔE_{rel}), Energia de Lewis (ΔE_{Lewis}) e energia de hiperconjugação (ΔE_{hip}) (em kcal mol⁻¹) e ângulos diedros ($^{\circ}$) χ_1 [N-C $_{\alpha}$ -C $_{\beta}$ -C $_{\gamma}$] e χ_2 [C $_{\alpha}$ -C $_{\beta}$ -C $_{\gamma}$ -C $_{\delta 1}$] obtidos para o AcTrpOMe (B3LYP/aug-cc-pVDZ).

	AcTrp1	AcTrp2	AcTrp3	AcTrp4	AcTrp5	AcTrp6	AcTrp7	AcTrp8
ΔE_{rel}	0,00	0,07	0,18	0,26	0,31	1,21	1,42	1,44
ΔE_{Lewis}	12,19	12,15	12,82	5,66	9,26	8,79	5,22	0,00
ΔE_{hip}	13,63	13,52	14,07	6,85	10,39	9,02	5,25	0,00
χ_1	64	392	60	195	185	64	304	293
χ_2	277	349	90	249	86	5	280	99

Neste sentido, os resultados das análises NBO e QTAIM são congruentes e mostram que LHs não são importantes para o equilíbrio conformacional do AcTrpOMe, uma vez que as interações que foram identificadas são reconhecidamente fracas e estão presentes em confôrmeros relativamente instáveis. Em contrapartida, foi demonstrado que o balanço entre efeitos de origem estérica e de hiperconjugação são determinantes para o equilíbrio conformacional do sistema supracitado.

4.4 Éster metílico da *N*-acetil-L-serina



Ac-Ser-OMe. RMN de ^1H (CD_2Cl_2 , 600 MHz) (deslocamento químico δ em ppm, multiplicidade, constante de acoplamento J em Hz): H_1 (3,75; s); H_3 (4,59; m) H_4 (3,93; dd; 3,49 e 11,15); H_4' (3,85; dd; 2,77 e 11,15); H_5 (3,17; s); H_6 (s; 6,66); H_8 (s; 2,02).

Foram obtidos os espectros de RMN de ^1H da Ac-Ser-OMe nos solventes de natureza apolar (diclorometano- d_2), polar aprótico (piridina- d_5 , acetonitrila e DMSO) e prótico polar (D_2O) para o AcSerOMe.

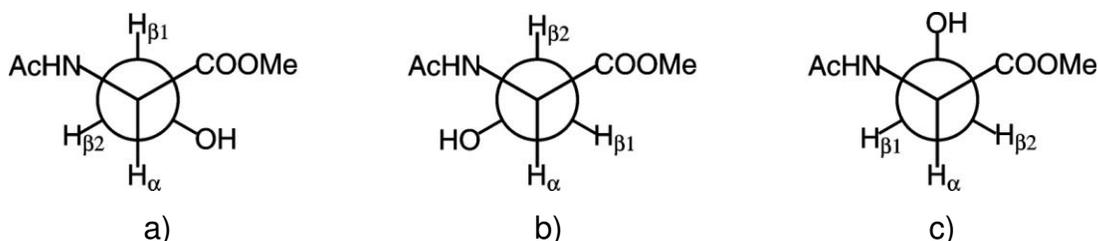


Figura 25: Projeções de Newman para os arranjos a), b) e c).

A Figura 25 representa três arranjos possíveis da cadeia lateral do Ac-Ser-OMe. Nos arranjos “a” e “b”, um dos hidrogênios diastereotópicos ($\text{H}_{\beta 1}$ ou $\text{H}_{\beta 2}$) ocupa posição *anti* em relação ao H_α e o outro ocupa *gauche* (e vice-versa). No arranjo “c” ambos os hidrogênios diastereotópicos estão em posição *gauche* em relação a H_α . Uma vez que $^3J_{anti}$ é maior que $^3J_{gauche}$, o comportamento destas

constantes de acoplamento pode ser utilizado para compreender o equilíbrio conformacional da AcSerOMe. Conforme a Tabela 15, o crescimento progressivo da polaridade do meio aumenta os valores de ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ em proporções quase equivalentes o que indica o deslocamento do equilíbrio conformacional para os arranjos “a” e “b”.

Tabela 15: Valores de constante dielétrica ϵ , constantes de acoplamento (${}^3J_{HH}$, em Hz) e deslocamentos químicos (δ , em ppm).

Solvente	ϵ	$\delta_{H\alpha}$	$\delta_{H\beta 1}$	$\delta_{H\beta 2}$	${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$	${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$
CD ₂ Cl ₂	8,9	4,59	3,85	3,93	2,77	3,42
Piridina- <i>d</i> ₅	12,4	5,23	4,26	4,38	4,08	4,44
D ₂ O	78,5	4,57	3,89	3,97	4,10	4,98

* Em DMSO-*d*₆ e CD₃CN os sinais de H _{α} e H _{β} não se desdobram.

Além de ${}^3J_{HH}$, a banda de estiramento da carbonila do grupo éster foi utilizada para avaliar o equilíbrio conformacional do Ac-Ser-OMe (Figura 26). Em diclorometano, a deconvolução resultou em duas bandas: uma dominante com fração molar 0,92 ($\bar{\nu}_{C=O} = 1745,5 \text{ cm}^{-1}$) e outra de menor intensidade, com fração molar 0,08 ($\bar{\nu}_{C=O} = 1728,9 \text{ cm}^{-1}$). A mudança do meio (a partir de diclorometano para acetonitrila) induz ao decréscimo na fração molar na banda com maior número de onda (0,61 para $\bar{\nu}_{C=O} = 1750,4 \text{ cm}^{-1}$) que deve ser formada a partir das contribuições populacionais de arranjos "c" (Figura 25). Em contrapartida, o aumento da polaridade do meio promove o aumento populacional da banda de menor número de onda que ocorre em ambos os solventes (0,39 para $\bar{\nu}_{C=O} = 1739,9 \text{ cm}^{-1}$) e que representa confôrmeros com arranjos "a" e "b". Portanto, em concordância com as medidas experimentais de RMN, os resultados obtidos a partir de espectroscopia no infravermelho mostram que a mudança do meio induz à variação populacional entre os confôrmeros do AcSerOMe.

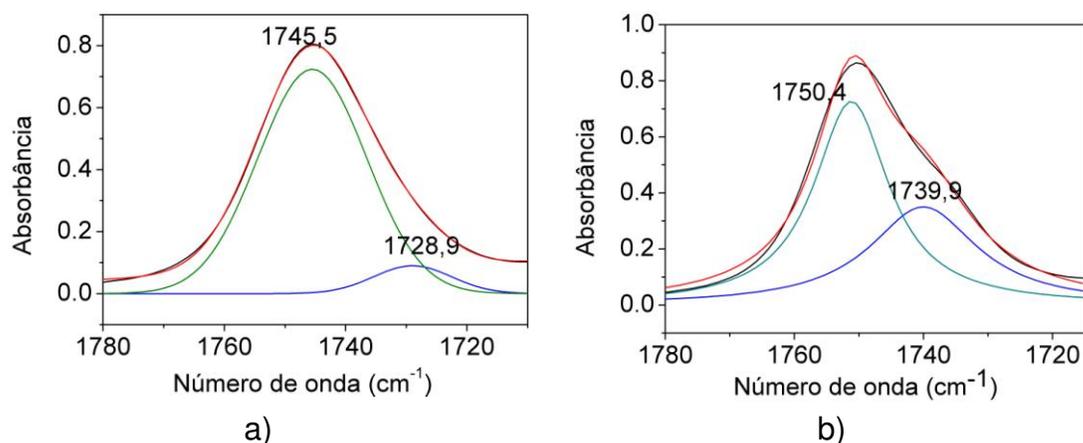


Figura 26: Deconvolução do espectro de infravermelho na região de estiramento da carbonila do Ac-Ser-OMe em a) diclorometano e b) acetonitrila.

Assim, cálculos teóricos foram realizados para compreender e justificar os resultados experimentais. Para obtenção dos mínimos de energia dos ésteres metílicos *N*-acetilados, foram utilizados como ponto de partida, os confôrmeros mais estáveis do éster metílico da *N*-acetil-L-alanina (Ac-Ala-OMe). As SEPs construídas (B3LYP/cc-pVDZ) foram obtidas a partir da substituição de um hidrogênio da cadeia lateral (metila) de cada um dos dois mínimos de energia obtidos da Ac-Ala-OMe pela respectiva cadeia lateral da serina (-CH₂-OH). A rotação simultânea dos ângulos diedros χ_1 (O-C _{β} -C _{α} -N) e χ_2 (H-O-C _{β} -C _{α}) deu origem a dezessete mínimos de energia, que foram otimizados em fase isolada (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ) e também considerando o efeito dos solventes (modelo de solvatação CPCM): diclorometano, DMSO e água. Porém, devido à energia relativa obtida para cada mínimo, apenas nove destas geometrias foram utilizadas para os demais cálculos (Anexo 3). Em seguida, foram calculados os valores de ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$ (B3LYP/aug-cc-pVDZ para átomos de nitrogênio e oxigênio e B3LYP/EPR-III para átomos de hidrogênio e carbono). A Figura 27 apresenta os valores das frações molares correspondentes a cada confôrmero *versus* a) ${}^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e b) ${}^3J_{H\alpha H\beta 2}$.

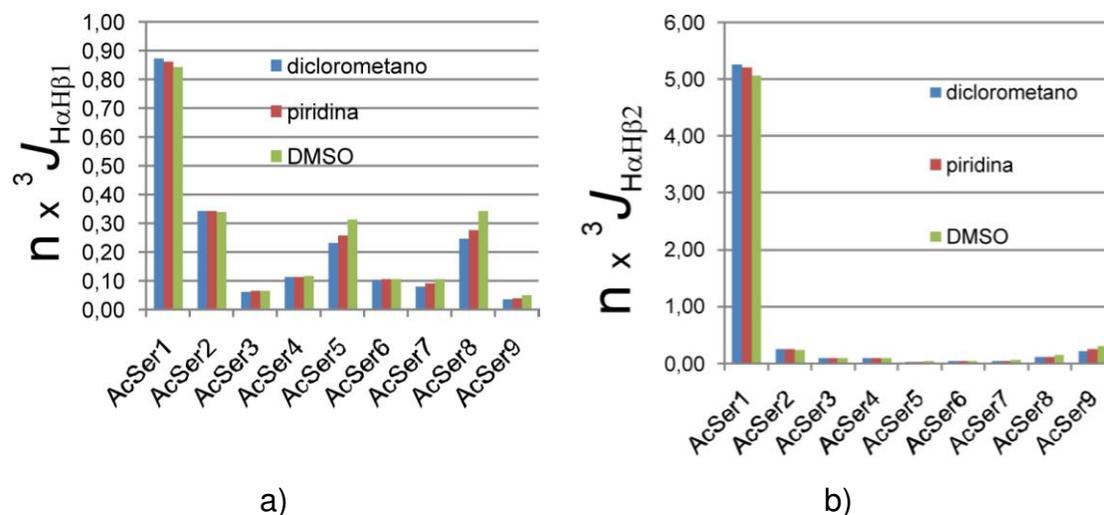


Figura 27: Fração molar (n) versus a) $^3J_{H\alpha H\beta 1}$ e b) $^3J_{H\alpha H\beta 2}$ calculadas (B3LYP/aug-cc-pVDZ) para AcSerOMe.

Os confôrmeros **AcSer8** e **AcSer5**, que correspondem aos arranjos “a” e “b” respectivamente, (veja Figura 25) apresentam maiores variações populacionais (Figura 27a), enquanto que os demais confôrmeros apresentam contribuição secundária. Neste sentido, os valores calculados de $^3J_{H\alpha H\beta}$ não apenas estão em concordância com as medidas experimentais de RMN e infravermelho (Anexo 6), como também são determinantes para identificação dos mínimos de energia que mais contribuem para a variação populacional observada para o AcSerOMe.

Para avaliar a contribuição de LHs para o equilíbrio conformacional da Ac-Ser-OMe, a metodologia QTAIM foi empregada. Os confôrmeros **AcSer1**, **AcSer3**, **AcSer5**, **AcSer8** e **AcSer9** apresentam BPs e BCPs relativos à formação de LH (Anexo 4). Sendo assim, de acordo com a análise QTAIM, estes mínimos de energia apresentam topologia compatível com a formação de LH. Assim, para verificar os demais critérios de Popelier, foram obtidos os parâmetros ρ_{BCP} , $\nabla^2\rho$, q , M_1 e V , conforme a Tabela 16. O confôrmero **AcSer2** não apresenta BPs e BCPs compatíveis com LH e foi utilizado apenas como referência para avaliação dos critérios de Popelier.

Tabela 16: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP de LH e propriedades atômicas integradas em u.a.

Confômero	H	Parâmetro					
		ρ_{BCP} (H)	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}}$ (H)	$q(\text{H})$	$E(\text{H})$	$M_i(\text{H})$	$V(\text{H})$
AcSer1	H(11)	0,021	+0,087	+0,467	-0,416	0,175	24,92
	H(22)	0,033	+0,112	+0,622	-0,335	0,139	13,98
AcSer2	H(11)	-----	-----	+0,463	-0,417	0,178	25,65
	H(22)	-----	-----	+0,577	-0,360	0,179	23,22
AcSer3	H(22)	0,019	+0,056	+0,601	-0,346	0,156	18,43
AcSer5	H(11)	0,021	+0,087	+0,460	-0,423	0,175	24,83
	H(22)	0,033	+0,112	+0,621	-0,335	0,131	13,98
AcSer8	H(22)	0,023	+0,068	+0,605	-0,345	0,152	17,46
AcSer9	H(22)	0,024	+0,073	+0,613	-0,338	0,144	15,93

A análise da Tabela 16 mostra que todos os confômeros com BCP e BP referentes à LH intramolecular atendem aos demais parâmetros de Popelier (**AcSer1** forma apenas a LH O-H \cdots O=C e **AcSer5** forma apenas a LH O-H \cdots O=C) e portanto apresentam LHs intramoleculares estáveis, do ponto de vista da QTAIM. Estes resultados são muito interessantes, quando comparados com a forma não acetilada (isto é, SerOMe), que apresenta LH de hidrogênio para apenas um confômero relativamente instável. A formação de um maior número de LH para o AcSerOMe deve ocorrer devido à troca de um hidrogênio (NH₂) por grupo acetila possibilitar a formação de anéis de 7 membros (**AcSer1**; **AcSer5** e **AcSer9**) mais estáveis, muito embora tenham sido identificados confômeros com anéis formados por seis átomos (**AcSer3**, **AcSer5** e **AcSer8**). Porém, a atribuição de LHs como única fonte de estabilidade destes sistemas não explicaria porque confômeros que apresentam a mesma interação intramolecular (como por exemplo **AcSer1** e **AcSer9** ou **AcSer3** e **AcSer8**) apresentam energias relativas (E_{rel}) tão distintas. Além disso, **AcSer2** não é estabilizado por LH e ainda assim é o segundo confômero de maior estabilidade quando comparado com os demais mínimos de energia.

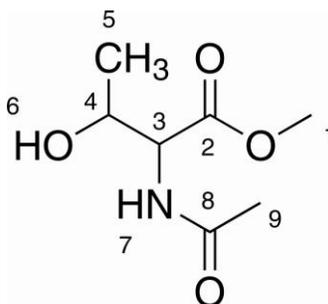
Neste sentido, para avaliar a importância dos efeitos estereoeletrônicos, a análise NBO foi empregada (Tabela 17). As maiores variações de energia de Lewis e de hiperconjugação são correspondentes a **AcSer1**, **AcSer5** e **AcSer9**. Nestes confôrmeros, a repulsão entre o par de elétrons não ligantes do oxigênio [LP(2)O₁₃] e a ligação σ_{O-H} (Anexo 3) aumenta a ΔE_{Lewis} , sendo esta a principal fonte de instabilidade para estes sistemas. Porém, **AcSer1** é o confôrmero que apresenta menor energia relativa quando todas as interações são computadas. A maior estabilidade de **AcSer1** é devida à maior ΔE_{hip} (24,35 kcal mol⁻¹) e formação de LH, conforme demonstrado através da análise QTAIM. Por outro lado, embora **AcSer2** não apresenta LH, este confôrmero é o que menos sofre efeitos estéricos, conforme ΔE_{Lewis} , sendo esta sua principal fonte de estabilização. Os confôrmeros **AcSer3**, **AcSer5**, **AcSer8** e **AcSer9** mesmo estabilizados por LHs apresentam energias de hiperconjugação inferiores às contribuições de origem estérica. Finalmente, **AcSer6** e **AcSer7** apresentam reduzida ΔE_{hip} e não forma LH e portanto são relativamente instáveis. Além disso, a comparação dos valores dos ângulos diedros calculados (ϕ ; ψ ; χ_1 e χ_2) para o AcSerOMe com aqueles obtidos para a forma não acetilada (ou seja, SerOMe, Tabela 6), mostra que a troca de um hidrogênio por um grupo acetila apresenta efeito crítico para o equilíbrio conformacional.

Tabela 17: Relação das energias (em kcal mol⁻¹) relativa (ΔE_{rel}), de Lewis (ΔE_{Lewis}) e de hiperconjugação (ΔE_{hiper}) e ângulos diedros (°) dos confôrmeros da Ac-Ser-OMe.

	ϕ	ψ	χ_1	χ_2	E_{rel}	E_{Lewis}	E_{hip}
AcSer1	3	353	175	48	0,00	22,55	24,35
AcSer2	7	356	64	294	1,43	0,00	0,37
AcSer3	79	257	56	66	2,24	1,97	1,53
AcSer4	19	275	68	188	2,45	2,94	2,29
AcSer5	2	174	274	48	2,96	19,34	18,18
AcSer6	24	330	183	69	3,25	2,64	1,19
AcSer7	75	181	57	174	3,40	1,60	0,00
AcSer8	52	204	193	303	3,67	6,43	4,56
AcSer9	23	165	309	336	3,71	11,19	9,28

Portanto, a formação de ligações de hidrogênio em diversos confôrmeros, como demonstrado através de QTAIM, não apresenta relações claras com a ordem de estabilidade apresentada. Em contrapartida, através da análise NBO, foi demonstrado que efeitos de origem estérica e hiperconjugativa são determinantes para o equilíbrio conformacional do AcSerOMe e não devem ser ignorados.

4.5 Éster metílico da *N*-acetil-L-treonina



Ac-Thr-OMe. RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) (deslocamento químico δ em ppm, multiplicidade, constante de acoplamento J em Hz): H₁ (3,62; s); H₃ (4,27; dd; 3,61 e 8,46) H₄ (4,08; m); H₅ (1,05; d; 6,36); H₆ (s; 3,32); H₇ (7,97; d; 8,46); H₉ (1,91; s).

A Figura 28 apresenta as projeções de Newman correspondentes a três arranjos possíveis da cadeia lateral da Ac-Thr-OMe. A relação *anti* entre os hidrogênios α e β na projeção "a" corresponde a valores de $^3J_{\text{H}\alpha\text{H}\beta}$ maiores que os esperados nos arranjos *gauche* observados em "b" e "c". Assim, um aumento em $^3J_{\text{H}\alpha\text{H}\beta}$ observado, induzido pela mudança do solvente, corresponde ao deslocamento do equilíbrio conformacional para o arranjo "a" enquanto uma redução no valor deste acoplamento indica o favorecimento das conformações de "b" e "c".

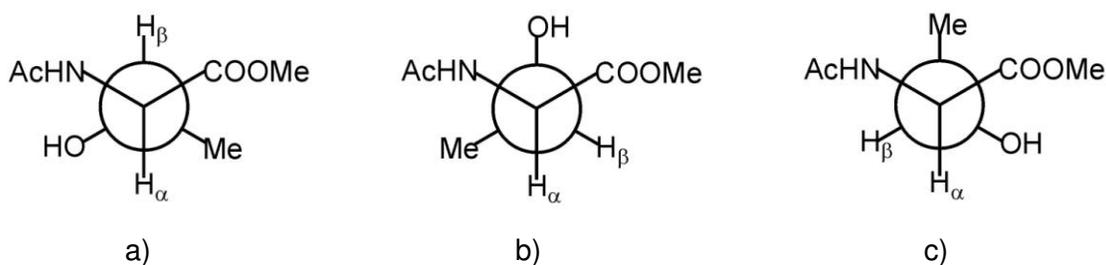


Figura 28: Representação das projeções de Newman para o Ac-Thr-OMe.

Neste sentido, foram obtidos os espectros de RMN de ^1H da Ac-Thr-OMe nos solventes: clorofórmio, piridina, acetona, acetonitrila, DMSO e D_2O (Tabela 18). A mudança do meio provoca um ligeiro deslocamento no equilíbrio conformacional para o arranjo "a", uma vez que os valores de $^3J_{\text{H}\alpha\text{H}\beta}$ observados aumentam progressivamente com a polaridade do solvente, conforme o valor da constante dielétrica ϵ , até que o sinal do hidrogênio α não mais se desdobre (D_2O). Portanto, diferentemente do Thr-OMe, em que não foram observadas variações populacionais com a mudança do meio, o equilíbrio conformacional da Ac-Thr-OMe é sensível à mudança do solvente e esta característica é devido a substituição de um hidrogênio (NH_2) pelo *N*-acetila.

Tabela 18: Constante dielétrica ϵ , constantes de acoplamento ($^3J_{\text{HH}}$, em Hz) e deslocamentos químicos (δ , em ppm) para o Ac-Thr-OMe.

Solvente	ϵ	δ_α	δ_β	$\delta_{\text{H(N)}}$	$^3J_{\text{H}\alpha\text{H}\beta}$
Clorofórmio- <i>d</i>	4,8	4,60	4,35	6,43	2,52
Piridina- <i>d</i> ₅	12,4	5,15	4,75	8,83	2,99
Acetona- <i>d</i> ₆	20,7	4,45	4,28	7,11	3,00
Acetonitrila- <i>d</i> ₃	37,5	4,37	4,20	----	3,02
DMSO- <i>d</i> ₆	46,7	4,27	4,08	7,97	3,60
D_2O	78,5	4,51	4,38	---	----

Além disso, para analisar o comportamento do Ac-Thr-OMe em solução, também foram obtidos os espectros de infravermelho em diclorometano e acetonitrila. A Figura 29 mostra a região de estiramento da carbonila (éster metílico) em ambos os solventes.

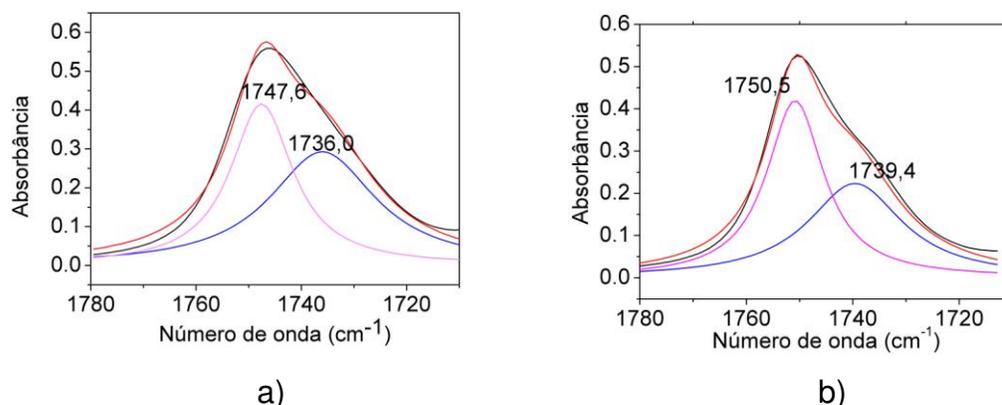


Figura 29: Região de estiramento da carbonila (éster) da Ac-Thr-OMe em a) diclorometano e b) acetonitrila.

Em diclorometano, foram observadas duas bandas com frações molares de 0,48 ($1747,6\text{ cm}^{-1}$) e 0,52 ($1736,0\text{ cm}^{-1}$) enquanto que em acetonitrila as populações relativas observadas foram 0,56 ($1750,5\text{ cm}^{-1}$) e 0,44 ($1739,4\text{ cm}^{-1}$). Novamente, devido a mudança do meio, ocorre um decréscimo na fração molar representada pela banda de maior número de onda, que neste caso deve corresponder aos confôrmeros com arranjos "b" e "c". Por outro lado, observa-se um aumento populacional correspondente às bandas de menores números de onda em ambos os solventes, as quais são referentes ao arranjo "a" (veja Figura 28), em concordância com os resultados observados por meio de RMN. Portanto o aumento da polaridade do meio induz ao deslocamento do equilíbrio conformacional para o arranjo *anti* da cadeia lateral em relação à cadeia principal do AcThrOMe. Mais importante, estes resultados em conjunto com os demais reportados, mostram que a adição de um grupo acetila à aminoésteres de cadeias maiores (AcGliOMe e AcAlaOMe não apresentaram mudanças populacionais significativas) têm efeito crítico sobre o equilíbrio conformacional dos derivados de aminoácidos estudados. Para analisar e compreender os resultados experimentais, cálculos teóricos foram realizados.

Foram construídas SEP 3D, a partir dos dois mínimos de energia obtidos para o Ac-Ala-OMe. Para tanto, um hidrogênio da cadeia lateral ($-\text{CH}_3$) deste sistema, foi substituído pela respectiva cadeia lateral da treonina para formar a Ac-

Thr-OMe. As SEPs (Anexo 2) foram obtidas a partir da rotação dos ângulos diedros χ_1 [H-O-C $_{\beta}$ -C $_{\alpha}$] e χ_2 [O-C $_{\beta}$ -C $_{\alpha}$ -N] em nível B3LYP/cc-pVDZ. Em seguida, os mínimos de energia foram otimizados em nível B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Além disso, os 9 confômeros resultantes foram otimizados utilizando o modelo de solvatação CPCM em clorofórmio e DMSO. Para as geometrias otimizadas nestes solventes, foram calculados também os valores de acoplamento $^3J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ (B3LYP/aug-cc-pVDZ para átomos de nitrogênio e oxigênio e B3LYP/EPR-III para átomos de hidrogênio e carbono). A Figura 30 apresenta os valores das frações molares correspondentes a cada confômero multiplicada pelo respectivo acoplamento $^3J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$.

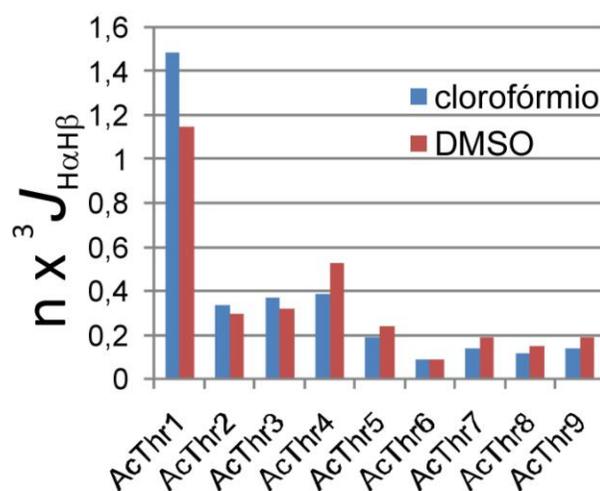


Figura 30: População relativa *versus* $^3J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ calculados para os confômeros do AcThrOMe.

AcThr2 e **AcThr3**, que correspondem à projeção de Newman “b” (Figura 28) apresentam redução nos valores de $n \times ^3J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ enquanto em **AcThr7** e **AcThr9** (referentes à projeção de Newman “a”) observa-se o inverso, ou seja, $n \times ^3J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$ aumentam com a mudança do meio. Outros confômeros apresentam variação populacional em conjunto com $^3J_{H_{\alpha}H_{\beta}}$, porém não estão em concordância com os valores experimentais observados. Portanto, os valores calculados não apenas

corroboram com os valores experimentais como também predizem quais confôrmeros são responsáveis pela variação populacional observada.

Para avaliar a formação de LHs foram obtidos os gráficos moleculares para todos os confôrmeros do Ac-Thr-OMe (Anexo 4). Entre os 9 mínimos de energia calculados, **AcThr1**, **AcThr2**, **AcThr7**, **AcThr8** e **AcThr9** apresentam BP e BCP característicos de LH. Novamente, para avaliar a formação de LHs, foram obtidos os parâmetros densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) bem como carga q , a energia E , o primeiro momento de dipolo M_1 e o volume V (Tabela 19). O confôrmero **AcThr3** que não participa de LH foi utilizado como referência.

A análise da Tabela 19 mostra que todos os cinco confôrmeros que apresentam BCPs e BPs atendem aos critérios de Popelier (exceto para uma das LH não usual envolvendo a metila da cadeia lateral de **AcThr9**). Além disso, nenhum dos gráficos moleculares apresenta pontos de catástrofe, que resultam da junção entre os pontos críticos de ligação e de anel. Sendo assim, do ponto de vista QTAIM, todos os cinco confôrmeros apresentam ligações de hidrogênio estáveis.

Tabela 19: Densidade eletrônica (ρ_{BCP}) e seu laplaciano ($\nabla^2\rho$) no BCP de LH e propriedades atômicas integradas em u.a.

	H	Parâmetro					
		ρ_{BCP} (H)	$\nabla^2\rho_{\text{BCP}}$ (H)	$q(\text{H})$	$E(\text{H})$	$M_1(\text{H})$	$V(\text{H})$
AcThr1	H(21)	0,034	+0,114	+0,621	-0,336	0,129	13,69
AcThr2	H(21)	0,022	+0,066	+0,603	-0,346	0,152	17,59
AcThr3	H(21)			+0,570	-0,362	0,183	23,85
	H(23)			-0,028	-0,620	0,130	50,24
AcThr7	H(21)	0,032	+0,109	+0,619	-0,337	0,131	13,82
AcThr8	H(21)	0,022	+0,064	+0,600	-0,347	0,153	17,72
AcThr9	H(21)	0,021	+0,062	+0,605	-0,344	0,152	17,37
	H(23)	0,008	+0,031	-0,013	-0,616	0,125	48,31

Para avaliar as contribuições de origem eletrostática e hiperconjugativa, cálculos de deleção dos orbitais naturais de ligação foram realizados. Além disso, foram calculados os valores dos ângulos diedros ψ ; ϕ ; χ_1 e χ_2 (Tabela 20) e os resultados foram comparados aos parâmetros equivalentes observados para o AcSerOMe, da mesma forma como realizado para as formas não acetiladas dos derivados da serina e treonina.

A substituição de um hidrogênio da cadeia lateral (serina) por um grupo metila (treonina) pode induzir a mudanças significativas no equilíbrio conformacional de ambos os sistemas, devido ao incremento de efeitos estéricos. Contudo, assim como observado para as formas não acetiladas (ou seja, SerOMe e ThrOMe), os valores de ângulos diedros calculados para os confôrmeros do AcThrOMe estão muito próximos daqueles observados para o AcSerOMe (compare geometrias dos confôrmeros de ambos os sistemas, Anexo 3). Estes resultados mostram que adição do grupo metila não surte efeito significativo sobre o equilíbrio conformacional de ambas as formas acetiladas, mas, sobretudo apontam que os efeitos que governam o equilíbrio conformacional do AcThrOMe devem ser os mesmos que são operantes sobre o AcSerOMe.

Tabela 20: Relação das energias (em kcal mol⁻¹) relativa (ΔE_{rel}), de Lewis (ΔE_{Lewis}) e de hiperconjugação (ΔE_{hiper}) e ângulos diedros ($^\circ$) dos confôrmeros da Ac-Thr-OMe.

	AcThr1	AcThr2	AcThr3	AcThr4	AcThr5	AcThr6	AcThr7	AcThr8	AcThr9
Φ	15	78	18	35	71	18	20	329	32
Ψ	332	270	353	353	181	339	142	185	147
χ_1	276	54	64	66	56	196	278	194	317
χ_2	318	60	288	185	175	66	37	310	322
ΔE_{rel}	0,00	0,43	0,54	1,07	1,72	2,03	2,35	2,59	2,77
ΔE_{Lewis}	19,98	1,88	0,00	1,78	1,40	3,12	14,60	6,17	6,21
$\Delta E_{Hip.}$	20,51	1,98	0,00	1,25	0,22	1,62	12,79	4,11	3,98

Conforme a Tabela 20, **AcThr1**, **AcThr7** e **AcThr9** apresentam as maiores ΔE_{Lewis} , que resultam principalmente das repulsões estéricas entre [LP(2)O₁₃] e a ligação $\sigma_{\text{O-H}}$. Porém **AcThr1** apresenta a maior energia hiperconjugativa ($\Delta E_{\text{hiper.}} = 20,51 \text{ kcal mol}^{-1}$). Portanto, hiperconjugação e também LH, são as interações operantes sobre o equilíbrio conformacional deste sistema. **AcThr2**, além de LH, possui energia de hiperconjugação relativamente maior que a contribuição de origem estérica apresentando assim comportamento semelhante à **AcThr1**. Por outro lado, **AcThr3** não apresenta LH intramolecular, conforme demonstrado através da QAIM, mas sobretudo corresponde à geometria que menos sofre repulsão estérica ($\Delta E_{\text{Lewis}} = 0$), sendo esta a razão de sua estabilidade. Este comportamento está em desacordo com diversas propostas da literatura que mostram que LHs são as forças operantes sobre todos os mínimos de energia de aminoácidos e derivados.

Os confôrmeros **AcThr4**, **AcThr5** e **AcThr6** não formam LHs enquanto nestas geometrias efeitos estéricos começam a predominar sobre efeitos hiperconjugativos. Por último, os mínimos de energia **AcThr7**, **AcThr8** e **AcThr9**, que formam LHs, correspondem às geometrias com maiores variações de energia relativa. Esta aparente contradição pode ser explicada pela maior predominância dos efeitos estéricos, que são fonte de instabilidade, sobre efeitos hiperconjugativos, que conferem a um sistema menor energia.

Portanto, a formação de ligações de hidrogênio, como demonstrado através da QAIM, não mostra relações claras com a ordem de estabilidade apresentada pelos confôrmeros do AcThrOMe e assim não devem ser invocadas como interações determinantes e exclusivas que operam sobre o equilíbrio conformacional. Em contrapartida, através da análise NBO, foi demonstrado que efeitos estereoeletrônicos são contribuições importantes capaz de racionalizar o equilíbrio conformacional deste sistema.

5. Conclusão

Os resultados reportados neste trabalho mostraram que aminoésteres acetilados e não acetilados são bons modelos para estudos de biomoléculas, principalmente em solução, em que as diversas reações bioquímicas ocorrem, uma vez que possuem elevada solubilidade e não apresentam formas zwitteriônicas, como observado para aminoácidos.

Através de espectroscopias no infravermelho e de RMN de ^1H , foi demonstrado que o equilíbrio conformacional de ésteres metílicos não acetilados independe da mudança do meio uma vez que as constantes de acoplamento observadas, bem como as frações molares, obtidas pela deconvolução analítica da banda de estiramento da carbonila (éster), não apresentaram alterações significativas com a mudança do meio. Em contrapartida, os resultados obtidos para os derivados de aminoácidos *N*-acetilados, em especial de cadeias maiores, mostraram que a presença do grupo *N*-acetila afeta sistematicamente o equilíbrio conformacional dos aminoésteres, quando sujeitos a ambientes de polaridades distintas. A compreensão do comportamento destes sistemas-modelo em solução é de grande importância para racionalizar interações inter e intramoleculares de biomoléculas de cadeias maiores, quando sujeitas a ambientes de polaridades variáveis, como por exemplo, no interior de uma membrana, em que um sistema pode experimentar diversas zonas de polaridade. Além disso, os resultados calculados estão em razoável concordância com as medidas experimentais e determinantes para prever o comportamento dos derivados de aminoácidos em fase isolada e também em solução.

Mais importante, o estudo dos compostos supracitados mostrou que o entendimento das interações que regem o equilíbrio conformacional de cada sistema é complexo. Diferentemente do reportado por diversos trabalhos na literatura, a atribuição de ligações de hidrogênio como único tipo de interação responsável pelo equilíbrio conformacional dos derivados aminoácidos investigados é equivocada, uma vez que não foram identificadas relações diretas

entre este tipo de interação e a ordem relativa de estabilidade dos mínimos de energia correspondente à cada derivado de aminoácido. Com efeito, foi demonstrado, através da Teoria Quântica dos átomos em moléculas e análise dos Orbitais Naturais de Ligação, dentro do nível de teoria aplicado, que as interações intramoleculares responsáveis por diferenciar a energia de seus confôrmeros inclui também interações estereoeletrônicas, em especial efeitos estéricos e de hiperconjugação, que não devem ser ignoradas na elucidação das forças, que governam o equilíbrio conformacional destes sistemas.

Uma vez que aminoácidos e seus derivados são modelos simples de biomoléculas e considerando a importância do entendimento do equilíbrio conformacional destes sistemas, principalmente em solução, em que os vários processos bioquímicos ocorrem, este estudo representa uma visão contemporânea em termos de análise conformacional e poderá ser utilizado para compreensão de sistemas maiores como peptídeos.

6. Referências

- ¹ Eliel, E. L.; Wilen, S. H.; Mander, L. N. *Stereochemistry of Organic Compounds*, John Wiley, NY, **1994**.
- ² Pophristic, V.; Goodman, L. *Nature* 411, 565, **2001**.
- ³ Sachse, H. *Ber.* 23, 1363, **1890**.
- ⁴ Morgon, N. H. *Quím. Nova* 24, 676, **2001**.
- ⁵ Kay, J. B.; Robinson, J. B.; Cox, B.; Polkonjas D. *J. Pharm.Pharmacol.* 22, 214, **1970**.
- ⁶ Feixas, F.; Malito, E.;Poater, J.; Solà, M. *J. Phys. Chem. A.* 115, 13104, **2011**.
- ⁷ Blanco, S.; Sanz, M. E.; López, J. C.; Alonso, J. L. *PNAS* 104, 20183, **2007**.
- ⁸ Cody, V.; Duax, W. L.; Hauptman, H. *Int. J. Pept. Protein. Res.* 5, 297, **1973**.
- ⁹ Oladepo, S. A.; Xiong, K.; Hong, Z.; Asher, S. A.; Handen, J.; Lednev, I. K. *Chem. Rev.* 112, 2604, **2012**.
- ¹⁰ Misra, P.; Dubinskii, M. A. *Ultraviolet Spectroscopy and UV Lasers*, p 569, Marcel Dekker, NY, **2002**.
- ¹¹ (a)Emmler, T.; Gieschler, S.; Limbach, H. H., Buntkowsky, G. *J. Mol. Struct.* 700, 29, **2004**.; (b) Shainyan, B. A.; Kirpichenko,S. V.; Kleinpeter,E.; Shlykov, S. A., Osadchiy, D. Y.; Chipanina, N. N.; Oznobikhina, L. P. *J. Org. Chem.* 78, 3939, **2013**; (c)Borowski, P. *J. Magn. Res.* 214, 1, **2012**.
- ¹² (a)Helmus, J. J.; Nadaud, P. S.; Hofer, N.; Jaroniec, C. P. *J. Phys. Chem.* 128, 52314, **2008**. (b) Williams, J. K.; Zhang, Y.; Schmidt-Rohr, K.; Hong, M *Biophys. J.* 104, 1698, **2013**.(c) Zhao, X., *Top. Curr. Chem.* 326, 187, **2012**.
- ¹³ Shapiro, B. L.; Tseng, C. K.; Johnston, M. D. *J. Magn.Reson.* 10, 65, **1973**.
- ¹⁴ Abraham, R. J., Tormena, C. J.; Rittner, R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans, 2*, 1663, **1999**.
- ¹⁵ Fiorin, B. C.; Basso, E.; Tormena, C. F.; Rittner, R.; Abraham, R. J. *J. Phys. Chem. A.* 113, 2906, **2009**.

-
- ¹⁶ Roberts, J. D. *Acc. Chem. Res.* 39, 889, **2006**.
- ¹⁷ Karplus, M. *Chem. Phys.* 30, 11, **1959**.
- ¹⁸ Mursakulov, I. G.; Ramazanov, E. A. Guseinov, M. M. *Tetrahedron*, 36, 1885, **1990**.
- ¹⁹ Duarte, C. J.; Freitas, M. P. *J. Mol. Struct.* 930, 135, **2009**.
- ²⁰ Foresman, J. B.; Frisch, A. *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, 2^a ed. Pittsburgh, **1996**.
- ²¹ Morgon, N. H.; Custódio, R. *Quím. Nova* 18, 44, **1995**.
- ²² Dunning, T. H. *J. Chem. Phys.* 90, 1007, **1995**.
- ²³ Cramer, C. J. *Essentials of computational Chemistry: Theories and models*, 2nd ed. Chichester, **2004**.
- ²⁴ Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. *Chem. Rev.* 105, 2999, **2005**.
- ²⁵ Basso, E.; Abiko, L. A.; Gauze, G. F.; Pontes, R. M. *J. Org. Chem.* 76, 145, **2005**.
- ²⁶ Barrone, V.; Cossi, M. *J. Phys. Chem. A* 102, 1995, **1998**.
- ²⁷ Cossi, M.; Rega, N.; Scalmani, G.; Barone, V. *J. Comp. Chem.* 24, 669, **2002**.
- ²⁸ Bader, R.W.F. *Atoms in Molecules, A Quantum Theory*, Clarendon Press, Oxford, **1990**.
- ²⁹ Gilli, G. Gilli, P. *The Nature of the Hydrogen Bond: Outline of a Comprehensive Hydrogen Bond Theory*, Oxford University Press, New York, **2009**.
- ³⁰ (a) Coppens, P. *X-ray Charge Densities and Chemical Bonding*, Oxford University Press, New York, **1997**. (b) Koritsanszky, T. S. ;Coppens, P. *Chem. Rev.* 101, 1583, **2001**.
- ³¹ Stake, D. *Chem. Eur. J.* 17, 9264, **2011**.
- ³² Matta, C. F.; Gillespie, R. J. *J. Chem. Educ.* 79, 1141, **2002**.
- ³³ Matta, C. F.; Boyd, R. J. *The Quantum Theory Atoms in Molecules*, WILEY-VCH, Weinheim, **2007**.

-
- ³⁴ Bader, R. F. W.; Anderson, S. G.; Duke, A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 1389, **1979**.
- ³⁵ Bader, R. F. W. *J. Phys. Chem. A*, **113**, 10391, **2009**.
- ³⁶ Bader, R. F. W. *J. Phys Chem. A*, **114**, 7431, **2010**.
- ³⁷ Grabowski, S. J.; Sokalski, W. A.; Dyguda, E.; Leszczy, J. *J. Phys Chem. B*, **110**, 6444, **2006**.
- ³⁸ Alberg, B. K.; Marchand-Geneste, N.; King, R. D. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **54**, 75, **2000**.
- ³⁹ Oliveira, B. O.; Araújo, R. C. M. U.; Ramos, M. N. *Quím. Nova.* **33**, 1155, **2010**.
- ⁴⁰ Koch, U.; Popelier, L. A. *J. Phys. Chem.* **99**, 9747, **1995**.
- ⁴¹ Afonin, A. V.; Pavlov, D. V.; Albanov, A. I.; Tarasova, O. A.; Nedolya, N. A. *Magn. Reson. Chem.* **51**, 414, **2013**. (b) Ferro-Costas, D.; Vila, A.; Mosquera, R. A. *J. Phys. Chem. A*, **117**, 1641, **2013**. (c) Esrafil, M. D. *J. Mol. Model.* **19**, 1417, **2013**. (d) Esrafil, M. D. *Struct. Chem.* **24**, 39, **2013**. (e) Grabowski, S. J. *J. Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 7249, **2013**.
- ⁴² Addario, V.; Guo, Y.; Chu, I. K.; Ling, Y.; Ruggerio, G.; Rodriguez, C. F.; Hopkinson, A. C.; Slu, K. W. M. *Int. J. Mass Spec.* **12069**, 1, **2002**.
- ⁴³ Baek, K. Y.; Hayashi, M.; Fujimura, Y.; Lin, S. H.; Kim, S. K. *J. Phys. Chem. A* **114**, 7583, **2010**.
- ⁴⁴ Gupta-Bhaya, P. *Biopol.* **14**, 1143, **1975**.
- ⁴⁵ Plass, M.; Griebel, C.; Kolbe, A. *J. Mol. Struct.* **570**, 203, **2011**.
- ⁴⁶ Sun, H.; Oldfield, E. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 4726, **2004**.
- ⁴⁷ Ramaekers, R.; Pajak, J.; Lambie, B.; Maes, G. *J. Chem. Phys.* **120**, 4182, **2004**.
- ⁴⁸ Engelke, U. F. H.; Sambek, L.; Jong, J. G. N.; Leroy, J. G.; Morava, E.; Smeitink, J. A. M.; Wevers, R. A. *Clin. Chem.* **50**, 58, **2004**.
- ⁴⁹ Pinheiro, G. M. S.; Basso, E. A.; Fiorin, B. C.; Cendes, F.; Rittner, R.; Oliveira, A. N.; Höehr, N. F. *Clin. Chim. Acta*, **404**, 166, **2009**.

-
- ⁵⁰ Engelke, U. F. H.; Sass, J. O.; Coster, R. N. V.; Gerlo, E.; Olbrich, H.; Krywawych, S.; Calvin, J.; Hart, C.; Omran, H.; Wevers, R. A. *NMR Biomed.*, **21**, 138, **2008**.
- ⁵¹ Siodlak, D.; Janicki, A. *J. Pept. Sci.* **16**, 126, **2010**.
- ⁵² (a) Ballard, C. E.; Yu, H.; Wang, B. *Curr. Med. Chem.* **9**, 471, **2002**. (b) Sarabi, F.; Chammaa, S.; Ruiz, A. S.; Ortiz L. M.; Herrera, F. J. L. *Curr. Med. Chem.* **11**, 1309, **2004**.
- ⁵³ Gronert, S.; O'Hair, R. A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 2071, **1995**.
- ⁵⁴ Bombassaro, J. A.; Rodríguez, A. M.; Enriz, R. D. *J. Mol. Struct.* **724**, 173, **2005**.
- ⁵⁵ Compagnon, I.; Hagemester, F.; Antonie, R.; Rayane, D.; Broyer, M.; Dugourd, P.; Hudgins, R. R.; Jarrold, M. F. *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 8440, **2001**.
- ⁵⁶ Yurtsever, E.; Yuret, D.; Erman, B. *J. Phys. Chem. A.* **110**, 13933, **2006**.
- ⁵⁷ Tooze, B. J. *Introduction to Protein Structure*, Garland, New York, **1991**.
- ⁵⁸ Wang, Y.; Xu, H.; White, R. H. *J. Bacteriol.* **15**, 196, **2014**
- ⁵⁹ Saravanan, K. M.; Krishnaswamy, S. J. *Biomol. Struct. Dyn.* **10**, 1350. **2014**
- ⁶⁰ Lambie, B.; Ramaekers, R.; Maes, G. *J. Phys. Chem. A.* **108**, 104266, **2004**.
- ⁶¹ Friedman, M.; Levin, C. E. *Amino Acids* **42**, 1553, **2012**.
- ⁶² Tortonda, F. R.; Silla, E.; Tunon, I.; Rinaldi, D.; Ruiz-Lopez, M. *Theor. Chem. Acc.* **104**, 89, **2000**.
- ⁶³ Noguera, M.; Rodriguez, L.; Sodupe, M.; Bertran, J. *J. Mol. Struct.* **537**, 307, **2001**.
- ⁶⁴ Alonso, J. L.; Pérez, C.; Sans, M. E.; López, J. C. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**, 617, **2009**.
- ⁶⁵ Mao, Y.; Jeong, M.; Wang, T.; Ba, Y. *Solid. State. Nucl. Magn. Reson.* **39**, 7, **2011**.
- ⁶⁶ Hernández, B.; Pfüger, F.; Adenier, A.; Nsangou, M.; Kruglik, S. G.; Ghomi, M. *J. Chem. Phys.* **135**, 55101, **2011**.

-
- ⁶⁷ Xu, X.; Lin, Z. *J. Mol. Struct.* **962**, 23, **2010**.
- ⁶⁸ Hernández, B.; Pflüger, F.; Adenier, A.; Kruglik, S. G.; Ghomi, M. *J. Phys. Chem. B* **114**, 15319, **2010**.
- ⁶⁹ Dian, B. C.; Longarte, A.; Mercier, S.; Evans, D. A.; Wales, D. J.; Zwier, T. S. *J. Chem. Phys.* **117**, 10688, **2002**.
- ⁷⁰ Snoek, L. C.; Kroemer, R. T.; Hockridge, M. R.; Simons, J. P. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **3**, 1819, **2001**.
- ⁷¹ Yang, G.; Zhou, L.; Zu, Y.; Fu, Y.; Zhu, R.; Liu, C. *J. Mol. Struct.* **901**, 81, **2009**.
- ⁷² Lee, K. T.; Sung, J.; Lee, K. J.; Kim, S. K.; Park, Y. D. *J. Chem. Phys.* **116**, 8251, **2002**.
- ⁷³ Cormanich, R. A.; Ducatti, L. C.; Rittner, R. *J. Chem. Phys.* **387**, 85, **2011**.
- ⁷⁴ Cormanich, R. A.; Ducatti, L. C.; Rittner, R. *J. Mol. Struct.* **1014**, 12, **2012**.
- ⁷⁵ Cormanich R. A.; L. C. Ducati, C. F.Tormena,; R. Rittner, *Chem. Phys.* **421**, 32, **2013**.
- ⁷⁶ Cormanich, R. A.; Ducati, L. C.; Tormena, C. F.; Rittner, R. *J. Phys. Org. Chem.* **26**, 849, **2013**.
- ⁷⁷ Cormanich R. A.; L. C. Ducati, C. F.Tormena,; R. Rittner, *Spectrochim. Acta A*, **123**, 482, **2014**.
- ⁷⁸ Braga, C. B.; Ducati, L. C.; Tormena, C. F.; Rittner, R. *J. Phys. Chem. A* **118**,1748, **2014**.
- ⁷⁹ Ananda, K.; Babu, V.V. S. *J. Pept. Res.* **57**, 223, **2001**.
- ⁸⁰ Benoiton, N. L.; Lee, Y.; Chen, F. M. F. *Int. J. Peptide Protein. Res.* **31**, 443, **1988**.
- ⁸¹ GRAMS/AI (version 9.1) Thermo Fisher Scientific Inc, **2009**.
- ⁸² Gaussian 09, Revision B.1, Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.;

-
- Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**.
- ⁸³ Tormena, C. F.; Yoshinaga, F.; Doi, T.R.; Rittner, R. *Spectrochim. Acta A* **63**, 511, **2006**
- ⁸⁴ Siodlak, D.; Stás, M.; Broda, M. A.; Bujak, M.; Lis, T. *J. Phys. Chem. B* **118**, 2340, **2014**.
- ⁸⁵ IUPAC-IUB, Commission on biochemical nomenclature, *Biochem.* **9**, 3471, **1970**.
- ⁸⁶ Glendening, E. D.; Badenhop, J. K.; Reed, A. E.; Carpenter, J. E.; Bohmann, J. A.; Morales, C. M.; Weinhold, F., NBO Version 5.0., Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, Madison, **2001**.
- ⁸⁷ Keith, T. A. *AIMALL* (Version 11.12.19), **2011**.
- ⁸⁸ Bader, R. F. W.; Nguyen-Dang, T. T.; Tal, Y. *J. Chem. Phys.*, **70**, 4316, **1979**.
- ⁸⁹ Ingwall, R. T.; Gilon C.; Goodman, M. *Macromolecules*, **9**, 802, **1976**

7. Anexos

Anexo 1: Espectros de RMN de ^1H

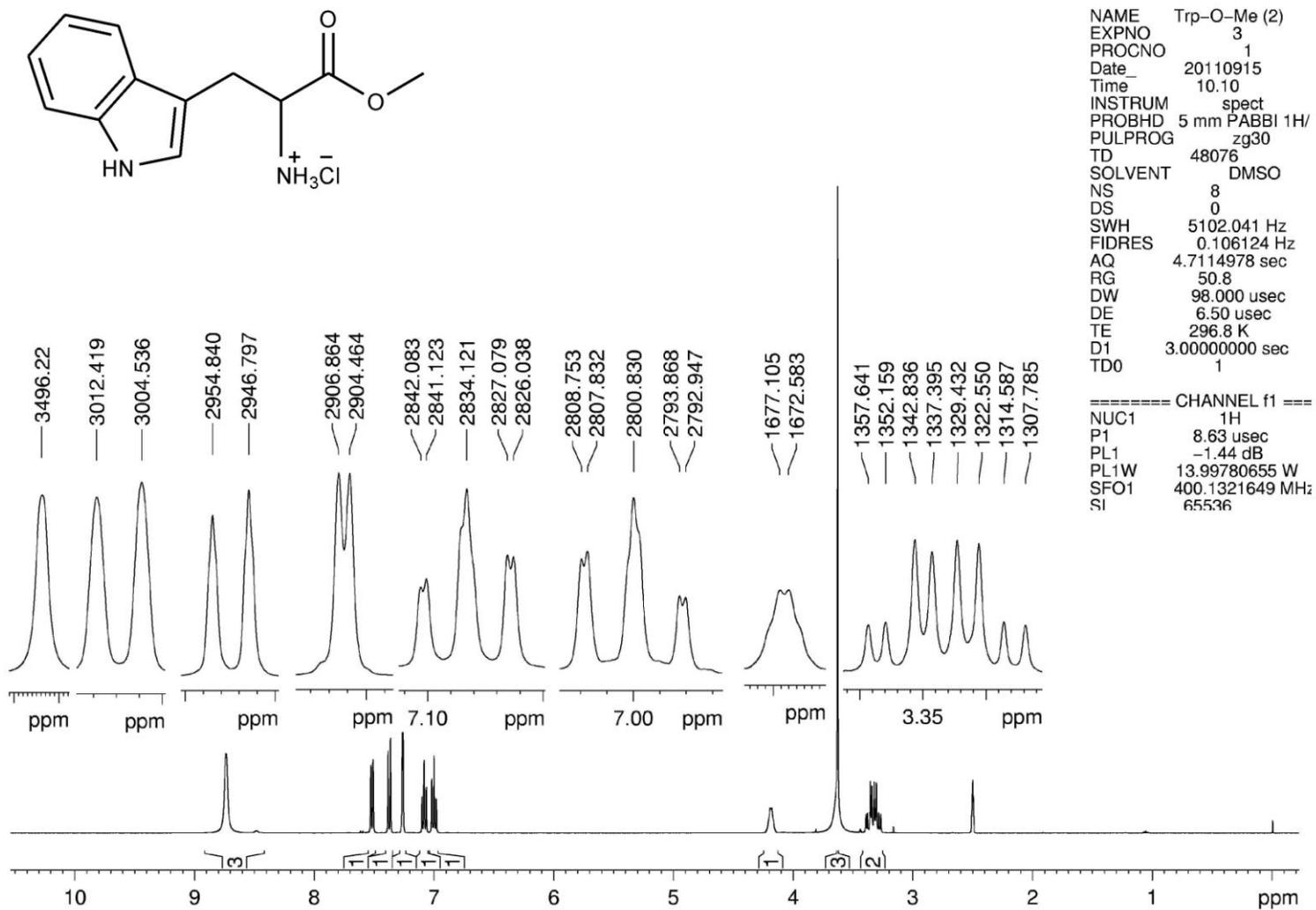


Figura A1: Espectro de RMN de ^1H para o cloridrato do éster metílico do L- triptofano dissolvido em $\text{DMSO-}d_6$.

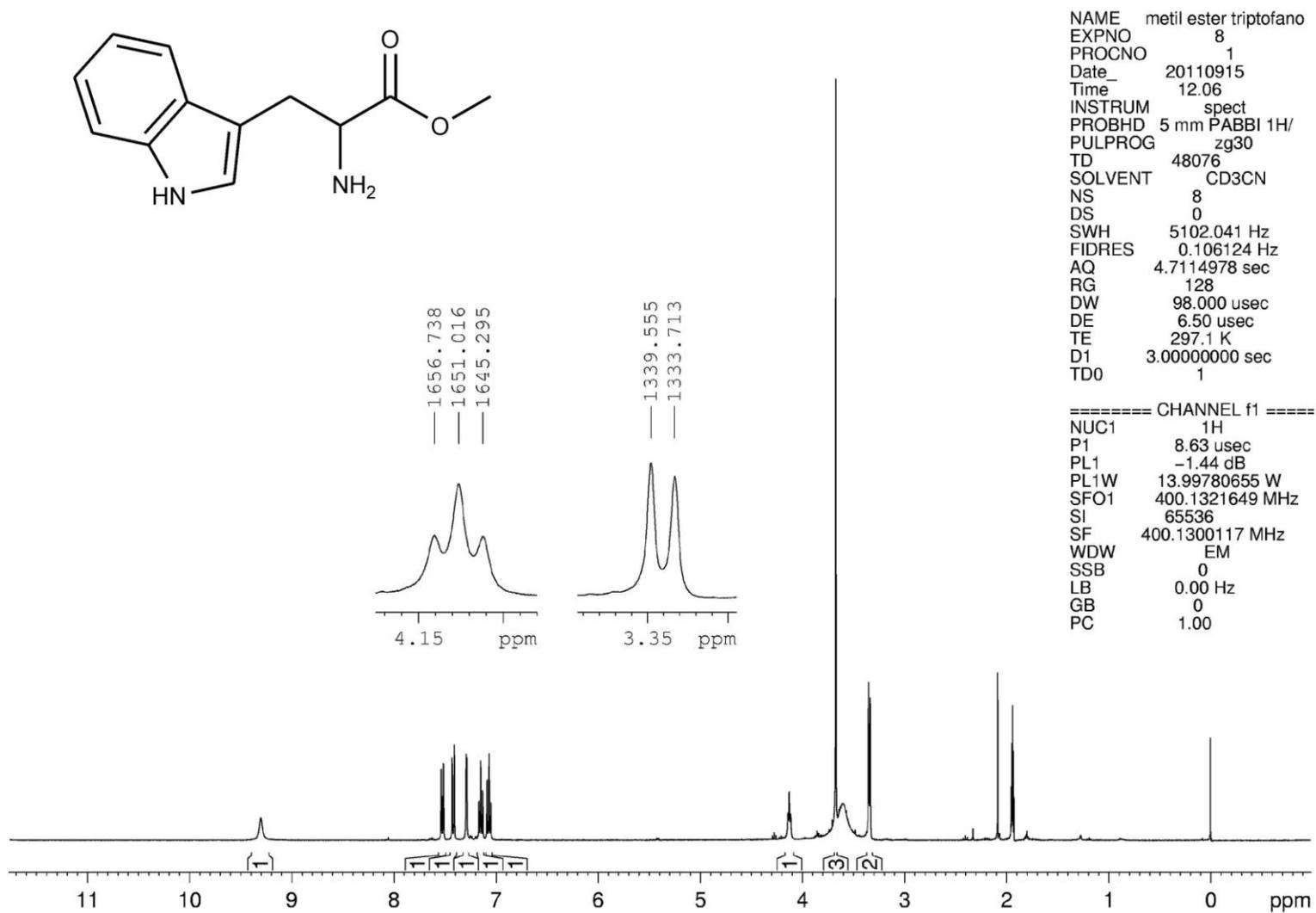


Figura A3: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico do L-triptofano dissolvido em CD_3CN .

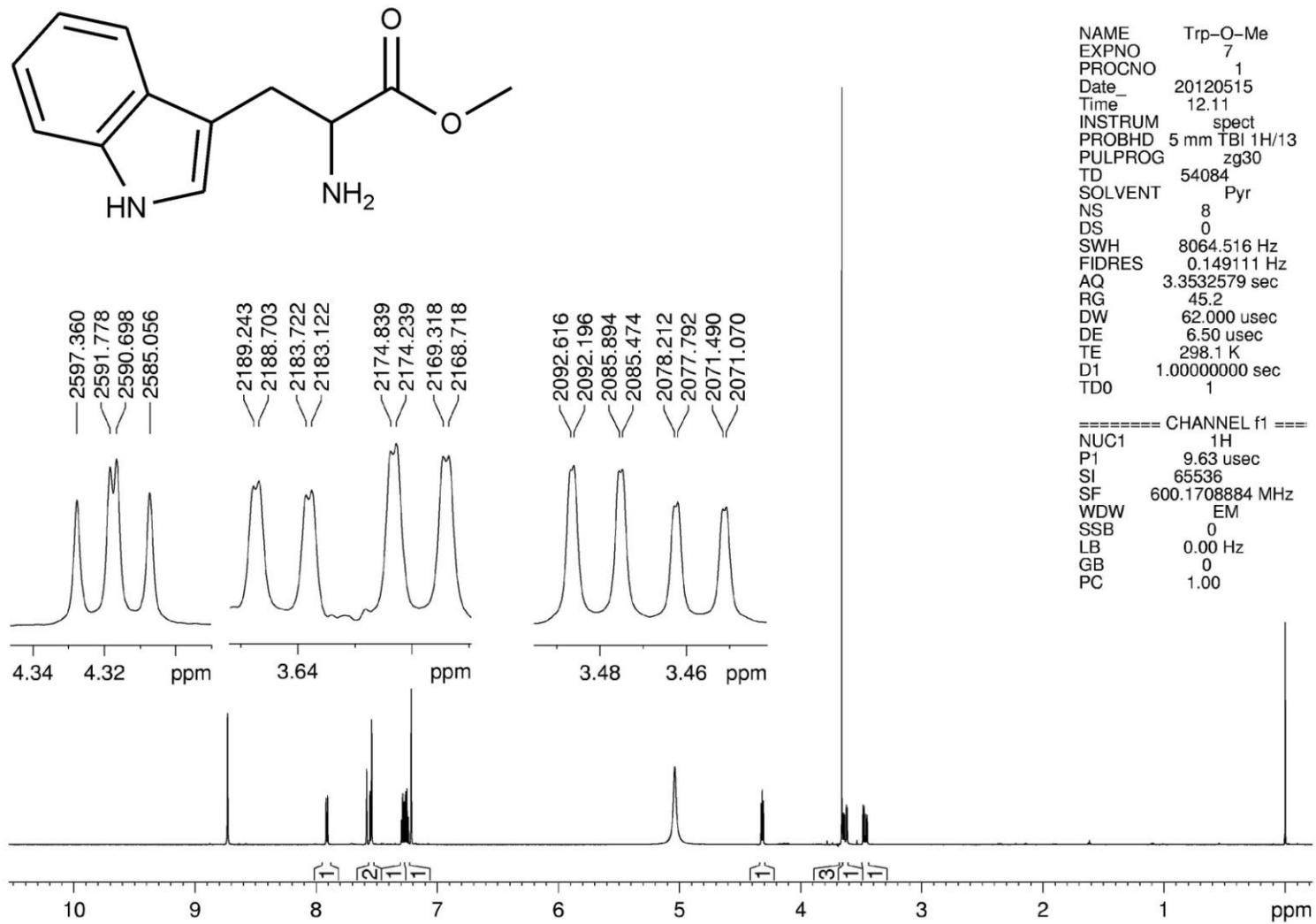


Figura A4: Espectro de RMN de ^1H para o cloridrato do éster metílico do L-tryptofano dissolvido em piridina- d_5 .

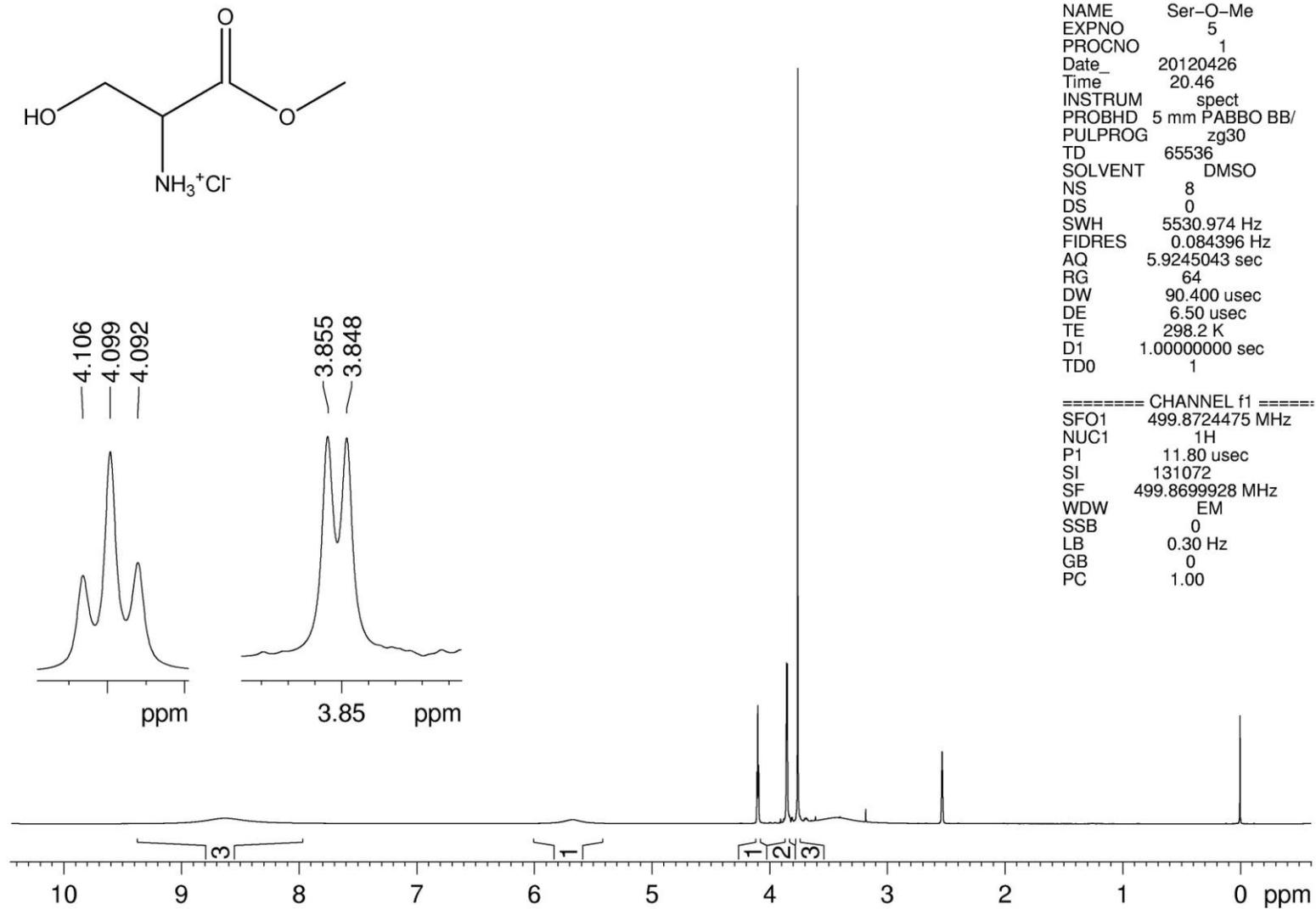
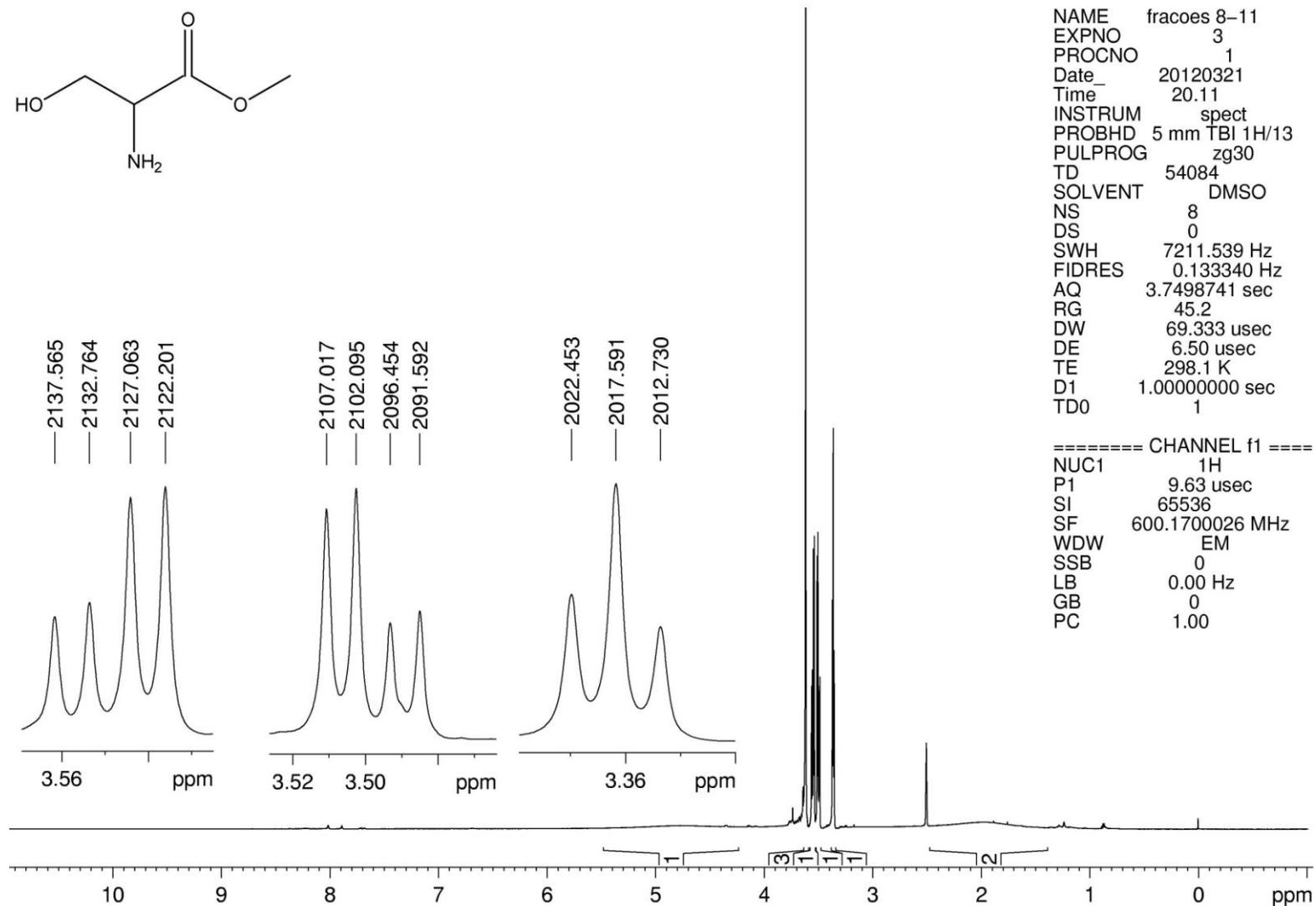
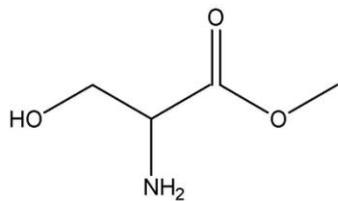


Figura A6: Espectro de RMN de ^1H para o cloridrato do éster metílico da L-serina dissolvido em $\text{DMSO}-d_6$.



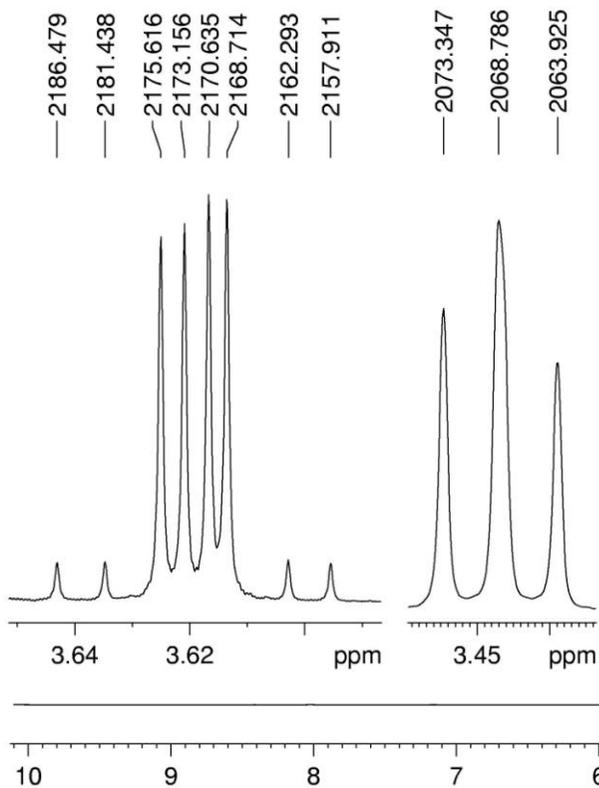
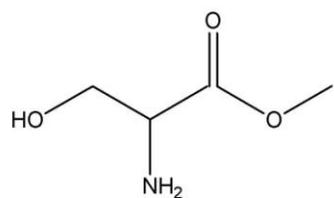
```

NAME   fracoes 8-11
EXPNO   3
PROCNO   1
Date_   20120321
Time    20.11
INSTRUM spect
PROBHD  5 mm TBI 1H/13
PULPROG zg30
TD       54084
SOLVENT  DMSO
NS       8
DS       0
SWH     7211.539 Hz
FIDRES  0.133340 Hz
AQ      3.7498741 sec
RG      45.2
DW      69.333 usec
DE      6.50 usec
TE      298.1 K
D1      1.00000000 sec
TD0     1
  
```

```

===== CHANNEL f1 =====
NUC1    1H
P1      9.63 usec
SI      65536
SF      600.1700026 MHz
WDW     EM
SSB     0
LB      0.00 Hz
GB      0
PC      1.00
  
```

Figura A7: Espectro de RMN de ¹H para o éster metílico da L-serina dissolvido em DMSO-d₆.



```

NAME serina metil ester 250613
EXPNO 6
PROCNO 1
Date_ 20130626
Time 19.18
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm PATBO BB-
PULPROG zg30
TD 32768
SOLVENT CD3CN
NS 8
DS 0
SWH 6393.862 Hz
FIDRES 0.195125 Hz
AQ 2.5625076 sec
RG 57
DW 78.200 usec
DE 6.50 usec
TE 298.1 K
D1 1.00000000 sec
TDO 1

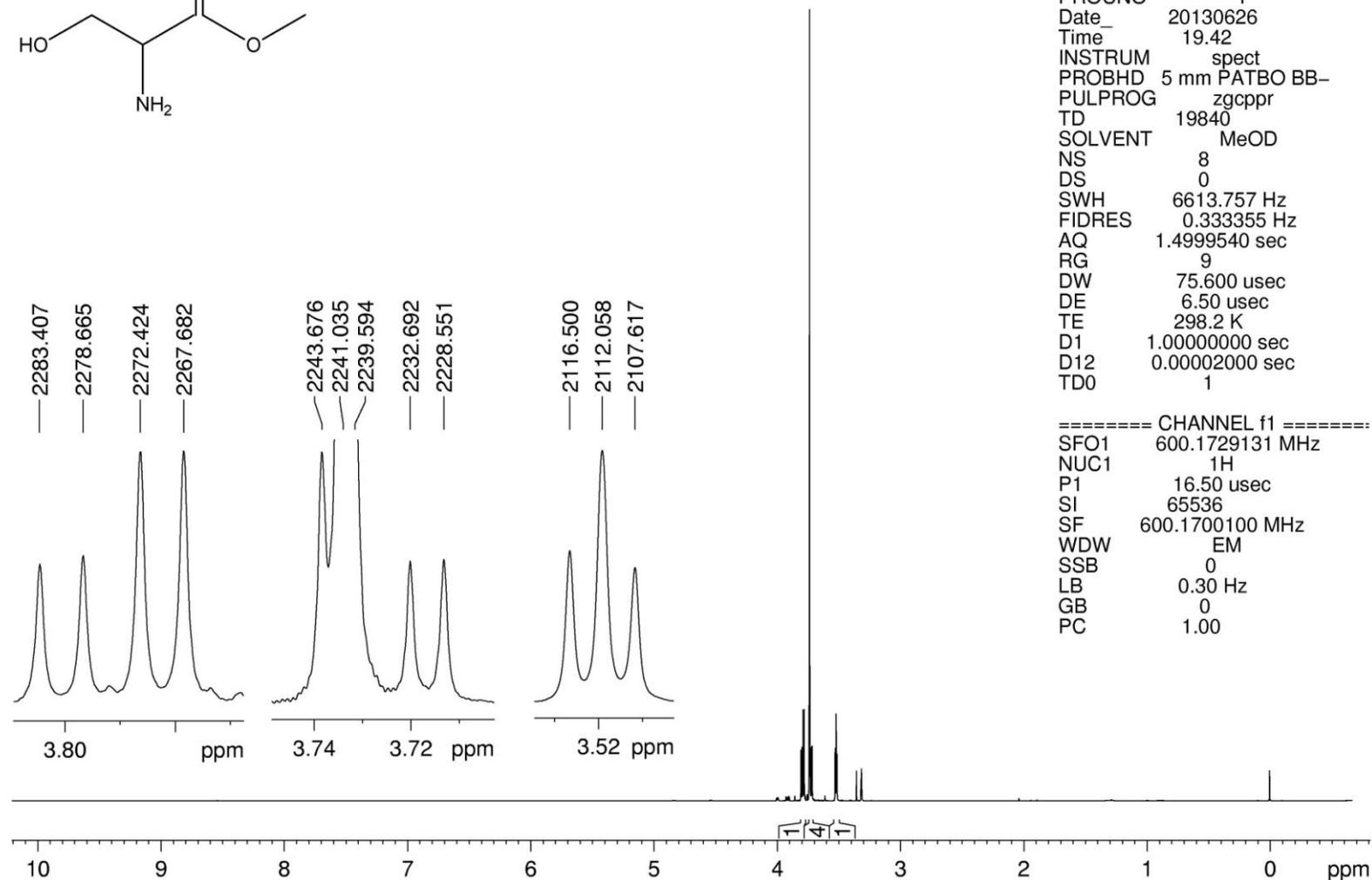
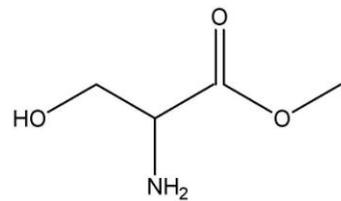
```

```

===== CHANNEL f1 =====
SFO1 600.1728837 MHz
NUC1 1H
P1 16.50 usec
SI 65536
SF 600.1700180 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00

```

Figura A8: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da L-serina dissolvida em CD_3CN



NAME serina metil ester 250613
 EXPNO 9
 PROCNO 1
 Date_ 20130626
 Time 19.42
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm PATBO BB-
 PULPROG zgpgpr
 TD 19840
 SOLVENT MeOD
 NS 8
 DS 0
 SWH 6613.757 Hz
 FIDRES 0.333355 Hz
 AQ 1.4999540 sec
 RG 9
 DW 75.600 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.2 K
 D1 1.00000000 sec
 D12 0.00002000 sec
 TD0 1

Figura A9: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da L-serina dissolvido em MeOD.

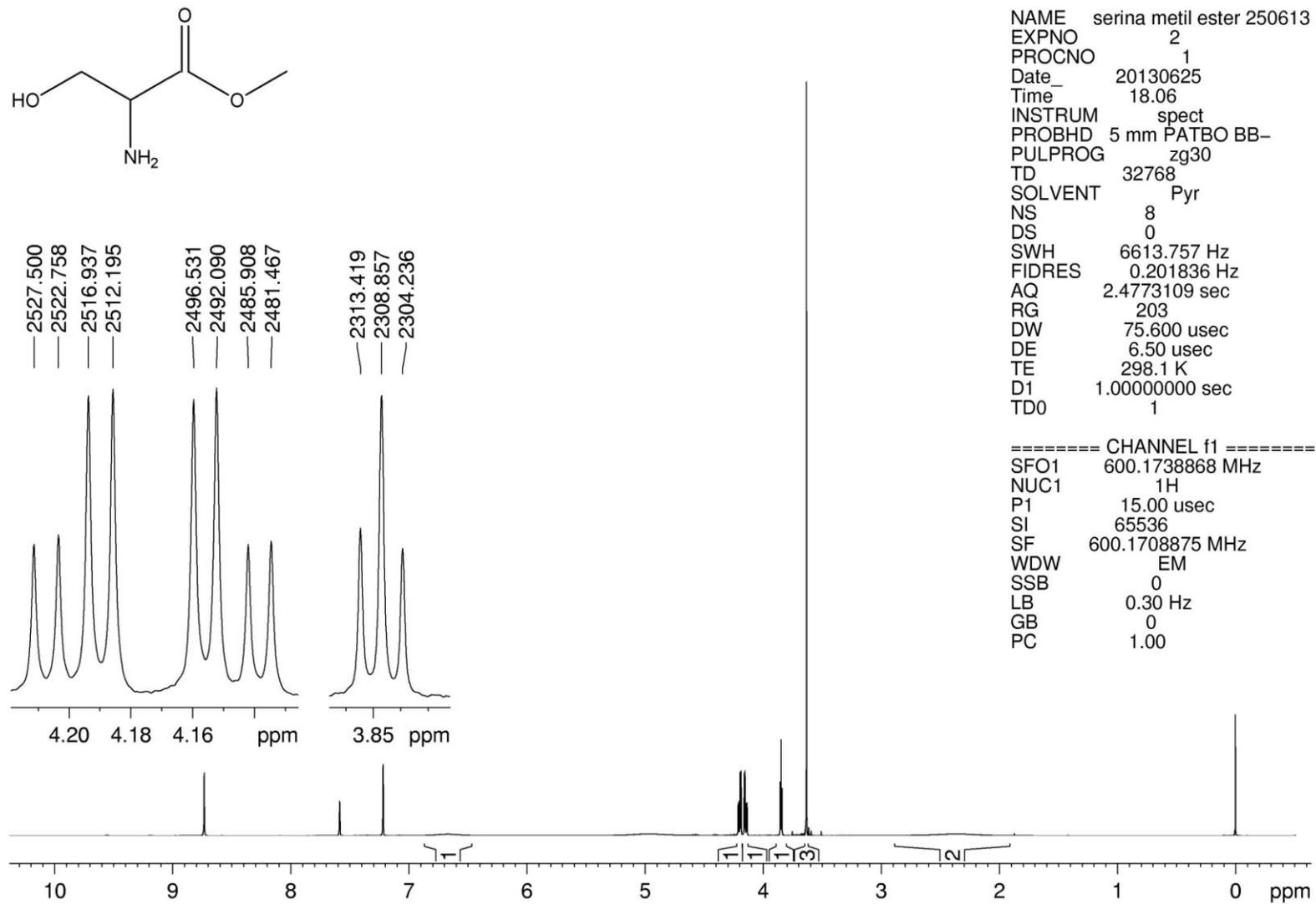


Figura A10: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da L-serina dissolvido em piridina- d_5 .

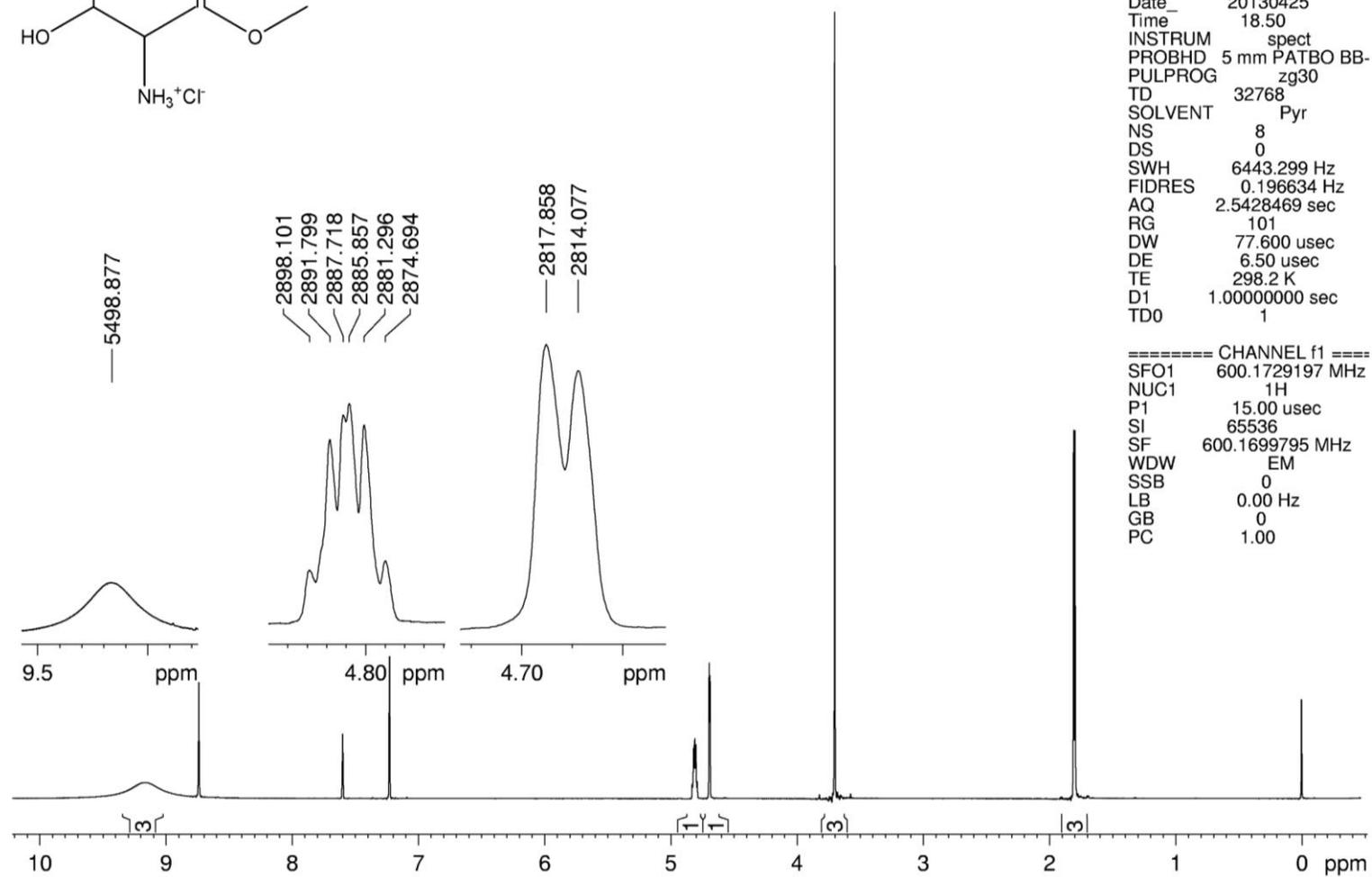
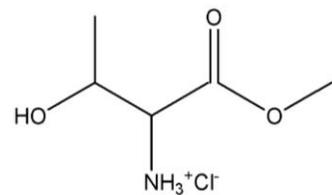


Figura A11: Espectro de RMN de ¹H para o cloridrato do éster metílico da L-treonina dissolvido em piridina-d₅

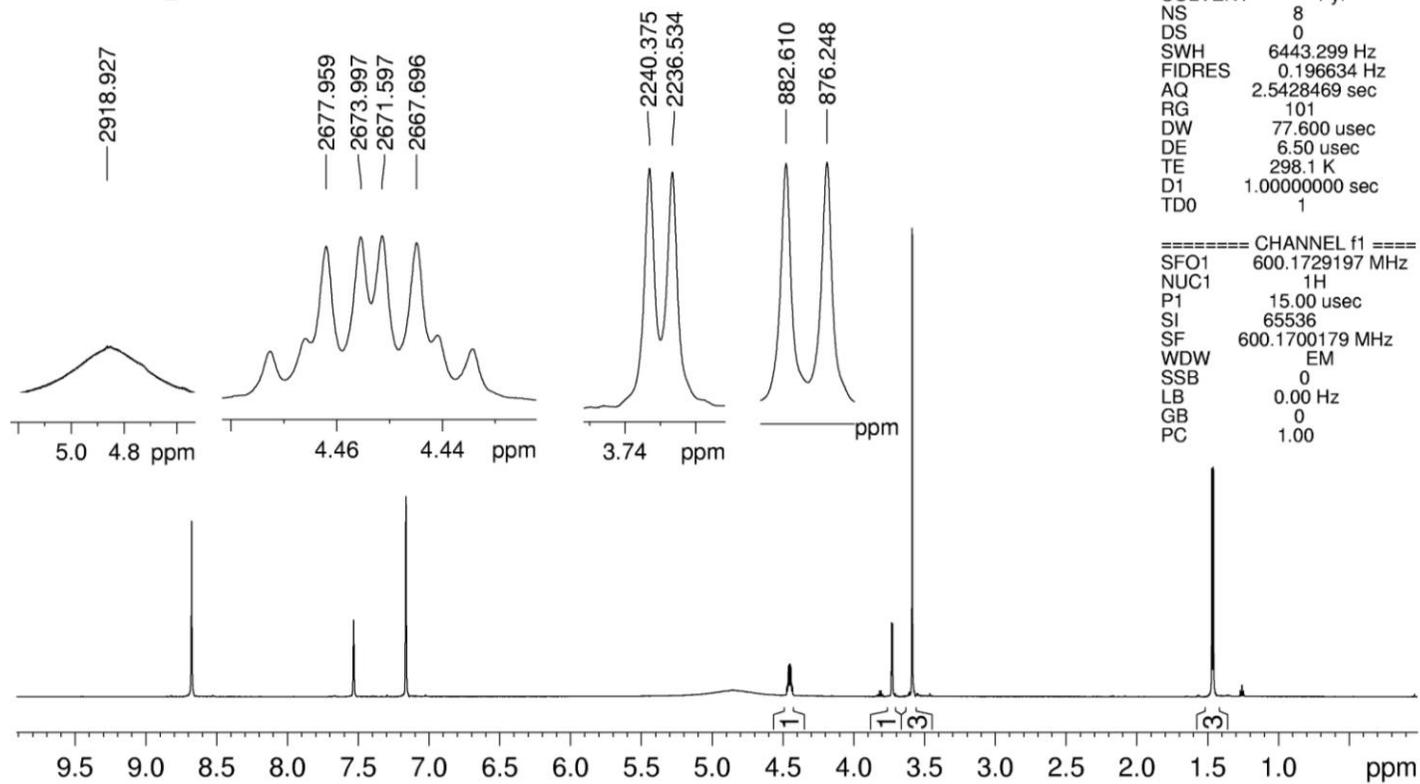
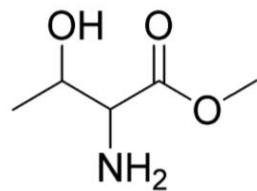


Figura A12: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da L-treonina dissolvido em piridina- d_5 .

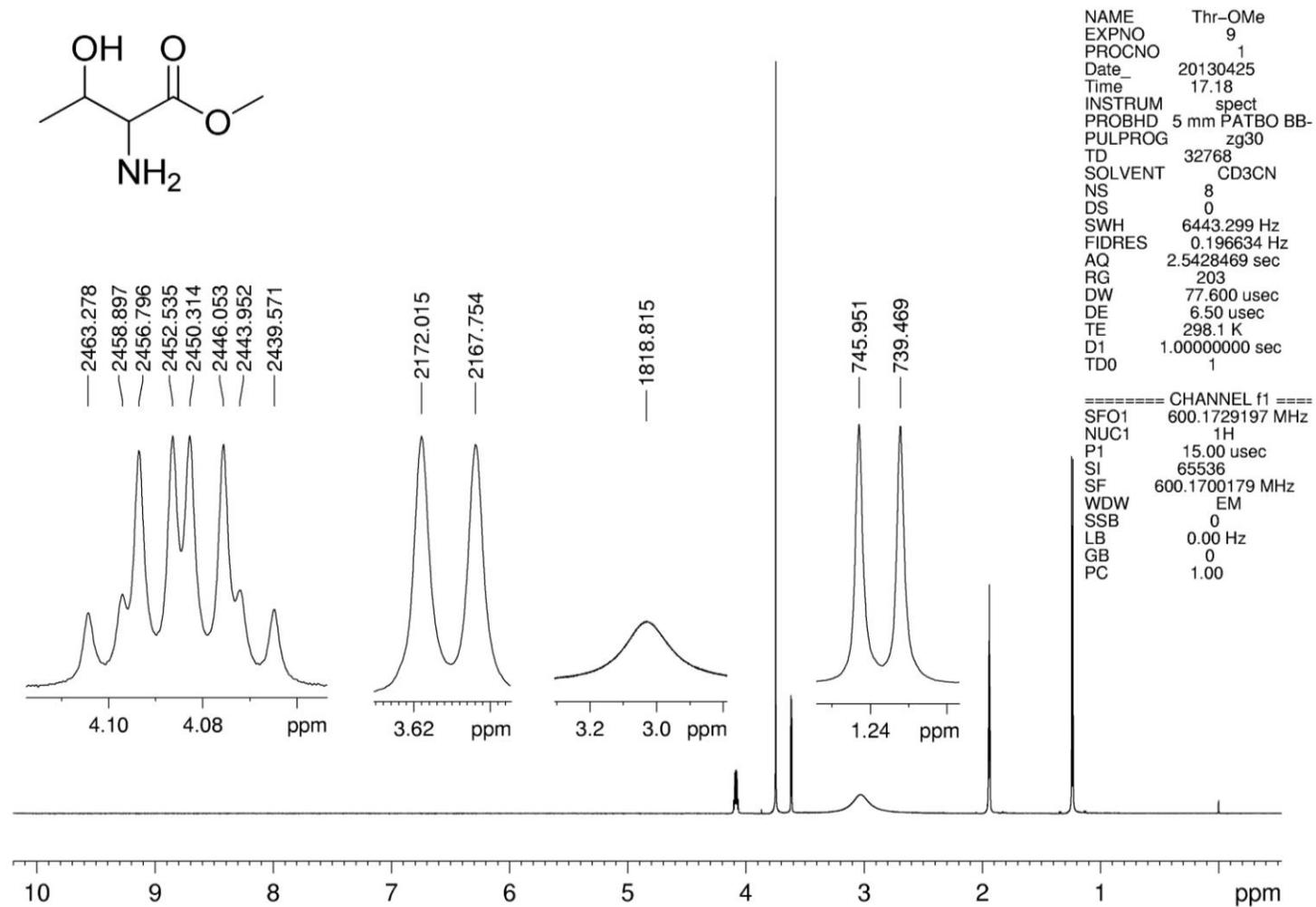


Figura A13: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da L-treonina dissolvido em acetonitrila- d_3

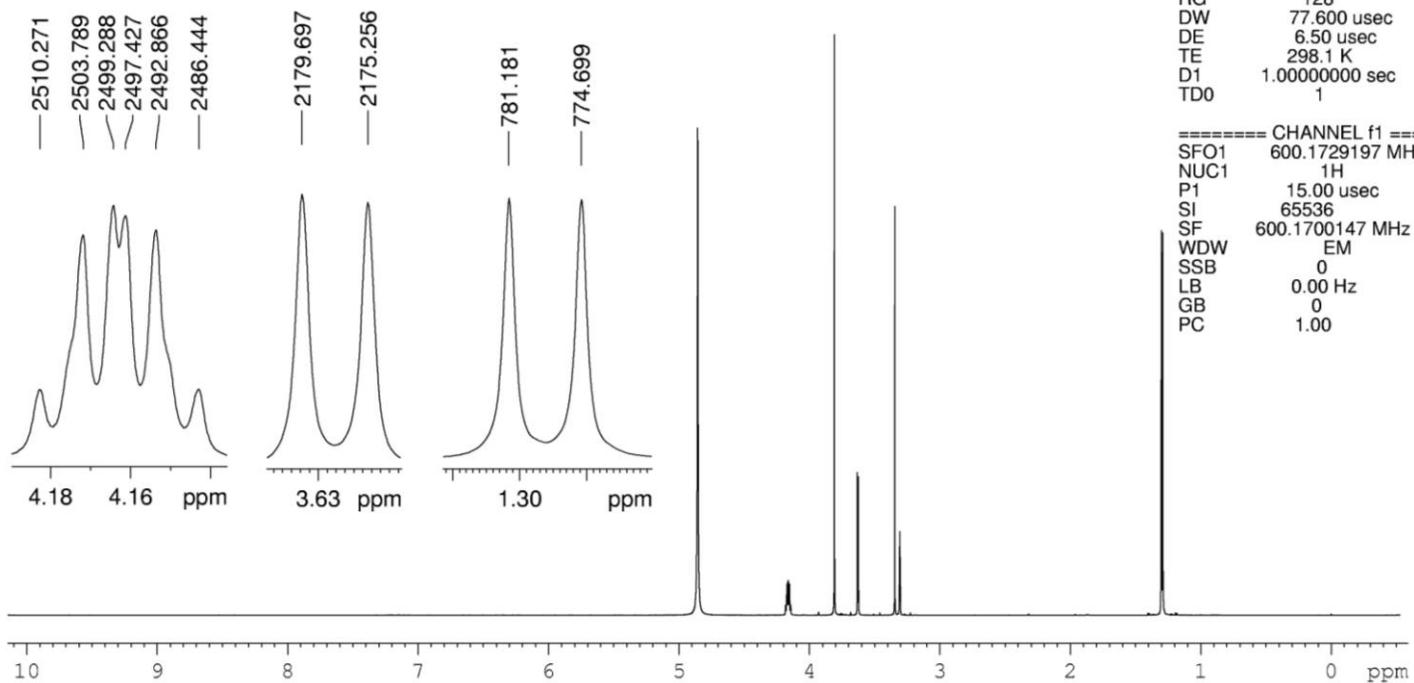
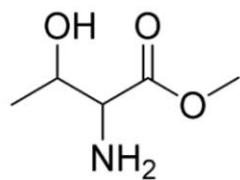


Figura A14: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da L-treonina dissolvido em MeOD.

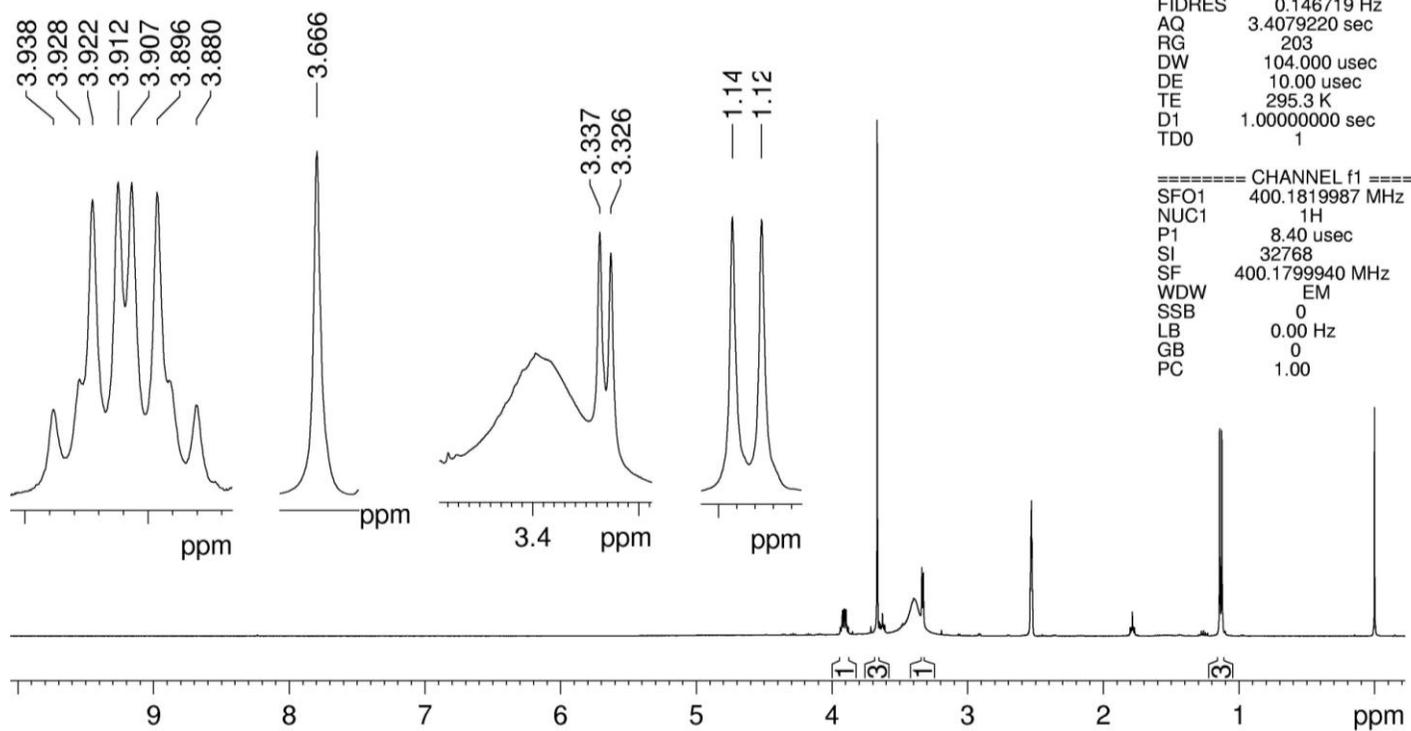
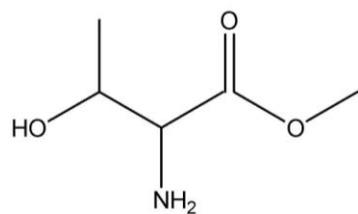


Figura A15: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da L- treonina dissolvido em DMSO

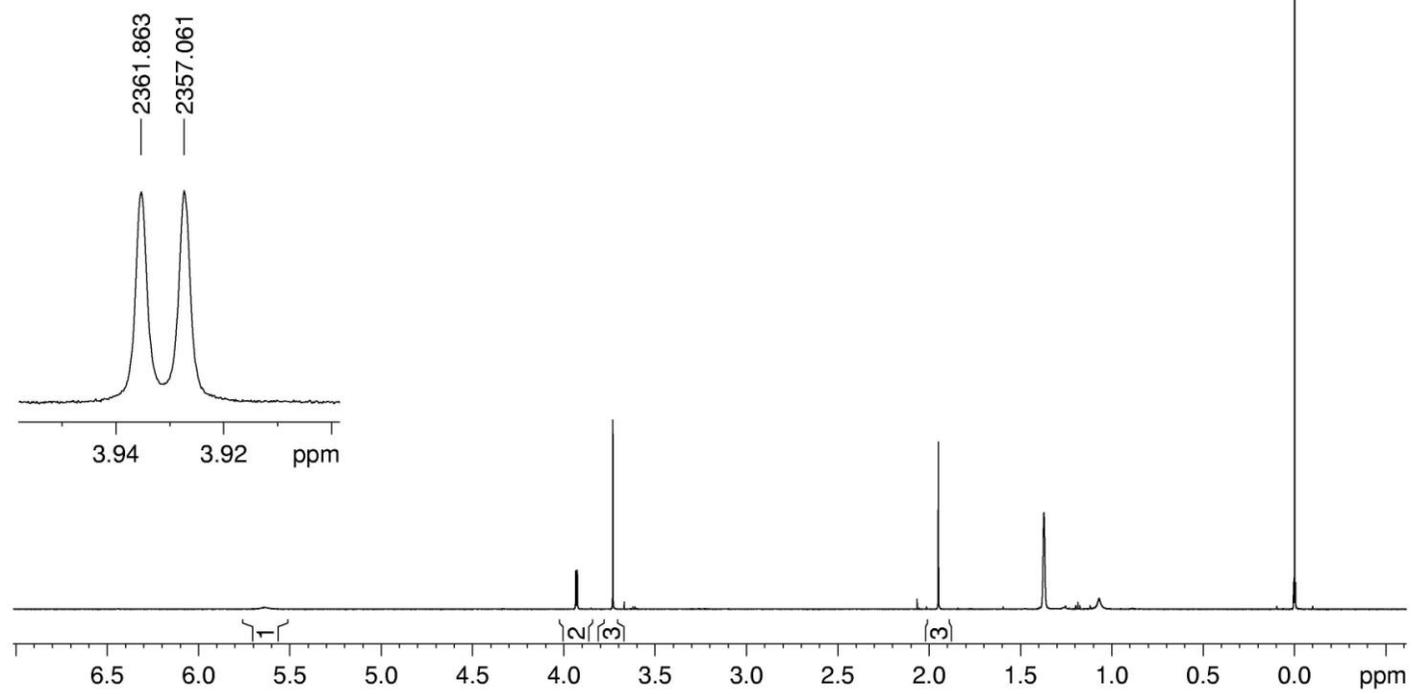
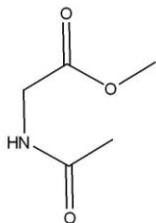


Figura A16: Espectro de RMN de ¹H para o éster metílico da *N*-acetil-glicina dissolvido em CCl₄/C₆D₆ (9:1).

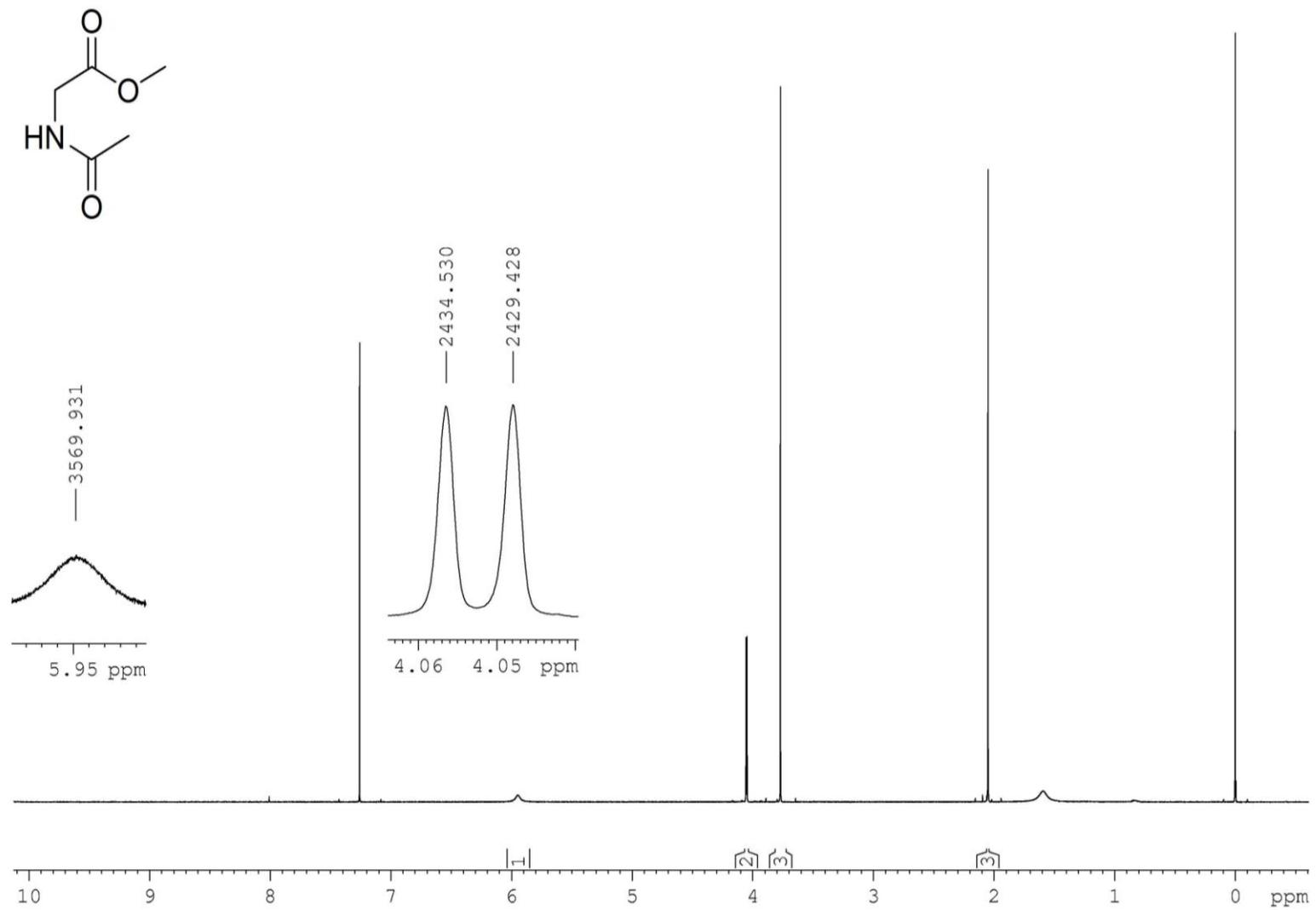


Figura A17: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da *N*-acetil-glicina dissolvido em CDCl_3 .

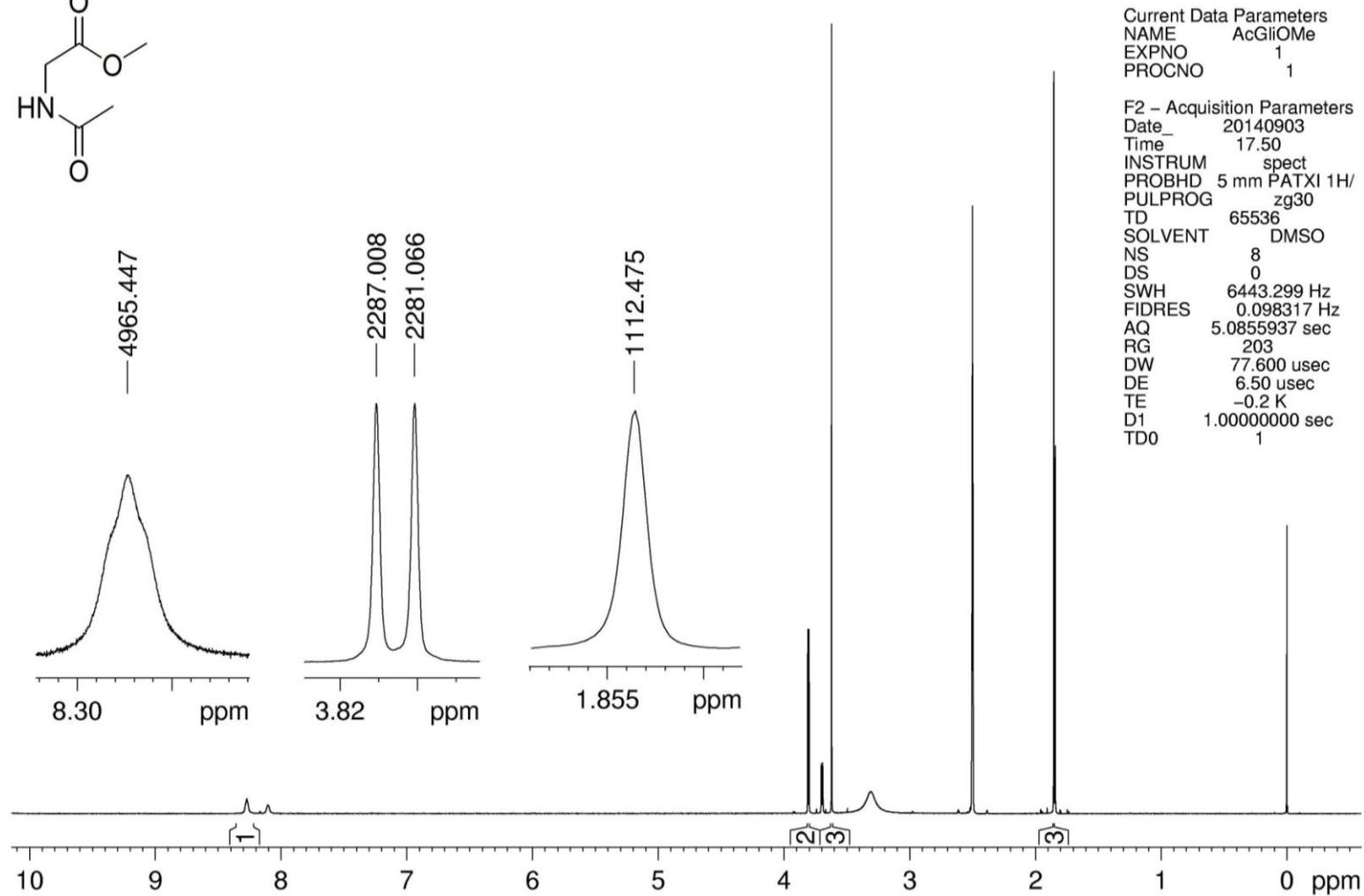
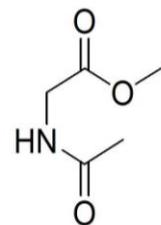


Figura A18: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da *N*-acetil-glicina dissolvido em $\text{DMSO-}d_6$.

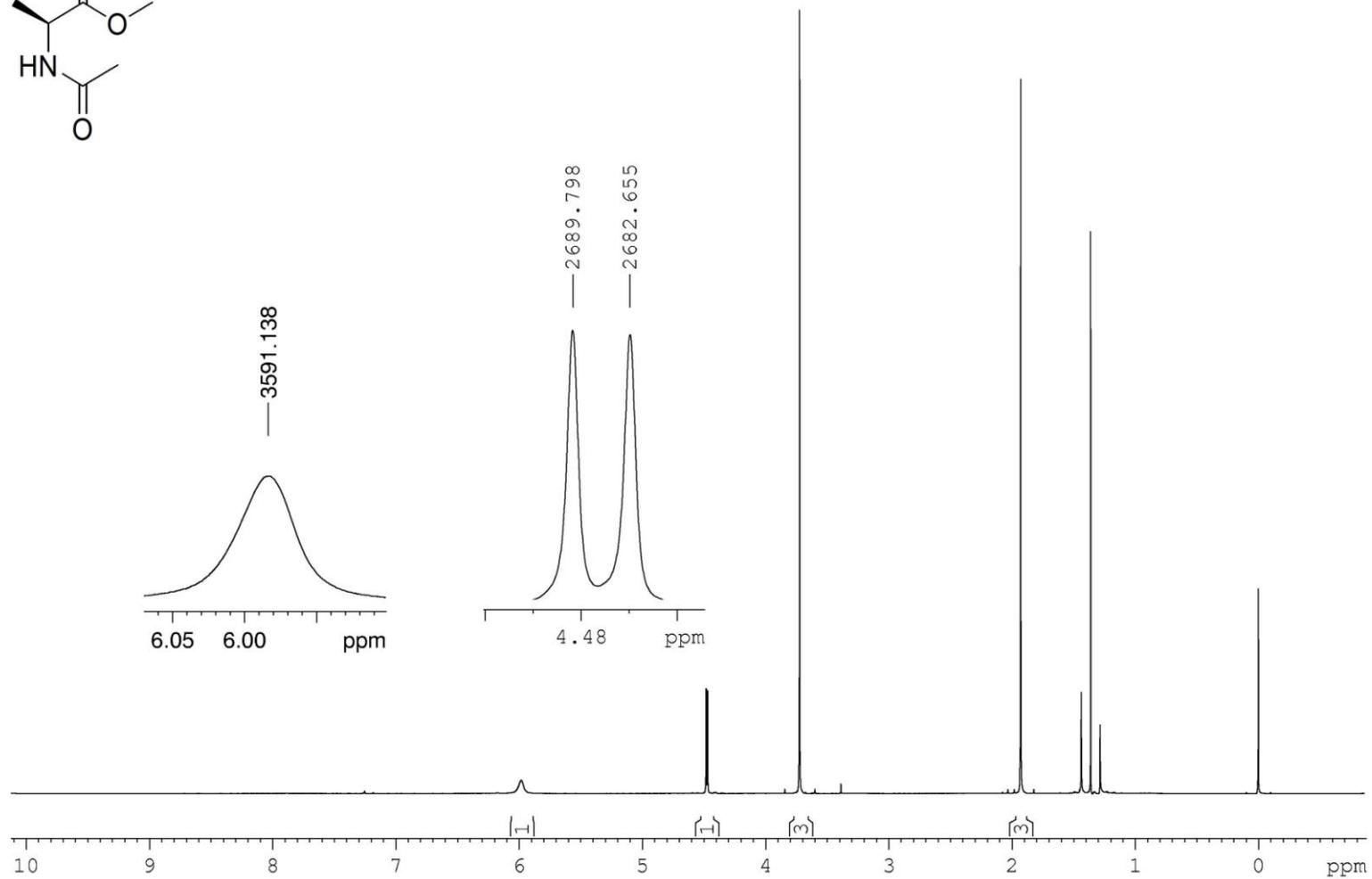
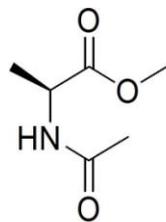


Figura A19: Espectro de RMN de ^1H (dupla irradiação no sinal da metila em 1,35 ppm) para o éster metílico da *N*-acetil-L-alanina dissolvido em $\text{CCl}_4:\text{C}_6\text{D}_6$ (9:1)

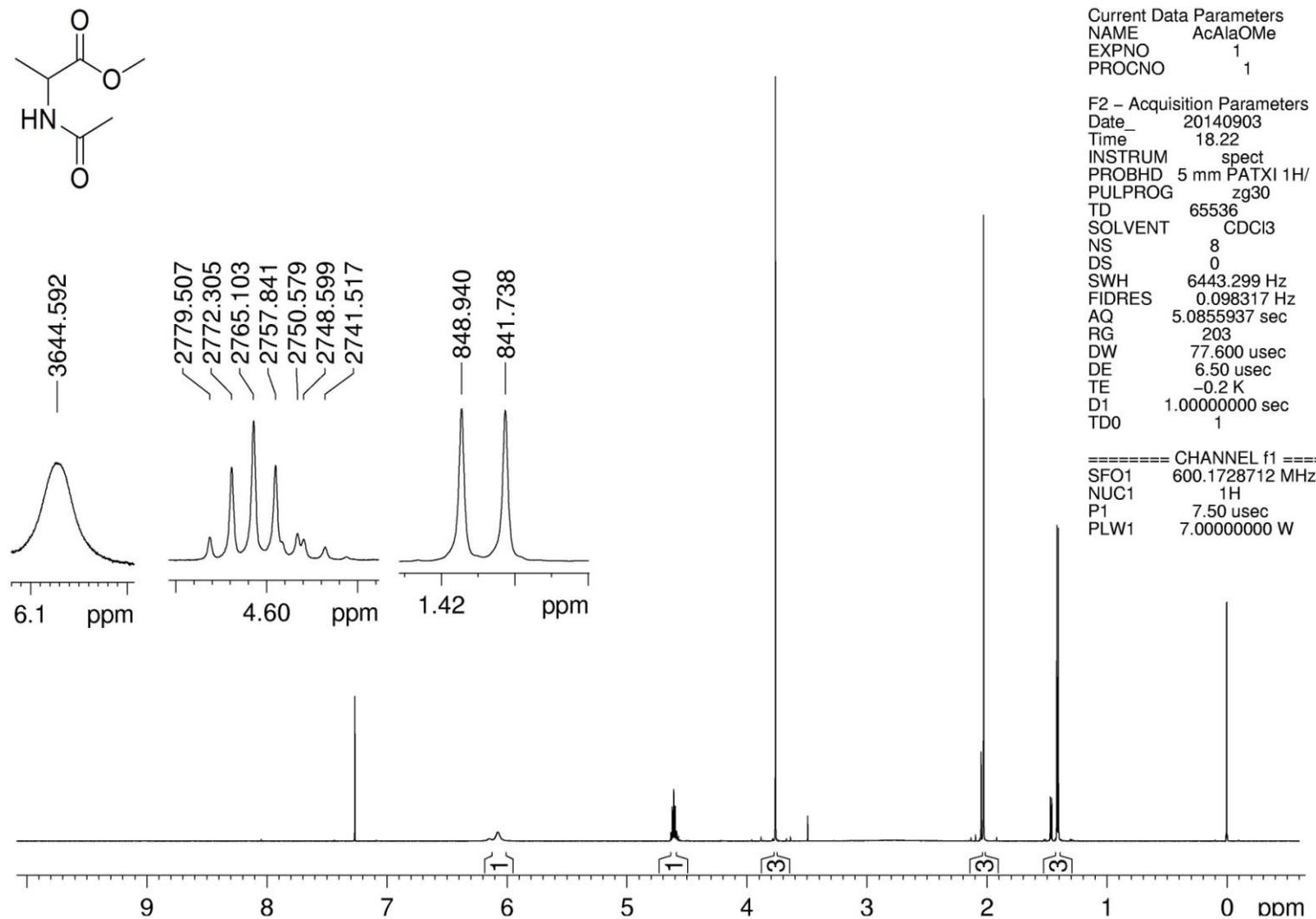
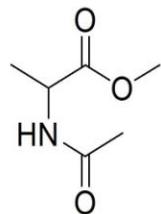


Figura A20: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da *N*-acetil-*L*-alanina dissolvido em CDCl_3

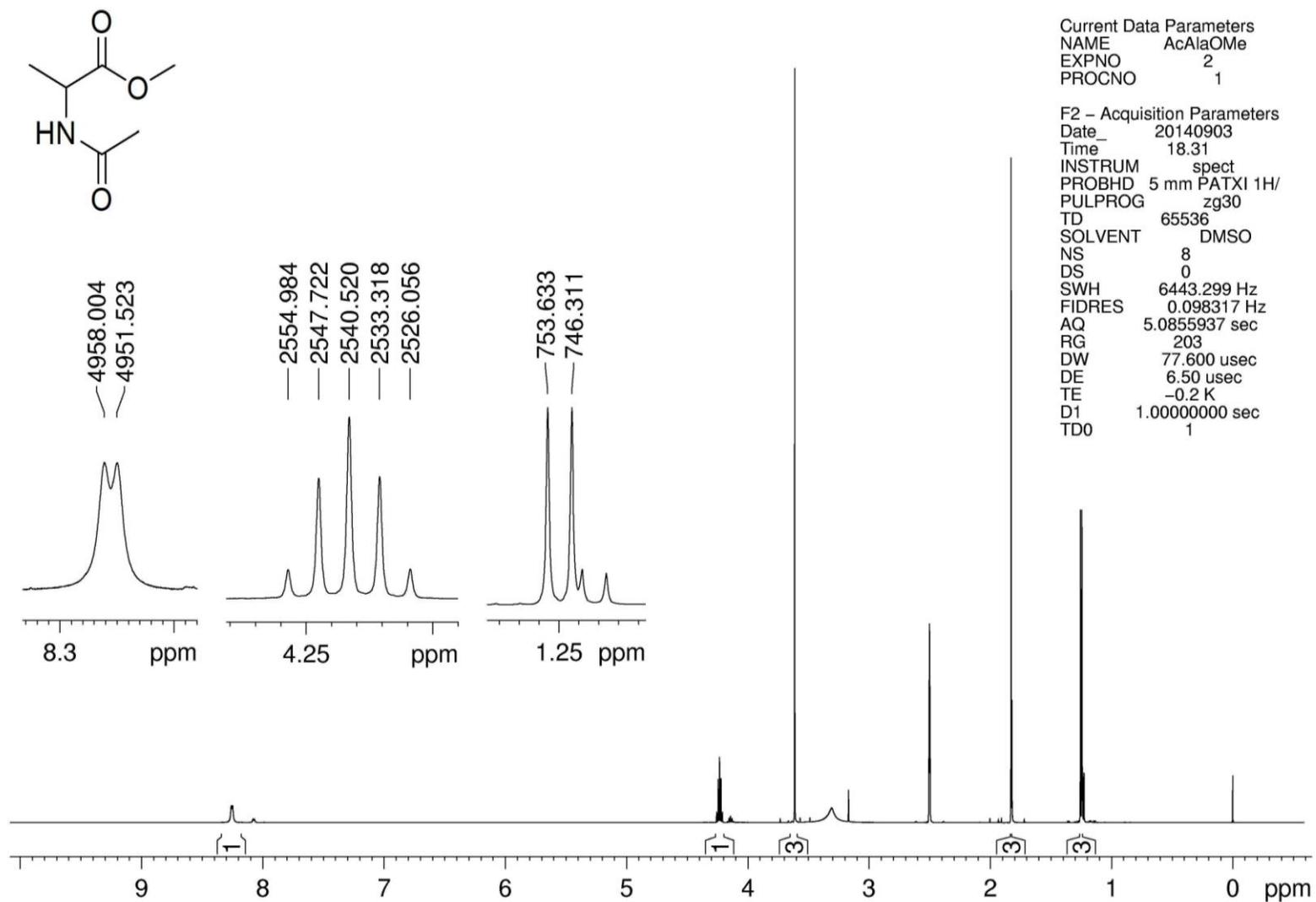


Figura A21: Espectro de RMN de ^1H para o éster metílico da *N*-acetil-*L*-alanina dissolvido em $\text{DMSO-}d_6$

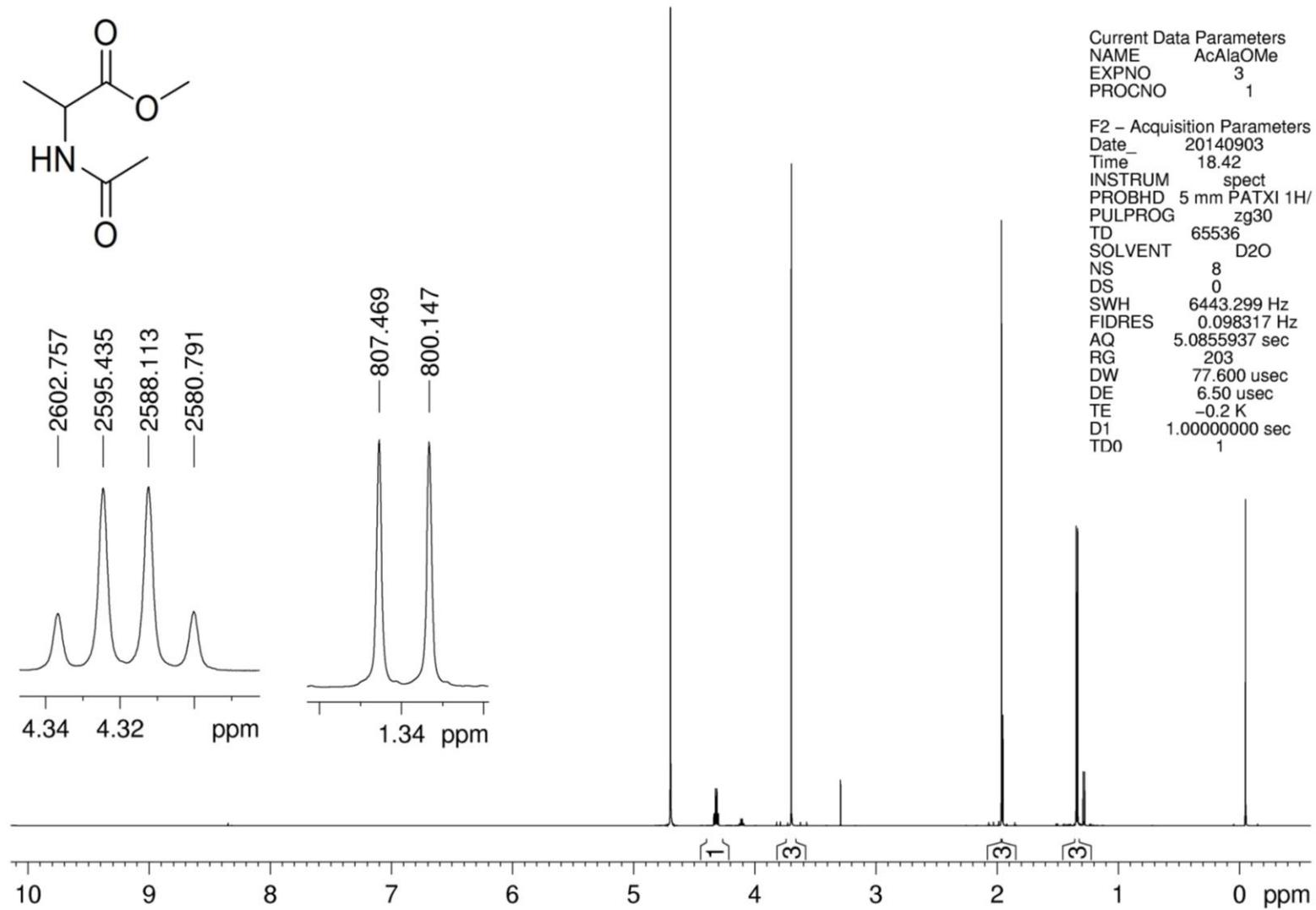
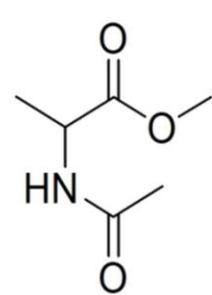


Figura A22: Espectro de RMN de ¹H para o éster metílico da *N*-acetil-*L*-alanina dissolvido em D₂O.

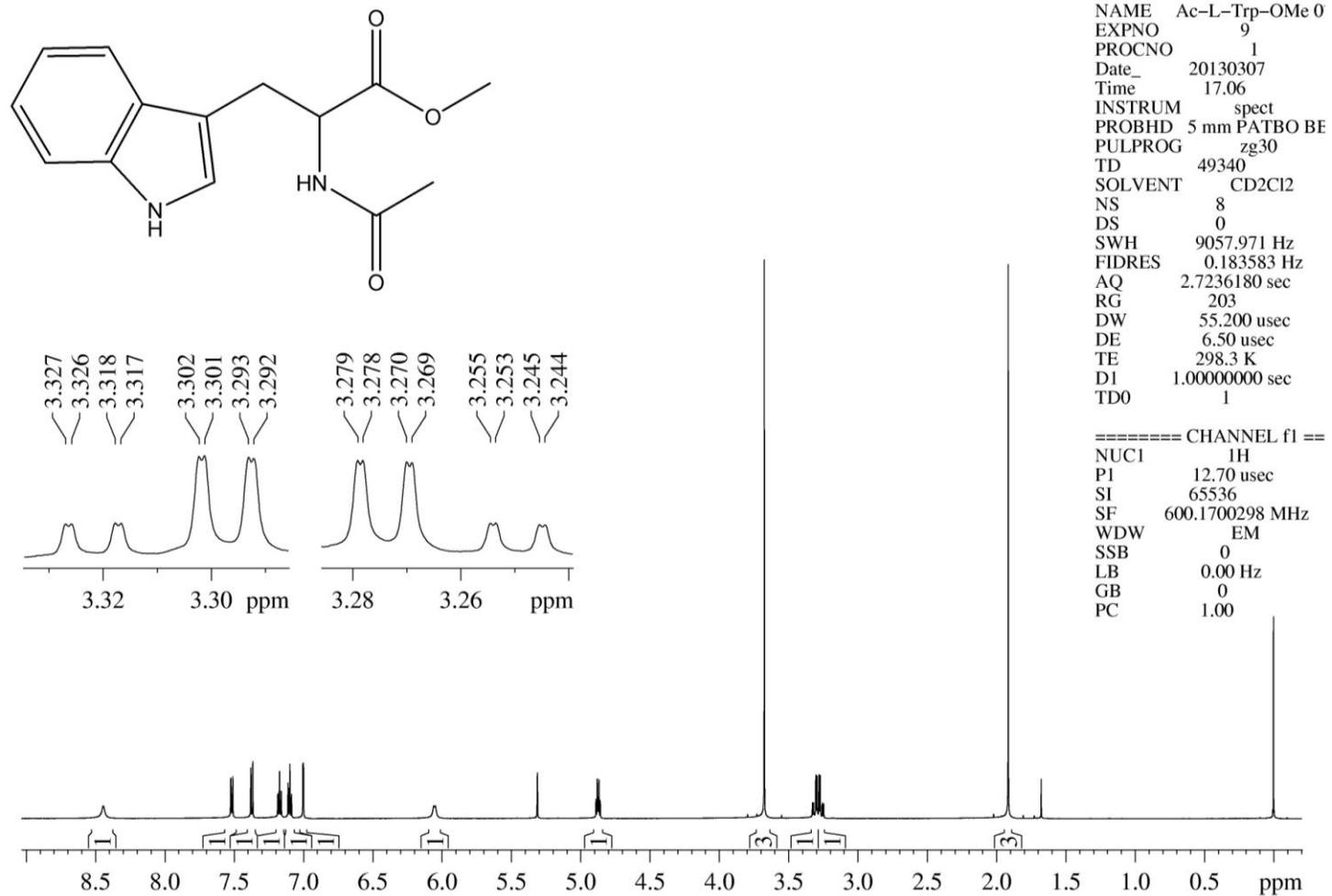


Figura A23: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano dissolvido em CD_2Cl_2 .

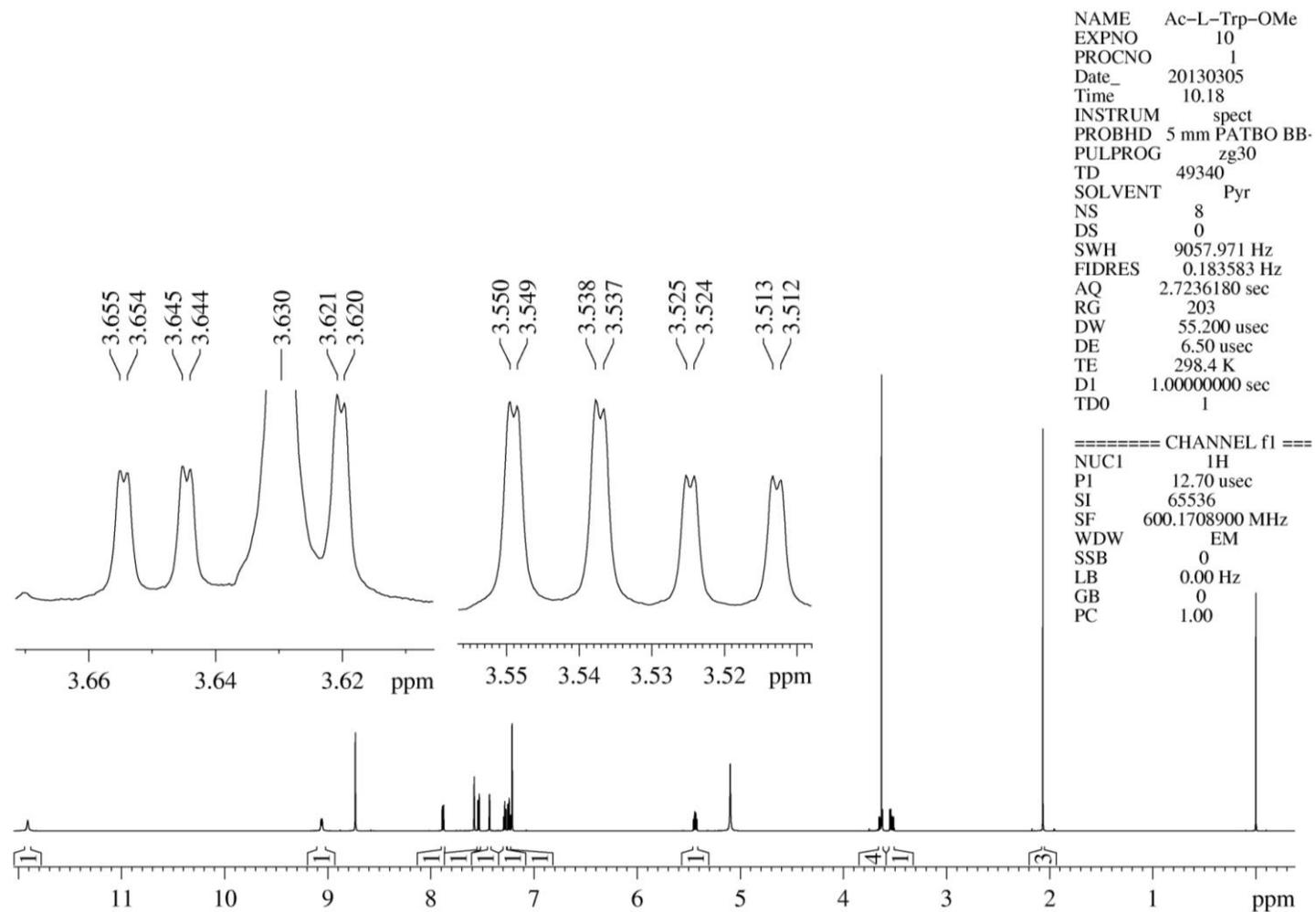


Figura A24: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano dissolvido em piridina- d_5 .

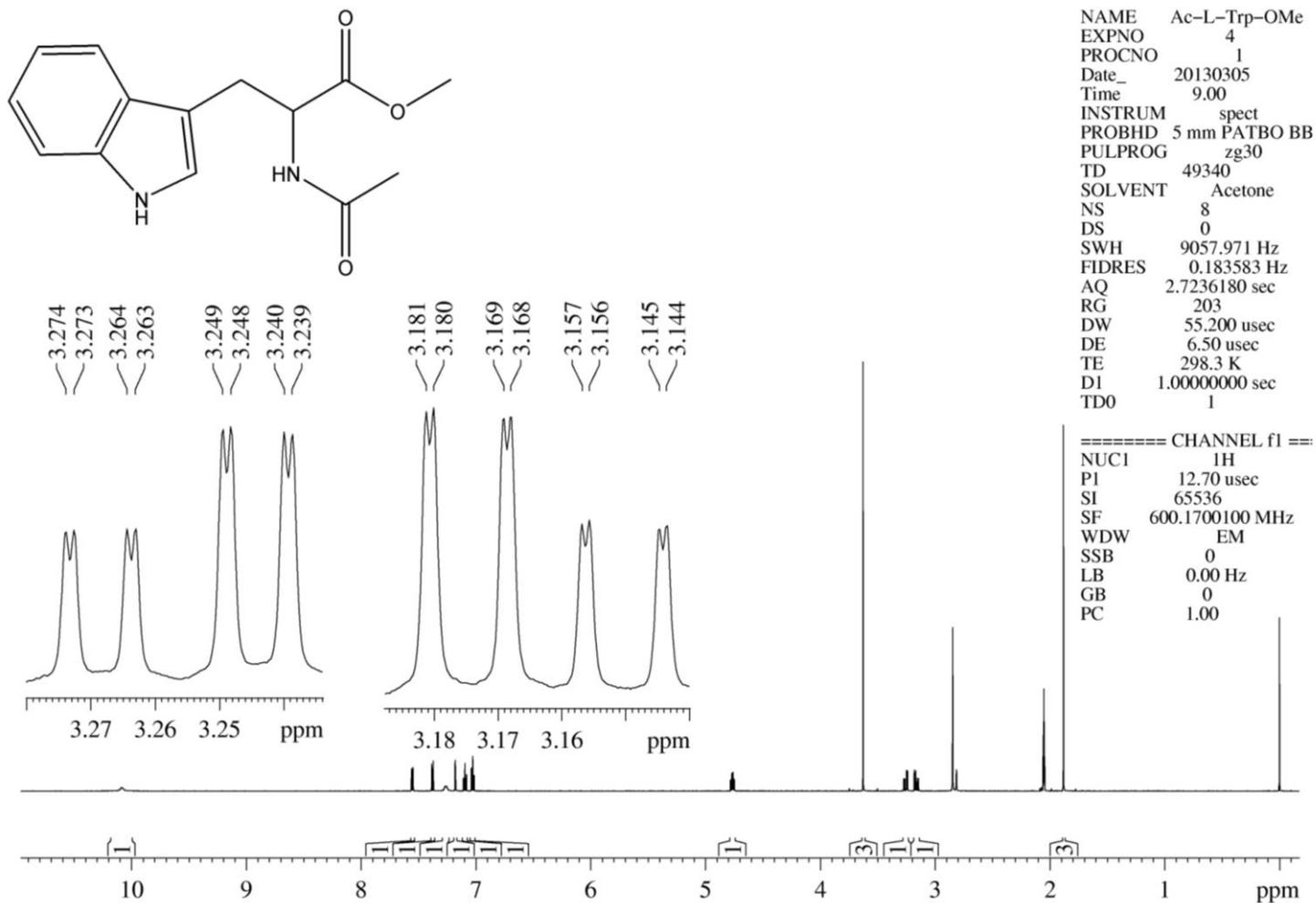


Figura A25: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano dissolvido em acetona- d_6 .

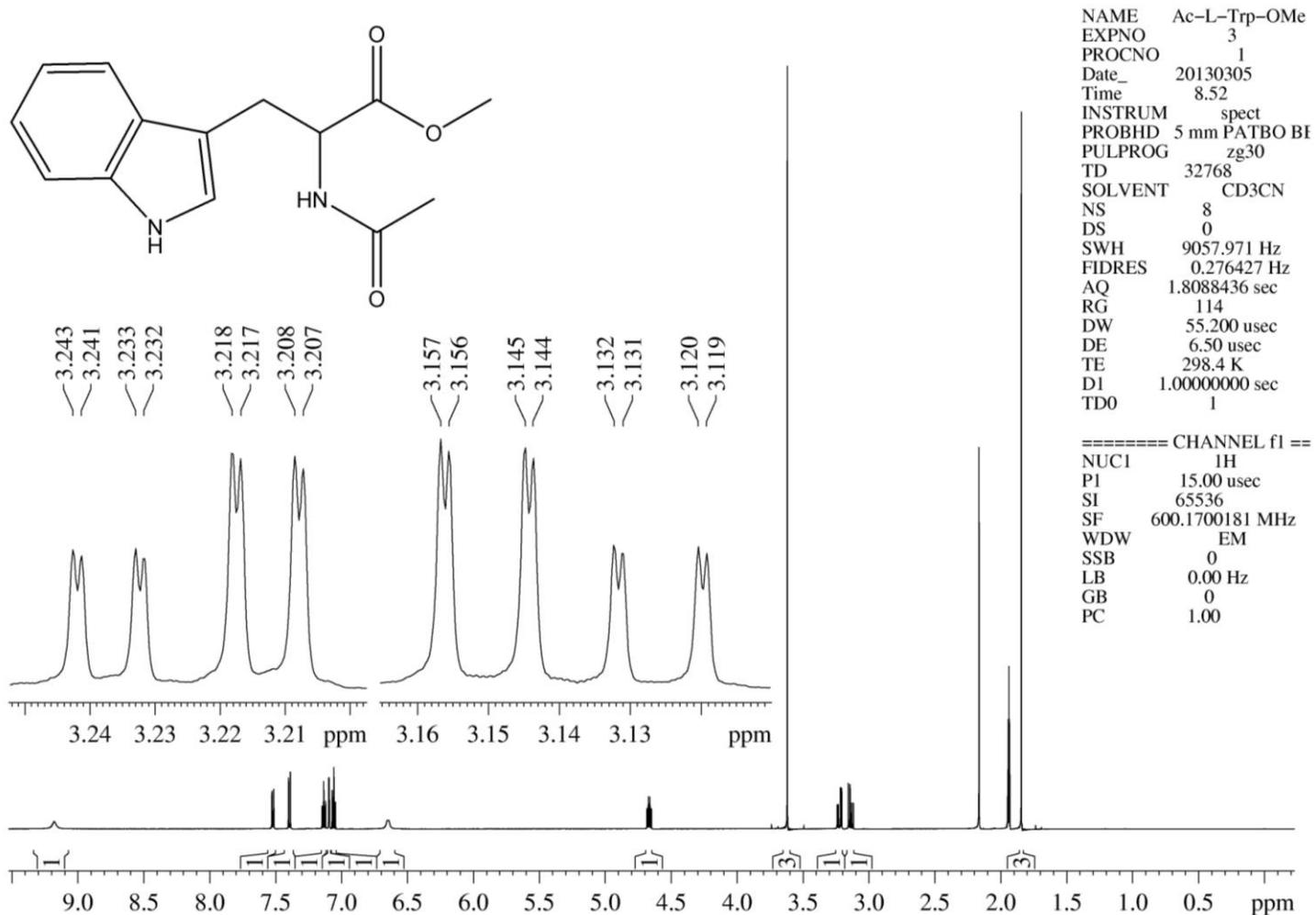


Figura A26: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano dissolvido em CD_3CN .

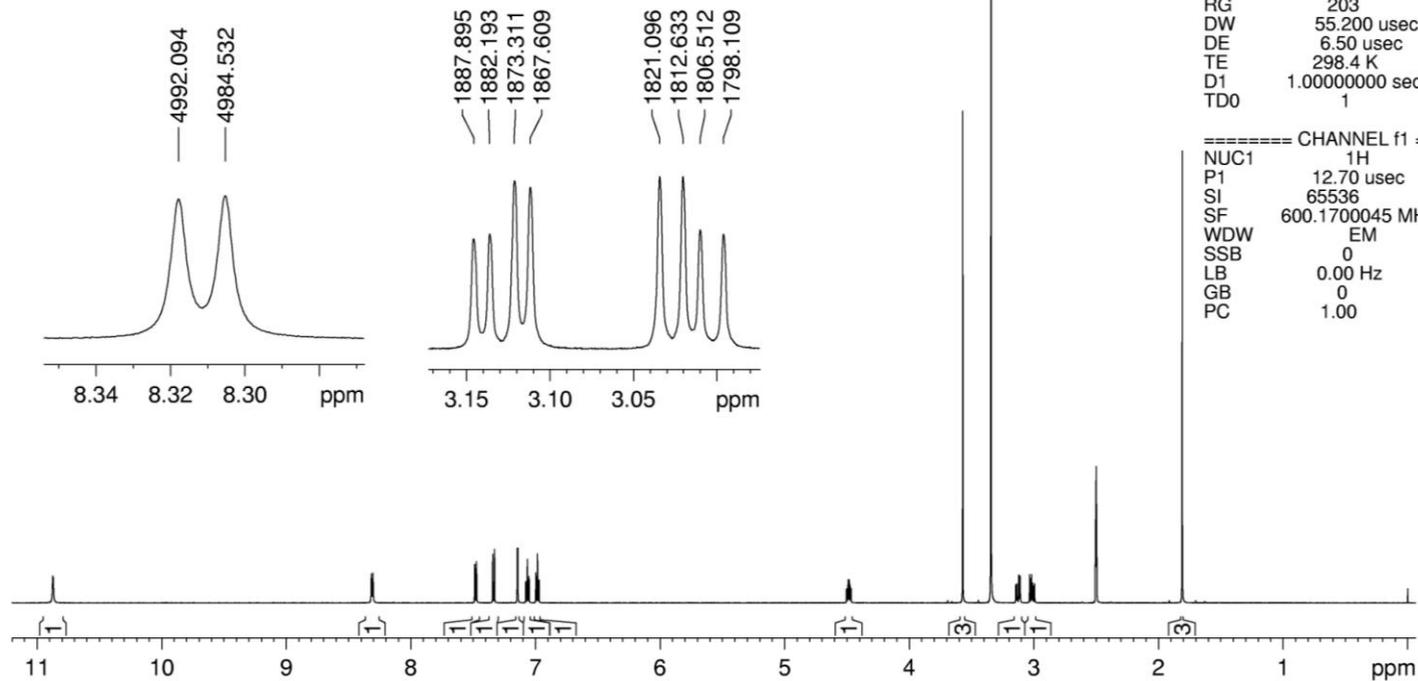
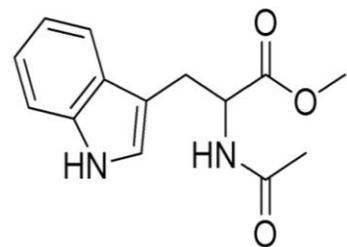


Figura A27: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano dissolvido em $\text{DMSO-}d_6$.

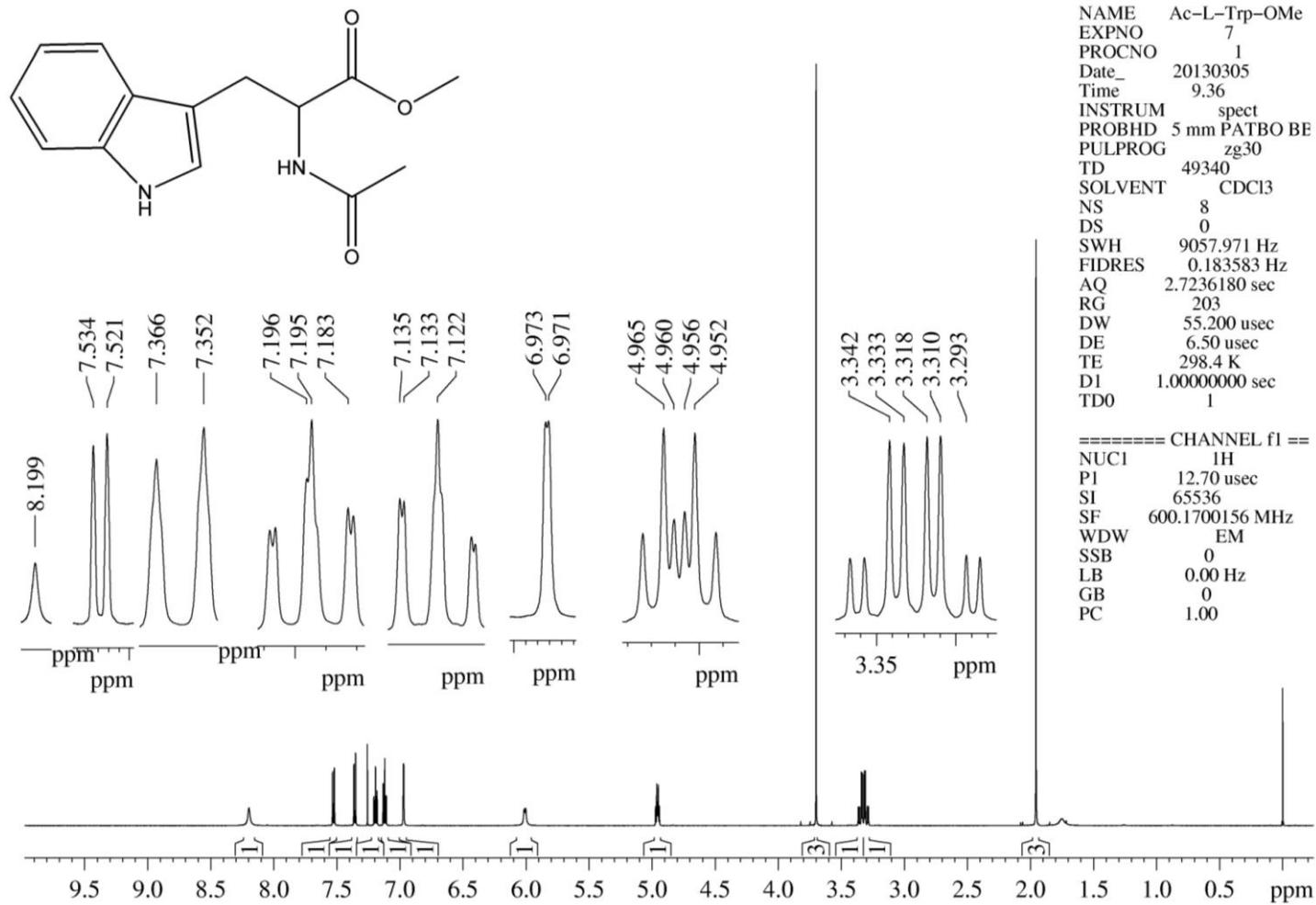


Figura A28: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico do *N*-acetil-L-tryptofano dissolvido em CD_2Cl_2 .

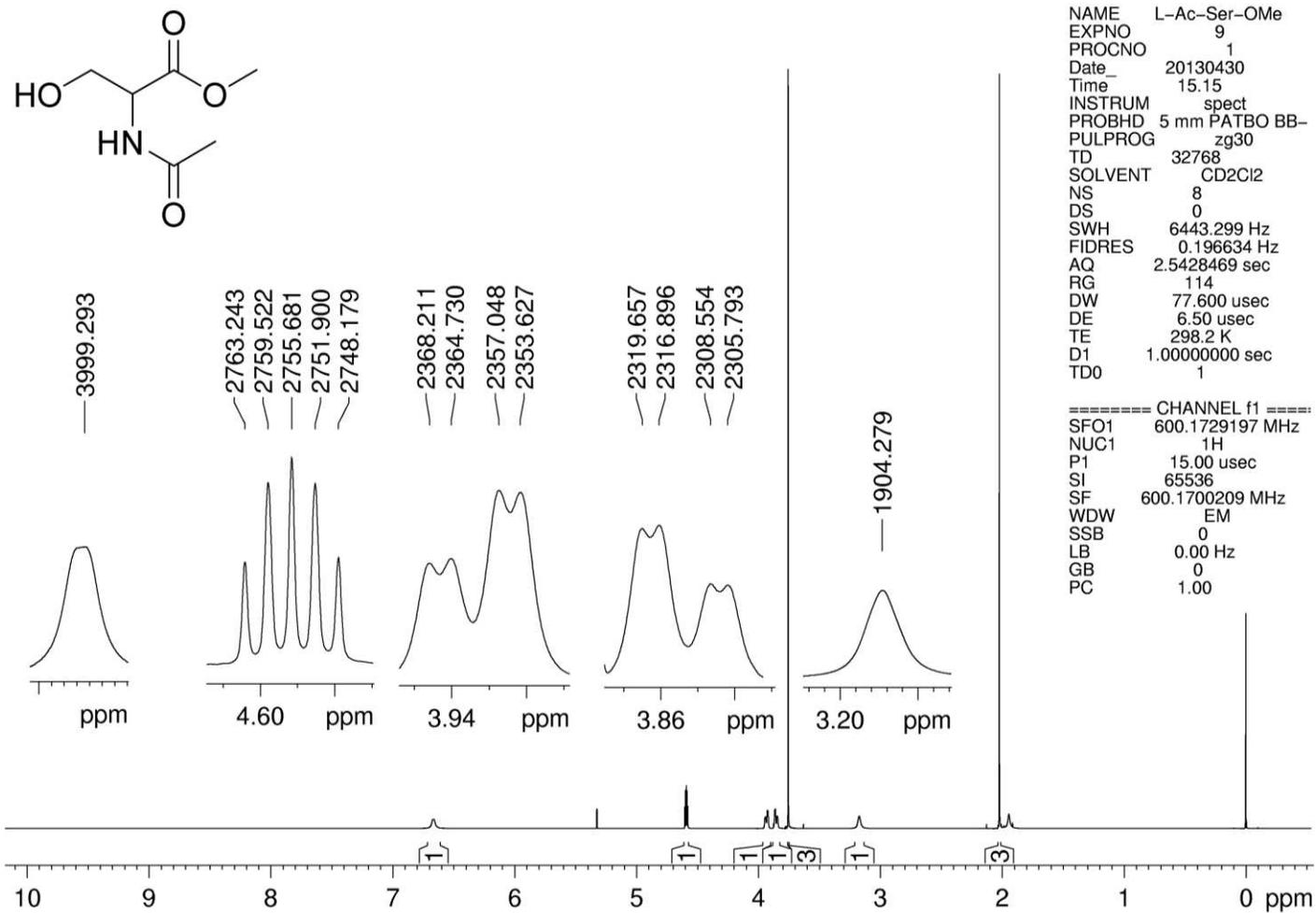


Figura A29: Espectro de RMN de ¹H do éster metílico da *N*-acetil-*L*-serina dissolvido em CH₂Cl₂.

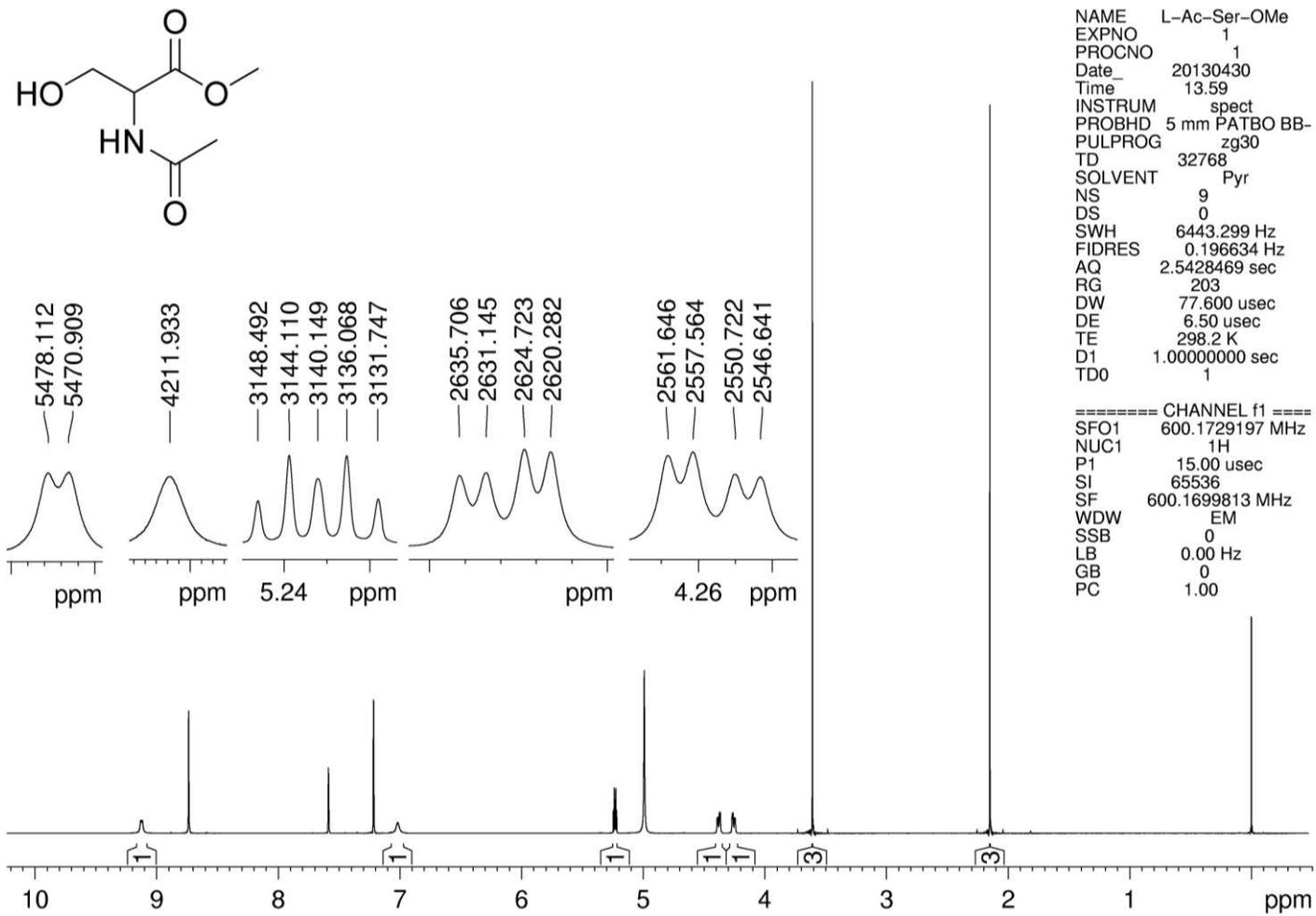


Figura A30: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico da *N*-acetil-L-serina dissolvido em piridina- d_5 .

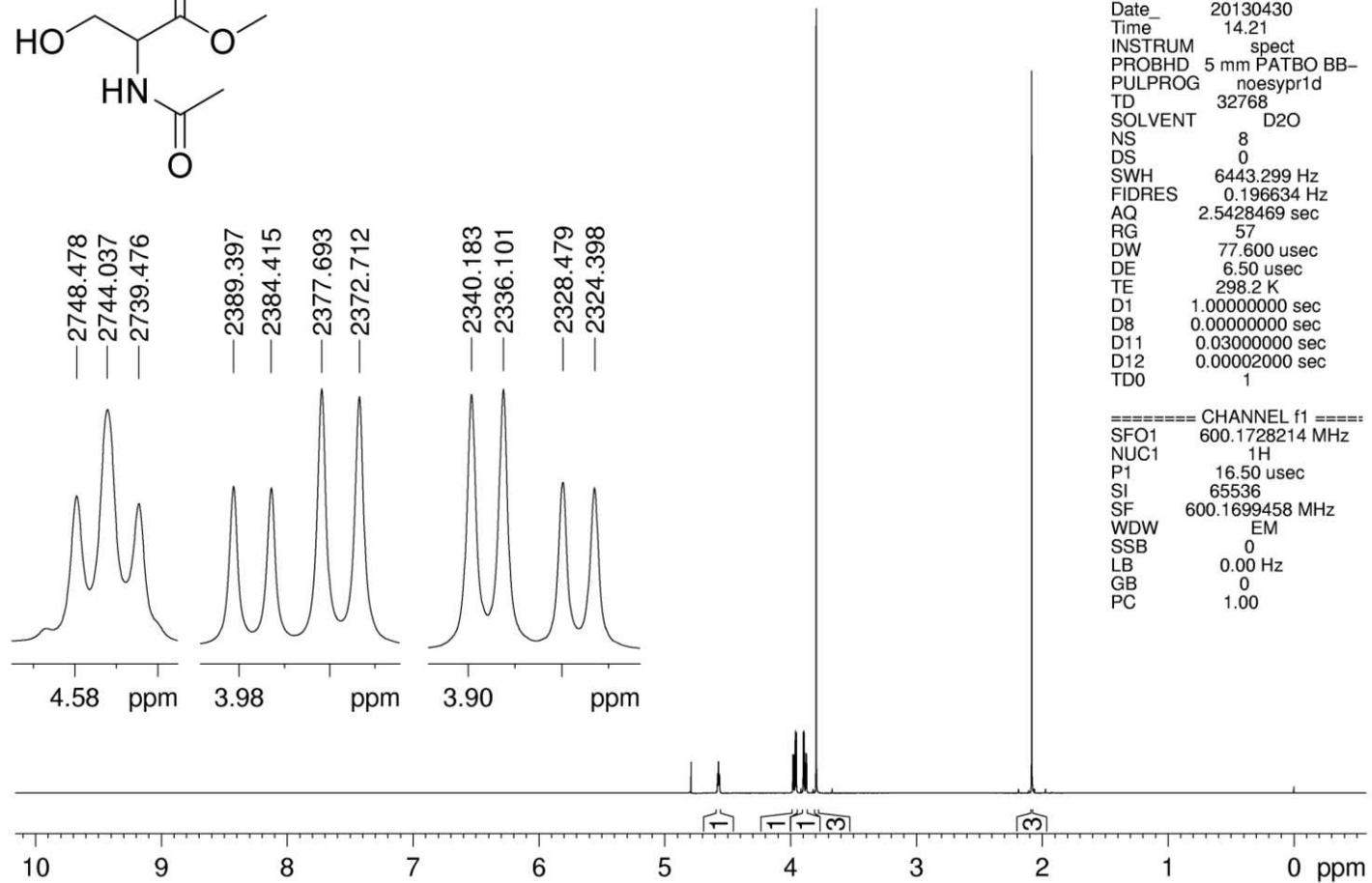
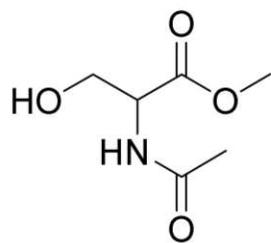


Figura A32: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico da *N*-acetil-L-serina dissolvido em D_2O .

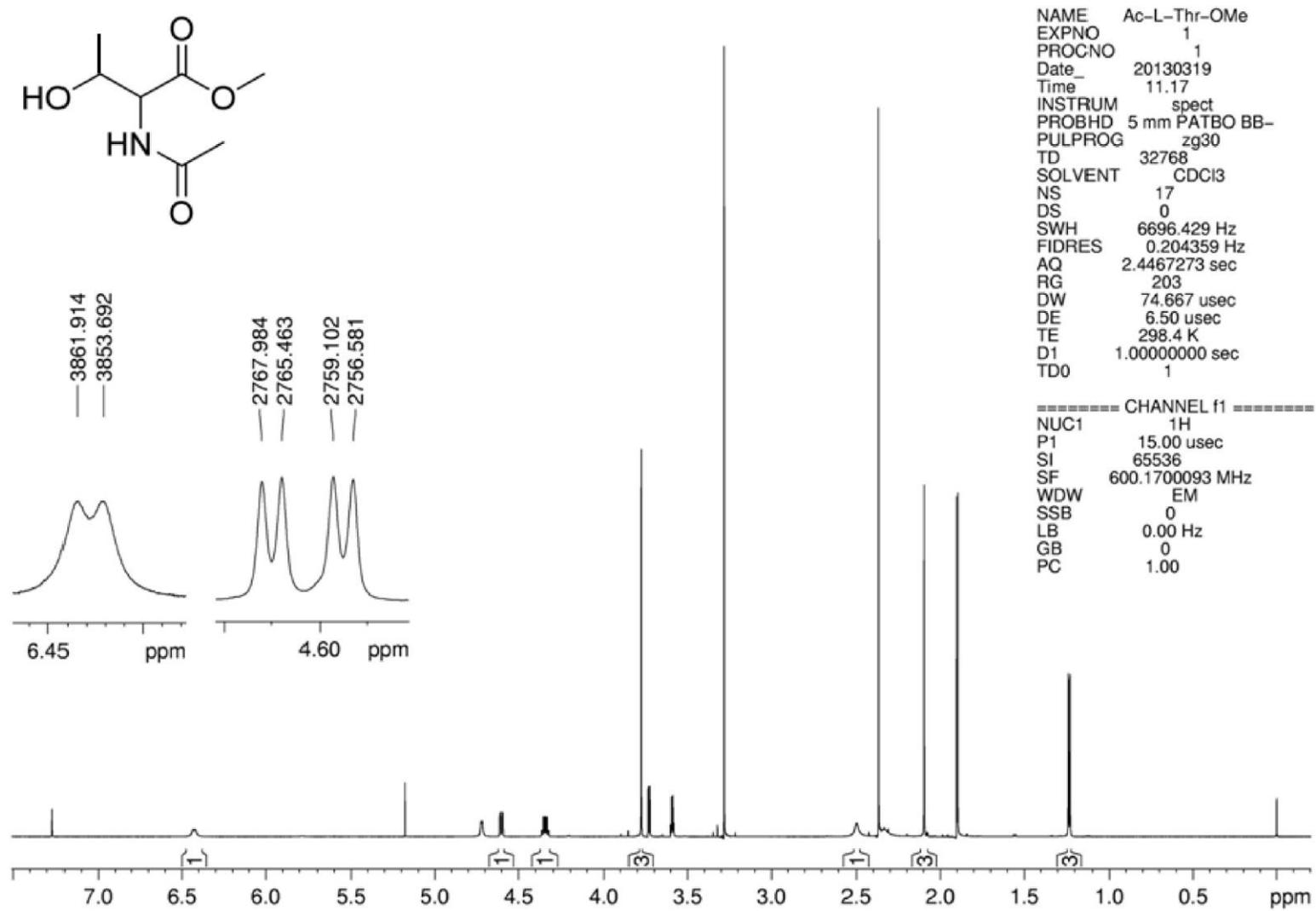
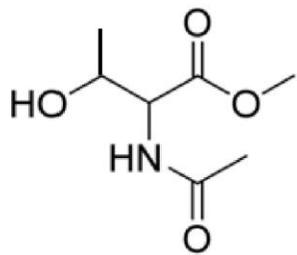


Figura A33: Espectro de RMN de ¹H do éster metílico da *N*-acetil-L-treonina dissolvido em CDCl₃.

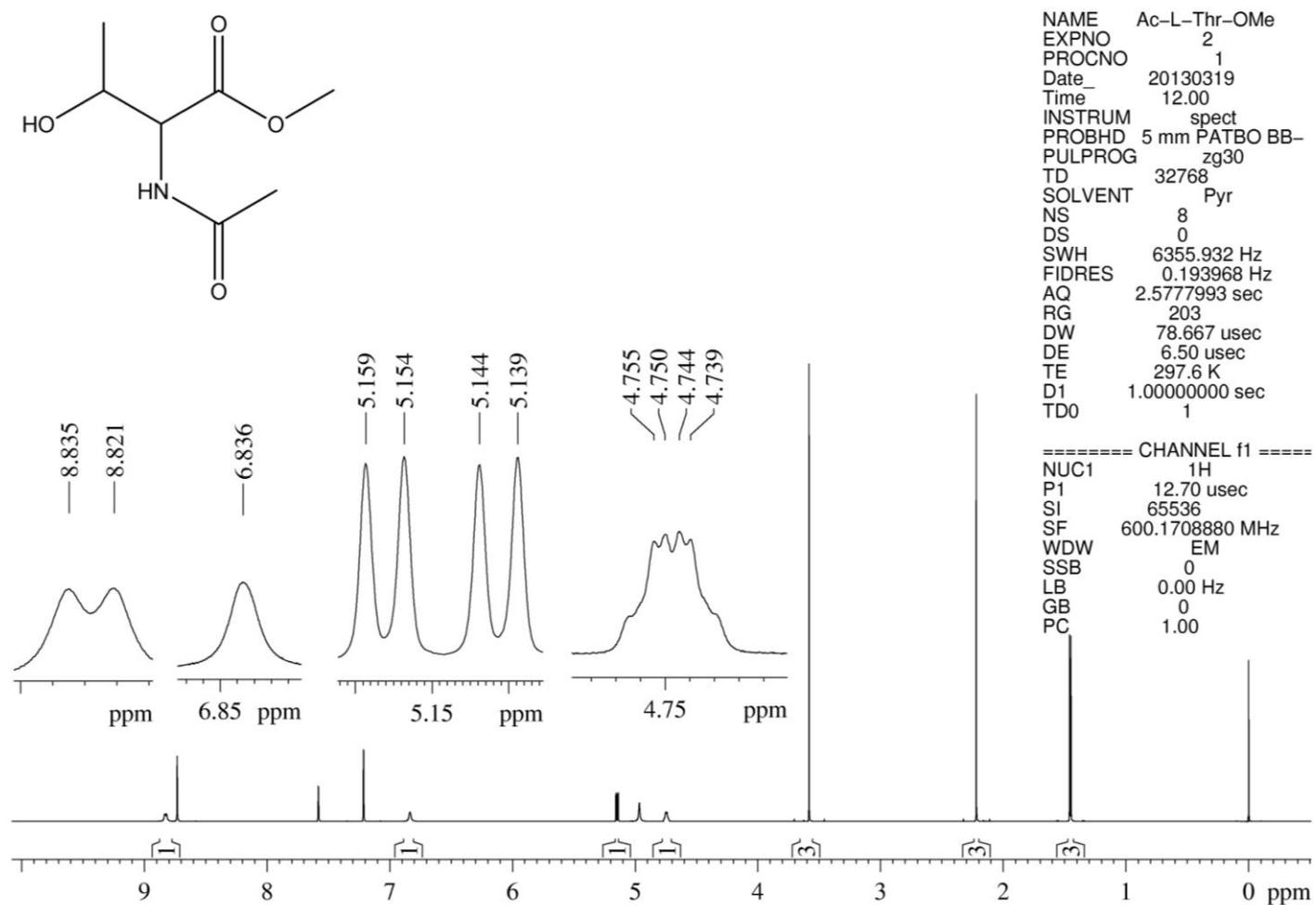
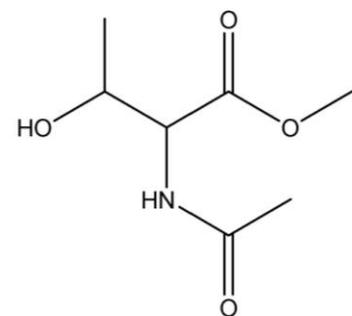


Figura 34: Espectro de RMN de ¹H do éster metílico da *N*-acetil-L-treonina dissolvido em piridina-*d*₅.

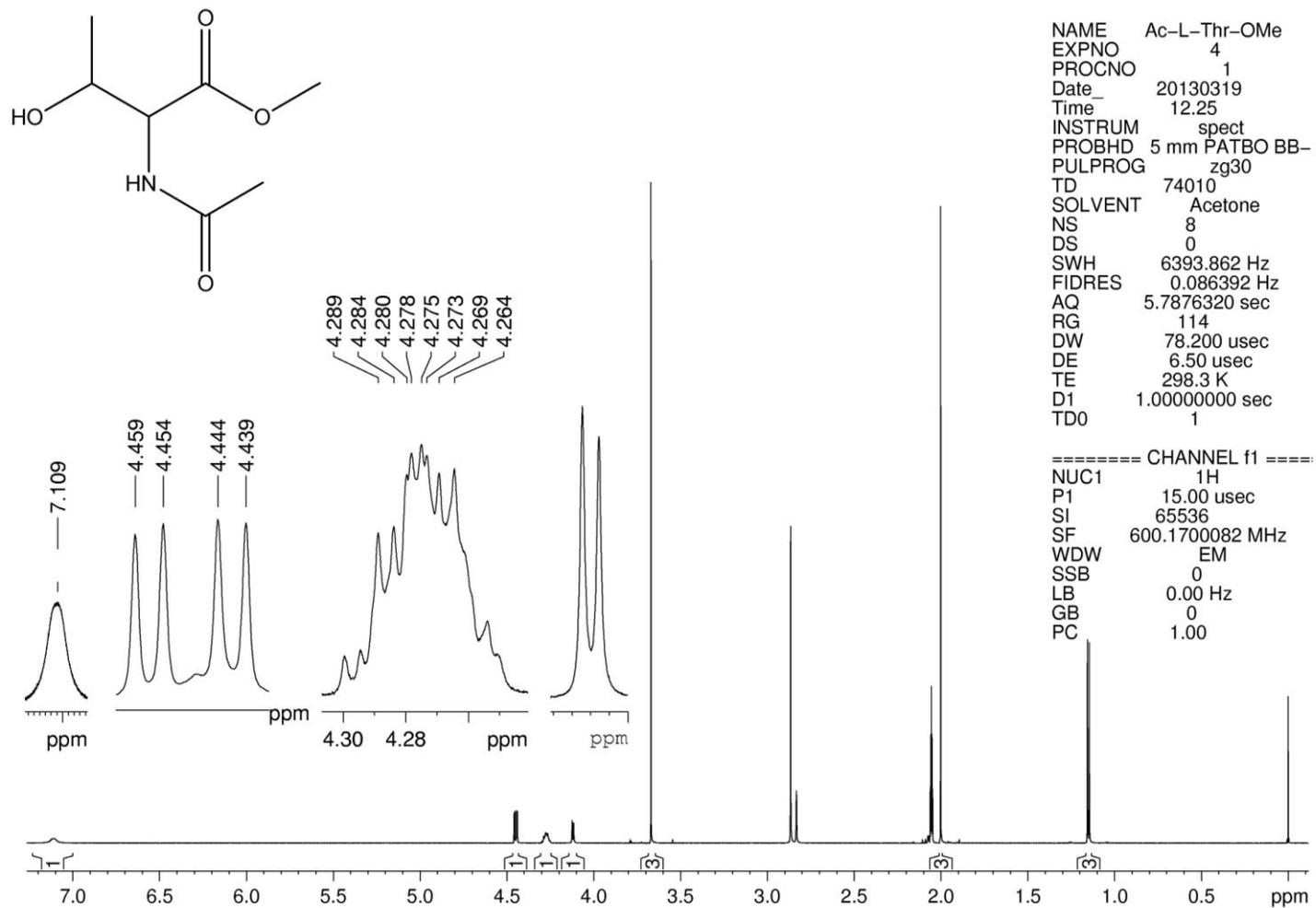
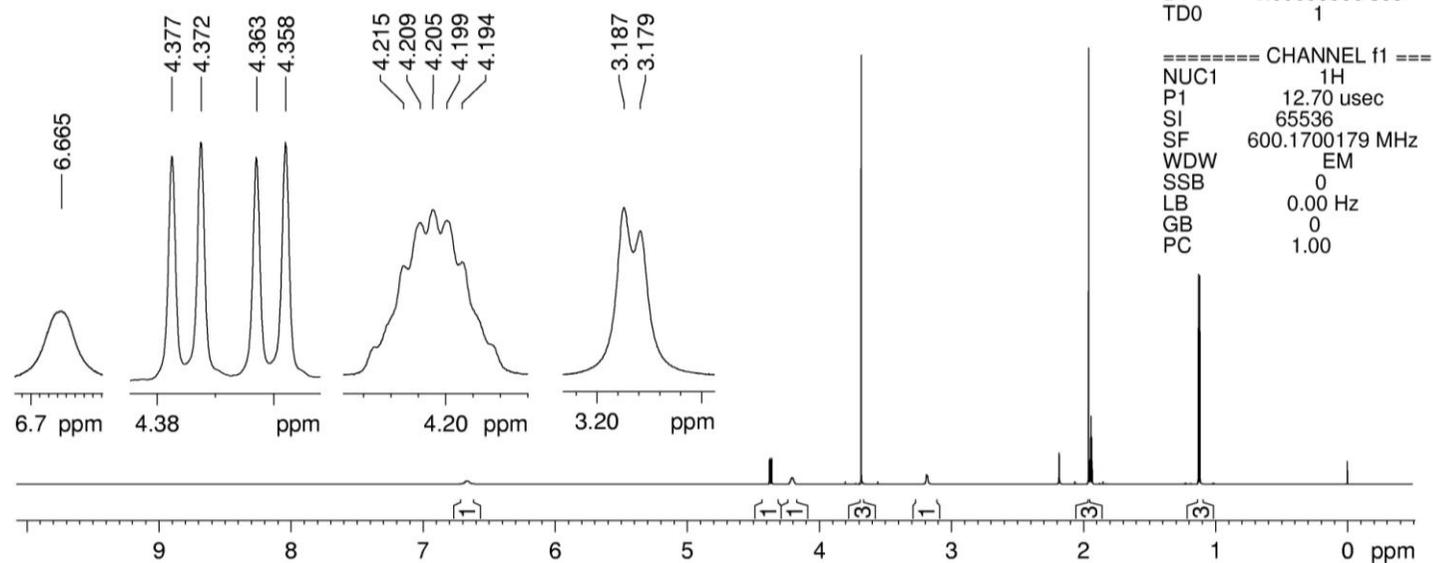
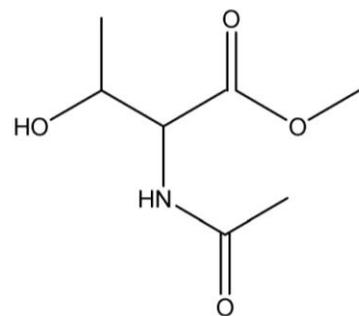


Figura A35: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico da *N*-acetil-L-treonina dissolvido em acetona- d_6 .



NAME Ac-L-Thr-OMe
 EXPNO 3
 PROCNO 1
 Date_ 20130319
 Time 12.12
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm PATBO BB
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT CD3CN
 NS 8
 DS 0
 SWH 6355.932 Hz
 FIDRES 0.193968 Hz
 AQ 2.5777993 sec
 RG 203
 DW 78.667 usec
 DE 6.50 usec
 TE 298.3 K
 D1 1.00000000 sec
 TD0 1

Figura A36: Espectro de RMN de ¹H do éster metílico da *N*-acetil-*L*-treonina dissolvido em CD₃CN.

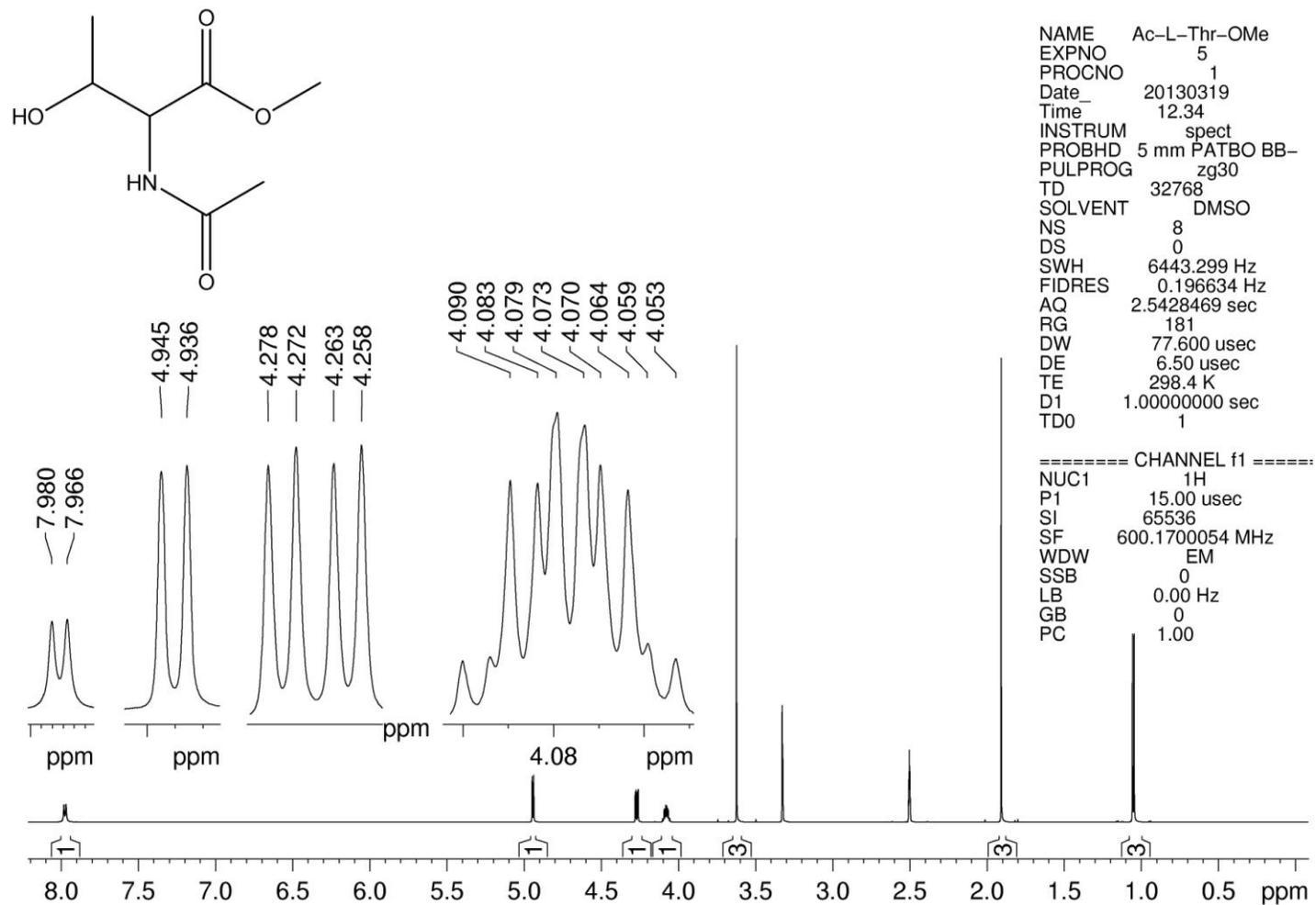


Figura A37: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico da *N*-acetil-L-treonina dissolvido em $\text{DMSO-}d_6$.

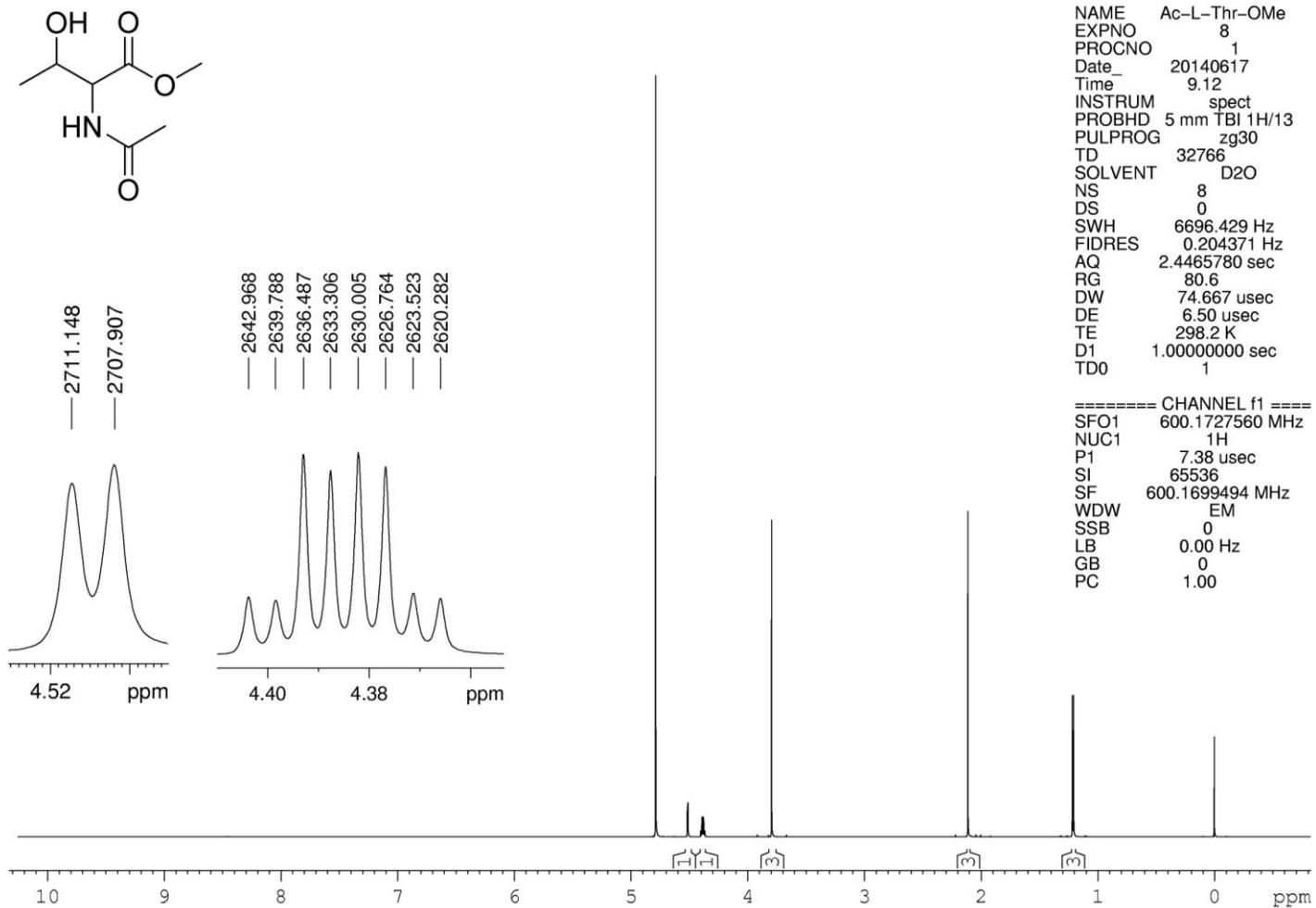
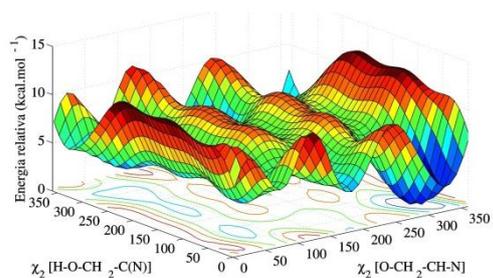
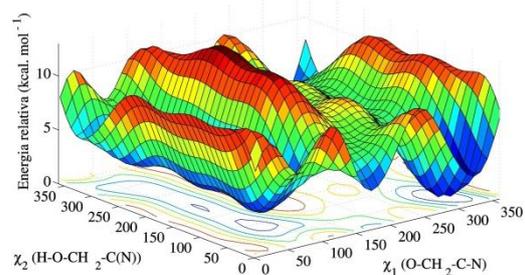


Figura A38: Espectro de RMN de ^1H do éster metílico da *N*-acetil-L-treonina dissolvido em D_2O .

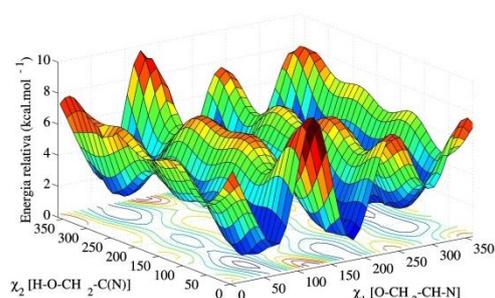
Anexo 2: Superfícies de energia e mapas de contorno.



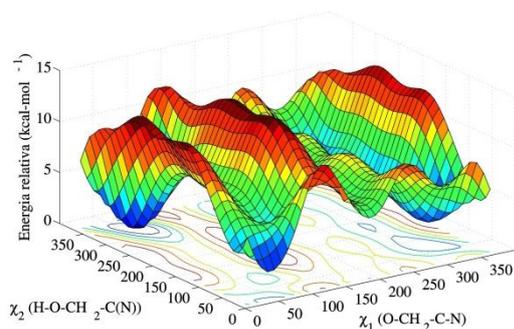
Ser I



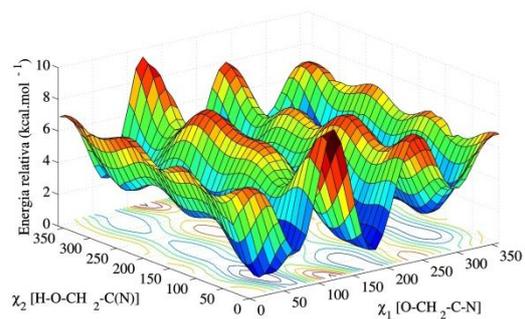
Ser II



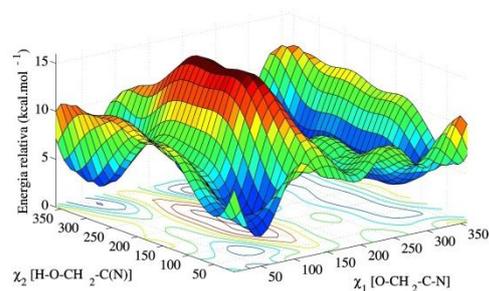
Ser III



Ser IV

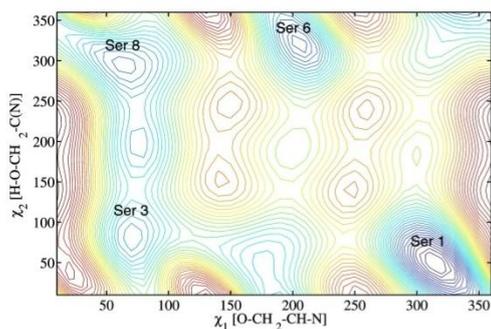


Ser V

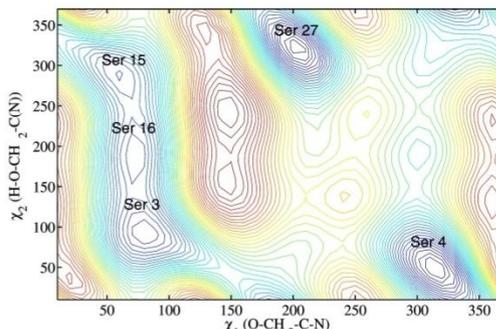


Ser VI

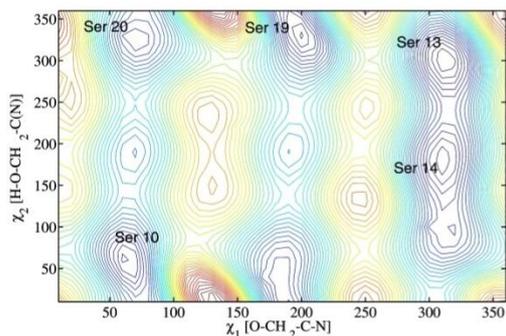
Figura A39: Superfícies de energia 3D para o éster metílico da L-serina a partir da variação dos ângulos diedros χ_1 e χ_2 .



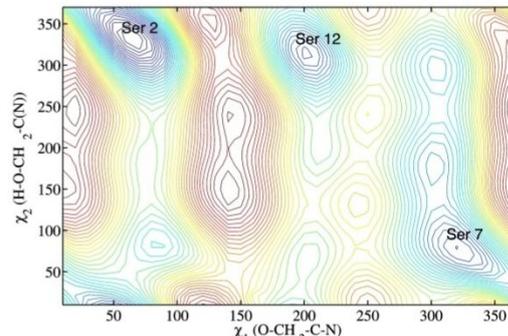
Ser I



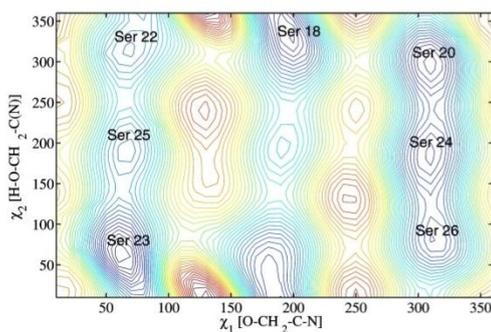
Ser II



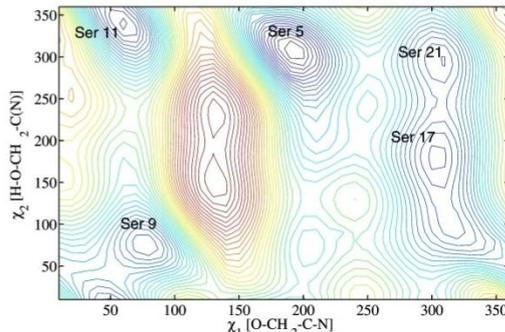
Ser III



Ser IV

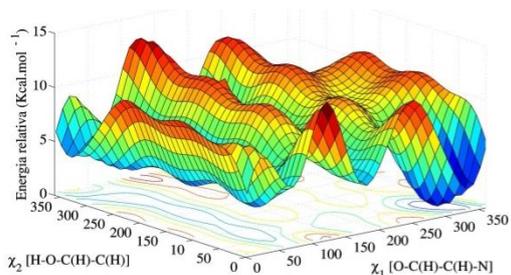


Ser V

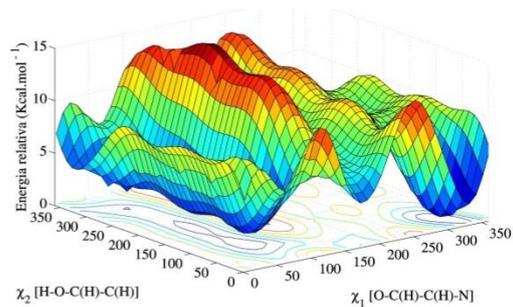


Ser VI

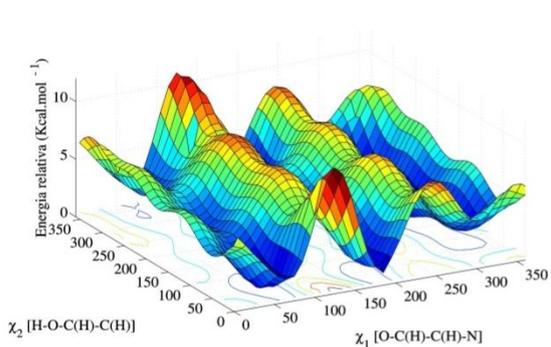
Figura A40: Mapa de contorno das respectivas superfícies de energia 3D para o éster metílico da L-serina a partir da variação dos ângulos diedros χ_1 e χ_2 .



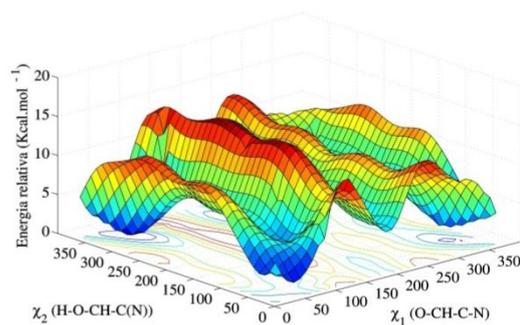
Thr I



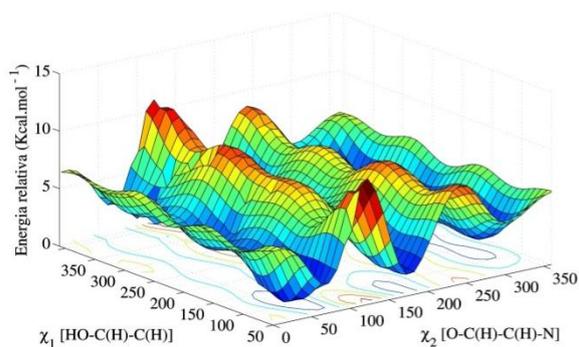
Thr II



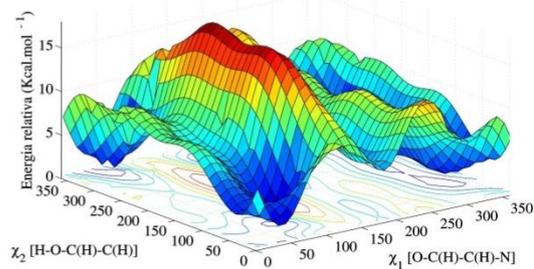
Thr III



Thr IV

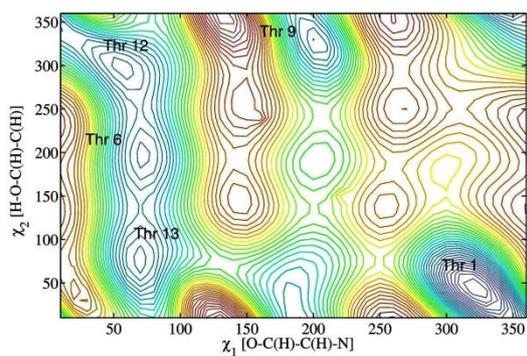


Thr V

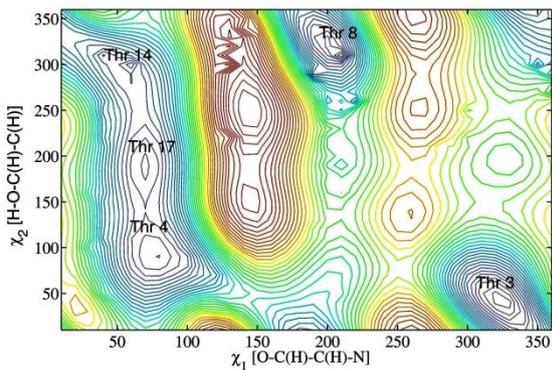


Thr VI

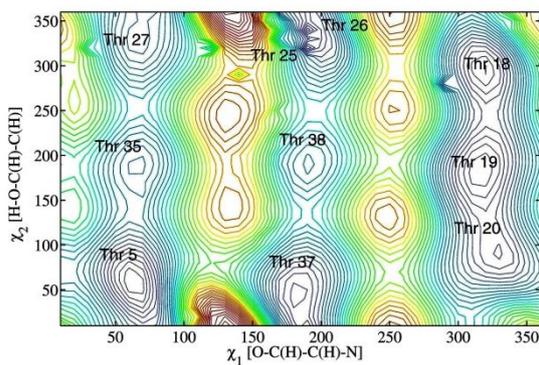
Figura A41: Superfícies de energia 3D para o éster metílico da L-treonina a partir da variação dos ângulos diedros χ_1 e χ_2 .



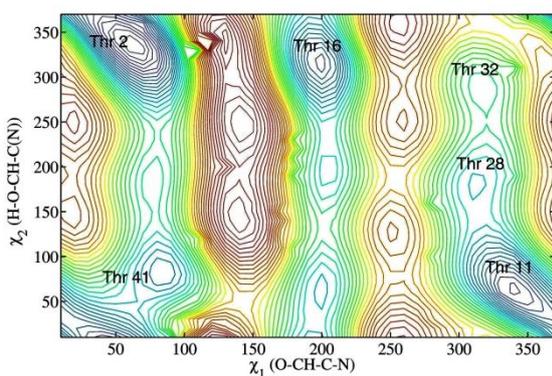
Thr I



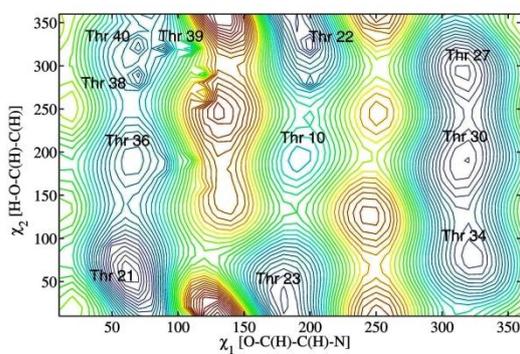
Thr II



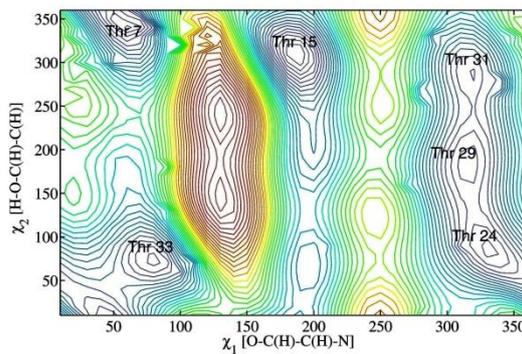
Thr III



Thr IV

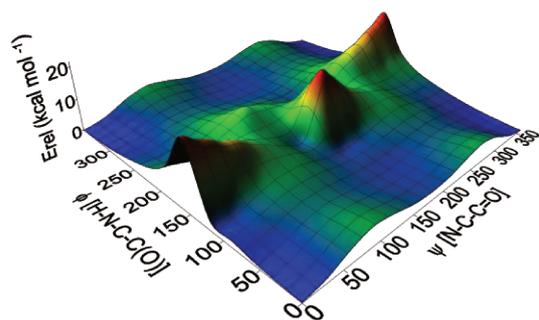


Thr V

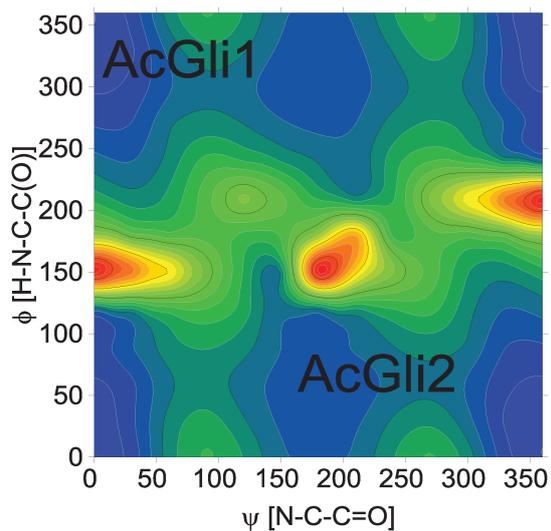


Thr VI

Figura A42: Mapa de contorno das respectivas superfícies de energia 3D para o éster metílico da L-treonina a partir da variação dos ângulos diedros χ_1 e χ_2 .

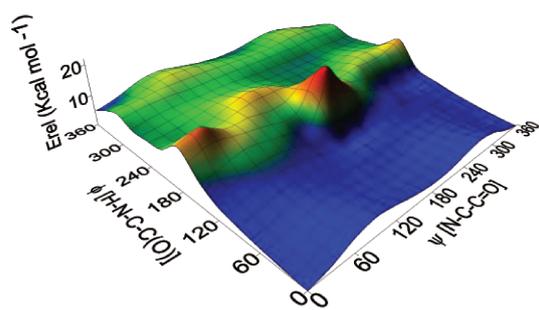


a)

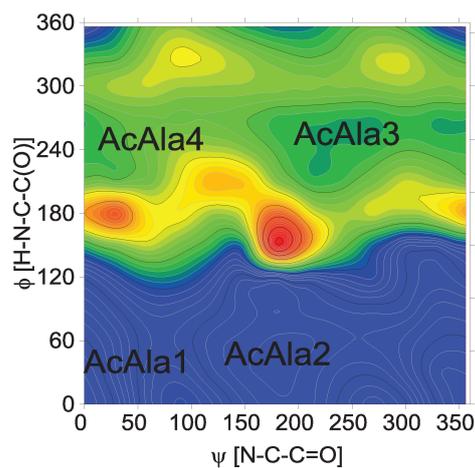


b)

Figura A43: a) Superfície de energia e b) mapa de contorno para o éster metílico da *N*-acetil-glicina, obtidos a partir da variação dos ângulos diedros ψ e ϕ .



a)



b)

Figura A44: a) Superfície de energia e b) mapa de contorno para o éster metílico da *N*-acetil-L-alanina, obtidos a partir da variação dos ângulos diedros ψ e ϕ .

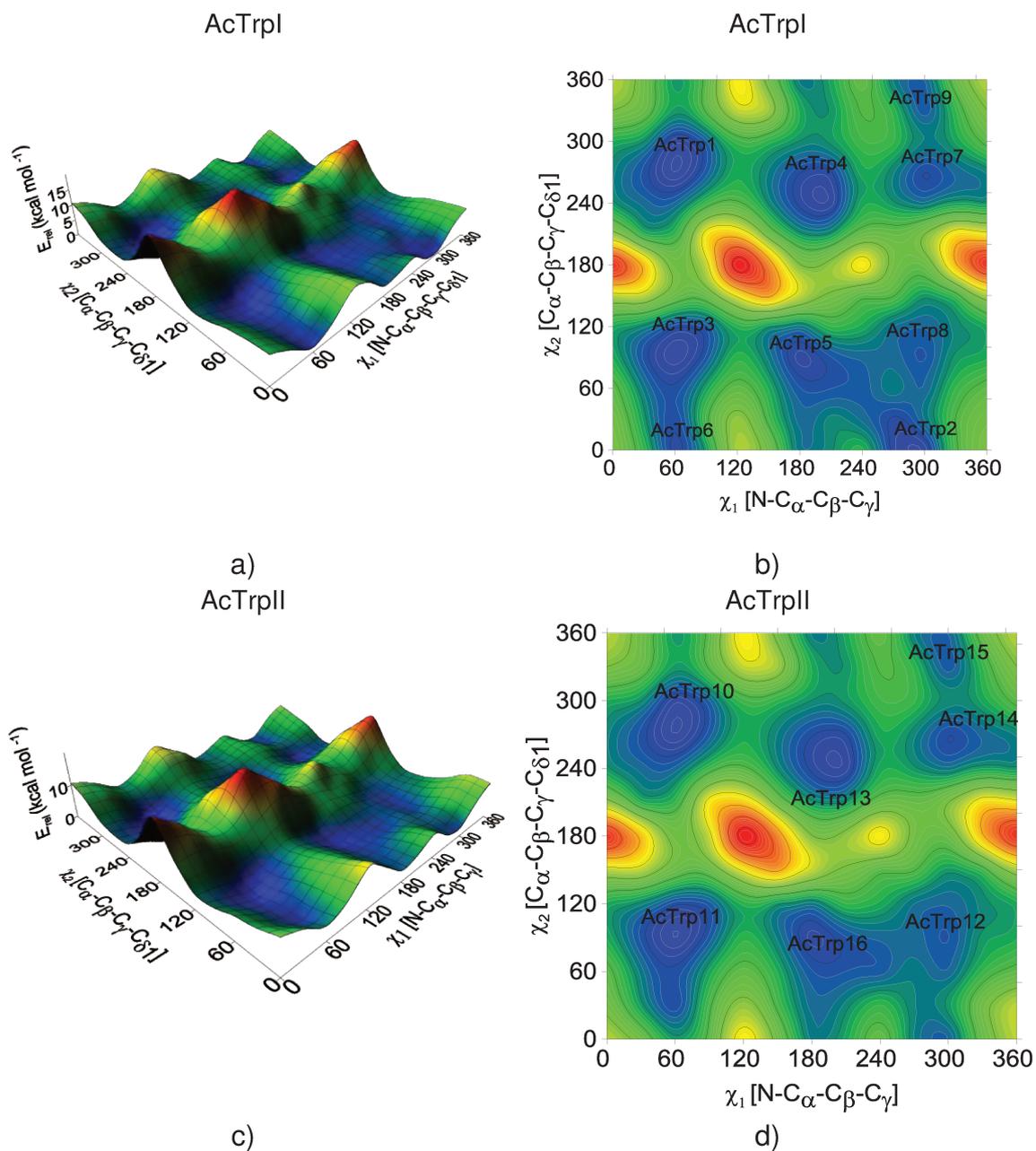
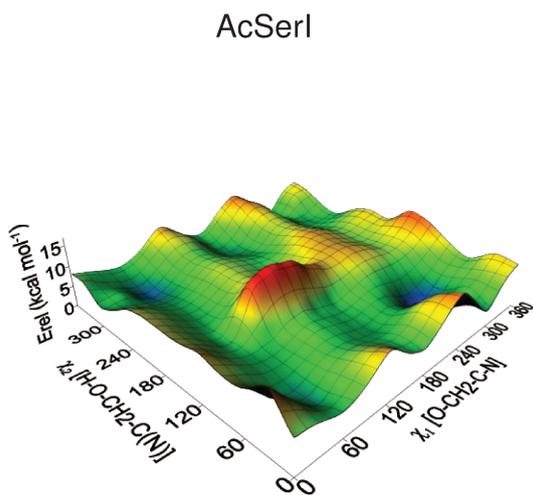
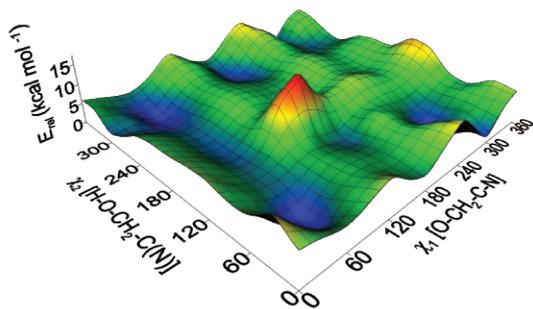


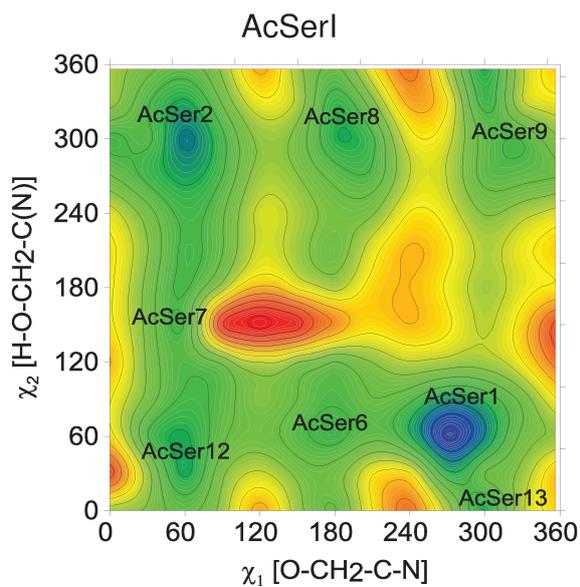
Figura A45: Superfícies de energia (a e c) e mapas de contorno (b e d) para o éster metálico do *N*-acetil-L-triptofano, obtidos a partir da variação dos ângulos diedros χ_1 e χ_2 .



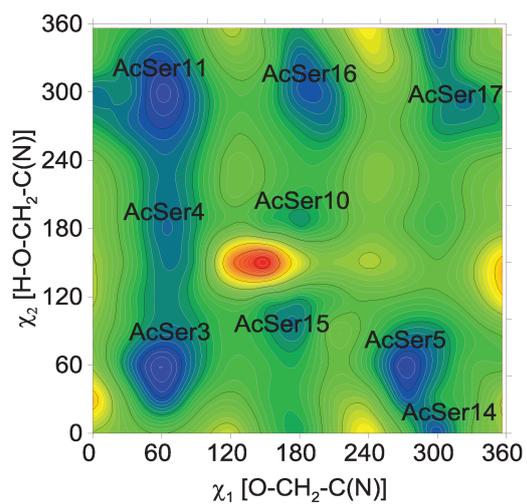
a)
AcSerII



c)



b)
AcSerII



d)

Figura A46: Superfícies de energia (a e c) e mapas de contorno (b e d) para o éster metílico da *N*-acetil-*L*-serina, obtidos a partir da variação dos ângulos diedros χ_1 e χ_2 .

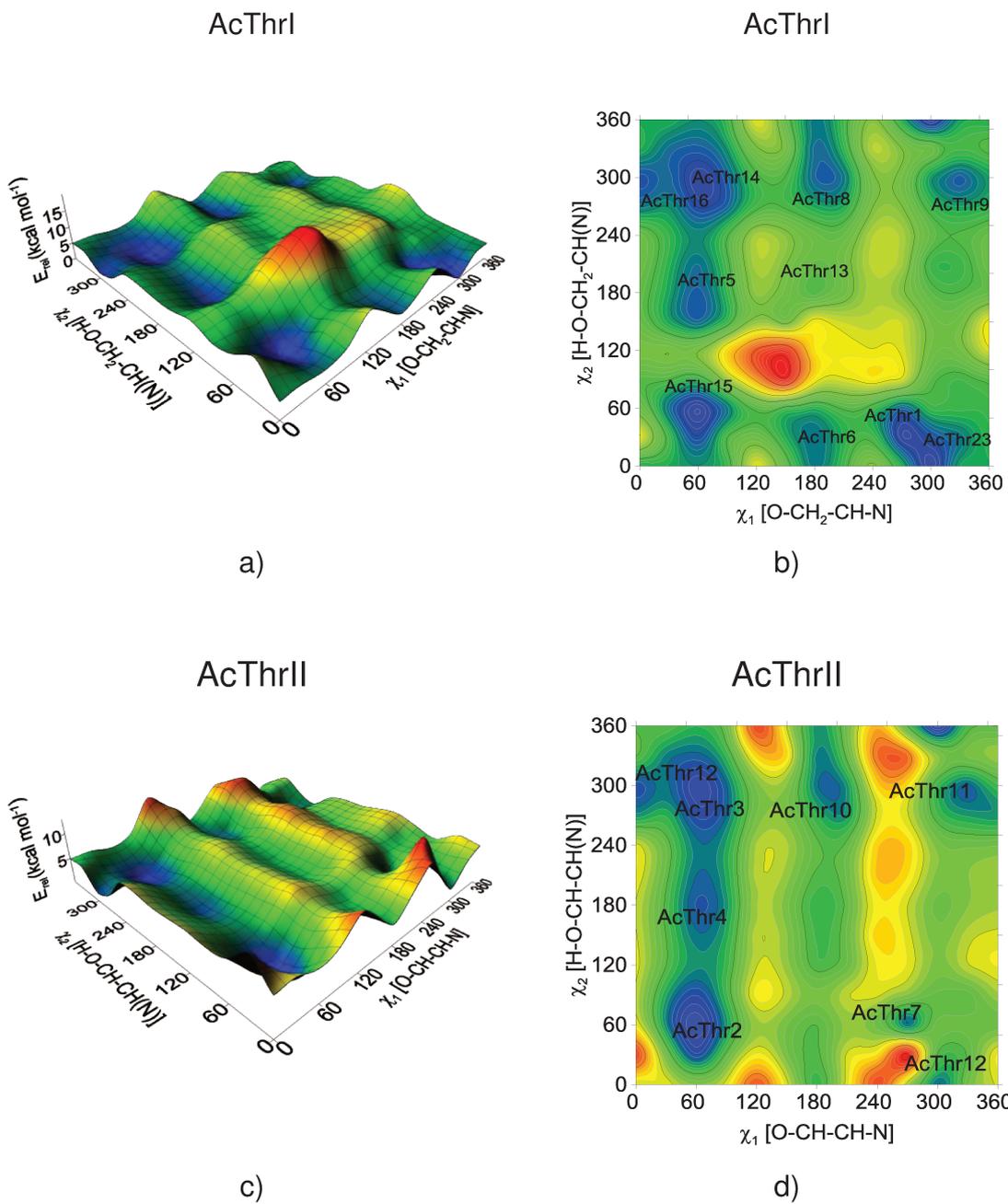


Figura A47: Superfícies de energia (a e c) e mapas de contorno (b e d) para o éster metílico do *N*-acetil-*L*-treonina, obtidos a partir da variação dos ângulos diedros χ_1 e χ_2 .

Anexo 3: confôrmeros

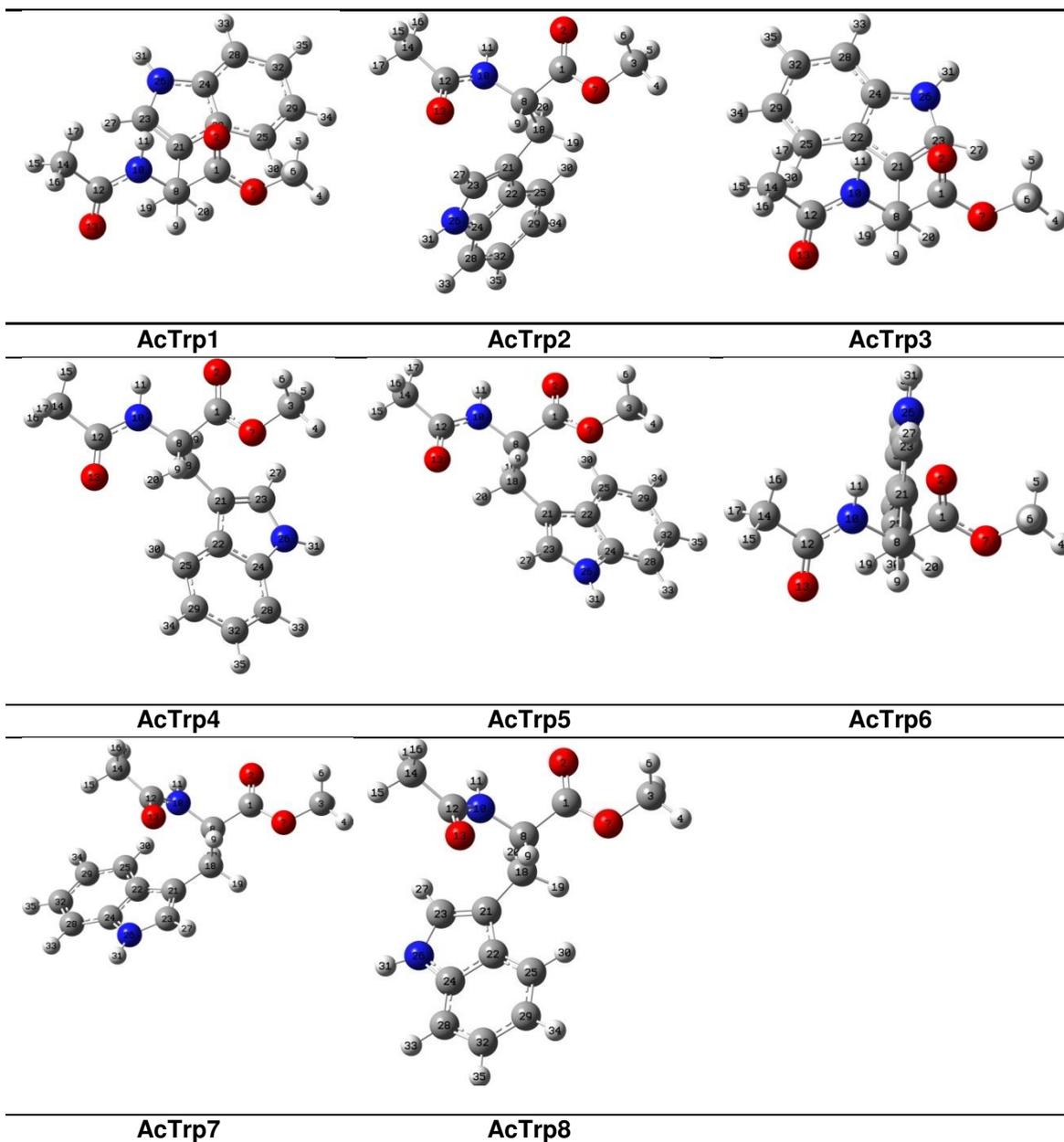


Figura A48: Conformêros do éster metílico do *N*-acetil-L-triptofano (B3LYP/aug-cc-pVDZ).

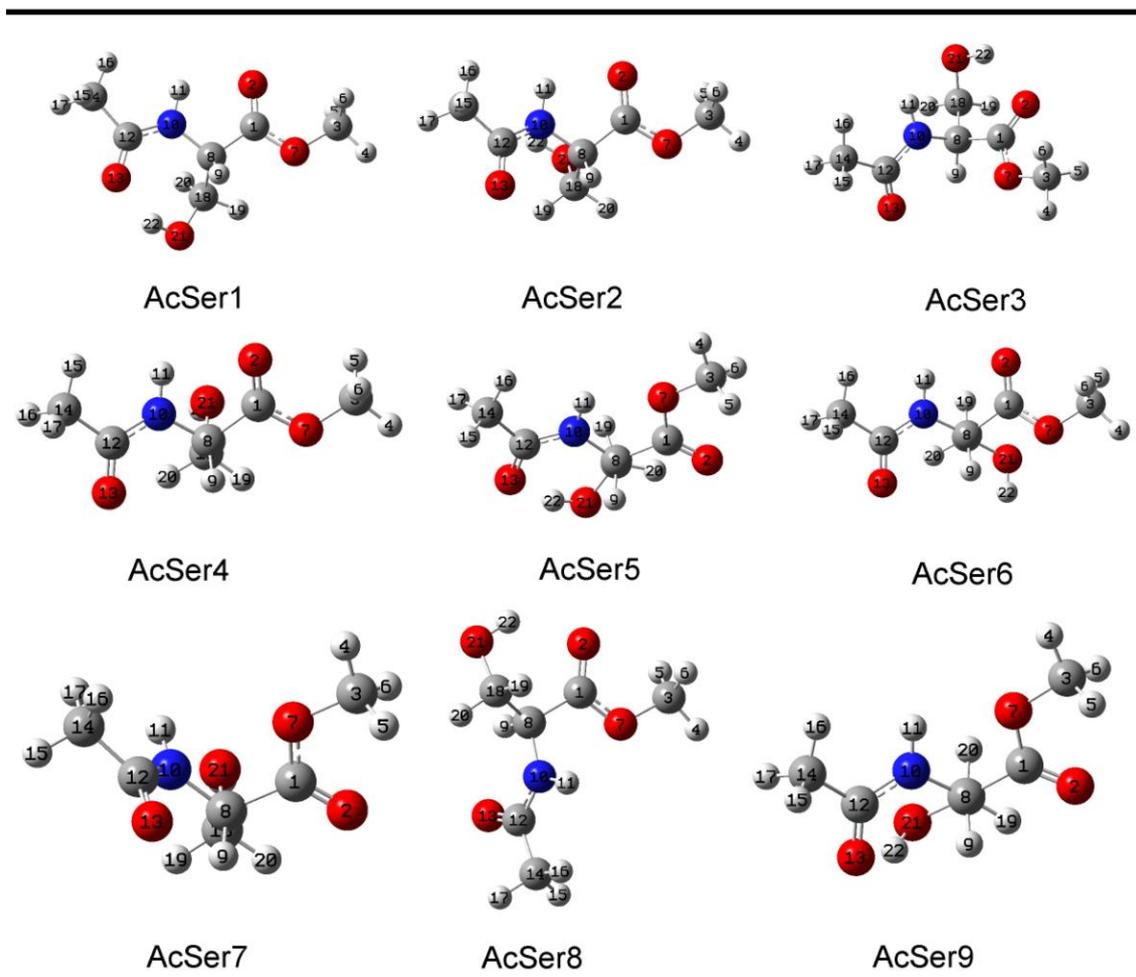


Figura A49: Confôrmeros do éster metílico da *N*-acetil-L-serina (B3LYP/aug-cc-pVDZ).

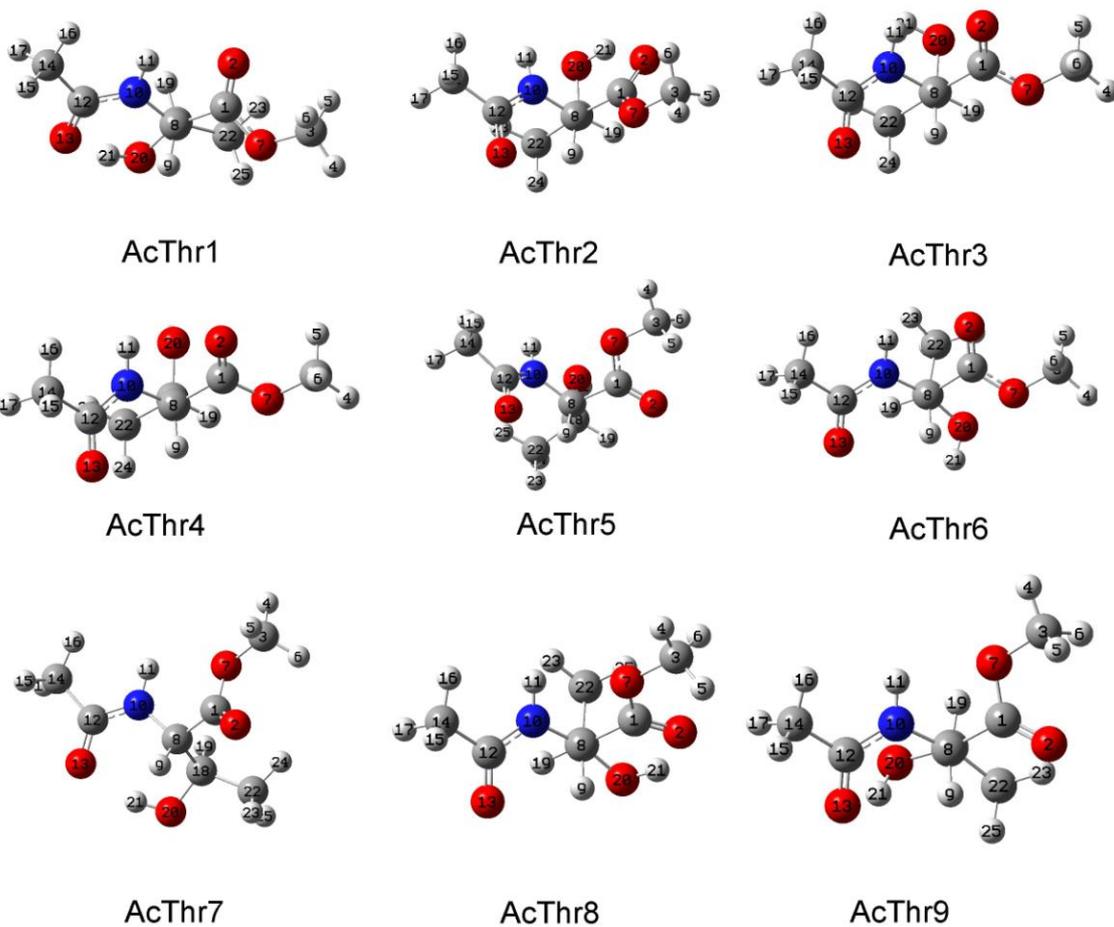


Figura A50: Conformêros do éster metílico da *N*-acetil-L-treonina (B3LYP/aug-cc-pVDZ).

Anexo 4: Gráficos moleculares

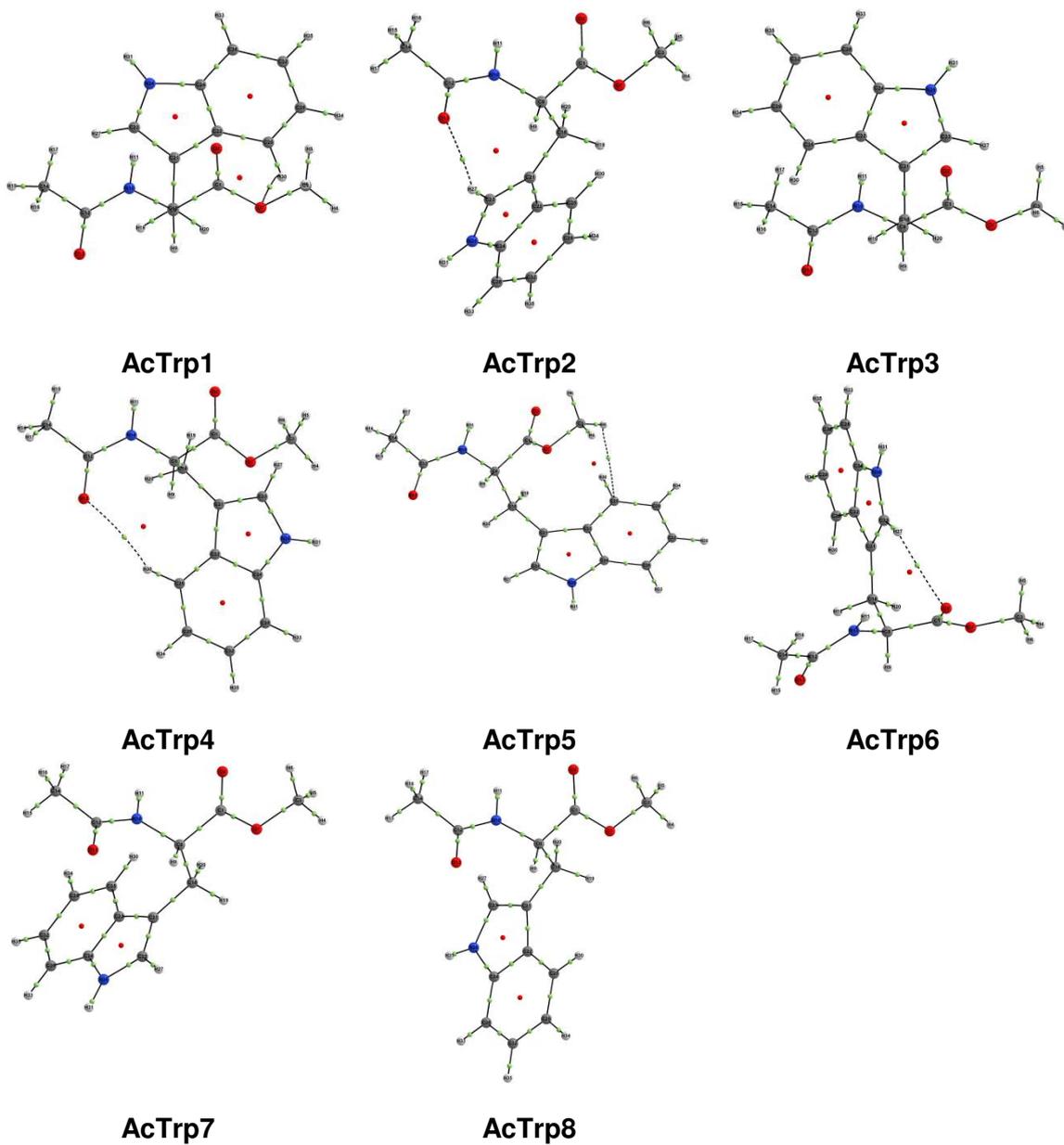


Figura A51: Gráficos moleculares obtidos para os oito confôrmeros do AcTrpOMe. Pontos verdes e vermelhos indicam pontos críticos (BCP) e de anel (RCP), respectivamente.

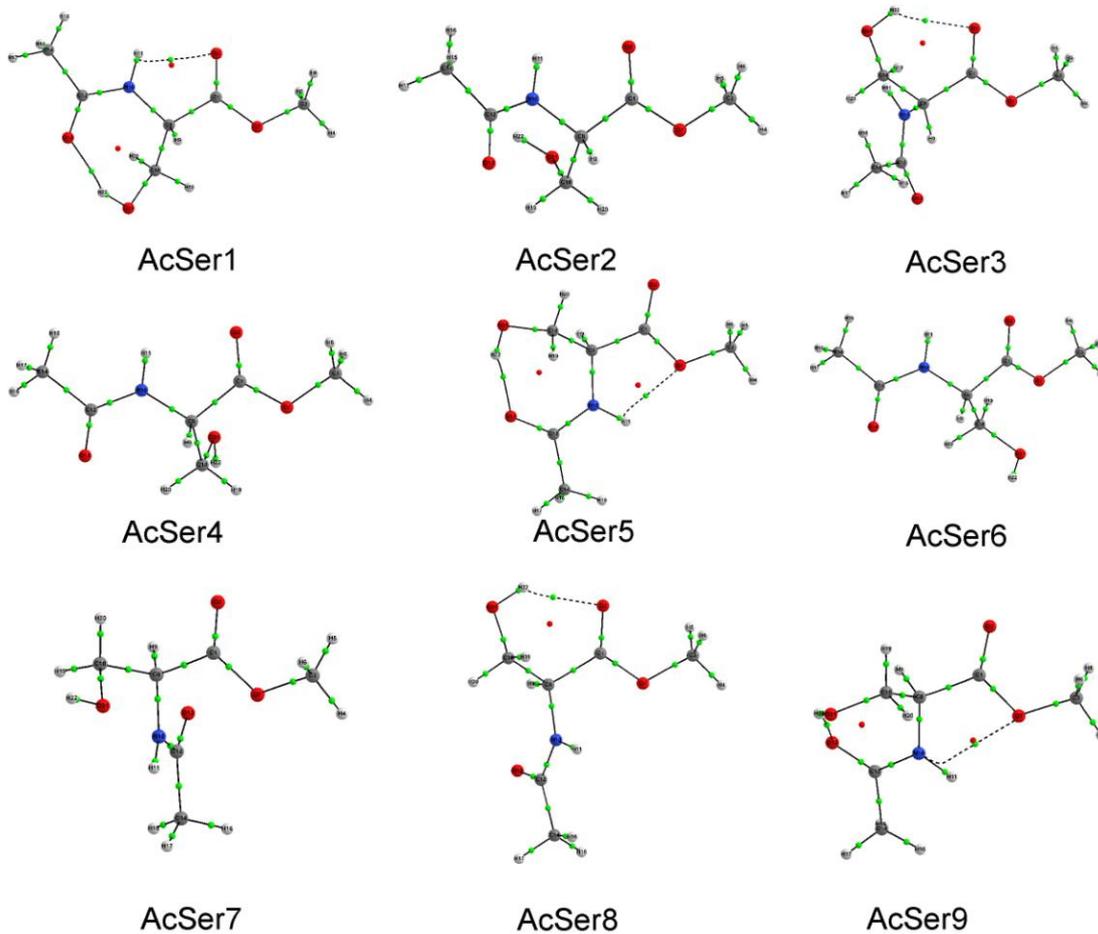


Figura A52: Gráficos moleculares obtidos para os oito confôrmeros do AcSerOMe. Pontos verdes e vermelhos indicam pontos críticos (BCP) e de anel (RCP), respectivamente.

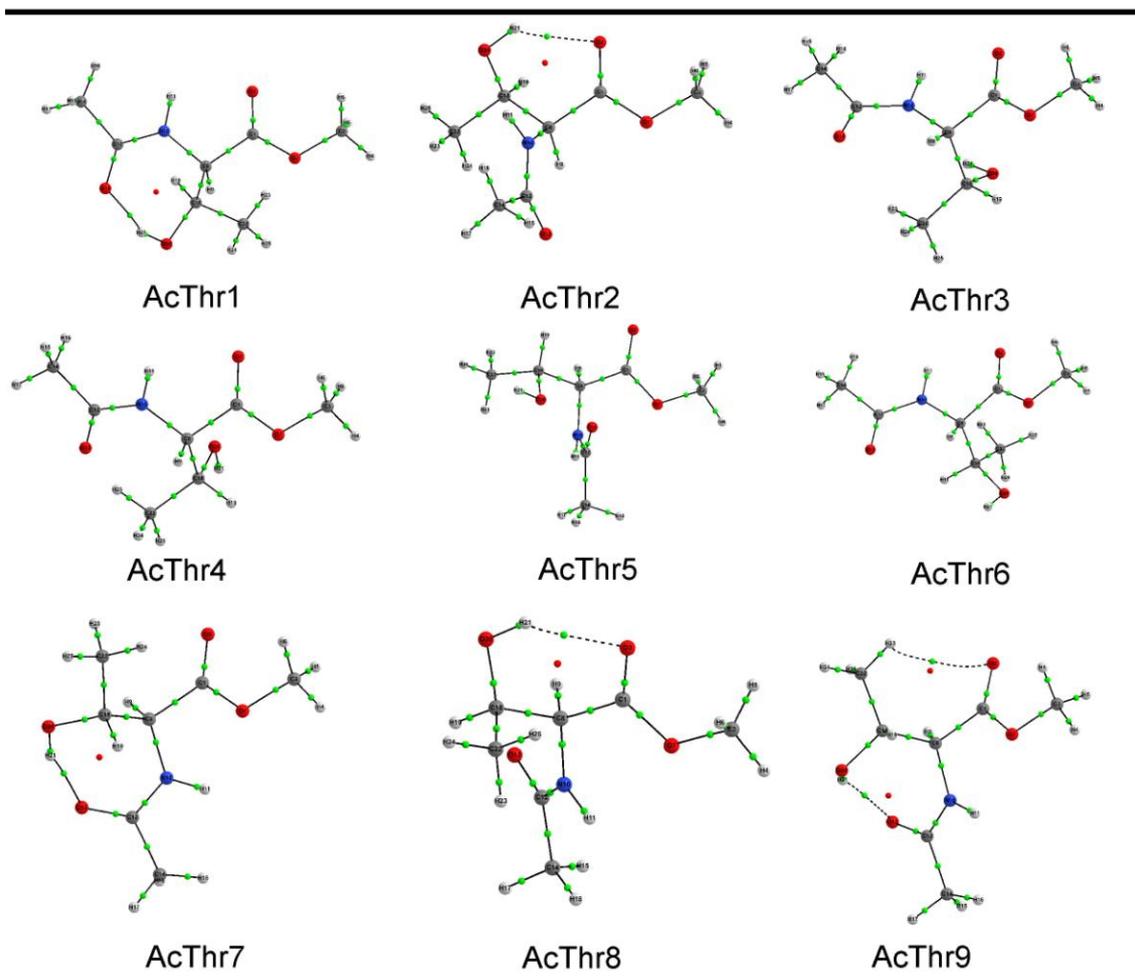
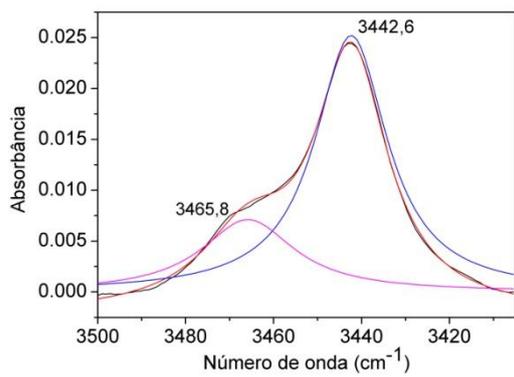
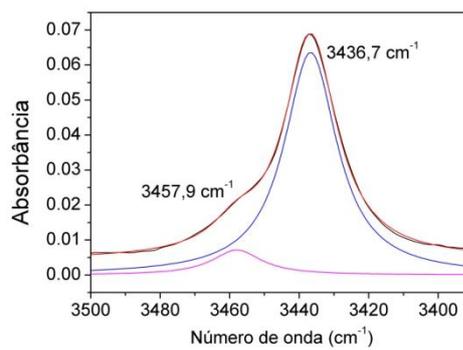


Figura A53: Gráficos moleculares obtidos para os oito confôrmeros do AcThrOMe. Pontos verdes e vermelhos indicam pontos críticos (BCP) e de anel (RCP), respectivamente.

Anexo 5: Espectros no infravermelho



a)



b)

Figura A54: Espectro no infravermelho (obtido no solvente diclorometano) na região de estiramento de N-H para o a) éster metílico da *N*-acetil-glicina e b) *N*-acetil-*L*-alanina .

Anexo 6: Tabelas

Tabela A1: Principais interações hiperconjugativas (kcal mol⁻¹) obtidas para os confôrmeros do Ser-OMe e Thr-OMe (nível B3LYP/aug-cc-pVDZ).

parâmetro	confôrmero									
	Ser1	Ser2	Ser3	Ser4	Ser17	Thr1	Thr2	Thr3	Th4	Thr17
LP(1) _{O2} →σ* _{C1-C4}	2,49	2,56	2,90	2,55	2,51	2,62	2,59	2,75	3,04	2,59
LP(2) _{O2} →σ* _{C1-C4}	18,10	18,44	16,87	17,81	18,89	17,55	18,23	17,71	16,56	18,94
LP(1) _{O2} →σ* _{C1-O3}	1,55	1,47	1,10	1,54	1,53	1,52	1,54	1,55	1,05	1,62
LP(2) _{O2} →π* _{C1-O3}	34,73	33,99	34,13	36,29	36,22	34,96	35,89	36,49	34,16	35,18
LP(1) _{O3} →σ* _{C1-O2}	9,43	9,41	9,37	8,78	8,69	9,52	8,76	8,88	9,38	9,05
LP(1) _{O3} →σ* _{C1-C4}	0,70	0,77	0,64	0,74	0,82	0,72	0,79	0,64	0,60	0,64
LP(2) _{O3} →π* _{C1-O2}	49,62	50,56	50,56	45,36	44,46	49,68	47,29	46,12	50,35	47,95
LP(2) _{O2} →σ* _{N5-H7}	0,71	1,81	-----	-----	-----	0,61	2,14	-----	-----	-----
LP(2) _{O2} →σ* _{O-H}	-----	-----	3,53	-----	-----	-----	-----	-----	4,27	-----
LP(1) _{O(H)} →σ* _{C4-C13}	1,58	1,82	1,07	1,58	1,25	1,53	2,35	1,58	1,17	1,16
LP(2) _{O(H)} →σ* _{C4-C13}	4,69	4,78	6,90	4,56	-----	4,75	3,87	4,54	6,81	-----
LP _{N5} →σ* _{C4-C13}	2,52	3,63	1,93	2,18	0,56	2,16	3,48	1,93	0,53	0,60
LP _{N5} →σ* _{C1-C4}	6,98	-----	8,13	8,54	9,83	6,78	-----	7,67	7,89	8,95
LP _{N5} →σ* _{C4-H12}	-----	5,68	1,79	-----	1,30	-----	5,88	1,38	1,56	1,41
LP _{N5} →σ* _{O-H}	3,41	3,14	-----	3,23	-----	4,40	3,79	4,00	-----	-----
σ _{C4-N5} →σ* _{C13-H15}	1,19	-----	-----	1,19	-----	-----	-----	-----	-----	-----
σ _{C4-N5} →σ* _{C13-C15}	-----	-----	-----	-----	-----	2,02	-----	1,98	-----	-----

Tabela A2: Energia relativa (ΔE_{rel} , kcal mol⁻¹), população (n, %) e número de onda ($\bar{\nu}_{C=O}$, cm⁻¹) calculados para o SerOMe e ThrOMe.

SerOMe						
	THF			acetonitrila		
	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$
Ser1	0,00	66	1746,8	0,00	63	1742,5
Ser2	0,77	18	1747,4	0,69	20	1742,6
Ser3	1,43	6	1719,8	1,41	6	1714,5
Ser4	1,18	9	1739,4	1,08	10	1732,7
Ser17	2,53	1	1735,4	2,41	1	1729,9

ThrOMe						
	THF			acetonitrila		
	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$
Thr1	0,00	65	1741,1	0,00	63	1736,6
Thr2	0,90	14	1745,2	0,86	15	1740,3
Thr3	0,82	16	1746,6	0,75	18	1737,6
Thr4	1,63	4	1718,2	1,64	4	1712,9
Thr17	2,88	1	1732,8	2,80	1	1727,3

Tabela A3: Energia relativa (ΔE_{rel} , kcal mol⁻¹), população (n, %) e número de onda ($\bar{\nu}_{C=O}$, cm⁻¹) calculados para o AcGliOMe e AcAlaOMe.

AcGliOMe						
	Tetracloroeto de carbono			DMSO		
	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$
AcGli1	0,00	96	1761,9	0,00	83	1747,3
AcGli2	1,96	4	1760,8	0,93	17	1738,2

AcAlaOMe						
	CCl ₄			DMSO		
	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$
AcAla1	0,00	96	1755,9	0,00	70	1742,1
AcAla2	1,85	4	1769,4	0,50	30	1739,2

Tabela A4: Energia relativa (ΔE_{rel} , kcal mol⁻¹), população (n, %) e número de onda ($\bar{\nu}_{C=O}$, cm⁻¹) calculados para o AcTrpOMe.

	AcTrpOMe					
	diclorometano			acetoneitrila		
	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$
AcTrp1	0,00	22	1746,2	0,58	15	1743,1
AcTrp2	0,52	9	1751,8	1,24	5	1749,0
AcTrp3	0,05	20	1747,0	0,59	15	1743,5
AcTrp4	0,24	15	1743,1	0,75	12	1740,7
AcTrp5	0,60	8	1741,8	1,30	5	1739,4
AcTrp6	1,38	2	1742,9	2,02	1	1740,7
AcTrp7	0,65	7	1747,5	1,00	7	1744,4
AcTrp8	0,20	16	1748,6	0,00	40	1753,3

Tabela A5: Energia relativa (ΔE_{rel} , kcal mol⁻¹), população (n, %) e número de onda ($\bar{\nu}_{C=O}$, cm⁻¹) calculados para o AcSerOMe.

	AcSerOMe					
	diclorometano			acetoneitrila		
	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{C=O}$
AcSer1	0,00	70	1744,33	0,00	66	1744,3
AcSer2	1,07	11	1747,93	1,05	11	1747,9
AcSer3	1,79	3	1730,53	1,76	3	1730,5
AcSer4	1,71	4	1752,3	1,66	4	1752,3
AcSer5	1,83	3	1756,86	1,65	4	1756,9
AcSer6	2,58	1	1744,19	2,54	1	1744,2
AcSer7	2,06	2	1743,18	1,88	3	1743,2
AcSer8	2,04	2	1723,52	1,83	3	1723,5
AcSer9	1,83	3	1756,86	1,65	4	1756,9

Tabela A6: Energia relativa (ΔE_{rel} , kcal mol⁻¹), população (n, %) e número de onda ($\bar{\nu}_{\text{C=O}}$, cm⁻¹) calculados para o AcThrOMe.

	AcThrOMe					
	diclorometano			acetonitrila		
	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{\text{C=O}}$	ΔE_{rel}	n	$\bar{\nu}_{\text{C=O}}$
AcThr1	0,00	22	1742,7	0,14	19	1740,3
AcThr2	0,02	21	1728,2	0,13	19	1725,9
AcThr3	0,14	17	1749,5	0,24	15	1746,4
AcThr4	0,06	20	1759,4	0,00	24	1755,4
AcThr5	0,43	11	1741,7	0,41	12	1737,4
AcThr6	1,43	2	1740,4	1,55	2	1734,0
AcThr7	1,28	2	1752,74	1,25	3	1407,5
AcThr8	1,20	3	1724,74	1,14	3	1720,7
AcThr9	1,28	2	1762,68	1,25	3	1758,2