Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**Determinação do excesso enantiomérico e configuração absoluta
de aminas quirais por ressonância magnética nuclear (RMN)**

Viviani Nardini Takahashi

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto da USP, como parte
das exigências para a obtenção do
título de Doutor em Ciências, Área:
Química.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2018

Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**Determinação do excesso enantiomérico e configuração absoluta
de aminas quirais por ressonância magnética nuclear (RMN)**

Viviani Nardini Takahashi

Orientador: Prof. Dr. Gil Valdo José da Silva

Tese apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto da USP, como parte
das exigências para a obtenção do
título de Doutor em Ciências, Área:
Química.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2018

Takahashi, Viviani Nardini

Determinação do excesso enantiomérico e configuração absoluta de aminas quirais por ressonância magnética nuclear (RMN) / Viviani Nardini Takahashi, orientador: Gil Valdo José da Silva, Ribeirão Preto/SP, 2018.

138 p.: il.; 30 cm + CD

Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-graduação em Química, Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

1. Ressonância Magnética Nuclear
2. RMN
3. Citronelal
4. Agente Quiral de Derivação
5. Aminas
6. Iminas
7. Cálculos Computacionais
8. Análise Conformacional

Dedicatória

A minha avó Alzira (in memoriam)

SEJA FELIZ

“Viva em paz com sua consciência.

Sempre que você se comparar com alguém, evite orgulho e desprezo, reconhecendo que em todos os lugares existe criaturas acima e abaixo da sua posição.

Compare-se ao trabalho que abraçou, realizando com ele o melhor que você possa, no apoio do bem comum.

Trate o seu corpo na condição de primoroso instrumento, ao qual se deve maior atenção no desempenho da própria tarefa. Ainda que se veja sob grande aflição, não guarde ressentimento, observando que somos todos espíritos em evolução, suscetíveis a errar.

Cultive sinceramente com bondade para que a franqueza excessiva não lhe estrague belos momentos do mundo.

Procure companhias que lhe possam doar melhoria de espírito e nobreza de sentimento.

Converse humanizando ou elevando aquilo que se fala.

Não exija da vida aquilo que a vida ainda não lhe deu, mas siga em frente no esforço de merecer a realização dos seus ideais trabalhando e servindo sempre, você obterá prodígios no tempo e com a benção de Deus.”

(Autor desconhecido)

Agradecimentos I

Eu não teria chegado até aqui sem ajuda de muitas pessoas que estavam a minha volta e sem as boas vibrações que recebi durante esses 4 anos. Só tenho a agradecer a todos que passaram pela minha vida durante este tempo!

Agradeço primeiramente a Deus e a minha avó Alzira (in memoriam) que estavam ao meu lado me dando força e me erguendo quando achava que não iria aguentar mais. Às vezes, me perguntava da onde tiraria força para trabalhar e fazer o doutorado ao mesmo tempo ... sei que Deus e minha avó me guiaram para continuar e chegar até hoje ...

Não tenho como expressar meu agradecimento aos meus pais. Vocês sempre investiram nos meus estudos e acreditaram em mim e nos meus sonhos. Obrigada pelas palavras de conforto nos meus desesperos, por toda dedicação que ainda tem por mim, por todo amor, por me aguentarem de mau humor quando estava estudando. Eu sabia que por mais difícil que fosse meu dia, eu tinha vocês me esperando para me acalantar. Além disso, durante todos esses anos de estudo, vocês sempre quiseram que eu me dedicasse exclusivamente aos meus estudos! Obrigada por tudo! Espero um dia retribuir tudo o que fizeram e fazem por mim. Eu amo muito vocês!

À minha irmã Patrícia e ao meu tio Luiz obrigada por estarem ao meu lado e por sempre se preocuparem comigo!

À minha querida sobrinha Maitê ... obrigada por me atrapalhar bastante (risos), mas também por me trazer muita alegria durante momentos tão tensos! Fiz o doutorado com você ao meu lado perguntando sobre tudo e querendo me ajudar (risos)! Mesmo assim, a "tita" te ama!

Ao meu marido Carlos ... nós nos conhecemos no dia que iria fazer a entrevista para o doutorado. Bom, quando deu certo entrar no doutorado e o namoro com você, achei que não daria conta dos dois (mais o trabalho como técnica). Mas, deu tudo certo ... nós demos conta! Obrigada por estar ao meu lado sempre, por me apoiar, por entender os momentos que precisava me ausentar e estudar (e ficar de mau humor) e por escutar todas as minhas angústias do doutorado! Obrigada, meu amor, por todo carinho e paciência que sempre teve comigo! Te amo muito!

Aos meus cunhados Cássia, Clóvis e Alyne por todo apoio, por me acolherem na família de vocês e pelo carinho que sempre tem comigo! Obrigada!

Agradecimentos II

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gil Valdo José da Silva, pelos mais de dez anos de convivência. Obrigada por ter me aceitado como aluna de doutorado mesmo sabendo do meu trabalho como técnica de laboratório de 40 horas semanais, ou seja, obrigada por confiar que daria conta! Durante todos esses anos eu não aprendi apenas a química com o senhor, eu aprendi a ter paciência, a ponderar as palavras, a tentar controlar minha ansiedade (acho que isso não aprendi muito ...), a ter respeito, educação e humildade para com os outros. Eu admiro o senhor não somente pela inteligência, mas também por todas essas outras qualidades que citei. Obrigada por tudo!

Ao Prof. Dr. Luis Gustavo Dias, que eu mesma dei a colocação de co-orientador! Obrigada pela ajuda nos cálculos e pela enorme paciência de explicar a química computacional para uma química orgânica! O senhor fez o nosso trabalho expandir e melhorar muito! Obrigada também por se preocupar comigo e por todas as palavras de incentivo.

Ao meu amigo e químico responsável pelo RMN, Vinicius Palaretti, obrigada pela nossa amizade e por toda dedicação que você tem pelo laboratório de RMN. Sem você meu doutorado seria de 8 anos! Você foi meus braços e minhas pernas durante esses anos! Muito obrigada por tudo o que fez por mim!

Aos meus amigos do LSO, Daniels, Hebert, Wesley, que sempre tiveram à disposição para me escutar, para assistir minhas apresentações, para tirar as minhas dúvidas e para me dar incentivo. “Vocês são os caras!”

Aos meus amigos mais que especiais por toda a amizade, carinho e apoio (listados sem ordem de importância ou preferência!): Thiago, Mirian Pedrosa, Míriam França, Aline Chiba, Douglas, Jaqueline, Leonardo, Débora, Palaretti, Henrique Lapenta, Ana Paula, Alexandre, Giovanna, Henrique Proença, Ana, Henrique “Barretos”, Carolina, Alexandre “Kid”, Vanessa, Eduardo, Maria, Francielle, Alysson, Karina, Vitor, Simone, Shirley, Dr. Oswaldo, D. Ana Elisa, Carolina (Cacá), Luis Paulo (Bambam), Ana Heloísa e Carlos Henrique.

Aos meus chefes da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP) Profa. Dra. Cristina Ribeiro de Barros Cardoso, Prof. Dr. Auro Nomizo e Profa. Dra. Vera Lúcia Lanchote. Obrigada por entenderem minhas necessidades e por todo apoio!

A todos os alunos que passaram pelo Laboratório de Imunoendocrinologia e Regulação (LIR) por sempre fazerem meu trabalho menos desgastante e mais feliz! Obrigada pela amizade!

Aos funcionários do DQ e a todos os funcionários da FCFRP pela compreensão, paciência e enorme colaboração.

Lista de abreviaturas e siglas

CG – Cromatografia Gasosa

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

ee – excesso enantiomérico

ppm – partes por milhão

EM – Espectrometria de Massas

FDA – Food and Drug Administration

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

TMS – Tetrametilsilano

FID – Free Induction Decay

AQD – Agente Quiral de Derivação ou Derivatização

CDA – Chiral Derivatizing Agent

AQS – Agente Quiral de Solvatação

CSA – Chiral Solvating Agent

LQD – Lantanídeos Quirais de Deslocamento

CLSR – Chiral Lanthanide Shift Reagent

MPA – ácido α -metóxi- α -(trifluorometil)fenilacético

DC – Dicroísmo Circular

UV-vis – Ultravioleta Visível

PES – Potential Energy Surface

HF – Hartree-Fock

DFT – Density Functional Theory

OM – Orbitais Moleculares

OA – Orbitais Atômicos

LCAO – Linear Combination of Atomic Orbitals

STO – Slater Type Orbital

GTO – Gaussian Type Orbital

SZ – Single Zeta

DZ – Double Zeta

TZ – Triple Zeta

SCF – Self Consistent Field

HK – Hohenberg-Kohn
KS – Kohn-Sham
LDA – Local Density Approximation
LSDA – Local Spin Density Approximation
GGA – Generalized Gradient Approximation
B3LYP – Becke, 3 variáveis, Lee, Yang, Parr
PCM – Polarized Continuum Method
IEF-PCM – Integral Equation Formalism - Polarized Continuum Method
ASC – Apparent Surface Charges
SM – Solvent Model
COSMO – Conductor-like Screening Model
IGLO – Individual Gauge for Localized Orbitals
GIAO – Gauge-Including Atomic Orbitals
NOE – Efeito Nuclear Overhauser
NBO – Natural Bond Orbitals
AM1 – Austin Model 1
GABA – ácido γ -aminobutírico
NCI – Non-Covalent Interaction
HOMO – Highest Occupied Molecular Orbital
LUMO – Lowest Unoccupied Molecular Orbital
FERMO – Frontier Effective-for-Reaction
CP – Comparison Parameter
RAHB – Resonance-Assisted Hydrogen Bonding
Pro-CSA – Pro-Chiral Solvent Agents

Lista de figuras

Figura 1. Exemplo de quiralidade.

Figura 2. Quiralidade dos compostos bifenílicos e aquiralidade dos compostos *meso*.

Figura 3. Projeção de Fisher.

Figura 4. Coordenada das conformações do ciclo-hexano.

Figura 5. Configurações de enantiômeros e diastereoisômeros.

Figura 6. Regra de prioridade e classificação *R* e *S*.

Figura 7. Exemplo de elementos de simetria.

Figura 8. Interação de dois enantiômeros de uma droga racêmica com o sítio de ligação receptor da droga.

Figura 9. Exemplos de fármacos quirais.

Figura 10. Representação do campo efetivo.

Figura 11. Representação das regiões de blindagem e desblindagem do campo magnético no anel aromático do benzeno.

Figura 12. Modelo vetorial para explicar a ressonância magnética nuclear.

Figura 13. Reação de esterificação feita por Raban e Mislow e a constatação de sinais duplicados no espectro de ^1H RMN.

Figura 14. Princípio da diferenciação de enantiômeros.

Figura 15. Representação da derivação dupla.

Figura 16. Representação da derivação simples.

Figura 17. Agentes quirais de derivação semelhantes ao MTPA.

Figura 18. Exemplos de AQD com álcoois (reagente de Noe), isotiocianatos e também compostos fosforados.

Figura 19. Representação dos sinais de RMN com base na proporção dos confômeros.

Figura 20. Representação do método “*mix and shake*”.

Figura 21. Princípio da deconvolução.

Figura 22. Diagrama da superfície de energia potencial para uma reação generalizada.

Figura 23. Escada de Jacó.

Figura 24. Exemplos de cavidades no meio dielétrico.

Figura 25. Sequência do RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ com desacoplamento descontínuo e inverso.

Figura 26. O citronelal e seus enantiômeros.

Figura 27. Demonstração da conformação dobrada e “esticada” conforme as interações intermoleculares e intramoleculares.

Figura 28. Ciclo termodinâmico do citronelal.

Figura 29. Representação das ligações não-covalentes no ácido γ -amino butírico, na estrutura cristalina do DNA e RNA.

Figura 30. Oito confômeros mais estáveis do citronelal no nível B3LYP, com e sem correção de dispersão.

Figura 31. Quatro perspectivas dos orbitais HOMO e LUMO do confômero mais estável do citronelal.

Figura 32. Comparação entre o deslocamento químico (δ) teórico e experimental da RMN de ^1H , utilizando ou não a função D3, do confômero mais estável do citronelal.

Figura 33. Representação do efeito nuclear Overhauser.

Figura 34. NOE observado no citronelal: A) RMN de ^1H normal como espectro de referência; B) irradiação em H4; C) irradiação em H10; D) irradiação em H9 e E) irradiação em H7.

Figura 35. Expansões do NOE do citronelal: A) irradiação em H10 e NOE com aldeído (H1); B) irradiação em H9 e NOE com o aldeído (H1) e C) irradiação em H7 e NOE com aldeído (H1).

Figura 36. Sinais de RMN de ^1H da metila H1 nos solventes CDCl_3 , CD_3OH e CD_3CN a temperatura ambiente.

Figura 37. Sinais de RMN de ^1H das metilas H1 e H4 nos solventes CD_3OH e CD_3CN a baixa temperatura.

Figura 38. Relação linear entre o excesso enantiomérico experimental e teórico das misturas da *sec*-butilamina, analisando-se a metila 8.

Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado diastereomérico da *sec*-butilamina e suas expansões, juntamente com os gráficos de correlação entre o *ee* teórico e experimental dos carbonos 5, 6 e 7 no solvente clorofórmio.

Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado diastereomérico da 1-(fenil)etanamina e suas expansões, juntamente com os gráficos de correlação entre o *ee* teórico e experimental dos carbonos 3, 6, 7 e 8 em clorofórmio.

Figura 41. Expansão do espectro de RMN de ^1H dos derivados diastereoméricos da anfetamina.

Figura 42. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado diastereomérico da anfetamina e suas expansões, juntamente com os gráficos de correlação entre o *ee* teórico e experimental dos carbonos 3, 6, 7 e 8 em vários solventes.

Figura 43. A conformação mais estável do citronelal e a interação NOE observada experimentalmente.

Figura 44. Experimento de NOE na mistura equimolar dos diastereoisômeros (*S,S* e *S,R*) da imina **2** em diferentes tempos 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 segundos.

Figura 45. Expansões do experimento de NOE na mistura equimolar dos diastereoisômeros (*S,S* e *S,R*) da imina **2** em diferentes tempos 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 segundos.

Figura 46. Experimento NOE da mistura equimolar dos diastereoisômeros (*S,S* e *S,R*) da imina **3** em diferentes tempos 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 segundos. Os sinais indicados com asterisco correspondem a benzilmetilamina em excesso.

Figura 47. Experimento NOE da mistura equimolar dos diastereoisômeros (*S,S* e *S,R*) da imina **4** em diferentes tempos 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 segundos. Os sinais indicados com asterisco correspondem a anfetamina em excesso.

Figura 48. Conformeros mais estáveis encontrados no nível B3LYP (sem a correção D3) das iminas **2**, **3** e **4**.

Figura 49. Interações dos orbitais moleculares de todos os diastereoisômeros das iminas **2**, **3** e **4**.

Figura 50. Gráficos de correlação entre os deslocamentos químicos teóricos e experimentais dos diastereoisômeros derivados da reação entre o (*S*)-citronelal e o (*S*)-2-aminobutan-1-ol.

Figura 51. Espectros simulados com base nos deslocamentos químicos experimentais e teóricos.

Figura 52. Comparação entre a diferença de deslocamento químico teórico e experimental desenvolvida por Smith e Goodman.

Figura 53. Relação entre a diferença de deslocamento químico teóricos e experimentais.

Figura 54. Exemplo das hipóteses A e B que se baseia o método de CP3.

Figura 55. Explicação dos sinais positivo e negativo encontrados no CP1.

Figura 56. Explicação dos sinais positivo e negativo encontrados no CP2 e CP3.

Figura 57. Isômeros estudados por CP3.

Figura 58. Exemplo da planilha do Excel usada para os cálculos de CP3.

Figura 59. Valores de CP3 obtidos para os diastereoisômeros *S,S,S* e *S,R,S* derivados do 2-aminobutan-1-ol.

Figura 60. Representação da distribuição normal.

Figura 61. Conformeros mais estáveis da imina **5**.

Figura 62. Faces do conformero mais estável da imina **5**.

Figura 63. Diastereoisômeros *S,S,S*; *S,R,S*; *S,S,R* e *S,R,R* obtidos a partir da reação entre o (*S*)-citronelal e a mistura racêmica do 2-aminobutan-1-ol.

Figura 64. Valores de CP3 obtidos para os diastereoisômeros *S,S,R* e *S,R,R* derivados do 2-aminobutan-1-ol.

Figura 65. Gelomulidas V e X. Os sinais positivos ou negativos referem-se aos valores de $\Delta\delta^{SR}$

Figura 66. Agentes quirais de derivação usados em moléculas de vários grupos funcionais.

Figura 67. Expansões do sinal de RMN de ^1H de H8 nos derivados dos amino-ácidos metionina e fenilalanina em diferentes *ee*.

Figura 68. Exemplo dos dados da deconvolução.

Figura 69. Expansões de RMN de ^1H de H8 no derivado da metionina a temperatura ambiente ($T = 27^\circ\text{C}$) e a baixa temperatura ($T = 35^\circ\text{C}$).

Lista de esquemas

Esquema 1. Reações com retenção da configuração do estereocentro.

Esquema 2. Relação entre enantiômeros e diastereoisômeros do ácido tartárico.

Esquema 3. MTPA na diferenciação enantiomérica de álcoois e aminas.

Esquema 4. Modelos empíricos do uso do reagente de Mosher como AQD.

Esquema 5. Confôrmers dos derivados de éster do MTPA.

Esquema 6. Confôrmers dos derivados de amida do MTPA.

Esquema 7. Formação de complexos de Ba^{2+} com o (*R*)-MPA.

Esquema 8. Exemplos de AQD cujos produtos formam ligações de hidrogênio.

Esquema 9. AQD com a função aldeído para a análise de amino-álcoois.

Esquema 10. Similaridades e diferenças entre o (*R*)-mirtanal e o (*S*)-citronelal (**1**).

Esquema 11. Exemplo da “balança de Wilcox”.

Esquema 12. Possibilidade de formação dos isômeros *E* e *Z* formados na reação do (*S*)-citronelal e a amina primária.

Esquema 13. Ciclização das iminas catalisadas por SnCl_4 e a conformação quase-cadeira.

Esquema 14. O uso do (*S*)-citronelal como AQD de aminas primárias.

Esquema 15. Etambutol a partir de (*S*)-2-aminobutan-1-ol.

Esquema 16. Produtos formados na reação entre o (*S*)-citronelal e o (*S*)-2-aminobutan-1-ol.

Esquema 17. O uso do CP3 na identificação de compostos.

Esquema 18. Método de CP3 aplicado na reação de Diels-Alder da levoglucosenona.

Esquema 19. Agente quiral de derivação com ligação de hidrogênio conjugada (RAHB).

Esquema 20. (*S*)-citronelal como AQD para a metionina e fenilalanina.

Lista de tabelas

Tabela 1. Exemplos dos fármacos quirais.

Tabela 2. Vantagens e desvantagens dos agentes quirais de solvatação (AQS) e agentes quirais de derivação (AQD).

Tabela 3. Confôrmers principais derivados do MTPA.

Tabela 4. Parâmetros usados na busca conformacional no programa PCModel.

Tabela 5. Quantificação do *ee* dos derivados da *sec*-butilamina por RMN de ^1H a -35°C (238 K).

Tabela 6. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ^1H em CDCl_3 .

Tabela 7. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ^1H em DMSO-d_6 .

Tabela 8. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ^1H em CD_3OD .

Tabela 9. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ^1H em CD_3CN .

Tabela 10. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ^1H em acetona- d_6 .

Tabela 11. Comparação entre H3 e H8 na diferenciação dos enantiômeros do derivado da anfetamina por RMN de ^1H .

Tabela 12. Número de confôrmers para cada diastereoisômero das iminas **2**, **3** e **4**.

Tabela 13. Probabilidade relacionada com os valores de média e desvio padrão.

Tabela 14. Valores de excesso enantiomérico da mistura racêmica do 2-aminobutan-1-ol.

Tabela 15. Diferenças de deslocamentos químicos ($\Delta\delta$) entre os diastereoisômeros (*R*)-D e (*R*)-L no ^1H RMN.

Tabela 16. *ee* teórico e experimental dos diastereoisômeros derivados da metionina e da fenilalanina obtidos com aquisição de RMN de ^1H a 27°C .

Tabela 17. *ee* teórico e experimental dos diastereoisômeros derivados da metionina obtidos com aquisição de RMN de ^1H a -35°C .

Lista de equações

- Excesso enantiomérico (%) = % enantiômero A - % enantiômero B 1
- $\Delta E = E_{-1/2} - E_{+1/2} = (\gamma h / 2\pi) \cdot B_o = h\nu$ 2
- $\nu = (\gamma / 2\pi) \cdot B_o (1 - \sigma)$ 3
- $\Delta\delta^{SR}L_1 = \delta L_1(S) - \delta L_1(R) < 0$ e $\Delta\delta^{SR}L_2 = \delta L_2(S) - \delta L_2(R) > 0$ 4
- $E_{MM} = E_{\text{estiramento}} + E_{\text{dobramento}} + E_{\text{torsional}} + E_{\text{vdW}} + E_{\text{eletrostática}} + E_{\text{cruzada}}$ 5
- $H_{ij} = \frac{\partial^2 E}{\partial q_i \partial q_j}$ 6
- $\hat{H}\Psi = E\Psi$ 7
- $E[\rho(\mathbf{r})] = T_{\text{cinética}}[\rho(\mathbf{r})] + V_{\text{núcleo-elétron}}[\rho(\mathbf{r})] + V_{\text{elétron-elétron}}[\rho(\mathbf{r})] + E_{\text{correlação-troca}}[\rho(\mathbf{r})]$ 8
- $E_{\text{DFT-D}} = E_{\text{DFT}} + E_{\text{dispersão}}$ 9
- $E_{\text{dispersão}} = \sum_{AB} \sum_{n=6,8,10\dots} S_n \frac{C_n^{AB}}{R_{AB}^n} f_{\text{amortecimento}}$ 10
- $E_{\text{dispersão}} = -\frac{1}{2} \sum_{AB} \frac{C_n^{AB}}{R_{AB}^n + \text{constante}}$ 11
- $\Delta G_{\text{solvatação}} = \Delta G_{\text{cavitação}} + \Delta G_{\text{eletrostática}} + \Delta G_{\text{não-eletrostática}} \text{ ou ainda}$ 12
- $\Delta G_{\text{solvatação}} = \Delta G_{\text{cavitação}} + \Delta G_{\text{eletrostática}} + \Delta G_{\text{dispersão}} + \Delta G_{\text{repulsão}}$
- $\Delta G_{\text{CDS}} = \sum_k^{\text{átomos}} A_k \sigma_k$ 13
- $\sigma_k = \sum_j \Gamma_j n_k^{\Gamma_j}$ 14
- $\delta = \sum_i \frac{\delta_i e^{G_i/RT}}{\sum_j \delta_j e^{G_j/RT}}$ 15
- $\% \text{ confôrmero}_i = 100 e^{(-\Delta E_i/RT)} / \sum_{j=1}^n e^{(-\Delta E_j/RT)}$ 16
- $\delta_{\text{sinal}} = \sigma_{\text{sinal}} - \sigma_{\text{TMS}}$ 17
- $CPn = \frac{\sum_i f_i n}{\sum_i \Delta \delta_{\text{exp}}^2}$
- onde $n = 1$ (CP1); $f_1 = \Delta \delta_{\text{exp}} \cdot \Delta \delta_{\text{teórico}}$
- $n = 2$ (CP2); $f_2 = \Delta \delta_{\text{exp}}^3 / \Delta \delta_{\text{teórico}}$ se $|\Delta \delta_{\text{teórico}}| > |\Delta \delta_{\text{exp}}|$ ou $\Delta \delta_{\text{exp}} \cdot \Delta \delta_{\text{teórico}}$ nos demais casos 18
- $n = 3$ (CP3); $f_3 = \Delta \delta_{\text{exp}}^3 / \Delta \delta_{\text{teórico}}$ se $\Delta \delta_{\text{teórico}} > \Delta \delta_{\text{exp}}$ ou $\Delta \delta_{\text{exp}} \cdot \Delta \delta_{\text{teórico}}$ nos demais casos

Resumo

A determinação do excesso enantiomérico (*ee*) em compostos quirais por ressonância magnética nuclear (RMN) foi descoberta há mais de meio século por Raban e Mislow e permanece bastante atual e importante. Uma das formas de quantificar o *ee* consiste em formar diastereoisômeros através de agentes quirais de derivação (AQD). AQDs com a função aldeído tem sido amplamente usados na discriminação de amins quirais devido a fácil formação de iminas em condições brandas. Existe uma preferência pelo uso de aldeídos cíclicos como AQD, uma vez que sua menor flexibilidade conformacional favorece a diferenciação dos derivados diastereoisoméricos.

Até o momento, não havia estudos de AQD utilizando compostos acíclicos. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi utilizar o terpeno acíclico (*S*)-citronelal como AQD para a determinação do excesso enantiomérico de amins primárias, através da RMN de ^1H e ^{13}C .

Inicialmente, nós conseguimos observar uma preferência por conformações dobradas do (*S*)-citronelal por NOE e pela comparação entre os deslocamentos químicos teóricos, obtidos a partir da otimização com a correção de dispersão D3, e experimentais de RMN de ^1H . Em seguida, nossos resultados sugeriram que a causa do dobramento molecular do citronelal estaria baseada em interações de London e HOMO-LUMO.

Após a análise conformacional do (*S*)-citronelal, nós reagimos este composto dentro do tubo de RMN (“*mix and shake*”) com misturas racêmica e escalêmicas das amins *sec*-butilamina, 1-(fenil)etanamina e anfetamina, do amino-álcool 2-aminobutan-1-ol e dos amino-ácidos metionina e fenilalanina. Em todos os casos foi possível fazer a determinação do *ee* e da configuração absoluta com grande eficácia.

Os resultados mostraram que a metila ligada ao centro estereogênico do (*S*)-citronelal é um sinal conveniente para se determinar o *ee* de amins quirais por ser facilmente reconhecido no espectro, uma vez que esse sinal já faz parte do agente quiral de derivação e também por estar em uma região bastante blindada do espectro tanto no RMN de ^1H como no de ^{13}C . Com isso, a completa e minuciosa elucidação estrutural torna-se desnecessária.

Posteriormente, as conformações das iminas formadas mostraram, através de estudos teórico e experimental (NOE), um dobramento molecular semelhante ao encontrado no citronelal. O motivo para esse efeito também se encontra nas interações de London e nas interações de orbitais moleculares adequadas.

Palavras-chave: 1. Ressonância Magnética Nuclear 2. RMN 3. Citronelal 4. Agente Quiral de Derivação 5. Amins 6. Iminas 7. Cálculos Computacionais 8. Análise Conformacional

Abstract

The determination of enantiomeric excess (*ee*) in chiral compounds by nuclear magnetic resonance (NMR) was discovered more than half a century ago by Raban and Mislow and remains quite current and important. One of the ways of quantify the *ee* is to form diastereoisomers via chiral derivatizing agents (CDA). CDA with the aldehyde function has been widely used in discriminating chiral amines because of easy formation of the imines under mild conditions. There is a preference for the use of cyclic aldehydes as CDA since their lower conformational flexibility favors the differentiation of the diastereoisomeric derivatives.

As far as we are aware, there were no studies of CDA using acyclic compounds. Thus, the goal of this work was to use acyclic terpene (*S*)-citronellal as CDA for the determination of the *ee* of primary amines, through ^1H and ^{13}C NMR.

Initially, we observed the preference for a folded conformations of the (*S*)-citronellal by NOE and by comparing the theoretical chemical shifts obtained from the optimization with the D3 dispersion correction, and experimental ^1H NMR. Next, our results suggested that the cause of the citronelal molecular folding could be attributed to London and HOMO-LUMO interactions.

After the conformational analysis of the (*S*)-citronellal, we reacted this compound within the NMR tube (“mix and shake”) with racemic and scalemic mixtures of the *sec*-butylamine, 1-(phenyl) ethanamine, amphetamine, 2-aminobutan-1-ol, methionine and phenylalanine. In all cases, it was possible to make the determination of the *ee* and absolute configuration with great effectiveness.

The results showed that methyl group attached to the stereogenic center of the (*S*)-citronelal is a convenient signal to determine the *ee* of chiral amines, because it is easily recognized in the spectrum, since that signal is already part of the CDA and also for being in a fairly shielded region of the spectrum in both ^1H and ^{13}C NMR. With this, complete and rigorous structural elucidation becomes unnecessary.

Subsequently, the conformations of the imines formed showed, by theoretical and experimental (NOE) studies, the same molecular folding similar to that found in citronellal. The reason for this effect is also found in the interactions of London and in the interactions of suitable molecular orbitals.

Keywords: 1. Nuclear Magnetic Resonance 2. NMR 3. Citronellal 4. Chiral Derivation Agent 5. Amines 6. Imines 7. Computational Calculations 8. Conformational Analysis

Sumário

Introdução	1
1. Conceitos gerais sobre estereoquímica ¹⁻³	1
1.1 Configuração e conformação ¹⁻³	4
1.2 Regra de prioridade de Cahn, Ingold e Prelog (C.I.P.) ¹⁻³	6
1.3 Configuração relativa e absoluta ¹⁻³	7
1.4 Mistura racêmica e excesso enantiomérico ¹⁻³	8
1.5 Resolução de enantiômeros ⁴	9
a) <i>Resolução através da formação de diastereoisômeros</i>	9
b) <i>Resolução enzimática</i>	9
c) <i>Resolução cromatográfica</i>	10
1.6 Simetria na estereoquímica de compostos orgânicos ^{2,3}	10
2 Quiralidade dos fármacos ⁵⁻¹⁰	12
4. Princípio da ressonância magnética nuclear (RMN) ¹¹⁻¹³	16
5. O uso da ressonância magnética nuclear na quantificação dos enantiômeros ¹⁴⁻¹⁸	20
5.1 Reagente de Mosher ¹⁴	23
5.2 Agentes quirais de derivação para aminas primárias quirais	28
Fundamentos Teóricos dos Cálculos Computacionais	35
Objetivos	48
Materiais e métodos	49
Espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C	50
Cálculos teóricos	50
Resultados e Discussão	53
Capítulo 1 - Estudos conformacionais do agente quiral de derivação	53
Capítulo 2 - Quantificação do excesso enantiomérico das aminas por RMN de ¹ H e ¹³ C utilizando o (S)-citronelal como agente quiral de derivação	66
Capítulo 3 - Estudos conformacionais das iminas diastereoméricas formadas entre o (S)-citronelal e as aminas quirais	Erro! Indicador não definido.
Capítulo 4 - Quantificação do excesso enantiomérico utilizando (S)-citronelal como agente de derivação quiral através de um protocolo combinado de cálculos computacionais de deslocamento químico de RMN de ¹³ C e o método CP3	Erro! Indicador não definido.
Capítulo 5 - Quantificação do excesso enantiomérico de amino-ácidos utilizando (S)-citronelal como agente quiral de derivação	Erro! Indicador não definido.
Conclusões	77
Referências Bibliográficas	79

Introdução

“Eu não tenho nenhum talento especial. Sou apenas apaixonadamente curioso.”

(Albert Einstein)

1. Conceitos gerais sobre estereoquímica¹⁻³

Toda ciência, de um modo geral, surge da curiosidade dos pesquisadores sobre determinado tema. Ora, se não houvesse questionamentos acerca de fatos já estabelecidos ou consolidados nenhuma evolução científica teria sido alcançada.

Partindo dessa premissa, a estereoquímica, segmento da química que estuda o arranjo espacial dos átomos, iniciou-se dado o interesse, a curiosidade e o empenho dos pesquisadores como Jean Baptiste Biot, Louis Pasteur, Jacobus Henricus van't Hoff, Joseph Achille Le Bel, Hermann Emil Fischer, Johannes Martin Bijvoet.

Em 1815, Biot mostrou com o auxílio de um polarímetro que as substâncias, na forma cristalina ou não, tinham a capacidade de desviar o plano da luz polarizada.

Destaca-se que este referido equipamento possui como função selecionar um feixe de luz polarizado que atravessa a cela, onde substância está acondicionada, e sofre um desvio no seu plano de polarização, o qual é detectado por um segundo polarizador móvel.

Ainda na polarimetria, é importante ressaltar que arbitrariamente ficou convencionado que as moléculas que desviam a rotação do plano da luz polarizada para a direita são chamadas dextrógiras (*d*) ou (+) e, em contrapartida, quando o desvio é para a esquerda, as moléculas são chamadas levógiras (*l*) ou (-).

No entanto, Pasteur conseguiu fazer uma correlação entre a estrutura e a capacidade das substâncias desviarem o plano da luz polarizada.

Nos barris de suco de uva, o referido pesquisador observou a formação de duas substâncias cristalinas: a) uma que causava a rotação do plano da luz polarizada para a direita, que foi denominada de ácido tartárico; e b) outra que não causava nenhum desvio, ou seja, era inativa, a qual foi denominada de racêmico (do latim *racemus*, que significa cacho de uva).

Mais tarde, ao preparar o sal duplo de sódio e amônio dos ácidos estudados, Pasteur verificou que os cristais de ácido tartárico eram semelhantes, enquanto o composto racêmico possuía cristais com duas formas distintas, sendo uma delas a imagem especular da outra.

Salienta-se que os cristais enantiomorfos (do grego, *enantio* que significa oposto e *morfos* que significa forma) já tinham sido objetos de estudos e pesquisas do mineralogista Haiüy e do astrônomo Herschel, os quais observaram que as facetas de dois cristais

enantiomorfos eram dispostas de forma não sobreponíveis, no qual denominaram de hemihedrismo.

Além disso, os supramencionados pesquisadores relacionaram que os cristais cujas facetas estavam em uma mesma direção giravam o plano da luz polarizada para um mesmo lado, enquanto o seu enantiomorfo rotacionava a luz para o lado oposto.

Embora essa relação tenha sido feita antes por outros pesquisados, Pasteur foi o primeiro a estender essas definições dadas aos cristais para as moléculas.

Posteriormente, os cientistas van't Hoff e Le Bel quase simultaneamente chegaram a conclusão de que a molécula do metano era tridimensional, ocupando o átomo de carbono o centro e os átomos de hidrogênio os vértices de um tetraedro imaginário.

Assim, ao relacionar as descobertas acima originou-se a definição de quiralidade (do grego *quiros*, que significa mão): propriedade do objeto e sua imagem especular não serem sobreponíveis, mesmo efeito observado ao se comparar as mãos esquerda e direita.

Ao transpor esse conceito de quiralidade para as moléculas, é correto afirmar que as moléculas que não são sobreponíveis com as respectivas imagens no espelho são moléculas quirais, constituindo um par de enantiômeros. Por outro lado, definiu-se que uma molécula aquiral é aquela em que há a sobreposição entre a molécula e sua imagem especular (figura 1).

Figura 1. Exemplo de quiralidade.

Em uma molécula quiral, existem quatro termos para designar o carbono tetraédrico ligado a quatro substituintes diferentes: carbono assimétrico, carbono quiral, centro de quiralidade e centro estereogênico (ou estereocentro).

Importante ressaltar que o termo carbono assimétrico pode resultar em um equívoco conceitual, uma vez que é possível uma molécula com um carbono com quatro ligantes diferentes apresentar elementos de simetria.

Do mesmo modo, é equivocada a utilização da terminologia carbono quiral, vez que a quiralidade é uma propriedade que afeta a molécula como um todo e não apenas um único átomo.

Dessa forma, as terminologias mais corretas são centro estereogênico, estereocentro ou centro de quiralidade.

A presença de um centro de quiralidade para uma molécula orgânica não é uma condição necessária, uma vez que várias moléculas apresentam quiralidade na ausência de centro de quiralidade, como ocorre nos derivados bifenílicos (figura 2).

Por outro lado, existem estruturas aquirais na presença de centros de quiralidade (figura 2). Esses compostos, denominados *meso*, são opticamente inativos por compensação interna, uma vez que enquanto um estereocentro gira o plano da luz polarizada para um lado, o outro centro rotaciona para o lado oposto.

Figura 2. Quiralidade dos compostos bifenílicos e aquiralidade dos compostos *meso*.

Portanto, o simples fato de uma molécula não se sobrepor com sua imagem especular é a única condição necessária e suficiente para classificar e denominar a molécula como quiral.

Fischer desenvolveu um sistema para representar o centro estereogênico. O método consiste em representar o carbono estereogênico em uma posição onde os substituintes à esquerda e à direita estão saindo do plano e os substituintes acima e abaixo estão para atrás do plano (figura 3).

Figura 3. Projeção de Fisher.

Posteriormente, Rosanoff utilizou-se dos princípios obtidos por Fisher para elaborar um modelo de classificação de açúcares e α -amino-ácidos baseando-se no gliceraldeído.

Para isso, arbitrariamente escolheu que o gliceraldeído dextrógiro estaria com a hidroxila posicionada do lado direito da molécula, na qual chamou de D-gliceraldeído, enquanto o L-(-)-gliceraldeído a hidroxila estaria posicionada para o lado esquerdo.

Após a arbitrária convenção de Rosanoff, todos os açúcares e amino-ácidos foram classificados em D e L por se tratarem, em geral, de produtos derivados da reação com o gliceraldeído, com a retenção da posição da hidroxila (esquema 1).

Esquema 1. Reações com retenção da configuração do estereocentro.

No entanto, essa relação arbitrária entre a nomenclatura D e L-gliceraldeído com a rotação do plano da luz polarizada (+) e (-)-gliceraldeído, respectivamente, somente pode ser comprovada sua veracidade com os avanços da cristalografia de raio-X, desenvolvida inicialmente por Bijvoet em 1951.

1.1 Configuração e conformação¹⁻³

Os isômeros são compostos diferentes com a mesma fórmula molecular e dentro desta categoria existem os isômeros constitucionais, que possuem diferenças na conectividade das ligações dos átomos, e os estereoisômeros, que podem ser sub-divididos em:

a) isômeros conformacionais: quando a conversão de uma estrutura na outra ocorre simplesmente provocando rotações de ligações.

O caso de mais fácil compreensão é quando se analisa as conformações do ciclo-hexano.

Esta molécula pode adotar uma conformação que é essencialmente livre de tensão, a conformação cadeira. Uma rotação sincronizada em torno das ligações carbono-carbono muda uma conformação cadeira em outra conformação cadeira.

Além dessas duas conformações, existem ainda as conformações do tipo barco e barco torcido, que apresentam maior energia devido a presença da tensão torsional e angular (figura 4).

Figura 4. Coordenada das conformações do ciclo-hexano.

b) isômeros configuracionais: quando dois compostos não podem ser convertidos um ao outro sem a ruptura de uma ligação química. Em outras palavras, pode-se dizer que os isômeros configuracionais diferem na configuração do estereocentro, e, portanto, não podem ser convertidos.

Observa-se que se um ou mais ligantes do enantiômero apresentam estereocentro ocorre a formação dos diastereoisômeros, que são estereoisômeros cuja sua imagem especular não é a imagem da sua molécula de origem.

De forma geral, denomina-se que os isômeros configuracionais que não são enantiômeros são chamados de diastereoisômeros. Essas duas moléculas diastereoméricas, bem como os enantiômeros, apresentam, portanto, configurações diferentes (figura 5).

Figura 5. Configurações de enantiômeros e diastereoisômeros.

Com a regra do “2ⁿ” encontra-se o número máximo de estereoisômeros possíveis para uma molécula com n centros estereogênicos. Em um composto com dois estereocentros, por exemplo, podemos esperar 4 estereoisômeros ($2^2 = 4$).

No caso do ácido tartárico (esquema 2), nota-se o par de enantiômeros e sua relação com os seus diastereoisômeros. No entanto, os diastereoisômeros R,S e S,R são estruturas idênticas que podem ser interconvertidos um ao outro e que apresentam plano de simetria, são os chamados compostos *meso*.

Esquema 2. Relação entre enantiômeros e diastereoisômeros do ácido tartárico.

1.2 Regra de prioridade de Cahn, Ingold e Prelog (C.I.P.)¹⁻³

Os químicos Cahn, Ingold e Prelog (C.I.P.) estabeleceram um sistema para designar as duas configurações dos centros de quiralidade.

Segundo o sistema C.I.P. (figura 6), primeiramente, é necessário identificar o centro estereogênico e ordenar os seus ligantes conforme a regra de prioridade (ou precedência), que consiste em:

1) Verificar o número atômico de cada átomo ligado ao estereocentro e atribuir ao maior número atômico a maior prioridade (numerado como 1).

2) Caso dois ou mais ligantes apresentem o mesmo número atômico, torna-se necessário localizar o primeiro ponto de diferença, analisando-se o número atômico dos demais átomos da cadeia de cada ligante.

3) Em relação às ligações duplas e triplas, os átomos são duplicados ou triplicados de modo a representar uma ligação simples. Vale ressaltar que quando se compara duas ligações duplas, o grupo de configuração *cis* precede um grupo de configuração *trans*.

Após ordenar os quatro grupos ligados ao centro estereogênico (numerados de 1 a 4, figura 6), deve-se rotacionar a molécula para que aquele átomo de menor prioridade (número 4) fique para trás do plano da página (o mais distante do observador).

Em seguida, observa-se o caminho percorrido pelos ligantes 1, 2 e 3 em ordem numérica crescente. Se este caminho for no sentido horário (ou seja, aquele que se desenvolve para a direita), trata-se do estereocentro com estereodescritor *R* (do grego, *rectus* que significa direita) e no sentido anti-horário (ou seja, aquele se desenvolve para a esquerda) trata-se do estereodescritor *S* (do grego, *sinister* que significa esquerda).

Figura 6. Regra de prioridade e classificação *R* e *S*.

1.3 Configuração relativa e absoluta¹⁻³

As configurações dos centros de quiralidade *R/S* ou *D/L* são sistemas arbitrários para designar os estereocentros e que não apresentam nenhuma relação direta com a atividade ótica, a menos que seja atribuída a configuração absoluta de cada molécula dextrógira ou levógira, por meio da difração dos raios-X.

Dessa forma, a configuração absoluta só pode ser estabelecida após o método de difração dos raios-X definir o arranjo tridimensional exato das estruturas. No entanto, para isso é essencial que a molécula possua um átomo pesado, por exemplo, enxofre, bromo ou cobre, que pode ser inserido sinteticamente na molécula.

Apenas com esse artifício é que conseguimos definir a diferença na fase do raio difratado e, conseqüentemente, a configuração absoluta dos átomos. Caso contrário, o padrão dos raios-X difratados de uma determinada molécula é o mesmo obtido pela sua imagem especular.

É também importante salientar que a técnica de difração de raios-X contém outra restrição como a dificuldade de preparação de cristais adequados para os experimentos.

No entanto, muitas reações da química orgânica são regidas pela retenção ou inversão da configuração, possibilitando, assim, correlacionar os centros estereogênicos dos reagentes e dos produtos (esquema 1).

Outro tipo de correlação pode ser realizado na reação entre um composto quiral de configuração absoluta (A^*) com um composto quiral de configuração desconhecida (B^*).

Após a ligação covalente entre esses dois compostos (produto com os dois centros estereogênicos), a difração de raios-X, bem como outras técnicas como cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e ressonância magnética nuclear (RMN), podem determinar a posição tridimensional dos ligantes dos dois estereocentros. Em outros termos, pode determinar a configuração relativa de um estereocentro em relação ao outro, além de inferir a configuração absoluta de B^* .

1.4 Mistura racêmica e excesso enantiomérico¹⁻³

Se na reação, por exemplo, entre um nucleófilo qualquer e uma cetona com substituintes diferentes não houver algum fator que favoreça uma face da cetona em relação a outra, forma-se uma mistura equimolar do par de enantiômeros que nomeamos de mistura racêmica.

Baseado no princípio da polarimetria, cada enantiômero gira a rotação do plano da luz polarizada para um lado. Sendo assim, a mistura racêmica não desvia o plano de polarização, ou seja, é opticamente inativa.

Por outro lado, se o nucleófilo apresentar algum ataque preferencial em uma das faces da cetona, ocorre a formação majoritária de um enantiômero em relação ao outro, dando origem ao excesso enantiomérico (*ee*), definido por:

$$\text{Excesso enantiomérico (\%)} = \% \text{ enantiômero A} - \% \text{ enantiômero B}$$

1

Sendo que a porcentagem de cada enantiômero da fórmula descrita acima pode ser atribuída por qualquer técnica capaz de diferenciar e quantificar cada um dos enantiômeros.

1.5 Resolução de enantiômeros⁴

Além da síntese assimétrica, a separação da mistura racêmica em seus componentes enantioméricos, cujo processo é chamado de resolução, tem sido muito estudada.

Em geral, a resolução dos enantiômeros pode ser realizada por quatro vias:

a) *Resolução através da formação de diastereoisômeros*

Uma vez que os diastereoisômeros apresentam propriedades físico-químicas diferentes, a resolução de uma mistura de enantiômeros (A^* e B^*) pode ser facilmente obtida transformando o par de enantiômeros em um par de diastereoisômeros, na presença de uma substância enantiomericamente pura (C^*). Sendo assim, os diastereoisômeros formados (A^*-C^* e B^*-C^*) podem ser separados por meio de destilação, cristalização ou cromatografia.

A formação dos diastereoisômeros (A^*-C^* e B^*-C^*) ocorre por meio de reações clássicas da química orgânica. Por exemplo, para a resolução de ácidos carboxílicos racêmicos utiliza-se uma amina enantiomericamente pura, bem como para a separação de aminas quirais pode-se usar um ácido carboxílico com configuração definida.

b) *Resolução enzimática*

Neste caso, a discriminação dos enantiômeros é feita por meio do reconhecimento dos isômeros pelo sítio ativo das enzimas, que são moléculas derivadas de aminoácidos, portanto, quirais.

Embora essa metodologia apresente vantagens em relação a quimiosseletividade (cada enzima atua em um determinado tipo de grupo funcional) e regiosseletividade (a reação atua em uma região específica do substrato), cada enantiômero pode reagir de forma preferencial com o sítio ativo da enzima, processo pelo qual denominou-se resolução cinética.

Dessa forma, os complexos diastereoméricos enzima-substratos formados ($E-R$ e $E-S$) apresentam diferentes valores de energia livre (ΔG) para os estados de transição, o que ocasiona em velocidades de reações diferentes para cada um dos enantiômeros.

c) *Resolução cromatográfica*

Na separação cromatográfica, cada enantiômero possui afinidades diferentes entre a fase estacionária quiral e a fase móvel. Essas afinidades estão relacionadas às interações fracas do tipo de van der Waals e ligações de hidrogênio.

Nos últimos anos, vários estudos foram desenvolvidos a fim de aperfeiçoar as fases estacionárias quirais, que a princípio eram realizadas a partir de aminoácidos ligados covalentemente a uma matriz de polisiloxano. Atualmente, as fases estacionárias quirais englobam o uso de compostos metálicos, terpenos, oligômeros, ciclodextrinas, entre outros.

1.6 Simetria na estereoquímica de compostos orgânicos^{2,3}

Como já dito anteriormente, o caso mais simples de quiralidade ocorre quando uma molécula possui apenas um único centro estereogênico. Entretanto, quando há dois ou mais estereocentros as moléculas podem ou não apresentarem quiralidade.

Mesmo sabendo que a única condição suficiente e necessária para determinar a quiralidade é a não sobreposição da molécula e sua imagem especular, os conceitos de simetria são alternativas na determinação da quiralidade das moléculas.

Para isso, são feitas operações de simetria, que consistem em movimentos que quando aplicados a uma estrutura a converte em outra perfeitamente equivalente a inicial.

As operações de simetria são baseadas em quatro elementos de simetria, sendo eles:

1) Plano de simetria (σ): um plano que divide a molécula em duas partes iguais que são a imagem especular uma da outra (figura 7A), já mostrado nos compostos *meso*.

2) Centro de inversão (i), também denominado como centro de simetria ou ponto de simetria: um ponto no qual um átomo da molécula tem outro igual do lado oposto na linha reta que os une (figura 7B).

3) Eixo de rotação de ordem n (C_n), também conhecido como eixo de rotação próprio ou eixo de simetria próprio: um eixo em torno do qual se roda a molécula de $360^\circ/n$ obtendo, ao fim de cada rotação, a mesma molécula inicial (figura 7C).

4) Eixo de rotação-reflexão (S_n), também chamado de eixo alternante ou eixo impróprio: equivalente a rotação de $360^\circ/n$ em relação a um eixo, seguido de uma reflexão em um plano perpendicular ao eixo de rotação (figura 7D).

A) Plano de simetria (σ)

B) Centro de inversão (i)

C) Eixo de rotação de ordem n (C_n)

D) Eixo de rotação-reflexão (S_n)

Figura 7. Exemplo de elementos de simetria.

Nos itens 3 e 4 acima, a multiplicidade n significa o número de posições coincidentes com a molécula original em um intervalo de 360° .

Algumas relações são encontradas nas operações de simetria, como:

- 1) Todas as moléculas possuem eixo de rotação de ordem 1 (C_1), pois há uma sobreposição exata ao se girar 360° .
- 2) Quando uma molécula apresenta um eixo de rotação-reflexão S_{2n} (eixo de rotação-reflexão de multiplicidade par), existe necessariamente um eixo de rotação C_n , como por exemplo, no composto *cis*-1,3-dimetilciclobutano. No entanto, a propriedade inversa não é verdadeira, ou seja, a existência de C_n não configura a presença de S_{2n} .
- 3) Um centro de inversão i é equivalente a um eixo de rotação-reflexão de ordem 2 (S_2).

4) Da mesma forma, um plano de simetria (σ), existente nos compostos *meso* (aquirais), por exemplo, corresponde a um eixo de rotação-reflexão de ordem 1 (S_1).

Por fim, pode-se resumir que as moléculas quirais não possuem eixos de rotação-reflexão, uma vez que a presença de S_n confere necessariamente a aquiralidade da molécula.

2 Quiralidade dos fármacos⁵⁻¹⁰

Na estereoquímica, sabe-se que os diastereoisômeros, por serem compostos diferentes, apresentam propriedades químicas e físicas distintas, como por exemplo, ponto de fusão, ponto de ebulição, momento dipolar, solubilidade e até mesmo sinais diferentes nas técnicas de cromatografia, espectrometria de massas (EM) e ressonância magnética nuclear (RMN). Em contrapartida, os enantiômeros possuem propriedades químicas e físicas idênticas em ambientes aquirais, exceto sua interação com a luz polarizada (atividade óptica).

Na natureza os enantiômeros apresentam um importante papel, uma vez que ocorre o fenômeno conhecido por reconhecimento quiral, ou seja, a interação seletiva de um determinado enantiômero com o receptor quiral.

A estereosseletividade e a especificidade das proteínas que transportam os fármacos quirais resultam em diferentes farmacocinéticas de cada um dos estereoisômeros, em outros termos, ensejam em diferentes formas de absorção, distribuição, metabolismo e excreção dos fármacos.

Nesse sentido, na presença de um fármaco racêmico, metade da droga administrada a um indivíduo é, na melhor das hipóteses, inócua, enquanto no pior cenário pode-se ter consequências desastrosas.

Ao considerar essa possibilidade, é mais vantajoso utilizar as drogas enantiomericamente puras, uma vez que também se pode diminuir a dose administrada e ser mais preciso na relação dose-resposta.

A diferença entre as duas drogas enantioméricas com os sítios de ligação quiral está ilustrado na figura 8.

Figura 8. Interação de dois enantiômeros de uma droga racêmica com o sítio de ligação receptor da droga.

No primeiro exemplo, um dos enantiômeros do fármaco é biologicamente ativo (chamado de eutômero), pois sua estrutura tridimensional se encaixa perfeitamente aos sítios de ligação. Por outro lado, o enantiômero inativo (o distômero) não se liga perfeitamente nas regiões específicas do sítio de ligação, nem mesmo através da rotação das ligações.

Sendo assim, desde 1980 novas tecnologias e metodologias foram desenvolvidas para a separação e síntese de fármacos enantioméricos. Como consequência, por volta dos anos 90, os Estados Unidos, através do FDA (*Food and Drug Administration*), e a União Europeia definiram regras específicas para os fármacos quirais.

No entanto, no Brasil, a legislação é bastante vaga ao determinar que “*deve haver dados sobre os teores dos estereoisômeros, no caso de fármacos que apresentem quiralidade, cuja proporção de estereoisômeros possa comprometer a eficácia e a segurança do medicamento*” (ANVISA, RE nº 135), ou seja, não há a necessidade de fazer a dosagem estereosseletiva do fármaco no plasma.

Nos fármacos quirais, um enantiômero é responsável pela atividade de interesse, enquanto o outro pode ser a) inativo, b) antagonista, c) ter outra atividade de interesse ou d) ter atividade indesejada.

O exemplo mais conhecido bibliograficamente refere-se a talidomida (figura 9), fármaco que passou a ser comercializado, por volta dos anos 1950 e 1960, como sedativo para aliviar náuseas em mulheres grávidas.

Com o tempo, descobriu-se que somente o isômero *R* era responsável pelas propriedades analgésicas e sedativas, enquanto a talidomida *S* era teratogênica. Entre os efeitos colaterais da (*S*)-talidomida destaca-se a focomelia, que consiste em uma síndrome caracterizada pela aproximação ou encurtamento dos membros junto ao tronco do feto, tornando-os semelhantes aos de uma foca.

Após os estudos sobre a isomeria da talidomida, observou-se que mesmo com a administração do isômero *R* enantiomericamente puro, há um processo de racemização no organismo, no qual o enantiômero *S* é formado.

Vários outros exemplos na literatura relatam esses efeitos de um dos enantiômeros dos fármacos quirais, conforme mostrado na tabela 1 e figura 9.

Tabela 1. Exemplos dos fármacos quirais

Fármaco	Efeito
Estrona	- Dextrógiro corresponde ao hormônio estrogênio, enquanto o levógiro é inativo
Varfarina	- Atividade anti-coagulante do isômero <i>S</i> é de 2 a 5 vezes maior do que o isômero <i>R</i>
Propranolol	- Enantiômero <i>S</i> é 100 vezes mais ativo que o <i>R</i>
Anfetamina	- Dextrógiro é 2 vezes mais ativo que o levógiro
Citalopram	- Enantiômero <i>S</i> é o responsável pelo antagonismo da recaptação da serotonina, uma vez que o enantiômero <i>R</i> é 30 vezes menos potente
Omeprazol	- Enantiômero <i>S</i> apresenta atividade superior em relação ao isômero <i>R</i> no tratamento de refluxo e gastrites
Ibuprofeno	- Apenas o enantiômero <i>S</i> tem atividade anti-inflamatória e analgésica assim como todos os outros anti-inflamatórios não-esteroidais
Bupivacaína	- Os isômeros dextrógiro e levógiro possuem a mesma atividade anestésica local, mas apenas o isômero dextrógiro tem a atividade mais prolongada

Figura 9. Exemplos de fármacos quirais.

Baseado nas propriedades distintas de cada um dos enantiômeros, as companhias farmacêuticas e a comunidade acadêmica têm concentrado esforços na produção de drogas enantiomericamente puras, estimulando a ampliação da síntese enantiosseletiva, e também trabalhando no desenvolvimento e validação de métodos analíticos para a determinação do excesso enantiomérico e configuração absoluta das drogas quirais.

4. Princípio da ressonância magnética nuclear (RMN)¹¹⁻¹³

Qualquer núcleo atômico que tenha massa e/ou número atômico ímpar apresenta número quântico de spin nuclear I diferente de zero, como por exemplo, ^1H ($I = 1/2$), ^{31}P ($I = 1/2$), ^2H ($I = 1$), ^{35}Cl ($I = 3/2$), ^{17}O ($I = 5/2$), ^{10}B ($I = 3$), etc. Dessa forma, para cada $I \neq 0$ o núcleo apresenta $2I + 1$ estados de spin nuclear permitidos e um momento magnético μ .

Na ausência de um campo magnético externo B_o , todos esses estados de spin nuclear apresentam a mesma energia, ou seja, são degenerados. No entanto, na presença de B_o , o momento magnético do núcleo se alinha com esse campo magnético e as energias dos estados de spin nuclear passam a ser diferentes.

Para um núcleo com $I = 1/2$, como no caso do hidrogênio, há apenas duas orientações possíveis: a favor ou contra o campo magnético, que se caracterizam com o número quântico magnético $+ 1/2$ e $- 1/2$, respectivamente.

Essas duas orientações $+ 1/2$ e $- 1/2$ podem ser analisadas como se o núcleo fosse um pequeno ímã na presença de um ímã central (campo magnético). Dessa forma, os dois ímãs alinhados (no mesmo sentido) apresentam uma energia menor em relação a outra condição (quando os ímãs estão em sentidos opostos).

O fenômeno da ressonância magnética nuclear ocorre quando os núcleos alinhados com o campo absorvem a energia de um fóton eletromagnético e mudam de orientação de spin magnético, ou seja, excitam para o estado de maior energia. A situação somente se concretiza se houver a igualdade da diferença de energia entre os estados de spin e a energia do fóton eletromagnético. Matematicamente, pode-se dizer que a ressonância é dada por:

$$\Delta E = E_{-1/2} - E_{+1/2} = (\gamma h / 2\pi) \cdot B_o = h\nu \quad \mathbf{2},$$

onde γ é a razão magnetogírica (ou giromagnética) intrínseca a cada átomo, h é a constante de Planck e B_o é o valor do campo magnético externo.

Com base na equação acima, a RMN não seria capaz de distinguir núcleos com diferentes ambientes químicos, dando origem a um único sinal no espectro.

No entanto, a frequência de um determinado núcleo também é influenciada pela distribuição dos elétrons presentes nas ligações químicas. Esses elétrons circulam devido a influência do campo magnético e produzem um campo magnético próprio, oposto ao campo magnético aplicado. O núcleo, por sua vez, sofre a ação de um campo magnético efetivo (B_{efetivo})

que é numericamente menor que o campo magnético aplicado (B_o), conforme observado na figura e fórmula abaixo.

$$B_{efetivo} = B_o (1-\sigma)$$

Figura 10. Representação do campo efetivo.

Esse efeito corresponde a blindagem magnética do núcleo que reduz B_o em σB_o , onde σ é a constante de blindagem, proporcional a densidade de elétrons em movimento.

Como consequência da blindagem magnética, o núcleo satisfaz a condição de ressonância (equação 2) em uma frequência mais baixa dada por:

$$\nu = (\gamma/2\pi) \cdot B_o (1-\sigma) \quad \mathbf{3}$$

Empiricamente, sugere-se que a constante de blindagem (σ) é a somatória de três fatores de contribuição: a contribuição local (σ_{local}) que se refere a contribuição dos elétrons do núcleo analisado, a contribuição da vizinhança ($\sigma_{vizinhança}$) que diz respeito a contribuição do resto da molécula e a contribuição das moléculas de solvente ($\sigma_{solvente}$).

Na contribuição local (σ_{local}) ainda há subdivisões em contribuições diamagnética (σ_{dia}) e paramagnética (σ_{para}).

Segundo a equação de Lamb, a contribuição diamagnética diminui conforme aumenta a distância entre os elétrons circulantes e o núcleo. Portanto, os elétrons dos orbitais s causam uma maior blindagem diamagnética que os elétrons dos orbitais p devido a maior distância entre o elétron e o núcleo desse último orbital.

Para elementos que apresentam apenas orbitais s como o hidrogênio, o efeito da blindagem diamagnética é predominante. Devido a distribuição eletrônica esférica do hidrogênio, é correto afirmar que há um efeito de blindagem diamagnética puro.

Por outro lado, no caso dos átomos de carbono, a falta da simetria esférica na distribuição eletrônica diminui a circulação dos elétrons e, conseqüentemente, a blindagem diamagnética. Nesse caso, a blindagem paramagnética prevalece em relação a blindagem diamagnética.

Todos esses efeitos podem ser observados nos espectros devido a relação entre a frequência e a constante de blindagem (equação 3). Isso porque a blindagem diamagnética contribui com um campo magnético oposto ao campo aplicado, blindando o núcleo e deslocando os sinais para frequências menores. Já a blindagem paramagnética contribui com um campo magnético a favor do campo aplicado, desblindando o núcleo e deslocando para frequências maiores.

O mesmo efeito observado na figura 10 também ocorre nas contribuições dos grupos vizinhos ($\sigma_{\text{vizinhança}}$) provindas de correntes induzidas em grupos de átomos próximos. O exemplo mais comum encontra-se nos compostos aromáticos.

Quando esses compostos são colocados em um campo magnético, os elétrons π do anel aromático são induzidos a circular ao redor do anel, movimento denominado de corrente do anel. Essa circulação dos elétrons modifica o campo magnético de densidade uniforme (isotrópico) em um campo magnético anisotrópico, ou seja, um campo magnético não homogêneo nas proximidades da molécula.

Dessa forma, os hidrogênios do anel benzênico, por exemplo, apresentam um deslocamento químico maior que o esperado, uma vez que esses hidrogênios estão posicionados em uma região onde o campo magnético secundário gerado pelos elétrons π encontra-se a favor ao campo aplicado (figura 11).

Por outro lado, quando hidrogênios vizinhos ao anel benzênico se posicionam no interior do anel aromático, há um efeito de blindagem desses átomos, uma vez que o campo magnético secundário se encontra em direção oposta ao campo magnético aplicado (figura 11).

Figura 11 Representação das regiões de blindagem e desblindagem do campo magnético no anel aromático do benzeno.

Na verdade, no espectro de RMN, a frequência observada, que chamamos de deslocamento químico em Hertz, é a diferença entre a frequência de cada absorção do núcleo (ν) e a frequência de absorção de uma substância de referência (ν_{ref}), geralmente o tetrametilsilano (TMS) fixado no zero da escala de frequência.

Para transformar o deslocamento químico em Hertz em uma grandeza independente do campo magnético aplicado, a diferença entre as frequências explicada acima ($\Delta\nu = \nu - \nu_{ref}$) é dividida pela frequência do equipamento ($\nu_{equipamento}$), dando origem ao deslocamento químico (δ) em partes por milhão (ppm).

A ressonância magnética nuclear também pode ser compreendida por meio do modelo vetorial, tendo uma magnetização macroscópica $\mathbf{M}$ paralela ao campo magnético externo (B_0) resultante da soma vetorial dos momentos magnéticos individuais (figura 12).

Figura 12. Modelo vetorial para explicar a ressonância magnética nuclear.

Após a aplicação de um pulso (perpendicular a B_0) de curta duração contendo uma ampla faixa de frequências, a magnetização $\mathbf{M}$ começa a precessar sobre o eixo desse pulso. No entanto, se um pulso de 90° for utilizado, todo o vetor da magnetização que se encontra no eixo z será transposto para o plano xy .

Com o término do pulso, os núcleos começam a relaxar, ou seja, perdem energia e mudam, portanto, do estado mais enérgico para o de menor energia, por meio de dois tipos de relaxação: a) relaxação longitudinal (ou spin-rede), que é atribuída aos processos que trazem a magnetização de volta a posição inicial (eixo z); e b) relaxação transversal (ou spin-spin), que ocorre na perda de magnetização no plano xy .

Os sinais de magnetização presentes no plano xy são automaticamente coletados em um computador após a conversão dos sinais analógicos em digitais, durante o tempo de aquisição.

Durante este período, ambos os processos de relaxação fazem com que a magnetização **M** volte para o equilíbrio e espalhe a magnetização no plano *xy*, resultando em um decaimento de indução livre (em inglês de “*free induction decay*” - FID).

Por fim, a transformada de Fourier modifica matematicamente os sinais que estão no domínio do tempo para o domínio da frequência.

5. O uso da ressonância magnética nuclear na quantificação dos enantiômeros¹⁴⁻¹⁸

O aumento do interesse pela síntese enantiosseletiva e a descoberta de que fármacos enantioméricos que apresentam propriedades farmacológicas distintas exigiu que métodos de determinação de excesso enantiomérico ou configuração absoluta fossem desenvolvidos, tais como polarimetria, cristalografia de raio-X, dicroísmo circular e cromatografia.

A ressonância magnética nuclear (RMN) na diferenciação dos enantiômeros surgiu com uma riqueza de informações em relação as demais técnicas, uma vez que na ressonância é possível obter os dados estruturais das moléculas, incluindo o seu arranjo tridimensional, sem a necessidade de comparação com substâncias de configuração semelhante, cálculos teóricos ou padrões de alta pureza enantiomérica.

A determinação dos enantiômeros por meio da ressonância magnética nuclear (RMN) iniciou com Raban e Mislow, no ano de 1965, ao perceberem que havia uma boa semelhança entre a cromatografia gasosa e a RMN.¹⁹

Na cromatografia gasosa (CG), os pesquisadores observaram dois produtos diastereoméricos na proporção 67:33 derivados da reação de esterificação entre o 1-(2-fluorofenil)etanol e o ácido 2-fenilpropanóico (figura 13).

Ao verificar o espectro de RMN, perceberam pequenos sinais desdobrados (figura 13), cujas integrais refletiam a proporção aproximada obtida na cromatografia líquida-gasosa.

Entretanto, tanto na cromatografia como na ressonância, não foi possível predizer qual diastereoisômero estava em maior ou menor proporção.

Figura 13. Reação de esterificação feita por Raban e Mislow e a constatação de sinais duplicados no espectro de ^1H RMN.

No ano subsequente, Raban e Mislow publicaram um novo estudo já com conhecimentos mais estabelecidos a respeito do uso da ressonância magnética nuclear na diferenciação dos enantiômeros.²⁰

Dessa vez, os pesquisadores analisaram por meio da RMN a pureza óptica de álcoois quirais deuterados na presença do isômero *R* do ácido metil-mandélico.

Com isso, o reagente enantiomericamente puro teve como função derivar (ou derivatizar) o par de enantiômeros dos álcoois deuterados em um par diastereoisômeros, sendo denominado, portanto, de agente quiral de derivação (ou derivatização, sigla AQD em português); em inglês, *chiral derivatizing agent* (CDA).

Partindo da condição que a reação entre o AQD e a mistura de enantiômeros ocorre com 100% de conversão, pode-se comparar a proporção de diastereoisômeros observadas no espectro de RMN com a proporção de enantiômeros.

Após as descobertas de Raban e Mislow, Pirkle²¹ demonstrou que também era possível derivar os enantiômeros com o auxílio de solventes enantiomericamente puros, nos quais receberam a denominação de agentes quirais de solvatação (sigla AQS em português); em inglês *chiral solvating agent* (CSA).

Cada um desses dois métodos descritos acima apresenta vantagens e desvantagens como mostrado na tabela 2.

Tabela 2. Vantagens e desvantagens dos agentes quirais de solvatação (AQS) e agentes quirais de derivação (AQD)

Método	Vantagens	Desvantagens
AQS	<ul style="list-style-type: none"> • Não é necessário apresentar alto grau de pureza • Facilmente manipulados dentro do tubo de RMN 	<ul style="list-style-type: none"> • Reversibilidade da reação entre o AQS e o substrato devido as ligações fracas que ocorrem entre o composto alvo e o agente quiral • Maior possibilidade de resolução cinética, ou seja, quando um enantiômero reage mais rapidamente que o outro, quando comparado aos AQD
AQD	<ul style="list-style-type: none"> • Ligações covalentes são formadas entre o AQD e o substrato • Menor chances de reversibilidade da reação AQD-substrato • Menor chances de resolução cinética 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessário um alto grau de pureza • Necessário fazer uma reação na bancada

Em ambos os casos, o uso da RMN para a determinação da pureza de um enantiômero baseia-se no mesmo princípio, no qual um par de enantiômeros é convertido em um par de diastereoisômeros, como exemplificado na figura 14.

Figura 14. Princípio da diferenciação de enantiômeros.

Além dessas duas categorias (AQS e AQD), pode-se incluir os lantanídeos quirais de deslocamento (LQD, CLSR em inglês, *chiral lanthanide shift reagent*) no grupo dos agentes quirais de derivação.

Nesse caso, ocorre a complexação do tipo ácido-base de Lewis dos átomos de lantanídeos (Ln) com os sítios das moléculas quirais. Em seguida, no espectro de RMN, o

deslocamento químico do composto ligado ao reagente de deslocamento é afetado, de forma a ter uma blindagem ou desblindagem dos sinais, devido aos elétrons desemparelhados da camada *f* do metal de transição.

Uma desvantagem do uso dos reagentes de deslocamento na RMN está relacionada ao alargamento dos sinais, a qual tem como origem as rápidas trocas que ocorrem entre o substrato livre e o substrato coordenado. Além disso, os elétrons desemparelhados colaboram com o aumento da relaxação transversal, o que também acarreta no alargamento dos sinais. Como consequência desse alargamento dos sinais, a análise de amostras com excesso enantiomérico (*ee*) superior a 95% tornam-se imprecisas.

5.1 Reagente de Mosher¹⁴

O primeiro agente quiral de derivação desenvolvido foi o ácido α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilacético (MTPA) criado por Mosher, no ano de 1973, para reagir com álcoois e aminas primários e secundários na formação de ésteres diastereoméricos (esquema 3).²²

Esquema 3. MTPA na diferenciação enantiomérica de álcoois e aminas.

O citado método desenvolvido por Mosher pode acontecer por meio da derivação dupla, ou seja, quando os dois enantiômeros do agente quiral de derivação são utilizados, ou também através da derivação simples, que consiste na esterificação do álcool com apenas um dos enantiômeros do AQD (figuras 15 e 16).

Nesse último caso, um primeiro espectro de RMN é adquirido normalmente e, em seguida, um segundo espectro é obtido após a ocorrência de alguma modificação experimental, como por exemplo, temperatura de aquisição do espectro ou a adição de algum cátion alcalino terroso dentro do tubo de ressonância (figuras 15 e 16).

Figura 15. Representação da derivação dupla.

Figura 16. Representação da derivação simples.

Em ambos os processos, os espectros de RMN dos ésteres diastereoméricos são adquiridos e comparados em relação a diferença de deslocamentos químicos ($\Delta\delta$).

Mosher iniciou o uso do MTPA na espectroscopia de ressonância magnética nuclear de flúor devido a simplificação do espectro de RMN de ^{19}F em relação a RMN de ^1H . Além disso, havia também algumas vantagens do núcleo do flúor em relação a RMN de ^{13}C como, por exemplo, a abundância natural de 100%, alta razão giromagnética, o grande intervalo de deslocamento químico e a alta intensidade dos sinais no espectro de RMN.

Mosher propôs um modelo empírico para o uso do (R)-MTPA como agente quiral de derivação. Neste caso, o grupo fenila deveria permanecer do lado oposto ao grupo mais volumoso do substrato quiral (esquema 4A) para minimizar interações estéricas.

Com essa conformação, há uma coplanaridade do grupo CF_3 , juntamente com a carbonila e o carbono de estereoquímica desconhecida originado do substrato quiral de

interesse. Consequentemente, o grupo CF_3 no (*R*)-MTPA encontra-se na região de desblindagem da carbonila.

Esquema 4. Modelos empíricos do uso do reagente de Mosher como AQD.

Quando se usa o (*S*)-MTPA (esquema 4B), o grupo volumoso do substrato quiral permanece do mesmo lado do grupo volumoso fenila. Como consequência, há perda da coplanaridade e o grupo CF_3 se desloca para uma região de blindagem da carbonila.

Essa alteração pode ser expressada em termos de diferença de deslocamento químico ($\Delta\delta$) que consiste em subtrair o valor de deslocamento químico do CF_3 quando se usa o (*S*)-MTPA (δ_S) do deslocamento químico do CF_3 derivado do (*R*)-MTPA (δ_R). No caso do esquema 4, onde L_1 é um grupo mais volumoso que L_2 , encontra-se um valor inferior a zero para $\Delta\delta_{SR}(^{19}\text{F})\text{CF}_3$.

Enquanto que na ressonância magnética nuclear de ^{19}F o efeito de blindagem e desblindagem é atribuído a carbonila, na RMN de ^1H e ^{13}C o grupo fenila faz esse importante papel.

Como pode ser observado no esquema 4, os prótons do substituinte L_2 estão blindados pelo grupo fenila no derivado do (*R*)-MTPA e os prótons de L_1 não são afetados pela anisotropia do anel. Em contrapartida, no diastereoisômero derivado do (*S*)-MTPA consegue-se observar o contrário: os prótons de L_1 sendo blindados pela fenila e os prótons de L_2 não “sentindo” nenhum efeito anisotrópico.

Esse efeito da blindagem diamagnética pode ser expresso tanto no RMN de ^1H quanto no RMN de ^{13}C por meio da relação $\Delta\delta_{SR} = \delta_S - \delta_R$, onde δ_S é o deslocamento químico de um determinado próton ou carbono no derivado obtido com o (*S*)-MTPA e δ_R é o deslocamento químico quando se utiliza o (*R*)-MTPA.

Para o álcool ou amina com a configuração do esquema 4C, por exemplo, as relações para cada grupo permanecem conforme descrito na equação 4.

$$\Delta\delta^{SR}L_1 = \delta L_1(S) - \delta L_1(R) < 0 \text{ e } \Delta\delta^{SR}L_2 = \delta L_2(S) - \delta L_2(R) > 0 \quad 4$$

Dessa forma, Mosher foi capaz de relacionar a configuração de uma molécula quiral com os sinais positivos ou negativos da diferença de deslocamento químico ($\Delta\delta^{SR}$). Em outras palavras, pode-se mencionar que Mosher encontrou um padrão para o seu próprio reagente e evidenciou a importância da conformação dos derivados diastereoméricos na análise de álcoois ou aminas quirais.

Entretanto, percebeu que a composição conformacional dos derivados do MTPA obtida por meio dos cálculos teóricos poderia dar uma representação melhor dos confômeros do que a representação desenvolvida empiricamente por Mosher.

Os resultados indicaram que Mosher havia simplificado demasiadamente os confômeros das amidas e dos ésteres diastereoméricos, uma vez que, após a busca conformacional, três confômeros principais de menor energia foram encontrados para cada uma dessa classe de moléculas, como mostrado na tabela 3.

Tabela 3. Confômeros principais derivados do MTPA

Confômeros do éster derivado do MTPA	Confômeros da amida derivada do MTPA
<i>ap1</i> : grupo CF ₃ está em <i>antiperiplanar</i> com a carbonila	<i>sp1</i> : grupo CF ₃ está em <i>sinperiplanar</i> com a carbonila
<i>sp1</i> : grupo CF ₃ e a carbonila estão em <i>sinperiplanar</i> e o anel aromático está blindando um dos ligantes	<i>ap3</i> : grupo CF ₃ está em <i>antiperiplanar</i> com a carbonila e o anel aromático está blindando um dos ligantes
<i>sp2</i> : grupo CF ₃ e a carbonila estão em <i>sinperiplanar</i> e o anel aromático está desblindando um dos ligantes	<i>ap1</i> : grupo CF ₃ está em <i>antiperiplanar</i> com a carbonila e o anel aromático está desblindando um dos ligantes

Esses confômeros causam um efeito de blindagem e desblindagem nos substituintes L₁ e L₂, conforme mostrados nos esquemas 5 e 6.

Éster do (R)-MTPA

Éster do (S)-MTPA

Esquema 5. Confôrmers dos derivados de éster do MTPA.

Amida do (R)-MTPA

Amida do (S)-MTPA

Esquema 6. Confôrmers dos derivados de amida do MTPA.

No caso dos ésteres formados na reação entre o álcool quiral e o MTPA (esquema 5), o resultado final para o substituinte L_1 é de desblindagem quando se usa o (R)-MTPA e de quase nenhum efeito com o (S)-MTPA devido aos efeitos de blindagem e desblindagem se anularem em $sp1$ e $sp2$, respectivamente. Em contrapartida, no substituinte L_2 há um efeito de desblindagem com (S)-MTPA e um efeito praticamente nulo com o (R)-MTPA devido aos confôrmers $sp1$ e $sp2$.

Nas amidas diastereoméricas (esquema 6), ocorre o mesmo fenômeno: L₂ é blindado quando se usa o (*R*)-MTPA e nenhum efeito é observado no (*S*)-MTPA. Por outro lado, L₁ é blindado no derivado com (*S*)-MTPA enquanto que com o (*R*)-MTPA o substituinte não é afetado.

No entanto, embora o reagente de Mosher seja ainda o mais utilizado, este também apresenta algumas limitações como a necessidade de adquirir ambos os espectros de RMN de ¹H e ¹⁹F para alcançar melhor acurácia na pureza enantiomérica.

Além da mencionada limitação acima exposta, observa-se frequentemente o problema de resolução cinética e a diferença de deslocamento químico dos sinais correspondentes aos diastereoisômeros (valores $\Delta\delta_{RS}$) é geralmente pequena.

5.2 Agentes quirais de derivação para aminas primárias quirais

As aminas foram frequentemente aplicadas como precursores na síntese assimétrica de moléculas biologicamente ativas ou como blocos de construção no projeto de novos medicamento.²³⁻²⁵ Neste contexto, os métodos para diferenciar e quantificar aminas quirais estão em constante desenvolvimento.

De forma geral, estipulou-se que para ser um bom agente quiral de derivação, estes compostos deveriam apresentar as seguintes características¹⁴:

- 1) Grupo polar ou volumoso para fixar alguma conformação preferencial
- 2) Grupo funcional para se ligar covalentemente ao substrato
- 3) Grupo com efeito anisotrópico

Os agentes quirais de derivação mostrados na figura 17¹⁴⁻¹⁸ são eficientes na resolução dos sinais do espectro de RMN formando amidas diastereoméricas, assim como ocorre no reagente de Mosher.

Figura 17. Agentes quirais de derivação semelhantes ao MTPA.

Com esses AQD, ainda é possível fazer a adição, dentro do tubo de RMN, de algum sal de metal alcalino terroso, sendo o perclorato de bário, Ba(ClO₄)₂, o mais utilizado.

Esse procedimento experimental que se baseia no método de derivação simples (figura 16) faz com que o cátion (Ba^{2+}) complexa com os átomos de oxigênios dos grupos metóxi e carbonila e favoreça uma das conformações, aumentando, dessa forma, a diferença de deslocamento químico ($\Delta\delta$).¹⁵

Em outras palavras, podemos dizer que o procedimento de adicionar metais quelantes é uma maneira de se prever a conformação preferencial dos derivados diastereoméricos formados com os agentes quirais de derivação.

No caso do (*R*)-MPA (esquema 7), um análogo ao reagente de Mosher, as evidências mostradas nos espectros de RMN de ^1H juntamente com cálculos teóricos provam que o átomo de Ba^{2+} se liga fortemente aos átomos de oxigênio dos grupos carbonila e metóxi, levando a um aumento da estabilidade e da população do confômero *sp*.¹⁵

Esquema 7. Formação de complexos de Ba^{2+} com o (*R*)-MPA.

Além do uso dos metais para favorecer e até mesmo prever a conformação preferencial dos derivados diastereoméricos, também se pode explorar outros agentes onde a conformação preferencial é decorrente da formação de ligações de hidrogênios intramoleculares.

Essa abordagem é notada em agentes quirais de derivação como (*R*)-*N*-(2-nitrofenil)prolina, no qual se observa a ligação de hidrogênio entre o NH da amida e o oxigênio do grupo nitro (esquema 8A).²⁶ Nós realizamos a busca conformacional simples desse composto no programa PCModel para melhor visualização do travamento da conformação citada pela ligação de hidrogênio formada.

Outro exemplo ocorre no anidrido (1-naftil)(trifluorometil) *O*-carboxi (esquema 8B), que ao reagir com aminas primárias dá origem ao α -hidroxiamidas propensas a terem uma conformação eclipsada devido a ligação de hidrogênio intramolecular.²⁷

Na figura 18 estão descritos outros agentes quirais de derivação utilizados na diferenciação de aminas primárias quirais. A partir desses exemplos da mencionada figura, pode-se entender que, em geral, as aminas agem como nucleófilos na presença de AQD eletrofílicos como álcoois (reagente de Noe), isotiocianatos e também compostos fosforados.¹⁷

Dentre os eletrófilos possíveis, pode-se também incluir os agentes quirais de derivação contendo a função aldeído, que na presença de aminas quirais, dão origem às iminas em condições brandas e, geralmente, sem necessidade de purificação e/ou reagente adicional, como ocorre na formação das amidas.^{28,29}

O agente quiral de derivação do esquema 9 possui a função aldeído e a estrutura do BINOL para se analisar o excesso enantiomérico de amino-álcoois.³⁰ Esse produto da reação AQD e substrato apresenta várias ligações de hidrogênios que estabilizam a molécula, assim como os compostos da esquema 8.

Esquema 9. AQD com a função aldeído para a análise de amino-álcoois.

Uma vez que o sinal de RMN de uma determinada molécula é a média ponderada, dada pela distribuição de Boltzmann, dos deslocamentos químicos dos confôrmeros³¹, os pesquisadores que desenvolvem os agentes quirais de derivação tendem a restringir, na maioria das vezes, o movimento molecular dos AQD por meio da inclusão de compostos cíclicos ou ligações de hidrogênio, a fim de diminuir a quantidade de confôrmeros.

Essa restrição conformacional também é esperada quando há o abaixamento da temperatura ou a adição de metais quelantes que são usados na derivação dupla.¹⁵

Nesses casos, ao reduzir a quantidade de confôrmeros há um sinal mais resolvido para cada derivado diastereomérico, o que resulta em uma maior diferença de deslocamento químico entre os dois diastereoisômeros ($\Delta\delta$) (figura 19). Como consequência, a medida da integral para quantificar os isômeros torna-se mais precisa, como exemplificado na figura abaixo.

Figura 19. Representação dos sinais de RMN com base na proporção dos confôrmeros.

Dufresne e colaboradores utilizaram o aldeído terpênico (*R*)-mirtenal na análise de excesso enantiomérico de amins quirais primárias por meio da ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C .³²

O método utilizado pelos pesquisadores, denominado em inglês por “*mix and shake*”, apresenta um princípio bastante simples, onde se misturam dentro do próprio tubo de RMN, o agente quiral de derivação (no caso, o mirtenal) e a amina quiral, seguida da obtenção do espectro de RMN (figura 20).³²

Figura 20. Representação do método “*mix and shake*”.

Apesar do mirtenal apresentar hidrogênios com deslocamentos químicos bastante distintos, o mesmo não conseguiu diferenciar os enantiômeros de amins alifáticas por RMN de ^1H .³²

Por outro lado, o excesso enantiomérico das amins alifáticas e aromáticas, dos amino-álcoois e das diaminas, foi determinado por RMN de ^{13}C em boa concordância com as proporções teóricas.³³

Embora a abundância natural e o momento magnético do ^{13}C sejam desfavoráveis, esse núcleo torna-se promissor por diminuir a quantidade de sinais e, conseqüentemente, simplificar o espectro.³³

A quantificação excesso enantiomérico utilizando o mirtenal como AQD foi feita por meio de um sistema de pós-processamento automatizado, disponível na programação da Bruker®, denominado de deconvolução.³³

Esse método consiste em fazer a otimização do espectro experimental utilizando uma razão complexa entre o FID experimental e teórico, dando como resultado um espectro ideal com independência da linha de base, aumento da resolução e a conversão de sinais sobrepostos e “ombros” espectrais em picos distintos (figura 21).^{34,35}

Figura 21. Princípio da deconvolução.³⁵

Como o (*R*)-mirtrenal, o (*S*)-citronelal (**1**) é outro aldeído terpênico comercialmente disponível que ao reagir com aminas quirais forma iminas diastereoméricas, conforme mostrado no esquema 10.

Na literatura, o (*R*)-citronelal foi utilizado para medidas da resolução cinética dos enantiômeros da 1-(fenil)etanamina por dicroísmo circular (DC) em combinação com a técnica de ultravioleta visível (UV-vis) e a análise multivariada.³⁶

Embora esses resultados já mostravam indícios que o citronelal poderia ser um agente quiral de derivação usado na ressonância magnética nuclear (RMN), nenhum estudo com o (*S*)-citronelal (**1**) como AQD foi realizado em RMN de ^1H e ^{13}C . De forma geral, podemos dizer que não há relatos na literatura de agentes quirais de derivação fazendo o uso de moléculas acíclicas.

Esquema 10. Similaridades e diferenças entre o (R)-mirtenol e o (S)-citronelal (**1**).

No entanto, baseado nos precedentes experimentais que utilizam terpenos como AQD em aminas quirais (como o reagente de Noe e o mirtenol), no trabalho de resolução cinética acima mencionado, bem como ao fato de que a conformação do citronelal poderia ser travada por meio de abaixamento da temperatura ou adição metais quelantes, nós imaginamos que o (S)-citronelal seria um bom agente quiral de derivação na ressonância magnética nuclear.

Dessa maneira, o citronelal, embora seja um terpeno de cadeia aberta, poderia ser um agente quiral de derivação eficaz para a determinação do excesso enantiomérico de aminas primárias quirais.

Além disso, esse novo conceito de agentes de derivação acíclicos abre a possibilidade de novos compostos acíclicos serem capazes de fazer a discriminação de enantiômeros.

Fundamentos Teóricos dos Cálculos Computacionais

Essa seção foi introduzida nessa tese a fim de proporcionar noções a respeito dos cálculos teóricos utilizados ao longo deste trabalho. A nossa intenção não é detalhar cada método por meio de extensas fórmulas matemáticas, mas sim entender o conceito que está por trás de cada método. Para isso, baseamo-nos no livro de Bachrach³⁷ voltado para a área da química orgânica computacional.

Para um estudo mais detalhado dos cálculos computacionais sugerimos os livros dos autores Cramer³⁸ e Jensen³⁹.

Nos últimos anos, observamos um aumento no número de pesquisadores que usam a química computacional como uma técnica complementar aos estudos específicos de cada área.

Este aumento pode ser atribuído a implementação de programas de computador cada vez mais fáceis de serem utilizados. Apesar desse avanço, muitos pesquisadores não entendem os princípios básicos que envolvem um cálculo.

O início dos cálculos computacionais foi dado pela mecânica molecular que considera as moléculas como um conjunto de átomos ligados entre si por forças elásticas ou harmônicas. Em outras palavras, podemos dizer que a mecânica molecular define uma molécula como uma coleção de esferas conectadas por molas, onde as esferas representam os núcleos e as molas representam as ligações.

A mecânica molecular segue a aproximação de Born-Oppenheimer, a qual estabelece que os núcleos são mais pesados que os elétrons e, por isso, movem-se mais lentamente. Dessa forma, pelo fato dos elétrons se moverem tão rapidamente, é possível o ajuste dos elétrons aos movimentos do núcleo. Consequentemente, não há necessidade de se considerar os elétrons explicitamente nos cálculos de mecânica molecular.

Para se calcular a energia e a geometria de uma molécula pela mecânica molecular é necessário utilizar um campo de força que consiste em uma somatória das funções de energias potenciais que levam em consideração as contribuições estruturais como, por exemplo, comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros.

A mecânica molecular divide a energia total de um sistema em componentes clássicos, conforme exibido na fórmula abaixo.

$$E_{MM} = E_{\text{estiramento}} + E_{\text{deformação}} + E_{\text{torsional}} + E_{\text{vdW}} + E_{\text{eletrostática}} + E_{\text{cruzada}} \quad 5$$

Portanto, a energia calculada pela mecânica molecular consiste da somatória da energia de estiramento da ligação ($E_{\text{estiramento}}$), da energia associada a deformação angular das ligações ($E_{\text{deformação}}$), da energia relacionada com as rotações torcionais ($E_{\text{torsional}}$), da energia que

mimetiza as interações de van der Waals entre os átomos não-ligados (E_{vdw}), da energia eletrostática entre os átomos não-ligados ($E_{\text{eletrostática}}$) e, por fim, da energia que relaciona os cruzamentos dos fatores anteriores (E_{cruzada}), podendo incluir, por exemplo, o acoplamento (ou o cruzamento) que pode existir entre dois estiramentos de ligações.

A maioria dos cálculos computacionais se inicia com a busca de estruturas quimicamente interessantes por meio dos campos de força da mecânica molecular. Podemos citar os campos de força MM2, MM3 e MM4, desenvolvidos por Allinger e colaboradores⁴⁰⁻⁴², como os campos de força mais utilizados em cálculos que envolvem compostos orgânicos. Para as proteínas e carboidratos temos os campos de força AMBER, OPLS e GROMOS como os mais aplicados⁴³.

Geralmente, a busca conformacional significa localizar confôrmeros de uma determinada molécula baseada na análise combinatória dos ângulos torsionais. Em outras palavras, nós precisamos caracterizar a superfície de energia potencial (*Potential Energy Surface – PES*) que relaciona a energia de cada estrutura com as coordenadas dos átomos, conforme exemplificado na figura a seguir.

Figura 22. Diagrama da superfície de energia potencial para uma reação generalizada.

Em geral, as estruturas interessantes da superfície de energia potencial são chamadas de pontos críticos, ou seja, pontos onde o gradiente de energia desaparece.

Esses pontos críticos são caracterizados como os autovalores de uma matriz, chamada de Hessiana, avaliados em um determinado ponto.

A matriz Hessiana é definida matematicamente por:

$$H_{ij} = \frac{\partial^2 E}{\partial q_i \partial q_j} \quad 6$$

Onde q é a coordenada de cada átomo.

Podemos interpretar a matriz Hessiana como a segunda derivada da energia em relação às coordenadas atômicas. Sendo assim, a matriz descreve a curvatura local da função de energia em um ponto específico.

Os autovalores correspondem a curvatura associada com os modos de vibração normal. Se todos os autovalores dos modos vibracionais são positivos, podemos dizer que o ponto crítico é um mínimo de energia local. Se há apenas um autovalor negativo, o ponto crítico é classificado como um estado de transição.

A busca conformacional é realizada por meio de programas de mecânica molecular como, por exemplo, o PCModel, nos quais o procedimento geral começa com uma suposição da geometria molecular de um composto e, depois, sistematicamente, o programa usado muda as posições dos átomos de modo que se encontrem confôrmeros para o composto estudado.

Dessa forma, consegue-se uma infinidade de confôrmeros que vão de menor até maior energia e que, posteriormente, devem sofrer o processo de otimização de energia e geometria de tal forma que a estrutura de energia mínima seja alcançada.

Enquanto o processo de busca conformacional envolve a mecânica molecular (física clássica), a otimização de energia e geometria está relacionada com a mecânica quântica.

Diferentemente do que ocorre na mecânica molecular, a mecânica quântica descreve matematicamente o comportamento dos elétrons na molécula.

Os cálculos das propriedades das moléculas pela mecânica quântica, que incluem a energia, podem ser obtidos resolvendo-se a equação de Schrödinger:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad 7$$

Onde $\hat{H}$ representa o operador Hamiltoniano, E é a energia do sistema e Ψ é uma função de onda complexa que descreve o comportamento da estrutura eletrônica.

Devido à falta da solução da equação de Schrödinger em sistemas com mais de um elétron, foram desenvolvidas soluções numéricas aproximadas para a solução dos sistemas que contém muitas partículas.

As duas maiores soluções para a equação de Schrödinger de sistemas multieletrônicos são descritas pelo método desenvolvido por Hartree e Fock (HF) e pela Teoria do Funcional de Densidade (*Density Functional Theory – DFT*).

Hartree, baseado na aproximação de Born-Oppenheimer, propôs que a função de onda eletrônica para um sistema de vários elétrons pode ser separada em um produto de funções que dependem de apenas um elétron. Essa função de onda global (multi-eletrônica) poderia resolver a equação de Schrödinger exatamente se não houvesse o termo de repulsão eletrônica do Hamiltoniano.

Sendo assim, Hartree re-escreveu o termo de repulsão eletrônica como uma expressão na qual um elétron sente a repulsão eletrônica a partir da posição média dos outros elétrons.

Desta forma, a repulsão eletrônica foi substituída por um campo efetivo produzido pelas posições médias dos outros elétrons. Como consequência disso, os elétrons perdiam a capacidade de responder a posição dos demais elétrons.

Posteriormente, Fock percebeu que as funções de onda de Hartree não seguiam o princípio de exclusão de Pauli. Segundo este princípio: *“em um átomo, dois elétrons quaisquer nunca poderão ter o mesmo conjunto de números quânticos”*. Matematicamente, o princípio de Pauli impõe que o sinal da função de onda seja invertido quando ocorre a troca de coordenadas de dois elétrons.

Por isso, Fock sugeriu o uso de um determinante (determinante de Slater) para construir novas funções de Hartree que satisfaziam o princípio de exclusão de Pauli.

As soluções do modelo de Hartree e Fock (HF) são conhecidas como orbitais moleculares (OM). Uma vez que as propriedades atômicas persistem quando estes mesmos átomos estão presentes nas moléculas, pode-se construir os orbitais moleculares (OM) a partir de orbitais atômicos (OA).

Baseado nisso, Roothaan sugeriu que as funções usadas para representar os OM poderiam ser obtidas em termos das funções dos OA, permitindo cálculos de propriedades atômicas e moleculares, por meio do método de combinação linear dos orbitais atômicos (*Linear Combination of Atomic Orbitals – LCAO*).

Para resolver a energia e as funções de onda de HF com o procedimento de Roothaan, os OA deveriam ser especificados, uma vez que o uso de infinitos OA é impraticável. No entanto, surge a dúvida de como travar a expansão desses OA. Essa escolha dos OA define o termo conhecido como funções de base.

Os primeiros tipos de funções de base utilizados foram os orbitais do tipo Slater (*Slater Type Orbital – STO*), que eram descritos por número quântico e coordenadas esféricas. Devido a isso, as funções STO tornaram-se dispendiosas para cálculos em sistemas com dois ou mais elétrons.

Por esta razão, Pople decidiu usar uma combinação de funções gaussianas para mimetizar as funções STO, que foram chamadas de orbitais do tipo gaussiana (*Gaussian Type Orbitals* – GTO). Em outras palavras, a forma das funções STO é aproximadamente a somatória das funções GTO com diferentes expoentes e coeficientes.

No mínimo, é necessária uma função de base para cada orbital ocupado integralmente ou parcialmente. Por exemplo, para o átomo de carbono ($C\ 1s^2 2s^2 2p^2$) seriam necessárias 2 funções do tipo *s* e 3 funções do tipo *p* (p_x , p_y e p_z), ou seja, precisariam de 5 funções de base.

As funções de bases mínimas são chamadas de *single zeta* (SZ), onde a terminologia *zeta* reflete que cada função de base mimetiza um único STO. As funções de base *double zeta* (DZ) e *triple zeta* (TZ) tem o dobro e o triplo do tamanho das funções de base SZ, respectivamente.

Mais tarde, Pople desenvolveu um conjunto de bases misto, onde no caroço (*core*) aplica-se as funções SZ e, na camada de valência, as funções DZ.

Como exemplo, pode-se mencionar o conjunto de bases 6-31G. Neste caso, o número a esquerda do traço corresponde às 6 funções gaussianas do caroço (*core*) e o número a direita do traço está relacionado às funções de base dos elétrons de valência, sendo que são 3 funções gaussianas contraídas chamadas de internas e 1 função gaussiana denominada de externa.

As funções de base contraídas são um conjunto de funções menores e fixas necessárias para descrever os elétrons próximos do núcleo que requerem um grande número de funções.

Por maior que seja o conjunto de base, ainda se torna muito difícil descrever a distribuição eletrônica das moléculas. Por isso, foram incluídas funções que mimetizavam os OA com momento angular que foram chamadas de funções de polarização. Para o átomo de carbono, adicionar uma função de polarização significa adicionar uma GTO do tipo *d*, enquanto que para o hidrogênio significa adicionar uma função do tipo *p*. No conjunto de base do exemplo anterior, a adição dessas funções de polarização ficariam descritas como 6-31G(d,p).

Para moléculas com pares isolados, os conjuntos das funções de base devem ser aumentados com as funções difusas, que recebem o símbolo +, permitindo que a densidade eletrônica expanda em um volume maior.

A descoberta do método de HF trouxe também a utilização do método do campo autoconsistente (*Self Consistent Field* – SCF), que consiste em obter soluções para uma dada função de onda a partir de uma função de onda inicial aleatória.

Basicamente, o SCF incide em escolher o “*spin-orbital*” (produto do OM com a funcional de spin) aleatoriamente, calcular o campo médio efetivo e solucionar a equação de

Fock para novos “*spin-orbitais*”. Esses geram um novo campo que geram mais novos “*spin-orbitais*”. Dessa forma, o SCF só cessa quando a autoconsistência é atingida.

Como no método de HF um elétron interage com o campo médio efetivo dos demais elétrons, havia a necessidade de criar novos métodos que incluíssem em suas funções de onda interações instantâneas entre os elétrons, o que é chamado de correlação eletrônica.

Esses métodos conhecidos como métodos pós Hartree-Fock incluem os perturbacionais de Møller–Plesset (MP2, MP3, etc), de Interação de Configurações (CI, CISD, etc) e Coupled Cluster (CC, CCSD, etc).

Embora a eficácia desses métodos seja comprovada, o alto custo computacional faz com que a maioria deles fique limitada a sistemas com poucos átomos.

Uma alternativa foi pensar que todas as propriedades pudessem ser obtidas a partir da densidade eletrônica.

Uma vez que as funções de ondas, usadas nos métodos HF e pós-HF, são dependentes das coordenadas x , y e z de cada elétron, fica difícil uma interpretação rápida de um sistema multi-eletrônico. Por outro lado, a densidade eletrônica é dependente apenas das posições x , y e z no espaço.

Já que a densidade eletrônica é mais simples que a função de onda, esta deve oferecer um caminho mais direto para se obter a energia molecular.

Além disso, foi observado que a densidade eletrônica obedecia ao teorema variacional, significando que em uma densidade eletrônica específica sua energia será maior ou igual a energia exata.

Esses dois conceitos constituem a ideia básica da Teoria do Funcional de Densidade (*Density Functional Theory – DFT*) e foram implementados por Hohenberg e Kohn (HK).

O teorema de HK diz que se a densidade eletrônica de um determinado sistema eletrônico no estado fundamental é conhecida, $\rho(\mathbf{r})$, então é possível calcular a sua energia total e, conseqüentemente, todas as suas propriedades. Logo, a energia total do estado fundamental (E_0) é um funcional da densidade eletrônica: $E_0[\rho(\mathbf{r})]$.

Neste momento, é importante explicar o que é um funcional. Uma função é aquela equação matemática que relaciona uma quantidade escalar com outra quantidade escalar. Um funcional relaciona uma função a uma quantidade escalar.

Assim, a função de densidade eletrônica, $\rho(\mathbf{r})$, depende das coordenadas espaciais e a energia depende dos valores de $\rho(\mathbf{r})$, ou seja, a energia é um funcional.

A fim de resolver a energia via DFT, Kohn e Sham (KS) propuseram que o funcional de energia tem a seguinte forma:

$$E[\rho(\mathbf{r})] = T_{\text{cinética}}[\rho(\mathbf{r})] + V_{\text{núcleo-elétron}}[\rho(\mathbf{r})] + V_{\text{elétron-elétron}}[\rho(\mathbf{r})] + E_{\text{correlação-troca}}[\rho(\mathbf{r})] \quad 8$$

Onde $T_{\text{cinética}}[\rho(\mathbf{r})]$ é a energia cinética dos elétrons, $V_{\text{núcleo-elétron}}[\rho(\mathbf{r})]$ é o termo de atração entre o núcleo e o elétron, $V_{\text{elétron-elétron}}[\rho(\mathbf{r})]$ é o termo de repulsão entre os elétrons e $E_{\text{correlação-troca}}[\rho(\mathbf{r})]$ é o termo chamado de funcional de correlação e troca (*exchange-correlation functional*), que consiste em um termo de interação elétron-elétron não clássica.

O procedimento de KS resolve os orbitais por meio de uma quantidade de equações reduzidas que minimizam a energia.

Os orbitais de KS são semelhantes aos OM de HF e, portanto, a solução das equações do método DFT são análogas ao método de HF. Dessa forma, o método DFT tem o mesmo custo computacional que o método HF, porém inclui a correlação eletrônica.

Entretanto, o maior problema do método DFT é encontrar funcionais corretas para o termo de correlação e troca da equação de KS, $E_{\text{correlação-troca}}[\rho(\mathbf{r})]$. Então, uma série de funcionais diferentes tem sido propostas.

Perdew descreveu uma hierarquia que recebeu o nome de escada de Jacó (*Jacob's ladder*), fazendo referência a uma passagem bíblica (Gênesis, 28, 11-19) que se caracteriza pelo meio empregado pelos anjos para subir e descer do céu.

A base dessa escada é a teoria de Hartree-Fock que o pesquisador chamou de terra. No outro extremo da escada de Jacó, o céu é onde funcionais com altos níveis de acurácia são encontradas (figura 23).

Figura 23. Escada de Jacó.

Ao longo dos cinco degraus dessa escada, há um conjunto de funções que expressam a correlação e troca da equação do método DFT.

O primeiro degrau compreende a aproximação de densidade local (*Local Density Approximation – LDA*) que assume que a densidade de energia pode ser determinada apenas a partir do valor de densidade. O LDA pode ser estendido como a aproximação da densidade do spin local (*Local Spin Density Approximation – LSDA*).

Ao assumir que a densidade não era uniforme como no LDA, surge o segundo degrau da escada com a aproximação por gradiente generalizado (*Generalized Gradient Approximation – GGA*) que leva em consideração a densidade e o gradiente de densidade.

O terceiro degrau inclui as funcionais meta-GGA que dependem do Laplaciano de densidade. O quarto degrau, que são os funcionais híbridos ou hiper-GGA, incluem a dependência de troca exata obtida pelo método de HF. O quinto degrau incorpora os orbitais não-ocupados de KS, chamado de funcionais duplamente híbridos.

O componente de troca mais usado foi proposto por Becke (B) e os termos de correlação mais comuns são o LYP, desenvolvido por Lee, Yang e Parr, e o PW91, desenvolvido por Perdew e Wang.

Os métodos híbridos (quarto degrau) combinam as funcionais de troca e correlação com o termo de troca de HF. A funcional híbrida mais usada é o B3LYP dada por:

$$E_{\text{correlação-troca}}^{\text{B3LYP}} = (1-a)E_{\text{troca}}^{\text{LSDA}} + aE_{\text{troca}}^{\text{HF}} + bE_{\text{troca}}^{\text{B}} + (1-c)E_{\text{correlação}}^{\text{LSDA}} + cE_{\text{correlação}}^{\text{LYP}}$$

Onde a , b e c são a origem do número 3 do B3LYP, sendo 3 variáveis que dão caráter semi-empírico aos métodos híbridos.

Embora o método DFT esteja amplamente difundido produzindo bons resultados, as interações de dispersão de London são omitidas.

Um grande número de abordagens tem sido realizado para incorporar a dispersão no método DFT. Um dos procedimentos mais utilizados, chamado de DFT-D e desenvolvido por Grimme, é a adição de uma correção baseada no potencial de Lennard-Jones. O termo de dispersão é adicionado a energia DFT de forma que:

$$E_{\text{DFT-D}} = E_{\text{DFT}} + E_{\text{dispersão}} \quad 9,$$

$$\text{Sendo } E_{\text{dispersão}} = \sum_{AB} \sum_{n=6,8,10\dots} S_n \frac{C_n^{AB}}{R_{AB}^n} f_{\text{amortecimento}} \quad 10$$

Sendo que o coeficiente C_n^{AB} depende particularmente do par atômico AB. Cada termo é escalonado pelo coeficiente S_n e pela função de amortecimento (*damping function*).

Segundo Grimme⁴⁴, as funções de amortecimento determinam o comportamento de curto alcance da correção de dispersão. Dessa forma, evita-se efeitos de dupla contagem de correlação de elétrons em distâncias intermediárias.

As primeiras duas versões da correção de dispersão, chamadas de D1 e D2, incluem apenas a distância R_{AB} elevada a sexta potência ($n = 6$), enquanto, a última versão, D3, eleva a distância a sexta e oitava potência. Isso acarreta que a dispersão na versão D3 seja contabilizada a médio e longo alcance.

Uma das funções de amortecimento mais conhecidas foi desenvolvida por Becke e Johnson (BJ) e faz com que a energia de dispersão fique da seguinte forma:

$$E_{\text{dispersão}} = -\frac{1}{2} \sum_{AB} \frac{C_n^{AB}}{R_n^{AB} + \text{constante}} \quad 11$$

O que foi explicado até o momento em termos de otimização de geometria e energia por meio da mecânica quântica é usualmente realizado considerando que os compostos estão em fase gasosa.

No entanto, é de extrema importância o estudo do efeito do solvente devido a maioria dos processos químicos se darem em solução. Se imaginarmos que em uma solvatação um soluto é transferido de uma fase gasosa para uma solução, mantendo-se a mesma pressão e temperatura, podemos dizer que o trabalho necessário para realizar essa transferência é considerado a energia livre de solvatação ($\Delta G_{\text{solvatação}}$) desse processo.

Existem dois modelos para se estudar o efeito solvente: o explícito e o implícito. Os modelos explícitos otimizam a energia e geometria de todo o sistema, incluindo o soluto e as moléculas de solvente, elevando o custo computacional.

Já nos modelos de solvatação implícitos considera-se a média dos efeitos de todas as moléculas do solvente. Sendo assim, o solvente é descrito como um termo único baseado em sua constante dielétrica.

Os modelos de solvatação implícitos iniciam-se criando uma cavidade dentro do meio polarizável para manter a molécula do soluto, criando interações eletrostáticas e não-eletrostáticas entre o soluto e o meio polarizável. Dessa forma, há um custo de energia para realizar a cavitação, $\Delta G_{\text{cavitação}}$, devido às interações solvente-solvente que são removidas.

Além da $\Delta G_{\text{cavitação}}$, a $\Delta G_{\text{solvatação}}$ é dada pela somatória de outras contribuições: a eletrostática, $\Delta G_{\text{eletrostática}}$, que leva em consideração termos atrativos, e a não-eletrostática $\Delta G_{\text{não-eletrostática}}$, que é um termo que corresponde a energia de dispersão ($\Delta G_{\text{dispersão}}$) e repulsão ($\Delta G_{\text{repulsão}}$) entre soluto e solvente.

$$\begin{aligned} \Delta G_{\text{solvatação}} &= \Delta G_{\text{cavitação}} + \Delta G_{\text{eletrostática}} + \Delta G_{\text{não-eletrostática}} \text{ ou ainda} \\ \Delta G_{\text{solvatação}} &= \Delta G_{\text{cavitação}} + \Delta G_{\text{eletrostática}} + \Delta G_{\text{dispersão}} + \Delta G_{\text{repulsão}} \end{aligned} \quad 12$$

O formato da cavidade é fundamental para uma boa eficácia do cálculo da energia livre de cavitação, uma vez que a cavidade deve refletir o máximo de contato entre o soluto e o

solvente. As cavidades com formatos esféricos ou elípticos, por exemplo, não conseguem uma boa proximidade entre o solvente e o soluto (figura 24A).

Devido a isso, foram criadas as cavidades moleculares, na qual a cavidade é formada pela união de esferas sobrepostas centradas nos núcleos dos átomos do soluto (figura 24B).

Figura 24. Exemplos de cavidades no meio dielétrico.

Um exemplo é o método do contínuo polarizável (*Polarized Continuum Method – PCM*) cujas esferas interligadas centradas nos núcleos utilizam um raio proporcional aos raios de van der Waals dos átomos da molécula de soluto. Algumas modificações foram feitas no método original PCM dando origem ao método do formalismo das equações integrais (*Integral Equation Formalism - Polarized Continuum Method – IEF-PCM*).

Mais tarde, Kirkwood e Onsager sugeriram que nos modelos implícitos haviam cargas na superfície da cavidade, geradas pela distribuição de cargas da molécula do soluto, formando um campo elétrico chamado de dielétrico contínuo.

Essas cargas aparentes na superfície (*Apparent Surface Charges – ASC*) contribuem para o potencial eletrostático total expresso como a soma do potencial eletrostático produzido pela distribuição de carga do soluto e do gerado pela distribuição de carga.

Essas cargas podem ser adquiridas por qualquer meio de obtenção de populações, sendo frequentemente usadas as cargas de Mulliken. Cramer e Truhlar sugeriram alternativamente o uso das cargas derivadas das populações de Lodwin.

As energias de cavitação, dispersão e outras forças de curto alcance, geralmente são tratadas de forma empírica. Todos esses efeitos geralmente são agrupados, em um termo chamado ΔG_{CDS} , e calculado como:

$$\Delta G_{\text{CDS}} = \sum_k^{\text{átomos}} A_k \sigma_k \quad 13$$

Onde A_k é a área superficial exposta do átomo k e σ é a tensão superficial do átomo k .

O modelo desenvolvido por Cramer e Truhlar (*Solvent Model – SM_x*) define a tensão superficial para solventes orgânicos como:

$$\sigma_k = \sum_j \Gamma_j n_k^{\Gamma_j} \quad \mathbf{14}$$

Onde os valores de $n_k^{\Gamma_j}$ são adequados a uma série de propriedades do solvente Γ_j , incluindo tensão superficial, índice de refração, acidez, basicidade e ligação de hidrogênio.

O modelo *SM_x* foi desenvolvido em 1991 e já passou por 12 modificações até o momento. Este modelo utiliza as cargas atômicas no tratamento eletrostático usando cavidades de esferas interligadas, enquanto a tensão superficial descreve os efeitos não-eletrostáticos.

Outra abordagem de modelo de solvatação implícito é o modelo COSMO (*Conductor-like Screening Model*) que substitui o meio dielétrico por um meio condutor com uma constante dielétrica infinita.

Até o momento, discutimos sobre a busca conformacional realizada pela mecânica molecular seguida da otimização de energia e geometria pela mecânica quântica. O próximo passo é calcular alguma propriedade de interesse. No nosso caso, explicaremos brevemente os cálculos relacionados a ressonância magnética nuclear (RMN).

A RMN analisa, basicamente, a mudança de um estado de spin, ou seja, envolve a energia necessária para mover o spin de um estado de menor energia para outro de maior energia na presença de um campo magnético.

Sendo assim, a RMN analisa, dentre outros fatores, a energia cinética dos elétrons. Para isso, é necessário definir a origem do sistema de coordenadas, que chamamos de “*gauge origin*”.

Os dois métodos mais comuns usados em RMN são o IGLO (*Individual Gauge for Localized Orbitals*) e GIAO (*Gauge-Including Atomic Orbitals*), sendo igualmente eficazes, embora haja algumas diferenças entre eles.

O erro da origem do sistema de coordenadas (“*gauge origin*”) depende da distância entre a função de onda e o próprio sistema. Alguns métodos tentam minimizar o erro ao selecionar a origem do sistema de coordenadas para cada orbital molecular, ou seja, o “*gauge origin*” encontra-se localizado, como é caso do método IGLO.

Uma forma de eliminar a dependência da origem do sistema de coordenadas, que é o caso do método GIAO, é tornar as funções de base explicitamente dependentes do campo

magnético pela inclusão de um fator de fase complexo que faz referência a posição da função de base.

Uma vez que as transições de spin da RMN são lentas quando comparadas ao equilíbrio conformacional, o que é observado nos espectros de RMN é a somatória dos sinais dada pela média ponderada da população de Boltzmann dos vários confôrmeros que estão presentes em uma única molécula.

Dessa forma, ao invés de uma simples otimização da estrutura de menor energia, um conjunto de confôrmeros de menor energia deve ser analisado para se obter parâmetros mais realísticos.

A maior parte dos parâmetros moleculares pode ser definida como uma resposta a uma função de onda, uma energia ou a um tipo de operador que não está presente no Hamiltoniano para a solução da equação de Schrödinger.

Em outras palavras, as propriedades são respostas a uma perturbação do sistema. Basicamente, há 4 tipos de perturbação:

- 1) Campo elétrico externo (**F**)
- 2) Campo magnético externo (**B**)
- 3) Momento magnético nuclear (**I**)
- 4) Mudança na geometria molecular (**R**)

Um dos métodos mais simples para se calcular o efeito da perturbação é por meio da derivação. Sendo assim, ao realizar a segunda derivada da energia em relação ao campo magnético externo e o momento magnético nuclear, tem-se as constantes de blindagem isotrópica do núcleo, σ .

Os cálculos de deslocamentos químicos iniciam-se com os dados das constantes de blindagem isotrópica do núcleo i do composto de interesse (σ_i) e a constante de blindagem isotrópica do mesmo núcleo de um composto de referência, em geral, o tetrametilsilano (TMS).

Em seguida, ao aplicar a relação $\delta_i = \sigma_{referência} - \sigma_i$, temos os valores de deslocamento químico habituais que são encontrados nos espectros experimentais.

Desta forma, o deslocamento químico deve ser calculado para cada uma das conformações de menor energia e feito a média pela população de Boltzmann, conforme descrito na equação abaixo:

$$\delta = \sum_i \frac{\delta_i e^{G_i/RT}}{\sum_j \delta_j e^{G_j/RT}} \quad 15$$

Embora a maioria dos experimentos de RMN sejam feitos em solução, a otimização no solvente frequentemente não é necessária, sendo a geometria da fase gasosa o suficiente para bons resultados.

Objetivos

Dada a importância da determinação da configuração absoluta e da pureza enantiomérica de compostos orgânicos, o objetivo deste trabalho é contribuir no desenvolvimento desta metodologia.

Para isso, o (*S*)-citronelal será utilizado como agente quiral de derivação para a determinação do excesso enantiomérico de aminas primárias, por meio da ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

Além disso, cálculos teóricos para estudos conformacionais serão realizados a fim de entender o comportamento do (*S*)-citronelal e das iminas diastereoméricas formadas.

Materiais e métodos

Para esse estudo, foram selecionadas três aminas: *sec*-butilamina, 1-(fenil)etanamina e anfetamina.

Em geral, três valores de excesso enantiomérico (0,0; 50,0 e 90,0%) foram utilizados para verificar a sensibilidade do método, uma vez que quanto maior o *ee*, maior é a dificuldade para se detectar o enantiômero minoritário.

Para se obter essas proporções, a mistura racêmica da *sec*-butilamina e 1-(fenil)etanamina foram enriquecidas com (*R*)-*sec*-butilamina e (*S*)-1-(fenil)etanamina, respectivamente. No caso da anfetamina, apenas a mistura racêmica foi analisada.

Em cada caso adotamos o procedimento experimental “*mix and shake*”, no qual 20 μ L de (*S*)-citronelal (0,11 mmol) foram adicionados em um tubo de RMN (5 mm), seguida da adição de 1,1 a 1,3 equivalentes de amina. A fim de aumentar a velocidade da reação, os reagentes puros foram misturados. Depois de poucos minutos (2-3 min), 0,5 mL de solvente deuterado foi adicionado, sendo eles CDCl_3 , DMSO-d_6 , CD_3OD , CD_3CN , C_6D_6 , piridina- d_5 e acetona- d_6 .

Posteriormente, o tratamento de deconvolução, disponível no software TopSpin® da Bruker, foi aplicado ao espectro. Ao mesmo tempo, a saída de rotina da deconvolução forneceu deslocamentos químicos, as larguras da base e as integrações dos picos detectados.

Esses dados foram utilizados para calcular as proporções dos derivados diastereoisoméricos.

Em resumo, a metodologia desenvolvida neste trabalho inicia-se com a mistura do (*S*)-citronelal (**1**) e a amina de interesse dentro do tubo de ressonância, seguida das aquisições dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , análise e identificação dos sinais. Após a deconvolução, com a diferença de deslocamento químico entre os núcleos correspondentes dos dois diastereoisômeros, é feita uma inspeção visual do espectro para selecionar o(os) sinal(s) melhor(es) resolvido(s), ou seja, aqueles que apresentam maiores valores de $\Delta\delta$, e as proporções dos diastereoisômeros são calculadas.

Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C

Os espectros de RMN ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foram adquiridos a 298 K em um equipamento Bruker DRX 500 ($B_0 = 11,7\text{ T}$).

A escala de deslocamento químico (δ) foi calibrada utilizando TMS (tetrametilsilano) como referência. Na ausência dessa referência foram utilizados o sinal de próton residual do solvente deuterado para ^1H ou o sinal de ^{13}C do solvente nos espectros de RMN de ^{13}C .

Os dados de RMN de ^1H foram adquiridos com 16 transientes (*scans*) com 64.000 pontos no domínio do tempo (*time domain*). Nenhuma multiplicação por função exporencial foi utilizada no processamento do FID (*line broadening* igual a zero hertz)

Os dados de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ foram obtidos com 1.500 de transientes (*scans*) em 64.000 pontos no domínio do tempo (*time domain*) e multiplicação por função exporencial (*line broadening* 1,0 Hz) antes da execução da transformada de Fourier.

No experimento de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, foi usado o desacoplamento descontínuo e inverso (em inglês, *inverted-gated decoupling*), onde o desacoplador é ligado durante a aquisição do espectro (figura 25).³⁵

Figura 25. Sequência do RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ com desacoplamento descontínuo e inverso.³⁵

Este método é amplamente aplicado quando a precisão é necessária como em medidas quantitativas, uma vez que a evolução do efeito NOE (*nuclear Overhaused effect*) não é observada.³⁵

Cálculos teóricos

Com a intenção de buscarmos uma relação teórico-experimental nós realizamos os cálculos computacionais conforme descrito abaixo.

Iniciamos a busca conformacional usando o programa de mecânica molecular PCModel versão 7.0⁴⁵ com parâmetros padrões mostrados na tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros usados na busca conformacional no programa PCModel

Parâmetros	Valores
Campo de força	MMX
Janela de energia	3,5 kcal/mol
Energia mínima encontrada x tempo	5
Máximo de confôrmeros minimizados	10000
Temperatura	300 K

No caso da análise conformacional das iminas, o ângulo torsional do segmento C-C=N-C foi restringido a fim de limitar a busca conformacional apenas ao isômero *E*, uma vez que é conhecido na literatura que as iminas apresentam uma forte preferência em formar este isômero devido ao menor impedimento estérico.⁴⁶⁻⁴⁸

A otimização de geometria de cada confôrmero obtido na busca conformacional foi realizada no vácuo com o programa ORCA versão 3.0.3⁴⁹, utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT – *Density Functional Theory*) por meio da funcional híbrida B3LYP (*Becke, 3 parâmetros empíricos para otimizar a performance, Lee, Yang, Parr*).⁵⁰⁻⁵⁵

As interações de dispersão (D3) entre átomos também foram levadas em consideração seguindo a abordagem descrita por Grimme e colaboradores.^{44,56,57}

A função de base desenvolvida pelo grupo de Ahlrichs de valência tripla (TZV – *Triple Zeta Valence*) e com função de polarização, def2-TZVP(-f), foi aplicada nos cálculos de otimização de geometria.

A aproximação RIJCOSX também foi implementada. Esse algoritmo usa RI-J (*resolution of the identity*) na matriz de Coulomb e uma aproximação especial, a COSX (*chain-of-spheres*), para a parte da troca. RIJCOSX leva a grandes acelerações nos cálculos com pouca perda de precisão.⁵⁸

Utilizando a distribuição de Boltzmann (equação 16)⁵⁹, foram selecionados os confôrmeros de menor energia que totalizavam cerca de 90% da população total.

$$\% \text{ confôrmero}_i = 100e^{(-\Delta E_i/RT)} / \sum_{j=1}^n e^{(-\Delta E_j/RT)} \quad 16$$

O tensor de blindagem magnética (σ) foi calculado usando o modelo GIAO (*Gauge-Independent Atomic Orbital*) com o programa Gaussian03⁶⁰ no nível B3LYP/6-311G++(d, p).

Os deslocamentos químicos de hidrogênio ou de carbono foram obtidos pela diferença entre os valores isotrópicos dos tensores de blindagem magnética de um dado hidrogênio ou carbono e o TMS, usado como referência (equação 17).

$$\delta_{\text{sinal}} = \sigma_{\text{sinal}} - \sigma_{\text{TMS}} \quad 17$$

Os cálculos dos tensores de blindagem magnética foram realizados, em geral, na ausência de solvente (no vácuo). Em alguns casos, quando havia interesse em verificar o efeito do solvente, o formalismo de equação integral do modelo de contínuo polarizável (IEFPCM - *Integral Equation Formalism Polarizable Continuum Model*) foi aplicado.⁶¹

Os orbitais moleculares foram calculados utilizando o método dos orbitais naturais de ligação (NBO – *Natural Bond Orbitals*) no programa Gaussian03 no nível de teoria B3LYP/6-311G++(d, p).

Para a visualização das moléculas e dos orbitais moleculares foi utilizado do programa GaussView na versão 4.1.⁶²

Resultados e Discussão

Para melhor compreensão dos resultados obtidos, essa seção da tese foi dividida em cinco capítulos. O material suplementar de cada capítulo encontra-se no CD em anexo na contracapa da tese.

Capítulo 1 - Estudos conformacionais do agente quiral de derivação

O citronelal (3,7-dimetiloct-6-enal, **1**) é um monoterpênóide que pode ser extraído como uma mistura escalêmica a partir dos óleos de *Corymbia citriodora*, *Cymbopogon nardus* e citronela-de-Java (figura 26).⁶³

Figura 26. O citronelal e seus enantiômeros.

Na indústria, o citronelal tem sido usado para adicionar aroma e sabor aos produtos alimentares e na síntese orgânica, este composto é um bloco de construção sintético versátil no desenvolvimento de produtos naturais mais complexos.⁶⁴ Além dessas aplicações, a razão entre os isômeros (*R*)- e (*S*)-citronelal é utilizada para identificar a origem do óleo essencial e provar sua autenticidade.^{65,66}

Apesar de existir vários artigos na literatura sobre o citronelal, apenas alguns descreveram estudos teóricos deste composto. Um exemplo é o trabalho publicado por Vandichel e colaboradores⁶⁷, no qual os autores usaram cálculos computacionais para investigar a diastereosseletividade e eficácia de alguns ácidos de Lewis na ciclização clássica do citronelal para o isopulegol.

Recentemente, Domingos e colaboradores⁶⁸ exploraram a flexibilidade conformacional do citronelal unindo um estudo computacional realizado no vácuo e a espectroscopia de micro-ondas.

Segundo os autores⁶⁸, a busca conformacional do citrôn timer deu origem a mais de cem confôrmeros utilizando o modelo AM1 (Austin Model 1). Devido a grande quantidade de confôrmeros encontrados, uma segunda otimização foi realizada no nível B3LYP-D3, conjunto de base aug-cc-pVTZ e janela de energia 6 kJ/mol (1,43 kcal/mol). Após isso, foram encontrados quinze confôrmeros, sendo que a maioria possuía uma conformação dobrada.

Como o nosso estudo tem o interesse voltado para a ressonância magnética nuclear, ainda restava saber qual a importância do solvente para essas conformações e quais os fatores que favorecem tais conformações.

Inicialmente, realizamos uma busca conformacional que proporcionou 27 confôrmeros.

A busca conformacional foi realizada com (*R*)-citrôn timer. No entanto, não há nenhum problema em comparar a conformação do (*R*)-citrôn timer com os espectros de RMN de ¹H ou ¹³C da mistura racêmica ou mesmo do (*S*)-citrôn timer, porque não há diferenças de deslocamento químico entre os isômeros *R* ou *S* na ausência de um solvente quiral.

Cada confôrmero foi submetido a otimização de geometria usando a teoria funcional de densidade (DFT) e B3LYP-D3. Após a obtenção das energias, a proporção de cada confôrmero foi obtida pela distribuição de Boltzmann (equação 16).

Para verificar as confiabilidades das conformações obtidas, realizamos a análise das frequências vibratórias analíticas, que não apresentaram nenhum modo imaginário para nenhum dos 27 confôrmeros.

Em seguida, selecionamos os confôrmeros mais estáveis (tabela S1 do ANEXO I) que totalizavam 90% da população de Boltzmann.

A inspeção visual mostrou que a maioria dos confôrmeros do citrôn timer apresentam uma conformação ligeiramente dobrada (ver os confôrmeros **1.1**, **1.2**, **1.3**, **1.4**, **1.5**, **1.8**, **1.12**, **1.13** e **1.14** na figura S1 do ANEXO I), conforme relatado anteriormente por Domingos.⁶⁸

Quando uma molécula apresenta interações intramoleculares, as conformações tendem a permanecerem dobradas (figura 27). No entanto, a conformação dobrada pode ser “desdobrada”, através das interações intermoleculares com o solvente que incluem forças eletrostáticas, de dispersão e repulsão.⁶⁹

Figura 27. Demonstração da conformação dobrada e “esticada” conforme as interações intermoleculares e intramoleculares.

Assim, é extremamente importante analisar o efeito do solvente, uma vez que os cálculos teóricos da conformação foram realizados no vácuo.

O modelo de solvatação mais utilizado é aquele em que o solvente é descrito como um contínuo dielétrico. Neste modelo implícito de solvatação, o soluto precisa ser acomodado dentro de uma cavidade molecular, que é representada por esferas centradas nos átomos.^{70,71} Entre as diferentes implementações do modelo de solvatação contínua, podemos mencionar o COSMO (*COnductor-like Screening MOdel*) de Klamt⁷² e a série SM (*Solvent Model*) desenvolvida por Cramer, Truhlar e colaboradores.⁷³

Os cálculos de energia de ponto único (*single-point energy*) dos confôrmeros otimizados do citrônelal foram realizados, utilizando o modelo SM⁷³ em clorofórmio, a fim de verificar a influência do solvente nas conformações e comparar com os resultados com os espectros de ressonância magnética nuclear experimental, que foram adquiridos em clorofórmio.

Posteriormente, calculamos uma nova distribuição de Boltzmann para encontrar as conformações mais estáveis na presença do solvente (tabela S2 do ANEXO I)

Os dois conjuntos de confôrmeros (com e sem solvente) podem ser comparados lado a lado e interligados usando um ciclo termodinâmico como representado na figura 28.

Neste caso, é possível obter o valor da energia livre de solvatação, $\Delta G_{(\text{CHCl}_3)}$, com uma combinação entre as energias livres de Gibbs em fase gasosa e em solução.

Matematicamente, a fórmula $\Delta G_{(\text{CHCl}_3)} = \Delta G_{(\text{g})} + \Delta G_A - \Delta G_B$ traz a dimensão numérica deste parâmetro físico-químico, onde ΔG_A e ΔG_B são a energia livre padrão de solvatação dos confôrmeros A e B, respectivamente, e $\Delta G_{(\text{g})}$ é a diferença entre a energia livre dos confôrmeros A e B na fase gasosa, aproximada pela diferença na energia eletrônica total.

$$\Delta G_{\text{CHCl}_3} = \Delta G_{(g)} + \Delta G_B - \Delta G_A$$

Figura 28. Ciclo termodinâmico do citronelal.

Ao aplicar o ciclo termodinâmico, obtivemos um pequeno valor para a energia livre de solvatação em torno de 0,7 kcal/mol. Este resultado sugere que a interação soluto-solvente não é tão importante e, portanto, pode ser negligenciada.

Nesse sentido, voltamos nossa atenção para encontrar uma explicação sobre a conformação dobrada de citronelal.

Em moléculas pequenas, como o ácido γ -amino butírico (GABA), a análise da espectroscopia de micro-ondas encontrou conformações dobradas em cinco dos nove confôrmeros totais. A explicação sugerida para isso foi baseada na interação não-covalente (NCI - *non-covalent interaction*), do tipo $n-\pi^*$ (figura 29A), uma vez que as conformações remanescentes, que não possuíam interações não-covalentes, estavam na forma esticada.⁷⁴

Outro exemplo de interações não-covalentes pode ser observado na interação atrativa que confere estabilidade à estrutura do DNA entre o par de elétrons isolado no átomo de oxigênio da fração de açúcar e os orbitais π do anel de guanidina (figura 29B).⁷⁴

Quanto à sequência de RNA, a mesma interação $n \rightarrow \pi^*$ é encontrada entre um átomo de oxigênio do grupo fosfato do terceiro resíduo e a face do primeiro nucleotídeo (figura 29C). Com base na importância dessas interações não-covalentes, podemos aplicar o mesmo conceito para explicar a maior estabilidade dos confôrmeros dobrados do citronelal.⁷⁴

Figura 29. Representação das ligações não-covalentes no ácido γ -amino butírico, na estrutura cristalina do DNA e RNA.⁷⁴ (Imagens reproduzidas com permissão dada pelos autores e pela editora)

Em 1930, London definiu a interação de dispersão como a parte atrativa do potencial de interação de van der Waals entre átomos ou moléculas que não estavam ligados covalentemente.⁷⁵

A definição mais recente infere que esse tipo de força resulta das interações dos elétrons a longas distâncias em sistemas ricos em elétrons, não sendo necessária a sobreposição de funções de onda.⁷⁵

As interações de dispersão de London são indispensáveis para promover cálculos teóricos mais precisos. No entanto, essas interações fracas de longo alcance não são consideradas em otimizações usando a teoria funcional de densidade pura (DFT).⁵⁶

Grimme e seus colaboradores desenvolveram o método DFT-D que incluiu a energia de dispersão (E_{disp}) no cálculo computacional com baixa complexidade numérica por meio da relação $E_{\text{DFT-D}} = E_{\text{DFT}} - E_{\text{disp}}$. Neste estudo, é possível medir, por exemplo, a energia da dissociação de complexos não ligados covalentemente, bem como resolver problemas conformacionais envolvendo interações não-covalentes.⁵⁶

Ao longo dos anos, o grupo de pesquisa de Grimme progrediu do método original para o mais recente, sendo este o DFT-D3, no qual o aumento da precisão desse último modelo é devido à participação do número de coordenação dos átomos no cálculo da energia de dispersão (E_{disp}).⁵⁶

Nos cálculos realizados por Domingos⁶⁸ e nos nossos, a correção de dispersão D3 foi considerada, ou seja, as correções de London foram contabilizadas.

Para verificar o quanto a função de dispersão influenciou a conformação dobrada do citronelal, realizamos cálculos de otimização de energia sem contabilizar a energia de dispersão.

De acordo com a figura 30, os cálculos no nível B3LYP forneceram estruturas esticadas (tabela S3 no ANEXO I estão ordenados todos os confôrmeros).

Isso demonstrou que as interações de dispersão eram importantes nos confôrmeros dobrados e que o citronelal deve permanecer na forma esticada na ausência das interações de London.

Figura 30. Oito confôrmeros mais estáveis do citronelal no nível B3LYP, com e sem correção de dispersão.

A análise das cargas NBO (*Natural Bond Orbitals*) não apontou qualquer transferência de carga entre as extremidades do citronelal, mesmo para a conformação dobrada (tabela S4 do ANEXO I estão as cargas de cada átomo da molécula do confôrmero mais estável).

Um segundo efeito estudado está relacionado à interação entre o orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO - *Highest Occupied Molecular Orbital*) e o orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), que tem sido amplamente estudada em aberturas de anéis, em reações de dimerização e na seletividade *endo-exo* nas ciclo-adições de Diels-Alder.^{76,77}

Nas ciclo-adições de Diels-Alder, por exemplo, a observação das interações dos orbitais é um método simples e prático para interpretar ou prever a via estérica favorável.^{76,77}

No nosso caso, estamos relacionando os orbitais HOMO e LUMO com a interação do tipo doador e receptor que irá estabilizar a conformação.

Assim, analisamos os orbitais HOMO e LUMO por meio de cálculos de NBO, que é uma boa estimativa para descrever os orbitais moleculares localizados nas ligações químicas.^{78,79}

Na figura 31, as quatro perspectivas para o confôrmero mais estável do citronelal mostram uma sobreposição entre o HOMO localizado na dupla ligação e o LUMO presente na

carbonila. Esta sobreposição também deve estabilizar a conformação dobrada, apesar de algumas possíveis interações estéricas adversas.

Figura 31. Quatro perspectivas dos orbitais HOMO e LUMO do confôrmere mais estável do citronelal.

Após a obtenção dos confôrmeros, era necessário verificar se esses confôrmeros eram os responsáveis pelos sinais presentes nos espectros de ressonância magnética nuclear, a fim de encontrarmos uma relação teórico-experimental.

Na literatura, existem geralmente boas correlações entre os dados do deslocamento químico (δ) e as predições teóricas como contraprovas das geometrias previstas.⁸⁰⁻⁸³ No caso de um anel rígido de seis membros, por exemplo, os hidrogênios equatoriais absorvem claramente em frequências mais altas do que os hidrogênios axiais. Uma diferença de cerca de

0,4 ppm é suficientemente grande para permitir muitas elucidações estruturais e conformacionais.⁸⁴

Além disso, estudos de RMN recentes em compostos pequenos mostram uma população preferencial dos confôrmeros que exibem interações $n \rightarrow \pi^*$ em relação aos confôrmeros que não possuem esse tipo de interação.⁷⁴

Outro exemplo de como a RMN pode auxiliar na análise conformacional é baseado no conceito denominado de “balança de Wilcox” ou balança torsional, a qual descreve que a rotação lenta das ligações dá origem a sinais de RMN distintos que correspondem as conformações dobradas ou esticadas.⁶⁹

Conforme o exemplo do esquema 11, há uma diferença de deslocamento químico do hidrogênio assinalado nos compostos dobrado e esticado, sendo desta forma possível determinar a porcentagem de cada confôrmero em solução.⁸⁵⁻⁸⁷

Esquema 11. Exemplo da “balança de Wilcox”.

No que diz respeito a molécula do citrônelal, comparamos a média ponderada do deslocamento químico teórico (δ) de RMN de ^{13}C dos confôrmeros obtidos em B3LYP-D3 e B3LYP com o deslocamento químico experimental. Conforme observado nas figuras S4 e S5 mostradas no ANEXO I, alcançamos boas correlações lineares entre os deslocamentos químicos teóricos e experimentais em todos os casos (na presença e ausência da função de dispersão – D3), o que nos levou a concluir que a RMN de ^{13}C não mostra experimentalmente a existência de uma conformação dobrada do citrônelal.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C do citrônelal estão dispostos nas figuras S2 e S3 do ANEXO I, juntamente com a tabela S5 da elucidação estrutural do composto.

Na busca de uma comparação mais detalhada, nós analisamos os deslocamentos químicos de RMN de ^1H do confôrmero mais estável (figura 32) e observamos dados estatisticamente diferentes.

Figura 32. Comparação entre o deslocamento químico (δ) teórico e experimental da RMN de ^1H , utilizando ou não a função D3, do conformero mais estável do citronelal.

Estes resultados sugeriram que a conformação dobrada obtida por meio de B3LYP-D3 corresponde a conformação mais estável encontrada no experimento de RMN de ^1H .

Como os cálculos teóricos predisseram que os principais conformeros do citronelal estão na forma dobrada, a aproximação das extremidades da molécula poderia dar origem a um efeito nuclear Overhauser (NOE – *nuclear Overhauser effect*) em um experimento de RMN.

Compreende-se por efeito nuclear Overhauser a mudança na intensidade de um sinal de ressonância I quando a transição de spin de um outro sinal de ressonância S é perturbada. Essa perturbação significa saturar as transições através de uma irradiação fraca de radiofrequência (rf). Em outras palavras, pode-se dizer que a perturbação é o procedimento que iguala as populações dos spins (ou seja, satura) por meio das transições dos mesmos.³⁵

Podemos explicar melhor o NOE se analisarmos dois núcleos I e S com acoplamento dipolar, no qual esse último conceito consiste na interação magnética dos núcleos através do espaço.³⁵

No equilíbrio (figura 33A), a população do estado de menor energia $\alpha\alpha$ é ligeiramente superior ($N + \Delta$) ao estado de maior energia $\beta\beta$ ($N - \Delta$). Quando ocorre a saturação da ressonância de S (figura 33B), as populações dos níveis $\alpha\alpha$ e $\alpha\beta$ se igualam, bem como as populações de $\beta\alpha$ e $\beta\beta$ ($\alpha\alpha = \alpha\beta = N + \Delta/2$ e $\beta\alpha = \beta\beta = N - \Delta/2$).³⁵

Após essa perturbação, o sistema tende a voltar ao estado de equilíbrio por meio do processo de relaxação longitudinal. Essa relaxação pode acontecer via quatro processos W_0 , W_2 , W_1^I e W_1^S (figura 33C) e está relacionada com o ambiente químico ao redor dos núcleos.³⁵

Essas duas últimas transições (W_1^I e W_1^S), chamadas de transições de quantum simples, ocorrem com a inversão de um único spin, enquanto que na transição de quantum duplo (W_2) e de quantum zero (W_0) há uma dupla inversão.³⁵

Figura 33. Representação do efeito nuclear Overhauser.³⁵

Em termos de contribuições para o processo de relaxação, sabe-se que W_1^I e W_1^S não participam desse procedimento, uma vez que W_1^S não relaxa devido ao sinal do hidrogênio S ainda permanecer no processo de saturação, ao passo que W_1^I não relaxa por possuir a mesma população presente no equilíbrio.³⁵

Portanto, apenas as relaxações cruzadas (W_0 e W_2) que contribuem para a restauração do equilíbrio de forma que W_2 e W_0 vão aumentar ou diminuir a diferença de população, respectivamente. Como consequência, se W_2 prevalece, observa-se um aumento na intensidade do sinal de I no espectro de RMN. Por outro lado, se W_0 é predominante há uma diminuição do sinal de I.³⁵

Em resumo, o NOE é o resultado da redistribuição dos spins que ocorre por meio de processos de relaxação após a saturação de um determinado sinal.

Baseado nos conhecimentos teóricos a respeito do NOE, a análise das figuras 34 e 35 revela um NOE no hidrogênio do aldeído (H1) após a irradiação de hidrogênios H7, H9 e H10.

Quando a irradiação ocorre na metila H4, o NOE é observado em também nos hidrogênios H7, H9 e H10.

Dessa forma, os resultados experimentais obtidos por NOE mostraram que as extremidades da molécula do citronelal estão próximas, evidenciando mais uma vez a conformação dobrada.

Figura 34. NOE observado no citronelal: A) RMN de ^1H normal como espectro de referência; B) irradiação em H4; C) irradiação em H10; D) irradiação em H9 e E) irradiação em H7.

Figura 35. Expansões do NOE do citronelal: A) irradiação em H10 e NOE com aldeído (H1); B) irradiação em H9 e NOE com o aldeído (H1) e C) irradiação em H7 e NOE com aldeído (H1).

Portanto, com este trabalho foi possível preencher algumas lacunas sobre as conformações de citronelal que não foram analisadas ou explicadas em detalhes.

Primeiro, mostramos que as conformações permanecem dobradas mesmo na presença do solvente, trazendo maior realidade experimental aos cálculos teóricos obtidos. Esses dados contribuem, por exemplo, para a compreensão da ciclização clássica do citronelal a isopulegol, uma vez que as chances de um ataque nucleofílico da ligação dupla trissubstituída ao aldeído são, provavelmente, aumentadas quando as extremidades das moléculas estão próximas.

Embora a causa da conformação dobrada tenha parecido óbvia, não houve relato na literatura sobre a origem desse efeito no citronelal.

Os resultados apresentados sugerem que é possível afirmar que a causa do dobramento molecular do citronelal é baseada em interações de London e HOMO-LUMO.

Além disso, a conformação dobrada foi claramente observada em RMN de ^1H pela comparação entre os deslocamentos químicos teóricos, obtidos a partir da otimização com a correção de dispersão D3 e os dados experimentais.

Por último, mas não menos importante, o experimento NOE forneceu informações sobre a proximidade dos prótons nas extremidades da molécula, confirmando também a presença das conformações dobradas em solução.

Com base nos resultados obtidos, concluímos que o (*S*)-citronelal apresenta a possibilidade de ser um bom agente quiral de derivação sem a necessidade de se travar a conformação por meio de abaixamento de temperatura ou adição de metais quelantes.

Capítulo 2 - Quantificação do excesso enantiomérico das aminas por RMN de ^1H e ^{13}C utilizando o (*S*)-citronelal como agente quiral de derivação

Após os estudos conformacionais, nós examinamos o potencial do (*S*)-citronelal (**1**) como agente quiral de derivação para aminas primárias quirais.

Já é conhecido na literatura que a reação entre aldeídos e aminas forma dois isômeros geométricos *E* e *Z*.⁸⁸

Dessa forma, era necessário verificar a isomeria geométrica da ligação da imina do produto formado entre o (*S*)-citronelal (**1**) e a amina (esquema 12). Para isso, foi adquirido um espectro de RMN de ^1H de uma mistura equimolar de (*S*)-citronelal e (*R*)-*sec*-butilamina.

Através do deslocamento químico do hidrogênio da imina, foi observado um único sinal, concluindo-se que havia sido obtido apenas um dos isômeros.

Conforme trabalhos anteriores⁸⁸, a imina *E* é o produto majoritário da reação entre aldeídos e aminas por apresentar menor energia em relação ao *Z*. Portanto, admitimos a formação apenas do isômero *E*. Este resultado já nos dava indícios interessantes, uma vez que a presença de um único isômero facilitava a análise do espectro.

Esquema 12. Possibilidade de formação dos isômeros *E* e *Z* formados na reação do (*S*)-citronelal e a amina primária.

Primeiro, a *sec*-butilamina e o (*S*)-citronelal foram misturadas dentro do tubo de ressonância. Em seguida, um solvente deuterado foi adicionado à mistura, e os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C da mistura foram adquiridos. Utilizamos sete solventes (CDCl_3 , DMSO-d_6 , CD_3OD , CD_3CN , C_6D_6 , piridina- d_5 ou acetona- d_6) para cada excesso enantiomérico (*ee*).

Conforme descrito na seção Materiais e Métodos, a reação entre as aminas e o (*S*)-citronelal é rápida (em torno de 2-3 minutos) e o material de partida (agente quiral de derivação) é totalmente consumido, não sendo necessário se preocupar com a resolução cinética.

O espectro de RMN de ^1H do derivado da *sec*-butilamina racêmica (figura 36) mostrou claramente a duplicação do tripleto correspondente ao H1 e uma boa aproximação com os dados de *ee* teórico foi obtida após a deconvolução. Em estudos anteriores onde o mirtrenal foi usado como agente quiral de derivação, essa duplicação só surgiu quando um anel aromático estava presente.

Figura 36. Sinais de RMN de ^1H da metila H1 nos solventes CDCl_3 , CD_3OD e CD_3CN a temperatura ambiente.

Na amostra contendo 50% de *ee* da *sec*-butilamina surgiu pequenos "ombros" espectrais que correspondiam aos sinais do enantiômero em menor proporção. No entanto, a quantificação à temperatura ambiente não apresentou bons resultados.

Como tentativa de melhorar os resultados, reduzimos a temperatura da amostra para -35°C (238 K). De acordo com a distribuição de Boltzmann⁵⁹, a temperatura afeta a distribuição dos confôrmeros no equilíbrio conformacional.⁸⁹ A baixa temperatura, espera-se que o aumento da porcentagem de confôrmeros de menor energia combinada com a desaceleração da taxa de inter-conversão dos confôrmeros contribua para o aumento da resolução do espectro.

A baixa temperatura proporcionou uma boa separação dos diastereoisômeros quando foi observado o H1 nos espectros de RMN de ^1H em CD_3CN e CD_3OD com 50% de *ee*. Além disso, outro hidrogênio (H4) também se mostrou adequado para quantificar os diastereoisômeros, proporcionando boa concordância entre a proporção dos enantiômeros medida pelas integrais do espectro e a proporção dos enantiômeros na mistura preparada (figura 37 e tabela 5).

A temperatura ambiente, quando temos um grande *ee* (por exemplo, 90% de *ee*), os sinais de RMN do diastereoisômero secundário se mesclam com os sinais do diastereoisômero

principal, como resultado do alargamento gradual dos picos à medida que se aproximam da linha de base.⁹⁰

Novamente, a baixa temperatura pode aumentar a resolução do espectro, conforme discutido acima, mas essa melhoria é limitada por um efeito adverso na resolução causada pelo aumento da viscosidade da amostra.⁹⁰

Figura 37. Sinais de RMN de ¹H das metilas H1 e H4 nos solventes CD₃OD e CD₃CN a baixa temperatura.

Tabela 5. Quantificação do *ee* dos derivados da *sec*-butilamina por RMN de ¹H a -35°C (238 K)

Hidrogênio	Solvente	<i>ee</i> experimental (%)	<i>ee</i> teórico (%)
H1	CD ₃ OD	47,8	50,0
H4			
H1	CD ₃ CN	52,8	
H4		41,8	

No trabalho de Dufrasne e colaboradores no qual o mirtenal foi usado como agente quiral de derivação, os autores não conseguiram diferenciar e quantificar por RMN de ^1H os diastereoisômeros derivados de aminas alifáticas.³² Dessa forma, para tentar melhorar os resultados, os espectros de RMN de ^{13}C foram adquiridos. Assim, mesmo na ausência do efeito anisotrópico de um anel aromático, os autores conseguiram uma boa separação dos sinais de RMN de ^{13}C para o diastereoisômeros derivados do mirtenal.³³

Baseado nisso, adquirimos os espectros de RMN de ^{13}C das misturas já descritas anteriormente (0,0; 50,0; e 90,0 de *ee*) e verificamos uma boa separação dos sinais dos derivados diastereoméricos em todos os solventes testados.

Para o derivado da *sec*-butilamina, os sinais da metila ligada ao centro estereogênico do citronelal, marcado como C8, foram bem separados na maioria dos solventes (na figura 38 estão os melhores resultados encontrados). Em outras palavras, podemos dizer que C8 apresentou o maior $\Delta\delta$ ($\Delta\delta = \delta_{S,R} - \delta_{S,S}$).

Para obter bons resultados durante a quantificação dos diastereoisômeros em uma mistura torna-se necessária uma boa resolução dos sinais, isto é, é essencial obter o maior $\Delta\delta$ dos sinais correspondentes no espectro de RMN.

Figura 38. Relação linear entre o excesso enantiomérico experimental e teórico das misturas da *sec*-butilamina, analisando-se a metila 8.

Embora o sinal de C8 seja suficiente, houve muitos sinais ao longo do espectro que poderiam ser úteis para determinar *ee*, tornando o (*S*)-citronelal um agente quiral de derivação versátil.

Assim, avaliamos outros sinais nos espectros de RMN de ^{13}C por deconvolução. Entre os vários carbonos do (*S*)-citronelal (**1**) que permitem a quantificação enantiomérica, limitamos nossa avaliação aos sinais que eram comuns a todas as moléculas examinadas.

Os gráficos da figura 39 analisam o *ee* para o derivado da *sec*-butilamina. Este gráfico confirmou que outros átomos de carbono, como C5, C6 e C7, também podem ser bons alvos para determinar as proporções enantioméricas. No entanto, o sinal referente ao C8 forneceu a melhor resolução em todos os espectros.

Figura 39. Espectro de RMN de ¹³C do derivado diastereomérico da *sec*-butilamina e suas expansões, juntamente com os gráficos de correlação entre o *ee* teórico e experimental dos carbonos 5, 6 e 7 no solvente clorofórmio.

No caso do procedimento desenvolvido por Dufrasne e colaboradores, que utilizou miternal como AQD, a proporção de derivados diastereoméricos foi medida apenas usando o sinal do carbono estereogênico da amina, porque os demais sinais de carbono não foram suficientemente resolvidos.³³

Além disso, o maior excesso enantiomérico trabalhado pelos autores foi de cerca de 40% (proporção de enantiômeros em torno de 70:30).³³ Portanto, o (*S*)-citronelal claramente foi um AQD mais abrangente, porque permitiu a análise de uma variedade de sinais e picos detectados de forma mais eficiente na presença de uma ampla gama de *ee*; por exemplo, 90% (proporção de enantiômeros 95:5).

Na mistura equimolar dos derivados diastereoméricos da *sec*-butilamina (*S,S* e *S,R*) foram realizadas duas tentativas de se aumentar a diferença de deslocamento químico ($\Delta\delta$) por meio da adição de sulfato de bário (BaSO₄) e também sulfato de cálcio (CaSO₄), a fim de conseguirmos uma maior precisão nas medidas de *ee*. No entanto, após a aquisição do espectro de RMN de ¹³C, nós não observamos nenhuma melhora nos valores de $\Delta\delta$.

O mesmo procedimento experimental descrito para *sec*-butilamina foi também realizado para a mistura racêmica da 1-(fenil)etanamina e com as misturas enriquecidas com (*S*)-1-(fenil)etanamina que deram origem aos excessos enantioméricos de 50% e 90%.

As tabelas seguintes apontaram que os hidrogênios da metila H8 são um bom alvo para diferenciar os derivados diastereoméricos. O H13 também se destacou para os mesmos fins.

Tabela 6. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ¹H em CDCl₃

<i>ee</i> experimental (%)		<i>ee</i> teórico (%)
H8	H13	
3,1	15,6	0,0
49,7	59,8	50,0
83,3	93,7	90,0

Tabela 7. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ¹H em DMSO-d₆

<i>ee</i> experimental (%)		<i>ee</i> teórico (%)
H8	H13	
1,6	3,1	0,0
55,2	51,5	50,0
89,4	93,1	90,0

Tabela 8. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ^1H em CD_3OD

<i>ee</i> experimental (%)		<i>ee</i> teórico (%)
H8	H13	
10,6	3,3	0,0
50,7	49,7	50,0
84,3	84,8	90,0

Tabela 9. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ^1H em CD_3CN

<i>ee</i> experimental (%)		<i>ee</i> teórico (%)
H8	H13	
1,9	7,3	0,0
50,8	56,5	50,0
85,5	90,9	90,0

Tabela 10. Quantificação do *ee* do derivado da 1-(fenil)etanamina por RMN de ^1H em acetona- d_6

<i>ee</i> experimental (%)		<i>ee</i> teórico (%)
H8	H13	
2	5,9	0,0
49,8	61,3	50,0
85,1	94,0	90,0

Após a análise dos espectros de ^1H , aplicamos a deconvolução nos espectros de RMN de ^{13}C para analisar os carbonos 3, 6, 7 e 8, que são comuns a *sec*-butilamina e a 1-(fenil)etanamina.

Com base na figura 40, tanto C3 quanto C8 apresentaram excelentes resultados para a determinação das proporções dos enantiômeros.

Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado diastereomérico da 1-(fenil)etanamina e suas expansões, juntamente com os gráficos de correlação entre o *ee* teórico e experimental dos carbonos 3, 6, 7 e 8 em clorofórmio.

A análise dos derivados diastereoméricos da anfetamina por RMN de ^1H proporcionou excelentes resultados para a metila ligada ao centro estereogênico (H8) e para a metila *trans* ao hidrogênio vinílico (H14). Além disso, o H3 na anfetamina provou ser um bom alvo diferencial, embora o H8 tenha sido mais preciso, como pode ser observado na tabela 11, e obteve um sinal melhor resolvido (figura 41) em comparação com o H3.

Tabela 11. Comparação entre H3 e H8 na diferenciação dos enantiômeros do derivado da anfetamina por RMN de ^1H

<i>ee</i> teórico de 0,0 %	<i>ee</i> experimental (%)	
Solvente	H3	H8
CDCl_3	0,8	0,0
CD_3OD	1,0	0,4
CD_3CN	17,0	2,2
Acetona- d_6	1,4	0,2

Figura 41. Expansão do espectro de RMN de ^1H dos derivados diastereoméricos da anfetamina.

Como já mencionado para os resultados de RMN de ^1H , a metila ligada ao centro estereogênico do (*S*)-citronelal (indicado como número 8 em todas as figuras) também proporcionou uma maior resolução nos espectros de ^{13}C . Dessa forma, esse sinal deve ser escolhido quando se deseja obter a melhor quantificação de *ee*, conforme ilustrado na figura 42.

Figura 42. Espectro de RMN de ^{13}C do derivado diastereomérico da anfetamina e suas expansões, juntamente com os gráficos de correlação entre o *ee* teórico e experimental dos carbonos 3, 6, 7 e 8 em vários solventes.

Portanto, podemos concluir que o (*S*)-citronelal é um agente de derivação quiral eficaz para quantificar o excesso enantiomérico (*ee*) de aminas primárias quirais.

Nossos resultados indicaram que a espectroscopia de RMN de ^1H é útil para quantificar o excesso enantiomérico de aminas alifáticas como a *sec*-butilamina após a derivação com o (*S*)-citronelal.

Além disso, os espectros de RMN de ^1H deste composto adquiridos a baixa temperatura proporcionaram resultados que nunca foram relatados na literatura. Aliás, o método desenvolvido aqui foi o primeiro a discutir a possibilidade de usar terpenos de cadeia aberta como agentes quirais de derivação.

Por fim, nós analisamos todo o espectro obtido após a reação entre (*S*)-citronelal e as aminas como se todos os sinais (H ou C) fossem possíveis alvos diferenciadores. Desta forma,

conseguimos demonstrar que a metila ligada ao centro estereogênico do (*S*)-citronelal é um excelente alvo para distinguir entre os diastereoisômeros e proporciona melhores resultados que outros carbonos presentes na molécula.

Portanto, o C8 ou H8, que corresponde a metila ligada ao centro estereogênico do (*S*)-citronelal, é um sinal conveniente para se determinar o excesso enantiomérico de amins quirais por ser facilmente reconhecido no espectro, uma vez que esse sinal já faz parte do agente quiral de derivação e também por estar em uma região bastante blindada do espectro.

Dessa forma, não se torna necessário realizar uma elucidação estrutural completa de todos os sinais dos derivados diastereoméricos. Basta encontrarmos o sinal referente ao C8, em torno de 20 ppm no espectro de RMN de ^{13}C , ou o sinal do H8 em torno de 0,9 ppm no espectro de ^1H , para determinarmos o excesso enantiomérico.

Conclusões

Ao analisar todos os capítulos anteriores, podemos concluir resumidamente que nós conseguimos entender as preferências conformacionais do (S)-citronelal de modo a tentar prever sua eficácia como agente quiral de derivação para as amins quirais.

Com isso, nós identificamos que o (S)-citronelal tem a conformação dobrada devido as interações HOMO-LUMO e de London.

Em seguida, comprovamos que o (S)-citronelal pode ser usado como agente quiral de derivação para amins primárias quirais, sendo que, até o momento, o (S)-citronelal é o único agente quiral de derivação acíclico utilizado na quantificação do excesso enantiomérico e configuração absoluta de amins primárias quirais.

Nos diastereoisômeros formados entre o agente quiral de derivação e as amins nós observamos conformações dobradas e justificativas semelhantes as encontradas no (S)-citronelal, baseado nas interações de orbitais e nas interações de London.

Posteriormente, comprovamos que a utilização do (S)-citronelal como agente quiral de derivação (AQD) também dá bons resultados para compostos bifuncionalizados, tendo sido aplicado a três compostos: 2-aminobutan-1-ol, metionina e fenilalanina.

A utilização do método CP3 no amino-álcool permitiu alcançar bons resultados na determinação dos diastereoisômeros, possibilitando a utilização do (S)-citronelal mesmo em casos mais complexos.

Por fim, com os amino-ácidos foi possível verificar a eficiência do sinal da metila ligada ao centro estereogênico (H8), identificando um alvo único (sem a necessidade de uma elucidação estrutural completa) de fácil localização no espectro para a quantificação do excesso enantiomérico.

Portanto, podemos concluir que os objetivos previstos foram alcançados com êxito dando origem a dois artigos científicos, sendo eles:

- “*Enantiomeric quantification of amines by ^1H and ^{13}C NMR: First report of (S)-citronellal as chiral derivatization agent (CDA)*”, na revista Microchemical Journal (<https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.03.014>)
- “*Citronellal assumes a folded conformation in solution due to dispersion interactions: A joint NMR-DFT analysis*”, na revista Journal of Molecular Structure (<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.12.083>)

Um terceiro artigo intitulado “*Conformation of long-chain imines: a theoretical-experimental study*” está em fase de submissão e ainda temos expectativa de publicar os demais resultados dos capítulos 4 e 5.

O projeto, em si, trouxe um grande enriquecimento científico ao nosso laboratório de pesquisa, pois foi possível conhecer, estudar e abranger outras áreas como a química computacional, físico-química, além de propriamente a química orgânica e a ressonância magnética nuclear.

No entanto, o projeto ainda deixou algumas questões em aberto e a possibilidade de aprofundamentos, sendo o principal deles a identificação de um padrão de deslocamento químico, assim como estipulado no reagente de Mosher, para que não haja necessidade da utilização de um enantiômero puro.

Como nenhum padrão foi encontrado na derivação simples com o (*S*)-citronelal, sugerimos que seja feita a derivação dupla, ou seja, com o (*R*)-citronelal a fim de localizar um padrão na junção de ambos os deslocamentos químicos dos enantiômeros do citronelal.

Referências Bibliográficas

- (1) Eliel, E. L.; Wilen, S. H.; Mander, L. N. *Stereochemistry of Organic Compounds*; John Wiley & Sons, Inc.: E.U.A, 1994.
- (2) Kalsi, P. S. *Stereochemistry Conformation and Mechanism*; New Age International, 2008.
- (3) Constantino, M. G. *Química Orgânica - Curso Básico Universitário*; 1ª ed.; LTC: Brasil, 2008; Vol. 2.
- (4) Juaristi, E.; Stefani, H. *Introdução À Estereoquímica e À Análise Conformacional* 1ª ed.; Bookman: Brasil, 2012.
- (5) Sekhon, B. S. *Journal of Modern Medicinal Chemistry* **2013**, 1, 10.
- (6) Noël, F.; Volpato, N.; Ribeiro, A.; Bolutari, E.; Cupello, T. *Infarma* **2004**, 16, 64.
- (7) Nguyen, L. A.; He, H.; Pham-Huy, C. *International Journal of Biomedical Science* **2006**, 2, 85.
- (8) Mohan, S. J.; Mohan, E. C.; Yamsani, M. R. *Internatinal Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* **2009**, 1, 309.
- (9) Lima, V. L. F. *Química Nova* **1997**, 20, 657.
- (10) Calcaterra, A.; D'Acquarica, I. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2018**, 147, 323.
- (11) Kriz, G. S.; Pavia, D. L.; Lampman, G. M. *Introdução À Espectroscopia - Tradução da 4ª Edição Norte-americana*; Cengage Learning: Brasil, 2010.
- (12) Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos* 7ª ed.; LTC: Brasil, 2006.
- (13) Atkins, P. W.; de Paula, J. *Físico-Química* 7ª ed.; LTC: Brasil, 2004; Vol. 3.
- (14) Seco, J. M.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *Chemical Reviews* **2004**, 104, 7.
- (15) Seco, J. M.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *The Assignment of the Absolute Configuration by NMR Using Chiral Derivatizing Agents: A Practical Guide*; 1ª ed.; Oxford University Press: E.U.A, 2015.
- (16) Wenzel, T. J.; Wilcox, J. D. *Chirality* **2003**, 15, 256.
- (17) Wenzel, T. J.; Chisholm, C. D. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **2011**, 59, 1.
- (18) Wenzel, T. J.; Chisholm, C. D. *Chirality* **2011**, 23, 190.
- (19) Raban, M.; Mislow, K. *Tetrahedron Letters* **1965**, 48, 4249.
- (20) Raban, M.; Mislow, K. *Topics in Stereochemistry* **1967**, 2, 199.
- (21) Pikle, W. H. *Journal of the American Chemical Society* **1966**, 88, 1837.
- (22) Dale, J. A.; Mosher, H. S. *Journal of the American Chemical Society* **1973**, 95, 512.
- (23) Arrasate, S.; Lete, E.; Sotomayor, N. *Tetrahedron: Asymmetric* **2001**, 12, 2077.
- (24) Clifton, J. E.; Collins, I.; Hallett, P.; Hartley, D.; Lunts, L. H. C.; Wicks, P. D. *Journal of Medicinal Chemistry* **1982**, 25, 670.
- (25) Lucet, D.; Le Gall, T.; Mioskowski, C. *Angewandte Chemie International Edition* **1998**, 37, 2580.
- (26) Ahn, H. C.; Choi, K. *Chemistry Letters* **2007**, 36, 1330.
- (27) du Boullay, O. T.; Alba, A.; Oukhatar, F.; Martin-Vaca, B.; Bourissou, D. *Organic Letters* **2008**, 10, 4669.
- (28) Cozzi, P. G. *Chemical Society Reviews* **2004**, 33, 410.
- (29) da Silva, C. M.; da Silva, D. L.; Modolo, L. V.; Alves, R. B.; de Resende, M. A.; Martins, C. V. B.; de Fátima, A. *Journal of Advanced Research* **2011**, 2, 1.
- (30) Nandhakumar, R.; Ryu, J.; Park, H.; Tang, L.; Choi, S.; MookKim, K. *Tetrahedron* **2008**, 64, 7704.
- (31) Willoughby, P. H.; Jansma, M. J.; Hoye, T. R. *Nature Protocols* **2014**, 9, 643.
- (32) Dufrasne, F.; Gelbcke, M.; Nève, J. *Spectrochimica Acta Part A* **2003**, 59, 1239.

- (33) Dufrasne, F.; Gelbcke, M.; Galanski, M. *Spectrochimica Acta Part A* **2006**, 65, 869.
- (34) Metz, K. R.; Lam, M. M.; Webb, A. G. *Concepts in Magnetic Resonance* **2000**, 12, 21.
- (35) Claridge, T. D. W. *High-Resolution in NMR Techniques in Organic Chemistry - Tetrahedron Organic Chemistry*; 2^a ed.; Elsevier: Amsterdam, 2009; Vol. 27.
- (36) Blanco, M.; Coello, J.; Iturriaga, H.; Maspoch, S.; Porcel, M. *Analytica Chimica Acta* **2001**, 431, 115.
- (37) Bachrach, S. M. *Computational Organic Chemistry*; 2^a ed.; John Wiley & Sons, Inc.: E.U.A e Canadá, 2014.
- (38) Cramer, C. J. *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*; 2^a ed.; John Wiley & Sons Ltd: Inglaterra, 2004.
- (39) Jensen, F. *Introduction to Computational Chemistry*; 2^a ed.; John Wiley & Sons Ltd Inglaterra, 2007.
- (40) Allinger, N. L.; Lii, J. H. *Journal of American Chemical Society* **1989**, 111
- (41) Allinger, N. L.; Lii, J. H. *Journal of American Chemical Society* **1989**, 111, 8566.
- (42) Allinger, N. L.; Yuh, Y. H.; Lii, J. H. *Journal of American Chemical Society* **1989**, 111, 8551.
- (43) Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C.; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A. *Journal of American Chemical Society* **1995**, 117 5179.
- (44) Grimme, S.; Ehrlich, S.; Goerigk, L. *Journal of Computational Chemistry* **2011**, 32, 1456.
- (45) PCModel, v., Serena Software, P.O. Box 3076, Bloomington, IN 474-23076, USA 2002.
- (46) Bjorgo, J.; Boyd, D. R.; Watson, C. G.; Jennings, W. B.; Jerina, D. M. *Journal of the Chemical Society - Perkin Transactions 2* **1974**, 1081.
- (47) Blanco, F.; Alkorta, I.; Elguero, J. *Croatica Chimica Acta* **2009**, 82, 173.
- (48) Raban, M.; Carlson, E. *Journal of the American Chemical Society* **1970**, 93, 685.
- (49) Neese, F. *WIREs Computational Molecular Science* **2012**, 2, 73.
- (50) Becke, A. D. *Journal of Chemical Physics* **1993**, 98, 5648.
- (51) Lee, C.; Weitao, Y.; Robert, G. *Physical Review B* **1988**, 37, 785.
- (52) Vosko, S. H.; Wilk, L.; Nusair, M. *Canadian Journal of Physics* **1980**, 58, 1200.
- (53) Stephens, P. J.; Devlin, F. J.; Chabalowski, C. F.; Frisch, M. J. *Journal of Physical Chemistry* **1994**, 98, 11623.
- (54) Schaefer, A.; Huber, C.; Ahlrichs, R. *Journal of Chemical Physics* **1994**, 108, 5829.
- (55) Weigend, F.; Ahlrichs, R. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2005**, 7, 3297.
- (56) Grimme, S.; Antony, J.; Ehrlich, S.; Krieg, H. *Journal of Chemical Physics* **2010**, 132, 154104/1.
- (57) Grimme, S.; Steinmetz, M. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, 15, 16031.
- (58) Neese, F.; Wennmohs, F.; Andreas, H. *Journal of Chemical Physics* **2009**, 130, 114108/1.
- (59) Gemmer, J.; Michel, M.; Mahler, G. *Quantum Thermodynamics: Emergence of Thermodynamic Behavior Within Composite Quantum Systems*; 2^a ed.; Springer Berlin Heidelberg, 2009.
- (60) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Lifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.

- Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian, Inc., Wallingford, CT*. 2004.
- (61) Cancès, E.; Mennucci, B.; Tomasi, J. *Journal of Physical Chemistry* **1997**, *107*, 3032.
 - (62) GaussView, V., Roy Dennington II, Todd Keith and John Millam, Semichem, Inc., Shawnee Mission, KS, 2007.
 - (63) Stolle, A.; Ondruschka, B.; Hopf, H. *Helvetica Chimica Acta* **2009**, *92*, 1673.
 - (64) Lenardão, E. J.; Botteselle, G. V.; de Azambuja, F.; Perin, G.; Jacob, R. G. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 6671.
 - (65) Bicchi, C.; D'Amato, A.; Rubiolo, P. *Journal of Chromatography A* **1999**, *843*, 99.
 - (66) König, W. A.; Fricke, C.; Saritas, Y.; Momeni, B.; Hohenfeld, G. *Journal of High Resolution Chromatography* **1997**, *20*, 55.
 - (67) Vandichel, M.; Vermoortele, F.; Cottenie, S.; De Vos, D. E.; Waroquier, M.; Speybroeck, V. V. *Journal of Catalysis* **2013**, *305*, 118.
 - (68) Domingos, S. R.; Pérez, C.; Medcraft, C.; Pinacho, P.; Schnell, M. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2016**, *25*, 16682.
 - (69) Yang, L.; Adam, C.; Nichol, G. S.; Cockroft, S. L. *Nature Chemistry* **2013**, *5*, 1006.
 - (70) Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. *Chemical Reviews* **1999**, *99*, 2161.
 - (71) Pliego Jr., J. R. *Química Nova* **2006**, *29*, 535.
 - (72) Klamt, A. *Advanced Review* **2011**, *1*, 699.
 - (73) Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113*, 6378.
 - (74) Singh, S. K.; Das, A. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2015**, *17*, 9596.
 - (75) Grimme, S.; Hansen, A.; Brandenburg, J. G.; Bannwarth, C. *Chemical Reviews* **2016**, *116*, 5105.
 - (76) Fukui, K. *Accounts of Chemical Research* **1970**, *4*, 57.
 - (77) Houk, K. N. *Accounts of Chemical Research* **1978**, *8*, 361.
 - (78) Reed, A. E.; Curtiss, L. A.; Weinhold, F. *Chemical Review* **1988**, *88*, 899.
 - (79) Weinhold, F.; Landis, C. R. *Chemistry Education Research and Practice* **2001**, *2*, 91.
 - (80) Ribeiro, M. A. S.; Gomes, C. M. B.; Formagio, A. S. N.; Pereira, Z. V.; Melo, U. Z.; Basso, E. A.; da Costa, W. F.; Baldoqui, D. C.; Sarragiotto, M. H. *Tetrahedron Letters* **2016**, *57*, 1331.
 - (81) Rotta, R.; Neto, A. C.; de Lima, D. P.; Beatriz, A.; da Silva, G. V. J. *Journal of Molecular Structure* **2010**, *975*, 59.
 - (82) da Silva, G. V. J.; Cunha Neto, A. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7763.
 - (83) Xin, D.; Sader, C. A.; Fischer, U.; Wagner, K.; Jones, P.-J.; Xing, M.; Fandrick, K. R.; Gonnella, N. C. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2017**, *15*, 928.
 - (84) Lambert, J. B.; Takeuchi, Y. *Magnetic Resonance in Chemistry* **1969** *1*, 345.
 - (85) Kim, E.; Paliwal, S.; Wilcox, C. S. *Journal of American Chemical Society* **1998**, *120*, 11192.
 - (86) Paliwal, S.; Geib, S.; Wilcox, C. S. *Journal of American Chemical Society* **1994**, *116*, 4497.
 - (87) <http://www.pitt.edu/~cswgrp/home/torsion.html>.
 - (88) Karabatsos, G. J.; Lande, S. S. *Tetrahedron Letters* **1968**, *24*, 3907.
 - (89) Angeli, C.; Cimiraaglia, R.; Dallo, F.; Guareschi, R.; Tenti, L. *Journal of Chemical Education* **2013**, *90*, 1639.
 - (90) Seeton, C. J. *Tribology Letters* **2006**, *22*, 67.