

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA

CAROLYNE BRUSTOLIN BRAGA

L-DOPA, L-DOPAQUINONA E DOPAMINA: UMA ANÁLISE CONFORMACIONAL
ATRAVÉS DE CÁLCULOS TEÓRICOS E DAS ESPECTROSCOPIAS DE
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR E NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

PONTA GROSSA
2012

CAROLYNE BRUSTOLIN BRAGA

L-DOPA, L-DOPAQUINONA E DOPAMINA: UMA ANÁLISE CONFORMACIONAL
ATRAVÉS DE CÁLCULOS TEÓRICOS E DAS ESPECTROSCOPIAS DE
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR E NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Dissertação apresentada para a obtenção do
título de Mestre em Química Aplicada no
Programa de Pós-Graduação em Química
Aplicada da Universidade Estadual de Ponta
Grossa.

Orientadora: Profa Dra Barbara Celânia Fiorin

PONTA GROSSA
2012

Ficha Catalográfica Elaborada pelo Setor Tratamento da Informação BICEN/UEPG

B813l Braga, Carolyne Brustolin
 L-dopa, L-dopaquinona e dopamina : uma análise conformacional
 através de cálculos teóricos e das espectroscopias de ressonância
 magnética nuclear e na região do infravermelho / Carolyne Brustolin
 Braga. Ponta Grossa, 2012.
 146f.
 Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade
 Estadual de Ponta Grossa .
 Orientadora : Profª Drª Barbara Celânia Fiorin

 1. Análise conformacional. 2. Cálculos teóricos.
 3. Espectroscopia de RMN. I. Fiorin, Barbara Celânia. II. T.

CDD: 535.84

TERMO DE APROVAÇÃO

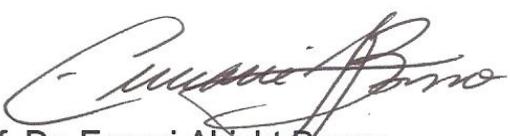
CAROLYNE BRUSTOLIN BRAGA

**"L-DOPA, L-DOPAQUINONA E DOPAMINA: UMA ANÁLISE
CONFORMACIONAL ATRAVÉS DE CÁLCULOS TEÓRICOS E
DAS ESPECTROSCOPIAS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA
NUCLEAR E NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO."**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Orientadora:


Prof. Dra. Barbara Celânia Fiorin
UEPG/PR


Prof. Dr. Ernani Abicht Basso
UEM/PR


Prof. Dr. Adriano Gonçalves Viana
UEPG/PR

Ponta Grossa, 07 de março de 2012.

Dedico esse trabalho à minha querida família,
Pela educação e todo amor que me deram.
Com quem sempre pude compartilhar meus sonhos,
alegrias, tristezas e nunca me abandonaram.

Obrigada
Amo vocês

AGRADECIMENTOS

Palavras não são suficientes para expressar minha gratidão àqueles que me acompanharam nesta jornada, mas de qualquer forma, muitíssimo obrigada...

- ✓ A Deus por ter tão pouco a pedir e tanto a agradecer.
- ✓ Aos meus pais Josélia e Rinaldo, à minha tia Marilis, aos meus avós Mirian e João, e ao meu irmão Felype, pelo amor, educação, compreensão, por sempre estarem comigo e me incentivar, aconselhar e apoiar em todos os momentos da minha vida. Vocês são exemplos em minha vida e foram fundamentais para que eu conseguisse vencer mais essa etapa.
- ✓ À minha professora e orientadora Barbara, pela paciência, atenção, amizade, dedicação e confiança em meu trabalho. Foram quatro anos e meio de uma excelente orientação e valiosos ensinamentos que me fizeram ter paixão pela pesquisa e auxiliaram na concretização de mais uma fase da minha vida. Termino meu mestrado com um exemplo sólido a ser seguido na vida profissional.
- ✓ Ao meu noivo Tiago, pelo amor, companheirismo e encorajamento, principalmente nos momentos difíceis. Foi maravilhoso tê-lo conhecido e é muito importante em minha vida. Sua presença nesses seis anos foi essencial. Te amo.
- ✓ Aos professores Ernani Abicht Basso, Adriano Gonçalves Viana, Josiane Padilha de Paula e Sergio Ricardo de Lazaro por terem aceito o convite de fazer parte da banca examinadora dessa Dissertação.
- ✓ Aos meus amigos do grupo de pesquisa Larissa (Lari), Taíssa (Tai), Marcela, Larissa (Sissa) e Leandro (Porco) que me acompanharam nestes anos com conversas animadas, risadas, viagens, discussões e sugestões na pesquisa. A amizade de vocês será levada pra sempre.
- ✓ Ao Grupo de Pesquisa ECO (UEM), principalmente ao professor Ernani e seu aluno Thiago Rozada, pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório, pela aquisição dos espectros de RMN e pelos ensinamentos na utilização e interpretação de ferramentas que contribuíram para a realização deste trabalho.
- ✓ À Ivânia (UEM) e ao professor Andersson Barison (UFPR), pela aquisição dos espectros de RMN.
- ✓ A CAPES pelo auxílio financeiro, essencial para o desenvolvimento deste Mestrado.
- ✓ A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa.

*“Posso ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes,
mas não esqueço de que
minha vida é a maior empresa do mundo. E que posso evitar que ela vá à falência.
Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os desafios,
incompreensões e períodos de crise.
Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar
um autor da própria história.
É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um oásis no
recôndito da sua alma.
É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.
Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos.
É saber falar de si mesmo.
É ter coragem para ouvir um não. É ter segurança para
receber uma crítica, mesmo que injusta.
Pedras no caminho?
Guardo todas, um dia vou construir um castelo...”*

Fernando Pessoa

RESUMO

Abordamos neste trabalho um estudo conformacional da dopamina, L-dopa e L-dopaquinona, nas suas formas neutras e protonadas, por meio de cálculos teóricos e das espectroscopias de RMN e IV. O que despertou o interesse em avaliar o equilíbrio conformacional desses compostos foi o fato de não existirem relatos na literatura sobre os mesmos com este tipo de nível de teoria, visto que são compostos com grande importância biológica. Os cálculos teóricos foram efetuados com o nível de teoria HF/6-311++G(d,p), disponíveis no pacote de programas GAUSSIAN 03. Por meio deles, determinaram-se as energias e geometrias dos confôrmeros mais estáveis na fase isolada e em solução aquosa. Para alguns compostos, a análise dos efeitos hiperconjugativos por meio dos cálculos de *NBO* também indicou que algumas interações de orbitais presentes estabilizam o sistema. Para a dopamina protonada, através da RMN de ^1H , não foi possível relacionar o efeito do solvente nem da temperatura com possíveis mudanças nas populações dos confôrmeros. No caso das duas formas da L-dopa, o comportamento dos acoplamentos $^3J_{\text{HH}}$ em diferentes solventes e diferentes temperaturas não pôde nos dizer que houve variação de população com a mudança de polaridade do meio. Entretanto, seus valores permitiram afirmar que em solução a forma predominante no equilíbrio é a *trans*, corroborando com os dados teóricos obtidos. Com espectros no Infravermelho na região do fundamental do estiramento da carbonila, para a L-dopa, novamente não pudemos verificar a variação de população no equilíbrio, mas a significativa assimetria e largura destas bandas permitiu verificar que o equilíbrio está composto por vários confôrmeros, como é o caso. Finalmente, fez-se o uso de mapas de potencial eletrostático para demonstrar nos confôrmeros mais estáveis quais as regiões de maior e menor densidade eletrônica.

Palavras-chave: Análise conformacional. Cálculos teóricos. Espectroscopia de RMN.

ABSTRACT

In this study was approached the conformational study of dopamine, L-dopa and L-dopaquinone, in their neutral and protonated forms, by theoretical calculations and NMR and IR spectroscopies. The interest in evaluate the conformational equilibrium of these compounds was obtained by the fact that there are no reports in the literature about them at this level of theory, considering that are compounds with high biological importance. The theoretical calculations were performed at HF/6-311++G(d,p) level of theory, available in the programs package GAUSSIAN 03. These calculations determined the energies and geometries of most stable conformers in the isolated phase and in aqueous solution. For some compounds, the analysis of hyperconjugatives effects by *NBO* calculations also showed that some orbital interactions stabilize the system. For protonated dopamine, by ^1H NMR, it was not possible to associate the solvent or temperature effects with possible changes in populations of conformers. In the case of two forms of L-dopa, the behavior of the couplings constants $^3J_{\text{HH}}$ in different solvents and temperatures could not tell us if there was variation in the populations with change of polarity of the medium. However, their values allowed affirm that the predominant form at equilibrium in solution is the *trans*, in agreement with theoretical data obtained. The carbonyl stretching bands, in IR spectrum, in fundamental region, could not determine the variations in the populational equilibrium, but a significant asymmetry and width of these bands showed that the equilibrium is composed of multiple conformations, such as this case. Finally, electrostatic potential maps were used to demonstrate in the most stable conformers which regions of higher and lower electron density.

Keywords: Conformational analysis. Theoretical calculations. NMR Spectroscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Biossíntese da eumelanina	23
Figura 2	–	Biossíntese da feomelanina	24
Figura 3	–	Biossíntese da dopamina, norepinefrina e epinefrina a partir do aminoácido tirosina	25
Figura 4	–	Interações prováveis da dopamina e resíduos de aminoácidos específicos do receptor dopaminérgico D ₂	26
Figura 5	–	Equilíbrio ácido-base da dopamina	27
Figura 6	–	4-(2-aminoetil)benzeno-1,2-diol (dopamina) nas formas a) neutra e b) protonada	28
Figura 7	–	Ácido (2S)-2-amino-3-(3,4-di-hidroxifenil) propanóico (L-dopa) nas formas a) neutra e b) protonada	29
Figura 8	–	L-dopaquinona nas formas a) neutra e b) protonada	29
Figura 9	–	Superfície de energia potencial em nível B3LYP/6-31g(d,p) de algumas fluoracetofenonas	36
Figura 10	–	Cavidade de solvatação obtida pelo método PCM com raio de cavidade definido para todos os átomos da molécula de CH ₃ NH ₂	37
Figura 11	–	Interações eletrônicas via orbitais: (a) transferência via ligação $\sigma_{C-O} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$ (“Through Bond”), (b) transferência via espaço $n_S \rightarrow \sigma^*_{O-H}$ (“Through Space”)	38
Figura 12	–	Representação tridimensional dos orbitais (σ_{CH} e σ^*_{CH}) da ligação adjacente carbono-hidrogênio nas conformações (a) alternada e (b) eclipsada da molécula de etano	38
Figura 13	–	Mapas de potencial eletrostático dos quatro metabólitos da dipirona. Faixa de cores, em kcal/mol: Vermelho, mais negativo que -50; Amarelo, entre -30 e -40; Verde, entre -25 e 0; Azul, mais positivo que 30	40
Figura 14	–	Acoplamento vicinal via três ligações	42

Figura 15	–	Definição de um ângulo diedro α em (a) perspectiva e (b) diagrama de Newman	42
Figura 16	–	Curva de Karplus: dependência de 3J em função do ângulo diedro α	43
Figura 17	–	Bandas de estiramento da carbonila dos rotâmeros <i>cis</i> e <i>gauche</i> do <i>p</i> -metóxi- α -fluoroacetofenona obtidos experimentalmente na região do fundamental em (a) CCl ₄ , (b) CHCl ₃ e (c) CH ₂ Cl ₂	45
Figura 18	–	Ângulos diedros girados na (a) dopamina, (b) L-dopa e (c) L-dopaquinona	47
Figura 19	–	Superfície de energia potencial obtida com o giro do ângulo diedro C-C-C-N, em nível de teoria HF/6-311g para a dopamina neutra	53
Figura 20	–	(a) Superfície de energia potencial do ângulo diedro C-C-C-N e (b)-(d) respectivos <i>scans</i> do segundo ângulo diedro girado C-C-C-C das estruturas que correspondem aos mínimos de energia do primeiro <i>scan</i> , em nível de teoria HF/6-311g para a dopamina neutra	54
Figura 21	–	Ângulos diedros que determinaram os isômeros da dopamina neutra. Os ângulos Φ_1 e Φ_2 diferenciam confôrmeros <i>trans</i> (<i>t</i>) e <i>gauche</i> (<i>g+</i> e <i>g-</i>), ao passo que Φ_3 e Φ_4 descrevem a orientação dos grupos hidroxila, levando aos expoentes 1a, 1b, 2a e 2b	57
Figura 22	–	Conformações (a) <i>trans</i> , (b) <i>gauche-</i> ou proximal e (c) <i>gauche+</i> ou distal da dopamina neutra	57
Figura 23	–	Projeções de Newman para os oito confôrmeros mais estáveis da dopamina neutra, em fase isolada	58
Figura 24	–	Disposições possíveis dos grupos hidroxilas da dopamina	59
Figura 25	–	Projeções de Newman para os quatro confôrmeros mais estáveis da dopamina, em solução aquosa	64
Figura 26	–	Ângulos diedros que determinaram os isômeros da dopamina protonada. Os ângulos Φ_1 e Φ_2 diferenciam confôrmeros <i>trans</i> (<i>t</i>) e <i>gauche</i> (<i>g+</i> e <i>g-</i>), ao passo que Φ_3 e Φ_4 descrevem a orientação dos grupos hidroxila, levando aos expoentes 1a e 1b	67

Figura 27	–	Projeções de Newman para um confômero representante de cada par de imagens especulares da dopamina protonada, em fase isolada	68
Figura 28	–	Projeções de Newman para um confômero representante de cada par de imagens especulares da dopamina protonada, em solução aquosa	73
Figura 29	–	Acoplamento entre os hidrogênios H_1 e H_2 da dopamina protonada	76
Figura 30	–	Expansões dos acoplamentos $^3J_{H_1H_2}$ da dopamina protonada em (a) CD_3OD , (b) $DMSO-d_6$ e (c) D_2O	77
Figura 31	–	Expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{H_1H_2}$ da dopamina protonada em metanol a (a) $20^\circ C$, (b) $0^\circ C$, (c) $-20^\circ C$, (d) $-40^\circ C$, (e) $-60^\circ C$ e (f) $-80^\circ C$	80
Figura 32	–	Ângulos diedros que determinaram os isômeros da L-dopa. Os ângulos Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 e Φ_4 diferenciam confômeros <i>trans</i> (<i>t</i>) e <i>gauche</i> (<i>g+</i> e <i>g-</i> , em relação aos grupos mais volumosos catecol e carboxílico), ao passo que Φ_5 e Φ_6 descrevem a orientação dos grupos hidroxila, levando aos expoentes 1a, 1b, 2a e 2b	82
Figura 33	–	Representação espacial e respectiva projeção de Newman do confômero mais estável da L-dopa, em fase isolada	83
Figura 34	–	Projeções de Newman para os quatro confômeros mais estáveis da L-dopa, em solução aquosa	87
Figura 35	–	Acoplamento entre os hidrogênios H_a , H_b e H da L-dopa ...	91
Figura 36	–	Expansões dos acoplamentos $^3J_{HaH}$ e $^3J_{HbH}$ da L-dopa em (a) CD_3OD , (b) $DMSO-d_6$ e (c) D_2O	92
Figura 37	–	Expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{HaH}$ e $^3J_{HbH}$ da L-dopa em metanol a (a) $20^\circ C$, (b) $0^\circ C$, (c) $-20^\circ C$, (d) $-40^\circ C$ e (e) $-60^\circ C$	94
Figura 38	–	Banda de absorção do estiramento da carbonila no espectro de IV da L-dopa em (a) CH_3CN e (b) $DMSO$, na região do fundamental	96

Figura 39	–	Ângulos diedros que determinaram os isômeros da L-dopa protonada. Os ângulos Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 e Φ_4 diferenciam confôrmeros <i>trans</i> (<i>t</i>) e <i>gauche</i> (<i>g+</i> e <i>g-</i>) (em relação aos grupos mais volumosos catecol e carboxílico), ao passo que Φ_5 e Φ_6 descrevem a orientação dos grupos hidroxila, levando aos expoentes 1a, 1b, 2a e 2b	98
Figura 40	–	Representação espacial e respectiva projeção de Newman do confôrmero mais estável da L-dopa protonada, em fase isolada	99
Figura 41	–	Representação espacial dos confôrmeros mais estáveis da (a) L-dopa protonada e (b) L-dopa, ambos em fase isolada	100
Figura 42	–	Projeções de Newman para os quatro confôrmeros mais estáveis da L-dopa protonada, em solução aquosa	104
Figura 43	–	Acoplamento entre os hidrogênios H_a , H_b e H da L-dopa protonada	108
Figura 44	–	Expansões dos acoplamentos $^3J_{HaH}$ e $^3J_{HbH}$ da L-dopa protonada em (a) CD_3OD e (c) D_2O	109
Figura 45	–	Expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{HaH}$ e $^3J_{HbH}$ da L-dopa protonada em metanol a (a) $25^\circ C$, (b) $0^\circ C$, (c) $-20^\circ C$, (d) $-40^\circ C$ e (e) $-60^\circ C$	110
Figura 46	–	Ângulos diedros que determinaram os isômeros da L-dopaquinona. Os ângulos Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 e Φ_4 diferenciam confôrmeros <i>trans</i> (<i>t</i>) e <i>gauche</i> (<i>g</i>) (em relação aos grupos mais volumosos: o do anel diênico com duas carbonilas e do carboxílico)	112
Figura 47	–	Representação espacial e respectiva projeção de Newman do confôrmero mais estável da L-dopaquinona, em fase isolada	113
Figura 48	–	Representações espaciais e projeções de Newman para os dois confôrmeros mais estáveis da L-dopaquinona, em solução aquosa	116
Figura 49	–	Ângulos diedros que determinaram os isômeros da L-dopaquinona protonada. Os ângulos Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 e Φ_4 diferenciam confôrmeros <i>trans</i> (<i>t</i>) e <i>gauche</i> (<i>g</i>) (em relação aos grupos mais volumosos: o do anel diênico com duas carbonilas e o carboxílico)	119

Figura 50	–	Representação espacial e respectiva projeção de Newman do confômero mais estável da L-dopaquinona protonada, em fase isolada e em solução aquosa	120
Figura 51	–	Representações espaciais dos confômeros (a) 1 e (b) 2 da L-dopaquinona protonada	121
Figura 52	–	Mapas de potencial eletrostático e respectivas representações espaciais do confômero mais estável envolvido no equilíbrio conformacional da: (a) dopamina em fase isolada e (b) em solução aquosa; (c) dopamina protonada em fase isolada e em solução aquosa; (d) L-dopa em fase isolada e (e) em solução aquosa; (f) L-dopa protonada em fase isolada e em solução aquosa; (g) L-dopaquinona em fase isolada e (h) em solução aquosa; (i) L-dopaquinona protonada em fase isolada e em solução aquosa. Faixa de cores em kcal/mol	123

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Energias, energias relativas e populações para os confôrmers da dopamina, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	56
Tabela 2	– Parâmetros estruturais ^a , energias calculadas (<i>E</i>) e momentos de dipolo (μ) para os cinco confôrmers mais estáveis da dopamina (forma neutra), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C)	60
Tabela 3	– Energias, energias relativas e populações para os confôrmers da dopamina, em solução aquosa, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	63
Tabela 4	– Parâmetros estruturais ^a , energias calculadas (<i>E</i>) e momentos de dipolo (μ) para os quatro confôrmers mais estáveis da dopamina (forma neutra), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p) em solução aquosa (25°C)	65
Tabela 5	– Energias, energias relativas e populações para os confôrmers da dopamina protonada, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	68
Figura 6	– Distâncias interatômicas (em Angstrom – Å) entre o oxigênio de uma hidroxila e hidrogênio de outra envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	69
Tabela 7	– Parâmetros estruturais ^a , energias calculadas (<i>E</i>) e momentos de dipolo (μ) para os quatro confôrmers mais estáveis da dopamina (forma protonada), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C)	70
Tabela 8	– Momentos de dipolo e populações em fase isolada e em solução aquosa dos confôrmers da dopamina protonada, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	72
Tabela 9	– Parâmetros estruturais ^a , energias calculadas (<i>E</i>) e momentos de dipolo (μ) para um representante de cada par de imagens especulares da dopamina (forma protonada), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em solução aquosa (25°C)	74

Tabela 10	–	Populações para um confômero representante de cada par de imagens especulares da dopamina protonada, em solução aquosa ($\epsilon=78,3$), DMSO ($\epsilon=46,7$) e metanol ($\epsilon=32,6$), calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	75
Tabela 11	–	Valores dos ângulos diedros ^a Φ de um confômero ^b representante de cada par de imagem especular envolvidos no equilíbrio conformacional da dopamina protonada, em fase isolada, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	77
Tabela 12	–	Deslocamentos químicos (ppm) e constantes de acoplamento (Hz) experimentais para a dopamina protonada em diferentes solventes	78
Tabela 13	–	Dependência do acoplamento $^3J_{H_1H_2}$ (Hz) e dos deslocamentos químicos (ppm) com a temperatura para a dopamina protonada em metanol	80
Tabela 14	–	Energias, energias relativas e populações para os confômeros da L-dopa, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	82
Tabela 15	–	Principais interações hiperconjugativas (kcal.mol ⁻¹) para os sete confômeros mais estáveis da L-dopa neutra calculadas por NBO, em nível de teoria HF/6-311++G(d,p)	84
Tabela 16	–	Parâmetros estruturais ^a , energia calculada (E) e momento de dipolo (μ) para o confômero mais estável da L-dopa (forma neutra), otimizado em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C)	85
Tabela 17	–	Energias, energias relativas e populações para os confômeros da L-dopa, em solução aquosa, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	86
Tabela 18	–	Parâmetros estruturais ^a , energias calculadas (E) e momentos de dipolo (μ) para os quatro confômeros mais estáveis da L-dopa (forma neutra), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em solução aquosa (25°C)	88
Tabela 19	–	Populações para os confômeros da L-dopa, em solução aquosa ($\epsilon=78,3$), em DMSO ($\epsilon=46,7$) e metanol ($\epsilon=32,6$), calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	90

Tabela 20	-	Valores dos ângulos diedros ^a Φ_1 e Φ_2 dos confômeros ^b envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopa, em solução aquosa, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	91
Tabela 21	-	Deslocamentos químicos (ppm) e constantes de acoplamento (Hz) experimentais para a L-dopa em diferentes solventes	93
Tabela 22	-	Dependência dos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ (Hz) e dos deslocamentos químicos (ppm) com a temperatura para a L-dopa em metanol	95
Tabela 23	-	Frequências teóricas referentes ao estiramento carbonila para os rotâmeros envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopa em solução, calculadas em nível de teoria HF/6-311++G(d,p)	97
Tabela 24	-	Energias, energias relativas e populações para os confômeros da L-dopa protonada, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	99
Tabela 25	-	Principais interações hiperconjugativas (kcal.mol ⁻¹) para os cinco confômeros estáveis da L-dopa protonada calculadas por NBO, em nível de teoria HF/6-311++G(d,p)	101
Tabela 26	-	Parâmetros estruturais, energia calculada (E) e momento de dipolo (μ) para o confômero mais estável da L-dopa (forma protonada), otimizado em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C)	102
Tabela 27	-	Momentos de dipolo e populações em fase isolada e em solução aquosa dos confômeros da L-dopa protonada, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	103
Tabela 28	-	Parâmetros estruturais, energias calculadas (E) e momentos de dipolo (μ) para os dois confômeros mais estáveis da L-dopa (forma protonada), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em solução aquosa (25°C)	105
Tabela 29	-	Populações dos confômeros da L-dopa protonada, em solução aquosa ($\epsilon=78,3$), DMSO ($\epsilon=46,7$) e metanol ($\epsilon=32,6$), calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	107

Tabela 30	–	Valores dos ângulos diedros ^a Φ_1 e Φ_2 dos confômeros ^b envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopa protonada, em solução aquosa, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	108
Tabela 31	–	Deslocamentos químicos (ppm) e constantes de acoplamento (Hz) experimentais para a L-dopa protonada em diferentes solventes	109
Tabela 32	–	Dependência dos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ (Hz) e dos deslocamentos químicos (ppm) com a temperatura para a L-dopa em metanol	111
Tabela 33	–	Energias, energias relativas e populações para os confômeros da L-dopaquinona, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	112
Tabela 34	–	Parâmetros estruturais ^a , energia calculada (E) e momento de dipolo (μ) para o confômero mais estável da L-dopaquinona (forma neutra), otimizado em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C)	114
Tabela 35	–	Energias, energias relativas e populações para os confômeros da L-dopaquinona, em solução aquosa, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	115
Tabela 36	–	Distâncias interatômicas (em Angstrom – Å) entre os átomos envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	117
Tabela 37	–	Parâmetros estruturais ^a , energia calculada (E) e momento de dipolo (μ) para o confômero mais estável da L-dopaquinona (forma neutra), otimizado em nível de teoria HF/6-311G(d,p), em solução aquosa (25°C)	118
Tabela 38	–	Populações para os confômeros da L-dopaquinona protonada, em fase isolada e em solução aquosa, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p)	119
Tabela 39	–	Parâmetros estruturais ^a , energia calculada (E) e momento de dipolo (μ) para o confômero mais estável da L-dopaquinona (forma protonada), otimizado em nível de teoria HF/6-311G(d,p), em fase isolada (25°C)	122

LISTA DE SIGLAS

<i>J</i>	Constante de acoplamento
DA	Dopamina
DA⁺	Dopamina protonada
ZPE	Energia do ponto zero, do inglês “zero-point energy”
HF	Hartree-Fock
IV	Infravermelho
L-dopa⁺	L-dopa protonada
L-dopaquinona⁺	L-dopaquinona protonada
MPE	Mapa de potencial eletrostático
PCM	Método do contínuo polarizável, do inglês “polarized continuum method”
NBO	Orbital natural de ligação, do inglês “Natural Bond Orbital”
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SEP	Superfície de energia potencial
DFT	Teoria do funcional de densidade, do inglês “density funtional theory”
TMS	Tetrametilsilano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	JUSTIFICATIVA	20
1.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
1.2.1	Importância biológica da L-dopa, L-dopaquinona e dopamina	21
1.2.2	Análise conformacional da dopamina, L-dopa e L-dopaquinona	27
1.3	ANÁLISE CONFORMACIONAL	29
1.3.1	Cálculos Teóricos	30
1.3.1.1	Métodos de Estrutura Eletrônica	31
1.3.1.2	Conjunto de Bases	33
1.3.1.3	Superfície de energia potencial e cálculos de otimização e frequência	35
1.3.1.4	Teoria dos Orbitais Naturais de Ligação	37
1.3.1.5	Mapas de Potencial Eletrostático	39
1.3.2	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	41
1.3.2.1	Acoplamento via três ligações ($^3J_{HH}$)	42
1.3.3	Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)	44
2	OBJETIVOS	46
2.1	OBJETIVO GERAL	46
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
3	PARTE EXPERIMENTAL	47
3.1	CÁLCULOS TEÓRICOS	47
3.1.1	Equipamentos, hardware e software	47
3.1.2	Métodos computacionais	47
3.2	OBTENÇÃO E SÍNTESE DOS COMPOSTOS	48
3.2.1	Dopamina protonada e L-dopa neutra	48
3.2.2	Dopamina neutra	48
3.2.3	L-dopa protonada	49
3.2.4	L-dopaquinona	50
3.3	EXPERIMENTOS DE RMN	50
3.3.1	Experimentos a temperatura ambiente	50
3.3.2	Experimentos a baixas temperaturas	51
3.4	EXPERIMENTOS COM IV	51
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1	DOPAMINA (FORMA NEUTRA)	53
4.1.1	Estudo teórico em fase isolada	53

4.1.2	Estudo teórico com solvatação	62
4.2	DOPAMINA (FORMA PROTONADA)	66
4.2.1	Estudo teórico em fase isolada	67
4.2.2	Estudo teórico com solvatação	71
4.2.3	Experimentos de RMN	76
4.2.3.1	Análise do efeito do solvente	76
4.2.3.2	Análise do efeito da temperatura	79
4.3	L-DOPA (FORMA NEUTRA)	81
4.3.1	Estudo teórico em fase isolada	81
4.3.2	Estudo teórico com solvatação	86
4.3.3	Experimentos de RMN	90
4.3.3.1	Análise do efeito do solvente	90
4.3.3.2	Análise do efeito da temperatura	94
4.3.4	Experimento na região do Infravermelho	96
4.4	L-DOPA (FORMA PROTONADA)	98
4.4.1	Estudo teórico em fase isolada	98
4.4.2	Estudo teórico com solvatação	103
4.4.3	Experimentos de RMN	107
4.4.3.1	Análise do efeito do solvente	107
4.4.3.2	Análise do efeito da temperatura	109
4.5	L-DOPAQUINONA (FORMA NEUTRA)	111
4.5.1	Estudo teórico em fase isolada	111
4.5.2	Estudo teórico com solvatação	115
4.6	L-DOPAQUINONA (FORMA PROTONADA)	118
4.6.1	Estudo teórico em fase isolada e em solução aquosa	118
4.7	MAPAS DE POTENCIAL ELETROSTÁTICOS	122
5	CONCLUSÕES	127
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	131

ANEXO A - Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da dopamina protonada em CD_3OD	139
--	------------

ANEXO B- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da dopamina protonada em DMSO-d_6	140
--	------------

ANEXO C- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da dopamina protonada em D_2O	141
---	------------

ANEXO D- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da L-dopa neutra em CD_3OD	142
ANEXO E- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da L-dopa neutra em DMSO-d_6	143
ANEXO F- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da L-dopa neutra em D_2O	144
ANEXO G- Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz da L-dopa protonada em CD_3OD	145
ANEXO H- Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz da L-dopa protonada em D_2O	146

1 INTRODUÇÃO

1.1 JUSTIFICATIVA

A determinação da conformação de um dado composto (substrato) isolado e das interações que ocorrem durante seu encontro com a enzima não é suficiente para descrever o mecanismo de ligação substrato-enzima e, portanto, sua atividade biológica. Contudo, o estudo de sua conformação espacial e de seu comportamento em diferentes solventes justifica-se na medida em que permite mapear separadamente importantes interações que também estão presentes em um sistema biológico, como, por exemplo, as interações eletrostáticas e as hiperconjugativas. Estudar separadamente alguns substratos também permite mapear tendências que poderão ser consideradas quando do estudo das interações substrato-enzima, já que em um sistema biológico as interações que ocorrem não são de natureza diferente das de um sistema isolado, as diferentes interações se somam ao longo do processo, mas certamente as tendências se mantêm. A necessidade deste estudo leva a uma das questões mais fundamentais em química: aprofundar cada vez mais o entendimento da estrutura molecular através da sua geometria e de suas propriedades físico-químicas. (SILVA, 2008).

Deste modo, este trabalho inclui um estudo conformacional de dois compostos presentes na melanogênese (L-dopa e L-dopaquinona), mecanismo de oxidação do aminoácido tirosina à melanina, substância esta responsável pela pigmentação e proteção da pele, assim como do importante neurotransmissor dopamina, cujas estruturas são semelhantes e poderão ser comparadas em função da mudança de um substituinte. Além disso, através da análise conformacional será possível encontrar as geometrias mais estáveis presentes no equilíbrio de tais moléculas, em fase isolada e em solução aquosa, e também avaliar quais fatores encontram-se envolvidos na maior estabilidade dos mesmos, permitindo uma maior compreensão de sua estereoquímica.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 Importância biológica da L-dopa, L-dopaquinona e dopamina

As melaninas são uma diversa classe de biomacromoléculas multifuncionais extremamente difundidas na natureza, presentes em tecidos de diversos organismos, como em animais, plantas, fungos e microorganismos. (BUTLER; DAY, 1998; CHEN et al., 2008; CLANCY; SIMON, 2001; LANGFELDER et al., 2003; RILEY, 1997; WILLIAMSON; WAKAMATSU; ITO, 1998). No corpo humano, pode ser encontrada na pele, cabelo, olhos, cérebro e fígado (BRIDELLI; CRIPPA, 2010; CLANCY; SIMON, 2001), e devido a isto, à ela uma gama de atividades têm sido atribuídas: possui papel fundamental na pigmentação da pele, pêlos e íris (KOKKINO et al., 2004; LIU et al., 2005; WIELGUS; SARNA, 2005); suas propriedades fotoprotetoras e antioxidantes fornecem a organismos vivos uma proteção efetiva contra exposições à radiação ultravioleta (BLARZINO et al., 1999; KOLLIAS et al., 1991; ORTONE, 2002); possui alta afinidade por íons metálicos, sendo sua ligação com os mesmos (quelação) uma das suas principais funções biológicas (HONG; SIMON, 2007; KOKKINO et al., 2004); são de grande interesse às indústrias de cosméticos e alimentícias e usadas na medicina e farmacologia, entre outros, como antioxidantes (HUNG et al., 2002; KALKA et al., 2000; MOHORCIC et al., 2007) e atua em áreas de intensa atividade nervosa, como por exemplo, no cérebro. (DOUBLE, 2006; SAPER; PETITO, 1982).

A melanina é produzida por um processo bioquímico conhecido como melanogênese, sendo os responsáveis por sua produção os melanócitos, células da pele especializadas cuja origem embrionária se dá na crista neural. A síntese da melanina ocorre em organelas intracelulares especializadas denominadas melanossomos, os quais contêm enzimas específicas necessárias à produção deste pigmento. Entre elas, as mais bem caracterizadas são a tirosinase, a proteína relacionada à tirosinase (Typr1) e a dopacromo tautomerase (Typr2). (ITO, 2003; ITO; WAKAMATSU, 2008; SÁNCHEZ-FERRER et al., 1995; UYEN; NGUYEN; KIM, 2008).

A quantidade e o tipo de melanina formados nos melanócitos são geneticamente determinados, mas podem ser influenciados por fatores hormonais e ambientais, incluindo inflamações, sexo, idade e, notavelmente, a exposição à

radiação ultravioleta, responsável pelo bronzeamento da pele. (UYEN; NGUYEN; KIM, 2008).

Distúrbios na quantidade e distribuição da melanina podem causar uma série de doenças relacionadas à hipopigmentação ou à hiperpigmentação. O acúmulo anormal de melanina é responsável por diversos processos de hiperpigmentação como melasma, sardas e melanomas malignos, além de representar, para a espécie humana, um sério problema estético. (SILVEIRA, 2007; UYEN; NGUYEN; KIM, 2008). Já a hipopigmentação está relacionada a uma baixa produção de melanina, causada por uma série de efeitos biológicos, e também acarreta em doenças bastante conhecidas, tais como vitiligo e albinismo. (SOLANO et al., 2006).

Nos mamíferos, dois principais tipos de melaninas são produzidos: as eumelaninas e as feomelaninas. As eumelaninas são polímeros de alto peso molecular com complexa estrutura química que possuem coloração marrom à preta. As feomelaninas possuem estrutura química semelhante às eumelaninas e sua coloração vai do amarelo ao marrom-avermelhado. (ITO; WAKAMATSU, 2008). Um terceiro tipo de melanina encontrada em humanos, a neuromelanina (a qual está relacionada com a eumelanina), é produzida na substância negra do cérebro. Seu papel no sistema nervoso central ainda não foi totalmente estabelecido, mas existe uma clara relação entre a perda seletiva destes neurônios pigmentados e o começo da doença de Parkinson. Existe uma especulação de que as propriedades elétricas da melanina podem ser importantes neste papel. (SAPER; PETITO, 1982; WATT; BOTHMA; MEREDITH, 2005).

Tanto a eumelanina quanto a feomelanina são derivadas de uma precursora comum, a L-dopaquinona. Na presença de oxigênio, a tirosina hidroxilase catalisa a hidroxilação do aminoácido L-tirosina formando a L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-dopa), que é por sua vez oxidada a L-dopaquinona. Como esta última é um composto altamente reativo, assim que é formada converte-se em um composto vermelho denominado dopacromo, o qual é espontaneamente descarboxilado resultando em dois compostos indólicos: o 5,6-dihidroxiindol e o ácido-5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico, que se oxidam a quinona correspondente. Por fim, a polimerização desta última produz o biopolímero eumelanina (Figura 1).

Com relação à produção de feomelanina (Figura 2), na presença de cisteína, a L-dopaquinona rapidamente reage com a cisteína gerando principalmente 5-S-cisteinildopa e, em menor quantidade, 2-S-cisteinildopa. Estas cisteinildopas são,

então, oxidadas levando à formação de intermediários benzenotiazinas e, finalmente, produzindo a feomelanina. (ITO, 2003; ITO; WAKAMATSU, 2008; MASON, 1948).

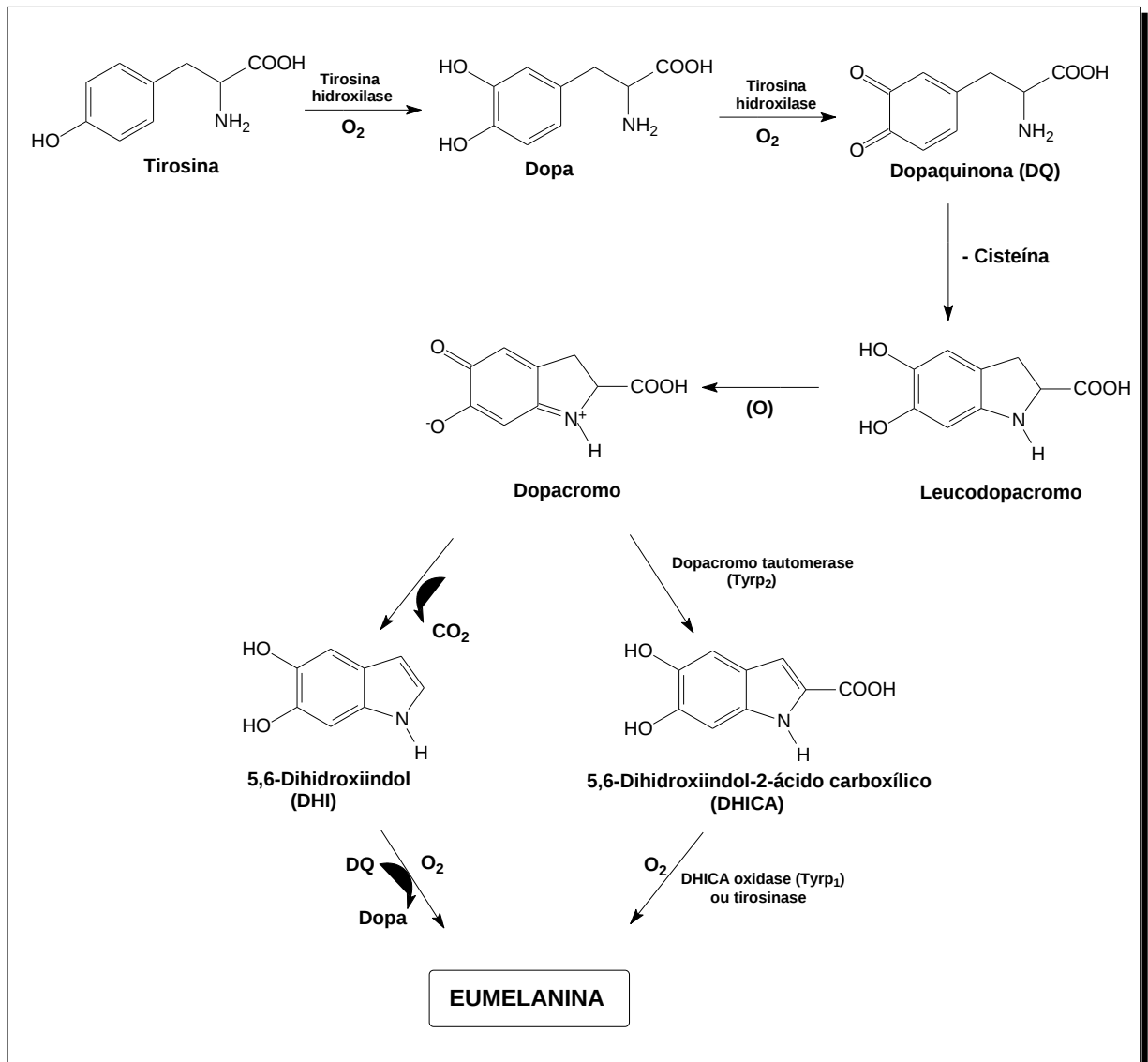


Figura 1- Biossíntese da eumelanina.

Fonte: Adaptado de ITO; WAKAMATSU, 2008.

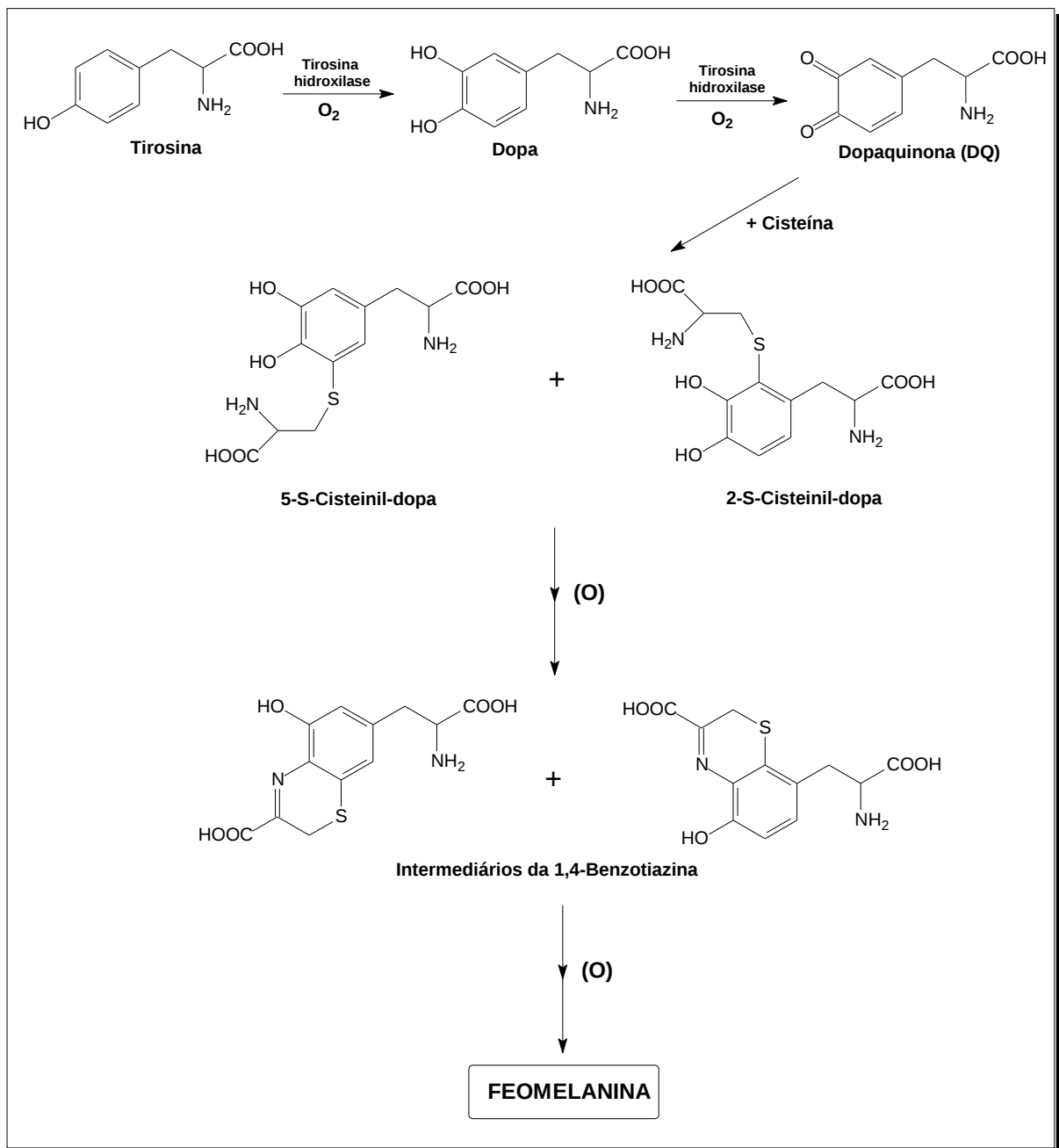


Figura 2- Biossíntese da feomelanina.

Fonte: Adaptado de ITO; WAKAMATSU, 2008.

O aminoácido L-dopa faz parte da família das catecolaminas e, além de estar envolvido na formação da melanina, é um precursor essencial do neurotransmissor dopamina, e dos hormônios adrenalina (epinefrina) e noradrenalina (norepinefrina) (Figura 3).

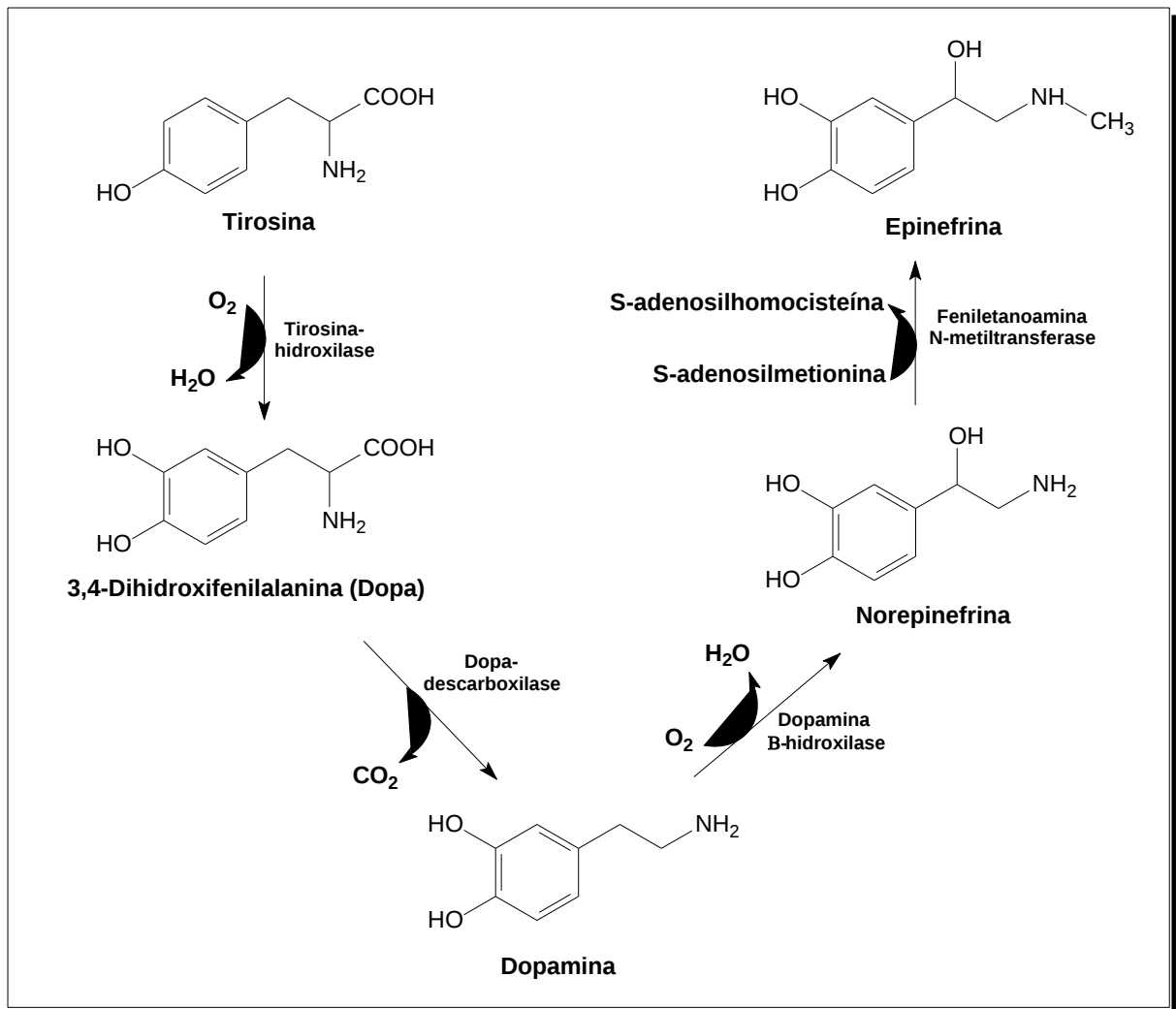


Figura 3- Biossíntese da dopamina, norepinefrina e epinefrina a partir do aminoácido tirosina.
 Fonte: Adaptado de NELSON; COX, 2002.

Isolada em 1913 de mudas de *Vicia faba*, por Marcus Guggenheim, foi inicialmente declarada biologicamente inativa. Porém, desde os anos 60, a L-dopa tem despertado muita atenção devido à sua ação preventiva contra a doença de Parkinson, caracterizada pela deficiência na síntese do neurotransmissor dopamina nas células nervosas. Como a mesma é uma precursora da dopamina, sendo descarboxilada a este neurotransmissor quando entra nas células nervosas, foi provado que sua administração produz um acentuado aumento na concentração de dopamina no cérebro, o que foi um grande avanço no tratamento da doença. (SOARES, 2006). Não se pode administrar dopamina diretamente, pois esta não consegue ultrapassar a barreira hemato-encefálica; já a L-dopa consegue. (NAGATSU; SAWADA, 2009; SIDDIQUI et al., 2010).

Doença de Parkinson, a segunda mais comum doença neurodegenerativa, é caracterizada por bradicinésia (lentidão do movimento), tremores, rigidez muscular e

instabilidade postural. Ela afeta principalmente os neurônios catecolaminérgicos na substância negra do cérebro, e está ligada tanto a fatores genéticos quanto ambientais, envolvendo estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e agregação de proteína, entre outros (ASANUMA; MIYAZAKI; OGAWA, 2003; SABENS; DISTLER; MIEYAL, 2010).

Uma superprodução de dopamina no cérebro pode estar associada a distúrbios neurológicos, como a esquizofrenia. Embora a etiologia desta doença ainda não seja completamente conhecida, hoje a doença é considerada consequência de diversos distúrbios do sistema nervoso central. A hipótese de sua relação com uma superprodução de dopamina é uma das várias que têm sido propostas na tentativa de melhor compreender a fisiopatologia da doença. (MENEGATTI et al., 2004; WONG; TOL, 2003).

Reconhecendo-se que a dopamina é o agonista endógeno dos cinco subtipos de receptores dopaminérgicos conhecidos D₁, D₂, D₃, D₄ e D₅, pode-se admitir que a afinidade e o reconhecimento molecular pelos diversos subtipos de receptores sejam reflexos de sua flexibilidade conformacional. Em um estudo onde foi efetuado o ancoramento da dopamina a um modelo de receptor D₂, foi observado que o átomo de nitrogênio catiônico da dopamina atua como contra-íon do resíduo de aspartato-114, localizado na terceira região transmembrânica, a uma distância de 3,04 Å. Adicionalmente, foi observado que a meta-hidroxila catecólica faz ligação de hidrogênio com a serina-194 a uma distância de 2,55 Å. Ocorre ainda uma terceira interação do anel aromático da dopamina com o resíduo de triptofano-160, distante 8,52 Å (Figura 4). (WILCOX et al, 1998, apud MENEGATTI et al., 2004).

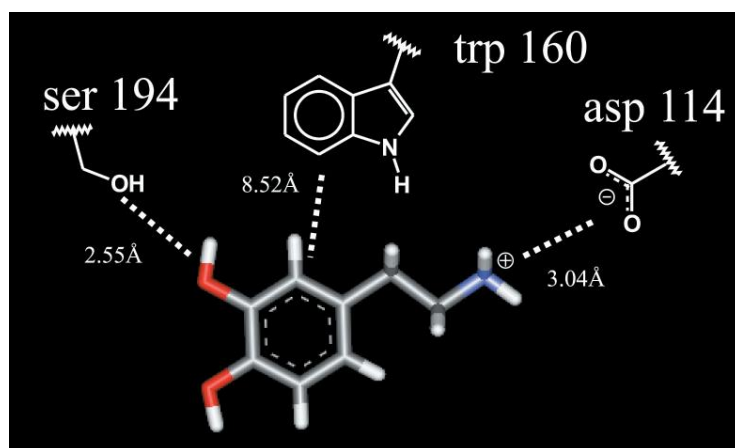


Figura 4- Interações prováveis da dopamina e resíduos de aminoácidos específicos do receptor dopaminérgico D₂.

Fonte: Adaptado de WILCOX et al, 1998 apud MENEGATTI et al., 2004.

Como a atividade biológica de uma molécula é dependente de uma única conformação dentre todas as conformações de baixa energia, a pesquisa pela assim denominada conformação bioativa é um dos objetivos principais em química medicinal. Somente a conformação bioativa pode se ligar em um ambiente macromolecular específico no sítio ativo do receptor protéico, sendo de primordial importância aprofundar cada vez mais o entendimento da estrutura molecular através da sua geometria e de suas propriedades físico-químicas. (HÖLTJE, 2003).

1.2.2 Análise conformacional da dopamina, L-dopa e L-dopaquinona

De acordo com a literatura, como a dopamina possui um grupo amina e duas hidroxilas fenólicas, em pH fisiológico ela apresenta um equilíbrio ácido-base, nas quais as formas zwitteriônica e catiônica (protonada), além da molécula neutra, estão presentes (Figura 5). (FAUSTO; RIBEIRO; LIMA, 1999; GANELLIN, 1977). Em solução de pH 7,4, o qual corresponde ao sangue humano, a dopamina protonada foi encontrada ser, de longe, a forma mais populosa (95%), enquanto as populações das espécies zwitteriônica e neutra foram somente 3% e 2%, respectivamente. As formas aniônicas são significantes somente em pHs maiores do que 11 e não realizam um papel relevante dentro do processo bioquímico. (FAUSTO; RIBEIRO; LIMA, 1999; GRANOT, 1976).

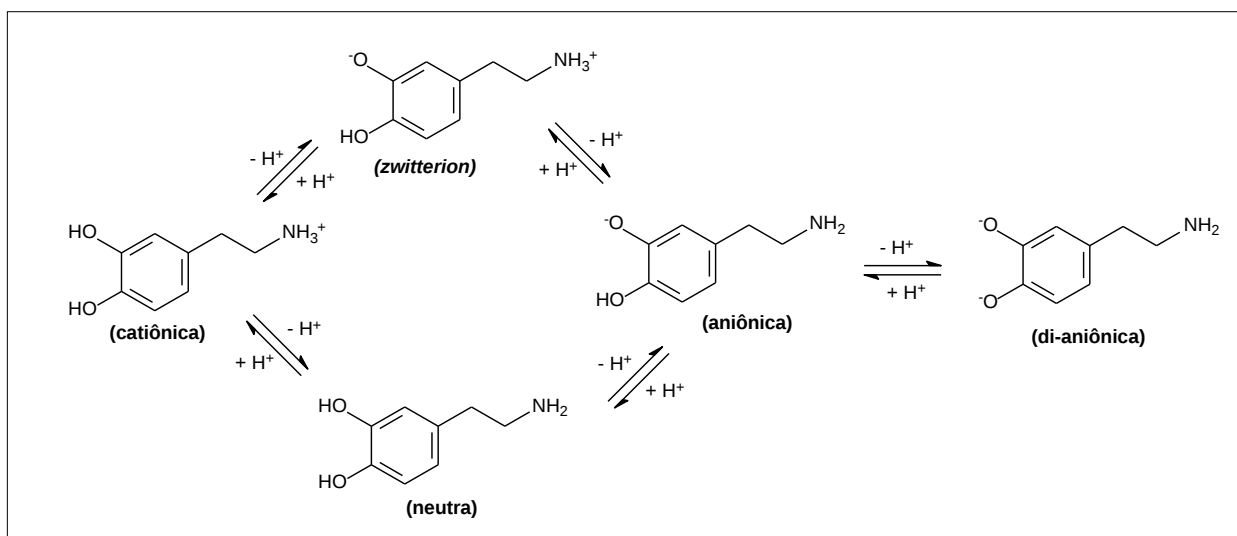


Figura 5- Equilíbrio ácido-base da dopamina.
Fonte: Adaptado de FAUSTO; RIBEIRO; LIMA, 1999.

Fausto; Ribeiro e Lima (1999) estudaram o equilíbrio conformacional da dopamina nas formas neutra, zwitteriônica e protonada, utilizando cálculos *ab initio* (HF/3-21g) e semi-empíricos (PM3). Estudos semelhantes também foram realizados e, em todos eles, foi constatado que devido ao alto grau de flexibilidade conformacional desta molécula, a mesma existe como uma mistura de vários confôrmeros com energias muito próximas, tanto em fase isolada quanto em solução. (ALISTE; CASSELS, 2001; NAGY; ALAGONA; GHIO, 1999; URBAN; CRAMER; FAMINI, 1992).

Para a L-dopa apenas um estudo conformacional através da técnica de difração de raios-X foi encontrado, no qual foi relatada a provável conformação preferida, na forma zwitteriônica, em que sua estrutura cristalina é caracterizada por uma rede tridimensional de ligações de hidrogênio onde todos os oxigênios, o nitrogênio e todos os hidrogênios do grupo NH_3^+ participam (BECKER, THATHACHARI; SIMPSON, 1971). Já para a L-dopaquinona não foi encontrado na literatura nenhum estudo conformacional.

Como a dopamina é um importante neurotransmissor, e a L-dopa e L-dopaquinona são intermediários fundamentais da melanogênese, o presente trabalho visa realizar uma análise conformacional da dopamina (Figura 6), L-dopa (Figura 7) e L-dopaquinona (Figura 8), nas suas formas neutras e protonadas, a fim de conhecer suas conformações mais estáveis e os efeitos que garantem às mesmas a maior estabilidade. Para isso faremos uso de cálculos teóricos, bem como a utilização das espectroscopias de ressonância magnética nuclear (RMN) e na região do Infravermelho (IV), os quais serão descritos a seguir.

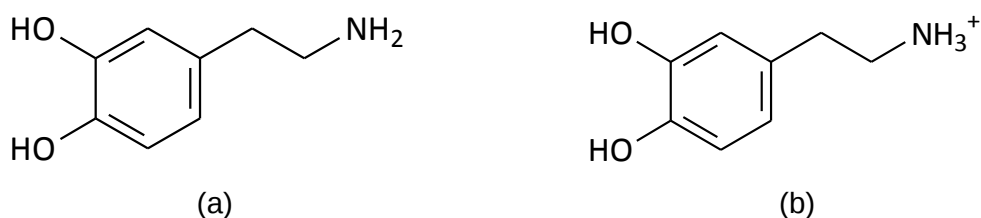


Figura 6- 4-(2-aminoetil)benzeno-1,2-diol (dopamina) nas formas a) neutra e b) protonada.
Fonte: A autora.

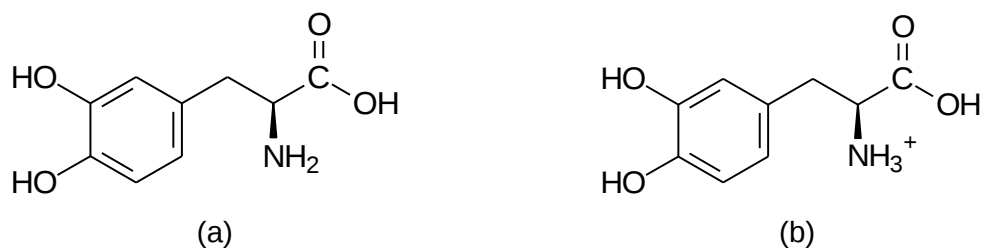


Figura 7- Ácido (2S)-2-amino-3-(3,4-di-hidroxifenil) propanóico (L-dopa) nas formas a) neutra e b) protonada.

Fonte: A autora.

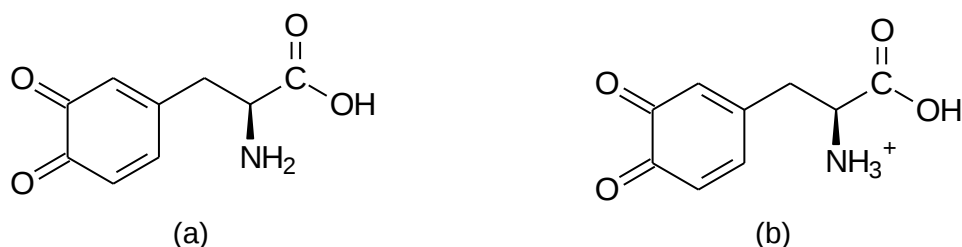


Figura 8- L-dopaquinona nas formas a) neutra e b) protonada.

Fonte: A autora.

1.3 ANÁLISE CONFORMACIONAL

A palavra conformação se refere a arranjos moleculares (confôrmeros ou formas) que diferem nas posições rotacionais de grupos ligados a um par de átomos unidos através de uma ligação simples. Em vista disso, para que uma molécula apresente isomerismo conformacional, o ângulo diedro entre esses grupos deve variar. Conformações, em geral, possuem um tempo de vida curto a temperatura ambiente, devido à pequena barreira de energia que as separam, portanto, não podem ser isoladas. (ELIEL; WILEN; MANDER, 1994, apud FIORIN, 2006).

Os princípios nos quais a análise do equilíbrio conformacional está baseada foram desenvolvidos dentro de uma estrutura da mecânica clássica. Uma molécula assume uma forma com uma mínima energia possível a partir das rotações em torno das ligações simples e dos ajustes dos ângulos e comprimentos de ligação. Como ângulos e comprimentos de ligação variam relativamente pouco de molécula para molécula, a forma molecular é primeiramente determinada pelos processos rotacionais. Portanto, a energia total de uma molécula está diretamente relacionada à sua forma. Vários componentes da energia total podem ser identificados e, até certo ponto, atribuídos a características estruturais específicas. Entre os fatores que

contribuem para a energia total e possuem uma conexão reconhecida com a estrutura molecular estão repulsões dos pares não-ligantes, tensão do anel em sistemas cíclicos, tensão torsional advinda do emparelhamento de ligações e a desestabilização resultante da distorção de comprimentos de ligação ou de ângulos de ligação dos valores ideais. Por outro lado, há interações estabilizantes que possuem restrições geométricas. Muitas destas podem ser classificadas como *efeitos estereoeletrônicos*. O termo *efeito estereoeletrônico* é usado para incluir relações entre estrutura, conformação, energia e reatividade que podem ser investigadas pelas interações de orbitais que dependem da geometria; isto é, uma relação geométrica particular é necessária para maximizar a interação estabilizante. Além do que, há outras interações, tais como formação de ligação de hidrogênio e interações dipolo-dipolo para as quais a força da interação depende fortemente da geometria da molécula. (SMITH; MARCH, 2001, apud SILVA, 2008).

Estudos sobre equilíbrios conformacionais são hoje rotineiramente usados para prever as estruturas e propriedades moleculares. São várias as ferramentas que podem ser utilizadas para a análise conformacional, e normalmente são selecionadas de acordo com os compostos objetos de estudo e do tipo de investigação a ser realizada. Por exemplo, como a energia de uma molécula depende de sua geometria, pequenas mudanças na estrutura podem acarretar grandes mudanças na energia total da molécula. Por isso, conhecer as geometrias envolvidas no equilíbrio conformacional é muito importante para estudos computacionais. (THOMAS, 1974).

A seguir apresentamos uma breve descrição sobre a metodologia utilizada.

1.3.1 Cálculos Teóricos

De modo geral, são cálculos realizados com softwares próprios para avaliar as estruturas tridimensionais das moléculas. Estão entre as ferramentas que vêm sendo muito empregadas nos estudos de equilíbrios conformacionais.

A química computacional simula numericamente estruturas e reações químicas baseando-se completa ou parcialmente nas leis fundamentais da física. Isso permite aos químicos estudar fenômenos químicos através de cálculos computacionais ao invés de examinar reações e compostos experimentalmente.

Alguns métodos podem ser usados para modelar não apenas moléculas estáveis, mas também intermediários instáveis ou mesmo estados de transição. Neste sentido, eles podem fornecer informações sobre moléculas e reações que seriam impossíveis de se obter através de observações experimentais. (CRAMER, 2002 apud FIORIN, 2006; FORESMAN; FRISCH, 1996).

Atualmente, existem diversos programas com este propósito, mas nem todos os métodos representam um quadro final e completo dos compostos em estudo. (SILVA, 2008).

Mesmo levando em conta suas limitações, a utilização da química computacional tem se tornado cada vez mais difundida entre químicos de todas as áreas. Fatores como redução de custos com o avanço dos computadores, melhora no nível de confiança dos métodos propostos, possibilidade de trabalhar com hipóteses ainda não disponíveis experimentalmente, grande coerência entre dados obtidos experimentalmente e resultados de cálculos e desenvolvimento da química teórica e de programas computacionais de fácil utilização, são atrativos para o emprego desta ferramenta. (SILVA, 2008).

Existem duas grandes áreas dentro da química computacional dedicadas ao estudo de estruturas moleculares e reatividades, são elas a Mecânica Molecular e a Teoria da Estrutura Eletrônica. Por qualquer uma das abordagens é possível realizar alguns tipos de cálculos como: (i) cálculo da energia de estruturas moleculares e propriedades relacionadas com a energia; (ii) realizar otimização de geometria; (iii) calcular frequências vibracionais; (iv) calcular a geometria de um estado de transição; (v) calcular o caminho de menor energia para uma reação química e (vi) propriedades termoquímicas. (FORESMAN; FRISCH, 1996).

Nesse trabalho daremos ênfase a Teoria da Estrutura Eletrônica, pois o método da Mecânica Molecular apresenta várias limitações e despreza efeitos eletrônicos não conseguindo tratar problemas químicos onde tais efeitos predominam.

1.3.1.1 Métodos de Estrutura Eletrônica

A expressão “estrutura eletrônica” é utilizada para uma extensa classe de métodos que tratam explicitamente do comportamento de elétrons e núcleos nas espécies químicas. (FORESMAN; FRISCH, 1996).

Os métodos de estrutura eletrônica empregam as leis da mecânica quântica para descrever as propriedades físico-químicas mais variadas das moléculas, utilizando para tanto uma descrição criteriosa sobre os elétrons de uma molécula, sua interação e seus efeitos nas ligações químicas e na construção de orbitais moleculares. Os cálculos de estrutura eletrônica subdividem-se em três categorias: *ab initio*, semi-empíricos e métodos híbridos baseados na Teoria do Funcional de Densidade. (FORESMAN; FRISCH, 1996).

A descrição dos sistemas microscópicos segue os princípios da física quântica, cujo desenvolvimento deu-se no primeiro terço do século passado com contribuições de diversos cientistas, dentre eles, Planck, Einstein, Dirac, Heisenberg, Schrödinger, Bohr e Born. Na equação da mecânica (1), chamada de Schrödinger, um sistema físico é descrito pela seguinte equação de movimento:

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

na qual $\hat{H}$ representa o operador Hamiltoniano, Ψ é a função de onda, dependente das coordenadas eletrônicas (r) e nucleares (R), e E representa a energia do sistema. A função de onda Ψ é uma função dos elétrons em relação ao núcleo. Como o próprio nome diz, ela descreve o elétron como uma onda, sendo uma descrição probabilística do comportamento do mesmo. Resolver essa equação significa encontrar as funções de onda Ψ que a satisfazem e os seus autovalores E de energia. (CRAMER, 2002, apud FIORIN, 2006; ATKINS, 1999).

Os métodos semi-empíricos usam parâmetros derivados de dados experimentais para simplificar os cálculos. Tais parâmetros são adicionados para corrigir certas informações que são aproximadas ou completamente omitidas. Este método é mais aplicado a moléculas que possuem um tamanho considerável, devido ao ganho em tempo de cálculo. A vantagem dos cálculos semi-empíricos é que são muito mais rápidos quando comparados aos cálculos *ab initio*, porém seus resultados podem não ser exatos e algumas propriedades podem ser preditas erroneamente. (CRAMER, 2002, apud FIORIN, 2006).

No caso de moléculas simples, os cálculos *ab initio* e, mais recentemente da Teoria do Funcional de Densidade (DFT, do inglês *density functional theory*) são os que têm sido mais utilizados e, ao contrário dos métodos da mecânica molecular ou semi-empíricos, não usam parâmetros experimentais em seu cálculo. Ao invés disso, seus cálculos são baseados nas leis da mecânica quântica e em algumas

constantes físicas como: velocidade da luz, massa e carga do elétron e constante de Planck. (FORESMAN; FRISCH, 1996).

Dentre os métodos *ab initio*, o tipo mais comum é o Hartree-Fock (HF), pois produz um modelo razoável para um grande número de sistemas moleculares. Porém, a teoria HF tem suas limitações, pelo fato da mesma não incluir o efeito de correlação eletrônica, ou seja, não leva em consideração as interações individuais entre os elétrons, pois os mesmos interagem entre si e tendem a permanecerem afastados. (FORESMAN; FRISCH, 1996; YOUNG, 2000).

Um método *ab initio* alternativo, assim denominado por David Young, por ser parecido em alguns aspectos com os *ab initio*, e que vem sendo amplamente empregado é o método da teoria do funcional de densidade (DFT), no qual a energia total é expressa em termos de função de onda da densidade eletrônica total (YOUNG, 2001). Ele requer praticamente os mesmos recursos computacionais da teoria HF, o método *ab initio* computacionalmente mais barato. (FORESMAN; FRISCH, 1996).

Métodos DFT são atrativos porque incluem os efeitos de correlação eletrônica em seus modelos. Por isso, estes métodos podem trazer os benefícios de alguns dos métodos *ab initio* computacionalmente mais caros com o custo de um HF. (FORESMAN; FRISCH, 1996; SILVA, 2008).

Recentemente, Becke percebeu que haveria vantagens em mesclar os métodos de Hartree-Fock e DFT, o que deu origem aos métodos híbridos. (BECKE, 1993). O mais empregado deles nos dias de hoje é conhecido como B3LYP, sigla que identifica o uso do funcional de troca-correlação de Becke no qual está incluído o funcional de correlação desenvolvido por Lee, Yang e Parr. (LEE; YANG; PARR, 1988). O número três vem do uso de três parâmetros empíricos. Por utilizar esses parâmetros empíricos, é comum não classificar o método B3LYP como *ab initio*. Este método necessita de menos recursos computacionais e, portanto, conjuntos de bases mais sofisticados podem ser utilizados. (PONTES, 2006).

1.3.1.2 Conjunto de Bases

É a partir das funções atômicas que são construídos os orbitais moleculares e, sendo assim, a escolha correta do conjunto de funções de base é essencial para o resultado final, seja em termos de precisão, seja em termos de rapidez. Junto com

o método emprega-se o conjunto de funções de base, desta maneira definimos um nível de teoria (método + funções de bases), ou seja, um conjunto completo de informações para a execução de um cálculo. Estas funções são utilizadas para descrever os orbitais moleculares, os quais são formados com uma combinação linear dos orbitais atômicos:

$$\psi_i = \sum_{\mu=1}^N c_{\mu i} \phi_{\mu} \quad (2)$$

onde ψ_i representa o i -ésimo orbital molecular, $C_{\mu i}$ são os coeficientes da combinação linear, Φ_{μ} o μ -ésimo orbital atômico, e N o número de orbitais atômicos. Estritamente falando, orbitais atômicos são soluções da equação de Hartree-Fock para determinado átomo, ex. funções de onda para um simples elétron no átomo. Mais tarde o termo orbital atômico foi substituído por “função de base”. (ATKINS, 1999; YOUNG, 2001).

Existem vários conjuntos de funções de base, cada um com uma característica diferente de representar os orbitais. Entre estas bases, as mais conhecidas são as bases de Pople e as de Dunning. Como nosso estudo utilizou algumas combinações das bases de Pople, abordaremos somente a mesma.

O programa Gaussian (FRISCH et al., 2004) e outros programas de cálculos de estrutura eletrônica usam funções atômicas do tipo gaussianas, sendo possíveis várias combinações como é o caso das funções de base de Pople, por exemplo, a 3-21G, 6-31G, 6-31+G, 6-31+G*, 6-311G, 6-311+G** dentre outras. Na notação 6-31, o número 6 indica que existe uma função de base do tipo s constituindo de seis equações gaussianas para representar cada orbital interno, já o número 31 indica que existem duas funções de base do tipo p consistindo de três e uma funções gaussianas. As bases de Pople podem ser modificadas pela adição de funções difusas e/ou de polarização ao conjunto de base. Funções difusas são normalmente funções s e p, e sua designação antecede o símbolo G. Estas funções são usadas para ânions ou átomos com pares de elétrons isolados, os quais têm elevada distribuição de densidade eletrônica, e também são utilizadas para descrever interações a longa distância, tais como interações de Van der Waals. Elas são denotadas por “+” ou “++”, com o primeiro indicando um conjunto de funções s e p para átomos diferentes do hidrogênio, e o segundo indicando que a função difusa s é adicionada também aos hidrogênios. Funções de polarização são indicadas depois do símbolo G, com uma designação separada para átomos pesados e hidrogênio.

As funções de polarização (orbitais de estados excitados) produzem melhores resultados para as geometrias e frequências vibracionais calculadas. São denotadas por uma letra entre parênteses, ou por asteriscos. O conjunto de base 6-31+G(d) indica o uso da base 6-31G e um conjunto de bases difusas *s* e *p*, como definido anteriormente, com a inclusão de uma única função de polarização do tipo *d* para átomos pesados. A base 6-311++G(d,p) é similar. Ela apresenta um conjunto de funções difusas *s* e *p* nos átomos pesados e uma função *s* no hidrogênio, uma função de polarização do tipo *d* para átomos pesados e uma do tipo *d* para os hidrogênios. Uma notação alternativa é em termos do uso do símbolo “*”. A base 6-31+G(d) é idêntica a 6-31+G*, e 6-311++G(d,p) é idêntica a 6-311++G**. (LUCENA, 2008; YOUNG, 2001).

Na prática, a escolha do tamanho das funções de bases e do método empregado é determinada através de um balanço entre precisão dos resultados e custo computacional. Para o presente estudo, utilizaremos o método HF e função de base 6-311g para os cálculos de *scan*, pois são cálculos iniciais que podem apresentar menos recursos que as otimizações posteriores, e o mesmo método HF, com funções de bases mais sofisticadas, como a 6-311++G(d,p) para as otimizações das estruturas deste trabalho. Com isso, tais otimizações de geometrias com o nível de teoria HF/6-311++G(d,p) podem fornecer geometrias iguais ou melhores do que outros métodos já abordados na literatura.

1.3.1.3 Superfície de energia potencial e cálculos de otimização e frequência

No estudo de equilíbrios conformacionais são de maior interesse propriedades como a energia total molecular e momento de dipolo. Os valores de momento de dipolo das estruturas em fase isolada podem ser utilizados para se ter idéia do comportamento em solução.

O cálculo de *scan* consiste em escolher um ângulo diedro da molécula, o qual será girado obtendo-se a energia daquela geometria. Desta forma é possível a construção de um gráfico de energia *versus* ângulo diedro que chamamos de superfície de energia potencial (SEP, Figura 9). A análise destas superfícies revela quais são as geometrias de menor energia, possivelmente as mais estáveis.

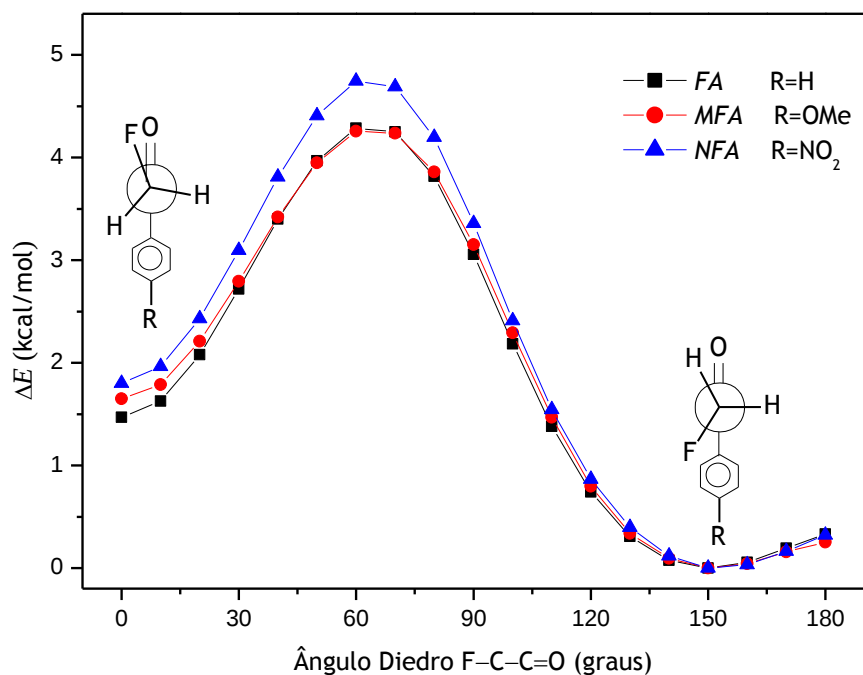


Figura 9- Superfície de energia potencial em nível B3LYP/6-31g(d,p) de algumas fluoracetofenonas. Fonte: FIORIN et al., 2009.

Em busca da confirmação das formas de menor energia, após os *scans* são realizados cálculos de otimização e frequência. As otimizações são necessárias para que as estruturas mais estáveis da superfície de energia potencial se convertam às geometrias de menor valor energético possível. Para todos os valores de energia dos confôrmeros é feita a correção da energia do ponto zero (ZPE), devido a vibrações moleculares de baixa energia que não são consideradas no cálculo de otimização. Esta correção é realizada com o cálculo de frequência, que além do ZPE, é capaz de caracterizar a geometria como um “real” ponto de mínimo através da inexistência de frequências imaginárias. (CRAMER, 2002, apud FIORIN, 2006; FORESMAN; FRISCH, 1996).

Rotineiramente, os cálculos de otimização de geometrias são realizados no vácuo, entretanto estes também podem ser conduzidos na presença de um solvente. Isto é válido para avaliarmos o efeito de solvatação, fato este que pode ser comparado com várias técnicas experimentais, já que a maior parte dos experimentos em laboratório são realizados em solução. A simulação de moléculas em solução pode ser desempenhada por vários métodos, dentre os quais podemos citar o método do contínuo polarizável (PCM, do inglês *polarized continuum method*) desenvolvido por Tomasi e colaboradores. (TOMASI; SCROCCO; MIERTUS, 1981). O PCM usa uma integração numérica sobre a densidade de carga do soluto,

considerando uma cavidade definida como uma região esférica centrada em cada átomo, conforme demonstrado na Figura 10 a seguir. O tratamento desse modelo é equivalente a considerar todos os dipolos elétricos da molécula. Este método é conhecido na literatura por sua eficiência na reprodução do efeito da polaridade do meio nas propriedades moleculares. Assim sendo, foi o utilizado no presente trabalho. (FORESMAN; FRISCH, 1996).

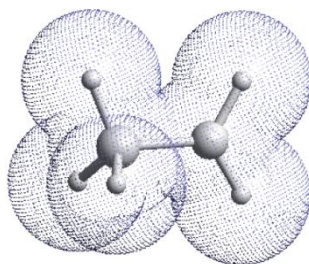


Figura 10- Cavidade de solvatação obtida pelo método PCM com raio de cavidade definido para todos os átomos da molécula de CH_3NH_2 .
Fonte: ABREU, 2004.

1.3.1.4 Teoria dos Orbitais Naturais de Ligação

Outra técnica muito importante e utilizada em cálculos computacionais, além das citadas até o momento, é a investigação dos orbitais naturais de ligação (NBO, do inglês *Natural Bond Orbitals*), os quais podem fornecer dados importantes a respeito dos efeitos eletrônicos envolvidos em um sistema, como por exemplo, efeitos hiperconjugativos. Os NBOs são orbitais localizados na molécula, ou seja, orbitais existentes entre determinadas ligações diferentemente dos orbitais moleculares, os quais se estendem por toda molécula. A análise dos dados fornecidos pelos cálculos de NBO é centrada no caráter doador-receptor existente entre os diversos tipos de orbitais: sigma ligante (σ), sigma antiligante (σ^*), pi ligante (π), pi antiligante (π^*), pares de elétrons livres (n), além de outros de menor importância tais como os orbitais de Rydberg (RY) e os orbitais que envolvem elétrons mais internos (CR). As interações doador-receptor podem ocorrer via orbitais localizados entre átomos ligados (do inglês “Through Bond”) (Figura 11.a) ou entre orbitais localizados em átomos não ligados (do inglês “Through Space”) (Figura 11.b). (WEINHOLD; LANDIS, 2005 apud BOCCA, 2008).

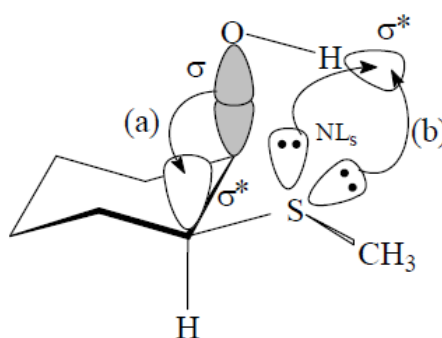


Figura 11- Interações eletrônicas via orbitais: (a) transferência via ligação $\sigma_{C-O} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$ ("Through Bond"), (b) transferência via espaço $n_S \rightarrow \sigma^*_{O-H}$ ("Through Space").
 FONTE: (WEINHOLD; LANDIS apud BOCCA, 2008).

A grande vantagem deste método é a possibilidade de investigar as interações existentes entre os orbitais (por exemplo: ligações de hidrogênio, complexações, estabilização eletrônica, etc). A descrição de hiperconjugação no NBO representa a transferência de elétrons entre o ligante e o antiligante. O efeito de interação de hiperconjugação é obtido pela retirada de todos os orbitais antiligantes. O resultado é uma "estrutura de Lewis", em que as funções de onda são perfeitamente localizadas. Desta forma fica mais fácil estudar efeitos eletrônicos por este método do que pelo método dos orbitais moleculares. Para um maior entendimento, a Figura 12 contém a representação tridimensional dos orbitais sigma ligante (σ) e antiligante (σ^*) da ligação C-H das conformações alternada e eclipsada no etano. (BOCCA, 2008; POPHRISTIC; GOLDMAN, 2001; WEINHOLD, 2001).

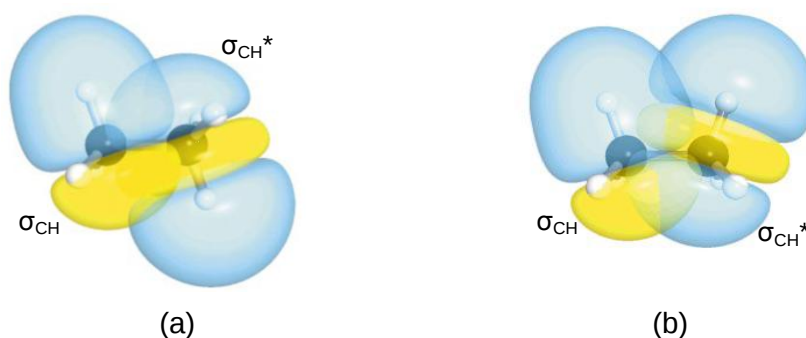


Figura 12- Representação tridimensional dos orbitais (σ_{CH} e σ^*_{CH}) da ligação adjacente carbono-hidrogênio nas conformações (a) alternada e (b) eclipsada da molécula de etano.
 Fonte: WEINHOLD, 2001.

Observa-se na Figura 12 que na conformação alternada a sobreposição mais favorável dos orbitais leva a uma interação mais forte (mais estabilizante). Já na conformação eclipsada há uma interação menos favorável, levando a mesma a um estado de maior energia, ou seja, menos estabilizante. (WEINHOLD, 2001). Este

estudo dirigido por WEINHOLD (2001) foi um grande avanço para o emprego das interações hiperconjugativas na explicação da maior estabilidade de uma conformação, visto que até então, a maior estabilidade da forma alternada do etano era devido à repulsão estérica. (POPHRISTIC; GOLDMAN, 2001)

A utilização de cálculos de *NBO* em análises conformacionais é um método que tem sido empregado com sucesso em uma grande variedade de trabalhos publicados nos últimos anos.

1.3.1.5 Mapas de Potencial Eletrostático

Os mapas de potencial eletrostático (MPE) possuem um considerável valor dentre os modelos gráficos, pois servem não somente como significado para racionalizar tendências em estruturas moleculares, estabilidade, reatividade química, seletividade, mas também são uma ferramenta com os quais concluímos investigações químicas. O MPE molecular pode ser uma abordagem alternativa com o intuito de compreender a contribuição eletrostática de certos compostos para a atividade, visto que os parâmetros eletrônicos são um dos principais fatores que governam a interação fármaco-receptor. (FIORIN, 2006; HEHRE, 2003).

O potencial eletrostático, ϵ_p , é definido como a energia de interação de um ponto de carga positiva localizada em um ponto *p* com o núcleo e os elétrons da molécula. (POLITZER; DAIKER, 1981; SCROCCO; TOMASI, 1973).

O valor do potencial eletrostático mapeado sobre uma superfície de densidade eletrônica constante pode ser empregado para distinguir regiões ricas e deficientes em elétrons, mostradas em cores diferentes. Nas regiões onde ϵ_p é positivo (azul), região de baixa densidade eletrônica, prevalece o efeito do núcleo concentrado sobre os elétrons dispersos. Na maioria das moléculas ocorrem rearranjos de carga eletrônica que acompanham a formação das mesmas, produzindo normalmente uma ou mais regiões de potencial negativo (vermelho) relatado, por exemplo, como pares de elétrons livres ou elétrons π de moléculas insaturadas, que são regiões com alta densidade eletrônica. (HEHRE, 2003; POLITZER; DAIKER, 1981; SCROCCO; TOMASI, 1973).

Os MPEs, até o presente momento, constituem a mais comum e mais importante ferramenta dentre os modelos gráficos (mapas de LUMO, de potencial de

ionização, potencial de polarização, dentre outros). É importante enfatizar que ϵ_p é uma propriedade física real, e observável, o qual pode ser determinado experimentalmente, por técnicas de difração de raios X, assim como computacionalmente. (HEHRE, 2003; POLITZER; TRUJLAR, 1981).

Em algumas aplicações do ϵ_p , o objetivo foi deduzir padrões positivos e negativos de potenciais que promovem interações, por exemplo, entre uma droga e receptor. (BOCCA; BASSO; MOSQUETTA, 2007). As regiões de uma superfície na qual o potencial eletrostático é negativo delineiam locais na molécula que são passíveis de interagir com áreas positivas de outra molécula (receptor), caracterizando o que a literatura descreve como complementariedade eletrônica. (AFONSO, 2008). Na Figura 13 estão demonstrados os MPEs dos quatro principais metabólitos da dipirona, um analgésico com atividade antipirética que age nos sistemas nervosos central e periférico.

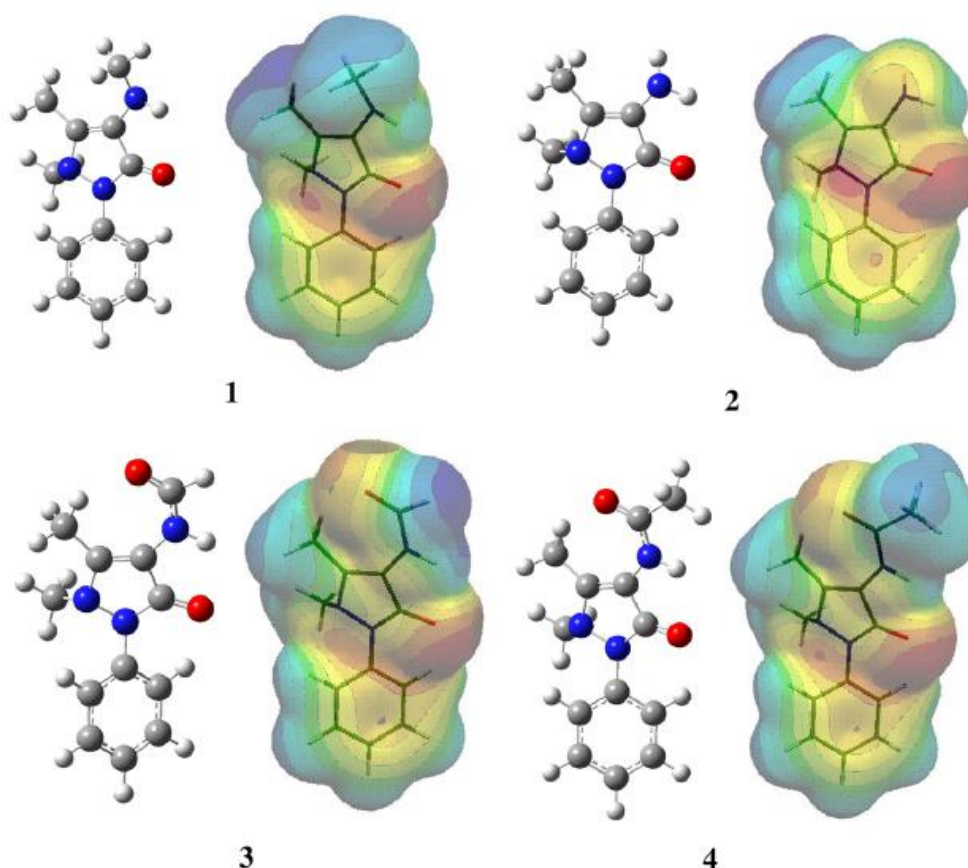


Figura 13- Mapas de potencial eletrostático dos quatro metabólitos da dipirona. Faixa de cores, em kcal/mol: Vermelho, mais negativo que -50; Amarelo, entre -30 e -40; Verde, entre -25 e 0; Azul, mais positivo que 30.

Fonte: BOCCA; BASSO; MOSQUETTA, 2007.

Estes mapas mostram os sítios de potencial negativo que incluem átomos eletronegativos e suas vizinhanças bem como os sítios de potencial positivo localizados ao redor dos átomos de hidrogênio. O principal centro negativo localiza-se nos átomos de nitrogênio (N-N) e no grupo carbonílico pirazolônico, os quais devem ser responsáveis pela interação com o sítio ativo do receptor da droga. Fica claro nestes mapas que os compostos 3 e 4 mostram uma menor densidade eletrônica que os compostos 1 e 2, o que está de acordo com a atividade observada somente nos últimos dois. Esta diferença de energia é em torno de 10 kcal/mol, mostrando uma maior concentração eletrônica nos sítios ativos de 1 e 2, a qual pode ser a razão para a preferencial ligação entre a droga e a respectiva enzima.

1.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Há mais de cinco décadas, a espectroscopia de RMN vem sendo largamente empregada na determinação das preferências conformacionais dos compostos, e especialmente no estudo conformacional de moléculas em solventes de diferentes polaridades e, também, a temperaturas variadas. (GARBISCH; EDGAR, 1964). A mesma é frequentemente descrita como uma técnica pela qual um determinado núcleo é utilizado para descrever propriedades estruturais da molécula e através desta ferramenta podemos obter uma grande quantidade de informações estruturais. (CRAMER, 2002, apud FIORIN, 2006).

Em um equilíbrio onde a interconversão entre os rotâmeros é muito rápida, o espectro de RMN apresentará deslocamentos químicos e constantes de acoplamento como uma média ponderada pela contribuição de cada rotâmero, como demonstrado na equação 3 abaixo:

$$J = \sum n_i J_i \quad (3)$$

onde: n_i = fração molar de cada isômero i ;

J_i = constante de acoplamento individual.

Como J é resultado das populações dos confôrmeros e estas populações podem ser afetadas tanto pela temperatura como pela permitividade do meio, podemos avaliar a preferência conformacional estudando a dependência das

constantes de acoplamento com o meio e, também, com a variação de temperatura. (FIORIN, 2006).

As informações mais importantes para a química orgânica estrutural são obtidas principalmente através de dois parâmetros da RMN, o deslocamento químico (δ) e a constante de acoplamento (J). Para nosso estudo, este segundo parâmetro é o que mais nos interessa.

1.3.2.1 Acoplamento via três ligações ($^3J_{HH}$)

O acoplamento na espectroscopia de RMN ocorre devido à tendência do elétron ligante de emparelhar seu *spin* com o *spin* do hidrogênio mais próximo. Os acoplamentos H-C-C-H são chamados de *acoplamentos vicinais*, porque os hidrogênios estão em átomos de carbono vizinhos. Ocorrem via três ligações (Figura 14) e a constante de acoplamento é representada por $^3J_{HH}$. (PAVIA et al., 2010).

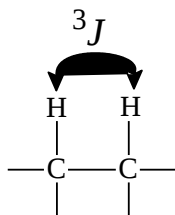


Figura 14- Acoplamento vicinal via três ligações.
Fonte: PAVIA et al., 2010.

A constante de acoplamento vicinal, $^3J_{HH}$, mede a magnitude de separação e é o espaçamento em hertz entre os picos dos multipletos. A verdadeira magnitude da constante de acoplamento entre duas ligações C-H adjacentes depende diretamente do ângulo diedro, α , entre essas duas ligações. A Figura 15 define o ângulo diedro α como um desenho em perspectiva (Figura 15.a) e um diagrama de Newman (Figura 15.b). (PAVIA et al., 2010).

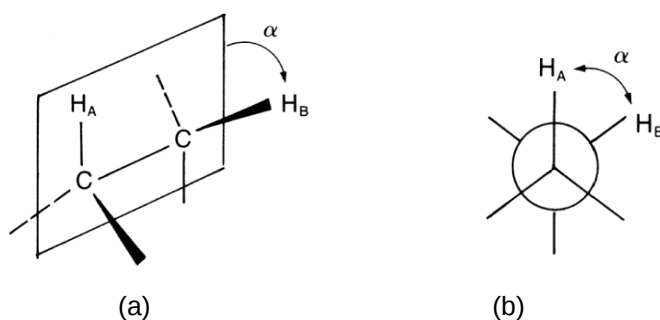


Figura 15- Definição de um ângulo diedro α em (a) perspectiva e (b) diagrama de Newman.
Fonte: PAVIA et al., 2010.

O princípio da RMN para análise conformacional diz que, se uma molécula possui isomerismo rotacional, as conformações estáveis apresentarão alguns núcleos com ambientes químicos diferentes. Sendo assim, cada conformação terá um deslocamento químico diferente, e as constantes de acoplamento (J) são afetadas como resultado das mudanças dos ângulos diedros, comprimentos, e ângulos de ligação. (HORE, 1995).

A dependência da constante de acoplamento $^3J_{HH}$ pelo ângulo diedro α foi demonstrada por Karplus (PAVIA et al., 2010), o primeiro a estudar este fato, o qual desenvolveu uma equação (4) que se adequou bem aos dados experimentais apresentados no gráfico da Figura 16. A relação de Karplus tem a seguinte forma:

$$^3J_{HH} = A + B \cos \alpha + C \cos 2\alpha \quad (4)$$

onde A, B e C são parâmetros empíricos.

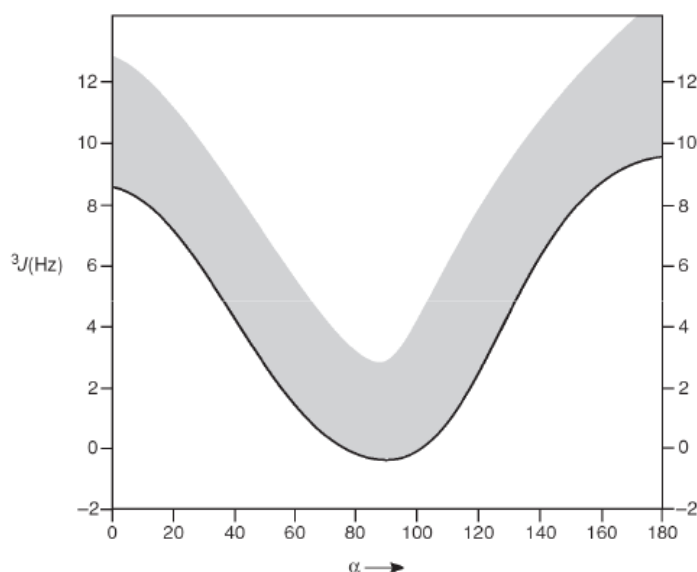


Figura 16- Curva de Karplus: dependência de 3J em função do ângulo diedro α .
Fonte: PAVIA et al., 2010.

A relação de Karplus sofreu várias outras correções à medida que novos fatores de influência foram sendo descobertos. A variação de $^3J_{HH}$ indicada pela área sombreada da Figura 16 é resultado destes fatores diferentes do ângulo diedro α , incluindo eletronegatividade dos substituintes, ângulos e comprimentos de ligação, interações de transferência de cargas, dentre outros. (PAVIA et al., 2010; SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

Assim sendo, no presente trabalho serão realizados experimentos de RMN de 1H a temperatura ambiente em solventes de polaridades variadas, e

experimentos com variação de temperatura em um único solvente. Quando o solvente é variado, conduz a mudanças na população dos rotâmeros. O método da variação da temperatura é análogo, entretanto, a vantagem que o primeiro destes tem sobre o da variação da temperatura é que o efeito da variação da população dos confôrmeros é muito maior com a variação do solvente do que com a temperatura. Deste modo, na prática, estes métodos são complementares. Um fator importante a ser considerado é que a variação na população dos rotâmeros é dependente de dois fatores: da mudança do solvente (mudança da constante dielétrica) e da variação da temperatura. Porém, a constante dielétrica do solvente varia com a temperatura, no caso de solventes polares. Assim sendo, no caso de experimentos com variação da temperatura em solventes polares, a mudança na população das conformações se deve também a estes dois fatores, como é o nosso caso. (ABRAHAM; TORMENA; RITTNER, 1999).

1.3.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IV)

Esta espectroscopia vem sendo utilizada desde 1958, como ferramenta complementar em análises conformacionais. (PICKERING; PRICE, 1958). Estudos recentes com α -fluoroacetofenonas (FIORIN et al., 2009) e acetofenonas e haloacetofenonas (RODRIGUES, 2003) empregaram a espectroscopia no IV como uma técnica auxiliar no estudo conformacional, com o objetivo de avaliar o comportamento de tais compostos em solução, ou seja, a tendência do equilíbrio com a mudança do meio.

Neste tipo de estudo, as bandas de absorção utilizadas geralmente são as do estiramento da carbonila (C=O). Em se tratando do isomerismo rotacional destes compostos, o que se observa são bandas (C=O) próximas, mas com frequências distintas, como é observado na Figura 17. O espectro de IV é dado em função da absorbância *versus* frequência, ν (número de onda, cm^{-1}). O número de bandas será referente ao número de confôrmeros envolvidos no equilíbrio, pois a frequência é uma medida que leva em consideração a constante de força, que pode ser alterada por diversos efeitos como hibridização e ressonância. A variação no momento de dipolo da carbonila acaba afetando a constante de força e cada rotâmero absorve

radiação no IV em regiões distintas. Além de determinar quantos confôrmeros existem, analisando a área de cada banda, a partir da sua deconvolução, é possível observar a tendência do equilíbrio com a mudança do meio. (HEHRE, 2003).

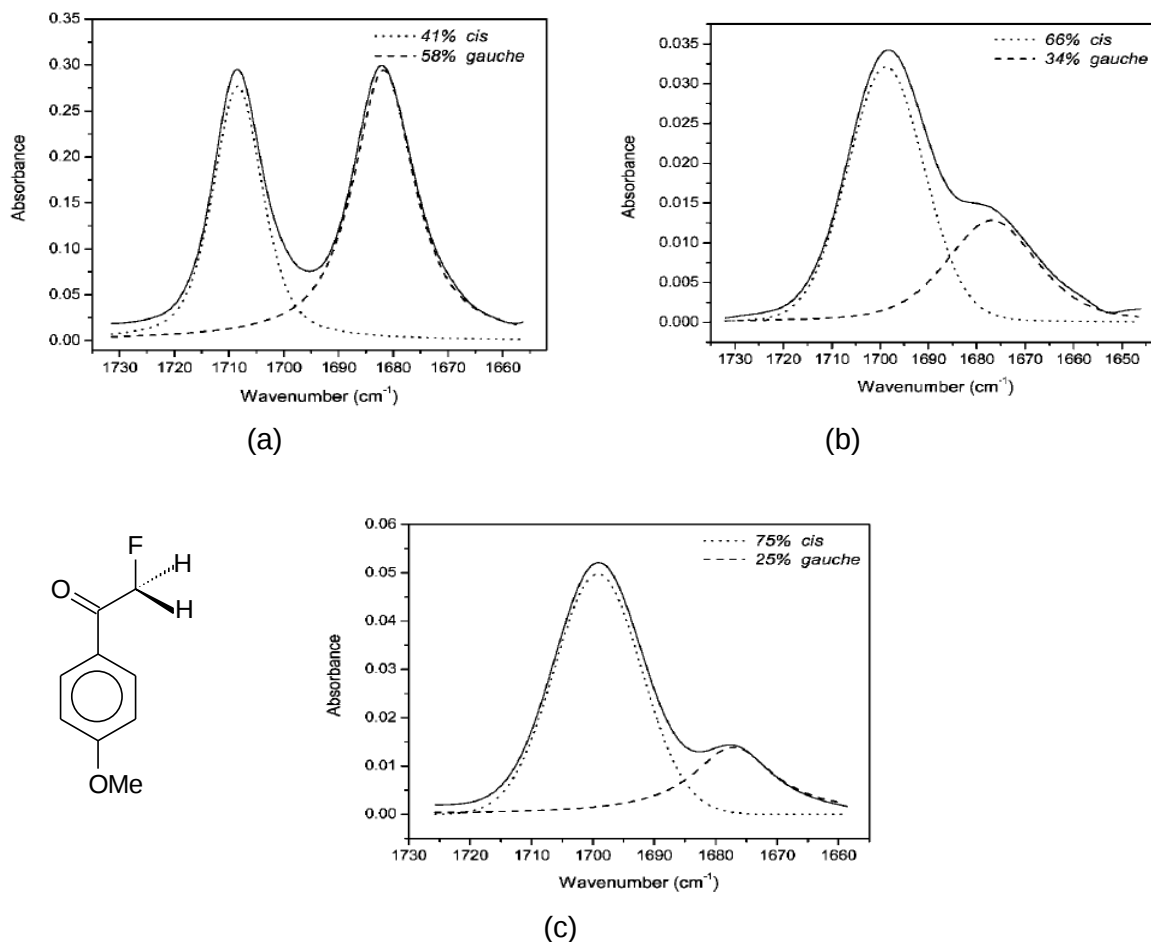


Figura 17- Bandas de estiramento da carbonila dos rotâmeros *cis* e *gauche* do *p*-metóxi- α -fluoroacetofenona obtidos experimentalmente na região do fundamental em (a) CCl_4 , (b) CHCl_3 e (c) CH_2Cl_2 .

Fonte: FIORIN et al., 2009.

No trabalho de Fiorin et al. (2009), através da análise do estiramento da carbonila na região do fundamental, duas bandas foram observadas na Figura 17, o que confirmou a presença de dois rotâmeros presentes no equilíbrio conformacional e mostrou que estes resultados estavam de acordo com os dados obtidos pelos cálculos teóricos.

Desta forma, utilizaremos a espectroscopia na região do IV como uma das ferramentas complementares para avaliar a preferência entre os confôrmeros.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma investigação estrutural minuciosa da dopamina (Figura 6), L-dopa (Figura 7) e L-dopaquinona (Figura 8), tanto nas suas formas neutras quanto nas protonadas, utilizando como ferramentas uma associação entre cálculos teóricos e as espectroscopias na região do Infravermelho (IV) e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Desta forma, poderemos determinar com maior precisão as características estruturais dos compostos em estudo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as conformações preferenciais das moléculas isoladas e em solução aquosa, suas respectivas populações e os efeitos que favorecem as mesmas;
- Verificar se existe alguma mudança na estabilidade conformacional quando se passa da fase isolada para o meio aquoso;
- Proporcionar uma visualização tridimensional dos confôrmeros majoritários dos compostos;
- Construir mapas de potencial eletrostático dos confôrmeros mais estáveis, a fim de visualizar a densidade eletrônica dos mesmos.
- Sintetizar, purificar e caracterizar a dopamina neutra, L-dopa protonada e as duas formas da L-dopaquinona;
- Utilizar as espectroscopias de RMN e de IV para analisar o efeito de diferentes solventes e de diferentes temperaturas nas constantes de acoplamento vicinais hidrogênio-hidrogênio, $^3J_{HH}$, e nas deconvoluções das bandas de absorção do estiramento da carbonila na região do fundamental;
- Comparar os resultados obtidos através dos cálculos teóricos com os obtidos experimentalmente;

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 CÁLCULOS TEÓRICOS

3.1.1 Equipamentos, hardware e software

Para os cálculos teóricos utilizou-se o computador Intel Core 2 Quad de 2,4GHz, 64 bits e 4,0GB de memória RAM, com sistema operacional KUBUNTU versão 9.04 (Linux) e interface gráfica KDE, dedicado somente a cálculos teóricos.

Todos os cálculos teóricos foram realizados empregando-se o pacote de programas GAUSSIAN 03. (FRISCH et al., 2004).

3.1.2 Métodos computacionais

Primeiramente, para a construção das superfícies de energia potencial (SEP) utilizou-se o método Hartree-Fock com o conjunto de funções de base 6-311G. As SEPs foram obtidas a partir da rotação de um ângulo diedro, de 0° a 360°, em 36 passos de 10°. Em cada um desses passos, a energia da geometria foi calculada e um gráfico de energia *versus* ângulo diedro foi construído. Este procedimento é convencionalmente chamado de *scan*. Como as moléculas em estudo apresentam variados ângulos diedros, o giro de um ângulo foi realizado a partir dos mínimos do gráfico (conhecidos como estruturas de mínimo) referente ao diedro anterior rotacionado, mínimos estes que correspondem às geometrias mais estáveis para tal diedro. (FORESMAN; FRISCH, 1996). As ordens de rotação destes ângulos torsionais para cada composto estão apresentadas nas Figuras abaixo. Esta ordem foi a mesma para as formas protonadas.

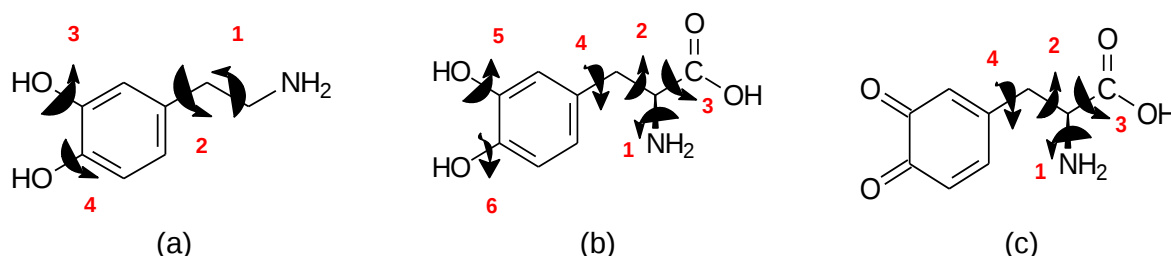


Figura 18- Ângulos diedros girados na (a) dopamina, (b) L-dopa e (c) L-dopaquinona.
Fonte: A autora.

A seguir, visando à confirmação das geometrias de menor energia da molécula isolada, cálculos de otimização de estrutura e de frequência foram realizados utilizando-se o método HF com o conjunto de bases 6-311++G(d,p). Para todos os valores de energia dos confôrmeros fez-se a correção de energia do ponto zero (ZPE, do inglês *zero-point energy*). (FORESMAN; FRISCH, 1996).

Após a determinação de quais conformações estavam envolvidas no equilíbrio conformacional em fase isolada (vácuo), investigou-se seu comportamento em solução, onde as mesmas foram submetidas a cálculos de otimização com rotinas de solvatação, utilizando-se o método PCM (TOMASI; SCROCCO; MIERUS, 1981), nível de teoria HF/6-311++G(d,p) e água como solvente.

Ainda para os confôrmeros mais estáveis, com as energias e geometrias previamente otimizadas em fase isolada, foram realizados cálculos de NBO com o mesmo método e conjunto de bases utilizados na otimização das moléculas.

Além disto, foram realizados cálculos para a construção dos mapas de potencial eletrostático (MPE). Para esta parte do estudo empregamos o mesmo pacote de programas Gaussian 03 utilizado nos cálculos anteriores, com nível de teoria HF/6-311g e visualizados com o programa MOLEKEL na versão 5.3. (FLÜKIGER et al., 2008).

3.2 OBTENÇÃO DOS COMPOSTOS

A parte experimental deste trabalho foi realizada para as formas neutra e protonada da dopamina e da L-dopa. A síntese da L-dopaquinona não foi possível devido à sua grande instabilidade.

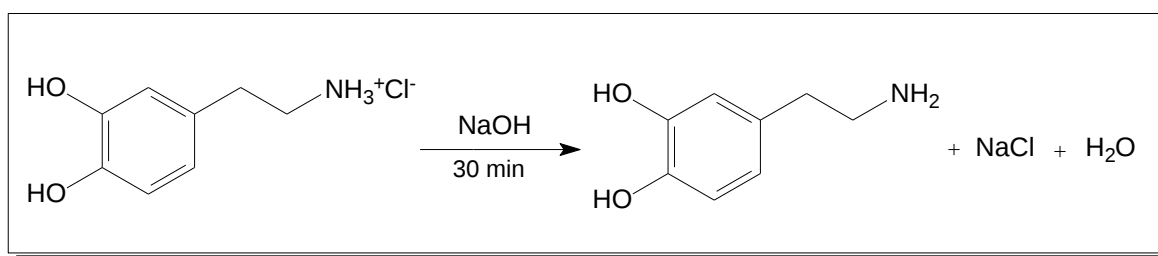
3.2.1 Dopamina protonada e L-dopa neutra

De procedência comercial (Aldrich), foram utilizadas sem tratamento prévio.

3.2.2 Dopamina neutra

A tentativa de síntese da dopamina neutra foi realizada a partir do cloridrato de dopamina (dopamina protonada). Nesta reação (Esquema 1) pretendeu-se a conversão do sal na amina livre agitando-se vigorosamente, em um balão volumétrico, 0,50g (2,64mmol) do cloridrato, 2,00mL de água destilada e 2,00mL

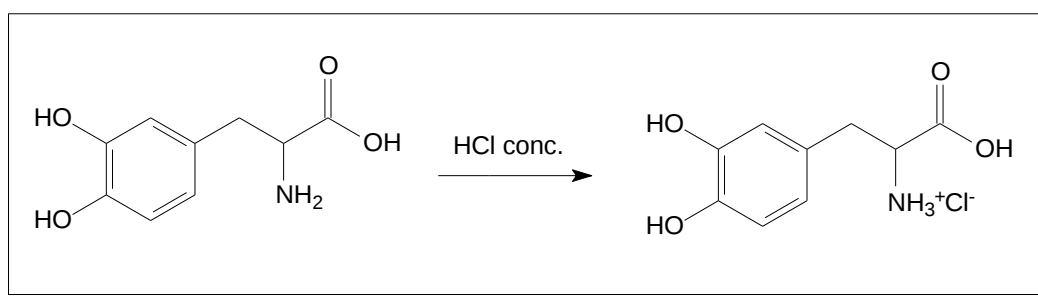
(0,76mmol) de solução 1M de hidróxido de sódio (NaOH), até alcançar um pH levemente básico. Em seguida, a mistura reacional foi deixada sob agitação por um período de 30 minutos a temperatura ambiente. Para finalizar, o produto obtido foi rotaevaporado, com a obtenção de um sólido rosa claro não caracterizado como o produto desejado.



Esquema 1- Tentativa de síntese da dopamina neutra.

3.2.3 L-dopa protonada

Este composto foi sintetizado de acordo com o Esquema 2 abaixo. Para a protonação foram gotejados 2mL (2,28mmol) de ácido clorídrico concentrado (Vetec) gota a gota e sob constante agitação em 0,45g (2,28mmol) de L-dopa (Aldrich). A mistura foi deixada sob agitação por 1 hora a temperatura ambiente. Para finalizar, os cristais brancos do cloridrato de L-dopa foram obtidos (1,33mmol, 87,3% de rendimento) pela evaporação do solvente restante durante 24 horas e caracterizados por RMN de ^1H .

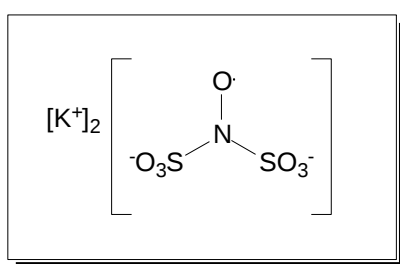


Esquema 2- Síntese da L-dopa protonada.

Cloridrato de L-dopa – RMN de ^1H (Anexo H, 400 MHz, D_2O): δ = 6,91 ppm (d, J =8,11 Hz, 1H), 6,84 ppm (d, J =2,12 Hz, 1H), 6,75 ppm (dd, J =2,12 e 8,11 Hz, 1H), 4,30 ppm (dd, 1H), 3,23 ppm (dd, 1H), 3,11 ppm (dd, 1H).

3.2.4 L-dopaquinona

A tentativa de síntese deste composto altamente reativo, segundo a literatura (WAKAMATSU; ITO, 2002), foi realizada conforme descrito a seguir. Uma solução de 0,5g de fosfato de sódio monobásico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) em 150mL de água destilada foi colocada em um funil de separação de 250mL. A esta solução foi adicionado 1,5g (5,69mmol) de sal de Fremy (Esquema 3), previamente preparado. (CARDOSO FILHO, 2008). A mistura roxa foi agitada para dissolver o radical inorgânico.



Esquema 3- Sal de Fremy, um estável radical livre que oxida via mecanismo de radical livre.

Uma solução de 0,5g (4,10mmol) de L-dopa em 15mL de éter etílico foi rapidamente adicionada a solução roxa, deixando-a sob agitação por 20 minutos. A solução mudou sua cor para marrom-avermelhada. A quinona assim formada foi extraída com três porções de 35mL de clorofórmio. A fase orgânica foi seca com sulfato de cálcio anidro, depois filtrada, e finalmente, evaporada sob pressão constante entre 20-30°C.

O produto formado, um tanto pastoso (cristais marrom-avermelhados), foi lavado com duas porções de 10mL de éter etílico gelado e coletado em um papel filtro. Por fim, deixou-se os cristais secando ao ar, que foram caracterizados por RMN e IV, não sendo o produto desejado, provavelmente devido a sua instabilidade.

3.3 EXPERIMENTOS DE RMN

3.3.1 Experimentos a temperatura ambiente

Os espectros de RMN de ^1H a temperatura ambiente para a dopamina protonada e L-dopa neutra foram adquiridos em um espectrômetro Varian Mercury

Plus BB operando a 300,06MHz para o núcleo de hidrogênio, alocado na Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Os espectros de RMN de ^1H para a L-dopa protonada foram adquiridos em um espectrômetro Bruker AVANCE 400 operando a 400,13MHz para o núcleo de hidrogênio, alocado na Universidade Federal do Paraná (UFPR).

A aquisição dos espectros foi realizada utilizando-se soluções com aproximadamente 20mg do composto em 0,7mL dos solventes deuterados CD_3OD , DMSO-d_6 e D_2O , com tetrametilsilano (TMS) como referência interna e temperatura da probe mantida em cerca de 25°C , nas condições típicas de operação.

Todos os espectros foram de primeira ordem (PAVIA et al., 2010).

3.3.2 Experimentos à baixas temperaturas

Os espectros de RMN de ^1H à baixa temperatura para a dopamina protonada, L-dopa neutra e L-dopa protonada foram adquiridos em um espectrômetro Bruker AVANCE 400 operando a 400,130MHz para o núcleo de hidrogênio, alocado na Universidade Federal do Paraná (UFPR).

A aquisição dos espectros foi realizada utilizando-se soluções com aproximadamente 20mg de cada composto em 0,7mL de CD_3OD com tetrametilsilano (TMS) como referência interna.

A aquisição dos espectros foi realizada em temperaturas entre 20°C (293K) e -60°C (213K) ou -80°C (193K) nas condições típicas de operação.

3.4 EXPERIMENTOS COM IV

Os espectros para observação das bandas de estiramento da carbonila foram adquiridos em um espectrômetro Shimadzu FT-IR Prestige-21, localizado no Laboratório Multiusuário da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Para tanto, soluções com concentrações de aproximadamente 0,03 mol/L foram preparadas em solventes de polaridades variadas (CH_3CN e DMSO), conforme a solubilidade do composto. Os solventes de qualidade P.A. utilizados

foram purificados e secos previamente segundo procedimentos descritos na literatura (PERRIN; ARMAREGO, 1998).

Os espectros foram obtidos utilizando-se uma cela de cloreto de sódio com espaçamento de 0,50 mm para análise da região do fundamental, com resolução de $8,0\text{ cm}^{-1}$ e 64 acumulações

Esta análise foi realizada somente para a forma neutra da L-dopa, pois a dopamina não apresenta carbonila em sua estrutura e a L-dopaquinona não foi sintetizada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo da preferência conformacional dos compostos foi realizado por meio de cálculos teóricos e, para alguns, pelas espectroscopias de RMN e IV. Os resultados serão apresentados e discutidos em seções separadas para cada composto, primeiro para a sua forma neutra e depois para a protonada.

Ambos os meios apolar (fase isolada) e polar (por exemplo: aquoso) são relevantes para avaliar os perfis conformacionais de ligantes que interagem com alvos biológicos, tais como os receptores dopaminérgicos, pois as moléculas da droga devem ir do meio aquoso extracelular para um sítio ligante relativamente apolar na proteína receptora. (ALISTE; CASSELS, 2001). Por este motivo, realizamos o estudo conformacional das moléculas em fase isolada e em meio aquoso.

4.1 DOPAMINA (FORMA NEUTRA)

4.1.1 Estudo teórico em fase isolada

Para o estudo teórico da dopamina (DA), foram considerados quatro ângulos diedros a serem girados nos cálculos de *scan* (Figura 18). Inicialmente selecionou-se o ângulo $C_{\text{(aromático)}}-C(H_2)-C(H_2)-N$, o qual foi investigado através da construção de uma superfície de energia potencial (SEP), demonstrada abaixo.

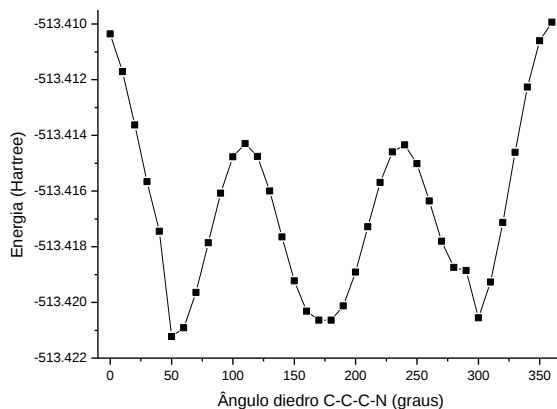


Figura 19- Superfície de energia potencial obtida com o giro do ângulo diedro C-C-C-N, em nível de teoria HF/6-311g para a dopamina neutra.

Fonte: A autora.

Então, partindo-se dos três diferentes mínimos foi realizado o segundo *scan*, girando-se desta vez o diedro $C_{(\text{aromático})}-C_{(\text{aromático})}-C(H_2)-C(H_2)$. As SEPs obtidas estão apresentadas na Figura 20.

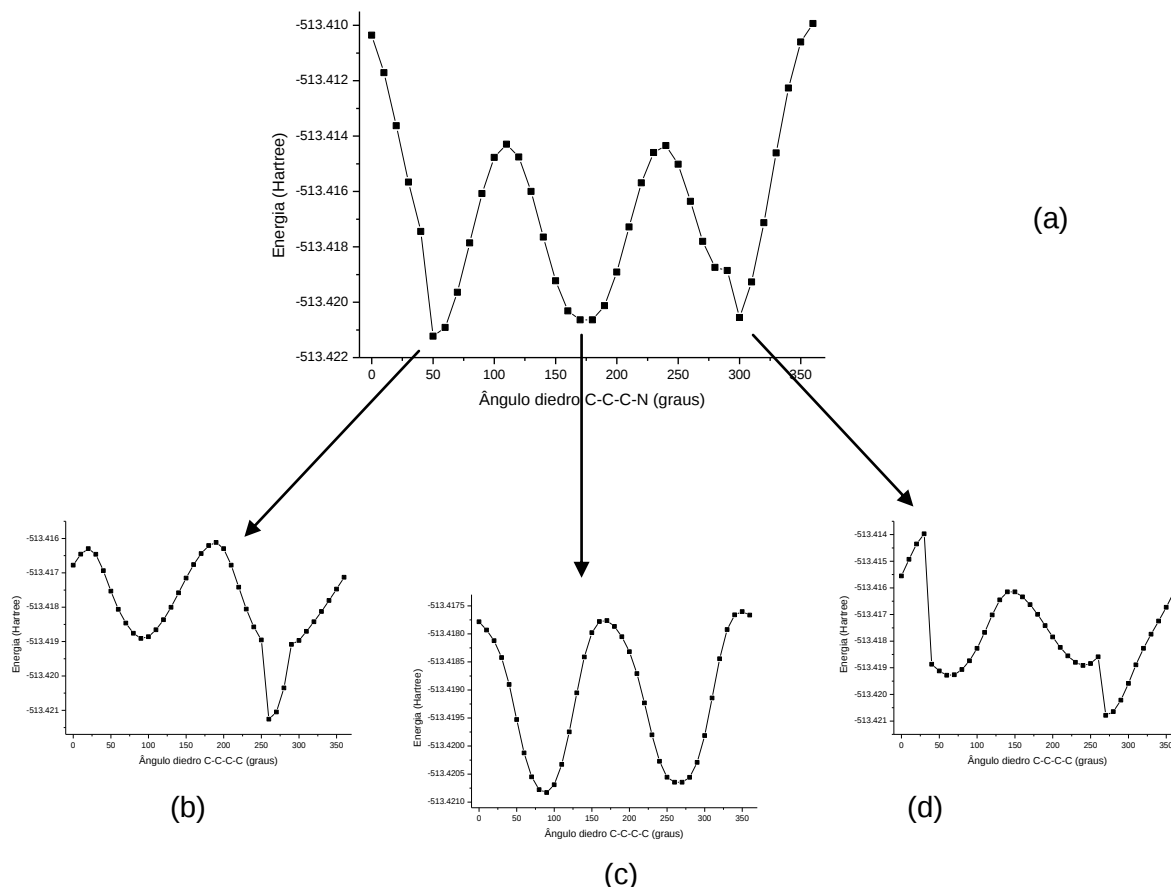


Figura 20- (a) Superfície de energia potencial do ângulo diedro C-C-C-N e (b)-(d) respectivos *scans* do segundo ângulo diedro girado C-C-C-C das estruturas que correspondem aos mínimos de energia do primeiro *scan*, em nível de teoria HF/6-311g para a dopamina neutra.

Fonte: A autora.

Este mesmo procedimento de selecionar os mínimos de cada SEP e girar o diedro seguinte foi realizado para os outros dois ângulos escolhidos. Após a análise das SEPs, encontraram-se dezesseis geometrias e, na sequência, as mesmas foram otimizadas em nível de teoria HF/6-311++G(d,p). As otimizações de geometria, também chamadas de minimizações (FORESMAN; FRISCH, 1996) são necessárias para que as estruturas mais estáveis das SEPs se convertam em geometrias de menor valor energético possível. Para todos os valores de energia dos confôrmeros fez-se a correção da energia do ponto zero (ZPE), devido a vibrações moleculares de baixa energia que não foram consideradas no cálculo de otimização. Esta correção foi realizada com o cálculo de frequência que além da

ZPE, foi capaz de caracterizar a geometria como um “real” ponto de mínimo, através da inexistência de frequências imaginárias. O ponto de mínimo de menor energia é denominado mínimo global e, em princípio, é o mais provável de ser observado experimentalmente. Contudo, equilíbrios conformacionais comumente podem ocorrer. Assim, ao final destes cálculos foram verificados os valores de energia de cada confômero, totalizando dezesseis conformações, e com a energia relativa foi possível calcular as populações referentes a cada um dos mesmos utilizando-se as equações demonstradas a seguir (FIORIN et al., 2009). A energia relativa (Equações 5) é a diferença de energia entre o isômero de menor energia (E_1) e os demais (E_n):

$$\begin{aligned}\Delta E_{\text{rel } 1} &= E_2 - E_1 \\ \Delta E_{\text{rel } 2} &= E_3 - E_1 \\ &[\dots] \\ \Delta E_{\text{rel } 15} &= E_{16} - E_1\end{aligned}\tag{5}$$

Os valores de ΔE_{rel} foram submetidos às Equações 6, e com os valores de K_1 a K_{15} obteve-se a fração molar do isômero 1 (n_1), através da equação 7.

$$\begin{aligned}K_1 &= e^{(-\Delta E_1/RT)} \\ K_2 &= e^{(-\Delta E_2/RT)} \\ &[\dots] \\ K_{15} &= e^{(-\Delta E_{15}/RT)}\end{aligned}\tag{6}$$

Onde:

ΔE_{rel} = diferença de energia relativa entre os confômeros;

K = constante de equilíbrio;

n = fração molar do confômero no equilíbrio;

R = constante dos gases ($1,987 \text{ cal.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$);

T = temperatura ambiente na escala absoluta (298 K).

$$n_1 = 1 / (1 + K_1 + K_2 + [\dots] + K_{15})\tag{7}$$

Para finalizar, tendo em mãos os valores de K_1 a K_{15} e n_1 , utilizando-se as Equações 8 foram encontradas as frações molares dos demais confômeros (n_2 a n_{16}).

$$\begin{aligned}
 K_1 &= n_2/n_1 \\
 K_2 &= n_3/n_1 \\
 &[...] \\
 K_{15} &= n_{16}/n_1
 \end{aligned}
 \tag{8}$$

A partir destes cálculos foram obtidas as energias relativas e populações de todas as geometrias que representam o equilíbrio conformacional da DA, as quais estão apresentadas na Tabela 1 juntamente com as respectivas energias de cada conformação.

Tabela 1- Energias, energias relativas e populações para os confômeros da dopamina, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confômero	Energia (Hartrees)	ΔE_{rel} (kcal.mol ⁻¹)	População (%)
1 (<i>t</i> ^(1a))	-513,459929	0,00	14,10
2 (<i>g</i> ^{-(2a)})	-513,459850	0,05	12,97
3 (<i>g</i> ^{+(1b)})	-513,459841	0,06	12,84
4 (<i>t</i> ^(1b))	-513,459794	0,08	12,22
5 (<i>t</i> ^(2a))	-513,459789	0,09	12,16
6 (<i>t</i> ^(2b))	-513,459602	0,21	9,97
7 (<i>g</i> ^{+(2a)})	-513,459477	0,28	8,74
8 (<i>g</i> ^{-(1b)})	-513,459439	0,30	8,39
9 e imagem especular (<i>g</i> ^{-(2a e 2b)})	-513,457883	1,28	1,61
10 e imagem especular (<i>g</i> ^{+(1a e 1b)})	-513,457566	1,48	1,15
11 e imagem especular (<i>g</i> ^{-(1a e 1b)})	-513,457294	1,65	0,87
12 (<i>g</i> ^{+(2b)})	-513,457065	1,79	0,68
13 (<i>g</i> ^{+(2a)})	-513,457052	1,81	0,67

Fonte: A autora.

De acordo com os dados observados na Tabela acima, são vários os confômeros possíveis para a DA dentro de uma faixa de energia relativamente pequena, sendo a barreira energética de interconversão entre os mesmos pequena. Isto ocorre devido ao alto grau de flexibilidade conformacional desta molécula, que pode ser predito com base em princípios estereoquímicos, visto que quatro eixos de rotação da molécula (Figura 21) foram levados em consideração. A conformação

majoritária é $1,81 \text{ kcal.mol}^{-1}$ mais estável do que a de menor estabilidade, um valor relativamente pequeno se relacionado com a quantidade de conformações existentes.

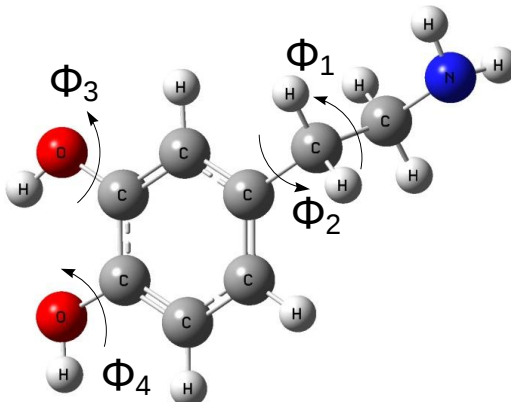


Figura 21- Ângulos diedros que determinaram os isômeros da dopamina neutra. Os ângulos Φ_1 e Φ_2 diferenciam conformêros *trans* (*t*) e *gauche* (*g+* e *g-*), ao passo que Φ_3 e Φ_4 descrevem a orientação dos grupos hidroxila, levando aos expoentes 1a, 1b, 2a e 2b.

Fonte: A autora.

O equilíbrio conformacional da DA apresentou-se como uma mistura de conformêros *trans* e *gauche* (Figura 22), os quais foram nomeados a partir das definições de Fausto; Ribeiro e Lima (1999) e Park; Lee, N.-S. e Lee, S.-H. (2000).

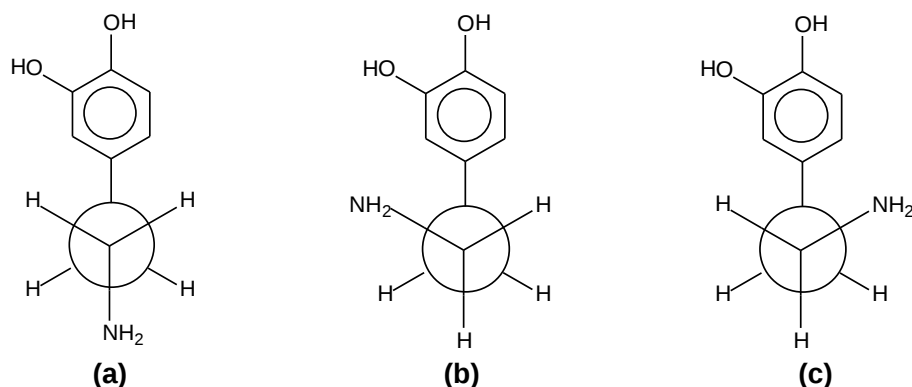


Figura 22- Conformações (a) *trans*, (b) *gauche-* ou proximal e (c) *gauche+* ou distal da dopamina neutra.

Fonte: A autora.

Como são muitas as estruturas envolvidas no equilíbrio, analisamos as oito majoritárias, pois as mesmas apresentaram energias muito próximas. Suas projeções de Newman estão representadas na Figura 23 a seguir.

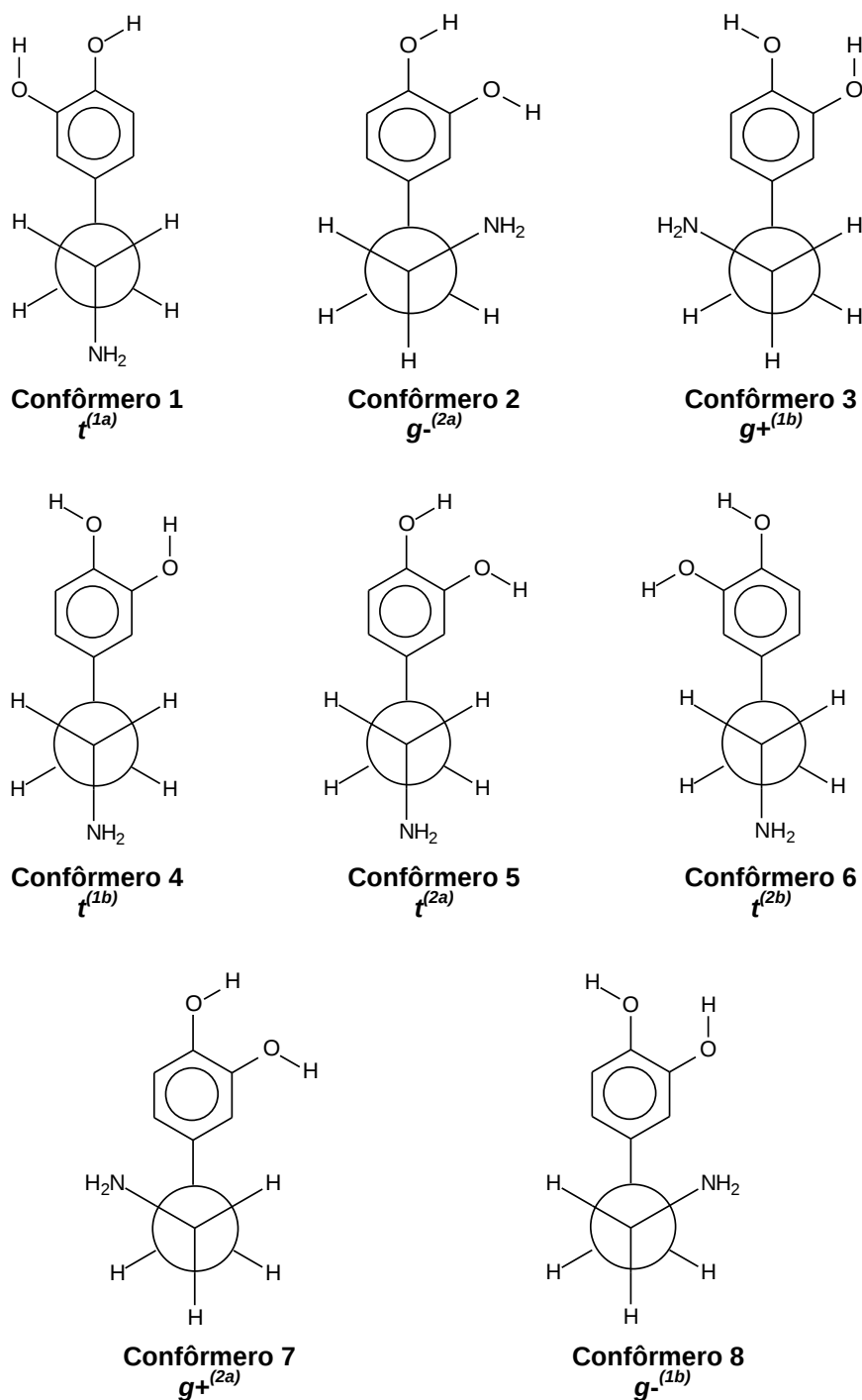


Figura 23- Projeções de Newman para os oito confômeros mais estáveis da dopamina neutra, em fase isolada.

Fonte: A autora.

A principal semelhança observada em todos os confômeros foi que os dois grupos hidroxilas estavam posicionados no mesmo plano do anel aromático. Estes grupos poderiam estar dispostos de diferentes formas (Figura 24), porém em todas as conformações envolvidas no equilíbrio rotacional da dopamina, o hidrogênio de

uma hidroxila ficou direcionado para o oxigênio da outra, indicando a possível existência de uma ligação de hidrogênio intramolecular, que ocorre somente nas conformações das Figuras 24.c e 24.d.

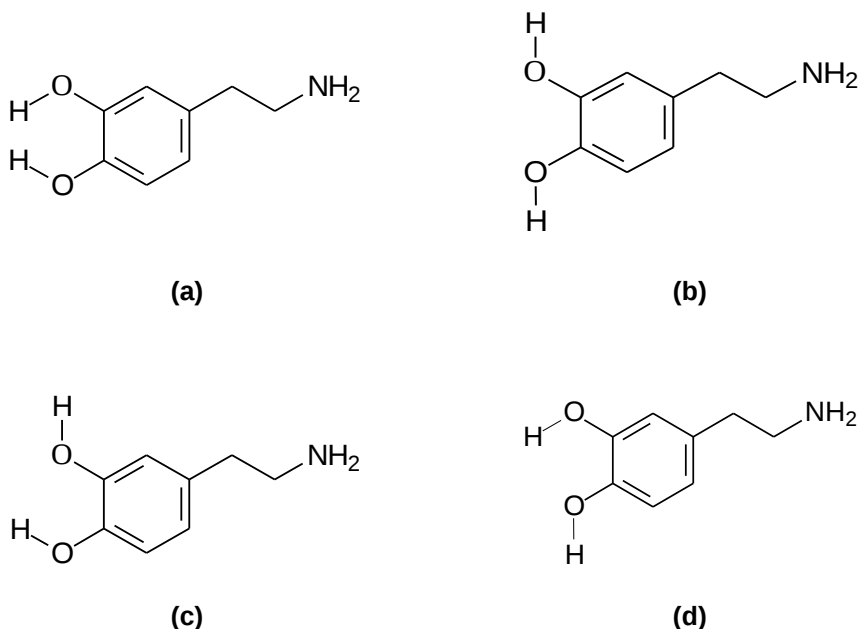


Figura 24- Disposições possíveis dos grupos hidroxilas da dopamina.
Fonte: A autora.

Para comprovar as ligações de hidrogênio intramoleculares, entre um hidrogênio da hidroxila e um oxigênio da outra hidroxila, foram investigadas as distâncias entre tais átomos nestas oito geometrias. A distância entre os átomos envolvidos nesta ligação, para todos os confôrmeros analisados, foi de 2,18 Å, confirmando que esta interação é existente, visto que a distância máxima aproximada para que ocorra uma ligação de hidrogênio intramolecular é de 3,0 Å. (WONG; BERNACKI; JACOBSON, 2005).

A distância entre o átomo de hidrogênio e o átomo aceitor da ligação intramolecular também é utilizada como indicador da força da ligação e, assim, distâncias entre 1,2 a 1,5 Å são atribuídas a ligações hidrogênio muito fortes, distâncias entre 1,5 a 2,2 Å seriam encontradas nas ligações fortes e entre 2,2 a 3,0 Å corresponderiam as ligações fracas. (ROZAS, 2007). Deste modo, as ligações de hidrogênio intramoleculares nos confôrmeros acima podem ser consideradas como fortes interações.

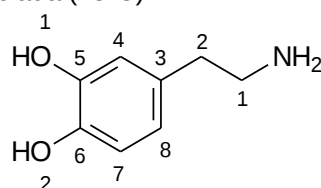
Adicionalmente, tendo como base a medida das distâncias entre os átomos de nitrogênio e do hidrogênio da *meta*-hidroxila catecólica, pôde-se observar que nenhuma das conformações (**1-8**) apresentou a distância necessária à formação de

uma segunda ligação de hidrogênio, que poderia conferir estabilidade adicional as mesmas.

O equilíbrio conformacional de moléculas flexíveis é tipicamente determinado a partir de um complexo balanço de diferentes fatores, tais como impedimento estérico, deslocalizações hiperconjugativas e interações não-covalentes (por exemplo: ligação de hidrogênio e interações iônicas). Na ausência de fatores mais fortes, mesmo fatores comparativamente mais fracos, como o “efeito *gauche*” ou demais fatores estereoeletrônicos, podem ter uma grande influência sobre a conformação das moléculas. (DERIDER et al., 2002). Porém, para o equilíbrio conformacional da DA em fase isolada, nenhum destes efeitos possibilitou explicar a tendência de estabilidade das geometrias. Uma análise mais minuciosa sobre interações estabilizadoras foi realizada a partir de cálculos dos orbitais naturais de ligação (NBO, do inglês *Natural Bond Orbitals*), mas os mesmos também não forneceram dados importantes a respeito dos efeitos eletrônicos envolvidos neste sistema.

Os parâmetros geométricos e momentos de dipolo para os cinco confôrmeros majoritários estão apresentados na Tabela 2, junto com as energias relativas e correspondentes populações.

Tabela 2- Parâmetros estruturais^a, energias calculadas (*E*) e momentos de dipolo (μ) para os cinco confôrmeros mais estáveis da dopamina (forma neutra), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C).



(continua)

Parâmetros	1	2	3	4	5
r (C-N)	1,456	1,455	1,455	1,456	1,456
r (C ₁ -C ₂)	1,530	1,532	1,531	1,530	1,530
r (C ₂ -C ₃)	1,513	1,515	1,515	1,513	1,513
r (C ₃ -C ₄)	1,392	1,391	1,394	1,393	1,392
r (C ₄ -C ₅)	1,379	1,380	1,378	1,378	1,379
r (C ₅ -C ₆)	1,389	1,388	1,391	1,390	1,389
r (C ₆ -C ₇)	1,376	1,379	1,375	1,376	1,377
r (C ₇ -C ₈)	1,389	1,387	1,390	1,389	1,388
r (C ₈ -C ₃)	1,385	1,387	1,384	1,385	1,385
r (C ₄ -H)	1,076	1,077	1,076	1,076	1,078

(conclusão)

Parâmetros	1	2	3	4	5
r (C ₇ -H)	1,077	1,075	1,077	1,077	1,075
r (C ₈ -H)	1,076	1,076	1,075	1,076	1,076
r (C ₅ -O)	1,348	1,361	1,348	1,347	1,360
r (C ₆ -O)	1,362	1,349	1,362	1,362	1,349
r (O ₁ -H)	0,943	0,941	0,943	0,943	0,940
r (O ₂ -H)	0,940	0,943	0,940	0,940	0,943
r (N-H) ^b	1,000	0,999	0,999	1,000	1,000
∠ N-C ₁ -C ₂	112,9	111,6	111,4	110,4	110,4
∠ C ₁ -C ₂ -C ₃	113,9	114,0	113,9	112,9	113,0
∠ C ₂ -C ₃ -C ₄	120,5	120,7	120,3	120,2	120,4
∠ C ₃ -C ₄ -H	120,8	119,7	120,8	120,8	119,9
∠ C ₃ -C ₄ -C ₅	121,3	121,0	121,3	121,2	121,0
∠ C ₄ -C ₅ -O	119,5	123,6	119,6	119,5	123,7
∠ C ₅ -O-H	109,9	111,5	109,9	109,9	111,6
∠ O-C ₅ -C ₆	120,8	115,9	120,8	120,8	115,8
∠ C ₅ -C ₆ -C ₇	119,8	118,9	119,8	119,8	118,9
∠ C ₆ -O-H	111,6	109,9	111,6	111,6	109,9
∠ O-C ₆ -C ₇	124,3	119,9	124,3	124,3	119,9
∠ C ₆ -C ₇ -H	119,7	118,6	119,7	119,7	118,6
∠ C ₆ -C ₇ -C ₈	120,2	120,4	120,2	120,2	120,4
∠ C ₇ -C ₈ -H	119,2	119,0	119,7	119,1	119,0
∠ C ₇ -C ₈ -C ₃	120,7	121,1	120,2	120,7	121,1
Φ C ₃ -C ₂ -C ₁ -N	180,9	296,6	64,7	181,1	181,6
Φ C ₈ -C ₃ -C ₂ -C ₁	94,1	277,5	258,4	264,6	268,6
Φ C ₄ -C ₅ -O-H	180,9	1,7	178,7	178,9	1,7
Φ C ₇ -C ₆ -O-H	3,4	180,8	355,5	356,3	180,7
E (hartrees)	-513,459929	-516,513790	-516,513630	-516,513571	-516,513565
E _{rel} (kcal mol ⁻¹)	0,00	0,05	0,06	0,08	0,09
μ (Debyes)	1,79	2,06	1,69	3,55	2,10
População (%)	14,10	12,97	12,84	12,22	12,16

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes são apresentados.

Fonte: A autora.

4.1.2 Estudo teórico com solvatação

A influência do solvente nas conformações da DA têm sido analisada utilizando-se diferentes níveis de teoria, tais como os métodos semi-empíricos AM1 e PM3, os *ab initio* HF e MP2 e, também, o DFT B3LYP. (ALISTE; CASSELS, 2001; FAUSTO; RIBEIRO; LIMA, 1999; PARK; LEE, N.-S.; LEE, S.-H., 2000). Independente do nível de teoria utilizado foi unânime a conclusão encontrada: a principal influência do solvente nas geometrias envolvidas no equilíbrio conformacional da DA foi a estabilização dos rotâmeros *trans*, que tornaram-se os mais estáveis em solução aquosa.

Nesta investigação, depois de otimizadas, as dezesseis estruturas mais estáveis foram submetidas a cálculos de otimização com rotinas de solvatação, os quais possibilitaram avaliar a tendência da preferência conformacional com o solvente. Vale ressaltar que o equilíbrio conformacional pode ser alterado com o meio, ou seja, com o solvente. Também pode-se destacar que o nível de teoria empregado no presente trabalho (HF/6-311++G(d,p)) é inédito para a análise desta molécula.

Os valores de energia encontrados nos cálculos de solvatação, as energias relativas e as populações de todos os confôrmeros estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3- Energias, energias relativas e populações para os confôrmeros da dopamina, em solução aquosa, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confôrmero (ordem de estabilidade em solução aquosa)	Confôrmero (ordem de estabilidade em fase isolada)	Energia (Hartrees)	ΔE_{rel} (kcal.mol ⁻¹)	População (%)
1 (<i>t</i> ^(2a))	5	-513,682203	0,00	16,87
2 (<i>t</i> ^(1a))	1	-513,682168	0,02	16,24
3 (<i>t</i> ^(2b))	6	-513,682153	0,03	15,99
4 (<i>t</i> ^(1b))	4	-513,682149	0,03	15,93
5 (<i>g</i> ^{+(1b)})	3	-513,681214	0,62	5,92
6 (<i>g</i> ^{+(2a)})	7	-513,681149	0,66	5,53
7 (<i>g</i> ^{-(2a)})	2	-513,681003	0,75	4,73
8 (<i>g</i> ^{-(1b)})	8	-513,680983	0,77	4,63
9 e imagem especular (<i>g</i> ^{+(1a e 1b)})	10 e imagem especular	-513,680167	1,28	1,95
10 (<i>g</i> ^{+(2a)})	13	-513,680116	1,31	1,85
11 (<i>g</i> ^{+(2b)})	12	-513,680095	1,32	1,81
12 e imagem especular (<i>g</i> ^{-(2a e 2b)})	9 e imagem especular	-513,680043	1,35	1,71
13 e imagem especular (<i>g</i> ^{-(1a e 1b)})	11 e imagem especular	-513,680008	1,38	1,57

Fonte: A autora.

Da mesma maneira que ocorreu em fase isolada, em solução a dopamina não apresentou uma conformação representando a maior parte do equilíbrio, mas sim, geometrias com energias relativas sendo bastante próximas e, conseqüentemente, populações que não diferem significativamente. Em solução aquosa, o confôrmero majoritário é apenas 1,38 kcal.mol⁻¹ mais estável do que o último, o qual é o décimo sexto do equilíbrio conformacional. Pode-se dizer que o equilíbrio conformacional da dopamina é afetado pela mudança de meio, pois novamente nenhuma estrutura prevaleceu com a mudança do meio, porém os confôrmeros majoritários em solução mudaram sua ordem de estabilidade em relação a fase isolada.

Como as quatro primeiras geometrias apresentaram uma população relativamente maior do que as demais (juntas correspondem a aproximadamente

65% do equilíbrio), as mesmas foram analisadas com maior atenção. Suas representações de Newman estão na Figura 25 abaixo.

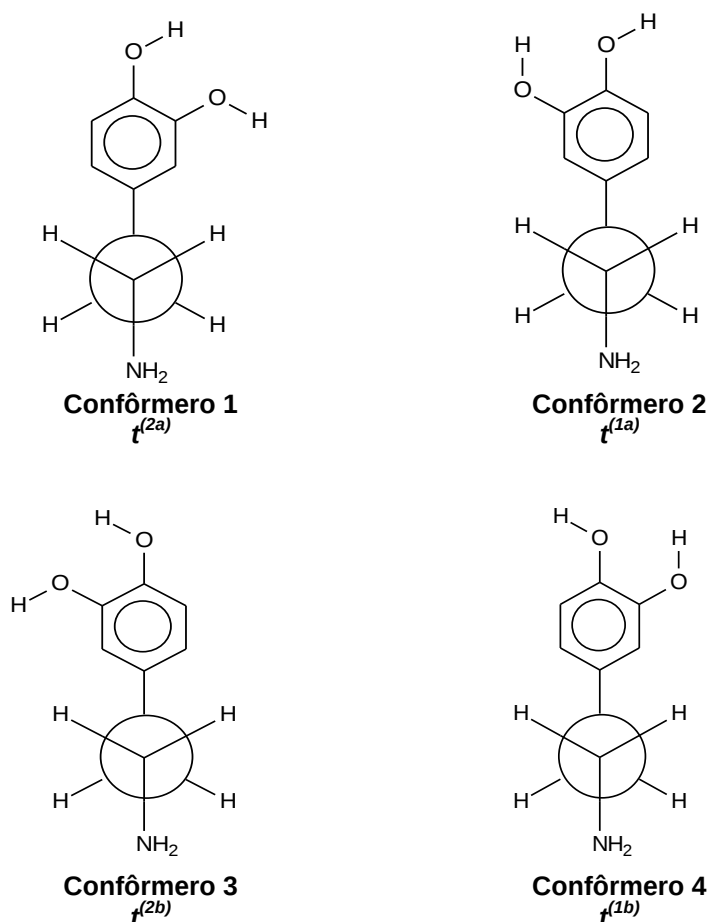


Figura 25- Projeções de Newman para os quatro conformêros mais estáveis da dopamina, em solução aquosa.

Fonte: A autora.

Algo notável observado foi que as únicas quatro conformações das dezesseis do equilíbrio conformacional da DA que apresentaram um arranjo *trans* foram as mais estáveis em solução aquosa, como já descrito na literatura. (ALISTE; CASSELS, 2001; FAUSTO; RIBEIRO; LIMA, 1999; PARK; LEE, N.-S.; LEE, S.-H., 2000). Além disso, estudos anteriores de RMN também apontaram para uma população mais significativa das formas *trans*, em solução aquosa. (BUSTARD; EGAN, 1971; URBAN; CRAMER; FAMINI, 1992). Deste modo, a principal diferença entre os cálculos em fase isolada e em meio aquoso foi a relativa estabilização das geometrias *trans* neste último. Este prevalecimento ocorreu, pois com este tipo de organização *trans* (menor impedimento estérico) as geometrias são melhores solvatadas pelas moléculas de água. Houve em solução aquosa, portanto, um favorecimento da interação soluto-solvente.

Os parâmetros estruturais, energias e momentos de dipolo para estes quatro confôrmeros mais estáveis estão demonstrados na Tabela 4.

Tabela 4- Parâmetros estruturais^a, energias calculadas (*E*) e momentos de dipolo (μ) para os quatro confôrmeros mais estáveis da dopamina (forma neutra), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p) em solução aquosa (25°C).

(continua)

Parâmetros	1	2	3	4
r (C-N)	1,459	1,458	1,459	1,459
r (C ₁ -C ₂)	1,530	1,530	1,531	1,530
r (C ₂ -C ₃)	1,514	1,514	1,514	1,514
r (C ₃ -C ₄)	1,393	1,393	1,393	1,393
r (C ₄ -C ₅)	1,382	1,381	1,383	1,381
r (C ₅ -C ₆)	1,391	1,391	1,391	1,392
r (C ₆ -C ₇)	1,380	1,380	1,380	1,380
r (C ₇ -C ₈)	1,389	1,389	1,389	1,390
r (C ₈ -C ₃)	1,387	1,387	1,387	1,387
r (C ₄ -H)	1,080	1,079	1,081	1,079
r (C ₇ -H)	1,078	1,080	1,078	1,080
r (C ₈ -H)	1,078	1,078	1,079	1,078
r (C ₅ -O)	1,353	1,352	1,353	1,352
r (C ₆ -O)	1,354	1,355	1,354	1,355
r (O ₁ -H)	0,958	0,953	0,958	0,953
r (O ₂ -H)	0,953	0,958	0,953	0,958
r (N-H) ^b	1,005	1,005	1,005	1,005
∠ N-C ₁ -C ₂	110,7	110,7	110,7	110,7
∠ C ₁ -C ₂ -C ₃	112,9	112,9	112,9	112,9
∠ C ₂ -C ₃ -C ₄	120,4	120,5	120,6	120,3
∠ C ₃ -C ₄ -H	120,3	120,5	120,3	120,5
∠ C ₃ -C ₄ -C ₅	121,2	121,3	121,2	121,3
∠ C ₄ -C ₅ -O	123,4	118,6	123,3	118,6
∠ C ₅ -O-H	112,0	112,2	110,2	109,5
∠ O-C ₅ -C ₆	116,6	121,6	112,0	121,6
∠ C ₅ -C ₆ -C ₇	119,1	119,4	119,1	119,4
∠ C ₆ -O-H	112,1	111,9	112,1	111,9
∠ O-C ₆ -C ₇	119,0	123,8	119,0	123,9
∠ C ₆ -C ₇ -H	118,7	119,1	118,7	119,1
∠ C ₆ -C ₇ -C ₈	120,6	120,5	120,6	120,5
∠ C ₇ -C ₈ -H	119,1	119,1	119,1	119,1
∠ C ₇ -C ₈ -C ₃	120,8	120,7	120,8	120,7

(conclusão)				
Parâmetros	1	2	3	4
Φ C ₃ -C ₂ -C ₁ -N	180,3	180,1	180,2	180,8
Φ C ₈ -C ₃ -C ₂ -C ₁	267,6	92,5	90,4	264,7
Φ C ₄ -C ₅ -O-H	1,5	182,1	358,8	178,1
Φ C ₇ -C ₆ -O-H	181,3	1,6	179,1	357,4
<i>E</i> (hartrees)	-513,682203	-513,682168	-513,682153	-513,682149
<i>E_{rel}</i> (kcal mol ⁻¹)	0,00	0,02	0,03	0,03
μ (Debyes)	2,77	2,58	4,98	4,99
População (%)	16,87	16,24	15,99	15,93

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes são apresentados.

Fonte: A autora.

Reconhecendo-se que a dopamina é o agonista endógeno dos cinco subtipos de receptores dopaminérgicos conhecidos, pode-se admitir que a afinidade e o reconhecimento molecular pelos diversos sub-tipos de receptores seja reflexo de sua flexibilidade conformacional. Desta forma, pôde-se contabilizar dezesseis conformações distintas para a mesma, que podem contribuir para diferentes formas de reconhecimento molecular para um ou mais subtipos de receptores dopaminérgicos. (MENEGATTI, 2004).

4.2 DOPAMINA (FORMA PROTONADA)

O estudo da forma protonada da dopamina (DA⁺) é justificado pelo fato que a mesma existe nesta forma em uma extensão superior a 95% em pH fisiológico.

Existe alguma controvérsia em relação à metodologia mais apropriada para estudar a influência do meio nas propriedades de moléculas biologicamente ativas, especialmente para espécies carregadas. Com maior ênfase para estas moléculas, utilizando cálculos em fase isolada (no vácuo), a importância das interações eletrostáticas intramoleculares é provavelmente superestimada. Por outro lado, uma análise do efeito do solvente é importante para verificar a distribuição e energias relativas das suas possíveis conformações, onde as interações estabilizantes em fase isolada perdem relevância. No entanto, acredita-se que a interação fármaco-

receptor ocorre em microambientes apolares, e isto justifica cálculos em fase isolada mesmo em moléculas carregadas. (ALISTE; CASSELS, 2001).

4.2.1 Estudo teórico em fase isolada

Para o estudo conformacional da DA^+ os mesmos quatro ângulos diedros girados (Figura 26) na forma neutra e a mesma metodologia foram levados em consideração:

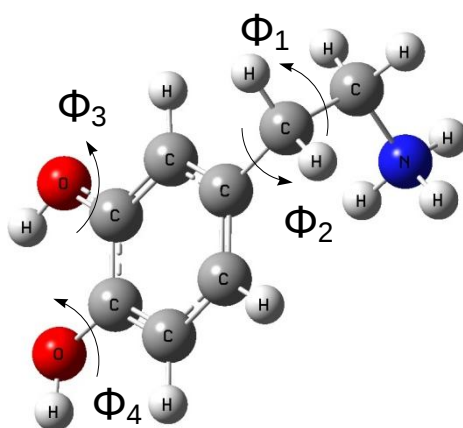


Figura 26- Ângulos diedros que determinaram os isômeros da dopamina protonada. Os ângulos Φ_1 e Φ_2 diferenciam conformeros *trans* (*t*) e *gauche* (*g+* e *g-*), ao passo que Φ_3 e Φ_4 descrevem a orientação dos grupos hidroxila, levando aos expoentes 1a e 1b.

Fonte: A autora.

A forma protonada apresenta um grau de liberdade conformacional a menos do que a neutra (relacionado à rotação ao redor da ligação C-N), o que não dá um aumento de isômeros. Devido a isto, esta apresentou oito conformações envolvidas em seu equilíbrio conformacional, metade do que foi encontrado para a forma neutra. As energias, energias relativas e populações das mesmas estão demonstradas na Tabela a seguir.

Tabela 5- Energias, energias relativas e populações para os confômeros da dopamina protonada, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confômero	Energia (Hartrees)	ΔE_{rel} (kcal.mol ⁻¹)	População (%)
1 e imagem especular ($g^{+(1b)}$)	-513,820631	0,00	24,17
2 e imagem especular ($g^{+(1a)}$)	-513,820579	0,03	22,87
3 e imagem especular ($g^{-(1a)}$)	-513,818280	1,47	2,01
4 e imagem especular ($g^{-(1b)}$)	-513,817570	1,92	0,95

Fonte: A autora.

Das oito conformações encontradas, existem quatro pares de imagens especulares, onde cada par apresenta a mesma energia, e consequentemente, a mesma população. Para facilitar a visualização de cada geometria, as projeções de Newman de um representante de cada par foram construídas (Figura 27).

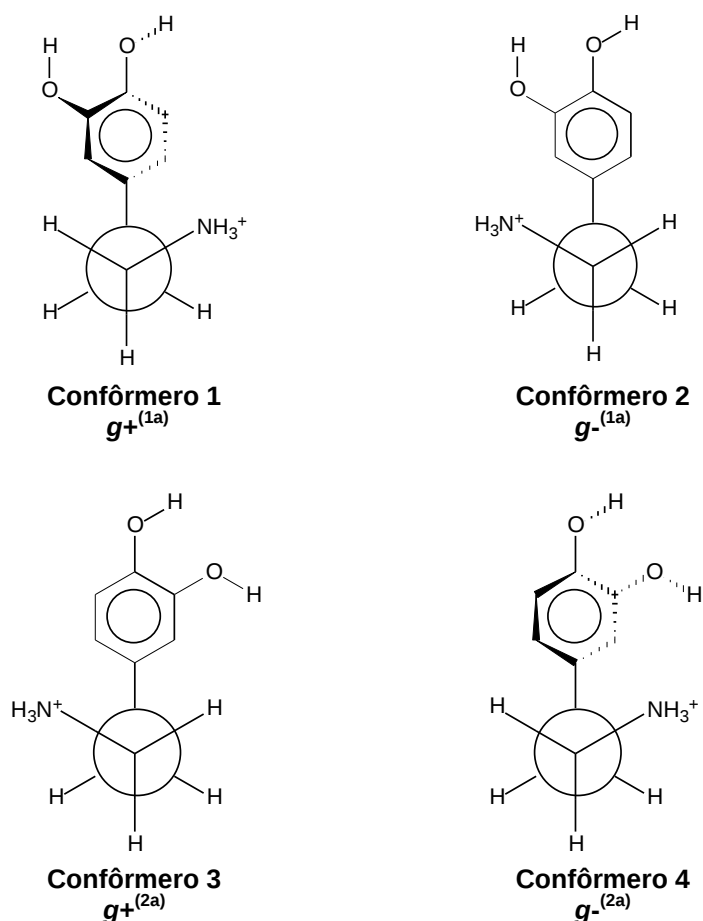


Figura 27- Projeções de Newman para um confômero representante de cada par de imagens especulares da dopamina protonada, em fase isolada.

Fonte: A autora.

A semelhança mais notável em todas estas conformações envolvidas no equilíbrio conformacional da molécula foi que todas estavam em um arranjo *gauche* entre o grupo protonado amônio (NH_3^+) e o anel catecólico. Este comportamento pode ser explicado em termos de atração Coulômbica entre o grupo amônio positivamente carregado e o grupo catecólico negativamente carregado. Assim como também ocorreu com a forma neutra, os confôrmeros da DA^+ também apresentaram em comum o fato dos grupos hidroxilas estarem no mesmo plano do anel aromático.

Além disso, como mencionado anteriormente na seção 4.1.1 (dopamina neutra), na DA^+ o hidrogênio de uma hidroxila também ficou direcionado para o oxigênio da outra (Figura 24.c e 24.d), indicando a possível existência de uma ligação de hidrogênio intramolecular, que foi confirmada pela distância entre os átomos envolvidos (Tabela 6). (ROZAS, 2007; WONG; BERNACKI; JACOBSON, 2005).

Tabela 6- Distâncias interatômicas (em Angstrom – Å) entre o oxigênio de uma hidroxila e hidrogênio de outra envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confôrmero	Distância entre H-O---H-O
1 e imagem especular	2,188
2 e imagem especular	2,193
3 e imagem especular	2,197
4 e imagem especular	2,205

Fonte: A autora.

Como visualizado na Tabela 5, os dois primeiros pares de imagens especulares (**1** e **2**) apresentaram populações muito mais significativas do que os outros dois, correspondendo a quase 95% do equilíbrio conformacional. Além disso, pode-se dizer que como estes majoritários tiveram energias muito próximas, eles praticamente representam equilíbrio. Esta maior estabilidade pode estar relacionada com o fato de que tais geometrias apresentaram as menores distâncias entre os átomos oxigênio de uma hidroxila e hidrogênio da outra envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular. Deste modo, os valores obtidos para esta distância interatômica revelaram que, com o aumento da distância, ocorreu um aumento na energia relativa da molécula.

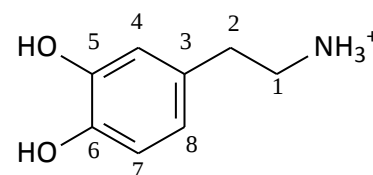
Para tentar explicar outro efeito estabilizante relacionado ao comportamento conformacional observado foram realizados cálculos de *NBO*. A análise desses cálculos mostrou que as interações hiperconjugativas não desempenharam nenhum efeito significativo na estabilidade dos confôrmeros majoritários, pois as energias das interações de todos os confôrmeros do equilíbrio foram semelhantes. Dessa forma, o que governou o equilíbrio para este composto foi a distância existente entre os átomos envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular, discutido anteriormente.

Os parâmetros geométricos e momentos de dipolo para os quatro confôrmeros majoritários estão apresentados na Tabela 7, junto com as energias, energias relativas e correspondentes populações.

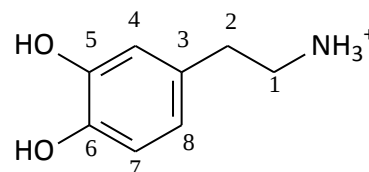
Tabela 7- Parâmetros estruturais^a, energias calculadas (*E*) e momentos de dipolo (μ) para os quatro confôrmeros mais estáveis da dopamina (forma protonada), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C).

(continua)

Parâmetros	1 e imagem especular	2 e imagem especular
r (C-N)	1,512	1,512
r (C ₁ -C ₂)	1,528	1,529
r (C ₂ -C ₃)	1,516	1,515
r (C ₃ -C ₄)	1,398	1,395
r (C ₄ -C ₅)	1,377	1,381
r (C ₅ -C ₆)	1,400	1,395
r (C ₆ -C ₇)	1,373	1,378
r (C ₇ -C ₈)	1,394	1,389
r (C ₈ -C ₃)	1,382	1,384
r (C ₄ -H)	1,076	1,077
r (C ₇ -H)	1,076	1,076
r (C ₈ -H)	1,076	1,076
r (C ₅ -O)	1,334	1,336
r (C ₆ -O)	1,347	1,348
r (O ₁ -H)	0,945	0,945
r (O ₂ -H)	0,942	0,942
r (N-H) ^b	1,010	1,010
$\angle$ N-C ₁ -C ₂	110,1	110,3
$\angle$ C ₁ -C ₂ -C ₃	112,7	112,6
$\angle$ C ₂ -C ₃ -C ₄	120,1	119,9
$\angle$ C ₃ -C ₄ -H	121,5	121,4



(conclusão)		
Parâmetros	1 e imagem especular	2 e imagem especular
$\angle C_3-C_4-C_5$	120,9	121,0
$\angle C_4-C_5-O$	119,3	119,1
$\angle C_5-O-H$	111,0	111,0
$\angle O-C_5-C_6$	121,1	121,4
$\angle C_5-C_6-C_7$	119,9	119,9
$\angle C_6-O-H$	113,0	113,0
$\angle O-C_6-C_7$	124,9	124,8
$\angle C_6-C_7-H$	119,9	119,7
$\angle C_6-C_7-C_8$	120,2	120,4
$\angle C_7-C_8-H$	118,9	119,0
$\angle C_7-C_8-C_3$	120,4	120,3
$\phi C_3-C_2-C_1-N$	53,0	54,8
$\phi C_8-C_3-C_2-C_1$	114,1	77,2
ϕC_4-C_5-O-H	176,3	176,0
ϕC_7-C_6-O-H	8,7	8,8
E (hartrees)	-513,820631	-513,820579
E_{rel} (kcal mol ⁻¹)	0,00	0,03
μ (Debyes)	11,21	10,66
População (%)	24,17	22,87



^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes são apresentados.

Fonte: A autora.

4.2.2 Estudo teórico com solvatação

Dando sequência ao estudo, as oito geometrias envolvidas no equilíbrio conformacional da DA⁺ foram submetidas a cálculos de solvatação em meio aquoso. Os momentos de dipolo encontrados a partir destes cálculos e as populações em fase isolada e em solução aquosa de cada par de imagens especulares estão na Tabela seguinte.

Tabela 8- Momentos de dipolo e populações em fase isolada e em solução aquosa dos confôrmeros da dopamina protonada, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

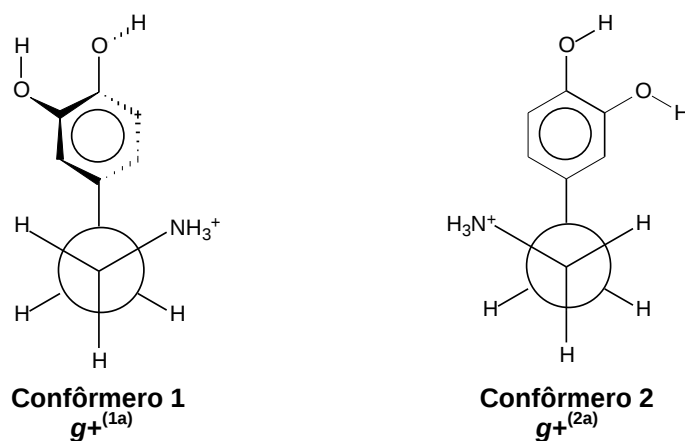
Confôrmero (ordem de estabilidade em solução)	μ (Debye)	População em fase isolada (%)	População em solução aquosa (%)
1 e imagem especular ($g^{+(1a)}$)	14,67	24,17	15,52
2 e imagem especular ($g^{+(2a)}$)	16,76	2,01	12,54
3 e imagem especular ($g^{-(1a)}$)	14,21	22,87	11,93
4 e imagem especular ($g^{-(2a)}$)	16,95	0,95	10,01

Fonte: A autora.

De acordo com os dados apresentados acima, observou-se que as populações de todos os confôrmeros tornaram-se muito próximas em solução aquosa. Isto foi resultado das geometrias apresentarem praticamente as mesmas energias neste meio polar (água). Notou-se, também, que houve um aumento significativo nas populações dos pares **2** e **4** em relação a fase isolada. Como tais pares apresentaram os maiores momentos de dipolo, ou seja, foram os confôrmeros mais polares do equilíbrio conformacional, ao passar da fase isolada (meio apolar) para o meio aquoso que é extremamente polar, ocorreu um grande favorecimento na população destas estruturas.

De acordo com esta Tabela, pôde-se demonstrar que a solvatação teve uma forte influência sobre o equilíbrio conformacional deste composto, pois apesar do confôrmero majoritário ter sido o mesmo em fase isolada e em solução aquosa, houve grande alteração na distribuição populacional de todas as conformações.

Para visualizar estas conformações, foram construídas suas projeções de Newman, conforme mostra a Figura seguinte.



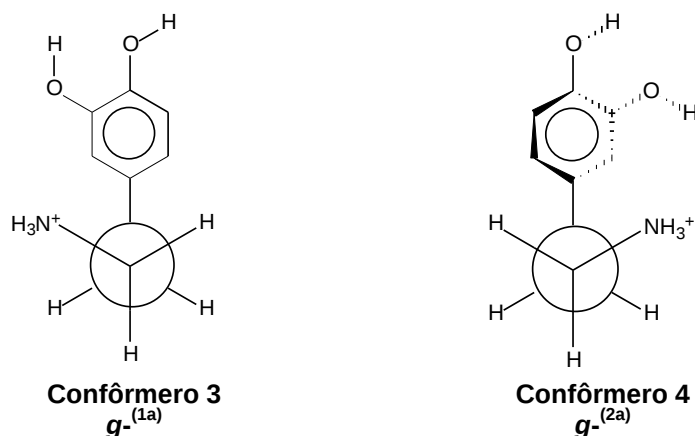


Figura 28- Projeções de Newman para um conformero representante de cada par de imagens especulares da dopamina protonada, em solução aquosa.

Fonte: A autora.

Diferentemente do que foi notado em fase isolada, a menor distância entre os átomos envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular não foi o fator de maior estabilidade para os conformeros. Em meio aquoso, as conformações mais estáveis adotaram um arranjo *gauche* distal (Figura 22), ou seja, onde os grupos NH₃⁺ e catecol estão em *gauche*, mas em lados opostos. O fato de estarem em *gauche* deve-se a atração Coulômbica, que é o que rege o equilíbrio conformacional da DA⁺. Já o arranjo distal das duas conformações mais estáveis em solução aquosa ocorreu, pois houve a diminuição da força de interação entre os grupos NH₃⁺ e catecol neste meio (visto que em fase isolada as interações intramoleculares são superestimadas). Em solução aquosa, estes grupos carregados são melhores solvatados pelas moléculas de água com este tipo de organização de menor impedimento estérico. Portanto, houve, em meio aquoso, um favorecimento da interação soluto-solvente.

Finalmente, os parâmetros geométricos e momentos de dipolo para um representante de cada um dos quatro pares de imagens especulares estão apresentados na Tabela 9, junto com as energias relativas e correspondentes populações.

Tabela 9- Parâmetros estruturais^a, energias calculadas (*E*) e momentos de dipolo (μ) para um representante de cada par de imagens especulares da dopamina (forma protonada), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em solução aquosa (25°C).

(continua)

Parâmetros	1	2	3	4
r (C-N)	1,496	1,496	1,496	1,496
r (C ₁ -C ₂)	1,525	1,526	1,525	1,525
r (C ₂ -C ₃)	1,515	1,515	1,516	1,516
r (C ₃ -C ₄)	1,395	1,395	1,390	1,391
r (C ₄ -C ₅)	1,378	1,379	1,384	1,384
r (C ₅ -C ₆)	1,396	1,396	1,390	1,390
r (C ₆ -C ₇)	1,378	1,377	1,383	1,382
r (C ₇ -C ₈)	1,391	1,391	1,386	1,386
r (C ₈ -C ₃)	1,383	1,383	1,389	1,388
r (C ₄ -H)	1,079	1,081	1,079	1,080
r (C ₇ -H)	1,079	1,078	1,080	1,078
r (C ₈ -H)	1,078	1,079	1,079	1,079
r (C ₅ -O)	1,349	1,350	1,350	1,351
r (C ₆ -O)	1,351	1,351	1,352	1,351
r (O ₁ -H)	0,953	0,959	0,953	0,958
r (O ₂ -H)	0,958	0,953	0,958	0,953
r (N-H) ^b	1,016	1,016	1,016	1,016
∠ N-C ₁ -C ₂	111,8	111,9	111,9	111,9
∠ C ₁ -C ₂ -C ₃	114,4	114,5	114,4	114,4
∠ C ₂ -C ₃ -C ₄	120,4	120,3	120,4	120,3
∠ C ₃ -C ₄ -H	120,9	120,5	120,7	120,4
∠ C ₃ -C ₄ -C ₅	121,1	121,0	121,2	121,1
∠ C ₄ -C ₅ -O	118,7	123,5	118,4	123,3
∠ C ₅ -O-H	112,3	112,2	112,3	112,1
∠ O-C ₅ -C ₆	121,6	116,4	121,9	116,7
∠ C ₅ -C ₆ -C ₇	119,5	119,3	119,5	119,2
∠ C ₆ -O-H	112,0	112,3	112,0	112,3
∠ O-C ₆ -C ₇	123,9	119,1	123,7	118,8
∠ C ₆ -C ₇ -H	119,2	118,9	119,1	118,7
∠ C ₆ -C ₇ -C ₈	120,4	120,5	120,6	120,7
∠ C ₇ -C ₈ -H	119,1	119,1	119,1	119,1
∠ C ₇ -C ₈ -C ₃	120,5	120,6	120,5	120,5
Φ C ₃ -C ₂ -C ₁ -N	299,3	62,6	61,3	298,5
Φ C ₈ -C ₃ -C ₂ -C ₁	113,5	250,0	67,8	292,4
Φ C ₄ -C ₅ -O-H	184,7	1,8	185,2	2,0
Φ C ₇ -C ₆ -O-H	1,5	186,6	0,3	186,6

(conclusão)				
Parâmetros	1	2	3	4
E (hartrees)	-513,820631	-513,820579	-513,818280	-513,817569
E_{rel} (kcal mol ⁻¹)	0,00	0,03	1,47	1,92
μ (Debyes)	11,21	10,65	12,57	12,54
População (%)	24,17	22,87	2,01	0,95

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes são apresentados.

Fonte: A autora.

Como a DA⁺ é solúvel em DMSO e metanol, também realizamos cálculos de otimização com rotina de solvatação nestes solventes, a fim de compararmos os resultados experimentais com os teóricos. As populações de um representante de cada par de imagens especulares da DA⁺ nestes solventes estão demonstradas a seguir, juntamente com os valores já demonstrados em água, na qual o composto também é solúvel.

Tabela 10- Populações para um confômero representante de cada par de imagens especulares da dopamina protonada, em solução aquosa ($\epsilon=78,3$), DMSO ($\epsilon=46,7$) e metanol ($\epsilon=32,6$), calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confômero (ordem de estabilidade em solução)	População em água (%)	População em DMSO (%)	População em metanol (%)
1 e imagem especular ($g^{+(1a)}$)	15,52	15,47	16,50
2 e imagem especular ($g^{+(2a)}$)	12,54	12,58	12,53
3 e imagem especular ($g^{-(1a)}$)	11,93	11,91	11,94
4 e imagem especular ($g^{-(2a)}$)	10,01	10,04	9,03

Fonte: A autora.

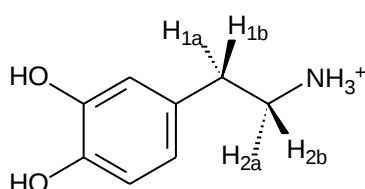
De acordo com estes valores, pode-se dizer que com a mudança de solvente praticamente não houve variações nas populações dos rotâmeros, diferentemente do que ocorreu relacionando-se a fase aquosa com a isolada, visto anteriormente. Enfatizamos a solvatação em água, pois a mesma é o principal componente do sangue, visto que a molécula em estudo apresenta atividade biológica.

4.2.3 Experimentos de RMN

4.2.3.1 Análise do efeito do solvente

Segundo a curva de Karplus (Figura 16) sabe-se que a constante de acoplamento ($^3J_{HH}$) é dependente do ângulo diedro entre estes hidrogênios. Além disto, como já foi citado na seção 1.3.2, esta constante observada no espectro de RMN é uma média ponderada entre as J dos rotâmeros, e a população destas espécies podem ser alteradas com a mudança da polaridade do meio. Sendo assim, com o objetivo de avaliar o comportamento conformacional da DA^+ , espectros de RMN de 1H nos solventes, metanol (Anexo A), dimetilsulfóxido (Anexo B) e água (Anexo C), foram obtidos e as respectivas constantes de acoplamento determinadas. A escolha dos solventes levou em consideração a maior faixa de variação de polaridade possível, mas a solubilidade do composto mostrou-se um fator limitante para esta escolha, visto que em diversos solventes, tais como CCl_4 , $CHCl_3$, CH_2Cl_2 , CH_3CN e acetona, este composto não mostrou-se solúvel.

A Figura 29 mostra o acoplamento que ocorre entre os hidrogênios analisados (H_1 e H_2) através de três ($^3J_{H_1H_2}$) ligações σ , envolvendo os ângulos diedros Φ .



Onde:

- Φ_1 : H_{1a} , C_1 , C_2 , H_{2a}
- Φ_2 : H_{1a} , C_1 , C_2 , H_{2b}
- Φ_3 : H_{1b} , C_1 , C_2 , H_{2a}
- Φ_4 : H_{1b} , C_1 , C_2 , H_{2b}

Figura 29- Acoplamento entre os hidrogênios H_1 e H_2 da dopamina protonada.
Fonte: A autora.

Os ângulos diedros Φ dos confôrmeros envolvidos no equilíbrio conformacional da DA^+ foram analisados, através do Programa Gaussian 03 (FRISCH et al., 2004), e encontram-se demonstrados na Tabela 11.

Tabela 11- Valores dos ângulos diedros^a Φ de um confômero^b representante de cada par de imagem especular envolvidos no equilíbrio conformacional da dopamina protonada, em fase isolada, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

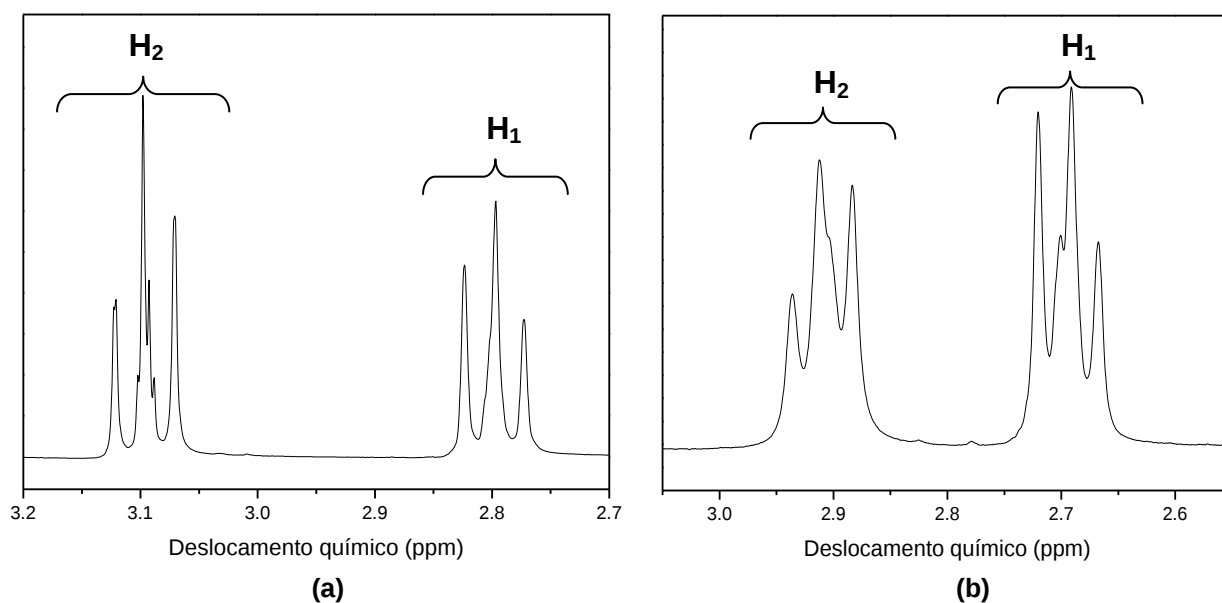
Confômero	Φ_1	Φ_2	Φ_3	Φ_4
1	49,2	172,7	-65,8	57,7
2	50,7	174,2	-64,2	59,3
3	51,0	174,5	-63,8	59,7
4	48,1	171,5	-66,6	56,8

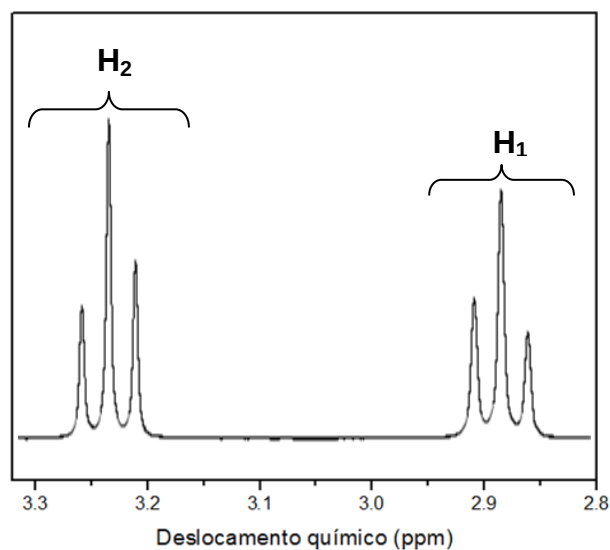
^a valores dos ângulos diedros em graus; ^b ordem de estabilidade em fase isolada.

Fonte: A autora.

Como observou-se na Tabela 11, os ângulos diedros Φ dos confômeros da dopamina protonada apresentaram valores muito semelhantes entre si. Isso pôde também ser notado através das projeções de Newman (Figura 28) das conformações envolvidas no equilíbrio conformacional.

Na Figura 30 são mostradas as expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{H_1H_2}$, em CD₃OD, DMSO-d₆ e D₂O. As multiplicidades destes sinais (dois dubleto de dubletos, dd) comprovaram a existência destas interações.





(c)

Figura 30- Expansões dos acoplamentos $^3J_{H_1H_2}$ da dopamina protonada em (a) CD_3OD , (b) $DMSO-d_6$ e (c) D_2O .

Fonte: A autora.

A seguir, na Tabela 12 estão apresentados os valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento analisadas para a DA^+ obtidas através da RMN de 1H em diferentes solventes.

Tabela 12- Deslocamentos químicos (ppm) e constantes de acoplamento (Hz) experimentais para a dopamina protonada em diferentes solventes.

Solvente	ϵ^a	δH_1	δH_2	$^3J_{H_1H_2}$
CD_3OD	32,6	2,80	3,10	6,96 / 8,14 / 7,99 / 7,24
$DMSO-d_6$	46,7	2,70	2,91	7,13 / 8,64 / 5,90 / 7,08
D_2O	78,3	2,89	3,24	7,20 / 7,20 / 7,20 / 7,20

^a Constantes dielétricas.

Fonte: A autora.

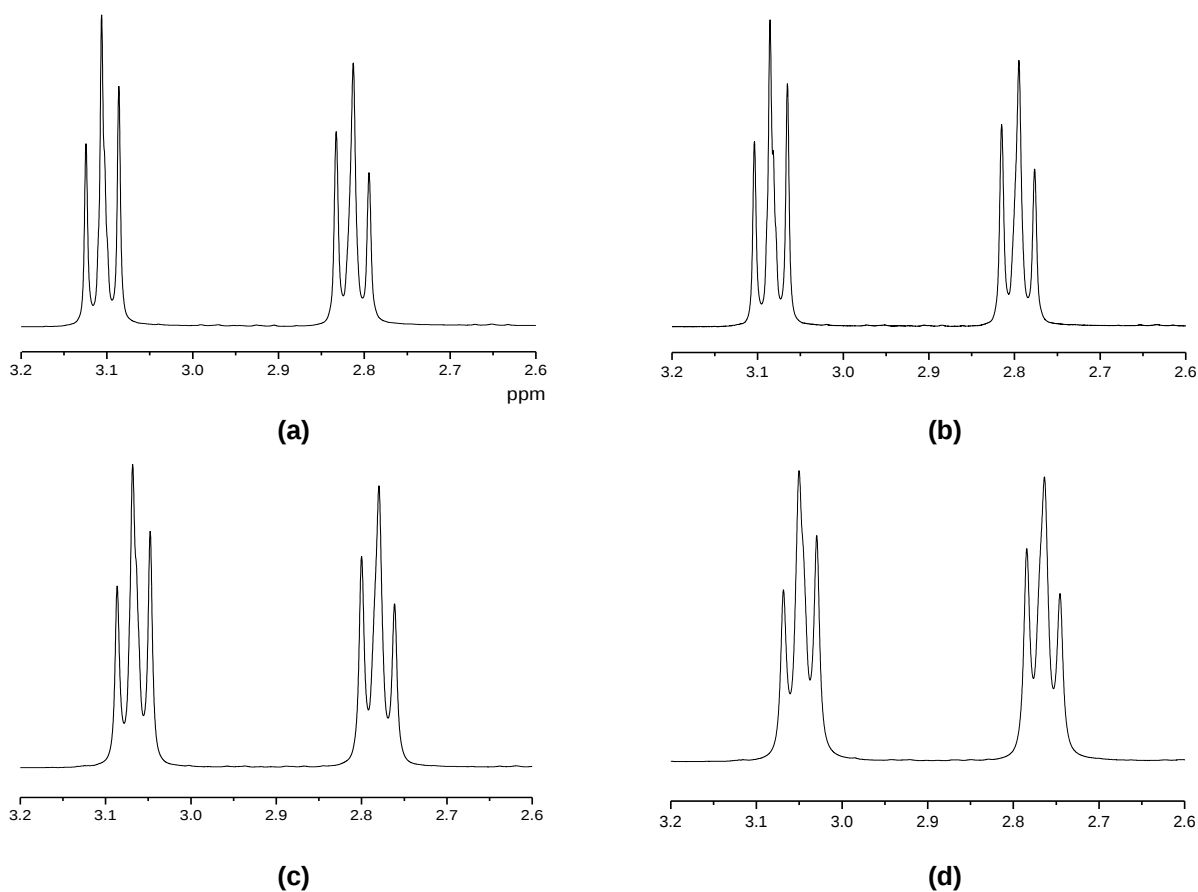
Embora as $^3J_{HH}$ obtidas no espectro em D_2O sejam coerentes, ou seja, apresentaram mesmo valor, nos demais casos (metanol e DMSO) não verificamos a mesma tendência. As diferenças nos valores obtidas para estes dois solventes provavelmente estão relacionadas ao acoplamento com o grupo amônio (PAVIA et al., 2010), pois nestes casos a velocidade de troca intermolecular dos prótons do nitrogênio é mais lenta, fazendo com que os sinais não fiquem tão resolvidos. Sob tais condições ficou difícil de obter uma média entre os valores para observação de alterações no equilíbrio.

Diante dos valores expostos não foi possível relacionar o efeito do solvente com possíveis mudanças nas populações dos confôrmeros.

4.2.3.2 Análise do efeito da temperatura

Como a dopamina protonada é solúvel apenas em água, dimetilsulfóxido e metanol, para este tipo de experimento apenas o metanol foi utilizado, pois os pontos de congelamento da água (0°C) e dimetilsulfóxido ($18,5^{\circ}\text{C}$) limitaram nossas opções.

As expansões dos acoplamentos $^3J_{\text{HH}}$ nas diferentes temperaturas encontram-se demonstradas na Figura 31.



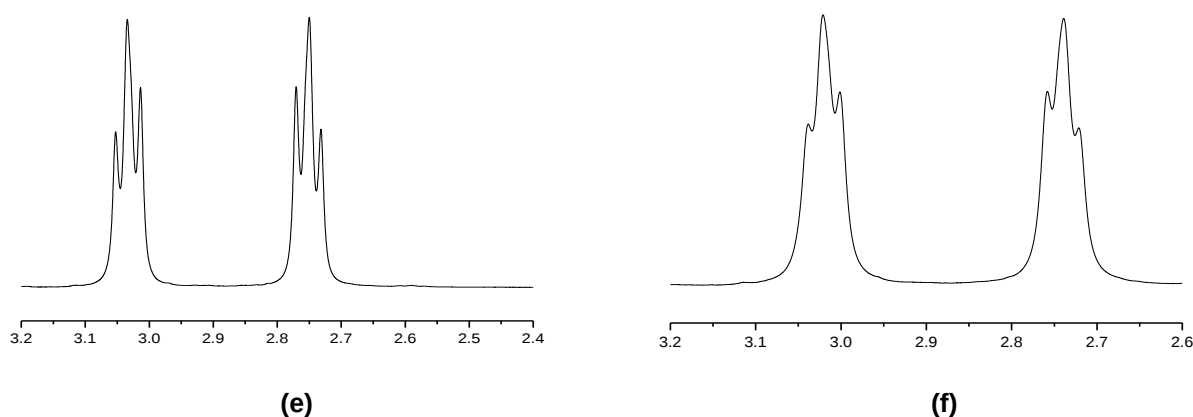


Figura 31 – Expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{H_1H_2}$ da dopamina protonada em metanol a (a) 20°C, (b) 0°C, (c) -20°C, (d) -40°C, (e) -60°C e (f) -80°C.
Fonte: A autora.

A Tabela 13 mostra os resultados de RMN obtidos a temperaturas variáveis em metanol.

Tabela 13- Dependência do acoplamento $^3J_{H_1H_2}$ (Hz) e dos deslocamentos químicos (ppm) com a temperatura para a dopamina protonada em metanol.

Temperatura (°C)	δH_1	δH_2	$^3J_{H_1H_2}$
20	2,81	3,11	7,30 / 8,03 / 7,96 / 7,36
0	2,79	3,09	7,29 / 8,13 / 8,08 / 7,32
-20	2,78	3,07	7,28 / 8,20 / 8,14 / 7,31
-40	2,76	3,05	7,27 / 8,27 / 8,23 / 7,28
-60	2,75	3,03	7,28 / 8,24 / 8,21 / 7,28
-80	2,74	3,02	6,94 / 7,90 / 7,66 / 7,09

Fonte: A autora.

De acordo com estes dados, novamente não verificamos uma tendência nas $^3J_{HH}$ obtidas nos espectros em metanol em diferentes temperaturas. As diferenças nos valores obtidas para estas temperaturas provavelmente estão relacionadas ao acoplamento com o grupo amônio (PAVIA et al., 2010), assim como explicado anteriormente. Sob tais condições não foi possível obter uma média entre os valores para observação de alterações no equilíbrio. Desta maneira, diante dos valores expostos não foi possível relacionar o efeito da temperatura com possíveis mudanças nas populações dos confôrmeros.

Os dados deste experimento a baixas temperaturas estão em concordância com os dados obtidos a temperatura ambiente, em vários solventes.

À temperatura ambiente, a interconversão entre os confôrmeros geralmente é rápida em relação à escala de tempo da RMN, e os principais parâmetros (deslocamento químico e a constante de acoplamento) resultantes são de fato, uma média de todas as conformações, levando-se em conta a fração molar de cada uma delas no equilíbrio, como já descrito anteriormente. Entretanto, em temperaturas mais baixas, a interconversão torna-se mais lenta e as conformações podem então serem observadas individualmente. Deste modo, através das áreas dos sinais é possível quantificar cada confôrmero. Porém, neste caso da DA^+ não foi observado separação dos sinais devido à baixa barreira energética dessa interconversão e à grande quantidade de confôrmeros presentes no equilíbrio, fato confirmado através dos cálculos teóricos.

4.3 L-DOPA (FORMA NEUTRA)

Existiu um grande interesse de nossa parte em se estudar as conformações da L-dopa, pois a determinação de sua estrutura molecular e do seu equilíbrio conformacional são uma importante parte do estudo da estrutura e papel da melanina e seus precursores. Além disso, deve-se ao fato dela ser utilizada como um importante fármaco no tratamento da doença de Parkinson.

4.3.1 Estudo teórico em fase isolada

Para a avaliação do equilíbrio conformacional da L-dopa, os ângulos diedros da Figura 32 foram girados e as SEPs foram construídas. Após os cálculos de otimização, dez geometrias foram encontradas, estando suas energias, energias relativas e populações demonstradas na Tabela 14.

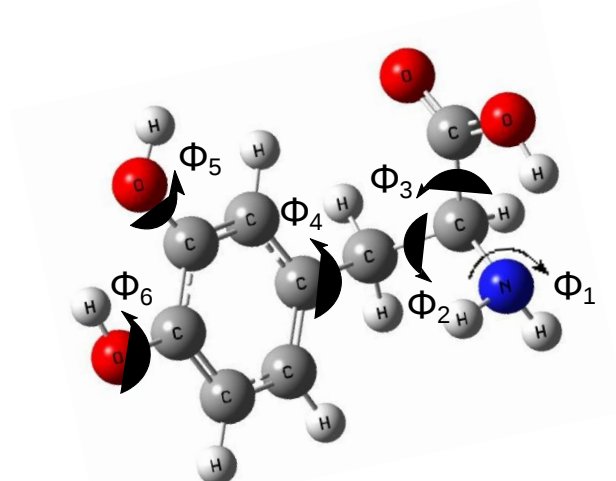


Figura 32- Ângulos diedros que determinaram os isômeros da L-dopa. Os ângulos Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 e Φ_4 diferenciam conformêmeros *trans* (*t*) e *gauche* (*g*⁺ e *g*⁻, em relação aos grupos mais volumosos catecol e carboxílico), ao passo que Φ_5 e Φ_6 descrevem a orientação dos grupos hidroxila, levando aos expoentes 1a, 1b, 2a e 2b.

Fonte: A autora.

Tabela 14- Energias, energias relativas e populações para os conformêmeros da L-dopa, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Conformêmero	Energia (Hartrees)	ΔE_{rel} (kcal.mol ⁻¹)	População (%)
1 (<i>g</i> ^{-(2a)})	-701,116768	0,00	33,73
2 (<i>g</i> ^{+(1a)})	-701,115812	0,60	12,25
3 (<i>t</i> ^(2b))	-701,115634	0,71	10,14
4 (<i>t</i> ^(1b))	-701,115573	0,75	9,51
5 (<i>t</i> ^(1a))	-701,115548	0,77	9,26
6 (<i>t</i> ^(1a))	-701,115480	0,81	8,61
7 (<i>t</i> ^(2b))	-701,115362	0,88	7,60
8 (<i>t</i> ^(2a))	-701,114743	1,27	3,94
9 (<i>g</i> ^{-(1b)})	-701,114443	1,46	2,88
10 (<i>g</i> ^{+(2b)})	-701,114135	1,65	2,08

Fonte: A autora.

Do mesmo modo que observado para a dopamina, um fato em comum entre as geometrias da L-dopa é que os dois grupos hidroxila do anel catecol são coplanares ao anel aromático. A forma como tais grupos estão dispostos um em relação ao outro, com o hidrogênio de uma hidroxila direcionado para o oxigênio da outra, indica a possível existência de uma ligação de hidrogênio intramolecular. Esta ligação foi comprovada medindo-se a distância entre esses átomos, que foi de aproximadamente 2,2 Å para todas as conformações, já que para se ter a mesma,

essa distância teria de ser no máximo 3,0 Å. (ROZAS, 2007; WONG; BERNACKI; JACOBSON, 2005).

Das dez conformações acima, uma delas (Figura 33) apresentou uma população mais significativa do que as demais (Tabela 14), correspondendo a aproximadamente 34% do equilíbrio conformacional do composto em estudo.

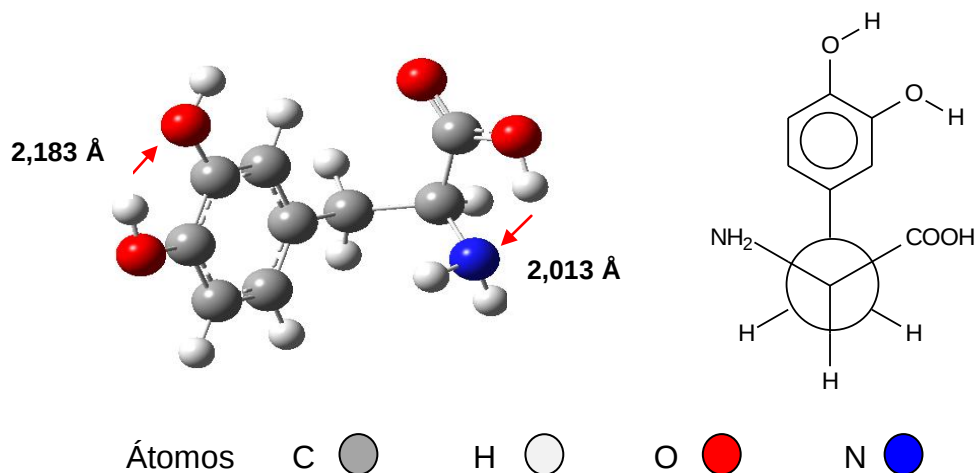


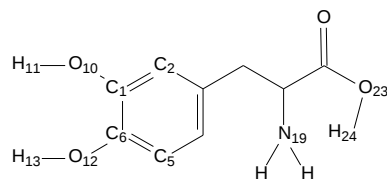
Figura 33- Representação espacial e respectiva projeção de Newman do confôrmero mais estável da L-dopa, em fase isolada.

Fonte: A autora.

A maior estabilidade deste confôrmero em relação aos demais está no fato do mesmo apresentar a menor distância (2,013 Å) entre o hidrogênio da carboxila e o átomo de nitrogênio, indicando a existência de mais uma ligação de hidrogênio intramolecular, considerada forte. (ROZAS, 2007). Este direcionamento pôde ser observado na Figura acima. Apesar desta geometria apresentar um grande impedimento estérico (arranjo *gauche*), estando os três grupos volumosos posicionados do mesmo lado, a menor distância entre os átomos envolvidos nesta segunda ligação de hidrogênio, neste caso, foi mais estabilizante do que o fator estérico.

A fim de elucidar outro fator estabilizante relacionado a algum tipo de efeito hiperconjugativo, foram realizados cálculos de *NBO* para os sete confôrmeros mais estáveis. Os resultados das principais interações estão descritos na Tabela 15.

Tabela 15- Principais interações hiperconjugativas (kcal.mol⁻¹) para os sete confôrmeros mais estáveis da L-dopa neutra calculadas por *NBO*, em nível de teoria HF/6-311++G(d,p).



Interações	1	2	3	4	5	6	7
$n_{O10(2)} \rightarrow \pi^*_{C1-C2}$	31,05	34,81	31,41	35,05	35,95	35,91	31,08
$n_{O12(2)} \rightarrow \pi^*_{C5-C6}$	34,80	29,92	34,74	29,14	30,34	29,94	34,39
$n_{O10(1)} \rightarrow \pi^*_{O12-H13}$	0,65	-	0,64	-	-	-	0,63
$n_{O12(1)} \rightarrow \sigma^*_{O10-H11}$	-	0,62	-	0,63	0,66	0,65	-
$n_{N19(1)} \rightarrow \sigma^*_{O23-H24}$	7,23	7,19	5,70	6,41	5,89	6,37	6,47
Σ (kcal.mol ⁻¹)	73,73	72,54	72,49	71,23	72,84	72,87	72,57

Fonte: A autora.

Os resultados de *NBO* mostraram que as interações do tipo $n_{O10(2)} \rightarrow \pi^*_{C1-C2}$ e $n_{O12(2)} \rightarrow \pi^*_{C5-C6}$ foram as mais efetivas para a estabilização da energia do sistema. Apesar disso, estas interações não foram determinantes na estabilização do majoritário, porque apresentaram valores muito próximos para os confôrmeros.

As hiperconjugações $n_{O10(1)} \rightarrow \pi^*_{O12-H13}$ e $n_{O12(1)} \rightarrow \sigma^*_{O10-H11}$ envolvendo as hidroxilas também são muito próximas, e são referentes às ligações de hidrogênio intramoleculares. Como descrito anteriormente, as distâncias entre estes átomos foi aproximadamente a mesma em todos os confôrmeros e, conseqüentemente, estas energias de interações também.

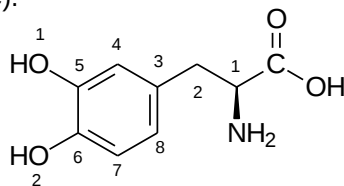
Já a interação $n_{N19(1)} \rightarrow \sigma^*_{O23-H24}$ é a que mais difere entre as conformações e está relacionada à segunda ligação de hidrogênio intramolecular existente na molécula. Esta interação apresenta a maior energia no confôrmero mais estável, mesmo que muito próxima a do confôrmero **2**, pois nesta primeira geometria a distância entre os átomos participantes da ligação de hidrogênio intramolecular foi a menor dentre os demais isômeros.

Apesar da pequena diferença na somatória das principais energias de interações hiperconjugativas entre estes confôrmeros, o **1** foi o que apresentou um maior valor, contribuindo para a sua maior estabilidade. Deste modo, estes cálculos

de *NBO* ajudaram a relacionar a estabilidade conformacional com as interações hiperconjugativas.

Finalmente, os dados estruturais, energia e momento de dipolo da conformação mais estável estão apresentados na Tabela 16 abaixo.

Tabela 16- Parâmetros estruturais^a, energia calculada (*E*) e momento de dipolo (μ) para o confôrmero mais estável da L-dopa (forma neutra), otimizado em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C).



Parâmetros	Valores	Parâmetros	Valores
r (C ₁ -N)	1,456	$\angle$ C ₁ -C ₂ -C ₃	114,8
r (C ₁ -C(O))	1,535	$\angle$ C ₂ -C ₃ -C ₄	120,7
r (C=O)	1,183	$\angle$ C ₃ -C ₄ -H	119,9
r (C(O)-O)	1,315	$\angle$ C ₃ -C ₄ -C ₅	120,7
r (O-H)	0,950	$\angle$ C ₄ -C ₅ -O	123,6
r (C ₁ -C ₂)	1,542	$\angle$ C ₅ -O-H	111,7
r (C ₂ -C ₃)	1,516	$\angle$ O-C ₅ -C ₆	115,7
r (C ₃ -C ₄)	1,395	$\angle$ C ₅ -C ₆ -C ₇	119,0
r (C ₄ -C ₅)	1,376	$\angle$ C ₆ -O-H	110,0
r (C ₅ -C ₆)	1,392	$\angle$ O-C ₆ -C ₇	120,0
r (C ₆ -C ₇)	1,376	$\angle$ C ₆ -C ₇ -H	118,7
r (C ₇ -C ₈)	1,390	$\angle$ C ₆ -C ₇ -C ₈	120,3
r (C ₈ -C ₃)	1,385	$\angle$ C ₇ -C ₈ -H	118,8
r (C ₄ -H)	1,076	$\angle$ C ₇ -C ₈ -C ₃	121,2
r (C ₇ -H)	1,075	Φ C ₂ -C ₁ -N-H	322,9 e 84,2
r (C ₈ -H)	1,076	Φ C(O)-C ₁ -C ₂ -C ₃	287,7
r (C ₅ -O)	1,358	Φ C ₂ -C ₁ -C=O	324,0
r (C ₆ -O)	1,347	Φ C ₈ -C ₃ -C ₂ -C ₁	261,0
r (O ₁ -H)	0,941	Φ C ₄ -C ₅ -O-H	354,6
r (O ₂ -H)	0,943	Φ C ₇ -C ₆ -O-H	179,9
r (N-H) ^b	1,000	E (hartrees)	-701,116768
$\angle$ N-C ₁ -C ₂	115,7	μ (Debyes)	3,43
$\angle$ C ₁ -C-O	115,3	População (%)	33,73
$\angle$ C-O-H	108,6		

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes são apresentados.

Fonte: A autora.

4.3.2 Estudo teórico com solvatação

As dez estruturas mais estáveis obtidas na otimização foram submetidas a cálculos de solvatação em meio aquoso. Os valores de energia encontrados com estes cálculos, assim como as energias relativas e as populações dos confôrmeros estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17- Energias, energias relativas e populações para os confôrmeros da L-dopa, em solução aquosa, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confôrmero (ordem de estabilidade em solução)	Confôrmero (ordem de estabilidade em fase isolada)	Energia (Hartrees)	ΔE_{rel} (kcal.mol ⁻¹)	População (%)
1 (<i>t</i> ^(1a))	6	-701,369958	0,00	22,28
2 (<i>t</i> ^(1b))	4	-701,369802	0,10	18,89
3 (<i>t</i> ^(2b))	7	-701,369779	0,11	18,45
4 (<i>t</i> ^(2a))	8	-701,369701	0,16	16,98
5 (<i>t</i> ^(1a))	5	-701,369129	0,52	9,26
6 (<i>t</i> ^(2b))	3	-701,368981	0,61	7,92
7 (<i>g</i> ^{-(2a)})	1	-701,367548	1,51	1,74
8 (<i>g</i> ^{+(1a)})	2	-701,367457	1,57	1,58
9 (<i>g</i> ^{-(1b)})	9	-701,367455	1,57	1,57
10 (<i>g</i> ^{+(2b)})	10	-701,367301	1,67	1,33

Fonte: A autora.

Agora, diferentemente do que ocorreu na fase isolada, nenhuma geometria apresentou uma população significativa, mas sim, pode-se dizer que quatro destas são as mais estáveis do equilíbrio conformacional da L-dopa, em solução aquosa. Assim como ocorreu para a forma neutra da dopamina, em solução aquosa as geometrias *trans*, que não eram as majoritárias em fase isolada, passaram a ser mais estáveis do que as *gauche*. Portanto, com a mudança do meio, o equilíbrio conformacional desta molécula é afetado.

A principal diferença entre os cálculos em fase isolada e em meio aquoso foi a relativa estabilização das geometrias *trans* neste último. Em solução, ocorreu a quebra da interação entre os grupos COOH e catecol, pois estes grupos volumosos são agora solvatados pelas moléculas de água, o que não ocorria em fase isolada.

Com este tipo de organização *trans* (menor impedimento estérico) as geometrias são melhores solvatadas pelas moléculas de água e, por isso, foram favorecidas. Houve em solução aquosa, portanto, um favorecimento da interação soluto-solvente.

As projeções de Newman para as quatro estruturas majoritárias estão demonstradas abaixo.

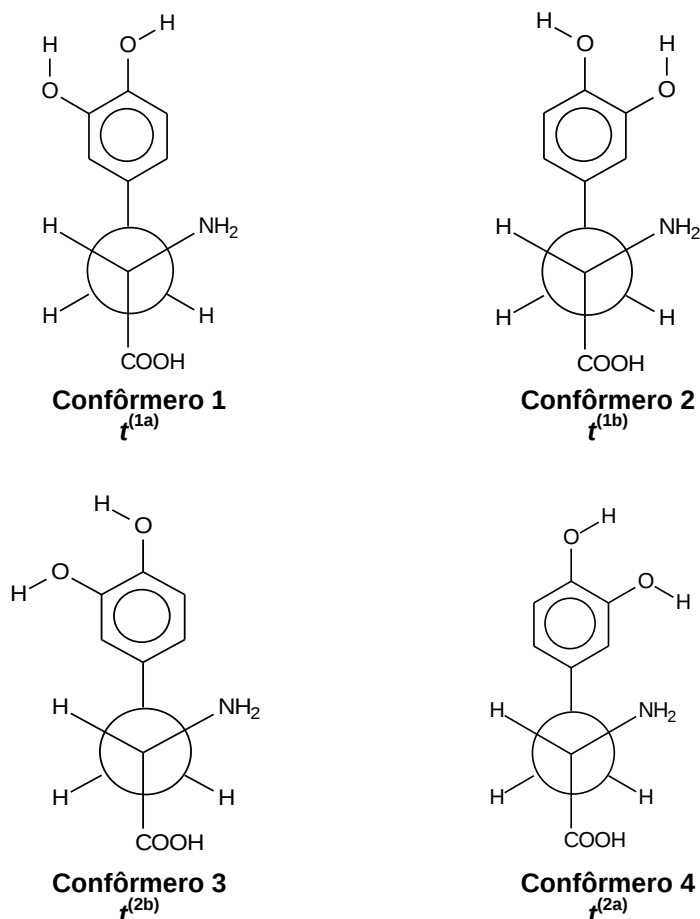


Figura 34- Projeções de Newman para os quatro confôrmers mais estáveis da L-dopa, em solução aquosa.

Fonte: A autora.

A semelhança entre estes quatro confôrmers está no posicionamento dos grupos amino e carboxila, além de que todos estão em um arranjo *trans* entre os grupos mais volumosos COOH e catecol. Outra similaridade é a existência de duas ligações de hidrogênio intramoleculares em cada: a primeira se encontra entre o hidrogênio de uma hidroxila e o oxigênio da outra, e a segunda, entre o hidrogênio da carboxila e o nitrogênio, comprovadas pela distância entre os átomos envolvidos. Todos estes três fatores aliados são os que regem a maior estabilidade destes quatro confôrmers em relação aos demais envolvidos no equilíbrio conformacional.

Já a diferença entre estas geometrias é a posição dos grupos hidroxila do anel aromático, apesar de que todas apresentam uma ligação de hidrogênio, como explicado anteriormente. Porém como é pequena a energia relativa entre o primeiro confômero mais estável e o quarto (0,16 kcal.mol⁻¹), o posicionamento dos grupos hidroxilas não exerce grande papel nesta diferença de estabilidade. Os dados estruturais, energias e momentos de dipolo destes confômeros estão na Tabela 18 a seguir.

Tabela 18- Parâmetros estruturais^a, energias calculadas (*E*) e momentos de dipolo (μ) para os quatro confômeros mais estáveis da L-dopa (forma neutra), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em solução aquosa (25°C).

(continua)

Parâmetros	1	2	3	4
r (C ₁ -N)	1,452	1,451	1,451	1,452
r (C ₁ -C(O))	1,528	1,529	1,529	1,529
r (C=O)	1,193	1,193	1,193	1,193
r (C(O)-O)	1,312	1,312	1,311	1,312
r (O-H)	0,957	0,957	0,957	0,957
r (C ₁ -C ₂)	1,539	1,538	1,539	1,538
r (C ₂ -C ₃)	1,514	1,515	1,514	1,515
r (C ₃ -C ₄)	1,395	1,390	1,394	1,390
r (C ₄ -C ₅)	1,379	1,384	1,380	1,385
r (C ₅ -C ₆)	1,394	1,389	1,394	1,389
r (C ₆ -C ₇)	1,378	1,382	1,378	1,382
r (C ₇ -C ₈)	1,391	1,387	1,391	1,386
r (C ₈ -C ₃)	1,384	1,389	1,384	1,389
r (C ₄ -H)	1,079	1,079	1,081	1,080
r (C ₇ -H)	1,080	1,080	1,078	1,078
r (C ₈ -H)	1,078	1,079	1,078	1,079
r (C ₅ -O)	1,351	1,352	1,352	1,353
r (C ₆ -O)	1,354	1,354	1,353	1,353
r (O ₁ -H)	0,953	0,953	0,958	0,958
r (O ₂ -H)	0,958	0,958	0,953	0,953
r (N-H) ^b	1,005	1,005	1,005	1,005
∠ N-C ₁ -C ₂	115,6	115,7	115,6	115,6
∠ C ₁ -C-O	116,2	116,1	116,1	116,1
∠ C-O-H	110,1	110,3	110,1	110,2
∠ C ₁ -C ₂ -C ₃	113,1	113,0	113,1	113,0
∠ C ₂ -C ₃ -C ₄	120,2	120,9	120,1	121,0
∠ C ₃ -C ₄ -H	120,7	120,6	120,4	120,4

(conclusão)				
Parâmetros	1	2	3	4
$\angle C_3-C_4-C_5$	121,3	121,3	121,2	121,1
$\angle C_4-C_5-O$	118,6	118,4	123,4	123,3
$\angle C_5-O-H$	112,2	112,2	112,1	111,9
$\angle O-C_5-C_6$	121,5	121,8	116,5	116,7
$\angle C_5-C_6-C_7$	119,4	119,4	119,2	119,2
$\angle C_6-O-H$	111,9	111,9	112,1	112,2
$\angle O-C_6-C_7$	123,9	123,7	119,1	118,9
$\angle C_6-C_7-H$	119,2	119,1	118,8	118,7
$\angle C_6-C_7-C_8$	120,5	120,5	120,6	120,6
$\angle C_7-C_8-H$	119,1	119,1	119,1	119,1
$\angle C_7-C_8-C_3$	120,7	120,6	120,7	120,7
ϕC_2-C_1-N-H	322,6 e 82,9	321,1 e 81,6	323,2 e 83,8	321,9 e 82,5
$\phi C(O)-C_1-C_2-C_3$	172,0	171,7	170,6	170,5
$\phi C_2-C_1-C=O$	323,9	326,5	323,8	325,5
$\phi C_8-C_3-C_2-C_1$	108,1	284,5	104,7	285,0
ϕC_4-C_5-O-H	183,7	179,0	359,5	1,4
ϕC_7-C_6-O-H	3,2	1,7	175,0	183,2
E (hartrees)	-701,369958	-701,369802	-701,369779	-701,369701
E_{rel} (kcal mol ⁻¹)	0,00	0,10	0,11	0,16
μ (Debyes)	9,78	8,05	4,63	7,25
População (%)	22,28	18,89	18,45	16,98

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes foram apresentados.

Fonte: A autora.

Enfatizamos a solvatação em água, pois a mesma é o principal componente do sangue, visto que a molécula em estudo apresenta atividade biológica. No entanto, a fim de compararmos os resultados teóricos com os obtidos experimentalmente, realizamos também cálculos de solvatação utilizando o DMSO e metanol como solvente. Os valores de populações encontrados nestes solventes para os dez confôrmers, assim como os mesmos em água, estão demonstrados na Tabela 19 seguinte.

Tabela 19- Populações para os conformêros da L-dopa, em solução aquosa ($\epsilon=78,3$), em DMSO ($\epsilon=46,7$) e metanol ($\epsilon=32,6$), calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confômero (ordem de estabilidade em solução)	População em água (%)	População em DMSO (%)	População em metanol (%)
1 ($t^{(1a)}$)	22,28	21,05	21,71
2 ($t^{(1b)}$)	18,89	16,74	19,11
3 ($t^{(2b)}$)	18,45	18,67	18,13
4 ($t^{(2a)}$)	16,98	15,18	13,66
5 ($t^{(1a)}$)	9,26	11,48	11,11
6 ($t^{(2b)}$)	7,92	9,93	9,80
7 ($g^{-(2a)}$)	1,74	2,43	2,09
8 ($g^{+(1a)}$)	1,58	1,60	1,68
9 ($g^{-(1b)}$)	1,57	1,34	1,53
10 ($g^{+(2b)}$)	1,33	1,58	1,17

Fonte: A autora.

De acordo com estes valores, observa-se que com a mudança de solvente não houve variações significativas nas populações dos rotâmeros, apenas discretas alterações, diferentemente do que ocorreu relacionando-se a fase aquosa com a isolada, visto anteriormente.

4.3.3 Experimentos de RMN

4.3.3.1 Análise do efeito do solvente

Com o objetivo de avaliar o comportamento conformacional da L-dopa, espectros de RMN de ^1H nos diferentes solventes, metanol (Anexo D), dimetilsulfóxido (Anexo E) e água (Anexo F), foram obtidos e as respectivas constantes de acoplamento determinadas. Novamente a escolha dos solventes levou em consideração a maior faixa de variação de polaridade possível, mas a solubilidade deste composto mostrou-se um fator limitante para esta escolha, visto que em diversos solventes, tais como CCl_4 , CHCl_3 , CH_2Cl_2 e acetona, a L-dopa não mostrou-se solúvel.

A Figura 35 mostra o acoplamento ($^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$) que ocorre entre os hidrogênios analisados (H_a , H_b e H) através de três ligações σ , que envolvem os dois ângulos diedros Φ_1 e Φ_2 .

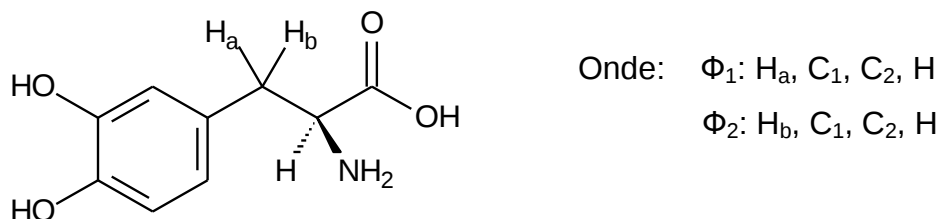


Figura 35- Acoplamento entre os hidrogênios H_a , H_b e H da L-dopa.
 Fonte: A autora.

Os valores dos ângulos diedros Φ_1 e Φ_2 dos confôrmeros envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopa, calculados através do Programa Gaussian 03 (FRISCH et al., 2004) encontram-se demonstrados na Tabela 20.

Tabela 20- Valores dos ângulos diedros^a Φ_1 e Φ_2 dos confôrmeros^b envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopa, em solução aquosa, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confôrmero	Ângulo diedro Φ_1	Ângulo diedro Φ_2
1	-63,3	-178,7
2	-65,0	179,5
3	-65,9	178,7
4	-63,3	-178,5
5	-61,0	-176,9
6	-62,9	-178,7
7	-61,8	53,6
8	-63,1	52,3
9	-64,2	51,3
10	-64,5	50,8

^a valores dos ângulos diedros em graus; ^b ordem de estabilidade em solução aquosa.
 Fonte: A autora.

De acordo com esta Tabela, verifica-se que os seis primeiros confôrmeros apresentam os ângulos correspondentes aos diedros analisados muito parecidos (formas *trans*), assim como os quatro últimos (formas *gauche*). Isto pode dificultar este tipo de análise visto que a $^3J_{\text{HH}}$ é dependente do ângulo diedro e, como ele não

varia entre os confôrmeros, esta $^3J_{HH}$ pode não variar, mesmo que o equilíbrio conformacional do composto seja afetado pela mudança de meio.

Na Figura 36 são mostradas as expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{HaH}$ e $^3J_{HbH}$ nos solventes de diferentes polaridades. As multiplicidades destes sinais (dublete de dubletos, dd) comprovam a existência destas interações. Como os hidrogênios do grupo CH_2 são diastereotópicos, devido ao centro quiral existente ao lado deste carbono, estes apresentam deslocamentos químicos diferentes e acoplam entre si, sendo cada sinal correspondente a um hidrogênio.

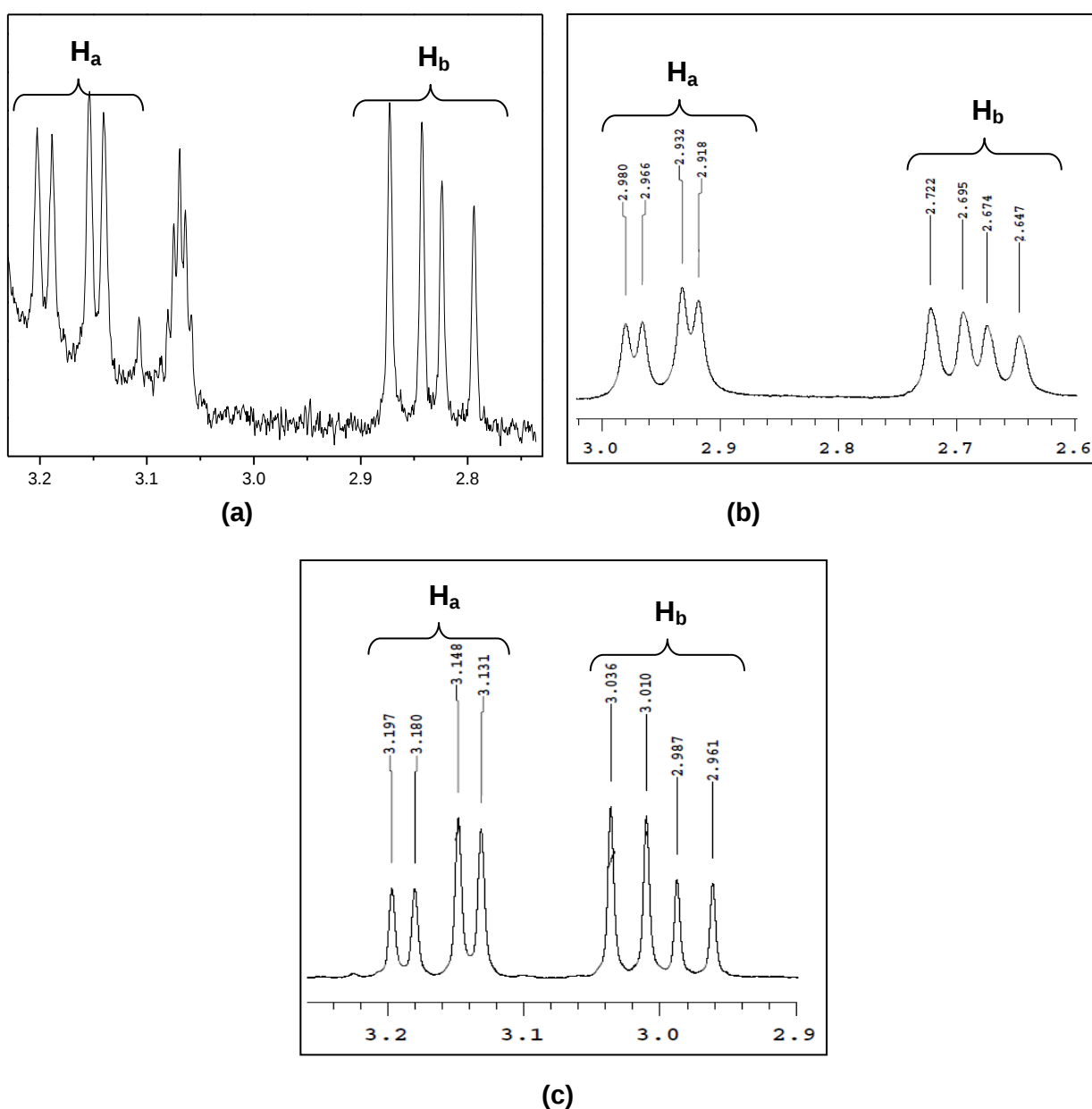


Figura 36- Expansões dos acoplamentos $^3J_{HaH}$ e $^3J_{HbH}$ da L-dopa em (a) CD_3OD , (b) $DMSO-d_6$ e (c) D_2O .

Fonte: A autora.

As expansões dos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ em metanol (Figura 36.a) não ficaram tão bem resolvidas quanto nos outros solventes, pois em metanol a L-dopa não mostrou-se tão solúvel quanto em DMSO e H_2O . Os valores de deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento analisadas da L-dopa, obtidas através da RMN de ^1H nestes solventes, estão demonstrados na Tabela 21.

Tabela 21- Deslocamentos químicos (ppm) e constantes de acoplamento (Hz) experimentais para a L-dopa em diferentes solventes.

Solvente	ϵ	δH_a	δH_b	$^3J_{\text{HaH}}$	$^3J_{\text{HbH}}$
CD_3OD	32,6	3,17	2,83	4,1	9,0
DMSO-d_6	46,7	2,95	2,68	4,2	8,1
D_2O	78,3	3,16	3,00	5,1	7,8

Fonte: A autora.

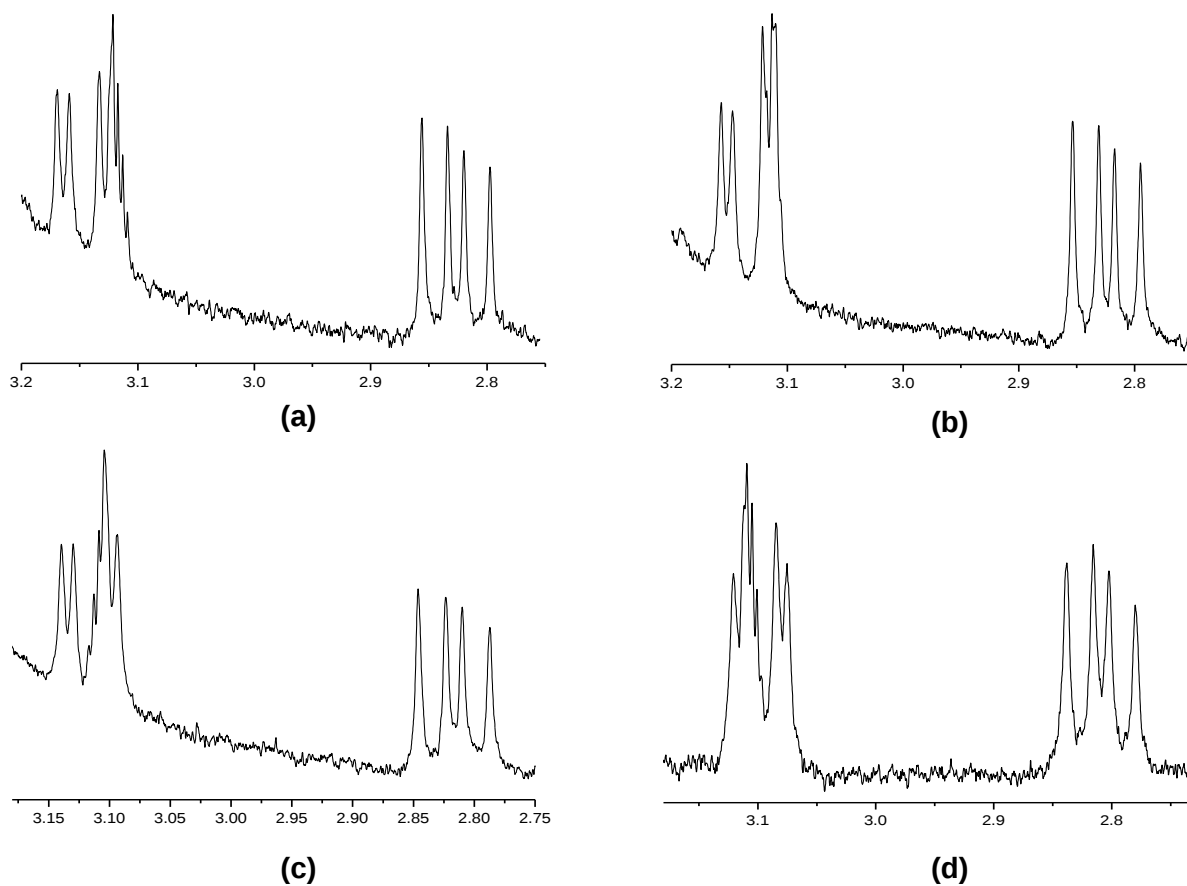
As constantes de acoplamento analisadas exibiram uma pequena variação com o meio. Porém, não verificamos uma tendência nos seus valores com a mudança de solvente, o que está de acordo, devido ao fato dos confôrmeros da L-dopa apresentarem ângulos diedros com valores muito próximos (Tabela 20) e a grande quantidade de conformações envolvidas no equilíbrio.

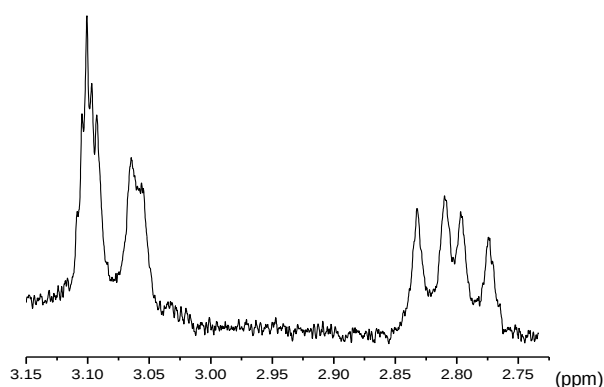
Como verificamos no estudo teórico, a L-dopa apresentou uma alteração no seu equilíbrio conformacional quando mudamos da fase isolada para meio aquoso, havendo a estabilização das conformações *trans* neste último. Já quando foi considerada a solvatação, ao passar de uma solução aquosa para uma solução de DMSO e metanol, observou-se que o equilíbrio praticamente não foi modificado, prevalecendo como majoritárias as formas *trans*. Este fato também pode ser comprovado ao relacionarmos o valor de $^3J_{\text{HbH}}$ com a curva de Karplus (Figura 16), onde constantes de acoplamento com valores acima de 8 Hz são resultado de ângulos diedros próximos de zero ou 180° . Como o diedro zero representa estruturas eclipsadas, e não há este tipo de geometria no equilíbrio, o valor experimental está coerente com as formas alternadas *trans* encontradas teoricamente. Assim sendo, o que se pode afirmar e que está em concordância com os dados teóricos em solução é que os valores de $^3J_{\text{HH}}$ são referentes a arranjos *trans* e não *gauche* como visto em fase isolada.

4.3.3.2 Análise do efeito da temperatura

Como a L-dopa é solúvel apenas em água e dimetilsulfóxido, e apresenta certa solubilidade em metanol, para este experimento foi utilizado o metanol com algumas gotas de DMSO. Por ser a forma neutra (apresentar o grupo NH_2) da L-dopa, apresenta menor solubilidade nestes solventes do que a sua forma protonada (NH_3^+), como veremos na seção 4.4.3.

As expansões dos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ nas diferentes temperaturas encontram-se demonstradas na Figura 37.





(e)

Figura 37 – Expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ da L-dopa em metanol a (a) 20°C, (b) 0°C, (c) -20°C, (d) -40°C e (e) -60°C.

Fonte: A autora.

O metanol apresenta, um dos seus sinais, relacionado aos hidrogênios do grupo metila, em um deslocamento químico bem próximo (3,3 ppm) ao deslocamento químico do acoplamento $^3J_{\text{HaH}}$ (aproximadamente 2,8 ppm). Por este motivo, iremos levar em consideração em nosso trabalho apenas o acoplamento $^3J_{\text{HbH}}$, visto que o mesmo também pode ser utilizado para avaliar o efeito da temperatura no equilíbrio conformacional.

A Tabela 22 mostra os resultados de RMN obtidos a temperaturas variáveis em metanol.

Tabela 22- Dependência dos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ (Hz) e dos deslocamentos químicos (ppm) com a temperatura para a L-dopa em metanol.

Temperatura (°C)	$\delta \text{ H}_b$	$^3J_{\text{HbH}}$
20	2,83	8,9
10	2,83	8,9
0	2,82	9,0
-20	2,82	9,1
-40	2,81	8,9
-60	2,80	9,0

Fonte: A autora.

De acordo com os dados obtidos na Tabela 22, observa-se que praticamente não houve variação da $^3J_{\text{HbH}}$ com a diminuição da temperatura. Assim como ocorreu quando variamos o solvente, não podemos afirmar que não há dependência do equilíbrio conformacional com a mudança do meio, pois os ângulos diedros dos

confômeros são praticamente iguais, o que reflete na constante de acoplamento. Porém, um fato observado que corrobora com os dados teóricos é que esta constante de acoplamento é resultado de um arranjo *trans*. Além disto, os dados deste experimento a baixas temperaturas estão em concordância com os dados obtidos a temperatura ambiente, em vários solventes.

4.3.4 Experimento na região do Infravermelho

Como uma técnica complementar em análise conformacional, utilizamos a espectroscopia na região do Infravermelho para o estudo conformacional da L-dopa frente a diferentes solventes. Para esta análise, foram obtidos espectros em acetonitrila e DMSO, e como já foi descrito na seção 1.3.3, as bandas de absorção utilizadas são as do estiramento da carbonila.

O sinal da absorção é resultado da variação do momento de dipolo da ligação durante a vibração. Como os rotâmeros possuem momentos de dipolo da carbonila diferentes, absorvem em frequências próximas, mas não iguais. Na Figura 38 é possível observar que nos dois solventes a banda da carbonila apresentou-se assimétrica, o que indica a existência de confômeros com frequências próximas.

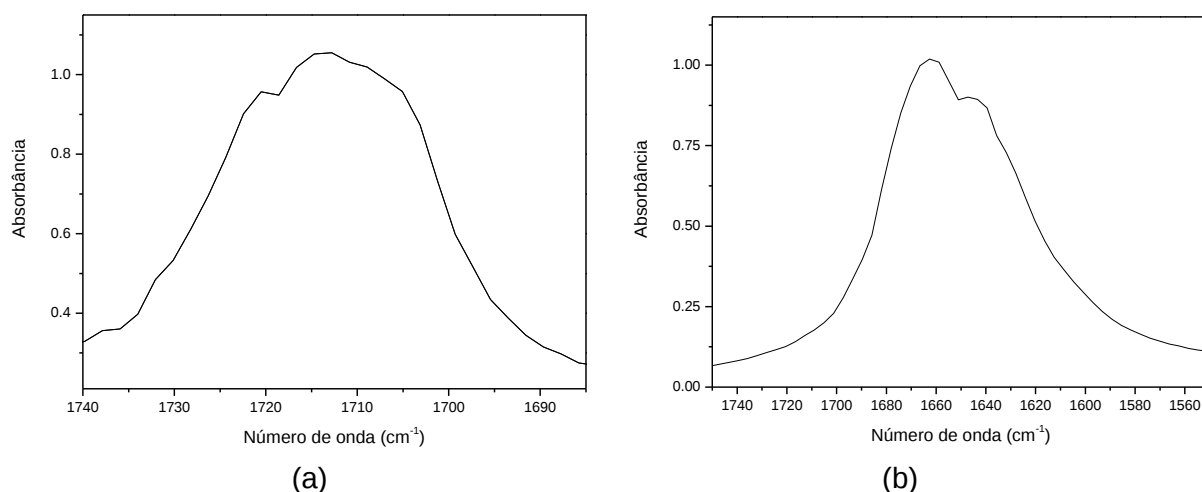


Figura 38- Banda de absorção do estiramento da carbonila no espectro de IV da L-dopa em (a) CH₃CN e (b) DMSO, na região do fundamental.

Fonte: A autora.

Através de um método conhecido como deconvolução, podemos observar cada banda de um confômero separadamente, como visto na Figura 17. No

entanto, este método tem como limitação a análise de duas (ideal) ou até três bandas somente, correspondentes a cada conformação. Como nosso composto tem seu equilíbrio regido por dez isômeros, a deconvolução ficou inviável.

Apesar disso, podemos utilizar esta análise na comprovação da quantidade de confôrmeros envolvidos no equilíbrio, devido à largura e a assimetria da banda da carbonila. Este resultado obtido com a espectroscopia na região do IV foi semelhante ao encontrado pelos cálculos de otimização tanto para a molécula em fase isolada quanto em solução.

Os valores do número de onda (ν) referentes ao estiramento da carbonila para cada confôrmero foram coletados dos cálculos de frequência e estão demonstrados na Tabela a seguir.

Tabela 23- Frequências teóricas referentes ao estiramento carbonila para os rotâmeros envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopa em solução, calculadas em nível de teoria HF/6-311++G(d,p).

Confôrmero	$\nu_{C=O}$ (cm ⁻¹)
1	2013,83
2	2012,89
3	2012,21
4	2013,99
5	2017,30
6	2015,44
7	2001,88
8	2005,92
9	2008,26
10	2007,47

Fonte: A autora.

Analisando os valores teóricos e experimentais, notou-se uma diferença das frequências. Isso ocorreu, pois os cálculos foram realizados considerando a molécula em fase isolada (vácuo), já os valores experimentais foram obtidos em solução. Como em fase isolada não são consideradas interações com o meio, somente as interações da própria molécula, essa discrepância já era esperada. Nota-se, também, que os valores de todos os confôrmeros *trans* (**1** ao **6**) são muito próximos.

4.4 L-DOPA (FORMA PROTONADA)

4.4.1 Estudo teórico em fase isolada

Para o estudo do equilíbrio conformacional da L-dopa protonada (L-dopa⁺), os ângulos diedros da Figura 39 foram girados e o mesmo procedimento realizado anteriormente foi seguido.

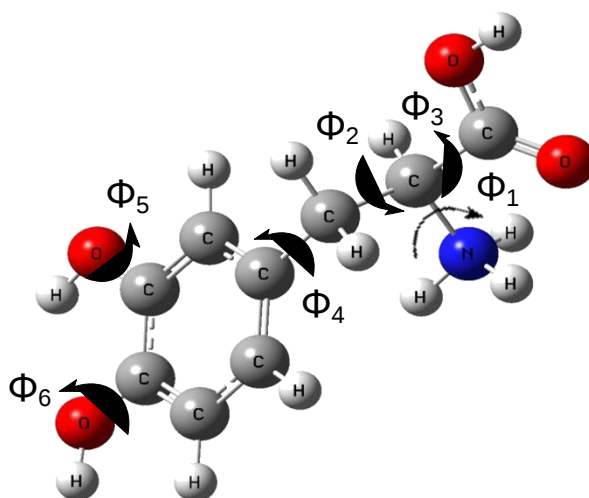


Figura 39- Ângulos diedros que determinaram os isômeros da L-dopa protonada. Os ângulos Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 e Φ_4 diferenciam confôrmeros *trans* (*t*) e *gauche* (*g+* e *g-*) (em relação aos grupos mais volumosos catecol e carboxílico), ao passo que Φ_5 e Φ_6 descrevem a orientação dos grupos hidroxila, levando aos expoentes 1a, 1b, 2a e 2b.

Fonte: A autora.

Após os cálculos de otimização, cinco geometrias foram encontradas. Da mesma maneira que ocorreu para as formas da dopamina, a forma protonada da L-dopa também apresentou um grau de liberdade conformacional a menos que a neutra (relacionado à rotação ao redor da ligação C-N). Isto fez com que o giro deste diedro não acarretasse em um aumento de isômeros, provocando que a forma protonada apresentasse metade do número de conformações que a neutra apresentou.

As energias, energias relativas e populações das mesmas estão demonstradas na Tabela a seguir.

Tabela 24- Energias, energias relativas e populações para os confôrmeros da L-dopa protonada, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confôrmero	Energia (Hartrees)	ΔE_{rel} (kcal.mol ⁻¹)	População (%)
1 (<i>t</i> ^(1a))	-701,474954	0,00	48,36
2 (<i>t</i> ^(1b))	-701,474740	0,13	38,55
3 (<i>g</i> ^{+(1a)})	-701,473222	1,09	7,71
4 (<i>t</i> ^(2b))	-701,472513	1,53	3,64
5 (<i>t</i> ^(2a))	-701,471813	1,97	1,74

Fonte: A autora.

Assim como já foi descrito para as moléculas anteriores, observou-se em comum nas geometrias da L-dopa⁺ que os dois grupos hidroxilas do anel catecol encontraram-se no mesmo plano do anel aromático. Além disso, o modo com que estes grupos ficaram dispostos um em relação ao outro, com o hidrogênio de uma hidroxila direcionado para o oxigênio da outra, indicou a possível existência de uma ligação de hidrogênio intramolecular. A distância entre os átomos envolvidos nesta interação foi de 2,2 Å para todas as conformações, comprovando a existência desta ligação, pois para se ter a mesma, essa distância teria de ser no máximo 3,0 Å. (ROZAS, 2007; WONG; BERNACKI; JACOBSON, 2005).

De acordo com as populações das conformações, houve uma geometria que representou 48,4% do equilíbrio conformacional deste composto, estando demonstrada a seguir. Como a mesma ficou muito próxima de representar metade do equilíbrio conformacional, sendo a majoritária, a ela foi enfatizada esta discussão.

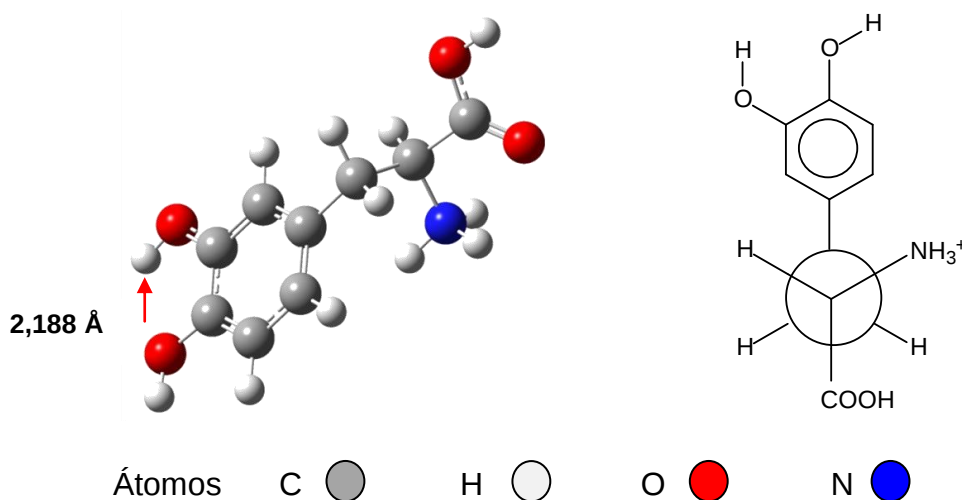


Figura 40- Representação espacial e respectiva projeção de Newman do confôrmero mais estável da L-dopa protonada, em fase isolada.

Fonte: A autora.

Na forma neutra da L-dopa (Figura 41.b), o nitrogênio apresentava um par de elétrons isolados, o qual era o doador na ligação de hidrogênio intramolecular com o hidrogênio da hidroxila do grupo COOH. Agora na L-dopa⁺ (Figura 41.a), o doador desta interação é o oxigênio carbonílico da carboxila e o receptor de densidade eletrônica é um dos hidrogênios ligados ao nitrogênio, como pode ser melhor visualizado na Figura a seguir.

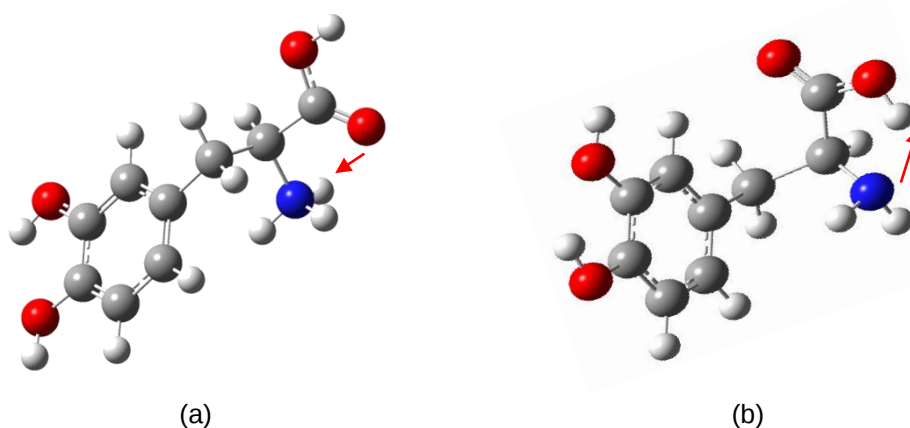


Figura 41- Representação espacial dos confôrmeros mais estáveis da (a) L-dopa protonada e (b) L-dopa, ambos em fase isolada.

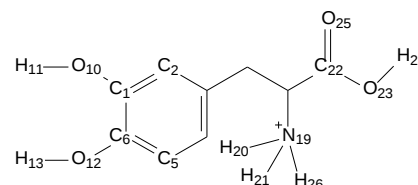
Fonte: A autora.

Este mesmo comportamento descrito apresentado para o confôrmero mais estável da L-dopa⁺ também ocorreu com os demais quatro envolvidos no equilíbrio conformacional. Além disso, todas as conformações estão em uma organização *gauche* entre o grupo catecol e amônio, resultado da atração Coulômbica nestes grupos.

Cálculos de *NBO* foram realizados para os confôrmeros mais estáveis a fim de explicar outro fator que contribua para a estabilização conformacional. A Tabela 25 mostra as principais interações que ocorrem entre os orbitais doadores e receptores dos confôrmeros da L-dopa⁺.

Tabela 25- Principais interações hiperconjugativas (kcal.mol⁻¹) para os cinco confôrmeros estáveis da L-dopa protonada calculadas por NBO, em nível de teoria HF/6-311++G(d,p).

Interações	1	2	3	4	5
$n_{O10(1)} \rightarrow \pi^*_{O12-H13}$	-	-	-	0,61	0,58
$n_{O12(1)} \rightarrow \sigma^*_{O10-H11}$	0,64	0,60	0,61	-	-
$n_{O10(2)} \rightarrow \pi^*_{C1-C2}$	41,15	40,48	40,65	-	-
$n_{O12(2)} \rightarrow \pi^*_{C5-C6}$	-	-	-	40,25	39,47
$n_{O23(2)} \rightarrow \pi^*_{C22-O25}$	73,53	73,19	71,63	73,14	73,47
$n_{O25(2)} \rightarrow \sigma^*_{N19-H20}$	-	0,54	-	-	0,53
$n_{O25(2)} \rightarrow \sigma^*_{N19-H21}$	-	-	0,97	-	-
$n_{O25(2)} \rightarrow \sigma^*_{N19-H26}$	0,51	-	0,52	-	-
Σ (kcal.mol ⁻¹)	115,83	114,81	114,38	114,00	114,05



Fonte: A autora.

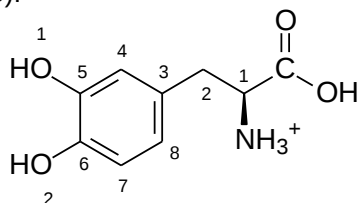
Dentre as interações entre os orbitais observados, as mais energéticas são as que envolvem os pares de elétrons não ligantes dos oxigênios 10, 12 e 23, $n_{O10(2)} \rightarrow \pi^*_{C1-C2}$, $n_{O12(2)} \rightarrow \pi^*_{C5-C6}$ e $n_{O23(2)} \rightarrow \pi^*_{C22-O25}$, principalmente a última.

Novamente, as energias das interações foram muito próximas para todas as conformações. Porém, o maior valor considerando a somatória das interações encontradas nos cálculos de NBO, para o confôrmero **1** (115,83 kcal/mol), torna-o mais estável em relação aos demais.

Mais uma vez podemos dizer que as interações hiperconjugativas colaboraram para a explicação do comportamento conformacional da L-dopa⁺. Além disso, vale ressaltar que a estrutura majoritária (*t*^(1a)) é *trans* com relação ao grupo catecol e carboxílico, e *gauche* com relação ao grupo amônio e catecol como ocorre na maioria dos confôrmeros. Além disso, apresenta um arranjo distal entre estes dois últimos substituintes, o que confere um menor impedimento estérico e, conseqüentemente, contribuindo para sua maior estabilidade. Sendo assim, as interações hiperconjugativas juntamente com a análise da estrutura tridimensional comprovam a maior estabilidade deste confôrmero.

Por fim, os dados estruturais, energia e momento de dipolo da conformação mais estável estão apresentados na Tabela 26.

Tabela 26- Parâmetros estruturais^a, energia calculada (E) e momento de dipolo (μ) para o confôrmero mais estável da L-dopa (forma protonada), otimizado em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C).



Parâmetros	Valores	Parâmetros	Valores
$r(C_1-N)$	1,501	$\angle C_1-C_2-C_3$	112,1
$r(C_1-C(O))$	1,519	$\angle C_2-C_3-C_4$	120,0
$r(C=O)$	1,182	$\angle C_3-C_4-H$	121,5
$r(C(O)-O)$	1,303	$\angle C_3-C_4-C_5$	120,8
$r(O-H)$	0,950	$\angle C_4-C_5-O$	119,3
$r(C_1-C_2)$	1,541	$\angle C_5-O-H$	111,1
$r(C_2-C_3)$	1,514	$\angle O-C_5-C_6$	121,1
$r(C_3-C_4)$	1,397	$\angle C_5-C_6-C_7$	120,0
$r(C_4-C_5)$	1,376	$\angle C_6-O-H$	110,0
$r(C_5-C_6)$	1,401	$\angle O-C_6-C_7$	113,1
$r(C_6-C_7)$	1,373	$\angle C_6-C_7-H$	119,9
$r(C_7-C_8)$	1,395	$\angle C_6-C_7-C_8$	120,2
$r(C_8-C_3)$	1,382	$\angle C_7-C_8-H$	118,9
$r(C_4-H)$	1,076	$\angle C_7-C_8-C_3$	120,3
$r(C_7-H)$	1,076	ϕC_2-C_1-N-H	42,7; 282,1 e 163,9
$r(C_8-H)$	1,076	$\phi C(O)-C_1-C_2-C_3$	187,7
$r(C_5-O)$	1,334	$\phi C_2-C_1-C=O$	109,8
$r(C_6-O)$	1,346	$\phi C_8-C_3-C_2-C_1$	111,3
$r(O_1-H)$	0,945	ϕC_4-C_5-O-H	183,5
$r(O_2-H)$	0,942	ϕC_7-C_6-O-H	7,6
$r(N-H)^b$	1,011	E (hartrees)	-701,474954
$\angle N-C_1-C_2$	110,2	μ (Debyes)	6,06
$\angle C_1-C-O$	111,7	População (%)	48,36
$\angle C-O-H$	111,2		

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes foram apresentados.

Fonte: A autora.

4.4.2 Estudo teórico com solvatação

Após os cálculos de otimização, foram realizados cálculos de otimização incluindo o efeito do solvente (no caso a água) para os cinco confôrmeros presentes no equilíbrio conformacional da L-dopa⁺. Os momentos de dipolo destas geometrias, os novos valores de população, assim como os valores de população em fase isolada estão apresentados na Tabela 27.

Tabela 27- Momentos de dipolo e populações em fase isolada e em solução aquosa dos confôrmeros da L-dopa protonada, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confôrmero (ordem de estabilidade em solução)	μ (Debye)	População em fase isolada (%)	População em solução aquosa (%)
1 (<i>t</i> ^(1a))	8,43	48,36	29,23
2 (<i>t</i> ^(2b))	10,37	3,64	29,17
3 (<i>t</i> ^(1b))	8,50	38,55	19,39
4 (<i>t</i> ^(2a))	10,26	1,74	16,75
5 (<i>g</i> ^{+(1a)})	9,71	7,71	5,46

Fonte: A autora.

Como pôde-se observar na Tabela acima, houve uma grande diferença na distribuição das populações em fase isolada e em solução aquosa. Desta maneira, pode ser dito que a solvatação teve uma forte influência sobre o equilíbrio conformacional da L-dopa⁺. Pode-se afirmar que os momentos de dipolo estiveram, em parte, associados a esta mudança, pois as estruturas **2** e **4**, com os maiores valores deste, apresentaram um aumento bastante significativo em relação a fase isolada. A geometria **2** teve um favorecimento tão grande que passou praticamente a compartilhar a maior estabilidade do equilíbrio conformacional em solução aquosa. Por outro lado, a conformação majoritária, que possui o menor momento de dipolo (8,43 D), teve sua população diminuída com a mudança de meio, mas permaneceu como a mais estável.

Outro fato importante foi que, novamente, assim como ocorreu com as compostos anteriores, em solução aquosa as geometrias *trans* passaram a ser as mais estáveis. Já a única forma *gauche* tornou-se a menos estável das envolvidas no equilíbrio conformacional da L-dopa⁺.

Foram, então, construídas as projeções de Newman para as quatro estruturas majoritárias *trans*, conforme mostrado na Figura a seguir.

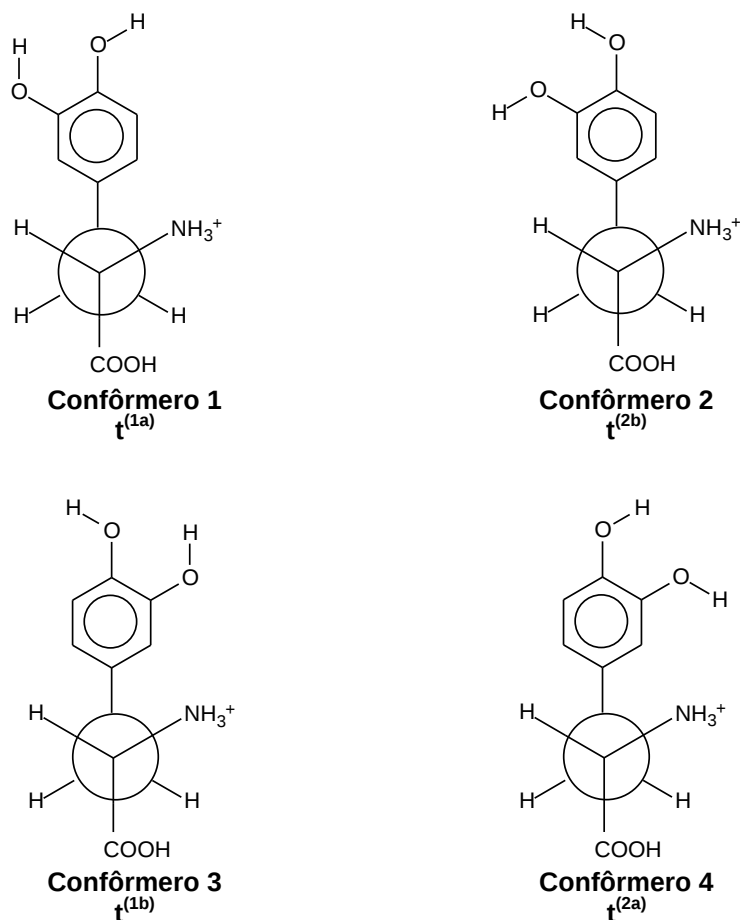


Figura 42- Projeções de Newman para os quatro confôrmeros mais estáveis da L-dopa protonada, em solução aquosa.
Fonte: A autora.

A semelhança entre estes quatro confôrmeros está no posicionamento dos grupos amônio e carboxila, além de que estão em um arranjo *trans* entre os grupos mais volumosos COOH e catecol.

Já a diferença entre estas geometrias é a posição dos grupos hidroxila do anel aromático, apesar de todas apresentarem uma ligação de hidrogênio, como explicado anteriormente.

Em relação às duas conformações mais estáveis, elas praticamente apresentaram as mesmas energias (Tabela 26) e, conseqüentemente, as mesmas populações. Ambas apresentaram em comum o fato de terem adotado um arranjo onde os grupos NH_3^+ e catecol estão em *gauche*, mas em lados opostos (organização distal). O favorecimento deste arranjo ocorreu, pois houve a diminuição da força de interação entre os grupos NH_3^+ e catecol neste meio aquoso (lembrando

que em fase isolada as interações intramoleculares são superestimadas, pois não há nenhuma influência externa, somente existem as interações da própria molécula). Em solução aquosa, estes grupos com grande (catecol) e pequena (NH_3^+) densidades eletrônicas são melhores solvatados pelas moléculas de água com este tipo de organização de menor impedimento estérico. Portanto, houve mais uma vez, em meio aquoso, um favorecimento da interação soluto-solvente.

Os dados estruturais, energias e momentos de dipolo destes confôrmeros estão na Tabela 28 a seguir.

Tabela 28- Parâmetros estruturais^a, energias calculadas (E) e momentos de dipolo (μ) para os dois confôrmeros mais estáveis da L-dopa (forma protonada), otimizados em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em solução aquosa (25°C).

(continua)

Parâmetros	1	2
r (C ₁ -N)	1,488	1,488
r (C ₁ -C(O))	1,518	1,518
r (C=O)	1,188	1,188
r (C(O)-O)	1,301	1,302
r (O-H)	0,970	0,970
r (C ₁ -C ₂)	1,537	1,537
r (C ₂ -C ₃)	1,515	1,514
r (C ₃ -C ₄)	1,395	1,395
r (C ₄ -C ₅)	1,378	1,378
r (C ₅ -C ₆)	1,397	1,397
r (C ₆ -C ₇)	1,377	1,377
r (C ₇ -C ₈)	1,392	1,391
r (C ₈ -C ₃)	1,383	1,383
r (C ₄ -H)	1,080	1,081
r (C ₇ -H)	1,079	1,078
r (C ₈ -H)	1,079	1,079
r (C ₅ -O)	1,349	1,349
r (C ₆ -O)	1,350	1,349
r (O ₁ -H)	0,954	0,959
r (O ₂ -H)	0,959	0,953
r (N-H) ^b	1,017	1,017
∠ N-C ₁ -C ₂	111,3	111,1
∠ C ₁ -C-O	111,6	111,6
∠ C-O-H	111,0	111,0
∠ C ₁ -C ₂ -C ₃	113,7	113,5
∠ C ₂ -C ₃ -C ₄	120,3	120,3

(conclusão)		
Parâmetros	1	2
$\angle \text{C}_3\text{-C}_4\text{-H}$	120,9	120,6
$\angle \text{C}_3\text{-C}_4\text{-C}_5$	121,0	120,9
$\angle \text{C}_4\text{-C}_5\text{-O}$	118,7	123,6
$\angle \text{C}_5\text{-O-H}$	112,4	112,3
$\angle \text{O-C}_5\text{-C}_6$	121,6	116,4
$\angle \text{C}_5\text{-C}_6\text{-C}_7$	119,6	119,3
$\angle \text{C}_6\text{-O-H}$	112,1	112,3
$\angle \text{O-C}_6\text{-C}_7$	124,0	119,1
$\angle \text{C}_6\text{-C}_7\text{-H}$	119,3	118,9
$\angle \text{C}_6\text{-C}_7\text{-C}_8$	120,4	120,5
$\angle \text{C}_7\text{-C}_8\text{-H}$	119,2	119,2
$\angle \text{C}_7\text{-C}_8\text{-C}_3$	120,4	120,5
$\phi \text{ C}_2\text{-C}_1\text{-N-H}$	61,9; 301,0 e 181,2	62,9; 302,0 e 182,2
$\phi \text{ C(O)-C}_1\text{-C}_2\text{-C}_3$	180,0	180,2
$\phi \text{ C}_2\text{-C}_1\text{-C=O}$	115,3	115,4
$\phi \text{ C}_8\text{-C}_3\text{-C}_2\text{-C}_1$	113,2	111,0
$\phi \text{ C}_4\text{-C}_5\text{-O-H}$	184,3	0,3
$\phi \text{ C}_7\text{-C}_6\text{-O-H}$	5,3	176,5
E (hartrees)	-701,830747	-701,830745
E_{rel} (kcal mol ⁻¹)	0,00	0,01
μ (Debyes)	8,43	10,37
População (%)	29,23	29,17

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes foram apresentados.

Fonte: A autora.

Também realizamos cálculos de otimização com rotina de solvatação em DMSO e metanol para a L-dopa⁺, a fim de compararmos os resultados experimentais com os teóricos. As populações de cada confômero nestes solventes estão demonstradas a seguir, juntamente com os valores já demonstrados em água, na qual o composto também é solúvel.

Tabela 29- Populações dos confômeros da L-dopa protonada, em solução aquosa ($\epsilon=78,3$), DMSO ($\epsilon=46,7$) e metanol ($\epsilon=32,6$), calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confômero (ordem de estabilidade em solução)	População em água (%)	População em DMSO (%)	População em metanol (%)
1	29,23	33,22	40,07
2	29,17	20,97	19,94
3	19,39	22,47	29,21
4	16,75	14,22	14,61
5	5,46	2,37	2,90

Fonte: A autora.

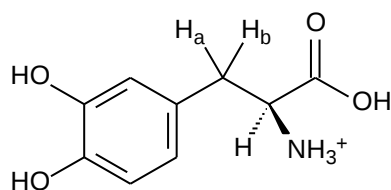
Analisando estas populações, pode-se dizer que com a mudança de solvente houveram variações nas populações dos rotâmeros. Contudo não houve variações significativas na ordem de estabilidade, apenas uma inversão dos confômeros 2 e 3 em relação ao meio aquoso. Os confômeros *trans* permaneceram como os mais estáveis. Enfatizamos a discussão para a solvatação em água, pois a mesma é o principal componente do sangue, visto que a molécula em estudo apresenta atividade biológica.

4.4.3 Experimento de RMN

4.4.3.1 Análise do efeito do solvente

Com o objetivo de avaliar o comportamento conformacional da L-dopa protonada, espectros de RMN de ^1H em metanol (Anexo G) e água (Anexo H) foram obtidos e as respectivas constantes de acoplamento determinadas. Por ser a forma protonada da L-dopa, apresentou melhor solubilidade do que a forma neutra, principalmente em metanol, comprovando, também, que sua conversão (seção 3.2.3) deu certo, visto que não haviam produtos secundários.

A Figura 43 mostra o acoplamento ($^3J_{\text{HaH}}$, $^3J_{\text{HbH}}$) que ocorre entre os hidrogênios analisados (H_a , H_b e H) através de três ligações σ ; as $^3J_{\text{HH}}$ envolvem dois ângulos diedros Φ_1 e Φ_2 .



Onde: Φ_1 : H_a , C_1 , C_2 , H

Φ_2 : H_b , C_1 , C_2 , H

Figura 43- Acoplamento entre os hidrogênios H_a , H_b e H da L-dopa protonada.
Fonte: A autora.

A Tabela 30 mostra os valores dos ângulos diedros Φ_1 e Φ_2 dos confôrmeros envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopa protonada, calculados através do Programa Gaussian 03 (FRISCH et al., 2004).

Tabela 30- Valores dos ângulos diedros^a Φ_1 e Φ_2 dos confôrmeros^b envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopa protonada, em solução aquosa, calculados com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confôrmero	Ângulo diedro Φ_1	Ângulo diedro Φ_2
1	-57,9	-173,4
2	-59,1	-174,3
3	-58,8	-174,2
4	-56,6	-171,7
5	-66,5	47,9

^a valores dos ângulos diedros em graus; ^b ordem de estabilidade em solução aquosa.

Fonte: A autora.

Na Figura 44 são mostradas as expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{HaHb}$ e $^3J_{HbH}$ em CD_3OD e D_2O . Este experimento também foi realizado em DMSO, mas os sinais referentes a estas expansões não ficaram muito bem resolvidos. Desta maneira, preferimos apenas mostrar os sinais nos outros dois solventes. As multiplicidades destes sinais (dubleto de dubletos, dd) comprovam a existência destas interações. Os hidrogênios do grupo CH_2 são diastereotópicos apresentando deslocamentos químicos diferentes, e acoplam entre si, sendo cada sinal correspondente a um hidrogênio.

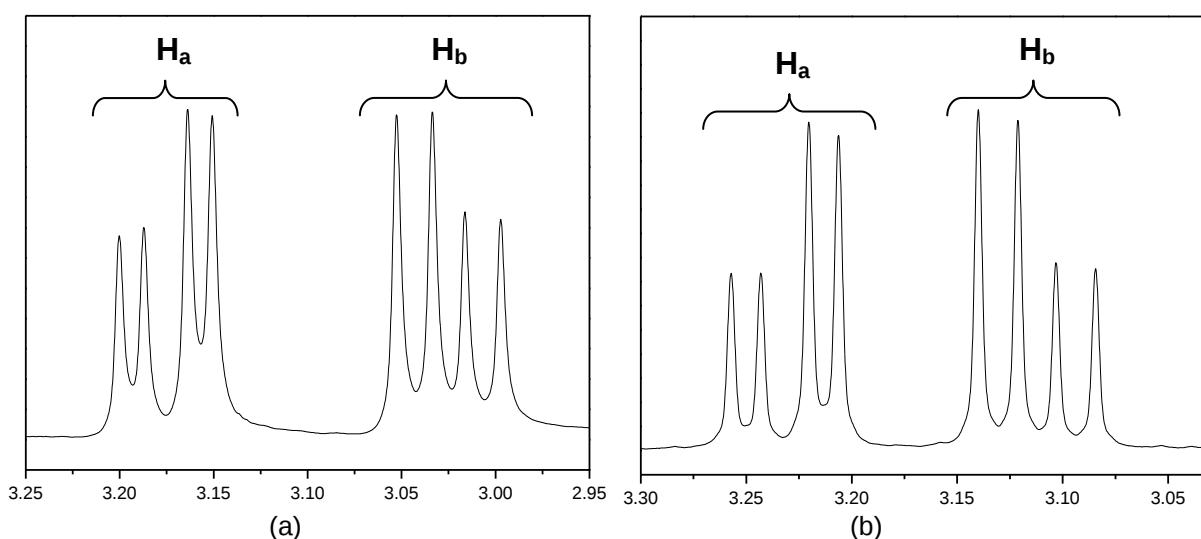


Figura 44- Expansões dos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ da L-dopa protonada em (a) CD_3OD e (c) D_2O .
Fonte: A autora.

Os valores de deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento analisadas da L-dopa⁺ obtidas através da RMN de ^1H em diferentes solventes estão demonstrados na Tabela 31.

Tabela 31- Deslocamentos químicos (ppm) e constantes de acoplamento (Hz) experimentais para a L-dopa protonada em diferentes solventes.

Solvente	ϵ	δH_a	δH_b	$^3J_{\text{HaH}}$	$^3J_{\text{HbH}}$
CD_3OD	32,6	3,17	3,03	5,25	7,58
D_2O	78,3	3,23	3,11	5,64	7,51

Fonte: A autora.

Dentre as constantes de acoplamento analisadas, ambas exibiram uma discreta variação com o meio, ao contrário da L-dopa neutra, que apresentou maiores variações. Frente a estes dados, optou-se por experimentos de RMN a baixa temperatura para uma avaliação experimental mais rigorosa da L-dopa⁺.

4.4.3.2 Análise do efeito da temperatura

Novamente, o solvente utilizado foi o metanol, devido a solubilidade do composto neste e ao seu baixo ponto de fusão.

As expansões dos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ da L-dopa⁺ nas diferentes temperaturas encontram-se demonstradas na Figura 45.

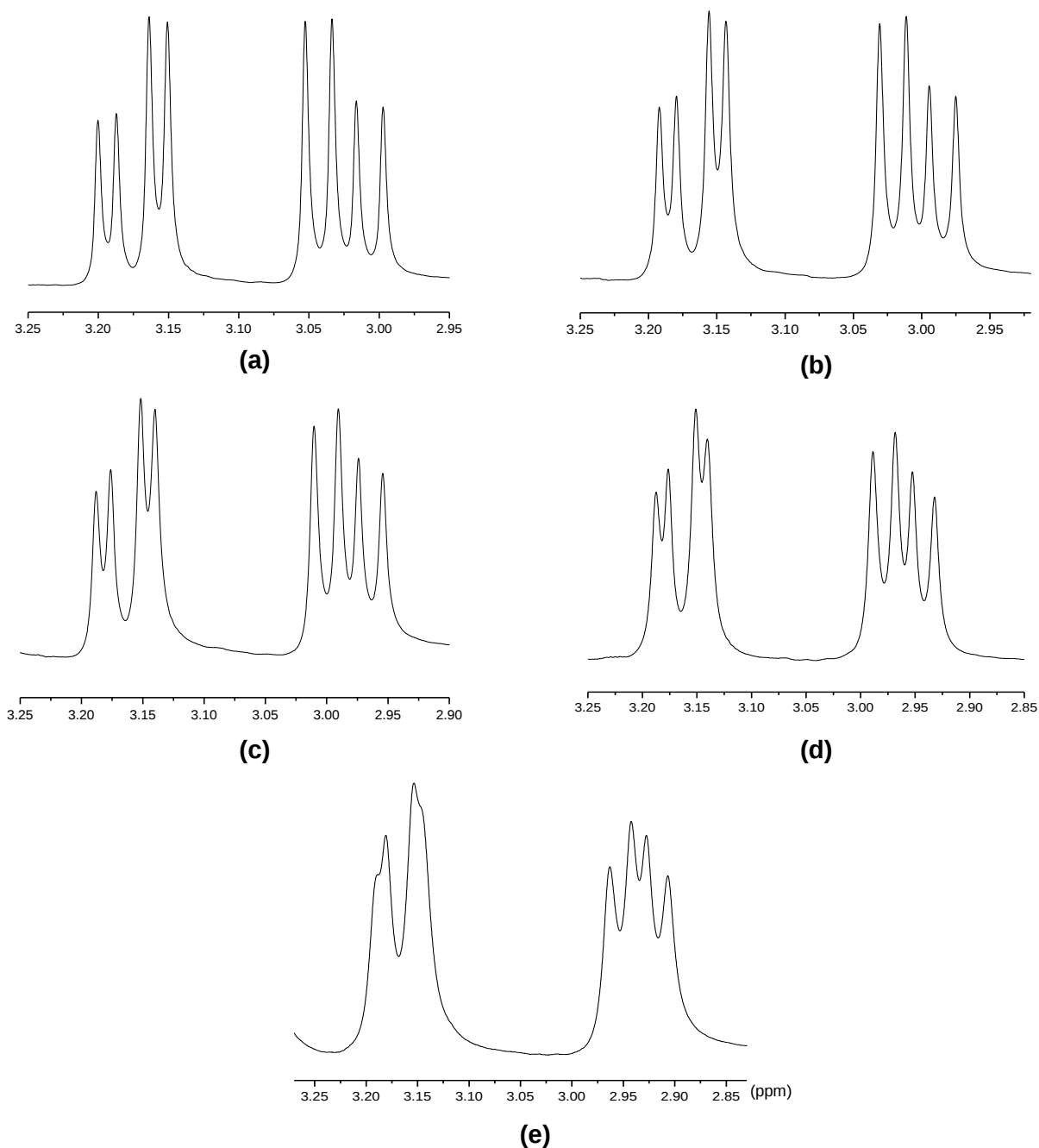


Figura 45 – Expansões referentes aos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ da L-dopa protonada em metanol a (a) 25°C, (b) 0°C, (c) -20°C, (d) -40°C e (e) -60°C.

Fonte: A autora.

A Tabela 32 mostra os acoplamentos analisados e os deslocamentos químicos dos hidrogênios a e b obtidos a temperaturas variáveis em metanol.

Tabela 32- Dependência dos acoplamentos $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ (Hz) e dos deslocamentos químicos (ppm) com a temperatura para a L-dopa em metanol.

Temperatura (°C)	$\delta \text{ H}_a$	$\delta \text{ H}_b$	$^3J_{\text{HaH}}$	$^3J_{\text{HbH}}$
25	3,17	3,03	5,25	7,58
0	3,17	3,00	5,00	7,74
-20	3,16	2,98	4,76	7,88
-40	3,16	2,96	4,49	8,04
-60	-	2,93	-	8,05

Fonte: A autora.

De acordo com os dados obtidos na Tabela 32, houve uma variação das constantes $^3J_{\text{HaH}}$ e $^3J_{\text{HbH}}$ com a diminuição da temperatura. Variação mais significativa do que as observadas para a dopamina protonada e L-dopa neutra com a mudança de temperatura. Entretanto, da mesma maneira como aconteceu com estes dois compostos, não é possível determinar a tendência do equilíbrio com as variações vistas nos experimentos com RMN, pois os confôrmers majoritários apresentam ângulos diedros muito próximos. Entretanto o que se pode afirmar é que concorda com os dados teóricos em solução é que em todos os casos os valores de $^3J_{\text{HH}}$ são referentes a arranjos *trans*, e não *gauche* como visto em fase isolada.

4.5 L-DOPAQUINONA (FORMA NEUTRA)

O interesse nesta molécula deve-se ao fato da mesma estar envolvida na rota sintética da melanina, uma importante substância que confere pigmentação à pele, aos olhos e ao cabelo, entre outras funções.

4.5.1 Estudo teórico em fase isolada

Para a análise conformacional da L-dopaquinona, os seguintes ângulos diedros foram girados:

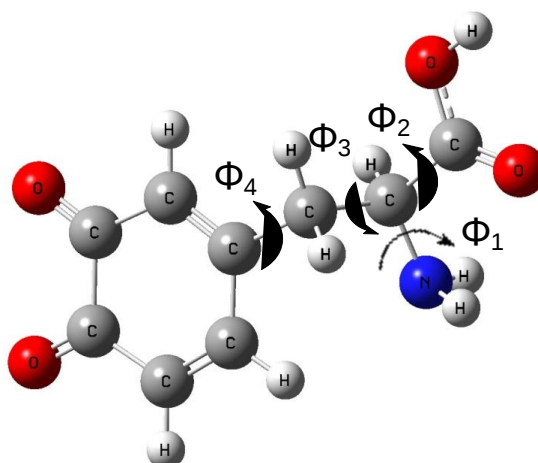


Figura 46- Ângulos diedros que determinaram os isômeros da L-dopaquinona. Os ângulos Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 e Φ_4 diferenciam conformêmeros *trans* (*t*) e *gauche* (*g*) (em relação aos grupos mais volumosos: o do anel diênico com duas carbonilas e do carboxílico).

Fonte: A autora.

Após a localização dos mínimos de energia obtidos a partir dos cálculos de *scans* e, também, da realização dos cálculos de otimização e frequência, foram obtidas doze estruturas envolvidas no equilíbrio conformacional da L-dopaquinona. Suas energias, energias relativas e populações estão demonstradas na Tabela abaixo.

Tabela 33- Energias, energias relativas e populações para os conformêmeros da L-dopaquinona, em fase isolada, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Conformêmero	Energia (Hartrees)	ΔE_{rel} (kcal.mol ⁻¹)	População (%)
1 (<i>t</i>)	-699,938650	0,00	36,64
2 (<i>t</i>)	-699,938020	0,39	18,79
3 (<i>g</i>)	-699,937709	0,59	13,52
4 (<i>g</i>)	-699,937319	0,98	6,99
5 (<i>g</i>)	-699,936658	1,25	4,44
6 (<i>t</i>)	-699,936529	1,33	3,87
7 (<i>g</i>)	-699,936519	1,34	3,83
8 (<i>t</i>)	-699,936481	1,36	3,68
9 (<i>g</i>)	-699,936206	1,53	2,75
10 (<i>t</i>)	-699,936190	1,54	2,70
11 (<i>g</i>)	-699,935583	1,93	1,42
12 (<i>g</i>)	-699,935555	1,94	1,37

Fonte: A autora.

Observando os valores das populações destes doze confôrmeros, notou-se que o majoritário apresentou quase o dobro de predominância no equilíbrio conformacional do que o segundo. Analisaremos então, a explicação para tal fenômeno, com a representação espacial e a projeção de Newman desta geometria apresentadas na Figura 47.

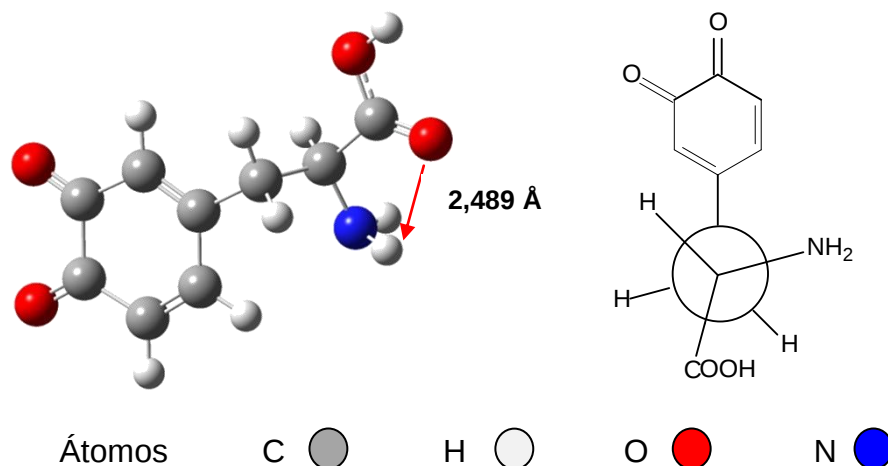


Figura 47- Representação espacial e respectiva projeção de Newman do confôrmero mais estável da L-dopaquinona, em fase isolada.

Fonte: A autora.

Pode-se notar na projeção de Newman desta geometria que ela está posicionada de modo que os três grupos volumosos estão os mais distantes possíveis. Além disso, a mesma é considerada uma conformação *trans*, em relação aos grupos carboxila e o anel diênico com as carbonilas. Observou-se que uma das carbonilas ficou posicionada em face oposta ao grupo amino, o grupo mais volumoso próximo a ela. Esta distribuição espacial faz com que o confôrmero apresente um pequeno impedimento estérico.

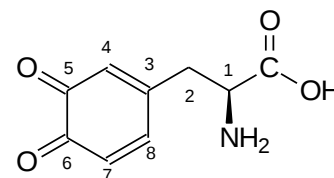
Na representação tridimensional do confôrmero, outro fator importante está relacionado à possível ligação de hidrogênio intramolecular presente no mesmo, entre um dos hidrogênios do grupo amino e o oxigênio carbonílico da carboxila, sendo a distância de 2,489 Å (a menor distância entre todas as conformações). Este valor confirmou a existência desta ligação intramolecular, lembrando que a distância máxima para que ocorra uma ligação de hidrogênio intramolecular é de 3,0 Å (ROZAS, 2007; WONG; BERNACKI; JACOBSON, 2005), como já discutido anteriormente. Todos estes fatores juntos só encontram-se presentes nesta conformação, o que explicou sua maior estabilidade frente às demais.

Cálculos de *NBO* foram realizados, mas não influenciaram no resultado da estabilidade conformacional.

Uma tabela com os parâmetros estruturais mais relevantes, assim como energia e momento de dipolo desta geometria está mostrada a seguir.

Tabela 34- Parâmetros estruturais^a, energia calculada (*E*) e momento de dipolo (μ) para o confôrmero mais estável da L-dopaquinona (forma neutra), otimizado em nível de teoria HF/6-311++G(d,p), em fase isolada (25°C).

Parâmetros	Valores	Parâmetros	Valores
r (C ₁ -N)	1,444	∠ C-O-H	109,3
r (C ₁ -C(O))	1,524	∠ C ₁ -C ₂ -C ₃	113,1
r (C=O)	1,183	∠ C ₂ -C ₃ =C ₄	120,9
r (C(O)-O)	1,326	∠ C ₃ =C ₄ -H	122,3
r (O-H)	0,947	∠ C ₃ =C ₄ -C ₅	121,8
r (C ₁ -C ₂)	1,544	∠ C ₄ -C ₅ =O	122,7
r (C ₂ -C ₃)	1,511	∠ O=C ₅ -C ₆	120,1
r (C ₃ =C ₄)	1,331	∠ C ₅ -C ₆ -C ₇	116,5
r (C ₄ -C ₅)	1,478	∠ O=C ₆ -C ₇	123,2
r (C ₅ -C ₆)	1,548	∠ C ₆ -C ₇ -H	116,8
r (C ₆ -C ₇)	1,478	∠ C ₆ -C ₇ =C ₈	120,9
r (C ₇ =C ₈)	1,326	∠ C ₇ =C ₈ -H	120,0
r (C ₈ -C ₃)	1,485	∠ C ₇ =C ₈ -C ₃	123,1
r (C ₄ -H)	1,075	Φ C ₂ -C ₁ -N-H	280,1 e 161,5
r (C ₇ -H)	1,075	Φ C(O)-C ₁ -C ₂ -C ₃	167,2
r (C ₈ -H)	1,073	Φ C ₂ -C ₁ -C=O	106,4
r (C ₅ =O)	1,183	Φ C ₈ -C ₃ -C ₂ -C ₁	79,4
r (C ₆ =O)	1,183	<i>E</i> (hartrees)	-699,938650
r (N-H) ^b	1,000	μ (Debyes)	6,48
∠ N-C ₁ -C ₂	111,2	População (%)	36,64
∠ C ₁ -C-O	112,3		



^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes foram apresentados.

Fonte: A autora.

4.5.2 Estudo teórico com solvatação

As doze estruturas envolvidas no equilíbrio conformacional da L-dopaquinona foram submetidas a cálculos de solvatação, em meio aquoso, do mesmo modo como realizado para os outros compostos em estudo.

Os valores de energia encontrados com estes cálculos, assim como as energias relativas e as populações dos confômeros estão apresentados na Tabela 35.

Tabela 35- Energias, energias relativas e populações para os confômeros da L-dopaquinona, em solução aquosa, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confômero (ordem de estabilidade em solução)	Confômero (ordem de estabilidade em fase isolada)	Energia (Hartrees)	ΔE_{rel} (kcal.mol⁻¹)	População (%)
1 (t)	2	-700,168371	0,00	46,52
2 (t)	1	-700,167496	0,55	18,41
3 (g)	4	-700,166985	0,87	10,71
4 (g)	5	-700,166735	1,03	8,22
5 (t)	6	-700,166175	1,38	4,54
6 (t)	10	-700,165956	1,51	3,60
7 (g)	3	-700,165645	1,71	2,59
8 (t)	8	-700,165350	1,90	1,89
9 (g)	7	-700,165082	2,06	1,43
10 (g)	11	-700,164870	2,20	1,14
11 (g)	9	-700,164167	2,64	0,54
12 (g)	12	-700,163900	2,81	0,41

Fonte: A autora.

Nota-se que houve uma inversão na ordem de estabilidade entre os dois confômeros mais estáveis, em relação à fase isolada. O majoritário em fase isolada passou a ser o segundo mais estável em solução aquosa, tendo sua população diminuída pela metade com esta mudança (de 36,64% para 18,41%). Por outro lado, o majoritário agora em solução era o segundo em fase isolada, e teve um aumento bem significativo na sua população (de 18,79% para 46,52%). Os demais rotâmeros apresentaram populações menos significativas, então não serão levados em

consideração na seguinte discussão. A adição de um solvente nos cálculos afetou o equilíbrio conformacional da L-dopaquinona, como já observado em todos os casos anteriores.

Para facilitar a discussão daremos enfoque para estas duas geometrias, as quais estão representadas espacialmente e por meio de suas projeções de Newman na Figura 48.

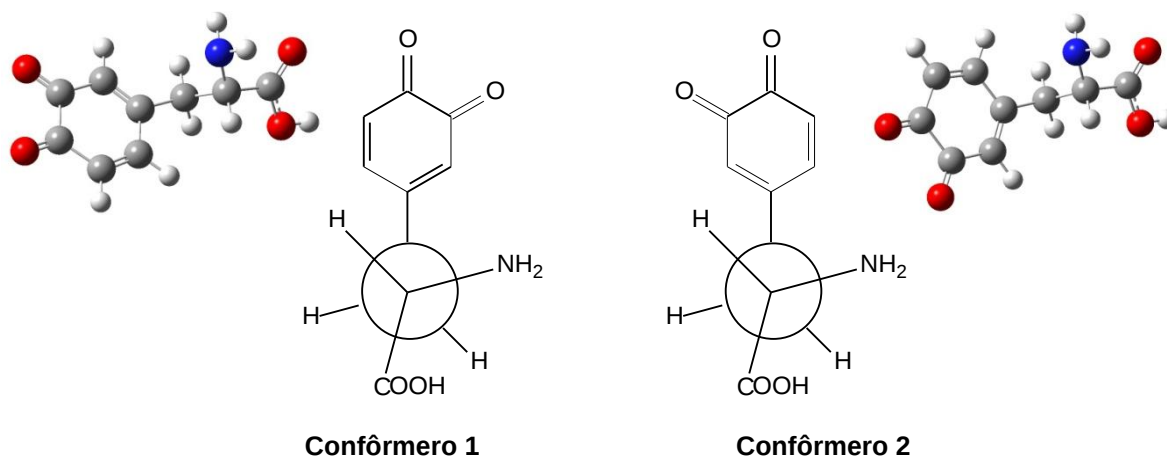


Figura 48- Representações espaciais e projeções de Newman para os dois confômeros mais estáveis da L-dopaquinona, em solução aquosa.

Fonte: A autora.

Como pode ser visualizado na Figura acima ambos os confômeros diferem apenas no posicionamento das carbonilas do anel em relação ao restante da molécula. Na geometria **1**, o grupo amino localiza-se mais próximo a uma das carbonilas, enquanto que na **2**, este mesmo grupo está o mais distante possível desta mesma carbonila, ou seja, menos impedido estericamente. Igualmente como ocorreu com o majoritário em fase isolada, este confômero **1** apresenta um arranjo *trans*, relacionando os grupos mais volumosos (carboxílico e anel diênico). Apesar disso, pode-se dizer que o fator estérico não apresentou influência significativa na maior estabilidade da **1** em relação à estrutura **2** envolvidas no equilíbrio conformacional da L-dopaquinona em solução aquosa.

Ambos os confômeros também apresentaram a mesma ligação de hidrogênio intramolecular: entre um dos hidrogênios do grupo NH_2 com o oxigênio carbonílico da carboxila. As distâncias entre os átomos envolvidos nesta interação (Tabela 36) também não determinaram a maior estabilidade neste caso, pois mesmo sendo pequenas as diferenças entre ambos, a conformação **2** é a que apresenta as menores distâncias. Já em relação às demais conformações, **1** está entre as que

apresentam as menores distâncias. Estão demonstradas na Tabela abaixo as distâncias para os quatro confôrmeros mais estáveis, visto que os demais têm populações muito pequenas e alguns destes não apresentam tal interação, como por exemplo o confôrmero 4.

Tabela 36- Distâncias interatômicas (em Angstrom – Å) entre os átomos envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Confôrmero	N-H --- O=C-COOH
1	2,625
2	2,489
3	2,608
4	3,446

Fonte: A autora.

Uma explicação encontrada para relacionar a maior estabilidade da geometria **1** foi por meio da análise dos momentos de dipolos das geometrias. O confôrmero **1** tem um momento de dipolo de 10,46 D (entre os maiores μ), enquanto que o confôrmero **2** é 9,17 D. Quando se passou da fase isolada (apolar) para o meio aquoso (polar) houve o favorecimento da estrutura **1**, que é a mais polar. Como as duas geometrias apresentam estruturas com grande semelhança entre si, nem parâmetros estruturais nem a ligação de hidrogênio intramolecular influenciaram na inversão de estabilidade entre estas duas geometrias. O momento de dipolo foi a única explicação coerente encontrada para tal acontecimento.

Na Tabela 37 estão demonstrados os parâmetros estruturais, energia e momento de dipolo para a geometria majoritária da L-dopaquinona, em solução aquosa.

Tabela 37- Parâmetros estruturais^a, energia calculada (*E*) e momento de dipolo (μ) para o confôrmere mais estável da L-dopaquinona (forma neutra), otimizado em nível de teoria HF/6-311G(d,p), em solução aquosa (25°C).

Parâmetros	Valores	Parâmetros	Valores
r (C ₁ -N)	1,441	$\angle$ C-O-H	110,7
r (C ₁ -C(O))	1,526	$\angle$ C ₁ -C ₂ -C ₃	113,3
r (C=O)	1,191	$\angle$ C ₂ -C ₃ =C ₄	122,0
r (C(O)-O)	1,314	$\angle$ C ₃ =C ₄ -H	122,2
r (O-H)	0,966	$\angle$ C ₃ =C ₄ -C ₅	121,0
r (C ₁ -C ₂)	1,543	$\angle$ C ₄ -C ₅ =O	123,5
r (C ₂ -C ₃)	1,506	$\angle$ O=C ₅ -C ₆	118,8
r (C ₃ =C ₄)	1,331	$\angle$ C ₅ -C ₆ -C ₇	117,0
r (C ₄ -C ₅)	1,466	$\angle$ O=C ₆ -C ₇	123,6
r (C ₅ -C ₆)	1,551	$\angle$ C ₆ -C ₇ -H	117,5
r (C ₆ -C ₇)	1,471	$\angle$ C ₆ -C ₇ =C ₈	120,1
r (C ₇ =C ₈)	1,327	$\angle$ C ₇ =C ₈ -H	119,4
r (C ₈ -C ₃)	1,486	$\angle$ C ₇ =C ₈ -C ₃	123,4
r (C ₄ -H)	1,078	ϕ C ₂ -C ₁ -N-H	296,4 e 177,3
r (C ₇ -H)	1,078	ϕ C(O)-C ₁ -C ₂ -C ₃	172,1
r (C ₈ -H)	1,079	ϕ C ₂ -C ₁ -C=O	110,5
r (C ₅ =O)	1,191	ϕ C ₈ -C ₃ -C ₂ -C ₁	295,4
r (C ₆ =O)	1,189	<i>E</i> (hartrees)	-700,168371
r (N-H) ^b	1,005	μ (Debyes)	10,46
$\angle$ N-C ₁ -C ₂	110,9	População (%)	46,52
$\angle$ C ₁ -C-O	112,1		

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes são apresentados.

Fonte: A autora.

4.6 L-DOPAQUINONA (FORMA PROTONADA)

4.6.1 Estudo teórico em fase isolada e em solução aquosa

Nesta seção foram discutidos juntamente os equilíbrios conformacionais da L-dopaquinona protonada (L-dopaquinona⁺) em fase isolada e em solução aquosa. No decorrer do texto foi justificada esta maneira de apresentar os dados.

Para a análise conformacional da L-dopaquinona⁺, foram considerados os mesmos quatro ângulos diedros girados na forma neutra, conforme pode ser visualizado na Figura 49.

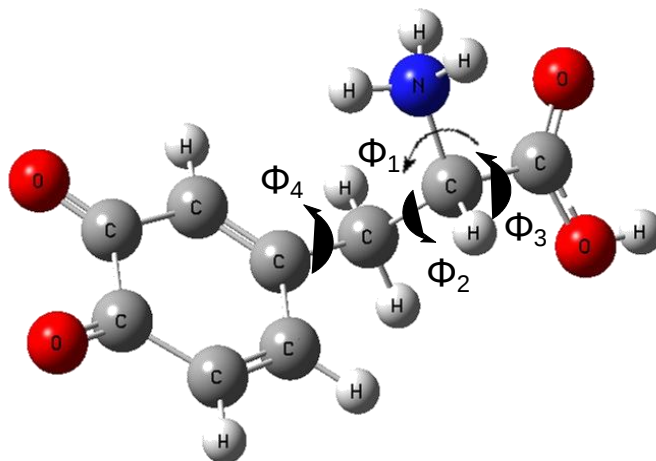


Figura 49- Ângulos diedros que determinaram os isômeros da L-dopaquinona protonada. Os ângulos Φ_1 , Φ_2 , Φ_3 e Φ_4 diferenciam conformêmeros *trans* (*t*) e *gauche* (*g*) (em relação aos grupos mais volumosos: o do anel diênico com duas carbonilas e o carboxílico).

Fonte: A autora.

Após a realização dos cálculos de otimização e frequência, foram obtidos três conformêmeros envolvidos no equilíbrio conformacional da L-dopaquinona⁺, em fase isolada. Estas três conformações foram submetidas a cálculos de solvatação, em meio aquoso, a fim de também avaliar o efeito do solvente no equilíbrio conformacional da molécula. As populações de cada geometria nestes diferentes meios estão demonstradas na Tabela abaixo.

Tabela 38- Populações para os conformêmeros da L-dopaquinona protonada, em fase isolada e em solução aquosa, calculadas com nível de teoria HF/6-311++g(d,p).

Conformêmero	População em fase isolada (%)	População em solução aquosa (%)
1 (<i>t</i>)	83,45	88,97
2 (<i>t</i>)	8,95	7,16
3 (<i>g</i>)	7,60	3,87

Fonte: A autora.

A partir dos dados desta Tabela, pôde-se observar que, com a mudança de meio, as populações das três geometrias apresentaram apenas pequenas alterações, concluindo-se que o equilíbrio conformacional da L-dopaquinona⁺ não

sofreu alteração com a modificação do meio. Foi por este motivo que discutimos de uma só vez a maior estabilidade da conformação **1** em ambos os meios.

A geometria majoritária representou uma estabilidade muito mais significativa em relação às outras duas que também participam do equilíbrio conformacional da L-dopaquinona⁺. Isto pôde ser verificado na Tabela 38. Analisaremos, então, a representação espacial e a projeção de Newman desta geometria, apresentadas na Figura 50.

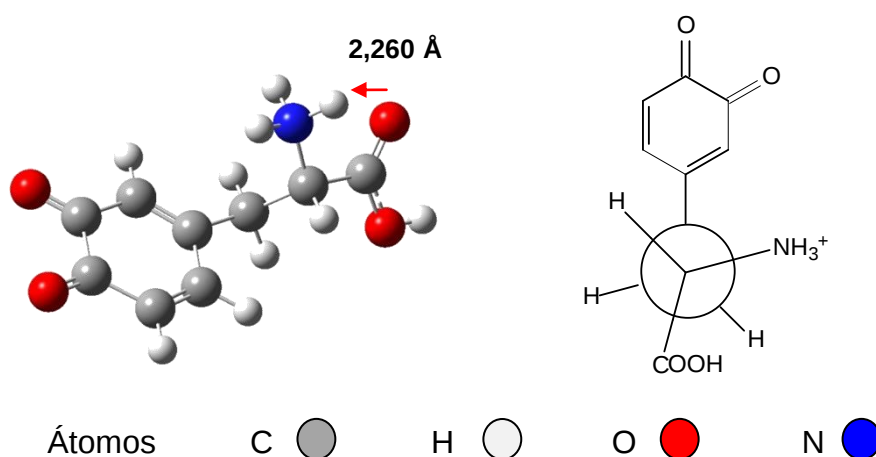


Figura 50- Representação espacial e respectiva projeção de Newman do confômero mais estável da L-dopaquinona protonada, em fase isolada e em solução aquosa.

Fonte: A autora.

De acordo com a representação de Newman, nota-se que este confômero está disposto de um modo *trans*, considerando os grupos mais volumosos (carboxílico e anel diênico). Além disso, o mesmo tem seus grupos mais volumosos posicionados os mais distantes possíveis uns dos outros, o que diminui o impedimento estérico desta conformação. No entanto, o grupo amônio encontra-se posicionado para o mesmo lado de uma das carbonilas. Este mesmo comportamento foi notado também na conformação mais estável do equilíbrio conformacional da L-dopaquinona neutra (Figura 48), em solução aquosa. As geometrias majoritárias em solução da L-dopaquinona, tanto na forma neutra como na protonada, apresentam uma grande semelhança estrutural, sendo praticamente iguais, mesmo uma apresentando o grupamento NH_2 e a outra o NH_3^+ .

A geometria **3** apresenta um arranjo *gauche*, onde os três grupos volumosos encontram-se direcionados para o mesmo lado no espaço. Devido a isto, a mesma possui um grande impedimento estérico, o que lhe causa uma menor estabilidade em relação às demais.

Analisando então as representações espaciais dos confôrmeros **1** e **2** (Figura 51), ambos apresentaram uma ligação de hidrogênio intramolecular, entre um dos hidrogênios do grupo NH_3^+ com o oxigênio carbonílico da carboxila. Porém, o que diferencia a estabilidade dos mesmos pode estar relacionado ao fato de que no **1** a distância entre os átomos envolvidos nesta interação citada é menor (2,260 Å) do que em **2** (2,282 Å).

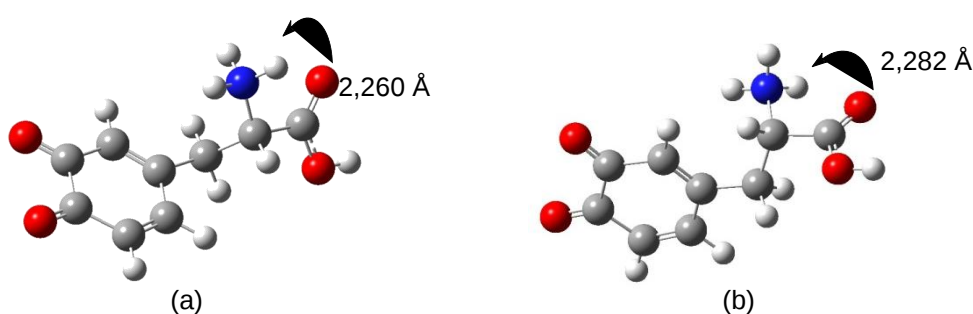


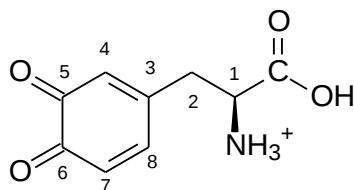
Figura 51- Representações espaciais dos confôrmeros (a) **1** e (b) **2** da L-dopaquinona protonada. Fonte: A autora.

Deste modo, o menor impedimento estérico aliado à menor distância entre os átomos envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular são os fatores que regem a maior estabilidade do equilíbrio conformacional da L-dopaquinona⁺, tanto em fase isolada como em solução aquosa.

Uma análise mais minuciosa sobre interações estabilizadoras foi realizada a partir de cálculos dos orbitais naturais de ligação (*NBO*), mas os mesmos também não forneceram dados importantes a respeito dos efeitos eletrônicos envolvidos neste sistema. Os valores de energias destas interações entre os confôrmeros apresentaram-se muito próximos, não contribuindo na análise do equilíbrio.

Uma tabela com os parâmetros estruturais mais relevantes, assim como energia e momento de dipolo desta geometria está mostrada a seguir.

Tabela 39- Parâmetros estruturais^a, energia calculada (*E*) e momento de dipolo (μ) para o confôrmero mais estável da L-dopaquinona (forma protonada), otimizado em nível de teoria HF/6-311G(d,p), em fase isolada (25°C).



Parâmetros	Valores	Parâmetros	Valores
r (C ₁ -N)	1,503	∠ C-O-H	111,5
r (C ₁ -C(O))	1,523	∠ C ₁ -C ₂ -C ₃	112,3
r (C=O)	1,180	∠ C ₂ -C ₃ =C ₄	121,3
r (C(O)-O)	1,302	∠ C ₃ =C ₄ -H	122,9
r (O-H)	0,951	∠ C ₃ =C ₄ -C ₅	121,3
r (C ₁ -C ₂)	1,541	∠ C ₄ -C ₅ =O	121,9
r (C ₂ -C ₃)	1,512	∠ O=C ₅ -C ₆	121,1
r (C ₃ =C ₄)	1,331	∠ C ₅ -C ₆ -C ₇	116,7
r (C ₄ -C ₅)	1,488	∠ O=C ₆ -C ₇	122,8
r (C ₅ -C ₆)	1,545	∠ C ₆ -C ₇ -H	116,6
r (C ₆ -C ₇)	1,487	∠ C ₆ -C ₇ =C ₈	121,0
r (C ₇ =C ₈)	1,326	∠ C ₇ =C ₈ -H	119,7
r (C ₈ -C ₃)	1,483	∠ C ₇ =C ₈ -C ₃	122,7
r (C ₄ -H)	1,077	Φ C ₂ -C ₁ -N-H	163,9; 281,5 e 42,7
r (C ₇ -H)	1,075	Φ C(O)-C ₁ -C ₂ -C ₃	178,9
r (C ₈ -H)	1,077	Φ C ₂ -C ₁ -C=O	110,3
r (C ₅ =O)	1,178	Φ C ₈ -C ₃ -C ₂ -C ₁	286,3
r (C ₆ =O)	1,177	<i>E</i> (hartrees)	-700,273246
r (N-H) ^b	1,011	μ (Debyes)	11,79
N-C ₁ -C ₂	110,5	População (%)	83,45
∠ C ₁ -C-O	111,5		

^a comprimentos de ligações em angstroms (Å), ângulos de ligação e diedros em graus; ^b valores médios; ^c 1 Hartree = 627,5095 kcal mol⁻¹. Somente os parâmetros estruturais relevantes foram apresentados.

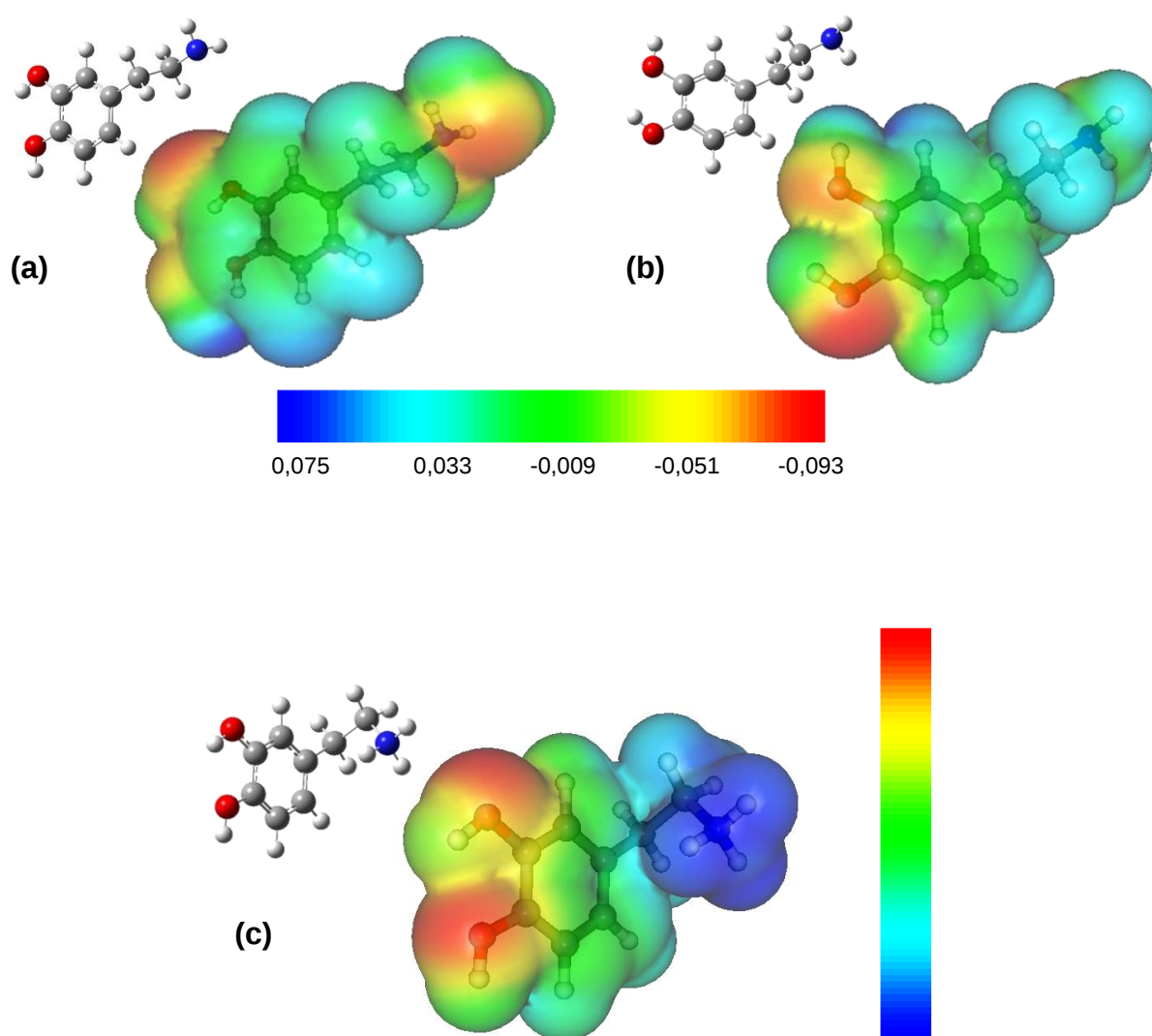
Fonte: A autora.

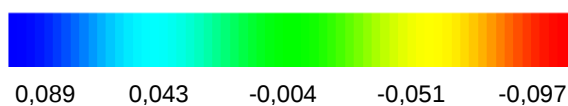
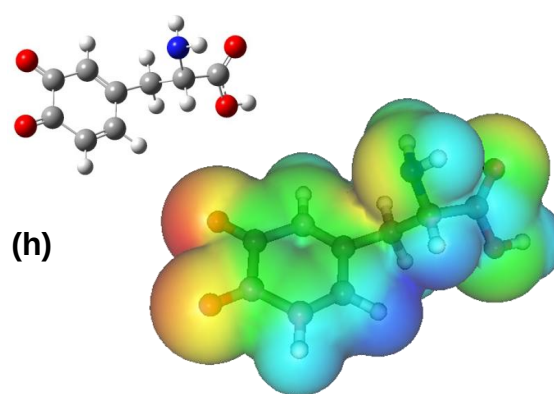
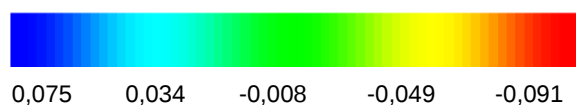
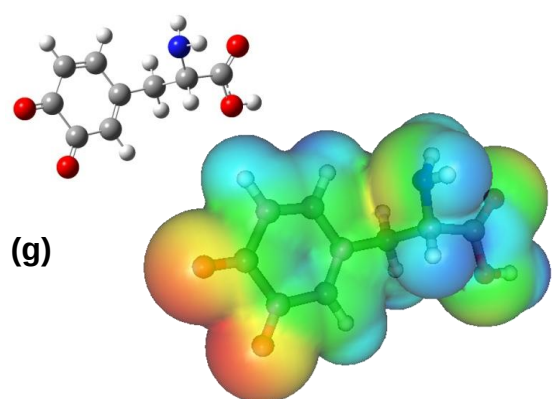
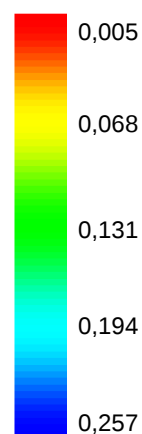
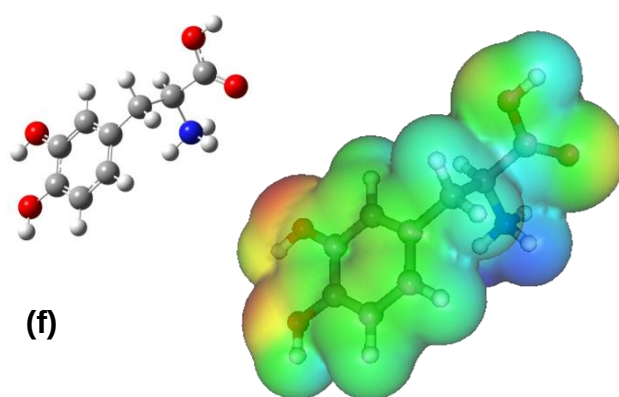
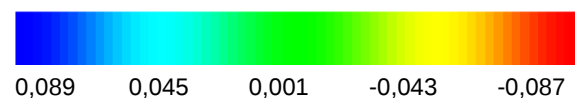
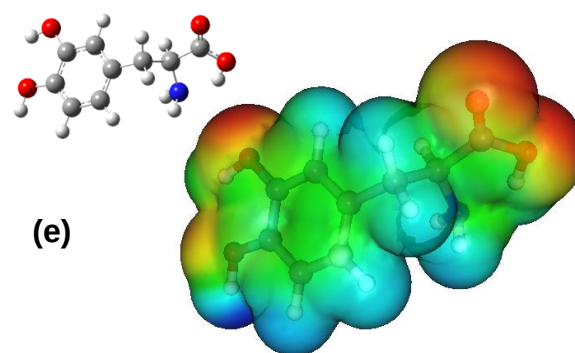
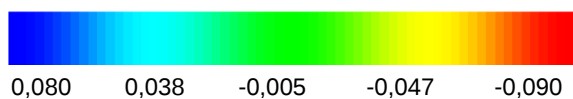
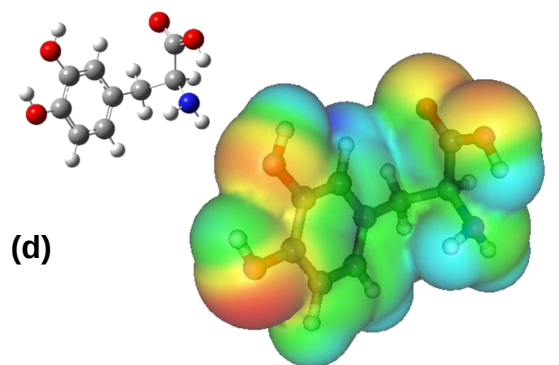
4.7 MAPAS DE POTENCIAL ELETROSTÁTICOS

Após a determinação dos confôrmeros envolvidos no equilíbrio conformacional das seis moléculas em estudo, foram realizados cálculos para determinação dos mapas de potencial eletrostático (MPes), os quais nos dão uma

melhor compreensão sobre a estabilidade dos confôrmeros. Esta é outra ferramenta empregada no estudo conformacional, pois demonstram quais as regiões de maior (vermelho) e menor (azul escuro) densidade eletrônica na molécula, além de caracterizarem repulsões eletrônicas e, também, ligações de hidrogênio intramoleculares.

Na Figura 52 estão apresentados somente os MPEs para os rotâmeros mais estáveis do equilíbrio de cada molécula, em fase isolada e em solução aquosa.





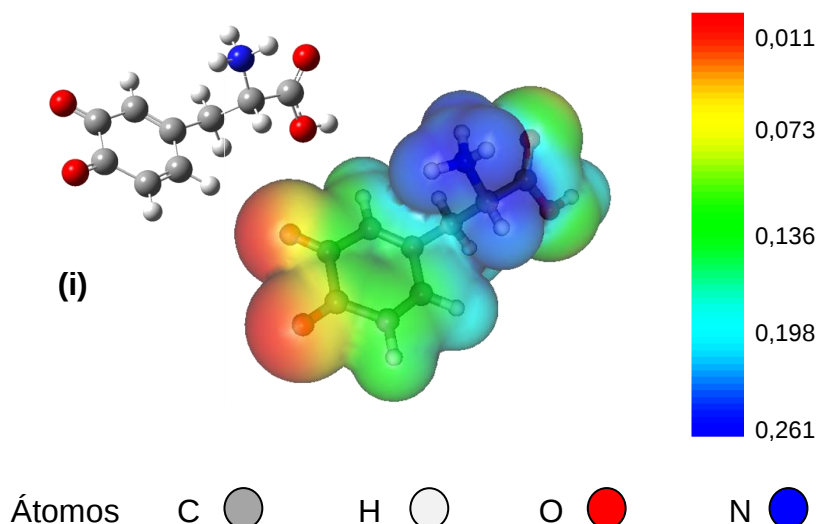


Figura 52- Mapas de potencial eletrostático e respectivas representações espaciais do confômero mais estável envolvido no equilíbrio conformacional da: (a) dopamina em fase isolada e (b) em solução aquosa; (c) dopamina protonada em fase isolada e em solução aquosa; (d) L-dopa em fase isolada e (e) em solução aquosa; (f) L-dopa protonada em fase isolada e em solução aquosa; (g) L-dopaquinona em fase isolada e (h) em solução aquosa; (i) L-dopaquinona protonada em fase isolada e em solução aquosa. Faixa de cores em kcal/mol.

Fonte: A autora.

Através da análise dos MPEs destes confômeros, observou-se que houve, de maneira geral, uma semelhança na distribuição das cargas. Para as conformações dos compostos que apresentam o grupo catecol (dopamina e L-dopa neutra e protonada) (**a-f**), uma das regiões com maior densidade eletrônica está associada com os dois átomos de oxigênio do grupo catecol, mas principalmente, ao átomo de oxigênio que não estava envolvido na ligação de hidrogênio intramolecular. O fato de o oxigênio apresentar uma coloração vermelha mais clara caracteriza a doação eletrônica, fator que comprova novamente a existência de tal ligação.

Principalmente no caso da dopamina neutra (**a-b**), outra região de concentração de carga eletrônica está associada com o par de elétrons isolados do nitrogênio. Na L-dopa neutra (**d-e**), o nitrogênio apresenta sua densidade eletrônica menor do que o esperado, pois está envolvido em uma ligação de hidrogênio intramolecular, o que confirma esta interação.

Em ambas as formas da L-dopaquinona (**g-i**), as regiões que apresentaram maior densidade eletrônica ficaram principalmente ao redor das duas carbonilas do anel de seis membros. Como o oxigênio da carbonila da carboxila está envolvido

como doador de uma ligação de hidrogênio intramolecular, ele apresenta uma menor densidade eletrônica do que seria esperado se não participasse desta interação. Assim, através da análise dos MPEs, novamente confirma-se a presença estabilizadora de duas ligações de hidrogênio na L-dopaquinona.

Estas regiões de alta densidade eletrônica devem-se ao fato destes átomos serem bastante eletronegativos e apresentarem pares de elétrons isolados, e são compensadas por regiões deficientes em carga eletrônica que ficam em suas vizinhanças. Uma destas regiões deficientes corresponde aos dois (ou três, para as formas protonadas) átomos de hidrogênio ligados ao nitrogênio. Outra região de menor densidade eletrônica está relacionada ao átomo de hidrogênio hidroxílico que não está envolvido na ligação de hidrogênio entre os dois grupos hidroxila do grupo catecol (**a-f**).

Desta maneira, além de mostrar a densidade eletrônica da molécula, estes MPEs podem, também, comprovar a existência da ligação de hidrogênio devido à junção das nuvens eletrônicas dos átomos envolvidos e a mudança da densidade eletrônica. Observou-se que, como em todos os confôrmeros existe pelo menos uma ligação de hidrogênio intramolecular, as nuvens eletrônicas estão mais unidas entre os átomos envolvidos na ligação do que as entre os demais átomos da molécula.

As regiões que apresentaram maior densidade eletrônica descrevem locais na molécula que são passíveis de interagir com áreas positivas de outra molécula (exemplo: receptor, no caso de sistemas biológicos), caracterizando o que a literatura descreve como complementaridade eletrônica.

Por exemplo, para a dopamina as regiões que apresentaram uma maior densidade eletrônica possivelmente serão as quais se ligarão com o sítio ativo dos receptores, sendo este estudo de grande importância, por exemplo, para um melhor entendimento da fisiopatologia de diversas doenças relacionadas a este neurotransmissor, como esquizofrenia, Parkinson, Huntington, depressão, entre outras (RODRÍGUEZ et al., 2003). São estas regiões, que nos MPEs estão com uma coloração vermelha, que provavelmente ligam-se ao sítio ativo da enzima no processo de melanogênese, para a L-dopa e L-dopaquinona.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho realizou-se o estudo do isomerismo conformacional, das formas neutras e protonadas da dopamina (neurotransmissor), L-dopa (aminoácido) e L-dopaquinona (precursora da melanina). Para tanto, utilizou-se cálculos teóricos e, para três destes compostos, juntamente as espectroscopias de RMN de ^1H e de Infravermelho. Nos casos que também foram estudados experimentalmente, os dados teóricos mostraram-se satisfatórios quando comparados aos dados experimentais, o que nos leva a concluir que este nível teórico é confiável para descrever moléculas com uma grande quantidade de confômeros envolvidos em seus equilíbrios.

Com o emprego de cálculos teóricos obtiveram-se as geometrias envolvidas no equilíbrio conformacional da dopamina, L-dopa e L-dopaquinona, em suas formas neutras e protonadas. Para todos os compostos, foram realizados estudos em fase isolada e em solução aquosa, a fim de verificar como o equilíbrio se comportava com esta mudança de meio. Para a dopamina neutra, tanto em fase isolada como em solução aquosa, este equilíbrio foi composto por geometrias com energias muito próximas, devido ao alto grau de flexibilidade conformacional desta molécula. Como neste caso foram verificadas dezesseis conformações representando seu equilíbrio, não houve favorecimento de uma geometria nem em fase isolada nem em solução aquosa, mas sim confômeros com populações próximas. Entretanto, a principal tendência observada foi que ao se passar da fase isolada para solução houve uma estabilização das formas *trans*, que não eram as mais estáveis em fase isolada. Este favorecimento das formas *trans* deu-se, pois com este tipo de arranjo *trans* (menor impedimento estérico) a molécula é melhor solvatada pelas moléculas de água.

A dopamina protonada apresentou quatro pares de imagens especulares em seu equilíbrio, todas nas formas *gauche*. Este comportamento pode ser explicado em termos da atração Coulômbica entre o grupo amônio positivamente carregado e o grupo catecólico negativamente carregado. Em fase isolada, a maior estabilidade foi relacionada com as distâncias entre o átomo de hidrogênio de uma hidroxila e o oxigênio da outra, envolvidos em uma ligação de hidrogênio intramolecular. Estes valores revelaram que, com o aumento da distância, ocorreu um aumento na energia relativa da molécula. Já em solução aquosa, as populações de todos os confômeros tornaram-se muito próximas. Houve um aumento

significante nas populações dos pares **2** e **4** (Figura 28) em relação a fase isolada, pelo fato de que tais pares apresentaram os maiores momentos de dipolo. No entanto, os dois pares mais estáveis, **1** e **2** (Figura 28), apresentaram um arranjo *gauche* distal, em relação aos grupos amônio e catecol. Este tipo de organização corresponde a um menor impedimento estérico possível, e sua maior estabilidade é resultado do favorecimento da interação soluto-solvente. Através da RMN de ^1H , não foi possível relacionar o efeito do solvente nem da temperatura com possíveis mudanças nas populações dos confôrmers.

Para a L-dopa neutra, em fase isolada, o confôrmere majoritário (Figura 32) apresentou uma população de 33,73%, e apesar de apresentar um grande impedimento estérico (forma *gauche*), sua maior estabilidade deve-se ao fato do mesmo apresentar a menor distância entre o hidrogênio da carboxila e o átomo de nitrogênio, envolvidos em umas das duas ligações de hidrogênio intramoleculares. Além disso, foi o confôrmere que apresentou maior valor na somatória das interações hiperconjugativas. Já em solução, quatro estruturas prevaleceram como sendo as mais estáveis. A semelhança entre elas foi em relação ao posicionamento dos grupos amino e carboxila, além de que todos estavam na forma *trans* entre os grupos mais volumosos COOH e catecol e, também, apresentavam duas ligações de hidrogênio intramoleculares em cada. Assim como ocorreu para a forma neutra da dopamina, em solução aquosa as geometrias *trans*, que não eram as majoritárias em fase isolada, passaram a ser mais estáveis, resultado novamente da interação soluto-solvente. Nos experimentos com RMN, a análise das constantes de acoplamento em diferentes solventes e diferentes temperaturas não pôde nos dizer que houve variação de população com a mudança da polaridade do meio. Entretanto, seus valores de $^3J_{\text{HH}}$ permitiram afirmar que em solução a forma predominante no equilíbrio é a *trans*, corroborando com os dados teóricos obtidos. Através das bandas de estiramento da carbonila na região do IV, novamente não podemos verificar a variação de população no equilíbrio, mas a significativa assimetria e largura destas bandas permite verificar que o equilíbrio está composto por vários confôrmers, como é o caso (dez conformações).

No caso da L-dopa protonada foram verificadas cinco geometrias envolvidas no seu equilíbrio conformacional. Dentre elas, em fase isolada uma representou 48,40% do equilíbrio (Figura 39), sendo *trans* com relação ao grupo catecol e carboxílico, e *gauche* com relação ao grupo amônio e catecol. Além disso, apresenta

um arranjo distal entre estes dois últimos substituintes, o que confere um menor impedimento estérico e, conseqüentemente, contribuindo para sua maior estabilidade. Juntamente com seu menor impedimento estérico, as interações hiperconjugativas comprovaram a maior estabilidade deste confômero. Em solução, novamente, houve um equilíbrio nas populações dos rotâmeros, sendo que as formas *trans* foram novamente estabilizadas frente à única *gauche*. Nos experimentos com RMN, da mesma maneira como aconteceu com os outros dois compostos já mencionados, não foi possível determinar a tendência do equilíbrio com as variações vistas nestes experimentos, pois os confômeros majoritários apresentaram ângulos diedros muito próximos. Entretanto o que se pode afirmar e que concorda com os dados teóricos em solução foi que em todos os casos os valores de $^3J_{HH}$ são referentes a arranjos *trans*.

Para a L-dopaquinona, doze geometrias representaram seu equilíbrio. O confômero mais estável em fase isolada e o mais estável em solução aquosa (Figura 48) apresentaram uma disposição espacial bem semelhante, diferindo apenas no posicionamento das carbonilas do anel em relação ao restante da molécula. Na geometria majoritária em fase isolada, o grupo amino localizou-se o mais distante possível a uma das carbonilas, sendo menos impedido estericamente, e assim, mais estável. No entanto, no mais estável em meio aquoso, este mesmo grupo ficou o mais próximo possível desta mesma carbonila, ou seja, mais impedido estericamente. Embora ambos apresentem um arranjo *trans*, relacionando os grupos mais volumosos carboxílico e anel diênico, o favorecimento do majoritário em solução foi resultado do mesmo ter apresentado um dos maiores momentos de dipolo, que aliado ao seu arranjo espacial e a uma ligação de hidrogênio, contribuiu para este fato. Diferentemente do que nos demais compostos, neste caso a interação soluto-solvente não foi favorecida.

Finalmente, para a L-dopaquinona protonada a mesma geometria (Figura 50) foi a mais estável em fase isolada e em solução aquosa. Das três conformações envolvidas em seu equilíbrio, para a majoritária, seu menor impedimento estérico aliado à menor distância entre os átomos envolvidos na ligação de hidrogênio intramolecular foram os fatores que governaram sua maior estabilidade no equilíbrio conformacional da L-dopaquinona⁺.

Podemos concluir com estes resultados que as interações hiperconjugativas não foram a principal regra na estabilidade conformacional observada, exceto para a

L-dopa protonada, mas ajudaram a explicar o porquê da maior estabilidade das conformações de menor energia.

Um fato interessante foi que a principal influência do solvente nas moléculas foi a estabilização das conformações *trans*, para as formas neutra e protonada da dopamina e L-dopa. Isto não ocorreu com as diferentes formas da L-dopaquinona.

As formas protonadas apresentam um grau de liberdade conformacional a menos do que as neutras (relacionado à rotação ao redor da ligação C-N). Isto acarretou no fato de que as moléculas protonadas apresentassem um número bem menor de conformações envolvidas em seus equilíbrios conformacionais do que as neutras.

Apesar da semelhança estrutural entre os compostos analisados, as conformações mais estáveis dos mesmos não apresentaram uma disposição espacial semelhante.

Já nos mapas de potencial eletrostático, as superfícies plotadas para as estruturas majoritárias de cada composto apresentaram uma distribuição eletrônica semelhante, ou seja, o maior potencial negativo se concentrou nos oxigênios, devido à sua eletronegatividade, assim como as regiões com hidrogênios foram as mais positivas. Para as formas da dopamina e L-dopa, esses MPEs foram ainda mais parecidos, sendo a região com maior densidade eletrônica ao redor do oxigênio que não estava envolvido na ligação de hidrogênio intramolecular, e para a L-dopaquinona em torno dos oxigênios carbonílicos do anel de seis membros. Esses MPEs ajudaram a comprovar a presença estabilizadora das ligações de hidrogênio intramoleculares nas conformações. As regiões que apresentaram uma maior densidade eletrônica possivelmente serão as quais se ligarão com o sítio ativo dos receptores, sendo este estudo de grande importância, por exemplo, para um melhor entendimento da fisiopatologia de diversas doenças relacionadas às moléculas analisadas, pois este mecanismo de interação substrato-enzima deve envolver um processo de seleção conformacional, no qual o contato entre ambos é dependente de uma orientação espacial de certos átomos. O estudo destas interações pode ser fruto da continuidade desta linha de estudo, porém a princípio, pôde-se mapear apenas algumas tendências.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, R. J.; TORMENA, C. F.; RITTNER, R. Conformational analysis, Part 32. NMR, solvation and theoretical investigation of conformational isomerism in 3-fluorobutan-2-one and 3,3-difluorobutan-2-one. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, p. 1663–1667, 1999.

ABREU, H. A. de. **Estudo de sistemas químicos aplicando-se a Teoria do Funcional de Densidade**. 2004, 163 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

AFONSO, I. F. **Modelagem Molecular e Avaliação da Relação Estrutura-Atividade Acoplados a Estudos Farmacocinéticos e Toxicológicos *in silico* de Derivados Heterocíclicos com Atividade Antimicrobiana**. 2008, 136 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

ALISTE, M. P.; CASSELS, B. K. Computational study on the conformations of dopamine, its α - and *ortho*-methylated derivatives and their *N*-protonated forms. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, p. 906–915, 2001.

ASANUMA, M.; MIYAZAKI, I.; OGAWA, N. Dopamina- or L-DOPA-induced neurotoxicity: the role of dopamine quinone formation and tyrosinase in a model of Parkinson's disease. **Neurotoxicity Research**, v. 5, n. 3, p. 165-176, 2003.

ATKINS, P. W. **Físico-Química**, 6. ed., v. 2, Rio de Janeiro: LTC Editora, p. 11, 1999.

BECKE, A. D. A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, p. 1372-1377, 1993.

BECKER, J. W.; THATHACHARI, Y. T.; SIMPSON, P. G. Molecular conformation of L-DOPA. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 41, n. 2, p. 444-449, 1971.

BLARZINO, C. et al. Lipxygenase/ H_2O_2 - Catalyzed oxidation of dihydroxyindoles: Synthesis of melanin pigments and study of their antioxidant properties. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 3-4, p. 446–453, 1999.

BOCCA, C. C. **Estudo teórico-experimental do estado de transição da redução de cicloexanonas-2-monosubstituídas, com hidretos metálicos ($LiAlH_4$ e $NaBH_4$)**. 2008, 141 f. Tese (Doutorado em Ciências)- Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

BOCCA, C. C.; BASSO, E. A.; MOSQUETTA, R. Conformational study of the four main dipyrone metabolites through theoretical methods: Electrostatic potential maps and NBO calculations. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 815, p. 75–81, 2007.

BRIDELLI, M. G.; CRIPPA, P. R. Infrared and Water Sorption Studies of the Hydration Structure and Mechanism in Natural and Synthetic Melanin. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, p. 9381–9390, 2010.

BUSTARD, T. M.; EGAN, R. S. The conformation of dopamine hydrochloride. **Tetrahedron**, v. 27, p. 4457-4469, 1971.

BUTLER, M. J.; DAY, A. W. Fungal melanins: A review. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 1115–1136, 1998.

CARDOSO FILHO, J. E. P. Estudos de diastereosseletividade facial em reações de Diels-Alder de sulfinil benzoquinonas e em adições nucleofílicas a sulfinil cicloexanonas sulfaniladas. 2008,

CHEN, S.-R. et al. Isolation and characterization of natural melanin derived from silky fowl (*Gallus gallus domesticus* Brisson). **Food Chemistry**, v. 111, p. 745–749, 2008. 179 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

CLANCY, C. M. R.; SIMON, J. D. Ultrastructural Organization of Eumelanin from *Sepia officinalis* Measured by Atomic Force Microscopy. **Biochemistry**, v. 40, p. 13353-13360, 2001.

CRAMER, C. J. **Essentials of Computational Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2002.

DERIDER, M. L. et al. Collagen Stability: Insights from NMR Spectroscopic and Hybrid Density Functional Computational Investigations of the Effect of Electronegative Substituents on Prolyl Ring Conformations. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 11, p. 2497-2505, 2002.

DOUBLE, K. L. Functional effects of neuromelanin and synthetic melanin in model systems. **Journal of Neural Transmission**, v. 113, p. 751–756, 2006.

ELIEL, E. L.; WILEN, S. H.; MANDER, L. N. **Stereochemistry of Organic Compounds**. New York: John Wiley & Sons, 1994.

FAUSTO, R.; RIBEIRO, M. J. S.; LIMA, J. J. P. de. A molecular orbital study on the conformational properties of dopamine [1,2-benzenediol-4(2-aminoethyl)] and dopamine cation. **Journal of Molecular Structure**, v. 484, p. 181-196, 1999.

FIORIN, B. C. **Estudo do Isomerismo Rotacional de α -Halotioésteres e α -Fluoracetofenonas por Cálculos Teóricos e pelas Espectroscopias de RMN e IV.** 2006, 82 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

FIORIN, B. C. et al. Theoretical and Experimental Investigation on the Rotational Isomerism in α -Fluoroacetophenones. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 113, p. 2906–2913, 2009.

FLÜKIGER, P. et al. **Molekel 5.3.0**, Switzerland: Swiss National Supercomputing Centre CSCS, Manno, 2008.

FORESMAN, J. B.; FRISCH, A. **Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods**. 2. ed. Pittsburgh: Gaussian Inc., 1996.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 03**, Revision C.02. Pittsburgh: Gaussian Inc., Wallingford CT, 2004.

GANELLIN, C. R. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 579-581, 1977.

GARBISCH, E. J.; EDGAR, W. **Journal of the American Chemical Society**, v. 86, p. 1780–1782, 1964.

GRANOT, J. **FEBS Letters**, v. 67, p. 271-275, 1976.

HEHRE, W. J. **A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations**. Irvine: Wavefunction, 2003.

HÖLTJE, H. D. et al. Introduction to comparative protein modeling. In **Molecular Modeling: Basic Principles and Applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.

HONG, L.; SIMON, J. D. Current Understanding of the Binding Sites, Capacity, Affinity, and Biological Significance of Metals in Melanin. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 111, p. 7938-7947, 2007.

HORE, P. J. **Nuclear Magnetic Resonance**. New York: Oxford Science Publication, 1995.

HUNG, Y.-C. et al. Antioxidant activity of melanins derived from tea: comparison between different oxidative states. **Food Chemistry**, v. 78, p. 233–240, 2002.

ITO, S. A chemist's view of melanogenesis. **Pigment Cell Research**, v. 16, p. 230–236, 2003.

ITO, S.; WAKAMATSU, K. Chemistry of Mixed Melanogenesis-Pivotal Roles of Dopaquinone. **Photochemistry and Photobiology**, v. 84, p. 582–592, 2008.

KALKA, K. et al. Biomelanin Antioxidants in Cosmetics: Assessment Based on Inhibition of Lipid Peroxidation. **Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology**, v. 13, p. 143-149, 2000.

KOKKINO, D. et al. The pigmentation of human iris influences the uptake and storing of zinc. **Pigment Cell Research**, v. 17, p. 515–518, 2004.

KOLLIAS, N. et al. New trends in photobiology: Photoprotection by melanin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 9, p. 135-160, 1991.

LANGFELDER, K. et al. Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v. 38, p. 143–158, 2003.

LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, p.785-789, 1988.

LIU, Y. et al. Comparison of the structural, chemical and spectroscopic properties of human black and red hair melanosomes. **Photochemistry and Photobiology**, v. 81, p. 135–144, 2005.

LUCENA, J. R.. **Estudo Teórico e Experimental de CFC's e HCFC's Isolados em Matrizes Criogênicas**. 2008, 174 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

MASON, H. S. The chemistry of melanin. III. Mechanism of the oxidation of dihydroxyphenylalanine by tyrosinase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 172, p. 83–99, 1948.

MENEGATTI, R. et al. Esquizofrenia: Quarenta anos da hipótese dopaminérgica sob a ótica da química medicinal. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 447-455, 2004.

MOHORCIC, M. et al. Production of Melanin Bleaching Enzyme of Fungal origin and Its Application in Cosmetics. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 12, p. 200-206, 2007.

NAGATSU, T.; SAWADA, M. L-DOPA therapy for Parkinson's disease: past, present, and future. **Parkinsonism & Related Disorders**, v. 15, suplemento 1, S3–S8, 2009.

NAGY, P. I.; ALAGONA, G.; GHIO, C. Theoretical Studies on the Conformation of Protonated Dopamine in the Gas Phase and in Aqueous Solution. **Journal of the American Chemical Society**, v. 121, p. 4804-4815, 1999.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de Bioquímica**, 3. ed., São Paulo: Sarvier, p. 662, 2002.

ORTONNE, J.-P. Photoprotective properties of skin melanin. **British Journal of Dermatology**, v. 146, suplemento 61, p 7–10, 2002.

PARK, S.-K.; LEE, N.-S.; LEE, S.-H. Vibrational Analysis of Dopamine Neutral Base based on Density Functional Force Field. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 21, n. 10, p.959-968, 2000.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia**, 4. ed., São Paulo: Cengage Learning, p. 225-227 e 245, 2010.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 4. ed. Oxford: Butterworth Heinemann, 1998.

PICKERING, R. A.; PRICE, C. C. An Estimate of the Conformational Equilibrium in Cyclohexanol from Infrared Spectra. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, p. 4931, 1958.

POLITZER, P.; DAIKER, K. C. **In the Force Concept in Chemistry**. New York: Van Nostrand Reinhold, cap. 6, 1981.

POLITZER, P., TRUJLAR, D. G. **Chemical Application of Atomic and Molecular Electrostatic Potentials**. New York: Plenum Press, 1981.

PONTES, R. M. **Barreiras Rotacionais em Sistemas Amídicos. Estudo Experimental e Teórico de Congêneros de Carbamatos e Uréias**. 2006, 192 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

POPHRISTIC, V.; GOODMAN, L. Hyperconjugation not steric repulsion leads to the staggered structure of ethane. **Nature**, v. 411, p. 565- 568, 2001.

RILEY, P. A. Melanin. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 29, n. 11, p. 1235-1239, 1997.

RODRIGUES, A. **Análise conformacional de orto e meta-acetofenonas- α -fosfonatos e seus derivados: α -metiltio; α -metilsulfinil; e α -metil-sulfonyl-substituídas e estudo da reatividade de α -haloacetofenonas orto e meta-substituídas em trietilfosfite.** 2003, 271 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

RODRÍGUEZ, L. J. et al. Conformational theoretical study of substituted and non-substituted N-alkyl-2-aminoindans and its relation with dopaminergic activity. **Journal of Molecular Structure (Theochem)**, v. 636, p.1–8, 2003.

ROZAS, I. On the nature of hydrogen bonds: an overview on computational studies and a word about patterns. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 9, p. 2782-2790, 2007.

SABENS, E. A.; DISTLER, A. M.; MIEYAL, J. J. Levodopa Deactivates Enzymes That Regulate Thiol-Disulfide Homeostasis and Promotes Neuronal Cell Death: Implications for Therapy of Parkinson's Disease. **Biochemistry**, v. 49, p. 2715–2724, 2010.

SÁNCHEZ-FERRER, A. et al. Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1247, p. 1-11, 1995.

SAPER, C. B.; PETITO, C. K. Correspondence of melanin-pigmented neurons in human brain with A1-A14 catecholamine cell groups. **Brain**, v. 105, p. 87-101, 1982.

SCROCCO, E.; TOMASI, J. **In Topics in Current Chemistry.** Berlim: Springer, v. 42, p. 95, 1973.

SIDDIQUI, S. A. et al. Comparative conformational, structural and vibrational study on the molecular structure of tyrosine and L-DOPA using density functional theory. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, v. 2, n. 4, p. 835-850, 2010.

SILVA, J. C. A.. **Estudos Estruturais de Agonistas da Acetilcolina pela Espectroscopia de RMN e Cálculos Teóricos.** 2008, 126 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

SILVEIRA, J. E. P. S. **Avaliação dos efeitos *in vitro* de espécies vegetais como potenciais ativos despigmentantes.** 2007, 99 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000, p. 173-174.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. New York: John Wiley & Sons, 2001.

SOARES, A. R. **Lignificação de raízes de soja sob ação de L-3,4-diidroxifenilalanina (L-DOPA)**. 2006, 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

SOLANO, F. et al. Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects. **Pigment Cell Research**, v. 19, p. 550–571, 2006.

THOMAS, W. J. **Internal Rotation in Molecules**. New York: John Wiley & Sons, 1974.

TOMASI, J. B.; SCROCCO, E.; MIERTUS, S. Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of *ab initio* molecular potentials for the prevision of solvent effects. **Chemical Physics**, v. 55, p. 117, 1981.

URBAN, J. J.; CRAMER, C. J.; FAMINI, G. R. A Computational Study of Solvent Effects on the Conformation of Dopamine. **Journal of the American Chemical Society**, v. 114, p. 8226-8231, 1992.

UYEN, L. D. P.; NGUYEN, D. H.; KIM, E-K. Mechanism of Skin Pigmentation. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 13, p. 383-395, 2008.

WAKAMATSU, K.; ITO, S. Advanced Chemical Methods in Melanin Determination. **Pigment Cell Research**, v.15, p. 174–183, 2002.

WATT, A. A. R.; BOTHMA, J. P.; MEREDITH, P. The supramolecular structure of melanin. **Soft Matter**, v. 5, p. 3754–3760, 2005.

WEINHOLD, F. A new twist on molecular shape. *Nature*, v. 411, p. 539-541, 2001.

WEINHOLD, F.; LANDIS, C. R. **Valency and Bonding. A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

WIELGUS, A. R.; SARNA, T. Melanin in human irides of different color and age of donors. **Pigment Cell Research**, v. 18, p. 454–464, 2005.

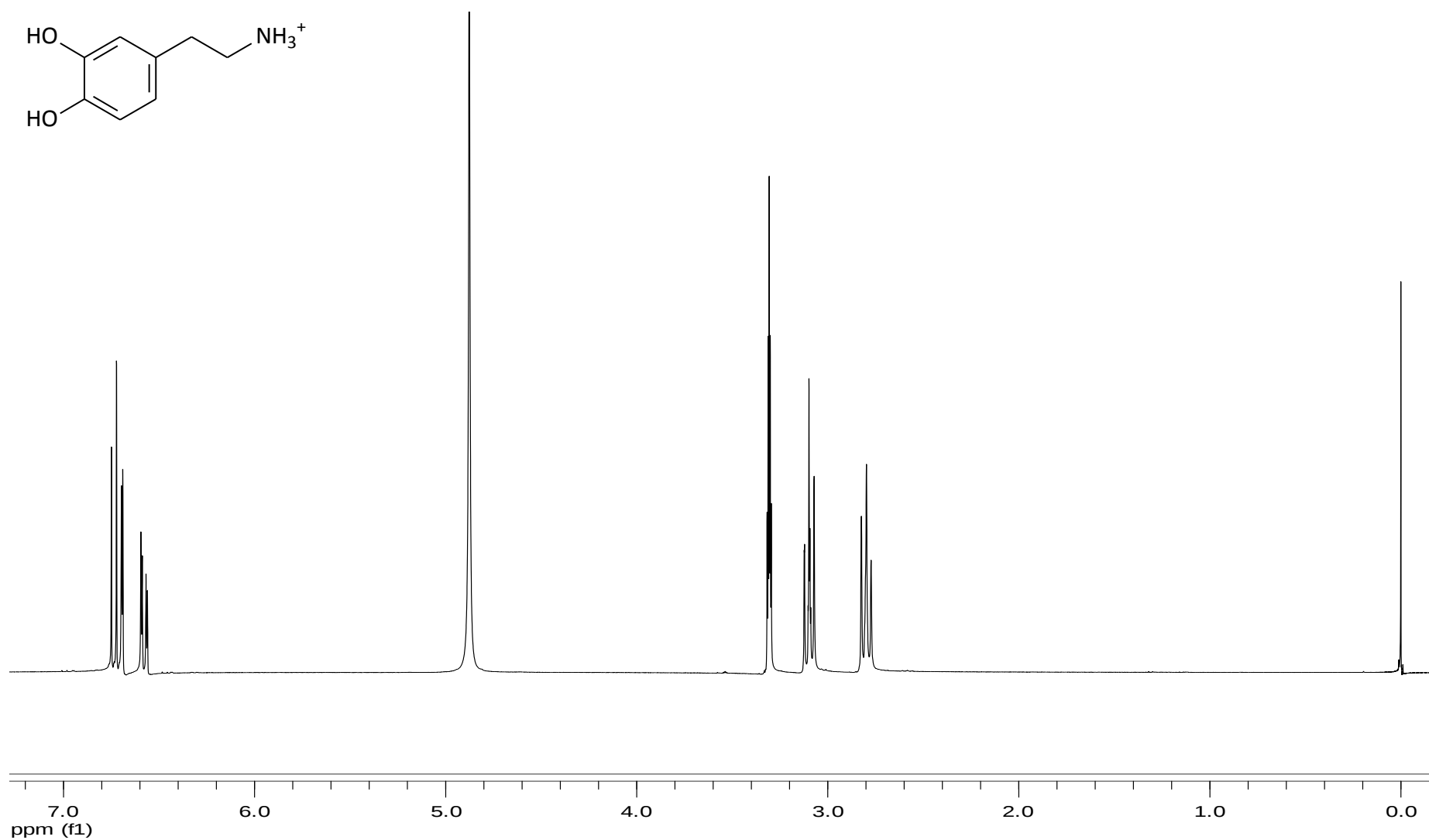
WILCOX, R. E. et al. CoMFA-Based Prediction of Agonist Affinities at Recombinant D1 vs D2 Dopamine Receptors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, n. 22, p. 4385-4399, 1998.

WILLIAMSON, P. R.; WAKAMATSU, K.; ITO, S. Melanin Biosynthesis in *Cryptococcus neoformans*. **The Journal of Bacteriology**, v. 180, n. 6, p. 1570-1572, 1998.

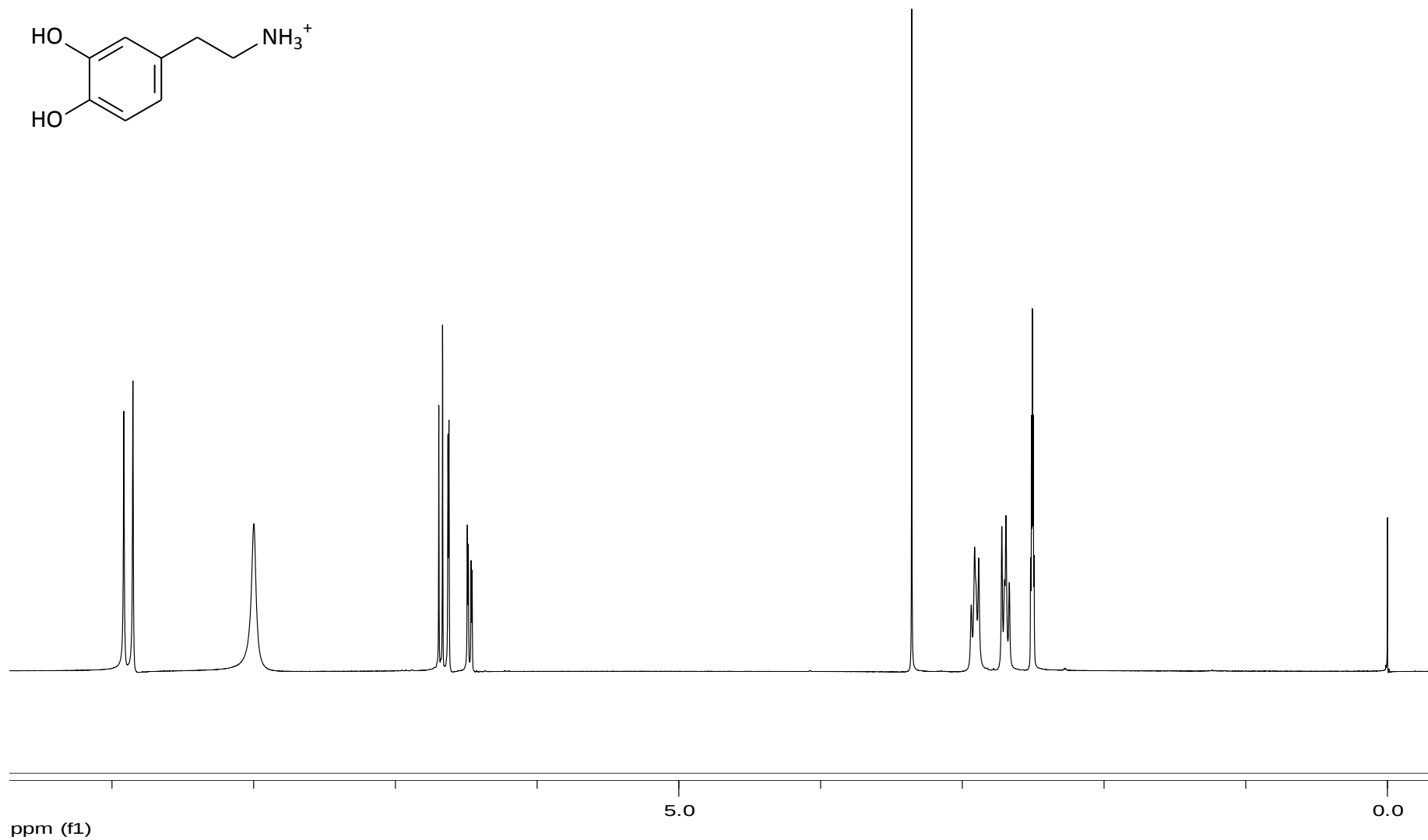
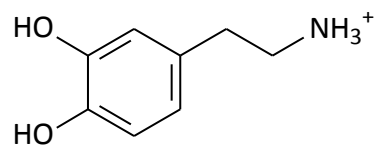
WONG, A. H. C.; TOL, H. H. M. van. **Neuroscience & Biobehavior Reviews**, v. 27, p. 269, 2003.

WONG, S. E.; BERNACKI, K.; JACOBSON, M. Competition between Intramolecular Hydrogen Bonds and Solvation in Phosphorylated Peptides: Simulations with Explicit and Implicit Solvent. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 109, p. 5249–5258, 2005.

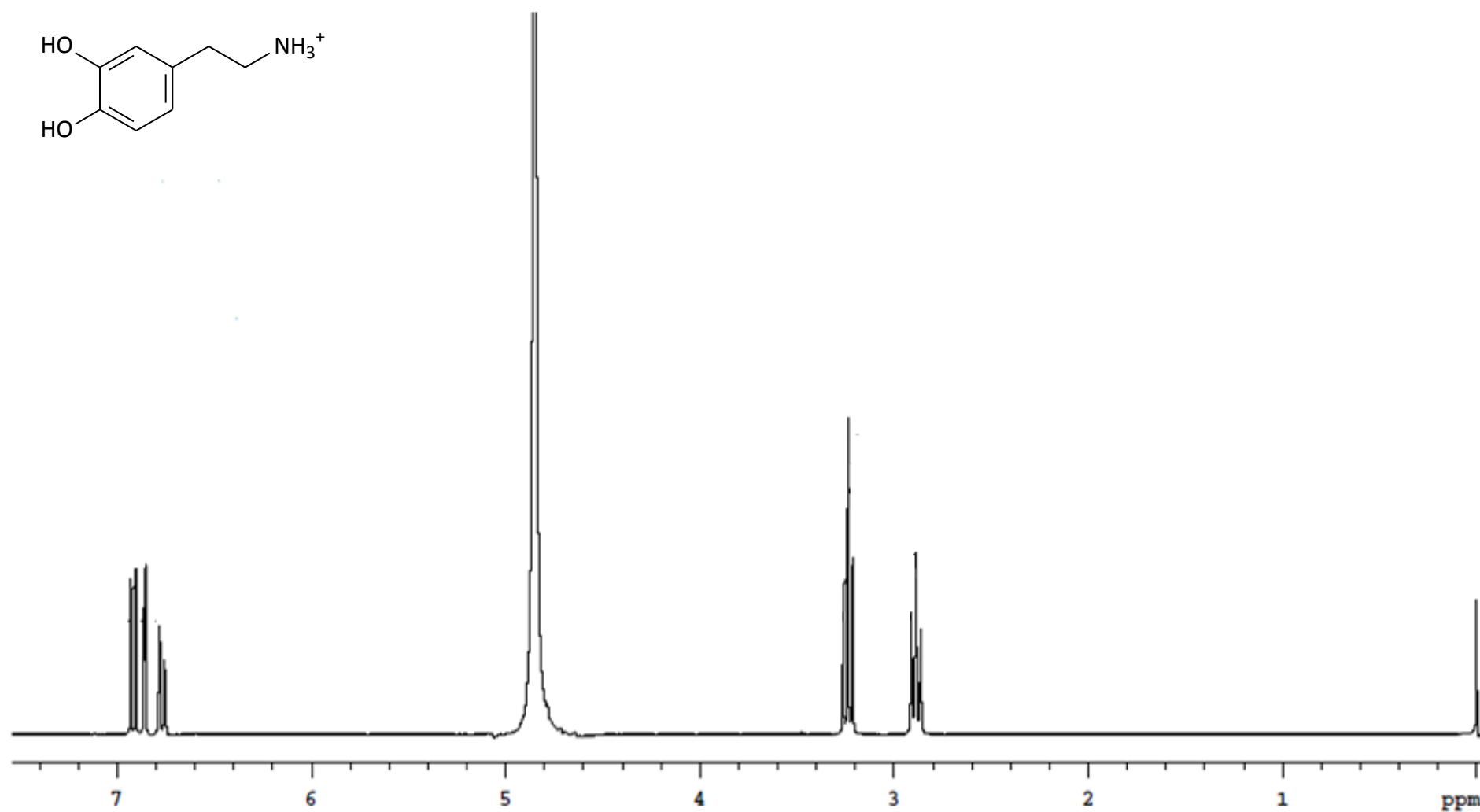
YOUNG, D. C. **Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems**. New York: John Wiley & Sons, 2001.



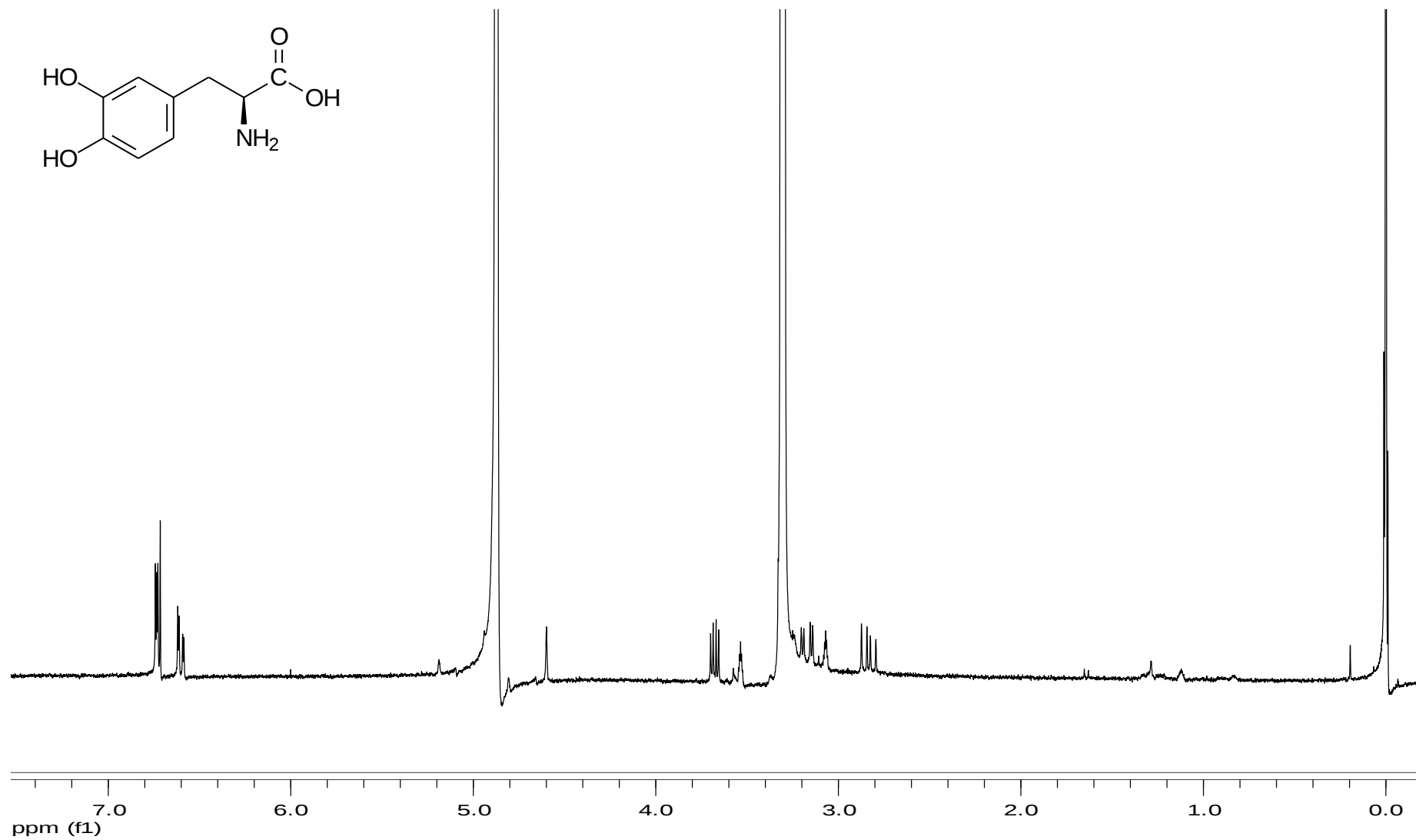
ANEXO A- Espectro de RMN de ¹H a 300 MHz da dopamina protonada em CD₃OD.



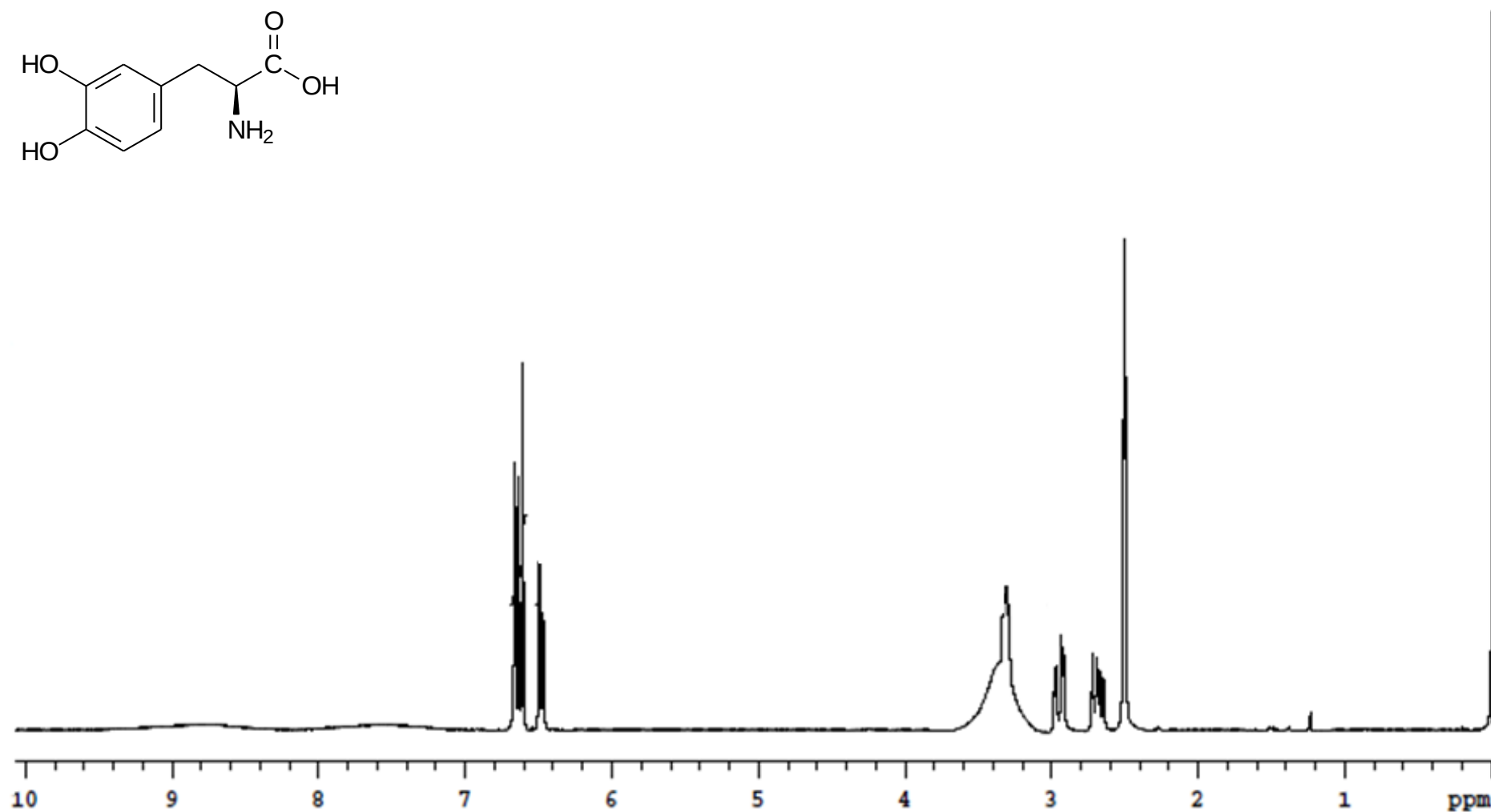
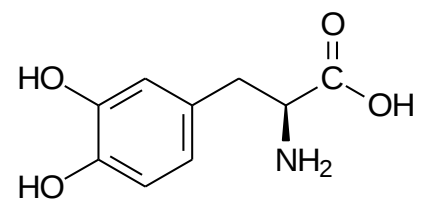
ANEXO B- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da dopamina protonada em DMSO-d_6 .



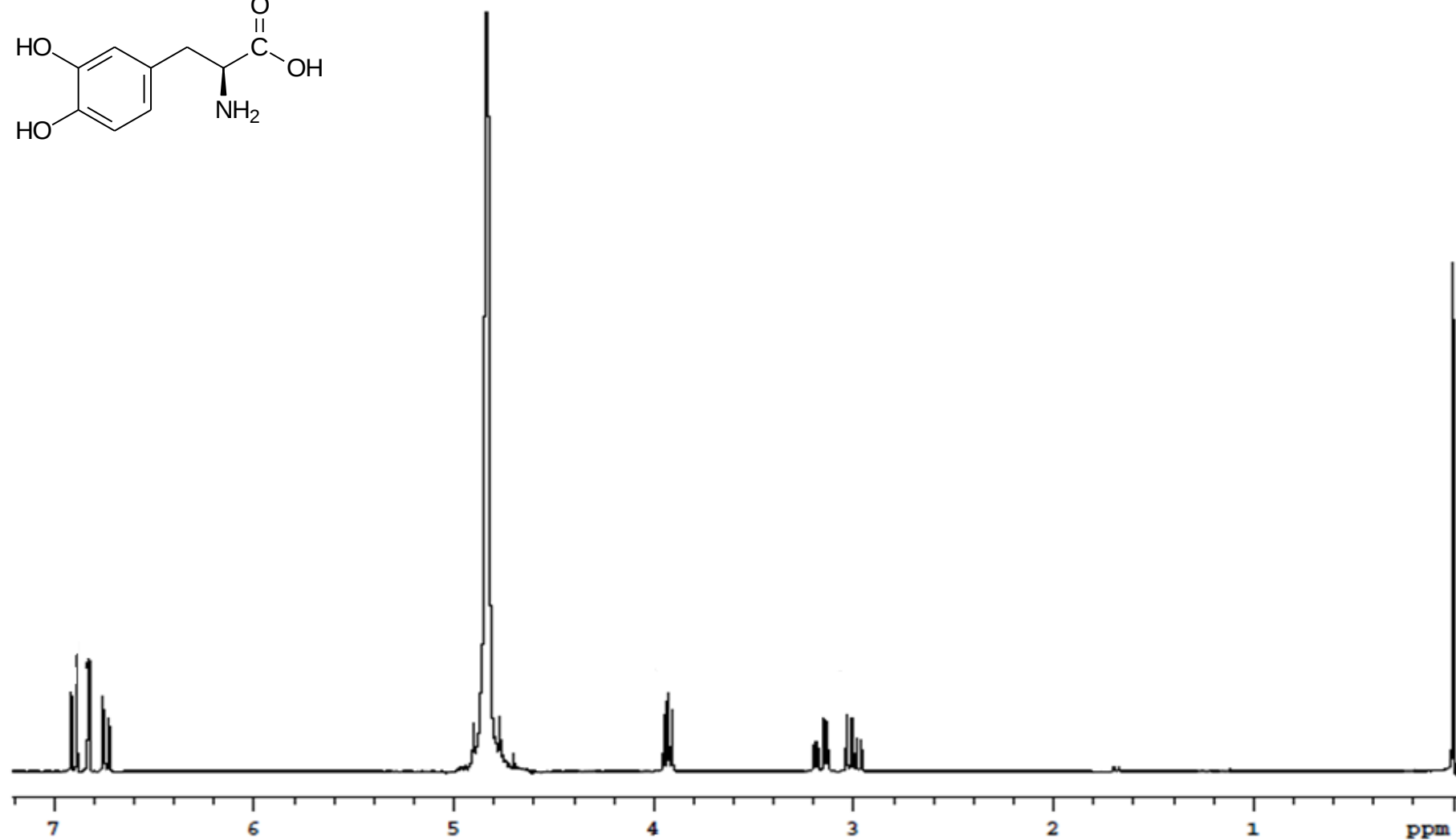
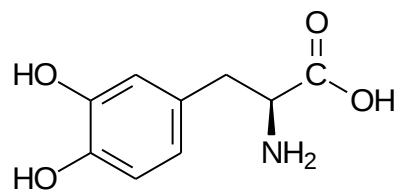
ANEXO C- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da dopamina protonada em D_2O .



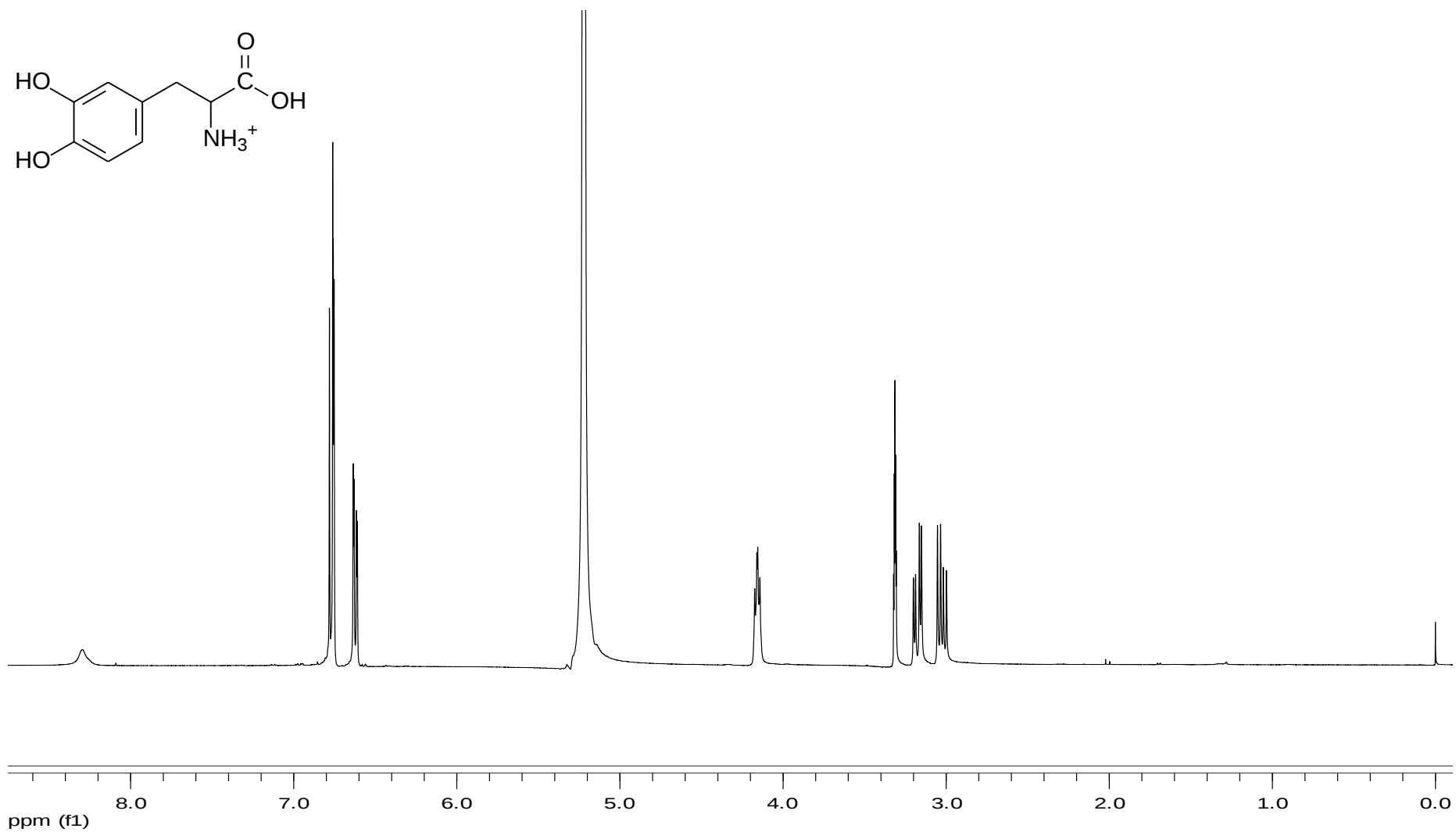
ANEXO D- Espectro de RMN de ¹H a 300 MHz da L-dopa neutra em CD₃OD.



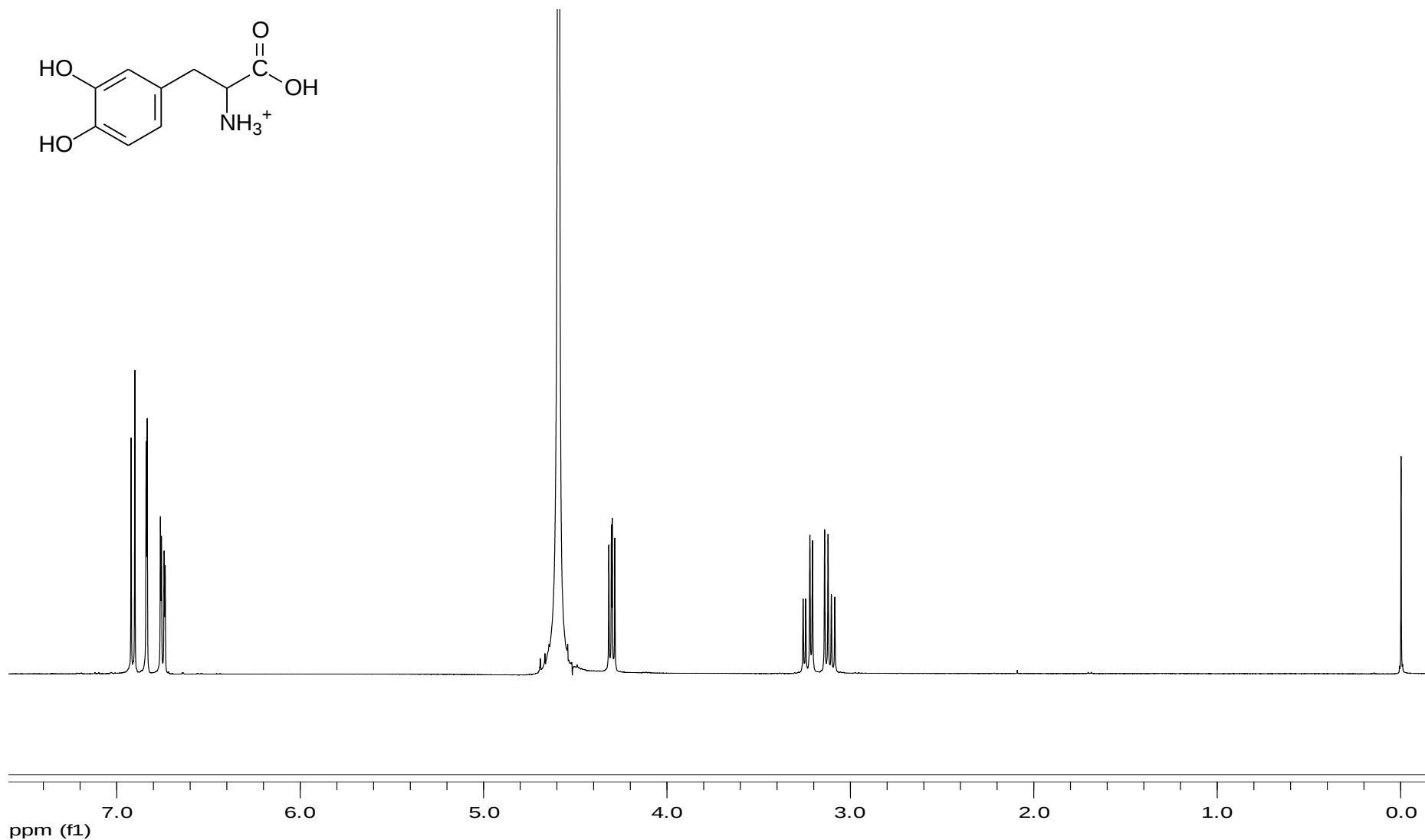
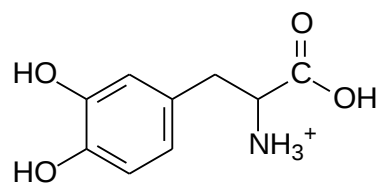
ANEXO E- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da L-dopa neutra em $\text{DMSO}-d_6$.



ANEXO F- Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz da L-dopa neutra em D_2O .



ANEXO G- Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz da L-dopa protonada em CD₃OD.



ANEXO H- Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz da L-dopa protonada em D_2O .