

Estrutura e reactividade de moléculas contendo  
o grupo endoperóxido com possível actividade  
antimalárica

Miguel da Conceição Ferreira

Mestrado em Química

Departamento de Química

FCTUC

Agosto 2010



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



**Estrutura e reactividade de moléculas contendo  
o grupo endoperóxido com possível actividade  
antimalárica**

Miguel da Conceição Ferreira

**Dissertação apresentada para provas de Mestrado em  
Química, ramo de Processos Químicos**

Prof. Rui Fausto Martins Ribeiro da Silva Lourenço

**Agosto de 2010**

**Universidade de Coimbra**

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Rui Fausto, quero expressar o meu agradecimento pela sua presença, apoio e transmissão de conhecimentos úteis para o meu percurso académico.

Ao Doutor Igor Reva, estou grato pelas úteis sugestões que me fez a nível experimental, especialmente no que concerne a um tipo de saber que não é privilégio de todos: o saber fazer.

Ao Dr. Pedro Simões e à Dra. Maria Ermelinda Eusébio, pela disponibilidade e apoio que facultaram para a realização do estudo referente à estabilidade térmica (TG e DSC).

Ao grupo de Espectroscopia Molecular da Universidade de Coimbra, em particular, ao Luís Duarte, à Susy Lopes, à Susana Jarmelo e à Barbara Michela, que de um modo ou outro sempre me apoiaram ao longo deste projecto.

A TODO o amigo que de mim faz parte, especialmente ao Tiago Maricoto, ao Pedro Russo, ao Cláudio Almeida, ao Nuno Samelo, ao Jorge Ribeiro e com um carinho especial à Francisca...

Finalmente, à minha família núcleo essencial à minha existência, por terem sido uma âncora numa nova fase que se avizinha.

# Índice

Abreviações	iii
Resumo	1
1. Introdução	3
<b>1.1. Malária</b>	<b>3</b>
1.1.1. Compostos antimaláricos	6
1.1.2. Referências	14
<b>1.2. Espectroscopia de absorção no infravermelho</b>	<b>15</b>
1.2.1. Fundamentos teóricos	15
1.2.2. Espectroscopia de infravermelho com isolamento em matrizes	21
1.2.3. Referências	26
<b>1.3. Análise térmica</b>	<b>27</b>
1.3.1. Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)	27
1.3.2. Termogravimetria (TG)	33
1.3.3. Referências	37
<b>1.4. Modelação molecular</b>	<b>38</b>
1.4.1. Cálculos <i>ab initio</i> e DFT	39
1.4.2. Teoria das funcionais de Densidade electrónica	41
1.4.3. Funções de base	43
1.4.4. Referências	45
<b>1.5. Objectivos do trabalho</b>	<b>46</b>
2. Metodologia	49
<b>2.1. Detalhes computacionais</b>	<b>49</b>
<b>2.2. Detalhes experimentais</b>	<b>49</b>
<b>2.3. Detalhes experimentais da análise térmica</b>	<b>50</b>
<b>2.4. Referências</b>	<b>52</b>
3. Resultados	53
<b>3.1. [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanona (TAC)</b>	<b>53</b>

<b>3.2. Ácido [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5 ciclohexanocarboxílico (ATAC)</b>	<b>64</b>
3.2.1. Referências	73
<b>3.3. Adamantanona</b>	<b>74</b>
<b>3.4. Ciclohexanona</b>	<b>78</b>
<b>3.5. 1,4 – Ciclohexanodiona</b>	<b>83</b>
<b>4. Conclusões</b>	<b>88</b>

## Abreviações

MFQ – Mefloquina

CO – Cloroquina

OMS – Organização Mundial da Saúde

ACT – Artemisinin Combination Therapy

DHPS – di-hidropteroato sintetase

DHFR – di-hidrofolato reductase

IV – Infravermelho

UV – Ultra-Violeta

DSC – Calorimetria diferencial de varrimento

TGA – Termogravimetria

DFT – Density Functional Theory

TAC – [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanona

ATAC – Ácido [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanocarboxílico

ETAC - Éster etílico [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanocarboxilato

STQN – *Synchronous Transit-Guided Quasi-Newton*

## **Resumo**

Actualmente, a malária é a doença tropical e parasitária que causa mais problemas sociais e económicos no mundo, sendo considerada pela OMS um problema de saúde pública, pois 40% da população mundial convive com o risco de contágio. Anualmente, sobretudo no continente africano, entre 300 a 500 milhões de pessoas são infectadas.

Os fármacos continuam a ser a única opção de tratamento, apesar de muitos dos antimaláricos disponíveis serem antiquados, muitas vezes limitados do ponto de vista da sua eficácia e com efeitos colaterais graves. De facto, muitas das soluções quimioterapêuticas para a Malária, sobretudo as baseadas em fármacos da família das 4-aminoquinolinas, são ineficazes, em virtude de o parasita ter desenvolvido resistência. Estima-se que, na ausência de novas soluções quimioterapêuticas eficazes, o número de vítimas de malária poderá vir a aumentar drasticamente nos próximos anos.

A artemisinina, um antimalárico de origem natural, isolado da planta *Artemisia annua*, e os seus derivados semi-sintéticos arteméter, arte-éter e artesunato de sódio, representam uma nova classe de antimaláricos muito importante, sendo cada vez mais utilizados em todo o mundo, especialmente em terapias de combinação. O mecanismo de acção dos fármacos artemisínicos tem sido amplamente investigado e continua a ser debatido. Porém, é consensual que a ligação peróxido é essencial para a actividade farmacológica e que a clivagem desta



ligação ocorre na presença de Fe (II) do grupo heme, no vacúolo do parasita, gerando-se espécies muito reactivas que vão alquilar esse grupo heme ou outras biomoléculas essenciais para o parasita. A sua elevada capacidade para redução rápida da massa parasitária torna-a especialmente eficaz em quadros clínicos de malária aguda. Apesar da sua eficácia, a artemisinina apresenta algumas desvantagens, nomeadamente alguma toxicidade, baixa solubilidade, baixo rendimento de extracção e baixo tempo de semi-vida no plasma. O seu desaparecimento rápido pode ser a chave para explicar a recrudescência após monoterapia.

Assim, têm sido realizados esforços com êxito para a concepção e preparação de endoperóxidos sintéticos com melhores propriedades farmacológicas. No entanto, apesar da grande importância destes compostos, a informação relativa à análise estrutural detalhada e reactividade destes compostos é muito escassa. Assim, uma investigação sistemática da estrutura, fotoquímica e estabilidade térmica de alguns trioxanos, trioxolanos e tetroxanos está a ser levada a cabo nos nossos laboratórios.

Nesta *tese*, a estrutura e fotoquímica de alguns compostos modelo, isolados em matrizes criogénicas de gases nobres (xénon e árgon), serão apresentadas e discutidas. Os resultados são baseados em espectroscopia FTIR assistida por cálculos teóricos baseados na Teoria das Funcionais de Densidade (DFT). Nos cálculos são usadas as bases de funções, 6-31G(d,p) e 6-311++G(d,p).

Na primeira parte desta *tese* apresenta-se uma introdução teórica sobre a malária e de alguns compostos antimaláricos, nomeadamente a artemisinina. De seguida, efectua-se uma breve descrição dos métodos experimentais e computacionais utilizados neste trabalho (Capítulo 1), e fornecem-se os detalhes sobre as metodologias adoptadas (Capítulo 2). No capítulo 3, apresentam-se e discutem-se os resultados obtidos para cada composto estudado. Por último, no Capítulo 4, faz-se uma síntese das conclusões extraídas neste estudo.

### 1.1. Malária

A malária é uma doença infecciosa aguda causada por parasitas protozoários do género Plasmodium, transmitida pelo mosquito Anopheles. Existem mais de 100 espécies destes protozoários, mas somente quatro são responsáveis pela doença da Malária: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. Ovale* e *P. vivax*.

O parasita mais perigoso é o *P. falciparum*, que aniquila os glóbulos vermelhos do sangue, provocando estados anémicos. Neste caso a infecção é mais intrínseca, podendo conduzir a malária cerebral e morte.

A malária das quais cerca de 3 milhões morrem em consequência da doença, afecta mais de 500 milhões de pessoas todos os anos, a transmissão desta doença dá-se pela picada das fêmeas de mosquitos do género Anopheles, ocorrendo esta transmissão predominantemente em regiões rurais ou semi-rurais, mas podendo também ocorrer em zonas urbanas.

O mosquito do género Anopheles só sobrevive em áreas que apresentem médias das temperaturas mínimas superiores a 15 °C, e só atinge um número de indivíduos suficiente para suscitar endemicidade da doença em regiões onde as temperaturas médias sejam cerca de 20-30 °C e os índices de humidade elevados.

Só os mosquitos fêmeas picam o homem e se alimentam de sangue, enquanto os machos vivem de seivas de plantas e as larvas se desenvolvem em águas paradas. A prevalência máxima dos mosquitos ocorre durante as estações com chuva abundante. A transmissão pode ocorrer acidentalmente, por transfusão de sangue contaminado ou pela partilha de seringas com agulhas contaminadas, mas a forma mais comum de transmissão ocorre através da infecção por mosquitos contaminados, que são o principal vector de transmissão entre seres humanos. A figura 1.1.1 apresenta o ciclo de vida do parasita infectado. Tudo começa com uma

simples picada do mosquito na pele humana, transferindo-se, assim, os esporozoítos deste para a corrente sanguínea.

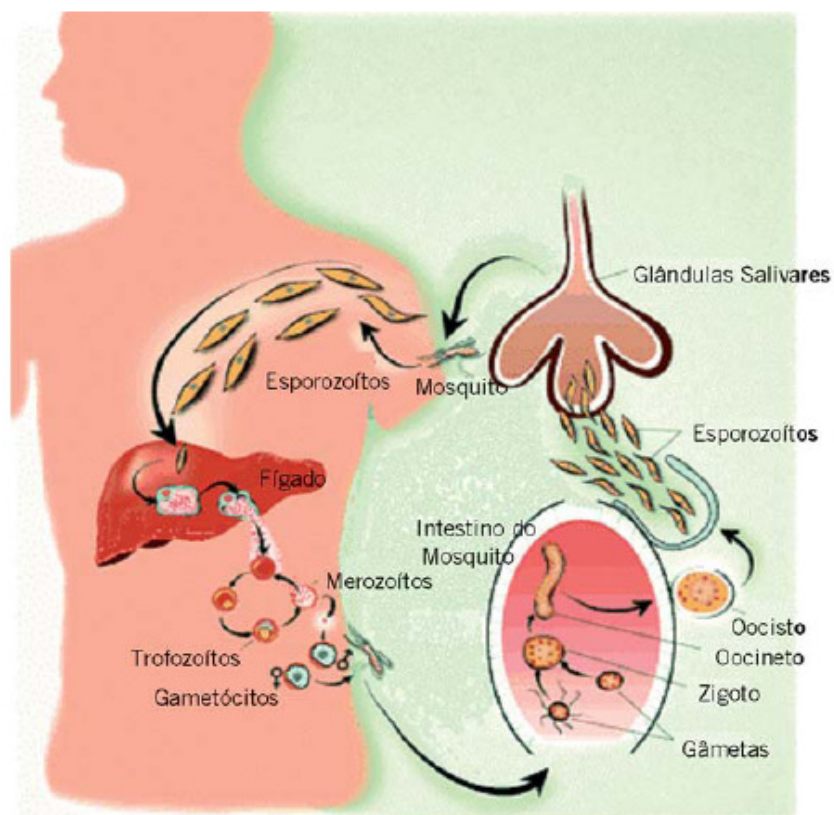
Os esporozoítos invadem as células do fígado, iniciando a divisão assexuada do parasita, da qual resulta a produção de milhares de merozoítos. Estes, deixam as células hepáticas e vão infectar os eritrócitos da corrente sanguínea, dando início a uma nova fase da reprodução assexuada. Através de estágios circulares (ciclos de 48 horas), o parasita desenvolve-se em trofozoítos e esquizontes para, numa fase seguinte, cada esquizonte se dividir em 16 merozoítos eritrocíticos, que são libertados do eritrócito para invadir, logo de seguida, um novo eritrócito. Durante a fase eritrocítica, o parasita utiliza a hemoglobina do hospedeiro como fonte de aminoácidos para a sua reprodução.

Num processo induzido pelo “stress”, uma pequena porção dos merozoítos sanguíneos sofre diferenciação em gametócitos feminino e masculino, que são transmissíveis ao mosquito quando este pica um indivíduo infectado. No interior do intestino do mosquito, os gametócitos femininos dividem-se em macrogâmetas e os masculinos em 4 a 8 microgâmetas flagelados, dando-se início à reprodução sexuada do parasita.

Estes gâmetas femininos e masculinos fundem-se e formam zigotos, que se transformam em oocinetos móveis. Estes penetram a parede do intestino e saem do seu interior através da membrana externa, sob a forma de oocistos. A divisão assexuada dentro destes oocistos produz milhares de esporozoítos que serão libertados aquando da ruptura do oocisto, migrando de seguida para as glândulas salivares do mosquito, estão agora reunidas as condições para que se inicie um novo ciclo de transmissão ao hospedeiro humano [1].

Os sintomas da malária costumam começar entre 10 e 35 dias após a infecção. A malária causada pelo protozoário *P. falciparum* (*malária maligna*) caracteriza-se inicialmente por sintomas como dores de cabeça, fadiga, febre e náuseas. Estes sintomas confundem-se frequentemente com a sintomatologia da gripe. Os sintomas subsequentes e os padrões que a doença segue variam para cada

tipo de malária. No caso do protozoário *P. falciparum*, com o passar do tempo, os sintomas progridem, caracterizando-se por acessos periódicos de calafrios e febre intensa, que coincidem com a destruição maciça de hemácias e com a descarga de substâncias imunogênicas tóxicas na corrente sanguínea no fim de cada ciclo reprodutivo do parasita. Estas crises verificam-se mais ao cair da tarde, com subida da temperatura até 39-40 °C. São seguidas de palidez da pele e tremores violentos durante cerca de 15 minutos a uma hora. Depois cessam os tremores e seguem-se duas a seis horas de febre a 41 °C, terminando em vermelhidão da pele e suores abundantes. O doente sente-se perfeitamente bem depois e até à crise seguinte, dois a três dias depois. Podem surgir ainda sintomas adicionais mais graves como: choque circulatório, síncope (desmaios), convulsões, delírios e crises vaso-occlusivas.



**Fig.1.1.1** – Ciclo de vida do parasita da malária humana.

A morte pode ocorrer a cada crise de malária maligna. Pode também ocorrer a chamada malária cerebral: a oclusão de vasos sanguíneos no cérebro pelos eritrócitos infectados causa défices mentais e coma, seguidos de morte ou défice mental irreversível. Danos renais e hepáticos graves ocorrem pelas mesmas razões.

As formas da malária causadas pelas outras espécies de parasita ("benignas") são geralmente apenas debilitantes, ocorrendo raramente a morte.

Os intervalos entre as crises paroxísticas são diferentes consoante a espécie. Para as espécies de *P. falciparum*, *P. ovale* e *P. vivax*, o ciclo da invasão de hemácias por uma dada geração, multiplicação interna na célula, lise (rebutamento da hemácia) e invasão pela nova geração de mais hemácias dura 48 horas.

### 1.1.1 – Compostos antimaláricos

O tratamento farmacológico da malária baseia-se na susceptibilidade do parasita aos radicais livres e substâncias oxidantes, morrendo em concentrações destes agentes inferiores às mortais para as células humanas. Os fármacos usados aumentam essas concentrações para os níveis desejados, mas nem todos geram radicais livres ou substâncias oxidantes.

Desde tempos imemoriais que se usam substâncias com propriedades antimaláricas. Antes da chegada dos europeus ao continente americano, já os índios peruanos usavam para o tratamento da malária a casca da quina. Em 1677, a casca de quina foi incluída na Farmacopeia de Londres sob a designação *Cortex peruano*, sendo este o primeiro registo oficial, na Europa, sobre quimioterapia da malária [2].

A quinina é uma substância extraída da casca da quina e foi isolada em 1820 pelos químicos franceses Pelletier e Caventou [3], identificaram-na como sendo um alcalóide. A sua síntese foi nos anos 50 do séc. XX pelo grupo do Woodward.

Sete décadas após a identificação da **quinina (1)**, Paul Ehrlich utilizou **azul-de-metileno (2)** para curar dois pacientes infectados com malária, após ter observado que aquele composto era eficaz contra o parasita (ver **Fig.1.1.2**).

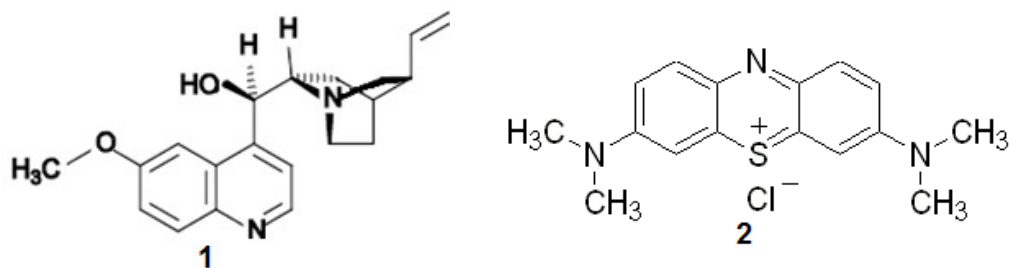


Fig.1.1.2 – Quinina e azul – de – metileno.

Esta foi a primeira vez que se utilizou, em humanos, uma substância sintética com fins terapêuticos [2].

Hoje, sabe-se que o azul-de-metileno inibe a glutationa-reductase do *P. falciparum*, interferindo no processo de homeostasia redox [2,4]. Em 1952, a estrutura do azul-de-metileno foi modificada e foram sintetizadas a **pamaquina** e a **mepacrina**, sendo a pamaquina o primeiro fármaco capaz de prevenir recidivas da malária *vivax* [2].

Além dos compostos referidos acima, outros foram sendo desenvolvidos, tais como, a **mepacrina**, a **cloroquina**, **amodiaquina**, **primaquina**, **pirimetamina**, **piperaquina**, entre muitos outros. Todos estes fármacos antimaláricos são historicamente relevantes, sendo que alguns deles são ainda utilizados em preparações farmacológicas envolvendo vários compostos activos (terapias de combinação).

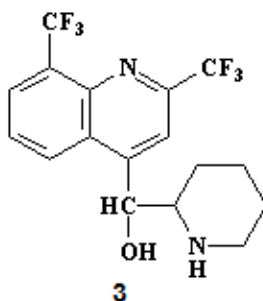
Como já se observou acima, os fármacos antimaláricos englobam um grande número de moléculas orgânicas, que são tradicionalmente distribuídas por 3 grupos:

- **Amino-álcoois**, que incluem os alcalóides da farmácia das quinolinas, dos quais a quinina é o exemplo clássico, e todas as aminoquinolinas sintéticas;
- **Derivados artemisínicos**, que como o nome indica, englobam o sesquiterpeno artemisinina e seus derivados;
- **Antifolatos e outros**, onde se incluem antibióticos com actividade antimalárica, como biguanidas e sulfonamidas, e outros que não se encaixam nas duas famílias anteriores.

Dentro do primeiro grupo, para além dos compostos já referidos atrás, podemos dar alguns exemplos de outros que, tais como a **mefloquina (3)**, são ainda utilizados actualmente no tratamento da doença.

A mefloquina (MFQ) é um derivado quinolino-metanólico com dois centros quirais. É administrada clinicamente como uma mistura racémica dos enantiómeros: (-) (11*S*, 2'*R*) e (+) (11*R*, 2'*S*) – eritro. A MFQ apresenta esteroselectividade e actividade *in vitro* a favor do enantiómero (+), com uma razão eudísmica de 2:1 [5]. O seu mecanismo de acção contra o *P. falciparum* não é totalmente desconhecido, sabe-se que inibe a formação da hemazoína, um processo de destoxificação essencial para o parasita e o agente intercalante, mas os seus efeitos estão confinados às fases sanguíneas do ciclo de vida do parasita (ver **Fig.1.1.3**).

Este fármaco é extensamente absorvido pelo intestino, alcançando o pico de concentração plasmática duas horas após administração. A MFQ apresenta um tempo de semi-vida de 20 dias e é eliminada especialmente na forma de ácido carboxílico [6].

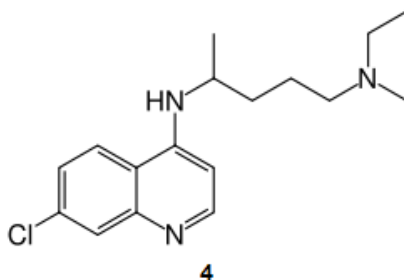


**Fig.1.1.3** – Mefloquina.

Uma das desvantagens da MFQ é a elevada variabilidade demonstrada para as suas propriedades farmacocinéticas, que pode conduzir a níveis sub terapêuticos [7].

De entre os membros desta família de antimaláricos, devem salientar-se os compostos 4-aminoquinolínicos, já que a **cloroquina (CQ) (4)** tem sido, apesar das desvantagens, o fármaco de maior eficácia global no tratamento e profilaxia da malária.

A CQ, ou 6 – cloro – 4 – (4-dietil-amino-1-metilbutilamino) – quinolina, é um potente esquizotocida sanguíneo, eficaz contra as formas eritrocíticas de todas as espécies de *Plasmodia*.



**Fig.1.1.4** – Cloroquina.

A CQ (**Fig.1.1.4**) não é no entanto activa contra esporozoítos ou hipnozoítos hepáticos, uma vez que as 4-aminoquinolinas interferem no processo de destoxificação do grupo heme resultante da degradação da hemoglobina do hospedeiro [8]. Também actuam como intercalantes do ADN do parasita.

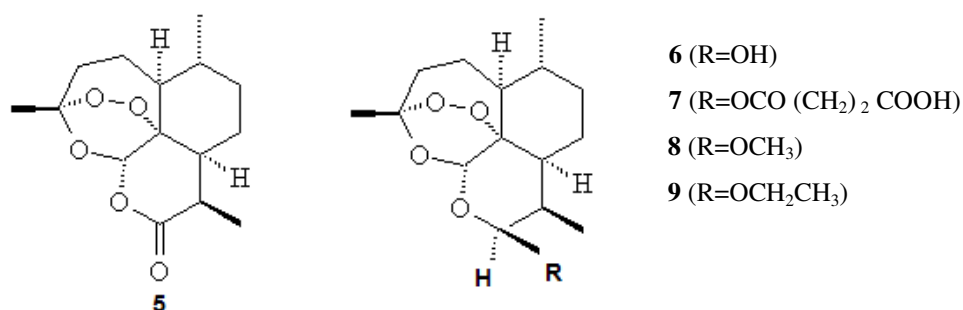
A Cloroquina continua a ser utilizada em terapias de combinação, tal como a **primaquina**, para combater a malária ou simplesmente como medida de prevenção.

Em 1967, a China iniciou um programa sistemático em busca de novos fármacos, utilizando plantas nativas usadas na medicina tradicional. Uma dessas plantas, *Artemisia annua*, já tinha uma longa história de uso. Conhecida como “qing hao”, foi usada inicialmente no tratamento das hemorróidas, tendo sido mais tarde utilizada no tratamento da febre.

Em 1972 foi isolado e caracterizado o princípio activo, inicialmente denominado qinghaosu [9]. Como não existia na literatura nenhum detalhe sobre os procedimentos do isolamento, foi necessário investigar o processo de extracção a partir das partes aéreas da planta com vários solventes apróticos, sendo constatado que o éter de petróleo era o solvente mais eficiente na extracção do respectivo princípio activo. O princípio activo da *Artemisia annua* ficou conhecido no Ocidente como artemisinina.



A artemisinina (**5**) e os seus derivados representam uma nova classe de antimaláricos muito importante, sendo cada vez mais utilizados em todo o mundo. Os derivados da artemisinina mais importantes são a diidroartemisinina (**6**), artesunato de sódio (**7**), o arteméter (**8**) e o artéter (recentemente designado por artemotil) (**9**) [9] (**Fig.1.1.5**). Estes derivados são mais solúveis em água (**7**) ou em meios lífófilos (**8, 9**) que a artemisinina. Novos derivados semi-sintéticos e sintéticos estão a ser desenvolvidos. Os derivados da artemisinina agem rapidamente e são também eliminados rapidamente. A sua rápida acção torna-se especialmente eficaz contra a malária grave. O seu desaparecimento rápido pode ser a chave para explicar a resistência dos parasitas à artemisinina podendo também explicar as falhas no tratamento que são tão comuns quando estas drogas são usadas em monoterapia. No entanto, derivados da artemisinina são incluídos no programa de terapia combinada promovido pela OMS, designado por ACT, (Artemisinin Combination Therapy)



**Fig.1.1.5** – Estrutura da artemisinina e seus derivados.

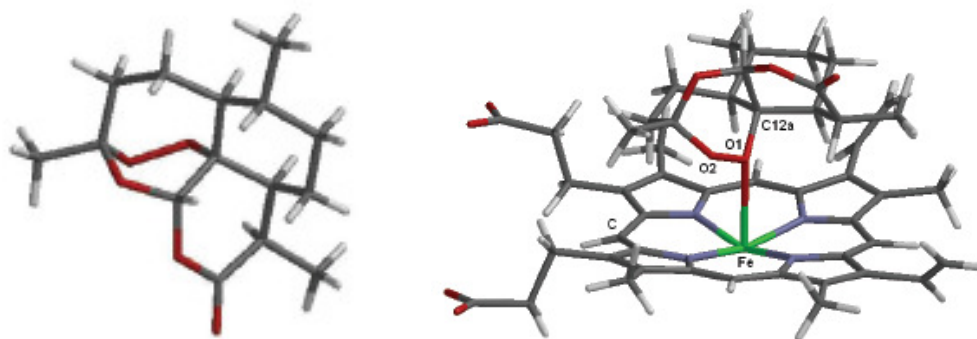
A estrutura da artemisinina foi determinada por difracção raios – X e a sua síntese total alcançada em 1983. Dada a sua fonte natural, *Artemisia annua*, a artemisinina pode ser obtida por extracção das folhas e flores, com um rendimento de 0,01 – 0,8% do peso seco. Os maiores produtores da planta são a China e o Vietname. O baixo rendimento de extracção torna as formulações baseadas em artemisinina caras, especialmente considerando os padrões dos países onde a malária é endémica.

Estruturalmente, a artemisinina é uma lactona sesquiterpênica, com um grupo 1,2,4-trioxolano possuindo uma ligação endoperóxido. Derivados da artemisinina, são gametocitocidas, logo, bloqueadores da propagação da doença. Estes compostos foram denominados de endoperóxidos de primeira geração. A estrutura aparentemente complexa da artemisinina não é condição indispensável para a actividade antimalárica. O fragmento fundamental é a ligação peróxido, sendo a parte da molécula responsável pela actividade é designado por farmacóforo.

A estrutura da artemisinina é diferente de qualquer outro antimalárico conhecido e, portanto, este composto é susceptível de actuar através de um mecanismo de acção diferente.

Uma vez que os peróxidos são uma fonte conhecida de espécies reactivas de oxigénio, como o radical de hidroxilo e o anião radical superóxido, esta observação sugeria que os radicais livres pudessem estar envolvidos no mecanismo de acção da artemisinina. O papel dos radicais livres no mecanismo biológico de acção dos derivados da artemisinina foi demonstrado no final de 1980 [9]. Porém, não é clara a participação exclusiva de radicais centrados em O, havendo a evidência de formação de radicais centrados em C.

A acção destes fármacos tem sido atribuída à quebra da ligação peróxido por reacção do fármaco com o Fe (II) do grupo heme, no vacúolo alimentar do parasita, gerando radicais que vão alquilar o grupo heme [8] e destruir algumas proteínas que são essenciais para a sobrevivência pelo parasita, como por exemplo, as falcipáinas 2 e 3, por exemplo, que são proteases cisteínicas. A participação do Fe (II) na clivagem da ligação peróxido foi apoiada por cálculos teóricos efectuados por Hadipour e colaboradores [10], que demonstraram que o catião  $Fe^{2+}$  interactiva preferencialmente com a ligação peróxido (**Fig.1.1.6**) relativamente aos outros átomos de oxigénio presentes na estrutura do fármaco. Além disso, estes compostos são biologicamente inactivos na presença de um quelante de Fe (II).



**Fig.1.1.6** – Artemisinina; Complexo artemisinina – heme (átomos, cinza – C; branco – H; Vermelho – O; Violeta – N; Verde – Fe).

Este fármaco apresenta uma estrutura química peculiar, alta estabilidade térmica, baixa toxicidade e alta eficiência contra os parasitas resistentes à cloroquina [11]. Contudo, a artemisinina possui baixa biodisponibilidade para formulações de uso oral, recidivas das infecções devido ao baixo tempo de semivida, acção limitada na fase eritrocítica e, assim como os outros fármacos, pode vir a apresentar diminuição da sua actividade antimalárica devido ao desenvolvimento da resistência pelo parasita. Uma forma alternativa de potenciar a acção dos fármacos artemisínicos reside na sua combinação com outros antimaláricos, como a mefloquina, a lumefantrina ou os antifolatos [12]. Estes fármacos têm tempos de semivida no plasma mais longos. Assim, a artemisinina reduz drasticamente a massa do parasita na primeira fase de terapia e um dos fármacos (“partner drug”) permanece no organismo, evitando recrudescência da infecção, pois evita a proliferação da massa parasitária remanescente.

Na classe dos antifolatos, incluem-se alguns fármacos clássicos, como as biguanidas ou as sulfonamidas. A acção antibiótica destes, baseia-se na inibição da biossíntese de folato, um factor essencial no crescimento do parasita. A biossíntese de folato pode ser interrompida por inibição de duas enzimas, a di-hidropteroato sintetase (DHPS) e a di-hidrofolato reductase (DHFR). No entanto, e dada a resistência dos parasitas face a este tipo de fármaco, os antimaláricos (inibidores

reversíveis) deste grupo são cada vez menos utilizados para fins terapêuticos, sendo usados em terapias combinadas com outros fármacos (por exemplo, artemisinina).

Dadas as limitações da artemisinina e derivados de 1º e 2º geração, o desenvolvimento de novos fármacos tornou-se de extrema importância.

Estudos mais recentes efectuados numa região ao longo da fronteira entre a Tailândia e o Camboja, na Ásia, mostraram que os parasitas têm vindo a desenvolver resistência *in vivo* ao artesunato e a uma terapia combinada que envolve o artesunato e a mefloquina. Por isso, tem vindo a ser realizados esforços na síntese de endoperóxidos sintéticos (trioxanos, trioxolanos e tetroxanos). A análise estrutural e a fotoquímica é fundamental para a concepção de compostos endoperóxidos com melhores propriedades farmacológicas.

### 1.1.2 – Referências

- [1] – J. Wiesnar, R. Ortmann, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **42**, (2003), 5274.
- [2] - H.P. Rang, M.M. Dale, J.M. Ritter, *Farmacologia*, Guanabara Koogan, 3.<sup>a</sup> edição, **1997**;
- [3] - R.G. Ridley, A.T. Hudson, *Exp. Opin. Ther. Patents* **8**, (1998), 121;
- [4] - J. Rengelshausen, J. Burhenne, M. Fröhlich, Y. Tayrouz, S.K. Singh, K.D. Riedel, O. Müller, T. Hoppe-Tichy, W.E. Haefeli, G. Mikus, I. Walter-Sack, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **60**, (2004), 709;
- [5] - D. Brocks, R. Mehvar, *Clin. Pharmacokinet.* **42**, (2003), 1359;
- [6] - P. Winstanley, *Br. J. Pharmacol.* **42**, (1996), 411;
- [7] - P.T. Giao, P.J. Vries, *Clin. Pharmacokinet.* **40**, (2001), 343;
- [8] - J. Wiesnar, R. Ortmann, H. Jomaa, M. Schlitzer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **42**, (2003), 5274;
- [9] - Meshnick, S. R. Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity. *Int. J. Parasitol.* **32**, (2002), 1655.
- [10] - M. Rafiee, N.L. Hadipour, H. Naderi - Manesh, *J. Chem. Inf. Model.* **45**, (2005), 366;
- [11] - Klayman, D. L.; *Science* **228**, (1985), 1049;
- [12] - P.T. Giao, P.J. Vries, *Clin. Pharmacokinet.* **40**, (2001), 343

## 1.2. Espectroscopia de absorção no infravermelho

### 1.2.1 – Fundamentos teóricos

Em 1800, ao determinar a temperatura da luz solar refractada por um prisma, William Herschel observou que a parte mais quente da radiação ocorria numa zona invisível situada para lá da banda vermelha. Designou-se então esta região por infravermelho [1].

A espectroscopia infravermelho (IV) é uma técnica que permite estudar as vibrações dos átomos numa molécula. Um espectro de absorção no infravermelho é obtido pela passagem da radiação infravermelha através da amostra e determinação da fracção da radiação incidente que é absorvida. Graficamente representa-se a absorvância ou a transmitância em função da frequência ou de uma quantidade proporcional a esta.

As características de um espectro IV (número de bandas de absorção, as suas respectivas intensidades, formas e polarização) estão directamente relacionadas com a estrutura molecular de um composto. A espectroscopia de infravermelho é uma das técnicas analíticas mais importantes e mais largamente utilizadas. É um método rápido, sensível e de fácil de aplicação que pode ser utilizado para o estudo de amostras sólidas, líquidas ou gasosas [2-4].

É comum subdividir-se a região do infravermelho em três regiões: IV próximo ( $12500\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ ), IV médio ( $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ ) e IV longínquo ( $400\text{ cm}^{-1}$  a  $10\text{ cm}^{-1}$ ). A maior parte das aplicações analíticas da espectroscopia IV baseia-se na análise da região intermédia do espectro.

Para uma molécula absorver no infravermelho tem que possuir pelo menos uma vibração que origine uma variação no momento dipolar.

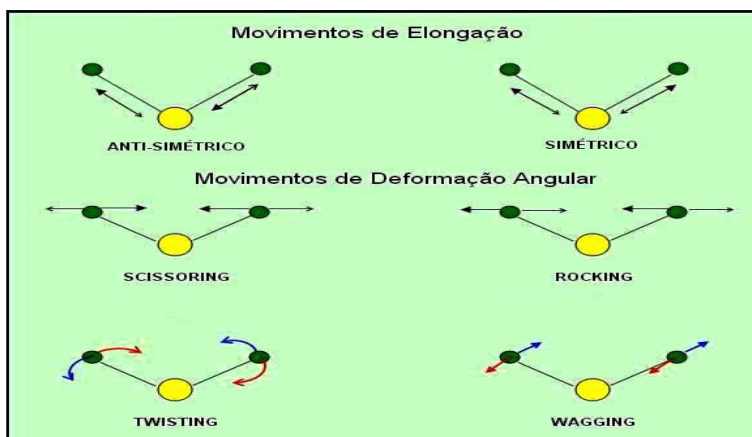
Mais concretamente, a vibração molecular será activa no infravermelho se:

$$\exists \left( \frac{d\mu}{dQ} \right)_0 \neq 0 \quad (1)$$

onde  $\mu$  é o momento dipolar e  $Q$  representa a coordenada vibracional. O índice informa que a derivada é tomada para a configuração molecular de equilíbrio.

A absorção no infravermelho pode ocorrer, verificada a condição anterior, quando a radiação electromagnética incidente tem uma componente com frequência coincidente a uma transição entre dois níveis vibracionais (condição de ressonância). À excepção das moléculas homonucleares, como  $O_2$ ,  $N_2$  ou  $Cl_2$ , todas as outras espécies moleculares absorvem radiação infravermelha.

Os átomos numa molécula não permanecem imóveis, variam continuamente a sua posição como consequência das vibrações moleculares. Uma molécula pode, assim, ser encarada como um sistema de massas unidas, molas molares que vibram a frequências características. Os movimentos vibracionais podem dividir-se em duas categorias: movimentos de alongação e movimentos de deformação angular (de valência e diedral). Uma vibração de alongação envolve uma variação contínua do comprimento de ligação ao longo do eixo da ligação entre os dois átomos; as vibrações de deformação angular são caracterizadas por deformações de ângulos de valência e diedros. Para um grupo  $-CX_2-$  existem os tipos de movimentos vibracionais apresentados na figura 1.2.1: duas alongações (simétrica e anti-simétrica) e quatro modos de deformação: tesoura (scissoring), deformação de balanço para fora do plano (Wagging), deformação de balanço no plano (rocking) e torção (twisting).



**Fig.1.2.1** – Movimentos de vibração molecular.

Para uma molécula com  $N$  átomos, existem  $3N$  graus de liberdade de movimento. Numa molécula não linear, 3 graus de liberdade são devidos a movimentos rotacionais, outros 3 devidos a movimentos translacionais e o resto ( $3N-6$ ) correspondem a vibrações fundamentais; se a molécula for linear, 2 graus de liberdade são rotacionais e 3 são translacionais contendo, por isso,  $3N-5$  vibrações fundamentais.

**Tabela 1.2.1** – Graus de liberdade para moléculas poliatómicas.

<b>Tipo de graus de liberdade</b>	<b>Linear</b>	<b>Não Linear</b>
<b>Translacional</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
<b>Rotacional</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Vibracional</b>	<b><math>3N - 5</math></b>	<b><math>3N - 6</math></b>
<b>Total</b>	<b><math>3N</math></b>	<b><math>3N</math></b>

O benzeno ( $C_6H_6$ ), por exemplo, terá  $(3 \times 12 - 6) = 30$  modos normais de vibração. No entanto, nem todas as vibrações são activas, isto é, podem ser observadas experimentalmente através da espectroscopia de IV. Isto depende da origem da selecção vibracional e, em particular, da simetria global da molécula e/ou das vibrações. O espectro de infravermelho do benzeno apresenta apenas 20 modos normais de vibração activos. Devido ao facto de existirem vários modos de vibração não activos.

De acordo com o modelo do oscilador harmónico simples, uma vibração molecular numa molécula diatómica pode ser explicada pela lei de Hooke (2), se as massas forem deslocadas a uma distância  $y$  da sua posição de equilíbrio pela aplicação de uma força, a força de restauro  $F$  é proporcional ao deslocamento, assim:

$$F = -Ky \quad (2)$$



onde  $K$  é a constante de força, que depende das características das ligações polares entre os dois átomos, de massa  $m_1$  e  $m_2$ . A frequência vibracional para este sistema vai ser dada por:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K(m_1 + m_2)}{m_1 m_2}} \quad (3)$$

onde  $\mu = (1/m_1 + 1/m_2)^{-1}$  é a massa reduzida do par de átomos em vibração.

A generalização do modelo do oscilador harmónico simples a sistemas poliatómicas é simples e pode consubstanciar-se, por exemplo, no método FG de Wilson e Decius [5], que resolve o problema vibracional no espectro das coordenadas internas moleculares usando um algoritmo matricial.

O desenvolvimento de métodos computacionais para prever os espectros de infravermelho de moléculas tornou este tipo de previsões importantes ferramentas complementares à experiência. Através da comparação de espectros teóricos com espectros experimentais, a atribuição de bandas pode ser feita com bastante rigor.

Assim, a espectroscopia IV tem-se afirmado como ferramenta indispensável para determinações estruturais e análise de propriedades e interacções intra e intermoleculares, bem como em estudos de reactividade química [5-7].

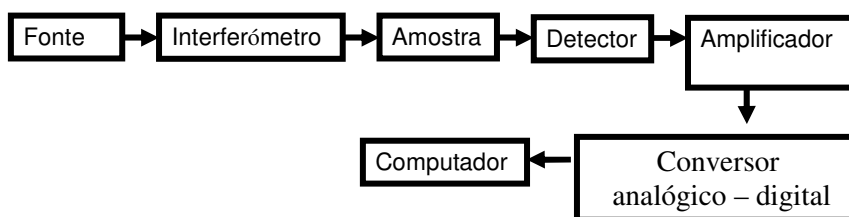
### *Espectrómetros de transformada de Fourier (FTIR)*

Para a realização deste projecto utilizámos espectrómetros de infravermelho de transformadas de Fourier (FTIR).

A base deste tipo de espectrómetro é o interferómetro de Michelson. Neste tipo de aparelho, não se utiliza qualquer tipo de monocromador, sendo o espectro obtido por meio de uma operação matemática (transformação de Fourier) a partir do interferograma resultante da interferência de dois feixes de radiação, provenientes da mesma fonte, mas com diferentes percursos, e que ocorre no interferómetro [2].

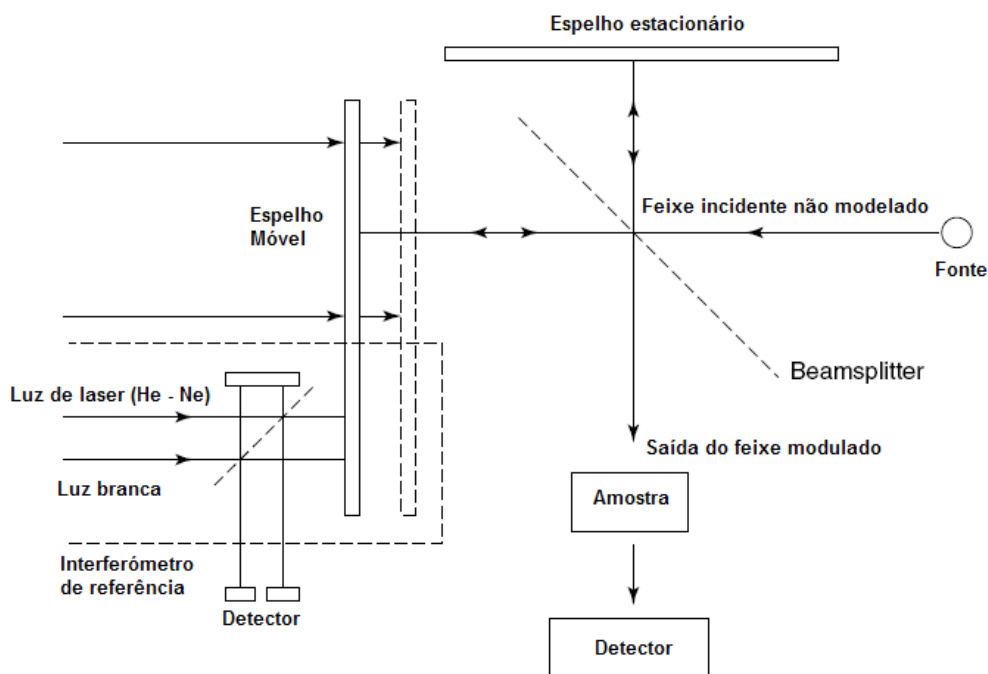
Os componentes básicos de um espectrómetro FTIR são mostrados esquematicamente na figura 1.2.2. A radiação emergente da fonte atravessa o

interferómetro ate chegar à amostra e antes de chegar a um detector. Após a amplificação do sinal, em que as contribuições das altas-frequências são eliminadas através de um filtro, os dados são convertidos para um formato digital por um conversor analógico – digital e transferidos para um computador.



**Fig.1.2.2** – Componentes básicos do espectrómetro FTIR.

No caso do interferómetro de Michelson, um feixe de luz incide num espelho semi-transparente, divisor de feixe (Beamsplitter). Este, faz com que o feixe incidente seja dividido em dois: uma parte da luz atravessa o divisor de feixe até ao espelho da direita (Figura 1.2.3), é reflectido de volta para o espelho semi-transparente e então reflectido para o detector; a outra parte é reflectida pelo espelho semi-transparente até ao espelho acima (**Fig.1.2.3**), sendo novamente reflectida passando através do espelho semi-transparente até ao detector [8].



**Fig.1.2.3** – Esquema de um interferômetro de Michelson (Stuart, B., *Modern Infrared Spectroscopy*, ACOL Series, Wiley, Chichester, UK, 1996. University of Greenwich).

As principais vantagens da espectroscopia FTIR são:

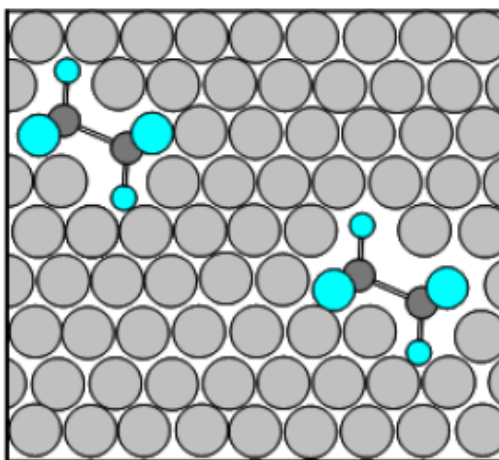
1. O instrumento apresenta poucos elementos ópticos e não necessita de fenda. A potência da radiação que chega ao detector é maior do que nos instrumentos dispersivos e maiores relações sinal/ruído são observadas.
2. Garantia de melhores precisão e exactidão em termos de comprimento de onda.
3. Todos os sinais da fonte alcançam o detector simultaneamente. Essa característica torna possível a obtenção de todo o espectro de uma só vez torna-se assim possível aumentar o número de “scans” para aumentar a razão sinal/ruído.

### 1.2.2 - Espectroscopia de infravermelho com isolamento em matrizes

Este tipo de espectroscopia apresenta inúmeras vantagens relativamente à espectroscopia de IV em condições de “amostragem clássica”. A espectroscopia de IV com isolamento em matrizes de gases nobres foi inventada por Pimentel, em 1954 [9].

Neste trabalho, o objectivo (relativamente à caracterização espectroscópica) foi isolar os compostos numa matriz de gás inerte solidificado. Nestas condições, a difusão da espécie isolada é praticamente nula e não podem ocorrer processos bimoleculares, excepto com as moléculas ou átomos que formam a matriz, que em geral são minimizados ao usar-se materiais suporte inertes (gases nobres).

De facto, a substância que constitui a matriz rígida pode ser um sólido (**Fig.1.2.4**), polímero ou uma substância líquida/gasosa. Actualmente, no entanto o termo “isolamento em matrizes” refere-se à técnica em que se utiliza um gás inerte como suporte, sendo necessário neste caso, usarem-se temperaturas muito baixas.



**Fig.1.2.4** – Esquema de uma espécie isolada numa matriz.

A espécie isolada na matriz pode ser caracterizada mediante diversos métodos espectroscópicos: IV; UV; Raman etc. Podem-se estudar espécies estáveis, radicais livres e outras espécies reactivas que podem ser geradas em matrizes a partir de espécies estáveis.

Como se disse, a técnica de espectroscopia de matrizes apresenta grandes vantagens em relação aos métodos espectroscópicos convencionais e permite realizar estudos que não se poderiam levar a cabo com esses métodos.

Embora a técnica de isolamento em matrizes tenha sido inicialmente pensada para o estudo espectroscópico de espécies reactivas, actualmente apresenta uma ampla variedade de aplicações:

- Observar e caracterizar intermediários de reacção;
- Gerar e estudar novas espécies reactivas;
- Determinar as estruturas das espécies reactivas;
- Caracterizar complexos moleculares e estudar interacções fracas entre espécies químicas diversas;
- Estudar equilíbrios conformacionais, medindo em espécies quimicamente estáveis;
- Estudar processos fotoquímicos.

Os resultados obtidos a partir desta técnica podem ser comparados com os obtidos da química computacional e por vezes também com resultados obtidos por outras técnicas.

No estudo de espécies reactivas, podem-se isolar e gerar estas espécies em matrizes, a baixas temperaturas. Uma vez depositada a matriz, podem ocorrer vários fenómenos ao variar a temperatura da matriz. Por exemplo, a barreira de energia que separa os conformeros isolados na matriz for relativamente baixa, é possível, mediante o aumento da temperatura da matriz, observar processos de interconversão conformacional, o que na pratica leva a um aumento da população do conformero mais estável [10].

Na análise espectral é importante ter em conta e mencionar alguns cuidados que se devem ter ao analisar espectros de novas espécies ou espécies reactivas: sem dúvida que os estudos prévios de espécies similares e a química computacional ajudam bastante na identificação das bandas que lhe correspondem; outros aspectos a ter em conta na hora de analisar os espectros resultam do facto de, em muitos

casos, se formarem mais do que um intermediário reactivo, aumentando consideravelmente o número de bandas. De entre muitos aspectos a ter em conta, os mais importantes são os seguintes:

- Todas as bandas atribuídas a uma dada espécie devem apresentar o mesmo comportamento em função da irradiação e da variação da temperatura;
- É conveniente realizar experiências de substituição isotópica, especialmente se existem dúvidas sobre a atribuição de alguma banda;
- Se possível, utilizar mais do que uma técnica espectroscópica;
- Também se pode gerar a espécie reactiva, ou nova, a partir de métodos distintos e independentes, como por exemplo, a partir da fotólise de dois compostos diferentes.

#### *Efeitos da matriz*

Como já foi referido anteriormente, a técnica de isolamento em matrizes permite que moléculas individuais sejam mantidas e isoladas umas das outras num ambiente rígido contendo um gás inerte, provoca uma série de efeitos que se reflectem nas características dos espectros. Estes podem ser classificados de: Químicos, Físicos e de Cage.

*Efeitos Físicos.* O principal efeito e talvez o mais importante é a inibição da difusão e da rotação das espécies isoladas em matriz. A presença de diferentes locais de isolamento do mesmo conformero na matriz é muito comum e como cada local apresenta um ambiente diferente, as interacções entre a espécie isolada e o gás da matriz variam e estas diferenças reflectem-se nas frequências vibracionais. O número de locais na matriz varia consoante o gás que é aplicado. Existem outras causas além da existência de diferentes locais de uma matriz, que podem originar o aparecimento de um maior número de bandas do que é esperado:

- Desdobramento conformacional (bandas devidas à existência de vários conformeros na matriz).

- Ocorrência de sobretons ou modos de combinação. Ressonância de Fermi, propriedade intrínseca da molécula sendo observada na matriz devido à diminuição da intensidade das bandas (resultante da interacção de modos de combinação ou sobretons com vibrações fundamentais).
- Interacções entre as espécies isoladas, interacções fracas, ligações de pontes de hidrogénio ou outro tipo de complexação. A existência destes agregados (dímeros, trímeros, etc.) leva ao aparecimento de novas bandas no espectro correspondendo a estas espécies associadas. Pode-se controlar a formação destes agregados moleculares diminuindo a proporção de espécies em relação ao gás inerte.
- Interacções com impurezas, tais como água, nitrogénio, oxigénio, etc., que podem estar presentes inclusive no gás inerte comercial empregado. Algumas destas impurezas podem interactuar com a espécie em estudo originando bandas indesejáveis.

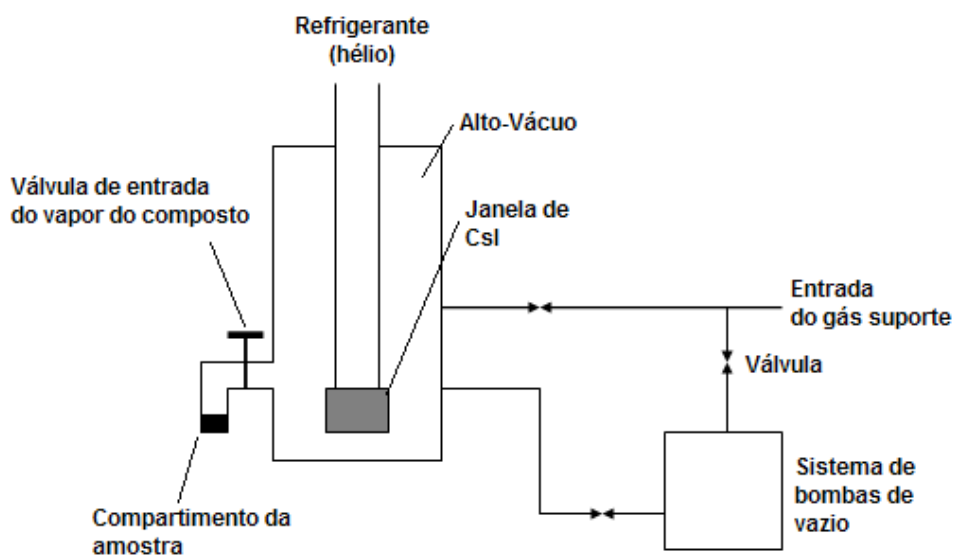
*Efeitos Químicos.* Em algumas situações existe a possibilidade de interacções de carácter químico entre a espécie isolada e o gás inerte, ou seja, é muito importante a escolha do gás da matriz dependendo dos objectivos da experiência. O nitrogénio devido ao seu baixo preço e à sua transparência à radiação IV é um dos gases mais utilizado, mas contudo, não pode ser aplicado quando se estudam átomos ou complexos metálicos. O néon é o gás que apresenta menor interacção com as espécies isoladas. Contudo, as matrizes não se encontram tão difundidas, uma vez que é necessário atingir uma temperatura inferior a 6 K e não maioria dos casos, as temperaturas conseguidas situam-se perto dos 10 K.

*Efeito cage.* Se duas espécies são geradas fotoquimicamente num mesmo local da matriz, poderá ocorrer recombinação das duas espécies. No entanto, há uma serie de factores que reduzem a probabilidade de recombinação e, portanto, é possível isolar e estudar os intermediários das reacções fotoquímicas. Um dos factores é que, em muitas reacções fotoquímicas se geram espécies pequenas e muito estáveis (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CO, etc.) que podem ser eliminadas do local da matriz.

### Descrição do dispositivo de deposição das matrizes

O dispositivo de isolamento em matrizes deve conter pelo menos:

- Um sistema de refrigeração (criostato)
- Um compartimento ou câmara para a amostra
- Um sistema de vázio ( $10^{-5} - 10^{-6}$  mbar)
- Um controlador de temperatura
- Um método para gerar as espécies de interesse (por exemplo, radiação IV ou pirólise)
- Um método de análise (geralmente um ou dois espectrómetros)



**Fig.1.2.5** – Esquema do dispositivo criogénico usado em todas as experiências realizadas a baixa temperatura.



### 1.2.3 – Referências

- [1] – J.J.C. Teixeira – Dias, *Espectroscopia Molecular Fundamentos, Métodos e Aplicações*; Fundação Calouste Gulbenkian, (1986);
- [2] - B. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Ltd., 2004;
- [3] G. Gauglitz and T. Vo-Dinh, *Handbook of Spectroscopy*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2003;
- [4] - J.C. Lindon, G.E. Tranter, J.L. Holmes, *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (volume 1-3)*, Elsevier, 2001;
- [5] - L.A. Woodward, *Introduction to the theory of molecular vibrations and vibrational spectroscopy*, Oxford University Press, London, 1972;
- [6] - I.N. Levine, *molecular spectroscopy*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1975;
- [7] - H.D. Burrows, M.M. Pereira, *Química – Síntese e Estrutura. Uma Abordagem Prática*, Escolar Editora, Lisboa, 2006;
- [8] – [Http://pt.wikipedia.org/wiki/Interfer%C3%B4metro\\_de\\_Michelson](http://pt.wikipedia.org/wiki/Interfer%C3%B4metro_de_Michelson)
- [9] – E. Whittle, D.A. Dows e G.C. Pimentel, *J. Chem. Phys*, **22**, (1954), 1943;
- [10] – A. J. Barnes, *J. Mol. Struct.*, **113**, (1984), 161.

### 1.3. Análise térmica

Entende-se por análise térmica um conjunto de técnicas analíticas, pelos quais propriedades físicas ou químicas de uma substância, uma mistura ou um composto reactivo são medidas como funções da temperatura ou do tempo, enquanto a amostra está sujeita a um programa de temperatura controlado numa atmosfera específica. O programa pode consistir em aquecer ou arrefecer a amostra, ou manter a temperatura constante (isotérmica), ou uma qualquer sequência destas. Quando exposto a uma dada temperatura por um momento de tempo ou quando submetida a uma variação de temperatura, uma dada substância pode sofrer alterações físicas ou químicas, reagir com componentes do meio ambiente, perder água de cristalização, etc., sendo que muitas dessas transformações são acompanhadas pela perda ou absorção de energia calorífica. Algumas das aplicações destas técnicas passam por: caracterização de materiais, controlo da qualidade, estudos de estabilidade, construção de diagramas de fase, determinação de pureza e estudos cinéticos [1, 2].

#### 1.3.1 - Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

A calorimetria diferencial de varrimento é uma técnica de análise térmica que regista o fluxo de energia calorífica associado a transições nas substâncias em função da temperatura. Nesta técnica, a substância em estudo e a referência são sujeitadas, ambas a um mesmo programa de aquecimento ou arrefecimento, rigidamente controlado. Sendo assim, a diferença no fornecimento de energia calorífica entre a substância e a referência é medida em função da temperatura.

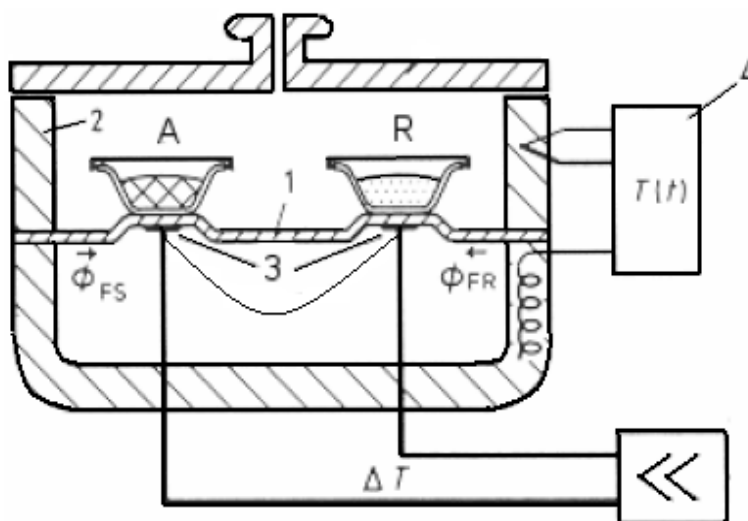
Consoante o princípio de funcionamento, podem ser distinguidos dois tipos de DSC's: o DSC fluxo de calor e o DSC de compensação de calor. Estes métodos divergem na forma de medir a diferença de fluxo de calor do forno para a amostra,  $\Phi_{FS}$ , e do forno para a referência,  $\Phi_{FR}$  [3]:

$$\Delta\Phi = \Phi_{FS} - \Phi_{FR} = -K.\Delta T \quad (1)$$

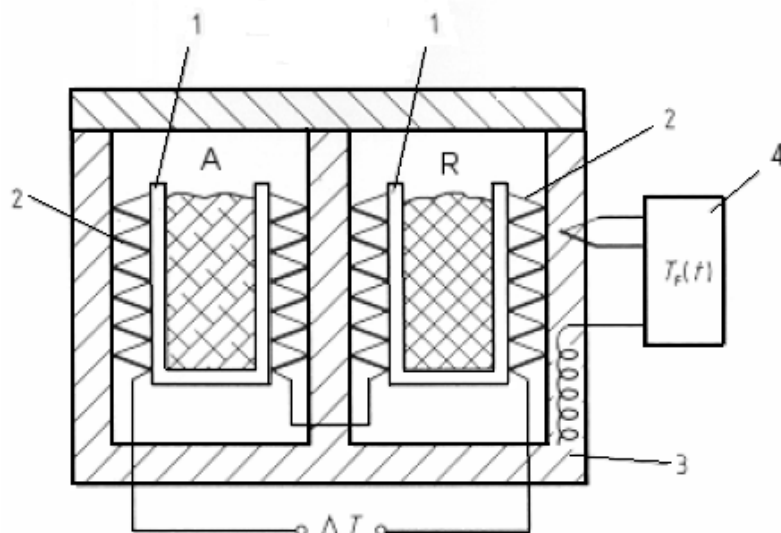
Na expressão (1),  $K$ , é a constante de proporcionalidade (constante de calibração).

O sinal medido em DSC, acessível ao utilizador, é  $\Phi$  (em  $\mu\text{W}$  ou  $\text{mW}$ ). No DSC de compensação de calor, a amostra e a referência são aquecidas por aquecedores distintos usando sensores de temperatura individuais, para que as temperaturas de ambos (amostra e referência) sejam constantes à medida que as temperaturas são aumentadas (ou diminuídas) linearmente. Trata-se de um sistema de medida activo. No DSC de fluxo de calor, sistema de medida passivo, a diferença no fluxo de calor sobre a amostra e a referência é medida conforme a temperatura é aumentada (ou diminuída) linearmente. Apesar de estes dois métodos fornecerem o mesmo tipo de informação, diferem a nível de instrumentação que requerem.

Em DSC de fluxo de calor, podemos ter dois tipos principais de instrumentos: DSC com sistema de medida tipo disco e DSC fluxo de calor com sistema de medida tipo cilindro, (Fig.1.3.1 e 1.3.2).

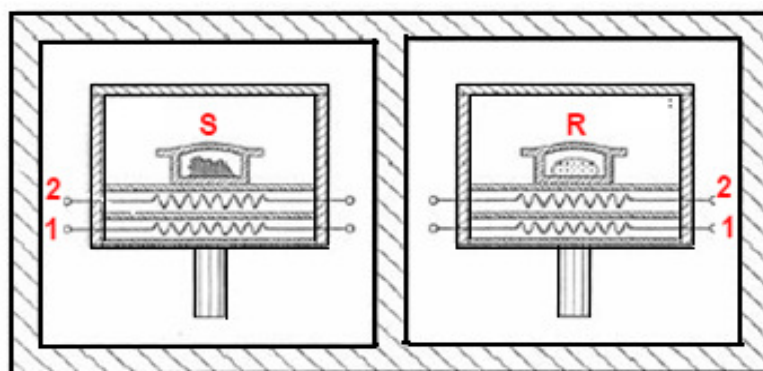


**Fig. 1.3.1** – DSC de fluxo de calor com sistema de medida tipo disco. A: amostra; R: referência; 1:disco; 2:forno; 3: sensores de temperatura; 4: controlador e programador.



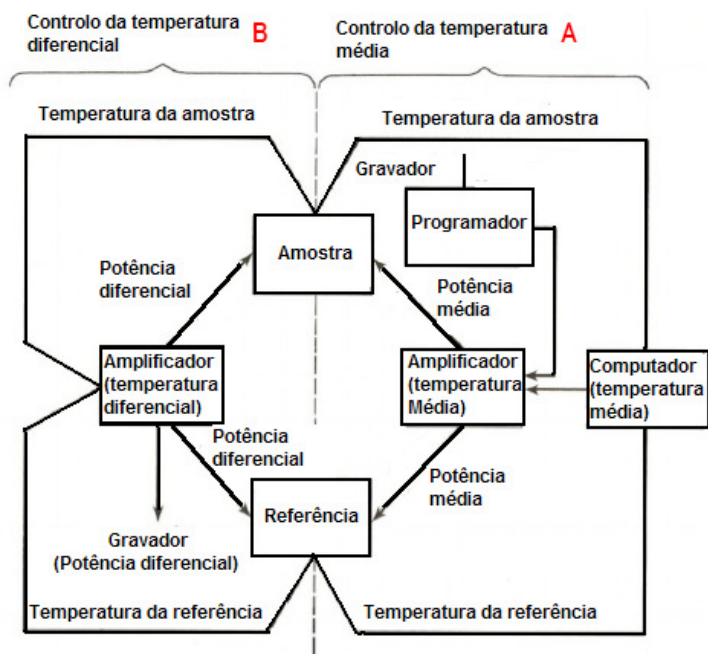
**Fig. 1.3.2** – DSC de fluxo de calor com sistema de medida tipo cilindro. A: amostra; R: referência; 1:cavidade; 2: termopilha; 3: forno; 4: controlador e programador.

No nosso caso, foi usado DSC de compensação de calor (**Fig.1.3.3**). Neste tipo de instrumentação, a amostra e a referência possuem fornos termicamente independentes, sendo estes de tamanho reduzido, o que permite aplicar altas velocidades de aquecimento, arrefecimento e equilíbrio. Possuem também sensores de temperatura individuais (normalmente termômetros de resistência de platina), para medir as temperaturas dos dois materiais continuamente.



**Fig. 1.3.3** – DSC de compensação de calor. S: Amostra; R: referência; 1: resistência de aquecimento; 2: termômetro.

São usados dois circuitos de controlo, para se obterem termogramas diferenciais, um para controlar a temperatura média, e outro para controlar a temperatura diferencial. No primeiro circuito (controlo da temperatura média - A), um sinal eléctrico é aplicado por um programa. Este sinal é proporcional à temperatura média desejada para os suportes da referência e da amostra em função do tempo. O sinal eléctrico é então comparado com a média dos sinais obtidos dos detectores da amostra e da referência. Qualquer diferença entre o sinal programado e o sinal medido pelo sensor de platina é usado para ajustar a temperatura média da amostra e da referência. A temperatura média é portanto utilizada como a abcissa do termograma.



**Fig. 1.3.4** – Representação esquemática dos circuitos eléctricos de controlo de temperatura de um aparelho de DSC de compensação de potência.

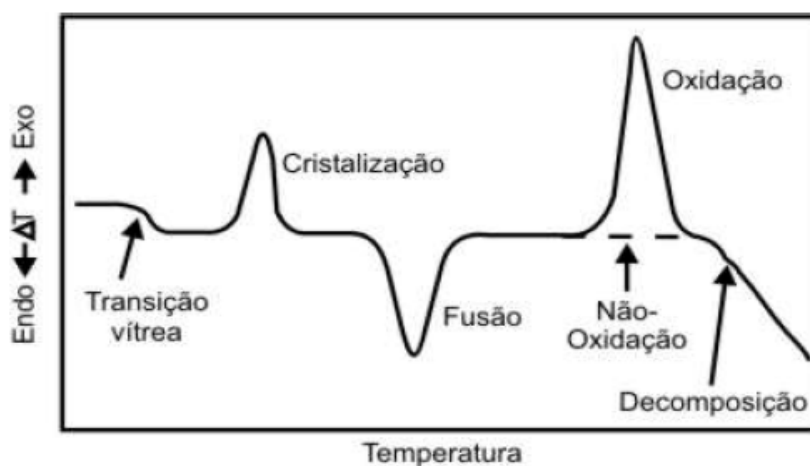
No segundo circuito (temperatura diferencial - B), um amplificador diferencial fornece os sinais da amostra e da referência através de um sensor de platina, e as potências de entrada aos dois fornos são ajustadas de modo que as temperaturas de ambos sejam mantidas iguais, de modo que ao longo da experiência, a amostra e a referência sejam isotérmicas. O sinal, que é proporcional à diferença

Entre a potência de entrada dos dois fornos, é registado no sistema de aquisição de dados. A representação esquemática destes circuitos encontra-se ilustrada na **Fig.1.3.4**.

### Definições das temperaturas características:

*Os termos usados para a descrição das curvas de medida são:*

- A *linha zero* é obtida sem amostras e sem cadinhos, ou com estes vazios. Indica a assimetria do instrumento.
- A *linha de base* (interpolada) é a linha entre a temperatura,  $T_i$ , e a temperatura final,  $T_f$ , do pico.
- Os *picos* aparecem quando o estado estacionário é perturbado por absorção ou consumo de calor. Uma reacção exotérmica resulta num desvio para cima da linha base, enquanto que a reacção endotérmica resulta num desvio para baixo da linha de base. O pico inicia-se em  $T_i$ , ascende/descende para um máximo/mínimo,  $T_{máx}$ , regressando à linha de base em  $T_f$ .



**Fig. 1.3.5** – Representação esquemática de uma curva de DSC.

As temperaturas características são:

- $T_i$ , temperatura inicial do pico.
- $T_{\text{onset}}$ , temperatura de onset, temperatura do ponto de intersecção da tangente no ponto de inflexão com a linha de base isotérmica interpolada.
- $T_{\text{máx}}$ , temperatura máxima do pico, temperatura que designa o valor máximo da diferença entre a curva de valores medidos e a linha de base interpolada.
- $T_f$ , temperatura final do pico, em que a curva alcança outra vez a linha de base.

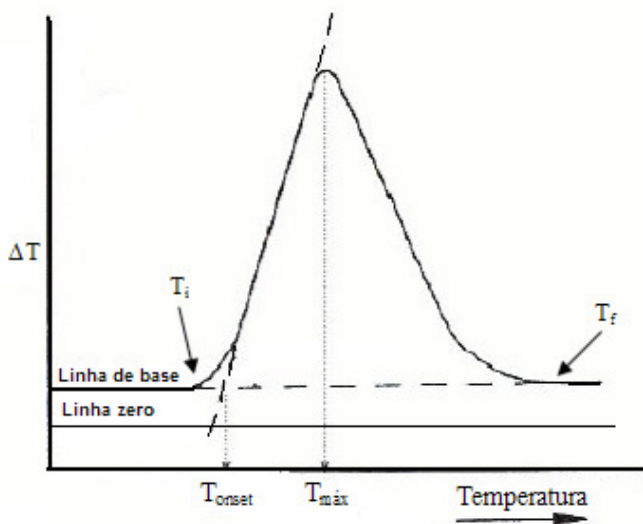


Fig. 1.3.6 – Representação esquemática de uma curva de DSC.

### 1.3.2 – Termogravimetria (TGA)

Define-se por termogravimetria o método pelo qual a massa de uma qualquer amostra numa atmosfera controlada é medida continuamente em função da temperatura ou do tempo, enquanto a amostra é sujeita a um programa controlado de temperatura crescente (normalmente, linear com o tempo). Este método permite também aquecer ou arrefecer a uma velocidade pré-estabelecida, uma medida isotérmica ou ainda numa combinação destes três tipos de estágio. Algumas das aplicações de análise termogravimétrica são, por exemplo, definição rigorosa de condições de secagem de precipitados em análise química, a definição da gama de estabilidade térmica de materiais, a definição das condições de degradação de polímeros, oxidação de metais e identificação de minerais e polímeros [4].

**Instrumentação (Fig.1.3.7):**

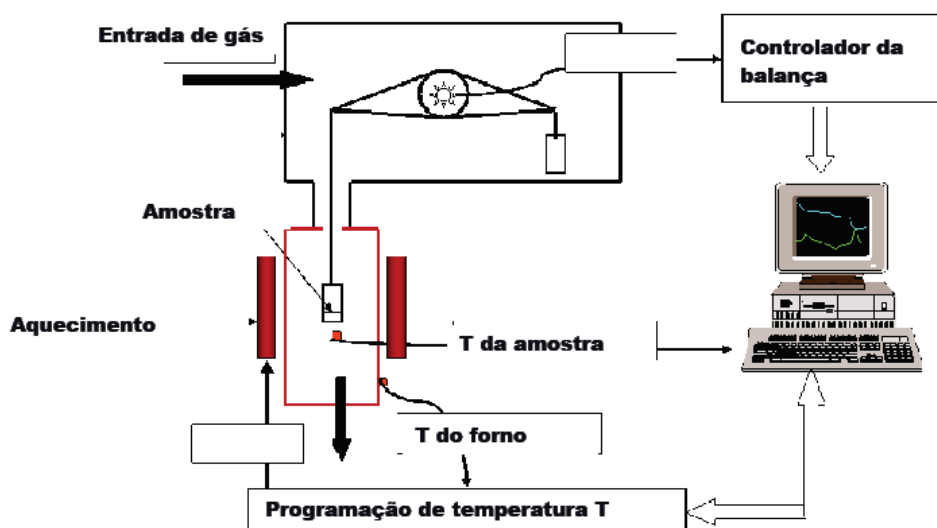


Fig. 1.3.7 – Representação esquemática de aparelho de TGA.

*Balança*, permite medições contínuas de massa da amostra durante as variações de temperatura e/ou o tempo. O uso do termo “termobalança” é usado para definir um sistema capaz de medir a massa de uma amostra em função da temperatura.



*Forno*, Existe uma ampla variedade de fornos geralmente utilizados em termogravimetria. Cada forno opera numa faixa específica de temperatura, que vai desde -170 a 2800 °C. A velocidade de aquecimento e de arrefecimento do forno pode ser seleccionada a partir de um valor um pouco maior que zero até valores mais altos (e.g. 200 °C/min). É necessário proporcionar um bom isolamento e um meio exterior envolvente arrefecido, para evitar transferência de calor para a balança. O nitrogénio ou o árgon são usados comumentemente para purgar o forno e prevenir a oxidação da amostra.

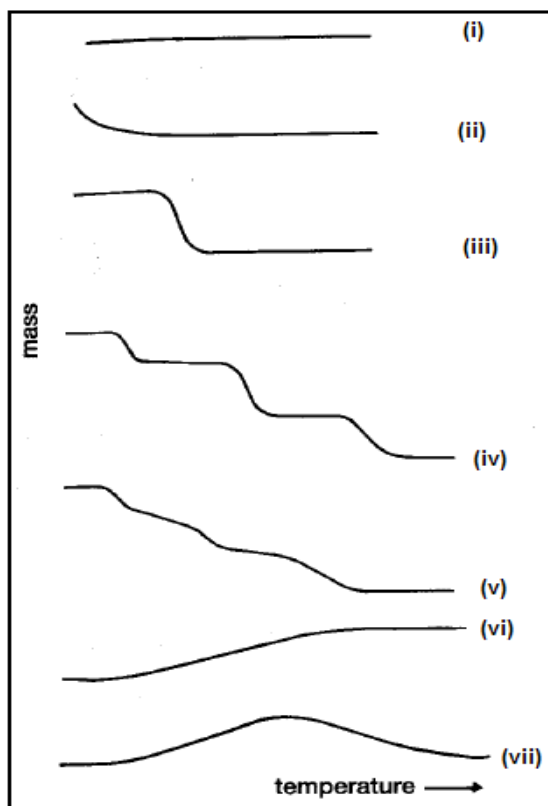
*Programador de temperatura*, a velocidade de aquecimento do forno situa-se, em geral, no intervalo de 0 a 200 °C/min. É controlada por um programador de temperatura, para manter um programa de temperatura do forno linear, ou seja, a temperatura directamente proporcional ao tempo.

*Termopar*, dispositivo constituídos por dois condutores eléctricos. Possui duas junções, uma em que a temperatura da amostra é medida e a outra a uma temperatura conhecida. A temperatura entre as duas junções é determinada pelas características dos materiais e o potencial eléctrico estabelecido. O termopar pode ser posicionado no forno, próximo da amostra, e na amostra.

A informação obtida por métodos termogravimétricos é mais limitada do que a obtida a partir do método DSC, estando a termogravimetria limitada a reacções de decomposição e de oxidação e a processos físicos como vaporização, sublimação e dessorção. Os termogramas apresentam vários tipos de curvas cujos perfis podem ser classificados de uma forma geral, tal como demonstra a figura 1.3.8.

*Curva do tipo (i)*: característica de uma amostra que sofre variações de massa durante o ciclo térmico aplicado com perda de produtos voláteis.

*Curva do tipo (ii)*: existe uma rápida perda inicial de massa que é em muitos casos associada à perda de humidade da amostra ou à dessorção de gases.



**Fig. 1.3.8** – Principais tipos de curvas termogravimétricas.

*Curva do tipo (iii):* a decomposição da amostra dá-se numa única etapa.

*Curva do tipo (iv):* apresenta várias etapas de decomposição, neste tipo de curvas pode-se determinar as temperaturas limite de estabilidade dos reagentes.

*Curva do tipo (v):* assemelha-se ao mesmo tipo de comportamento da curva (iv), sendo a amostra submetida a menores velocidades de aquecimento (arrefecimento) com intermediários instáveis.

*Curva do tipo (vi):* dá-se um ganho de massa, por exemplo, na oxidação de metais.

*Curva do tipo (vii):* este tipo de curva é muito difícil de ser observado, há aumento de massa seguido de perda de massa, por exemplo, na oxidação da prata e posterior decomposição, a altas temperaturas, do óxido formado.

Para uma melhor interpretação da curva termogravimétrica, utiliza-se normal e simultaneamente a derivada em função do tempo (curva DTG) exemplificada na figura 1.3.9. As curvas DTG aperfeiçoam a resolução e são mais facilmente comparadas a outras medidas. Além disso, são também de grande interesse para o estudo da cinética das reacções.

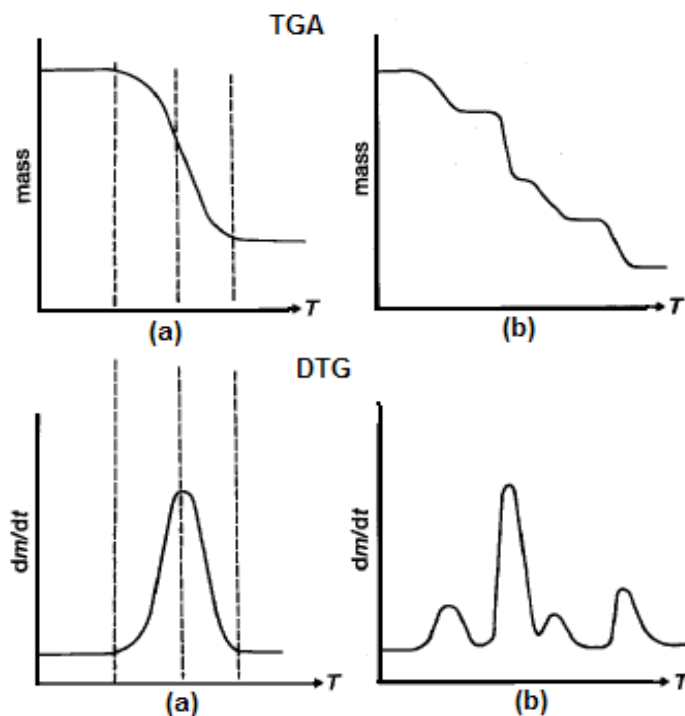


Fig. 1.3.9 – Comparação entre as curvas TG e DTG.

Dos exemplos de aplicações que acima foram referidos, podemos exemplificar um em que se aplica este tipo de método. Muitos padrões primários absorvem quantidades de água apreciáveis quando expostos à humidade, assim, com os resultados da TG pode-se detectar esta absorção e determinam a temperatura de secagem mais adequada para o composto.

### 1.3.3 – Referências

[1] - H. Willard, L.Jr. Merrit, J. Dean, *Análise Instrumental*, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, **1979**.

[2] - DuPont Instruments, *Differential scanning calorimetry – DSC 910 Operator's manual*, Wilmington, **1990**.

[3] - G. Höhne, W. Hemminger, H.- J. Flammershiem., *Differential Scanning Calorimetry – An Introduction for Practitioners*, Springer Verlag, Berlin, **1996**.

[4] - Wendlandt, W. W. *Thermal methods of analysis*. New York Interscience Publisher, **1964**.

## 1.4. Modelação molecular

A Modelação Molecular é um dos campos da ciência que mais rapidamente tem crescido nas últimas décadas. Consiste num conjunto de métodos teóricos e técnicas computacionais que servem para construir, visualizar e simular o comportamento de sistemas moleculares, com aplicações em áreas tão diversas como a Física, Química, Biologia, Ciência de Materiais e Nanotecnologias.

A Química computacional simula numericamente estruturas químicas e reacções baseando-se nas leis fundamentais da Física. Sendo assim, a química computacional permite estudar fenómenos químicos sem necessidade de recorrer à análise experimental de reacções e compostos, mas torna-se importante para auxiliar os estudos experimentais como modelo de comparação e interpretativo.

Os métodos mais importantes utilizados para calcular as propriedades moleculares são: a mecânica molecular, os métodos semi-empíricos, os métodos *ab initio* e o método da teoria das funcionais de densidade. A mecânica molecular não é um método mecânico quântico, e considera a molécula como um conjunto de átomos que se mantêm unidos por ligações, expressando a sua energia molecular em termos de constantes de forças para a distribuição da geometria da molécula a partir de uma geometria de equilíbrio.

Os métodos semi-empíricos são métodos mecânico quânticos que, em vez de empregar um Hamiltoniano molecular exacto emprega um Hamiltoniano mais simples e parâmetros cujos valores se ajustam a dados experimentais ou a resultados *ab initio*. Em contraste, um cálculo *ab initio* usa o Hamiltoniano correcto, e não emprega dados experimentais que não os valores de algumas constantes físicas fundamentais. Há que ter presente que um método *ab initio* não é estritamente exacto, pois são feitas aproximações para poder resolver matematicamente a equação de Schödinger, como a aproximação de Born-Oppenheimer e as restantes ao método Hartree-Fock, por exemplo.

No método dos funcionais de densidade não se calcula a função de onda molecular, somente a densidade de probabilidade electrónica molecular,  $\rho$ , a partir da qual se obtém a energia electrónica molecular.

### 1.4.1 – Cálculos *ab initio* e DFT

A maioria dos sistemas de interesse químico podem-se resolver usando as leis da mecânica quântica como base para os cálculos. A energia e outras propriedades relacionadas de uma qualquer molécula podem ser obtidas partindo da equação de Schrödinger:

$$\hat{H}\psi(r, R) = E\psi(r, R) \quad (1)$$

onde  $\hat{H}$  é o operador Hamiltoniano,  $\psi(r, R)$  é a função de onda, que depende das coordenadas electrónicas ( $r$ ) e nucleares ( $R$ ) e  $E$  corresponde a energia do estado estacionário descrito através da função de onda  $\psi(r, R)$ . O valor mais baixo de energia corresponde ao estado estacionário fundamental do sistema. Para uma dada molécula, o operador Hamiltoniano pode expressar-se através de um termo de energia cinética ( $T$ ) e ao termo de energia potencial ( $V$ ):

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V} \quad (2)$$

O termo de energia cinética,  $\hat{T}$ , depende apenas das massas e das coordenadas das partículas e é descrito pela a expressão seguinte:

$$\hat{T} = -\frac{h^2}{8\pi^2} \sum_i \frac{1}{m_i} \nabla_i^2 \quad (3)$$

onde  $h$  é a constante de planck,  $m$  a massa da partícula  $i$  e  $\nabla_i^2$  o correspondente operador Laplaciano.

O termo de energia potencial tem associado a si três contribuições: um termo relativo à atracção electrão-núcleo, um termo de repulsão interelectrónico e um termo relativo à repulsão núcleo-núcleo:

$$\hat{V} = -\sum_i \sum_I \left( \frac{Z_I e^2}{\Delta r_{iI}} \right) + \sum_i \sum_{j>i} \left( \frac{e^2}{\Delta r_{ij}} \right) + \sum_I \sum_{J>I} \left( \frac{Z_I Z_J e^2}{\Delta r_{IJ}} \right) \quad (4)$$

Na equação (4), os índices em letra minúscula representam os electrões, os índices em letra maiúscula representam os núcleos,  $e$  é a carga do electrão,  $Z$  o número atómico e  $\Delta r$  a distância entre as duas partículas.

Para resolver a equação de Schrödinger, utiliza-se a aproximação de Born-Oppenheimer. Isto permite que os movimentos electrónicos e nucleares sejam separados; a massa consideravelmente menor dos electrões significa que eles se podem ajustar rapidamente a qualquer mudança nas posições nucleares. Com a aproximação de Born-Oppenheimer, a função de onda total da molécula pode ser separada numa função de onda de coordenadas electrónicas e noutra de coordenadas nucleares. Por sua vez, o operador Hamiltoniano também pode ser separado em duas partes, o Hamiltoniano electrónico (5) e o Hamiltoniano nuclear (6),

$$H^{ele} = T^{ele}(\vec{r}) + V^{ele}(\vec{r}) + V^{ele-nuc}(\vec{R}, \vec{r}) + V^{nuc-nuc}(\vec{R}, \vec{R}) \quad (5)$$

$$H^{nuc} = T^{nuc}(\vec{R}) + E^{ef}(\vec{R}) \quad (6)$$

onde o potencial nuclear efectivo,  $E^{ef}$ , depende parametricamente das coordenadas nucleares e descreve a superfície de energia potencial do sistema [1, 2].

Assim, resolvendo a equação de Schrödinger para cada configuração nuclear, procura-se um conjunto de coordenadas nucleares que minimizam a energia da molécula, podendo outras propriedades, ser calculadas para a configuração de energia mínima assim obtida.

### 1.4.2 – Teoria das Funcionais de Densidade electrónica

A teoria dos funcionais de densidade (do inglês, Density functional theory DFT) é um método de estrutura electrónica, onde se usa a densidade electrónica em vez da função de onda para obter as propriedades de um determinado sistema. Isto representa uma importante vantagem relativamente à função de onda, pois a densidade depende unicamente de três coordenadas espaciais, não dependendo das coordenadas de cada uma das partículas que compõem o sistema.

As bases teóricas do método DFT foram fornecidas por Hohenberg e Kohn, em 1964 [3], quando provaram que a energia de uma molécula no estado fundamental é completamente determinada pela densidade electrónica. No entanto, apesar de os teoremas de Hohenberg-Kohn terem estabelecido os fundamentos teóricos para o método de DFT, o funcional exacto que relaciona a densidade electrónica com a energia não é conhecido, sendo necessário recorrer a funcionais aproximados.

No ano de 1965 [4], Kohn e Sham desenvolveram uma teoria de funcionais de densidade que podia ser utilizada em química computacional. De um modo geral, para os funcionais aproximados, a energia electrónica do estado fundamental pode-se expressar com a soma de vários termos:

$$E = E^T + E^V + E^J + E^{XC} \quad (7)$$

onde  $E^T$  é o termo da energia cinética electrónica,  $E^V$  descreve a energia potencial da interacção núcleo-electrão e núcleo-núcleo,  $E^J$  é o termo coulômbico de repulsão electrão-electrão e  $E^{XC}$  é o termo de correlação-troca. Este último tem em conta a energia de troca derivada do princípio de antissimetria da função de onda mecânico-quântica e a correlação dinâmica do movimento individual dos electrões, isto é, junta todas as contribuições para a energia total negligenciadas pelos termos precedentes. Todos os termos, excepto o termo de repulsão núcleo-núcleo são funções de densidade electrónica,  $\rho$ .



Hohenberg e Kohn [3] demonstraram que  $E^{xc}$  é determinada pela densidade electrónica total ( $E^{xc}$  é uma funcional de  $\rho$ ). Na prática,  $E^{xc}$  é usualmente aproximada a um integral envolvendo apenas a densidade de spin e os seus gradientes:

$$E^{xc}(\rho) = \int (\rho_\alpha(\bar{r}), \rho_\beta(\bar{r}), \nabla\rho_\alpha(\bar{r}), \nabla\rho_\beta(\bar{r})) d^3\bar{r} \quad (8)$$

Usamos  $\rho_\alpha$  para referir a densidade do spin  $\alpha$ ,  $\rho_\beta$  para referir a densidade de spin  $\beta$  e  $\rho$  para definir a densidade electrónica ( $\rho_\alpha + \rho_\beta$ ).

$E^{xc}$  é usualmente dividida em duas partes, troca (X, do inglês, “Exchange”) e correlação (C), que de facto correspondem às interacções entre o mesmo spin e entre spin diferentes, respectivamente:

$$E^{xc}(\rho) = E^x(\rho) + E^c(\rho) \quad (9)$$

Ambos os componentes podem ser de dois modos distintos: funcionais locais, dependendo apenas da densidade electrónica,  $\rho$ , ou funcionais de gradiente corrigido, dependendo de  $\rho$  e do seu gradiente,  $\nabla\rho$ .

Neste trabalho, utilizou-se um funcional híbrido que combina um termo de troca desenvolvido por Becke [5] e os funcionais de correlação desenvolvida por Lee, Yang e Parr [6], conhecido como B3LYP. Trata-se de um funcional que inclui parâmetros empíricos determinados por ajuste a um amplo conjunto de dados experimentais: energias de atomização, energias de ionização, afinidades electrónicas e afinidades protónicas e é definido por:

$$E_{B3LYP}^{xc} = (1 - a_0 - a_x) E_{LSDA}^x + a_0 E_{HF}^x + a_x E_{B88}^x + (1 - a_c) E_{VWN}^c + a_c E_{LYP}^c \quad (10)$$

Na literatura existem numerosos trabalhos que validam a utilização do método DFT para o estudo de sistemas moleculares, observando uma boa concordância com os resultados obtidos a partir dos métodos ab initio que incluem correlação electrónica. [7,8,9,10].

### 1.4.3 – Funções de base

Para realizar os cálculos computacionais empregando qualquer um dos métodos discutidos ao longo deste capítulo, é necessário eleger um conjunto de funções de base. O tipo de cálculo e as funções de base escolhidas são os principais factores determinantes da qualidade dos resultados obtidos.

Uma base de funções é um conjunto de funções matemáticas que são usadas para descrever a forma das orbitais de um átomo. Através da combinação linear destas funções é possível construir orbitais moleculares e funções de onda aproximadas. Existem dois tipos de funções de base normalmente utilizadas nos métodos de estrutura electrónica [11]: orbitais atômicos do tipo Slater (STO), que embora forneçam representações razoáveis de orbitais atômicas são de difícil tratamento matemático; e funções atômicas gaussianas, matematicamente mais tratáveis, e que têm vindo a substituir as orbitais de Slater. Compensando o facto de que uma única função Gaussiana não fornecer uma boa representação de uma orbital atômica, este tipo de função é de fácil manuseamento, porque o produto de duas Gaussianas é sempre outra Gaussiana: combinações de Gaussianas podem assim ser usadas para fazer boas aproximações a orbitais atômicas.

Alguns conjuntos de funções de base de tipo Gaussiana simples imitam orbitais atômicas do tipo Slater. Por exemplo: STO-3G é um conjunto de base que usa três funções Gaussianas para formar cada orbital do tipo Slater. Este é um modelo um pouco mais simples que o STO-4G que usa quatro Gaussianas e fornece energias ligeiramente menores que o mínimo para qualquer sistema. Conjuntos de bases são geralmente designadas como  $a$ - $bc$ G, onde cada letra corresponde ao número de funções Gaussianas usadas em cada parte do modelo:  $a$  para descrever as orbitais da(s) camada(s) interna(s), e  $b$  e  $c$  para descrever as orbitais tipo Slater (STO) necessárias para tratar a orbital atômica de valência. Quanto maiores forem estes números, mais preciso é o conjunto de base, embora maior seja o tempo requerido para completar o cálculo. 3-21G é um conjunto de base pequeno

frequentemente usado. O conjunto 6-311G produz melhores respostas, se o tempo computacional ainda for aceitável.

Neste trabalho, foi utilizada a base de funções de zeta-triplo de valência 6-311++G (d, p). Esta base de funções utiliza uma função contraída (constituída por seis primitivas gaussianas) para cada orbital atômica do cerne electrónico e três tipos de funções contraídas para cada tipo de orbital de valência. Também foram incluídas funções de polarização e funções do tipo difuso: uma função de polarização do tipo-d para descrever os átomos pesados, uma função de polarização do tipo-p para descrever os átomos leves e funções difusas do tipo-s e do tipo-p, necessárias para descrever espécies com uma densidade de carga significativa longe do centro dos núcleos.

Na execução dos cálculos foi utilizado o programa Gaussian, que permite a previsão de muitas propriedades das moléculas e reacções. Este programa realiza o cálculo dos integrais multieletrónicos, aproximando a parte espacial da função de onda de Slater com uma combinação linear de funções do tipo gaussiana:

$$g(\alpha, \vec{r}) = N x^i y^j z^k e^{-\alpha r^2} \quad (11)$$

onde N é uma constante de normalização,  $i, j, k$  são inteiros não negativos,  $\alpha$  é um expoente orbital positivo que determina o tamanho ou extensão da função e o ponto  $(x, y, z)$  representa o núcleo em que a função gaussiana está centrada.

Embora as funções gaussianas apresentem comportamentos assintóticos junto dos núcleos e a longas distâncias incorrectos, apresentam grande vantagem, relativamente às funções do tipo Slater e de serem mais facilmente manipuláveis em termos matemáticos, como se define atrás.

#### 1.4.4 – Referências

- [1] - P.A. Atkins, *Molecular Quantum Mechanics*, Oxford University Press, Oxford, 1983.
- [2] - M. Mueller, *Fundamentals of Quantum Chemistry - Molecular Spectroscopy and Modern Electronic Structure Computations*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2001.
- [3] - P. Hohenberg and W. Kohn, *Phys. Rev.*, (1964) 136.
- [4] - W. Kohn and L. Sham, *Phys. Rev. A.*, **140** (1965) 1133.
- [5] - A.D. Becke, *Phys. Rev. A.*, **38** (1988) 3098.
- [6] - C. Lee, W. Yang and R. Parr, *Phys. Rev. A.*, **37** (1988) 785.
- [7] - Novoa, J. J. y Sosa, C. *J. Phys. Chem.* **99**, (1995), 15837.
- [8] - Tuma, C.; Boese, D. A. y Handy, N. C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1**, (1999), 3939.
- [9] - Paizs, B. y Suhai, S. *J. Comp. Chem.* **19**, (1998), 575.
- [10] - Kim, K. y Jordan, K. D. *J. Phys. Chem.* **98**, (1994) , 10089.
- [11] - A. R. Leach, *Molecular Modelling PRINCIPLES AND APPLICATIONS*, 2nd ed, Pearson Education Ltd., 2001.

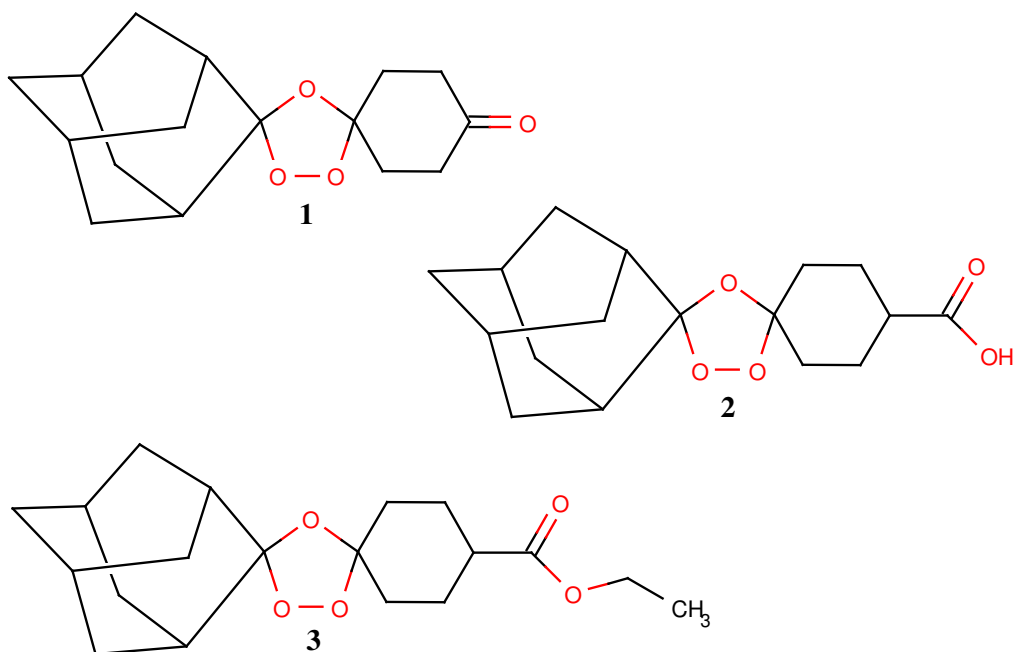
## 1.5. Objectivos do trabalho

O trabalho descrito nesta tese está inserido num projecto de investigação que tem como objectivo principal o estudo estrutural e de reactividade de endoperóxidos sintéticos com actividade antiplasmodial. O conhecimento detalhado da estrutura e reactividade química dos compostos seleccionados deverá contribuir para a elucidação das diferenças de actividade antiplasmodial observadas, *in vitro e in vivo*, e para a racionalização do mecanismo de bioactivação e acção deste tipo de compostos. Os estudos de estabilidade térmica e fotoquímica são especialmente relevantes, tratando-se de compostos que poderão ser incluídos em formulações terapêuticas.

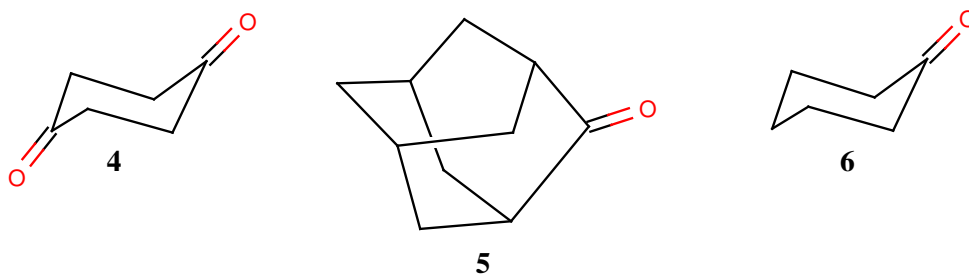
Nos estudos estruturais utilizaram-se métodos de cálculo baseados na teoria das funcionais da densidade e espectroscopia de infravermelho com isolamento em matrizes criogénicas inertes. Os estudos de estabilidade térmica foram efectuados com recurso a métodos calorimétricos (DSC e TGA). Nos estudos fotoquímicos, os compostos foram irradiados após deposição em matriz. Todos estes métodos foram sucintamente descritos nos capítulos anteriores.

Foram investigadas a estrutura molecular e fotoquímica de um conjunto de trioxolanos sintéticos. Estes compostos contêm um grupo peróxido que é essencial (**Fig.1.5.1**) para a actividade antimalárica. O mecanismo de activação e acção dos trioxolanos sintéticos estudados é, em muitos aspectos, semelhante ao do antimalárico de origem natural Artemisinina. Relativamente à artemisinina e derivados, está estabelecido que o endoperóxido da estrutura sesquiterpénica é o farmacóforo. De facto, derivados desoxigenados de artemisinina não possuem actividade antiplasmodial.

Para uma melhor interpretação dos resultados observados nos estudos fotolíticos dos trioxolanos, foram também estudados os possíveis fotoprodutos (**Fig.1.5.2**).



**Fig. 1.5.1** - Compostos sintéticos estudados, contendo o grupo endoperóxido.



**Fig.1.5.2** – Possíveis fotoprodutos.

O grupo endoperóxido é a parte mais reactiva quimicamente do anel dos trioxolanos seleccionados para estudo. Para aumentar a estabilidade química do anel, dois substituintes volumosos foram incluídos, ou seja, os grupos funcionais derivados das moléculas de adamantano, ciclohexanona (1), ácido ciclohexanocarboxílico (2), éster etil ciclohexanocarboxilato (3).

Para simplificar e para uma mais fácil compreensão ao longo deste projecto, resolveu-se abreviar o nome de 3 dos compostos estudados: [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanona: TAC (**1**), Ácido [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanocarboxílico: ATAC (**2**) e éster etílico [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanocarboxilato: ETAC (**3**). Os restantes compostos: 1,4 – ciclohexanodiona (**4**), adamantanona (**5**) e a ciclohexanona (**6**) são aqui designados pelos seus nomes, sem abreviaturas. Todos estes compostos foram sintetizados na universidade do Algarve.

Em relação ao composto ETAC, dada a sua complexidade estrutural e ao tempo computacional exigido, não foi realizada qualquer tipo de análise. A parte experimental foi realizada, mas sem qualquer tipo de sucesso, pois pela análise espectral, as bandas não correspondiam ao referido composto, estando este possivelmente contaminado. Está a ser realizado actualmente esforços para uma melhor síntese do composto ETAC.

### 2.1. Detalhes computacionais

As geometrias de equilíbrio de todas as espécies estudadas foram otimizadas ao nível de teoria DFT, utilizando um funcional híbrido que combina um termo de troca desenvolvido por Becke [1] e os funcionais de correlação desenvolvidos por Lee, Yang e Parr [2], conhecido como B3LYP, e a base de funções de zeta-tríplo de valência 6-311++G(d,p), ou seja, ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p).

As otimizações de geometria foram seguidas pelo cálculo dos espectros de infravermelho. Todos estes cálculos foram realizados com o programa Gaussian03 [3].

### 2.2. Detalhes experimentais

Os espectros de infravermelho foram registados no intervalo de 4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ , com uma resolução de 0,5  $\text{cm}^{-1}$ , usando um espectrómetro FTIR Thermo Nicolet Nexus 670. Todas as experiências com isolamento em matriz foram realizadas tendo como base de refrigeração um sistema de ciclo fechado de hélio, APD Cryogenics (com um expansor DE-202A).

Para realizar a deposição do gás da matriz (árgon N60, Air Liquide), foram usados uma linha de vazio em vidro e procedimentos manométricos de rotina. O vapor do composto em estudo foi então congelado sobre uma janela de CsI, juntamente com o gás da matriz (árgon).

A temperatura do substrato frio durante a deposição das matrizes foi, exceptuando os compostos TAC (10 K) e ATAC (13 K), de 15 K. As temperatura foi medida directamente na zona de colocação da amostra através de um sensor (um díodo de silício) e monitorizada através de um controlador digital de temperatura Scientific Instruments 9650-1, com uma precisão de  $\pm 0.1$  K.



As matrizes foram irradiadas através de uma janela de quartzo, usando como fonte luminosa uma lâmpada de xénon/mercúrio de alta pressão HBO200, colocada aproximadamente a 15 cm da amostra e intercalada por um filtro de água. As irradiações foram efectuadas sem a utilização de filtro, assim como com filtros transmitindo luz de comprimentos de onda superiores a 234 e 328 nm. O filtro de água tem como função absorver a irradiação infravermelho evitando que a matriz sobreaqueça e o composto se decomponha. O tempo de irradiação variou em cada experiência efectuada.

As experiências foram realizadas no laboratório de Crioespectroscopia e Bioespectroscopia molecular do Departamento de Química da Universidade de Coimbra.

### **2.3. Detalhes experimentais da análise térmica**

As experiências de calorimetria diferencial de varrimento foram realizadas utilizando um calorímetro DSC de potência compensada (Pyris 1 Perkin-Elmer) previamente calibrado. Um fluxo de azoto gasoso (20 mL/min) foi utilizado como gás de purga e o arrefecimento realizado com *intracooler*, com circulação de uma mistura de água/etilenoglicol (1:1 v/v) a -10 °C.

Neste estudo foram usados cápsulas de alumínio, 50 µL, e as amostras analisadas à velocidade de varrimento de 10 °C/min num intervalo de temperaturas entre 25 e 250 °C. Foram usadas massas de amostra, TAC ou ATAC, compreendidas entre 1 e 2 mg.

As experiências foram realizadas no laboratório de Termodinâmica Molecular do Departamento de Química da Universidade de Coimbra.

As experiências de termogravimetria foram realizadas utilizando um analisador TA Q500 (sensibilidade da termobalança: 0,1 microgramas). Temperatura de calibração realizada no intervalo de 25 – 1000 °C, medindo o ponto de Curie do padrão níquel. Neste estudo foram utilizados cadinhos de platina abertos e um fluxo de purga de nitrogénio seco de 100 mL/min. As amostras foram analisadas à

velocidade de varrimento de 10 °C/min num intervalo de temperaturas entre 50 e 600 °C. Foi usada massa de amostra, TAC, com o valor de 11,2 mg.

As experiencias foram realizadas no Departamento de Engenharia Química.



**Fig.2.2.1** – Equipamento utilizado no Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra: A – linha de vazio, B – sistema de bombagem, C – criostato e D – célula de Knudsen com dupla termostatização, constituída pela a válvula de agulheta e o recipiente da amostra.

## 2.4. Referências

[1] - A.D. Becke, *Phys. Rev. A.*, **38** (1988) 3098.

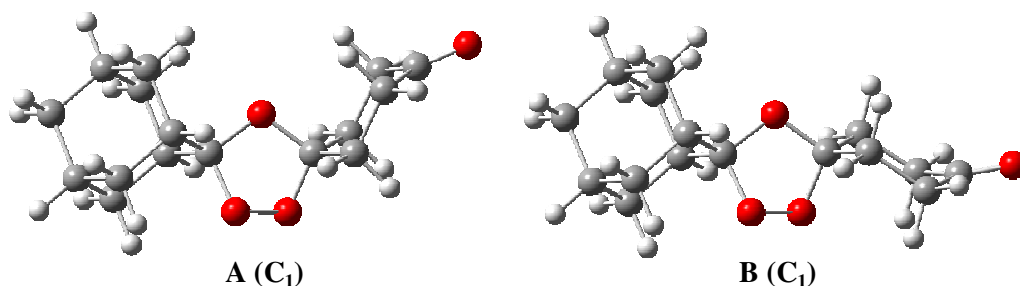
[2] - C. Lee, W. Yang and R. Parr, *Phys. Rev. A.*, **37** (1988) 785.

[3] - Frisch, M.J. Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2004.

### 3.1. [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanona (TAC)

#### *Geometrias e energias*

A estrutura molecular do composto TAC em estudo foi investigada ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p). Os estudos teóricos foram realizados com o objectivo de prever as possíveis conformações que a molécula pode assumir. Deste modo, foram encontrados dois confórmeros para a molécula TAC (**Fig.3.1.1**). As estruturas destes confórmeros foram optimizadas, minimizando a energia, e de seguida foram calculados os respectivos espectros vibracionais teóricos.



**Fig.3.1.1** – Confórmeros A e B, do composto TAC.

Foram calculadas as populações ( $P$ ) esperadas para estes dois confórmeros na fase gasosa, à temperatura ambiente, considerando o valor de  $\Delta E$  e utilizando-se a expressão:

$$\frac{P_i}{P_j} = \frac{g_i}{g_j} e^{-\frac{\Delta E}{RT}} \quad \text{com} \quad \sum P = 1, \quad (1)$$

onde  $i$  e  $j$  se referem a dois confórmeros distintos,  $g$  é grau de degenerescência (neste caso para os confórmeros A e B é 1), e  $R$  é a constante dos gases ideais (8.314 J K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>).

Obtiveram-se os seguintes resultados:

$$T \text{ (K)} = 298,15; \quad \text{confórmero A} = 42,6\%$$

$$\Delta E_{(A-B)} \text{ (kJ mol}^{-1}\text{)} = 0,735 \quad \text{confórmero B} = 57,4\%$$

O confórmero B, que apresenta uma energia mais baixa, tem uma população de 57,4%

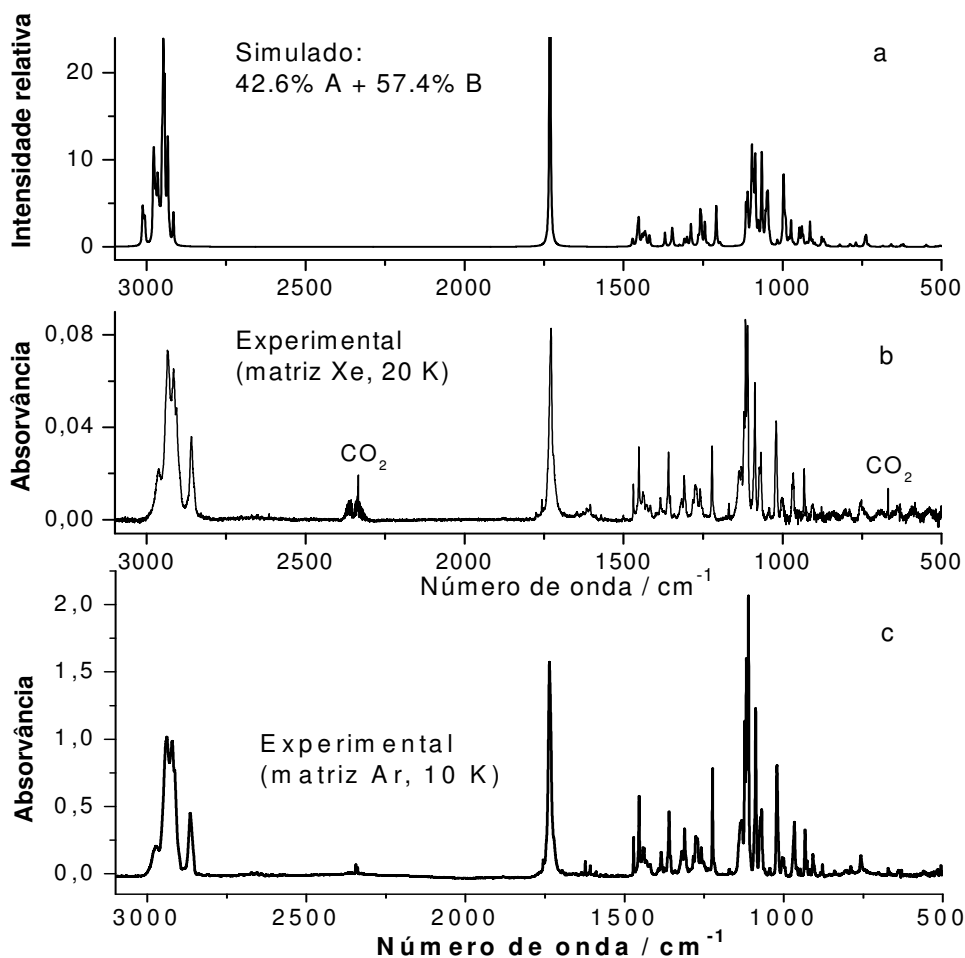
**Tabela 3.1.1** – Energias e momentos dipolares dos dois confórmeros da molécula TAC calculados ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p).

Confórmero	Energia (kJ mol <sup>-1</sup> )	Momento Dipolar / Debye
		$\mu_{\text{total}}$
A	-2425206,413	3,5533
B	-2425207,148	3,8720

Na Tabela 3.1.1 apresentam-se os momentos dipolares dos dois confórmeros da molécula TAC, calculados ao nível DFT. Como se pode verificar, a forma mais estável apresenta o valor mais alto de momento dipolar.

#### *Espectros experimentais e teóricos*

Além do cálculo dos espectros teóricos destes confórmeros, foram obtidos também espectros experimentais. O composto foi isolado em matrizes de xénon e árgon, permitindo a obtenção de espectros infravermelhos com elevada resolução. Na figura 5.2 apresentam-se os espectros infravermelhos simulados (espectro teórico resultante da soma dos espectros dos dois confórmeros ponderados pelas suas populações relativas) e obtido experimentalmente (com as condições indicadas no Capítulo 2) imediatamente após deposição do composto nas matrizes de xénon e árgon.

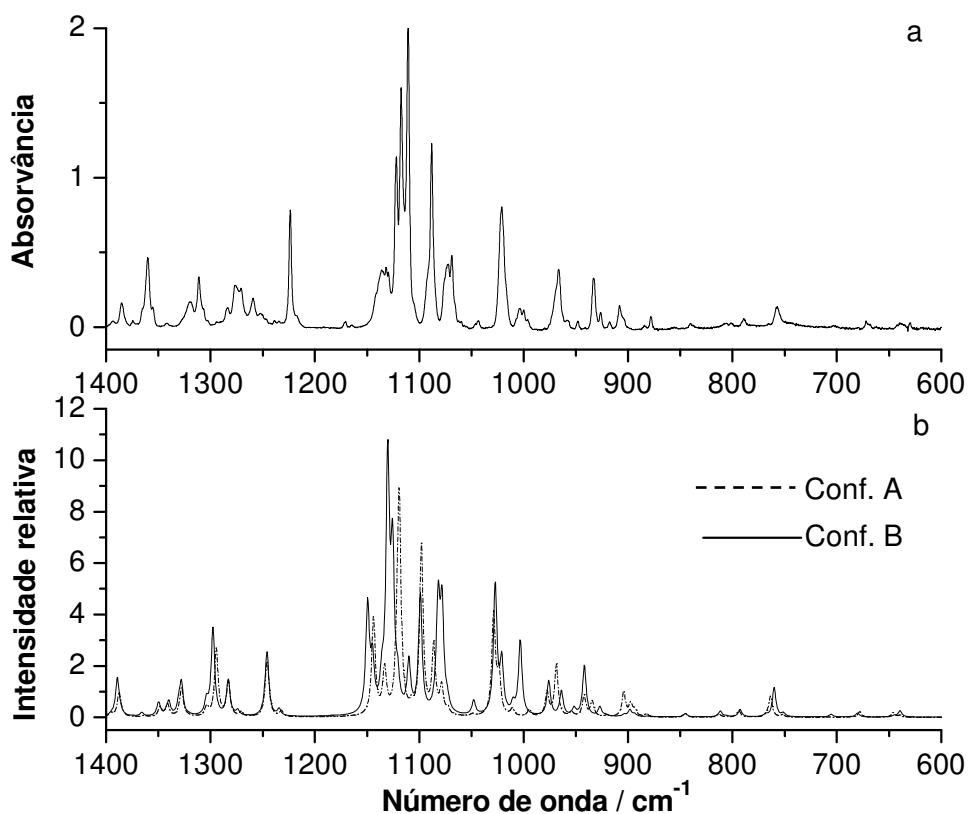


**Fig.3.1.2** – a – Espectro teórico de infravermelho do composto TAC calculado ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) (intensidades dos dois conformeros multiplicadas pela população relativa calculada a 298,15 K); b e c - espectros experimentais de infravermelho do composto TAC isolado em matrizes de xénon e árgon.

O espectro apresentado na Figura 3.1.2.b corresponde à amostra preparada por deposição do vapor do composto à temperatura ambiente (298 K), com o substrato óptico (janela CsI) mantido a 20 K, utilizando xénon como material de matriz. O espectro 3.1.2.c corresponde ao mesmo composto isolado em matriz de árgon a 10 K. É importante referir que os espectros calculados ao nível DFT

(B3LYP)/6-311++G(d,p), para poderem ser comparados com os obtidos experimentalmente, têm que ser escalados por um factor. isto para ajudar a compreensão e visualização dos resultados.

O espectro simulado está em concordância com os espectros experimentais. Na região dos  $3000\text{ cm}^{-1}$ , encontram-se bandas referentes às elongações C–H e, na região dos  $1750\text{ cm}^{-1}$ , a banda de elongação carbonílica (C=O).

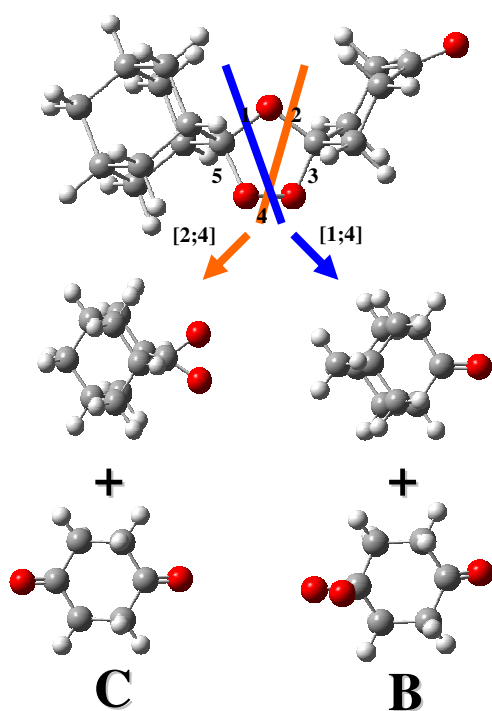


**Fig.3.1.3** – a – Espectro experimental do composto TAC isolado (em matriz de árgon) (10 K); b – espectros teóricos de infravermelho dos conforméros A e B calculados ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) (intensidades dos dois conforméros multiplicadas pela população relativa calculada a 298.15 K).

Na figura 3.1.3.a apresenta-se o espectro depositado (em matriz de árgon) do TAC e na figura 3.1.3.b os espectros teóricos dos dois conforméros, A (a tracejado)

e B do TAC. Da análise dos espectros teóricos representados, podemos confirmar que na região dos 1400 aos 600  $\text{cm}^{-1}$ , os espectros dos dois conformémeros diferem (não muito significativamente) e que o conformémero B tem bandas mais intensas que o conformémero A. Assim, a presença de ambos os conformémeros na matriz foi confirmada, estando presente maioritariamente o conformémero B.

O composto depositado na matriz foi depois irradiado usando uma lâmpada de mercúrio/xénon. O espectro da matriz irradiada revelou que o composto sofreu fotólise. Foram simulados os possíveis foto-produtos do TAC:

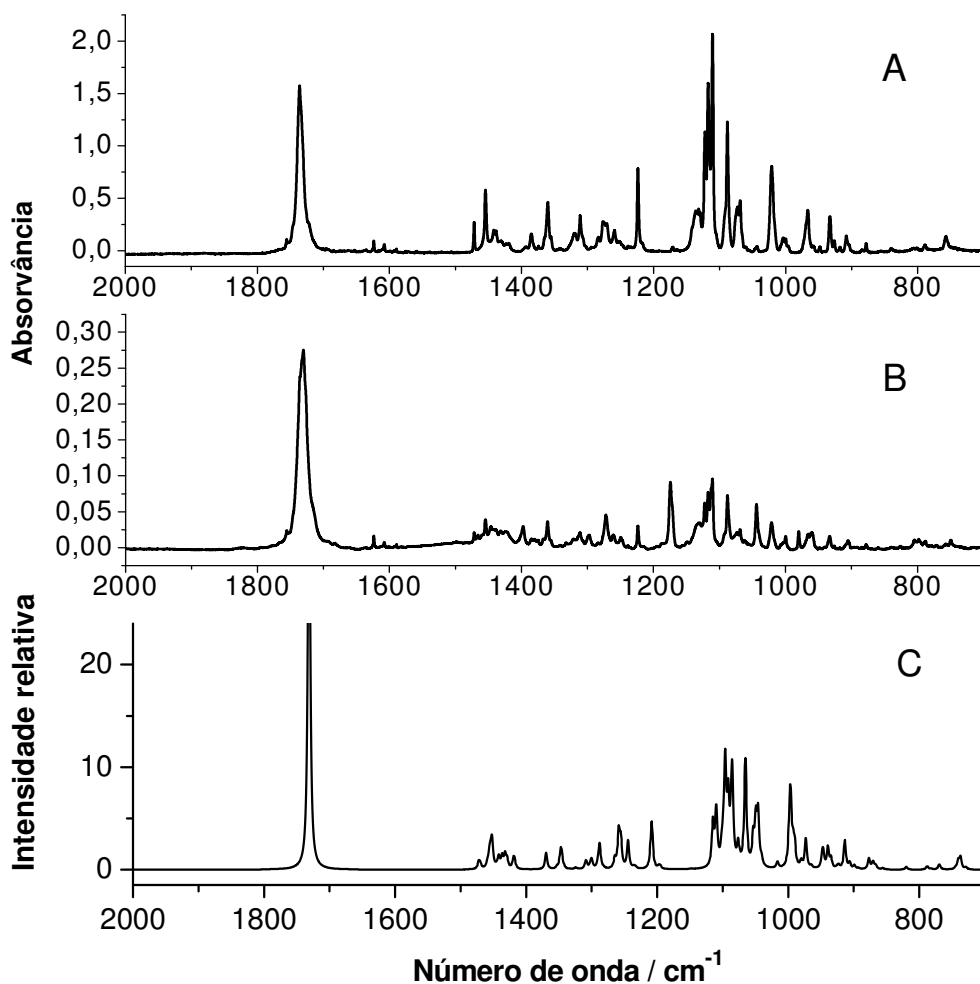


Estruturalmente, as ligações mais frágeis do composto correspondem às ligações O–O e C–O do fragmento central da molécula. Fotoquimicamente, o trioxalano pode sofrer clivagem nas ligações [2;4] e [1;4] dando origem a eventuais produtos (C e B) respectivamente.

**Fig.3.1.4** – Possíveis foto-produtos.

Alguns destes foto-produtos possíveis foram estudados mais detalhadamente como compostos de partida. Os respectivos resultados são apresentados nos capítulos 3.3, 3.4 e 3.5. A seguir serão mostradas comparações entre espectros de amostra recém-depositada (matriz de árgon) e irradiada, e os espectros simulados dos possíveis foto-produtos.

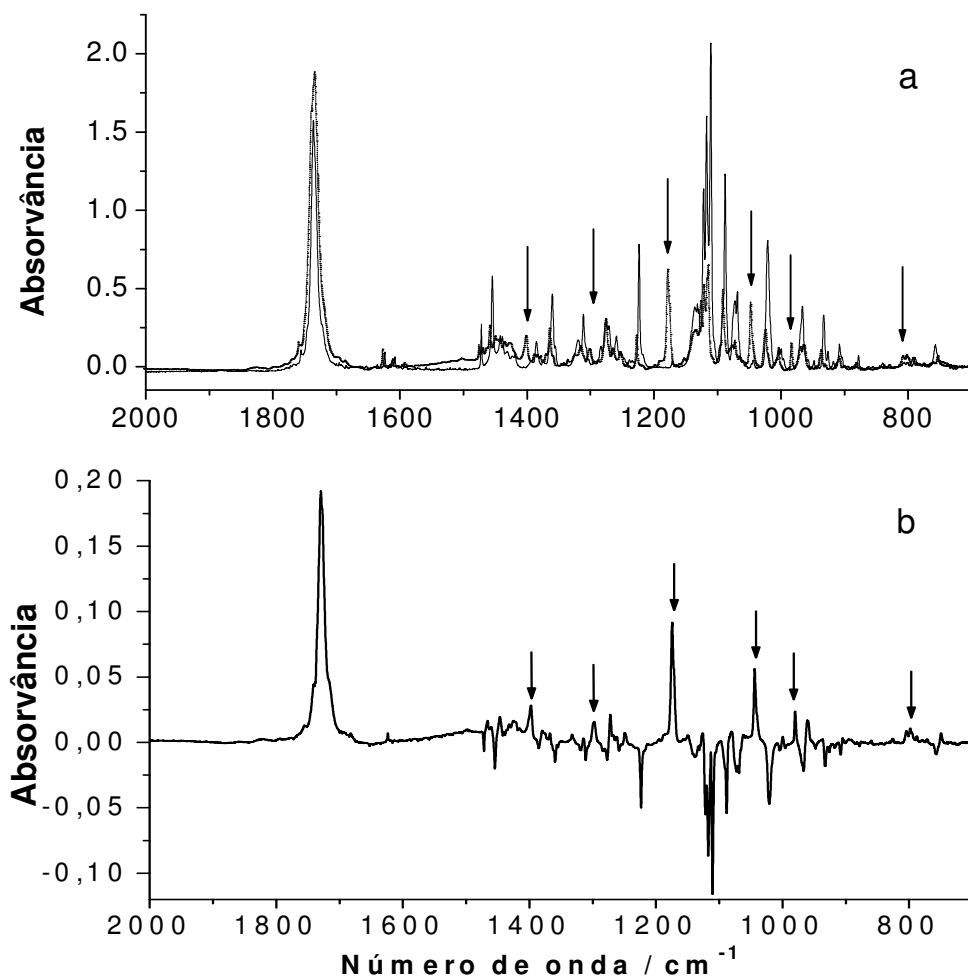




**Fig.3.1.5** – A – Espectro experimental (em matriz de árgon) (10 K) do composto TAC, B – espectro obtido após irradiação, C – espectro calculado DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) para o composto TAC.

A figura 3.1.5 apresenta uma comparação dos espectros da matriz recém – depositada e irradiada. A Figura 3.1.5.A apresenta o espectro experimental referente à matriz recém-depositada; 3.1.5.B refere-se à amostra irradiada e 3.1.5.C ao composto TAC simulado. Podem observar-se diferenças significativas entre os espectros da matriz irradiada e os outros dois, podendo assim concluir-se da conversão do TAC noutras substâncias. Foi na região dos 2000 aos 700 cm<sup>-1</sup> que se observou um maior número de diferenças. Podemos ver que houve bandas que

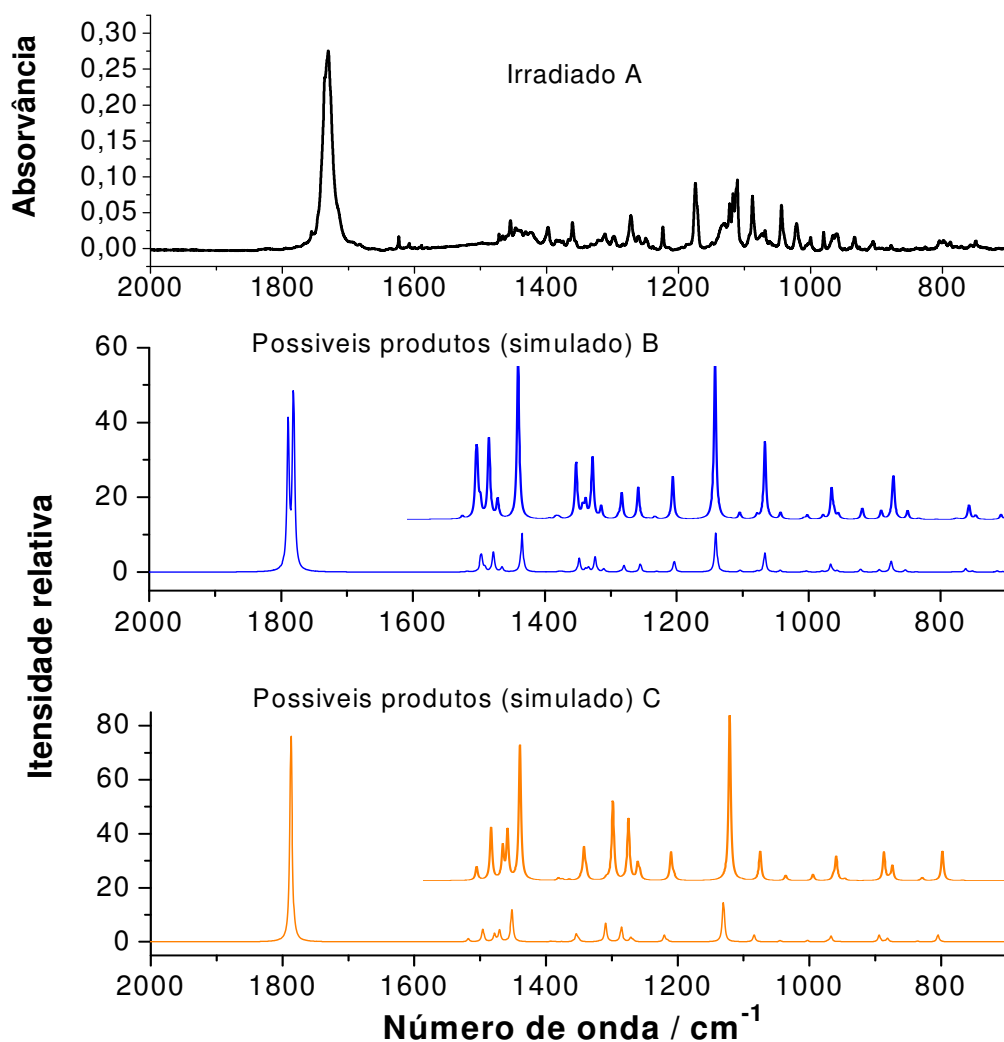
diminuíram de intensidade, outras que surgiram e outras que desapareceram. Podemos observar melhor tal facto, subtraindo o espectro irradiado ao espectro da matriz recém-depositada (ver figura 3.1.6).



**Fig.3.1.6** – a – espectro experimental do composto TAC depositado em matriz de árgon (10 K) (a linha continua) e espectro irradiado (a tracejado) do TAC; b – Espectro resultante da subtração.

As bandas que estão a positivo referem-se as novas bandas que surgiram após a irradiação e estão indicadas por setas. Estas bandas positivas correspondem aos possíveis foto-produtos.

Os espectros apresentados na figura 3.1.7 correspondem aos espectros para os possíveis foto-produtos B (a azul) e os possíveis fotoprodutos C (a laranja). Nota-se uma certa semelhança entre eles, embora na região dos  $1800\text{ cm}^{-1}$  em B existam duas bandas referentes às elongações carbonílicas, enquanto que em C se observa apenas uma banda nesta região, devido à existência de vibrações da mesma energia degeneradas.



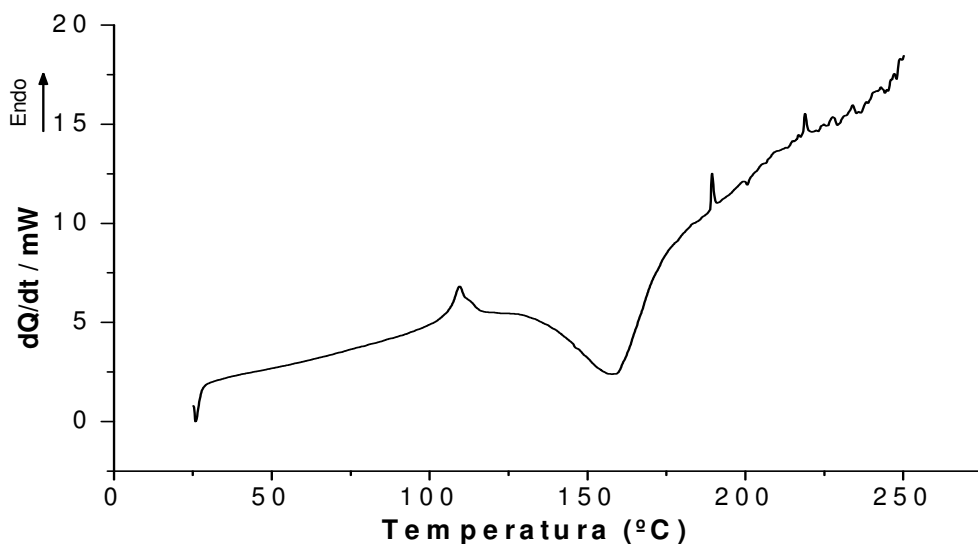
**Fig.3.1.7** – A – espectro após irradiação do composto TAC, B e C – espectros calculados DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) para os possíveis foto-produtos,

Podem-se observar algumas semelhanças entre os espectros simulados dos possíveis foto-produtos e o espectro da matriz irradiada, nomeadamente na região entre os 1400 e os 700  $\text{cm}^{-1}$ . Da comparação dos espectros, pode, no entanto, concluir-se que os foto-produtos não representam apenas B ou apenas C, mas são muito provavelmente uma mistura de ambos os grupos de produtos.

A identificação de bandas devidas a um foto-produto individual foi tentada, mas mostrou-se impossível de realizar na prática, dada a complexidade estrutural do composto e a semelhança dos seus espectros.

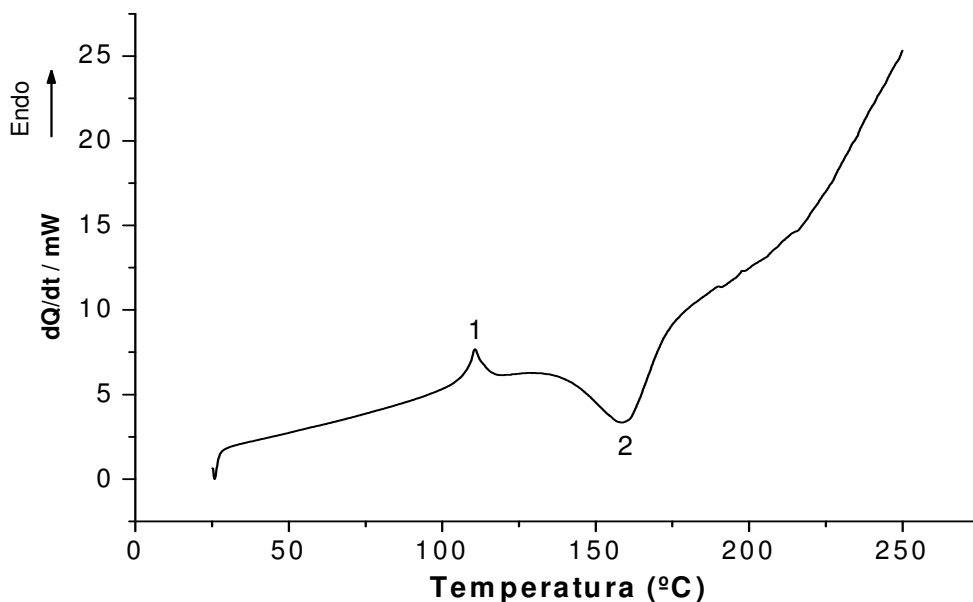
### *Análise térmica*

Através de recurso a métodos de análise térmica (DSC e TGA) efectuou-se um estudo de estabilidade térmica deste composto (com as condições indicadas no Capítulo 2). O método de DSC regista o fluxo de energia calorífica associado às transições nos materiais em função da temperatura, sendo um método de variação entálpica. A variação total de entalpia atribuída a cada pico é calculada com base na sua área. Foram realizados dois ensaios sobre amostras do TAC, tendo-se obtido os termogramas apresentados nas figuras 3.1.8 e 3.1.9.



**Fig.3.1.8** – Termograma registado no aquecimento do composto TAC, entre 25 e 250 °C,  $m = 1.28$  mg, velocidade de aquecimento = 10 °C/min.

Observa-se, na figura 3.1.8 um pico endotérmico,  $T_{\text{onset}} \sim 105 \text{ }^\circ\text{C}$ , com baixo valor entálpico ( $\Delta H = 18,5 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ), seguido de uma exotérmica,  $T_{\text{onset}} \sim 134 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\Delta H = -206,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ .



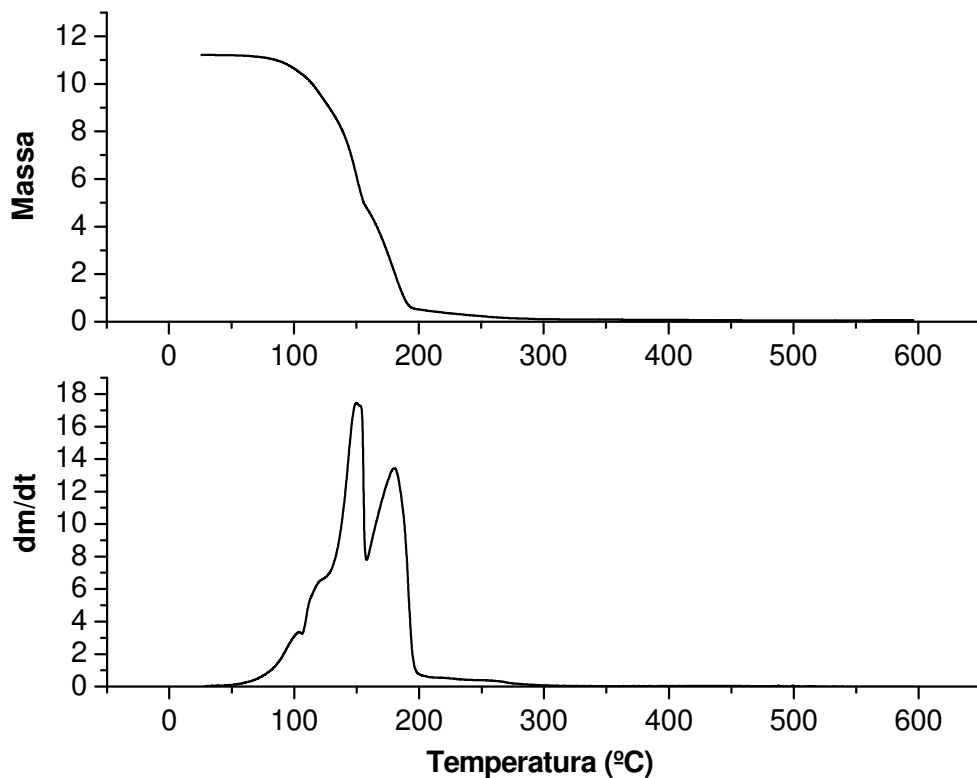
**Fig.3.1.9** – Termograma registado no aquecimento do composto TAC, entre 25 e 250 °C,  $m = 1.27 \text{ mg}$ , velocidade de aquecimento =  $10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ .

Na figura 3.1.9, observa-se um pico endotérmico,  $T_{\text{onset}} \sim 106 \text{ }^\circ\text{C}$ , com baixo valor entálpico ( $\Delta H = 19,5 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ), que poderá resultar, por exemplo da fusão, seguido de uma exotérmica,  $T_{\text{onset}} \sim 136 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\Delta H = -191,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$ , que se estende num intervalo alargado de temperatura. O perfil do termograma aponta para que este último processo corresponda a degradação térmica da substância em estudo, como se pôde concluir na análise dos resultados obtidos por termogravimetria.

Podemos constatar que ambos os ensaios estão em concordância em relação às temperaturas (onset) e às entalpias obtidas.

Define-se por termogravimetria o método pelo qual a massa de uma qualquer amostra numa atmosfera controlada é medida continuamente em função da

temperatura ou do tempo, enquanto a amostra é sujeita a um programa controlado de temperatura crescente.



**Fig.3.1.10** – Termograma referente à termogravimetria registado no aquecimento do composto TAC, entre 50 e 600 °C,  $m = 11.2$  mg, velocidade de aquecimento = 10 °C/min.

A termogravimetria (figura 3.1.10) confirmou que o composto em estudo sofre degradação térmica num processo que ocorre em três fases. Pela análise do gráfico podemos verificar que o composto em estudo começa a degradar-se aproximadamente a partir dos 130 °C, onde ocorre o início da perda de massa.

### 3.2. Ácido [1,2,4] – trioxolano-3-adamantano-5-ciclohexanocarboxílico (ATAC)

#### Geometrias e energias

A estrutura molecular do composto ATAC foi investigada ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p).

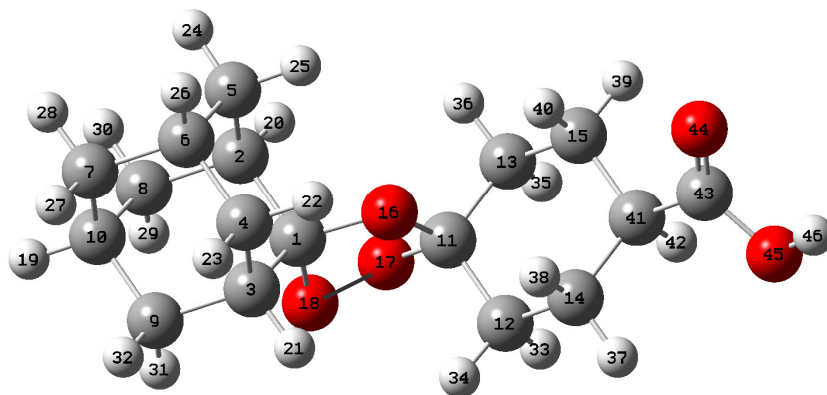


Fig.3.2.1 – Numeração adoptada para o composto ATAC.

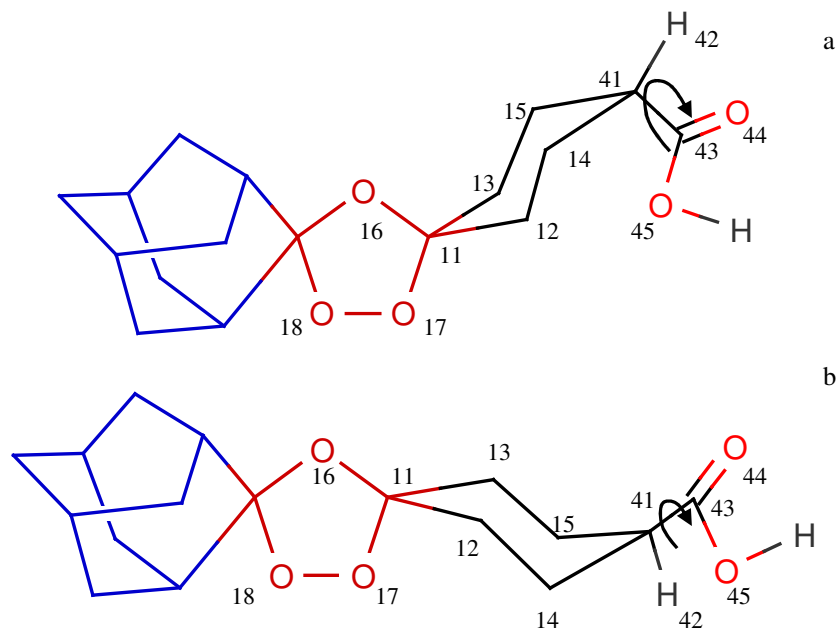
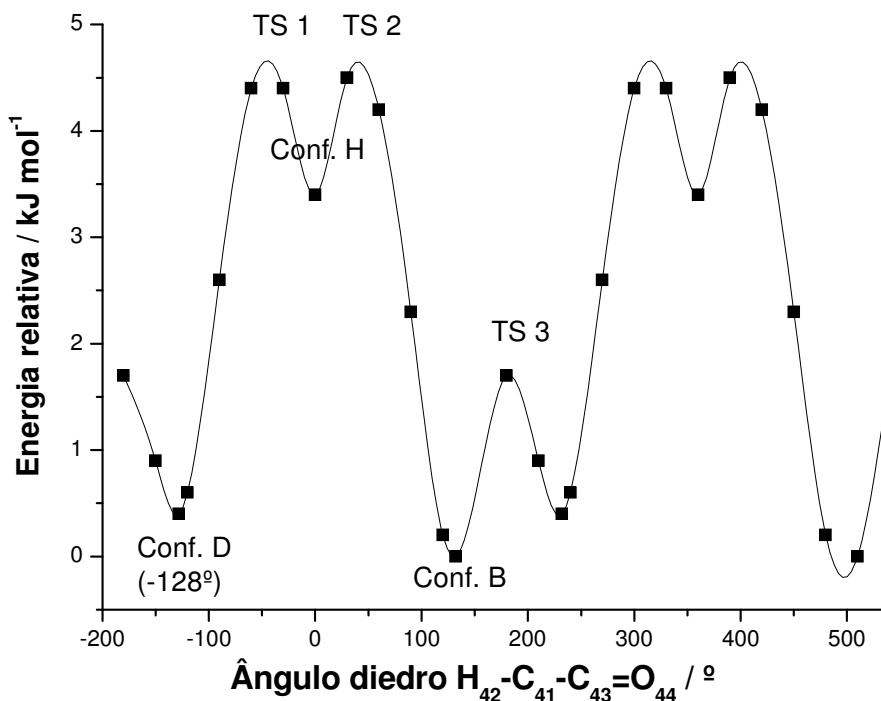


Fig.3.2.2 – Representação esquemática da rotação em torno da ligação  $C_{41}-C_{43}$ .

Foram encontradas 11 estruturas únicas: isómeros (em relação à posição do fragmento ácido face ao anel ciclohexano: Equatorial e Axial, e em relação à posição do anel ciclohexano face ao anel trioxolano) e conformémeros (por rotação do ângulo diedro H-C-C=O). Para aumentar a estabilidade química do anel do trioxolano (a vermelho), dois substituintes volumosos foram incluídos na molécula, derivados do adamantano (a azul), que apresenta uma estrutura rígida e do ácido ciclohexanocarboxílico (a preto). O composto ATAC assume dois conformémeros: na figura 3.2.2.a o ângulo diedro (O<sub>16</sub>-C<sub>11</sub>-C<sub>13</sub>-C<sub>15</sub>) do ciclohexano na posição *cis* em relação ao oxigénio O<sub>16</sub> do trioxolano, assume uma conformação em cadeira, que por rotação interna do mesmo ângulo diedro origina uma conformação em barco (figura 3.2.2.b), estando agora o ângulo diedro (O<sub>16</sub>-C<sub>11</sub>-C<sub>13</sub>-C<sub>15</sub>) do ciclohexano na posição *trans* (em relação ao O<sub>16</sub>). Os restantes conformémeros foram obtidos variando o ângulo diedro H<sub>42</sub>-C<sub>41</sub>-C<sub>43</sub>=O<sub>44</sub> do fragmento ácido, rodando a ligação C<sub>41</sub>-C<sub>43</sub> (conforme representado pelas setas na figura 3.2.2). Na figura 3.2.2.a o fragmento ácido encontra-se na posição *trans* e na figura 3.2.2.b, assume a posição *cis*, ambos em relação ao oxigénio O<sub>16</sub>.

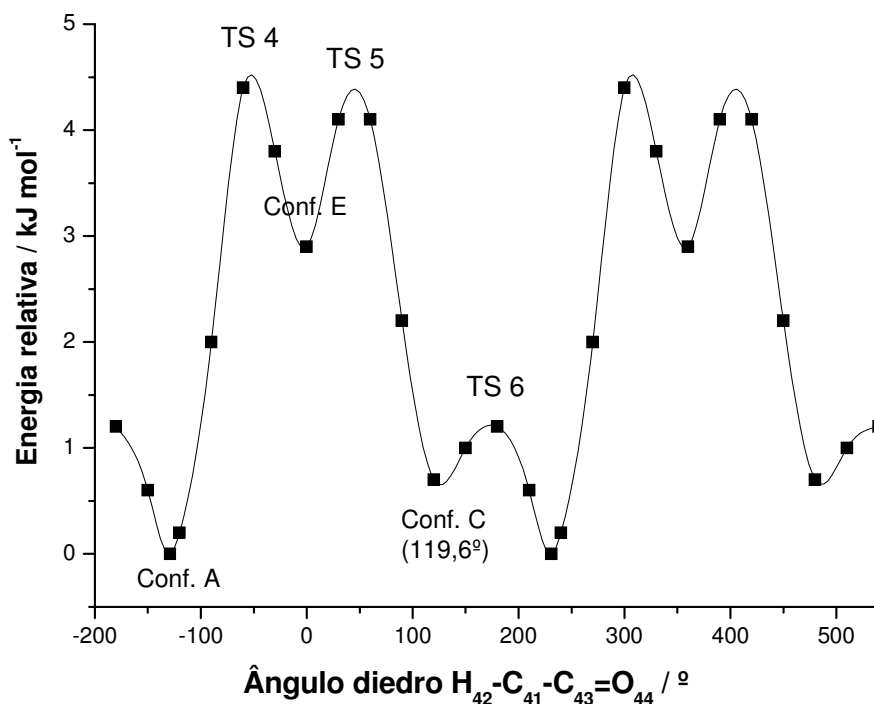
Foram traçados os perfis de energia potencial associados às rotações internas que interconvertem os conformémeros do composto ATAC (figuras 3.2.3 e 3.2.4). As curvas de energia potencial para rotação interna foram calculadas através de um varrimento na superfície de energia potencial ao nível DFT (B3LYP)/6-31G(d,p), obtendo-se 3 mínimos possíveis para cada perfil de energia potencial. As estruturas do estado de transição para interconversões conformacionais foram obtidas usando o método STQN [1].





**Fig.3.2.3** – Curva de energia potencial para a rotação interna do ângulo diedro H<sub>42</sub>-C<sub>41</sub>-C<sub>43</sub>-O<sub>44</sub> do composto ATAC ao nível DFT (B3LYP)/6-31G(d,p). Ao longo do varrimento na superfície de energia potencial, apresentado nesta figura, o anel ciclohexano e o grupo ácido encontram-se ambos na posição *cis* em relação ao oxigênio O<sub>16</sub> do anel trioxolano.

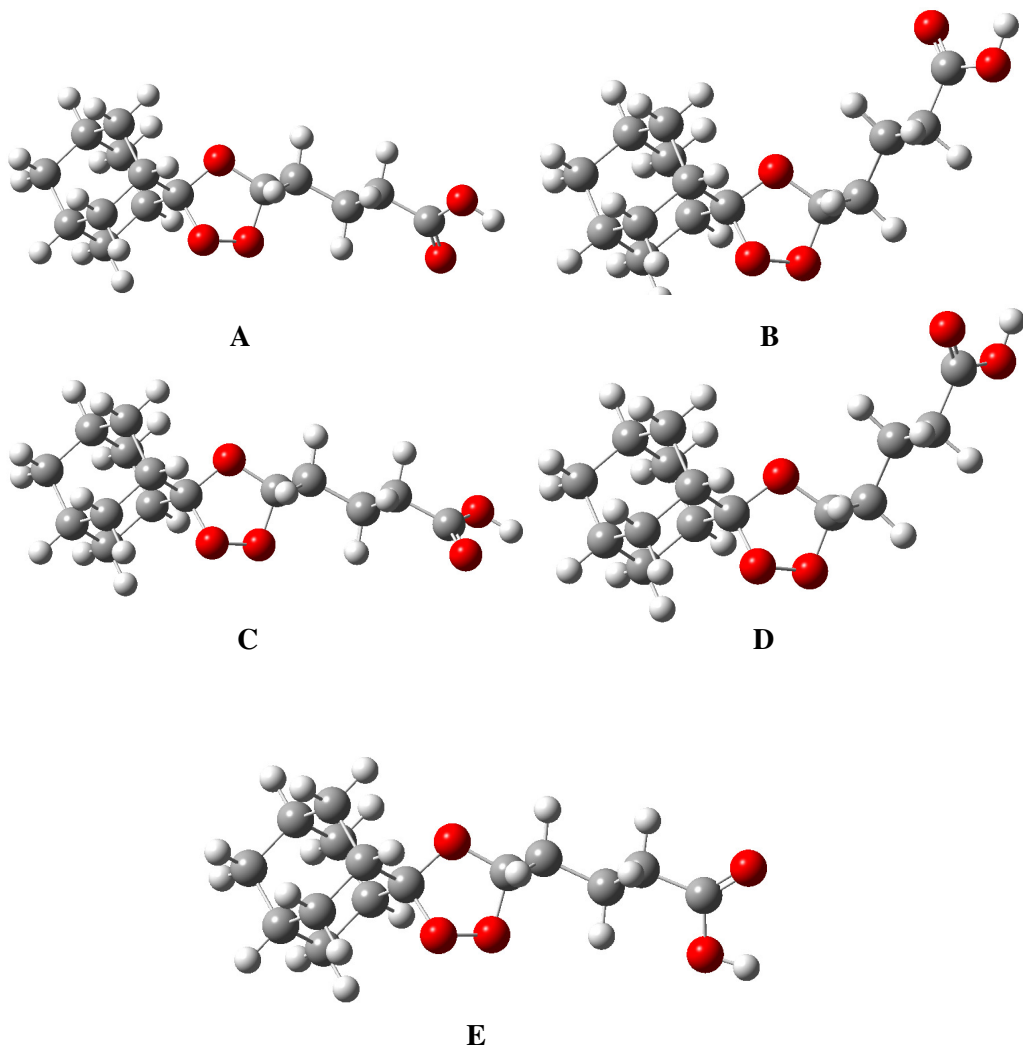
A figura 3.2.3 mostra o perfil de energia potencial resultante da rotação em torno da ligação C<sub>41</sub>-C<sub>43</sub>, correspondendo, assim, à interconversão D↔H↔B. As energias dos estados de transição TS1, TS2 e TS3 são iguais a 4,63; 4,64 e 1,71 kJ mol<sup>-1</sup> que correspondem ao ângulo diedro H<sub>42</sub>-C<sub>41</sub>-C<sub>43</sub>-O<sub>44</sub> igual a -44,3°; 42,8° e -176,7°, respectivamente. Como mostra a figura, foram previstos três mínimos, dois correspondem aos isômeros D e H, e o outro, ao isômero B. A rotação interna do fragmento ácido não alterou a geometria da restante molécula.

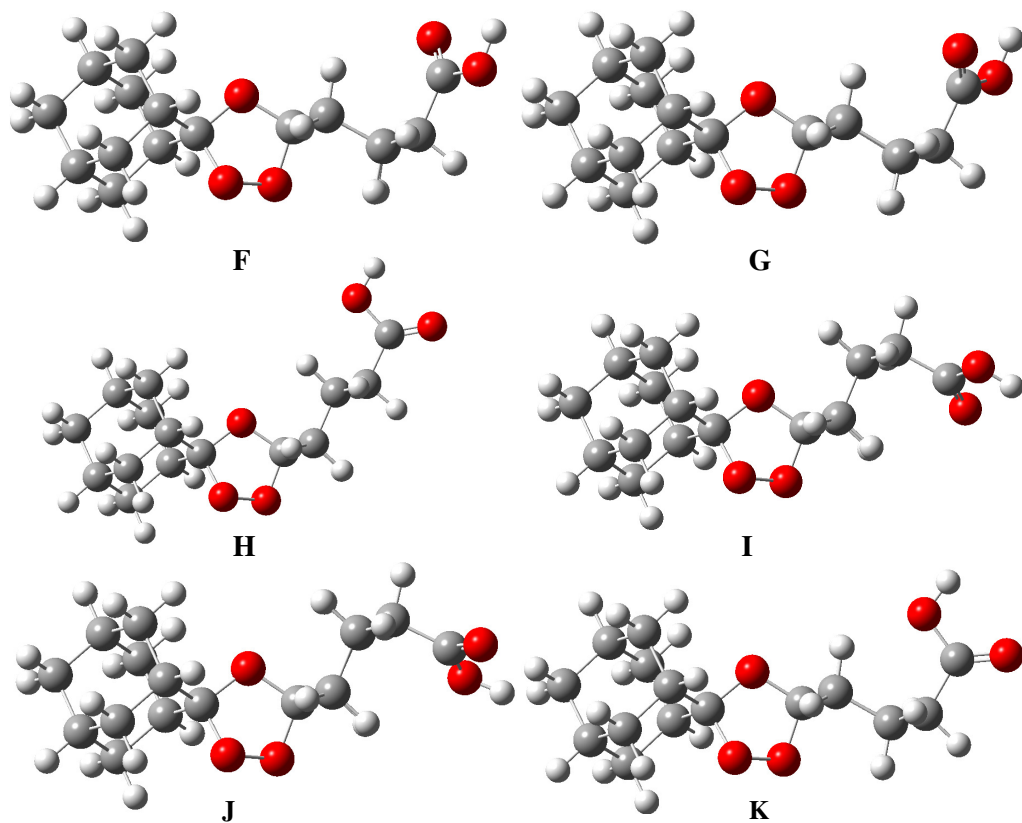


**Fig.3.2.4** – Curva de energia potencial para a rotação interna do ângulo diedro  $H_{42}-C_{41}-C_{43}-O_{44}$  do composto ATAC ao nível DFT (B3LYP)/6-31G(d,p). Ao longo do varrimento na superfície de energia potencial, apresentado nesta figura, o anel ciclohexano e o grupo ácido encontram-se ambos na posição *trans* em relação ao oxigênio  $O_{16}$  do anel trioxolano.

Na figura 3.2.4 apresenta-se o perfil de energia calculado efectuando uma rotação em torno da ligação  $C_{41}-C_{43}$ . Trata-se da interconversão  $E \leftrightarrow C \leftrightarrow A$ , Sendo os valores das energias dos estados de transição TS1, TS2 e TS3 iguais a 4,50; 4,39 e 1,20  $\text{kJ mol}^{-1}$  que correspondem ao ângulo diedro  $H_{42}-C_{41}-C_{43}-O_{44}$  igual a  $-43,8^\circ$ ;  $44,4^\circ$  e  $177,2^\circ$ , respectivamente. Observaram-se também para este perfil, três mínimos, dois correspondem aos isômeros E e C, e outro mínimo ao isômero A (figura 3.2.4). Podemos constatar que nos dois grupos de processos de interconversão os valores de energia associados aos estados de transição são idênticos em ambos. Como mostram as figuras, em ambos os casos os confôrmeros de mais baixa energia estão separados por uma barreira de energia alta. A rotação interna do fragmento ácido não alterou a geometria da restante molécula.

Na figura 3.2.5 estão então representadas as 11 diferentes estruturas para o composto ATAC: isômeros (em relação à posição do fragmento ácido face ao anel ciclohexano, Equatorial e Axial, e em relação à posição do anel ciclohexano face ao anel trioxolano) e conformêros (por rotação do ângulo diedro H-C-C=O).





**Fig.3.2.5** – Representação dos 11 mínimos distintos do composto ATAC de acordo com as energias electrónicas, todos com simetria  $C_1$ .

**Tabela 3.2.1** – Energias relativas, populações relativas, momentos dipolares ( $\mu_{\text{total}}$ ) e ângulos diedros dos 11 confórmeros do composto ATAC, calculados ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) à temperatura ambiente (298,15 K).

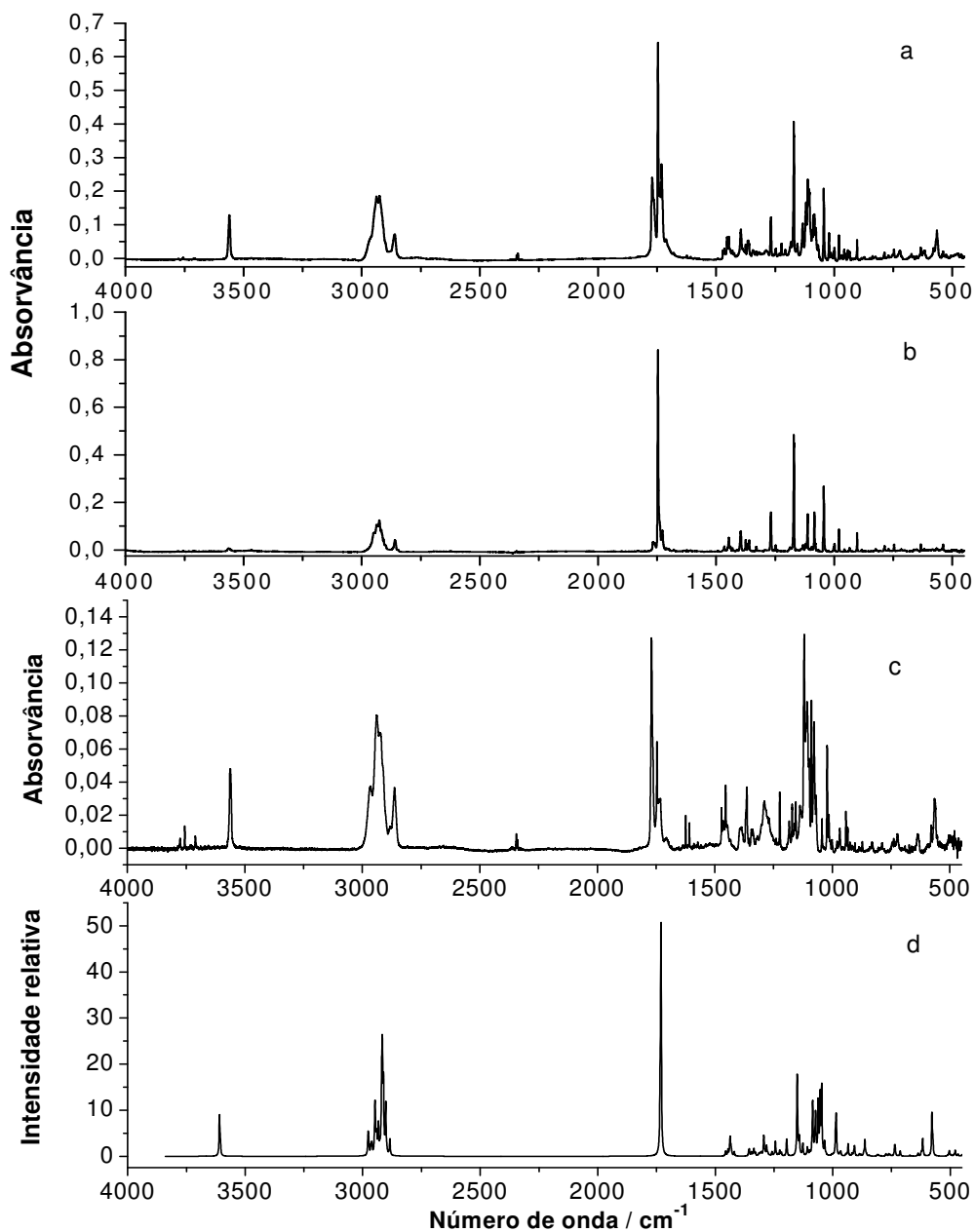
Confórmero	$\Delta E$	População (%)	$\mu_{\text{total}}$ (Debye)	H-C-C=O / °	O <sub>16</sub>	
	$\text{kJ mol}^{-1}$				a	b
A	0,00	27,13	2,6902	-137,2	<i>trans</i>	<i>trans</i>
B	0,55	12,05	0,6515	141,3	<i>cis</i>	<i>cis</i>
C	0,72	11,60	2,5151	119,6	<i>trans</i>	<i>trans</i>
D	0,89	11,15	1,3610	-128	<i>cis</i>	<i>cis</i>
E	1,75	8,970	2,2089	15,4	<i>trans</i>	<i>trans</i>
F	2,08	8,180	0,8267	126	<i>trans</i>	<i>cis</i>
G	2,85	6,530	1,3888	-117,6	<i>trans</i>	<i>cis</i>
H	2,93	6,370	2,6222	-5,6	<i>cis</i>	<i>cis</i>
I	3,06	6,120	2,7009	-117,8	<i>cis</i>	<i>trans</i>
J	7,27	1,370	2,4501	65	<i>cis</i>	<i>trans</i>
K	9,79	0,510	2,4306	-5,35	<i>trans</i>	<i>cis</i>

**a-** Posição do anel ciclohexano em relação ao oxigénio O<sub>16</sub> face ao anel trioxolano  
**b-** Posição do fragmento ácido em relação ao oxigénio O<sub>16</sub> face ao anel trioxolano

Na Tabela 3.2.1 encontram-se as diferenças de energias calculadas relativamente ao confórmero de menor energia à temperatura ambiente, neste caso, o confórmero A, com uma energia electrónica de  $-2726926,884 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

Foram calculadas as populações esperadas para estes onze estruturas na fase gasosa, à temperatura ambiente e considerando o valor de  $\Delta E$  (Tabela 3.2.1). Os confórmeros A e B são os que apresentam uma maior percentagem de população relativa (confórmero A representa 27,13% da população), ou seja, são consideradas as conformações mais estáveis. São também representados na mesma tabela os momentos dipolares para cada confórmero do composto ATAC e a posição do anel ciclohexano e do fragmento ácido relativamente ao oxigénio O<sub>16</sub> face ao anel trioxolano.

## Espectros experimentais e teóricos



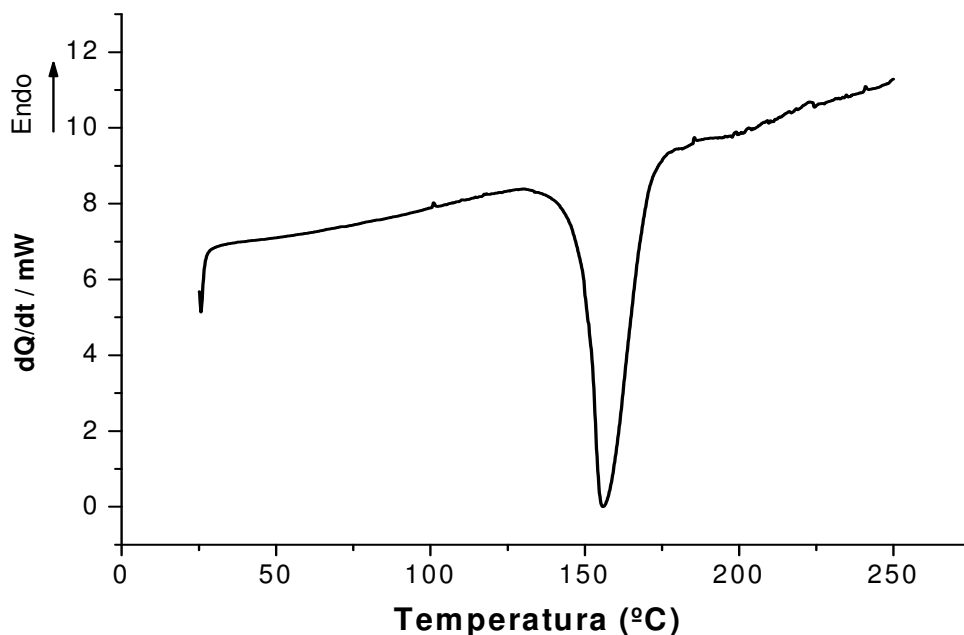
**Fig.3.2.6** – Espectros experimentais IV do composto ATAC isolado em matrizes de árgon (13 K): a – síntese 1, b – síntese 2, c – síntese 3; d – Espectro teórico do composto ATAC calculado ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) (intensidades multiplicadas pela população relativa calculada a 298.15 K).

Para o composto ATAC foram obtidos 3 espectros experimentais diferentes, cada um relativo à síntese do composto em ocasiões diferentes (figura 3.2.6). Pode-se observar que nos três casos os espectros são distintos e não reproduzem o composto que inicialmente se pretendia sintetizar. Através da sua comparação, verifica-se que os espectros a e c apresentam a mesma banda ( $3600\text{ cm}^{-1}$ ) e o espectro b não, verifica-se também diferenças na região dos  $1700$  a  $500\text{ cm}^{-1}$ , supostamente algumas bandas podem pertencer ao composto ATAC e outras poderão corresponder a quaisquer tipos de impurezas ou/e produtos de decomposição. Esta situação pode ser devida ao facto de as condições de síntese não terem sido as mesmas nas diferentes ocasiões ou devido ao longo tempo de armazenamento do composto antes de este ser analisado.

Por não haver uma uniformidade nos três espectros não foi possível efectuar qualquer tipo de caracterização para este composto, o que demonstra, na prática, dada a complexidade estrutural destes tipos de compostos, a dificuldade de síntese e armazenamento dos compostos, como também interpretação e caracterização dos espectros obtidos.

### Análise térmica

Foram realizados dois ensaios de DSC de potência compensada sobre amostras de ATAC, tendo-se obtido o seguinte termograma (figura 3.2.7).



**Fig.3.2.7** – Termograma registrado no aquecimento do composto ATAC, entre 25 e 250 °C,  $m = 1.31$  mg, velocidade de aquecimento = 10 °C/min.

A repetição da experiência conduziu aos mesmos resultados, em ambas as curvas pode observar-se um pico exotérmico,  $T_{\text{onset}} = 149,8$  °C,  $\Delta H = -177$  kJ.mol<sup>-1</sup>, que se estende num intervalo alargado de temperatura. O perfil dos termogramas aponta para que este pico corresponda à degradação térmica da substância em estudo. Podemos observar que os ensaios estão em concordância em relação às temperaturas (onset) e às entalpias obtidas.

### 3.2.1 – Referências

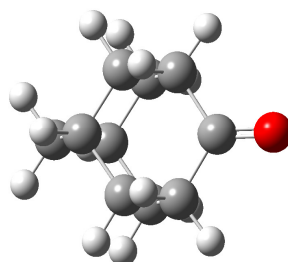
[1] – C.Peng e H.B. Schlegel, *Isr. Struct.*, **33**, (1994), 449.



### 3.3. Adamantanona

#### *Geometrias e energias*

A estrutura molecular da adamantanona foi estudada ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p), que permitiu encontrar um mínimo com simetria ( $C_{2v}$ ) (Fig.3.3.1).



**A**

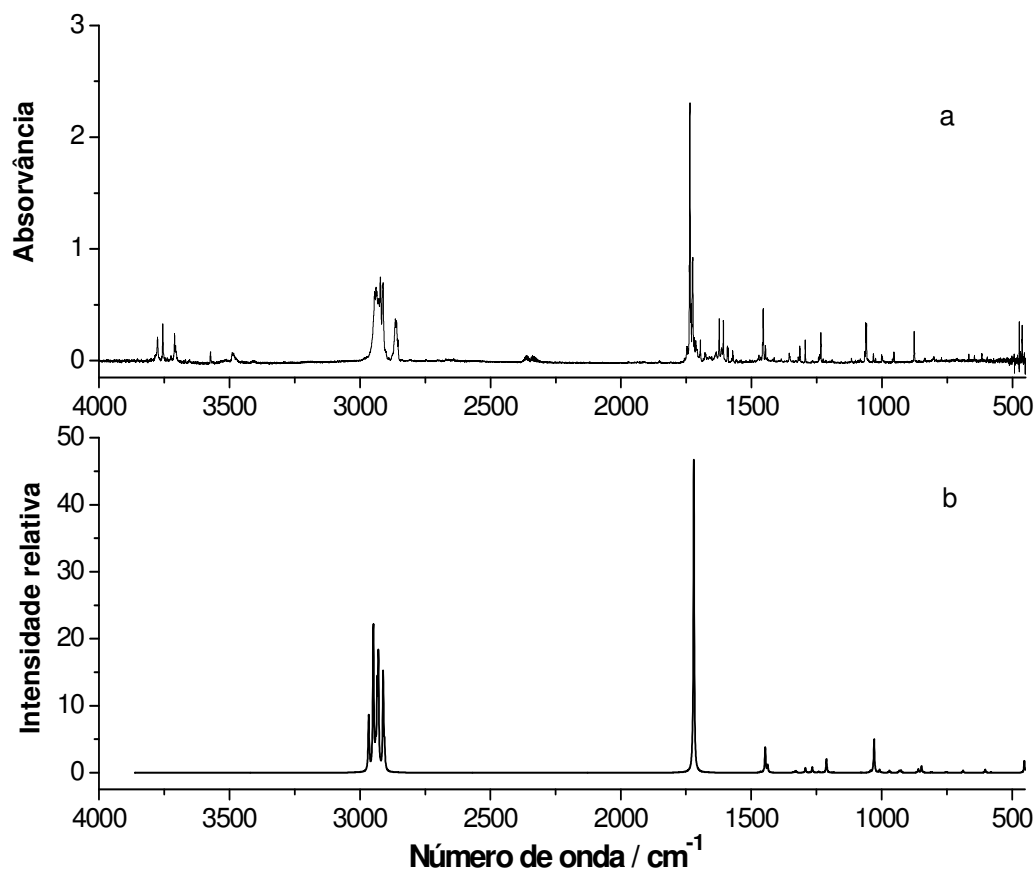
**Fig.3.3.1** – Confórmero da adamantanona.

Na tabela 3.3.1. apresentam-se a energia relativa e o momento dipolar para a adamantanona.

**Tabela 3.3.1** – Energia e momento dipolar calculados para a adamantanona ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p).

Confórmero	E. relativa ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )	Momento Dipolar / Debye
		$\mu_{\text{total}}$
A ( $C_{2v}$ )	-1220491,913	3,6203

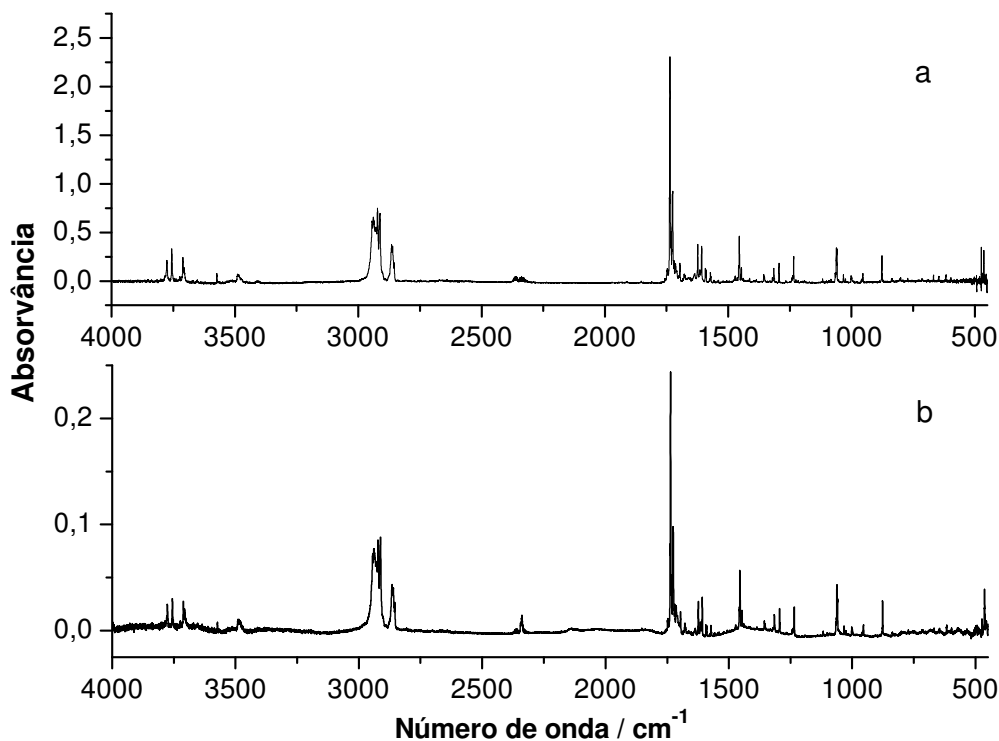
## Espectros experimentais e teóricos



**Fig.3.3.2** – a – Espectro experimental de IV da adamantanona isolada em matriz de árgon (15 K); b – espectro da adamantanona calculado ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) (a 298,15 K).

Foram obtidos espectros de IV (figura 3.3.2) da adamantanona isolada numa matriz de árgon por deposição a 15 K do vapor do composto mantido à temperatura ambiente (298.15 K), bem como o espectro teórico calculado ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p). As intensidades das bandas experimentais IV indicam que as vibrações de maior intensidade no espectro experimental também são intensas no espectro calculado.

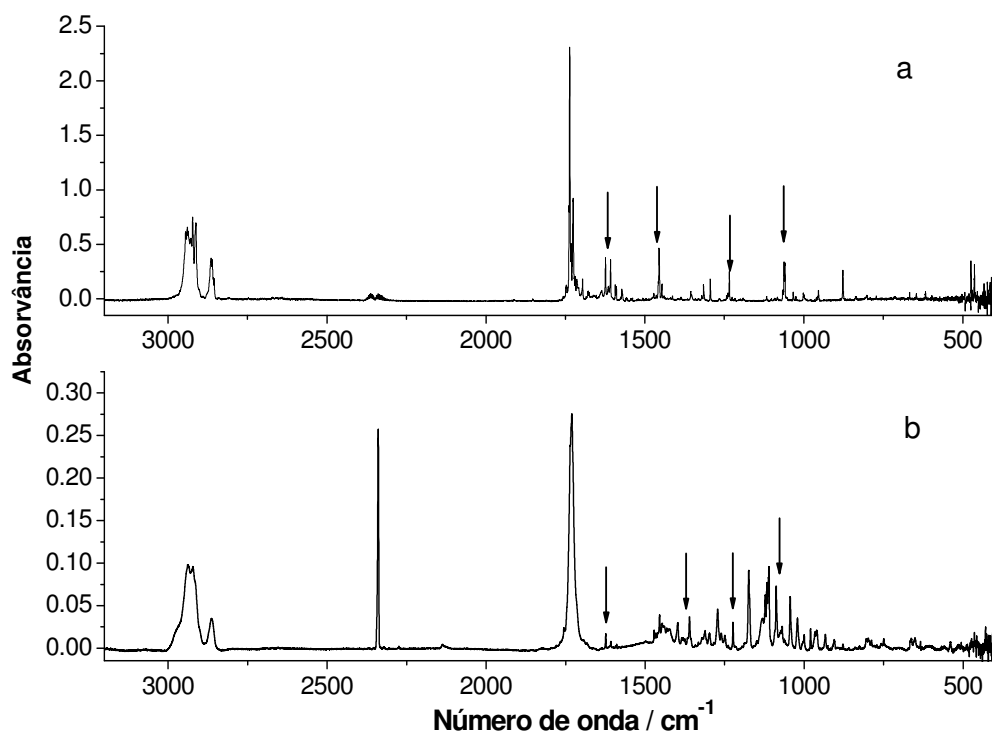
Procedeu-se à irradiação do composto depositado na matriz. Após irradiação prolongada, obteve o espectro apresentado na figura 3.3.3 (espectro b).



**Fig.3.3.3** – a – Espectro experimental da adamantanona em matriz de árgon (15 K); b – espectro obtido após irradiação.

Pela análise dos espectros da matriz depositada e da matriz irradiada, observou-se que não ocorreram diferenças significativas, ou seja, apenas algumas bandas diminuíram a sua intensidade. Assim, podemos constatar que a adamantanona é um composto fotoquimicamente funcionalmente estável não se convertendo noutras substâncias (nas condições experimentais usadas).

Na figura 3.3.4 encontra-se o espectro em matriz de árgon da adamantanona e o espectro de matriz irradiada do composto TAC analisado em mais pormenor no subcapítulo 3.1. A adamantanona, como já foi referido atrás, é um dos possíveis foto-produtos que resulta da clivagem nas ligações [2;4] e [1;4] do anel trioxalano do TAC.



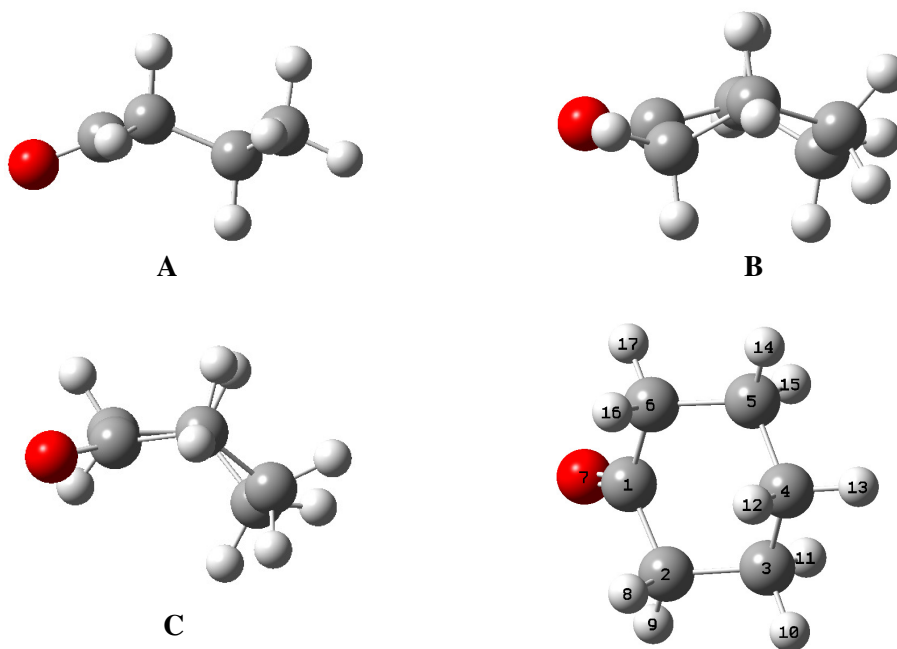
**Fig.3.3.4** – a – Espectro experimental (em matriz de árgon) (15 K) da adamantanona; b - espectro obtido após irradiação correspondente ao composto TAC.

Da comparação deste último conjunto de espectros, podemos observar a existência de algumas bandas comuns, nomeadamente na região dos 2000 aos 500  $\text{cm}^{-1}$ . Dado tal facto podemos afirmar que a adamantanona deverá ser um dos possíveis foto-produtos do TAC.

### 3.4. Ciclohexanona

#### Geometrias e energias

A estrutura molecular da ciclohexanona foi estudada ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p). Foram identificados três confórmeros, com simetrias  $C_s$  (A),  $C_2$  (B) e  $C_1$  (C) (Fig.3.4.1).



**Fig.3.4.1** – Confórmeros da ciclohexanona, designações adoptada e numeração.

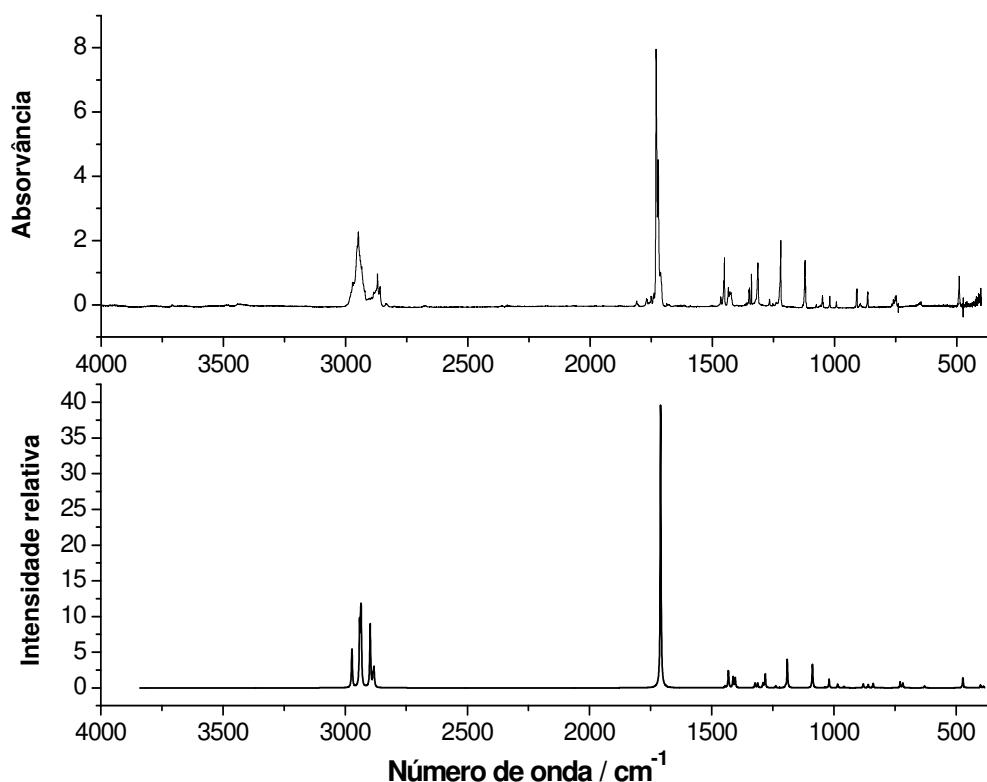
Na Tabela 3.4.1 encontram-se as energias relativas de todos os confórmeros estudados da ciclohexanona, populações relativas à temperatura ambiente e momentos dipolares. As diferenças de energias foram calculadas relativamente ao confórmero mais estável.

**Tabela 3.4.1** – Energias relativas, populações relativas e momentos dipolares ( $\mu_{\text{total}}$ ) dos 3 conformémeros da ciclohexanona, calculados ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) à temperatura ambiente (298,15 K).

Confórmero	$\Delta E / \text{kJ mol}^{-1}$	População (%)	$\mu_{\text{total}}$ (Debye)
A ( $C_s$ )	0,000	99,28	3,4710
B ( $C_2$ )	13,64	0,40	3,4451
C ( $C_1$ )	14,20	0,32	3,4358

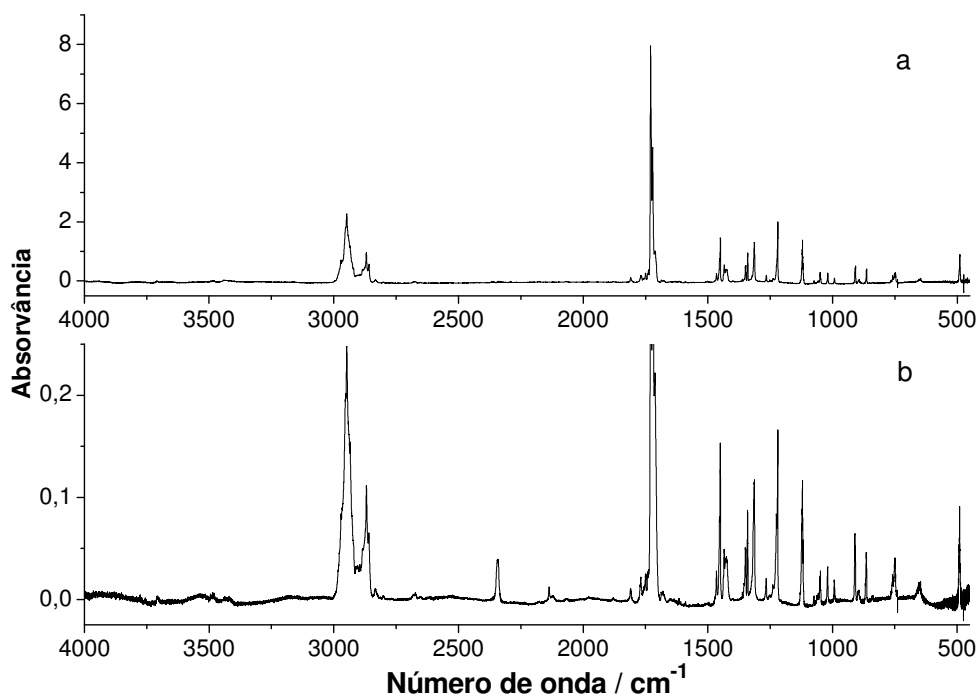
Pela análise das populações relativas, o conformémero com energia mais baixa (conformémero A) representa mais de 99% de população. No caso dos conformémeros menos estáveis B e C, são previstas populações sem qualquer significado experimental. O conformémero mais estável é o que apresenta um momento dipolar superior.

## Espectros experimentais e teóricos



**Fig.3.4.2** – Espectro experimental de IV da ciclohexanona isolada em matriz de árgon (15 K) e espectro da ciclohexanona com simetria Cs calculado ao nível DFT (B3LYP) /6-311++G(d,p) (a 298,15 K).

Foram obtidos espectros de IV (figura 3.4.2) da ciclohexanona isolada numa matriz de árgon por deposição a 15 K do vapor do composto mantido à temperatura ambiente (298.15 K), bem como o espectro teórico calculado ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p). Além das bandas características (C-H) na região dos 3000  $\text{cm}^{-1}$  e na região dos 1800  $\text{cm}^{-1}$  (elongação carbonílica), o espectro calculado para o conformero A e o experimental apresentam também uma concordância boa na região espectral abaixo dos 1500  $\text{cm}^{-1}$ .

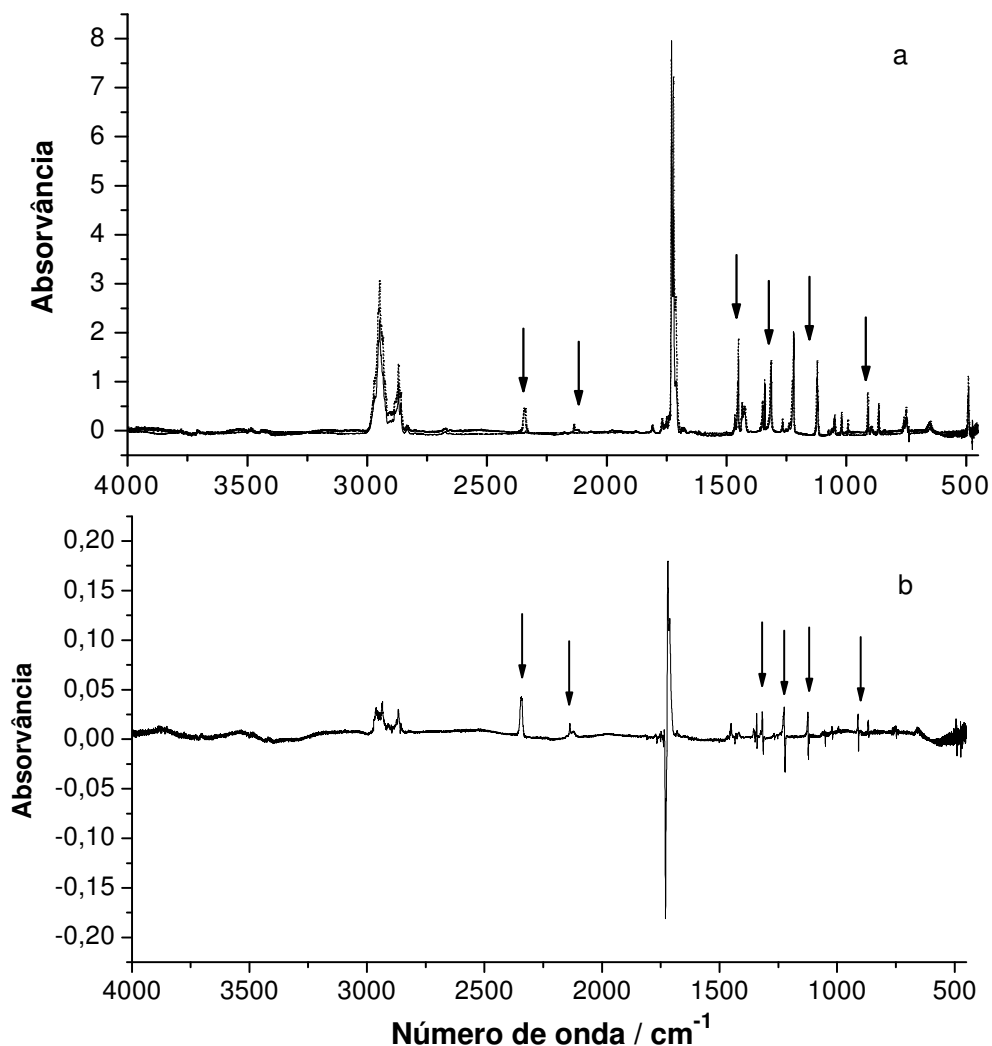


**Fig.3.4.3** – a – Espectro experimental (em matriz de árgon) (15 K) da ciclohexanona; b - espectro obtido após irradiação.

Pela análise dos espectros da matriz depositada e irradiada (figura 3.4.3) observou-se que ocorreram algumas variações, bandas que diminuíram de intensidade e outras que surgiram. Assim, podemos constatar que a ciclohexanona poderá eventualmente, converter-se noutras substâncias nas condições experimentais usadas.

Na figura 3.4.4 (subtração do espectro de matriz irradiada ao espectro de matriz depositada) salientaram-se as diferenças entre os dois espectros. As bandas que estão a positivo referem-se as novas bandas que surgiram após a irradiação e estão indicadas por setas.





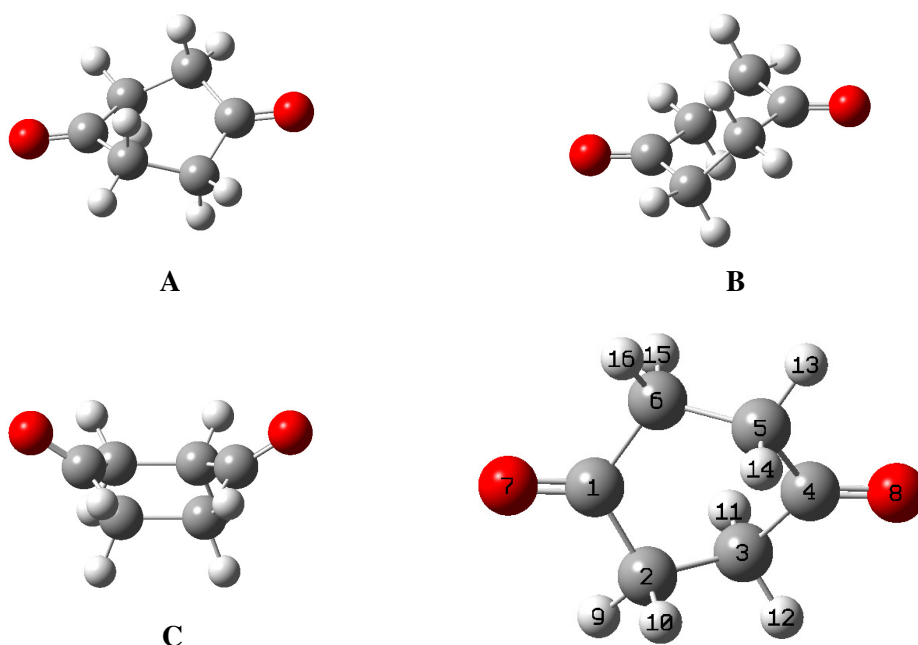
**Fig.3.4.4** – a – espectro experimental da ciclohexanona depositada em matriz de árgon (a linha contínua) e espectro irradiado (a tracejado) da ciclohexanona; b – Espectro resultante da subtração

A identificação dos produtos de reacção carece de estudos adicionais, mas um dos foto-produtos deve ser um ceteno, dada a observação da banda de elongação anti-simétrica  $C=C=O$  característica deste tipo de composto a  $2138\text{ cm}^{-1}$ . Alternadamente (ou simetricamente) esta banda poderá ser derivada à presença da matriz irradiada de monóxido de carbono (CO), que absorve à mesma frequência ( $2138\text{ cm}^{-1}$ ).

### 3.5. 1,4 – Ciclohexanodiona

#### *Geometrias e energias*

Os cálculos realizados ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p), mostraram que a 1,4 – ciclohexanodiona apresenta três conforméres, com simetrias  $C_2$  (A),  $C_{2h}$  (B) e  $C_{2v}$  (C), representados na figura 3.5.1.



**Fig.3.5.1** – Conforméres da 1,4 – ciclohexanodiona e numeração adoptada.

Na Tabela 3.5.1. encontram-se as energias relativas dos quatro conforméres estudados da 1,4 – ciclohexanodiona. As diferenças de energias foram calculadas relativamente ao conforméres de menor energia (conforméres A).

**Tabela 3.5.1** – Energias relativas, populações relativas e momentos dipolares ( $\mu_{\text{total}}$ ) dos 3 conformémeros da 1,4 – ciclohexanodiona, calculados ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) à temperatura ambiente (298.15 K).

<b>Confórmero</b>	<b><math>\Delta E / \text{kJ mol}^{-1}</math></b>	<b>População (%)</b>	<b><math>\mu_{\text{total}}</math> (Debye)</b>
<b>A (<math>C_2</math>)</b>	0,000	84,99	0,0000
<b>B (<math>C_2h</math>)</b>	3,820	15,00	0,0000
<b>C (<math>C_2v</math>)</b>	27,70	0,000	3,6074

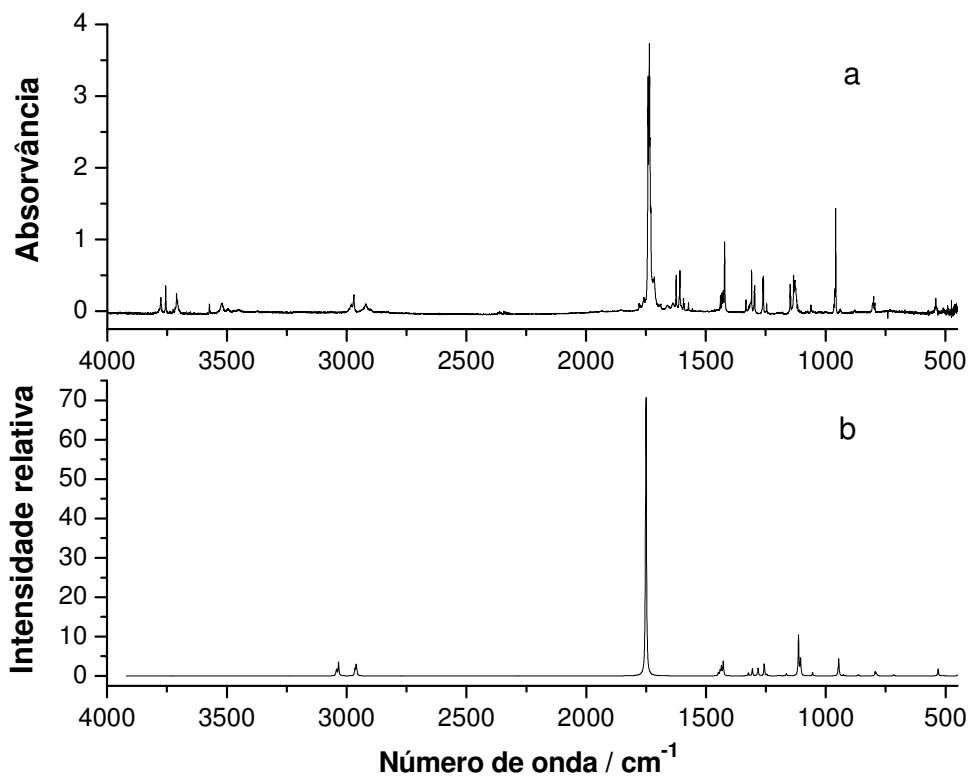
Foram calculadas as populações ponderadas para estes três conformémeros na fase gasosa, à temperatura ambiente, considerando o valor de  $\Delta E$ , tendo-se obtido os resultados apresentados na tabela 3.5.1.

Observando as populações relativas calculadas, podemos afirmar que o conformémero A (com a simetria  $C_2$ , mais estável) representa cerca 84% de população, enquanto o conformémero B corresponde a cerca 15% de população à temperatura ambiente. O conformémero C, com simetria  $C_2v$ , é previsto com uma população sem qualquer significado experimental.

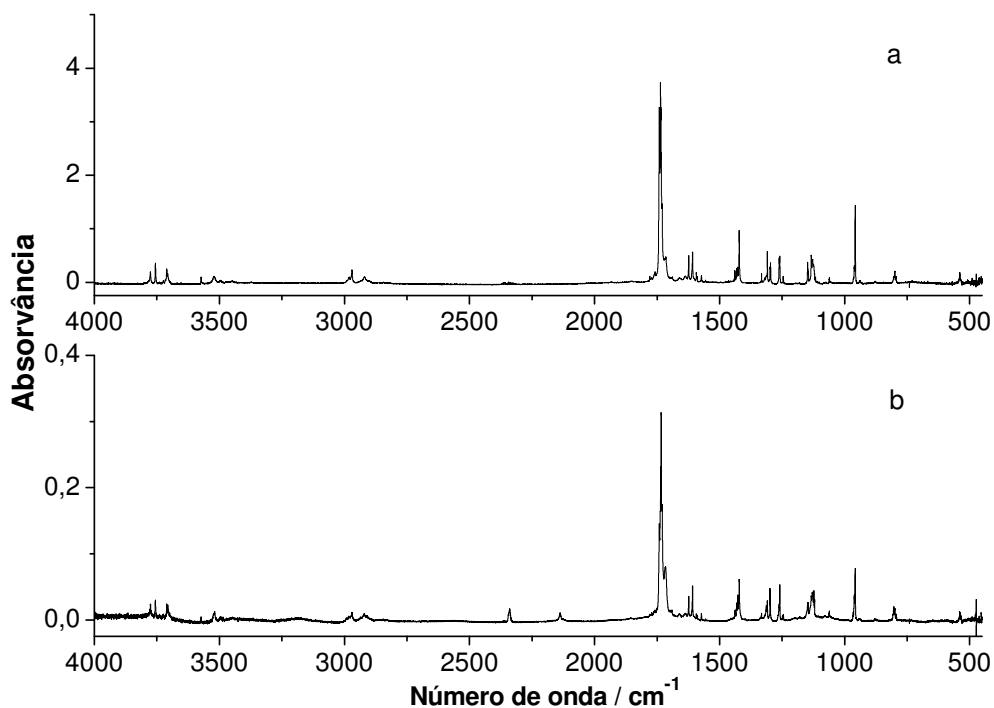
Na Tabela 3.5.1 apresentam-se também os momentos dipolares dos conformémeros da 1,4 – ciclohexanodiona, sendo o conformémero menos estável, o único que, apresenta um momento dipolar diferente de zero.

*Espectros experimentais e teóricos*

Foi obtido o espectro de IV (figura 3.5.2) de 1,4 – ciclohexanodiona isolada numa matriz de árgon por deposição a 15 K do vapor do composto mantido à temperatura ambiente (298,15 K). O espectro é bem reproduzido pelo espectro calculado (contribuição dos dois conformémeros mais estáveis) (figura 3.5.2).



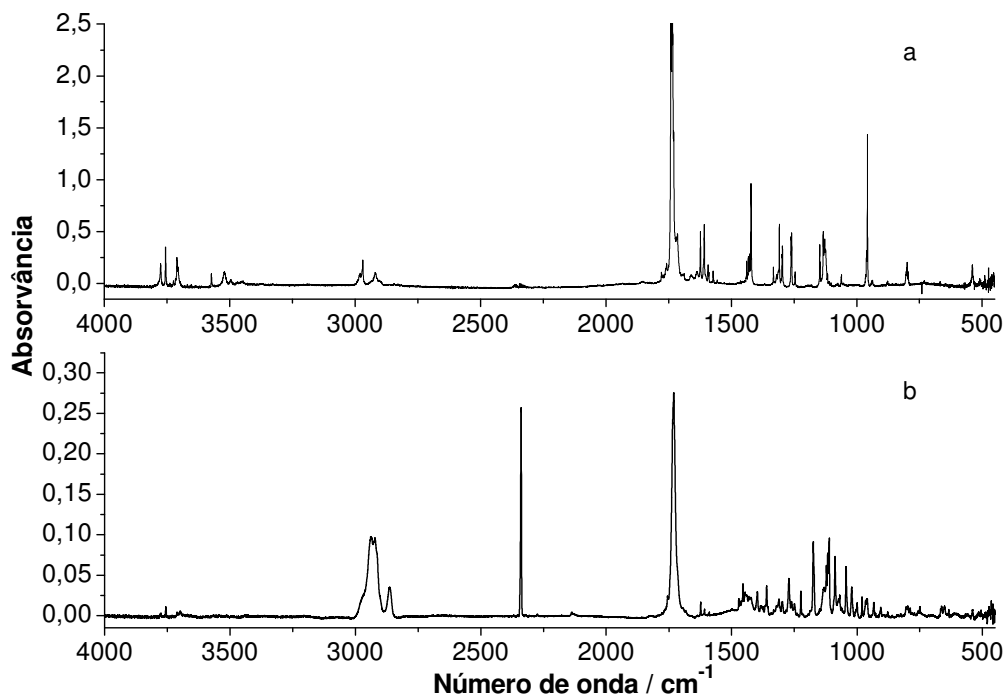
**Fig.3.5.2** – a – Espectro experimental de IV da 1,4-ciclohexanodiona isolada em matriz de árgon (15 K); b – espectro calculado ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p) (intensidades multiplicadas pela população relativa calculada a 298,15 K).



**Fig.3.5.3** – a – Espectro experimental (em matriz de árgon) (15 K) da 1,4 – ciclohexanodione; b - espectro obtido após irradiação.

Da análise do espectro da matriz depositada e irradiada (figura 3.5.3) pode concluir-se que a molécula 1,4 – ciclohexanodione é foto-estável, não se convertendo noutras substâncias nas condições experimentais usadas.

Da comparação dos espectros da figura 3.5.4, espectro em matriz de árgon da 1,4 – ciclohexanodiona e o espectro obtido após irradiação correspondente ao composto TAC, podemos observar algumas bandas comuns, nomeadamente na região dos 2000 aos 500  $\text{cm}^{-1}$ . Dado tal facto podemos afirmar que a 1,4 – ciclohexanodiona deverá ser um dos possíveis fotoprodutos do composto TAC.



**Fig.3.5.4** – a – Espectro experimental (em matriz de árgon) (15 K) da 1,4 – ciclohexanodiona; b - espectro obtido após irradiação correspondente ao composto TAC.

Neste estudo calcularam-se as possíveis conformações de energia mínima e alguns estados de transição dos compostos em estudo ao nível DFT (B3LYP)/6-311++G(d,p). A estrutura e a fotoquímica dos compostos, isolados em matrizes criogénicas de gases nobres (xénon e árgon), foram investigadas, e obtidos os seus espectros de infravermelho nestas condições experimentais.

A complexidade estrutural dos compostos em estudo e o tempo exigido para a realização dos cálculos computacionais tornou difícil a caracterização detalhada dos compostos, sob o ponto de vista estrutural, vibracional e fotoquímico. Algumas das principais conclusões obtidas são referidas neste capítulo.

Em relação ao composto TAC, foram encontrados dois confórmeros diferentes, com energias semelhantes ( $\Delta E = 0,7 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), no SEP do composto. Os possíveis produtos de decomposição do TAC foram também investigados teoricamente. Observou-se uma boa concordância entre os espectros de infravermelho calculados e experimentais obtidos para o TAC isolado em matrizes de xénon e árgon. O espectro obtido após a irradiação da matriz ( $\lambda > 235 \text{ nm}$ ) e os espectros calculados para os dois grupos (B, C) de foto-produtos mostraram também uma boa concordância geral, o que aponta para a possibilidade de ambos os grupos de foto-produtos se formarem durante o processo fotoquímico. O estudo efectuado confirmou em absoluto a fragilidade do grupo peróxido (O-O) do composto investigado, revelando que os foto-produtos gerados são uma cetona e um dioxetano, que resultam do rearranjo subsequente sofrido pelos radicais inicialmente formados fotoquimicamente.

Através de recurso a métodos de análise térmica (DSC e TGA) efectuou-se um estudo de estabilidade térmica do TAC. Foi observado um pico endotérmico,  $T_{\text{onset}} \sim 105 \text{ }^\circ\text{C}$ , com baixa valor entálpico ( $\Delta H = 18,5 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ), seguido de uma exotérmica,  $T_{\text{onset}} \sim 134 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\Delta H = -206,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ , que se estende num intervalo

alargado de temperatura. O perfil do termograma aponta para que este último processo corresponda a degradação térmica do composto, como se pôde concluir na análise dos resultados obtidos por termogravimetria.

O composto ATAC apresenta um conjunto de 11 estruturas únicas: isómeros (em relação à posição dos substituintes do anel ciclohexano, equatorial e axial) e confórmeros (por rotação do ângulo diedro H-C-C=O). O confórmero mais estável corresponde à forma A. O estudo experimental deste composto revelou-se difícil, evidenciando a sua pouca estabilidade química. Nos espectros recolhidos foram detectados sempre sinais de degradação do composto, isto apesar dos cuidados tidos na síntese, transporte e conservação do composto. Foram realizados dois ensaios de DSC sobre amostras de ATAC, tendo-se observado um pico exotérmico,  $T_{\text{onset}} = 149,8 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\Delta H = -177 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ , que se estende num intervalo alargado de temperatura. O perfil do termograma aponta para que este pico corresponda à degradação térmica da substância em estudo.

No caso da adamantanona, concluiu-se da existência de um único confórmero. Foi obtido o espectro de IV do composto isolado numa matriz de árgon, bem como o seu espectro teórico. Da comparação dos espectros da matriz depositada e da matriz irradiada, concluiu-se que a adamantanona é um composto fotoquimicamente estável nas condições experimentais utilizadas.

Comparando o espectro experimental da adamantanona em matriz de árgon e o espectro de matriz irradiada do composto TAC, pudémos constatar, a existência de algumas bandas comuns, o que nos leva a afirmar que a adamantanona poderá ser um dos possíveis foto-produtos do TAC.

Os cálculos realizados na ciclohexanona previram a existência de 3 confórmeros desta molécula (A, B e C, com simetrias  $C_s$ ,  $C_2$  e  $C_1$ , respectivamente). De acordo com os cálculos, no entanto, o confórmero mais estável (A) representa mais de 99% da população conformacional em fase gasosa à temperatura ambiente. Foi obtido o espectro de IV do composto isolado em matriz de árgon. Quando comparado com o espectro calculado para o confórmero A, observou-se uma boa concordância. Pela análise dos espectros da matriz depositada e irradiada, pudémos



também constatar que a ciclohexanona reage nas condições experimentais usadas. Não foi, no entanto, possível identificar inequivocamente os fotoprodutos observados.

Os cálculos realizados para a 1,4-ciclohexanodiona mostraram 3 conformémeros com simetrias  $C_2$  (A),  $C_{2h}$  (B) e  $C_{2v}$  (C). O conformémero A (com 84,9% da população prevista em fase gasosa à temperatura ambiente) é o mais estável, sendo o conformémero C previsto com uma população sem qualquer significado experimental. O espectro de IV da 1,4-ciclohexanodiona isolada numa matriz de árgon é bem reproduzido pelo espectro calculado (contribuição dos dois conformémeros mais estáveis, A e B). Observou-se ainda que a 1,4-ciclohexanodiona é foto-estável nas condições experimentais usadas. Por comparação dos espectros da 1,4-ciclohexanodiona e da matriz irradiada do TAC, foi possível concluir que a 1,4-ciclohexanodiona deverá ser um dos produtos resultantes da degradação fotoquímica deste último composto.

As conclusões do presente trabalho são também um mote para futuras investigações, uma vez que a síntese de outros compostos trioxalanos com potencial actividade antimalárica está a ser tentada na Universidade do Algarve, bem como a preparação de endoperóxidos sintéticos com melhores propriedades térmicas e farmacológicas.