



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
**Fundação instituída nos termos da lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís – MA**  
Agência de Inovação, Empreendedorismo, Pesquisa, Pós-Graduação e  
Internacionalização  
Centro de Ciências de Imperatriz – CCIIm  
Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais - PPGCM



JHONATAM DE OLIVEIRA CARVALHO

**Estudo DFT e Caracterização Estrutural e Vibracional de Cristais de  
5-metiluridina a Altas Temperaturas e Adenosina Hidroclorídrica a  
Altas Pressões**

Orientador: prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho

Imperatriz – MA,

2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
**Fundação instituída nos termos da lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís – MA**  
Agência de Inovação, Empreendedorismo, Pesquisa, Pós-Graduação e  
Internacionalização  
Centro de Ciências de Imperatriz – CCIIm  
Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais - PPGCM

JHONATAM DE OLIVEIRA CARVALHO

**Estudo DFT e Caracterização Estrutural e Vibracional de Cristais de  
5-metiluridina a Altas Temperaturas e Adenosina Hidroclorídrica a  
Altas Pressões**

Tese apresentada à coordenação do Programa de Pós-Graduação  
em Ciência dos Materiais, da Universidade Federal do  
Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de  
Doutor em Ciência dos Materiais.

Orientador: prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho

IMPERATRIZ – MA,

2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Carvalho, Jhonatam de Oliveira.

Estudo DFT e Caracterização Estrutural e Vibracional de Cristais de 5-metiluridina a Altas Temperaturas e Adenosina Hidroclorídrica a Altas Pressões / Jhonatam de Oliveira Carvalho. - 2023.

203 f.

Orientador(a): Pedro de Freitas Façanha Filho.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais/ccim, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2023.

1. 5-metiluridina semihidratada. 2. Adenosina hidroclorídrica. 3. Altas pressões. 4. Altas temperaturas. 5. Espectroscopia Raman. I. Façanha Filho, Pedro de Freitas. II. Título.

Aos membros da Banca Examinadora da Tese de doutorado do acadêmico **Jhonatam de Oliveira Carvalho**, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências dos Materiais como requisito parcial de obtenção do título de Doutor.

*Linha de Pesquisa:* Síntese e caracterização de cristais orgânicos e inorgânicos.

Imperatriz – MA, 03 de julho de 2023.

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho (Orientador)  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA / PPGCM

---

Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos  
Universidade Federal do Maranhão – UFMA / PPGCM

---

Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa  
Universidade Federal do Pará – UFPA / PPGCM

---

Prof. Dr. Paulo de Tarso Cavalcante Freire  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof. Dra. Heloisa Nunes Bordallo  
Universidade de Copenhagen – Dinamarca

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a oportunidade à Universidade Federal do Maranhão, pela oportunidade de cursar o mestrado e doutorado com o grupo de docentes que compõem o Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais do campus Bom Jesus.

Afirmar meus agradecimentos ao campus Açailândia do Instituto Federal do Maranhão pela concessão de licença para cursar o doutorado integralmente afastado das minhas atividades como docente. Esse agradecimento se estende a todos os funcionários que se tornaram amigos ao longo da jornada de trabalho.

Agradeço aos Laboratórios de Difração de Raios X (LDRX – UFMA) pelas análises de difração de raios X no pó a temperatura ambiente e altas temperaturas. Ao Laboratório de Análises Térmicas (LAT – UFMA) pelas análises de *DSC* e ao Laboratório de Espectroscopia Ótica e Fotoacústica (LEOF – UFMA) pelos ensaios de *FTIR* das amostras estudadas.

Agradeço a colaboração do professor Dr. Waldeci Paraguassu Feio, coordenador do Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões da Universidade Federal do Pará em Belém, pelas análises nos cristais de adenosina hidrocloreídrica a altas pressões e a coautoria na construção do artigo. Além dele, agradeço ao professor Dr. Francisco Ferreira de Sousa pelas análises a altas temperaturas usando espectroscopia Raman nos cristais de 5-metiluridina semi hidratado, além de colaborar na escrita do artigo. Da UFPA, ainda agradeço à técnica do Laboratório de Pesquisa da Física, Dra. Graziela Cristiane Telles da Silva, pela análise de termogravimetria (*TGA*) da 5mU.

Doravante, agradeço ao prof. Dr. José Gadelha da Silva Filho pelos conselhos e orientações, com maior foco nos estudos teóricos, tendo possibilitado meu acesso ao Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho de São Paulo (CENAPAD-SP), ao qual também agradeço o espaço disponível para efetuar as análises teóricas.

Agradeço ao professor Dr. Adenilson Oliveira dos Santos pelos diálogos e ensinamentos durante o mestrado e doutorado e, além disso, na vida.

Meus agradecimentos ao meu orientador, prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho, pelas orientações, paciência, fraternidade e confiança no meu trabalho, além da humildade e simplicidade na convivência durante o mestrado e doutorado, sendo sempre uma pessoa receptiva e compreensiva. O sucesso desse trabalho conta muito com as orientações dele.

Além disso, agradeço aos meus companheiros de turma do doutorado, pela parceria e apoio em todos os momentos, cada um com sua característica: Glauco, João, Raychiman, Jessica, Fernanda, Greicy, Alberto, Valéria, Jailton e Diogo. Agradeço também aos colegas do Laboratório de Espectroscopia Raman.

Por fim, agradeço a todos os amigos e aos meus familiares, com ênfase à minha esposa Renata, minha filha Maria e minha mãe Ana. E a Deus, por todas as pessoas e acontecimentos citados acima.

“Demore o tempo que for para decidir o que você quer da vida, e depois que decidir não recue ante nenhum pretexto, porque o mundo tentará te dissuadir.”

Friedrich Nietzsche

“Os circuitos de consagração social serão tanto mais eficazes quanto maior a distância social do objeto consagrado.”

Pierre Bourdieu

[...] Eu, que tenho sofrido a angústia das pequenas coisas ridículas,  
Eu verifico que não tenho par nisto tudo neste mundo.  
Toda a gente que eu conheço e que fala comigo  
Nunca teve um ato ridículo, nunca sofreu enxovalho,  
Nunca foi senão príncipe - todos eles príncipes - na vida... [...]  
Quem me dera ouvir de alguém a voz humana  
Que confessasse não um pecado, mas uma infâmia;  
Que contasse, não uma violência, mas uma cobardia!  
Não, são todos o Ideal, se os ouço e me falam.  
Quem há neste largo mundo que me confesse que uma vez foi vil?  
Ó príncipes, meus irmãos, [...]  
Arre, estou farto de semideuses!  
Onde é que há gente no mundo?  
Então sou só eu que é vil e errôneo nesta terra?  
Fernando Pessoa (Poema em linha reta)

## RESUMO

O objetivo do trabalho é estudar a estabilidade da 5-metiluridina semihidratada (5mU) a altas temperaturas e da adenosina hidrocloreídrica (AC) altas pressões por espectroscopia Raman, além de calcular os espectros teóricos e os índices de reatividade globais e analisar a superfície de Hirshfeld. A 5mU foi investigada na faixa de temperatura a partir de 300 a 460 K por *TGA*, *DSC*, difração de raios X do pó (DRXP) e espectroscopia Raman. Adicionalmente, seus espectros vibracionais, as energias dos orbitais de fronteira molecular e seus índices de reatividade globais foram calculados utilizando o método DFT. Os espectros vibracionais calculados apresentaram uma boa similaridade com os dados experimentais. Os índices de reatividade mostraram que a 5mU parece ser uma molécula estável. Além disso, os resultados mostraram que esse material cristalino sofre dois processos de desidratação consecutivos: em torno de 380 K e em 410–420 K, com uma alteração da estrutura de ortorrômbica ( $P2_12_12$ ) para triclinica ( $P1$ ) e, depois, transitando para monoclinica ( $P2_1$ ). Para os cristais de AC, o espectro Raman foi calculado em condições ambiente, além de ser realizado a análise da superfície de Hirshfeld; em seguida, estudado a estabilidade do cristal em altas pressões por espectroscopia Raman de 0,1 a 8,4 GPa. Os espectros calculados apresentam consideráveis semelhanças com os dados experimentais. O comportamento da AC a altas pressões é singular, pois os espectros Raman apresentaram alterações a partir de 0,4 GPa, sofrendo alterações até 5,6 GPa. A partir da análise das mudanças espectrais, foram identificadas três transições de fase: a primeira na faixa de 0,4 a 0,7 GPa, a segunda entre 1,5 e 2,4 GPa e a terceira no intervalo de pressão de 3,5 a 5,2 GPa, sendo as duas primeiras do tipo conformacionais e a terceira estrutural. A estrutura cristalina da AC parece ser flexível a cada elevação da pressão, pois modos vibracionais atribuídos a todas as porções da molécula sofrem alterações durante a elevação da pressão. Essa flexibilidade pode estar relacionada a diversidade de funções biológicas da adenosina e do íon cloro. Assim, os nucleosídeos são biomoléculas importantes no corpo humano e entender o seu comportamento a fatores externos como pressão e temperatura ajudam a termos mais informações desses materiais para correlacionar com suas funções biológicas.

**Palavras-chave:** 5-metiluridina semihidratada, adenosina hidrocloreídrica, difração de raios X, espectroscopia Raman, cálculo via DFT, altas temperaturas, altas pressões.



## ABSTRACT

The objective of this work is to study the stability of 5-methyluridine hemihydrate (5mU) at high temperatures and of adenosine hydrochloride (AC) at high pressures by Raman spectroscopy, in addition to calculating the theoretical spectra and global reactivity indices and analyzing the Hirshfeld surface. 5mU was investigated in the temperature range from 300 to 460 K by *TGA*, *DSC*, X-ray powder diffraction and Raman spectroscopy. Additionally, vibrational spectra, frontier molecular orbital energies and global reactivity indices were calculated using the *DFT* method. The calculated vibrational spectra showed a good similarity with the experimental data. Reactivity indices showed that 5mU appears to be a stable molecule. Furthermore, the results showed that this crystalline material undergoes two consecutive dehydration processes: around 380 K and at 410–420 K, with a change in structure from orthorhombic ( $P2_12_12$ ) to triclinic ( $P1$ ) and then transitioning for monoclinic ( $P2_1$ ). For AC crystals, the Raman spectrum was calculated under ambient conditions, in addition to the analysis of the Hirshfeld surface; then studied the stability of the crystal at high pressures by Raman spectroscopy from 0.1 to 8.4 GPa. Calculated spectra show considerable similarities with the experimental data. The behavior of AC at high pressures is unique, as the Raman spectra showed changes from 0.4 GPa, changing up to 5.6 GPa. From the analysis of the spectral changes, three phase transitions were identified: the first in the range of 0.4 to 0.7 GPa, the second between 1.5 and 2.4 GPa and the third in the pressure range of 3, 5 to 5.2 GPa, the first two of the conformational type and the third structural. The crystalline structure of AC appears to be flexible with each increase in pressure, as vibrational modes assigned to all portions of the molecule undergo changes during the increase of the pressure. This flexibility may be related to the diversity of biological functions of adenosine and chlorine ion. Thus, nucleosides are important biomolecules in the human body and understanding their behavior to external factors such as pressure and temperature helps us to have more information about these materials to correlate with their biological functions.

**Keywords:** 5-methyluridine hemihydrate, adenosine hydrochloride, X-ray diffraction, Raman spectroscopy, calculation via DFT, high temperatures, high pressures.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Estrutura química e dados cristalográficos dos nucleosídeos: a) uridina; b) 5-metuluridina.....	18
<b>Figura 2.</b> Estrutura química e dados cristalográficos dos nucleosídeos: a) adenosina e b) adenosina hidrocloreídrica. ....	19
<b>Figura 3.</b> Monocristal de 5mU. ....	38
<b>Figura 4.</b> (a) Refinamento Rietveld do cristal de 5mU a 298 K. (b) célula unitária da 5mU. (c) Estrutura química de 5mU com destaque no grupo uracila metilado (uracila) e no grupo açúcar (ribose).....	42
<b>Figura 5.</b> Comparação visual entre a molécula de 5mU otimizada pelo cálculo DFT e a obtida a partir de dados de DRX. ....	43
<b>Figura 6.</b> Representação da densidade eletrônica de orbitais moleculares de fronteira da 5mU.....	45
<b>Figura 7.</b> Espectros Raman experimentais e teóricos de 5mU na faixa espectral de: (a) 20 – 200 $\text{cm}^{-1}$ ; (b) 200 – 900 $\text{cm}^{-1}$ ; (c) 900 – 1850 $\text{cm}^{-1}$ ; (d) 2800 – 3600 $\text{cm}^{-1}$ . As barras verticais representam os modos calculados.....	47
<b>Figura 8.</b> Espectros no IR experimental (azul) e teórico (vermelho) para a 5mU.....	49
<b>Figura 9.</b> Análise térmica de cristais de 5mU. (a) Análise termogravimétrica e sua primeira derivada; (b) Análise DSC.....	52
<b>Figura 10.</b> (a) DRXP da 5mU na faixa de temperatura de 300 a 460 K; Ajuste Le Bail do padrão DRXP de 5mU para: (b) Sistema triclinico a 410 K; (c) Sistema monoclinico a 455 K. ....	53
<b>Figura 11.</b> Coeficientes de expansão térmica da fase ortorrômbica da 5mU.....	55
<b>Figura 12.</b> Evolução dos espectros Raman na faixa de 30 a 150 $\text{cm}^{-1}$ para cristal de 5mU: (a) espectros na faixa de 300 a 425 K. (b) número de onda versus temperatura.....	56
<b>Figura 13.</b> Evolução dos espectros Raman na faixa de 150 a 950 $\text{cm}^{-1}$ para 5mU: (a) espectros na faixa de temperatura de 300 a 425 K. (b) número de onda vs. temperatura. ....	59
<b>Figura 14.</b> (a) Espectro Raman de cristal de 5mU em altas temperaturas para a região espectral de 950 a 1750 $\text{cm}^{-1}$ e (b) número de onda vs. temperatura para 950 - 1700 $\text{cm}^{-1}$ .....	60
<b>Figura 15.</b> Monocristal de adenosina hidrocloreídrica.....	66

<b>Figura 16.</b> Refinamento de Rietveld do dado de DRXP de cristal de adenosina hidrocloreídrica (AC), com a célula unitária inserida no gráfico.....	68
<b>Figura 17.</b> Unidade assimétrica da AC: (a) obtida dos dados de DRX; (b) com a geometria otimizada pelo método DFT B3LYP/def2-TZVP. ....	70
<b>Figura 18.</b> Espectro Raman experimental e calculado da AC na faixa espectral de: (a) 190 a 800 $\text{cm}^{-1}$ com a região experimental de 40 a 200 $\text{cm}^{-1}$ inserida no canto superior esquerdo.....	72
<b>Figura 19. (a)</b> Superfície de Hirshfeld para a adenosina hidrocloreídrica: (a) mapeada com $d_{\text{norm}}$ . Interações inter e intramoleculares da unidade assimétrica com moléculas vizinhas são destacadas com linhas tracejadas em ciano. <b>(b)</b> mapeado com $d_e$ para as vistas frontal (esquerda) e posterior (direita). ....	76
<b>Figura 20.</b> Gráficos de impressão digital 2D resolvidos para a molécula de AC e em $\text{H}\cdots\text{H}$ , $\text{N}\cdots\text{H}/\text{H}\cdots\text{N}$ , $\text{O}\cdots\text{H}/\text{H}\cdots\text{O}$ , $\text{Cl}\cdots\text{H}/\text{H}\cdots\text{Cl}$ e $\text{C}\cdots\text{H}/\text{H}\cdots\text{C}$ contatos exibindo as porcentagens de contatos que contribuem para a área total da superfície de Hirshfeld. ....	78
<b>Figura 21.</b> Evolução dos espectros Raman na faixa de 50 a 300 $\text{cm}^{-1}$ sob altas pressões, no intervalo da pressão de 0,1 até 8,4 GPa para a AC.....	80
<b>Figura 22.</b> Gráfico $d\omega/dP$ da AC na faixa de pressão de 0,1 a 8,4 GPa da faixa espectral de: (a) 55 a 132,5 $\text{cm}^{-1}$ ; (b) 120 a 250 $\text{cm}^{-1}$ . ....	80
<b>Figura 23.</b> Espectros Raman da AC no intervalo de pressão .....	85
<b>Figura 24.</b> Gráfico de número de onda versus pressão da AC na faixa de pressão de 0,1 a 8,4 GPa nas faixas espectrais de: (a) 300 a 725 $\text{cm}^{-1}$ ; (b) 720 a 940 $\text{cm}^{-1}$ ; (c) 960 a 1240 $\text{cm}^{-1}$ . ....	86
<b>Figura 25.</b> Análise Raman da AC na faixa de pressão de 0,1 a 8,4 GPa na região espectral de 1390 – 1700 $\text{cm}^{-1}$ . ....	88
<b>Figura 26.</b> Espectros Raman do cristal de adenosina hidrocloreídrica na faixa de 3100 a 3450 $\text{cm}^{-1}$ na faixa de pressão de 0,1 a 3,7 GPa: (a) compressão, (b) descompressão... ..	89

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Os parâmetros geométricos de 5mU: comprimentos de ligação (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos diedros a partir de dados experimentais de difração de raios X (DRX) [13] e dados computados com DFT-B3LYP/def2-TZVP (Calc.). .....	44
<b>Tabela 2.</b> Descrição comparativa entre a reatividade global de 5mU calculada pelo método B3LYP/def2-TZVP e outros compostos da literatura. ....	46
<b>Tabela 3.</b> Número de onda calculado ( $\omega_{\text{Calc}}$ ), Raman ( $\omega_{\text{Raman}}$ ) e infravermelho ( $\omega_{\text{IR}}$ ) experimental com suas respectivas atribuições de modos de vibração para o composto 5mU. ....	49
<b>Tabela 4.</b> Número de onda experimentais Raman ( $\omega_{\text{exp}}$ ) associados a coeficientes de temperatura obtidos a partir do ajuste linear $\omega = \omega_0 + \alpha T$ para a 5mU. ....	57
<b>Tabela 5.</b> Parâmetros geométricos de AC: comprimentos de ligação (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos diedros (°) a partir de dados experimentais de difração de raios X [19] e dados computados com DFT-B3LYP /def2-TZVP. ....	69
<b>Tabela 6.</b> Número de onda calculado ( $\omega_{\text{Calc}}$ ) e experimental ( $\omega_{\text{Raman}}$ ) dos espectros Raman da adenosina hidrocloreídrica com suas respectivas atribuições de modos de vibração, com atribuição provisória das bandas no espectro dentro da célula de pressão (DAC). ....	73
<b>Tabela 7.</b> Números de onda das bandas experimentais $\omega_{\text{Raman}}$ associadas aos valores de pressão obtidos a partir dos coeficientes lineares $\omega = \omega_0 + \alpha P$ e polinomial $\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$ para a AC. ....	82
<b>Tabela 8.</b> Relação dos nucleosídeos estudados a altas pressões por espectroscopia Raman .....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**5mU:** 5-metiluridina semihidratada.

**9-2HEMG:** 9-[(2-hidroxietoxi) metil] guanina.

**AC:** adenosina hidrocloreídrica.

**AIDS:** síndrome da imunodeficiência humana.

**ANPH:** 2-amino-3-nitropiridínio 4-hidroxibenzenossulfonato.

**ATP:** adenosina trifosfato.

**AZT:** azidotimidina.

**DAC:** do inglês *diamond anvil cell*, célula de bigorna de diamante.

**DFPTET:** 1-(1-(2,4- difluorofenil)-2-(1H-1.2.4-triazol-1-il)etilideno) tio-semicarbazida.

**DFT:** teoria do funcional da densidade, em inglês *density functional theory*.

**DNA:** ácido desoxirribonucleico.

**DRX:** difração de raios X

**DRXP:** difração de raios X do pó.

**DSC:** do inglês *differential scanning calorimetry*, significa calorimetria exploratória diferencial.

**dTG ou DTG:** derivada da análise termogravimétrica.

**EA:** afinidade eletrônica, do inglês *electronic affinity*.

**eV:** elétron-volt.

**FMO:** orbital de fronteira molecular, do inglês *frontier molecular orbitals*.

**FTIR:** do inglês *Fourier-transform infrared*, significa infravermelho com transformada de Fourier.

**GPa:** giga Pascal.

**GRI:** do inglês *global reactivity indices*, que significa índices de reatividade global.

**HB:** do inglês hydrogen bond, se trata das ligações de hidrogênio.

**HOMO:** orbital molecular mais alto ocupado, do inglês *highest occupied molecular orbital*.

**HPLC:** cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *high performance liquid chromatography*.

**IP:** potencial de ionização, do inglês *ionization potential*.

**IR:** espectroscopia no infravermelho, do inglês *infrared*.

**LDRX:** Laboratório de Difração de Raios X.

**LH:** ligações de hidrogênio.

**LUMO:** orbital molecular mais baixo desocupado, do inglês *lowest unoccupied molecular orbital*.

**RNA:** ácido ribonucleico.

**TGA ou TG:** do inglês *thermogravimetric analysis*, significa análise termogravimétrica.

**VMARD:** do inglês *vibrational mode automatic relevance determination*, que significa determinação automática de relevância do modo vibracional.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	17
CAPÍTULO 1 – O EFEITO DA VARIAÇÃO DE TEMPERATURA E PRESSÃO EM CRISTAIS DE NUCLEOSÍDEOS .....	24
1.1 O EFEITO DE ALTAS TEMPERATURAS EM CRISTAIS DE ORGÂNICOS	24
1.1.1 O comportamento dos cristais de nucleosídeos a altas temperaturas .....	26
1.2 O EFEITO DE ALTAS PRESSÕES E DE BAIXAS TEMPERATURAS EM MATERIAIS ORGÂNICOS .....	28
1.2.1 O efeito de baixas temperaturas em cristais de nucleosídeos .....	31
1.2.2 O efeito de altas pressões em cristais de nucleosídeos .....	32
CAPÍTULO 2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS CALCULADAS USANDO O MÉTODO DFT E ALTERAÇÕES NO CRISTAL DE 5-METILURIDINA SEMI HIDRATADA EM ALTAS TEMPERATURAS .....	36
RESUMO .....	36
2.1 INTRODUÇÃO .....	37
2.2 MÉTODOS .....	38
2.2.1 SÍNTESE DE MONOCRISTAIS DE 5mU .....	38
2.2.2 CARACTERIZAÇÃO .....	39
2.2.3 ESTUDOS COMPUTACIONAIS .....	39
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	41
2.3.1 REFINAMENTO RIETVELD À TEMPERATURA AMBIENTE .....	41
2.3.2 CÁLCULOS DE QUÍMICA QUÂNTICA .....	43
2.3.2.1 Análise teórica da estrutura otimizada de 5mU .....	43
2.3.2.2 Orbitais moleculares de fronteira e índices de reatividade globais .....	44
2.3.2.3 Estudo vibracional por espectroscopia Raman e IR .....	46
2.3.4 ANÁLISE TÉRMICA .....	51
2.3.5 ESTUDOS DRXP EM ALTAS TEMPERATURAS .....	53
2.3.6 ESTUDOS RAMAN EM ALTAS TEMPERATURAS .....	55

2.4 CONCLUSÃO.....	61
CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E VIBRACIONAL DA ADENOSINA HIDROCLORÍDRICA POR DFT, SUPERFÍCIE HIRSHFELD E A ALTAS PRESSÕES POR ESPECTROSCOPIA RAMAN .....	63
RESUMO .....	63
3.1 INTRODUÇÃO.....	63
3.2 METODOLOGIA.....	65
3.2.1 CRESCIMENTO DE CRISTAIS.....	65
3.2.2 ESTUDOS COMPUTACIONAIS .....	66
3.2.3 ESTUDOS DA SUPERFÍCIE DE HIRSHFELD.....	66
3.2.2 CARACTERIZAÇÕES .....	67
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	68
3.3.1 DRXP EM TEMPERATURA E PRESSÃO AMBIENTE .....	68
3.3.2 ESTUDOS EM QUÍMICA COMPUTACIONAL .....	69
3.3.2.1 Análise da estrutura otimizada da AC .....	69
3.3.2.2 Análise vibracional Raman.....	70
3.3.3 ANÁLISE DE SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD .....	76
3.3.3 ANÁLISE DOS ESPECTROS RAMAN A ALTAS PRESSÕES.....	78
3.4 CONCLUSÃO.....	91
CONCLUSÃO GERAL .....	92
REFERÊNCIAS .....	94
APÊNDICE A – Resultados adicionais da adenosina hidrocloreídrica.....	111
APÊNDICE B – Referencial teórico.....	113
ANEXO A – Artigos publicados.....	200
ANEXO B – Patente depositada.....	202



## INTRODUÇÃO GERAL

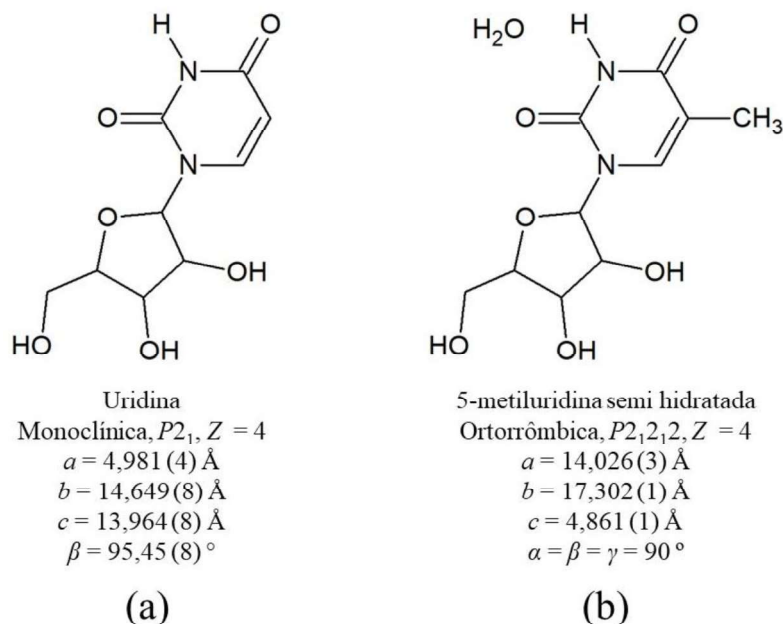
A cristalografia é a base de desenvolvimento de praticamente todos os novos materiais e compreende os produtos de uso diário. Essa ciência, além de estudar a estrutura dos materiais, também se utiliza dos conhecimentos já estabelecidos para indicar modificações estruturais e lhe conferir novas propriedades ou fazê-la se comportar de forma diferente. O estudo das estruturas cristalinas tem importante aplicação nas indústrias agroalimentar, aeronáutica, automobilística, estética, de informática, eletroeletrônica, mineração e farmacêutica [1].

No estudo de materiais biológicos, há o destaque das pesquisas realizadas por Dorothy Hodgkin em seu trabalho sobre vitamina B12 e penicilina. O resultado sobre a estrutura do *DNA* desenvolvido por Rosalind Franklin, James Watson, Francis Crick e Maurice Wilkins. A determinação da estrutura do complexo molecular que compõem os ribossomos por Ramakrishnan, Steitz e Yonah [2].

Assim, a cristalografia e as ciências dos materiais estão intrinsecamente ligadas ao desenvolvimento científico, tendo a área que envolve biomoléculas como estudo dessa ciência. Há diversos trabalhos que caracterizam aminoácidos, aminoácidos complexados com ácidos e dopados com metais [3], além de estudos de ácidos nucleicos, como os cristais de nucleotídeos e nucleosídeos [4–10].

O nucleosídeo é uma molécula formada pelas bases nitrogenadas e uma pentose. Dentre os nucleosídeos, temos a adenosina e a desoxiadenosina, guanosina e a desoxiguanosina, a citidina e a desoxicitidina, a timidina e a uridina [11]. Os nucleosídeos uridina e adenosina com modificações nas suas estruturas moleculares e cristalinas, como a adição de um grupo metil ou a adição de um átomo de cloro, são o objeto de estudo dessa tese.

A uridina é o nucleosídeo formado pela ligação entre a uracila e uma pentose (Figura 1a). Também conhecida como ribotimidina. Os cristais de uridina pertencem ao grupo espacial  $P2_1$ , sistema monoclinico, com  $Z = 4$  [12]. A metilação da uridina gera a 5-metiluridina semi hidratada (Figura 1b), com cristais pertencentes ao sistema ortorrômbico e grupo espacial  $P2_12_12$  e  $Z = 4$  [13]. A 5-metiluridina é utilizada como precursora da timidina, um composto intermediário importante para a síntese da droga *AZT* (combate a *AIDS*) [14,15], além de ser um composto intermediário para a síntese de oligonucleotídeos anti-sentido que podem ser utilizados como antivirais, anticâncer, antibacteriano, anti-inflamatório [16,17].

**Figura 1.** Estrutura química e dados cristalográficos dos nucleosídeos: a) uridina; b) 5-metiluridina.

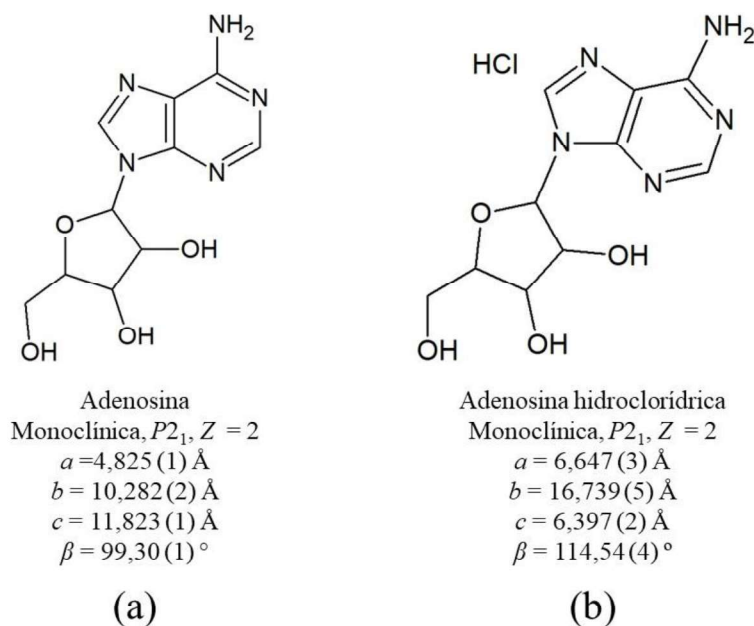
**Fonte:** imagens produzidas pelo próprio autor (2020); informações da uridina [12] e da 5mU [13].

A ligação química entre a adenina e uma pentose resulta na formação do nucleosídeo adenosina (Figura 2a). Este nucleosídeo cristaliza no sistema monoclínico com grupo espacial  $P2_1$ , em que a célula unitária contém duas moléculas ( $Z = 2$ ) [18]. Em meio reacional com ácido clorídrico, são gerados cristais de adenosina hidrocloreídrica (Figura 2b); a adição do ácido clorídrico na estrutura mantém o sistema cristalino, grupo espacial e quantidade de moléculas por célula unitária da adenosina [19].

A adenosina age como molécula de sinalização extracelular, induzindo vasodilatação na maioria dos leitos vasculares, regulando a atividade no sistema nervoso simpático, tendo propriedades antitrombóticas e reduzindo a pressão sanguínea e a frequência cardíaca. Tais propriedades são algumas das razões pelas quais a adenosina e seus derivados têm efeitos terapêuticos na maioria dos sistemas orgânicos [20,21].

Os estudos sobre a natureza química de nucleosídeos, a capacidade de formar ligações de hidrogênio e interagir com outras moléculas são cruciais para entender os processos bioquímicos e projetar novos medicamentos, além de fornecer informações relevantes sobre a estrutura e propriedades do *RNA* e do *DNA* [22].

**Figura 2.** Estrutura química e dados cristalográficos dos nucleosídeos:  
a) adenosina e b) adenosina hidrocloreídrica.



**Fonte:** imagens produzidas pelo próprio autor (2020); informações da adenosina [23] e da adenosina hidrocloreídrica [19].

Assim, os nucleosídeos têm despertado o interesse dos pesquisadores referentes às suas propriedades estruturais, térmicas e vibracionais. O estudo destas propriedades se torna bastante relevante quando tais compostos são submetidos a condições de altas temperatura e/ou pressão, onde a estabilidade dessas moléculas é investigada, e ao mesmo tempo pode verificar a formação de possíveis polimorfos. Como essas moléculas possuem importância biológica, alterações moleculares podem também alterar as propriedades biológicas desses materiais. Além disso, as conformações de moléculas biológicas obtidas por compressão, por exemplo, podem dar ideia da versatilidade alcançada por elas no ambiente biológico.

Podemos destacar os estudos realizados na adenosina [7], desoxiadenosina [24], uridina [8], timidina [25], citidina [5] e desoxicitidina [26]. Esses materiais não sofreram alterações nas suas estruturas a baixas temperaturas [6,7,10,24–26] e altas temperaturas [25]. No estudo a altas pressões usando a espectroscopia Raman, a adenosina [7], a citidina [5], a uridina [8] e a timidina [25] sofreram transições de fases. No entanto, ainda não foram relatadas pesquisas avaliando a estabilidade em função da temperatura e da pressão de nucleosídeos metilados e com cloro na estrutura cristalina.

A organização deste trabalho de tese foi pensada numa maneira prática e objetiva em relação à pesquisa e a sua divulgação. Assim, temos a Introdução geral do trabalho, seguida do capítulo 1 que discorre sobre o comportamento dos materiais cristalinos orgânicos quando

submetidos a variações de pressão e temperatura. Seguido do capítulo 2 que relata o comportamento da 5-metiluridina a altas temperaturas e o capítulo 3 que apresenta o estudo da adenosina hidrocloreídrica a altas pressões.

Para estudar as biomoléculas 5mU e AC, utilizamos as técnicas de difração de raios X do pó (DRXP), útil para confirmar as informações sobre a estrutura cristalina do material, além de acompanhar o efeito da elevação da temperatura na rede cristalina. A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada para acompanhar as possíveis perdas de massa com a elevação da temperatura e a calorimetria exploratório diferencial (DSC, do inglês *differential scanning calorimetry*) para verificar os eventos térmicos apresentados pelo material ao ser aquecido.

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier-transform infrared*) foi realizada para estudar os modos vibracionais das biomoléculas, assim como a espectroscopia Raman. Para tanto, a espectroscopia Raman também foi realizada com o intuito de acompanhar o comportamento dos materiais estudados a altas temperaturas e altas pressões. Além de caracterizações experimentais, foram realizados cálculos *ab initio* utilizando o método *DFT* para extrair e comparar informações, como os espectros vibracionais, os orbitais de fronteira molecular e os índices de reatividade global.

A difração de raios X do pó é uma técnica analítica não destrutiva usada principalmente para identificação de fase de um material cristalino e pode fornecer informações sobre as dimensões da célula unitária. O material analisado é moído, homogeneizado e analisado para obter sua caracterização estrutural. A aplicação dessa técnica é ampla, como: caracterização de materiais cristalinos e amorfos, determinação da estrutura de cristais e das dimensões de célula unitária, determinação quantitativa de mistura de fases, determinação do tamanho de cristalito e microdeformação, grau de cristalinidade e a identificação de transição de fase e polimorfismo [27–29].

No espalhamento Raman, a luz interage com a molécula e distorce (polariza) a nuvem de elétrons ao redor dos núcleos para formar um estado de curta duração chamado “estado virtual”. Este estado não é estável e o fóton é rapidamente reemitido com frequência diferente. Assim, para resultar em efeito Raman, é necessário que haja uma mudança na polarizabilidade ( $\alpha$ ) da molécula, que é a capacidade de distorcer a nuvem eletrônica da molécula atingida pelos fótons [30,31].

Na absorção ou emissão no infravermelho há uma transição direta entre dois níveis de energia vibracional, mais frequentemente entre o estado vibracional fundamental ( $\nu = 0$ ) e o primeiro estado excitado ( $\nu = 1$ ). Essas transições são processos simples de um fóton – um fóton é absorvido ou emitido durante a transição. Nesse processo, o fóton ao ser absorvido pela

molécula precisa causar uma alteração no seu momento de dipolo durante a vibração molecular,  $\mu$  [32].

A análise termogravimétrica (*TGA*) é uma técnica experimental na qual a massa de uma amostra é medida em função da temperatura ou do tempo. A amostra é normalmente aquecida a uma taxa de aquecimento constante (chamada de medição dinâmica) ou mantida a uma temperatura constante (medição isotérmica). Além disso, a atmosfera utilizada no experimento *TGA* desempenha um papel importante e pode ser reativa, oxidante ou inerte [33,34].

As mudanças de massa ocorrem quando a amostra perde material de várias maneiras diferentes ou reage com a atmosfera circundante. Isso produz etapas na curva *TGA* ou picos na curva *DTG*. Diferentes efeitos podem fazer com que uma amostra perca, ou até ganhe, massa e, assim, produza etapas na curva *TGA*. Estes eventos térmicos podem estar relacionados a: perda de água de cristalização, processos de dessolvatação e desidratação, oxidação da amostra durante a análise e decomposição térmica em atmosfera inerte com formação de produtos gasosos (com compostos orgânicos, este processo é conhecido como pirólise ou carbonização). [33–35].

A calorimetria exploratória diferencial investiga várias transições térmicas associadas a um material quando ele é aquecido ou resfriado de maneira controlada. Essa técnica é utilizada para analisar a capacidade calorífica e calorimetria, mudanças de fase e reações químicas. A transição térmica pode ser devido a uma transformação física ou uma reação química [34–37].

As transformações físicas que podem ser analisadas são: fusão, mudanças de fase cristalina (cristalização e conversão de polimorfos), mudanças nos estados líquido e líquido cristalino e em polímeros, diagramas de fase, capacidade de calor e transições vítreas, condutividade térmica, difusividade e emissividade. E reações químicas como desidratação, dessolvatação, decomposição, cura de polímeros, formação de vidro e ataque oxidativo. Esses eventos causam mudanças de entalpia e são detectadas como um evento de calor absorvido (endotérmico) ou calor liberado (exotérmico) no *DSC* [34–37].

Por fim, utilizamos nos estudos teóricos uma poderosa ferramenta: o DFT. A teoria do funcional da densidade (*DFT*, do inglês *density functional theory*) tem como objetivo prever propriedades moleculares quantitativamente ou qualitativamente e explicar a natureza da ligação e interação química. Essa teoria emerge como uma alternativa aos tradicionais métodos *ab initio* (do grego “desde o princípio”) e semiempíricos no estudo de propriedades de sistemas moleculares. A grande vantagem desse método consiste no ganho de espaço computacional e espaço de memória [38]. O marco inicial dessa teoria é considerado, por muitos autores, as publicações dos teoremas de Hohenberg e Kohn em 1964 (*Inhomogeneous Electron Gas*) [39]

e pelas equações de Kohn-Sham em 1965 (*Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects*) [40].

O *DFT* é uma das muitas maneiras de lidar com o problema quântico de muitos corpos. É um quadro teórico rigoroso para o qual existem aproximações eficientes e o tornam adequado para cálculos em grande escala. A aplicabilidade do funcional de densidade vai da biologia à química molecular, da física nuclear aos materiais estelares e à astrofísica. O *DFT* é uma maneira de resolver um problema de muitos corpos (*many body problem*), e quando se tem um sistema de muitas partículas e interação entre elas, há uma complexidade implícita no entendimento desse sistema [38,41–48].

O capítulo 2 discorre sobre o efeito de altas temperaturas no processo de desidratação da 5mU semihidratada, processo de aquecimento esse estudado por *TGA/DSC*, difração de raios X do pó e espectroscopia Raman. Além disso, foi realizado um estudo teórico comparando os resultados calculados aos experimentais, como: da otimização da geometria, modos vibracionais no Infravermelho e Raman; além do cálculo das energias dos orbitais de fronteira molecular e os índices de reatividade.

No capítulo 3, foi apresentado o efeito de altas pressões em cristais de adenosina hidrocloreídrica. Ademais, foi realizado o estudo teórico da otimização da estrutura e os espectros vibracionais Raman, comparando os espectros calculados e experimentais para serem utilizados no estudo do comportamento do material, além de analisar gráficos da superfície de Hirshfeld.

O trabalho de tese é finalizado com uma conclusão geral e perspectivas do trabalho, as referências de todo o trabalho, os apêndices apresentando os resultados extra da adenosina hidrocloreídrica e um referencial teórico sobre os métodos e técnicas empregadas no desenvolvimento do trabalho, além de três anexos destacando as publicações realizadas até o momento da defesa da tese.

Assim, como relatado anteriormente, este trabalho visa investigar a estabilidade de cristais de 5-metiluridina semi hidratada a altas temperaturas e a adenosina hidrocloreídrica submetida a altas pressões, além de realizar estudos teóricos para atribuições de modos vibracionais, propriedades energéticas e análise da superfície de Hirshfeld.

**CAPÍTULO 1 – O EFEITO DA VARIAÇÃO DE  
TEMPERATURA E PRESSÃO EM CRISTAIS DE  
NUCLEOSÍDEOS**

## CAPÍTULO 1 – O EFEITO DA VARIAÇÃO DE TEMPERATURA E PRESSÃO EM CRISTAIS DE NUCLEOSÍDEOS

As estruturas cristalinas podem mudar em função de parâmetros termodinâmicos como temperatura e pressão, ou devido uma substituição química. A variação de um parâmetro termodinâmico pode ser utilizada para promover tensões na rede cristalina, fazendo com que a estrutura se reorganize para que alcance novamente uma estabilidade [49]. Nesta seção, explanaremos sobre o efeito da pressão e temperatura no comportamento de cristais orgânicos, para dá embasamento para discutir as possíveis alterações que possam acontecer ao estudar cristais de nucleosídeos.

As mudanças na estrutura cristalina podem acontecer devido a saída de partes do composto molecular estudado, como em um processo de desidratação [50,51], denominado como um processo de transformação de fase, pois houve uma mudança na composição do material analisado; ou por alterações nas posições espaciais que os átomos ocupam para alcançarem uma melhor organização espacial, denominada transição de fase [29,52].

A importância de entender a estabilidade de moléculas orgânicas sob a variação de temperatura e pressão está relacionado a aplicações biológicas [53]; geológicas, farmacológica [54], e para entender as propriedades físico-química dos materiais [55].

### 1.1 O EFEITO DE ALTAS TEMPERATURAS EM CRISTAIS DE ORGÂNICOS

A matéria tende a aumentar seu volume ou se expandir ao ser aquecida a pressão constante. Os sólidos tendem a sofrer deformações ao serem aquecidos, sendo possível expandir em algumas direções e contrair em outras, sendo o fenômeno de expansão térmica a denominação que engloba todas as mudanças de dimensões sob o efeito da temperatura [56].

Para cristais ortorrômbicos, espera-se que os três eixos cristalinos tenham coeficientes de expansão linear independentes. Para os cristais monoclinicos, além da variação ao longo dos eixos cristalinos, há a variação também no ângulo  $\beta$ . Nos cristais triclinicos, há alterações tanto nos três ângulos entre os eixos —  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , como nos próprios eixos cristalinos [56].

Geralmente, o efeito de altas temperaturas nos espectros Raman podem ser notadas através de alterações como: (i) perda de intensidade, (ii) alargamento das bandas, (iii)



deslocamento das bandas para menores números de onda, denominado *red shift*, devido ao enfraquecimento e o aumento das distâncias entre as ligações e interações químicas [51,57,58].

Levando em consideração a (1, que calcula o número de onda em  $\text{cm}^{-1}$  de uma vibração que acontece entre dois átomos de massa  $m_1$  e  $m_2$ , e sua respectiva constante de força  $k$  da ligação (modelo do movimento harmônico simples), podemos entender que a constante de força  $k$  é diretamente proporcional ao número de onda da vibração, assim, com o enfraquecimento da ligação e conseqüente diminuição no valor de  $k$ , o número de onda tende a diminuir [59,60].

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{200\pi c} \sqrt{\frac{k}{\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}}} \quad (1)$$

A facilidade de se chegar a um bom sinal de espalhamento Raman em alta temperatura é um requisito essencial para muitas áreas de estudo. A detecção de modificações e reações estruturais no estado sólido, dinâmicas moleculares, equilíbrios conformacionais e identificação de espécies e características estruturais em materiais fundidos estão entre os muitos exemplos de estudos Raman em altas temperaturas [61].

Outra técnica importante para estudar as possíveis alterações de cristais a alta temperatura é a difração de raios X. No estudo de difratogramas, as características apresentadas ao aquecer os materiais cristalinos orgânicos ou semiorgânicos são: os picos dos difratogramas tendem a se deslocar para menores ângulos, pois tende a aumentar a distância interplanar, que é inversamente proporcional ao seno do ângulo de difração, de acordo com a Lei de Bragg ((2) [29], geralmente, aumentando os parâmetros de rede da célula unitária; e, na maioria dos casos, a perda de intensidade dos picos de difração [50,62–64].

$$\text{sen } \theta_{hkl} = \frac{\lambda}{2d_{hkl}} \quad (2)$$

Usando essa técnica, é possível analisar fases cristalinas, expansão térmica (parâmetros de rede), estresse residual causado pelo aquecimento do material, grau de

cristalinidade do material, alteração no tamanho de cristalito, análise de textura e acompanhamento de reações químicas [65,66].

As análises de cristais orgânicos e inorgânicos em altas temperaturas são úteis para avaliar a estabilidade dos materiais cristalinos, assim como para analisar as modificações estruturais e vibracionais, sendo possível, em muitos casos, relatar as porções, ligações e interações moleculares que mais são afetadas pela elevação da temperatura. Além disso, é possível estudar processos de desidratação, decomposição, transformações de fase e transições de fase.

### 1.1.1 O comportamento dos cristais de nucleosídeos a altas temperaturas

Um estudo da estabilidade térmica da adenosina, da guanosina e compostos análogos foi realizado desde a temperatura ambiente até 800 °C, utilizando as técnicas de *TGA*, *DSC* e acompanhando o processo de degradação com *IR* e cromatografia líquida de alta eficiência (*HPLC*). Os autores identificaram que a principal rota de decomposição envolve a ruptura da ligação glicosídica, e o resíduo do primeiro estágio de decomposição tem, principalmente, a purina se decompondo em pequenas moléculas, como o grupo amino [67].

A adenosina apresentou um pico endotérmico em 235 °C, relacionado à fusão do material; a curva *DTG* indica um evento de perda de massa em torno de 284 °C, relacionado à decomposição do material após passar pelo processo de fusão. Esse processo de decomposição ocorre após o início da decomposição da adenina (base purina que compõe a adenosina), que ocorre em 255 °C. Isso indica que o anel purina da adenosina começa a se decompor durante o evento de perda de massa da adenosina em torno de 284 °C. A análise de *IR* feito com resíduos de adenosina a 260 °C (3 % de perda de peso) é nitidamente diferente do espectro da adenina; enquanto a análise de *IR* do resíduo de adenosina a 275 °C mostram que a estrutura molecular foi destruída. Os ensaios de *HPLC* dos resíduos de adenosina a 285 °C (25 % de perda de peso) mostram a presença de adenina [67].

A guanosina hidratada sofre um evento endotérmico relacionado a saída da molécula de água, por volta de 81 °C (75 °C no *DTG*), seguido por dois eventos endotérmicos, com picos *DTG* em 251 e 461 °C. O pico endotérmico em torno de 251 °C indica a fusão do material, que ocorre com simultânea perda de 18,5% em massa. A guanina, base purina que forma a guanosina, possui seu pico endotérmico em 516 °C

(pico *DTG* em 512 °C), sugerindo que os processos de perda de massa em 251 e 461 °C da guanosina são processos de decomposição síncrona, ou seja, outras porções da molécula de guanosina sofrem decomposição. A análise de *IR* de resíduos de guanosina obtidos a 275 °C, possui similaridade com o *IR* da guanina a temperatura ambiente, apontando também que há outros resíduos além de guanina na decomposição da guanosina. A análise de *HPLC* dos resíduos a 275 °C de guanosina apresenta uma presença majoritária de guanina. [67].

O processo de ganho e perda de água no cristal de guanosina dihidratada foi estudado por *DRX*, ressonância magnética nuclear, termogravimetria (*TGA*) e calorimetria exploratória diferencial (*DSC*) [68–70]. A guanosina dihidratada cristaliza em água como solvente no sistema monoclinico, grupo espacial  $P2_1$ , com duas moléculas de guanosina e 4 moléculas de água por célula unitária [71]. No estudo de Sagawara et al. (1994), foi observado que ao ser colocada em um ambiente com zero por cento de umidade relativa (0% UR), o composto assumia a forma anidra. Se a umidade relativa do meio contendo a guanosina anidra fosse elevada no intervalo de 10 – 20 % de umidade relativa, a guanosina assumia a forma M, que contem 1,2 – 1,3 mols de água por mol de guanosina [68].

O estudo estrutural e térmico da guanosina dihidratada a altas temperaturas mostrou que o composto perde as moléculas de água em duas etapas durante o aquecimento: o primeiro evento de perda de água foi identificado no *DSC* em torno de 29 °C e na *DRX* por volta de 45 °C. Houve essa diferença de temperatura mesmo a taxa de aquecimento da análise térmica sendo de 2 K/mim. O segundo evento térmico apresentado pelo *DSC* foi em 54 °C, bem próximo do valor identificado para o mesmo evento na *DRXP*, que foi de 55°C [70].

A timidina cristaliza-se no sistema ortorrômbico, grupo espacial  $P2_12_12_1$ , e foi estudada a altas temperaturas por espectroscopia Raman (300 até 380 K) e difração de raios X (*DRX*) (313 até 433 K). Em ambas as técnicas estudadas, não foi visualizada evidências de uma possível transição de fase. Na análise de *DRX* a altas temperaturas da timidina, os difratogramas mantém o mesmo padrão do início ao fim da análise [25].

Em relação aos espectros Raman da timidina, com a elevação da temperatura, a maioria das bandas dos espectros apresentaram perda de intensidade, aumento da largura a meia altura e *red shift*, com exceção das bandas no intervalo espectral de 3000 a 3200  $\text{cm}^{-1}$ , onde as bandas sofrem *blue shift*. Acima de 380 K, a amostra começa a degradar e

impossibilita a continuação da análise. Nesse trabalho, o pesquisador utilizou um laser de argônio ( $\lambda = 514,5 \text{ nm}$ ) e potência de saída na faixa de 50 a 70 mW [25]

## 1.2 O EFEITO DE ALTAS PRESSÕES E DE BAIXAS TEMPERATURAS EM MATERIAIS ORGÂNICOS

O estudo de moléculas orgânicas pequenas (como aminoácidos e ácidos nucleicos) a altas pressões têm sido realizado aplicando pressão em sólidos imersos em um líquido hidrostático para analisar possíveis alterações na conformação intramolecular, rotação de moléculas, distorções nas interações intramoleculares, transições de fase, transformações químicas e cristalização de líquidos [72].

Através da aplicação de altas pressões a líquidos e sólidos pode-se produzir mudanças estruturais, mudanças na reação e equilíbrios conformacionais e modificações no comportamento dinâmico molecular [61].

O efeito da pressão em materiais apresenta uma ampliação dos estudos das propriedades de compostos, devido ser possível explorar propriedades termodinâmicas na análise de estruturas cristalinas, como na construção de diagrama de fases, a ocorrência de polimorfismos, de transições de fases, relações de estrutura-propriedade e um entendimento da matéria em escala atômica/molecular, assim como o desencadeamento de reações químicas [73].

Os estudos a altas pressões e baixas temperaturas são importantes para entender a natureza das interações intra- e intermoleculares em sólidos, auxiliando no estudo de polimorfos de cristais orgânicos moleculares, bem como no entendimento dos fenômenos de transição de fase e eletrônica molecular.

Em relação ao estudo de cristais a baixas temperaturas, existem várias razões para a redução da temperatura em investigações estruturais, principalmente como procedimento rotineiro para reduzir as vibrações térmicas atômicas e obter dados estruturais mais precisos, ou para investigar transições de fase e fases de baixa temperatura, ou para cristalizar e analisar substâncias que são líquidas, gasosas ou instáveis em condições normais [73].

A elevação da pressão, bem como a diminuição da temperatura tendem a causar o encurtamento das ligações covalentes. Com o comprimento de ligação diminuindo, aumenta a constante de força efetiva das ligações, uma vez que a sobreposição eletrônica dentro da ligação é aumentada. A ligação mais forte fornece uma força restauradora maior

para os átomos que participam da vibração, aumentando o número de onda do modo ((1) [74]. Além disso, a polarizabilidade diminui com a compressão e, conseqüentemente, a intensidade das bandas Raman tendem a diminuir [75].

Em relação aos modos vibracionais associados às ligações de hidrogênio, os modos internos a altas frequências, podem apresentar um efeito incomum em função da pressão desde que a ligação de hidrogênio seja considerada forte: à medida que os átomos se aproximam, a carga é transferida da ligação molecular para a ligação de hidrogênio. Isso enfraquece a ligação molecular e, como resultado, os números de onda dos modos de estiramento que envolvem o hidrogênio diminuem. Descontinuidades ou mudanças na inclinação também podem ser observadas em gráficos de números de onda do modo vibracional em função da pressão [5].

Evidências das contribuições das ligações de hidrogênio podem ser observadas em experimentos de espectroscopia vibracional dependente da temperatura. A frequência de estiramento intramolecular dos átomos de hidrogênio envolvidos na ligação de hidrogênio diminui à medida que a temperatura diminui. Por causa dos efeitos anarmônicos, a rede se contrai à medida que a temperatura diminui. As menores separações dos três átomos envolvidos na ligação de hidrogênio significam que a própria ligação de hidrogênio é reforçada pela transferência de parte da função de onda eletrônica da ligação intramolecular para a ligação de hidrogênio. Este enfraquecimento da ligação intramolecular diminui o número de onda do modo de estiramento do hidrogênio. Em contraste, os modos externos, especialmente aqueles que envolvem diretamente as ligações de hidrogênio, devem apresentar aumentos no número de onda à medida que a temperatura diminui [26].

A aplicação de pressão a um cristal molecular causa compressão significativa das ligações intermoleculares fracas e compressão muito menor das ligações intramoleculares fortes. A alta pressão também pode induzir transições de fase estruturais. Tais transições de fase podem ser observadas diretamente por experimentos de difração de raios X. Essas transições também podem ser investigadas por espectroscopias Raman e no infravermelho (*IR*), uma vez que as mudanças subjacentes na simetria podem alterar os modos normais dos sistemas [74].

Nos estudos a altas pressões por DRX dos aminoácidos  $\alpha$ -glicina e  $\gamma$ -glicina [76], L-cisteína [77], L-serina [78] e DL-serina [79], a análise mostrou que o cristal se deforma anisotropicamente, ou seja, em certas direções a estrutura é menos rígida. Por exemplo, no estudo de cristais de aminoácidos que cristalizam como *zwitterions*, a direção que

compreende as interações de moléculas zwitteriônicas em sequência são mais rígidas que a direção das interações intermoleculares entre camadas. Além disso, as análises dos dados com a diminuição da temperatura ou elevação da pressão apresentam a redução dos parâmetros de rede, que pode ser explicada pela (2 [52,72,80,81]).

À medida que a temperatura diminui (ou à medida que se aplica pressão), espera-se que o comprimento das ligações intermoleculares fracas diminua mais do que o das ligações intramoleculares fortes. Espera-se que essa maior diminuição no comprimento das ligações intermoleculares aumente suas constantes de força efetivas mais do que as ligações intramoleculares. Uma vez que o número de onda vibracional é proporcional à raiz quadrada da constante de força efetiva da ligação associada, a mudança relativa na constante de força efetiva pode ser estimada a partir da mudança relativa do número de onda vibracional [6].

Os estudos indicam que o aumento da pressão e a redução da temperatura em uma estrutura cristalina orgânica, geralmente, diminui os parâmetros de rede da célula unitária, fazendo com que os átomos alterem sua posição espacial, para alcançar uma estrutura de menor energia (estrutura mais estável) e, assim, podem sofrer transições de fases, formando polimorfos (compostos com a mesma composição e diferente arranjo espacial). A magnitude do efeito da pressão é maior comparado ao efeito da variação abaixo da temperatura ambiente.

Para ilustrar essas tendências, vamos examinar três modos da molécula de adenosina (os números de onda listados aqui são para temperatura e pressão ambiente): um modo de rede de baixo número de onda em cerca de  $39\text{ cm}^{-1}$ , um modo interno em cerca de  $765\text{ cm}^{-1}$  e um modo de que envolve uma ligação de hidrogênio de número de onda em cerca de  $3325\text{ cm}^{-1}$ . Os números de onda desses modos mudam em cerca de +3%, +0,6% e -0,5%, respectivamente, entre 300 K a 1 atm e 20 K sob vácuo [6]. Em contraste, os números de onda desses modos mudam em cerca de +60%, +3,9% e -4,3%, respectivamente, de 0 até 10 GPa à temperatura ambiente [7].

Os números de onda da maioria dos modos vibracionais aumentam à medida que a temperatura diminui. Este efeito é devido a anarmonicidade na rede que, fazem com que as distâncias intermoleculares diminuam à medida que o cristal é resfriado. De maior interesse é a observação de que os números de onda de muitos dos modos de rede (abaixo de cerca de  $200\text{ cm}^{-1}$ ) aumentam entre 5 e 10% entre a temperatura ambiente e 10 K. Isso corresponde a um endurecimento das ligações intermoleculares associadas, incluindo ligações de hidrogênio, em  $\sim 10 - 20\%$ , se forem assumidas interações harmônicas [10].

### 1.2.1 O efeito de baixas temperaturas em cristais de nucleosídeos

A estabilidade da adenosina, que cristaliza no sistema monoclinico e grupo espacial  $P2_1$ , foi estudada variando a temperatura de 300 a 20 K por espectroscopia Raman, mantendo sua estrutura inicial e não apresentando nenhuma transição de fase nesse intervalo de temperatura estudado. As alterações observadas ao reduzir a temperatura de 300 K até 20 K foram: (a) o estreitamento das bandas; esse estreitamento permitiu observar modos a 20 K que não foram observados a 300 K; (b) aumento no número de onda (*blue shift*), devido ao encurtamento das ligações; entretanto, as bandas acima de  $2800\text{ cm}^{-1}$  sofrem uma pequena diminuição no número de onda, resultado da transferência de carga entre as ligações químicas e as interações de hidrogênio, causando um enfraquecimento da ligação X – H e um fortalecimento da interação X – H ... Y [6].

Este é o primeiro estudo completo da região de baixo número de onda do espectro vibracional da adenosina. Como dito anteriormente, esta região sonda as ligações intermoleculares fracas do sistema. Essas interações são particularmente importantes para a estabilidade e estrutura do próprio *RNA*. Tais informações são essenciais para qualquer estudo teórico da conformação do *RNA* [6].

Os cristais de deoxiadenosina monohidratada pertencem ao grupo monoclinico ( $P2_1$ ) e foram estudados no intervalo de temperatura de 300 a 10 K por espectroscopia Raman e no *IR*. Na faixa de temperatura estudada, não houve evidências experimentais de transição de fase. No estudo, não houve alterações significativas na intensidade das bandas, além de ser evidente o estreitamento das bandas com a redução da temperatura [24].

Os cristais de citidina, pertencente ao sistema ortorrômbico e grupo espacial  $P2_12_12_1$ , foi estudada na faixa de temperatura de 298 a 10 K por espectroscopia Raman e no *IR*, e não apresentou nenhuma evidência que comprovasse uma transição de fase. Como esperado, houve uma melhor definição das bandas a 10 K, como uma deformação angular da ribose observado em  $1247\text{ cm}^{-1}$  a 298 K, aparece como duas bandas em 10 K. Foi relatado também que, ao diminuir a temperatura, há um aumento no número de onda das bandas, provavelmente devido ao encurtamento das ligações intermoleculares, com o aumento em torno de 10 – 20 % da maioria dos modos de rede [10].

Um estudo foi realizado a fim de se obter os modos vibracionais por espectroscopia Raman e espectroscopia no infravermelho da desoxicititina. Foi analisado o

comportamento dos modos vibracionais na faixa de temperatura de 300 até 10 K [26], da uridina de 298 até 60 K [8]. Nenhuma evidência de transição de fase ou conformação molecular foi encontrada nesses nucleosídeos, sendo que o comportamento das bandas com a diminuição da temperatura foi similar às evidências apresentadas pela citidina estudada a baixas temperaturas.

A timidina cristaliza no sistema ortorrômbico, grupo espacial  $P2_12_12_1$ , e foi estudada baixas temperaturas por espectroscopia Raman e difração de raios X, nos intervalos de temperatura de 300 a 20 K e 303 a 83 K, respectivamente. Não houve indício de transição de fase desse material [25].

Como mencionado na seção 1.2, o efeito de baixas temperaturas em cristais orgânicos provocam pequenas alterações na estrutura cristalina. Geralmente, causando uma aproximação entre os átomos e moléculas, encurtando as distâncias intramolecular e intermolecular, e uma maior definição das bandas nos espectros vibracionais a temperaturas baixas.

### 1.2.2 O efeito de altas pressões em cristais de nucleosídeos

O comportamento da adenosina foi estudado no intervalo de pressão entre 0 e 10 GPa por espectroscopia Raman e no infravermelho. Algumas modificações nos modos vibracionais apontam para uma transição de fase em torno de 2,5 GPa. Essas alterações foram observadas nas descontinuidades na inclinação das bandas em 54, 57, 69, 102 e 107  $\text{cm}^{-1}$  em função da pressão, além da sobreposição das bandas 173 e 189  $\text{cm}^{-1}$  no intervalo de pressão supracitado. Também foi observada descontinuidades nas bandas em 722, 1180 e 1373  $\text{cm}^{-1}$  (associada à ligação glicosídica, C—N) no intervalo de pressão supracitado; a banda em 1303  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída à vibração da adenina, soma-se a banda identificada em 1272  $\text{cm}^{-1}$  na pressão de 2,5 GPa; as bandas em 1012 e 1040  $\text{cm}^{-1}$ , associadas a vibrações do anel ribose, tornam-se uma única banda no intervalo de pressão de 2,5 GPa [7].

Quimbayo et al. [82] estudaram o comportamento da desoxiadenosina monohidratada submetida a altas pressões por espectroscopia Raman (até 5,6 GPa). Este cristal sofreu uma transição de fase entre 0,6 e 0,8 GPa, percepção essa baseada na descontinuidade das frequências de modos associados a ligações de hidrogênio entre a desoxirribose e a molécula de água, alterações indicadas pelas mudanças na deformação angular COH do grupo ribose, mudanças de intensidades das bandas, surgimento e



desaparecimento de bandas nos modos de rede e a separação de bandas nos modos internos (*splitting*).

Além disso, na faixa de pressão de 2,3–2,8 GPa e em torno de 4,5 GPa, há o surgimento e desaparecimento de bandas nos modos externo e interno, que os autores indicam como pequenas modificações contínuas na conformação molecular com a elevação da pressão. As bandas relacionadas aos modos externos são fracas, isso pode justificar os pesquisadores não afirmarem transições de fases nessas duas faixas de pressão [82].

O cristal de desoxiadenosina monohidratada foi estudado também por infravermelho médio (500 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ ) de 0 até 10 GPa. Na faixa espectral estudada, é possível ter acesso a alterações relacionadas às ligações intramoleculares, ou seja, as vibrações da molécula de desoxiadenosina. Com as observações realizadas nessa faixa espectral, foram relatadas evidências de duas transições de fases: em 2,0 e em 4,5 GPa. Na primeira transição, os autores destacam as evidências: (i) aparecimento das bandas em 770 e 1240  $\text{cm}^{-1}$ ; e (ii) desaparecimento das bandas em 790, 950, 1065 e 1380  $\text{cm}^{-1}$ . Para justificar a transição de fase em torno de 4,5 GPa, as observações realizadas são: (a) desaparecimento das bandas em 780 e 1360  $\text{cm}^{-1}$ ; e (b) o surgimento de bandas em 690, 770 e 810  $\text{cm}^{-1}$ . Os pesquisadores relatam que as alterações são relativas à conformação da porção ribose da estrutura cristalina [83].

Analisando os dois trabalhos que estudaram o cristal de desoxiadenosina monohidratada a altas pressões, é mostrado pelo grupo de pesquisadores que analisaram esse material por espectroscopia Raman as alterações que comprovam uma transição de fase em torno de 0,8 GPa, por ter evidências na região espectral dos modos de rede e, que, acima de 2,3 GPa, a molécula sofre pequenas modificações conformacionais com a elevação da pressão. Assim, o que o trabalho de Lee et al. [83] denomina como transição de fase é considerado como conformações moleculares por Quimbayo et al. [82], principalmente relacionada à porção da ribose, como apresentado por ambos os trabalhos.

Os cristais de citidina ao serem estudados variando de 0 até 10 GPa, alterações nos modos vibracionais relacionados à ribose evidenciaram uma transição de fase próximo a 4,0 GPa. A maioria dos modos vibracionais sofrem um aumento quase linear com a elevação da pressão, sendo que várias bandas dos modos externos possuem um comportamento côncavo com curvatura para baixo. As alterações notórias que fazem os pesquisadores afirmarem uma transição de fase em torno de 4,0 GPa são: (1) a mudança na inclinação das bandas no espectro Raman em 85, 112, 424, 1190, 2897 e 2964  $\text{cm}^{-1}$  no

gráfico  $d\omega/dP$ ; (2) surgimento de bandas em 100, 200, 260, 700, 880, 1200 e 1220  $\text{cm}^{-1}$  nos espectros Raman; (3) desaparecimento de bandas em 1200, 2950 e 3350  $\text{cm}^{-1}$  no espectro IR. Os autores concluem que a porção da molécula composta pela ribose é a que mais sofre modificações [5].

No estudo a altas pressões da uridina, na faixa de 1,2 GPa, foi discutida uma descontinuidade evidente no gráfico  $d\omega/dP$  para a maioria das 11 bandas estudadas por espectroscopia Raman, assim como: (i) a banda associado ao estiramento do grupo C=O, que sofre um *splitting* nessa faixa de pressão; (ii) a descontinuidade da banda em 3114  $\text{cm}^{-1}$  associada ao estiramento N—H; e (iii) a descontinuidade de vibrações associadas aos estiramento C—H; essas evidências fazem o autor concluir que a transição de fase pode estar associada às interações de hidrogênio entre as duas moléculas de uridina da célula unitária [8].

O estudo da timidina a altas pressões por espectroscopia Raman, no intervalo da pressão ambiente até 5,0 GPa, apresentou que os modos vibracionais tiveram mudanças entre 0,5 e 1,0 GPa relacionadas à pequenas mudanças conformacionais associadas com as ligações de hidrogênio e pequenas deformações na molécula de timidina. Em torno de 3,0 GPa, o material sofre uma transição de fase evidenciada por desaparecimento das bandas em 276, 306, 446, 1097, 1123, 1403  $\text{cm}^{-1}$ ; surgimento de bandas em 624  $\text{cm}^{-1}$ , *splittings* de modos em altos números de onda, *red shift* de modos associados a ligações de hidrogênio, mudanças nas intensidades das bandas dos modos internos e descontinuidade no gráfico de  $d\omega/dP$  [84].

Vale ressaltar que o trabalho sobre a timidina a altas pressões apresenta alterações nos espectros a partir de 0,5 GPa, como o surgimento da banda em 543  $\text{cm}^{-1}$ . Um *splitting* ocorre com as bandas em 100 e 110  $\text{cm}^{-1}$  entre 0,5 e 1,0 GPa. O desaparecimento das bandas em 1000 e 1641  $\text{cm}^{-1}$  em 1,0 GPa. A banda em 59  $\text{cm}^{-1}$  aumenta a sua intensidade até 1,0 GPa e, logo após, começa a perder intensidade até 2,5 GPa. As bandas em 50 e 66  $\text{cm}^{-1}$  apresentam inversão de intensidade entre 1,0 e 1,5 GPa. As bandas em 75, 80 e 86  $\text{cm}^{-1}$  tornam-se uma apenas em 1,0 GPa [84].

Ao analisar o comportamento dos nucleosídeos a altas pressões, fica evidente que eles apresentam um comportamento flexível até 3,0 GPa pois, antes dos autores confirmarem a ocorrência de transição de fase, os nucleosídeos sofrem diversas alterações nas suas estruturas cristalinas. Isso pode estar relacionado ao fato dessas biomoléculas possuírem diversas funções biológicas em quase todo o corpo humano, apresentando um comportamento adaptável ao meio em que está inserido.

**Capítulo 2 - Propriedades físico-químicas calculadas usando o método DFT e alterações no cristal de de 5-metiluridina semi hidratada em altas temperaturas**

Capítulo publicado na forma de artigo na revista Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, n. 281, 2022 (veja ANEXO A).

## CAPÍTULO 2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS CALCULADAS USANDO O MÉTODO DFT E ALTERAÇÕES NO CRISTAL DE 5-METILURIDINA SEMI HIDRATADA EM ALTAS TEMPERATURAS

### RESUMO

Monocristais de 5-metiluridina semi hidratada (5mU) foram sintetizados pelo método de evaporação lenta do solvente. As propriedades físico-químicas, como orbitais moleculares de fronteira, índices de reatividade global e os espectros vibracionais foram estudados computacionalmente através da teoria do funcional da densidade (DFT). Além disso, propriedades estruturais, vibracionais e térmicas foram obtidas por difração de raios X do pó (DRXP), espectroscopia Raman, análise termogravimétrica (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). A DRXP avaliou o comportamento estrutural do cristal de 5mU na faixa de temperatura de 300-460 K. Os resultados da DRXP a altas temperaturas sugeriram que o cristal sofre dois processos de desidratação, sendo um primeiro ocorrendo da estrutura ortorrômbica ( $P2_12_12$ ) para triclínica ( $P1$ ), em que a perda de água ocorre em torno de 380 K. Uma segunda desidratação desencadeia a mudança da estrutura triclínica para monoclínica ( $P2_1$ ) na faixa de temperatura de 420-435 K. Além disso, após esta temperatura, a 5mU anidra sofre um processo de fusão próximo à 460 K, que se caracteriza notavelmente como um processo irreversível. A espectroscopia Raman foi realizada para identificar os modos vibracionais ligados à molécula de água e as mudanças perceptíveis nessas bandas devido aos efeitos das altas temperaturas em torno de 380 K e 410 K. De fato, mudanças nas bandas Raman, como inversão de intensidade e desaparecimento de bandas foram observadas em modos associados às ligações de hidrogênio formadas a partir das moléculas de água e dos grupos uracila e ribose. Por fim, este estudo forneceu detalhes sobre as mudanças estruturais e vibracionais causadas pela desidratação de cristais de 5mU e a importância das ligações de hidrogênio para o entendimento das interações intermoleculares da 5mU, um nucleosídeo metilado com importantes funções biológicas.

**Palavras-chave:** Nucleosídeo; 5-metiluridina; Altas temperaturas; Mudança de fase; espectroscopia Raman; DRXP.

## 2.1 INTRODUÇÃO

Nucleosídeos são substâncias de importância biológica de baixo peso molecular formadas por bases nitrogenadas, como purina ou pirimidina: citosina, adenina, guanina, timina ou uracila, ligadas por uma ligação  $\beta$ -glicosídica a uma pentose: ribose, formando ribonucleosídeos ou desoxirribose, formando desoxirribonucleosídeos. Esses sistemas podem ser produzidos a partir da hidrólise química ou enzimática de nucleotídeos que ocorrem em pequenas quantidades nas células e são importantes por suas funções biológicas como moléculas sinalizadoras e precursores de nucleotídeos, necessários à síntese de DNA e RNA [85–87].

O ribonucleosídeo uridina e seus derivados são importantes em muitos processos bioquímicos, como metabolismo da glicose, crescimento celular, transcrição genética, transporte de íons sódio e potássio e tratamento de Alzheimer [88–96]. A uridina é um nucleosídeo formado a partir das moléculas de uracila e pentose. Cristais de uridina podem ser obtidos à temperatura ambiente com uma estrutura pertencente ao grupo do espaço  $P2_1$ , sistema monoclinico, com  $Z = 4$  [12]. A metilação da uridina gera um de 5-metiluridina semi hidratada (5mU), com cristais pertencentes ao sistema ortorrômbico com grupo espacial  $P2_12_12$  e  $Z = 4$  [13]. A 5-metiluridina é utilizada como precursor da timidina, um importante composto intermediário para a síntese da droga *AZT* (combate à *AIDS*) [14,15]. Além disso, a 5-metiluridina também é usada como um composto intermediário para sintetizar oligonucleotídeos anti sentindo que têm sido utilizados como antivirais, anticancerígenos, antibacterianos e anti-inflamatórios [16,17]. Além disso, a metilação da base do *DNA* está relacionada ao silenciamento da expressão gênica [97,98]. O conhecimento dos mecanismos de obtenção do polimorfismo por meio de experimentos que submetem esse material a temperaturas e pressões extremas pode ajudar a esclarecer as interações biológicas.

Um estudo sobre o comportamento da uridina cristalina em baixas temperaturas e altas pressões foi realizado por Huang et al. [8], concluindo que o material não sofre nenhuma alteração estrutural na faixa de 298 K a 60 K. No entanto, em altas pressões, na faixa de 1,2 GPa, uma descontinuidade evidente no gráfico  $d\omega/dP$  foi discutida para a maioria de 11 bandas estudadas por espectroscopia Raman. As principais observações foram: (i) a banda associada ao estiramento do grupo C=O, que se divide nesta faixa de pressão; (ii) descontinuidade da banda em  $3114\text{ cm}^{-1}$ , associada ao estiramento N—H; e (iii) a descontinuidade das vibrações associadas ao estiramento C—H. Essas evidências levaram os autores a concluir que a transição de fase pode estar associada a interações de

hidrogênio entre as duas moléculas de uridina da célula unitária [8]. Antes, porém, é necessário conhecer melhor as propriedades de seus derivados, como a 5-metiluridina, como índices de reatividade global, propriedades térmicas, estruturais e vibracionais.

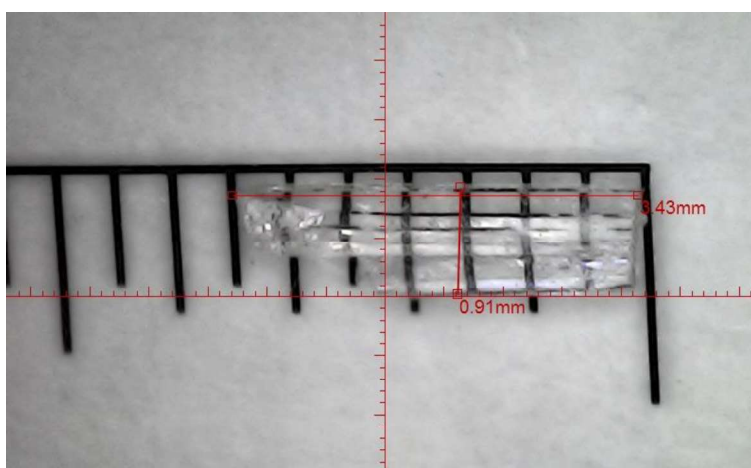
Assim, propomos neste trabalho estudar os índices de reatividade global da 5mU e realizar um estudo teórico para atribuir os modos de vibração no infravermelho (*IR*) e Raman, comparando-os com os espectros experimentais. Em seguida, o comportamento deste material em altas temperaturas foi estudado por análise termogravimétrica (*TGA*), calorimetria exploratória diferencial (*DSC*), difração de raios X do pó (*DRXP*) e por espectroscopia Raman.

## 2.2 MÉTODOS

### 2.2.1 SÍNTESE DE MONOCRISTAIS DE 5mU

Monocristais de 5-metiluridina semi hidratada (5mU,  $C_{10}H_{14}N_2O_6 \cdot 0,5H_2O$ ) foram obtidos pela técnica de evaporação lenta do solvente utilizando 1 grama de 5-metiluridina (Sigma-Aldrich, 97%) em 7 ml de água a 323 K sob agitação a 200 rpm durante 3 horas e pH 3,4. Os monocristais foram obtidos após 10 (dez) dias de repouso da solução a 308 K. Os monocristais são mostrados na Figura 3, em forma de agulha e transparente, com dimensões médias de 3,43 mm x 0,91 mm.

**Figura 3.** Monocristal de 5mU.



**Fonte:** do próprio autor (2021).

### 2.2.2 CARACTERIZAÇÃO

A análise de DRXP de cristais de 5mU na faixa de temperatura de 300 a 460 K foi realizada em um difratômetro *PANalytical Empyrean* equipado com uma câmara de temperatura Anton-Paar TTK450, operando com radiação Cu – K $\alpha$  ( $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$ ) a 40 kV e 40 mA. Os difratogramas foram obtidos na faixa de 10 – 40° (2 $\theta$ ), passo de 0,02° e tempo de contagem de 2s por passo. Os padrões de DRXP foram refinados usando o método de Rietveld com o software EXPGUI-GSAS [99,100], usando os parâmetros estruturais relatados na literatura [13].

A análise termogravimétrica foi realizada com equipamento da *Netzsch*, modelo STA 449F3. A massa utilizada foi de 2,1 mg e a razão de fluxo de 50 mL/min de nitrogênio foi usada como gás de purga. A faixa de temperatura analisada foi de 300 a 700 K, com taxa de aquecimento de 10 K/min.

As curvas de calorimetria exploratória diferencial (*DSC*) foram obtidas utilizando o equipamento de análise térmica da *Shimadzu*, modelo *DSC-60*. A razão de aquecimento foi de 5 K/min e nitrogênio foi usado como gás de purga, com vazão de 50 mL/min. A faixa de temperatura analisada foi de 300 a 625 K. A massa utilizada foi de 1,7 mg.

Os experimentos de *FTIR* à temperatura ambiente foram realizados em um equipamento da *Bruker*, modelo *Vertex 70v*, com resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup>. A preparação da amostra foi realizada com a formação de uma pastilha com 99% de brometo de potássio (KBr, Sigma-Aldrich, 99%, grau *FTIR*) e 1% do material estudado (peso/peso).

Os espectros Raman à temperatura ambiente foram registrados na região de 30–3600 cm<sup>-1</sup> usando um espectrômetro de grade tripla da *Horiba* (Jobin-Yvon, T64000) equipado com um sistema de detecção de dispositivo sensível a carga (*CCD*) refrigerado a ar. Um laser de estado sólido operando a 633 nm foi usado como fonte de excitação com potência de 20 mW. As medidas de espectroscopia Raman de alta temperatura foram realizadas em um forno (*Linkam*, CCR1000), acoplado ao microscópio (*Olympus*, BX40), regulado por um controlador de temperatura com precisão de 1 K, na faixa de temperatura de 300 a 425 K.

### 2.2.3 ESTUDOS COMPUTACIONAIS

A estrutura para a 5-metiluridina semi hidratada foi gerada a partir de dados de difração de raios X da literatura [13]. Os cálculos de química quântica foram realizados a partir dos primeiros princípios (*ab initio*) usando a teoria do funcional da densidade [39,40],

implementado no programa Orca 4.2.0 [101]. A otimização da geometria, as frequências vibracionais e as propriedades eletrônicas para este composto foram calculadas usando o funcional híbrido B3LYP [102,103], incluindo a correção de dispersão de Grimme para melhorar os efeitos da dispersão intramolecular. O conjunto de função de base triplo- $\zeta$  com funções de polarização def2-TZVP foram usados em todos os átomos [104]. Além disso, o modelo contínuo polarizável tipo condutor foi incluído para explicar o efeito de solvatação da água ( $\epsilon = 78,39$ ) [105].

O programa *VibAnalysis* foi utilizado para auxiliar na atribuição de modos vibracionais através da determinação automática de relevância do modo vibracional (*VMARD*). Este programa usa regressão linear bayesiana com uma abordagem de determinação de relevância automática viável para decompor o movimento atômico como uma combinação de deslocamentos ao longo de coordenadas atômicas internas quimicamente significativas [106]. Um fator de escala de 0,96 foi usado para a região espectral de 2800 - 3600  $\text{cm}^{-1}$  [107].

Os orbitais moleculares de fronteira (*FMOs*) foram analisados no mesmo nível de teoria. Os índices de reatividade global (*GRI*) como eletronegatividade ( $\chi$ ), potencial químico ( $\mu$ ), dureza química ( $\eta$ ), suavidade química ( $S$ ) e índice de eletrofilicidade ( $\omega$ ) foram calculados para 5mU usando os valores do orbital molecular mais alto ocupado (*HOMO*) e o orbital molecular mais baixo não ocupado (*LUMO*). Além disso, esses valores de energia estão relacionados com o potencial de ionização (*IP*) e afinidade eletrônica (*EA*), conforme mostrado nas equações a seguir.

$$(1) \quad IP = -E_{HOMO} \quad (2) \quad EA = -E_{LUMO}$$

Doravante, Parr et al. formularam os cálculos de outros índices de reatividade [108–110], a saber:

- Eletronegatividade ( $\chi$ ), que é uma medida da resistência à perda de densidade eletrônica (3),

$$(3) \quad \chi = -\frac{(E_{HOMO} + E_{LUMO})}{2}$$

- Potencial químico ( $\mu$ ) está associado à viabilidade de um sistema para trocar densidade eletrônica com o ambiente no estado fundamental (4),

$$(4) \quad \mu = \frac{(E_{HOMO} + E_{LUMO})}{2}$$



- Dureza química ( $\eta$ ) é uma resistência de uma molécula para trocar densidade eletrônica com o ambiente (5),

$$(5) \quad \eta = \frac{(E_{LUMO} - E_{HOMO})}{2}$$

- E suavidade ( $S$ ) que indica o significado inverso conceitual de dureza, ou seja, a propensão de se engajar em uma reação (6);

$$(6) \quad S = 1/\eta$$

-Maynard et al. propuseram o índice de eletrofilicidade ( $\omega$ ) para medir a capacidade de interação de um composto, ou seja, sua capacidade de aceitar elétrons (7) [111,112].

$$(7) \quad \omega = \mu^2/\eta$$

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

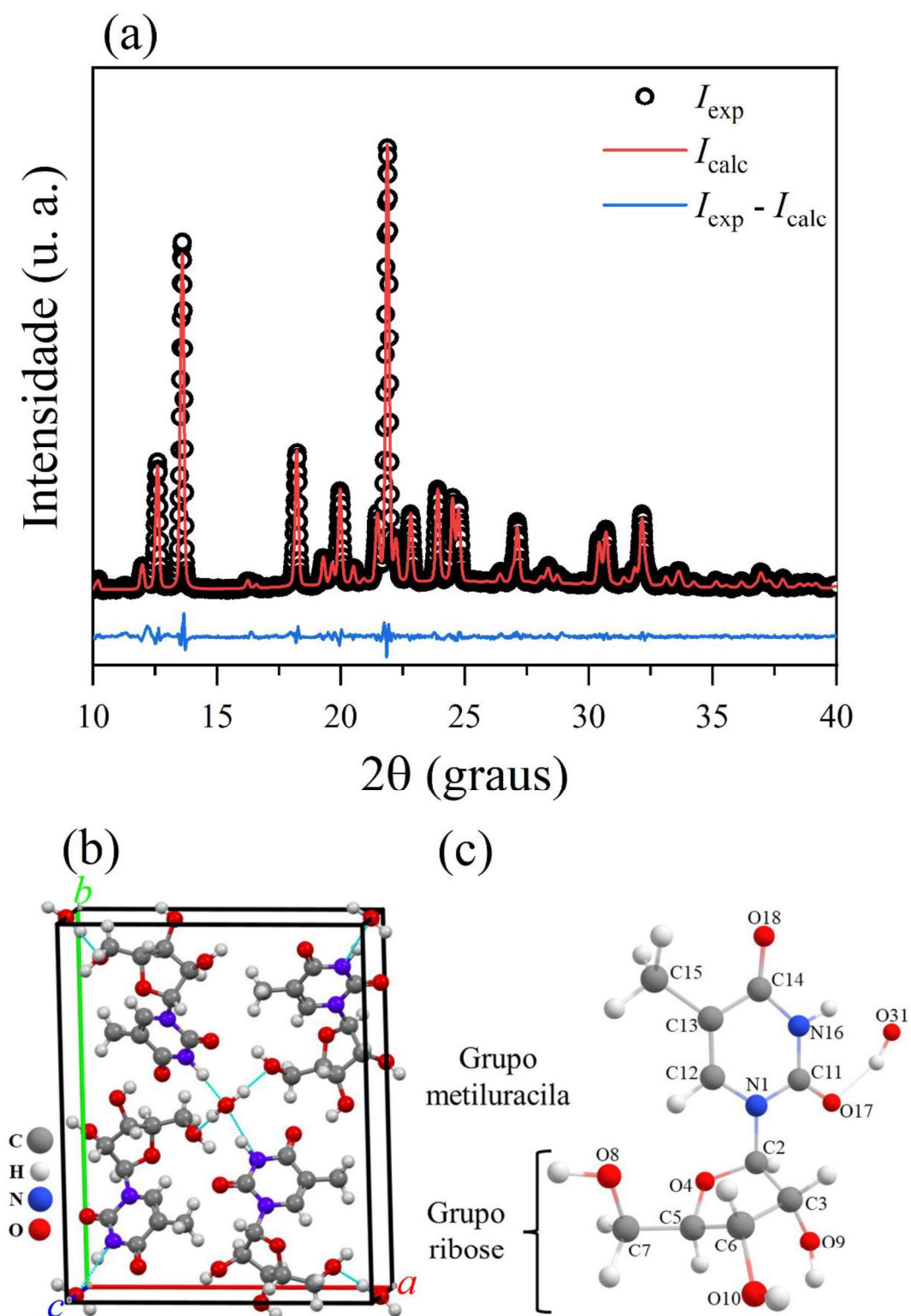
### 2.3.1 REFINAMENTO RIETVELD À TEMPERATURA AMBIENTE

A Figura 4(a) mostra o refinamento Rietveld à temperatura ambiente do policristais de 5mU com valores de precisão de  $R_{wp}$  de 8,11%,  $R_p$  de 5,50% e a qualidade de ajuste  $S$  de 1,7. De acordo com os dados obtidos do refinamento de Rietveld, a 5mU cristaliza no sistema ortorrômbico, grupo espacial  $P2_12_12$  ( $D_2^3$ ) e parâmetros de rede:  $a = 14,033(4)$  Å,  $b = 17,318(5)$  Å,  $c = 4,866(1)$  Å e  $V = 1182,78(2)$  Å<sup>3</sup>, que estão de acordo com os dados da literatura [14].

A Figura 4(b) apresenta a distribuição das quatro moléculas de 5mU e duas moléculas de água por célula unitária. Como se pode ver, cada molécula de água forma ligações de hidrogênio (linha azul pontilhada) com as quatro moléculas de 5mU circundantes. Essa interação envolve a porção de açúcar (doador) de duas moléculas de 5mU e os átomos de nitrogênio do anel de pirimidina (aceptor) das outras duas 5mU.

A Figura 4(c) mostra a estrutura química de 5mU formada pela ligação entre um grupo uracila metilado e um grupo ribose (açúcar). A identificação dos átomos nesta figura foi usada para a atribuição dos modos vibracionais mostrados na Tabela 3.

**Figura 4.** (a) Refinamento Rietveld do cristal de 5mU a 298 K. (b) célula unitária da 5mU. (c) Estrutura química de 5mU com destaque no grupo uracila metilado (uracila) e no grupo açúcar (ribose).



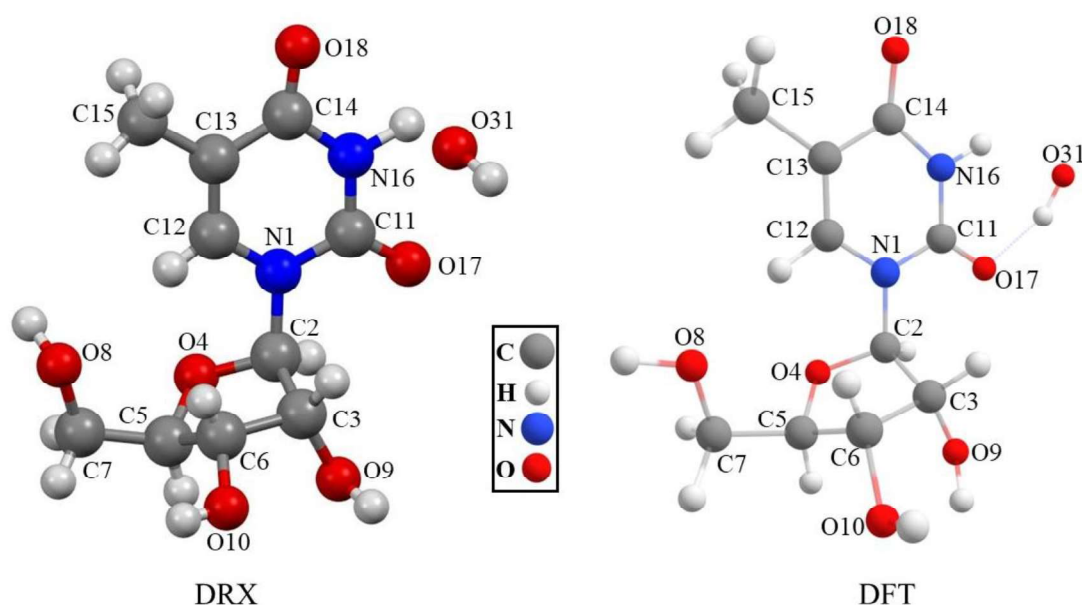
Fonte: do próprio autor (2021).

## 2.3.2 CÁLCULOS DE QUÍMICA QUÂNTICA

## 2.3.2.1 Análise teórica da estrutura otimizada de 5mU

Os comprimentos de ligações intramoleculares relaxados, ângulos e ângulos diedros estão listados na Tabela 1, juntamente com os valores experimentais relatados [13]. A Figura 5 apresenta uma comparação visual entre a molécula de 5mU otimizada para *DFT* e a obtida a partir de dados de DRX. As ligações C—C calculadas concordam com os dados experimentais, bem como o comprimento de ligação C=O. Na rede cristalina, são observadas ligações de hidrogênio específicas entre o grupo carbonila e a água estrutural (O...H<sub>2</sub>O), que influenciam o comprimento desta ligação. Conforme mostrado na Tabela 1, os ângulos de ligação otimizados diferem ligeiramente dos experimentais. É possível observar que os ângulos de ligação próximos às hidroxilas (–OH) apresentam uma diferença mais significativa entre o calculado e o experimental na porção ribose, possivelmente devido à eletronegatividade do grupo hidroxila. Os ângulos diedros mostram uma boa relação entre os valores experimentais e calculados, com a maior diferença em torno de 2,3% para o ângulo diedro N16—C11—N1—C2. Portanto, mesmo sem considerar as interações intermoleculares, nossos dados estão em boas concordâncias com os dados experimentais para todos os parâmetros geométricos.

**Figura 5.** Comparação visual entre a molécula de 5mU otimizada pelo cálculo DFT e a obtida a partir de dados de DRX.



**Tabela 1.** Os parâmetros geométricos de 5mU: comprimentos de ligação (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos diedros a partir de dados experimentais de difração de raios X (DRX) [13] e dados computados com *DFT-B3LYP/def2-TZVP* (Calc.).

Comprimento de ligação (Å)			Ângulo de ligação (°)			Ângulo diedro (°)		
Ligação	DRX	Calc.	Ligações	DRX	Calc.	Ligações	DRX	Calc.
C2 – C3	1,53	1,53	C2 – C3 – C6	100,69	101,60	C13 – C12 – N1 – C2	176,97	179,36
C2 – N1	1,48	1,48	C2 – C3 – O9	106,40	107,84	C15 – C13 – C12 – N1	179,33	179,83
C2 – O4	1,41	1,41	C2 – N1 – C11	116,75	116,44	N1 – C2 – O4 – C5	-120,90	-117,98
C3 – C6	1,51	1,54	C2 – N1 – C12	121,55	122,14	N16 – C11 – N1 – C2	175,71	179,82
C3 – O9	1,40	1,41	C2 – O4 – C5	109,49	110,88	N16 – C14 – C13 – C15	-179,80	-179,86
C5 – C7	1,50	1,51	C3 – C2 – N1	113,45	112,46	O4 – C5 – C7 – O8	-67,74	-68,13
C5 – O4	1,46	1,44	C3 – C2 – O4	107,31	106,85	O17 – C11 – N1 – C12	179,23	178,16
C6 – C5	1,50	1,53	C3 – C6 – C5	102,54	101,39	O17 – C11 – N16 – C14	179,82	178,09
C6 – O10	1,41	1,42	C3 – C6 – O10	110,73	113,28	O18 – C14 – C13 – C12	-178,58	-179,88
C7 – O8	1,41	1,43	C5 – C6 – O10	113,60	109,74	O18 – C14 – N16 – C11	-179,83	-179,24
C11 – N1	1,38	1,38	C5 – C7 – O8	113,59	109,68			
C11 – N16	1,38	1,37	C6 – C3 – O9	112,58	110,45			
C11 = O17	1,20	1,23	C6 – C5 – C7	117,02	115,91			
C12 – N1	1,36	1,38	C6 – C5 – O4	103,54	104,69			
C13 – C12	1,35	1,35	C7 – C5 – O4	109,23	110,55			
C13 – C15	1,48	1,50	C11 – N1 – C12	121,60	121,41			
C14 – C13	1,44	1,46	C11 – N16 – C14	127,16	127,38			
C14 – N16	1,38	1,40	C12 – C13 – C15	122,63	123,26			
C14 = O18	1,22	1,22	C13 – C12 – N1	124,17	123,35			
O8 – H	0,94	0,96	C13 – C14 – N16	115,30	114,06			
O9 – H	0,93	0,97	C13 – C14 = O18	125,51	125,60			
O31 – H	1,03	0,99	C14 – C13 – C12	117,63	118,75			
			C14 – C13 – C15	119,73	117,98			
			N1 – C11 – N16	114,10	115,05			
			N1 – C11 = O17	123,07	121,83			
			N1 – C2 – O4	108,99	109,51			
			N16 – C11 = O17	122,81	123,13			
			N16 – C14 = O18	119,17	120,34			

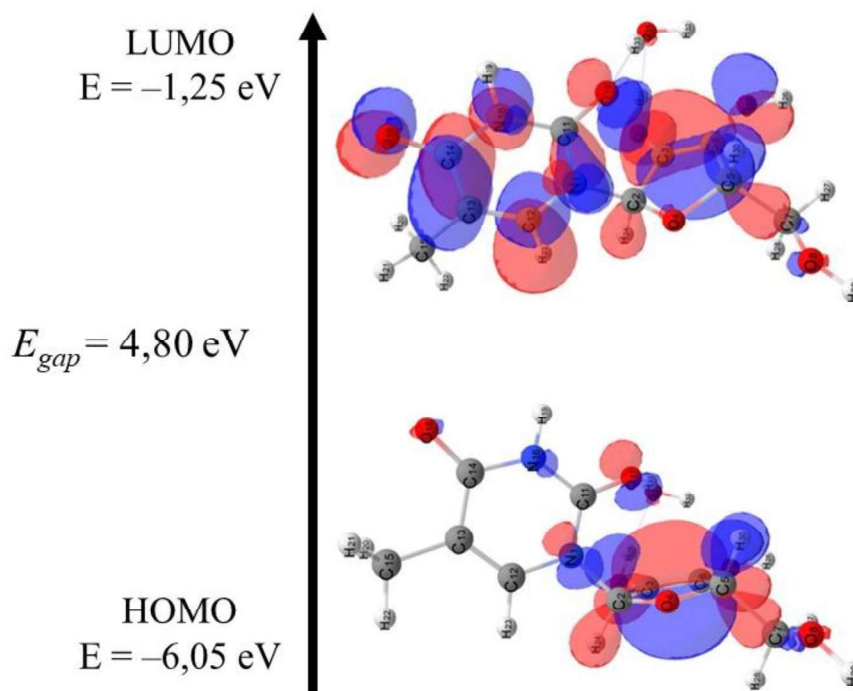
Fonte: do próprio autor (2021).

### 2.3.2.2 Orbitais moleculares de fronteira e índices de reatividade globais

Os índices de reatividade teóricos definidos por conceitos de *DFT* são uma ferramenta poderosa para estudos de reatividade em química orgânica [110]. De acordo com a teoria *FMO*, o *HOMO* atua como um doador de elétrons e o *LUMO* atua como um acceptor de elétrons. A Figura 6 mostra a representação dos orbitais de fronteira para a 5mU; nota-se que a densidade de carga do *HOMO* está localizada no grupo ribose e tem valor de  $E = -6,05$  eV. A densidade de carga *LUMO* é distribuída por toda a molécula de 5mU, exceto para a molécula de água, com um valor de  $E = -1,25$  eV. A diferença de energia entre *LUMO* e *HOMO* ( $E_g$ ) foi de 4,80 eV. A diferença de energia entre esses orbitais de fronteira desempenha um papel

significativo na estabilidade química do composto, uma vez que o baixo valor de  $E_g$  está geralmente associado a uma alta reatividade química devido à proximidade dos orbitais *HOMO-LUMO* para transferência de elétrons. Estudos do composto [9-2HEM]guanina, um composto útil no tratamento do vírus do herpes, mostraram um valor de  $E_g = 3,64$  eV [113]; enquanto que  $E_g = 4,03$  eV foi relatado para o composto *DFPTET*, um novo agente antifúngico proposto [114]. Esses *band gaps* são menores do que o calculado para 5mU, o que nos permite inferir que 5mU possui razoável estabilidade química e é menos reativo que os compostos relatados.

**Figura 6.** Representação da densidade eletrônica de orbitais moleculares de fronteira da 5mU.



**Fonte:** do próprio autor (2021).

A Tabela 2 mostra os índices de reatividade calculados de 5mU. Além disso, a fim de comparar facilmente nossos dados com os compostos relatados, também foram adicionados os índices de reatividade correspondentes da 9-[(2-hidroxietoxi) metil] guanina (*9-2HEMG*) [113], do 1-(1-(2,4- difluorofenil)-2-(1H-1.2.4-triazol-1-il)etilideno) tio-semicarbazida (*DFPTET*) [114] e do 2-amino-3-nitropiridínio 4-hidroxibenzenossulfonato (*ANPH*) [115]. De fato, o 5mU apresenta os menores valores para afinidade eletrônica, eletronegatividade, potencial químico. A dureza química, que define a resistência à mudança do potencial químico de uma molécula [109,116], mostra que 5mU ( $\eta = 2,40$  eV) tem maior estabilidade, exceto para a uridina. A 5mU

apresentou um valor de suavidade de 0,41 eV, indicando uma baixa reatividade da molécula, pois esse índice está diretamente relacionado à polarizabilidade de uma molécula [116], o que mostra uma relação correta entre dureza e suavidade química. O índice de eletrofilicidade confirma o que foi previsto até então para 5mU, pois o valor encontrado de 2,77 eV foi o mais baixo entre os listados na Tabela 2, confirmando teoricamente que 5mU é uma molécula estável e pouco reativa.

**Tabela 2.** Descrição comparativa entre a reatividade global de 5mU calculada pelo método B3LYP/def2-TZVP e outros compostos da literatura.

Propriedades moleculares	5mU (eV)	Uridina (eV)	9-2HEMG (eV) [113]	DFPTET (eV) [114]	ANPH (eV) [115]
Energia <i>HOMO</i>	-6,05	-6,81	-5,83	-6,09	-8,94
Energia <i>LUMO</i>	-1,2509	-1,30	-2,18	-2,05	-5,61
Energia do <i>gap</i>	4,8042	5,51	3,64	4,0394	3,33
Potencial de ionização	6,0551	6,81	5,83*	6,0995	8,94*
Afinidade eletrônica	1,2509	1,3002	2,1886*	2,0561	5,61*
Eletronegatividade	3,653	4,0583	4,0098*	4,0778	7,28
Potencial químico	-3,653	-4,0583	-4,0098*	-4,0778	-7,28
Dureza química	2,4021	2,7582	1,8211*	2,0217	1,67
Suavidade	0,4163	0,3626	0,5491*	0,4946	0,60
Índice de eletrofilia	2,7777	2,9857	4,4143*	4,1124	15,87

\* Calculado de acordo com as fórmulas apresentadas na Seção 2.3.

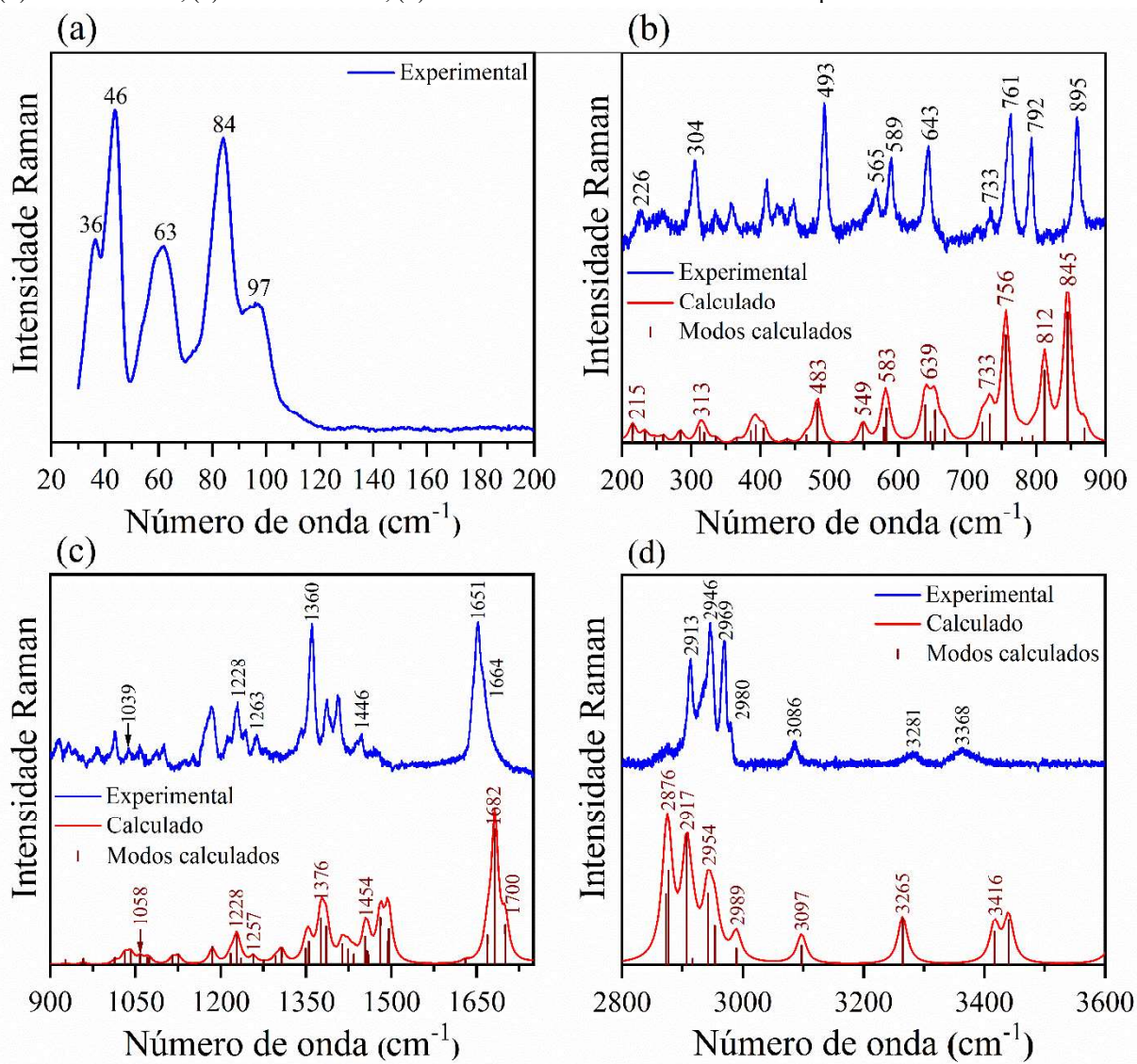
**Fonte:** do próprio autor (2021).

### 2.3.2.3 Estudo vibracional por espectroscopia Raman e IR

A 5mU cristaliza no sistema ortorrômbico, grupo espacial  $P2_12_12 (D_2^3)$ . O sistema tem 4 moléculas de 5mU e 2 moléculas de água por célula unitária. Portanto, na célula unitária existem 128 átomos provenientes das moléculas de 5mU e 6 átomos oriundos das moléculas de água. Em termos da distribuição das representações irredutíveis do grupo fator  $D_2$ , os modos normais são distribuídos como  $\Gamma_{5mU} = 96 A + 96 B_1 + 96 B_2 + 96 B_3$  e  $\Gamma_{\text{água}} = 3 A + 3 B_1 + 6 B_2 + 6 B_3$ , pois os átomos que compõem a molécula de 5-metiluridina estão em sítios de simetria  $C_1$ , enquanto os átomos que formam a molécula de água estão distribuídos em sítios  $C_2$  [117]. Assim,  $\Gamma_{\text{total}} = 99 A + 99 B_1 + 102 B_2 + 102 B_3$ , sendo  $\Gamma_{\text{acústico}} = B_1 + B_2 + B_3$  e  $\Gamma_{\text{óptico}} = 99 A + 98 B_1 + 101 B_2 + 101 B_3$ . Além disso,  $B_1, B_2$  e  $B_3$  são IR ativos (303 modos), enquanto  $A, B_1, B_2$  e  $B_3$  são Raman ativos, ou seja, todos os 402 modos ativos.

A Figura 7(a) apresenta os espectros experimentais e calculados da região de 20 a 200  $\text{cm}^{-1}$ , faixa espectral conhecida como região de modos externos ou região dos modos de rede. Geralmente, os espectros calculados nesta região têm baixa representatividade em relação aos espectros experimentais, representando vibrações acopladas e/ou simultâneas de toda a rede cristalina. É importante notar que nosso cálculo vibracional foi realizado usando um modelo de fase gasosa, o que significa que as interações intermoleculares não foram consideradas. Portanto, as atribuições de modo normal (com base no cálculo *DFT*) são limitadas às vibrações internas da molécula. Enquanto isso, os modos de baixo número de onda ( $< 200 \text{ cm}^{-1}$ ) foram atribuídos apenas como modos de rede.

**Figura 7.** Espectros Raman experimentais e teóricos de 5mU na faixa espectral de: (a) 20 – 200  $\text{cm}^{-1}$ ; (b) 200 – 900  $\text{cm}^{-1}$ ; (c) 900 – 1850  $\text{cm}^{-1}$ ; (d) 2800 – 3600  $\text{cm}^{-1}$ . As barras verticais representam os modos calculados.



Fonte: do próprio autor (2021).

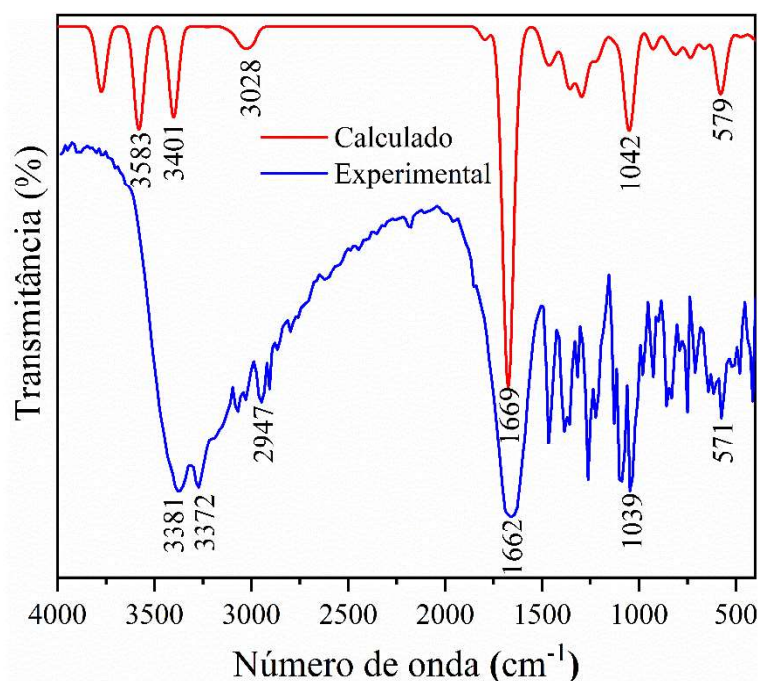
Na faixa espectral de 200-900  $\text{cm}^{-1}$ , as vibrações de flexão e estiramento de CCO e CCC estão relacionadas ao grupo uracila e ao anel ribose de 5mU, conforme mostrado na Figura 7(b). Em particular, há uma deformação angular entre a ribose e o grupo uracila em 226  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\delta[\text{uracila-ribose}]$ . Além disso, as bandas em 565, 589 e 733  $\text{cm}^{-1}$  foram associadas com  $\delta[\text{ribose}]$ ,  $\delta[\text{uracil}]$  e  $\tau[\text{ribose}]$ , respectivamente.

A Figura 7(c) mostra os espectros DFT e experimental na faixa espectral de 900 a 1750  $\text{cm}^{-1}$ . As bandas em 1039 e 1444  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas ao estiramento dos grupos ribose e uracila,  $\nu[\text{ribose}]$  e  $\nu[\text{uracila}]$ , respectivamente. Além disso, a vibração de *twisting*  $\text{CH}_2$  foi observada em 1266  $\text{cm}^{-1}$ ,  $tw[\text{C7H}_2]$ . As vibrações de estiramento C=C e C=O,  $\nu[\text{C=C}]$  e  $\nu[\text{C=O}]$ , são observadas em 1651 e 1664  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Nossos valores calculados estão de acordo com os experimentais. Além disso, esses valores são semelhantes aos relatados em estudos de uridina e sais de uridina [118,119].

A faixa de espectro de 2850 a 3450  $\text{cm}^{-1}$  é mostrada na Figura 7(d) com os espectros experimentais e calculados. Nesta região espectral, são esperadas vibrações de estiramento dos grupos CH, NH e OH. Uma vez que os grupos funcionais amina e hidroxila são relatados na literatura como receptores e doadores de prótons para a formação de ligações de hidrogênio [120], essas vibrações geralmente apresentam diferenças significativas nas posições dos modos de vibração quando se compara o espectro experimental ao calculado. No entanto, observou-se uma semelhança na forma das bandas, sendo necessário apenas aplicar o fator de escala de 0,96 para aproximar as posições das bandas teóricas com as bandas experimentais [107].

A Figura 8 mostra o espectro IR experimental e calculado de 5mU. A banda em 571  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à curvatura CCC,  $\delta[\text{C3C6C5}]$ . Em 1039  $\text{cm}^{-1}$ , foi identificado o estiramento entre o carbono e o oxigênio da hidroxila,  $\nu[\text{C7O8}]$ . Uma banda importante, sensível a mudanças nas ligações de hidrogênio, pertence ao estiramento da carbonila,  $\nu[\text{C=O}]$ , identificada em 1662  $\text{cm}^{-1}$ . O estiramento simétrico do grupo  $\text{CH}_3$  foi identificado em 2947  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu_s[\text{C15H}_3]$ . As bandas em 3372 e 3381  $\text{cm}^{-1}$  foram identificadas como estiramento da hidroxila,  $\nu[\text{OH}]$ , interagindo com a água através de ligações de hidrogênio. Como observado, há uma boa relação entre as formas e posições das bandas. A Tabela 3 mostra os números de onda Raman e IR calculados e experimentais, bem como as atribuições dos modos de vibração para a 5mU.



**Figura 8.** Espectros no IR experimental (azul) e teórico (vermelho) para a 5mU.


Fonte: do próprio autor (2022).

**Tabela 3.** Número de onda calculado ( $\omega_{Calc}$ ), Raman ( $\omega_{Raman}$ ) e infravermelho ( $\omega_{IR}$ ) experimental com suas respectivas atribuições de modos de vibração para o composto 5mU.

$\omega_{Calc}$ (cm <sup>-1</sup> )	$\omega_{Raman}$ (cm <sup>-1</sup> )	$\omega_{IR}$ (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
	36	–	Modos de rede
	46	–	Modos de rede
	63	–	Modos de rede
	84	–	Modos de rede
	97	–	Modos de rede
215	226	–	$\delta(uracila - ribose)$ (39%)
284	258	–	$\delta(C3C6O10)$ (17%) + $\delta(C6C3O9)$ (16%)
313	304	–	$\delta(O18C14C13C15)$ (15%)
337	357	–	$\delta(ribose)$ (26%)
483	493	–	$\nu(uracila)$ (31%) + $\delta(C12C13C14)$ (13%)
549	565	–	$\delta(ribose)$ (46%)
579	–	571	$\delta(C3C6C5)$ (11%)
583	589	–	$\delta(uracila)$ (18%) + $\nu(uracila)$ (31%)
639	643	–	$\delta(uracila)$ (24%) + $\nu(uracila)$ (20%)
733	733	746	$\tau(ribose)$ (21%)
756	761	–	$\nu(uracil)$ (37%)
812	792	833	$\delta(uracila)$ (37%)
845	859	–	$\nu(O4C5)$ (8%)
927	913	926	$\delta(ribose)$ (21%)
1014	983	–	$\nu(C5C7)$ (9%) + $\nu(C2O4)$ (7%)
1031	1014	–	$\nu(C12C13)$ (7%) + $\nu(C2O4)$ (6%)
1042	–	1039	$\nu(C7O8)$ (22%)

1058	1039	–	$\nu(\text{ribose})$ (28%) + $\nu(\text{C7O8})$ (13%)
1070	1058	–	$\delta(\text{C5H}_3)$ (16%)
1115	1086	–	$\nu(\text{C5C7})$ (10%)
1125	1099	–	$\nu(\text{C2N1C11N16})$ (15%)
1217	1212	–	$\nu(\text{C2C3})$ (15%) + $\nu(\text{C6O10})$ (12%) + $\nu(\text{C3O9})$ (10%)
1228	1228	–	$\nu(\text{C13C15})$ (13%) + $\nu(\text{C11N16})$ (12%) + $\nu(\text{N1C12})$ (11%)
1236	1243	–	$\nu(\text{ribose})$ (23%) + $\delta(\text{C3O9H})$ (12%)
1257	1263	–	$tw(\text{C7H}_2)$ (22%) + $\delta(\text{O4C5H})$ (10%)
1296	–	1355	$\nu(\text{N1C12})$ (18%) + $\nu(\text{C11N16})$ (11%)
1349	–	1385	$\tau(\text{O4C7C5H})$ (18%)
1355	1340	–	$\nu_a(\text{C5C6O10})$ (15%)
1376	1360	–	$\delta(\text{HC12N1C2H})$ (20%)
1414	1387	–	$\delta(\text{C15H}_3)$ (62%)
1424	1406	–	$\delta(\text{C11C14N16H})$ (17%) + $\nu(\text{C11} = \text{O17})$ (9%) + $\nu(\text{C14} = \text{O18})$ (9%)
1454	1446	–	$\nu(\text{uracil})$ (20%)
1460	–	1463	$\omega(\text{C7H}_2)$ (20%) + $\delta(\text{C5C7O8H})$ (17%)
1481	1473	–	$\nu(\text{uracil})$ (36%) + $\delta(\text{C15H}_3)$ (16%)
1669	–	1662	$\nu(\text{C14} = \text{O18})$ (29%) + $\nu(\text{C11} = \text{O17})$ (24%)
1682	1651	–	$\nu(\text{C12} = \text{C13})$ (22%) + $\nu(\text{N1} = \text{C12})$ (8%)
1700	1664	–	$\nu(\text{C14} = \text{O18})$ (30%) + $\nu(\text{C11} = \text{O17})$ (29%)
2876*	2913	–	$\nu(\text{C5H})$ (75%) + $\nu_a(\text{C7H}_2)$ (22%)
2907*	2933	2947	$\nu_s(\text{C15H}_3)$ (98%)
2917*	2946	–	$\nu_a(\text{C7H}_2)$ (84%) + $\nu(\text{C5H})$ (12%)
2954*	2969	–	$\nu(\text{C2H})$ (85%)
2989*	2980	–	$\nu_a(\text{C15H}_3)$ (97%)
3097*	3086	–	$\nu(\text{C12H})$ (87%)
3265*	3281	3372	$\nu(\text{O9H})$ (80%) + $\nu(\text{O31H})$ (9%)
3416*	3368	–	$\nu(\text{N16H})$ (91%) + $\nu(\text{O31H})$ (7%)
3440*	–	3381	$\nu(\text{O9H})$ (8%) + $\nu_s(\text{O31H}_2)$ (78%)

\*Usando o fator de escala de 0,96.

Nomenclatura:  $\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_a$  – estiramento antissimétrico;  $\delta$  – deformação angular;  $\tau$  – torção;  $\gamma$  – deformação angular fora do plano;  $\omega$  – wagging;  $tw$  – twisting.

Fonte: do próprio autor (2022).

### 2.3.4 ANÁLISE TÉRMICA

A Figura 9(a) mostra a análise de *TGA* e sua primeira derivada da 5mU. Na faixa de temperatura entre 408 e 428 K há uma perda de 3,2% em massa, o que representa uma perda proporcional a 8,55 g/mol, relação diretamente proporcional com a massa molar da água, visto que a composição da estrutura cristalina contém uma razão molar de 1 molécula de 5-metiluridina para 0,5 moléculas de água. O segundo evento de perda de peso ocorreu entre 535 e 607 K. Este evento de perda de peso está relacionado à decomposição do material após o ponto de fusão.

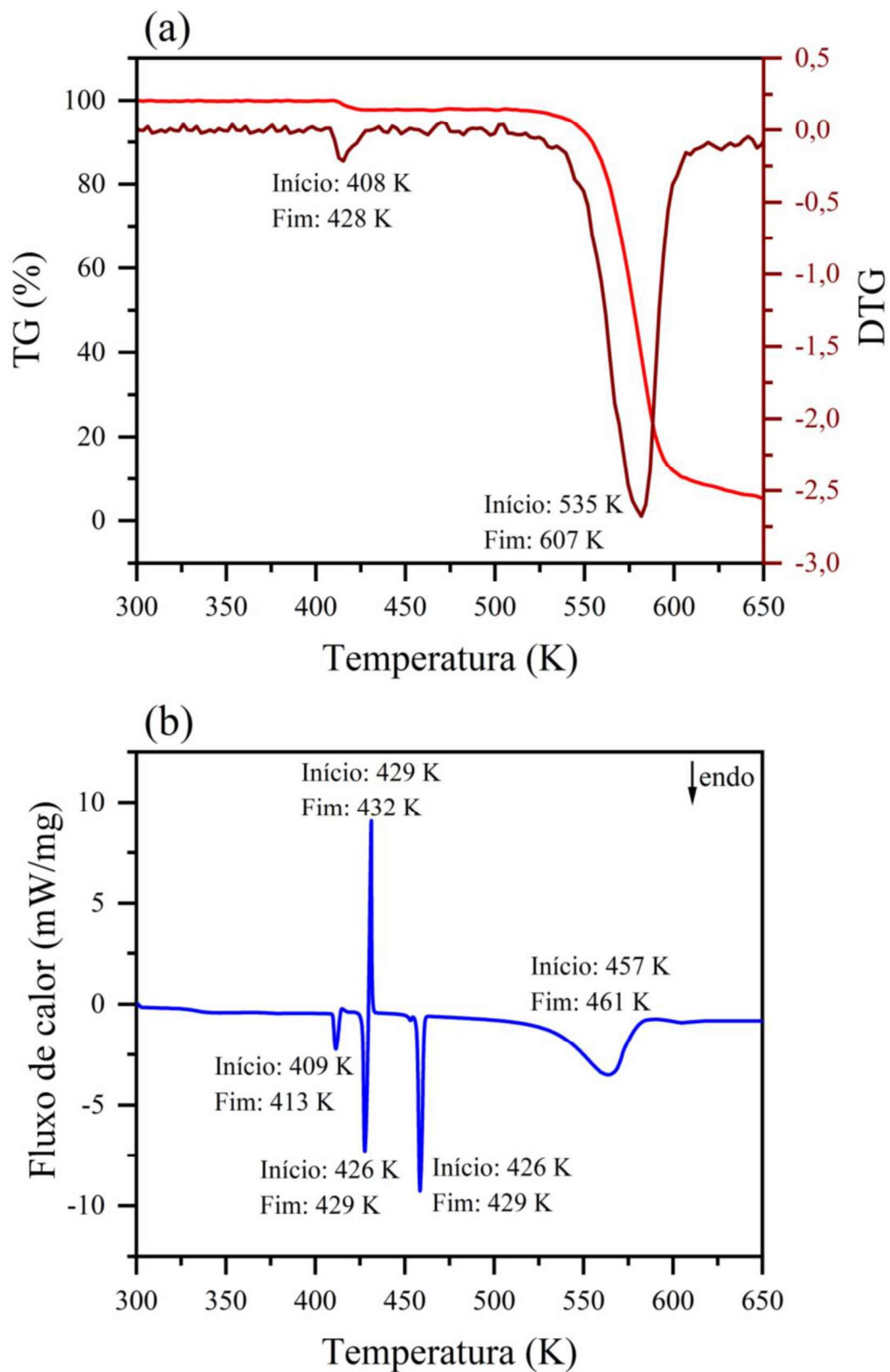
A análise de *DSC* (Figura 9(b)) mostrou dois picos endotérmicos em 411 e 428 K associados à desidratação da 5mU semi hidratada, provavelmente cada evento associado à saída de uma molécula de água, seguido por um pico exotérmico em 430 K. Este pico foi devido a cristalização de uma forma anidra que resultou da desidratação. Os eventos endotérmicos entre 457 e 461K foram relacionados à fusão da fase anidra, fase 3. A análise de *TG* não mostra perda de massa na faixa de temperatura de fusão identificada no *DSC*, como esperado. Após a fusão, o material sofre um evento de decomposição entre 536 e 577 K, evento que ocorre dentro da faixa de perda de massa acentuada, também identificada pela análise *TG*.

No estudo do aspartame semi hidratado, dois eventos endotérmicos relacionados à perda de água foram observados no *DSC*, seguidos de um evento exotérmico, como o que ocorreu a 5mU. Além disso, este estudo mostrou que quanto maior a taxa de aquecimento, maior a mudança do pico *DSC* para temperaturas mais altas [121,122].

As entalpias dos processos térmicos foram calculadas a partir das áreas dos picos dos eventos. A entalpia dos dois primeiros picos endotérmicos é 16,3 e 32,5 kJ/mol, respectivamente; assim, a energia envolvida no processo de desidratação é de 48,8 kJ/mol. Para comparação, a entalpia de desidratação da L-asparagina monohidratada é de 49,5 kJ/mol [123]. Esses valores estão próximos ao calor de vaporização da água, em torno de 40 kJ/mol nessa faixa de temperatura, de 400 a 430 K [124]. Essa diferença de energia de 8,8 kJ/mol entre a vaporização da água e a desidratação de 5mU deve estar relacionada às interações intermoleculares da água na rede cristalina.

**Figura 9.** Análise térmica de cristais de 5mU.

(a) Análise termogravimétrica e sua primeira derivada; (b) Análise DSC.

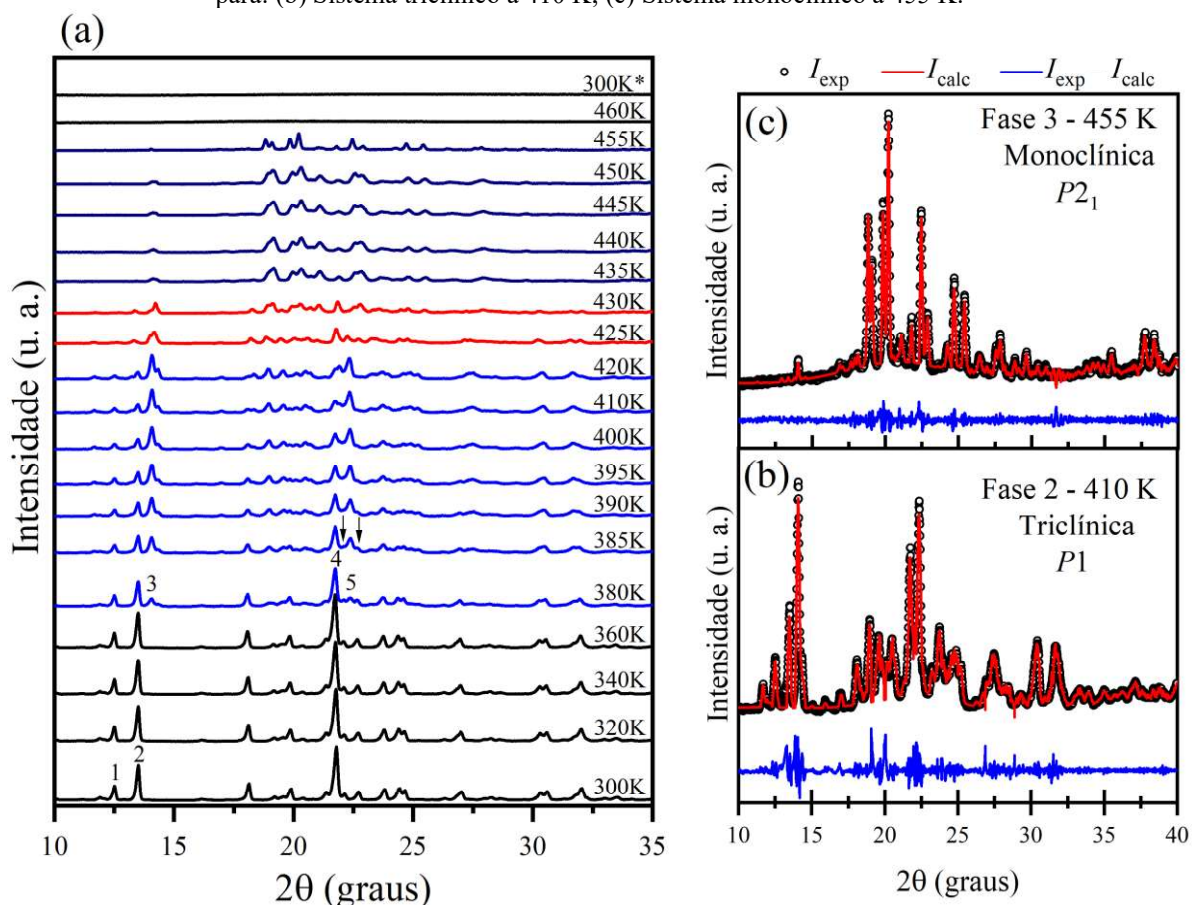


Fonte: do próprio autor (2022).

## 2.3.5 ESTUDOS DRXP EM ALTAS TEMPERATURAS

A Figura 10(a) mostra a evolução da temperatura dos difratogramas de raios-X da 5mU na faixa de 300 - 460 K. A análise dos difratogramas mostra a fase ortorrômbica de 300 K a 360 K. Na faixa de temperatura de 380 K a 420 K, o difratograma apresenta algumas modificações. Eles estão relacionados ao primeiro evento de perda de massa identificado no *TG* e dos primeiros picos endotérmicos mostrados no *DSC*. A diferença de temperatura apresentada entre o *TG/DSC* e o DRXP resulta do maior tempo de aquecimento das amostras na análise do DRXP. Essa mudança foi estudada no processo de desidratação do cristal de L-arginina monohidratada [50], aspartame semi hidratado [121,122] e no cristal de guanosina dihidratado [70], mostrando que quanto maior o tempo de aquecimento, menor a temperatura da saída de água, geralmente, os eventos térmicos DRXP ocorrem em temperaturas mais baixas do que *TG/DSC*.

**Figura 10.** (a) DRXP da 5mU na faixa de temperatura de 300 a 460 K; Ajuste Le Bail do padrão DRXP de 5mU para: (b) Sistema triclinico a 410 K; (c) Sistema monoclinico a 455 K.



Fonte: do próprio autor (2022).

Em 380 K, aparece o pico a  $14,06^\circ$  (indicado pelo número 3), e sua intensidade aumenta até 420 K, enquanto o pico do lado esquerdo perde intensidade (indicado pelo número 2); além disso, um pico aparece em torno de  $22,35^\circ$  (indicado pelo número 5). A 385 K, os picos a  $22,09^\circ$  e  $22,64^\circ$  desaparecem (setas para baixo). À medida que a temperatura aumenta, os picos em  $21,75^\circ$  e em  $22,35^\circ$  (indicados pelos números 4 e 5, respectivamente) invertem suas intensidades em 400 K. Mudanças na estrutura nesta faixa de temperatura devem ocorrer devido à saída de uma das duas moléculas de água presentes na célula unitária, considerando que a água interage com quatro moléculas de 5mU, sua saída é gradual, causando uma mudança de fase.

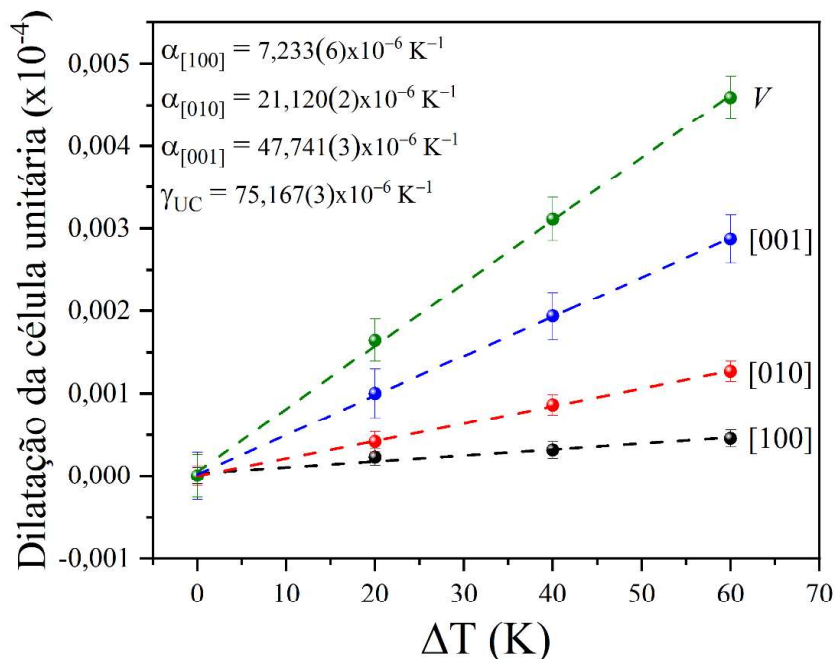
Na temperatura de 410 K, a análise da estrutura cristalina foi realizada usando o programa *DASH* com a rotina de indexação *DICVOL91* para determinar os parâmetros do grupo espacial e da célula unitária [125]. Esta análise usando dados DRXP a 410 K sugere que esta fase é triclínica, grupo espacial  $P1$  ( $C_1^1$ ) e parâmetros de rede:  $a = 14,611(3)$  Å,  $b = 8,576(2)$  Å,  $c = 11,922(2)$  Å e  $V = 1276,21(2)$  Å<sup>3</sup>,  $\alpha = 89,36(6)^\circ$ ,  $\beta = 104,58(4)^\circ$  e  $\gamma = 117,22(8)^\circ$  (Figura 10b). Os parâmetros de rede foram determinados pelo método de Le Bail [126] realizado no programa GSAS [100]. A fase 2 (triclínica) resulta da mudança de fase que ocorre devido à saída de água da estrutura do sistema ortorrômbico (fase 1). Pode-se observar picos mais largos na fase 2 devido a uma pequena quantidade de forma amorfa resultante da desidratação.

Na temperatura em torno de 435 K ocorre uma segunda mudança de fase, devido à saída da segunda molécula de água da célula unitária. O pico em  $14,06^\circ$  desaparece (indicado pelo número 3), mostrando o aparecimento de uma terceira fase como resultado da cristalização da forma anidra, que começa em 435 K e se estabiliza em 455 K. A fase representada pelos dois difratogramas vermelhos na Figura 10(a) corresponde a uma fase intermediária. Ao realizar a rotina de indexação do *DICVOL91* no programa *DASH*, é possível inferir que o material pertence à estrutura monoclinica, grupo espacial  $P2_1$  ( $C_2^2$ ), na faixa de temperatura de 435 a 455 K. Utilizando o método de Le Bail, os dados foram refinados a 455 K (Figura 10(c)) e encontrou os parâmetros de rede:  $a = 14,712(8)$  Å,  $b = 10,069(1)$  Å,  $c = 10,846(7)$  Å,  $V = 1378,71(3)$  Å<sup>3</sup> e  $\beta = 120,91(3)^\circ$ . A 460 K, a estrutura torna-se amorfa e mantém essa característica na análise realizada ao retornar à temperatura ambiente (difratograma de raios-X marcado como 300 K\*).

Analisando os dados da fase ortorrômbica no refinamento Rietveld, é possível obter os coeficientes de expansão linear e volumétrica utilizando a variação dos parâmetros da célula, apresentado na Figura 11. A fase ortorrômbica de 5mU sofre uma expansão anisotrópica devido

à expansão das interações intermoleculares. Os valores obtidos são:  $\alpha_{[100]} = 7,223(6) \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ ,  $\alpha_{[010]} = 21,120(2) \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ ,  $\alpha_{[001]} = 47,741(3) \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$  e  $\gamma_{UC} = 75,167(3) \times 10^{-6} \text{ K}^{-1}$ .

**Figura 11.** Coeficientes de expansão térmica da fase ortorrômbica da 5mU.



Fonte: do próprio autor (2022).

### 2.3.6 ESTUDOS RAMAN EM ALTAS TEMPERATURAS

A Figura 12(a) mostra a evolução dos espectros Raman de 300 a 460 K na faixa de espectros de 30 a 150  $\text{cm}^{-1}$ , e a Figura 12(b) mostra o número de onda dos modos em função da temperatura na mesma faixa espectral. Esta região espectral é essencial para investigar mudanças estruturais na célula unitária do material, visto que esta região vibracional apresenta os modos de rede.

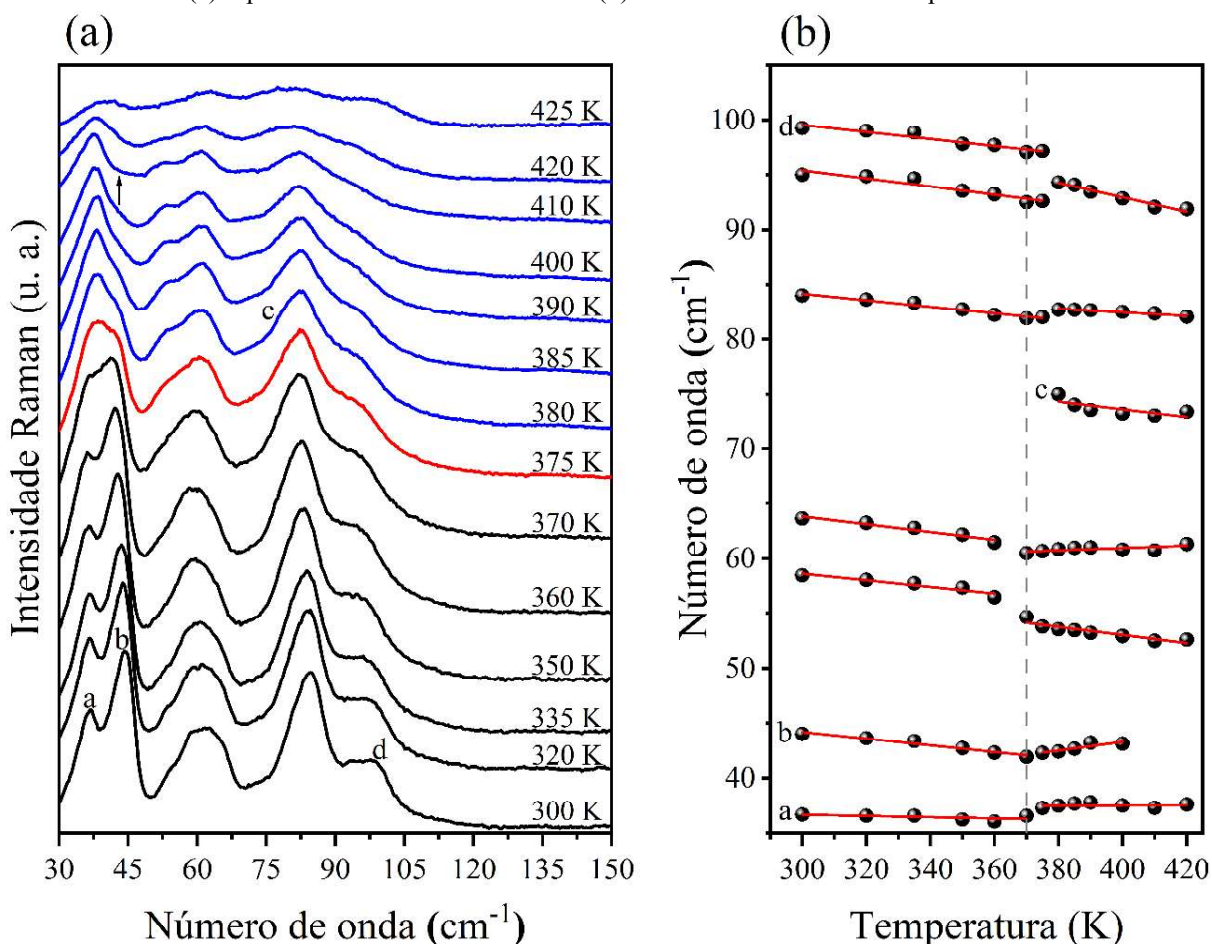
No processo de aquecimento de 5mU, as mudanças espectrais começam em 370 K. Em 375 K, há uma inversão de intensidade das bandas em 37 e 42  $\text{cm}^{-1}$ , indicadas pelas letras a e b, respectivamente. Essas bandas de vibração foram atribuídas a modos de rede, e essa inversão de intensidade indica alterações na célula unitária do cristal. Também é possível observar uma diminuição de intensidade e alargamento de todas as bandas para  $T > 385 \text{ K}$ . A banda fraca em 57  $\text{cm}^{-1}$  (a 300 K) aparece como um ombro da banda em 63  $\text{cm}^{-1}$ . Para  $T > 380 \text{ K}$  é visível um duplete.

Além disso, a 370 K, nota-se na Figura 12(b) uma mudança na inclinação dos centros das bandas com as inclinações negativas das retas resultantes dos ajustes relativos à fase 1, como pode ser mais bem analisado na Tabela 3 do o material complementar. Nesta faixa espectral, a uma temperatura de 380 K, aparece uma banda em torno de  $75\text{ cm}^{-1}$  (letra c) assim como a atenuação da banda em  $97\text{ cm}^{-1}$  (letra d) também é observada.

Na temperatura de 410 K, a banda em  $43\text{ cm}^{-1}$  desaparece (indicada por uma seta para cima). Essa mudança provavelmente está ligada à saída da segunda molécula de água da estrutura cristalina, conforme indicado pelas análises de DRXP, *TG* e *DSC*.

As ligações de hidrogênio quebradas envolvendo as moléculas de água desencadearam a criação de novas interações entre as moléculas de 5mU e a formação de novas fases. A fonte de excitação utilizada na análise por espectroscopia Raman deve ter causado essa variação de temperatura nas faixas de transição, quando comparada com a análise DRXP em altas temperaturas.

**Figura 12.** Evolução dos espectros Raman na faixa de 30 a  $150\text{ cm}^{-1}$  para cristal de 5mU: (a) espectros na faixa de 300 a 425 K. (b) número de onda versus temperatura.



Fonte: do próprio autor (2022).



**Tabela 4.** Número de onda experimentais Raman ( $\omega_{exp}$ ) associados a coeficientes de temperatura obtidos a partir do ajuste linear  $\omega = \omega_0 + \alpha T$  para a 5mU.

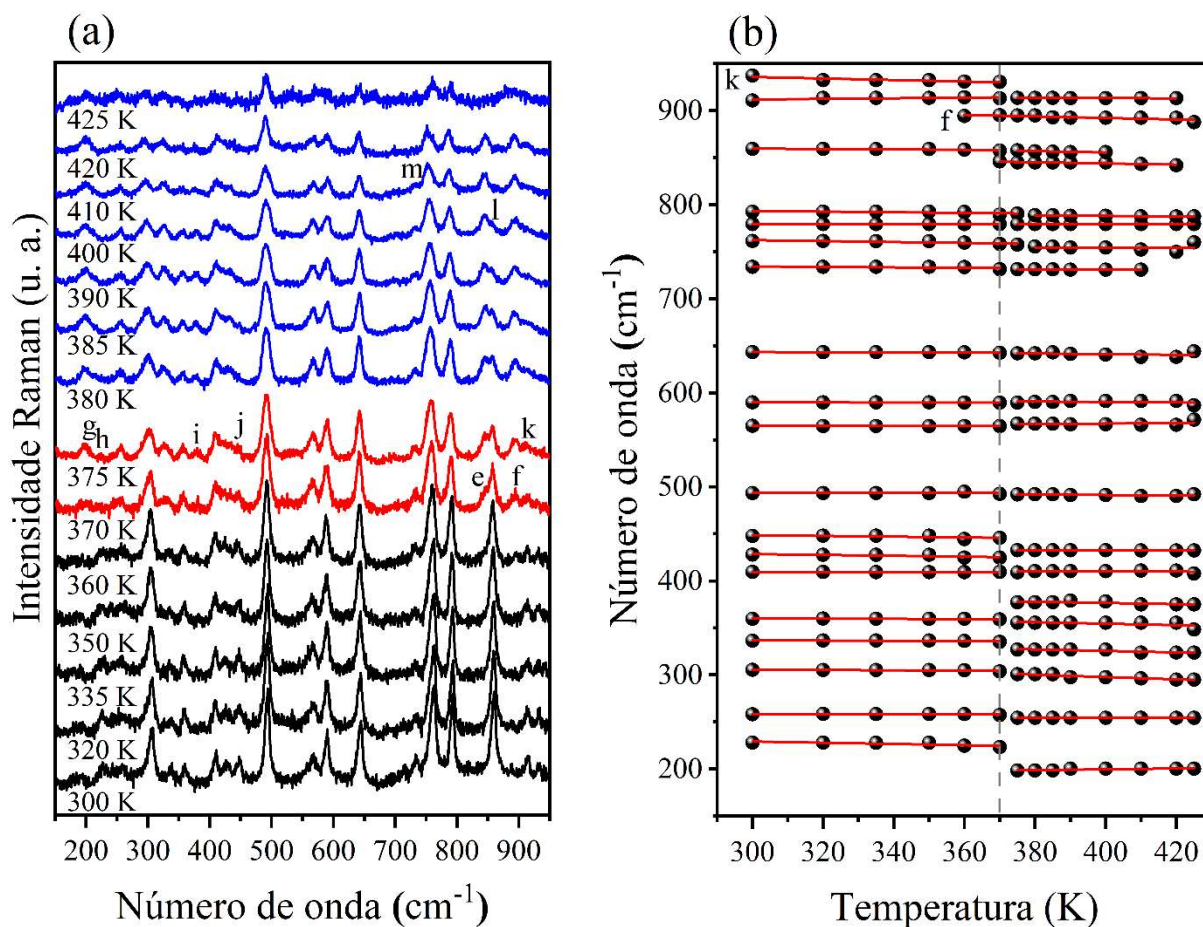
$\omega_{exp}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Fase 1		Fase 2	
	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{K}$ )
37	38,3323	-0,0055(8)	31,3872	0,0078(5)
44	53,2882	-0,0304(9)	27,6170	0,0293(2)
58	67,7474	-0,0304(3)	67,7388	-0,0368(2)
64	74,3833	-0,0352(2)	56,7626	0,0105(2)
	—	—	87,6949	-0,0351(8)
84	93,4268	-0,0308(8)	87,1585	-0,0121(9)
95	106,4974	-0,0370(4)	119,0147	-0,0652(5)
99	109,2314	-0,0322(7)	—	—
198	—	—	182,2717	0,0434(2)
228	248,7294	-0,0651(6)	—	—
258	260,5515	-0,0070(8)	254,3418	-6,794.10 <sup>-7</sup>
305	310,5314	-0,0167(5)	346,9672	-0,1232(4)
337	341,2938	-0,0148(7)	357,1321	-0,0788(9)
360	362,5206	-0,0084(8)	386,3464	-0,0795(7)
377	—	—	402,0841	-0,0637(8)
410	410,2177	-0,0025(4)	413,1549	-0,0079(9)
428	442,3933	-0,0463(6)	434,2779	-0,0044(8)
448	460,6127	-0,0401(3)	—	—
493	493,1267	6,643.10 <sup>-4</sup>	500,5262	-0,0231(8)
565	565,5690	-0,0022(6)	554,6980	0,0317(3)
590	591,2274	-0,0043(8)	599,9680	-0,0241(4)
643	645,8243	-0,0080(9)	654,7579	-0,0341(2)
734	742,2050	-0,0261(5)	736,0567	-0,0127(7)
761	777,2652	-0,0499(4)	758,6267	-0,0104(2)
779	778,5567	0,0022(6)	779,3503	7,136.10 <sup>-5</sup>
793	803,7964	-0,0345(4)	799,9541	-0,0294(2)
846	—	—	868,7061	-0,0619(6)
859	865,9761	-0,0210(7)	883,6703	-0,0702(1)
894	—	—	924,9718	-0,0818(5)
911	902,0180	0,0327(8)	917,1672	-0,0095(6)
937	959,9024	-0,0804(2)	—	—
984	984,8976	-0,0041(8)	1010,8910	-0,0840(2)
1014	1014,5722	-0,0014(7)	1007,6354	0,0178(5)
1038	1038,0211	0,0014(8)	1031,1167	0,0234(7)
1058	1059,4642	-0,0041(8)	1057,2027	-0,0035(3)
1086	1090,8689	-0,0172(9)	—	—

1099	1103,5808	-0,0147(9)	1091,9681	-7,971.10 <sup>-30</sup>
1138	1153,0723	-0,0500(4)	1133,6201	-5,756.10 <sup>-5</sup>
1174	1193,2152	-0,0619(4)	—	—
1185	1195,9767	-0,0350(6)	1148,2810	0,1048(3)
1214	1234,4922	-0,0638(8)	1215,6451	-0,0229(4)
1229	1246,8560	-0,0569(8)	1256,2262	-0,0901(8)
1243	1263,1187	-0,0631(4)	—	—
1266	1284,1753	-0,0618(2)	—	—
1340	1335,5504	0,0144(1)	1359,0538	-0,0438(3)
1360	1364,5992	-0,0132(5)	1440,3294	-0,2208(3)
1388	1397,0135	-0,0304(1)	1385,2359	8,081.10 <sup>-4</sup>
1420	—	—	1419,5007	0
1448	1448,4081	-0,0022(1)	—	—
1474	1531,2678	-0,1817(9)	—	—
1654	1666,3528	-0,0400(1)	1731,6570	-0,2166(8)

Fonte: do próprio autor (2022).

A Figura 13 mostra a evolução dos espectros Raman na faixa de temperatura de 300-425 K na faixa espectral de 150 a 950 cm<sup>-1</sup>. Na Figura 13(a), observa-se o aparecimento das bandas 846 e 895 cm<sup>-1</sup> na temperatura de 370 K (letras e e f, respectivamente). Na temperatura de 375 K, é possível notar o aparecimento de bandas em torno de 199 e 378 cm<sup>-1</sup> (letras g e i, respectivamente), e o desaparecimento das bandas em 229 cm<sup>-1</sup> [ $\delta$ (uracila-ribose)] e 937 cm<sup>-1</sup> (letras h e k, respectivamente), sugerindo que a saída da molécula de água está causando mudanças na estrutura da célula unitária. Portanto, observa-se a supressão da vibração molecular entre os grupos uracila e ribose da estrutura de 5mU. A uma temperatura de 380 K, a banda em 449 cm<sup>-1</sup> na temperatura anterior (letra j) desaparece. Essas mudanças de modo interno ocorrem na mesma faixa de temperatura que as mudanças observadas nos modos de rede, somando-se aos fatos sobre a ocorrência de modificações estruturais desencadeadas pela perda de água na faixa de temperatura entre 370 e 380 K.

**Figura 13.** Evolução dos espectros Raman na faixa de 150 a 950  $\text{cm}^{-1}$  para 5mU: (a) espectros na faixa de temperatura de 300 a 425 K. (b) número de onda vs. temperatura.



Fonte: do próprio autor (2022).

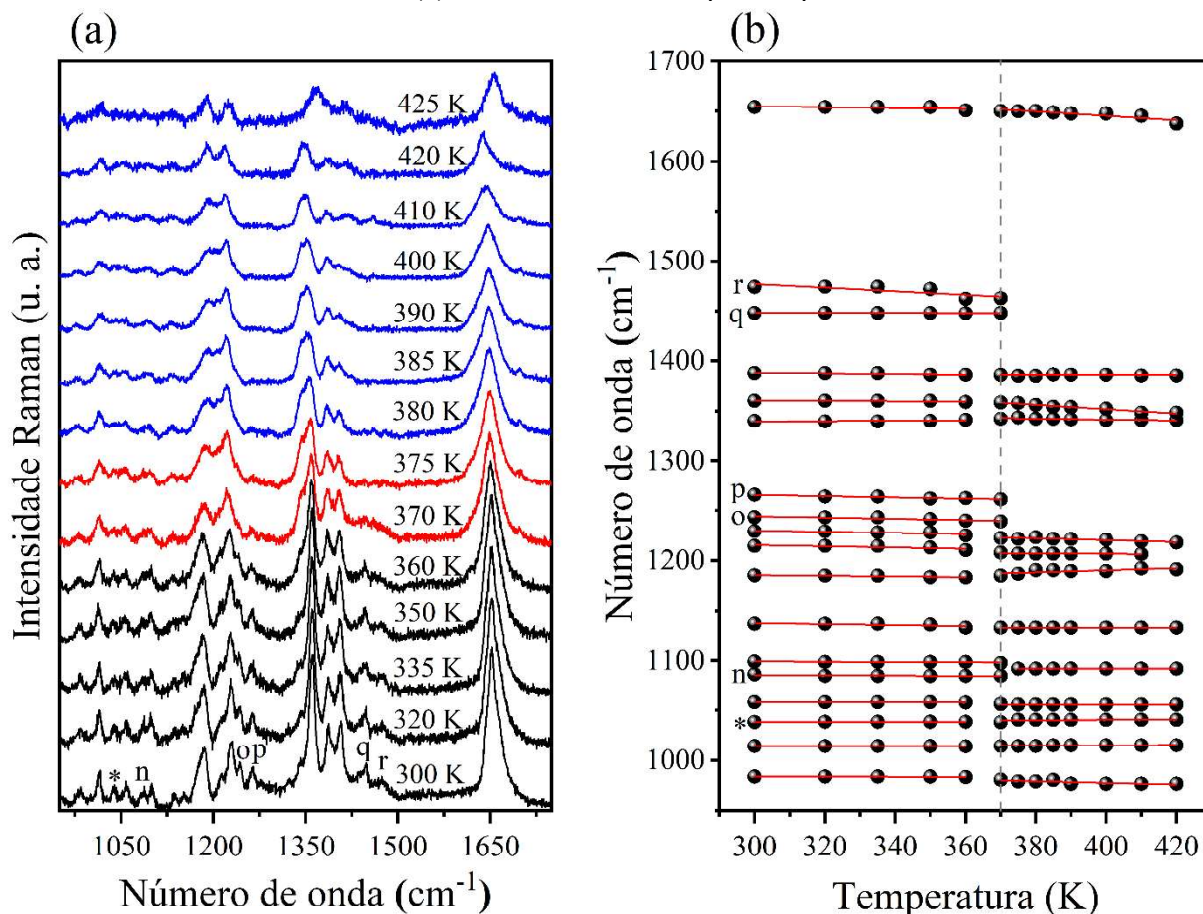
A Figura 13(a) ainda mostra o desaparecimento da banda em  $860 \text{ cm}^{-1}$  (letra l) em 410K e da banda em  $734 \text{ cm}^{-1}$  (letra m) na temperatura de 420 K. Essas mudanças espectrais estão associadas à saída da segunda molécula de água e o processo de recristalização da estrutura após a desidratação. A banda em  $731 \text{ cm}^{-1}$  foi associada à deformação angular da porção da ribose que interage com a molécula de água, com a desidratação, a estrutura possivelmente se reorganiza sem essa interação molecular.

Analisando a Figura 13(b) e a Tabela 4 nota-se três modos de vibração com inclinações positivas na fase I:  $493 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$ [uracila]),  $779$  e  $911 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta$ [ribose]). Esse comportamento pode estar relacionado ao enfraquecimento das interações entre os grupos uracila e ribose com a molécula de água, aumentando a força de interação entre os átomos dos grupos, interação intragrupo.

A Figura 14 mostra a região espectral de  $950$  a  $1750 \text{ cm}^{-1}$  na faixa de temperatura estudada. As Figura 14(a) e (b) mostram o desaparecimento em 375K das bandas: 1086, 1243,

1266, 1448 e 1462  $\text{cm}^{-1}$  (respectivamente, letras n, o, p, q, r). A banda em 1243  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada às vibrações  $\nu$ [ribose] e  $\delta$ [C3O9H], o seu desaparecimento pode estar associado com a saída da água da estrutura.

**Figura 14.** (a) Espectro Raman de cristal de 5mU em altas temperaturas para a região espectral de 950 a 1750  $\text{cm}^{-1}$  e (b) número de onda vs. temperatura para 950 - 1700  $\text{cm}^{-1}$ .



Fonte: do próprio autor (2022).

A banda localizada em 1038  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída às vibrações de estiramento do grupo ribose,  $\nu$ [ribose] e  $\nu$ [C7O8], um estiramento que ocorre na ligação hidroxila com a molécula de água, tem seu número de onda elevado com o aquecimento. Esse efeito pode estar relacionado ao enfraquecimento da interação com as moléculas de água e, conseqüentemente, ao fortalecimento da interação entre os átomos de carbono e oxigênio. A banda em torno de 1650  $\text{cm}^{-1}$  envolvendo estiramento C=O é muito sensível à mudança de estrutura; portanto, essa mudança pode estar associada à saída da segunda molécula de água da célula unitária, tornando o composto anidro. Sua largura aumenta para  $T > 390$  K e muda a 425 K. De fato, a maioria dos modos sofre um deslocamento para maiores número de onda nessa temperatura.

Analisando as três regiões espectrais de 30 a 1750  $\text{cm}^{-1}$  é possível reforçar os resultados da análise térmica e DRXP em altas temperaturas, em que a fase 1 ocorre em temperaturas entre 300 e 380 K, enquanto a segunda fase cobre a faixa de temperatura de 385 – 420 K. Ambas as modificações associadas à perda de água do cristal. Uma terceira fase começa a aparecer a uma temperatura de 425 K, conforme observado nas análises de *TG*, *DSC* e DRXP. Porém, nesta temperatura, os espectros Raman perdem muita intensidade, dificultando a visualização das bandas, provavelmente devido ao aquecimento da amostra pelo forno e pelo laser. A perda da segunda molécula de água proporciona a quebra das ligações de hidrogênio e a formação de novas ligações de hidrogênio entre as moléculas de 5mU. Como fases diferentes apresentam propriedades diferentes, essa nova fase específica reduziu o espalhamento Raman.

## 2.4 CONCLUSÃO

Em resumo, este trabalho estudou os orbitais de fronteira molecular, índices de reatividade global, atribuição teórica de espectros vibracionais à temperatura ambiente e estabilidade da 5-metiluridina semi hidratada em altas temperaturas por *TG*, *DSC*, DRXP e espectroscopia Raman. Resultados teóricos apontaram que a 5mU possui baixos índices de reatividade global, enquanto os espectros teóricos Raman e *IR* foram úteis para investigar as vibrações observadas em dados experimentais. As análises de *TG* e *DSC* mostraram uma perda de massa e um evento endotérmico iniciando em torno de 408 até 428 K, cujas análises Raman e DRXP indicaram a saída de água em temperaturas em torno de 380 K e 410 – 420 K. Isso é visto como o desaparecimento de bandas nos modos internos e externos associados à interação com a molécula de água. O estudo da fase ortorrômbica mostrou que 5mU sofre dilatação anisotrópica dos eixos cristalinos. A partir de 380 K, 5mU tem uma estrutura triclinica (*P1*). Um segundo evento endotérmico iniciando em 426 K é imediatamente seguido por um evento exotérmico que termina em 432 K, indicando um evento de mudança de fase com recristalização da amostra. Esta análise é confirmada pelo DRXP que mostrou a formação de uma fase monoclinica (*P2<sub>1</sub>*), com a posterior fusão do material na temperatura próxima a 460 K. Assim, este trabalho ajuda a entender as propriedades teóricas de reatividade, térmicas, estruturais e vibracionais de 5mU, um nucleosídeo metilado com importantes funções biológicas.

**Capítulo 3 – Caracterização estrutural e vibracional da adenosina  
hidroclorídrica por DFT, análise da superfície de Hirshfeld e a  
altas pressões por espectroscopia Raman.**

## CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E VIBRACIONAL DA ADENOSINA HIDROCLORÍDRICA POR DFT, SUPERFÍCIE HIRSHFELD E A ALTAS PRESSÕES POR ESPECTROSCOPIA RAMAN

### RESUMO

O nucleosídeo adenosina é uma molécula de sinalização encontrada em todo o corpo humano que é importante para a fisiologia. Neste estudo, usamos a teoria do funcional da densidade (*DFT*), superfícies de Hirshfeld e espectroscopia Raman para investigar as propriedades estruturais e vibracionais da adenosina hidrocloreídrica. Os dados geométricos calculados mostraram muita similaridade com os dados experimentais, assim como os espectros Raman mostraram boa concordância entre os resultados teóricos e os observados. A análise da superfície de Hirshfeld mostra as interações de empacotamento de cristal e sua importância, bem como as quantidades relativas de cada interação na impressão digital 2D. O comportamento do cristal na faixa de 0,1 a 8,4 GPa foi estudado por espectroscopia Raman. A análise dos espectros Raman em altas pressões indica um comportamento bastante flexível do material cristalino, que começa a mudar sua estrutura em 0,4 GPa e tem evidências de mudanças constantes até 5,6 GPa conforme percebido pela observação das bandas na região dos modos de rede. Da análise dos modos internos, concluímos que o material sofre três transições de fase: na faixa de 0,4 – 0,7 GPa, entre 1,5 e 2,4 GPa, e na faixa de 3,5 a 5,2 GPa (uma transição de fase estrutural). Essas mudanças envolvem tanto as porções de adenina quanto ribose da molécula, bem como as interações intermoleculares efetuadas pelo átomo de cloro e entre as moléculas de adenosina. Essa flexibilidade pode estar relacionada às variadas funções biológicas que tanto a adenosina quanto o íon cloro exercem em sistemas bioquímicos.

**Palavras-chave:** nucleosídeo, adenosina hidrocloreídrica, DFT, análise de Hirshfeld, altas pressões, espectroscopia Raman, transição de fase.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A adenosina é um nucleosídeo formado pela união entre a base nitrogenada purina adenina e ribose, cristalizando no sistema monoclinico, grupo espacial  $P2_1$  e apresentando duas moléculas por célula unitária ( $Z = 2$ ) [23]. A reação da adenosina com o ácido clorídrico gera a adenosina hidrocloreídrica, mantendo o sistema cristalino e o grupo espacial, mas alterando os

parâmetros de rede, aumentando  $a$ ,  $b$  e  $\beta$  e diminuindo o parâmetro  $c$  em relação à adenosina pura. Além disso, na adenosina o átomo  $N1$  é protonado e o íon cloro se posiciona entre as duas moléculas de adenosina na célula unitária,  $Z = 2$  [19].

O nucleosídeo adenosina é uma molécula de sinalização extracelular ubíqua com funções essenciais na fisiologia humana. Esse nucleosídeo tem papel essencial no controle energético, atuando como “metabólito retaliatório” quando a degradação intracelular do trifosfato de adenosina ( $ATP$ ) supera a produção de  $ATP$ , além de ter funções hormonais, neurais, de agregação plaquetária e de diferenciação linfocitária. Essas propriedades são algumas das razões pelas quais a adenosina e seus derivados têm efeitos terapêuticos na maioria dos sistemas orgânicos [127].

Devido a sua importância biológica, os estudos identificaram que a adenosina tem 4 subtipos de receptores conhecidos: adenosina  $A_1$ ,  $A_{2A}$ ,  $A_{2B}$  e  $A_3$ . Esses receptores são membros das guaninas heterotrímeras ligadas a proteína (proteína G, uma relevante mediadora das vias metabólicas) acoplados a receptores ( $GPCR$ ), membros da família A [128–131]. O  $GPCR$  é ativado por meio da interação com o agonista no meio extracelular do receptor e propaga a sinalização para o meio intracelular de diversos processos fisiológicos como: neurotransmissão, crescimento, metabolismo, diferenciação celular, secreção e defesa imunológica [132–136]; por isso, os  $GPCRs$  são alvos relevantes de formulações farmacêuticas terapêuticas produzidas no mundo inteiro [137–147].

Além disso, a adenosina é uma molécula neuro moduladora presente em todo o espaço extracelular do sistema nervoso central, tem ação neuro protetora durante a hipóxia e lesão cerebral. Ademais, a adenosina pode controlar a expressão e a progressão de uma gama de condições neurológicas agudas e crônicas [148]. Adenosina também atua com a ativação de respostas anti-inflamatórias e imunossupressoras, visando promover a cicatrização e a homeostase tecidual [149].

A adição do íon cloro na estrutura cristalina da adenosina pode potencializar as atuações biológicas da adenosina pela presença do íon cloreto na estrutura desse material. Em estudos de simulação de dinâmica molecular, foi relatado que os íons cloreto interagem com a primeira camada de hidratação do  $DNA$ , sendo o grupo fosfato a maior região de interação dos íons cloretos [150]. O íon cloreto forma os denominados canais aniônicos, que podem atravessar membranas biológicas apenas com a ajuda de proteínas que atravessam a membrana, que permitem a difusão passiva de  $Cl^-$  ao longo de seu gradiente eletroquímico, ou proteínas transportadoras que acoplam o movimento de  $Cl^-$  ao de outros íons e pode assim estabelecer gradientes eletroquímicos [151–153]. Os canais de cloreto exercem as funções biológicas de



regulação do volume celular e seletividade a certos solutos orgânicos [154], transporte trans epitelial de eletrólitos e fluidos [155,156], regulação do pH do meio celular como contra-íon para  $Na^+$  e  $K^+$ , garantindo a neutralidade do sistema biológico [153]. Assim, a incorporação do ânion cloreto à estrutura cristalina da adenosina pode facilitar a interação biológica desse nucleosídeo.

A estabilidade e o comportamento de alta pressão de nucleosídeos formados por bases purinas foram estudados por espectroscopia Raman, como no caso da adenosina, que foi relatada como passando por uma transição de fase em 2,5 GPa [7] e desoxiadenosina monohidratada, que sofre transições de fase identificadas em 0,6–0,8, 2,0 e 4,5 GPa [82,83]. Além disso, as bases nitrogenadas purinas adenina e guanina foram estudadas até 45 kbar, com transições de fase sendo detectadas na faixa de 28–31 kbar (2,8–3,1 GPa) e 16–19 kbar (1,6–1,9 GPa), respectivamente [157].

Este trabalho tem como objetivo calcular o espectro Raman da adenosina hidrocloreídrica usando o método da teoria do funcional da densidade (*DFT*), analisar as superfícies de Hirshfeld e investigar o efeito das altas pressões na estabilidade dos cristais de adenosina hidrocloreídrica por meio de espectroscopia Raman. Além disso, busca compreender as propriedades e flexibilidade desse material devido à sua ampla atividade biológica como nucleosídeo adenosina e íon cloro.

## 3.2 METODOLOGIA

### 3.2.1 CRESCIMENTO DE CRISTAIS

Os monocristais de adenosina hidrocloreídrica – AC ( $C_{10}H_{13}N_5O_4 \cdot HCl$ ) foram sintetizados pelo método da evaporação lenta do solvente. Para o preparo da solução foi utilizado adenosina  $\geq 99\%$  (Sigma-Aldrich), ácido hidrocloreídrico 37% (Sigma-Aldrich), álcool etílico  $\geq 99,5\%$  (Sigma-Aldrich) e água deionizada. 0,5 g de adenosina foi adicionada à 9,0 mL de solução água:etanol (1:1), com posterior adição de 0,25 mL de ácido clorídrico. A solução foi preparada a 300 K e 100 rpm, com pH 2,4. Os monocristais foram obtidos após 5 (cinco) dias de repouso a 4°C e apresentam formatos irregulares, como apresentado na Figura 15.

**Figura 15.** Monocristal de adenosina hidroclorídrica.



Fonte: do próprio autor (2021).

### 3.2.2 ESTUDOS COMPUTACIONAIS

A estrutura para a adenosina hidroclorídrica foi obtida a partir de dados do *CIF* (*crystallographic information file*, significa arquivo de informações cristalográficas) do material [19]. Os cálculos de química quântica foram realizados a partir dos primeiros princípios usando a teoria do funcional da densidade [39,40], implementado no programa Orca 4.2.0 [101]. A otimização da geometria, frequências vibracionais e propriedades eletrônicas para este composto foram calculadas usando o funcional híbrido B3LYP [102,103], incluindo a correção de dispersão de Grimme para melhorar os efeitos da dispersão intramolecular [158]. O complexo conjunto de função de base triplo- $\zeta$  com funções de polarização def2-TZVP foram usados em todos os átomos [104]. Além disso, o modelo contínuo polarizável tipo condutor foi incluído para explicar o efeito de solvatação da água ( $\epsilon = 78,39$ ) [105].

O programa *VibAnalysis* foi utilizado para auxiliar na atribuição de modos vibracionais através da determinação automática de relevância do modo vibracional (*VMARD*). Este software usa regressão linear bayesiana com uma abordagem de determinação de relevância automática viável para decompor o movimento atômico como uma combinação de deslocamentos ao longo de coordenadas atômicas internas quimicamente significativas [106]. Um fator de escala de 0,96 foi usado para a região espectral de 2700 - 3400  $\text{cm}^{-1}$  [107].

### 3.2.3 ESTUDOS DA SUPERFÍCIE DE HIRSHFELD

A análise das superfícies de Hirshfeld foi realizada usando o software *CrystalExplorer* [159]. As superfícies de Hirshfeld foram gerados usando os dados de difração de raios X da adenosina hidroclorídrica [19] para construir modelos baseados na distribuição eletrônica

calculada como a soma das densidades eletrônicas atômicas esféricas, usando o raio de Van der Waals (vdW) e obteve como resultado uma superfície única [159–161]. O gráfico de  $d_{\text{norm}}$  foi criado usando uma escala de cores fixa de -0,53 (vermelho, distâncias menores que a soma dos raios vdW) passando pelo branco até 1,26 (azul, distâncias maiores que a soma dos raios vdW). As superfícies  $d_e$  são mapeadas em uma escala de cores fixa de 0,78 (vermelho, distâncias curtas) através do verde até 2,57 Å (azul, distâncias longas) [160]. Os gráficos de impressão digital 2D foram criados usando a escala de 0,4 a 2,6 Å, mostrando as escalas de distância  $d_e$  e  $d_i$  exibidas nos eixos do gráfico e incluindo contatos recíprocos.

### 3.2.2 CARACTERIZAÇÕES

A difração de raios X do pó (DRXP) a temperatura e pressão ambiente foi realizada em um difratômetro da PANalytical Empyrean, operando com radiação Cu – K $\alpha$  ( $\lambda = 1,5418$  Å), 40 kV e 40 mA. A análise foi realizada na faixa de 5 – 40° (2 $\theta$ ), passo de 0,02° e tempo de contagem de 2s por passo. O padrão de DRXP foi refinado usando o método Rietveld com o programa EXPGUI-GSAS [99,100], comparando os dados experimentais aos parâmetros apresentados na literatura [19].

As análises Raman foram realizadas no intervalo espectral de 30 a 3400 cm<sup>-1</sup> em um espectrômetro da Horiba Jobin Yvon, modelo T64000, equipado com um dispositivo sensível a carga (CCD) resfriado pelo efeito Peltier, com resolução espectral de 2cm<sup>-1</sup>. O equipamento possui um sistema micro-Raman com um microscópio Olympus BH40 com lente de distância focal  $f = 26,5$  mm, ampliação de 20x e abertura numérica de 0,25. A fonte de excitação foi um laser de Ar: Kr ( $\lambda = 514,5$  nm) da Innova 70C Spectrum model, na geometria de retroespalhamento.

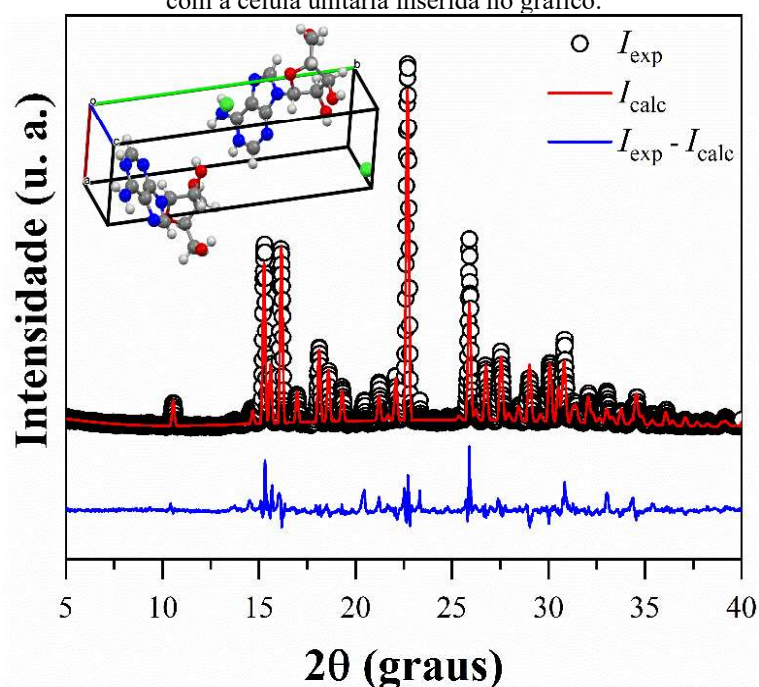
Para o estudo a altas pressões por espectroscopia Raman no intervalo de 0,1 a 8,4 GPa, foi utilizada uma célula de pressão a extremos de diamantes (*DAC*, do inglês *diamond anvil cell*), utilizando óleo mineral (Nujol) como meio transmissor de pressão, adicionando ao sistema um pequeno monocristal de adenosina hidrocloreídrica e outro de rubi (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:Cr<sup>3+</sup>), que possui uma propriedade luminescente regular que desloca 7,53cm<sup>-1</sup>/GPa [162–164], indicando a pressão hidrostática do meio. O óleo mineral pode transferir pressão para materiais cristalinos dentro do *DAC* com linearidade até a faixa de 5 a 7 GPa [165,166].

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 DRXP EM TEMPERATURA E PRESSÃO AMBIENTE

A Figura 16 apresenta o padrão DRXP refinado pelo método Rietveld para cristais de AC. Os dados obtidos indicam que a fase desejada foi obtida e os parâmetros de qualidade do refinamento ( $R_p = 13,04$  e  $S = 2,8$ ) apontam boa concordância entre os difratogramas experimental e calculado. Além disso, foi verificado que em condições de temperatura e pressão ambiente a amostra de AC cristaliza em um sistema monoclinico, grupo espacial  $P2_1$  ( $C_2^2$ ), contendo duas moléculas por célula unitária ( $Z=2$ ) e os seguintes parâmetros de rede refinados:  $a = 6,655(8)$  Å,  $b = 16,751(3)$  Å,  $c = 6,400(4)$  Å,  $V = 647,14(3)$  Å<sup>3</sup>, e  $\beta = 114,90(6)$  °. Esses valores têm uma boa concordância com os dados relatados na literatura [19]. A inserção na Figura 16 mostra a célula unitária da AC contendo duas moléculas de adenosina e dois átomos de cloro.

**Figura 16.** Refinamento de Rietveld do dado de DRXP de cristal de adenosina hidrocloreídrica (AC), com a célula unitária inserida no gráfico.



Fonte: do próprio autor (2022).

## 3.3.2 ESTUDOS EM QUÍMICA COMPUTACIONAL

## 3.3.2.1 Análise da estrutura otimizada da AC

A Tabela 5 apresenta os dados geométricos relativos aos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e diedros da adenosina hidrocloreídrica obtidos a partir de cálculos teóricos e dados experimentais. Em geral, os desvios entre os comprimentos de ligação calculados e experimentais são inferiores a 0,76%, exceto para a ligação C6–N1 (1,5%). As variações dos ângulos de ligação calculados apresentam um ligeiro aumento. Em particular, os ângulos do anel de ribose otimizados desviam em torno de 2,0%, incluindo os C3'—C2'—O2' e C4'—C3'—O3'. Um comportamento semelhante foi observado para os diedros calculados no anel ribose. Por exemplo, o N9—C1'—C2'—O2' relaxado apresenta desvio em torno de 4,3%, enquanto o O1'—C1'—C2'—O2' apresenta uma variação de 3,98%. Observe que várias ligações de hidrogênio mantêm a estrutura cristalina da AC. Em particular, a geometria do anel ribose da adenosina é afetada pela presença da ligação de hidrogênio O3'—H ···Cl. Em nossa simulação de fase gasosa, essa interação não foi levada em consideração, o que reflete na geometria relaxada. Apesar da falta de interações intermoleculares, nossa estrutura calculada ainda mostra uma boa concordância com os dados experimentais, produzindo um desvio médio absoluto de 1,02%. Isso nos permite usar a geometria da adenosina hidrocloreídrica relaxada para realizar seu cálculo vibracional e atribuições de suas vibrações de modo interno. A Figura 17 mostra a comparação entre a unidade assimétrica obtida dos dados a partir do *CIF* e a geometria otimizada obtida pelo cálculo *DFT*. Os átomos que formam a porção ribose são destacados com um apóstrofo para diferenciá-los dos átomos que compõem a adenina.

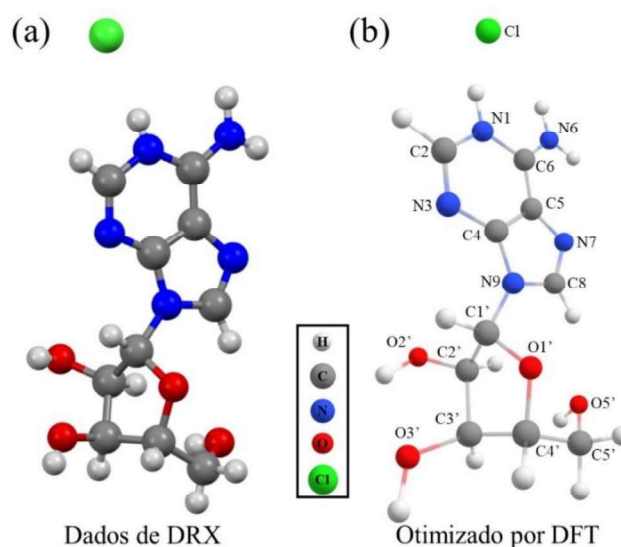
**Tabela 5.** Parâmetros geométricos de AC: comprimentos de ligação (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos diedros (°) a partir de dados experimentais de difração de raios X [19] e dados computados com *DFT*-B3LYP/def2-TZVP.

Comprimento de ligação (Å)			Ângulo de ligação (°)			Ângulo diedro (°)		
Ligação	DRX	Calc.	Ângulos	DRX	Calc.	Ângulos	DRX	Calc.
C1'—C2'	1,53	1,54	C2'—C1'—N9	113,00	113,50	C2'—C3'—C4'—C5'	-94,63	-93,56
C1'—N9	1,46	1,46	C2'—C1'—O1'	105,65	106,52	C2'—C3'—C4'—O1'	27,87	28,04
C1'—O1'	1,42	1,41	C1'—C2'—C3'	100,93	101,61	C3'—C2'—C1'—H	-88,27	-90,52
C2—N1	1,36	1,36	C1'—C2'—O2'	114,58	113,72	C4—C5—C6—N6	176,47	179,99
C2—N3	1,31	1,30	C1'—N9—C4	126,69	127,04	C4—N3—C2—H	175,06	179,84
C2'—C3'	1,53	1,53	C1'—N9—C8	127,51	127,04	C4'—O1'—C1'—H	103,72	106,58
C2'—O2'	1,41	1,41	C1'—O1'—C4'	109,83	110,81	C5—C4—N9—C1'	179,56	179,27
C3'—C4'	1,53	1,53	C2—N1—C6	124,14	124,70	C6—C5—N7—C8	176,63	179,94
C3'—O3'	1,43	1,43	C2—N3—C4	111,58	113,08	C6—N1—C2—H	175,46	179,78
C4—C5	1,39	1,40	C3'—C2'—O2'	115,52	113,08	N3—C2—N1—H8	172,78	179,95

C4 – N3	1,36	1,35	C2' – C3' – C4'	101,77	102,72	N3 – C4 – C5 – N7	179,48	179,63
C4 – N9	1,36	1,36	C2' – C3' – O3'	108,40	106,33	N3 – C4 – N9 – C8	-179,98	-179,67
C4' – C5'	1,51	1,52	C4' – C3' – O3'	109,52	111,83	N6 – C6 – N1 – C2	-178,47	-179,85
C4' – O1'	1,45	1,45	C3' – C4' – C5'	116,76	115,66	N7 – C5 – C6 – N1	-178,57	-179,63
C5 – C6	1,40	1,41	C3' – C4' – O1'	105,69	105,61	N7 – C8 – N9 – C1'	-179,12	-179,17
C5 – N7	1,38	1,38	C5 – C4 – N3	127,40	126,81	N9 – C1' – C2' – C3'	153,71	150,39
C5' – O5'	1,43	1,43	C5 – C4 – N9	105,61	105,26	N9 – C1' – C2' – O2'	-81,48	-84,98
C6 – N1	1,35	1,37	C4 – C5 – C6	118,14	117,67	N9 – C1' – O1' – C4'	-140,82	-136,41
C6 – N6	1,32	1,32	C4 – C5 – N7	111,25	110,87	N9 – C1' – O1' – C4'	-140,82	-136,41
C8 – N7	1,31	1,31	C4 – N9 – C8	105,80	106,38	N9 – C4 – C5 – C6	176,73	179,93
C8 – N9	1,38	1,38	C5' – C4' – O1'	109,89	109,78	N9 – C4 – N3 – C2	179,00	179,94
			C4' – C5' – O5'	114,76	113,31	O1' – C1' – C2' – O2'	161,62	155,19
			C6 – C5 – N7	130,50	131,46	O2' – C2' – C3' – C4'	-162,59	-158,37
			C5 – C6 – N1	113,56	114,01	O3' – C3' – C4' – C5'	150,78	152,81
			C5 – C6 – N6	126,07	126,08	O3' – C3' – C4' – H3	29,59	30,11
			C5 – N7 – C8	103,75	104,38	O3' – C3' – C4' – O1'	-86,72	-85,60
			N1 – C2 – N3	125,08	124,70			
			N9 – C1' – O1'	107,20	108,90			

Fonte: do próprio autor (2022).

Figura 17. Unidade assimétrica da AC: (a) obtida dos dados de DRX; (b) com a geometria otimizada pelo método *DFT* B3LYP/def2-TZVP.



Fonte: do próprio autor (2022).

### 3.3.2.2 Análise vibracional Raman

A adenosina hidrocloreídrica pertence ao grupo espacial  $P2_1$  ( $C_2^2$ ), com duas moléculas por célula unitária. O sistema cristalino apresenta 204 modos normais, considerando que há 72 átomos na célula unitária. A Tabela 3A da referência [117] nos fornece a informação de que os sítios de simetria  $C_1$  são ocupados por 2 átomos. Em termos de representação irreduzível do

grupo fator  $C_2$ , segundo a Tabela 3B da mesma referência, os modos normais de vibração são distribuídos como  $\Gamma_{\text{total}} = 102 A + 102 B$ . Isto posto, e baseado na Tabela 3E, os modos acústicos são  $\Gamma_{\text{acústico}} = A + 2B$  do total dos modos vibracionais,  $\Gamma_{\text{total}} = 102 A + 102 B$ , resultado em modos óticos que podem ser escritos como  $\Gamma_{\text{ótico}} = 101 A + 100 B$ . Os modos A e B são as representações irredutíveis associadas com modos ativos tanto no Raman quanto no infravermelho.

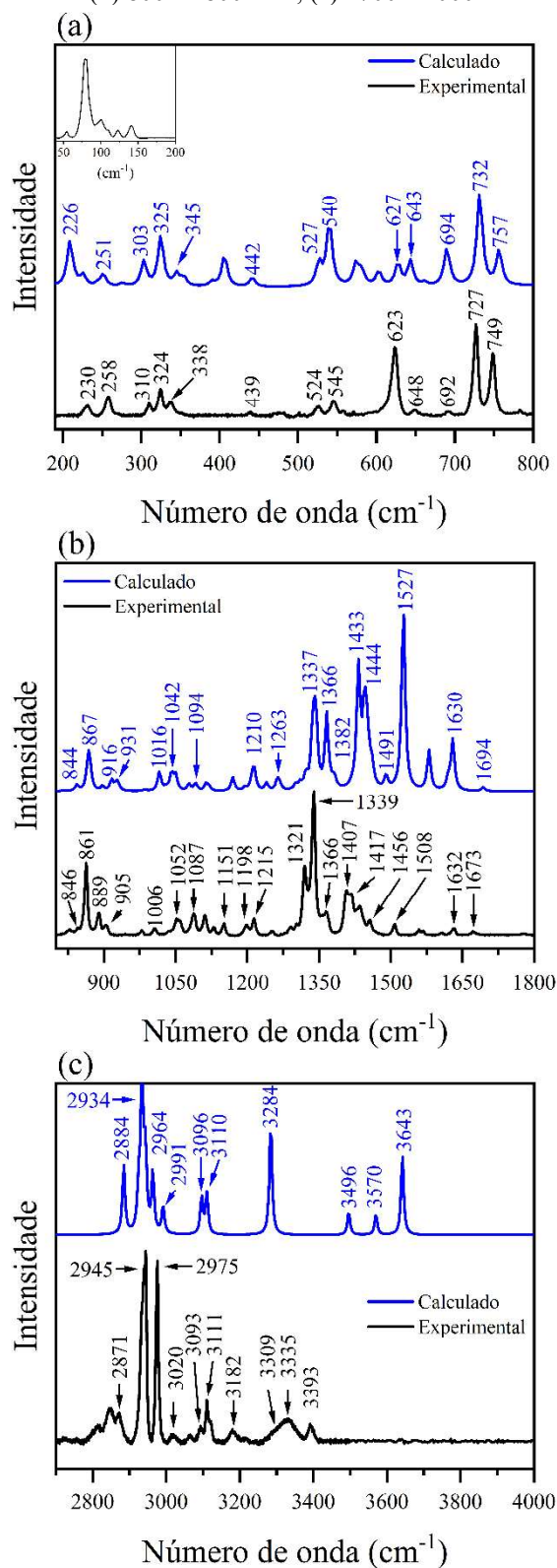
A Figura 18 mostra os espectros Raman experimentais e calculados para AC na faixa espectral entre 40 e 4000  $\text{cm}^{-1}$  do cristal de AC. As bandas Raman observadas e suas atribuições estão resumidas na Tabela 6.

A Figura 18(a) mostra a região espectral de 190 a 800  $\text{cm}^{-1}$ , com a inserção dos modos de rede do espectro experimental da região de 40 a 200  $\text{cm}^{-1}$  no canto superior esquerdo do gráfico. É importante notar que o cálculo vibracional foi realizado em um modelo de fase gasosa da unidade assimétrica do cristal da AC; portanto, nossa atribuição vibracional *DFT* não inclui modos normais abaixo de 200  $\text{cm}^{-1}$ . De fato, esta região espectral é comumente relacionada com movimentos coletivos de todos os átomos na célula unitária, incluindo vibrações ao longo de interações intermoleculares fracas (como ligações de hidrogênio e interações de Van der Waals). As oito bandas experimentais observadas nesta região espectral foram designadas como modos de rede e sua análise será essencial para discutir possíveis transições de fase no sistema cristalino da AC.

Na região espectral entre 200 e 800  $\text{cm}^{-1}$  é possível observar várias bandas. Essas vibrações se originam de movimento de torções e deformações angulares da porção purina e ribose da molécula de adenosina. As bandas Raman em 258, 338, 545, 648 e 749  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas como vibrações de estiramento e deformação angular do anel ribose. No estudo do cristal de adenosina, tem uma vibração do grupo ribose em 350, 538, 641 e 722  $\text{cm}^{-1}$  [167]. Uma banda bem definida e intensa é observada em 623 e 727  $\text{cm}^{-1}$  e origina-se de vibrações de *bending* e estiramento da ligação C—N da porção de adenina. Em estudos que analisam a estabilidade de compostos orgânicos durante a variação de temperatura e pressão, essas bandas podem ajudar a entender qual porção da molécula é mais suscetível a mudanças estruturais quando afetada por fatores termodinâmicos.

A Figura 18(b) contém a faixa espectral de 800 a 1800  $\text{cm}^{-1}$  dos espectros experimentais e calculados para o cristal de AC. Esta região espectral apresenta mais modos de estiramento, tanto de um par de átomos quanto de grupos moleculares. Além disso, tem algumas torções no plano e fora do plano, *wagging* e *scissoring*  $\text{CH}_2$ . As bandas em 1632 e 1673  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas a vibrações de estiramento dos átomos CC e CN.

**Figura 18.** Espectro Raman experimental e calculado da AC na faixa espectral de:  
 (a) 190 a 800  $\text{cm}^{-1}$  com a região experimental de 40 a 200  $\text{cm}^{-1}$  inserida no canto superior esquerdo.  
 (b) 800 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ , (c) 2700 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .



Fonte: do próprio autor (2022).



**Tabela 6.** Número de onda calculado ( $\omega_{\text{Calc}}$ ) e experimental ( $\omega_{\text{Raman}}$ ) dos espectros Raman da adenosina hidrocloreídrica com suas respectivas atribuições de modos de vibração, com atribuição provisória das bandas no espectro dentro da célula de pressão (DAC).

Banda	DAC	$\omega_{\text{Raman}}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\omega_{\text{Calc}}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuições (VMARD, %)
<i>a</i>	57	55		Modos de rede
	83	78		Modos de rede
<i>d</i>	89	83		Modos de rede
<i>e</i>	98	94		Modos de rede
<i>f</i>	104	100		Modos de rede
		109		Modos de rede
<i>g</i>	127	123		Modos de rede
<i>h</i>	151	141		Modos de rede
<i>i</i>	168	168	175	Modos de rede
	234	230	226	$\delta[\text{C4}'\text{C5}'\text{O5}'\text{H}]$ (11)
	260	258	251	$\delta[\text{ribose}]$ (14) + $\tau[\text{C5N7C8N9}]$ (10)
		269	275	$\tau[\text{adenina}]$ (12)
	311	310	303	$\delta[\text{C5C6N6}]$ (12) + $\delta[\text{C6C5N7}]$ (11)
	327	324	325	$\delta[\text{ribose}]$ (22) + $\delta[\text{adenina}]$ (14)
	341	338	345	$\tau[\text{C2}'\text{C1}'\text{N9C8}]$ (10) + $\tau[\text{ribose}]$ (10)
<b>1</b>		439	442	$\delta[\text{C1}'\text{C2}'\text{O2}']$ (10)
	528	524	527	$\delta[\text{C5C6N1}]$ (19) + $\nu[\text{C6N6}]$ (11) + $\delta[\text{C2N3C4}]$ (10) + $\nu[\text{C5N7}]$ (10)
	547	545	540	$\nu[\text{C2}'\text{O2}']$ (13) + $\nu[\text{C3}'\text{C4}']$ (11) + $\delta[\text{C3}'\text{C2}'\text{O2}']$ (10)
<b>2</b>	572	558	574	$\tau[\text{adenina}]$ (13)
	627	623	627	$\delta[\text{C4C5N7}]$ (16)
<b>3</b>	643	648	643	$\delta[\text{ribose}]$ (12) + $\delta[\text{adenina}]$ (10)
<b>4</b>	692	692	694	$\gamma[\text{C1}'\text{N9C4C8}]$ (11) + $\gamma[\text{C5C6N1N6}]$ (9,0)
	729	727	732	Breathing[adenina] (43) + $\nu[\text{C4N3}]$ (10)
<b>7</b>	752	749	757	Breathing[ribose] (33) + $\delta[\text{C1}'\text{O1}'\text{C4}']$ (10)
<b>8</b>	829	833	813	$\tau[\text{C4C5N7C8}]$ (18) + $\gamma[\text{C5C6N1N6}]$ (18) + $\tau[\text{C5C4N9C8}]$ (13)
	847	846	844	$\nu[\text{C1}'\text{N9}]$ (11)
	865	861	867	$\tau[\text{N7C5C6N1}]$ (19) + $\gamma[\text{C2N1C6H}]$ (18) + $\tau[\text{C2N1C6C5}]$ (14) + $\gamma[\text{C5C6N1N6}]$ (10)

<b>9</b>	890	889	916	$\delta[\text{N3C2N1}]$ (15) + $\delta[\text{adenina}]$ (14)	
	907	905	931	$\tau[\text{C2'C1'N9C4}]$ (12) + $\tau[\text{C2'C1'N9C8}]$ (12) + $\tau[\text{C4N9C8H}]$ (11)	
<b>10</b>	982	980	985	$\nu[\text{C5'O5'}]$ (10) + $\delta[\text{HC4'C3'H}]$ (10)	
	1008	1006	1016	$\nu[\text{C6N1}]$ (13) + $\rho[\text{N6H}_2]$ (10)	
<b>11</b>	1036	1034	1030	$\tau[\text{C2N1C6N6}]$ (20) + $\tau[\text{C4C5C6N6}]$ (18) + $\tau[\text{C2N3C4N9}]$ (12) + $\gamma[\text{HC2N1N3}]$ (12)	
<b>12</b>	1052	1052	1042	$\nu[\text{C1'O1'}]$ (15)	
	1064	1060	1050	$\nu[\text{C3'O'3}]$ (13)	
	1090	1087	1094	$\nu[\text{C2'O2'}]$ (10) + $\nu[\text{C1'O1'}]$ (9)	
	1115	1111	1114	$\nu[\text{ribose}]$ (27) + $\delta[\text{ribose}]$ (11)	
			1120	$\nu[\text{C2'O2'}]$ (17)	
	1154	1151	1210	$\delta[\text{C5'O5'H}]$ (17) + $\nu[\text{C5'O5'}]$ (11) + $\omega[\text{C5'H}_2]$ (10)	
			1240	$\delta[\text{C4N9C8H}]$ (15) + $\nu[\text{C1'N9}]$ (9)	
	1215	1215	1263	$t_w[\text{C5'H}_2]$ (12) +	
			1268	$\delta[\text{ribose}]$ (12)	
			1291	$\delta[\text{C4'C3'H}]$ (11)	
			1303	$\nu[\text{C5N7}]$ (9)	
			1321	$\nu[\text{C5N7}]$ (9)	
			1339	$\delta[\text{HO2'C2'H}]$ (10)	
			1359	1375	$\nu[\text{C2N3}]$ (14) + $\nu[\text{C8N7}]$ (10) + $\delta[\text{N3C2H}]$ (10)
					1382
<b><math>\alpha</math></b>			1409	1407	1433
<b><math>\beta</math></b>	1419	1417	1444	$\omega[\text{C5'H}_2]$ (12) + $\nu[\text{C8N7}]$ (10) + $\nu[\text{C4N9}]$ (10)	
<b><math>\delta</math></b>	1439	1435	1461	$\nu[\text{C6N6}]$ (19) + $\delta[\text{C6N1H}]$ (11)	
<b><math>\epsilon</math></b>	1458	1456	1491	$sc[\text{C5'H}_2]$ (41)	
<b><math>\eta</math></b>	1511	1508	1527	$\delta[\text{C4N9C8}]$ (12) + $\nu[\text{C8N7}]$ (11) + $\nu[\text{C4C5}]$ (10) + $\delta[\text{N7C8H}]$ (9)	
<b><math>\iota</math></b>	1562	1561	1580	$\nu[\text{C4N3}]$ (13) + $\nu[\text{C4C5}]$ (10) + $\nu[\text{C8N7}]$ (9)	
<b>o</b>	1635	1632	1630	$\nu[\text{C2N3}]$ (14) + $\nu[\text{C6N1}]$ (10)	
		1673	1694	$\nu[\text{C5C6}]$ (17) + $\nu[\text{C6N6}]$ (17) + $\nu[\text{C2N3}]$ (10)	
		2871	2884*	$\nu_s[\text{C5'H}_2]$ (85)	

		2945	2934*	$\nu$ [N1H] (75)
		2975	2964*	$\nu$ [C3'H] (77)
		3020	2991*	$\nu$ [C2'H] (76) + $\nu$ [C3'H] (10)
		3093	3096*	$\nu$ [C2H] (88)
		3111	3110*	$\nu$ [C8H] (81)
<b>A</b>	3186	3182	3284*	$\nu_s$ [N6H <sub>2</sub> ] (84)
		3309	3496*	$\nu_a$ [N6H <sub>2</sub> ] (97)
		3335	3570*	$\nu$ [O2'H] (95)
<b>B</b>	3391	3393	3643*	$\nu$ [O3'H] (78) + $\nu$ [O5'H] (21)

**Fonte:** do próprio autor (2022).

\*Usando o fator de escala de 0,96,

Nomenclatura:  $\nu$  – estiramento;  $\nu_s$  – estiramento simétrico;  $\nu_a$  – estiramento antissimétrico;  $\delta$  – deformação angular ou *bending*; *tw* – *twisting*; *sc* – tesoura;  $\omega$  – *wagging* ou abano;  $\tau$  – torsão;  $\gamma$  – vibração de torção fora do plano.

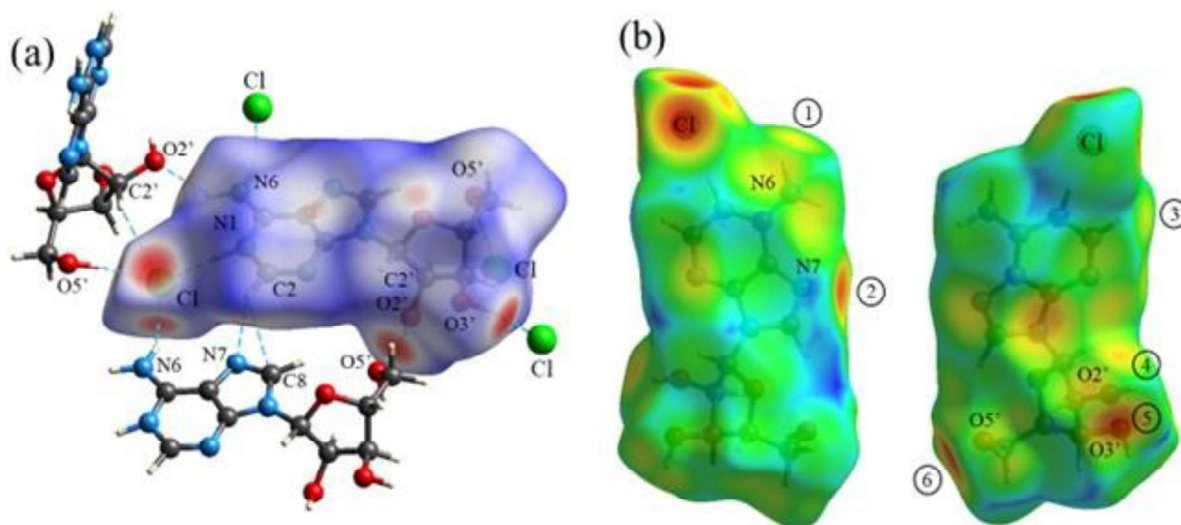
Na faixa espectral entre 200 e 1800  $\text{cm}^{-1}$  foram observadas vibrações entre os átomos que formam a ligação glicosídica, C1'—N9. As bandas em 324, 338 e 905  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas a torções no plano envolvendo os átomos da ligação glicosídica; enquanto as bandas identificadas em 692 e 861  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas à torção fora do plano. Além das torções, o estiramento C1'—N9 foi observado em 846 e 1198  $\text{cm}^{-1}$ . No estudo da molécula de adenosina, uma banda em 271  $\text{cm}^{-1}$  foi atribuída à torção [167] e em 1180  $\text{cm}^{-1}$  ao estiramento [7] da ligação glicosídica.

A Figura 18(c) mostra a faixa espectral de 2800 a 3550  $\text{cm}^{-1}$  da adenosina hidrocloreídrica. Essa região espectral pode indicar as influências das ligações de hidrogênio na rede cristalina, pois essas interações influenciam as bandas de estiramento dos grupos CH, OH e NH, vibrações atribuídas a essa faixa espectral. O estiramento CH,  $\nu$ [C – H], foi atribuído às bandas em 2975, 3020, 3093 e 3111  $\text{cm}^{-1}$ . A banda em 2871  $\text{cm}^{-1}$  foi identificada como indicativa de vibrações simétricas de estiramento das ligações CH<sub>2</sub>. A banda em 2945  $\text{cm}^{-1}$  foi associada ao estiramento da ligação N—H,  $\nu$ [NH]. As bandas em 3182 e 3309  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas ao estiramento simétrico e antissimétrico do grupo amina primária,  $\nu_s$ [N6H<sub>2</sub>] e  $\nu_a$ [N6H<sub>2</sub>], respectivamente. O estiramento do grupo hidroxila foi observado em 3335 e 3393  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\nu$ [O—H].

## 3.3.3 ANÁLISE DE SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD

As superfícies de Hirshfeld são mostradas na Figura 19, ilustrando superfícies que foram mapeadas sobre  $d_{\text{norm}}$  (a) e  $d_e$  (b). A Figura 19(a) destaca as interações intermoleculares que estabilizam a estrutura tridimensional do cristal de AC, com a unidade assimétrica dentro da superfície de Hirshfeld e átomos e moléculas vizinhos para ilustrar interações intra e intermoleculares. Como podemos observar, as interações envolvem a porção adenosina e ribose da molécula. Os átomos N1, N6, O3' e O5' atuam como doadores de prótons para a formação de ligações de hidrogênio (HB, do inglês *hydrogen bond*) com átomos de cloro. O átomo de O5' também atua como um aceptor de prótons ao interagir com o átomo de O2' de uma molécula de AC vizinha.

**Figura 19.** (a) Superfície de Hirshfeld para a adenosina hidrocloreídrica: (a) mapeada com  $d_{\text{norm}}$ . Interações inter e intramoleculares da unidade assimétrica com moléculas vizinhas são destacadas com linhas tracejadas em ciano. (b) mapeado com  $d_e$  para as vistas frontal (esquerda) e posterior (direita).



Fonte: do próprio autor (2023).

Além disso, o íon cloro da unidade assimétrica interage com o N1 da própria unidade e com os átomos C2', O5' e N6 de moléculas vizinhas. Também podemos notar as interações do átomo de carbono C2 com nitrogênio e carbono de uma molécula vizinha de adenosina, C2—H...N7 e C2—H...C8, respectivamente; essas interações entre duas porções de adenosina de moléculas vizinhas são afetadas pela interação entre nitrogênio e átomos de carbono (N7...C2).

As regiões vermelhas escuras na superfície  $d_{\text{norm}}$  indicam contatos de ligação de hidrogênio. Regiões com coloração azul na superfície indicam contatos mais longos e mais

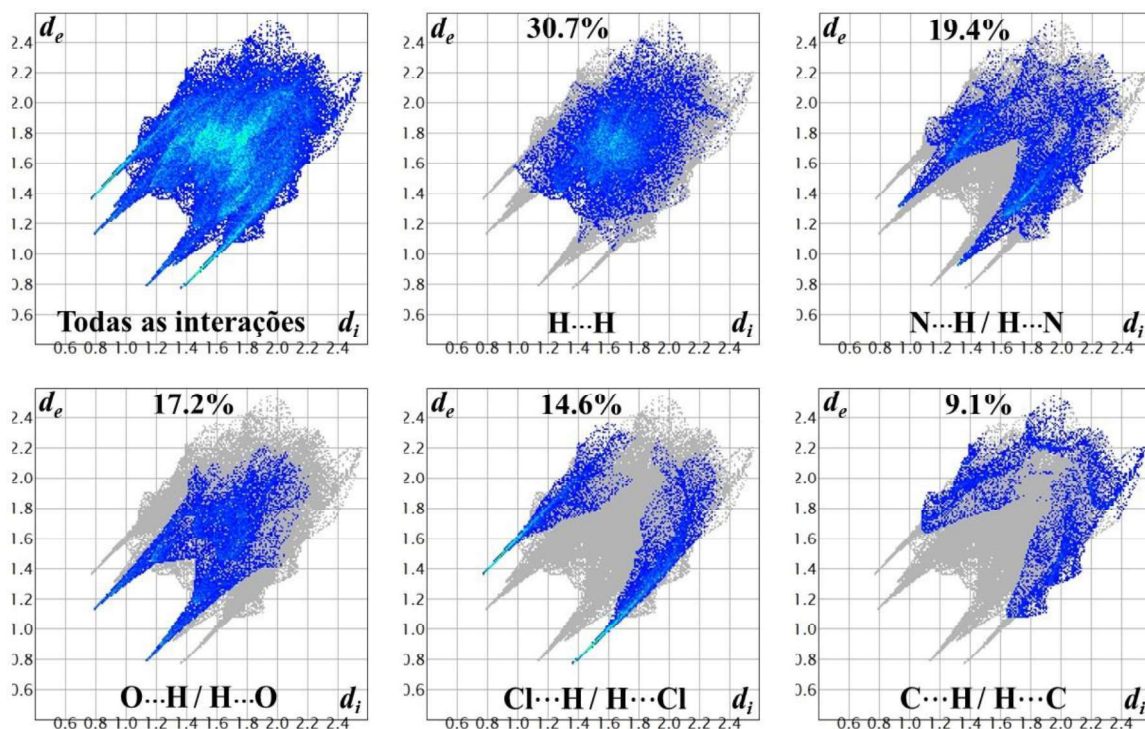
fracos além das ligações de hidrogênio. A Figura 19(b) exibe a superfície  $d_e$ , a distância de um ponto na superfície até o núcleo mais próximo fora da superfície [160], enfatizando os locais vermelhos (distâncias curtas) e amarelos (distâncias médias) na superfície, onde as interações intermoleculares são realizadas pelos átomos de cloro, N6 e N7 (indicados por 1 e 2, respectivamente), C2 (indicados por 3) e os átomos de oxigênio da ribose, O2', O3' e O5' (indicados por 4, 5 e 6, respectivamente), de átomos que estão dentro da superfície interagindo com átomos que estão ao redor da superfície  $d_e$ .

Além disso, é possível visualizar gráficos de impressão digital 2D que podem ser decompostos para quantificar as contribuições individuais de interações intermoleculares, com ênfase na ligação de hidrogênio (HB), geralmente exibida como picos na parte inferior esquerda dos gráficos de impressão digital [159,160,168].

Os gráficos de impressão digital 2D das interações intermoleculares são apresentados na Figura 20, com a quantidade de contribuição individual de cada interação intermolecular da estrutura cristalina. Uma característica comum entre as três interações realizadas pelas ligações de hidrogênio é o par de picos que aparecem na parte inferior esquerda do gráfico [160]. Nesta representação, o primeiro átomo representa o interior da superfície e o segundo indica o exterior da superfície, (dentro...fora). A interação H...H foi a mais frequente (30,7%). Os contatos N...H / H...N representam 19,4% de todas as interações; por sua vez, os contatos O...H / H...O representam 17,2 %; as interações Cl...H / H...Cl são de 14,6% e as interações C...H / H...C são de 9,1% das interações intermoleculares.

Outra forma de explorar as interações intermoleculares é avaliar a interação de um dos átomos dentro do HS com todos os outros átomos vizinhos da molécula (X-ALL) [169–171]. Assim, temos os contatos H-ALL, N-ALL, Cl-ALL, O-ALL e C-ALL com 57,2%, 12,6%, 11,3%, 10,8% e 8,1%, respectivamente. Considerando a análise da interação de todos os átomos dentro do HS com os átomos das moléculas vizinhas (ALL-X) [169–171], temos: interações ALL-H, ALL-N, ALL-Cl, ALL-O e ALL-C com 64,6%, 10,4%, 8,2%, 10,2% e 6,6%, respectivamente. Vimos que em ambas as situações as interações envolvendo átomos de H têm uma contribuição mais significativa, evidenciando a importância das ligações de H na rede cristalina; resultados semelhantes foram relatados para derivados de sulfonato de diaminopirimidina [169] e para cocristal de 2-amino-6-metilpiridina e ácido succínico [171]. Nota-se também que a interação ALL-O é maior que ALL-Cl, confirmando a maior quantidade de átomos de O na vizinhança interagindo com a unidade assimétrica.

**Figura 20.** Gráficos de impressão digital 2D resolvidos para a molécula de AC e em H...H, N...H/H...N, O...H/H...O, Cl...H/H...Cl e C...H/H...C contatos exibindo as porcentagens de contatos que contribuem para a área total da superfície de Hirshfeld.



Fonte: do próprio autor (2023).

Essas interações são fundamentais para o empacotamento cristalino. Além disso, essas informações sobre as interações moleculares desempenham papel essencial na estabilidade cristalina e na compreensão de possíveis modificações que a estrutura cristalina possa sofrer.

### 3.3.3 ANÁLISE DOS ESPECTROS RAMAN A ALTAS PRESSÕES

A Figura 21 mostra o comportamento do cristal AC na primeira faixa espectral de 50 a 300  $\text{cm}^{-1}$ , variando em pressão de 0,1 a 8,4 GPa. A Figura 22 mostra a evolução dos centros das bandas na faixa de pressão estudada para a primeira região espectral. Essa região espectral envolve movimentos nos quais cada molécula da célula unitária vibra como uma unidade junto com as outras moléculas da célula unitária. Esses modos são chamados de vibrações de rede externa e envolvem rotações proibidas em torno de seus centros de massa e translações oscilatórias. Seus números de onda são baixos, pois as forças restauradoras são devidas a ligações intermoleculares fracas e uma massa relativamente grande está envolvida porque as moléculas inteiras estão em movimento [5].

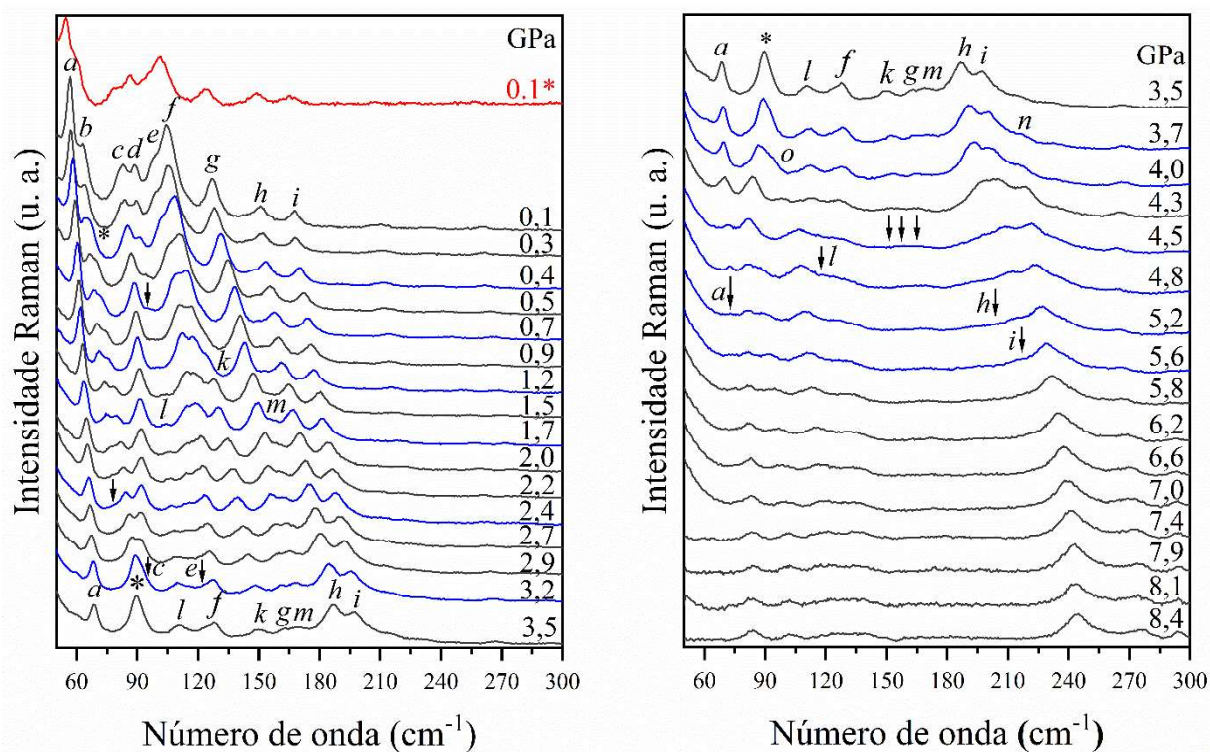
O cristal de AC apresenta um comportamento bastante flexível com o aumento da pressão, talvez devido às suas diversas funções biológicas, o material parece ter a propriedade de se conformar para se adaptar às mudanças do meio em que está inserido. Além disso, com o aumento da pressão, as bandas perdem intensidade e, na maioria das vezes, sofrem um aumento no número de onda (*blue shift*), conforme pode ser observado na Figura 22 e na Tabela 7.

Ao iniciar o processo de compressão hidrostática, a banda em  $67\text{ cm}^{-1}$  surge em 0,4 GPa (sinalizada por \*) enquanto a banda em  $94\text{ cm}^{-1}$  desaparece em 0,7 GPa, indicada por uma seta para baixo. Em 0,4 GPa, há uma descontinuidade das bandas em  $57, 63, 89, 98, 104$  e  $127\text{ cm}^{-1}$  (*a, b, d, e, f* e *g*), conforme mostrado na Figura 22. A banda indicada pela letra *a* é atribuída a uma torção envolvendo a ligação glicosídica (N9—C1') [167], e a mudança neste modo vibracional pode indicar alterações na estrutura cristalina da AC. Além disso, a descontinuidade dos modos indicados pelas letras *b* e *f* reforçam a sugestão do início de uma transição de fase, pois são vibrações atribuídas a torções da porção adenina e da porção ribose da molécula AC, respectivamente.

Na análise da molécula de adenosina em altas pressões, uma descontinuidade nos modos vibracionais foi relatada para bandas em  $57$  e  $104\text{ cm}^{-1}$  nas pressões em torno de 2,5 GPa, interpretada como um indicativo de uma transição de fase [7]. Com o aumento da pressão, mais 3 bandas aparecem em pressões posteriores:  $124\text{ cm}^{-1}$  em 1,2 GPa (letra *k*),  $104$  e  $156\text{ cm}^{-1}$  em 1,7 GPa (letras *l* e *m*, respectivamente).

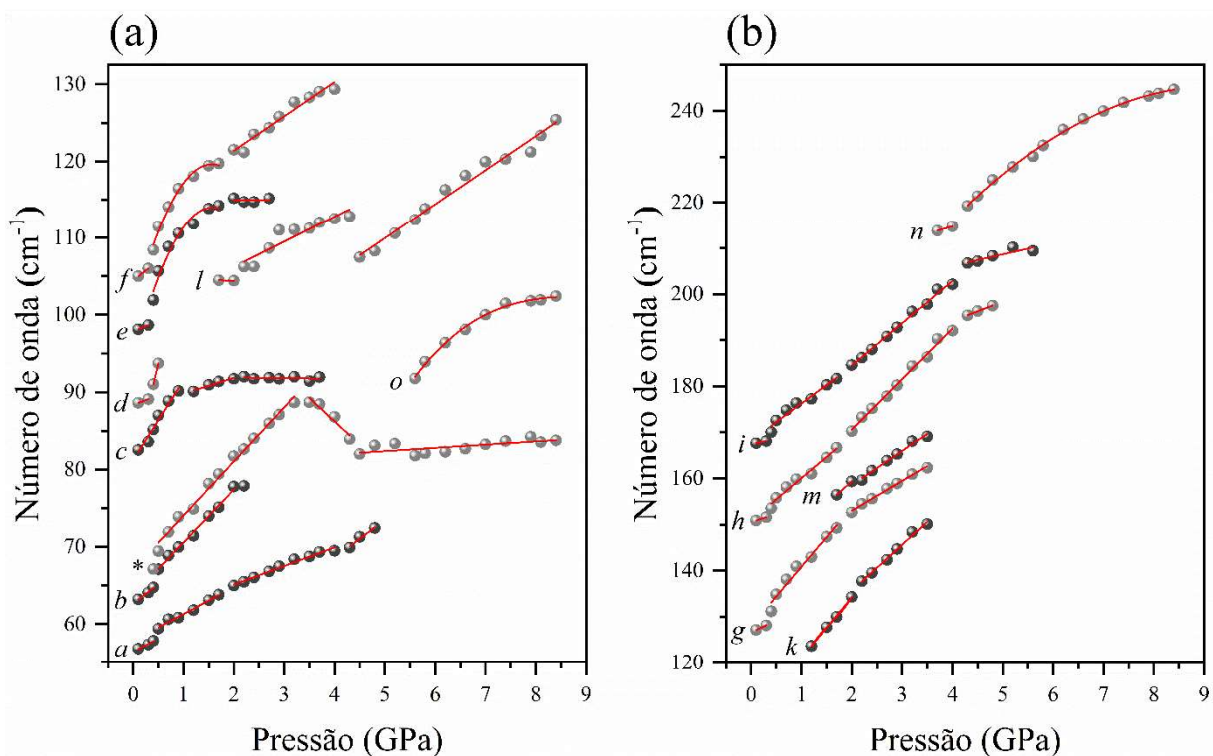
Em 2,4 GPa, a banda *b* desaparece em  $78\text{ cm}^{-1}$  (indicada por uma seta para baixo). A banda *b* foi associada a uma torção da porção ribose da molécula de AC,  $\tau[\text{HC5}'\text{C4}'\text{O1}'] + \tau[\text{O5}'\text{C5}'\text{C4}'\text{H}]$  [167], evidenciando uma possível alteração estrutural nesta faixa de pressão. Em 3,2 GPa, as bandas em  $92$  e  $138\text{ cm}^{-1}$ , letras *c* e *e*, desaparecem. A banda *c* está associada a uma vibração de torção da porção de adenina da molécula AC,  $\tau[\text{C5C4N9C8}]$  e  $\tau[\text{N7C8N9C4}]$  [167]. À medida que a pressão aumenta para 3,7 GPa, uma banda aparece em  $214\text{ cm}^{-1}$  (letra *n*) e em 4,0 GPa, outra banda aparece em  $92\text{ cm}^{-1}$  (letra *o*).

**Figura 21.** Evolução dos espectros Raman na faixa de 50 a 300  $\text{cm}^{-1}$  sob altas pressões, no intervalo da pressão de 0,1 até 8,4 GPa para a AC.



Fonte: do próprio autor (2022).

**Figura 22.** Gráfico  $d\omega/dP$  da AC na faixa de pressão de 0,1 a 8,4 GPa da faixa espectral de: (a) 55 a 132,5  $\text{cm}^{-1}$ ; (b) 120 a 250  $\text{cm}^{-1}$ .



Fonte: do próprio autor (2022).



Um fenômeno interessante a destacar é o acentuado deslocamento para menores números de onda (*red shift*) que a banda indicada com o \* sofre na faixa de pressão de 3,5 a 4,3 GPa, com inclinação de  $-6,0 \text{ cm}^{-1}/\text{GPa}$ , como pode ser visto na Figura 22(b) e na Tabela 7. Esse comportamento é semelhante ao modo *soft*, relatado para sistemas cristalinos inorgânicos [172]. Geralmente, o modo *soft* ocorre anterior a transição de fase.

A 4,5 GPa, as bandas *k*, *g* e *m* desaparecem ( $150$ ,  $162$  e  $169 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente). Em 5,2 GPa, as bandas em  $72$  e  $197 \text{ cm}^{-1}$  desaparecem, letras *a* e *h*, respectivamente. Na próxima pressão (5,6 GPa) a banda em  $209 \text{ cm}^{-1}$  desaparece (letra *i*). Não há mudanças significativas a partir de 5,6 até 8,4 GPa.

Esta primeira região espectral ( $< 200 \text{ cm}^{-1}$ ) caracteriza as possíveis transições de fase e formação de polimorfos em materiais orgânicos. Com o aumento da pressão, os cristais de AC sofrem muitas modificações. De fato, a inclusão de cloro na estrutura cristalina da AC parece aumentar a flexibilidade de suas ligações intermoleculares ao longo da rede. Em um estudo anterior de adenosina pura de 0 a 10 GPa, observou-se que os modos associados à ligação glicosídica e ao estiramento envolvendo o átomo de hidrogênio sofrem um enfraquecimento em torno de 2,5 GPa, levando os autores a concluírem a existência de uma transição de fase em torno dessa pressão [7]. Além disso, Martin et al. [7] relatam nos gráficos de número de onda vs. pressão que as bandas têm comportamento não lineares em outras faixas de pressão.

Esse comportamento também foi observado no estudo da desoxiadenosina monohidratada em altas pressões [82]. Os autores sugerem que ocorra uma transição de fase nesse material entre 0,6 e 0,8 GPa, devido a descontinuidades de algumas bandas e mudanças espectrais e relatam que essas variações continuam ocorrendo até a pressão final estudada de 5,6 GPa. No estudo do infravermelho médio da desoxiadenosina até 10 GPa, foram observadas alterações nas bandas associadas à porção desoxirribose da molécula nas pressões de 2,0 e 4,0 GPa, evidenciando a ocorrência de duas transições de fase [83]. A partir desses dois trabalhos, pode-se concluir que a desoxiadenosina sofre 3 transições de fase, nas faixas de 0,6 – 0,8; a 2,0 e a 4,0 GPa.

Assim, considerando nossa análise dos modos de rede da AC, concluímos que este material cristalino sofre 3 alterações: a primeira na faixa de 0,4 – 0,7 GPa, a segunda transição na faixa de 1,5 – 2,4 GPa e a terceira na faixa de 3,5 – 5,2 GPa. Além da primeira transição de fase a 0,4 GPa, as duas transições de fase subsequentes ocorrem em faixas de pressão mais altas, evidenciando que a estrutura cristalina sofre várias alterações com o aumento da pressão. A Figura 21 apresenta os espectros de decompressão (0,1\*) do material na faixa de 50 a 300  $\text{cm}^{-1}$ , com evidências de que as transições são reversíveis.

**Tabela 7.** Números de onda das bandas experimentais  $\omega_{Raman}$  associadas aos valores de pressão obtidos a partir dos coeficientes lineares  $\omega = \omega_0 + \alpha P$  e polinomial  $\omega = \omega_0 + \alpha P + \beta P^2$  para a AC.

$\omega_{Raman}$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Fase 1			Fase 2			Fase 3			Fase 4		
	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$ )	$\omega_0$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\alpha$ ( $\text{cm}^{-1}/\text{GPa}$ )
<i>a</i>	56,8	3,3 (5)	57,8 (2)	3,4 (2)	60,3 (4)	2,4 (1)	48,8 (9)	4,9 (8)	---	---	---	---
<i>b</i>	63,2	5,0 (6)	63,7 (3)	6,8 (2)	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>c</i>	82,5	10,3(9)	87,7 (5)	2,0 (3)	92,1 (5)	-0,09 (8)	---	---	---	---	---	---
<i>d</i>	88,6	2,4	80,3	26,9	---	---	---	---	---	---	---	---
<i>e</i>	98,1	2,8	94,3 (4)	$\alpha$ : 25,0 (1) $\beta$ : -7,9 (4)	114,7 (5)	0,1	---	---	---	---	---	---
<i>f</i>	105,0	5,1	100,6 (3)	$\alpha$ : 24,3 (9) $\beta$ : -7,8 (4)	112,5 (1)	4,5 (4)	---	---	---	---	---	---
<i>g</i>	127,1	5,0	128,0 (1)	12,9 (8)	140,1 (6)	6,4 (2)	---	---	---	---	---	---
<i>h</i>	150,9	3,6	150,9 (7)	9,2 (6)	148,6 (8)	10,9 (3)	177,3 (6)	4,2 (1)	---	---	---	---
<i>i</i>	167,7	2,2	168,2 (8)	8,0 (8)	166,2 (4)	9,2 (3)	196,3 (5)	2,5 (7)	---	---	---	---
<i>*</i>	67,1	---	67,0 (4)	7,0 (2)	110,4 (7)	-6,0 (2)	80,4 (8)	0,4 (5)	---	---	---	---
<i>k</i>	123,6	---	107,7 (6)	13,2 (4)	115,8 (3)	9,9 (4)	149,0 (5)	1,0 (1)	---	---	---	---
<i>l</i>	104,5	---	104,8	-0,2	99,7 (6)	3,2 (5)	87,6 (1)	4,5 (2)	---	---	---	---
<i>m</i>	156,4	---	140,0	9,7	143,7 (3)	7,4 (3)	---	---	---	---	---	---
<i>n</i>	213,8	---	---	---	202,0	3,2 (3)	155,3 (5)	$\alpha$ : 19,4(1) $\beta$ : -1,0 (1)	---	---	---	---
<i>o</i>	91,8	---	---	---	---	---	-68,4 (7)	$\alpha$ : 55,4 (5) $\beta$ : -6,0 (3)	---	---	---	---
	326,5	4,4 (8)	326,7 (3)	5,7 (6)	329,0 (8)	5,0 (3)	337,4 (3)	3,6 (7)	---	---	---	---

Capítulo 3 – AC a altas pressões

1	341,3	340,7 (5)	5,3 (7)	341,2 (7)	5,7 (5)	342,5 (2)	5,7 (4)	---	---
	351,6	351,3 (0)	2,9 (7)	350,9 (7)	4,9 (5)	340,0 (2)	10,0 (6)	369,5 (9)	4,3 (4)
	527,7	527,5 (1)	2,0 (3)	530,7 (3)	-3,0 (2)	523,6 (3)	0,6 (5)	520,2 (0)	1,8 (1)
2	547,1	546,2 (7)	5,5 (2)	549, 5 (4)	2,0 (3)	542,1 (7)	4,5 (3)	---	---
	571,6	571,5 (0)	0,6 (5)	572,2 (1)	0,3 (2)	572,9 (8)	-0,03	559,2 (1)	4,3 (3)
3	626,6	626,4 (1)	1,6 (4)	624,6 (5)	1,8 (4)	623,0 (3)	2,8 (9)	628,5 (8)	2,2 (3)
4	642,9	642,7 (1)	2,1 (2)	642,5 (4)	1,6 (4)	638,2 (8)	1,1 (0)	---	---
5	678,8	678,5 (2)	4,0 (5)	679,1 (7)	1,2 (5)	678, 4 (2)	1,9 (7)	---	---
6	692,3	691,8 (6)	6,17 (2)	693,6 (5)	3,0 (4)	690,9 (8)	4,6 (3)	804,2 (7)	-26,7 (6)
	728,6	728,3 (5)	3,5 (7)	729,5 (2)	3,0 (1)	729,2 (7)	3,3 (2)	734,5 (7)	1,5 (1)
7	751,8	751,6 (5)	2,0 (1)	752,0(3)	3,0 (2)	754,7 (8)	2,9 (7)	---	---
	784,1	784,2 (0)	-0,01 (2)	783,9 (2)	-0,2 (1)	786,5 (3)	-0,9 (8)	783,5 (4)	-0,5 (0)
8	829,4	829,6	-1,9	833,4 (0)	-19,2 (0)	---	---	---	---
	846,6	846,3 (1)	1,9 (8)	846,7 (1)	2,3 (1)	847,3 (4)	1,9 (8)	848,0 (3)	1,7 (0)
	864,8	864,7	0,7	864,6 (2)	3,1 (2)	867,1 (5)	2,2 (3)	861,2 (2)	3,3 (2)
9	889,9	889,9 (6)	1,6 (5)	891,2 (4)	-0,1 (2)	895,9 (3)	-2,2 (5)	---	---
	906,8	906,1 (2)	5,9 (7)	908,2 (4)	3,4 (5)	908,5 (3)	3,6 (5)	917,8 (2)	1,3 (2)
10	982,0	982,2 (1)	-1,5 (6)	981,7 (8)	0,7 (6)	976,5 (8)	3,3 (2)	974,1 (7)	1,5 (4)
	1007,9	1007,4 (6)	3,8 (7)	1010,1 (3)	1,0 (2)	1016,8 (4)	-2,0 (2)	997,6 (9)	0,6 (5)
11	1035,9	1035,2 (7)	5,4 (3)	1036,4 (2)	1,1 (2)	1036,7 (5)	1,1 (3)	---	---
12	1052,0	1051,7 (2)	2,1 (2)	1051,4 (2)	4,1 (2)	1052,1 (5)	3,8 (7)	---	---
	1063,6	1063,4 (2)	2,0 (1)	1064,2 (3)	1,6 (5)	1065,6 (7)	1,0 (2)	1060,2 (8)	2,4 (1)
	1089,7	1089,2 (7)	3,4 (5)	1089,9 (2)	3,0 (1)	1094,8 (9)	1,4 (5)	1083,4 (2)	2,6 (2)
	1115,1	1115,0 (1)	-0,5 (4)	1114,7 (4)	4,1 (2)	1112,0 (8)	5,0 (3)	1125,9 (6)	0,9 (7)
	1154,3	1153,7 (6)	4,4 (2)	1154,9 (3)	3,9 (7)	1155,6 (5)	3,8 (5)	1159,8 (7)	1,6 (5)

Capítulo 3 – AC a altas pressões

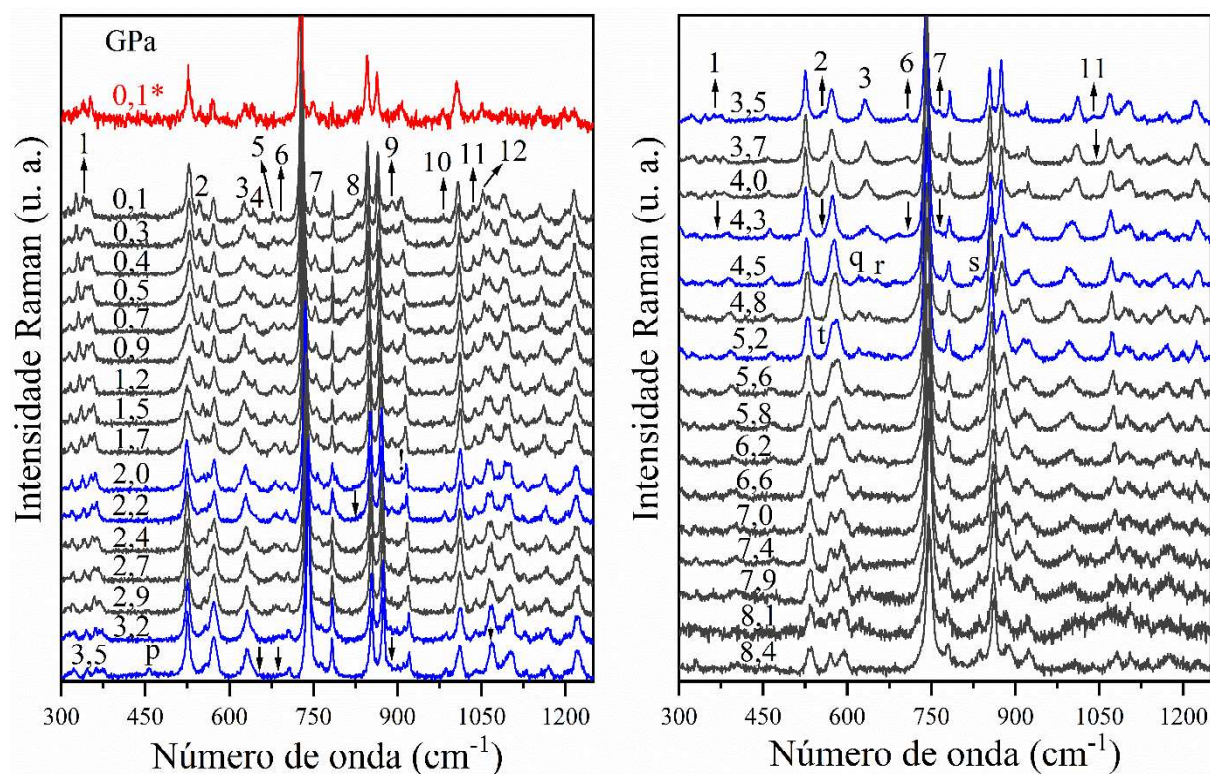
1201,7	1201,6 (1)	0,4 (3)	1199,6 (3)	2,9 (8)	1202,1 (6)	-0,03 (2)	1200,1 (6)	-0,3 (2)
1215,4	1215,3 (1)	1,1 (3)	1215,1 (2)	1,7 (6)	1211,2 (8)	3,1 (2)	1224,6 (1)	-0,03 (2)
! 908,5	---	---	---	---	903,1 (6)	2,7 (5)	903,4 (0)	2,1 (2)
p 456,8	---	---	---	---	441,5 (3)	4,4 (6)	457,1 (3)	1,5 (4)
q 621,4	---	---	---	---	---	---	616,4 (6)	1,0 (3)
r 653,5	---	---	---	---	---	---	641,5 (9)	2,5 (7)
s 829,4	---	---	---	---	---	---	821,5 (9)	1,7 (6)
t 572,8	---	---	---	---	---	---	576,8 (4)	-0,7 (0)
$\alpha$ 1409,3	1408,8 (1)	3,1 (3)	1412,2 (3)	1,4 (2)	1411,0 (1)	2,4 (2)	1417,5 (0)	1,5 (2)
$\beta$ 1419,3	1419,1 (2)	2,3 (5)	1419,2 (3)	2,8 (7)	1417,6 (4)	3,7 (6)	1425,9 (6)	2,6 (2)
$\gamma$ 1429,1	149,1	-0,2	---	---	---	---	---	---
$\delta$ 1439,1	1439,1	0,1	1437,7 (1)	2,8 (9)	1435,1 (5)	3,7 (8)	1442,7 (6)	1,6 (4)
$\epsilon$ 1457,9	1457,8	1,4	1458,5 (2)	3,0 (2)	1456,7 (6)	4,0 (2)	1459,3 (7)	3,9 (7)
$\eta$ 1510,6	1509,8 (2)	6,1 (4)	1511,0 (4)	3,6 (5)	1511,8 (7)	3,2 (3)	1517,9 (1)	1,2 (3)
$\iota$ 1562,0	1561,5 (8)	3,9 (6)	1562,7 (2)	3,5 (6)	1563,0 (4)	3,6 (5)	1565,7 (8)	2,8 (9)
$\kappa$ 1610,5	1610,2 (4)	2,2 (0)	1613,3 (2)	0,8 (7)	1612,6 (3)	1,0 (2)	1615,2 (1)	1,0 (2)
$\omicron$ 1634,8	1634,9 (5)	-1,4 (3)	1636,2 (4)	1,4 (3)	1637,3 (2)	0,8 (7)	---	---
$\rho$ 1430,7	---	---	---	---	---	---	1420,4 (6)	2,1 (2)
$\pi$ 1460,0	---	---	---	---	---	---	1448,3 (1)	2,8 (6)
A 3186,0	3185,4	5,9	3184,5 (0)	-7,5 (4)	---	---	---	---
B 3390,9	3390,8	0,6	3391,5 (7)	-15,1 (6)	3376,7 (3)	-9,1 (3)	---	---

Fonte: do próprio autor (2022).

A Figura 23 mostra a evolução do espectro Raman de 0,1 a 8,4 GPa na faixa espectral de 300 a 1250  $\text{cm}^{-1}$ . Uma banda surge em 909  $\text{cm}^{-1}$  (indicada por !) a 2,0 GPa. A banda identificada pelo número 8 em 829  $\text{cm}^{-1}$  ( $\tau[\text{C4C5N7C8}] + \gamma[\text{C5C6N1N6}] + \tau[\text{C5C4N9C8}]$ ) sofre um acentuado *red shift* até 2,0 GPa e desaparece no espectro seguinte, em 2,2 GPa. Este fato pode ser mais bem percebido ao analisar a Figura 24 e a Tabela 6, que ilustram o número de onda dos modos em função da pressão na faixa espectral de 300 a 1250  $\text{cm}^{-1}$ . Como pode ser visto na rede cristalina, algumas interações são realizadas com esses átomos: (i) existe uma ligação de hidrogênio entre os átomos de nitrogênio e cloro,  $\text{N1—H}\cdots\text{Cl}$ ; (ii) N6 interage com átomos de Cl e O2'; e (iii) C8 interage com o grupo  $\text{C2—H}$  de uma molécula vizinha na rede cristalina,  $\text{C8}\cdots\text{H—C2}$ , e o carbono C8 está ligado ao nitrogênio N9, que participa da ligação glicosídica (ver Figura 19). O desaparecimento desta banda em 2,0 GPa pode indicar uma mudança na conformação molecular do cristal AC.

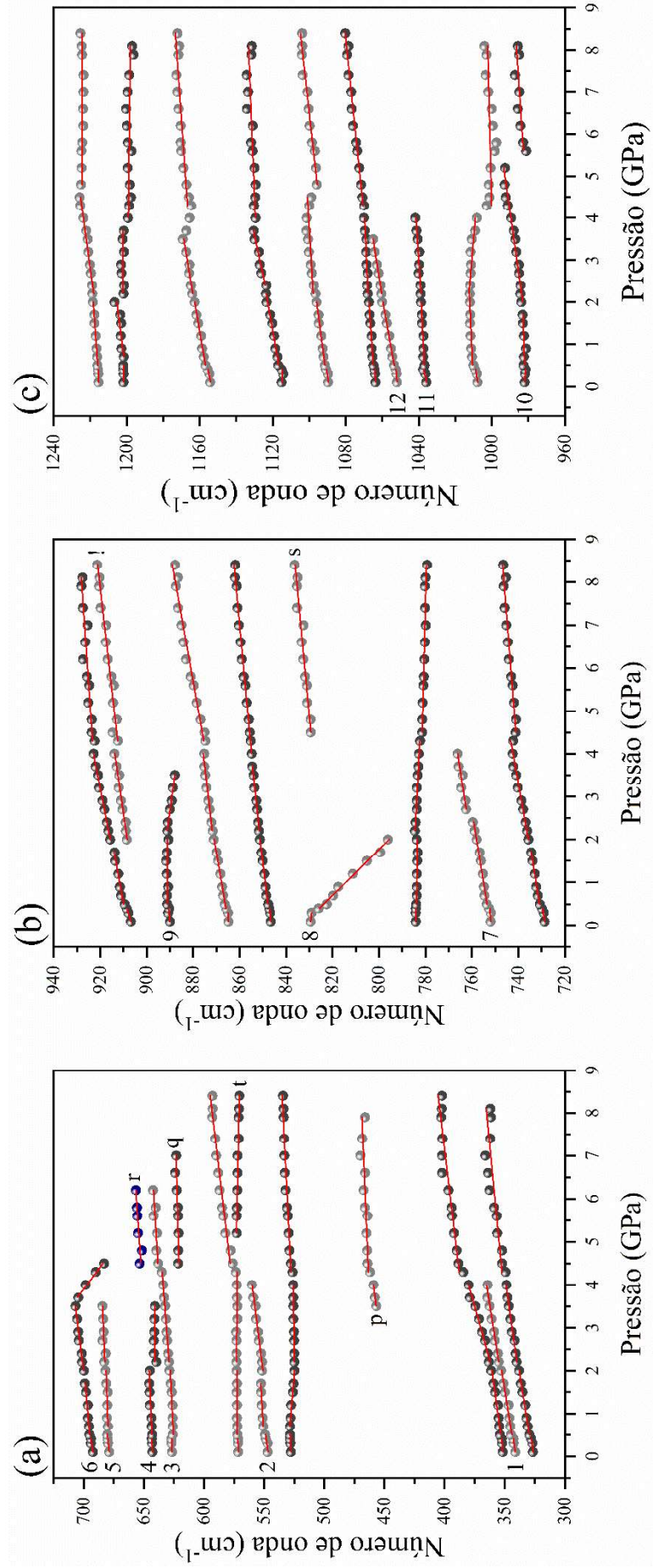
A Figura 24 e a Tabela 6 mostram que as bandas em 784  $\text{cm}^{-1}$ , 829  $\text{cm}^{-1}$  (8) e 890  $\text{cm}^{-1}$  (9) apresentam um  $d\omega/dP$  negativo na fase 1, indicando um enfraquecimento dessas vibrações com o aumento da pressão e indicando uma possível alteração em torno de 0,4 GPa.

**Figura 23.** Espectros Raman da AC no intervalo de pressão de 0,1 – 8,4 GPa na faixa espectral de 300 a 1250  $\text{cm}^{-1}$ .



Fonte: do próprio autor (2022).

**Figura 24.** Gráfico de número de onda versus pressão da AC na faixa de pressão de 0,1 a 8,4 GPa nas faixas espectrais de: (a) 300 a 725  $\text{cm}^{-1}$ ; (b) 720 a 940  $\text{cm}^{-1}$ ; (c) 960 a 1240  $\text{cm}^{-1}$ .



Fonte: do próprio autor (2022).

Por volta de 2,0 GPa, a banda em  $646\text{ cm}^{-1}$ , atribuída às vibrações do acoplamento adenina-ribose,  $\delta[\text{ribose}] + \delta[\text{adenina}]$  (banda 4 na Figura 24), sofre um *red shift*, uma anomalia semelhante foi relatada na transição de fase sofrida pela adenosina em altas pressões relacionadas a uma banda em torno de  $641\text{ cm}^{-1}$  [7]. A análise da Tabela 6 juntamente com a Figura 24, mostram três bandas com valores  $d\omega/dP$  negativos:  $784\text{ cm}^{-1}$ ,  $829\text{ cm}^{-1}$  (8) e  $890\text{ cm}^{-1}$  (9), apresentando um comportamento associado à transição de fase nesta faixa de pressão. A molécula de adenosina estudada em altas pressões apresentou anomalias no  $d\omega/dP$  das bandas em  $722$  e  $824\text{ cm}^{-1}$  próximas a 2,5 GPa, o que levou os autores a apontarem uma transição de fase nessa faixa de pressão [7]. Essas mudanças em torno de 2,0 GPa coincidem com as mudanças ocorridas na primeira região espectral e reforçam a suposição de uma transição de fase nesta faixa de pressão.

Em 3,5 GPa, uma banda desaparece em  $890\text{ cm}^{-1}$  (número 9), atribuída ao *bending* do anel de adenina,  $\delta[\text{N3C2N1}] + \delta[\text{adenina}]$ . Continuando a análise da Figura 23 e da Figura 24, notamos o desaparecimento da banda 4 no espectro de 3,5 GPa; esta banda foi atribuída como vibrações na ribose acopladas com vibrações na adenina. Além disso, no espectro de 3,5 GPa há o aparecimento de uma banda fraca em  $456\text{ cm}^{-1}$  (letra p) e o desaparecimento da banda 5 em  $\sim 690\text{ cm}^{-1}$ . Além disso, a banda marcada como 6 na Figura 24 sofre uma mudança acentuada para números de onda mais baixos na faixa de pressão entre 3,7 – 4,5 GPa, com um valor de inclinação de  $-26,7\text{ cm}^{-1}/\text{GPa}$  em Tabela 6, indicando um enfraquecimento desse modo vibracional e que, em 4,8 GPa, ele desaparece. Com essas mudanças relatadas até agora, percebemos que todas as porções da molécula de adenosina hidrocloreídrica sofrem mudanças em suas posições espaciais com o aumento da pressão.

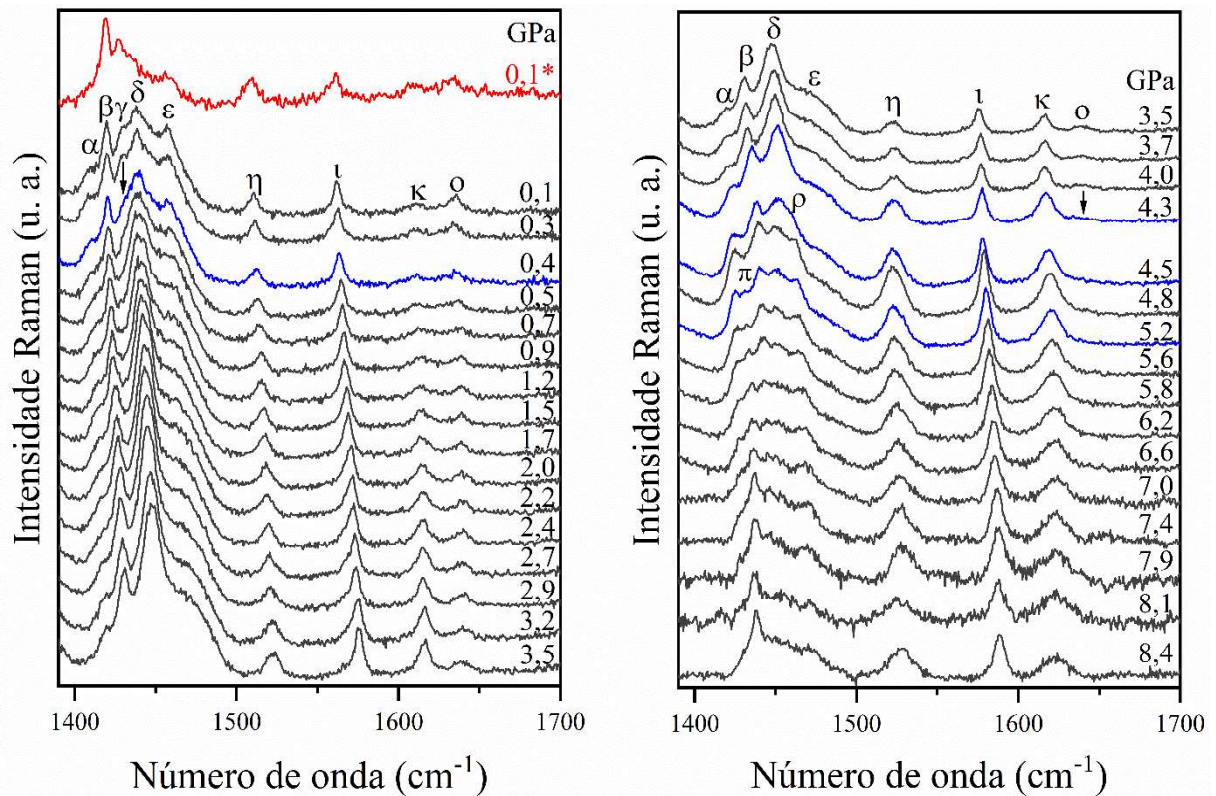
Com a elevação da pressão, na Figura 23 e na Figura 24, notamos o desaparecimento da banda 1 ( $\tau[\text{C2'C1'N9C8}] + \tau[\text{ribose}]$ ), que além das torções na ribose, inclui a torção envolvendo a ligação glicosídica, na pressão de 4,0 GPa em  $365\text{ cm}^{-1}$ . Na pressão de 4,3 GPa, a banda 2 desaparece em  $560\text{ cm}^{-1}$ , ( $\nu[\text{C2'O2'}] + \nu[\text{C3'C4'}] + \delta[\text{C3'C2'O2'}]$ ), e a banda 7 em  $766\text{ cm}^{-1}$  relacionado à ribose (respiração[ribose] +  $\delta[\text{C1'O1'C4'}]$ ). Essas mudanças somadas às que ocorrem na primeira região espectral indicam uma mudança na estrutura cristalina da molécula.

Aumentando a pressão para 4,5 GPa, aparecem 3 bandas: em  $621$ ,  $654$  e  $829\text{ cm}^{-1}$ , indicadas pelas letras q, r e s, respectivamente. Em 5,2 GPa, uma banda aparece em  $573\text{ cm}^{-1}$ , indicada pela letra t. Conforme relatado anteriormente, ocorrem alterações nas bandas associadas às porções de adenina e ribose da molécula de AC. A "maleabilidade" desta biomolécula pode estar relacionada com as várias funções biológicas que a molécula de adenosina e o íon cloro desempenham no sistema biológico humano, sendo uma molécula que

apresenta um comportamento adaptativo às alterações do ambiente e sugerindo a ocorrência de duas transições de fase: a segunda em torno de 1,5 a 2,4 GPa e a terceira na faixa de 3,5 a 5,2 GPa. A Figura 23 apresenta as análises de descompressão (0,1\*) na região espectral de 300 a 1250  $\text{cm}^{-1}$  de AC e mostra a reversibilidade das três transições de fase.

A Figura 25 apresenta a evolução dos espectros de pressão Raman de 0,1 a 8,4 GPa para os cristais AC na terceira faixa espectral que compreende de 1390 a 1700  $\text{cm}^{-1}$ , e a Figura 26(b) mostra o gráfico que segue o comportamento dos modos vibracionais com aumentando a pressão na faixa espectral de 1400 a 3400  $\text{cm}^{-1}$ . Em 0,4 GPa, notamos a primeira mudança que ocorre na banda em 1429  $\text{cm}^{-1}$ . Essa alteração coincide com as mudanças ocorridas na primeira região espectral que apresentou a primeira transição de fase desse cristal.

**Figura 25.** Análise Raman da AC na faixa de pressão de 0,1 a 8,4 GPa na região espectral de 1390 – 1700  $\text{cm}^{-1}$ .



**Fonte:** do próprio autor (2022).

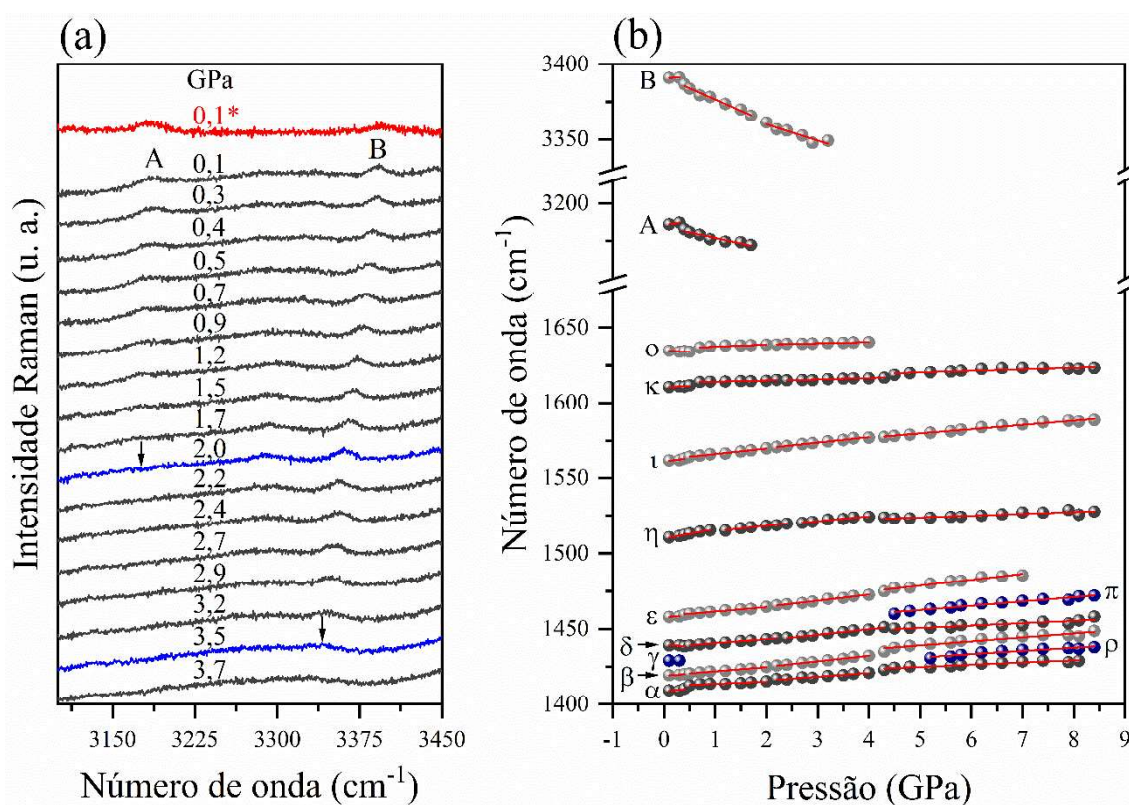
A região espectral de 1390 a 1700  $\text{cm}^{-1}$  apresentou menos mudanças em comparação com as duas regiões espectrais discutidas anteriormente. Após a modificação em 0,4 GPa, a banda indicada pela letra grega o (ômicron) sofre deslocamento para maiores número de onda (*blue shift*) e perde intensidade com o aumento da pressão e desaparece em 4,3 GPa. Nesta faixa espectral também há o aparecimento de uma banda em 1460  $\text{cm}^{-1}$  ( $\rho$ ) em 4,5 GPa e outra banda



em  $1430\text{ cm}^{-1}$  em  $5,2\text{ GPa}$  ( $\pi$ ). Essas mudanças coincidem com as que ocorreram na primeira e segunda regiões espectrais, adicionando mais evidências de uma transição de fase em torno de  $4,0\text{ GPa}$ . O espectro de descompressão identificado como  $0,1^*$  mostra que as alterações que a AC sofre durante a compressão são processos reversíveis.

A Figura 26(a) mostra os espectros Raman de compressão na faixa de  $3100 - 3450\text{ cm}^{-1}$  para o intervalo de pressão de  $0,1$  a  $3,7\text{ GPa}$ . Com o auxílio da Figura 26(b) e da Tabela 7, verificamos que as bandas em  $3186$  e  $3391\text{ cm}^{-1}$  (sinalizadas como A e B, respectivamente), sofrem um desvio para menores números de onda em  $P > 0,3\text{ GPa}$ . Isso indica um enfraquecimento da ligação química e, conseqüentemente, um fortalecimento das interações intermoleculares que envolvem essas vibrações moleculares de estiramento das ligações N—H e O—H [5].

**Figura 26.** Espectros Raman do cristal de adenosina hidroclorídrica na faixa de  $3100$  a  $3450\text{ cm}^{-1}$  na faixa de pressão de  $0,1$  a  $3,7\text{ GPa}$ : (a) compressão, (b) descompressão.



Fonte: do próprio autor (2022).

À medida que a pressão era elevada, a banda A desapareceu em  $2,0\text{ GPa}$ . A banda A foi atribuída ao estiramento simétrico do grupo amina primária,  $\nu_s[\text{N6H}_2]$ , que interage através de ligações de hidrogênio com os átomos Cl e O2'. A Figura 26(b) mostra a evolução do número

de onda das bandas pelo aumento de pressão na região espectral de 1400 a 3400  $\text{cm}^{-1}$ , evidenciando as mudanças espectrais relatadas. As alterações nas vibrações desse grupo sugerem mudanças na organização espacial do cristal, devido às interações que realizam, sugerindo a ocorrência de uma mudança na distribuição dos átomos a uma pressão de 2,0 GPa.

Na pressão de 3,5 GPa, a banda B desaparece. A banda B é atribuída ao estiramento O—H,  $\nu[\text{O3}'\text{H}]$  e  $\nu[\text{O5}'\text{H}]$ , que interage com o cloro e com o átomo de  $\text{O2}'$ , sugerindo uma mudança nesta faixa de pressão. A análise dos espectros de descompressão da região espectral de 2700 a 3450  $\text{cm}^{-1}$  (0,1\*) justifica a flexibilidade do material em exibir espectros de descompressão qualitativamente como os espectros de compressão, evidenciando o caráter reversível do cristal de AC.

As constantes alterações causadas no cristal de adenosina hidrocloreídrica com o aumento da pressão indicam uma transição de fase conformacional na faixa de 0,4 – 0,7 GPa, com evidência na região do modo de rede e na terceira região espectral. Com a evolução da pressão, a molécula tende a sofrer mudanças sucessivas em sua conformação molecular, como visto em torno de 1,5 – 2,4 GPa, faixa de pressão que ocorre a segunda transição de fase conformacional, com alterações em 3 regiões espectrais; e a terceira faixa de alterações, de 3,5 a 5,2 GPa, foi evidenciada por alterações em todas as regiões espectrais estudadas, por isso, possivelmente, há alteração no grupo espacial da molécula, caracterizando esta transição de fase como estrutural. Com a continuação do experimento a altas pressões, os espectros continuam sofrendo modificações, algo que acontece durante quase todo o experimento, sugerindo que a molécula se adapta à alteração do meio em que está inserida, apresentando um comportamento de camaleão. Isso pode estar ligado às suas diversas ações nos sistemas biológicos, onde a molécula se adapta ao ambiente para continuar exercendo suas atividades biológicas.

O estudo dos nucleosídeos a altas pressões foram realizados para a adenosina, desoxiadenosina, citidina, uridina e timidina. Uma evidência comum entre elas é o fato de vibrações atribuídas a grupos que tem influência nas ligações intermoleculares sofrerem alterações nas faixas de transições apresentadas na Tabela 8, além do surgimento e desaparecimento de modos vibracionais. As mesmas evidências foram constatadas ao estudar a adenosina hidrocloreídrica a altas pressões por espectroscopia Raman.

**Tabela 8.** Relação dos nucleosídeos estudados a altas pressões por espectroscopia Raman e suas faixas de alterações na estrutura cristalina, em GPa.

Nucleosídeos	Faixa de evidências de mudanças na estrutura cristalina (GPa)	Referências
Adenosina	2,5	[7]
Desoxiadenosina	0,6 – 0,8 / 2,0 / 4,0	[82,83]
Adenosina hidrocloreídrica	0,4 – 0,7 / 1,5 – 2,4 / 3,5 – 5,2	Este trabalho
Citidina	4,0	[5]
Uridina	1,2	[8]
Timidina	0,5 – 1,0 / 3,0	[84]

### 3.4 CONCLUSÃO

O estudo *DFT* da biomolécula de adenosina hidrocloreídrica apresentou resultados geométricos calculados semelhantes aos experimentais. Com isso, foi realizado o cálculo das frequências vibracionais da AC. A análise de superfície de Hirshfeld mostrou as interações intermoleculares, com ênfase nas ligações de hidrogênio, além de indicar a contribuição de cada interação para o empacotamento cristalino. A análise do comportamento do AC por espectroscopia Raman na faixa de pressão de 0,1 a 8,4 GPa mostrou que este cristal sofre 3 transições de fase: (i) a 0,4 – 0,7 GPa, (ii) na faixa de 1,5 – 2,4 GPa e (iii) na faixa de 3,5 a 5,2 GPa, com mudanças nos modos de rede nessas faixas de pressão. A primeira transição de fase conformacional ainda é justificada na terceira região espectral, devido a mudanças na porção de adenina da molécula de AC. A segunda transição de fase conformacional foi evidenciada por mudanças em três regiões espectrais, com desaparecimento dos modos vibracionais ligados à adenina, principalmente o estiramento simétrico N6H<sub>2</sub> que interage por ligações de hidrogênio com os átomos de Cl e O2'. A terceira transição de fase estrutural é evidenciada por mudanças em todas as regiões espectrais e envolve toda a molécula de AC. Além disso, após sofrer as primeiras mudanças a uma pressão de 0,4 GPa, o material sofre mudanças contínuas no espectro vibracional, indicando alterações na conformação da estrutura cristalina. Na análise de descompressão, os espectros de todas as regiões apresentam semelhanças com os espectros de compressão, mostrando que as modificações são reversíveis.

## CONCLUSÃO GERAL

O método *DFT* usando o funcional B3LYP e a função de base def2-TZVP produzem espectros vibracionais calculados que são muito semelhantes aos espectros experimentais para a 5mU e para a AC, com base nos fatos observados.

No estudo da 5-metiluridina semi hidratada (5mU) a altas temperaturas, averiguamos que o material sofre dois processos de desidratação seguido de uma recristalização para a forma anidra nas temperaturas de 380, 410-420 e em torno de 430 K, respectivamente. As faixas de temperaturas das transformações foram similares entre as técnicas experimentais utilizadas nesse estudo: *TGA*, *DSC*, *DRXP* e espectroscopia Raman. No estudo de *DRXP* dos difratogramas a altas temperaturas, foi verificado que o material sofre alterações do sistema cristalino ortorrômbico ( $P2_12_12$ ) para triclínico ( $P1$ ), que compreende a fase que a estrutura cristalina sofre desidratação; e, finalmente, para monoclinico ( $P2_1$ ) na forma anidra. No acompanhamento do aquecimento do material por espectroscopia Raman, foi notado desaparecimento de bandas e inversão de intensidade em modos vibracionais atribuídos as LH formadas entre a molécula de 5mU e a água.

Na investigação do comportamento da adenosina hidrocloreídrica (AC) a altas pressões por espectroscopia Raman, foi verificado que a estrutura cristalina é flexível à elevação da pressão, com o material “se adaptando” a cada etapa do processo, ou seja, conformando sua estrutura para se adaptar as novas condições do meio ao qual a amostra está inserida. Os espectros do cristal de AC começam a apresentar modificações a partir de 0,4 GPa, e continua exibindo variações constantes até a pressão de 5,6 GPa, com evidências que o material tenha 3 alterações na sua estrutura: no intervalo espectral de 0,4 – 0,7 GPa, entre 1,5 e 2,4 GPa e na faixa de 3,5 a 5,2 GPa, sendo as duas primeiras transições consideradas conformacionais e a terceira e última foi considerada como transição de fase estrutural, por conter alterações em todas as regiões espectrais estudadas. As constantes mudanças são evidenciadas por modos associados a todas as porções da molécula de AC. Com esses fatos, argumentamos que esse material tem um comportamento de “camaleão”, devido as suas constantes modificações.

## Perspectivas

Como perspectiva, pretendíamos estudar a 5-metiluridina semihidratada e a 5-metilcitosina a altas pressões por espectroscopia Raman, porém, devido a pandemia, algumas análises foram atrasadas e não foi possível apresentar os resultados desses materiais

neste trabalho, porém, parte da análise desses resultados estão em andamento para posterior publicação.

O interesse em relação à 5-metilcitosina foi devido a constatações que a metilação da citosina (que gera a 5-metilcitosina) está sendo estudada como uma molécula marcadora de modificações no DNA, sendo relacionada, nos últimos anos, a longevidade e qualidade de vida. Por isso, temos o interesse de estudar essa biomolécula de interesse epigenético.

Além disso, durante o desenvolvimento deste trabalho e dos estudos bibliográficos, percebi a importância da biomolécula de adenosina, sendo muito promissora sua combinação com outros materiais de interesse biológico com o objetivo de gerar novas drogas que tenham aplicação na área da saúde, principalmente no que tange o sistema nervoso e os processos energéticos.

## REFERÊNCIAS

- [1] IUCr, *Cristalografia e aplicações : no íntimo da matéria*, in: S. Schneegans (Ed.), UNESCO, Paris, 2014.
- [2] I.L. Torriani, *Cristalografia: uma ciência multidisciplinar*, *Cienc Cult.* 66 (2014) 4–5. <https://doi.org/10.21800/s0009-67252014000300002>.
- [3] M. Fleck, A.M. Petrosyan, *Salts of amino acids: crystallization, structure and properties*, 1st ed., Springer International Publishing, New York, 2014. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06299-0>.
- [4] L. Beyere, P. Arboleda, V. Monga, G.R. Loppnow, The dependence of thymine and thymidine Raman spectra on solvent, *Can. J. Chem.* 82 (2004) 1092–1101. <https://doi.org/10.1139/V04-052>.
- [5] J. Li, S.A. Lee, D.A. Pinnick, A. Anderson, W. Smith, R.H. Griffey, V. Mohan, R.H. Sarma, Raman and Infrared Studies of Nucleosides at High Pressures : II . Cytidine, *J Biomol Struct Dyn.* 19 (2002) 37–41. <https://doi.org/10.1080/07391102.2002.10506814>.
- [6] S.A. Lee, A. Anderson, W. Smith, R.H. Griffey, V. Mohan, Temperature-dependent Raman and infrared spectra of nucleosides . Part I — adenosine, *Journal of Raman Spectroscopy.* 31 (2000) 891–896.
- [7] K.C. Martin, D.A. Pinnick, S.A. Lee, A. Anderson, W. Smith, R.H. Griffey, V. Mohan, Raman and Infrared Studies of Nucleosides at High Pressures : I . Adenosine, *J Biomol Struct Dyn.* (1999) 37–41. <https://doi.org/10.1080/07391102.1999.10508324>.
- [8] Y. Huang, I.S. Butler, Micro-Raman spectra of crystalline uridine at high pressures, *Journal of Raman Spectroscopy.* 21 (1990) 381–383. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250210610>.
- [9] M. Mathlouthi, A.-M. Seuvre, J.L. Koenig, FTIR and laser-Raman spectra of thymine and thymidine, *Carbohydr Res.* 134 (1984) 23–38.
- [10] S.A. Lee, J. Li, A. Anderson, W. Smith, R.H. Griffey, V. Mohan, Temperature-dependent Raman and infrared spectra of nucleosides . II — Cytidine, *Journal of Raman Spectroscopy.* 32 (2001) 795–802.
- [11] D.L. Nelson, M.M. Cox, *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, 7th ed., Artmed, Porto Alegre, 2018.

- [12] E.A. Green, R.D. Rosenstein, R. Shiono, D.J. Abraham, B.L. Trus, R.E. Marsh, The crystal structure of uridine, *Acta Crystallogr B.* 31 (1975) 102–107. <https://doi.org/10.1107/S0567740875002178>.
- [13] D.J. Hunt, E. Subramanian, The crystal structure of 5-methyluridine, *Acta Crystallogr B.* 25 (1969) 2144–2152. <https://doi.org/10.1107/S0567740869005267>.
- [14] L.J.H. Thiesen, N. Cabral, M.J. e Silva, G. Bezerra, B. Doboszewski, Larger laboratory scale synthesis of 5-methyluridine and formal synthesis of its L-enantiomer, *Arkivoc.* 2017 (2017) 249–264. <https://doi.org/10.24820/ark.5550190.p010.101>.
- [15] M. Ishii, H. Shirae, K. Yokozeki, Enzymatic Production of 5-Methyluridine from Purine Nucleosides and Thymine by *Erwinia carotovora* AJ-2992, *Agric Biol Chem.* 53 (1989) 3209–3218. <https://doi.org/10.1080/00021369.1989.10869860>.
- [16] H. An, T. Wang, M.A. Maier, M. Manoharan, B.S. Ross, P.D. Cook, Synthesis of Novel 3'-C-Methylene Thymidine and 5-Methyluridine/Cytidine H-Phosphonates and Phosphoramidites for New Backbone Modification of Oligonucleotides, *J Org Chem.* 66 (2001) 2789–2801. <https://doi.org/10.1021/jo001699u>.
- [17] A. Cravador, Os DNA sintéticos anti-sentido, *Quim Nova.* 21 (1998) 441. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421998000400013>.
- [18] T.F. Lai, R.E. Marsh, The crystal structure of adenosine, *Acta Crystallogr B.* 28 (1972) 1982–1989. <https://doi.org/10.1107/S0567740872005394>.
- [19] K. Shikata, T. Ueki, T. Mitsui, The Crystal and Molecular Structure of Adenosine Hydrochloride, *Acta Crystallogr B.* 29 (1973) 31–38. <https://doi.org/10.1107/S0567740873001937>.
- [20] J. Layland, D. Carrick, M. Lee, K. Oldroyd, C. Berry, Adenosine: Physiology, pharmacology, and clinical applications, *JACC Cardiovasc Interv.* 7 (2014) 581–591. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2014.02.009>.
- [21] H.G.E. Lloyd, B.B. Fredholm, Involvement of adenosine deaminase and adenosine kinase in regulating extracellular adenosine concentration in rat hippocampal slices, *Neurochem Int.* 26 (1995) 387–395. [https://doi.org/10.1016/0197-0186\(94\)00144-J](https://doi.org/10.1016/0197-0186(94)00144-J).
- [22] K.N. Jarzemska, K. Ślepokura, R. Kamiński, M.J. Gutmann, P.M. Dominiak, K. Woźniak, Multi-temperature study of potassium uridine-5'-monophosphate:

- electron density distribution and anharmonic motion modelling, *Acta Crystallogr B Struct Sci Cryst Eng Mater.* 73 (2017) 550–564. <https://doi.org/10.1107/S2052520617005534>.
- [23] T.F. Lai, R.E. Marsh, The crystal structure of adenosine, *Acta Crystallogr B.* 28 (1972) 1982–1989. <https://doi.org/10.1107/s0567740872005394>.
- [24] S.A. Lee, M. Schwenker, A. Anderson, L. Lettress, Temperature-dependent Raman and infrared spectra of nucleosides . IV — Deoxyadenosine, *Journal of Raman Spectroscopy.* 35 (2004) 324–331. <https://doi.org/10.1002/jrs.1166>.
- [25] F.M. Barboza, *Estudo das Propriedades Vibracionais do Cristal de Timidina em Condições Extremas de Pressão e Temperatura*, D, Fortaleza, 2017.
- [26] J. Li, S.A. Lee, A. Anderson, L. Lettress, R.H. Griffey, V. Mohan, Temperature-dependent Raman and infrared spectra of nucleosides . III — deoxycytidine, *Journal of Raman Spectroscopy.* 34 (2003) 183–191. <https://doi.org/10.1002/jrs.973>.
- [27] B.D. Cullitty, R.S. Stock, *Elements of X-ray diffraction*, 3rd ed., Addison-Wesley Publishing Company Inc., 2001.
- [28] A. Clearfield, J. Reibenspies, N. Bruvanesh, *Principles and Applications of Powder Diffraction*, 1st ed., John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2008.
- [29] V.K. Pecharsky, P.Y. Zavalij, *Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials*, 2nd ed., Springer, New York, 2009.
- [30] E. Smith, G. Dent, Introduction, Basic Theory and Principles, in: *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Chichester - England, 2019: pp. 1–20.
- [31] B. Schrader, General survey of vibrational spectroscopy, in: B. Schrader (Ed.), *Infrared and Raman Spectroscopy*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, 1990: pp. 7–61. <https://doi.org/10.1002/9783527615438.ch02>.
- [32] D. Steele, Infrared Spectroscopy: Theory, in: J.M. Chalmers (Ed.), *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2006: pp. 1–27. <https://doi.org/10.1002/0470027320.s0103>.
- [33] R. Bottom, Thermogravimetric Analysis, in: P. Gabbott (Ed.), *Principles and Applications of Thermal Analysis*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2008: pp. 87–118. <https://doi.org/10.1002/9780470697702.ch3>.
- [34] S.R. Byrn, G. Zografi, X. Chen, Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetric Analysis, in: *Solid State Properties of Pharmaceutical*



- Materials, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2017: pp. 124–141. <https://doi.org/10.1002/9781119264408.ch10>.
- [35] P.J. Haines, Introduction to thermal methods, in: *Thermal Methods of Analysis*, Springer Netherlands, Dordrecht, 1995: pp. 1–21. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3_1).
- [36] P. Gabbott, A Practical Introduction to Differential Scanning Calorimetry, in: *Principles and Applications of Thermal Analysis*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, n.d.: pp. 1–50. <https://doi.org/10.1002/9780470697702.ch1>.
- [37] P.J. Haines, F.W. Wilburn, Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry, in: *Thermal Methods of Analysis*, Springer Netherlands, Dordrecht, 1995: pp. 63–122. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3_3).
- [38] N.H. Morgon, R. Custodio, Teoria do funcional da densidade, *Quim Nova*. 18 (1995) 44–55.
- [39] P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous Electron Gas, *Physical Review*. 136 (1964) B864–B871. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>.
- [40] W. Kohn, L.J. Sham, Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects, *Physical Review*. 140 (1965) A1133–A1138. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>.
- [41] Kieron Burke, *The ABC of DFT*, University of California, Irvine, 2007.
- [42] E.G. Lewars, Density Functional Calculations, in: *Computational Chemistry*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2011: pp. 445–519. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-3862-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3862-3_7).
- [43] R.J. Maurer, C. Freysoldt, A.M. Reilly, J.G. Brandenburg, O.T. Hofmann, T. Björkman, S. Lebègue, A. Tkatchenko, *Advances in Density-Functional Calculations for Materials Modeling*, *Annu Rev Mater Res*. 49 (2019) 1–30. <https://doi.org/10.1146/annurev-matsci-070218-010143>.
- [44] W. Kohn, Nobel Lecture: Electronic structure of matter—wave functions and density functionals, *Rev Mod Phys*. 71 (1999) 1253–1266. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.71.1253>.
- [45] L. Rademaker, *A Practical Introduction to Density Functional Theory*, (2020). <https://doi.org/arXiv.2011.09888>.
- [46] K. Capelle, A bird’s-eye view of density-functional theory, *Brazilian Journal of Physics*. 36 (2006) 1318–1343. <https://doi.org/10.1590/S0103-97332006000700035>.

- [47] E. Wimmer, Density Functional Theory for Solids, Surfaces, and Molecules: From Energy Bands to Molecular Bonds, in: Density Functional Methods in Chemistry, Springer New York, New York, NY, 1991: pp. 7–31. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3136-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3136-3_2).
- [48] Wolfram. Koch, M.C. Holthausen, Elementary Quantum Chemistry, in: A Chemist's Guide to Density Functional Theory, Wiley, 2001: pp. 3–18. <https://doi.org/10.1002/3527600043.ch1>.
- [49] E.K.H. Salje, Crystallography and structural phase transitions, an introduction, Acta Crystallogr A. 47 (1991) 453–469. <https://doi.org/10.1107/S0108767391004300>.
- [50] A.S. de Menezes, F.M. Ardito, A.O. dos Santos, A.J.D. Moreno, R.J.C. Lima, M.A. Hayashi, L.P. Cardoso, Characterization of the time-dependent L-asparagine monohydrate crystal phase transition, J Appl Crystallogr. 44 (2011) 954–957. <https://doi.org/10.1107/S002188981103322X>.
- [51] I.C.V. Bento, P.T.C. Freire, F.E. a. Melo, J. Mendes Filho, a. J.D. Moreno, M.R. Joya, P.S. Pizani, High temperature phase transition in monohydrated L-asparagine crystal, Solid State Commun. 141 (2007) 29–32. <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2006.09.041>.
- [52] E. Boldyreva, High-pressure studies of organic molecular crystals, Acta Crystallogr A. 62 (2006) s96–s96. <https://doi.org/10.1107/S0108767306098084>.
- [53] P.F. Façanha Filho, P.T.C. Freire, F.E. a. Melo, V. Lemos, J. Mendes Filho, P.S. Pizani, D.Z. Rossatto, Pressure-induced phase transitions in L-leucine crystal, Journal of Raman Spectroscopy. 40 (2009) 46–51. <https://doi.org/10.1002/jrs.2071>.
- [54] P.F.F. Filho, P.T.C. Freire, G.P. De Sousa, F.E. a. Melo, a. O. dos Santos, P.R.S. Ribeiro, a. J.D. Moreno, R.J.C. Lima, Temperature-induced phase transition in methyl dopa sesquihydrate revealed via X-ray diffraction, thermal analysis and Raman spectroscopy, Vib Spectrosc. 62 (2012) 59–63. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2012.07.007>.
- [55] Y. Dai, M. Ma, Y. Qi, High-Pressure Study of the Vibrational Properties and Chemical Reaction of *N*-Vinyl-2-pyrrolidinone by Raman Spectroscopy, The Journal of Physical Chemistry C. 125 (2021) 9342–9349. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c02633>.

- [56] R.E. Taylor, T.H.K. Barron, A. Cezairliyan, P.S. Gaal, T. Hahn, C.Y. Huang, R.K. Kirby, H.A. McKinstry, S.T. McKinstry, A.P. Miiller, B.D. Rothrock, G. Ruffino, C.A. Swenson, G.K. White, Thermal expansion of solids, CINDAS Data Series on Material Properties, ASM International, 1988.
- [57] J.A. Lima, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J.M. Filho, J. Fischer, R.W.A. Havenith, R. Broer, H.N. Bordallo, Using Raman spectroscopy to understand the origin of the phase transition observed in the crystalline sulfur based amino acid l-methionine, *Vib Spectrosc.* 65 (2013) 132–141. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2012.12.004>.
- [58] A.L.O. Cavaignac, R.J.C. Lima, P.F. Façanha Filho, A.J.D. Moreno, P.T.C. Freire, High-temperature Raman study of L-alanine, L-threonine and taurine crystals related to thermal decomposition, *Physica B Condens Matter.* 484 (2016) 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.physb.2015.12.044>.
- [59] B.P. Kafle, Infrared spectroscopy (IR), in: *Chemical Analysis and Material Characterization by Spectrophotometry*, 1st ed., Elsevier, 2020: pp. 199–243. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814866-2.00007-5>.
- [60] H.D. Young, R.A. Freedman, Movimento periódico, in: *Física II*, Sears e Zemansky: Termodinâmica e Ondas, 14th ed., Pearson, São Paulo, 2016: pp. 41–80.
- [61] D.J. Gardiner, Non-Standard Physical and Chemical Environments, in: D.J. Gardiner, P.R. Graves (Eds.), *Practical Raman Spectroscopy*, Springer, Berlin, 1989: pp. 103–118.
- [62] A.O. dos Santos, R. Lang, J.M. Sasaki, L.P. Cardoso, Assessment of phase transition and thermal expansion coefficients by means of secondary multiple reflections of Renninger scans, *J Appl Crystallogr.* 52 (2019) 1271–1279. <https://doi.org/10.1107/S1600576719011944>.
- [63] C. Murli, S. Thomas, S. Venkateswaran, S. M Sharma, Raman spectroscopic investigation of  $\alpha$ -glycine at different temperatures, *Physica B Condens Matter.* 364 (2005) 233–238. <https://doi.org/10.1016/j.physb.2005.04.020>.
- [64] G.M. Moura, J.O. Carvalho, M.C.D. Silva, P.F. Façanha Filho, A.O. dos Santos, Structural, vibrational and thermal characterization of phase transformation in l-histidinium bromide monohydrate single crystals, *Mater Chem Phys.* 165 (2015) 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.09.009>.

- [65] P. Ramminger, R. Tessadri, R. Krismer, P. Wilhartitz, Application of high temperature x-ray diffraction as a tool for material characterization and product optimization, in: 15<sup>th</sup> International Plansee Seminar, 2001: pp. 216–228.
- [66] R. Sharma, D.P. Bisen, U. Shukla, B.G. Sharma, X-ray diffraction : a powerful method of characterizing nanomaterials, *Recent Research Im Science and Technology*. 4 (2012) 77–79.
- [67] X.-J. Wang, J.-Z. You, Study on the molecular structure and thermal stability of purine nucleoside analogs, *J Anal Appl Pyrolysis*. 111 (2015) 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2014.12.024>.
- [68] Y. Sugawara, Y. Iimura, H. Iwasaki, H. Urabe, S. Hazime, Reversible crystal transition of guanosine between the dihydrate and anhydrous states coupled with adsorption-desorption process, *J Biomol Struct Dyn*. 11 (1994) 721–729. <https://doi.org/10.1080/07391102.1994.10508028>.
- [69] S. Yoneda, Y. Sugawara, H. Urabe, Crystal water dynamics of guanosine dihydrate: Analysis of atomic displacement parameters, time profile of hydrogen-bonding probability, and translocation of water by MD simulation, *Journal of Physical Chemistry B*. 109 (2005) 1304–1312. <https://doi.org/10.1021/jp046258j>.
- [70] F. Chen, Y. Liu, Y. Wang, Y. Ma, L. Qi, Reversible Crystal Phase Change between Guanosine Dihydrate and Anhydrous Guanosine by a Heating–Cooling Process, *Cryst Growth Des*. 20 (2020) 2275–2282. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b01404>.
- [71] U. Thewalt, C.E. Buggt, R.E. Marsh, *The Crystal Structure of Guanosine Dihydrate and Inosine Dihydrate*, 1970.
- [72] E. v. Boldyreva, High-pressure diffraction studies of molecular organic solids. A personal view, *Acta Crystallogr A*. 64 (2008) 218–231. <https://doi.org/10.1107/S0108767307065786>.
- [73] A. Katrusiak, High-pressure crystallography, *Acta Crystallogr A*. 64 (2008) 135–148. <https://doi.org/10.1107/S0108767307061181>.
- [74] A. Polian, P. Loubeyre, *Simple Molecular Systems at Very High Density*, Plenum Press, New Yourk, 1989.
- [75] N.M. Balzaretta, J.A.H. da Jornada, Volume Dependence Of The Electronic Polarizability Of Magnesium Oxide, *High Press Res*. 2 (1990) 183–191. <https://doi.org/10.1080/08957959008201037>.

- [76] E. v. Boldyreva, H. Ahsbahs, H.-P. Weber, A comparative study of pressure-induced lattice strain of  $\alpha$  - and  $\gamma$  -polymorphs of glycine, *Z Kristallogr Cryst Mater.* 218 (2003) 231–236. <https://doi.org/10.1524/zkri.218.3.231.20749>.
- [77] S.A. Moggach, D.R. Allan, S. Parsons, L. Sawyer, J.E. Warren, The effect of pressure on the crystal structure of hexagonal  $\alpha$ -L-cystine, *J Synchrotron Radiat.* 12 (2005) 598–607. <https://doi.org/10.1107/S0909049505019850>.
- [78] E. v. Boldyreva, E.N. Kolesnik, T.N. Drebuschak, H. Ahsbahs, J.A. Beukes, H.-P. Weber, A comparative study of the anisotropy of lattice strain induced in the crystals of L-serine by cooling down to 100 K or by increasing pressure up to 4.4 GPa, *Z Kristallogr Cryst Mater.* 220 (2005) 58–65. <https://doi.org/10.1524/zkri.220.1.58.58893>.
- [79] E. v. Boldyreva, E.N. Kolesnik, T.N. Drebuschak, H. Sowa, H. Ahsbahs, Y. v. Seryotkin, A comparative study of the anisotropy of lattice strain induced in the crystals of DL-serine by cooling down to 100 K, or by increasing pressure up to 8.6 GPa. A comparison with L-serine, *Z Kristallogr Cryst Mater.* 221 (2006) 150–161. <https://doi.org/10.1524/zkri.2006.221.2.150>.
- [80] E. v Boldyreva, High-Pressure Studies of Crystalline Amino Acids and Simple Peptides, 2007. <https://doi.org/doi.org/10.11229/hpbb.1.28>.
- [81] E. v. Boldyreva, T.N. Drebuschak, T.P. Shakhtshneider, H. Sowa, H. Ahsbahs, S. v. Goryainov, S.N. Ivashevskaya, E.N. Kolesnik, V.A. Drebuschak, E.B. Burgina, Variable-temperature and variable-pressure studies of small-molecule organic crystals, *Arkivoc.* 2004 (2005) 128–155. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0005.c10>.
- [82] J.S.M. Quimbayo, R.A. Lima, D.L.M. Vasconcelos, P.T.C. Freire, Vibrational modes of nucleoside deoxyadenosine monohydrate investigated under high pressure, *Vib Spectrosc.* 110 (2020) 103140. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2020.103140>.
- [83] S.A. Lee, L. Lettress, A. Anderson, Mid-infrared study of deoxyadenosine at high pressures: Evidence of phase transitions, *J Biomol Struct Dyn.* 24 (2007) 579–588. <https://doi.org/10.1080/07391102.2007.10507147>.
- [84] F.M. Barboza, J.G. da Silva Filho, P.T.C. Freire, P.F. Façanha Filho, J.A. Lima, F.E.A. Melo, M.R. Joya, J. Barba-Ortega, High-pressure Raman spectra of

- thymidine crystals, *Vib Spectrosc.* 89 (2017) 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2016.12.013>.
- [85] B.D. Gill, H.E. Indyk, M. Manley-Harris, Determination of total potentially available nucleosides in bovine milk, *Int Dairy J.* 21 (2011) 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.07.004>.
- [86] C.P. Landowski, Y. Suzuki, M.A. Hediger, The Mammalian Transporter Families, in: Seldin and Giebisch's *The Kidney*, Fourth, Elsevier, 2008: pp. 91–146. <https://doi.org/10.1016/B978-012088488-9.50007-3>.
- [87] L.B. Townsend, ed., *Chemistry of Nucleosides and Nucleotides*, Springer US, Boston, MA, 1988. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0995-6>.
- [88] W.D. Klohs, J.R. Wilson, M.M. Weiser, O. Frankfurt, R.J. Bernacki, Galactosyltransferase activity and cell growth: Uridine diphosphate (UDP)galactose inhibition of murine leukemic, *J Cell Physiol.* 119 (1984) 23–28. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041190105>.
- [89] A.H. Romano, T. Conway, Evolution of carbohydrate metabolic pathways, *Res Microbiol.* 147 (1996) 448–455. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(96\)83998-2](https://doi.org/10.1016/0923-2508(96)83998-2).
- [90] L. Wan, D. Cao, J. Zeng, R. Yan, G. Pizzorno, Modulation of Uridine Phosphorylase Gene Expression by Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Enhances the Antiproliferative Activity of the Capecitabine Intermediate 5'-Deoxy-5-fluorouridine in Breast Cancer Cells, *Mol Pharmacol.* 69 (2006) 1389–1395. <https://doi.org/10.1124/mol.105.018515>.
- [91] A. Fajardo, G. Piazza, H. Tinsley, The Role of Cyclic Nucleotide Signaling Pathways in Cancer: Targets for Prevention and Treatment, *Cancers (Basel)*. 6 (2014) 436–458. <https://doi.org/10.3390/cancers6010436>.
- [92] R.J. Wurtman, M. Cansev, T. Sakamoto, I.H. Ulus, Use of Phosphatide Precursors to Promote Synaptogenesis, *Annu Rev Nutr.* 29 (2009) 59–87. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-080508-141059>.
- [93] M.J. Fer, P. Doan, T. Prangé, S. Calvet-Vitale, C. Gravier-Pelletier, A Diastereoselective Synthesis of 5'-Substituted-Uridine Derivatives, *J Org Chem.* 79 (2014) 7758–7765. <https://doi.org/10.1021/jo501410m>.
- [94] Y. Gao, P. Zhang, L. Wu, T. Matsuura, J. Meng, Synthesis of Uridine Derivatives Containing Amino Acid Residues, *Synth Commun.* 33 (2003) 2635–2641. <https://doi.org/10.1081/SCC-120021984>.

- [95] A.P. Spork, D. Wiegmann, M. Granitzka, D. Stalke, C. Ducho, Stereoselective Synthesis of Uridine-Derived Nucleosyl Amino Acids, *J Org Chem.* 76 (2011) 10083–10098. <https://doi.org/10.1021/jo201935w>.
- [96] Y. Deng, Z. v. Wang, R. Gordillo, Y. An, C. Zhang, Q. Liang, J. Yoshino, K.M. Cautivo, J. de Brabander, J.K. Elmquist, J.D. Horton, J.A. Hill, S. Klein, P.E. Scherer, An adipo-biliary-uridine axis that regulates energy homeostasis, *Science* (1979). 355 (2017). <https://doi.org/10.1126/science.aaf5375>.
- [97] L.D. Moore, T. Le, G. Fan, DNA Methylation and Its Basic Function, *Neuropsychopharmacology.* 38 (2013) 23–38. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>.
- [98] J. Newell-Price, A.J.L. Clark, P. King, DNA Methylation and Silencing of Gene Expression, *Trends in Endocrinology & Metabolism.* 11 (2000) 142–148. [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00248-4](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00248-4).
- [99] B.H. Toby, *EXPGUI*, a graphical user interface for *GSAS*, *J Appl Crystallogr.* 34 (2001) 210–213. <https://doi.org/10.1107/S0021889801002242>.
- [100] A.C. Larson, R.B. von Dreele, B. Toby, *GSAS: General Structure Analysis System*, LANSCE, New Mexico, 1994.
- [101] F. Neese, Software update: the ORCA program system, version 4.0, *WIREs Computational Molecular Science.* 8 (2018) 1–6. <https://doi.org/10.1002/wcms.1327>.
- [102] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Phys Rev B.* 37 (1988) 785–789. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785>.
- [103] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *J Chem Phys.* 98 (1993) 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>.
- [104] F. Weigend, R. Ahlrichs, Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy, *Physical Chemistry Chemical Physics.* 7 (2005) 3297. <https://doi.org/10.1039/b508541a>.
- [105] V. Barone, M. Cossi, Quantum Calculation of Molecular Energies and Energy Gradients in Solution by a Conductor Solvent Model, *J Phys Chem A.* 102 (1998) 1995–2001. <https://doi.org/10.1021/jp9716997>.

- [106] F. Teixeira, M.N.D.S. Cordeiro, Improving Vibrational Mode Interpretation Using Bayesian Regression, *J Chem Theory Comput.* 15 (2019) 456–470. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00439>.
- [107] C. Medcraft, S. Zinn, M. Schnell, A. Poblitzki, J. Altnöder, M. Heger, M.A. Suhm, D. Bernhard, A. Stamm, F. Dietrich, M. Gerhards, Aromatic embedding wins over classical hydrogen bonding – a multi-spectroscopic approach for the diphenyl ether–methanol complex, *Physical Chemistry Chemical Physics.* 18 (2016) 25975–25983. <https://doi.org/10.1039/C6CP03557D>.
- [108] R.G. Parr, R.A. Donnelly, M. Levy, W.E. Palke, Electronegativity: The density functional viewpoint, *J Chem Phys.* 68 (1978) 3801–3807. <https://doi.org/10.1063/1.436185>.
- [109] R.G. Parr, R.G. Pearson, Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity, *J Am Chem Soc.* 105 (1983) 7512–7516. <https://doi.org/10.1021/ja00364a005>.
- [110] L. Domingo, M. Ríos-Gutiérrez, P. Pérez, Applications of the Conceptual Density Functional Theory Indices to Organic Chemistry Reactivity, *Molecules.* 21 (2016) 748. <https://doi.org/10.3390/molecules21060748>.
- [111] R.G. Parr, L. v. Szentpály, S. Liu, Electrophilicity Index, *J Am Chem Soc.* 121 (1999) 1922–1924. <https://doi.org/10.1021/ja983494x>.
- [112] A.T. Maynard, M. Huang, W.G. Rice, D.G. Covell, Reactivity of the HIV-1 nucleocapsid protein p7 zinc finger domains from the perspective of density-functional theory, *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 95 (1998) 11578–11583. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.20.11578>.
- [113] T. Rajamani, S. Muthu, Electronic absorption, vibrational spectra, non-linear optical properties, NBO analysis and thermodynamic properties of 9-[(2-hydroxyethoxy) methyl] guanine molecule by density functional method, *Solid State Sci.* 16 (2013) 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2012.10.023>.
- [114] A.O. Zacharias, A. Varghese, K.B. Akshaya, M.S. Savitha, L. George, DFT, spectroscopic studies, NBO, NLO and Fukui functional analysis of 1-(1-(2,4-difluorophenyl)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)ethylidene) thiosemicarbazide, *J Mol Struct.* 1158 (2018) 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.01.002>.
- [115] P.V. Sreelaja, C. Ravikumar, Structural and vibrational spectral contributions to the nonlinear optical properties of 2-Amino-3-nitropyridinium 4-



- hydroxybenzenesulfonate: A DFT study, *J Mol Struct.* 1223 (2021) 129184. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129184>.
- [116] P. Geerlings, F. de Proft, W. Langenaeker, Conceptual Density Functional Theory, *Chem Rev.* 103 (2003) 1793–1874. <https://doi.org/10.1021/cr990029p>.
- [117] D.L. Rousseau, R.P. Bauman, S.P.S. Porto, Normal mode determination in crystals, *Journal of Raman Spectroscopy.* 10 (1981) 253–290. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250100152>.
- [118] P. Carmona, A. Rodríguez-Casado, M. Molina, R. Escobar, Raman spectroscopic study of uridine nucleotides: structural information and conformational features, *Journal of Raman Spectroscopy.* 30 (1999) 631–636. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4555\(199908\)30:8<631::AID-JRS404>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4555(199908)30:8<631::AID-JRS404>3.0.CO;2-N).
- [119] T. O'Connor, C. Johnson, W.M. Scovell, Raman pH profiles for nucleic acid constituents I. Cytidine and uridine ribonucleosides, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis.* 447 (1976) 484–494. [https://doi.org/10.1016/0005-2787\(76\)90085-X](https://doi.org/10.1016/0005-2787(76)90085-X).
- [120] A.D. Buckingham, J.E. del Bene, S.A.C. McDowell, The hydrogen bond, *Chem Phys Lett.* 463 (2008) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2008.06.060>.
- [121] W. Hsieh, W. Cheng, L. Chen, S. Lin, Non-isothermal dehydration kinetic study of aspartame hemihydrate using DSC, TGA and DSC-FTIR microspectroscopy, *Asian J Pharm Sci.* 13 (2018) 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.12.001>.
- [122] S. Rastogi, M. Zakrzewski, R. Suryanarayanan, Investigation of Solid-State Reactions Using Variable Temperature X-Ray Powder Diffractometry. I. Aspartame Hemihydrate, 2001.
- [123] I. Contineanu, A. Neacsu, S.T. Perisanu, The standard enthalpies of formation of l-asparagine and l- $\alpha$ -glutamine, *Thermochim Acta.* 497 (2010) 96–100. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2009.08.017>.
- [124] K. Raznjevic, *Tabele si diagrame termodinamice*, Tehnica, Bucureste, 1978.
- [125] W.I.F. David, K. Shankland, J. van de Streek, E. Pidcock, W.D.S. Motherwell, J.C. Cole, *DASH*: a program for crystal structure determination from powder diffraction data, *J Appl Crystallogr.* 39 (2006) 910–915. <https://doi.org/10.1107/S0021889806042117>.

- [126] A. Le Bail, H. Duroy, J.L. Fourquet, Ab-initio structure determination of LiSbWO<sub>6</sub> by X-ray powder diffraction, *Mater Res Bull.* 23 (1988) 447–452. [https://doi.org/10.1016/0025-5408\(88\)90019-0](https://doi.org/10.1016/0025-5408(88)90019-0).
- [127] H.K. Eltzschig, Adenosine: An old drug newly discovered, *Anesthesiology.* 111 (2009) 904–915. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181b060f2>.
- [128] H. Piirainen, Y. Ashok, R.T. Nanekar, V.P. Jaakola, Structural features of adenosine receptors: From crystal to function, *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 1808 (2011) 1233–1244. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.05.021>.
- [129] M. Díaz-Muñoz, R. Hernández-Muñoz, A. Butanda-Ochoa, Structure–activity features of purines and their receptors: implications in cell physiopathology, *Molecular Biomedicine.* 3 (2022). <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00068-1>.
- [130] V.-P. Jaakola, M.T. Griffith, M.A. Hanson, V. Cherezov, E.Y.T. Chien, J.R. Lane, A.P. IJzerman, R.C. Stevens, The 2.6 Angstrom Crystal Structure of a Human A<sub>2A</sub> Adenosine Receptor Bound to an Antagonist, *Science* (1979). 322 (2008) 1211–1217. <https://doi.org/10.1126/science.1164772>.
- [131] B.B. Fredholm, A.P. IJzerman, K.A. Jacobson, K.N. Klotz, J. Linden, International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors., *Pharmacol Rev.* 53 (2001) 527–52. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11734617>.
- [132] S.R. Neves, P.T. Ram, R. Iyengar, G Protein Pathways, *Science* (1979). 296 (2002) 1636–1639. <https://doi.org/10.1126/science.1071550>.
- [133] N. Wettschureck, S. Offermanns, Mammalian G Proteins and Their Cell Type Specific Functions, *Physiol Rev.* 85 (2005) 1159–1204. <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2005>.
- [134] F. Fanelli, P.G. de Benedetti, Computational Modeling Approaches to Structure–Function Analysis of G Protein-Coupled Receptors, *Chem Rev.* 105 (2005) 3297–3351. <https://doi.org/10.1021/cr000095n>.
- [135] W.M. Oldham, H.E. Hamm, Heterotrimeric G protein activation by G-protein-coupled receptors, *Nat Rev Mol Cell Biol.* 9 (2008) 60–71. <https://doi.org/10.1038/nrm2299>.
- [136] S. Karnik, C. Gogonea, S. Patil, Y. Saad, T. Takezako, Activation of G-protein-coupled receptors: a common molecular mechanism, *Trends in Endocrinology and Metabolism.* 14 (2003) 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2003.09.007>.

- [137] K.L. Pierce, R.T. Premont, R.J. Lefkowitz, Seven-transmembrane receptors, *Nat Rev Mol Cell Biol.* 3 (2002) 639–650. <https://doi.org/10.1038/nrm908>.
- [138] J. Bockaert, J.P. Pin, Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success, *EMBO J.* 18 (1999) 1723–1729. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.7.1723>.
- [139] U. Gether, Uncovering Molecular Mechanisms Involved in Activation of G Protein-Coupled Receptors, *Endocr Rev.* 21 (2000) 90–113. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.1.0390>.
- [140] K. Kristiansen, Molecular mechanisms of ligand binding, signaling, and regulation within the superfamily of G-protein-coupled receptors: molecular modeling and mutagenesis approaches to receptor structure and function, *Pharmacol Ther.* 103 (2004) 21–80. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2004.05.002>.
- [141] G. Lebon, T. Warne, P.C. Edwards, K. Bennett, C.J. Langmead, A.G.W. Leslie, C.G. Tate, Agonist-bound adenosine A2A receptor structures reveal common features of GPCR activation, *Nature.* 474 (2011) 521–525. <https://doi.org/10.1038/nature10136>.
- [142] K. Lundstrom, Latest Development in Drug Discovery on G Protein-coupled Receptors, *Curr Protein Pept Sci.* 7 (2006) 465–470. <https://doi.org/10.2174/138920306778559403>.
- [143] H. Piirainen, Y. Ashok, R.T. Nanekar, V.-P. Jaakola, Structural features of adenosine receptors: From crystal to function, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes.* 1808 (2011) 1233–1244. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.05.021>.
- [144] I. Ballesteros-Yáñez, C.A. Castillo, S. Merighi, S. Gessi, The Role of Adenosine Receptors in Psychostimulant Addiction, *Front Pharmacol.* 8 (2018). <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00985>.
- [145] M. Díaz-Muñoz, R. Hernández-Muñoz, A. Butanda-Ochoa, Structure–activity features of purines and their receptors: implications in cell physiopathology, *Molecular Biomedicine.* 3 (2022) 5. <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00068-1>.
- [146] D.D. Fernandes, C. Neale, G.-N.W. Gomes, Y. Li, A. Malik, A. Pandey, A.P. Oraziatti, X. Wang, L. Ye, R. Scott Prosser, C.C. Gradinaru, Ligand modulation of the conformational dynamics of the A2A adenosine receptor revealed by single-

- molecule fluorescence, *Sci Rep.* 11 (2021) 5910. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84069-0>.
- [147] L. Kalash, I. Winfield, D. Safitri, M. Bermudez, S. Carvalho, R. Glen, G. Ladds, A. Bender, Structure-based identification of dual ligands at the A2AR and PDE10A with anti-proliferative effects in lung cancer cell-lines, *J Cheminform.* 13 (2021) 17. <https://doi.org/10.1186/s13321-021-00492-5>.
- [148] S. Masino, M. Kawamura Jr., C. Wasser, L. Pomeroy, D. Ruskin, Adenosine, Ketogenic Diet and Epilepsy: The Emerging Therapeutic Relationship Between Metabolism and Brain Activity, *Curr Neuropharmacol.* 7 (2009) 257–268. <https://doi.org/10.2174/157015909789152164>.
- [149] L. Antonioli, C. Blandizzi, P. Pacher, G. Haskó, Immunity, inflammation and cancer: a leading role for adenosine, *Nat Rev Cancer.* 13 (2013) 842–857. <https://doi.org/10.1038/nrc3613>.
- [150] M. Feig, B.M. Pettitt, Sodium and Chlorine Ions as Part of the DNA Solvation Shell, *Biophys J.* 77 (1999) 1769–1781. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77023-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77023-2).
- [151] J. Osei-Owusu, J. Yang, K.H. Leung, Z. Ruan, W. Lü, Y. Krishnan, Z. Qiu, Proton-activated chloride channel PAC regulates endosomal acidification and transferrin receptor-mediated endocytosis, *Cell Rep.* 34 (2021) 108683. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108683>.
- [152] R.E. Hibbs, E. Gouaux, Principles of activation and permeation in an anion-selective Cys-loop receptor, *Nature.* 474 (2011) 54–60. <https://doi.org/10.1038/nature10139>.
- [153] T.J. Jentsch, M. Pusch, CLC Chloride Channels and Transporters: Structure, Function, Physiology, and Disease, *Physiol Rev.* 98 (2018) 1493–1590. <https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2017>.
- [154] Y. Okada, Volume expansion-sensing outward-rectifier Cl<sup>-</sup> channel: fresh start to the molecular identity and volume sensor, *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* 273 (1997) C755–C789. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.3.C755>.
- [155] Y. Okada, K. Sato, A.H. Toychiev, M. Suzuki, A.K. Dutta, H. Inoue, R.Z. Sabirov, *The puzzles of volume-activated anion channels*, Elsevier Inc., 2010. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374373-2.00015-7>.

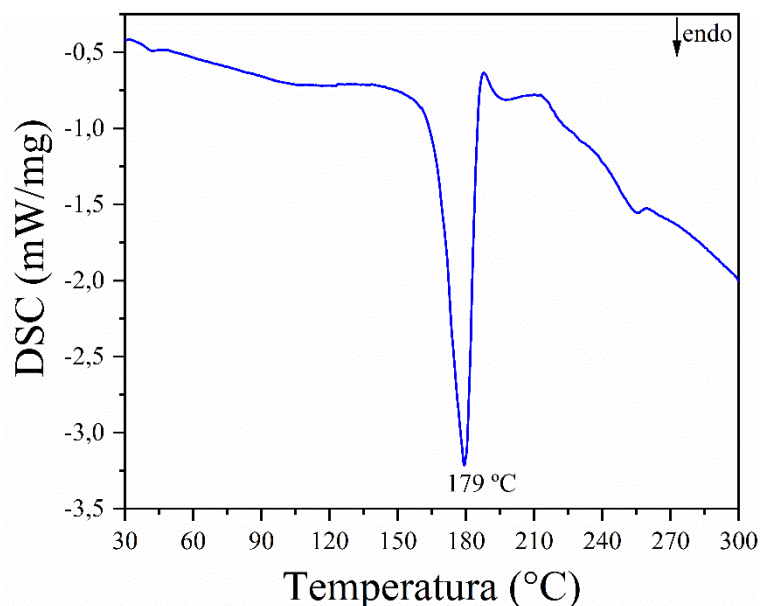
- [156] H.R. de Jonge, B.C. Tilly, ION TRANSPORT | Chloride Channels, in: Encyclopedia of Respiratory Medicine, Elsevier, Weinheim, Germany, 2006: pp. 465–471. <https://doi.org/10.1016/B0-12-370879-6/00201-5>.
- [157] S.Y. Yang, I.S. Butler, Pressure-tuning infrared and Raman microscopy study of the DNA bases: Adenine, guanine, cytosine, and thymine, *J Biomol Struct Dyn*. 31 (2013) 1490–1496. <https://doi.org/10.1080/07391102.2012.736775>.
- [158] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu, *J Chem Phys*. 132 (2010) 154104. <https://doi.org/10.1063/1.3382344>.
- [159] P.R. Spackman, M.J. Turner, J.J. McKinnon, S.K. Wolff, D.J. Grimwood, D. Jayatilaka, M.A. Spackman, CrystalExplorer : a program for Hirshfeld surface analysis, visualization and quantitative analysis of molecular crystals, *J Appl Crystallogr*. 54 (2021) 1006–1011. <https://doi.org/10.1107/S1600576721002910>.
- [160] M.A. Spackman, D. Jayatilaka, Hirshfeld surface analysis, *CrystEngComm*. 11 (2009) 19–32. <https://doi.org/10.1039/b818330a>.
- [161] J.J. McKinnon, M.A. Spackman, A.S. Mitchell, Novel tools for visualizing and exploring intermolecular interactions in molecular crystals, *Acta Crystallogr B*. 60 (2004) 627–668. <https://doi.org/10.1107/S0108768104020300>.
- [162] G.J. Piermarini, S. Block, J.D. Barnett, R.A. Forman, Calibration of the pressure dependence of the R1 ruby fluorescence line to 195 kbar, *J Appl Phys*. 46 (1975) 2774–2780. <https://doi.org/10.1063/1.321957>.
- [163] R.A. Forman, G.J. Piermarini, J.D. Barnett, S. Block, Pressure measurement made by the utilization of ruby sharp-line luminescence, *Science* (1979). 176 (1972) 284–285.
- [164] H.K. Mao, P.M. Bell, J.W. Shaner, D.J. Steinberg, Specific volume measurements of Cu, Mo, Pd, and Ag and calibration of the ruby R1 fluorescence pressure gauge from 0.06 to 1 Mbar, *J Appl Phys*. 49 (1978) 3276–83. <https://doi.org/10.1063/1.325277>.
- [165] J.W. Otto, J.K. Vassiliou, G. Frommeyer, Nonhydrostatic compression of elastically anisotropic polycrystals. II. Direct compression and plastic deformation, *Phys Rev B*. 57 (1998) 3264–3272. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.57.3264>.

- [166] A. Celeste, F. Borondics, F. Capitani, Hydrostaticity of pressure-transmitting media for high pressure infrared spectroscopy, *High Press Res.* 39 (2019) 608–618. <https://doi.org/10.1080/08957959.2019.1666844>.
- [167] L.E. Bailey, R. Navarro, A. Hernanz, Normal coordinate analysis and vibrational spectra of adenosine, *Biospectroscopy.* 3 (1997) 47–59. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6343\(1997\)3:1<47::AID-BSPY4>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6343(1997)3:1<47::AID-BSPY4>3.0.CO;2-P).
- [168] S. Li, R. Bu, R. Gou, C. Zhang, Hirshfeld Surface Method and Its Application in Energetic Crystals, *Cryst Growth Des.* 21 (2021) 6619–6634. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.1c00961>.
- [169] A. Ali, M. Khalid, M.N. Tahir, M. Imran, M. Ashfaq, R. Hussain, M.A. Assiri, I. Khan, Synthesis of Diaminopyrimidine Sulfonate Derivatives and Exploration of Their Structural and Quantum Chemical Insights via SC-XRD and the DFT Approach, *ACS Omega.* 6 (2021) 7047–7057. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06323>.
- [170] M. Ashfaq, M. Khalid, M.N. Tahir, A. Ali, M.N. Arshad, A.M. Asiri, Synthesis of Crystalline Fluoro-Functionalized Imines, Single Crystal Investigation, Hirshfeld Surface Analysis, and Theoretical Exploration, *ACS Omega.* 7 (2022) 9867–9878. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c00288>.
- [171] A. Ali, A. Kuznetsov, M.U. Khan, M.N. Tahir, M. Ashfaq, A.R. Raza, S. Muhammad, 2-Amino-6-methylpyridine based co-crystal salt formation using succinic acid: Single-crystal analysis and computational exploration, *J Mol Struct.* 1230 (2021) 129893. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.129893>.
- [172] R.A. Cowley, Soft Modes and Structural Phase Transitions, *Integrated Ferroelectrics.* 133 (2012) 109–117. <https://doi.org/10.1080/10584587.2012.663634>.

**APÊNDICE A – Resultados adicionais da adenosina hidrocloreídrica**

A Figura A1 apresenta a análise de *DSC* da adenosina hidrocloreídrica – AC. O material não apresenta evidências de eventos térmicos antes da fusão, iniciada em torno de 145 °C e finalizada em torno de 187 °C.

**Figura A1.** Curva DSC da adenosina hidrocloreídrica.



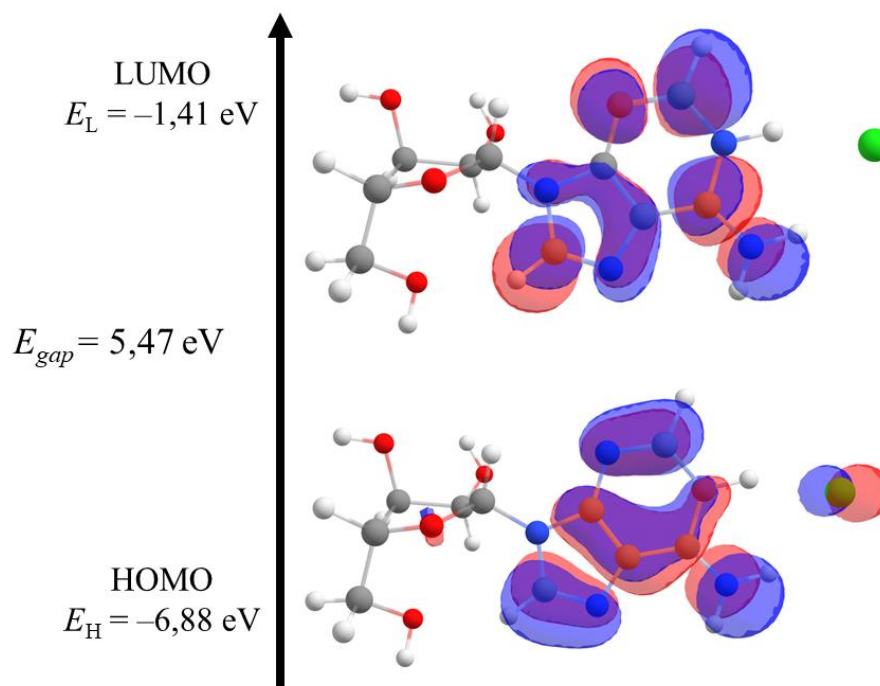
**Fonte:** do próprio autor (2021).

Por não apresentar evidências de eventos térmicos até a ocorrência da fusão, não foram realizados ensaios a altas temperaturas por difração de raios X no pó e por espectroscopia Raman na adenosina hidrocloreídrica.

No estudo das propriedades dos orbitais de fronteira molecular e dos índices de reatividade global, exibidos na Figura A2 e na Tabela A1, identificamos a energia do orbital molecular mais alto ocupado (*HOMO*) e do mais baixo não ocupado (*LUMO*), com a energia de *gap* de 5,47 eV, com os orbitais de fronteira presentes em maior densidade da porção adenina da molécula de AC, com uma diferença evidente no átomo de cloro, totalmente ocupado por densidade eletrônica no *HOMO*. O valor da  $E_{\text{gap}}$  da molécula de AC foi mais elevado ao ser comparada à 5mU, mostra que a AC provavelmente é menos reativa que a 5mU, como mostrado pela dureza química. Isso pode estar ligado ao seu elevado potencial de ionização, que dificulta a remoção de um elétron da molécula. Ao passo que a molécula de AC tem maior afinidade eletrônica que a 5mU, mostrando uma maior aceitabilidade de receber um elétron. Esse fenômeno pode ser um indício de que a AC se torna mais suscetível a formar interações quando

ela não perde elétrons nessa interação, tendo em vista que o seu índice de eletrofilicidade ser maior comparada à 5mU.

**Figura A2.** Representação da densidade eletrônica dos orbitais moleculares da AC.



**Fonte:** do próprio autor (2023).

**Tabela A1.** Descrição dos índices de reatividade global para a adenosina hidrocloreídrica (AC) calculada pelo método B3LYP/def2-TZVP e a 5-metiluridina (5mU) e uridina apresentados no capítulo 2 desse trabalho de tese.

Propriedades	Fórmula	AC (eV)	5mU (eV)	Uridina (eV)
Energia do <i>HOMO</i>	$E_H$	-6,88	-6,05	-6,81
Energia do <i>LUMO</i>	$E_L$	-1,41	-1,25	-1,30
Energia do Gap	$E_g = E_L - E_H$	5,47	4,80	5,51
Potencial de ionização	$PI = -E_H$	6,88	6,06	6,81
Afinidade eletrônica	$AE = -E_L$	1,41	1,25	1,30
Eletronegatividade	$\chi = -(E_H + E_L) / 2$	4,15	3,65	4,06
Potencial químico	$\mu = (E_H + E_L) / 2$	-4,15	-3,65	-4,06
Dureza química	$\eta = (E_L - E_H) / 2$	2,73	2,40	2,76
Suavidade	$S = 1 / \eta$	0,37	0,42	0,36
Índice de eletrofilicidade	$\omega = \mu^2 / \eta$	3,14	2,78	2,99

**Fonte:** do próprio autor (2023).

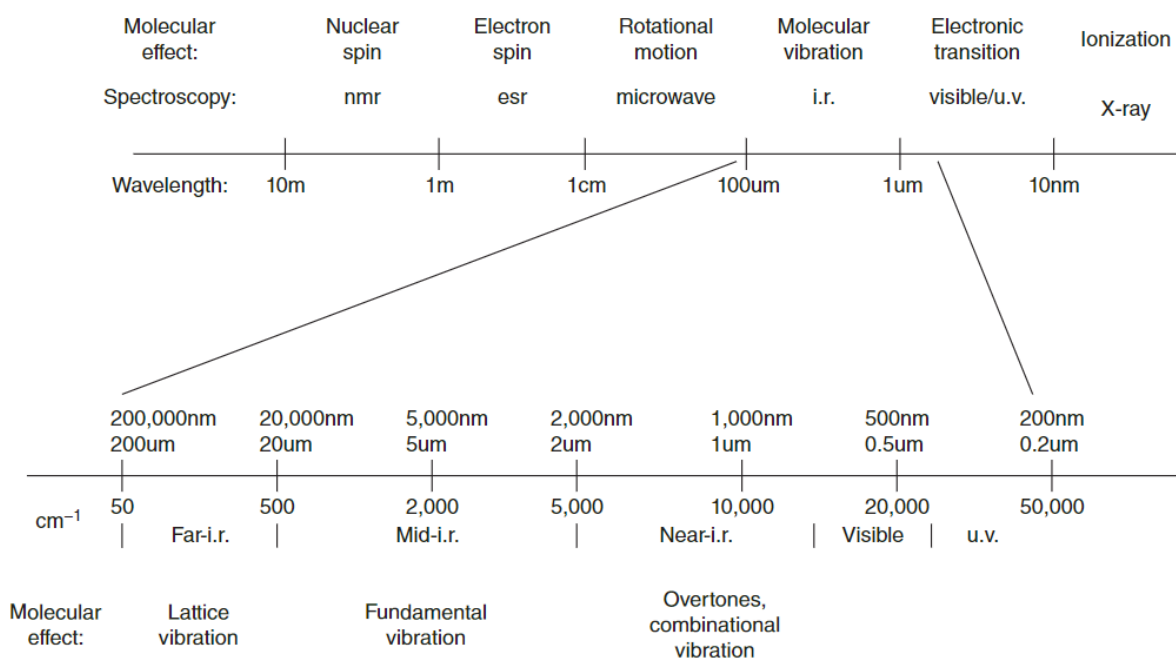


**APENDICE B – Referencial teórico**

Nessa etapa do trabalho, foi explanado sobre os temas que são fundamentais para o desenvolvimento dessa tese, como: as técnicas de caracterizações utilizadas e o entendimento sobre as moléculas de nucleosídeos – funções biológicas e estruturas cristalinas.

A maioria das técnicas utilizadas são espectroscópicas, pois são respostas da interação da radiação eletromagnética com a matéria. São elas a difração de raios X (DRX), a espectroscopia Raman e a espectroscopia no Infravermelho (IR), as duas últimas denominadas como espectroscopia vibracional. De acordo com a energia ou comprimento da radiação, é possível estudar diversas características de materiais, como apresentado na Figura A3 e Tabela A2.

**Figura A3.** Técnicas espectroscópicas e a relação das faixas da radiação eletromagnética.



Fonte: [1].

Em 1800, a região do Infravermelho foi a primeira faixa não visível do espectro eletromagnético descoberta e estudada pelo astrônomo inglês Sir William Herschel (nascido em Hannover, na Alemanha como Friedrich Wilhelm Herschel, se mudou para a Inglaterra após a ocupação francesa em 1757) [2].

Herschel investigou a distribuição de calor no espectro solar visível obtido pela colocação de um prisma de vidro na frente de uma fenda em uma cortina de janela. O calor associado a diferentes posições no espectro bem disperso exibido em uma superfície horizontal foi medido

por termômetros de mercúrio em vidro com lâmpadas enegrecidas e descobriu que a temperatura máxima mostrada pelos termômetros ocorria logo além da extremidade vermelha do espectro, ou seja, em uma posição muito diferente daquela de luminosidade máxima, e que o aquecimento se estendia muito além disso [2].

**Tabela A2.** Informações sobre as radiações do espectro eletromagnético.

Radiação	Frequência (Hz)	Comprimento de onda (nm)	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )
Infravermelho distante (FIR)	$3,0 \cdot 10^{11} - 6,0 \cdot 10^{12}$	25.000 – 300.000	10 – 200
Infravermelho médio (MIR)	$6,0 \cdot 10^{12} - 1,2 \cdot 10^{14}$	2.500 – 25.000	200 – 4.000
Infravermelho próximo (NIR)	$1,2 \cdot 10^{14} - 3,8 \cdot 10^{14}$	700 – 2.500	4.000 – 12.800
Visível	$3,8 \cdot 10^{14} - 7,9 \cdot 10^{14}$	400 – 700	12.800 – 26.300
Ultravioleta	$7,9 \cdot 10^{14} - 3,0 \cdot 10^{16}$	10 – 400	$26.300 - 10^6$
Raios X	$3,0 \cdot 10^{16} - 3,0 \cdot 10^{18}$	0,01 – 10	$10^6 - 10^8$

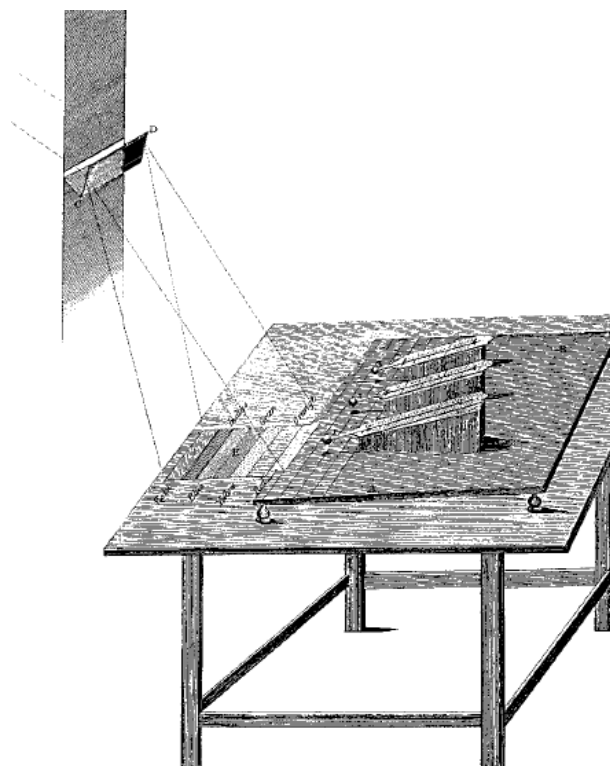
Fonte: [3,4].

Em 1895, o físico alemão Wilhelm Conrad Roentgen anunciou a descoberta de uma radiação que tornava os objetos transparentes e que, por não saber como nomeá-lo, foi denominado como raios X [5,6].

Em 1928, com a descoberta do espalhamento inelástico da luz por Raman e Krishnan, houve um aumento no estudo de dados vibracionais de moléculas orgânicas. Uma razão para o rápido e contínuo interesse no fenômeno do efeito Raman foi que os requisitos experimentais foram atendidos muito mais facilmente na região visível do que na região IR [2].

Os primeiros trabalhos no estudo da interação entre calor e mudanças químicas e físicas foram em grande parte qualitativos, mas os experimentos de Lavoisier e Laplace por volta de 1780 permitiram a medição das quantidades de energia térmica associadas a mudanças de estado e reações químicas. Embora seu aparelho exigisse grandes quantidades de amostra, fosse lento de usar e de baixa precisão, o trabalho de Lavoisier lhe rendeu o apelido de “o avô da termoquímica” [7,8].

**Figura A4.** O aparelho usado por Herschel para demonstrar a existência de radiação IR.



**Fonte:** [2].

A análise termogravimétrica (TGA) foi utilizada pela primeira vez em 1907, no estudo da decomposição térmica de piritas pelo cientista Tuchtot. Desse ponto em diante, a técnica evoluiu com estudos mais técnicos e aprofundados, assim como pelo desenvolvimento tecnológico [9]. O mesmo aconteceu com a calorimetria exploratória diferencial (DSC, do inglês *differential scanning calorimetry*), termo utilizado pela primeira vez no trabalho de Watson e colaboradores para descrever a técnica instrumental desenvolvida em 1963 pela Perkin Elmer Corporation [10].

Por fim, utilizamos nos estudos teóricos uma poderosa ferramenta: o DFT. A teoria do funcional da densidade (DFT, do inglês *density functional theory*) tem como objetivo prever propriedades moleculares quantitativamente ou qualitativamente e explicar a natureza da ligação e interação química. Essa teoria emerge como uma alternativa aos tradicionais métodos *ab initio* (do grego “desde o princípio”) e semiempíricos no estudo de propriedades de sistemas moleculares. A grande vantagem desse método consiste no ganho de espaço computacional e espaço de memória [11]. O marco inicial dessa teoria é considerado, por muitos autores, as publicações dos teoremas de Hohenberg e Kohn em 1964 (*Inhomogeneous Electron Gas*) [12] e pelas equações de Kohn-Sham em 1965 (*Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects*) [13].

## A1.1 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL

A espectroscopia vibracional, composta pela espectroscopia no infravermelha (*IR*) e Raman, fornece informações sobre as vibrações moleculares, devido à excitação da amostra por uma fonte de radiação monocromática, provocando alterações no estado de energia vibracional. No entanto, a espectroscopia Raman e no *IR* diferem na forma como a energia do fóton é transferida para a molécula e a instrumentação utilizada. Assim, as informações extraídas apresentam características diferentes, como as intensidades das bandas vibracionais, sendo as duas técnicas complementares. Essas diferenças ocorrem devido os diferentes mecanismos de excitação e, portanto, das diferentes regras de seleção [2,14,15]

A espectroscopia vibracional oferece análise rápida, de alto rendimento e não destrutiva de uma ampla gama de amostras por meio de seus recursos exclusivos de "impressão digital", sendo possível a análise de amostras no estado sólido, líquido e gasoso, principalmente a espectroscopia Raman, que não sofre interferência de umidade como o *IR* [15–17].

Com o avanço da espectroscopia vibracional, as ciências biológicas e da saúde tiveram grandes avanços, podendo relacionar a possibilidade de monitorar de maneira não invasiva e *in vivo* a cicatrização de feridas [18]; a identificação de metabólitos em biofluidos (urina, suor, saliva, sangue, lágrimas, material fecal, líquido cefalorraquidiano, sêmen, fluido vaginal, amostras de tecido) [17,19]; e diagnóstico de câncer [20].

Nas investigações criminais forenses, as técnicas vibracionais auxiliam na identificação de explosivos, agentes químicos, drogas ilícitas, fibras têxteis, fitas adesivas, pinturas, tintas e pigmentos, falsificação de assinaturas, resíduo de tiro de arma de fogo, cabelos e pelos [21,22].

Na paleontologia, há uma riqueza de informações que podem ser obtidas a partir de análises espectroscópicas vibracionais de fósseis, que vão desde a identificação taxonômica de microfósseis enigmáticos, mecanismos de preservação de fósseis, vias de alteração diagenética e térmica e histórias de fósseis, até a composição química [23].

No estudo geológicos, a espectroscopia vibracional fornece uma poderosa variedade de técnicas para identificar materiais geológicos e para sondar seu comportamento sob condições extremas de pressão e temperatura. A espectroscopia vibracional deve agora pertencer às “ferramentas padrão” da geologia moderna [24].

Na indústria farmacêutica, tem importante utilidade na caracterização desses materiais, como a identificação e qualificação de matérias-primas, diferenciar formas sólidas, como formas amorfas, polimorfos, hidratos, solvatos e sais, estudando a transformação de fase em temperatura e umidade controladas, análise de processo para cristalização, mistura, granulação,

revestimento e liofilização, e aplicações em análise de contaminação, estudos forenses e detecção de falsificações [1].

Por fim, destaca-se o uso da espectroscopia vibracional na caracterização de materiais orgânicos cristalinos, com destaque para o estudo de polimorfos [25–28], transições de fase sob alterações de temperatura e pressão [29–31], e transformação de fase [32].

Nas próximas seções, será explanado informações mais específicas sobre as espectroscopias vibracionais Raman e infravermelho.

#### A1.1.1 ESPECTROSCOPIA RAMAN

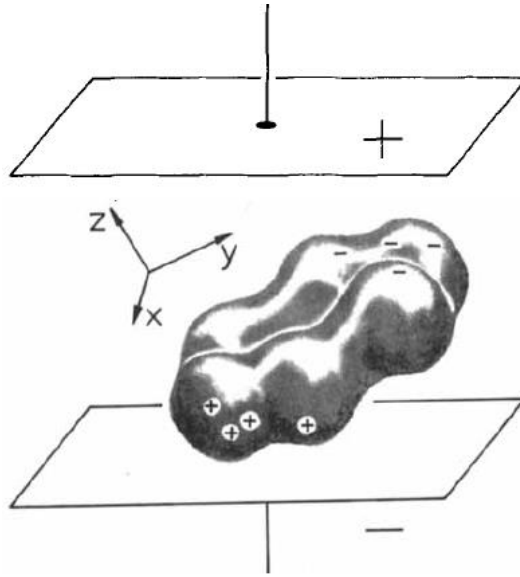
Em março de 1928, os físicos indianos Chandrasekhara Venkata Raman e Kariamanikkam Srinivasa Krishnan publicaram a descoberta experimental do espalhamento inelástico da luz [33,34], uma descoberta que revolucionou a espectroscopia vibracional. Essa área de estudo passou a ser denominada espectroscopia Raman. Essa descoberta rendeu a C. V. Raman o prêmio Nobel em Física de 1930 “pelo seu trabalho sobre a dispersão da luz e pela descoberta do efeito que leva seu nome” [35].

Esse fenômeno foi previsto teoricamente pelo físico teórico austríaco Adolf Gustav Stephan Smekal cinco anos antes, em setembro de 1923 [36]. Coincidentemente, em maio de 1928, os físicos russos Grigory Samuilovich Landsberg e Leonid Isaakovich Mandelstam publicaram o mesmo efeito em cristais de quartzo [37,38].

No espalhamento Raman, a luz interage com a molécula e distorce (polariza) a nuvem de elétrons ao redor dos núcleos para formar um estado de curta duração chamado “estado virtual”. Este estado não é estável e o fóton é rapidamente reemitido com frequência diferente. Assim, para resultar em efeito Raman, é necessário que haja uma mudança na polarizabilidade ( $\alpha$ ) da molécula, que é a capacidade de distorcer a nuvem eletrônica da molécula atingida pelos fótons [39,40].

A Figura A5 simula o efeito de uma molécula apolar, como  $H_2$  e benzeno, sob a influência de um campo elétrico, representado por duas placas carregadas. As cargas negativas da molécula (elétrons) são atraídas pela placa positiva, enquanto a placa negativa atrai as cargas negativas da molécula (núcleos), formando um momento dipolo induzido [40].

**Figura A5.** Momento dipolo induzido por um campo elétrico.



**Fonte:** [40].

Para descrever esse momento dipolo, os componentes dos vetores do campo elétrico são indicados por  $E_x$ ,  $E_y$  e  $E_z$  com a molécula fixada no sistema de coordenadas cartesiano. O momento dipolo induzido depende da flexibilidade dos elétrons e núcleos da molécula, ou seja, a polarizabilidade ( $\alpha$ ). O campo elétrico dá origem a um momento dipolo induzido ( $\mu'$ ) que pode ser descrito pelos seus componentes [40–42]:

$$\begin{aligned}\mu'_x &= \alpha_{xx}E_x + \alpha_{xy}E_y + \alpha_{xz}E_z \\ \mu'_y &= \alpha_{yx}E_x + \alpha_{yy}E_y + \alpha_{yz}E_z \\ \mu'_z &= \alpha_{zx}E_x + \alpha_{zy}E_y + \alpha_{zz}E_z\end{aligned}\tag{A1}$$

O primeiro subscrito refere-se à direção de polarização da molécula, e o segundo refere-se à polarização da luz incidente. Todos os  $\alpha_{ij}$  são componentes de um tensor  $\alpha$ , que projeta um vetor, o vetor de campo elétrico  $E$ , para produzir outro vetor  $\mu'$ , o momento dipolo induzido. A (A1) pode ser reescrita em notação de matriz,

$$\begin{bmatrix} \mu'_x \\ \mu'_y \\ \mu'_z \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} E_x \\ E_y \\ E_z \end{bmatrix}\tag{A2}$$

ou simplesmente como

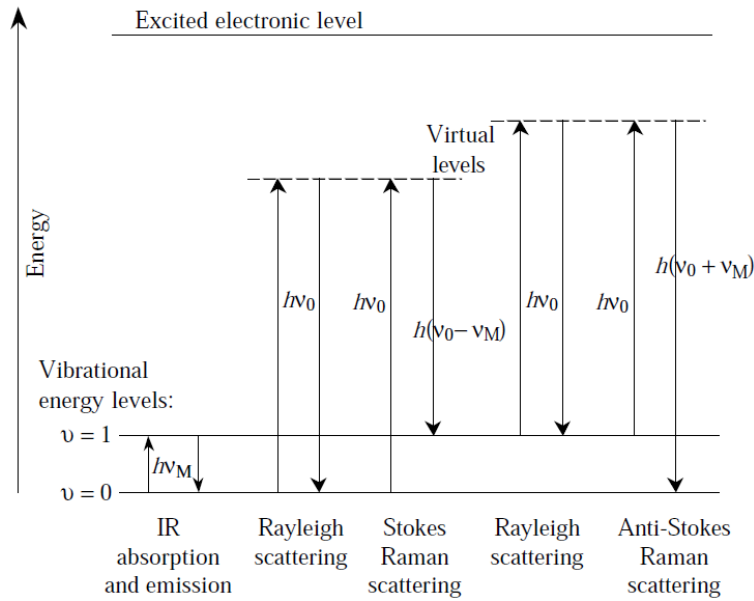
$$\mu' = \alpha \cdot E \quad (\text{A3})$$

A flexibilidade dos elétrons e núcleos em uma molécula depende de sua distância mútua. Se a distância for pequena, um campo externo terá uma influência menor sobre as partículas do que se a distância for grande. Portanto, a polarizabilidade de uma molécula pode ser modulada por uma vibração. Conseqüentemente, o momento dipolar induzido e, portanto, também a amplitude do campo emitido é modulada pela frequência da vibração [40].

As mudanças de energia que detectamos na espectroscopia vibracional são aquelas necessárias para causar o movimento nuclear. Se apenas a distorção da nuvem de elétrons estiver envolvida na dispersão, os fótons serão espalhados com mudanças de frequência muito pequenas, pois os elétrons são comparativamente leves. Este processo de espalhamento é considerado como espalhamento elástico e é o processo dominante, chamado de espalhamento Rayleigh (Figura A6) [39].

No entanto, se o movimento nuclear for induzido durante o processo de espalhamento, a energia será transferida do fóton incidente para a molécula (espalhamento Stokes) ou da molécula para o fóton espalhado (espalhamento anti-Stokes) (Figura A6). Nestes casos o processo é inelástico e a energia do fóton espalhado é diferente da energia do fóton incidente por uma unidade vibracional. Este é o espalhamento Raman. É inerentemente um processo fraco em que apenas 1 (um) em cada  $10^6$ - $10^8$  fótons que se espalham é espalhamento Raman. Por si só, isso não torna o processo insensível, pois com lasers e microscópios modernos, densidades de potência muito altas podem ser fornecidas a amostras muito pequenas, mas outros processos, como degradação de amostras e fluorescência, podem ocorrer prontamente [39–42].

**Figura A6.** Diagrama apresentando a emissão ou absorção IR, espalhamento Rayleigh, Stokes e anti-Stokes.



**Fonte:** [42].

A perda ou ganho de energia pela molécula,  $\Delta E_m$ , é equivalente à energia da radiação eletromagnética emitida, absorvida ou espalhada. Esta energia é diretamente proporcional à frequência ou número de onda da radiação,

$$\Delta E_m = h\nu = hc\bar{\nu} \tag{A4}$$

$h$  é a constante de Planck,  $6.62608 \times 10^{-34}$  J.s;  $c$  é a velocidade da luz,  $2.99792458 \times 10^8$  m.s<sup>-1</sup>; e  $\nu$  é a frequência e  $\bar{\nu}$  é o número de onda da radiação, (a frequência é representada pela letra grega ni,  $\nu$ )

Portanto, a molécula é irradiada com energia inicial  $h\nu_0$  e realiza um espalhamento da luz de energia  $h\nu_M$ . Se não ocorre nenhuma alteração na energia entre o fóton incidente e o espalhado pela molécula, temos um espalhamento Rayleigh,  $h\nu_0 = h\nu_M$ , então  $\Delta E_m = 0$ , pois a energia rotacional e vibracional da molécula não sofre alterações, assim, esse espalhamento é mais intenso dentre as radiações espalhadas observadas no efeito Raman (Figura A6) [4,40,43].

Se ao interagir com a molécula no estado fundamental  $v = 0$  (letra grega ípsilon), a molécula é excitada até o estado virtual e retorna para o nível  $v = 1$ , o fóton perde energia para a molécula e, assim, ocorre um espalhamento de um fóton com energia  $\Delta E_m = h\nu_0 - h\nu_M$ , denominado espalhamento Stokes [4,40,41].



Caso o fóton interaja com a molécula no nível energético excitado  $\nu = 1$  e provoque sua transição para o nível de energia virtual e, em seguida, retornando para o nível fundamental ( $\nu = 0$ ), o fóton ganha energia da molécula e fica com energia  $\Delta E_m = h\nu_0 + h\nu_M$ . Esse espalhamento é chamado de anti-Stokes [4,40,41].

O estado virtual é formado quando o fóton interage com a molécula e essa interação pode ser considerada como a formação de um “complexo” de curta duração entre a energia da luz e os elétrons na molécula em que os núcleos não têm tempo para se mover apreciavelmente. Isso resulta em uma forma de alta energia da molécula com uma geometria eletrônica diferente, mas sem nenhum grande movimento nuclear. Este “complexo” entre a luz e a molécula não é estável e a luz é liberada imediatamente como radiação espalhada [44].

Na espectroscopia Raman, os espectros Stokes são mais utilizados pois, a temperatura ambiente, cerca de 99 % das moléculas encontram-se no estado vibracional de menor energia ( $\nu = 0$ ), de acordo com a lei de distribuição de energia de Maxwell-Boltzman, por isso, a probabilidade de ocorrência do espalhamento Stokes é bem maior do que a do espalhamento anti-Stokes [40–42,45].

De acordo com a teoria clássica, o espalhamento Raman pode ser explicado ao analisar a intensidade do campo elétrico  $E$  da onda eletromagnética (feixe do laser,  $\nu_0$ ) fluuando com o tempo ( $t$ ) como apresentado na (A5 [4,40,42,43]):

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (\text{A5})$$

$E_0$  corresponde a amplitude vibracional. Se uma molécula é irradiada com o feixe do laser, um momento de dipolo elétrico ( $\mu$ ) é induzido:

$$\mu = \alpha E = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (\text{A6})$$

Se a molécula está vibrando com uma frequência  $\nu_m$ , o deslocamento nuclear  $q$  é dado como:

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_m t) \quad (\text{A7})$$

sabendo que  $q_0 = (r - r_{eq})$ , a diferença entre a separação nuclear em qualquer instante e a distância de equilíbrio, ou seja, a amplitude vibracional. Para uma vibração de baixa amplitude,  $\alpha$  é uma função linear de  $q$ . Assim, podemos considerar que

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)_0 q_0 + \dots \quad (\text{A8})$$

Aqui,  $\alpha_0$  é a polarizabilidade na posição de equilíbrio e  $(\partial\alpha/\partial q)_0$  é a taxa de variação de  $\alpha$  em relação à variação de  $q$ , avaliada na posição de equilíbrio.

Combinando a (A6 com a (A7 e a (A8, geramos a (A9:

$$\begin{aligned} \mu &= \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \\ \mu &= \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)_0 q_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \\ \mu &= \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)_0 q_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_m t) \\ \mu &= \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial\alpha}{\partial q}\right)_0 q_0 E_0 [\cos\{2\pi(\nu_0 + \nu_m)t\} + \cos\{2\pi(\nu_0 - \nu_m)t\}] \quad (\text{A9}) \end{aligned}$$

As três funções cosseno com três argumentos diferentes nesta equação significam que o dipolo induzido oscila com três frequências distintas simultaneamente, portanto gera radiação em  $\nu_0$  e em frequências deslocadas por  $\pm\nu_m$ . O primeiro termo refere-se ao espalhamento Rayleigh observado em  $\nu_0$ . O segundo termo indica o fenômeno do espalhamento anti-Stokes ( $\nu_0 + \nu_m$ ) e o terceiro termo representa o espalhamento Stokes ( $\nu_0 - \nu_m$ ). Se  $(\partial\alpha/\partial q)_0$  for zero, a vibração não é Raman ativa. Ou seja, para ser Raman-ativo, a taxa de mudança de polarizabilidade ( $\alpha$ ) com a vibração não deve ser zero [4,40,42,43].

Pode-se concluir que a teoria clássica descreve com sucesso as relações de frequência do espalhamento vibracional Raman. Mostra que o deslocamento Raman é independente da frequência (comprimento de onda) da radiação incidente. Assim, se excitamos uma molécula com a linha de laser verde ou azul de um laser, obteremos o mesmo padrão de número de onda (mas não necessariamente as mesmas intensidades relativas), com deslocamentos Raman característicos da molécula de espalhamento [42].

A espectroscopia Raman tem a capacidade de manter a integridade dos materiais analisados e não precisar de uma amostragem rígida para alcançar bons resultados, além de possibilitar análises *in situ*. Por isso, foi e tem sido amplamente utilizada em processos de sínteses de novos compostos, cristais e cocrystalis [46,47], compostos inorgânicos e minerais [46,48,49], na análise forense de drogas, explosivos, tintas e pigmentos na arte e arqueologia; polímeros e emulsões; tautomeria em corantes, análise *in situ* de materiais biológicos, como

tecido benigno e maligno, bactérias; na indústria farmacêutica, identificando a formulação correta e polimorfos; processos de fermentação; e produtos gerados em processos catalíticos [46].

#### A1.1.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (IR)

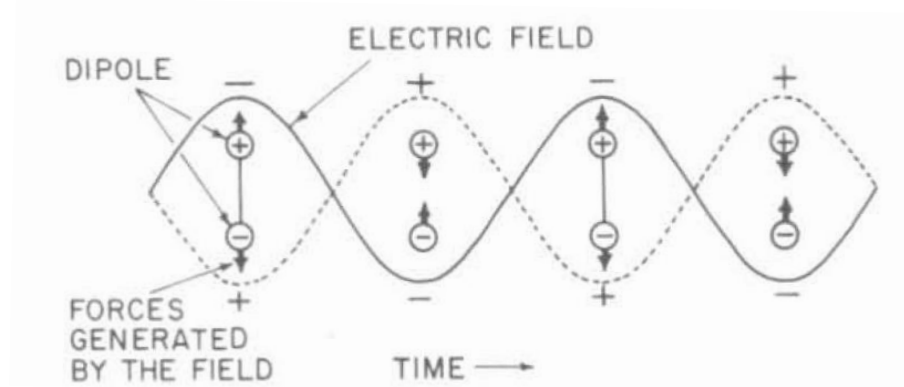
Na absorção ou emissão no IR, há uma transição direta entre dois níveis de energia vibracional, mais frequentemente entre o estado vibracional fundamental ( $v = 0$ ) e o primeiro estado excitado ( $v = 1$ ), como apresentado na Figura A6. Essas transições são processos simples de um fóton – um fóton é absorvido ou emitido durante a transição. Nesse processo, o fóton ao ser absorvido pela molécula precisa causar uma alteração no seu momento de dipolo durante a vibração molecular,  $\mu$  [50].

A absorção do fóton depende da frequência normal da vibração molecular e a intensidade da absorção do fóton depende da efetividade com que o fóton consegue transferir essa energia para a molécula, e isso depende da mudança no momento dipolo que ocorre como resultado da vibração molecular. O momento de dipolo molecular é a relação entre a quantidade de carga entre as extremidades do dipolo ( $\delta$ ) e a distância entre as cargas ( $d$ ) ((A10)).

$$\mu = \delta \cdot d \quad (\text{A10})$$

Como o comprimento de onda da radiação infravermelha é maior que o tamanho das moléculas orgânicas de baixo peso molecular, que possuem massa molar abaixo de 900 D ( $1 \text{ D} \approx 1$  unidade de massa atômica) e um tamanho médio de 1nm, o campo elétrico do fóton pode ser considerado uniforme em todo o entorno da molécula, como apresentado na Figura A7.

**Figura A7.** Forças geradas sobre um dipolo por um campo elétrico oscilante. Essas forças tendem a diminuir e aumentar o espaço entre os dipolos alternadamente.



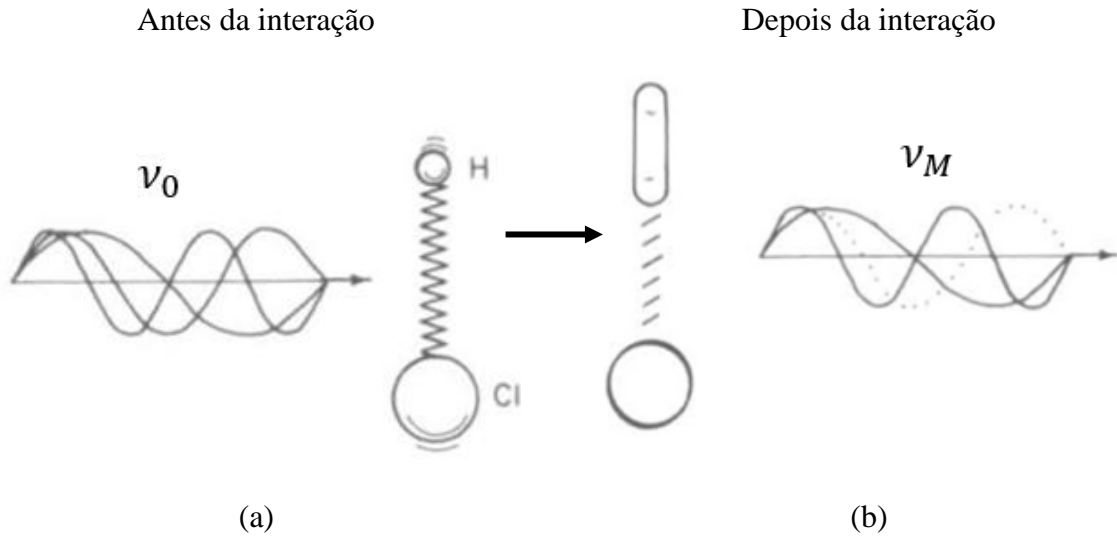
Fonte: [4].

O campo elétrico exerce forças sobre as cargas moleculares, causando repulsão quando houver a coincidência de cargas e atração quando houver cargas opostas na interação entre o campo elétrico e o dipolo molecular. Essa interação irá causar alterações na polaridade da molécula devido as mudanças do comprimento da ligação e o centro de carga elétrica, induzindo o momento dipolar da molécula a oscilar na frequência do fóton [4].

Se a energia de um fóton incidente corresponde ao intervalo de energia entre o estado fundamental de uma molécula e um estado excitado, o fóton pode ser absorvido e a molécula promovida para o estado excitado de maior energia (Figura A6). É essa mudança que é medida na espectroscopia de absorção pela detecção da perda dessa energia de radiação da luz, como ilustrado esquematicamente na Figura A8 [39,44].

No esquema apresentado na Figura A8, uma molécula de HCl no estado fundamental é atingida por fótons de várias frequências  $\nu_0$ . A molécula absorve o fóton de frequência  $\nu_M$  e fica no estado vibracional excitado. Supondo que o fóton absorvido ( $\nu_M$ ) tenha frequência igual a  $8,67 \times 10^{13}$  Hz, essa foi a frequência que permitiu a molécula alcançar seu estado vibracional excitado. Assim, podemos concluir que, por mais que a molécula seja irradiada com fótons da faixa da radiação infravermelha, ela absorverá apenas as frequências específicas que coincidam com as frequências naturais da molécula [4].

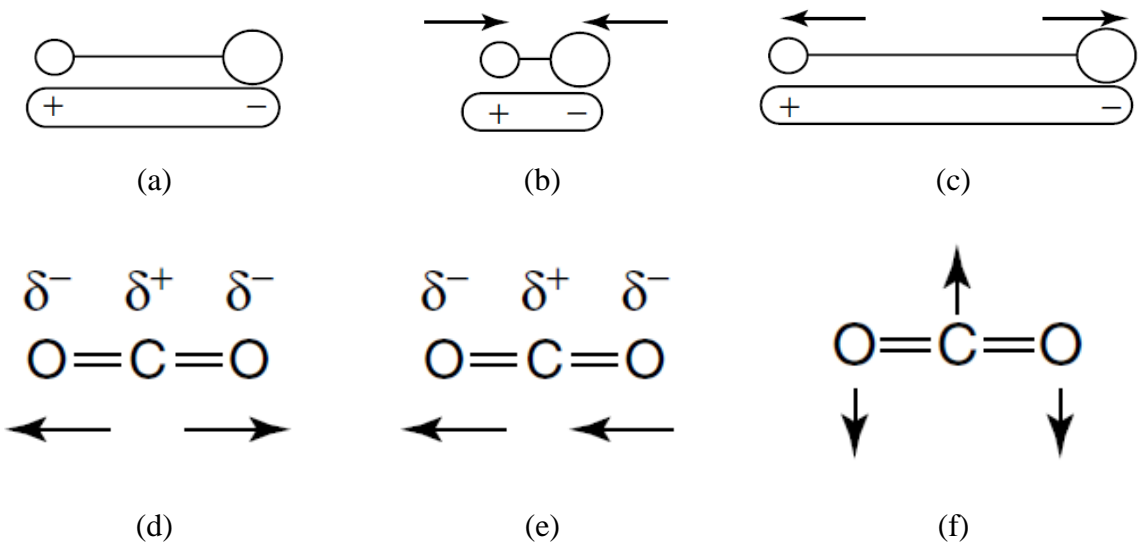
**Figura A8.** Ilustração esquemática da absorção no infravermelho. (a) Antes da interação: a molécula será atingida por vários fótons de frequência  $\nu_0$ . (b) Após a interação dos fótons com a molécula, um dos fótons é absorvido pela molécula,  $\nu_M$ .



Fonte: adaptado de [4].

O exemplo de uma molécula com vibração ativa no infravermelho é apresentado na Figura A9. O momento de dipolo de uma molécula heteronuclear muda à medida que a ligação se expande e se contrai. Em comparação, um exemplo de uma molécula com vibração inativa no infravermelho é uma molécula diatômica homonuclear porque seu momento de dipolo permanece zero [51].

**Figura A9.** Mudanças no momento dipolo de moléculas lineares. (a) estado de repouso, (b) durante uma contração da ligação, (c) durante um estiramento da ligação, (d) estiramento simétrico do CO<sub>2</sub>, (e) estiramento antissimétrico do CO<sub>2</sub>, (f) deformação angular do CO<sub>2</sub>.



Fonte: [51].

Na Figura A9(d) apresenta o estiramento simétrico do CO<sub>2</sub>, uma molécula linear apolar com ligações polares. No estiramento simétrico, a vibração não causa alteração no momento dipolo molecular, pois durante o estiramento e compressão das suas ligações duplas  $C = O$ , as cargas parciais negativas ( $\delta^-$ ) continuam nos átomos de oxigênio das extremidades e a carga parcial positiva ( $\delta^+$ ) continua situada no centro de simetria da molécula, no átomo de carbono; assim, a vibração de estiramento simétrica do CO<sub>2</sub> não é ativa no infravermelho [40,51].

Durante a vibração de estiramento antissimétrica (Na Figura A9(e)), o carbono de aproxima de uma das extremidades, deslocamento a carga parcial positiva do centro de simetria molecular, enquanto o outro oxigênio se distancia um pouco mais do carbono, causando uma maior diferença na distância entre eles. Na deformação angular, o átomo de carbono se move na direção contrária dos átomos de carbono, alterando a configuração do momento dipolo da molécula durante a vibração. Por isso, a vibração antissimétrica e da deformação angular do CO<sub>2</sub> alteram o momento dipolo e são ativas no espectro infravermelho [40,51].

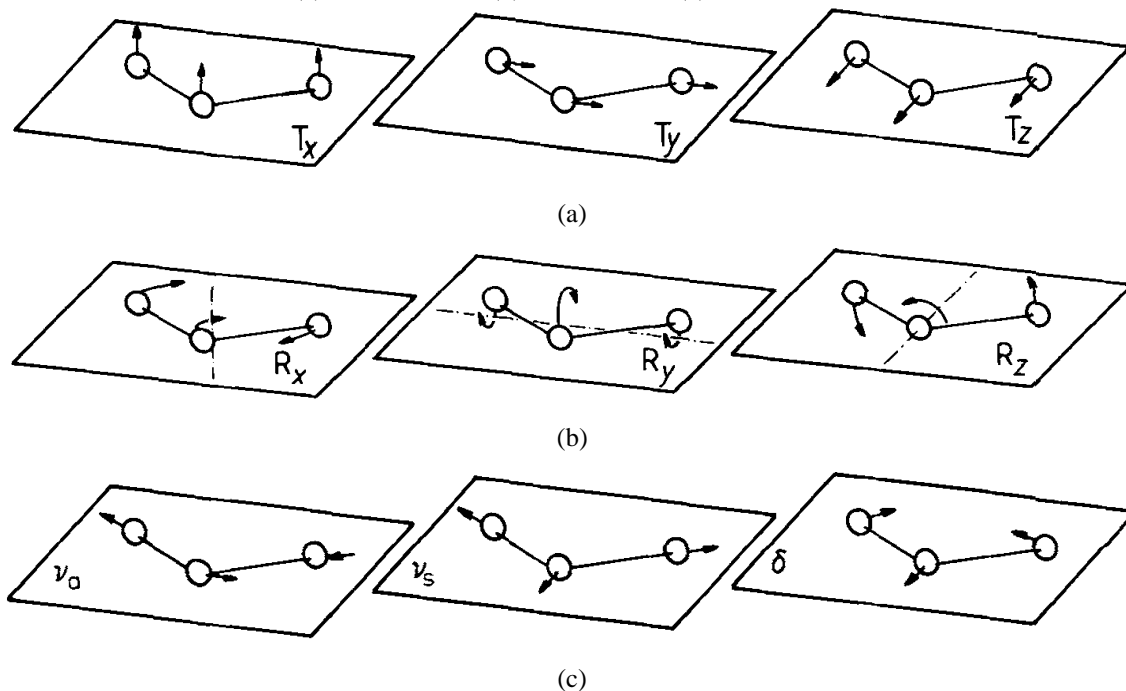
Em suma, a absorção da radiação no infravermelho que gera uma vibração molecular causa uma mudança no momento dipolo molecular, produzindo o espectro de infravermelho do composto estudado.

A espectroscopia no IR é uma ferramenta muito poderosa que nos ajuda na identificação de compostos químicos (tanto orgânicos quanto inorgânicos) e grupos funcionais predominantes em um determinado composto. Além disso, a coleta de informações estruturais de um composto também é útil para avaliar a pureza de um composto. Portanto, é considerado uma ferramenta muito importante do químico orgânico e dos cientistas de materiais [52].

### A1.1.3 VIBRAÇÕES MOLECULARES

As moléculas orgânicas são compostas de vários átomos ( $N$ ) que podem se mover ao longo de cada um dos três eixos das coordenadas do sistema cartesiano, denominado graus de liberdade. Assim, uma molécula constituída de  $N$  átomos tem  $3N$  graus de liberdade. Dentre as possibilidades, a molécula pode realizar o movimento de translação, que consiste em mover simultaneamente todos os átomos em uma direção paralela ao eixo de coordenadas, possuindo assim três movimentos de translação, representado pela letra  $T$  e o subscrito indicando a direção do movimento, como apresentado na Figura A10(a). Esses movimentos não alteram o comprimento e os ângulos de ligação [14,40,41].

**Figura A10.** Graus de liberdade dos movimentos de uma molécula de água. Movimentos: (a) translacionais; (b) rotacionais; e (c) vibracionais.



Fonte: adaptado de [40].

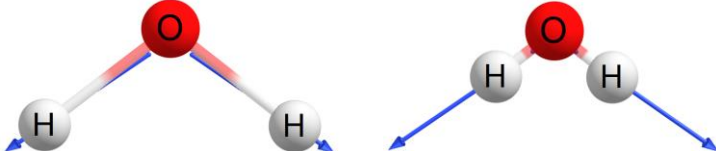
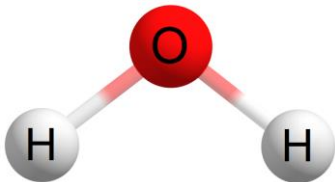
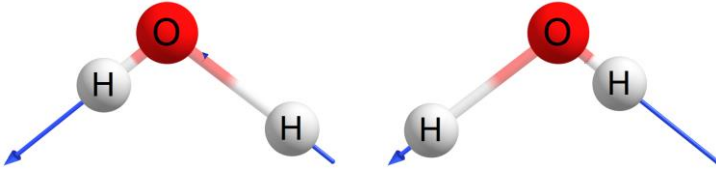
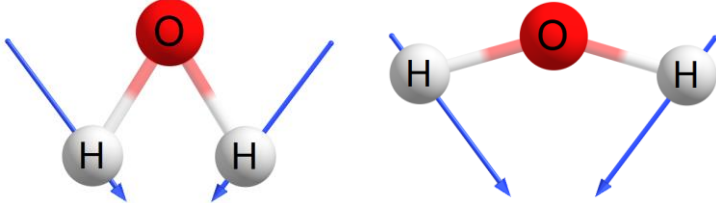
A Figura A10(b) apresenta os movimentos rotacionais, que também não altera o comprimento e ângulo entre os átomos. Esse movimento compreende realizar a de rotação de toda a molécula em torno dos três eixos principais de rotação, que passam pelo centro de gravidade da molécula, ou seja, 3 possíveis movimentos moleculares ou graus de liberdade [14,40,41].

Os movimentos vibracionais, por sua vez, alteram as distâncias e/ou os ângulos entre os átomos que compõem uma molécula e possuem, assim como os movimentos translacionais e rotacionais, podem ocorrer nos 3 eixos do sistema cartesiano. Assim, para moléculas poliatômicas não lineares, como a molécula de água, os movimentos vibracionais possíveis são  $3N$ , menos 3 movimentos translacional e menos e movimentos rotacionais, resultando em  $3N - 6$  movimentos vibracionais, como mostrado na Figura A10(c). Para moléculas poliatômicas lineares, como o CO<sub>2</sub>, os movimentos vibracionais são  $3N - 5$ , pois possuem 3 movimentos translacionais e 2 movimentos rotacionais (a rotação em torno do eixo da ligação não envolve o deslocamento de nenhum dos átomos) [14,40,41].

A molécula de água possui  $N = 3 \rightarrow 3.3 - 6 = 3$  movimentos vibracionais. São eles: (a) estiramento simétrico ( $\nu_s$ ), (b) estiramento antissimétrico ( $\nu_a$ ) e (c) deformação angular simétrica no plano ou *scissoring* (movimento de tesoura), como apresentado na Figura A11 [41,53].

**Figura A11.** Modos normais de vibração da água (H<sub>2</sub>O).

(a) estiramento simétrico; (b) estiramento antissimétrico; (c) *scissoring*.

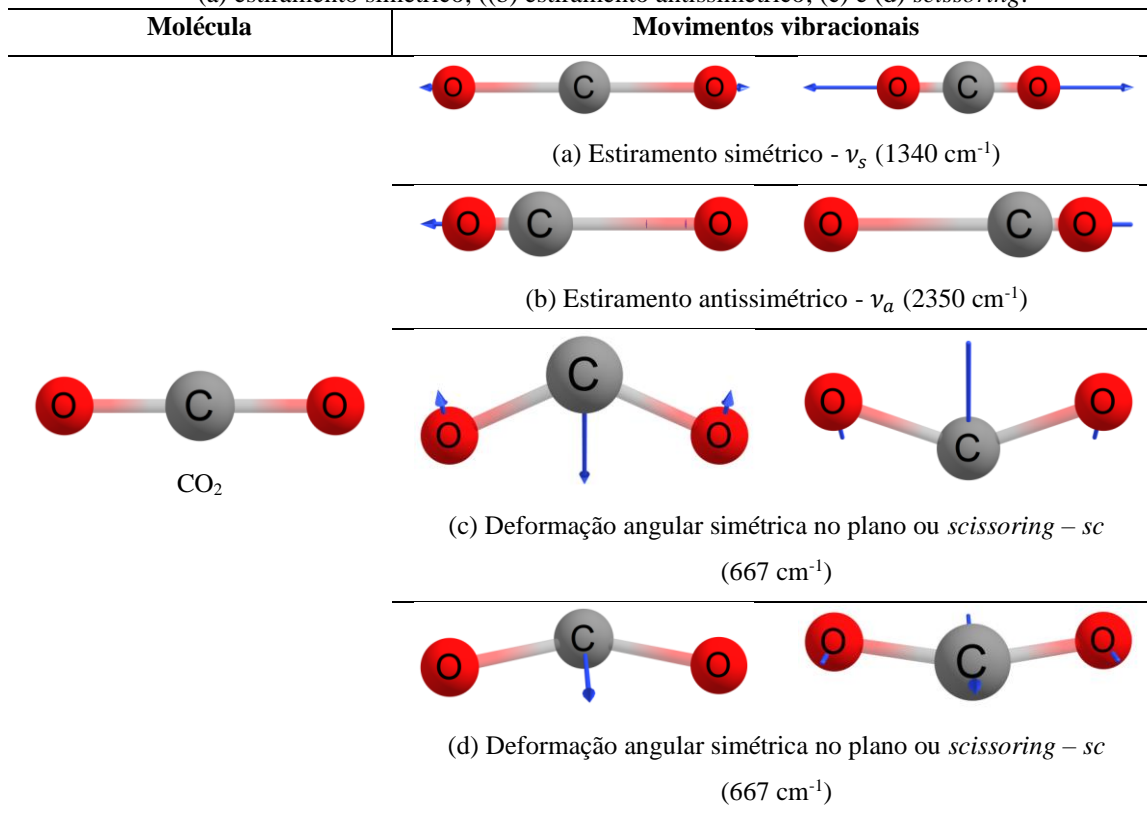
Molécula	Movimentos vibracionais
	 <p data-bbox="774 571 1220 604">(a) Estiramento simétrico - <math>\nu_s</math> (3657 cm<sup>-1</sup>)</p>
 <p data-bbox="391 862 446 896">H<sub>2</sub>O</p>	 <p data-bbox="742 806 1252 840">(b) Estiramento antissimétrico - <math>\nu_a</math> (3756 cm<sup>-1</sup>)</p>
	 <p data-bbox="662 1086 1332 1164">(c) Deformação angular simétrica no plano ou <i>scissoring</i> - <math>\nu_c</math> (1595 cm<sup>-1</sup>)</p>

Para exemplificar os movimentos vibracionais de uma molécula poliatômica linear, vamos analisar uma molécula de CO<sub>2</sub>. Com  $N = 3$ , a molécula possui  $N = 3 \rightarrow 3 \cdot 3 - 5 = 4$  movimentos vibracionais, apresentados na Figura A12. Uma vibração de estiramento simétrico (a), um estiramento antissimétrico (b) e duas deformações angulares simétricas no plano ou *scissoring* (c e d). As vibrações representadas em (c) e (d) estão em 90° uma em relação à outra, e representam o movimento de deformação em todos os planos possíveis em torno do eixo da ligação. Além disso, possuem energias idênticas e são denominadas vibrações degeneradas [41,53].



**Figura A12.** Modos normais de vibração da molécula de CO<sub>2</sub>.

(a) estiramento simétrico; (b) estiramento antissimétrico; (c) e (d) *scissoring*.



As primeiras definições mais conclusivas sobre as diferentes vibrações moleculares foram feitas por Reinhard Mecke (1895 – 1969) em seus trabalhos publicados na década de 1930. Dentre eles, três estudos publicados em 1932 se destacam. Foram eles: (i) Valência e vibrações de deformação de moléculas simples. I Teoria geral [54]; (ii) Valência e vibrações de deformação de moléculas simples. II. Moléculas triatômicas [55]; (iii) Vibrações dinâmicas e de deformação de moléculas poliatômicas. III. Derivados de metano, acetileno, etileno e halogênio [56].

Nesses estudos, vibrações moleculares de moléculas “esticadas” ou lineares (como CO<sub>2</sub>, CS<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O e HCN) e “anguladas” ou tetraédricas (como H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>S) foram estudadas. Além disso, foram estudadas moléculas como H<sub>2</sub>CCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>CBr<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> e C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>. Ao realizar essas análises, Mecke notou algumas vibrações características que receberam nomes descritivos especiais. As vibrações de estiramento de um grupo XY são chamadas de  $\nu(\text{XY})$ ; e as vibrações de deformação angular de grupos XY<sub>2</sub> ou XY<sub>3</sub> são referidas como  $\delta(\text{XY}_2)$  ou  $\delta(\text{XY}_3)$ .

Outras vibrações de deformação angular possuem denominação específicas, como *wagging* -  $\omega(\text{XY}_2)$ , *rocking* -  $\rho(\text{XY}_2)$  e *twisting* -  $\tau(\text{XY}_2)$ . O *twisting* passou a ser representado pelas letras *tw* e a letra grega tau minúscula ( $\tau$ ) passou, nos últimos anos, a ser utilizada para simbolizar uma torção de um segmento de 4 átomos ligados. As vibrações de deformação de

um átomo fora de um plano definido por três átomos vizinhos são chamadas de vibrações fora do plano  $\gamma$ . Um exemplo é a vibração  $\gamma(C - H)$  dos átomos de hidrogênio em um anel de benzeno. Se as deformações fora do plano de átomos pesados forem descritas (em vez de átomos de H),  $\Gamma$  pode representar  $\gamma$ . Para resumir essas definições, a Tabela A3 foi organizada.

Basicamente, existem dois tipos de vibrações moleculares:

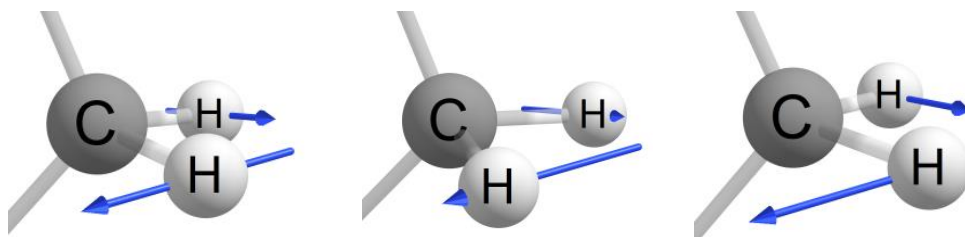
1. Estiramento (*stretching*): variação contínua na distância interatômicas ao longo do eixo da ligação entre dois átomos. Podem ser simétricas e antissimétricas, também denominadas em fase e fora de fase. Essa vibração é representada pela letra grega “nu” minúscula,  $\nu$ .

Na Figura A11(a) e Figura A12(a), é possível visualizar o estiramento simétrico, representado como  $\nu_s$ , em uma molécula com arranjo espacial tetraédrico e linear, respectivamente. Percebemos que as duas ligações sofrem encurtamento e alongamento ao mesmo tempo. Na Figura A11(b) e Figura A12(b), observamos que, enquanto uma ligação encurta, a outra sofre um alongamento, sendo classificada como um estiramento antissimétrico,  $\nu_a$ .

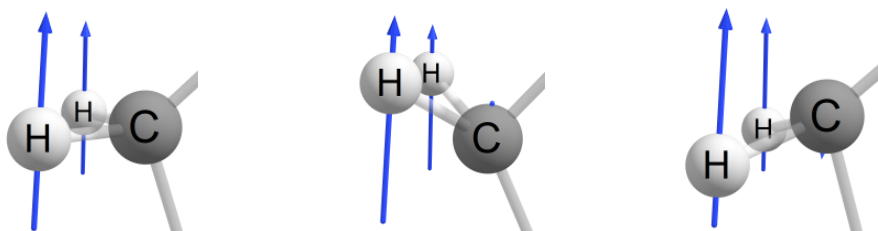
2. Deformação angular (*bending*): variação no ângulo entre duas ou mais ligações. Podem ocorrer no plano (*in-plane*), fora do plano (*out-of-plane*), simétricas e antissimétricas. Esse movimento vibracional é representado pela letra grega “delta” minúscula,  $\delta$ ; porém, possui outros símbolos que especificam variações das vibrações de deformação angular, resumidas na Tabela A3.

A deformação angular simétrica no plano é chamada de *scissoring* (em português, tesoura) devido à semelhança do movimento vibracional ao movimento de corte da tesoura, como mostrado na Figura A11(c) e Figura A12(c,d). Nesse movimento vibracional, os 2 átomos ligados ao átomo central se movem diminuindo e aumentando o ângulo da ligação simultaneamente.

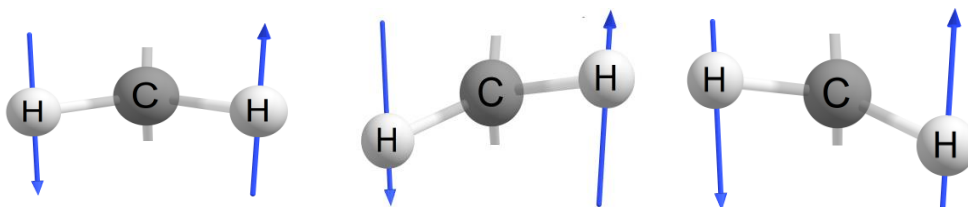
A deformação angular antissimétrica no plano, denominada *rocking* (em português balanço), é o movimento de 2 átomos ligados a um átomo central de um lado para o outro, como ilustrado na Figura A13, com os 2 átomos de hidrogênio ligados ao átomo de carbono, podendo ser representado como  $r(CH_2)$  ou  $\rho(CH_2)$ .

**Figura A13.** Deformação angular antissimétrica no plano da porção molecular  $-(CH_2)-$ .

A deformação angular simétrica fora do plano ou *wagging* (abano), movimento vibracional parecido ao movimento de uma pessoa abanando alguém, consiste no movimento simultâneo de 2 átomos ligados a um átomo central para frente ou para trás do plano da ligação, como apresentado na Figura A14, apresentado o *wagging* da porção molecular do  $CH_2$ ,  $\omega(CH_2)$  ou  $wag(CH_2)$ .

**Figura A14.** Deformação angular simétrica fora do plano da porção molecular  $-(CH_2)-$ .

A deformação angular antissimétrica fora do plano, ou *twisting* (torção) consiste em um movimento em que os 2 átomos ligados ao átomo central se movem em direções opostas fora do plano da ligação dos três átomos, como exibido na Figura A15 para o  $CH_2$ ,  $tw(CH_2)$ .

**Figura A15.** Deformação angular antissimétrica fora do plano do  $CH_2$ .

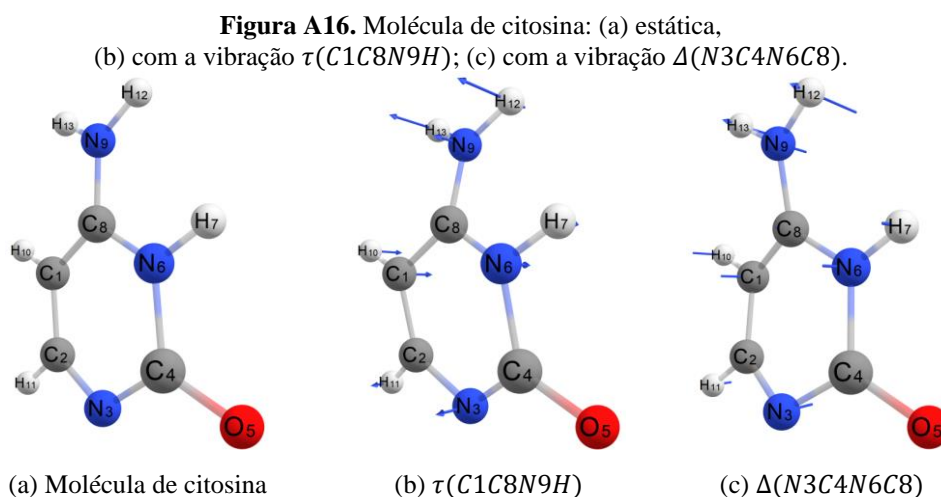
**Tabela A3.** Resumo das representações e descrição dos movimentos vibracionais.

<b>Movimento vibracional</b>	<b>Representação</b>	<b>Descrição</b>
Estiramento	$\nu$ letra grega nu ( $\nu$ )	Movimento de dois átomos ligados X–Y em direções opostas ao longo da ligação.
Estiramento simétrico	$\nu_s$ nu com subscrito $s$	Movimento de 3 ou 4 átomos ligados, X–Y <sub>2</sub> ou X–Y <sub>3</sub> , em fase ao longo da ligação; geralmente X como átomo central.
Estiramento antissimétrico	$\nu_a$ nu com subscrito $a$	Movimento de 3 ou 4 átomos ligados, X–Y <sub>2</sub> ou X–Y <sub>3</sub> , fora de fase ao longo da ligação; geralmente X como átomo central.
Deformação angular	$\delta$ Letra grega delta	Movimento de 3 átomos ligados X–Y–Z alterando o ângulo ABC. Geralmente, usada quando não é possível especificar o tipo de deformação.
Deformação angular simétrica no plano ( <i>scissoring</i> )	$sc$	Movimento simétrico no plano da deformação angular da porção X–Y <sub>2</sub> , semelhante ao movimento de corte da tesoura.
Deformação angular antissimétrica no plano ( <i>rocking</i> )	$r$ ou $\rho$ Letra grega rô	Movimento antissimétrico no plano da deformação angular da porção X–Y <sub>2</sub> , semelhante ao movimento de limpador de para-brisa.
Deformação angular simétrica fora do plano ( <i>wagging</i> )	$wag$ ou $\omega$ Letra grega ômega	Movimento simétrico fora do plano da porção X–Y <sub>2</sub> , semelhante ao movimento de abano, mexendo os dois braços para frente ou para trás do corpo, simultaneamente.
Deformação angular antissimétrica fora do plano ( <i>twisting</i> )	$tw$ ou $\tau^*$ Letra grega tau	Movimento simétrico fora do plano da porção X–Y <sub>2</sub> , semelhante ao movimento dos dois braços, sendo um para frente e o outro para trás, simultaneamente.
Deformação angular fora do plano de 4 átomos (torção)	$\tau^*$ Letra grega tau ou $\Delta$ Letra grega delta	Para quatro átomos ligados, como X–Y–W–Z, a torção é a mudança de ângulo entre dois planos X–Y–W e Y–W–Z, por exemplo. Ou alterações alternadas. Caso não tenha hidrogênios, a letra grega delta pode ser usada para diferenciar a vibração.
Deformação angular fora do plano de 4 átomos ( <i>out-of-plane bending</i> )	$\gamma$ Letra grega gama ou $\Gamma$ Letra gama maiúscula	Para quatro átomos ligados, como X–Y–W–Z, esse movimento de vibração causa a alteração do ângulo do segmento X–Y–W em relação a W–Z, isso é, as vibrações de deformação de um átomo fora de um plano definido por três átomos vizinhos. Caso não tenha átomos de hidrogênio, a letra grega gama maiúscula pode ser utilizada para diferenciar a vibração.

\*A letra grega tau minúscula ( $\tau$ ) é utilizada para simbolizar uma torção fora do plano de 3 ou 4 átomos.

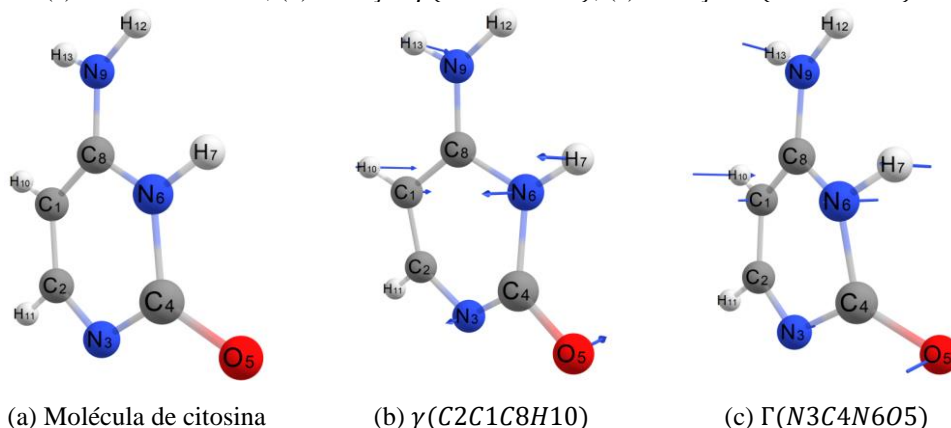
**Fonte:** [40,41,53–58]

Na vibração molecular de deformação angular fora plano por 4 átomos ou mais átomos ligados em sequência, apresentado na Figura A16, os átomos *C1* e *N9* movem-se em direções contrárias em relação ao plano da molécula de citosina, causando uma torção na sequência de átomos que vai de *C1* a *H13* ou *H12*, com essa vibração sendo denominada como  $\tau(C1C8N9H)$ , por conter um átomo de *H* no grupo que sofre a torção fora do plano. Além dessa torção, temos outra vibração com a ausência do átomo de hidrogênio, representada como  $\Delta(N3C4N6C8)$ ; nesta, vemos que os átomos *N3* e *N6* vibram em direções inversas para fora do plano da molécula de citosina, respectivamente, o mesmo movimento acontecendo com os átomos de *C4* e *C8*, em menor escala.



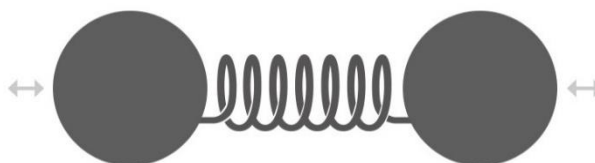
Outro tipo de deformação angular fora do plano envolve 4 átomos que não estão ligados em sequência, e sim como se um deles fosse uma “ramificação” na sequência de 3 átomos ligados. Nessa vibração, essa “ramificação” move-se em direção contrária plano de ligação dos 3 átomos, esse plano pode se mover ou não. A Figura A17 exhibe essas vibrações na molécula de citosina. Na Figura A17(b), percebe-se que o segmento *C8 – H10* movem-se para trás do plano do segmento *C2 – C1 – C8*, formando a vibração fora do plano representada como  $\gamma(C2C1C8H10)$ . Na Figura A17(c), a vibração  $\Gamma(N3C4N6O5)$ , o símbolo foi alterado pela ausência de átomos de hidrogênio na vibração, o segmento *N3 – C4 – N6* move-se para frente do plano, enquanto a ligação *C4 – O5* move-se para trás do plano, causando uma torção fora do plano.

**Figura A17.** Representação da molécula de citosina apresentado vibrações fora do plano. (a) molécula estática; (b) vibração  $\gamma(C2C1C8H10)$ ; (c) vibração  $\Gamma(N3C4N6O5)$ .



Para mensurar a energia envolvida nas vibrações moleculares, uma aproximação é realizada considerando os átomos como esferas maciças de massa ligadas por uma mola sem peso. Considerando o modelo mais simples de um oscilador harmônico simples, com 2 átomos ligados por uma mola, representando uma vibração de estiramento (Figura A18).

**Figura A18.** Representação de dois átomos ligados por uma mola de massa desprezível.



Considerando o deslocamento  $x$  dos átomos pela aplicação de uma força do longo do eixo da mola, a força restauradora  $F$  é proporcional ao deslocamento (lei de Hooke). O sinal negativo mostra que a força é direcionada para o lado oposto ao deslocamento.

$$F = -kx \tag{A11}$$

De acordo com a segunda lei de Newton, a força é proporcional à massa e sua aceleração. Considerando a segunda derivada da distância em relação ao tempo, temos:

$$F = m \frac{d^2x}{dt^2} \tag{A12}$$

Inserindo a (A12) na (A11), temos:

$$m \frac{d^2x}{dt^2} = -kx \quad (\text{A13})$$

A (A13) é uma equação diferencial de segunda ordem que descreve o movimento do átomo como uma oscilação harmônica. A solução dessa equação é:

$$x = x_0 \cdot \cos(2\pi\nu t + \varphi) \quad (\text{A14})$$

onde  $\nu$  é a frequência vibracional e  $\varphi$  é o ângulo de fase. A segunda derivada do deslocamento  $x$  pelo tempo  $t$  é:

$$\frac{d^2x}{dt^2} = -4\pi^2\nu^2 x_0 \cdot \cos(2\pi\nu t + \varphi) = -4\pi^2\nu^2 x \quad (\text{A15})$$

Inserindo a (A15) na (A13), temos:

$$m(-4\pi^2\nu^2) = -k \rightarrow 4\pi^2\nu^2 m = k \quad (\text{A16})$$

Organizando a (A16), isolando o valor da frequência, em Hz ou  $\text{s}^{-1}$ ,

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (\text{A17})$$

Considerando que a frequência calculada na (A17) está relacionada aos dois átomos ligados por uma mola, trocamos a massa única  $m$  pela massa reduzida  $\mu$ , onde:

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (\text{A18})$$

Na espectroscopia vibracional é mais habitual utilizar as frequências das vibrações em comprimento de onda recíproco ( $1/\lambda$ ), denominado número de onda ( $\tilde{\nu}$ ). Então:

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} = \text{ou } \nu = \tilde{\nu} \cdot c \quad (\text{A19})$$

Substituindo  $m$  e  $\nu$  na (A17, chegamos a equação que calcula o número de onda de uma frequência vibracional de estiramento. Assim:

$$\tilde{\nu} \cdot c = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \rightarrow \tilde{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (\text{A20})$$

$c$  é a constante da velocidade da luz ( $2,99792458 \times 10^8$  m/s ou  $2,99792458 \times 10^{10}$  cm/s),

$k$  é a constante que mede a força da ligação química ou a energia necessária para romper uma ligação química, em N/m;

$\mu$  é a massa reduzida.

Como exemplo, podemos calcular a frequência de estiramento da carbonila,  $C = O$ . O átomo de carbono tem massa atômica 12 g/mol e o oxigênio 16 g/mol. A constante de força da ligação é 908 N/m ou  $\text{kg} \cdot \text{s}^{-2}$ . Assim,

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} = \left( \frac{12 \times 16}{12 + 16} \right) u \cdot \frac{1,66 \cdot 10^{-27} \text{ kg}}{1 u} = 1,14 \cdot 10^{-26} \text{ kg}$$

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{2\pi \cdot 3,0 \cdot 10^{10} \text{ cm s}^{-1}} \sqrt{\frac{908 \text{ kg} \cdot \text{s}^{-2}}{1,14 \cdot 10^{-26} \text{ kg}}} = 1497 \text{ cm}^{-1}$$

Nas análises experimentais, a vibração da carbonila é encontrada na região de 1600 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ , pois tem a contribuição das interações intermoleculares e o efeito das ligações intramoleculares. No exemplo supracitado, o cálculo foi realizado considerando apenas a constante de força da ligação química, dando uma aproximação do número de onda da vibração.

Um cristal molecular tem fortes ligações covalentes dentro das moléculas (intramolecular) e fracas ligações entre as moléculas, as interações intermoleculares; podendo também ocorrer interações intramoleculares. Essa hierarquia de forças de ligação faz com que os números de onda dos modos vibracionais se agrupem em regiões de alto e baixo número de onda [59].



As vibrações na primeira região envolvem movimentos em que cada molécula da célula unitária vibra como uma unidade com as outras moléculas da célula unitária. Tais modos são chamados de vibrações externas ou modos de rede e envolvem tanto rotações impedidas em torno de seus centros de massa quanto translações oscilatórias. Seus números de onda são baixos, pois as forças de restauração são devidas às fracas ligações intermoleculares e uma massa relativamente grande está envolvida, porque toda a molécula está em movimento. Os modos de baixo número de onda envolvem principalmente o estiramento e a deformação angular das ligações fracas entre as moléculas, ou seja, as interações intermoleculares [30,59].

Os modos internos, envolvendo movimentos de estiramento ou deformação angular dentro de cada molécula (intramolecular), têm números de onda mais altos, uma vez que a força restauradora é fornecida pelas ligações covalentes rígidas dentro das moléculas e massas menores estão envolvidas porque o movimento dominante envolve relativamente poucos átomos. Os picos ou bandas de estiramento de ligações de hidrogênio, como  $C - H$ ,  $N - H$  e  $O - H$ , costumam ser mais fracos nos espectros Raman, pois suas mudanças de polarizabilidade são pequenas, mas significativamente mais fortes nos espectros IR, pois suas mudanças de dipolo são grandes [30].

## **A1.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS X**

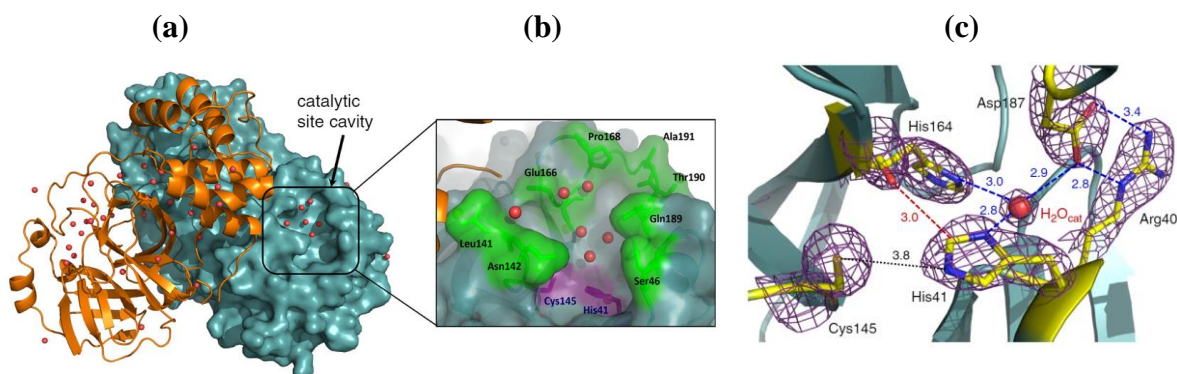
A difração de raios X (DRX) é uma técnica analítica não destrutiva usada principalmente para identificação de fase de um material cristalino e pode fornecer informações sobre as dimensões da célula unitária. O material analisado é finamente moído, homogeneizado e a composição média do volume é determinada. A aplicação dessa técnica é ampla, como: caracterização de materiais cristalinos e amorfos, determinação da estrutura de cristais e das dimensões de célula unitária, determinação quantitativa de mistura de fases, determinação do tamanho de cristalito e microdeformação, grau de cristalinidade e a identificação de transição de fase e polimorfismo [5,6,60].

Devido a ampla aplicação dessa técnica espectroscópica, sua aplicação é necessária nas pesquisas em microeletrônicos, semicondutores, filmes finos, fabricação de vidros, materiais metálicos, armazenamento de energia e baterias, nanomateriais, polímeros, ciências forenses, geologia, materiais automotivos, indústria farmacêutica, pesquisas biomédicas e pesquisas de materiais.

Com o avanço da instrumentação, a técnica de difração de raios X tem tido largamente utilizado em materiais de interesse biológico, como os complexos de proteínas e RNA,

identificação e determinação da estrutura de vírus, assim como proteínas e glicoproteínas essenciais para a entrada viral no corpo humano e proteínas que permite que o vírus se reproduza, no caso da SARS-CoV-2, a protease 3CL M<sup>pro</sup> [61,62]. Com essas informações, é possível os cientistas formularem possíveis inibidores que anulem a ação proteica que impede a replicação do vírus, assim como seu alastramento no corpo. Nesse estudo, eles determinaram que o sítio ativo é composto pelos aminoácidos cisteína e histidina, Cys145 e His 41, respectivamente, como pode ser visualizado na Figura A19 [62].

**Figura A19.** A estrutura tridimensional de 3CL M<sup>pro</sup> de SARS-CoV-2. (a) Um monômero do dímero é mostrado como um desenho laranja, enquanto o outro monômero é mostrado como uma superfície verde-azulada com a cavidade do sítio catalítico destacada com moléculas de água mostradas como esferas vermelhas. (b) Uma vista de perto da cavidade do sítio catalítico em que os resíduos catalíticos (Cys145 e His41) são destacados em roxo com os resíduos que flanqueiam a cavidade destacados em verde com moléculas de água mostradas como esferas vermelhas. (c) Sítio catalítico da 3CL M<sup>pro</sup> da SARS-CoV-2: As ligações de hidrogênio são mostradas como linhas tracejadas azuis; a distância entre Cys145 e His41 é mostrada como uma linha pontilhada preta, a linha vermelha tracejada indica uma forte ligação C–H...O. Todas as distâncias são dadas em angstroms.



**Fonte:** adaptado de Kneller e colaboradores (2020) [62]

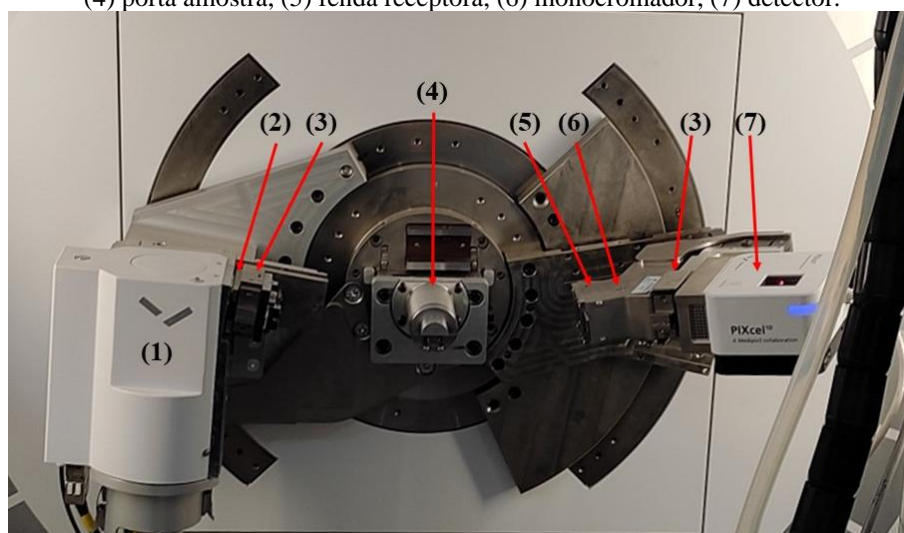
### A1.2.1 TEORIA

Os raios X é radiação eletromagnética com comprimento de onda no intervalo de  $10^{-11}$  a  $10^{-8}$  m (0,1 a 100 Å), resultante da colisão de elétrons produzidos em um catodo aquecido contra elétrons de anodo metálico. Esta radiação têm os comprimentos de onda que são proporcionais aos tamanhos atômicos e às distâncias interatômicas mais curtas [5,6].

Os comprimentos de onda, mais comumente usados na cristalografia, variam entre 0,5 e 2,5 Å, pois são da mesma ordem de magnitude que as menores distâncias interatômicas observadas em materiais orgânicos e inorgânicos. Além disso, esses comprimentos de onda podem ser facilmente produzidos em quase todos os laboratórios de pesquisa [5].

Os difratômetros de raios X possuem diversos constituintes que melhoram a qualidade do padrão de difração de materiais policristalinos. Como mostrado na Figura A20, o difratômetro de raios X utilizado no Laboratório de difração de raios X (LDRX) do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais. O equipamento é constituído de: 1) fonte de raios X, (2) fenda divergente, (3) fendas de Soller, (4) porta amostra, (5) fenda receptora, (6) monocromador, (7) detector. Além disso, conta com uma câmera de temperatura TTK450 da Anton-Paar, variando da temperatura ambiente até 450 °C. As janelas utilizadas na câmera de temperatura devem possuir baixa absorção, para permitir a entrada e a saída da radiação com a amostra. Nessa câmera de temperatura, as janelas são feitas de Mylar, que é um filme de poliéster resistente ao calor, inventado pela DuPont em 1952

**Figura A20.** (a) Área de trabalho do difratômetro de raios-X Empryean, da Marvern Panalytical, do Laboratório de difração de raios X do PPGCM/UFMA. (1) fonte de raios X, (2) fenda divergente, (3) fendas de Soller, (4) porta amostra, (5) fenda receptora, (6) monocromador, (7) detector.



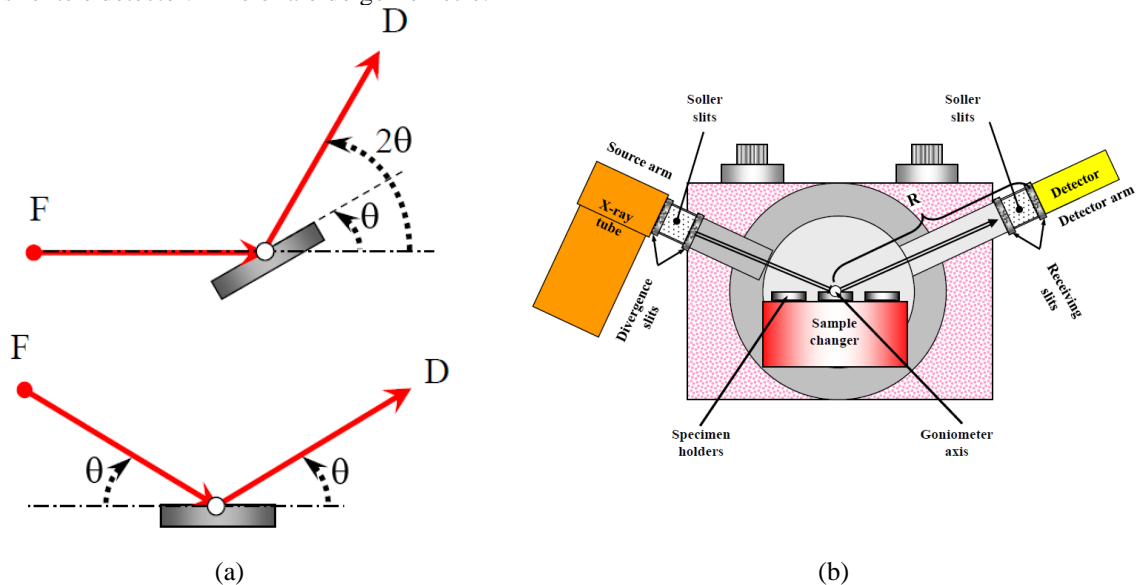
Fonte: [5].

A qualidade dos dados de difração em pó é alcançada com a utilização de uma ótica de raios X de alta precisão e por um alinhamento completo de uma peça essencial no equipamento: o goniômetro ou goniostato. Geralmente, utiliza-se a geometria Bragg-Brentano no modo de varredura  $\theta - 2\theta$  e  $\theta - \theta$  (utilizada no LDRX), como apresentada na Figura A21(a). Os goniômetros do difratômetro de pó podem ser construídos de maneira que o detector e a amostra giram em torno de um eixo goniômetro comum de forma sincronizada (Figura A21(a)-superior), ou a amostra é estacionária, mas as rotações dos braços da fonte de raios X e do detector são sincronizadas (Figura A21(a)-inferior) [5,6,60,63]. Na Figura A21(b) e mostrada

o esquema do goniômetro com a geometria de foco horizontal Bragg-Brentano com os braços da fonte e do detector em rotação sincronizada em torno da linha horizontal da amostra.

Os raios X são produzidos em um dispositivo chamado de tubo de raios X (Figura A22), onde os elétrons são acelerados do cátodo para o ânodo (ou alvo) devido a uma diferença de potencial na faixa de dezenas de milhares de volts, produzindo um espectro contínuo e um característico [5,6,60,63,64].

**Figura A21.** (a) Sincronização dos braços do goniômetro: superior - a fonte de raios X (F) fica estacionária enquanto a amostra e as rotações do detector (D) são sincronizadas para atender ao requisito  $\theta - 2\theta$ ; inferior - a amostra está estacionária enquanto a fonte e os braços do detector estão sincronizados para realizar a condição  $\theta - \theta$ .  
 (b) O esquema de um goniômetro de um difratômetro de pó com o eixo horizontal e rotações sincronizadas dos braços fonte e detector. R - é o raio do goniômetro.



Fonte: [5].

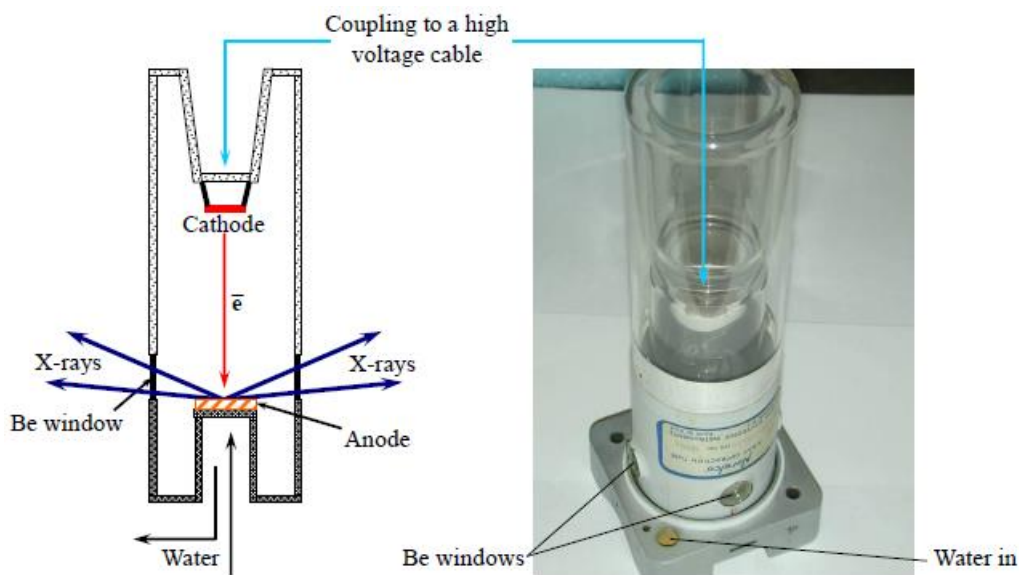
Quando os elétrons passam próximo ao núcleo, eles sofrem desaceleração e desvios, essa diferença de energia gera raios X que formam o espectro contínuo, também denominada de radiação branca, radiação de frenagem ou *bremstrahlung* (Figura A23(a)). A radiação de *bremstrahlung* gera um espectro contínuo devido ao fato que nem todo elétron desacelera de maneira semelhante A intensidade dessa radiação aumenta com a voltagem aplicada. A energia desse processo é descrita por [5,6,60,63,64]

$$eV = h\nu_{max} = \frac{hc}{\lambda_{min}}$$

$$\lambda_{min} = \frac{hc}{eV} = \frac{12,4 \cdot 10^3}{V} \quad (A21)$$

considerando  $\lambda$  em angstrom ( $1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$ ) e  $V$  a voltagem aplicada no tubo de raios X. Na Figura A23(a),  $\lambda_{min}$  é apresentado como  $\lambda_{SW}$ , de *shortest possible wavelength* (o comprimento de onda mais curto possível). Assim, vemos que a radiação do espectro contínuo não depende do material do anodo.

**Figura A22.** O esquema (esquerda) e a fotografia (direita) do tubo de raios X selado.



Fonte: [5].

O espectro característico, por outro lado, é composto por intensidades máximas agudas em comprimentos de onda críticos e é sobreposto ao espectro contínuo (Figura A23(a)). As três linhas características são bastante intensas e resultam da transição de elétrons de nível superior no núcleo do átomo para níveis de energia inferiores vagos, dos quais um elétron foi ejetado pelo impacto com um elétron acelerado no tubo de raios X [5,60].

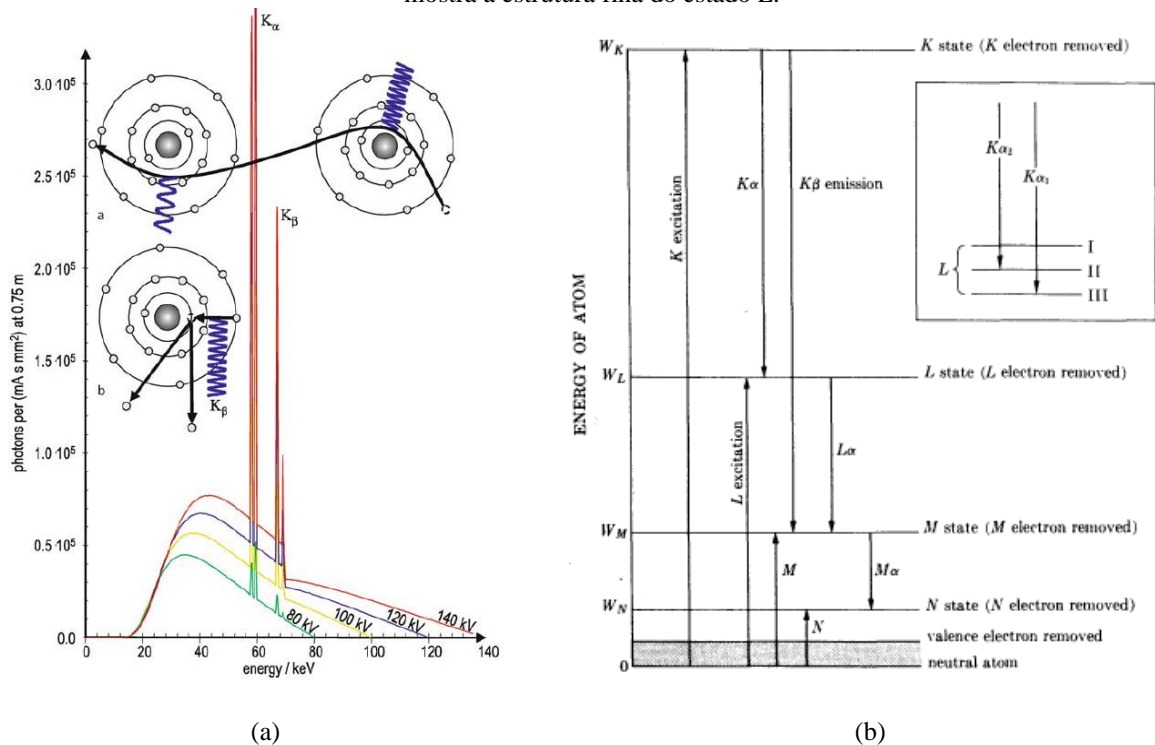
Se um dos elétrons que colidem com o alvo (ânodo) tem energia suficiente para ejetar o elétron da camada  $K$ , um elétron de uma camada de energia mais alta cairá imediatamente na camada  $K$  para preencher o vazio, emitindo um fóton de alta energia no processo. A energia do fóton é fixa e é conhecida como o comprimento de onda característico da radiação  $K$ . A energia da transição eletrônica da camada  $L$  para a camada  $K$  é denominada  $K_{\alpha}$ ; e da camada  $M$  para a camada  $K$  como  $K_{\beta}$ , como exibido na Figura A23(b) [5,60].

Os materiais anódicos típicos usados nos tubos de raios X (Tabela A4) produzem comprimentos de onda característicos entre  $\pm 0,5$  e  $\pm 2,3 \text{ \AA}$ . Além disso, pode ser utilizado um filtro para remoção da radiação  $K_{\beta}$ , na ausência de monocromador no difratômetro de raios X.

O ânodo de cobre é amplamente utilizado em difração de policristais e o de ânodo de molibdênio é mais aplicado para análise de monocristais [5].

**Figura A23.** (a) Espectro de raios X de um ânodo de tungstênio em tensões de aceleração na faixa de 80-140kV.

O gráfico de intensidade vs. comprimento de onda mostra o espectro de linha característico, bem como o espectro contínuo; Ilustrações do processo: a *bremsstrahlung*, b emissão característica. (b) Esquema dos níveis de energia atômica. Processos de excitação e emissão indicados por setas. A inserção no canto superior direito mostra a estrutura fina do estado L.



Fonte: (a) adaptado de [65]; (b) [6].

O feixe de raios X produzido sai do tubo pelas janelas que devem, por um lado, resistir à diferença de pressão entre o interior do tubo e a atmosfera e, por outro, ser o mais transparentes possível aos raios X. As janelas de berílio são utilizadas por ter pouca interação e baixa absorção dos raios X, como apresentado na Figura A24 [63].

As janelas eram inicialmente feitas de vidro, particularmente o “vidro Lindemann”, que é composto de óxido de boro ou óxido de lítio. No entanto, este vidro ainda absorve grande parte dos raios X e é instável em uma atmosfera úmida. Janelas de mica muito finas ( $\approx 10\mu\text{m}$ ) foram posteriormente projetadas. Como essas tiras de mica são sensíveis ao bombardeio de elétrons, elas são protegidas com folhas de berílio [63].

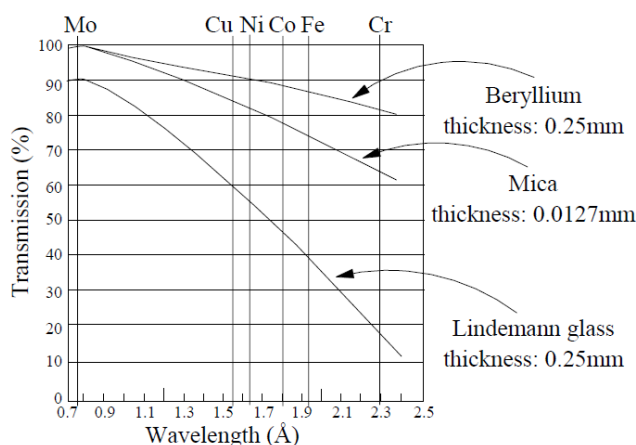
**Tabela A4.** Comprimentos de onda característicos de cinco materiais de anodo comuns e as bordas de absorção  $K$  de materiais de filtro  $\beta$  adequados.

Material anódico	Comprimento de onda (Å)				Filtro $\beta$	Borda de absorção $K$ (Å)
	$K_{\alpha}^*$	$K_{\alpha_1}$	$K_{\alpha_2}$	$K_{\beta}$		
Cr	2.29105	2.28975(3)	2.293652(2)	2.08491(3)	V	2.26921(2)
Fe	1.93739	1.93608(1)	1.94002(1)	1.75664(3)	Mn	1.896459(6)
Co	1.79030	1.78900(1)	1.79289(1)	1.62082(3)	Fe	1.743617(5)
Cu	1.54187	1.5405929(5)	1.54441(2)	1.39225(1)	Ni	1.488140(4)
					Nb	0.653134(1)
Mo	0.71075	0.7093171(4)	0.71361(1)	0.63230(1)	Zr	0.688959(3)

\*O valor médio ponderado, calculado como  $\lambda_{m\u00e9dio} = \frac{(2\lambda K_{\alpha_1} + \lambda K_{\alpha_2})}{3}$ .

Fonte: [5].

**Figura A24.** Gr\u00e1ficos de absor\u00e7\u00e3o de diferentes materiais usados para fazer as janelas do tubo de raios X.

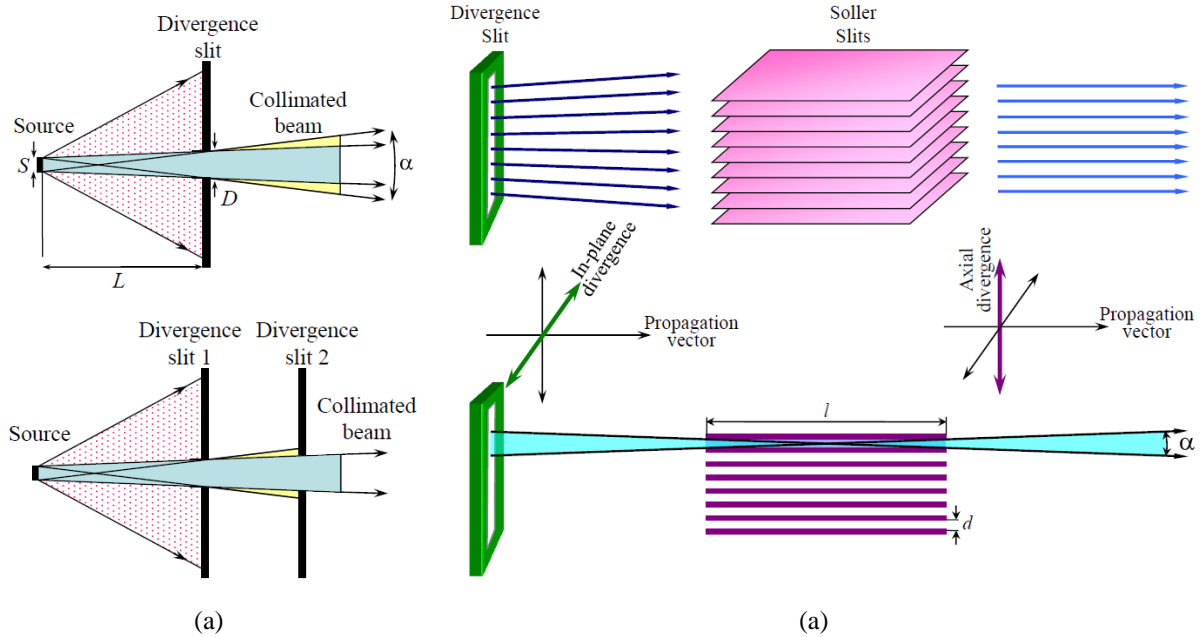


Fonte: [63].

Depois de gerado, o feixe de raios X possui uma diverg\u00eancia angular que pode ser reduzida pelo processo de colima\u00e7\u00e3o da radia\u00e7\u00e3o, que seleciona a radia\u00e7\u00e3o com vetores de propaga\u00e7\u00e3o o mais paralela poss\u00edvel. Entre a fonte de raios X e a amostra, temos uma fenda divergente e as fendas de Soller (Figura A20) [5,6].

As fendas de diverg\u00eancia reduzem a dispers\u00e3o angular do feixe de raios X incidente no plano perpendicular ao eixo do goni\u00f4metro. Ela fica a uma dist\u00e2ncia  $L$  (em mm) da fonte de raios X ( $S$ ) e possui uma abertura  $D$  (em mm). Como  $S$  e  $L$  geralmente s\u00e3o fixos, o controle da diverg\u00eancia do feixe \u00e9 alcan\u00e7ado variando  $D$ . Em alguns equipamentos, uma segunda fenda divergente \u00e9 colocada, provocando uma redu\u00e7\u00e3o do feixe a ser empregado na an\u00e1lise. (Figura A25(a)) [5,6].

**Figura A25.** (a) O esquema mostra a colimação do feixe de raios X incidente usando uma única fenda de divergência (canto esquerdo superior) e a configuração com duas fendas divergentes (canto esquerdo inferior). (b) O esquema mostra como o feixe de raios X é colimado usando a divergência e as fendas de Soller.



Fonte: [5].

Na Figura A25(b) é exibido o uso das fendas de Soller, logo após a redução da radiação no plano perpendicular ao eixo do goniômetro, uma correção na direção paralela ao eixo do goniômetro é realizada pelas fendas de Soller. Essa etapa compreende num conjunto de placas de metal finas, organizadas paralelas entre si e igualmente espaçadas. Cada par das placas vizinhas funciona como uma fenda de divergência regular. As fendas Soller, comumente instaladas nos caminhos do feixe primário e difratado, reduzem substancialmente a divergência axial do feixe de raios X e a assimetria dos picos de Bragg [5,6].

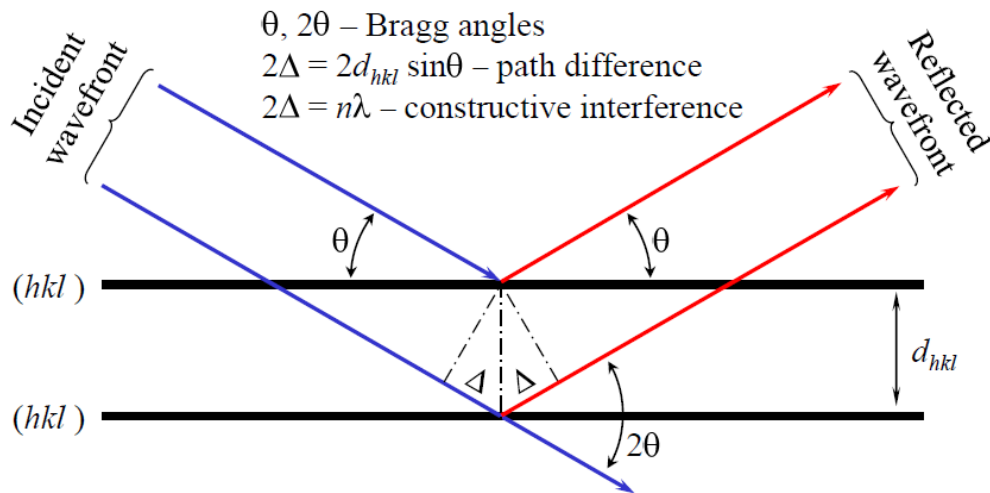
Com a colimação do feixe de raios X, os mesmos são direcionados para a amostra, para ocorrer o fenômeno da difração de raios X. A difração de raios X consiste na interação da radiação com os átomos que compoem os planos cristalinos e geram uma interação construtiva. O feixe de raios X incide na superfície de um cristal com ângulo  $\theta$ , sendo parte dele espalhada pela camada da superfície e uma parte não espalhada que pode ser espalhada por uma segunda camada de átomos. Sendo esse material de espalhamento uma estrutura com organização periódica de longo alcance, há um efeito cumulativo desses centros de espalhamentos, ou seja, os átomos.

Em 1914, a equipe de pai e filho, William Henry Bragg e William Laurence Bragg, consideraram a radiação difratada como sendo refletida por conjuntos de planos paralelos de átomos, incidindo nos planos com ângulo  $\theta$  (ângulo de Bragg). A difração de um conjunto de



objetos igualmente espaçados só é possível em ângulos específicos. Os possíveis ângulos  $\theta$ , são estabelecidos a partir da lei de Bragg.

**Figura A26.** Difração de raios X por um cristal.



Fonte: [6].

A lei de Bragg relata que as diferenças de caminho introduzidas entre um par de ondas, antes e depois de refletidas pelos planos vizinhos,  $\Delta$ , são determinadas pela distância interplanar como  $\Delta = d_{hkl} \cdot \sin\theta$ . A diferença total do caminho é  $2\Delta$ , e a interferência construtiva é observada quando  $2\Delta = n\lambda$ , onde  $n$  é inteiro e  $\lambda$  é o comprimento de onda da onda incidente. Essa análise geométrica simples resulta na lei de Bragg:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta_{hkl} \quad (\text{A22})$$

onde  $\theta_{hkl}$  é o ângulo de incidência dos raios X aos planos;  $\lambda$  é o comprimento de onda dos raios X; e  $d_{hkl}$  é a distância interplanar.

A (A22) é essencial importância e denominada equação de Bragg. Observe que os raios X parecem ser refletidos pelo cristal somente se o ângulo de incidência satisfazer a condição

$$\sin \theta_{hkl} = \frac{n\lambda}{2d_{hkl}} \quad (\text{A23})$$

Para todos os demais ângulos, ocorre interferência destrutiva.

Após a radiação ser difratada pela amostra, ela passa pela fenda receptora. A abertura da fenda receptora é tão importante quanto a do lado do feixe incidente. A fenda receptora deve ser selecionada o menor possível para melhorar a resolução do instrumento. Embora o tamanho da fenda receptora não afete as medições em ângulos específicos de Bragg (assim como uma fenda de divergência indevidamente selecionada), inevitavelmente qualquer redução na abertura de fenda resulta em uma redução proporcional da intensidade registrada pelo detector em todos os ângulos de Bragg.

O feixe difratado, depois de colimado na fenda receptora, passa pelo monocromador, que remove os comprimentos de onda indesejáveis do espectro de raios X. O monocromador pode ser posicionado antes ou depois da amostra, sendo empregado na radiação incidente ou difratada, respectivamente. Os monocromadores de feixe difratado apresentam uma saída de intensidade relativamente alta (ou seja, apresentam perdas de baixa intensidade), mas não separam o duplete  $K_{\alpha_1}$  e  $K_{\alpha_2}$ . A remoção do componente  $K_{\beta}$  e da radiação branca é excelente. Este último é especialmente importante quando a amostra é fortemente fluorescente. Os monocromadores de feixe difratado, de longe, são mais comumente usados do que os monocromadores de feixe primário [5,6,60]. O utilizado no LDRX-PPGCM é o monocromador de monocristal de grafite pirolítica.

Por fim, a amostra passa por outro conjunto de fendas de Soller e é direcionado ao detector. O detector utilizado é um detector de linha ou faixa que tem capacidade de realizar uma análise mais rápida que um detector pontual tradicional, sem comprometer a qualidade dos dados. O detector de linha faz uma análise de cerca de  $2-3^\circ 2\theta$  simultaneamente, ou seja, conforme o ângulo de Bragg muda, o detector registra a intensidade do feixe difratado em uma pequena faixa de ângulos de Bragg, e não apenas em uma posição angular [5,6,60].

Um experimento típico dura menos de uma hora, mas fornece padrões de boa qualidade. Um experimento de 5 a 10 minutos geralmente é suficiente para a identificação da fase, e um experimento de uma hora é adequado para determinação precisa das células unitárias e análise quantitativa e, em muitos casos, é bom o suficiente para resolver a estrutura cristalina e o refinamento de Rietveld. Embora a velocidade desse detector seja comparável aos detectores de área, a resolução é próxima à dos detectores de ponto [5,6,60].

### A1.3 ANÁLISES TÉRMICAS

A análise térmica é uma importante ferramenta analítica usada para estudar as propriedades dos materiais à medida que a temperatura é alterada. A calorimetria exploratória diferencial (*DSC*) e a análise termogravimétrica (*TGA*) são duas das técnicas de análise térmica mais utilizadas na caracterização de materiais cristalinos e amorfos. Os resultados gráficos obtidos são chamados de 'curva de análise térmica', ou pelo nome específico do método [66,67].

As técnicas de *DSC* e *TGA* geralmente são combinadas para entender melhor o comportamento térmico de um material farmacêutico. As aplicações do *DSC/TGA* para o estudo das ciências dos materiais incluem [66]:

- caracterizar polimorfos, solvatos, hidratos, sais e cocristais;
- monitorar a desidratação e dessolvatação de cristais;
- medir a pureza química de compostos orgânicos; e
- investigar reações de estado sólido.

Finalmente, é importante reconhecer que um exame combinado dos perfis de *DSC* e *TGA* para qualquer amostra é fundamental para entender a natureza da transição térmica no nível molecular. Também nesses estudos é útil o uso de técnicas complementares, como espectroscopia Raman e difração de raios X do pó com variação de temperatura [66].

### A1.3.1 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A análise termogravimétrica (*TGA*) é uma técnica experimental na qual a massa de uma amostra é medida em função da temperatura ou do tempo. A amostra é normalmente aquecida a uma taxa de aquecimento constante (chamada de medição dinâmica) ou mantida a uma temperatura constante (medição isotérmica). Além disso, a atmosfera utilizada no experimento *TGA* desempenha um papel importante e pode ser reativa, oxidante ou inerte [66,68].

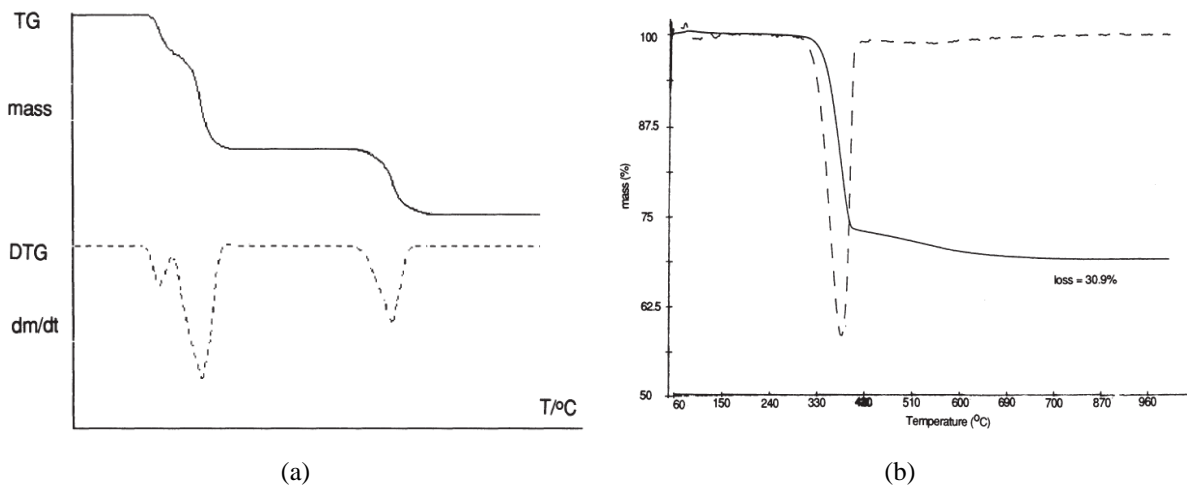
As mudanças de massa ocorrem quando a amostra perde material de várias maneiras diferentes ou reage com a atmosfera circundante. Isso produz etapas na curva *TGA* ou picos na curva *DTG*. Diferentes efeitos podem fazer com que uma amostra perca, ou até ganhe, massa e, assim, produza etapas na curva *TGA*. Estes incluem o seguinte [66–68]:

- Perda de água de cristalização.
- Decomposição térmica em atmosfera inerte com formação de produtos gasosos. Com compostos orgânicos, este processo é conhecido como pirólise ou carbonização.
- Processos de dessolvatação e desidratação.

- Oxidação da amostra durante a análise.

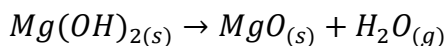
Além da curva *TGA*, a primeira derivada (curva *DTG*, taxa de variação da massa) pode auxiliar na interpretação dos resultados [68,69]. Na Figura A27(a) apresentamos um gráfico típico de um termograma com a primeira derivada auxiliando na identificação do intervalo de temperatura onde ocorre as perdas de massa.

**Figura A27.** (a) Curvas típicas *TGA* (linhas sólidas) e *DTG* (linhas tracejadas). (b) Curvas *TGA* e *DTG* para hidróxido de magnésio, 7,04 mg, aquecido em cadinho de Pt a 10 K/min, com nitrogênio.



Fonte: [69].

Na Figura A27(b) foi mostrado que uma amostra de hidróxido de magnésio é estável até cerca de 200°C, e então perde cerca de 27% de sua massa rapidamente em 450°C; uma perda muito mais lenta ocorre então até 800 °C com uma perda de massa total de 30,9%. A equação química da reação é [69]:



e a água liberada pode ser detectada por técnicas químicas, físicas ou espectroscópicas. A estequiometria da reação acima sugere que a perda calculada deve ser

$$\% \text{ massa} = 100 \cdot \frac{\text{Massa molar da } H_2O}{\text{Massa molar do } Mg(OH)_2} = 100 \cdot \frac{18 \text{ g/mol}}{58,3 \text{ g/mol}} = 30,87\% \cong 30,9\%$$

ou seja, a porcentagem de massa perdida está diretamente ligada a reação química de desidratação do hidróxido de magnésio. A natureza endotérmica da reação de desidratação é uma razão para o uso de hidróxido de magnésio como retardante de fogo [69].

### A1.3.2 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL

A calorimetria exploratória diferencial (*DSC*) investiga várias transições térmicas associadas a um material quando ele é aquecido ou resfriado de maneira controlada. Essa técnica é utilizada para analisar a capacidade calorífica e calorimetria, mudanças de fase e reações químicas. A transição térmica pode ser devido a uma transformação física ou uma reação química [7,66,67,70].

As transformações físicas que podem ser analisadas são: fusão, mudanças de fase cristalina (cristalização e conversão de polimorfos), mudanças nos estados líquido e líquido cristalino e em polímeros, diagramas de fase, capacidade de calor e transições vítreas, condutividade térmica e difusividade e emissividade. E reações químicas como desidratação, dessolvatação, decomposição, cura de polímeros, formação de vidro e ataque oxidativo. Esses eventos causam mudanças de entalpia e são detectadas como um evento de calor absorvido (endotérmico) ou de calor liberado (exotérmico) no *DSC* [7,66,67,70].

Os eventos térmicos associados à fusão, desidratação, cristalização e transições sólido-sólido estão diretamente relacionados à estrutura cristalina de um material e, portanto, fornecem informações fundamentais relacionadas à sua estrutura cristalina [66,70].

Para um evento endotérmico, o calor é absorvido pela amostra e o fluxo de calor para a amostra é maior do que para a referência. Por outro lado, o fluxo de calor para a amostra é menor do que para a referência se a amostra estiver passando por uma transição exotérmica. Quando a amostra experimenta uma mudança na capacidade de calor, o fluxo de calor para a amostra em relação à referência também muda [7,66].

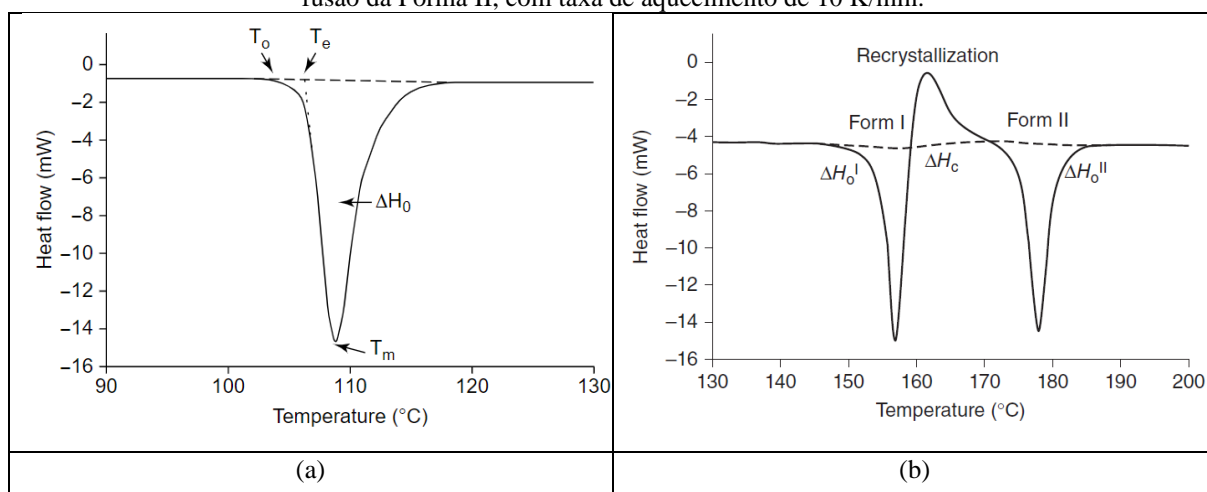
A fusão de um material é uma transição de primeira ordem que ocorre a uma temperatura de fusão distinta, que é detectada como um evento endotérmico em *DSC*. A mudança de entalpia associada à fusão é definida como o calor de fusão. O ponto de fusão e o calor de fusão são característicos de uma forma sólida específica [66,70].

Na Figura A28(a) é apresentado a diferença entre usar a temperatura inicial do processo endotérmico ( $T_0$ ), a temperatura inicial extrapolada ( $T_e$ ) e o valor do pico ( $T_m$ ). O mais indicado é usar a temperatura inicial  $T_0$  (*onset*) como valor do ponto de fusão em comparação com o uso da temperatura de pico. Em teoria, a amostra permanecerá constante na temperatura de fusão enquanto o sólido e o líquido estiverem em equilíbrio. Consequentemente, espera-se que o pico endotérmico seja afiado e estreito. Na realidade, há um gradiente térmico na amostra, de modo que leva tempo para o calor fluir para toda a amostra. O pico de fusão geralmente é exibido

como um pico assimétrico. A temperatura inicial é tomada como o ponto de interceptação do início do processo e da linha de base [66,70,71].

**Figura A28.** (a) Varredura de calorimetria de varredura diferencial de uma substância mostrando a temperatura de início de fusão,  $T_0$ , a temperatura de fusão de início extrapolada,  $T_e$ , entalpia de fusão ( $\Delta H_0$ ) e a temperatura do pico de fusão,  $T_m$ . As transições endotérmicas estão para baixo.

(b) Varredura *DSC* de um fármaco sofrendo alterações físicas: fusão da Forma I, recristalização na Forma II, fusão da Forma II, com taxa de aquecimento de 10 K/min.



Fonte: [71].

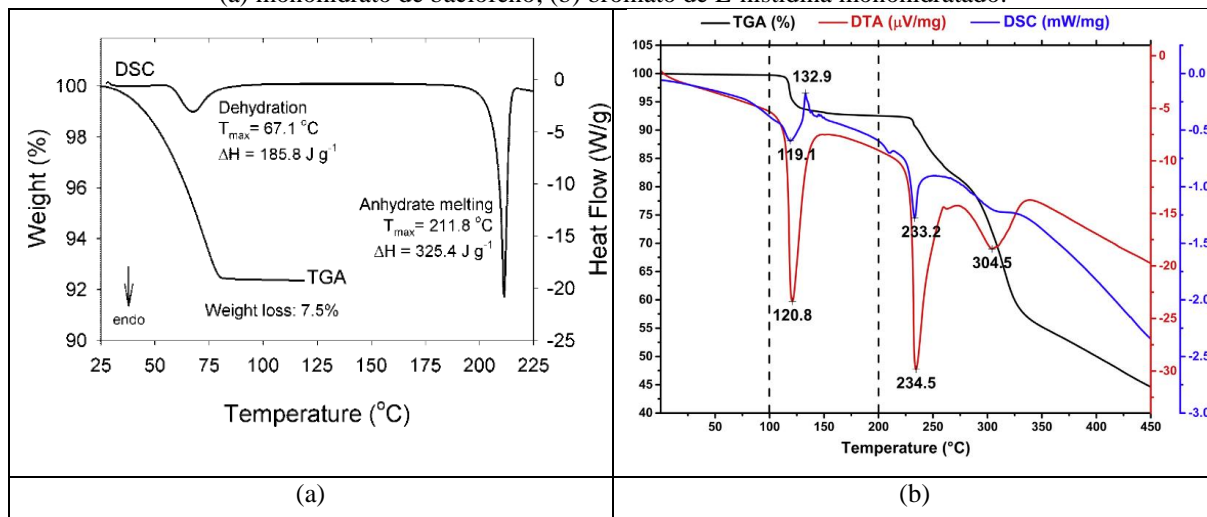
A cristalização é uma transição física de um estado molecular desordenado para um estado ordenado. Ele pode ser detectado como um exotérmico em um termograma *DSC*, como apresentado na Figura A28(b). Após a fusão da forma cristalina, por exemplo, uma forma de fusão de temperatura mais alta pode cristalizar quando aquecida. A cristalização do material fundido é um processo de duas etapas, nucleação e crescimento do cristal. A nucleação é a etapa limitante da taxa e acionada cineticamente, de modo que a presença do pico de cristalização exotérmica pode ser significativamente impactada pela taxa de aquecimento e pela qualidade da amostra. Às vezes, o pico exotérmico é mesclado com o pico de fusão, o que dificulta a interpretação [66,70,71].

A desidratação e dessolvatação são reações endotérmicas porque é necessária energia para que a água seja liberada da rede cristalina e exista na fase de vapor. Conseqüentemente, a desidratação e dessolvatação são exibidas como processos endotérmicos no termograma *DSC* [66,70]. A Figura A29(a) mostra o termograma *DSC* e *TGA* do monohidrato de baclofeno, com um evento endotérmico em 67 °C, relativo ao processo de desidratação e a posterior fusão da fase anidra em 212 °C [72]. A Figura A29(b) apresenta as transformações térmicas que ocorrem no bromato de L-histidina monohidratado. O pico endotérmico em 119 °C indica uma transformação de fase resultado de um processo de desidratação, com a recristalização da

estrutura por volta de 133 °C (pico exotérmico) e a subsequente fusão da fase anidra indicada pelo pico endotérmico em 233 °C [32].

**Figura A29.** Estudo do processo de desidratação acompanhado por *TGA* e *DSC*:

(a) monohidrato de baclofeno; (b) bromato de L-histidina monohidratado.



Fonte: (a) [72]; (b) [32].

A análise de *DSC* também é essencial para o estudo de pseudopolimorfos (solvatos e hidratos). A dessolvatação e a desidratação em temperatura elevada em uma medição *DSC* aparecem como um evento endotérmico, geralmente exibido como um pico amplo. A aquisição de dados de *TGA* do mesmo sistema é importante para confirmar a perda de peso na mesma faixa de temperatura para estabelecer que o evento térmico é devido à dessolvatação ou desidratação. A posição e a energia deste pico endotérmico estão relacionadas com a estabilidade do solvato, enquanto a quantidade de perda de peso pode indicar a estequiometria do solvato ou hidrato [66,70].

Às vezes, os eventos de degradação térmica se sobrepõem à fusão, tornando a interpretação desses vários eventos térmicos mais desafiadoras. Para um composto termicamente instável, a degradação térmica também pode ocorrer antes da fusão. Como a degradação térmica é um fenômeno cinético, aumentar a taxa de aquecimento no *DSC*, de forma a reduzir a exposição, pode reduzir a intensidade da degradação ou mitigar sua ocorrência [66].

## A1.4 ESTUDO TEÓRICO DE MOLÉCULAS ORGÂNICAS

O *DFT* (do inglês *density functional theory*, significa a teoria do funcional da densidade) é uma das muitas maneiras de lidar com o problema quântico de muitos corpos. É um quadro teórico rigoroso para o qual existem aproximações eficientes e o tornam adequado para cálculos em grande escala. A aplicabilidade do funcional de densidade vai da biologia à química molecular, da física nuclear aos materiais estelares e à astrofísica. O *DFT* é uma maneira de resolver um problema de muitos corpos (*many body problem*), e quando se tem um sistema de muitas partículas e interação entre elas, há uma complexidade implícita no entendimento desse sistema [11,73–80]. As referências [11,73–80] serão a base do texto desse tópico.

Como exemplo, podemos citar a interação química entre hidrogênio e oxigênio, dois gases inflamáveis que, ao reagir, podem formar a molécula de água, uma substância essencial para a existência de vida na Terra. Ao contrário, podemos pensar na reação de átomos de carbono e oxigênio, substâncias que podem ser consideradas inofensivas, porém, podem formar o monóxido de carbono, um gás tóxico. Esses exemplos são usados para apresentar a importância do estudo das interações nos materiais.

No estudo quântico das interações das partículas de muitos corpos, essas partículas são descritas como um hamiltoniano ( $\hat{H}$ ) de várias partículas formadas por elétrons e núcleos. Nas equações apresentadas a seguir, os elétrons serão apresentados por letras escritas e subscritas minúsculas, enquanto os núcleos por letras maiúsculas. Vamos iniciar pela energia cinética dos elétrons,  $\nabla$ . Cada elétron tem sua própria energia cinética:

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 \quad (\text{A24})$$

sendo o operador laplaciano  $\nabla_i^2 = \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2}$

onde  $\hbar$  é igual a  $h/2\pi$ , chamada de constante reduzida de Planck ou constante de Dirac,  $m_e$  é a massa do elétron.

$\nabla_i$  é o símbolo que representa a energia cinética dos elétrons.

Os elétrons orbitam em torno do potencial de Coulomb formado pelos núcleos. Assim, adicionaremos a (A24) a interação elétron-núcleo. Com isso, escrevemos o hamiltoniano da equação de Schrodinger independente do tempo:



$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_{i,I} \frac{Z_I e^2}{|r_i - R_I|} \quad (\text{A25})$$

$Z_I$  – Número atômico,  $r_i$  – Raio do elétron,  $R_I$  – Raio do núcleo.

Além da interação elétron-núcleo, devemos considerar a interação elétron-elétron,

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_{i,I} \frac{Z_I e^2}{|r_i - R_I|} + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} \quad (\text{A26})$$

Com esse novo termo, passa a se considerar mais de um elétron no sistema. Assim, chegamos à equação conhecida como a aproximação de Born-Oppenheimer, enunciada em 1927 [81]. Por conseguinte, precisamos considerar a energia cinética dos núcleos,

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_{i,I} \frac{Z_I e^2}{|r_i - R_I|} + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} - \sum_I \frac{h^2}{2M_I} \nabla_I^2 \quad (\text{A27})$$

e a interação do núcleo-núcleo,

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_{i,I} \frac{Z_I e^2}{|r_i - R_I|} + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} - \sum_I \frac{h^2}{2M_I} \nabla_I^2 + \frac{1}{2} \sum_{I \neq J} \frac{Z_I Z_J e^2}{|R_I - R_J|} \quad (\text{A28})$$

Chegando a (A28, que considera todas as partículas do átomo, começa a ser realizada algumas aproximações para tentar reduzir o problema a ser resolvido. Primeiramente, considerando que a massa dos núcleos é muito maior que a massa dos elétrons, podemos negligenciar sua energia cinética.

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_{i,I} \frac{Z_I e^2}{|r_i - R_I|} + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} + \frac{1}{2} \sum_{I \neq J} \frac{Z_I Z_J e^2}{|R_I - R_J|} \quad (\text{A29})$$

E a interação de Coulomb adiciona apenas uma constante se considerarmos a posição dos núcleos como parâmetros. Portanto, permanecemos com o hamiltoniano que contém a energia

cinética dos elétrons, a interação de Coulomb dos elétrons com um núcleo e a interação de Coulomb entre os elétrons.

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_{i,l} \frac{Z_l e^2}{|r_i - R_l|} + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} + \text{constante} \quad (\text{A30})$$

Podemos também adicionar algum outro potencial vindo de fora agindo no sistema. Vamos chamar de potencial externo a soma de todos os potenciais, inclusive os provenientes dos núcleos.

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} + \sum_i v_{ext}(r_i) \quad (\text{A31})$$

Se escrevermos todos os argumentos do nosso problema, veremos que o hamiltoniano de muitos corpos e as funções de onda para cada estado lambda ( $\lambda$ ) dependem de 3 vezes  $N$  coordenadas espaciais dos elétrons. E há o sigma de spin dos elétrons ( $\sigma$ ).

$$\begin{aligned} \hat{H}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) \cdot \psi_\lambda(x_1, x_2, \dots, x_N) &= E_\lambda \cdot \psi_\lambda(x_1, x_2, \dots, x_N) \\ x_i &\equiv (\mathbf{r}_i, \sigma_i) \end{aligned} \quad (\text{A32})$$

Podemos estimar que, mesmo para um pequeno número de elétrons, a dimensão desse problema está crescendo exponencialmente. A complicação vem do fato de que não podemos separar as coordenadas. Temos  $N$  problemas com um único elétron. Se também esquecermos o princípio de Pauli, isso significa que a função de onda de muitos corpos é simplesmente um produto de  $N$  funções de onda de partículas arbitrárias.

$$\psi_\lambda(x_1, x_2, \dots, x_N) = \psi_{n_1}(x_1) \cdot \psi_{n_2}(x_2) \dots \psi_{n_N}(x_N); \quad \lambda = \{n_1, \dots, n_N\} \quad (\text{A33})$$

A (A33) parece ser possível de resolução. Mas, isso significa que todos os elétrons se movem independentemente no potencial externo. Portanto, se eu tiver um potencial externo e o estado de um elétron, o primeiro elétron vai para o estado mais baixo. Mas o mesmo acontece com o 2° e o 3° e nunca teremos algo como qualquer outro dos efeitos coletivos de interação interessantes. Claro, em geral levamos em consideração o princípio de Pauli, onde a função de

onda de muitos corpos é um determinante de Slater e os elétrons com spin igual não ocupam o mesmo estado.

$$\frac{1}{(N!)^{1/2}} = \begin{vmatrix} \psi_1(\mathbf{r}_1, \sigma_1) & \psi_1(\mathbf{r}_2, \sigma_2) & \psi_1(\mathbf{r}_3, \sigma_3) & \dots \\ \psi_2(\mathbf{r}_1, \sigma_1) & \psi_2(\mathbf{r}_2, \sigma_2) & \psi_2(\mathbf{r}_3, \sigma_3) & \dots \\ \psi_3(\mathbf{r}_1, \sigma_1) & \psi_3(\mathbf{r}_2, \sigma_2) & \psi_3(\mathbf{r}_3, \sigma_3) & \dots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \end{vmatrix} \quad (\text{A34})$$

E, claro, também podemos otimizar as funções de onda de uma única partícula. Mesmo assim, os elétrons seriam independentes e os fenômenos mais interessantes e importantes, como o efeito da interação entre as partículas, teriam desaparecido. Assim, não temos que concluir que, em geral, não podemos tornar a função de onda de muitos corpos um problema simples.

#### A1.4.1 OBSERVÁVEIS

Nessa seção, foi usada as obras [74,76,78,79,82,83] para fundamentar os textos aqui redigidos. Uma vez que precisamos calcular uma função de onda de várias partículas ( $x_N$ ), passamos a ter um problema complexo, pois,

$$\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N)$$

Sendo necessário ter uma solução para cada função de onda de cada partícula, como o elétron, por exemplo.

Assim, foi utilizado o conceito de observáveis, que tem como objetivo descrever e entender o que estamos analisando e observando. Na mecânica quântica, esses são valores esperados.

$$O = \langle \hat{O} \rangle$$

Como o objetivo é calcular a função de onda para muitos corpos, podemos dizer que o valor do observável é um funcional da função de onda de muitos corpos.

$$O = O[\Psi]$$

Um funcional é como uma prescrição: a uma função ele associa um número.

$$\Psi \rightarrow O$$

Vimos, anteriormente, na (A31), que o resultado para um dado observável, pode depender da forma do operador de energia cinética, da interação elétron-elétron e do potencial externo. Consideramos que o operador de energia cinética e a interação de Coulomb são dados. Assim, o potencial externo contém informações suficientes para determinar o valor de um observável.

$$\hat{H} = -\frac{\hbar^2}{2m_e} \sum_i \nabla_i^2 + \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} + \sum_i v_{ext}(r_i)$$

Com isso, podemos considerar o valor esperado  $O$  como um funcional do potencial externo em vez de um funcional da função de onda de muitos corpos.

$$O = O[\Psi] \rightarrow \hat{O} = (v_{ext})$$

Expressando a equação como um hamiltoniano, se a expressão da energia cinética e a interação são dadas, o resultado depende explicitamente apenas do potencial externo. Então temos  $\hat{O}[v_{ext}]$  como funcional do potencial externo.

A resolução de uma equação para muitos corpos é complexa, e geralmente, não tem uma resolução exata. Mas, é importante e necessário encontrar uma equação correta para iniciar o processo para tentar realizar aproximações. Assim, a estratégia é sair de um funcional simples de uma função complexa ( $O = O[\Psi]$ ) e ter um funcional complexo de uma função simples ( $\hat{O}[v_{ext}]$ ), partindo desse processo para realizar aproximações dos funcionais complexos,

$$O = O[\Psi] \rightarrow \hat{O} = (v_{ext}) \rightarrow O[Q]??$$

Como exemplo de observável simples, podemos calcular a posição de equilíbrio de um composto diatômico ( $X - Y$ ), um problema que deve ser revolidado com o observável focando na minimização de energia que fornece, por meio da análise da energia total do sistema no estado fundamental, em função da distância  $r$ , para alcançar a distância de equilíbrio  $r_0$ . A minimização de energia pode fornecer também a geometria da molécula. Conhecendo as posições dos átomos e a organização espacial deles, é possível calcular as vibrações moleculares das moléculas, por exemplo.

Descrevendo um observável como um operador local de um corpo (e não muitos, para simplificar), vamos integrar os elétrons em apenas uma coordenada, alcançando uma expressão que contém o operador de um corpo e a densidade de um corpo  $N$ .

$$O_1 = \int \dots \int dx_1 \dots dx_N \Psi^*(x_1 \dots x_N) \sum_{i,j,\dots} O_1(x_i) \Psi(x_1 \dots x_N) \quad (A35)$$

$$O_1 = \int dx_1 O_1(x_1) N \int dx_2 \dots dx_N \Psi^*(x_1 \dots x_N) \Psi(x_1 \dots x_N) \quad (\text{A36})$$

$$O_1 = \int dx_1 O_1(x_1) N \int dx_2 \dots dx_N \Psi^*(x_1 \dots x_N) \Psi(x_1 \dots x_N) \quad (\text{A37})$$

Assim, precisamos apenas da densidade para calcular o valor esperado de um operador local de um corpo.

$$O_1 = \int dx_1 O_1(x_1) n(x_1) \quad (\text{A38})$$

Para a interação entre dois corpos (dois elétrons), é possível calcular a interação como o potencial da energia de Coulomb, sendo a integral construída com o observável da densidade de dois corpos, uma maneira mais simples quando comparada a função de onda de dois corpos,

$$V_{ee} = \int \dots \int dx_1 \dots dx_N \Psi^*(x_1 \dots x_N) \sum_{i,j>i} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} \Psi(x_1 \dots x_N) \quad (\text{A39})$$

$$V_{ee} = \int dx_1 dx_2 \frac{1}{2} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} N(N-1) \int dx_3 \dots dx_N \Psi^*(x_1 \dots x_N) \Psi(x_1 \dots x_N) \quad (\text{A40})$$

$$V_{ee} = \int dx_1 dx_2 \frac{1}{2} \frac{e^2}{|r_i - r_j|} n^{(2)}(x_1, x_2) \quad (\text{A41})$$

Calculando a energia cinética das duas partículas, temos:

$$E_{cin} = - \int \dots \int dx_1 \dots dx_N \Psi^*(x_1 \dots x_N) \sum_{i,j>i} \frac{\nabla_i^2}{2} \Psi(x_1 \dots x_N) \quad (\text{A42})$$

$$E_{cin} = - \int dx_1 \left[ \frac{\nabla_i'^2}{2} N \int \dots \int dx_2 \dots dx_N \Psi^*(x_1 \dots x_N) \Psi(x_1' \dots x_N) \right]_{x_1' \rightarrow x_1} \quad (\text{A43})$$

Assim, introduzimos dois argumentos de espaço diferentes,  $x$  e  $x'$ , e os tornamos iguais apenas no final do cálculo, após a derivada ser obtida. Desta forma, podemos novamente separar o operador de uma grande integral, que nada mais é do que a matriz de densidade de um corpo.

$$E_{cinetica} = - \int dx_1 \left[ \frac{\nabla_i'^2}{2} \rho(x_1, x_1') \right]_{x_1' \rightarrow x_1} \quad (\text{A44})$$

Por conseguinte, precisamos encontrar a expressão para nossos diferentes observáveis em termos dessa quantidade eleita  $Q$ .

$$Q \rightarrow O_i[Q]$$

Não devemos esquecer que, é claro, também temos que calcular a própria quantidade  $Q$  de alguma forma, mas pelo menos esse problema deve ser resolvido apenas para um  $Q$ . Assim, em vez de expressar  $Q$  como um observável de muitas funções de onda de muitos corpos ou do potencial externo, na teoria do funcional da densidade ele é expresso como um funcional da densidade.

$$O_1 = \int dx_1 O_1(x_1) n(x_1)$$

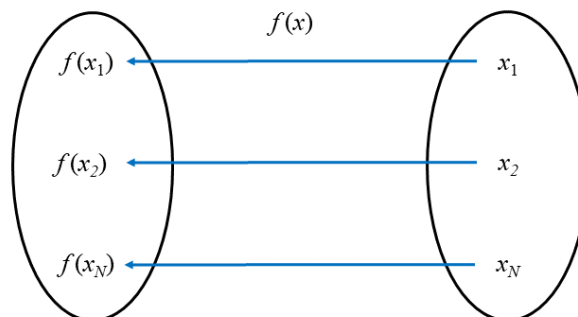
$$O = O[\Psi] \rightarrow \hat{O}[v_{ext}] \rightarrow O[n]$$

#### A1.4.2 FUNCIONAL

Um funcional é uma função que recebem funções como argumentos. No estudo de *DFT*, em função das funções de densidades eletrônicas [73,74,77,80]. Essas referências foram usadas para a construção dessa seção.

Como exemplo, vamos construir dois conjuntos no domínio dos números reais, como  $x_1, x_2, \dots, x_N$ , fazendo um elo com outro conjunto de funções de números reais, representadas como  $f(x_1), f(x_2), \dots, f(x_N)$ , como apresentado na Figura A30.

**Figura A30.** Representação de uma função real.



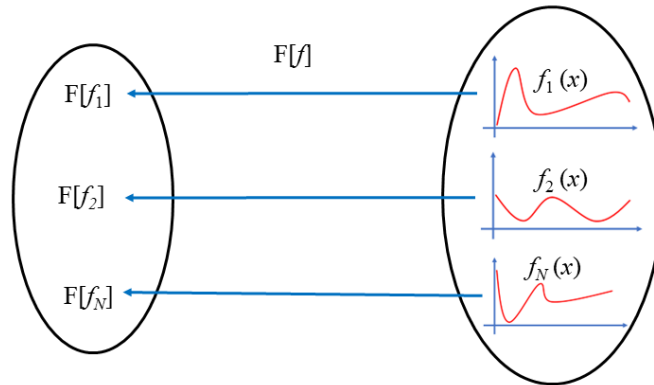
**Fonte:** do próprio autor (2021).

Definição:  $f: \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$

Podemos construir um mapeamento entre funções em vez de números. Considerando que sejam funções reais, é possível associar cada uma dessas funções a um número real. Nesse

modelo, a denominação passa a ser de funcional, pois conecta uma função a um número, ou uma função a outra função. A representação de um funcional é exibida na Figura A31.

**Figura A31.** Representação de um funcional.

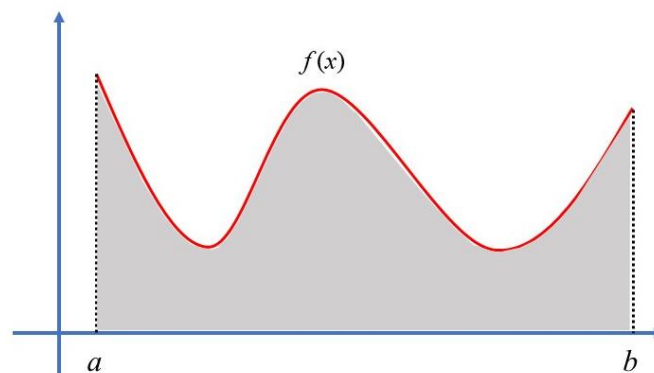


**Fonte:** do próprio autor (2021).

Definição de um funcional:  $F: C^\infty(\mathbb{R}) \rightarrow \mathbb{R}$ .

Como exemplo, vamos citar uma função genérica de  $x$ ,  $f(x)$ . Supondo que queremos avaliar a integral da função entre  $a$  e  $b$ , ou seja, a área sob a curva, com destaque em cinza (e que é um número), mostrada na Figura A32. Assim, temos o funcional da função  $x$ , isto é,  $F[f]$ .

**Figura A32.** Exemplo de um funcional.



**Fonte:** do próprio autor (2021).

Então, temos que

$$F[f] = \int_a^b dx f(x) = A$$

Vemos que o funcional de  $f$  é a área sob a curva do gráfico.

No estudo de *DFT*, vamos focar em funcionais específicos para a densidade eletrônica. Podemos citar a contribuição da energia dada por um potencial externo, definido por Thomas,

$$E_{ext}[n] = \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) \quad (\text{A45})$$

Nesse caso, temos a integral do potencial vezes a densidade da partícula  $r$ , ou seja, um funcional local.

A energia de Hartree ou o termo eletrostático clássico é um funcional não local, pois depende das posições de duas partículas. O termo Hartree é utilizado para a interação elétron-elétron e captura o essencial da eletrostática clássica.

$$E_H[n] = \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \quad (\text{A46})$$

Assim, os funcionais são operações matemáticas muito utilizadas no estudo de *DFT*.

#### A1.4.3 O TEOREMA DE HOHENBERG-KOHN

O teorema de Hohenberg-Kohn (HK) infere que todo observável no estado fundamental é um funcional da densidade eletrônica. O teorema de HK publicado em 1964 pelo físico teórico Pierre Claude Hohenberg e pelo teórico em Física e Química Walter Kohn relata que “A densidade do estado fundamental  $n(\mathbf{r})$  de um sistema ligado de elétrons interagindo em algum potencial externo  $v(\mathbf{r})$  determina esse potencial exclusivamente” [12].

Para essa seção, utilizaremos as referências [11,73,74,76–79,82,84]. Vamos analisar o teorema para um estado fundamental não degenerado. Sabemos como avaliar observáveis por meio de valores esperados:

$$O = \langle \Psi^0 | \hat{O} | \Psi^0 \rangle = O[\Psi]$$



Relembrando a aproximação de Born-Oppenheimer, sabemos que a energia do sistema é a soma dos termos relativos a energia cinética, interação elétron-elétron dada pelo potencial de Coulomb e o potencial externo dos núcleos que atua em cada elétron [81]:

$$H = T + V_{ee} + V_{ext} \quad (A47)$$

ou

$$H = -\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 + \sum_{i < j} \frac{1}{|r_i - r_j|} + \sum_i v_{ext}(r_i)$$

O termo cinético e da interação elétron-elétron são fatos universais, assim, o sistema não depende desses termos. Ou seja, o termo cinético será calculado como um laplaciano e os elétrons vão interagir em pares por um termo que é inversamente proporcional à sua distância. Assim, o sistema terá como termo diferenciador o potencial externo. Desse modo, se temos o potencial externo, temos o hamiltoniano,

$$v_{ext}(\mathbf{r}) \rightarrow H$$

E se temos o hamiltoniano somos em princípio capazes de diagonalizá-lo e obter autovetores, função de onda e autovalores das energias do sistema.

$$H \rightarrow \Psi, E$$

Então, podemos avaliar qualquer outro observável através do valor esperado de um operador obtido com a função de onda.

$$\Psi \rightarrow O = \langle \Psi | \hat{O} | \Psi \rangle$$

Por exemplo, podemos utilizar a densidade eletrônica, que é o valor esperado do operador densidade.

$$n(\mathbf{r}) = \langle \Psi | \sum_i \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) | \Psi \rangle \quad (A48)$$

Assim, se o valor esperado de um operador depende da função de onda, aqui consideramos a função de onda do estado fundamental, que por sua vez depende do hamiltoniano e, portanto, do potencial externo.

Assim, vamos analisar dois potenciais externo diferentes. Para serem diferentes, precisam diferir por mais do que uma simples constante:

$$V_{ext}^{(1)}(\mathbf{r}) \neq V_{ext}^{(2)}(\mathbf{r}) + \text{constante} \quad (\text{A49})$$

Como vimos anteriormente, o potencial externo está relacionado ao hamiltoniano, que está relacionado à função de onda e energia do estado fundamental. Assim, podemos analisar dois sistemas,

$$H_1 = T + V_{ee} + V_{ext}^{(1)} \rightarrow H_1|\psi\rangle = E_1|\psi\rangle \quad (\text{A50})$$

e

$$H_2 = T + V_{ee} + V_{ext}^{(2)} \rightarrow H_2|\psi\rangle = E_2|\psi\rangle \quad (\text{A51})$$

Se focarmos nas duas equações acima e, em seguida, fizermos a diferença entre elas, que resulta no potencial externo, chegamos à conclusão que os potenciais vão diferir apenas por uma constante, uma contradição e um absurdo (ficou conhecido no artigo como *reductio ad absurdum*), já que a suposição inicial era que os dois potenciais eram diferentes.

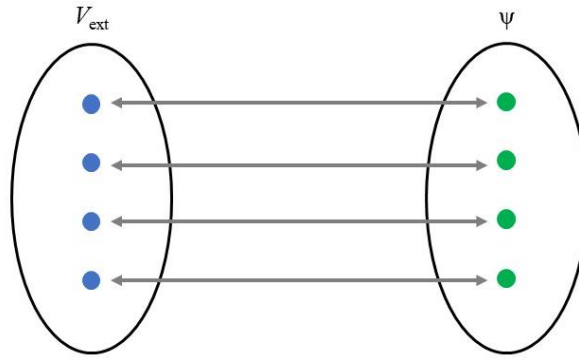
$$[V_{ext}^{(1)} - V_{ext}^{(2)}]|\psi\rangle = (E_1 - E_2)|\psi\rangle \quad (\text{A52})$$

$$V_{ext}^{(1)}(\mathbf{r}) - V_{ext}^{(2)}(\mathbf{r}) = \text{constante} \quad (\text{A53})$$

$$V_{ext}^{(1)}(\mathbf{r}) = V_{ext}^{(2)}(\mathbf{r}) + \text{constante} \quad (\text{A54})$$

Assim, a relação entre o potencial externo e a função de onda funciona como uma função bijetora, ou seja, com uma correspondência de um para um, como exibido na Figura A33.

**Figura A33.** Representação de uma função bijetora.



**Fonte:** do próprio autor (2021).

Agora, precisamos verificar a relação entre o potencial externo e a densidade eletrônica. Vamos supor que dois potenciais externo ou duas funções de onda diferentes levam à mesma densidade eletrônica. Assim, temos o potencial externo e a função de onda diferentes entre si.

$$H_1 = T + V_{ee} + V_{ext}^{(1)} \rightarrow H_1|\psi\rangle = E_1|\psi\rangle \quad (A55)$$

$$H_2 = T + V_{ee} + V_{ext}^{(2)} \rightarrow H_2|\psi\rangle = E_2|\psi\rangle \quad (A56)$$

Temos que a energia 1,

$$E_1 = \langle \Psi_1 | H_1 | \Psi_1 \rangle \quad (A57)$$

Levando em consideração o teorema variacional, ao adicionar a função de onda 2 ( $\Psi_2$ ), se obtém um valor maior que a energia total para o sistema. Para resolver esse problema, somamos e subtraímos o hamiltoniano 2 ( $H_2$ ), de forma a reduzir a estimativa de energia total em duas partes,

$$E_1 = \langle \Psi_1 | H_1 | \Psi_1 \rangle < \langle \Psi_2 | H_1 | \Psi_2 \rangle = \langle \Psi_2 | H_1 - H_2 + H_2 | \Psi_2 \rangle. \quad (A58)$$

A diferença entre os hamiltonianos é apenas a diferença entre os potenciais externos. Vamos nos concentrar na segunda parte aqui. O potencial externo é um operador de um corpo.

$$E_1 = \langle \Psi_1 | H_1 | \Psi_1 \rangle < \langle \Psi_2 | H_1 | \Psi_2 \rangle = E_2 + \langle \Psi_2 | V_{ext}^{(1)} - V_{ext}^{(2)} | \Psi_2 \rangle \quad (A59)$$

Conhecendo a equação do potencial externo, podemos incluir a densidade no processo. Primeiro, vamos analisar a densidade 2, proveniente da função de onda 2.

$$E_1 = \langle \Psi_1 | H_1 | \Psi_1 \rangle < \langle \Psi_2 | H_1 | \Psi_2 \rangle = E_2 + \int d\mathbf{r} \left[ v_{ext}^{(1)} - v_{ext}^{(2)} \right] n_2(\mathbf{r}) \quad (A60)$$

Temos a energia total do sistema 1. Então, o resultado é que a energia total do sistema 1, o sistema descrito pelo potencial externo 1, é menor que a soma da energia total do sistema 2, mais o funcional simples da densidade relativa à diferença de energia potencial externa,

$$E_1 < E_2 + \int d\mathbf{r} \left[ v_{ext}^{(1)} - v_{ext}^{(2)} \right] n_2(\mathbf{r}) \quad (A61)$$

Com isso, encontramos uma desigualdade que diz que uma energia é menor que a soma de duas outras energias. Mas agora vamos fazer exatamente o mesmo raciocínio, mas começando pelo sistema descrito pelo potencial 2. Escrevemos a energia total 2 e fazemos o mesmo procedimento em que basicamente trocamos o índice 1 pelo 2. Chegamos à conclusão como antes, que  $E_2$  é menor que a soma de  $E_1$  mais um funcional de energia da diferença do potencial externo.

$$E_2 = \langle \Psi_2 | H_2 | \Psi_2 \rangle < \langle \Psi_1 | H_2 | \Psi_1 \rangle = E_1 + \int d\mathbf{r} \left[ v_{ext}^{(2)} - v_{ext}^{(1)} \right] n_1(\mathbf{r}) \quad (A62)$$

$$E_2 < E_1 + \int d\mathbf{r} \left[ v_{ext}^{(2)} - v_{ext}^{(1)} \right] n_1(\mathbf{r}) \quad (A63)$$

Ou seja, os dois potenciais externos diferentes em duas funções de onda diferentes podem dar a mesma densidade eletrônica, que chamamos de  $n$ .

$$E_2 < E_1 + \int d\mathbf{r} \left[ v_{ext}^{(2)} - v_{ext}^{(1)} \right] n(\mathbf{r}) \quad (A64)$$

$$E_1 < E_2 + \int d\mathbf{r} \left[ v_{ext}^{(1)} - v_{ext}^{(2)} \right] n(\mathbf{r}) \quad (A65)$$

Se somarmos as duas desigualdades, obtemos que um número, a soma das energias totais, é estritamente menor que ele mesmo, o que é claramente absurdo (*reductio ad absurdum*).

$$E_1 + E_2 < E_2 + E_1 \quad (\text{A66})$$

Assim, a suposição inicial que 2 potenciais externos levam à mesma densidade eletrônica está incorreto, mostrando que a relação entre o potencial externo e a densidade eletrônica funciona como uma função bijetora, como apresentado na Figura A33. Com isso, chegamos à conclusão de que todo observável é, em princípio, um único funcional da densidade eletrônica,

$$O = \langle \Psi | \hat{O} | \Psi \rangle = O[n]$$

ou seja, existe uma correspondência única entre a densidade do estado fundamental e o potencial externo.

Com isso, vemos que a propriedade mais importante de um estado fundamental eletrônico é a sua energia. Pela função de onda, a energia pode ser calculada por uma aproximação da equação de Schrodinger ou pelo princípio mínimo de Rayleigh-Ritz,

$$E_{min_\Psi} = \langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle = \langle \Psi_0 | \hat{H} | \Psi_0 \rangle = E_0 \quad (\text{A67})$$

onde  $\Psi_0$  é uma função de teste normalizada para o número dado de elétrons  $N$ .

A formulação do princípio mínimo em termos de densidade de teste  $n_0(\mathbf{r})$ , em vez de funções de onda de teste  $\Psi_0$ , foi apresentada pela primeira vez em Hohenberg e Kohn em 1964[12]. Ela define que, se buscarmos entre todas as funções de onda possíveis, aquela que nos daria o menor número, a energia total do estado fundamental, é a função de onda do estado fundamental. E como para o teorema de Hohenberg-Kohn, há uma correspondência um-para-um entre função de onda e densidade, é a densidade do estado fundamental que corresponde à função de onda do estado fundamental. Essa minimização, então, pode ser feita diretamente na própria densidade.

$$\min_{n(\mathbf{r})} E[n] = E_0 \quad (\text{A68})$$

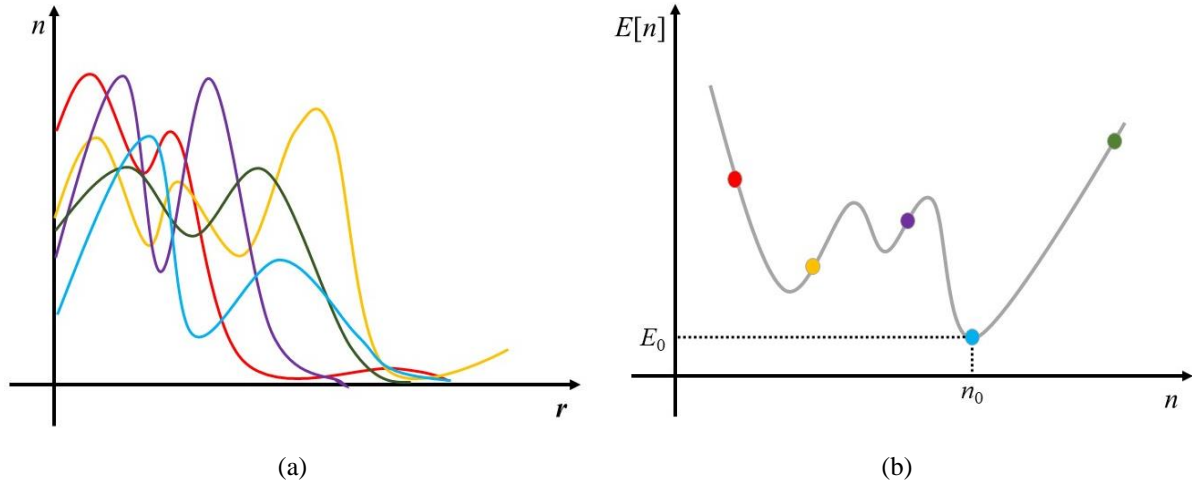
Podemos pesquisar entre todas as densidades: aquela que minimiza o funcional da energia é a densidade do estado fundamental e corresponde à energia total do estado fundamental. Isso é muitas vezes chamado de segunda parte do teorema de Hohenberg-Kohn.

O processo de minimização mostra claramente uma maneira prática, um procedimento variacional, para encontrar um observável como um funcional de densidade. De fato, em vez de usar o teorema variacional no universo de todas as funções de onda possíveis que saem no

espaço tridimensional e para as quais a superfície de energia pode ser enormemente complicada, graças ao teorema de Hohenberg-Kohn podemos restringir nossa busca ao sistema das densidades que possuem uma probabilidade menor.

Como exemplo, podemos supor a densidade 1 e chamá-la de  $n_1$ , teremos uma certa energia total  $E_1$  de  $n_1$ . Para outra densidade  $n_2$ , teremos outra energia, assim como para  $n_3, n_4$  e para tantas densidades necessárias para descobrir a forma da superfície de energia, como apresentado na Figura A34. Podemos avaliar a energia total mínima, que constitui a energia total do estado fundamental em correspondência com a densidade do estado fundamental  $n_0$ .

**Figura A34.** (a) As possíveis densidade eletrônica de um corpo. (b) As relações entre a densidade eletrônica e sua respectiva energia, com a identificação da energia do estado fundamental,  $E_0$ .



Fonte: do próprio autor (2021).

Formalmente, a energia total pode ser escrita em termos do valor esperado com a função de onda de muitos corpos completa.

$$E[n] = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{ext} | \Psi \rangle \quad (\text{A69})$$

Nele temos um funcional explícito da densidade em relação ao potencial externo, pois é um operador de corpo único.

$$E[n] = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{ext} | \Psi \rangle + \int d\mathbf{r} V_{ext}(\mathbf{r}) n(\mathbf{r}) \quad (\text{A70})$$

E temos partes relacionadas aos operadores cinético ( $T[n]$ ) e da interação elétron-elétron ( $E_{ee}[n]$ ), e esses dois são desconhecidos.

$$E[n] = T[n] + E_{ee}[n] + \int d\mathbf{r} V_{ext}(\mathbf{r}) n(\mathbf{r}) \quad (\text{A71})$$

Eles também são, como você pode ver, independentes do potencial externo. Chamamos esse termo de funcional de Hohenberg-Kohn ou funcional universal ( $F_{HK}[n]$ ),

$$F_{HK}[n] = T[n] + E_{ee}[n] \quad (\text{A72})$$

$$E[n] = F_{HK}[n] + \int d\mathbf{r} V_{ext}(\mathbf{r}) n(\mathbf{r}) \quad (\text{A73})$$

Como não depende do potencial externo, é o mesmo para todos os sistemas. Não conhecemos este funcional. Claro, se pudéssemos avaliar a energia total para um determinado conjunto de potenciais externos, poderíamos inverter esta equação e encontrar o funcional universal  $F$ .

$$E[n] = F_{HK}[n] + \int d\mathbf{r} V_{ext}(\mathbf{r}) n(\mathbf{r}) \quad (\text{A74})$$

$$F_{HK}[n] = E[n] - \int d\mathbf{r} V_{ext}(\mathbf{r}) n(\mathbf{r}) \quad (\text{A75})$$

Isso implica o conhecimento das energias totais para todas as densidades possíveis  $n(\mathbf{r})$ . Sendo este o caso, teremos um conhecimento completo do funcional universal que poderá então ser aplicado a todos os sistemas.

Fica evidente que, encontrar o funcional universal para todas as densidades possíveis implica que muitos potenciais externos devem ser analisados e resolvidas para explorar todas as densidades possíveis, o que não é uma solução viável. Lembrando que o resultado do teorema HK, o funcional da densidade, se existir é único. Nas décadas de 70 e 80 foram realizados vários estudos sobre a existência do funcional, as condições e as restrições para tal existência.

Uma solução para esse problema foi proposta por Levy em 1982 [85] e Lieb em 1983 [86], chamada de método de busca restrita, e levou a um esclarecimento e generalização do teorema de HK como, por exemplo, removendo a restrição original do estado fundamental não degenerado.

#### A1.4.4 AS EQUAÇÕES DE KOHN-SHAM

Para discutir as equações de Kohn-Sham (KS), vamos nos fundamentar nas referências [11,13,76–79,87]. Vimos que há uma relação entre o potencial externo e o hamiltoniano,

$$V_{ext}(\mathbf{r}) \leftrightarrow H$$

$$H|\Psi\rangle = E|\psi\rangle$$

Assim, podemos iniciar do funcional genérico da energia exata da densidade,

$$E[n] = T[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) + E_{ee}[n] \quad (A76)$$

Também conhecemos o funcional universal ou o funcional de HK,

$$E[n] = F_{HK}[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r})$$

Inicialmente, foi realizada algumas manipulações: adicionamos e subtraímos a mesma quantidade que é o funcional da energia cinética de um sistema de partículas de densidades independentes ou que não interagem ( $T_s[n]$ ),

$$E[n] = F_{HK}[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) + T_s[n] - T_s[n] \quad (A77)$$

Por conseguinte, fazemos o mesmo procedimento com a energia de Hartree,

$$E[n] = F_{HK}[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) + T_s[n] - T_s[n] + \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} - \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \quad (A78)$$

Este funcional de energia se mantém com uma resolução complexa. Assim, vamos montar uma equação com a contribuição da energia cinética, do potencial externo e da energia de Hartree, além de adicionar o funcional universal,



$$E[n] = T_s[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + F_{HK}[n] \quad (\text{A79})$$

Os termos remanescentes da (A78 são as contribuições negativas da energia cinética e da energia de Hartree. Reorganizando, temos

$$E[n] = T_s[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + F_{HK}[n] - T_s[n] - \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \quad (\text{A80})$$

Com esta reordenação, podemos perceber a energia total como uma soma da energia total dada dentro da aproximação de Hartree ( $E^H[n]$ ) e um termo que foi definido como a energia de troca e correlação ( $E_{xc}[n]$ ),

$$E[n] = E^H[n] + E_{xc}[n] \quad (\text{A81})$$

onde

$$E^H[n] = T_s[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \quad (\text{A82})$$

e

$$E_{xc}[n] = T[n] - T_s[n] + E_{ee}[n] - E_{ee}^H[n] \quad (\text{A83})$$

Além de ser uma reordenação, ficamos com uma quantidade menor que pode ser expressa como diferença de energia. Primeiramente, a diferença entre o termo cinético real menos o termo cinético das partículas que não interagem,

$$T[n] - T_s[n]$$

Esse valor deve ser menor que o valor do funcional real da energia cinética. Além disso, a diferença entre a interação exata elétron-elétron e seus equivalentes na aproximação de Hartree; sendo este valor menor que o valor da interação elétron-elétron real.

$$E_{ee}[n] - E_{ee}^H[n]$$

Assim, conseguimos reescrever o funcional da energia total de uma maneira que, ao invés de ter que aproximar dois funcionais complicados, como a energia cinética total ( $T[n]$ ) e a energia de interação elétron-elétron ( $E_{ee}[n]$ ), podemos focar em um termo, a energia de troca e correlação,

$$E[n] = T_s[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V_{ext}(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + E_{xc}[n] \quad (\text{A84})$$

Agora, vamos considerar um sistema de partículas independentes,

$$\left[ -\frac{1}{2} \nabla^2 + V^{eff}(\mathbf{r}) \right] \psi_i(\mathbf{r}) = \lambda_i \psi_i(\mathbf{r}) \quad (\text{A85})$$

Um sistema de partículas independentes é normalmente fatorado em  $N$  equações para as  $N$  partículas independentes. Cada sistema tem um termo cinético e um termo de energia potencial, denominado de potencial efetivo ( $V^{eff}(\mathbf{r})$ ), que age sobre todos os elétrons da mesma forma, exatamente como o potencial externo. Aqui não temos nenhuma interação elétron-elétron, pois os elétrons devem ser independentes.

Assim, podemos escrever a densidade eletrônica como a soma dos  $N$  estados ocupados pelos  $N$  elétrons,

$$n(\mathbf{r}) = \sum_i^N |\psi_i(\mathbf{r})|^2 \quad (\text{A86})$$

Pelo teorema de Hohenberg-Kohn, sabemos que existe uma correspondência única entre a densidade e o potencial externo do sistema. Só agora o potencial externo coincide com o efetivo, pois não há potencial de interação.

$$n(\mathbf{r}) \leftrightarrow V^{eff}(\mathbf{r})$$

Também conhecemos em princípio a energia total porque é um funcional da densidade único.

$$E_s(n) = T_s(n) + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r}) V^{eff}(\mathbf{r}) \quad (A87)$$

Dado um sistema real com elétrons interagindo que tem densidade  $n$ , podemos supor a existência de um sistema eletrônico não interativo que tem a mesma densidade de um sistema que interage. E essa foi a ideia de Kohn-Sham. Eles assumiram que para cada sistema real de elétrons que interagem, há um sistema auxiliar de elétrons que não interagem, mas que possuem a mesma densidade.

Para alcançar uma solução matemática, foram feitas algumas restrições. A primeira foi em relação as condições de normalidade das funções de onda de uma partícula,

$$\int d\mathbf{r} \psi_i^*(\mathbf{r})\psi_i(\mathbf{r}) = 1 \quad (A88)$$

Para normalizar as funções de onda que descrevem os elétrons que não interagem, foi utilizado o método dos multiplicadores de Lagrange,

$$\frac{\delta\{E[n] - \lambda_i \int d\mathbf{r} \psi_i^*(\mathbf{r})\psi_i(\mathbf{r}) - 1\}}{\delta\psi_i^*} = 0 \quad (A89)$$

Agora, podemos adicionar a equação encontrada para a energia total do sistema,

$$\frac{\delta\{T_s[n] + \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r})V_{ext}(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + E_{xc}[n] - \lambda_i \int d\mathbf{r} \psi_i^*(\mathbf{r})\psi_i(\mathbf{r})\}}{\delta\psi_i^*} = 0 \quad (A90)$$

Como  $T_s[n] = \sum_i \psi_i^*(\mathbf{r}) \left(-\frac{1}{2}\nabla^2\right) \psi_i(\mathbf{r})$ , então:

$$\frac{\delta\left[\int \psi_i^*(\mathbf{r}) \left(-\frac{1}{2}\nabla^2\right) \psi_i(\mathbf{r})\right]}{\delta\psi_i^*} = \left(-\frac{1}{2}\nabla^2\right) \psi_i(\mathbf{r}) \quad (A91)$$

e

$$\frac{\delta[\lambda_i \int d\mathbf{r} \psi_i^*(\mathbf{r})\psi_i(\mathbf{r})]}{\delta\psi_i^*} = \lambda_i\psi_i(\mathbf{r}) \quad (\text{A92})$$

E que o potencial de troca e correlação é definido como

$$V_{xc}[n] = \frac{E_{xc}[n]}{\delta n(\mathbf{r})} \quad (\text{A93})$$

Reunindo todos os termos com as derivadas funcionais solucionadas, produz a equação de Kohn-Sham (KS),

$$\left[ \left( -\frac{\nabla^2}{2} \right) + V_{ext}(\mathbf{r}) + \int d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + V_{xc}[n] \right] \psi_i(\mathbf{r}) = \lambda_i\psi_i(\mathbf{r}) \quad (\text{A94})$$

#### A1.4.5 APROXIMAÇÕES

Com a formulação das equações de Kohn-Sham, foi introduzido o funcional de troca e correlação eletrônica. Para uma melhor fundamentação, o texto dessa seção será baseado nas referências [73,75–79,88]. Para ter um melhor entendimento sobre esse termo, vamos analisar o funcional da energia total de HK:

$$E_{HK}[n] = F[n] + \int d\mathbf{r} V_{ext}(\mathbf{r}) n(\mathbf{r}) \quad (\text{A95})$$

O funcional universal pode ser reescrito como um funcional no formalismo de Kohn-Sham:

$$F[n] = T_s[n] + E^H[n] + E_{xc}[n] \quad (\text{A96})$$

A única parte desconhecida é o funcional da energia de troca e correlação, e verifica-se que a energia de troca e correlação é muito menor que a soma das energias não interativas,

$$T_s[n] + E^H[n] \gg E_{xc}[n] \quad (\text{A97})$$

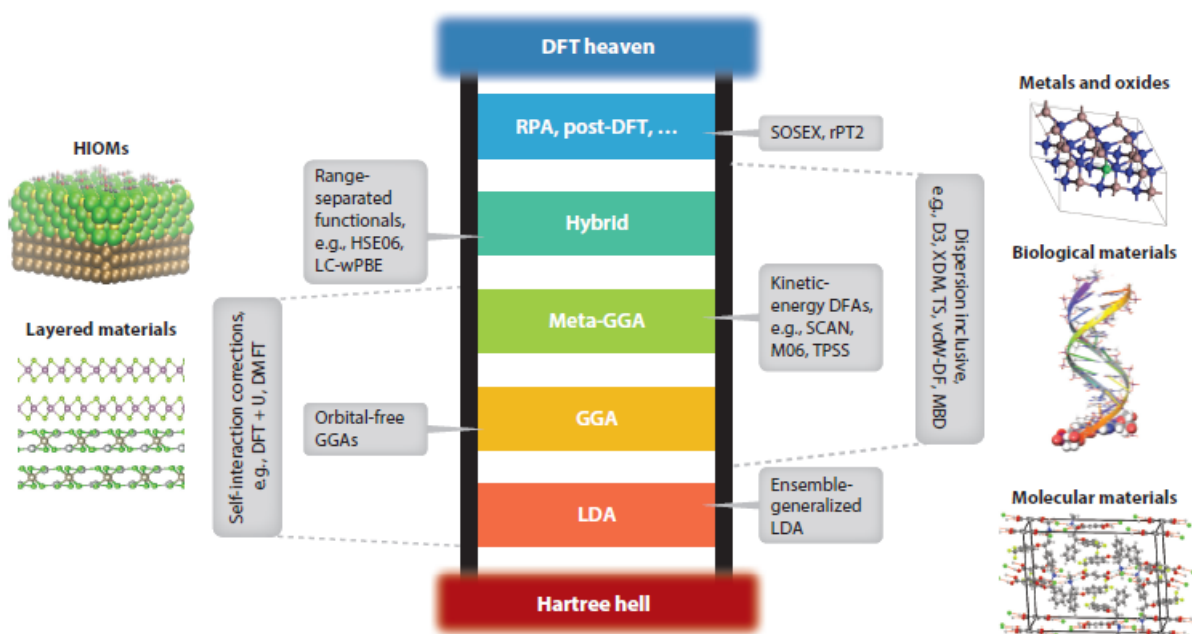
Como a energia de troca e correlação é pequena, podemos aproximá-la. Porém, a contribuição da energia de troca e correlação é muito importante para a ligação molecular, por isso, as aproximações devem ser feitas com muita expertise.

Para encontrar essa resposta, há abordagens empíricas e não empíricas. Nas abordagens empíricas, alguns parâmetros são ajustados a conjuntos de dados experimentais, como feita por Becke [89,90]. Uma aproximação não empírica é um funcional que é construído a partir de restrições exatas ou de algum tipo de derivação. Não contém nenhum parâmetro de ajuste.

Os funcionais empíricos podem ser muito precisos, se olharmos para propriedades que são muito semelhantes às dos conjuntos de dados ajustados. Por outro lado, funcionais não empíricos tendem a ser mais universalmente aplicáveis porque são construídos a partir de propriedades e restrições que são universais.

Em 2001, Perdew fez uma comparação entre as qualidades dos funcionais usando o termo “Escada de Jacó” [91]. Trata-se de uma passagem bíblica onde Jacó sonha com uma escada que o leva ao céu. O ponto de partida, a Terra, é considerado como as equações de Hartree (considerado por alguns autores como o inferno). O céu seria o funcional de troca e correlação exato que, até então, não foi alcançado. Entre a Terra e o céu, estão as aproximações possíveis. Quanto mais alto o degrau da escada, melhor é considerada a aproximação (Figura A35).

**Figura A35.** A escada de Jacob fornece uma orientação para melhorar as aproximações funcionais de densidade por degraus ascendentes de aproximações.



Fonte: adaptado de [75].

Na parte inferior, há a aproximação de Hartree, onde não temos nenhuma consideração em relação a energia de troca e correlação. O primeiro degrau é a aproximação de densidade local (*LDA*, do inglês *local density approximation*). Os funcionais do segundo degrau são chamados de aproximações de gradiente generalizado (*GGA*, do inglês *generalized gradient approximation*). No terceiro degrau, encontramos os meta-*GGA*. No quarto degrau encontramos os funcionais híbridos, como o B3LYP. E, finalmente, o quinto degrau da escada de Jacob contém os funcionais de mais alto nível, que são os chamados as aproximações de fase aleatória (*RPA*, do inglês *random phase approximation*) [92].

À medida que subimos a escada, os funcionais se tornam cada vez mais complicados, o custo computacional aumenta, mas o desempenho geral melhora e os resultados se tornam mais precisos.

Nesse trabalho de tese, usamos o funcional B3LYP, que consiste em possuir um funcional de troca e correlação parcialmente local e de troca exata não local [89,90]. Inicialmente, considere que há um "buraco" na densidade eletrônica onde cada elétron ocupa para evitar a interação com outros elétrons. Em seguida, escrevemos a energia de troca e correlação como uma integral dupla,

$$E_{xc}[n] = \frac{1}{2} \iint d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})\bar{n}_{xc}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \quad (\text{A98})$$

onde  $\bar{n}_{xc}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')$  é a densidade dos buracos de troca e correlação média constante de acoplamento. O subscrito  $x$  representa a troca e o  $c$  a correlação.

$$\bar{n}_{xc}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \int_0^1 n_{xc}^\lambda(\mathbf{r}, \mathbf{r}') d\lambda \quad (\text{A99})$$

Analisando a (A99) como uma integral unidimensional, a aproximação mais simples seria assumir uma interpolação linear. Assim

$$\bar{n}_{xc} \approx \frac{1}{2} n_{xc}^{\lambda=0} + \frac{1}{2} n_{xc}^{\lambda=1} \quad (\text{A100})$$

fisicamente, a constante de acoplamento lambda pode ser vista como uma medida da força da correlação. Em lambda igual a 0, não temos correlação e tudo o que temos é a troca exata.

$\lambda = 0$ , tem apenas troca

$$n_{xc}^{\lambda=0}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = n_x(\mathbf{r}, \mathbf{r}') \quad (\text{A101})$$

Então,  $n_{xc}^{\lambda=0}$  é a densidade do buraco de troca.

Neste ponto, precisamos definir o que queremos dizer com troca exata em *DFT*. A energia de troca exata ( $E_{xc}^{exata}$ ) é dada pela expressão de troca de Fock, que é uma integral dupla sobre os orbitais e a interação coulombiana.

$$E_x^{exata}[n] = -\frac{1}{2} \sum_{\sigma=\uparrow\downarrow} \sum_{ij}^{occ} \int d\mathbf{r} \int d\mathbf{r}' \frac{\psi_i^{\sigma*}(\mathbf{r})\psi_i^{\sigma}(\mathbf{r}')\psi_j^{\sigma*}(\mathbf{r})\psi_j^{\sigma}(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \quad (\text{A102})$$

densidade. Assim, a energia de troca exata é um funcional de densidade implícito ( $E_x^{exata}[n]$ ). A dependência da energia de troca exata no orbital é explícita e não local. Conseqüentemente, isso agora sugere uma primeira suposição para um funcional híbrido, onde se mistura metade da troca exata com metade da energia de troca e correlação total no nível *LDA* como uma aproximação para a contribuição em lambda igual a 1.

$$E_{xc}^{híbrido} = \frac{1}{2}E_x^{exato} + \frac{1}{2}E_{xc}^{LDA} \quad (\text{A103})$$

Porém, a ideia simples não funciona tão bem na prática e não dá resultados muito bons. Assim, Becke e outros pesquisadores várias ideias para otimizar os parâmetros de mistura, por exemplo, construindo melhores esquemas de interpolação da integração da constante de acoplamento, ou empiricamente, ajustando dois conjuntos de dados moleculares. Assim, foi formulado o funcional B3LYP, que contém três parâmetros:  $a$ ,  $b$  e  $c$ ; misturando troca e correlação *LDA*, e correlação exata. Os valores para  $a$ ,  $b$  e  $c$  foram obtidos ajustando-se a um conjunto de dados moleculares.

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a)E_x^{LDA} + aE_x^{exato} + bE_x^{B88} + cE_c^{LYP} + (1 - c)E_c^{LDA} \quad (\text{A104})$$

$$a = 0,20; b = 0,72; c = 0,81$$

O desempenho dos funcionais híbridos, vemos que eles geralmente são muito bons para cálculo de energia, especialmente para as moléculas e fornecem boas geometrias e constantes de rede.

#### A1.4.6 O PROCEDIMENTO DO CAMPO AUTO CONSISTENTE E AS EQUAÇÕES DE KOHN-SHAM

No estudo de moléculas orgânicas, as equações de Kohn-Sham (KS) devem ser resolvidas utilizando a procedimento do campo auto consistente (SCF, do inglês *self-consistent field*). Lembrando a equação de KS [76,87],

$$\left[ \left( -\frac{\nabla^2}{2} \right) + V_{ext}(\mathbf{r}) + \int d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + V_{xc}([n], \mathbf{r}) \right] \psi_i(\mathbf{r}) = \varepsilon_i \psi_i(\mathbf{r}) \quad (\text{A94})$$

No procedimento SCF, a determinação da resolução das equações de KS é a criação de conjuntos de autovalores e autofunções. Assim, temos que diagonalizar um hamiltoniano. a diagonalização é um problema cúbico em termos de dimensionamento do algoritmo. Se não estivermos interessados em todos os autovalores, técnicas iterativas podem ser usadas ou algoritmos de gradientes conjugados [76–79,87,93]. Essas referências são a base das exposições feitas a seguir.

Além disso, devemos conhecer o hamiltoniano. No caso da equação de KS, o hamiltoniano, em particular a parte potencial, contém o potencial externo (termo conhecido: por exemplo, a posição dos núcleos), o potencial de Hartree que pode ser escrito em termos da densidade eletrônica e potencial de troca e correlação, desconhecido, e devemos aproximar.

Como exemplo, suponha que seja usado como aproximação do potencial externo o funcional híbrido B3LYP. Além disso, vale lembrar que a densidade eletrônica de partículas independentes é:

$$n(\mathbf{r}) = \sum_i^{occ} |\psi_i(\mathbf{r})|^2 \quad (\text{A105})$$

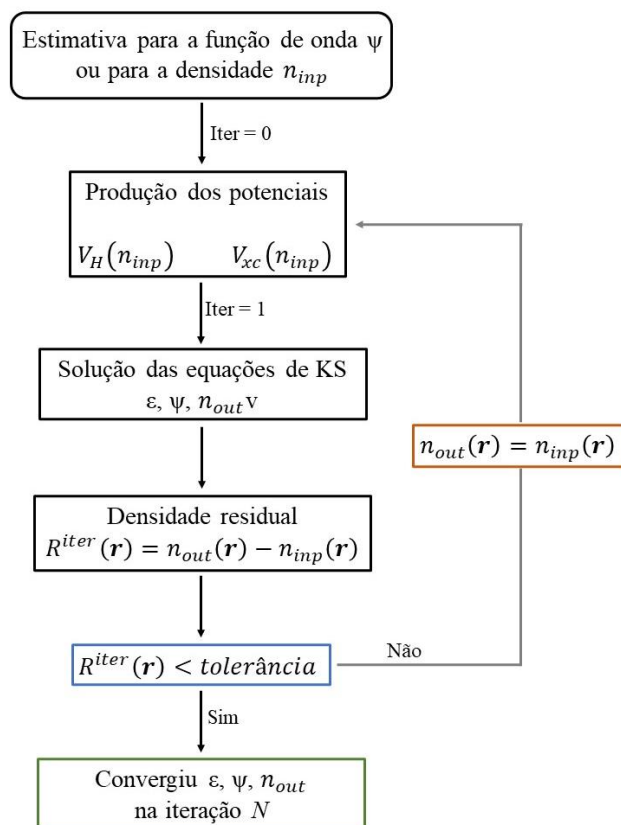
A partir desse ponto, a densidade é necessária como informação inicial (*input*) para os potenciais e assim para o hamiltoniano. Para resolver isso, seguiremos um esquema iterativo da



abordagem de campo auto consistente. Essa abordagem foi inicialmente utilizada por Hartree, para a resolução das equações de Hartree, mas foi criada por Robert Lindsey.

Nessa abordagem, temos uma estimativa inicial para a função de onda ou de maneira similar para a densidade, o que é definido como a densidade inicial ( $n_{inp}$ ). Com esse valor de densidade inicial, são calculados os primeiros potenciais, como apresentado na Figura A36.

**Figura A36.** Procedimento do campo auto consistente, SCF.



**Fonte:** do próprio autor (2021).

Nesse ponto do processo, o ciclo de iteração não foi iniciado, por isso é definido como iteração igual a zero ( $iter = 0$ ).

Vamos resolver o problema de autovalor. Temos como saída os autovalores, autofunções, e através das autofunções uma nova densidade, a densidade de saída ( $n_{out}$ ). Nesta etapa do processo, é realizada uma comparação entre a densidade recém-obtida com a anterior, a densidade de entrada. Muito provavelmente será diferente.

Porém, se a densidade não mudou, ou seja, se a densidade residual for menor que um certo valor chamado de tolerância, obtém-se a convergência dos autovalores, das energias, das

autofunções e, claro, da densidade eletrônica, finalizando o processo. Isso raramente acontece durante o primeiro ciclo, por isso, o resíduo não sendo pequeno, o processo volta a interagir novamente.

O que foi gerado como densidade de saída, passa a ser a densidade de entrada e o ciclo começa novamente. Construindo mais uma vez os potenciais, fazendo a diagonalização, obtendo novas funções de onda e densidade, e começa a iterar esse procedimento até a convergência. Esta é a ideia principal do procedimento do campo auto consistente.

## **A1.6 RIBONUCLEOSÍDEOS: FUNÇÕES BIOLÓGICAS E ESTRUTURAS CRISTALINAS**

Os nucleosídeos são substâncias de importância biológica de baixo peso molecular que são formadas por bases nitrogenadas ligada por meio de uma ligação  $\beta$ -glicosídica a uma pentose. A base nitrogenada pode ser derivada da pirimidina ou da purina. A pentose pode ser uma ribose ou uma desoxirribose, resultando em um ribonucleosídeo ou um desoxirribonucleosídeo [94]. A Tabela A5 apresenta todas as estruturas químicas dos compostos citados. Os nucleosídeos podem ser produzidos pela hidrólise química ou enzimática de nucleotídeos e ocorrem em pequenas quantidades nas células [94,95]. Além disso, são essenciais para a síntese do *DNA* e *RNA* [96] e possuem a importante função biológica de sinalização celular [97].

Os estudos sobre a natureza química de nucleosídeos, a capacidade de formar ligações de hidrogênio e interagir com outras moléculas são cruciais para entender os processos bioquímicos e projetar novos medicamentos, além de fornecer informações relevantes sobre a estrutura e propriedades do RNA e do DNA [98]

Devido a importância biológica dos nucleosídeos, estudos têm sido realizados em leite materno para averiguar o total de nucleosídeos potencialmente disponíveis (TPAN, do inglês *total potentially available nucleosides*). As pesquisas relatam a presença de uridina, citidina, guanosina e adenosina no leite materno em quantidades pequenas, sendo indicado a suplementação dessas substâncias na dieta [99].

Uma pesquisa sobre a quantidade de nucleosídeos na alimentação de bebês relata que bebês alimentados com uma fórmula suplementada com nucleotídeos mostraram uma resposta imune muito próxima àqueles amamentados, sugerindo que essas moléculas normalmente encontradas no leite humano desempenham um papel importante no sistema imunológico do recém-nascidos [100].

Nos estudos para possível suplementação, foi estudado a quantidade de *TPAN* em colostro e leite bovino ao longo do primeiro mês pós-parto. No início do colostro, os *TPAN* identificados foram a uridina e os derivados de uridina; a citidina e os nucleotídeos derivados de citidina foram dominantes posteriormente a lactação [95].

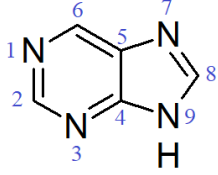
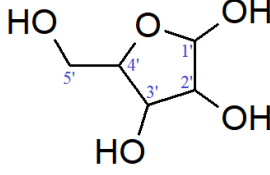
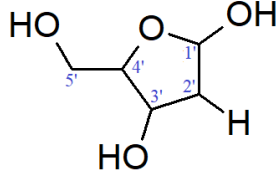
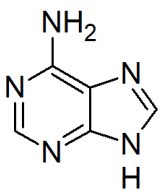
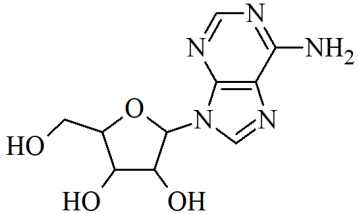
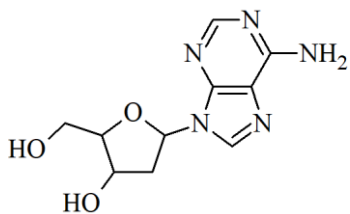
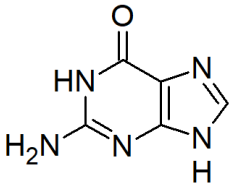
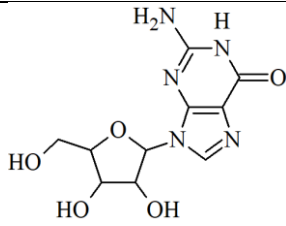
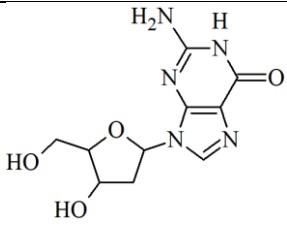
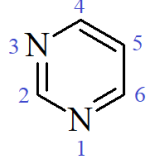
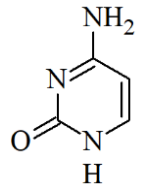
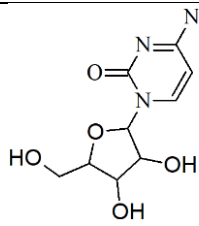
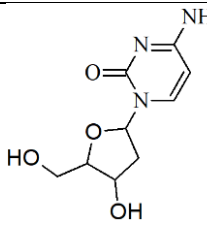
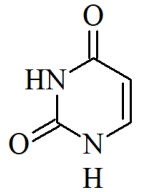
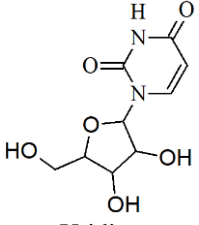
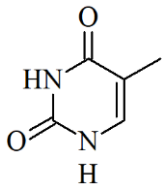
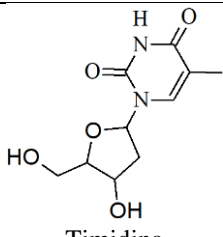
Como o objeto desse estudo são derivados de ribonucleosídeos, vamos apresentar as informações sobre as funções biológicas das moléculas de adenosina, guanosina, uridina e citidina, com a ênfase sobre a estrutura cristalina dos compostos estudados nesse trabalho de tese – 5-metilcitidina, 5-metiluridina e adenosina hidrocloreídrica.

A adenosina é uma molécula sinalizadora extracelular onipresente com funções essenciais na fisiologia humana. Desde fornecer a molécula essencial para a transferência de energia básica por meio de suas interações de adenosina trifosfato (*ATP*) e adenosina difosfato até seu papel na sinalização celular, a adenosina é um componente fundamental da biologia humana [101].

A adenosina tem efeitos de longo alcance como uma molécula sinalizadora extracelular, induzindo vasodilatação na maioria dos leitos vasculares, regulando a atividade no sistema nervoso simpático, tendo propriedades antitrombóticas e reduzindo a pressão arterial e a frequência cardíaca. Essas propriedades são algumas das razões pelas quais a adenosina e seus derivados têm efeitos terapêuticos na maioria dos sistemas orgânicos [102].

Além disso, a adenosina é uma molécula neuromoduladora presente em todo o espaço extracelular do sistema nervoso central, tem ação neuroprotetora durante a hipóxia e lesão cerebral. Ademais, a adenosina pode controlar a expressão e a progressão de uma gama de condições neurológicas agudas e crônicas [103]. Adenosina também atua com a ativação de respostas anti-inflamatórias e imunossupressoras, visando promover a cicatrização e a homeostase tecidual [104].

**Tabela A5.** Fórmulas estruturais das bases nitrogenadas e das pentoses que produzem os nucleosídeos, com a apresentação da estrutura química dos nucleosídeos resultantes.

 <p>Purina</p>	 <p>Ribose</p>	 <p>(j) Desoxirribose</p>
 <p>Adenina</p>	 <p>Adenosina</p>	 <p>Desoxiadenosina</p>
 <p>Guanina</p>	 <p>Guanosina</p>	 <p>Desoxiguanosina</p>
 <p>Pirimidina</p>	<p>Ribose</p>	<p>Desoxirribose</p>
 <p>Citosina</p>	 <p>Citidina</p>	 <p>Desoxicitidina</p>
 <p>Uracila</p>	 <p>Uridina</p>	<p>---</p>
 <p>Timina</p>	<p>---</p>	 <p>Timidina</p>

Fonte: do próprio autor (2021).

Estudos recentes mostraram que a uridina dietética pode aumentar os fosfatídeos cerebrais, as proteínas sinápticas, o crescimento de neurites e a formação de espinhas dendríticas; este estudo ainda conclui que a administração de uridina, colina, ácido docosahexaenóico (*DHA*) por várias semanas pode melhorar as funções cognitivas e a liberação de neurotransmissores em animais experimentais. Em adição a isso, verificaram-se que a administração destas 3 substâncias em pacientes com a doença de Alzheimer leve associadas a vitamina B melhorou significativamente a memória em um ensaio clínico com cerca de 220 pacientes [105].

Ainda na exploração de transtornos e doenças mentais, a uridina foi administrada com doses orais de 500 mg, duas vezes ao dia durante 6 semanas em pacientes de 14 a 17 anos com sintomas de depressão com desordem bipolar, sendo relatada pelos pacientes uma diminuição dos sintomas depressivos e que a medicação foi bem tolerada. Porém, a uridina não deve entrar na prática clínica antes de ensaios clínicos randomizados controlados por placebo, para confirmar sua eficácia [106].

A citidina e uridina além de serem incorporadas aos ácidos nucleicos, podem servir como precursores do trifosfato de citidina, biomolécula necessária na biossíntese da fosfatidocolina e da fosfatiletanolamina; também são precursores do difosfato de uridina (UDP) e do trifosfato de uridina, que ativam os receptores P2Y do cérebro e que promovem a síntese de glicogênio cerebral via UDP-glicose. Em humanos, a uridina é predominante, pois a citidina é convertida em uridina pela enzima citidina desaminase [107].

A guanosina é relatada com propriedades neuroprotetoras, que envolvem processos de ativação de várias vias de sinalização intracelular e uma estreita interação com o sistema adenosinérgico, com a consequente estimulação dos processos neuroprotetores e regenerativos no sistema nervoso central [108]. Em estudos *in vitro* e *in vivo*, a guanosina foi atribuída à função de efector trófico *in vivo*, uma vez que sua concentração extracelular permanece alta por até sete dias após uma lesão cerebral [27], para tratamento de depressão persistente combinado com cetamina, tendo resultados iniciais bastante relevantes [109] e para evitar a disfunção mitocondrial provocada por íons bivalente de cálcio [110]. Assim, esse nucleosídeo tem sido objeto de estudo e apresentado resultados satisfatórios para ser usado para o tratamento de várias neuropatologias.

A modificação da estrutura química dos nucleosídeos tem sido estudada devido ao fato de que pequenas mudanças na estrutura provocam significantes alterações nas funções biológicas, pois os nucleosídeos modificados são reconhecidos pelas enzimas ou vírus como

nucleosídeos naturais e levam ao término ou desaceleração de replicação e outros processos biológicos de acordo com o objetivo proposto [111–113].

Assim, a alteração na estrutura química de nucleosídeos, como a metilação da citidina e uridina e a inclusão de cloro na composição dos cristais de adenosina, causam alterações estruturais e energéticas que podem ser importantes como comparativos na estrutura do *DNA* em geral, afetando as interações *DNA* – proteína e a regulação gênica em níveis fisiológicos. Essas alterações são estudadas por uma área denominada epigenética, que foi proposto por Waddington como “o processo de desenvolvimento do fenótipo a partir do genótipo”, ou seja, qualquer modificação com possibilidades de ser reversível e transmissível sua transmissão por um gene sem alteração na estrutura global do *DNA* [114].

A epigenética estuda alterações nas estruturas químicas dos nucleosídeos e nucleotídeos que compõem o *DNA* e o *RNA* que não comprometem a sequência destas estruturas químicas, mas que causa alterações hereditárias na atividade ou função gênica [115]. Essas alterações estão envolvidas na regulação gênica e na diferenciação celular [115,116].

Essas modificações podem ser realizadas adicionando ou substituindo átomos na estrutura dos nucleosídeos, tanto na base nitrogenada (purina e pirimidina) como na porção pentose (ribose e desoxirribose) ou por modificações espaciais.

Como exemplo de modificações espaciais, foi relatada a mudança na conformação espacial nas hidroxilas dos carbonos 2' da porção da pentose da citosina arabinose, análoga da desoxicidina, gerando compostos que foram estudados para tratamento de leucemia [117], enquanto a metilação na posição 3' da adenosina servem como potencial agente anticâncer [118].

Outras modificações propostas resultaram substituição na posição 5 do anel pirimidina de ânions de elevada eletronegatividade, como flúor e bromo, sendo utilizados contra infecções oculares por herpes (5-trifluorotimidina) e a substância 5-bromo-vinil-desoxiuridina foi indicada para tratamento do vírus da varicela [119–121].

A substituição de grupos orgânicos alquilas também foi bastante estudada na modificação de nucleosídeos na posição 5 do anel pirimidina, como a metilação. Essas alterações foram propostas para aumentar o caráter lipofílico do composto, para facilitar a entrada nele nos organismos e para aumentar o encaixe em um sítio enzimático hidrofóbico. Porém, o aumento do caráter lipofílico diminui a atividade dos nucleosídeos metilados, possivelmente, por que tinha facilidade em se agregar ao tecido adiposo [122,123].

A presença de nucleotídeos e nucleosídeos implica em inúmeras atividades bioquímicas e fisiológicas importantes, como mencionado anteriormente, com destaque para o equilíbrio do

sistema nervoso central e para o melhoramento de atuação do sistema imunológico. Além disso, foi constatado que modificações estruturais nesses compostos, com uma tendência de aumentar sua polaridade e o aumento do caráter lipofílico, como a inclusão de ânios e de grupos metilas na estrutura química dos nucleosídeos, são utilizadas para ampliar suas possibilidades de atuação biológica.

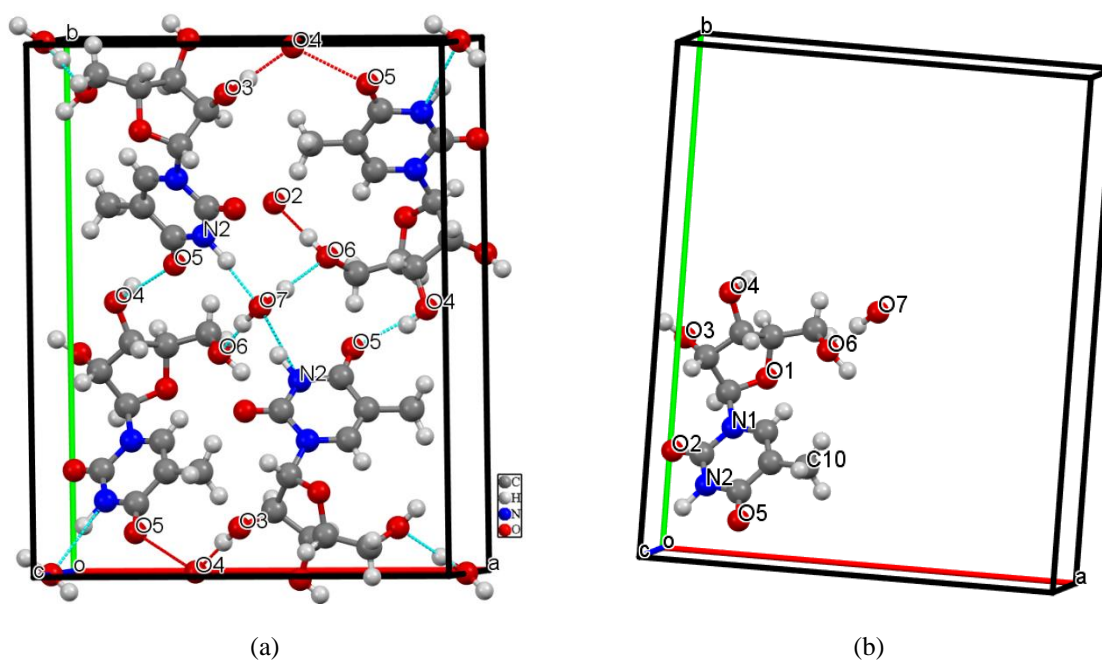
#### A1.6.1 5-METILURIDINA, 5mU

A metilação da uridina gera a 5-metiluridina semi hidratada, com cristais pertencentes ao sistema ortorrômbico e grupo espacial  $P2_12_12$ , com quatro moléculas por célula unitária e parâmetros de rede:  $a = 14,026 (3) \text{ \AA}$ ,  $b = 17,302 (1) \text{ \AA}$ ,  $c = 4,861 (1) \text{ \AA}$  e  $V = 1179,65 \text{ \AA}^3$  [124]. A 5-metiluridina é o resultado da metilação da uridina na posição 5 do anel pirimidina (Figura A37).

A Figura A37(a) apresenta a célula unitária da 5mU, com as interações de hidrogênio que ocorrem dentro de uma mesma célula unitária indicadas por linhas pontilhadas ciano e as interações de átomos entre células unitárias estão destacadas em linhas pontilhadas vermelhas. Doravante, a figura mostra a distribuição das quatro moléculas de 5mU e duas moléculas de água por célula unitária. Vale ressaltar que cada molécula de água forma ligações de hidrogênio (linhas pontilhadas azuis e vermelhas) com as quatro moléculas de 5mU circundantes. Essa interação envolve a porção de açúcar de duas moléculas de 5mU e os átomos de nitrogênio do anel de pirimidina das outras duas moléculas de 5mU.

As ligações de hidrogênio estabilizam a estrutura e possuem ângulos de ligação bem próximos da linearidade, com o comprimento da interação de hidrogênio  $N2-H \cdots O7$  sendo a maior dentre as listadas na Tabela A6, devido ao maior raio do átomo de nitrogênio.

**Figura A37.** (a) Célula unitária da 5mU. (b) Unidade assimétrica da 5mU



Fonte: do próprio autor (2021).

**Tabela A6.** Comprimentos e ângulos de ligação das interações de hidrogênio da 5mU [124].

Interação	Comprimento da ligação (Å)	Ângulo da ligação (°)
N2–H···O7	3,019	154,06
O7–H···O6	2,907	170,00
O4–H···O5	2,736	161,83
O6–H···O2	2,741	170,81
O3–H···O4	2,800	174,11

Ademais, a molécula de água visualizada no centro da célula unitária age como doadora de prótons na formação de ligação de hidrogênio com o O6, presente na ribose; e atua como receptora de prótons para gerar ligações de hidrogênio com N2 presente no anel pirimidina.

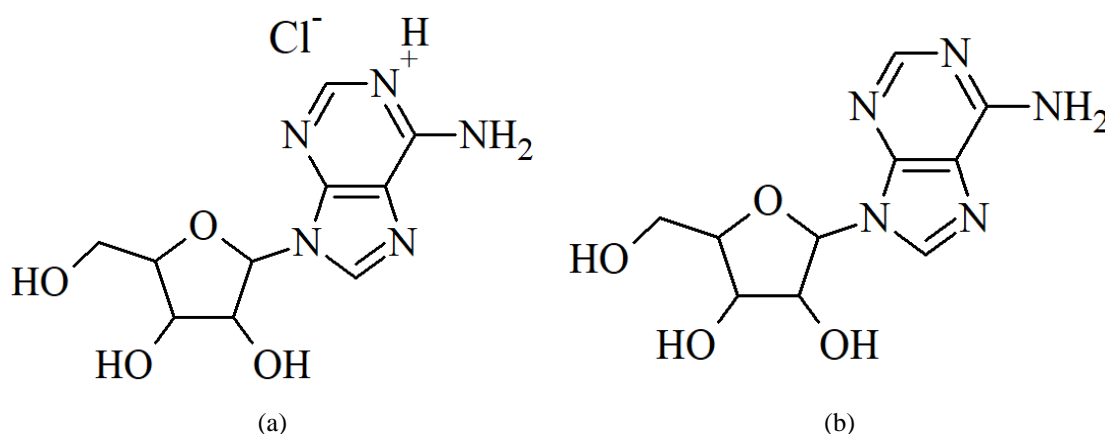
A 5-metiluridina é utilizada como precursora da timidina, um composto intermediário importante para a síntese da droga AZT (combate a AIDS) [125,126], além de ser um composto intermediário para a síntese de oligo nucleotídeos anti-sentido, que podem ser utilizados como antivirais, anticâncer, antibacteriano, anti-inflamatório [127,128]



## A1.6.2 ADENOSINA HIDROCLORÍDRICA

A adenosina hidrocloreídrica (AC) possui fórmula molecular ( $C_{10}H_{13}N_5O_4 \cdot HCl$ ) e resulta da reação entre a adenosina e o ácido clorídrico. Como produto dessa reação, a adenosina fica protonada [129]. A AC apresenta o mesmo sistema cristalino e grupo espacial da adenosina [130], alterando os parâmetros de rede da célula unitária (Figura A38).

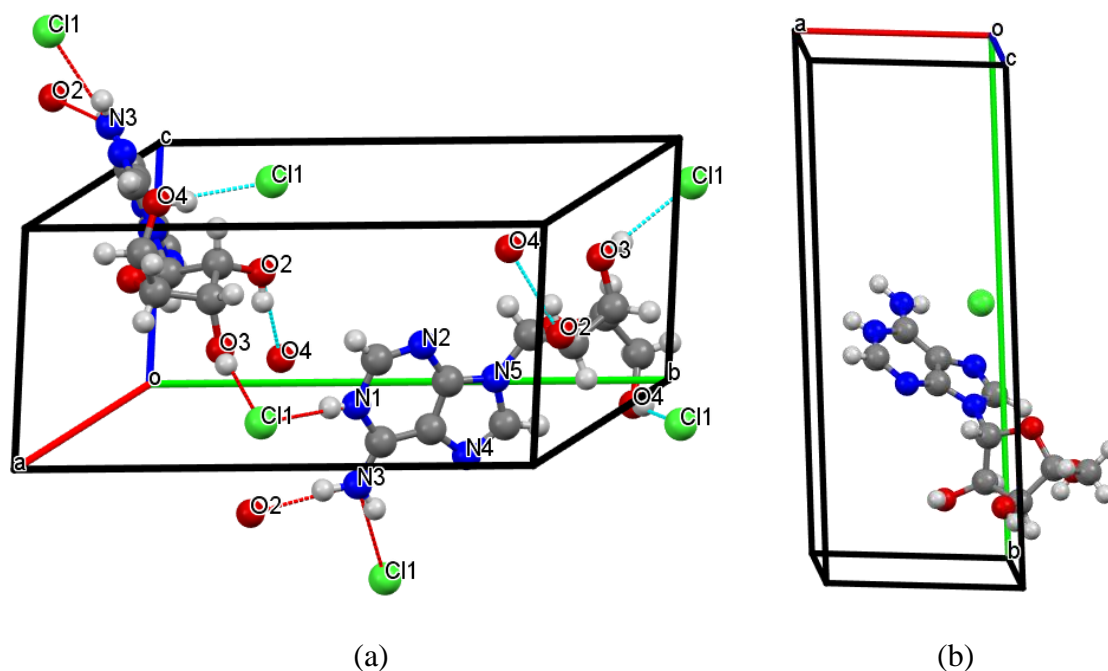
**Figura A38.** Estrutura química: (a) adenosina hidrocloreídrica, (b) adenosina.



**Fonte:** do próprio autor (2021).

A adenosina hidrocloreídrica cristaliza no sistema monoclinico e grupo espacial  $P2_1$ , com duas moléculas por célula unitária e parâmetros de rede:  $a = 6,647 (3) \text{ \AA}$ ,  $b = 16,739 (5) \text{ \AA}$ ,  $c = 6,397 (2) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 114,54 (4)^\circ$  e  $V = 645,59 \text{ \AA}^3$  e massa molar de  $303,71 \text{ g/mol}$  [129]. A Figura A39(a) mostra a célula unitária com duas moléculas de CA estabilizadas espacialmente por interações de van der Waals; sua unidade assimétrica é formada por uma molécula de AC, Figura A39(b), que pode ser reproduzida tridimensionalmente com uma operação de simetria do tipo parafuso,  $2_1$ .

**Figura A39.** (a) Célula unitária da AC. (b) Unidade assimétrica da AC.



Fonte: do próprio autor (2021).

A Figura A39(a) destaca as ligações de hidrogênio (LH) que estabilizam a estrutura tridimensional do AC. As linhas pontilhadas ciano indicam as LH que ocorrem dentro da célula unitária e as linhas pontilhadas vermelhas destacam as interações que ocorrem entre moléculas de células unitárias adjacentes. Observa-se que os átomos N1, N3, O2, O3 e O4 agem como doadores de prótons para a formação de ligações de hidrogênio com os átomos Cl1, O2 e O4. Assim, os átomos de O2 e O4 agem como doadores e aceptores de LH, enquanto o átomo de Cl1 age apenas comoceptor de LH. A Tabela A7 apresenta o comprimento e os ângulos de ligações das interações de hidrogênio que ocorrem na rede cristalina do AC.

**Tabela A7.** Interações de hidrogênio do AC, com seus respectivos comprimentos e ângulos de ligação [129].

Interação	Comprimento da ligação (Å)	Ângulo da ligação (°)
N1-H...Cl1	3,070 (3)	171
N3-H...O2	2,990 (4)	143
N3-H...Cl1	3,247 (3)	151
O2-H...O4	2,835 (3)	155
O3-H...Cl1	3,153 (3)	163
O4-H...Cl1	3,105 (3)	167

Ao analisar a Tabela A7, fica evidente que as interações que envolvem o átomo de cloro possuem maiores comprimentos de ligação, pois apresentam comprimentos maiores que 3 Å. Isso pode ser justificado pelo fato de o átomo de cloro possuir maior raio de van der Waals (1,75 Å), comparado ao nitrogênio (1,55 Å) e ao oxigênio (1,52 Å) [131].

A adenosina hidrocloreídrica pode potencializar as atuações biológicas da adenosina pela presença do íon cloreto na estrutura desse material. Em estudos de simulação de dinâmica molecular, foi relatado que os íons cloreto interagem com a primeira camada de hidratação do *DNA*, sendo o grupo fosfato a maior região de interação dos íons cloretos [132].

O íon cloreto formam os denominados canais aniônicos, que podem atravessar membranas biológicas apenas com a ajuda de proteínas que atravessam a membrana, que permitem a difusão passiva de  $Cl^-$  ao longo de seu gradiente eletroquímico, ou proteínas transportadoras que acoplam o movimento de  $Cl^-$  ao de outros íons e pode assim estabelecer gradientes eletroquímicos [133–135]. Os canais de cloreto exercem as funções biológicas regulação do volume celular e seletividade a certos solutos orgânicos [136], transporte trans epitelial de eletrólitos e fluidos [137,138], regulação do pH do meio celular como contra íon para  $Na^+$  e  $K^+$ , garantindo a neutralidade do sistema biológico [135]. Assim, a incorporação do ânion cloreto à estrutura cristalina da adenosina pode representar um facilitador quanto à interação biológica desse nucleosídeo.

**REFERÊNCIAS**

- [1] S.R. Byrn, G. Zografi, X. Chen, Vibrational Spectroscopy, in: Solid State Properties of Pharmaceutical Materials, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2017: pp. 159–179. <https://doi.org/10.1002/9781119264408.ch12>.
- [2] N. Sheppard, The Historical Development of Experimental Techniques in Vibrational Spectroscopy, in: J.M. Chalmers (Ed.), Handbook of Vibrational Spectroscopy, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2006: pp. 1–32. <https://doi.org/10.1002/0470027320.s0101>.
- [3] F.J. Hooler, D.A. Skoog, S.R. Crouch, Introdução aos métodos espectrométricos, in: Princípios de Análise Instrumental, 6th ed., Bookman, Porto Alegre, 2009: pp. 146–177.
- [4] N.B. Colthup, L.H. Daly, S.E. Kimberley, Introduction to infrared and Raman spectroscopy, 3rd ed., Academic Press, San Diego, 1990.
- [5] V.K. Pecharsky, P.Y. Zavalij, Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials, 2nd ed., Springer, New York, 2009.
- [6] B.D. Cullitty, R.S. Stock, Elements of X-ray diffraction, 3rd ed., Addison-Wesley Publishing Company Inc., 2001.
- [7] P.J. Haines, F.W. Wilburn, Differential thermal analysis and differential scanning calorimetry, in: Thermal Methods of Analysis, Springer Netherlands, Dordrecht, 1995: pp. 63–122. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3_3).
- [8] R.J. Morris, Lavoisier and the Caloric Theory, The British Journal for the History of Science. 6 (1972) 1–38. <https://doi.org/10.1017/S000708740001195X>.
- [9] M. Ionashiro, Princípios básicos de termogravimetria, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial, 2004.
- [10] E.S. Watson, M.J. O’Neill, Joshua. Justin, Nathaniel. Brenner, A Differential Scanning Calorimeter for Quantitative Differential Thermal Analysis., Anal Chem. 36 (1964) 1233–1238. <https://doi.org/10.1021/ac60213a019>.
- [11] N.H. Morgon, R. Custodio, Teoria do funcional da densidade, Quim Nova. 18 (1995) 44–55.
- [12] P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous Electron Gas, Physical Review. 136 (1964) B864–B871. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>.
- [13] W. Kohn, L.J. Sham, Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects, Physical Review. 140 (1965) A1133–A1138. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.140.A1133>.

- [14] P.R. Griffiths, Introduction to Vibrational Spectroscopy, in: P.R. Griffiths (Ed.), Handbook of Vibrational Spectroscopy, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2006: pp. 1–11. <https://doi.org/10.1002/0470027320.s0102>.
- [15] D. Lin-Vien, N.B. Colthup, W.G. Fateley, J.G. Grasselli, Introduction, in: The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules, Elsevier, 1991: pp. 1–7. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-057116-4.50007-9>.
- [16] J.M. Chalmers, P.R. Griffiths, eds., Handbook of Vibrational Spectroscopy, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2001. <https://doi.org/10.1002/0470027320>.
- [17] K. v. Hackshaw, J.S. Miller, D.P. Aykas, L. Rodriguez-Saona, Vibrational spectroscopy for identification of metabolites in biologic samples, *Molecules*. 25 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25204725>.
- [18] N.J. Crane, E.A. Elster, Vibrational spectroscopy: a tool being developed for the noninvasive monitoring of wound healing, *J Biomed Opt.* 17 (2012) 010902. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.1.010902>.
- [19] S. Pahlow, K. Weber, J. Popp, B.R. Wood, K. Kochan, A. R  ther, D. Perez-Guaita, P. Heraud, N. Stone, A. Dudgeon, B. Gardner, R. Reddy, D. Mayerich, R. Bhargava, Application of Vibrational Spectroscopy and Imaging to Point-of-Care Medicine: A Review, *Appl Spectrosc.* 72 (2018) 52–84. <https://doi.org/10.1177/0003702818791939>.
- [20] O.J. Old, L.M. Fullwood, R. Scott, G.R. Lloyd, L.M. Almond, N.A. Shepherd, N. Stone, H. Barr, C. Kendall, Vibrational spectroscopy for cancer diagnostics, *Analytical Methods*. 6 (2014) 3901–3917. <https://doi.org/10.1039/c3ay42235f>.
- [21] E.G. Bartick, Applications of Vibrational Spectroscopy in Criminal Forensic Analysis, in: P.R. Griffiths (Ed.), Handbook of Vibrational Spectroscopy, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2006. <https://doi.org/10.1002/0470027320.s7003>.
- [22] C.K. Muro, K.C. Doty, J. Bueno, L. Hal  mkov  , I.K. Lednev, Forensic Applications of Vibrational Spectroscopy, in: Forensic Sci, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2016: pp. 5–54. <https://doi.org/10.1002/9783527693535.ch2>.
- [23] A. Olcott Marshall, C.P. Marshall, Vibrational spectroscopy of fossils, *Palaeontology*. 58 (2015) 201–211. <https://doi.org/10.1111/pala.12144>.
- [24] P. Gillet, Applications of Vibrational Spectroscopy to Geology, in: J.M. Chalmers (Ed.), Handbook of Vibrational Spectroscopy, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2006. <https://doi.org/10.1002/0470027320.s7204>.
- [25] D.C. Abreu, P.F.F. Filho, G.S. Pinheiro, P.T.C. Freire, S.G.C. Moreira, A.O. dos Santos, F.F. de Sousa, Polymorphism at hexadecanoic-acid crystals investigated

- through structural and vibrational studies, *Vib Spectrosc.* (2022) 103402.  
<https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2022.103402>.
- [26] A.A. Bunaciu, H.Y. Aboul-Enein, V.D. Hoang, Vibrational spectroscopy used in polymorphic analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 69 (2015) 14–22.  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.006>.
- [27] S.R. Byrn, G. Zografi, X. Chen, Polymorphs, in: *Solid State Properties of Pharmaceutical Materials*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2017: pp. 22–37. <https://doi.org/10.1002/9781119264408.ch2>.
- [28] A. Gavezzotti, A Solid-State Chemist’s View of the Crystal Polymorphism of Organic Compounds, *J Pharm Sci.* 96 (2007) 2232–2241. <https://doi.org/10.1002/jps.20870>.
- [29] Y. Huang, I.S. Butler, Micro-Raman spectra of crystalline uridine at high pressures, *Journal of Raman Spectroscopy.* 21 (1990) 381–383.  
<https://doi.org/10.1002/jrs.1250210610>.
- [30] J. Li, S.A. Lee, D.A. Pinnick, A. Anderson, W. Smith, R.H. Griffey, V. Mohan, R.H. Sarma, Raman and Infrared Studies of Nucleosides at High Pressures : II . Cytidine, *J Biomol Struct Dyn.* 19 (2002) 37–41.  
<https://doi.org/10.1080/07391102.2002.10506814>.
- [31] S.A. Lee, J. Li, A. Anderson, W. Smith, R.H. Griffey, V. Mohan, Temperature-dependent Raman and infrared spectra of nucleosides . II — Cytidine, *Journal of Raman Spectroscopy.* 32 (2001) 795–802.
- [32] G.M. Moura, J.O. Carvalho, M.C.D. Silva, P.F. Façanha Filho, A.O. dos Santos, Structural, vibrational and thermal characterization of phase transformation in l-histidinium bromide monohydrate single crystals, *Mater Chem Phys.* 165 (2015) 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.09.009>.
- [33] C. v. RAMAN, K.S. KRISHNAN, A New Type of Secondary Radiation, *Nature.* 121 (1928) 501–502. <https://doi.org/10.1038/121501c0>.
- [34] C. v. Raman, A new radiation, *Indian J. Phys.* 2 (1928) 387–398.
- [35] The Nobel Prize in Physics 1930., NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach AB 2022. Fri. 24 Jun 2022. <<https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1930/summary/>>, (n.d.).
- [36] A. Smekal, Zur Quantentheorie der Dispersion, *Naturwissenschaften.* 11 (1923) 873–875. <https://doi.org/10.1007/BF01576902>.
- [37] Gr. Landsberg, L. Mandelstam, Uber die Lichtzerstreuung in Kristallen, *Zeitschrift Fur Physik.* 50 (1928) 769–780. <https://doi.org/10.1007/BF01339412>.

- [38] G. Landsberg, L. Mandelstam, Eine neue Erscheinung bei der Lichtzerstreuung in Kristallen, *Naturwissenschaften*. 16 (1928) 557–558.  
<https://doi.org/10.1007/BF01506807>.
- [39] E. Smith, G. Dent, Introduction, Basic Theory and Principles, in: *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Chichester - England, 2019: pp. 1–20.
- [40] B. Schrader, General survey of vibrational spectroscopy, in: B. Schrader (Ed.), *Infrared and Raman Spectroscopy*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, 1990: pp. 7–61. <https://doi.org/10.1002/9783527615438.ch02>.
- [41] J.R. Ferraro, K. Nakamoto, C.W. Brown, Basic Theory, in: *Introductory Raman Spectroscopy*, Elsevier, 2003: pp. 1–94. <https://doi.org/10.1016/B978-012254105-6/50004-4>.
- [42] G. Keresztury, Raman Spectroscopy: Theory, in: J.M. Chalmers (Ed.), *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2006: pp. 1–17. <https://doi.org/10.1002/0470027320.s0109>.
- [43] J.R. Ferraro, K. Nakamoto, C.W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*, 2nd ed., Academic Press, San Diego, 2003.
- [44] E. Smith, G. Dent, The Theory of Raman Spectroscopy, in: *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Chichester - England, 2019: pp. 77–100.
- [45] G. Turrell, The Raman Effect, in: *Raman Microscopy*, Elsevier, 1996: pp. 1–25. <https://doi.org/10.1016/B978-012189690-4/50021-1>.
- [46] E. Smith, G. Dent, Applications, in: *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*, 2nd ed., John Wiley & Sons Ltd, Chichester - England, 2019: pp. 151–198.
- [47] F.L.F. Soares, R.L. Carneiro, Green Synthesis of Ibuprofen–Nicotinamide Cocrystals and In-Line Evaluation by Raman Spectroscopy, *Cryst Growth Des.* 13 (2013) 1510–1517. <https://doi.org/10.1021/cg3017112>.
- [48] M. v Barashkov, A.A. Zazhigin, A.I. Komyak, S.N. Shashkov, Low-frequency vibrational spectra of crystals of Tutton Salts, *J Appl Spectrosc.* 67 (2000) 445–449.
- [49] H. Marzougui, S. Attia-Essaies, D. ben Hassen-Chehimi, Synthesis, thermal, XRD and spectroscopic studies characterization of Tutton salt  $K_2M(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$  ( $M = Mg, Ni$ ), *J Mol Struct.* 1120 (2016) 234–238. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.05.040>.

- [50] D. Steele, Infrared Spectroscopy: Theory, in: J.M. Chalmers (Ed.), Handbook of Vibrational Spectroscopy, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2006: pp. 1–27. <https://doi.org/10.1002/0470027320.s0103>.
- [51] B.H. Stuart, Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2004. <https://doi.org/10.1002/0470011149>.
- [52] B.P. Kafle, Infrared spectroscopy (IR), in: Chemical Analysis and Material Characterization by Spectrophotometry, 1st ed., Elsevier, 2020: pp. 199–243. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814866-2.00007-5>.
- [53] F.J. Hooler, D.A. Skoog, S.R. Crouch, Uma introdução à espectrometria no infravermelho, in: Princípios de Análise Instrumental, 6th ed., Bookman, Porto Alegre, 2009: pp. 444–468.
- [54] R. Mecke, Valenz- und Deformationsschwingungen einfacher Moleküle. I Allgemeine Theorie, Zeitschrift Für Physikalische Chemie. 16B (1932) 409–420. <https://doi.org/10.1515/zpch-1932-1631>.
- [55] R. Mecke, Valenz- und Deformationsschwingungen einfacher Moleküle. II. Dreiatomige Moleküle, Zeitschrift Für Physikalische Chemie. 16B (1932) 421–437. <https://doi.org/10.1515/zpch-1932-1632>.
- [56] R. Mecke, Valenz- und Deformationsschwingungen mehratomiger Moleküle. III Methan, Acetylen, Äthylen und Halogenderivate, Zeitschrift Für Physikalische Chemie. 17B (1932) 1–20. <https://doi.org/10.1515/zpch-1932-1702>.
- [57] M.H. Jamróz, Vibrational Energy Distribution Analysis (VEDA): Scopes and limitations, Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 114 (2013) 220–230. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.05.096>.
- [58] R. Mecke, Experimentelle Ergebnisse und Ziele der Bandenforschung, Zeitschrift Für Elektrochemie. 36 (1930) 589–596. <https://doi.org/doi.org/10.1002/bbpc.19300360905>.
- [59] S.A. Lee, A. Anderson, W. Smith, R.H. Griffey, V. Mohan, Temperature-dependent Raman and infrared spectra of nucleosides . Part I — adenosine, Journal of Raman Spectroscopy. 31 (2000) 891–896.
- [60] A. Clearfield, J. Reibenspies, N. Bruvanesh, Principles and Applications of Powder Diffraction, 1st ed., John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2008.
- [61] C.-H. Hsu, T.-P. Ko, H.-M. Yu, T.-K. Tang, S.-T. Chen, A.H.-J. Wang, Immunological, structural, and preliminary X-ray diffraction characterizations of the fusion core of the SARS-coronavirus spike protein, Biochem Biophys Res Commun. 324 (2004) 761–767. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.09.116>.



- [62] D.W. Kneller, G. Phillips, H.M. O'Neill, R. Jedrzejczak, L. Stols, P. Langan, A. Joachimiak, L. Coates, A. Kovalevsky, Structural plasticity of SARS-CoV-2 3CL Mpro active site cavity revealed by room temperature X-ray crystallography, *Nat Commun.* 11 (2020) 3202. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16954-7>.
- [63] R. Guinebretière, *X-ray Diffraction by Polycrystalline Materials*, 1st ed., ISTE, London, UK, 2007. <https://doi.org/10.1002/9780470612408>.
- [64] R. Eisberg, R. Resnick, Fótons - propriedades corpusculares da radiação, in: *Física Quântica: Átomos, Moléculas, Sólidos, Núcleos e Partículas*, 35th ed., Elsevier, Rio de Janeiro, 1979: pp. 51–86.
- [65] T.M. Buzug, Fundamentals of X-ray Physics, in: *Computed Tomography*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2008. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-39408-2>.
- [66] S.R. Byrn, G. Zografi, X. Chen, Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetric Analysis, in: *Solid State Properties of Pharmaceutical Materials*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2017: pp. 124–141. <https://doi.org/10.1002/9781119264408.ch10>.
- [67] P.J. Haines, Introduction to thermal methods, in: *Thermal Methods of Analysis*, Springer Netherlands, Dordrecht, 1995: pp. 1–21. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3_1).
- [68] R. Bottom, Thermogravimetric Analysis, in: P. Gabbott (Ed.), *Principles and Applications of Thermal Analysis*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, 2008: pp. 87–118. <https://doi.org/10.1002/9780470697702.ch3>.
- [69] P.J. Haines, Thermogravimetry, in: *Thermal Methods of Analysis*, Springer Netherlands, Dordrecht, 1995: pp. 22–62. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1324-3_2).
- [70] P. Gabbott, A Practical Introduction to Differential Scanning Calorimetry, in: *Principles and Applications of Thermal Analysis*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK, n.d.: pp. 1–50. <https://doi.org/10.1002/9780470697702.ch1>.
- [71] S.-D. Clas, C.R. Dalton, B.C. Hancock, Differential scanning calorimetry: applications in drug development, *Pharm Sci Technol Today.* 2 (1999) 311–320. [https://doi.org/10.1016/S1461-5347\(99\)00181-9](https://doi.org/10.1016/S1461-5347(99)00181-9).
- [72] S. Mirza, I. Miroshnyk, J. Rantanen, J. Aaltonen, P. Harjula, E. Kiljunen, J. Heinämäki, J. Yliruusi, Solid-state properties and relationship between anhydrate and monohydrate of baclofen, *J Pharm Sci.* 96 (2007) 2399–2408. <https://doi.org/10.1002/jps.20894>.

- [73] Kieron Burke, *The ABC of DFT*, University of California, Irvine, 2007.
- [74] E.G. Lewars, *Density Functional Calculations*, in: *Computational Chemistry*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2011: pp. 445–519. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-3862-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3862-3_7).
- [75] R.J. Maurer, C. Freysoldt, A.M. Reilly, J.G. Brandenburg, O.T. Hofmann, T. Björkman, S. Lebègue, A. Tkatchenko, *Advances in Density-Functional Calculations for Materials Modeling*, *Annu Rev Mater Res.* 49 (2019) 1–30. <https://doi.org/10.1146/annurev-matsci-070218-010143>.
- [76] W. Kohn, Nobel Lecture: Electronic structure of matter—wave functions and density functionals, *Rev Mod Phys.* 71 (1999) 1253–1266. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.71.1253>.
- [77] L. Rademaker, *A Practical Introduction to Density Functional Theory*, (2020). <https://doi.org/arXiv.2011.09888>.
- [78] K. Capelle, A bird's-eye view of density-functional theory, *Brazilian Journal of Physics.* 36 (2006) 1318–1343. <https://doi.org/10.1590/S0103-97332006000700035>.
- [79] E. Wimmer, *Density Functional Theory for Solids, Surfaces, and Molecules: From Energy Bands to Molecular Bonds*, in: *Density Functional Methods in Chemistry*, Springer New York, New York, NY, 1991: pp. 7–31. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3136-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3136-3_2).
- [80] Wolfram. Koch, M.C. Holthausen, *Elementary Quantum Chemistry*, in: *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Wiley, 2001: pp. 3–18. <https://doi.org/10.1002/3527600043.ch1>.
- [81] M. Born, R. Oppenheimer, *Zur Quantentheorie der Molekeln*, *Ann Phys.* 389 (1927) 457–484. <https://doi.org/10.1002/andp.19273892002>.
- [82] E.G. Lewars, *Ab initio Calculations*, in: *Computational Chemistry*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2011: pp. 175–390. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-3862-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3862-3_5).
- [83] Wolfram. Koch, M.C. Holthausen, *The Electron Density as the Basic Variable: Early Attempts*, in: *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Wiley, 2001: pp. 29–32. <https://doi.org/10.1002/3527600043.ch3>.
- [84] Wolfram. Koch, M.C. Holthausen, *The Hohenberg-Kohn Theorems*, in: *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Wiley, 2001: pp. 33–40. <https://doi.org/10.1002/3527600043.ch4>.

- [85] M. Levy, Electron densities in search of Hamiltonians, *Phys Rev A (Coll Park)*. 26 (1982) 1200–1208. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.26.1200>.
- [86] E.H. Lieb, Density functionals for coulomb systems, *Int J Quantum Chem*. 24 (1983) 243–277. <https://doi.org/10.1002/qua.560240302>.
- [87] Wolfram. Koch, M.C. Holthausen, The Kohn-Sham Approach, in: *A Chemist’s Guide to Density Functional Theory*, Wiley, 2001: pp. 41–64. <https://doi.org/10.1002/3527600043.ch5>.
- [88] Wolfram. Koch, M.C. Holthausen, The Quest for Approximate Exchange-Correlation Functionals, in: *A Chemist’s Guide to Density Functional Theory*, Wiley, 2001: pp. 65–91. <https://doi.org/10.1002/3527600043.ch6>.
- [89] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. V. Systematic optimization of exchange-correlation functionals, *J Chem Phys*. 107 (1997) 8554–8560. <https://doi.org/10.1063/1.475007>.
- [90] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *J Chem Phys*. 98 (1993) 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>.
- [91] J.P. Perdew, Jacob’s ladder of density functional approximations for the exchange-correlation energy, in: *AIP Conf Proc*, AIP, 2001: pp. 1–20. <https://doi.org/10.1063/1.1390175>.
- [92] J.P. Perdew, Climbing the ladder of density functional approximations, *MRS Bull*. 38 (2013) 743–750. <https://doi.org/10.1557/mrs.2013.178>.
- [93] F. Giustino, Density-functional theory, in: *Materials Modelling Using Density Functional Theory: Properties and Predictions*, 1st ed., Oxford University Press, Oxford, 2014: pp. 36–50.
- [94] D.L. Nelson, M.M. Cox, *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, 7th ed., Artmed, Porto Alegre, 2018.
- [95] B.D. Gill, H.E. Indyk, M. Manley-Harris, Determination of total potentially available nucleosides in bovine milk, *Int Dairy J*. 21 (2011) 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.07.004>.
- [96] K.L. Seley-Radtke, M.K. Yates, The evolution of nucleoside analogue antivirals: A review for chemists and non-chemists. Part 1: Early structural modifications to the nucleoside scaffold, *Antiviral Res*. 154 (2018) 66–86. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.04.004>.

- [97] A.L. Giuliani, A.C. Sarti, F. Di Virgilio, Extracellular nucleotides and nucleosides as signalling molecules, *Immunol Lett.* 205 (2019) 16–24.  
<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.11.006>.
- [98] K.N. Jarzemska, K. Ślepokura, R. Kamiński, M.J. Gutmann, P.M. Dominiak, K. Woźniak, Multi-temperature study of potassium uridine-5'-monophosphate: electron density distribution and anharmonic motion modelling, *Acta Crystallogr B Struct Sci Cryst Eng Mater.* 73 (2017) 550–564. <https://doi.org/10.1107/S2052520617005534>.
- [99] J.L. Leach, J.H. Baxter, B.E. Molitor, M.B. Ramstack, M.L. Masor, Total potentially available nucleosides of human milk by stage of lactation, *Am J Clin Nutr.* 61 (1995) 1224–1230. <https://doi.org/10.1093/ajcn/61.6.1224>.
- [100] S. Vincenzetti, S. Pucciarelli, C. Nucci, V. Polzonetti, N. Cammertoni, P. Polidori, Profile of Nucleosides and Nucleotides in Donkey's Milk, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 33 (2014) 656–667. <https://doi.org/10.1080/15257770.2014.914219>.
- [101] H.K. Eltzschig, Adenosine: An old drug newly discovered, *Anesthesiology.* 111 (2009) 904–915. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181b060f2>.
- [102] J. Layland, D. Carrick, M. Lee, K. Oldroyd, C. Berry, Adenosine: Physiology, pharmacology, and clinical applications, *JACC Cardiovasc Interv.* 7 (2014) 581–591. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2014.02.009>.
- [103] S. Masino, M. Kawamura Jr., C. Wasser, L. Pomeroy, D. Ruskin, Adenosine, Ketogenic Diet and Epilepsy: The Emerging Therapeutic Relationship Between Metabolism and Brain Activity, *Curr Neuropharmacol.* 7 (2009) 257–268.  
<https://doi.org/10.2174/157015909789152164>.
- [104] L. Antonioli, C. Blandizzi, P. Pacher, G. Haskó, Immunity, inflammation and cancer: a leading role for adenosine, *Nat Rev Cancer.* 13 (2013) 842–857.  
<https://doi.org/10.1038/nrc3613>.
- [105] R.J. Wurtman, M. Cansev, T. Sakamoto, I.H. Ulus, Nutritional modifiers of aging brain function: Increasing the formation of brain synapses, *Nutr Rev.* 68 (2011) 1–22.  
<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00344.x>.Nutritional.
- [106] D.G. Kondo, Y.H. Sung, T.L. Hellem, K.K. Delmastro, E.K. Jeong, N. Kim, X. Shi, P.F. Renshaw, Open-label uridine for treatment of depressed adolescents with bipolar disorder, *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 21 (2011) 171–175.  
<https://doi.org/10.1089/cap.2010.0054>.
- [107] M. Cansev, Uridine and cytidine in the brain: Their transport and utilization, *Brain Res Rev.* 52 (2006) 389–397. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.05.001>.

- [108] L.E.B. Bettio, J. Gil-Mohapel, A.L.S. Rodrigues, Guanosine and its role in neuropathologies, *Purinergic Signal*. 12 (2016) 411–426.  
<https://doi.org/10.1007/s11302-016-9509-4>.
- [109] A. Camargo, A.P. Dalmagro, A.L.B. Zeni, A.L.S. Rodrigues, Guanosine potentiates the antidepressant-like effect of subthreshold doses of ketamine: Possible role of pro-synaptogenic signaling pathway, *J Affect Disord*. 271 (2020) 100–108.  
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.03.186>.
- [110] A.A. Courtes, N.R. de Carvalho, D.F. Gonçalves, D.D. Hartmann, P.C. da Rosa, F. Dobrachinski, J.L. Franco, D.O.G. de Souza, F.A.A. Soares, Guanosine protects against Ca<sup>2+</sup>-induced mitochondrial dysfunction in rats, *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 111 (2019) 1438–1446.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.01.040>.
- [111] E. De Clercq, The history of antiretrovirals: Key discoveries over the past 25 years, *Rev Med Virol*. 19 (2009) 287–299. <https://doi.org/10.1002/rmv.624>.
- [112] E. De Clercq, Antiviral drug discovery and development: Where chemistry meets with biomedicine, *Antiviral Res*. 67 (2005) 56–75.  
<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.05.001>.
- [113] E. De Clercq, J. Neyts, Antiviral Agents Acting as DNA or RNA Chain Terminators, in: *Handb Exp Pharmacol*, 2009: pp. 53–84. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-79086-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-540-79086-0_3).
- [114] C.H. Waddington, The Epigenotype, *Int J Epidemiol*. 41 (2012) 10–13.  
<https://doi.org/10.1093/ije/dyr184>.
- [115] L.D. Moore, T. Le, G. Fan, DNA Methylation and Its Basic Function, *Neuropsychopharmacology*. 38 (2013) 23–38. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>.
- [116] J. Newell-Price, A.J.L. Clark, P. King, DNA Methylation and Silencing of Gene Expression, *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 11 (2000) 142–148.  
[https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00248-4](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00248-4).
- [117] N.D. Reese, G.J. Schiller, High-Dose Cytarabine (HD araC) in the Treatment of Leukemias: a Review, *Curr Hematol Malig Rep*. 8 (2013) 141–148.  
<https://doi.org/10.1007/s11899-013-0156-3>.
- [118] L. Cappellacci, P. Franchetti, R. Petrelli, S. Riccioni, P. Vita, H.N. Jayaram, M. Grifantini, Purine and Pyrimidine Nucleoside Analogs of 3'-C-Methyladenosine as Antitumor Agents, *Collect Czechoslov Chem Commun*. 71 (2006) 1088–1098.  
<https://doi.org/10.1135/cccc20061088>.

- [119] E. De Clercq, Selective anti-herpesvirus agents, *Antivir Chem Chemother.* 23 (2013) 93–101. <https://doi.org/10.3851/IMP2533>.
- [120] E. De Clercq, Historical Perspectives in the Development of Antiviral Agents Against Poxviruses, *Viruses.* 2 (2010) 1322–1339. <https://doi.org/10.3390/v2061322>.
- [121] H.E. Kaufman, C. Heidelberger, Therapeutic Antiviral Action of 5-Trifluoromethyl-2'-deoxyuridine in Herpes Simplex Keratitis, *Science* (1979). 145 (1964) 585–586. <https://doi.org/10.1126/science.145.3632.585>.
- [122] R.B. Silverman, M.W. Holladay, Lead Discovery and Lead Modification, in: *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Elsevier, 2014: pp. 19–122. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382030-3.00002-7>.
- [123] A.R.L. Dohme, E.H. Cox, E. Miller, THE PREPARATION OF THE ACYL AND ALKYL DERIVATIVES OF RESORCINOL, *J Am Chem Soc.* 48 (1926) 1688–1693. <https://doi.org/10.1021/ja01417a035>.
- [124] D.J. Hunt, E. Subramanian, The crystal structure of 5-methyluridine, *Acta Crystallogr B.* 25 (1969) 2144–2152. <https://doi.org/10.1107/S0567740869005267>.
- [125] L.J.H. Thiesen, N. Cabral, M.J. e Silva, G. Bezerra, B. Doboszewski, Larger laboratory scale synthesis of 5-methyluridine and formal synthesis of its L-enantiomer, *Arkivoc.* 2017 (2017) 249–264. <https://doi.org/10.24820/ark.5550190.p010.101>.
- [126] M. Ishii, H. Shirae, K. Yokozeki, Enzymatic Production of 5-Methyluridine from Purine Nucleosides and Thymine by *Erwinia carotovora* AJ-2992, *Agric Biol Chem.* 53 (1989) 3209–3218. <https://doi.org/10.1080/00021369.1989.10869860>.
- [127] H. An, T. Wang, M.A. Maier, M. Manoharan, B.S. Ross, P.D. Cook, Synthesis of Novel 3'-C-Methylene Thymidine and 5-Methyluridine/Cytidine H-Phosphonates and Phosphoramidites for New Backbone Modification of Oligonucleotides, *J Org Chem.* 66 (2001) 2789–2801. <https://doi.org/10.1021/jo001699u>.
- [128] A. Cravador, Os DNA sintéticos anti-sentido, *Quim Nova.* 21 (1998) 441. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421998000400013>.
- [129] K. Shikata, T. Ueki, T. Mitsui, The Crystal and Molecular Structure of Adenosine Hydrochloride, *Acta Crystallogr B.* 29 (1973) 31–38. <https://doi.org/10.1107/S0567740873001937>.
- [130] T.F. Lai, R.E. Marsh, The crystal structure of adenosine, *Acta Crystallogr B.* 28 (1972) 1982–1989. <https://doi.org/10.1107/s0567740872005394>.
- [131] A. Bondi, van der Waals Volumes and Radii, *J Phys Chem.* 68 (1964) 441–451. <https://doi.org/10.1021/j100785a001>.

- [132] M. Feig, B.M. Pettitt, Sodium and Chlorine Ions as Part of the DNA Solvation Shell, *Biophys J.* 77 (1999) 1769–1781. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77023-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77023-2).
- [133] J. Osei-Owusu, J. Yang, K.H. Leung, Z. Ruan, W. Lü, Y. Krishnan, Z. Qiu, Proton-activated chloride channel PAC regulates endosomal acidification and transferrin receptor-mediated endocytosis, *Cell Rep.* 34 (2021) 108683. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108683>.
- [134] R.E. Hibbs, E. Gouaux, Principles of activation and permeation in an anion-selective Cys-loop receptor, *Nature.* 474 (2011) 54–60. <https://doi.org/10.1038/nature10139>.
- [135] T.J. Jentsch, M. Pusch, CLC Chloride Channels and Transporters: Structure, Function, Physiology, and Disease, *Physiol Rev.* 98 (2018) 1493–1590. <https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2017>.
- [136] Y. Okada, Volume expansion-sensing outward-rectifier Cl<sup>-</sup> channel: fresh start to the molecular identity and volume sensor, *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* 273 (1997) C755–C789. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.3.C755>.
- [137] Y. Okada, K. Sato, A.H. Toychiev, M. Suzuki, A.K. Dutta, H. Inoue, R.Z. Sabirov, *The puzzles of volume-activated anion channels*, Elsevier Inc., 2010. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374373-2.00015-7>.
- [138] H.R. de Jonge, B.C. Tilly, ION TRANSPORT | Chloride Channels, in: *Encyclopedia of Respiratory Medicine*, Elsevier, Weinheim, Germany, 2006: pp. 465–471. <https://doi.org/10.1016/B0-12-370879-6/00201-5>.

## ANEXO A – Artigos publicados

## 1. Physicochemical properties calculated using DFT method and changes of 5-methyluridine hemihydrate crystals at high temperatures.

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 281 (2022) 121594



Contents lists available at ScienceDirect  
**Spectrochimica Acta Part A:**  
**Molecular and Biomolecular Spectroscopy**  
 journal homepage: [www.journals.elsevier.com/spectrochimica-acta-part-a-molecular-and-biomolecular-spectroscopy](http://www.journals.elsevier.com/spectrochimica-acta-part-a-molecular-and-biomolecular-spectroscopy)



## Physicochemical properties calculated using DFT method and changes of 5-methyluridine hemihydrate crystals at high temperatures

Jhonatam O. Carvalho<sup>a,b</sup>, João G. Oliveira Neto<sup>a</sup>, José G. Silva Filho<sup>a</sup>, Francisco F. de Sousa<sup>a,c</sup>, Paulo T.C. Freire<sup>d</sup>, Adenilson O. Santos<sup>a</sup>, Pedro F. Façanha Filho<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, CCSST, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, MA 65900-410, Brazil

<sup>b</sup> Instituto Federal do Maranhão, Campus Açailândia, MA 65930-000, Brazil

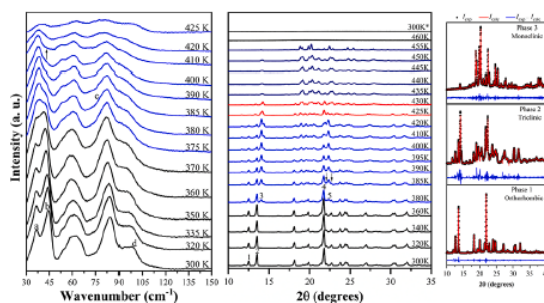
<sup>c</sup> Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém, PA 66075-110, Brazil

<sup>d</sup> Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza, CE 60455-760, Brazil

## HIGHLIGHTS

- 5-methyluridine hemihydrate (5 mU) crystals were obtained by slow evaporation method.
- Properties and vibrational spectra calculated by DFT presented good results in comparison with experimental data.
- 5 mU crystal suffers a change from orthorhombic to triclinic system due to the exit of water from the crystalline structure.
- Anhydrous system undergoes a phase change from triclinic to monoclinic system.

## GRAPHICAL ABSTRACT



## ARTICLE INFO

**Keywords:**  
 Nucleoside  
 5-methyluridine  
 High temperatures  
 Phase change  
 Raman spectroscopy  
 PXRD

## ABSTRACT

5-methyluridine hemihydrate (5 mU) single crystals were synthesized by the slow solvent evaporation method. The physicochemical properties, such as frontier molecular orbitals, global reactivity indices and vibrational were computationally studied through density functional theory (DFT). In addition, structural, vibrational, and thermal properties were obtained by powder X-ray diffraction (PXRD), Raman spectroscopy, thermogravimetric (TG) analysis and differential scanning calorimetry (DSC). PXRD evaluated the structural behavior of 5 mU crystal in the temperature range of 300–460 K. The high-temperature PXRD results suggested that the crystal undergoes two dehydration processes, being a first occurring from the orthorhombic structure ( $P2_12_12$ ) to triclinic ( $P1$ ), in which the water losses occurred around 380 K. A second dehydration triggers the change from the triclinic structure to monoclinic ( $P2_1$ ) within the 420–435 K temperature range. Furthermore, after this temperature, the anhydrous 5 mU suffers a melting process near 460 K, which is remarkably characterized as an irreversible process. Raman spectroscopy was carried out to identify the vibrational modes linked to the water molecule and the noticeable changes in these bands due to high-temperature effects around 380 K and 410 K. Indeed, changes on Raman bands, such as intensity inversion, the disappearance of bands associated with the hydrogen bonds formed from the water molecules and uracil group, and the ribose group were observed. Finally,

\* Corresponding author.

E-mail address: [pedro.facanha@ufma.br](mailto:pedro.facanha@ufma.br) (P.F. Façanha Filho).

<https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121594>

Received 17 March 2022; Received in revised form 13 June 2022; Accepted 1 July 2022

Available online 5 July 2022

1386-1425/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.



## 2. Elucidating L-tyrosine crystal phase transitions by Raman spectroscopy and ab initio calculations.

Journal of Physics and Chemistry of Solids 176 (2023) 111234



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Physics and Chemistry of Solids

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jpcs](http://www.elsevier.com/locate/jpcs)



FLA

### Elucidating L-tyrosine crystal phase transitions by Raman spectroscopy and ab initio calculations

C.A.A.S. Santos<sup>a,b,c,\*</sup>, D.L.M. Vasconcelos<sup>e</sup>, C.E.S. Nogueira<sup>f</sup>, P.T.C. Freire<sup>e</sup>, J.A. Lima Jr.<sup>e</sup>, R.J.C. Lima<sup>a</sup>, A.O. dos Santos<sup>a</sup>, J.O. Carvalho<sup>a,d</sup>, P.F. Façanha Filho<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, MA, 65900-410, Brazil

<sup>b</sup> Centro de Ciências Humanas, Sociais, Tecnológicas e Letras, Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, Açailândia, MA, 65930-000, Brazil

<sup>c</sup> Núcleo de Engenharias, Farmácia e Biomedicina, Faculdade de Imperatriz, Imperatriz, MA, 65914-335, Brazil

<sup>d</sup> Instituto Federal do Maranhão, Açailândia, MA, 65930-000, Brazil

<sup>e</sup> Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 60455-760, Brazil

<sup>f</sup> Departamento de Física, Universidade Regional do Cariri, CEP 63010-970, Juazeiro do Norte, CE, Brazil



#### ARTICLE INFO

##### Keywords:

Raman spectroscopy

Phase transition

High pressure

L-tyrosine

DFT calculations

#### ABSTRACT

We report here the analysis of the vibrational properties of the L-tyrosine crystal by means of Raman spectroscopy, as well as DFT calculations. The structural stability of the sample was also investigated under high pressure. Single crystals were obtained by the slow solvent evaporation technique. X-ray diffraction experiments were performed at ambient pressure and confirmed the crystalline structure. Simulations of tyrosine dimers allowed us to know some lattice modes. Raman spectra were acquired under ambient conditions and confirmed by ab initio calculations. The classification of the Raman modes is presented and as will be shown, the theoretical results agree with the experimental data. In addition, high pressure Raman spectra were measured from ambient pressure up to 5.9 GPa. The pressure-dependent studies showed that this sample undergoes two phase transitions, at approximately 2 GPa and 3.6 GPa. The transition at 2 GPa is characterized by change of bands in the low-wavenumber region of the spectrum and splitting of a mode associated with torsion of NCCC and rocking of NH<sub>3</sub>. In the phase transition at 3.6 GPa, changes in the lattice modes and variation of  $d\omega/dP$  for modes between 300 and 450 cm<sup>-1</sup> are observed. The observed transitions were reversible when the system brought back to ambient pressure. This study is the first on the crystal of the amino acid L-tyrosine subjected to high pressures, allowing the observation and understanding of the structural and vibrational behavior under these conditions, possibly expanding the possibilities of using this material.

#### 1. Introduction

Raman spectroscopy is a relatively simple technique with wide application possibility in organic or inorganic systems [1]. Through this technique it is possible to verify the influence of the variation of parameters such as temperature and pressure on the material under analysis and through its vibrational properties to know the characteristics of each compound [2]. The variation of these thermodynamic parameters in the system tends to promote changes in the identified vibrational modes, whether these changes are abrupt or subtle [3]. In these structures, hydrogen bonds (H-bonds) play an important role in their stability and this technique can detect minute changes in hydrogen

bonds distances [4].

Amino acids are fundamental organic molecules. Proteins, for example, are macromolecules formed from the grouping of specific amino acids. In the constitution of proteins, amino acids are linked through a peptide bond characterized by the interaction of the amino group of one amino acid with the carboxyl group of the other [5]. Each amino acid is composed of an amino group (NH<sub>2</sub>) and a carboxylic group (COOH), bonded to a carbon atom (C $\alpha$ ) that is also bonded to a hydrogen atom (H) and a side chain (R) that will differentiate each amino acid and determine its characteristics [6,7]. While the neutral form of an amino acid is R-H-C (NH<sub>2</sub>) (COOH), in the solid-state amino acids can take the zwitterionic form, represented by R-H-C (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) (COO<sup>-</sup>). Thus, N-H $\cdots$ O

\* Corresponding author. Universidade Federal do Maranhão- Av. da Universidade, S/N. Dom Afonso Felipe Gregory, CEP: 65915-240, Imperatriz, Maranhão, Brazil.

E-mail addresses: [carlos.santos@uemasul.edu.br](mailto:carlos.santos@uemasul.edu.br), [alberto.quimico@yahoo.com.br](mailto:alberto.quimico@yahoo.com.br), [carlos.serra@professores.facimp.edu.br](mailto:carlos.serra@professores.facimp.edu.br) (C.A.A.S. Santos).

<https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2023.111234>

Received 15 October 2022; Received in revised form 6 January 2023; Accepted 16 January 2023

Available online 21 January 2023

0022-3697/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## ANEXO B – Patente depositada

1. Sais de Tutton luminescentes do tipo  $K_2Ni(H_2O)_6(SO_4)_2$  dopados com íons lantanídeos Sm, Dy e Tb para uso em sistemas ópticos emissores de luz visível.



15/08/2020 870200073885  
10-55  
29409161919221980

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2020 011947 8

**Dados do Depositante (71)**

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
 Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica  
 CPF/CNPJ: 06279103000119  
 Nacionalidade: Brasileira  
 Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa  
 Endereço: Cidade Universitária Dom Delgado, Av. dos Portugueses, 1906, Vila Bacanga, São Luis  
 Estado: MA  
 CEP: 65080-805  
 País: Brasil  
 Telefone: (08) 32728710  
 Fax:  
 Email: ageufma.cprp@ufma.br

**Dados do Pedido**

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): SAIS DE TUTTON LUMINESCENTES DO TIPO  $K_2Ni(H_2O)_6(SO_4)_2$  DOPADOS COM ÍONS LANTANÍDEOS (Sm, Dy E Tb) PARA USO EM SISTEMAS ÓPTICOS EMISSORES DE LUZ VISÍVEL

Resumo: A presente invenção trata-se de três cristais da família sais de Tutton do tipo  $K_2Ni(H_2O)_6(SO_4)_2$  dopados com Sm, Tb e Dy, obtidos pelo método de evaporação lenta e que possuem luminescência no espectro visível, nas regiões laranja, vermelho e branco, respectivamente. Os materiais possuem transmitância na região ultravioleta (UV), qualidade óptica, faces definidas e boa estabilidade térmica. As amostras foram sintetizadas por meio do preparo de soluções aquosas com massas equivalentes de sulfato de potássio ( $K_2SO_4$ ) e sulfato de níquel ( $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ ) em 100 mL de água deionizada, sendo homogeneizada por um agitador magnético (35 °C) a 360 RPM. Para a dopagem, os compostos na forma de óxido ( $Sm_2O_3$  e  $Tb_2O_3$ ) foram convertidos para sulfatos, utilizando ácido sulfúrico ( $H_2SO_4 - 2 M$ ). Posteriormente, foram adicionados uma quantidade (em relação à massa de  $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ ) de 1% de  $Sm_2(SO_4)_3$ , 1% de  $Tb_2(SO_4)_3$  e 1% de cloreto de disprósio ( $DyCl_3$ ) às soluções de  $K_2Ni(H_2O)_6(SO_4)_2$ . Em seguida, as três novas soluções foram agitadas por mais 5 horas (360 RPM, 75 °C). Após isto, as 3 soluções precursoras dos sais de Tutton dopados foram levadas a uma estufa (35 °C) para evaporação lenta do solvente e crescimento das fases sólidas. Estes produtos, além de inéditos, apresentam propriedades ópticas e estruturais eficientes, sendo bons candidatos para uso em sistemas ópticos emissores de luz visível, na aquisição de filtros de luz UV para detecção de mísseis, fósforos e dispositivos optoeletrônicos. Vale ressaltar que este material apresenta baixo custo de produção, facilidade na síntese e eficiência nas propriedades ópticas e estruturais, tornando-o competitivo com outros produtos já existentes no mercado.

Figura a publicar: 1

PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 15/08/2020 às 10:55, Petição 870200073885

PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 15/08/2020 às 10:55, Petição 870200073885

Dados do Inventor (72)													
<p><b>Inventor 1 de 8</b></p> <p>Nome: JOÃO GOMES DE OLIVEIRA NETO                      CPF: 06442699386</p> <p>Nacionalidade: Brasileira                      Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação                      Endereço: Imperatriz                      Cidade: Imperatriz                      Estado: MA                      CEP:                      País: BRASIL                      Telefone:                      Fax:                      Email: joaogomes.quimico@gmail.com</p>													
<p><b>Inventor 2 de 8</b></p> <p>Nome: GLEISON LOPES DA SILVA                      CPF: 06089981393</p> <p>Nacionalidade: Brasileira                      Qualificação Física: Físico, químico, meteorologista, geólogo, oceanógrafo e afins                      Endereço: Imperatriz                      Cidade: Imperatriz                      Estado: MA                      CEP:                      País: BRASIL                      Telefone:                      Fax:                      Email: gleisonlopes29@gmail.com</p>													
<p><b>Inventor 3 de 8</b></p>													
<p><b>Inventor 8 de 8</b></p> <p>Nome: JHONATAM DE OLIVEIRA CARVALHO                      CPF: 9786540272</p> <p>Nacionalidade: Brasileira                      Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação                      Endereço: Imperatriz                      Cidade: Imperatriz                      Estado: MA                      CEP:                      País: BRASIL                      Telefone:                      Fax:                      Email: jhonatam.carvalho@ifma.edu.br</p>													
<p><b>Inventor 8 de 8</b></p> <p>Nome: ADENILSON OLIVEIRA DOS SANTOS                      CPF: 01675998957</p> <p>Nacionalidade: Brasileira                      Qualificação Física: Professor do ensino superior                      Endereço: Imperatriz                      Cidade: Imperatriz                      Estado: MA                      CEP:                      País: BRASIL                      Telefone:                      Fax:                      Email: adenilson1@gmail.com</p>													
<p><b>Documentos anexados</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tipo Anexo</th> <th>Nome</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Relatório Descritivo</td> <td>RelatórioDescritivo_.pdf</td> </tr> <tr> <td>Reivindicação</td> <td>Reivindicações.pdf</td> </tr> <tr> <td>Desenho</td> <td>Figura.pdf</td> </tr> <tr> <td>Resumo</td> <td>RESUMO.pdf</td> </tr> <tr> <td>Comprovante de pagamento de GRU 200</td> <td>comprovante de pagamento.pdf</td> </tr> </tbody> </table>		Tipo Anexo	Nome	Relatório Descritivo	RelatórioDescritivo_.pdf	Reivindicação	Reivindicações.pdf	Desenho	Figura.pdf	Resumo	RESUMO.pdf	Comprovante de pagamento de GRU 200	comprovante de pagamento.pdf
Tipo Anexo	Nome												
Relatório Descritivo	RelatórioDescritivo_.pdf												
Reivindicação	Reivindicações.pdf												
Desenho	Figura.pdf												
Resumo	RESUMO.pdf												
Comprovante de pagamento de GRU 200	comprovante de pagamento.pdf												
<p><b>PETICIONAMENTO ELETRÔNICO</b> Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 15/06/2020 às 10:55, Petição 870200073885</p>													
<p><b>PETICIONAMENTO ELETRÔNICO</b> Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 15/06/2020 às 10:55, Petição 870200073885</p>													