



**LAIZE APARECIDA FERREIRA ANDRADE**

**ANÁLISE CONFORMACIONAL TEÓRICA E  
ESPECTROSCÓPICA DO ENFLURANO  
LIVRE, EM SOLUÇÃO E EM MEIO  
BIOLÓGICO**

**LAVRAS-MG**

**2016**

**LAIZE APARECIDA FERREIRA ANDRADE**

**ANÁLISE CONFORMACIONAL TEÓRICA E  
ESPECTROSCÓPICA DO ENFLURANO  
LIVRE, EM SOLUÇÃO E EM MEIO  
BIOLÓGICO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Agroquímica, área de concentração  
em Química/Bioquímica para a  
obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Matheus Puggina de Freitas

**LAVRAS-MG**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Andrade, Laize Aparecida Ferreira.

Análise conformacional teórica e espectroscópica do  
enflurano livre, em solução e em meio biológico / Laize Aparecida  
Ferreira Andrade. – Lavras : UFLA, 2016.

87 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de  
Lavras, 2016.

Orientador(a): Matheus Puggina de Freitas.

Bibliografia.

1. Enflurano. 2. Equilíbrio conformacional. 3.  
Hiperconjugação. 4. Ligação de Hidrogênio. I. Universidade  
Federal de Lavras. II. Título.

**ANÁLISE CONFORMACIONAL TEÓRICA E  
ESPECTROSCÓPICA DO ENFLURANO  
LIVRE, EM SOLUÇÃO E EM MEIO  
BIOLÓGICO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Agroquímica, área de concentração  
em Química/Bioquímica para a  
obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 18 de fevereiro de 2016.

Dr. Cléber Paulo Andrada Anconi      UFLA

Dr. Luiz Gustavo de Lima Guimarães      UFSJ

Dr. Teodorico de Castro Ramalho      UFLA

Dr. Matheus Puggina de Freitas

Orientador

**LAVRAS - MG**

**2016**

*Aos meus pais Marcos e Ceni.*

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família e amigos que sempre confiaram e apoiaram minhas decisões.

Aos professores Cléber Paulo Andrada Anconi, Jennifer van Wijngaarden, Kirk Marat, Luiz Gustavo de Lima Guimarães e Teodorico de Castro Ramalho que contribuíram para o desenvolvimento e finalização deste projeto. E minha sincera gratidão ao professor Matheus Puggina de Freitas, pelos longos anos de paciência, atenção, confiança e amizade.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Química pela oportunidade concedida para realização do mestrado.

Ao programa de estudos e desenvolvimento Emerging Leaders in the Americas Program (ELAP) pelo apoio financeiro e pela oportunidade de uma nova experiência.

À CAPES pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Enflurano é um anestésico volátil fluorado, cuja conformação biológica é ainda desconhecida. Estudos anteriores relatam informações sobre as conformações do enflurano em solução não polar e em fase gasosa. Objetivando estudar a estabilidade conformacional deste composto, o presente trabalho, por meio de técnicas computacionais e espectroscópicas (infravermelho, ressonância magnética nuclear e microondas), mostra que três pares de conformações isoenergéticas estão presentes nas fases gasosa, líquida e em soluções polares e não polares, enquanto que uma única conformação é largamente preferencial em relação aos seus isômeros isoenergéticos para complexar com o sítio ativo da enzima Integrina LFA-1 (código PDB: 3F78), onde se sabe que o isoflurano (um anestésico amplamente utilizado) se complexa. Ao contrário do que tem sido reportado na literatura, uma ligação de hidrogênio originada da interação eletrostática entre o hidrogênio do grupo  $\text{CHF}_2$  e os átomos de flúor centrais  $\text{CF}_2$  não foi encontrada para governar o isomerismo conformacional do enflurano. Além disso, as interações intramoleculares com base em efeitos estéricos, eletrostáticos e hiperconjugativos, normalmente utilizados para descrever o efeito anomérico, não são responsáveis pela possível conformação bioativa do enflurano, a qual é, em vez disso, regulada pelo encaixe induzido pela enzima.

**Palavras-chave:** Enflurano. Equilíbrio conformacional. Hiperconjugação. Ligação de Hidrogênio.

## ABSTRACT

Enflurane is a fluorinated volatile anesthetic, whose biological conformation is still unknown. Previous studies have reported the enflurane conformations of for the gas phase and in non-polar solution. With the aim of studying the conformational stability of the enflurane, this study, performed using computational and spectroscopic (infrared, nuclear magnetic resonance and microwave) techniques, shows that three pairs of isoenergetic conformations are present in the gas phase, neat liquid, polar and non-polar solutions, while a single conformation is largely preferred in relation to other isoenergetic isomers to complex with the active site of the integrin LFA-1 enzyme (PDB code: 3F78), where the widely used anesthetic isoflurane (a constitutional isomer of enflurane) is known to bind. Contrary to previous reports in the literature, weak hydrogen bonding from an electrostatic interaction between the CHF<sub>2</sub> hydrogen and the central CF<sub>2</sub> fluorines was not found to govern the conformational isomerism of enflurane. Moreover, intramolecular interactions based on steric, electrostatic and hyperconjugative effects usually invoked to describe the anomeric effect are not responsible for the possible bioactive conformation of enflurane, which is rather regulated by the enzyme induced fit.

**Keywords:** Enflurane. Conformational equilibrium. Hyperconjugation. Hydrogen bond.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Energias relativas conformacionais ( $\Delta E_{\text{eletrônica-nuclear}}$ , em kcal mol <sup>-1</sup> ) de acordo com o método MP2/ $\omega$ B97X-D//6-311++G(d,p). Energias relativas conformacionais ( $\Delta E_{\text{eletrônica-nuclear}}$ e $\Delta G^\circ$ , em kcal mol <sup>-1</sup> ), momento de dipolo ( $\mu$ , Db) e populações correspondentes (%), de acordo com o método DFT/ $\omega$ B97X-D//6-311++G(d,p).....	43
Tabela 2	Energias relativas Eletrônica-nuclear ( $\Delta E_{\text{ele.}}$ ), Lewis ( $\Delta E_{\text{est.}}$ e $\Delta E_{\text{elet.}}$ ) e não-Lewis ( $\Delta E_{\text{hip.}}$ ), em kcal mol <sup>-1</sup> , para as conformações <b>a-c'</b> do enflurano em fase gasosa e em solventes implícitos, em nível $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p).....	47
Tabela 3	Interações hiperconjugativas presentes no efeito <i>gauche</i> para os confômeros <b>a-c'</b> em nível $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p), fase gás.....	49
Tabela 4	Interações hiperconjugativas, presentes no efeito anomérico, obtidas por análise NBO em nível $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p) para os confômeros <b>a-c'</b> na fase gás (em kcal mol <sup>-1</sup> ).....	51
Tabela 5	Parâmetros espectroscópicos obtidos por análise de RMN para os átomos de <sup>1</sup> H e <sup>19</sup> F em soluções de cicloexano e acetonitrila (298 K).....	53
Tabela 6	Constantes de acoplamento teóricas <sup>4</sup> J <sub>H,F</sub> (Hz) para os confômeros do enflurano em solventes implícitos e na fase gás.....	54
Tabela 7	Constantes de acoplamento teóricas <sup>3</sup> J (Hz) para os confômeros do enflurano na fase gás e em solventes implícitos cicloexano e acetonitrila.....	52
Tabela 8	Constantes de acoplamento experimental (Hz) para o enflurano.....	56

Tabela 9	Parâmetros espectroscópicos obtidos por análise de RMN de $^{13}\text{C}$ em soluções de cicloexano e acetonitrila (298 K)	57
Tabela 10	Constantes de acoplamento teóricas ( <b>a-c'</b> ) e experimentais (298-233K) obtidas para as conformações estáveis do enflurano (Hz).....	59
Tabela 11	Números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) no infravermelho obtidos por cálculos teóricos para os confôrmeros do enflurano de maior estabilidade, e suas respectivas atribuições aproximadas.....	61
Tabela 12	Parâmetros espectroscópicos rotacionais teóricos, em nível MP2/6-311++G(d,p), para as conformações estáveis e rotacionais experimentais do enflurano.....	66
Tabela 13	Energia relativa de interação ( $\Delta\Delta E$ , $\text{Kcal mol}^{-1}$ ) entre resíduos de aminoácidos do sítio ativo da Integrina LFA-1 (PDB:3F78) e as conformações do enflurano, de acordo com estudos de <i>docking</i> molecular.....	69

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estruturas químicas do desflurano, enflurano, isoflurano e sevoflurano.....	16
Figura 2	2-Cloro-1-(difluorometoxi)-1,1,2-trifluoroetano.....	18
Figura 3	Comportamento de $e^x$ , em que $x = r$ (linha sólida, STO) e $x = r^2$ (linha tracejada, GTO).....	23
Figura 4	Orientações <i>gauche</i> e <i>anti</i> entre os substituintes X e Y do etano.....	26
Figura 5	Exemplo de repulsão dipolar no confômero equatorial (a), efeito endo (b) e exo (c) anomérico em piranosídeos substituídos.....	28
Figura 6	Confômeros do enflurano: (a)-(c) isômeros rotacionais do ângulo diedro Cl-C*-C-O ( $\Psi_1$ ); (d)-(f) isômeros rotacionais do ângulo diedro C*-C-O-C ( $\Psi_2$ ); (g)-(i) isômeros rotacionais do ângulo diedro C-O-C-H ( $\Psi_3$ ). 40	40
Figura 7	Confômeros do enflurano na fase gasosa.....	42
Figura 8	Mapas NCI indicando algumas interações intramoleculares não covalentes para os confômeros mais estáveis do enflurano. As superfícies foram construídas com RDG=1.0au e a escala de cores azul-vermelho a partir de -0.02 au < sign( $\lambda_2$ ) $\rho$ < +0.02 au.....	45
Figura 9	Possibilidades do efeito anomérico para o enflurano.....	50
Figura 10	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ para o enflurano em solução de $\text{CD}_3\text{CN}$ (0,1 M).....	52
Figura 11	Espectro de RMN de $^{19}\text{F}$ para o enflurano em solução de $\text{CD}_3\text{CN}$ (0,1 M).....	52
Figura 12	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ para o enflurano em solução de $\text{CD}_3\text{CN}$ (0,1 M).....	58

Figura 13	Espectro no infravermelho para o enflurano (líquido puro).....	60
Figura 14	Espectro no infravermelho para o líquido puro do enflurano, indicando os três pares de conformações isoenergéticas por deconvolução Gaussiana.....	62
Figura 15	Barreira rotacional entre os pares de isômeros obtidos para o enflurano.....	64
Figura 16	Parte do espectro rotacional do enflurano, em GHz, obtido por cp-FTMW após 50.000 médias de sinais e espectros teóricos para os confôrmeros com base nas constantes de rotações calculadas.....	67
Figura 17	Confôrmero <b>a</b> complexado com a enzima Integrina LFA-1, destacando os resíduos de aminoácidos mais próximos ao ligante.....	70

## LISTA DE SIGLAS

DFT. Teoria do Funcional de Densidade

HF. Hartree-Fock

GTOs. Funções de base do tipo Gaussianas

STOs. Funções de base do tipo Slater

NBO. Orbital Natural de Ligação

RMN. Ressonância Magnética Nuclear

IR. Infravermelho

C-PCM. Modelo Condutor de Polarização Contínua

MP2. Perturbação de Segunda Ordem de Møller Plesset

QTAIM. Teoria Quântica de Átomos em Moléculas

NCI. Interações Não Covalentes

BCP. Ponto Crítico de Ligação

RDG. Gradiente de Densidade Reduzida

PDB. Banco de Dados de Proteínas

PLP. Potencial Linear por Partes

QSAR. Relação Quantitativa Estrutura-Atividade

Ile. Isoleucina

Glu. Ácido glutâmico

Leu. Leucina

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
2.1	2-Cloro-1-(difluorometoxi)-1,1,2-trifluoroetano.....	18
2.2	Química Computacional.....	19
2.3	Cálculos de Estrutura Eletrônica.....	20
2.3.1	Mecânica Quântica.....	20
2.3.1.1	Semi-empíricos.....	21
2.3.1.2	<i>Ab initio</i> .....	21
2.3.1.3	Teoria do Funcional de Densidade.....	22
2.3.2	Funções de base e o funcional de densidade $\omega$ B97X-D.....	22
2.4	Cálculos de orbitais.....	24
2.5	Efeito Gauche.....	25
2.6	Efeito Anomérico.....	27
2.7	Técnicas espectroscópicas.....	29
2.7.1	Ressonância Magnética Nuclear.....	29
2.7.2	Espectroscopia no Infravermelho.....	31
2.7.3	Espectroscopia no Microondas.....	33
3	METODOLOGIA.....	36
3.1	Cálculos teóricos.....	36
3.2	Parte experimental.....	37
3.2.1	Obtenção dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ , $^{19}\text{F}$ e $^{13}\text{C}$ em soluções de cicloexano- $\text{d}_{12}$ e acetonitrila- $\text{d}_3$ .....	37
3.2.1.1	Preparo da amostra.....	37
3.2.1.2	Condições para obtenção dos espectros.....	38
3.2.2	Espectroscopia no infravermelho.....	38
3.2.2.1	Preparo das amostras.....	38
3.2.2.2	Condições de análise dos espectros no infravermelho obtidos.....	38
3.2.3	Espectroscopia no microondas.....	38

3.2.3.1	Preparo da amostra.....	39
3.2.3.2	Condições de análise dos espectros.....	39
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	40
4.1	Estabilidade conformacional.....	40
4.2	Efeito Gauche.....	47
4.3	Efeito Anomérico.....	49
4.4	Constante de acoplamento.....	51
4.5	Espectroscopia no infravermelho.....	60
4.6	Espectroscopia no microondas.....	63
4.7	Enflurano em meio biológico.....	67
5	<b>CONSIDERAÇÕES.....</b>	70
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	71
	<b>ANEXOS.....</b>	79



## 1 INTRODUÇÃO

Em meados do século XX, o éter etílico era utilizado para induzir pacientes ao estado de dormência durante procedimentos médicos. No entanto, a toxicidade do gás apresentava riscos à saúde, sendo comum observar irritação no trato respiratório, mal-estar e desidratação do paciente (BENCHIMOL; SÁ, 2004). A halogenação de éteres proporcionou grande avanço à medicina, potencializando suas propriedades como anestésicos inalatórios e diminuindo a toxicidade (TANAKA, 2014).

A necessidade de anestésicos inalatórios com melhores propriedades, tais como alta potência, elevada volatilidade, baixa toxicidade, estabilidade química e que não fosse inflamável, levou à síntese do enflurano ( $\text{CHFCl-CF}_2\text{-O-CHF}_2$ ), desflurano ( $\text{CF}_3\text{-CHF-O-CHF}_2$ ), isoflurano ( $\text{CF}_3\text{-CHCl-O-CHF}_2$ ) e sevoflurano ( $(\text{F}_3\text{C})_2\text{CH-O-CH}_2\text{F}$ ) (Figura 1) (HERMANN; MACK; OBERHAMMER, 2000; ZIERKIEWICZ; MICHALSKA; ZEEGERS-HUYSKENS, 2009; LESARRI *et al.*, 2010). Tais estruturas apresentam uma grande quantidade de átomos eletronegativos, o que torna o átomo de hidrogênio da ligação C-H mais ácido, quando comparado a éteres não substituídos, facilitando, assim, a doação desse próton. De acordo com Michalska e colaboradores (2007), esse fator é o maior responsável pelas propriedades desses anestésicos.

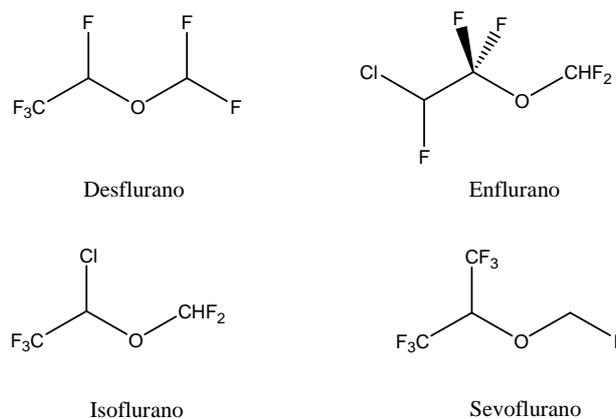


Figura 1 Estruturas químicas do desflurano, enflurano, isoflurano e sevoflurano

Apesar de alguns esforços para encontrar as principais conformações do enflurano, bem como de outros éteres fluorados importantes usados como anestésicos, poucos estudos têm se dedicado a analisar as interações que regem a sua estabilidade conformacional. Embora fraca, a ligação de hidrogênio C—H···F—C e interações hiperconjugativas têm sido apontadas como responsáveis pela isomeria conformacional do enflurano, enquanto que, para o sevoflurano, interações clássicas (estéricas e eletrostáticas) são ditas preponderantes frente às interações hiperconjugativas (FREITAS *et al.*, 2012). As preferências conformacionais do desflurano e do isoflurano têm sido explicadas em termos do efeito anomérico generalizado (hiperconjugação) (HERMANN, 2000; LESARRI *et al.*, 2011). Atualmente, éteres halogenados têm sido objetos de estudos recorrentes na tentativa de melhor compreender as características farmacológicas e físico-químicas desses agentes anestésicos para uso clínico mais eficiente, tendo em vista que os efeitos neuroprotetores e neurotóxicos dos anestésicos voláteis em seres humanos ainda não estão bem definidos (CHIAO; ZUO, 2014).

Enquanto o efeito *gauche*, que é originado a partir de interações hiperconjugativas e eletrostáticas, parece exercer influência sobre a conformação bioativa da difenidramina e de seu cloridrato (DE REZENDE; ANDRADE; FREITAS, 2015), a geometria mais estável para o herbicida ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) na fase gasosa e em solução faz correspondência à sua conformação bioativa, complexada com o sítio ativo da enzima TIR1 Ubiquitina ligase (FREITAS; RAMALHO, 2013a). Quanto ao enflurano, esta questão ainda está em aberto, uma vez que sua conformação bioativa não é conhecida e, por conseguinte, o papel das interações intermoleculares acima mencionadas para o referido composto em um ambiente biológico ainda não foi posta à prova.

Neste trabalho, analisaram-se as interações intramoleculares que regem a estabilidade conformacional do enflurano (2-cloro-1-(difluorometoxi)-1,1,2-trifluoroetano) utilizando cálculos teóricos de mecânica quântica, bem como análises espectroscópicas de RMN,

infravermelho e microondas. Posteriormente, os papéis das forças intermoleculares sobre a possível conformação bioativa de enflurano na enzima Integrina LFA-1 foram avaliados, utilizando estudos de *docking*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 2-Cloro-1-(difluorometoxi)-1,1,2-trifluoroetano

*Anestesia* (do grego, *sem percepção*) é a obtenção de um estado reversível de não reconhecimento do estímulo doloroso pelo córtex cerebral, podendo ser localizada ou geral, em estado inconsciente. Tal estado é produzido pelo uso de fármacos anestésicos que causam analgesia, perda de consciência, relaxamento muscular e redução da atividade reflexa do sistema nervoso central ou periférico (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2006).

O 2-cloro-1-(difluorometoxi)-1,1,2-trifluoroetano, conhecido como enflurano (Figura 2), é um éter fluorado, líquido, incolor, límpido, estável, não inflamável e com baixa temperatura de ebulição (329,6 K). Foi desenvolvido por Ross Terrell em 1963 e, por décadas, tem sido utilizado clinicamente como anestésico volátil, apesar de seu mecanismo de ação ainda não ser totalmente conhecido (PFEIFFER; MACK; OBERHAMMER, 1998).

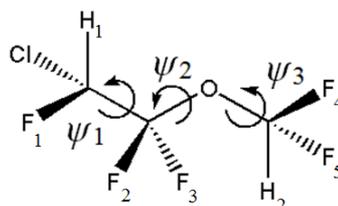


Figura 2 2-Cloro-1-(difluorometoxi)-1,1,2-trifluoroetano

O enflurano sofre isomerização conformacional por meio de rotação dos ângulos diedros  $\Psi_1$ ,  $\Psi_2$  e  $\Psi_3$  da Figura 2. Quatro conformêmeros estáveis foram identificados em solução de tetracloreto de carbono e em matriz de argônio usando espectroscopia no infravermelho, e as interações

eletrostáticas entre o átomo de H do grupo CHF<sub>2</sub> e os átomos de F centrais foram atribuídas como responsáveis por estabilizar essas conformações, além de efeitos hiperconjugativos (MICHALSKA *et al.*, 2007). Mais recentemente, seis confôrmeros estáveis foram encontrados computacionalmente para o enflurano, sendo, na verdade, três pares de confôrmeros, onde cada par difere apenas por uma pequena rotação do ângulo diedro  $\Psi_3$  (MELIKOVA *et al.*, 2015). Devido à barreira rotacional que separa as conformações semelhantes ser muito pequena, a detecção experimental de todos os seis confôrmeros estáveis é uma tarefa difícil e, portanto, apenas uma estrutura de cada par pode ser identificada (PFEIFFER; MACK; OBERHAMMER, 1998).

Os anestésicos voláteis foram originalmente desenvolvidos com base em interações não específicas com bicamadas lipídicas, o que afetava a fluidez das membranas nervosas. Entretanto, trabalhos recentes mostram que eles podem interagir diretamente com aminoácidos presentes nos neuroreceptores, tendo, assim, uma ação anestésica mais rápida que os outros métodos utilizados (CHRISTENHOLZ *et al.*, 2014). Se, de fato, a ação dos anestésicos inalatórios depende de interações específicas com proteínas, estudos conformacionais tornam-se interessantes, pois podem auxiliar na compreensão das principais forças que governam o equilíbrio desses compostos, bem como viabilizar possíveis modificações estruturais a fim de potencializar seus efeitos.

## 2.2 Química Computacional

A química é considerada uma ciência essencialmente experimental. No entanto, nas últimas décadas, trabalhos teóricos realizados por processos computacionais conquistaram seu espaço e sua importância no desenvolvimento dessa ciência, fornecendo informações fundamentais para análise e interpretação de dados experimentais, podendo, em alguns casos, prever fenômenos químicos que não poderiam ser obtidos experimentalmente. A química computacional é amplamente utilizada no

desenvolvimento de novos fármacos e materiais (ARROIO *et al.*, 2005; RAUPP; SERRANO; MATINS, 2008).

A análise computacional incorpora os princípios da ciência da computação para solucionar problemas químicos, utilizando softwares específicos para gerar estruturas e calcular as propriedades dos sistemas. Os métodos de cálculo empregados abrangem tanto situações estáticas quanto dinâmicas. Em todos os casos, o tempo de cálculo e a utilização de outros recursos computacionais (como memória e espaço em disco) aumentam rapidamente com o tamanho do sistema estudado. O sistema em estudo pode ser uma única molécula, um conjunto de moléculas ou um sólido. Os métodos de química computacional baseiam-se em teorias que vão desde as de alta precisão, aplicáveis apenas para sistemas pequenos, até as muito aproximadas, apropriadas para sistemas grandes, englobando os métodos de mecânica molecular e de mecânica quântica (*ab initio*, semi-empíricos e DFT) (COELHO *et al.*, 1999; MORGON, 2001).

## 2.3 Cálculos de Estrutura Eletrônica

### 2.3.1 Mecânica Quântica

Os métodos quânticos utilizados na investigação de sistemas atômicos e moleculares baseiam-se na resolução da Equação de Schrödinger independente do tempo (1). A partir de sua solução é possível obter uma ampla faixa de grandezas físicas e químicas associadas ao comportamento de vários sistemas na escala macroscópica. Os cálculos de estrutura eletrônica utilizados na resolução da equação são, por vezes, auxiliados pelo método variacional de Monte Carlo e podem ser classificados como *semi-empíricos* ou *ab initio* (LEVINE, 2001).

$$\frac{-\hbar^2}{2m} \frac{d^2\psi}{dx^2} + V\psi = E\psi \quad (1)$$

### 2.3.1.1 Semi-empíricos

Os métodos semi-empíricos utilizam soluções aproximadas para a equação de Schrödinger, empregando parâmetros empíricos e restrições matemáticas para simplificar os cálculos. Tais restrições são compensadas por parâmetros ajustáveis presentes no formalismo do método. Assim, o nome do método se deve ao fato de parte deste estar fundamentada na teoria *ab initio* e parte determinada empiricamente. Os parâmetros utilizados são variados até que se reproduzam, o mais próximo possível, os valores experimentais da propriedade analisada ( LEVINE, 2001; LASCHUK, 2005).

As aproximações incorporadas ao método, bem como as limitações inerentes ao problema da otimização de parâmetros, são as principais deficiências do método. Entretanto, a simplificação do cálculo devido à substituição de termos complexos o torna computacionalmente mais barato que os métodos *ab initio* e sua utilização viável, podendo ser utilizado em sistemas com centenas ou até milhares de átomos (LASCHUK, 2005).

### 2.3.1.2 *Ab initio*

Os métodos *ab initio* (do latim “do início”) se propõem a prever as propriedades de sistemas atômicos e moleculares sem utilização de nenhum parâmetro experimental, baseando-se somente nas leis fundamentais da mecânica quântica e em algumas constantes físicas universais (velocidade da luz, massa e carga do elétron, constante de Planck). Esse método representa os orbitais através dos chamados conjuntos de base (descrições matemáticas dos orbitais de um sistema) (ALCÁCER, 2007).

Devido ao fato de não se utilizar de parâmetros empíricos, um aumento na demanda computacional torna-se necessária para a realização dos cálculos. Entretanto, com o aumento da capacidade computacional, o uso de métodos *ab initio* tem crescido a cada dia e auxiliado na investigação, em nível molecular, de diversos fenômenos físico-químicos. Para o estudo de

mecanismos de reação, esses métodos se apresentam como uma ferramenta extremamente útil, uma vez que é possível utilizá-los, tanto para estimar propriedades cinéticas e termodinâmicas, quanto na investigação da estrutura e reatividade de possíveis intermediários reacionais e estados de transição (LEVINE, 2001).

### **2.3.1.3 Teoria do Funcional de Densidade**

Os métodos da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) são, de certa forma, similares aos métodos *ab initio*, sendo que uma de suas propostas é obter as propriedades do estado fundamental das moléculas sem a necessidade de se utilizar uma função de onda multieletrônica. Embora a proposta de descrever a energia em termos da densidade de partículas seja conhecida desde os trabalhos de Thomas e Fermi (THOMAS, 1927; FERMI, 1928), somente com Hohenberg e Kohn (1964), foi demonstrado que as propriedades do estado fundamental de um sistema de partículas são funcionais de densidade. O método consiste em obter informações sobre um dado sistema a partir de sua densidade eletrônica, onde estão inclusos efeitos de correlação eletrônica, sendo assim, menos dispendiosos que os métodos tradicionais. Os métodos DFTs alcançam precisões mais apuradas que os métodos da teoria HF, mas são, geralmente, mais parcimoniosos em termos de tempo de cálculo.

A grande precisão deste método aliada à simplicidade e ao constante avanço computacional permite o estudo de sistemas cada vez mais complexos, sendo de fundamental importância nas mais diversas áreas, tais como nanotecnologia, biotecnologia e no desenvolvimento de novos materiais (MARQUES; BOTTI, 2006).

### **2.3.2 Funções de base e o funcional de densidade ωB97X-D**

Grande parte dos cálculos computacionais é resolvida através de funções Gaussianas (GTOs) ao invés de funções do tipo Slater (STOs). Isso

se deve ao fato de que para métodos *ab initio* HF, não há soluções analíticas quando são empregadas funções STOs. Em razão disso, as integrais exponenciais só podem ser resolvidas por métodos numéricos, dificultando os cálculos computacionais. Funções do tipo gaussianas (GTOs) foram desenvolvidas por Boys em 1950, como uma alternativa ao uso das STOs, pelo fato de suas integrais serem mais facilmente resolvidas, em decorrência de o decaimento radial  $-ar$  das STOs ser substituído por  $-ar^2$  nas GTOs, como pode ser visto na Figura 3 (CRAMER, 2004).

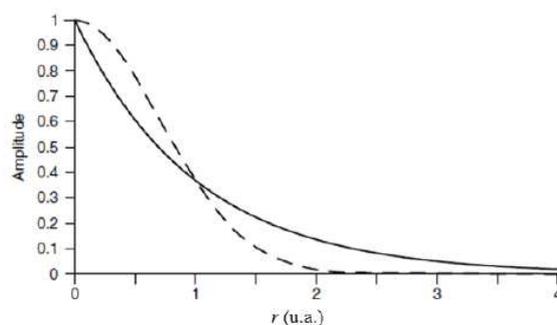


Figura 3 Comportamento de  $e^x$ , em que  $x = r$  (linha sólida, STO) e  $x = r^2$  (linha tracejada, GTO)

Fonte: CRAMER, 2004

No conjunto de bases contraídas de Pople, como exemplo, 6-311++G(d,p), o número '6' representa seis funções gaussianas para orbitais de caroço, '3' corresponde a três funções gaussianas para orbitais da terceira camada, '1' representa uma função gaussianas para os elétrons da segunda camada e o outro '1' indica uma função gaussianas para cada elétron da camada de valência. Essas funções de base podem ser modificadas pela adição de funções difusas (+ ou ++) e/ou de polarização (d,p ou \*\*). Funções difusas são úteis na descrição de ânions, moléculas com pares isolados de elétrons e estados excitados. Funções de polarização são, geralmente, empregadas em sistemas em que ocorrem transições eletrônicas (FRISCH; POPLÉ; BINKLEY, 1984).

O funcional  $\omega$ B97X-D, desenvolvido por Chai e Head-Gordon (2008), inclui a interação de dispersão empírica e apresenta correções para longo alcance (separação gama que utiliza 22% de método Hartree-Fock para interações de curto alcance e 100% de método Hartree-Fock em interações de longo alcance) que proporciona um melhor desempenho do método em relação a interações não Coulombicas. Este tipo de funcional é descrito para fornecer melhores resultados para átomos com possibilidade de excitação eletrônica e transferência de carga (CHAI; HEAD-GORDON, 2008).

#### 2.4 Cálculos de orbitais

A análise de NBO (*Natural Bond Orbital*) localiza os orbitais moleculares e os transforma em orbitais canônicos, orbitais de ligações e de pares isolados, de acordo com a visão química proposta por Lewis, onde os orbitais ligantes e pares de elétrons isolados estão duplamente ocupados. A análise dos orbitais naturais de ligação realiza a interpretação de uma função de onda molecular de vários elétrons em termos dos pares de elétrons ligantes. Desse modo, propriedades com grande relevância para estudos conformacionais podem ser descritos através da densidade eletrônica ao redor do átomo (WEINHOLD; LANDS, 2012).

Os resultados de densidade eletrônica para os orbitais localizados entre os átomos A e B ( $\sigma_{AB}$ ) são obtidos através dos orbitais híbridos ortonormais  $h_A$  e  $h_B$ , compostos de um conjunto de orbitais atômicos de valência efetivos e otimizados por uma determinada função de onda (2).

$$\sigma_{AB} = c_A h_A + c_B h_B \quad (2)$$

Os resultados de NBO também são obtidos para os orbitais não ocupados na estrutura formal de Lewis, podendo ser usados para descrever efeitos de não-covalência. Os orbitais não ocupados de maior relevância são

os antiligantes  $\sigma^*_{AB}$ , que se originam do mesmo conjunto de orbitais híbridos de valência descritos para funções ligantes ( $\sigma_{AB}$ ) (3) (WEINHOLD; LANDS, 2005).

$$\sigma^*_{AB} = c_B h_A + c_A h_B \quad (3)$$

Além dos orbitais ligantes ( $\sigma_{AB}$ ) e não ligantes ( $\sigma^*_{AB}$ ), são observados também orbitais do tipo *pi* ligante ( $\pi$ ), *pi* antiligante ( $\pi^*$ ), pares de elétrons livres (LP), orbitais de Rydberg (RY e RY\*) e orbitais que envolvem os elétrons de caroço (CR). O cálculo de NBO é amplamente empregado para estudo dos efeitos de origem clássica (estéricas e eletrostáticas) ou quântica (hiperconjugação). A análise NBO pode também ser utilizada para identificar ligações de hidrogênio pela presença de doação de elétrons do acceptor de prótons para o orbital  $\sigma^*_{X-H}$  (doador de próton), em que X = átomo eletronegativo. Cálculos dessa natureza permitem avaliar a existência de interações mais específicas que podem determinar a preferência conformacional, segundo critérios que envolvem a geometria e a energia de cada confôrmero.

## 2.5 Efeito *Gauche*

O efeito *gauche* se desenvolveu juntamente com os aprimoramentos dos cálculos que envolviam mecânica quântica, tornando-se possível justificar, de um modo mais rigoroso, como um determinado fenômeno estereoquímico era governado. De acordo com Wolfe (1972), o efeito *gauche* é um fenômeno associado com a tendência de algumas espécies em adotar uma geometria que apresente um número máximo de interações *gauche* entre os pares de elétrons e/ou ligações polares adjacentes.

A repulsão eletrostática entre os dipolos foi dita como decisiva na orientação estrutural de confôrmeros. Assim, esperava-se que as estruturas *gauche* fossem desfavorecidas progressivamente no sentido I→F. No

entanto, para os etanos 1,2-dissubstituídos existe um aumento gradual da proporção da conformação *gauche* na direção I→F, de modo que na fase gasosa, as formas *gauche* e *trans* de 1,2-difluoroetano apresentam a mesma estabilidade. Por conseguinte, a preferência para as estruturas anticoplanar em  $XCH_2CH_2X$  ( $X = Cl, Br, I$ ) é mais apropriadamente atribuída a efeitos de "tamanho" ou efeitos "estéricos" do que aos efeitos polares. Um ponto de vista alternativo é que a importância do efeito *gauche* torna-se menor com o aumento da distância entre os ligantes que interagem entre si (LOWE, 1968; WOLFE, 1972).

Trabalhos posteriores mostram o efeito *gauche* como a preferência que uma estrutura apresenta pela conformação *sinclinal* em relação à conformação *anti*, em que se esperaria uma estrutura mais estável por não apresentar repulsão entre os substituintes eletronegativos. Em fármacos, é comum que esses substituintes sejam o F, O ou Cl (WIBERG; MURCKO; LAIDIG, 1990; REY *et al.*, 2014). Atualmente, o referido efeito tem sido explicado não só por efeitos clássicos (estéricos e eletrostáticos), mas por interações hiperconjugativas, devido à sobreposição entre orbitais preenchidos e antiligantes antiperiplanares,  $\sigma_{CH} \rightarrow \sigma^*_{CX}$  e/ou  $\sigma_{CH} \rightarrow \sigma^*_{CY}$ , sendo tais interações preferenciais em relação às hiperconjugações  $\sigma_{CX} \rightarrow \sigma^*_{CY}$  e  $\sigma_{CY} \rightarrow \sigma^*_{CX}$  presentes nas conformações *anti* (Figura 4) (FREITAS, 2013).

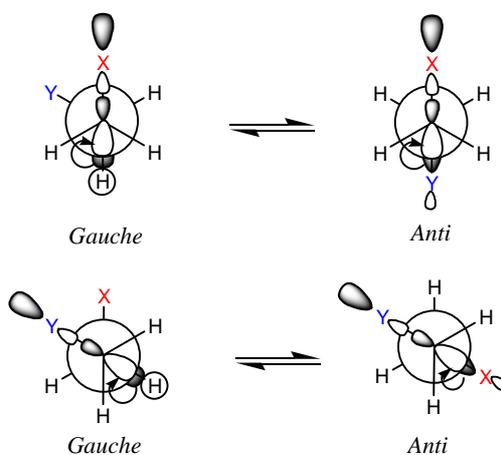


Figura 4 Orientações *gauche* e *anti* entre os substituintes X e Y do etano

## 2.6 Efeito Anomérico

Em geral, para compostos cíclicos, átomos que apresentam valores de raio atômico maior que o átomo de hidrogênio tendem a ocupar preferencialmente a posição equatorial ao invés da posição axial. Entretanto, há situações em que essa preferência é invertida. Um exemplo clássico são alguns piranosídeos, estruturas onde a preferência pela posição axial foi observada pela primeira vez em 1955 (ANDERSON; SEEP, 1968; JUARISTI; NOTARIO, 2015). Tal efeito foi definido como sendo igual à diferença de energia livre observada entre os anômeros. O efeito anomérico, como foi chamado, refere-se à preferência pela geometria que permite a interação entre um dos pares de elétrons livres do átomo de oxigênio presente no anel e o orbital antiligante antiperiplanar adjacente, que envolve o carbono anomérico (ANDERSON; SEEP, 1968).

Tradicionalmente, o efeito anomérico é explicado por meio de repulsão do momento de dipolo e por efeitos hiperconjugativos (Figura 5a e 5b). Porém, estudos posteriores mostraram que ele também está diretamente relacionado a componentes de origem estereoeletrônica. Análises teóricas indicam que alguns componentes da energia (troca e correlação, eletrostáticas clássicas e densidade funcional estérica) são diretamente proporcionais à diferença de energia total entre os isômeros axial e equatorial. Para os casos em que o efeito anomérico é verdadeiro, os sinais das três variáveis da energia são negativos, indicando que, o isômero axial é mais estável pois os substituíntes experimentam maiores energias de troca-correlação e interações eletrostáticas, porém, apresentam impedimento estérico menor (HUANG *et al.*, 2011). Segundo Huang e colaboradores (2011), o menor impedimento estérico e uma interação eletrostática mais forte são os responsáveis por determinar a estabilidade conformacional.

De acordo com Freitas e Ramalho (2013b), o efeito anomérico exocíclico também apresenta grande importância na conformação estrutural, inclusive em moléculas de cadeia aberta, onde o par de elétrons do

substituinte eletronegativo é deslocalizado para o orbital antiperiplanar  $\sigma^*_{CO}$  (Figura 5c). No entanto, o efeito anomérico exocíclico não é responsável pela estabilidade da conformação *axial*, uma vez que esse tipo de interação também está presente na conformação *equatorial*.

Desde o seu primeiro reconhecimento, o "efeito anomérico" tornou-se um dos conceitos mais utilizados para explicar o comportamento conformacional, propriedades estruturais e, até mesmo, a reatividade dos sistemas heterocíclicos saturados (JUARISTI; NOTARIO, 2015). Esse efeito, inicialmente identificado na química de carboidratos, hoje é conhecido por influenciar a conformação de moléculas que contenham dois ou mais heteroátomos ligados a um mesmo centro tetraédrico. A preferência termodinâmica pela conformação axial de compostos que contenham a sequência de átomos C-X-C-Y, onde X= N, O ou S e Y = Br, Cl, F, N, O ou S ficou conhecida como efeito anomérico generalizado (LII *et al.*, 2005).

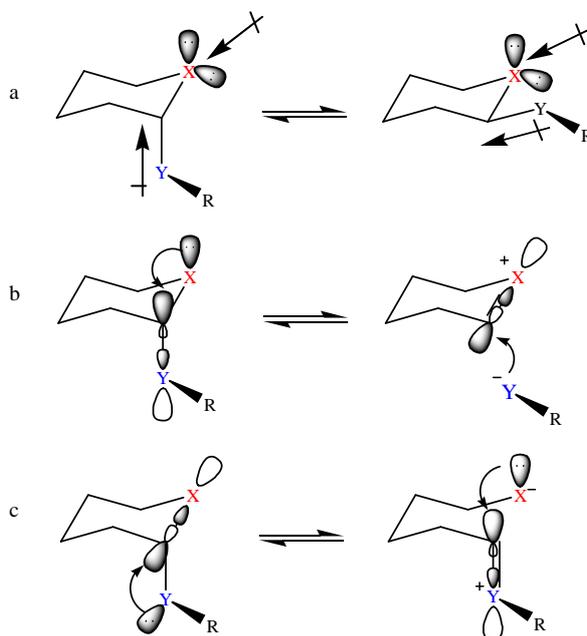


Figura 5 Exemplo de repulsão dipolar no conformero equatorial (a), efeito endo (b) e exo (c) anomérico em piranosídeos substituídos

## 2.7 Técnicas espectroscópicas

As técnicas espectroscópicas podem fornecer detalhes sobre os níveis de energia das espécies em estudo. No caso das espectroscopias vibracional e rotacional, a grande vantagem reside na maior riqueza de detalhes proporcionada por esses níveis de energia frente aos níveis eletrônicos. Enquanto os espectros eletrônicos são constituídos por bandas largas, os vibracionais e rotacionais representam a “impressão digital” das moléculas, apresentando bandas bem definidas.

### 2.7.1 Ressonância Magnética Nuclear

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é utilizada por fornecer grande variedade de informações estruturais. A técnica de RMN se aplica ao estudo de núcleos com momento magnético não nulo, ou seja, isótopos com um número ímpar de prótons e/ou um número ímpar de neutrons. Dessa forma, esses núcleos se comportam como pequenos ímãs. A aplicação de um campo magnético com valores correspondentes à radiofrequência afeta os níveis de energia dos *spins*, permitindo observar, por ressonância, os espectros resultantes das transições entre esses níveis. Cada núcleo absorve a energia em uma determinada frequência, logo, o feixe deve ser ajustado para o núcleo que se está analisando. Núcleos com *spin* igual à meio, por exemplo,  $^1\text{H}$  e  $^{19}\text{F}$ , apresentam uma excelente absorção, enquanto núcleos com número de *spin* maior que meio apresentam momento de quadrupolo, causando alargamento do sinal. Núcleos com *spin* igual a zero (aqueles com Z e N igual a números pares) apresentam todos os *spins* de prótons e neutrons pareados, sendo assim, não interagem com o campo magnético e, conseqüentemente, não podem ser detectados pelo método de RMN. Alguns exemplos de núcleos inativos na RMN incluem os abundantes isótopos  $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$  e  $^{32}\text{S}$  (MACOMBER, 1997; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

A variação de energia oriunda do desdobramento da energia do *spin* nuclear está relacionada com a constante magnetogírica do núcleo ( $\gamma$ ), a força do campo magnético aplicado ( $B$ ) e a constante de Planck ( $h$ ) (4).

$$\Delta E = \gamma B \hbar \quad (4)$$

Sabendo que  $\Delta E = h\nu$ , podemos escrever a equação acima em relação à frequência, sendo esta a equação fundamental da RMN (5).

$$\nu = \frac{\gamma B}{2\pi} \quad (5)$$

Os dois parâmetros mais relevantes nas análises de RMN são o deslocamento químico ( $\delta$ ) e a constante de acoplamento ( $J$ ). O deslocamento químico tem sua origem na interação das nuvens eletrônicas com o campo externo aplicado, que induzirá uma circulação adicional dos elétrons nas nuvens eletrônicas. O acoplamento ocorre devido à tendência de o elétron ligante emparelhar seu *spin* com o *spin* de átomos próximos (PAIVA; LAMPMAN; KRIZ, 2010). Uma vez que 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 (6).

$$J = \sum n_i J_i \quad (6)$$

onde:  $n_i$  = fração de cada isômero  $i$ ;

$J_i$  = constante de acoplamento individual.

O valor de  $J$  está diretamente relacionado às populações dos confôrmeros e, estes, podem sofrer alterações de acordo com as condições do meio, tais como sua polaridade. Desse modo, a preferência

conformacional também pode ser avaliada como a dependência das constantes de acoplamento com o meio (FIORIN, 2006).

### 2.7.2 Espectroscopia no Infravermelho

A radiação infravermelha (IR) corresponde à parte do espectro magnético situada entre as regiões do visível e das microondas. A região do infravermelho médio é a de maior interesse para os químicos orgânicos e está situada entre  $4000-400\text{ cm}^{-1}$ . A espectroscopia no infravermelho é uma técnica baseada nas vibrações dos átomos de uma molécula e, em termos gerais, os modos de estiramentos e variações angulares são bem característicos. As ligações podem vibrar de seis modos e podem ser classificadas como: estiramento simétrico (*symmetric*), estiramento assimétrico (*asymmetric*), tesoura (*scissoring*), torção (*twist*), balanço (*rocking*) e abanando (*wagging*) (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

Um espectro no infravermelho é, geralmente, obtido determinando qual fração de radiação infravermelha é absorvida quando lançada sobre uma determinada amostra. Essa análise envolve a interação ressonante entre fótons e os auto-estados vibracionais da molécula, utilizando-se do modelo do oscilador harmônico, onde as possíveis transições envolvem níveis de energia separados por  $\Delta v = \pm 1$  (STUART, 2004; ANDO *et al.*, 2007). Entretanto, para uma molécula poliatômica modelo que contenha N átomos e, conseqüentemente,  $3N-6$  graus de liberdade vibracionais, nem todos os modos normais de vibração darão origem a transições vibracionais no espectro IR. Tal fato é justificado por só haver interação entre a molécula e o campo elétrico da radiação eletromagnética, desde que haja variação no momento de dipolo elétrico da molécula. Assim, a regra de seleção para a atividade de qualquer modo vibracional no IR impõe que:

$$\frac{\partial \mu}{\partial Q_i} \neq 0 \quad (7)$$

Onde  $Q_i$  é a coordenada normal associada ao  $i$ -ésimo modo normal da molécula (ANDO *et al.*, 2007).

O momento de dipolo elétrico é o principal responsável pela intensidade das transições espectroscópicas. Desse modo, a intensidade de transição no IR depende do parâmetro  $\partial\mu/\partial Q_i$ , que, por sua vez, depende da distribuição de carga do estado eletrônico fundamental da molécula. Outros fatores como a distância entre a fonte de radiação e a amostra, a concentração, o caminho óptico, o tempo de vida dos estados de transição envolvidos e as colisões entre as moléculas também interferem no resultado final do espectro (STUART, 2004; ANDO *et al.*, 2007).

De acordo com a lei de Lambert-Beer, a intensidade ( $A$ ) de energia absorvida por uma espécie é proporcional à concentração ( $c$ ) da espécie em solução, à absorvidade molar ( $a$ ) do composto analisado e ao caminho óptico ( $b$ ) da região de análise (8).

$$A = abc \quad (8)$$

Deste modo, assumindo-se que os confôrmeros tenham absorvidades molares iguais ou muito parecidas, a técnica de IR pode auxiliar na análise conformacional, uma vez que a intensidade das bandas correspondentes ao modo vibracional de uma determinada ligação química é proporcional à concentração e, conseqüentemente, à população dos confôrmeros no equilíbrio.

Os trabalhos de espectroscopia em compostos fluorados avançaram significativamente na última década, e a técnica vem sendo amplamente utilizada para caracterização de propriedades físico-químicas como o efeito *gauche* (ANDRADE *et al.*, 2013), análise conformacional e interações intramoleculares (SILLA *et al.*, 2013), verificação da influência do flúor na fotodimerização de compostos (SOBRINHO; FERREIRA, 2002), entre

outros. No entanto, em farmacologia, esta análise ainda mostra pontos a serem explorados, auxiliando na identificação de compostos farmacológicos e em sua caracterização.

### 2.7.3 Espectroscopia no Microondas

As microondas são ondas eletromagnéticas de comprimento intermediário entre as ondas infravermelhas e de rádio, estando compreendidas entre, aproximadamente, 8 e 12 GHz. No caso das moléculas, essa pequena energia é gerada a partir de seu movimento de rotação e armazenada em quantidades discretas. Segundo Hollas (1996), a quantidade de energia armazenada é dependente do momento de inércia da molécula juntamente com o número quântico correspondente, descrevendo o nível de energia. Pela mecânica quântica, o movimento de rotação das moléculas pode ser descrito de forma simplificada como:

$$E_{rot} = \frac{J(J+1)\hbar^2}{2I} \quad (9)$$

onde:  $E_{rot}$ : energia rotacional;

$J$ : número quântico rotacional;

$I$ : é o momento de inércia ( $I = \mu \cdot r^2$ ).

O ponto chave da equação anterior é o valor do momento de inércia da molécula, que pode ser descrita em três dimensões perpendiculares. O momento de inércia pode também ser definido por um conjunto de eixos formados por três componentes perpendiculares (a, b e c) que apresentam uma ordem crescente de magnitude. Esses eixos correspondem aos momentos de inércia  $I_a$ ,  $I_b$  e  $I_c$ , onde, de modo geral  $I_c \geq I_b \geq I_a$ , levando a três constantes rotacionais diferentes (A, B e C).

$$A = \frac{\hbar^2}{2I_a h c} = \frac{h}{8\pi^2 I_a c} \quad (10)$$

$$B = \frac{\hbar^2}{2I_b h c} = \frac{h}{8\pi^2 I_b c} \quad (11)$$

$$C = \frac{\hbar^2}{2I_c h c} = \frac{h}{8\pi^2 I_c c} \quad (12)$$

Baseado no momento de inércia, a análise rotacional pode ser dividida em cinco categorias: Lineares; Polo assimétrico; Polo simétrico; Polo achatado e Polo alongado (HOLLAS, 1996). O enflurano se enquadra no maior grupo, o de moléculas assimétricas.

Em suma, a análise em espectroscopia no microondas é realizada com base no campo magnético oscilante das moléculas gerado pelo seu movimento de rotação. O ponto chave da formação do campo magnético oscilante está no momento de inércia e na presença de um momento de dipolo permanente na molécula. Do ponto de vista da mecânica clássica, a luz pode ser vista como um campo magnético oscilante que interage com outros campos eletromagnéticos oscilantes. Experimentalmente, quando uma molécula de gás é irradiada com radiação na região das microondas, um fóton pode ser absorvido através da interação entre os campos eletrônicos, o que provoca a transição entre estados rotacionais da molécula. Essa transição de estado de energia gera uma radiação dispersa, o espectrofotômetro detecta a intensidade da radiação emitida pelas moléculas em função do comprimento de onda ou da frequência da radiação emitida (GORDY; COOK, 1984; EVANGELISTI; WIJNGAARDEN, 2013).

A intensidade do sinal obtido por análises espectrais será proporcional ao quadrado do momento de transição, que é dado por:

$$R_r = \int \psi r' * \mu \psi r'' d\tau \quad (13)$$

As regras de seleção rotacional, que constituem as condições para a qual a intensidade,  $\nu$ , e, portanto,  $\mathbf{R}_r$  é diferente de zero, são:

1. A molécula deve ter um momento de dipolo permanente ( $\mu \neq 0$ )
2.  $\Delta J = \pm 1$ .

Da regra 2,  $\Delta J$  se refere convencionalmente a  $J' - J''$ ; em que  $J'$  é o número quântico de estado superior e  $J''$  o do estado inferior da transição. O número de onda de transição ou frequências é dado por:

$$\nu = F(J+1) - F(J) = 2B(J+1) \quad (14)$$

em que  $J$  é usado convencionalmente em vez de  $J''$ . A transição  $J=1-0$  ocorre em  $2B$ .

Embora moléculas assimétricas formem o maior grupo, ele corresponde ao grupo em que menos considerações podem ser feitas. Isso decorre do fato de que não há fórmula definida para os seus valores de rotação. Em vez disso, estes valores podem ser determinados com precisão apenas por uma matriz de diagonalização para cada valor de  $J$ .

As intensidades dos sinais obtidos dependem não só do valor numérico do quadrado do momento de transição, mas também da população do estado inferior da transição. A população  $N_J$  do  $N^{\text{ésimo}}$  nível em relação ao  $N_0$  é obtido a partir da lei de distribuição de Boltzmann, onde,  $(2J+1)$  é a degenerescência do  $J^{\text{ésimo}}$  nível.

$$\frac{N_J}{N_0} = (2J+1) e^{-E_J/KT} \quad (15)$$

A espectroscopia rotacional é útil na análise de moléculas na fase gasosa, onde a quantificação das conformações no equilíbrio é determinada por meio dos parâmetros rotacionais, em especial as constantes de rotação (A, B e C), obtidas experimentalmente para cada conformação, sendo estas comparadas aos parâmetros obtidos por cálculos teóricos. Essa técnica

apresenta aplicações múltiplas para a análise conformacional, como investigação estrutural e das barreiras de energia de rotação, análise de parâmetros de distorção, momentos magnéticos, momentos de quadrupolo elétricos nucleares e estudo de espécies de vida curta (WLODARCZAK, 1999).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Cálculos teóricos

O enflurano apresenta três ângulos de rotação e, considerando três conformações limites para cada um deles (*gauche*, *trans* e *gauche'*), restringiu-se o número total de estruturas iniciais a vinte e sete. Às vinte e sete possíveis conformações para o enflurano foram otimizadas usando os métodos DFT/ $\omega$ B97X-D (CHAI; HEAD-GORDON, 2008) e MP2 (HEAD-GORDON; POPLÉ; FRISCH, 1988) e o conjunto de bases de Pople 6-311++G(d,p) (RAGHAVACHARI *et al.*, 1980). Cálculos de frequência foram empregados para obter a energia livre padrão (298,15 K e 1,00 atm) e a correção no ponto zero para cada estrutura, bem como para garantir que os mínimos obtidos não representam pontos de sela. Estes cálculos foram realizados para a fase gasosa e em solventes implícitos, cicloexano (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>) e acetonitrila (CH<sub>3</sub>CN), utilizando o modelo condutor de polarização contínua (C-PCM) descrito por Tomasi, Mennucci e Cammi (TOMASI; MENNUCCI; CAMMI, 2005). Análises dos Orbitais Naturais de Ligação (NBODEL NOSTAR e NBO STERIC) (WEINHOLD; LANDS, 2012; GLENDENING *et al.*, 2013) foram realizadas sobre as geometrias otimizadas, usando o mesmo nível de teoria, para avaliar as contribuições estéricas, eletrostáticas e hiperconjugativas no equilíbrio conformacional do composto em estudo. Cálculos QTAIM (BADER, 1991) e NCI (CONTRERAS-GARCÍA, 2011) foram empregados para caracterização da estabilidade de possíveis ligações de hidrogênio presentes no composto.

Cálculos de constantes de acoplamento em fase gasosa e nos solventes implícitos cicloexano e acetonitrila foram realizados em nível BHandH/EPR-III para os átomos de C, F e H (BECKE, 1993; BARONE, 1996) e 6-311++G(d,p) para os átomos de Cl e O. Para cada conformação estável uma predição do espectro de rotação foi realizada utilizando o programa PGOPHER (COLIN, 2014) com auxílio de cálculos de otimização e frequência, utilizando o método MP2/ $\omega$ B97X-D//6-311++G(d,p), incluindo a palavra chave `output=pickett`. Os cálculos foram realizados utilizando o programa Gaussian09 (FRISCH *et al.*, 2009). Finalmente, cálculo de *docking*, utilizando o software Molegro Virtual Docker (MVD) (THOMSEN; CHRISTENSEN, 2006), foi empregado com intuito de compreender o impacto físico-químico da interação entre a enzima Integrina LFA-1 e as conformações estudadas.

### 3.2 Parte experimental

O enflurano (99% de pureza) foi adquirido no Laboratório SynQuest e utilizado sem purificação adicional.

#### 3.2.1 Obtenção dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ , $^{19}\text{F}$ e $^{13}\text{C}$ em soluções de cicloexano- $\text{d}_{12}$ e acetonitrila- $\text{d}_3$ .

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  e  $^{13}\text{C}$  foram adquiridos em um espectrômetro Bruker AMX500, alocado na Universidade de Manitoba (Canadá).

##### 3.2.1.1 Preparo da amostra

As amostras foram preparadas em concentração de  $10\text{mg mL}^{-1}$ , nos solventes cicloexano e acetonitrila, sendo utilizados  $10\ \mu\text{L}$  de hexafluorobenzeno como referência interna para os experimentos de RMN de  $^{19}\text{F}$ .

### **3.2.1.2 Condições para obtenção dos espectros**

-Temperaturas de análises: 298, 278, 253 e 233 K

Para  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$  e  $^{13}\text{C}$ , respectivamente, utilizou-se:

-Campo: 500,13; 470,54 e 125,76 MHz

-Tamanho do domínio do tempo: 1,000; 46,296 e 29,762 pontos

-Largura: 65,536; 262,144 e 131,072 Hz

-Número de scans: 16; 8 e 336

### **3.2.2 Espectroscopia no infravermelho**

Os espectros foram obtidos em um aparelho Shimadzu IR Affinity-1 FT alocado na Universidade Federal de Lavras.

#### **3.2.2.1 Preparo das amostras**

As amostras foram preparadas em concentração de 0,01 M, nos solventes cicloexano e acetonitrila.

#### **3.2.2.2 Condições de análise dos espectros no infravermelho obtidos**

- Modo de medição: absorbância

- Número de scans: 64

- Resolução:  $4\text{ cm}^{-1}$

- Faixa de número de onda ( $\nu$ ):  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$

- Celas: NaCl para líquidos com espaçador de 0,5 mm

- Temperatura: 298 K

### **3.2.3 Espectroscopia no microondas**

Os espectros foram obtidos em um aparelho cp-FTMW alocado na Universidade de Manitoba (Canadá).

### **3.2.3.1 Preparo da amostra**

A amostra foi utilizada no estado de vapor, sem tratamento adicional. Devido à sua grande volatilidade, a amostra foi congelada com o auxílio de nitrogênio líquido, a fim de retirar o ar atmosférico presente no recipiente. Isso foi necessário para purificar o meio, de modo a eliminar qualquer composto estranho que pudesse interferir nas análises. A transferência de aproximadamente 40mTorr do composto para o cilindro de análises foi feita através de transferência a vácuo, sendo posteriormente misturada ao gás neônio (250 Psi).

### **3.2.3.2 Condições de análise dos espectros**

- Taxa de amostragem: 20 GSa/s
- Largura da banda: 500 GHz
- Expansão: 700
- FID: 20  $\mu$ s
- Número de ondas lidas: 1
- Frequência do gerador: 1500 Hz
- Pulso de gás: 40000 - 60000
- Regulador de pressão: 100 Psi

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estabilidade conformacional

Vinte e sete conformações diferentes são possíveis para o enflurano quando seu limite conformacional é restringido apenas às conformações que apresentem orientação *gauche*, *trans* e *gauche'*. Essas conformações são definidas pela rotação dos três ângulos diedros da estrutura, em que o primeiro ângulo ( $\Psi_1$ ) representa o segmento Cl–C–O (que designa as orientações *trans* (t), *gauche* à esquerda (g1) ou *gauche* à direita (g2), Figura 6a-c), o segundo ângulo ( $\Psi_2$ ) representa o segmento C–C–O–C (que designa as orientações *trans* (T), *gauche* à esquerda (G1) ou *gauche* à direita (G2), Figura 6d-f), e o terceiro ângulo ( $\Psi_3$ ) representa o segmento C–O–C–H (que designa as orientações *trans* (T'), *gauche* à esquerda (G'1) ou *gauche* à direita (G'2), Figura 6g-i).

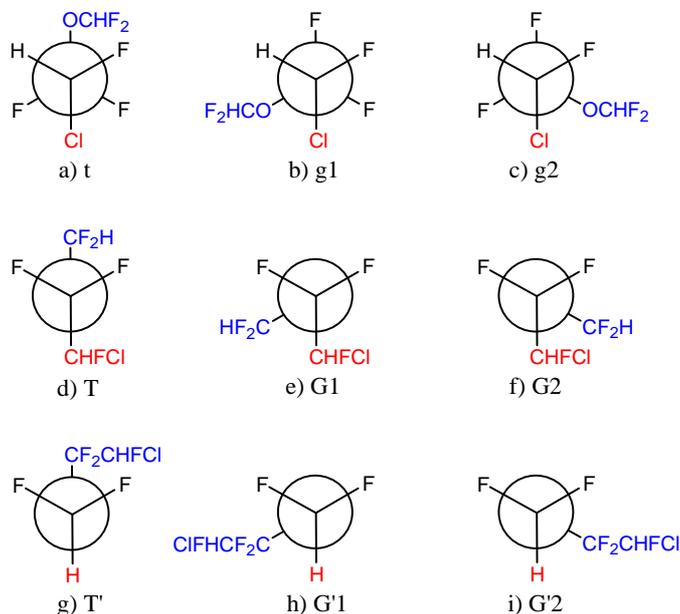


Figura 6 Confôrmeros do enflurano: (a)-(c) isômeros rotacionais do ângulo diedro Cl–C\*–C–O ( $\Psi_1$ ); (d)-(f) isômeros rotacionais do ângulo diedro C\*–C–O–C ( $\Psi_2$ ); (g)-(i) isômeros rotacionais do ângulo diedro C–O–C–H ( $\Psi_3$ )

Após otimização das vinte e sete estruturas possíveis para o enflurano, vinte e três conformações foram realmente obtidas devido ao fato de que algumas possibilidades corresponderam a pontos de sela. Dentre as vinte e três, cinco conformações altamente estáveis foram identificadas quando otimizadas em nível  $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p) em fase gasosa (**a**, **a'**, **b**, **c** e **c'**), aumentando para seis conformações de baixa energia quando otimizadas em nível MP2/6-311++ G(d, p), e em solventes implícitos para ambos os níveis (**a**, **a'**, **b**, **b'**, **c** e **c'**) (Figura 7). Na verdade, três pares de confôrmeros foram obtidos, sendo denominados como tal em razão da pequena diferença geométrica existente entre os confôrmeros de cada par, correspondente a apenas uma leve rotação do diedro  $\Psi_3$ , e a baixa barreira de energia rotacional que separa as conformações. Os confôrmeros **a-c'** apresentam orientações (g2, T, G'2), (g2, T, G'1), (t, T, G'1), (t, T, G'2), (g1, T, G'2) e (g1, T, G'1), respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Melikova *et al.* (2015) em nível MP2/6-311++G(df,pd). Os seis confôrmeros são os únicos a apresentarem energia relativa abaixo de 1 kcal mol<sup>-1</sup> e, somados, representam mais de 90% da população em fase gasosa e nos solventes implícitos cicloexano (apolar) e acetonitrila (polar), segundo a distribuição de Gibbs. Em geral, as conformações de baixa energia competem de forma semelhante no equilíbrio, tanto em fase gasosa quanto em solventes implícitos, além de diferirem basicamente por alterações nas posições dos átomos Cl, F e H ligados ao átomo de carbono quiral da ligação C-C, causando variações máximas de 0,6kcal mol<sup>-1</sup>, em estado gasoso para  $\Delta G$ , em relação à energia total (Tabela 1).

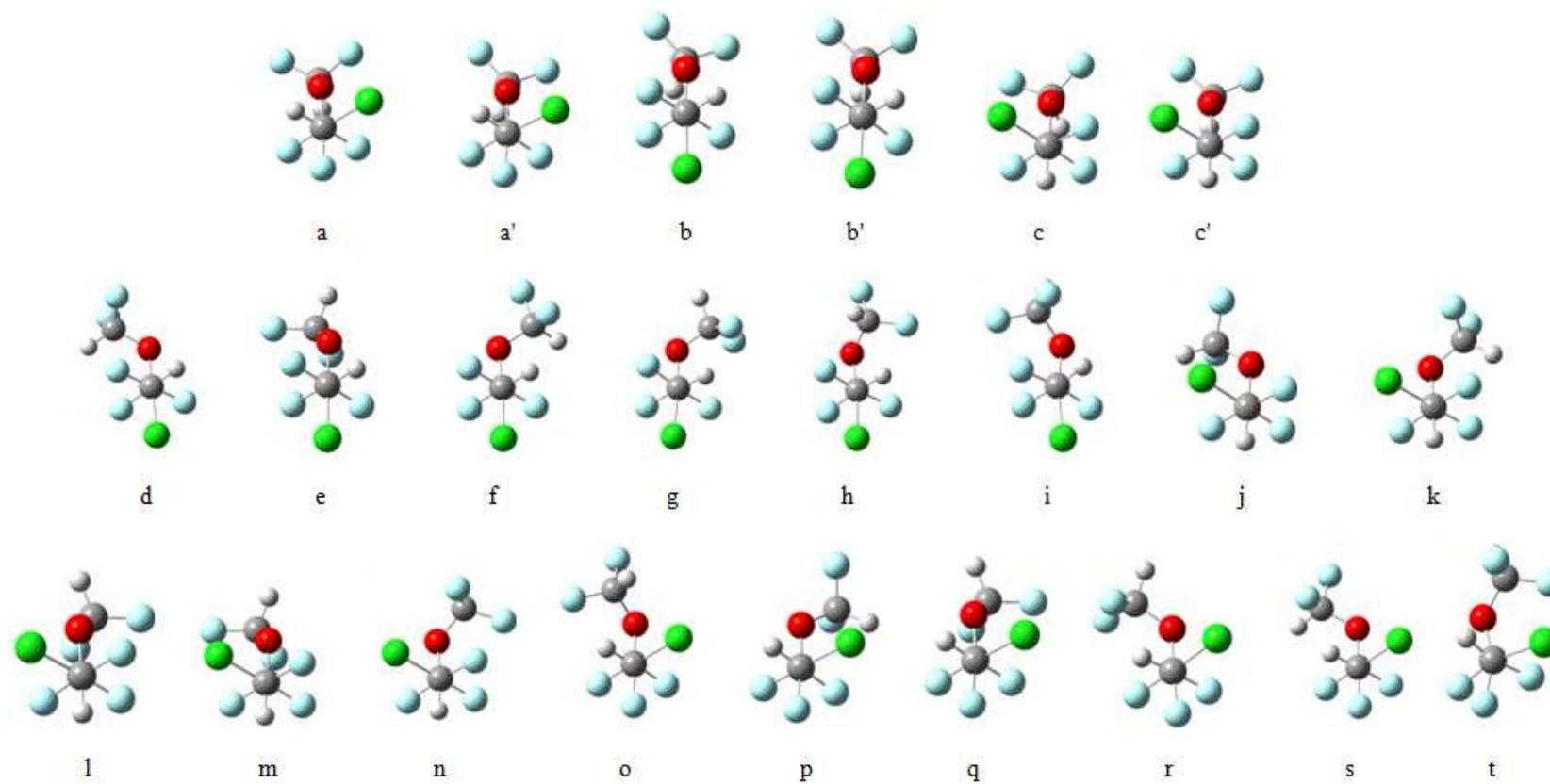


Figura 7 Confômeros do enflurano na fase gasosa

Tabela 1 Energias relativas conformacionais ( $\Delta E_{\text{eletrônica-nuclear}}$ , em kcal mol<sup>-1</sup>) de acordo com o método MP2/ $\omega$ B97X-D//6-311++G(d,p). Energias relativas conformacionais ( $\Delta E_{\text{eletrônica-nuclear}}$  e  $\Delta G^\circ$ , em kcal mol<sup>-1</sup>), momento de dipolo ( $\mu$ , Db) e populações correspondentes (%), de acordo com o método DFT/ $\omega$ B97X-D//6-311++G(d,p)

Conf.	$\Delta E_{\text{eletrônica-nuclear}}$ (MP2)			$\Delta E_{\text{eletrônica-nuclear}}$ (DFT)			$\Delta G^\circ$	$\Delta G_{\text{solatação}}^a$			$\mu_{\text{vapor}}$	$\mu_{\text{C}_6\text{H}_{12}}$	$\mu_{\text{CH}_3\text{CN}}$	% vapor <sup>b</sup>	% C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> <sup>b</sup>	% CH <sub>3</sub> CN <sup>b</sup>
	vapor	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	CH <sub>3</sub> CN	vapor	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	CH <sub>3</sub> CN		Vapor	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	CH <sub>3</sub> CN						
<b>a</b>	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,8	0,9	1,2	30	23	22	
<b>a'</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,3	1,2	1,6	1,9	25	14	13	
<b>b</b>	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,6	0,4	0,2	1,0	1,1	1,2	11	12	15	
<b>b'</b>	–	0,1	0,1	–	0,2	0,2	–	0,3	0,3	–	1,5	1,9	–	14	13	
<b>c</b>	0,4	0,3	0,1	0,2	0,1	0,0	0,6	0,4	0,2	2,2	2,6	3,0	11	12	15	
<b>c'</b>	0,4	0,3	0,2	0,3	0,2	0,0	0,3	0,1	0,2	2,4	2,7	3,1	18	19	15	
<b>d</b>	2,0	2,1	2,4	1,4	1,5	1,7	1,9	2,1	2,1	1,4	1,5	1,6	1	1	1	
<b>e</b>	1,7	1,5	1,3	2,1	2,4	1,7	2,7	2,5	2,2	2,8	3,2	3,7	0	0	1	
<b>f</b>	2,5	2,7	2,7	2,1	2,1	2,2	2,7	2,8	2,5	2,3	2,8	3,4	0	0	0	
<b>g</b>	2,9	2,9	3,0	2,5	2,6	2,6	3,3	3,4	3,3	2,1	2,4	2,9	0	0	0	
<b>h</b>	5,5	5,3	3,2	4,0	3,9	3,7	4,8	4,3	2,6	2,4	2,8	3,4	0	0	0	
<b>i</b>	5,2	5,1	5,0	4,4	4,2	4,1	5,7	5,5	4,9	2,3	2,7	3,1	0	0	0	
<b>j</b>	2,7	2,6	2,6	2,0	2,0	1,9	2,2	2,1	2,0	2,8	3,6	3,6	1	1	1	
<b>k</b>	2,4	2,4	2,4	1,3	1,3	1,3	2,3	2,1	1,8	2,4	2,8	3,2	1	1	1	
<b>l</b>	1,6	1,5	1,4	1,9	1,7	1,9	2,6	2,4	3,8	1,0	1,1	1,0	0	0	0	
<b>m</b>	1,7	1,6	1,5	1,9	1,7	1,6	2,5	2,3	2,1	0,6	0,7	0,9	0	1	1	
<b>n</b>	5,1	5,0	4,9	4,0	3,9	3,8	5,5	5,4	5,7	0,7	0,8	0,9	0	0	0	
<b>o</b>	6,1	5,8	3,1	4,2	1,9	1,8	5,4	2,3	2,6	2,6	2,4	3,0	0	0	0	
<b>p</b>	2,2	2,3	2,5	1,5	1,6	1,8	1,7	1,8	1,9	1,5	1,7	1,9	2	1	1	
<b>q</b>	1,7	1,5	1,3	2,0	1,7	1,5	2,8	2,6	2,2	3,1	3,5	4,0	0	0	1	
<b>r</b>	3,0	3,0	3,0	2,4	2,5	2,5	3,5	3,2	3,3	2,5	2,8	3,3	0	0	0	
<b>s</b>	2,5	2,6	2,7	1,9	1,9	1,8	2,5	1,7	2,6	2,0	2,4	3,0	0	1	0	
<b>t</b>	7,3	7,2	7,1	5,6	5,4	5,3	6,6	6,3	6,3	2,6	3,0	3,4	0	0	0	

<sup>a</sup> =  $\Delta G^\circ + \Delta \Delta G_{\text{solatação}}$ . <sup>b</sup> = a população de cada conformero foi obtida segundo a equação  $\left[ \frac{e^{-\Delta G/0,592}}{\sum_i e^{-\Delta G_i/0,592}} \right] * 100$

Segundo Michalska *et al.* (2007), a interação eletrostática entre o átomo de H do grupo CHF<sub>2</sub> e os átomos de F do grupo central CF<sub>2</sub>, além de interações hiperconjugativas como efeitos secundários, são as forças responsáveis por governar a orientação desses grupos e, por conseguinte, do equilíbrio conformacional do enflurano.

A hipótese de ligação de hidrogênio para a estabilização dos principais conformeros do enflurano (interação eletrostática -CF<sub>2</sub>H...F<sub>2</sub>C-) foi verificada por meio de três métodos teóricos amplamente utilizados para sondar interações não ligantes, sendo eles a QTAIM (*Quantum Theory of Atoms in Molecules*) (BADER, 1991), NCI (*Non Covalent Interactions*) (CONTRERAS-GARCÍA, 2011) e NBO (*Natural Bond Orbital*) (WEINHOLD; LANDS, 2012). A abordagem QTAIM descreve ligações de hidrogênio utilizando a densidade eletrônica e seu Laplaciano para caracterizar caminhos de ligação entre os átomos (H-X). No entanto, nenhum caminho de ligação (*bond path*) foi encontrado para as seis principais conformações do enflurano, indicando, assim, a ausência de ligação de hidrogênio entre os átomos de flúor centrais e o átomo de hidrogênio do grupo CHF<sub>2</sub>. No entanto, com base em alguns casos controversos na literatura em que o ponto crítico de ligação (BCP) não pode ser encontrado em compostos em que se esperaria a presença de ligação de hidrogênio intramolecular (LANE *et al.*, 2013), o método NCI foi aplicado. O método NCI calcula as interações não covalentes com base na análise das regiões onde a densidade de elétrons  $\rho(r)$  e o gradiente de densidades ( $\nabla\rho(r)$ ) são baixos. Para o enflurano, a analogia tridimensional obtida por NCI mostra um único volume circular entre (F<sub>2</sub>)CH e os átomos de flúor centrais, CF<sub>2</sub>; enquanto o gradiente de densidade reduzida (RDG) *vs.* sinal  $(\lambda_2)\rho$  ilustra a presença de dois picos de baixa intensidade (os sinais não atingem RDG 0.0) (Figura 8).  $(\lambda_2)\rho$  corresponde à densidade eletrônica ao longo do plano perpendicular à interação, caracterizado pela segunda derivada da matriz Hessiana. O pico no sinal negativo representa interações atrativas fracas, enquanto que o outro pertence às interações repulsivas. Essas interações são

quase equivalentes em intensidade e, portanto, o resultado geral da aproximação  $-\text{CF}_2\text{H}\cdots\text{F}_2\text{C}-$  não é atrativa nem repulsiva; assim, NCI apoia o resultado obtido pelo QTAIM. Cálculos NBO não indicam presença de deslocalizações eletrônicas estabilizantes intramolecular do tipo  $n_{\text{F}} \rightarrow \sigma^*_{\text{CH}}$ , corroborando a hipótese de não existência de ligação de hidrogênio no composto em estudo.

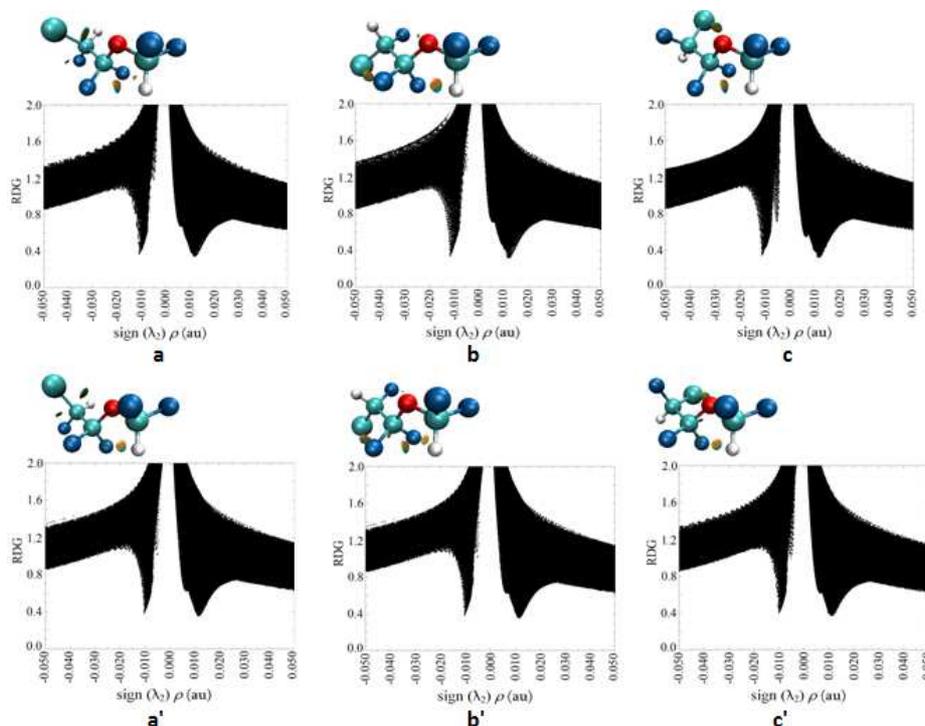


Figura 8 Mapas NCI indicando algumas interações intramoleculares não covalentes para os conformeros mais estáveis do enflurano. As superfícies foram construídas com  $\text{RDG}=1.0\text{au}$  e a escala de cores azul-vermelho a partir de  $-0.02\text{au} < \text{sign}(\lambda_2)\rho < +0.02\text{au}$

Uma vez que a ligação de hidrogênio entre os átomos de flúor centrais  $\text{CF}_2$  e  $\text{H}(2)$  não foi confirmada como a interação responsável pela estabilização dos conformeros **a-c'**, a análise NBO foi usada para descobrir as interações intramoleculares que regem o equilíbrio conformacional do enflurano. A análise NBO particiona a energia total de um sistema em energias do tipo Lewis ( $E_{\text{L}}$ , estérica + eletrostática), e energia do tipo não-

Lewis ( $E_{NL}$ , hiperconjugação). O termo estérico também pode ser obtido através de cálculo adicional, empregando-se a palavra chave *STERIC* ao *input*.

$$\mathbf{E}_{FULL} = \mathbf{E}_{NL} + \mathbf{E}_L \quad (16)$$

$$\mathbf{E}_L = \mathbf{E}_{estérica} + \mathbf{E}_{eletrostática} \quad (17)$$

A Tabela 2 mostra que as conformações **a-c'** do enflurano apresentam altos valores referentes a repulsões estéricas tanto em estado de vapor quanto em solventes implícitos, sendo o valor mínimo obtido correspondente a 9,9 kcal mol<sup>-1</sup> para o confômero **c**, em solução de cicloexano, e o máximo de 16,0 kcal mol<sup>-1</sup> para **a'**, em solução de acetonitrila. A alta energia estérica é esperada devido a grande quantidade de átomos eletronegativos presentes na estrutura do composto, sendo essa repulsão, em partes, contrabalanceada por interações eletrostáticas estabilizantes, de acordo com o que foi denotado pelo NCI.

Assim, as interações não-Lewis, seguidas de interações estéricas, parecem ditar a alta estabilização desses confômeros em relação ao restante (Anexo A). Intuitivamente, o alto impedimento estérico em **a-c'** vem da geometria eclipsada entre os pares de elétrons livres do átomo de oxigênio e o par de átomos de flúor vicinais pertencentes ao grupo CHF<sub>2</sub>, que é acompanhado por uma atração eletrostática gerada a partir da interação H2...F2/3 mencionada anteriormente.

Tabela 2 Energias relativas Eletrônica-nuclear ( $\Delta E_{en.}$ ), Lewis ( $\Delta E_{est.}$  e  $\Delta E_{elet.}$ ) e não-Lewis ( $\Delta E_{hip.}$ ), em kcal mol<sup>-1</sup>, para as conformações **a-c'** do enflurano em fase gasosa e em solventes implícitos, em nível  $\omega B97X-D/6-311++G(d,p)$

Confômeros		A	a'	b	b'	c	c'
Vapor	$\Delta E_{en}$	0,0	0,0	0,2	-	0,2	0,3
	$\Delta E_{hip}$	-2,0	-2,2	-2,1	-	-3,0	-3,1
	$\Delta E_{est}$	13,4	14,0	13,0	-	11,4	11,9
	$\Delta E_{elet}$	-11,4	-11,8	-10,7	-	-8,2	-8,5
Cicloexano	$\Delta E_{en}$	0,0	0,0	0,1	0,2	0,1	0,2
	$\Delta E_{hip}$	-0,2	-0,3	-0,2	-0,4	-0,7	-0,9
	$\Delta E_{est}$	11,9	12,2	11,0	11,3	9,9	10,1
	$\Delta E_{elet}$	-11,7	-11,9	-10,7	-10,7	-9,1	-9,0
Acetonitrila	$\Delta E_{en}$	0,1	0,0	0,2	0,2	0,0	0,0
	$\Delta E_{hip}$	-1,2	-1,3	-1,2	-1,3	-1,0	-1,2
	$\Delta E_{est}$	15,7	16,0	14,9	15,1	13,7	14,0
	$\Delta E_{elet}$	-14,4	-14,7	-13,5	-13,6	-12,7	-12,8

#### 4.2 Efeito *Gauche*

Os confômeros do enflurano apresentam o efeito *gauche* referente à ligação C-C presente em  $\Psi 1$ , onde reside a principal diferença entre os pares de conformações de baixa energia. De acordo com o ponto de vista hiperconjugativo, e com a explicação usual para o efeito *gauche* em etanos 1,2-dissubstituídos (BUISSONNEAUD; VAN; O'HAGAN, 2010), o orbital bom doador de elétrons  $\sigma_{C-H1}$  é antiperiplanar a orbitais bons aceptores de elétrons  $\sigma^*_{C-F2/3}$  ou  $\sigma^*_{CO}$  em todas as seis principais conformações do enflurano.

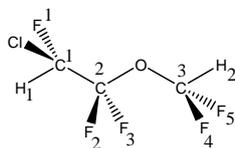
Nota-se, também, que as duas conformações mais estáveis (**a** e **a'** – Figura 7) apresentam os três átomos de flúor substituídos no fragmento C-C em posição *gauche*, o que acarreta até 1,10 kcal mol<sup>-1</sup> a mais de energia hiperconjugativa em  $\Psi 1$ , em relação a **b-c'**. Por outro lado, as conformações **b**, **b'**, **c** e **c'** apresentam orientação *gauche* apenas entre dois átomos de flúor;

entre essas, as conformações **b** e **b'** apresentam maior estabilidade devido à interação  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CF}}^*$  (4,73 kcal mol<sup>-1</sup> referente à **b**, este valor não pode ser obtido para **b'** no estado de vapor) ao invés da interação  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CO}}^*$  (3,96 kcal mol<sup>-1</sup>) presente em **c** e **c'** (Tabela 3), os valores calculados para as demais conformações encontram-se no Anexo B. A ordem de estabilidade por parte das interações hiperconjugativas em relação a  $\Psi_1$  estão de acordo com a ordem de estabilidade determinada pela energia de otimização das estruturas (Tabela 1). Além disso, em termos de repulsão estérica e eletrostática, os átomos mais volumosos Cl e F1 estão em relação *gauche* com os átomos de O e F vicinais em todas as seis conformações principais, experimentando, assim, interações espaciais semelhantes. Assim, a energia similar desses confôrmeros concorda com o modelo de hiperconjugação. Por conseguinte, tanto interações do tipo Lewis quanto quânticas explicam as energias quase equivalentes de **a-c'**.

Os confôrmeros de maior e menor estabilidade (**a** e **t**, respectivamente) contêm interações hiperconjugativa similares para o efeito *gauche* referente ao fragmento F-C-C-F ( $\Psi_1$ ). Porém, **t** não apresenta  $\Psi_3$  em posição *syn*, fato que irá diminuir sua estabilidade devido à repulsão F/Cl, além de comprometer a orientação alternada referente a  $\Psi_1$  e  $\Psi_2$ .

Essas mesmas interações são observadas para os compostos em soluções implícitas de cicloexano e acetonitrila (Anexos C e D). De um modo geral, a estabilidade das conformações depende principalmente da orientação *syn* de  $\Psi_3$ , bem como da forma alternada entre  $\Psi_1$  e  $\Psi_2$ , não dependendo significativamente da rotação de  $\Psi_1$ .

Tabela 3 Interações hiperconjugativas presentes no efeito *gauche* para os confôrmeros **a-c'** em nível  $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p), fase gás



Conf.	$\sigma_{CF_2} \rightarrow \sigma_{CCl}^*$	$\sigma_{CH_1} \rightarrow \sigma_{CF_3}^*$	$\sigma_{CO} \rightarrow \sigma_{CF_1}^*$	$\sigma_{CCl} \rightarrow \sigma_{CF_2}^*$	$\sigma_{CF_3} \rightarrow \sigma_{CH}^*$	$\sigma_{CF_1} \rightarrow \sigma_{CO}^*$
<b>a</b>	1,5	4,78	1,1	2,98	0,57	1,38
<b>a'</b>	1,5	4,77	1,11	2,99	0,56	1,37
Conf.	$\sigma_{CF_2} \rightarrow \sigma_{CH_1}^*$	$\sigma_{CF_1} \rightarrow \sigma_{CF_3}^*$	$\sigma_{CCl} \rightarrow \sigma_{CO}^*$	$\sigma_{CH_1} \rightarrow \sigma_{CF_2}^*$	$\sigma_{CF_3} \rightarrow \sigma_{CF_1}^*$	$\sigma_{CO} \rightarrow \sigma_{CCl}^*$
<b>b</b>	0,57	1,56	2,65	4,73	1,15	1,54
<b>b'</b>	–	–	–	–	–	–
Conf.	$\sigma_{CF_1} \rightarrow \sigma_{CF_2}^*$	$\sigma_{CCl} \rightarrow \sigma_{CF_3}^*$	$\sigma_{CO} \rightarrow \sigma_{CH_1}^*$	$\sigma_{CF_2} \rightarrow \sigma_{CF_1}^*$	$\sigma_{CF_3} \rightarrow \sigma_{CCl}^*$	$\sigma_{CH_1} \rightarrow \sigma_{CO}^*$
<b>c</b>	1,54	2,99	0	1,19	1,53	3,96
<b>c'</b>	1,56	2,98	0	1,2	1,52	3,96

### 4.3 Efeito Anomérico

A porção C-C-O-C ( $\Psi_2$ ) no enflurano assume a orientação *anti* em todos os seis confôrmeros de baixa energia. Vale ressaltar que essa geometria coincide com a orientação ideal para uma interação hiperconjugativa favorável entre os pares de elétrons livres do átomo de oxigênio e os orbitais  $\sigma_{CF}^*$  originados das ligações C-F vicinais (Figura 9), que normalmente descreve o efeito anomérico em carboidratos modelos (KIRBY, 2000).

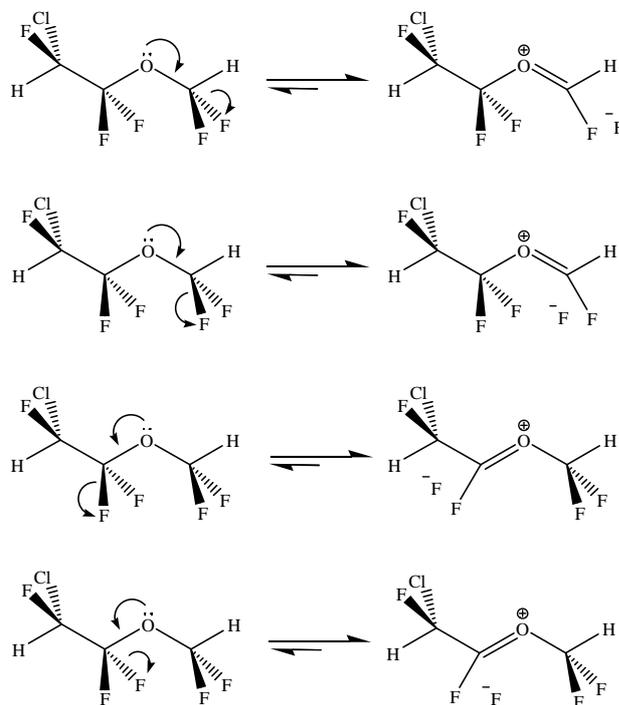


Figura 9 Possibilidades do efeito anomérico para o enflurano

Os dados de NBO expostos na Tabela 4 confirmam a importante contribuição dessas interações para a estabilização dos confôrmeros de baixa energia, apresentando valores médios de 20 e 14 kcal mol<sup>-1</sup> referentes às hiperconjugações  $n_{\text{O}} \rightarrow \sigma_{\text{C-F2/F3}}^*$  e  $n_{\text{O}} \rightarrow \sigma_{\text{C-F4/F5}}^*$ , respectivamente. Para as demais conformações (Anexo E), o efeito anomérico, apesar de ser bastante relevante alcançando valor máximo de até 22,6 kcal mol<sup>-1</sup> referente à interação  $n_{\text{O}} \rightarrow \sigma_{\text{C-F2}}^*$  no confôrmero I, conduz a geometrias pouco estáveis, pois repulsões entre os átomos eletronegativos são menos evitadas, além de não apresentarem interação  $\text{CHF}_2 \cdots \text{H}$  que auxilie a estabilização do composto estando em acordo com os dados discutidos na Tabela 2. A mesma tendência é observada para as conformações quando em soluções implícitas (Anexos F e G).

Tabela 4 Interações hiperconjugativas, presentes no efeito anomérico, obtidas por análise NBO em nível  $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p) para os confôrmeros **a-c'** na fase gás (em kcal mol<sup>-1</sup>)

Confôrmeros	$n_{O} \rightarrow \sigma^*_{C2-F2}$	$n_{O} \rightarrow \sigma^*_{C2-F3}$	$n_{O} \rightarrow \sigma^*_{C3-F4}$	$n_{O} \rightarrow \sigma^*_{C3-F5}$
<b>a</b>	20,9	20,2	15,0	13,7
<b>a'</b>	21,4	19,6	11,7	16,7
<b>b</b>	19,6	20,8	11,7	16,8
<b>b'</b>	–	–	–	–
<b>c</b>	21,4	21,7	17,0	11,4
<b>c'</b>	22,2	21,1	12,9	15,7

#### 4.4 Constante de acoplamento

Em confôrmeros que apresentam diferentes momentos de dipolo, a polaridade do solvente pode afetar fortemente o equilíbrio conformacional. Sendo assim, o isomerismo conformacional do enflurano foi ainda analisado usando espectroscopia de RMN em solução de cicloexano (solvente não polar,  $\epsilon=2,2$ ), e de acetonitrila ( $\epsilon=37,5$ ). As Figuras 10 e 11 mostram os espectros obtidos em solução de acetonitrila (298 K) para os átomos de <sup>1</sup>H e <sup>19</sup>F, respectivamente. Os valores dos deslocamentos químicos, constantes de acoplamento e multiplicidades, em ambos os solventes, estão expostos na Tabela 5.

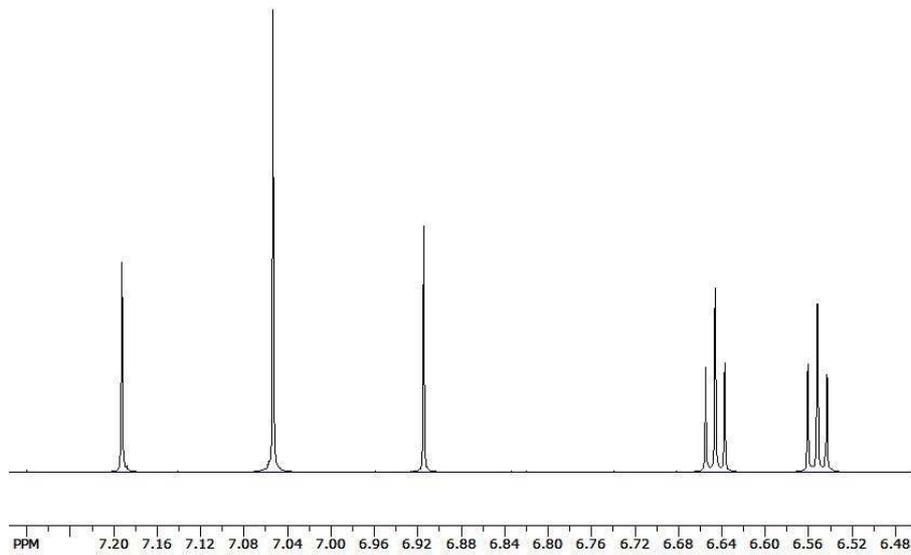


Figura 10 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para o enflurano em solução de  $\text{CD}_3\text{CN}$  (0,1M)

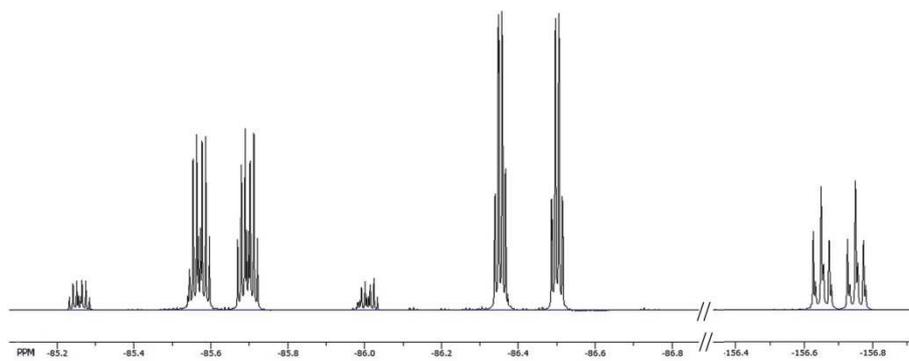


Figura 11 Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  para o enflurano em solução de  $\text{CD}_3\text{CN}$  (0,1M)

Tabela 5 Parâmetros espectroscópicos obtidos por análise de RMN para os átomos de  $^1\text{H}$  e  $^{19}\text{F}$  em soluções de cicloexano e acetonitrila (298 K)

Cicloexano			
Átomo	Deslocamento (ppm)	Multiplicidade	Acoplamentos (Hz)
H1	5,95	Duplo Triplete	$^2J_{\text{H}(1)\text{F}(1)} = 47,02$ $^3J_{\text{H}(1)\text{F}(2/3)} = 4,46$
H2	6,59	Triplete	$^2J_{\text{H}(2)\text{F}(4/5)} = 69,69$
F1	-155,79	Duplo Triplete de Triplete	$^2J_{\text{F}(1)\text{H}(1)} = 48,15$ $^3J_{\text{F}(1)\text{F}(2/3)} = -11,48$ $^5J_{\text{F}(1)\text{F}(4/5)} = 0,70$
F2/F3	-86,49/-86,25	Duplete de Duplo Quarteto	$^2J_{\text{F}(2/3)\text{F}(3/2)} = 69,96$ $^3J_{\text{F}(2/3)\text{F}(1)} = -11,48$ $^3J_{\text{F}(2/3)\text{H}(1)} = 4,46$ $^4J_{\text{F}(2/3)\text{F}(4/5)} = 4,52$
F4/F5	-85,48/-85,52	Duplete de Triplete de Duplo Duplete	$^2J_{\text{F}(4/5)\text{F}(5/4)} = 144,62$ $^4J_{\text{F}(4/5)\text{F}(2/3)} = 4,52$ $^2J_{\text{F}(4/5)\text{H}(2)} = 69,74$ $^5J_{\text{F}(4/5)\text{F}(1)} = 0,70$
Acetonitrila			
Átomo	Deslocamento (ppm)	Multiplicidade	Acoplamentos (Hz)
H1	6,60	Duplo Triplete	$^2J_{\text{H}(1)\text{F}(1)} = 47,04$ $^3J_{\text{H}(1)\text{F}(2/3)} = 4,46$
H2	7,05	Triplete	$^2J_{\text{H}(2)\text{F}(4/5)} = 69,62$
F1	-156,90	Duplete de Triplete de Triplete	$^2J_{\text{F}(1)\text{H}(1)} = 47,04$ $^3J_{\text{F}(1)\text{F}(2/3)} = -11,01$ $^5J_{\text{F}(1)\text{F}(4/5)} = 0,75$
F2/F3	-85,41/-85,85	Duplete de Duplo Quarteto	$^2J_{\text{F}(2/3)\text{F}(3/2)} = 69,42$ $^3J_{\text{F}(2/3)\text{F}(1)} = -11,01$ $^3J_{\text{F}(2/3)\text{H}(1)} = 4,46$ $^4J_{\text{F}(2/3)\text{F}(4/5)} = 4,55$
F4/F5	-86,48/-86,39	Duplete de Triplete de Duplo Duplete	$^2J_{\text{F}(4/5)\text{F}(5/4)} = 146,79$ $^4J_{\text{F}(4/5)\text{F}(2/3)} = 4,55$ $^2J_{\text{F}(4/5)\text{H}(2)} = 68,48$ $^5J_{\text{F}(4/5)\text{F}(1)} = 0,75$

Em compostos fluorados que apresentam ligação de hidrogênio são esperados que exibam constante de acoplamento ( $^1hJ$ ) entre os átomos que participam dessa interação, tal como no 8-flúor-4-metil-1-naftol (TAKEMURA; UEDA; IWANAGA, 2009), mas o espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$

para o enflurano não apresentou qualquer constante de acoplamento  $^1J_{F,H(C)}$ , em concordância com os valores quase nulos calculados para esta constante de acoplamento spin-spin, como pode ser observado para as conformações **a-c'** na Tabela 6 e para os confômeros **a-t** em Anexo H. De acordo com Balonga, Kowalewski e Conteras (1987), os acoplamentos  $^1J_{H(2)F(2/3)}$  através do espaço não foram observados devido ao fato dos átomos não se encontrarem a uma distância favorável à interação. Outro motivo que, possivelmente, justifique a ausência dos acoplamentos é a possibilidade de interação intermolecular com o solvente em detrimento da fraca interação intramolecular F-H. Esse fato é evidenciado teoricamente quando observados os valores de acoplamento  $^4J_{HF}$  (Tabela 6), onde, de modo geral, os valores de acoplamento  $^4J_{HF}$  diminuem com o aumento da polaridade do meio, uma vez que a maior polaridade favorece a interação do solvente com a molécula de enflurano. A ausência do acoplamento mencionado indica que não há ligação de hidrogênio que estabilize os 3 pares de confômeros principais, o que é corroborado por cálculos de QTAIM, NCI e NBO.

Tabela 6 Constantes de acoplamento teóricas  $^4J_{H,F}$  (Hz) para os confômeros do enflurano em solventes implícitos e na fase gás

Confômeros	$^4J_{H(2)F(2)}$			$^4J_{H(2)F(3)}$		
	Vapor	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	CD <sub>3</sub> CN	vapor	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	CD <sub>3</sub> CN
<b>a</b>	0,47	0,38	0,34	0,54	0,38	0,31
<b>a'</b>	0,82	0,81	0,79	-0,23	-0,27	-0,32
<b>b</b>	0,63	0,55	0,49	-0,03	-0,12	-0,20
<b>b'</b>	-	0,32	0,08	-	0,62	0,72
<b>c</b>	-0,16	-0,25	-0,32	0,72	0,65	0,57
<b>c'</b>	0,82	0,78	0,02	0,18	-0,20	-0,01
<b>d</b>	0,09	0,07	0,06	1,24	1,04	0,89

F2 e F3 são átomos de flúor diastereotópicos (assim como F4 e F5), que são distinguíveis por RMN de  $^{19}F$ . Ambos exibem constantes de acoplamento  $^3J$  com os átomos de hidrogênio (H1) e de flúor (F1) vicinais (Tabela 7 para os confômeros estáveis e em Anexo I para todas as conformações). De acordo com a curva de Karplus, o seguinte padrão  $^3J$  deverá ser observado para cada par de confômeros:

- **a e a'**: dois grandes acoplamentos  ${}^3J_{F-1, F-2/3}$ ; um acoplamento grande  ${}^3J_{H-1, F-3}$ ; um acoplamento pequeno  ${}^3J_{H-1, F-2}$ .
- **b e b'**: um acoplamento grande  ${}^3J_{F-1, F-2}$ ; um acoplamento pequeno  ${}^3J_{F-1, F-3}$ ; um acoplamento pequeno  ${}^3J_{H-1, F-3}$ ; um acoplamento grande  ${}^3J_{H-1, F-2}$ .
- **c e c'**: um acoplamento grande  ${}^3J_{F-1, F-3}$ ; um acoplamento pequeno  ${}^3J_{F-1, F-2}$ ; dois acoplamentos pequenos  ${}^3J_{H-1, F-2/3}$ .

Se as mudanças conformacionais aparecem com a alteração do solvente e da temperatura, o acoplamento  ${}^3J$  deve mover-se para o padrão que corresponde ao par de confômeros cuja população é aumentada após essas alterações. A Tabela 8 mostra que, experimentalmente, tanto  ${}^3J_{F,F}$  e  ${}^3J_{H,F}$  têm valores médios dos seis confômeros principais, enquanto que as mudanças de temperatura e de solventes com diferentes constantes dielétricas não alteram significativamente essas constantes de acoplamento. Isso indica que todos os três pares de confômeros isoenergéticos coexistem em solução e as suas populações não são significativamente afetadas por mudanças na temperatura e no solvente.

Tabela 7 Constantes de acoplamento teóricas  ${}^3J$  (Hz) para os confômeros do enflurano na fase gás e em solventes implícitos cicloexano e acetonitrila

Conf.	A	a'	b	b'	c	c'	
${}^3J_{H(1)F(2)}$	vapor	-0,73	-0,94	12,23	-	-0,74	-0,92
	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	-0,73	-0,9	13,31	12,23	-0,92	-0,98
	CD <sub>3</sub> CN	-0,75	-0,85	12,37	12,32	-1,13	-1,09
${}^3J_{H(1)F(3)}$	vapor	11,7	11,25	-2,47	-	1,4	1,58
	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	11,77	11,39	-2,74	-2,55	1,4	1,48
	CD <sub>3</sub> CN	11,84	11,87	-2,47	-2,59	1,4	1,39
${}^3J_{F(1)F(2)}$	vapor	-13,66	-13,98	-17,63	-	-6,43	-7
	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	-13,77	-13,99	-17,78	-17,79	-5,5	-6,29
	CD <sub>3</sub> CN	-13,92	-13,99	-17,95	-18,06	-4,5	-5,22
${}^3J_{F(1)F(3)}$	vapor	-14,21	-14,49	-10,14	-	-14,82	-14,82
	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	-14,5	-14,5	-9,3	-9,59	-14,82	-14,91
	CD <sub>3</sub> CN	-14,81	-14,52	-8,37	-8,74	-14,81	-14,94

Tabela 8 Constantes de acoplamento experimental (Hz) para o enflurano

Núcleos que se acoplam	Cicloexano		Acetonitrila			
	278 K	298 K	233 K	253 K	278 K	298 K
F1F2	-11,68±0,01	-11,56±0,00	-11,37±0,01	-11,32±0,01	-11,14 ±0,02	-11,01 ±0,02
F1F3	-11,64±0,01	-11,41±0,01	-11,33±0,01	-11,24±0,01	-11,04 ±0,02	-10,87 ±0,02
F1F4	0,56±0,06	0,74±0,05	0,41±0,02	0,60±0,02	0,59 ±0,04	0,79 ±0,04
F1F5	0,62±0,06	0,67±0,05	0,60±0,02	0,71±0,02	0,69 ±0,04	0,71 ±0,04
F1H1	48,12±0,01	48,14±0,01	46,88±0,01	46,94±0,01	47,01 ±0,02	47,04 ±0,02
F1H2	0,00± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
F2F3	143,80±0,01	144,42±0,00	145,55±0,01	145,57±0,01	146,39 ±0,01	146,91 ±0,02
F2F4	4,73±0,10	4,78±0,05	4,23±0,02	4,31±0,03	4,45 ±0,04	4,56 ±0,06
F2F5	3,88±0,10	4,09±0,05	4,01±0,02	4,20±0,03	4,37 ±0,04	4,55 ±0,06
F2H1	4,23±0,02	4,39±0,01	4,10±0,02	4,26±0,02	4,39 ±0,02	4,52 ±0,03
F2H2	0,00± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
F3F4	4,46±0,10	4,73±0,06	4,31±0,02	4,22±0,02	4,41 ±0,04	4,68 ±0,07
F3F5	4,18±0,10	4,23±0,06	3,97±0,02	4,08±0,02	4,26 ±0,04	4,29 ±0,07
F3H1	4,49±0,02	4,53±0,01	4,20±0,02	4,08±0,02	4,36 ±0,02	4,39 ±0,03
F3H2	0,00± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
F4F5	173,75±0,01	173,75±0,01	173,97±0,01	173,89±0,01	173,85 ±0,01	173,75 ±0,01
F4H1	0,00±0,00	0,00± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
F4H2	69,73±0,10	69,88±0,10	69,01±0,03	69,30±0,03	69,44 ±0,05	69,48 ±0,07
F5H1	0,00±0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
F5H2	69,65±0,10	69,60±0,10	69,20±0,03	69,25±0,03	69,36 ±0,05	69,48 ±0,07

Quanto aos átomos de carbono ( $^{13}\text{C}$ ), os espectros obtidos, com hidrogênios desacoplados, em soluções de cicloexano e acetonitrila, apresentaram um duplo tripleto, um triplo tripleto e tripleto de duplo tripleto. A Figura 12 mostra o espectro obtido em solução de acetonitrila (298 K), sendo que os valores dos deslocamentos químicos, constantes de acoplamento e suas respectivas multiplicidades, em ambos os solventes, estão expostos na Tabela 9.

Tabela 9 Parâmetros espectroscópicos obtidos por análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  em soluções de cicloexano e acetonitrila (298 K)

Cicloexano			
	Deslocamento	Multiplicidade	Acoplamento
C1	94,62	Duplo Tripleto	$^1J_{\text{C(1)F(1)}} = 253,15$ $^2J_{\text{C(1)F(2/3)}} = 39,33$
C2	118,08	Tripleto de Duplo Tripleto	$^1J_{\text{C(2)F(2/3)}} = 275,63$ $^2J_{\text{C(2)F(1)}} = 26,98$ $^3J_{\text{C(2)F(4/5)}} = 4,08$
C3	112,89	Tripleto de Tripletos	$^1J_{\text{C(3)F(4/5)}} = 263,12$ $^3J_{\text{C(3)F(2/3)}} = 5,95$
Acetonitrila			
	Deslocamento	Multiplicidade	Acoplamento
C1	93,75	Duplo Tripleto	$^1J_{\text{C(1)F(1)}} = 250,69$ $^2J_{\text{C(1)F(2/3)}} = 39,23$
C2	117,58	Tripleto de Duplo Tripleto	$^1J_{\text{C(2)F(2/3)}} = 274,24$ $^2J_{\text{C(2)F(1)}} = 26,91$ $^3J_{\text{C(2)F(4/5)}} = 4,16$
C3	113,03	Tripleto de Tripletos	$^1J_{\text{C(3)F(4/5)}} = 265,04$ $^3J_{\text{C(3)F(2/3)}} = 5,41$

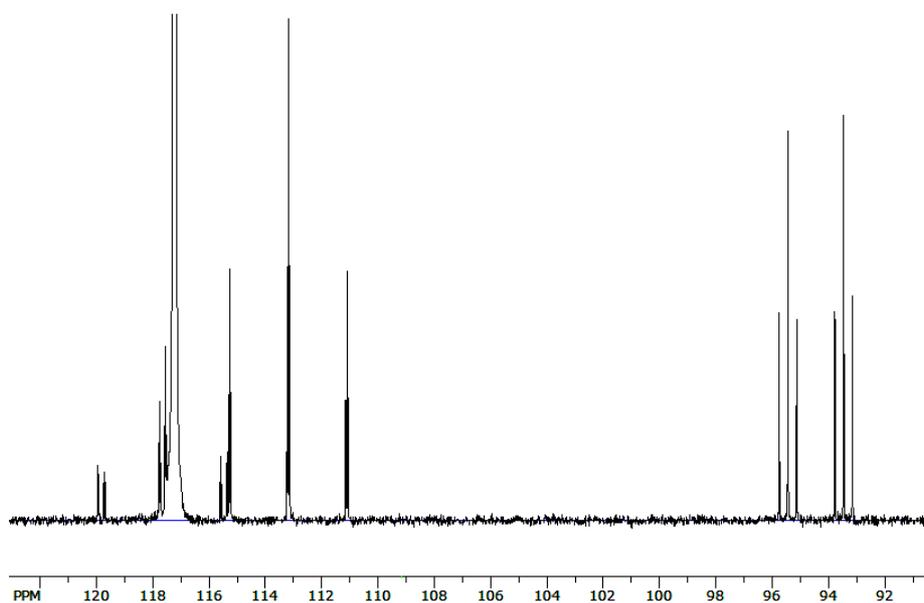


Figura 12 Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  para o enflurano em solução de  $\text{CD}_3\text{CN}$  (0,1 M)

A diminuição da temperatura tende a levar as estruturas a um estado mais estático, diminuindo, assim, a interconversão dos confôrmeros. Esse processo permite uma melhor avaliação de como as conformações se comportam no meio. Para os átomos de carbono em solução de acetonitrila (Tabela 10), não foi possível observar variações significativas das constantes de acoplamento com a variação da temperatura, o que novamente confirma que os pares de confôrmeros são isoenergéticos e competem de forma igualitária no equilíbrio conformacional.

Os dados expostos na Tabela 10 mostram uma boa correlação entre as metodologias teórica e experimental aplicadas. O teste de temperatura não pode ser realizado para o átomo de carbono em solução de cicloexano, uma vez que o espectro obtido a 278 K não apresentou resolução aceitável para análise e as demais temperaturas ultrapassam a temperatura de fusão do solvente.

Tabela 10 Constantes de acoplamento teóricas (**a-c'**) e experimentais (298-233 K) obtidas para as conformações estáveis do enflurano (Hz)

Conf.	C(1)-F(1)	C(1)-F(2)	C(1)-F(3)	C(2)-F(1)	C(2)-F(2)	C(2)-F(3)	C(3)-F(2)	C(3)-F(3)	C(3)-F(4)	C(3)-F(5)
Vapor										
<b>a</b>	-292,66	37,13	30,72	26,86	-309,22	-317,78	5,02	6,22	-294,90	-294,71
<b>a'</b>	-291,11	37,93	30,38	26,96	-309,73	-317,79	4,83	4,56	-289,26	-300,95
<b>b</b>	-297,46	43,72	43,72	24,15	-315,84	-306,86	7,26	3,13	-291,86	-299,08
<b>b'</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>c</b>	-296,8	47,07	41,73	24,689	-307,38	-307,33	4,23	5,93	-300,34	-290,99
<b>c'</b>	-296,79	47,99	40,94	24,83	-305,19	-309,17	4,90	5,76	-292,78	-297,68
Cicloexano										
<b>a</b>	-290,25	37,25	30,42	26,84	-309,63	-316,52	4,95	5,94	-293,52	-292,93
<b>a'</b>	-289,37	37,86	30,07	26,88	-310,00	-316,39	4,80	4,65	-288,37	-299,51
<b>b</b>	-294,623	30,95	17,70	24,13	-314,83	-306,99	7,10	2,98	-290,00	-297,90
<b>b'</b>	-294,67	30,75	44,22	24,14	-315,67	-305,97	6,42	3,71	-294,05	-292,93
<b>c</b>	-294,26	46,89	41,90	24,63	-307,62	-308,12	4,00	5,75	-299,09	-289,37
<b>c'</b>	-294,47	48,03	40,92	24,74	-305,14	-310,11	5,23	4,29	-289,05	-299,50
<b>298 K</b>	-253,15	39,36	39,30	26,98	-275,50	-275,75	5,93	5,97	-263,09	-263,14
Acetonitrila										
<b>a</b>	-287,92	37,42	30,08	26,79	-310,57	-314,78	4,82	5,68	-291,99	-291,39
<b>a'</b>	-287,74	37,76	29,74	26,78	-310,54	-314,79	4,75	4,76	-287,70	-298,05
<b>b</b>	-291,61	30,61	43,86	24,9	-313,56	-307,39	6,82	2,90	-288,02	-296,95
<b>b'</b>	-291,45	30,30	44,24	24,10	-313,83	-307,25	6,22	3,38	-293,50	-290,48
<b>c</b>	-291,51	46,68	42,01	24,53	-307,75	-309,80	3,67	5,60	-297,65	-287,51
<b>c'</b>	-291,58	47,62	41,19	24,64	-306,86	-310,12	5,27	3,70	-286,96	-298,57
<b>298 K</b>	-250,69	39,25	39,22	26,91	-274,24	-261,62	5,65	4,24	-263,10	-266,97
<b>278 K</b>	-246,94	38,49	38,95	22,76	-276,73	-267,67	5,64	4,90	-252,43	-267,05
<b>253 K</b>	-247,98	38,63	38,62	26,91	-274,33	-274,17	5,48	4,27	-261,12	-263,03
<b>233 K</b>	-248,35	38,30	38,40	26,92	-274,21	-274,12	5,66	4,40	-260,32	-260,34

#### 4.5 Espectroscopia no infravermelho

O espectro no infravermelho para o líquido puro do enflurano (Figura 13) apresenta bandas correspondentes a diferentes modos vibracionais. A Tabela 11 mostra os números de onda calculados para alguns modos de vibração para os seis confôrmeros de mais baixa energia, previstos por cálculos *ab initio*, bem como os valores obtidos experimentalmente e as respectivas atribuições aproximadas.

Os dados obtidos experimentalmente devem representar uma média dos valores das conformações presentes no meio. Pelos dados expostos na Tabela 11 é possível notar que os valores obtidos experimentalmente pelo espectro no infravermelho apresentam uma boa correspondência com a média dos valores obtidos por cálculos teóricos.

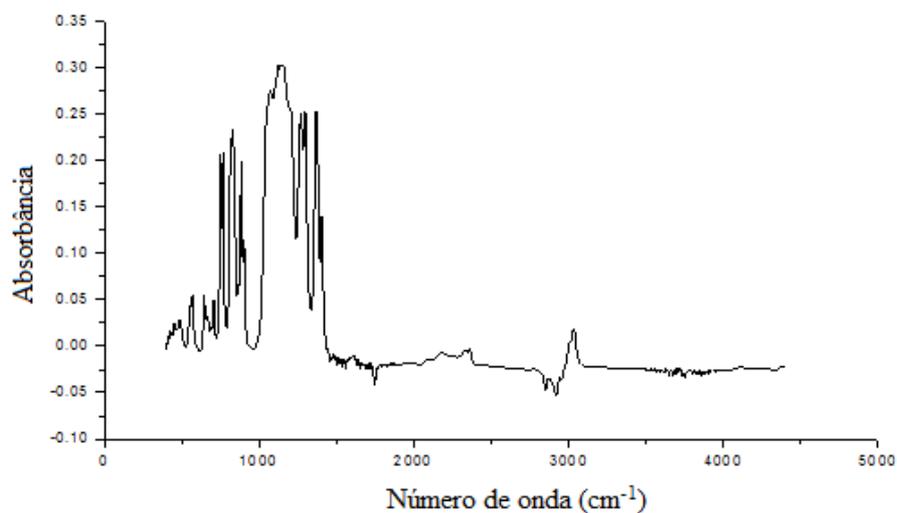


Figura 13 Espectro no infravermelho para o enflurano (líquido puro)

Tabela 11 Números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) no infravermelho obtidos por cálculos teóricos, em nível  $\omega\text{B97X-D/6-311++G(d,p)}$ , para os conformeros do enflurano de maior estabilidade e suas respectivas atribuições aproximadas

Vibrações	<b>a</b>	<b>a'</b>	<b>b</b>	<b>b'<sup>a</sup></b>	<b>c</b>	<b>c'</b>	Experimental
$\beta\text{C}_5\text{FF}$	574,90	574,60	572,66	566,49	550,57	557,41	569,00
$\beta\text{C}_5\text{FF}$ , $\beta\text{C}_5\text{FO}$ , $\omega\text{C}_3\text{OF}$	646,04	643,08	665,01	654,14	648,73	651,26	644,22
$\omega\text{C}_3\text{FF}$ , $\beta\text{CCF}$	778,21	779,80	764,17	761,27	710,59	713,36	765,74
$\nu\text{CCl}$	842,78	842,21	827,12	823,76	853,19	853,23	827,46
$\nu^{\text{as}}\text{CCCl}$ , $\nu\text{C}_3\text{FF}$ , $\omega\text{C}_3\text{FF}$	898,54	898,97	904,96	901,18	921,24	920,76	900,76
$\nu\text{C}_5\text{O}$ , $\beta\text{CCH}$	1066,82	1067,12	1088,36	1078,32	1095,31	1097,04	1072,42
$\nu\text{C}_1\text{F}$ , $\gamma\text{CCH}$	1113,39	1111,08	1123,24	1117,47	1127,90	1114,08	1120,64
$\nu^{\text{as}}\text{COC}$ , $\nu^{\text{as}}\text{C}_3\text{FF}$ , $\nu\text{C}_5\text{FF}$ , $\omega\text{CCH}$	1149,38	1151,39	1145,44	1152,13	1156,41	1148,45	1149,57
$\gamma\text{CCH}$ , $\nu\text{C}_3\text{O}$	1243,39	1241,76	1223,50	1216,64	1192,14	1195,28	1265,30
$\text{tCOC}$ , $\text{tCCH}$	1298,47	1299,76	1295,29	1288,11	1326,26	1315,08	1294,24
$\gamma\text{C}_5\text{H}$	1393,33	1381,98	1391,84	1376,91	1392,40	1396,51	1371,39
$\gamma\text{C}_1\text{H}$ , $\gamma\text{C}_5\text{H}$ , $\nu\text{CC}$	1409,31	1405,46	1411,51	1409,48	1410,67	1407,42	1402,25

<sup>a</sup>Para **b'** os valores são dados em solvente implícito de cicloexano.

$\nu$ =estiramento simétrico;  $\nu^{\text{as}}$ =estiramento assimétrico;  $\beta$ =tesoura;  $\omega$ =balanço;  $\gamma$ =abanando.

Analisando-se o sinal expandido e deconvoluído de  $\nu_{\text{C-Cl}}$  (800 a 860  $\text{cm}^{-1}$ ) para o líquido puro (Figura 14), pode-se notar a presença de três picos com intensidades semelhantes. As populações obtidas de acordo com as intensidades relativas, ajustadas pelas intensidades no infravermelho calculadas, apresentam valores de 37% para os conformêros **a** e **a'**, 32% para os conformêros **b** e **b'** e 31% para as conformações **c** e **c'**. A predominância dos três pares de conformêros isoenergéticos no líquido puro é deste modo, confirmada por espectroscopia no infravermelho, que mostra a deconvolução do sinal de estiramento C-Cl com picos para cada par com quase a mesma intensidade.

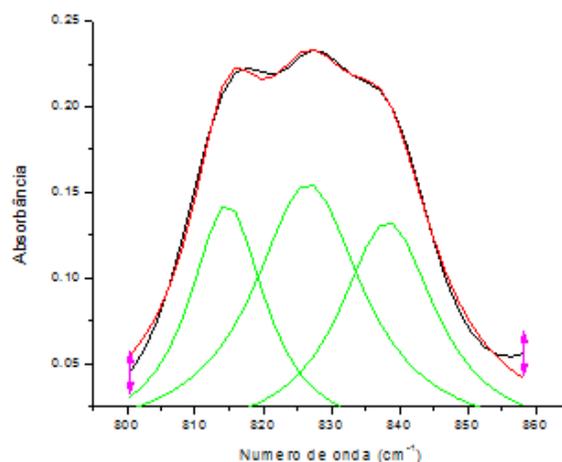


Figura 14 Espectro no infravermelho para o líquido puro do enflurano, indicando os três pares de conformações isoenergéticas por deconvolução Gaussiana

Não se pode realizar uma análise conformacional quantitativa usando o modo de estiramento C-Cl em solução diluída devido à interferência do solvente. Estudos anteriores mostraram que o comportamento conformacional semelhante aos que se obtiveram neste trabalho para o líquido puro persiste em solução não polar de  $\text{CCl}_4$  e Kr líquido (MICHALSKA *et al.*, 2007; MELIKOVA *et al.*, 2015).

#### 4.6 Espectroscopia no microondas

A espectroscopia rotacional é baseada no movimento de rotação das moléculas. À medida que a molécula tem sua energia rotacional aumentada, a força centrífuga faz com que as ligações se distendam ligeiramente, sendo o aumento maior quanto maior for o número quântico do estado rotacional ( $J$ ). Colisões no início da expansão supersônica entre as moléculas do composto em análise e as moléculas do gás transportador podem, assim como o movimento de rotação, produzir um prolongamento das ligações nas conformações, levando-as das de maior para as de menor energia. A alteração da conformação está geralmente associada com a altura da barreira de interconversão entre os confômeros. Em sistemas em que vários graus de liberdade são permitidos, onde os graus de liberdade podem canalizar o relaxamento, tem sido sugerido que a altura da barreira de  $350 \text{ cm}^{-1}$  ou superior impediria a alteração conformacional.

Como mostrado na Figura 15, a barreira rotacional entre os pares de isômeros obtidos para o enflurano dentro do ambiente de uma expansão supersônica é extremamente pequena (entre  $8,4$  e  $14,0 \text{ cm}^{-1}$ ), sendo facilmente transposta pelo efeito de extensão das ligações. Deste modo, apenas três conformações estáveis (**a**, **b** e **c**) puderam ser observadas. O gás transportador usado também influencia o grau de relaxamento, uma vez que gases veiculares mais pesados são relaxantes mais eficazes, e seu uso pode até mesmo impedir a observação dos isômeros de maior energia. Deste modo, o gás neônio foi escolhido como gás de arraste por ser mais leve, favorecendo um número maior de moléculas em estado próximo ao estático, o que resulta em sinais com melhores intensidades e resoluções quando comparado a espectros obtidos com o gás argônio, mais pesado. Além disso, o gás mais leve proporciona leituras mais rápidas, o que diminui a probabilidade de interconversão dos confômeros.

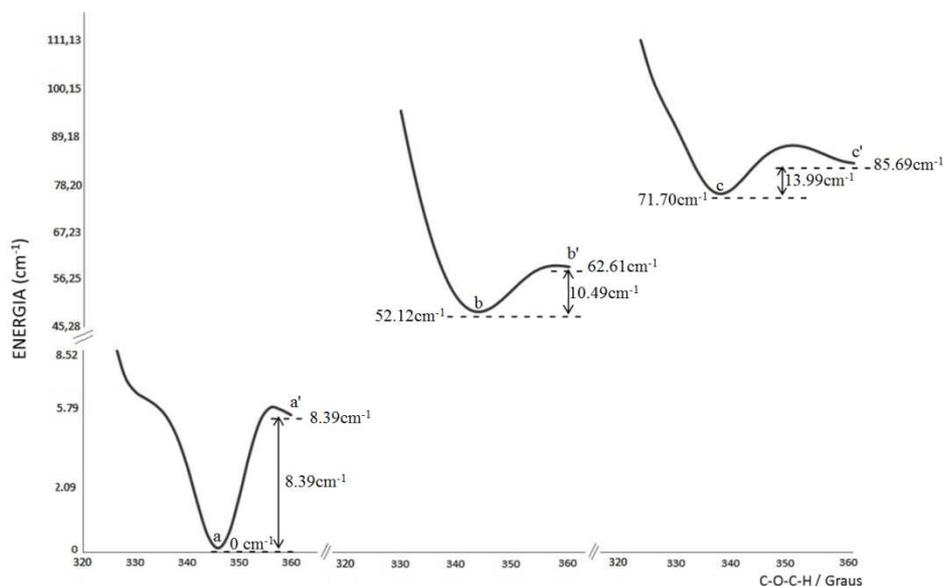


Figura 15 Barreira rotacional entre os pares de isômeros obtidos para o enflurano

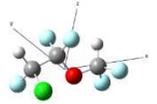
As outras três conformações observadas na análise rotacional correspondem aos isótopos compostos por átomo de  $^{37}\text{Cl}$  das conformações **a**, **b** e **c** (Tabela 12). O átomo de cloro pode ser encontrado na natureza sob as formas  $^{35}\text{Cl}$  (76%) e  $^{37}\text{Cl}$  (24%). Sua forma mais abundante apresenta momento de quadrupolo correspondente a  $-8.11(8)\text{Q}/\text{fm}^2$ , enquanto o valor para a forma menos numerosa é de  $-6.39(6)\text{Q}/\text{fm}^2$ . A diferença dos valores mencionados altera as constantes de quadrupolo nuclear ( $\chi_{aa}$ ,  $\chi_{bb}$  e  $\chi_{cc}$ ) obtidas para a conformação, de modo que a relação entre os valores encontrados devam apresentar uma correspondência entre as formas  $\text{C}_3\text{H}_2\text{F}_5\text{OCl}^{35}$  e  $\text{C}_3\text{H}_2\text{F}_5\text{OCl}^{37}$  de aproximadamente 79%. Outro fato que deve ser observado para confirmar a existência das conformações  $\text{C}_3\text{H}_2\text{F}_5\text{OCl}^{37}$  são as intensidades dos sinais obtidos, sendo que a proporção entre as linhas para os isótopos devem ser correspondentes a cerca de 3:1 (Figura 16).

Comparando as constantes rotacionais obtidas por espectroscopia em microondas e por cálculos teóricos, utilizando o conjunto de bases MP2, para as conformações estáveis (**a**, **b** e **c**) vemos que há uma boa correlação entre os métodos utilizados (Tabela 12). As conformações de maior estabilidade para o enflurano são estruturalmente similares, sendo que a principal

diferença entre elas ocorre devida a rotação do grupo CHFCl ao longo da ligação C-C, o que afeta os valores de suas constantes rotacionais ( $A_0$ ,  $B_0$  e  $C_0$ ), sendo o eixo principal ( $A_0$ ) o mais afetado por este movimento. A boa concordância entre os conjuntos de dados referentes as constantes de acoplamento de quadrupolo nuclear e as constantes rotacionais corroboram para a identificação de confôrmeros **a**, **b** e **c** como matrizes do espectro de rotação.

A abundância relativa observada para os confôrmeros pode ser estudada a partir da comparação da intensidade medida em diferentes transições rotacionais. A população efetiva dos confôrmeros observada no jato supersônico é consequência da população devido à própria energia relativa mais as possíveis contribuições dos efeitos de alongamento das ligações de outros confôrmeros. As intensidades dos sinais das transições  $J$  para cada conformação dependem principalmente dos momentos dipolares dos eixos em que cada transição está relacionada, deste modo, são esperadas linhas mais intensas para o confôrmero **c**, por possuir maiores valores de momento de dipolo em cada eixo, seguidas de linhas pouco menos intensas para **b** e linhas com menores intensidades referentes à conformação **a**, uma vez que, o valor do momento de dipolo se mostra inferior aos demais. A presença majoritária das três conformações observadas fica novamente evidenciada quando comparamos o espectro obtido experimentalmente para o gás com o obtido pela soma dos espectros teóricos dessas conformações, realizados com auxílio do programa PGOPHER (Figura 16).

Tabela 12 Parâmetros espectroscópicos rotacionais teóricos, em nível MP2/6-311++G(d,p), para as conformações estáveis e rotacionais experimentais do enflurano

Parâmetros rotacionais									
	a	a( <sup>35</sup> Cl)	a( <sup>37</sup> Cl)	b	b( <sup>35</sup> Cl)	b( <sup>37</sup> Cl)	c	c( <sup>35</sup> Cl)	c( <sup>37</sup> Cl)
$A_0$ /MHz	1850.0	1830.6(15)	1828.1(41)	2381.3	2383.6(57)	2375.3(16)	1631.6	1656.1(23)	1640.5(99)
$B_0$ /MHz	721.9	714.2(12)	727.6(12)	624.4	631.5(36)	629.6(11)	747.1	740.9(18)	730.7(68)
$C_0$ /MHz	607.9	598.1(97)	626.2(15)	588.5	575.0(42)	573.4(55)	691.4	683.1(19)	672.0(13)
$\Delta_K$ /kHz	-	(0)	(0)	-	0.16(35)	(0.16)	-	2.24(46)	3.02(32)
$\Delta_{JK}$ /kHz	-	(0)	(0)	-	0.11(98)	(0.11)	-	2.08(42)	1.86(33)
$\Delta_J$ /kHz	-	(0)	(0)	-	0.03(20)	(0.025)	-	0.40(11)	0.39(92)
$\delta_K$ /kHz	-	(0)	(0)	-	0.62(11)	(0.62)	-	5.74(38)	4.64(13)
$\delta_J$ /kHz	-	(0)	(0)	-	(0)	(0)	-	-0.13(64)	-0.12(53)
$\chi_{aa}(\text{Cl})$ /MHz	23.4	23.97(57)	21.88(49)	-45.3	-46.95(12)	-37.47(18)	29.4	27.68(12)	21.12(35)
$\chi_{bb-cc}(\text{Cl})$ /MHz	-90.2	-93.25(41)	-92.42(38)	-0.5	-10.07(25)	-9.91(31)	-92.5	-95.44(16)	-74.88(37)
$\chi_{ab}(\text{Cl})$ /MHz	32.0	(32.0)	(24.0)	30.3	38.22(53)	(30.26)	-28.9	-33.77(73)	-39.10(54)
$\chi_{ac}(\text{Cl})$ /MHz	-8.0	(-8.8)	(-6.4)	-35.5	-30.23(71)	(-35.52)	-6.7	-2.40(11)	(4.7)
$\chi_{bc}(\text{Cl})$ /MHz	19.9	(19.9)	(21.0)	13.1	13.79(94)	(13.14)	-15.9	-13.39(29)	(7.1)
$\mu_a$ /D	-0.116	-	-	0.489	-	-	-0.696	-	-
$\mu_b$ /D	0.290	-	-	-1.589	-	-	0.961	-	-
$\mu_c$ /D	-0.271	-	-	-0.528	-	-	1.842	-	-
$N$	-	7	25	-	204	19	-	325	81

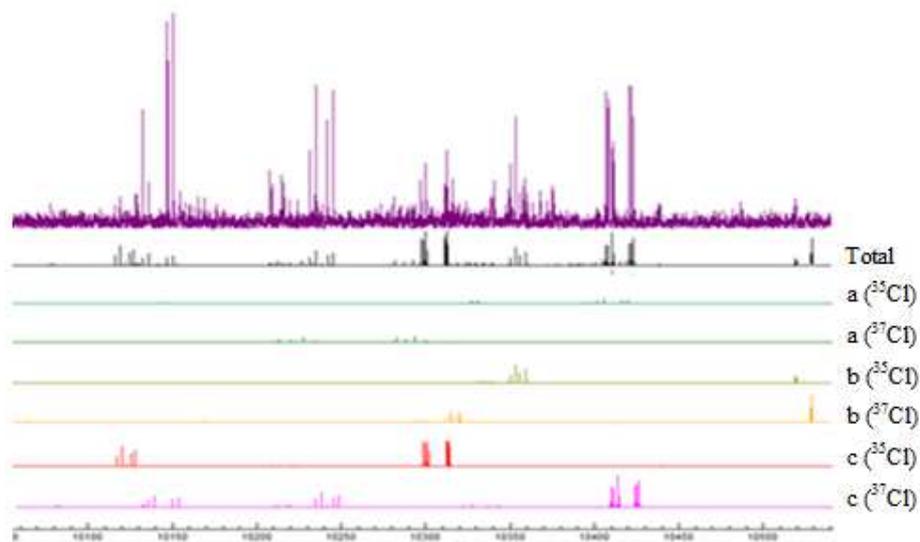


Figura 16 Parte do espectro rotacional do enflurano, em GHz, obtido por cp-FTMW após 50.000 médias de sinais e espectros teóricos para os confômeros com base nas constantes de rotações calculadas

#### 4.7 Enflurano em meio biológico

A energia de interação relativa dos confômeros do enflurano quando alocados no sítio ativo da Integrina LFA-1 foi determinada através de estudos de *docking*. A análise foi realizada a partir da substituição da estrutura do isoflurano no complexo disponível em Protein Data Bank (código PDB: 3F78) por todas as possíveis conformações previamente determinadas para o enflurano. A energia de interação entre cada confômero do enflurano e a Integrina,  $E_{inter}$ , foi calculada (Tabela 13) de acordo com a equação 18.

$$E_{inter} = \sum_{i=ligante} \sum_{j=proteina} \left[ E_{PLP}(r_{ij}) + 332,0 \frac{q_i q_j}{4r_{ij}^2} \right] \quad (18)$$

O termo  $E_{PLP}$  (*Piecewise Linear Potential*) utiliza de um conjunto de parâmetros para aproximar o termo estérico entre os átomos (Van der

Waals), e um parâmetro potencial para ligações de hidrogênio. O último termo da equação descreve as interações eletrostáticas entre átomos carregados, partindo de um potencial de Coulomb com uma constante dielétrica dependente da distância dada por:  $D(r)=4r$ . O valor numérico de 332,0 ajusta as unidades da energia eletrostática para  $\text{Kcal mol}^{-1}$ .

Estudos teóricos mostram que, entre as conformações estáveis, **a** e **a'** são as que interagem mais fortemente com a enzima Integrina LFA-1. As maiores mudanças de energia intermoleculares foram observadas nos átomos de oxigênio, flúor (1) e cloro. Isso se deve à existência de três aminoácidos (Ile259, Glu301 e Leu302) que rodeiam esses átomos, sendo que as interações formadas podem ser responsáveis pelo aumento da capacidade bioativa das conformações **a** e **a'** (Figura 17).

A Tabela 13 mostra que a principal conformação do enflurano livre (**a**) é a que melhor interage no sítio ativo da enzima integrina LFA-1, enquanto os outros cinco confôrmeros isoenergéticos são fracamente complexados com a proteína, se comparado a conformação **a**. Conseqüentemente, pode-se inferir que as interações intramoleculares que operam nos confôrmeros não são suficientemente fortes para explicar a possível conformação bioativa, que é melhor descrita em termos de interações ligante-enzima. Quando encaixada no interior do sítio ativo da enzima integrina LFA-1, a estrutura de **a** indica o aparecimento potencial de interações intermoleculares hidrofóbicas com resíduos de aminoácidos próximos Ile259, Glu301 e Leu302 (Figura 17), o que, juntamente com efeitos estéricos, possivelmente determina a provável bioconformação do enflurano, sendo **a** favorecida em relação à outras geometrias.

Tabela 13 Energia relativa de interação ( $\Delta\Delta E$ , Kcal mol<sup>-1</sup>) entre resíduos de aminoácidos do sítio ativo da Integrina LFA-1 (PDB:3F78) e as conformações do enflurano, de acordo com estudos de *docking* molecular

Confôrmeros	$\Delta\Delta E^{\text{int}}$ (kcal mol <sup>-1</sup> )
<b>a</b>	0,00
<b>m</b>	0,98
<b>p</b>	1,98
<b>a'</b>	2,06
<b>f</b>	3,15
<b>b'</b>	3,97
<b>b</b>	4,07
<b>s</b>	7,15
<b>o</b>	9,13
<b>k</b>	11,83
<b>r</b>	11,31
<b>c</b>	12,65
<b>c'</b>	12,79
<b>d</b>	14,05
<b>h</b>	14,97
<b>n</b>	16,95
<b>l</b>	17,02
<b>e</b>	21,53
<b>q</b>	35,12
<b>g</b>	40,52
<b>t</b>	41,63
<b>j</b>	103,47
<b>i</b>	131,61

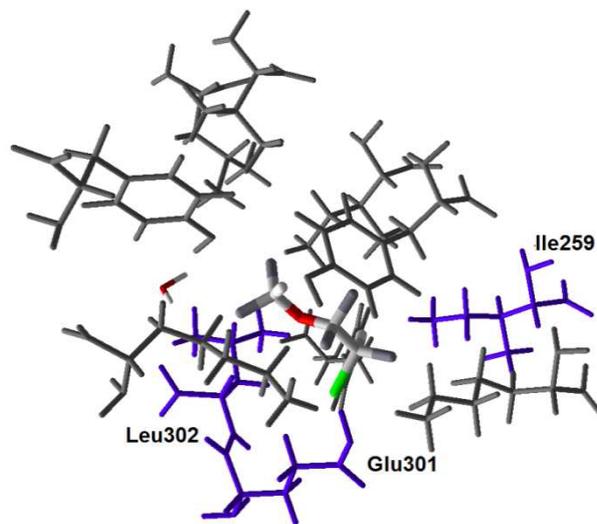


Figura 17 Confômero a complexado com a enzima Integrina LFA-1, destacando os resíduos de aminoácidos mais próximos ao ligante

## 5 CONSIDERAÇÕES

Vinte e sete conformações são possíveis para o enflurano. No entanto, o composto existe predominantemente como três pares de confôrmeros, distintos em  $\Psi_3$ , tanto na fase gasosa quanto em solvente implícito. Apesar do aparecimento de uma fraca atração eletrostática entre o átomo H2 e os átomos de flúor centrais CF<sub>2</sub>, essa interação é acompanhada por efeitos estéricos e, por conseguinte, a ligação de hidrogênio também não pode ser caracterizada como força governante do equilíbrio conformacional do enflurano. A estabilidade conformacional do enflurano é melhor descrita por interações hiperconjugativas (efeitos *gauche* e anomérico) juntamente com interações tipo Lewis. Contudo, as ligações intramoleculares não são suficientemente fortes para explicar a possível conformação bioativa, que é governada principalmente por interações entre a enzima e o composto, uma vez que um único confôrmero (**a**) entre os três pares é muito mais estável no sítio ativo da enzima integrina LFA-1 do que as demais conformações.

**REFERÊNCIAS**

ALCÁCER, L. **Introdução à química quântica computacional**. Rio de Janeiro: Copyright, 2007. 324 p.

ANDERSON, C. B.; SEPP, D. T. Conformational and the anomeric effect in 2-oxy-substituted tetrahydropyrans. **Tetrahedron**, Philadelphia, v. 24, n. 4, p. 1707-1716, 1968.

ANDO, R. A. et al. Resonance Raman spectroscopy and quantum-chemical calculations of push-pull molecules: 4-hydroxy-4'-nitroazobenzene and its anion. **The Journal of Physical Chemistry**, Washington, v. 111, n. 51, p. 13452-13456, Dec. 2007.

ANDRADE, L. A. F. et al. The preferred all-gauche conformations in 3-fluoro-1,2-propanediol. **Organic & Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 11, n. 39, p. 6766-6771, aug. 2013.

ARROIO, A. et al. O ensino de química quântica e o computador na perspectiva de projetos. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 360-363, nov./jan. 2005.

BADER, R. F. W. A quantum theory of molecular structure and its applications. **Chemical Reviews**, Washington, v. 91, n. 5, p. 893-928, July 1991.

BALONGA, P. E. et al. Studies on fluorinated ethers. **Spectrochimica Acta Part A: molecular spectroscopy**, Amsterdam, v. 44, n. 8, p. 819-822, Jan. 1988.

BARONE, V. Structure, magnetic properties and reactivities of open-shell species from density functional and self-consistent hybrid methods. In: CHONG; D. P. **Recent advances in density functional methods**: volume 1, parte I. Singapore: World Scientific Publishing, 1996. p. 287-334.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, Ithaca, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, Apr. 1993.

BENCHIMOL, J. L.; SÁ, M. R. Glossário. In: LUTZ, A. (Org.). **Sumário-glossário-índices**: volume 1. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2004. p. 40-154.

BUISSONNEAUD, D. Y.; VAN MOURIK, T.; O'HAGAN, D. A DFT study on the origin of the fluorine gauche effect in substituted fluoroethanes. **Tetrahedron**, Philadelphia, v. 66, n. 12, p. 2196-2202, Mar. 2010.

CHAI, J. D.; HEAD-GORDON, M. Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom–atom dispersion corrections. **Physical Chemistry Chemical Physics**, London, v. 10, p. 6615-6620, Sept. 2008.

CHIAO, S.; ZUO, Z. A double-edged sword: volatile anesthetic effects on the neonatal brain. **Brain Science**, Basel, v. 4, n. 2, p. 273–294, Apr. 2014.

CHRISTENHOLZ, C. L. et al. A rotational spectroscopic studies of c–h·f interactions in the vinyl fluoride·difluoromethane complex. **The Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 118, n. 9, p. 1610–1616, Feb. 2014.

COELHO, L. W. et al. Aplicação de mecânica molecular em química inorgânica. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 396-404, maio/jun. 1999.

COLIN, W. **PGOPHER version 8.0**. [S.l.: s.n.], 2014. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.5523/bris.huflggv\\_pcuc1zvliqed497r2](http://dx.doi.org/10.5523/bris.huflggv_pcuc1zvliqed497r2)>. Acesso em: 28 out. 2015.

CONTRERAS-GARCÍA, J.; YANG, W. Analysis of hydrogen-bond interaction potentials from the electron density: integration of noncovalent interaction regions. **The Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 115, p. 12983-12990, July 2011.

CRAMER, C. J. **Essentials of computational chemistry: theories and models**. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2004. 618 p.

REZENDE, F. M. P. de; ANDRADE, L. A. F.; FREITAS, M. P. Intramolecular interactions contributing for the conformational preference of bioactive diphenhydramine: manifestation of the gauche effect. **The Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1093, p. 8-12, Aug. 2015.

EVANGELISTI, L.; WIJNGAARDEN, J. V. The microwave spectrum of 3,3,3-trifluoropropionic acid. **Journal of Molecular Spectroscopy**, Amsterdam, v. 290, p. 1-4, Aug. 2013.

FERMI, E. Eine statistische methode zur bestimmung einiger eigenschaften des atoms und ihre anwendung auf die theorie des periodischen systems der elementev. **Zeitschrift für Physik**, München, v. 48, n. 1, p. 73-7948, Jan. 1928.

FIORIN, B. C. **Estudo do isomerismo rotacional de  $\alpha$ -halotioésteres e  $\alpha$ -fluoracetofenonas por cálculos teóricos e pelas espectroscopia de rmn e iv**. 2006. 82 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade do Estado do Paraná, Maringá, 2006.

FREITAS, M. P. et al. Stereoelectronic interactions and the one-bond c-f coupling constant in sevoflurane. **The Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 116, n. 6, p. 1677-1682, Jan. 2012.

FREITAS, M. P.; RAMALHO, T. C. Employing conformational analysis in the molecular modeling of agrochemicals: insights on qsar parameters of 2,4-d. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 37, n. 6, p. 485-494, nov./dez. 2013.

FREITAS, M. P.; RAMALHO, T. C. **Princípios de estrutura eletrônica e orbitais em química orgânica**. Lavras: Editora da UFLA, 2013. 126 p.

FREITAS, M. P. The anomeric effect on the basis of NBO analysis. **Organic & Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 11, n. 17, p. 2885-2890, Mar. 2013.

FRISCH, J. M.; POPLE, J. A.; BINKLEY, J. S. Self-consistent molecular orbital methods 25: supplementary functions for gaussian basis sets. **The Journal of Chemical Physics**, Ithaca, v. 80, n. 7, p. 3265-3269, Apr. 1984.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 09. Revision D.01**. Wallingford: [s.n.], 2009.

GLENDENING, E. D. et al. **NBO 6.0**. Madison: Theoretical Chemistry Institute, 2013. Disponível em: <<http://nbo6.chem.wisc.edu>>. Acesso em: 02 mar. 2014.

GORDY, W.; COOK, R. L. **Microwave molecular spectra**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 1984. 807 p.

HEAD-GORDON, M.; POPLE, J. A.; FRISCH, M. Energy evaluation by direct methods. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, Washington, v. 153, n. 6, p. 503-506, Dec. 1988.

HERMANN, A.; MACK, H.-G.; OBERHAMMER, H. Conformations and structures of desflurane and isoflurane. **Journal of Fluorine Chemistry**, Amsterdam, v. 101, n. 2, p. 223-231, Feb. 2000.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Physical Review B**, College Park, v. 136, n. 3, p. 864-871, Sept. 1964.

HOLLAS, J. M. **Modern spectroscopy**. 3. ed. Richmond: John Wiley & Sons, 1996. 391p.

HUANG, Y. et al. Origin of anomeric effect: a density functional steric analysis. **The Journal of Chemical Physics**, Ithaca, v. 134, n. 8, p. 084103-1-084103-9, Feb. 2011.

JUARISTI, E.; NOTARIO, R. Theoretical examination of the s-c-p anomeric effect. **The Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 80, n. 5, p. 2879-2883, Mar. 2015.

KIRBY, A. J. **Stereoelectronic effects**. Bath: Oxford University Press, 2000. 96 p.

LANE, J. R. et al. Are bond critical points really critical for hydrogen bonding? **Journal of Chemical Theory and Computation**, Washington, v. 9, n. 8, p. 3263-3266, Aug. 2013.

LASCHUK, E. F. **Novo formalismo semi-empírico para cálculos químicos-quântico**. 2005. 143 p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

LESARRI, A. et al. The conformational landscape of the volatile anesthetic sevoflurane. **Physical Chemistry Chemical Physics**, London, v. 12, n. 33, p. 9624-9631, May 2010.

LESARRI, A. et al. Structural evidence of anomeric effects in the anesthetic isoflurane. **Physical Chemistry Chemical Physics**, London, v. 13, n. 14, p. 6610-6618, Mar. 2011.

LEVINE, I. N. **Química cuántica**. 5. ed. Madrid: Prentice Hall, 2001. 736 p.

LII, J. H. et al. The external-anomeric torsional effect. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 340, n. 5, p. 853-862, Nov. 2005.

LOWE, J. P. Barriers to internal rotation about single bonds. In: STREITWIESER, A. (Ed.). **Progress in physical organic chemistry**: volume 6. Oxford: Wiley Online Library, 1968. p. 1-80.

MACOMBER, R. S. **A complete introduction to modern nmr spectroscopy**. New York: Wiley-Interscience, 1997. 400 p.

MARQUES, M. A. L.; BOTTI, S. O que é e para que serve a Teoria do funcional da densidade. **Gazeta da Física**, Portugal, v. 24, n. 4, p. 10-14, out. 2006.

MICHALSKA, D. et al. Theoretical and experimental studies of enflurane. infrared spectra in solution. in low-temperature argon matrix and blue shifts

resulting from dimerization. **The Journal of Physical Chemistry B**, Washington, v. 111, n. 42, p. 12228-12238, Oct. 2007.

MELIKOVA, S. M. et al. FTIR and Raman Spectra of CH(D)FCI—CF<sub>2</sub>—O—CHF Derivatives of Enflurane. Experimental and *ab initio* study. **Journal of Chemical Physics**, Ithaca, v. 453-454, p. 26-34, Apr. 2015.

MORGON, N. H. Computação em química teórica: informações técnicas. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 5, p. 676-682, set./out. 2001.

PAIVA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introdução à espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 716 p.

PFEIFFER, A.; MACK, H. G.; OBERHAMMER, H. Enflurane: structure and conformational properties. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 120, n. 25, p. 6384-6388, July 1998.

RAGHAVACHARI, K. et al. Self-consistent molecular orbital methods. XX. Basis set for correlated wave-functions. **The Journal of Chemical Physics**, Ithaca, v. 72, n. 1, p. 650-654, Jan. 1980.

RAUPP, D.; SERRANO, A.; MARTINS, T. L. C. A evolução da química computacional e sua contribuição para a educação em Química. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 9, n. 12, p. 13-22, jul./dez. 2008.

REY, Y. P. et al. Molecular design exploiting a fluorine *gauche* effect as a stereoelectronic trigger. **European Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 2014, n. 6, p. 1202-1211, Jan. 2014.

SILLA, J. M. et al. Conformational analysis and intramolecular interactions in aminofluorobenzoic acids. **The Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 117, n. 7, p. 1659-1664, Jan. 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2006. 490 p.

SOBRINHO, D. C.; FERREIRA, J. C. N. Fotoquímica de chalconas fluoradas no estado sólido. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 62-68, set./nov. 2002.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 897 p.

STUART, B. **Infrared spectroscopy: fundamentals and applications**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2004. 244 p.

TAKEMURA, H.; UEDA, R.; IWANAGA, T. C.-F. HO hydrogen bond in 8-fluoro-4-methyl-1-naphthol. **Journal of Fluorine Chemistry**, Amsterdam, v. 130, p. 684-688, Mar. 2009.

TANAKA, P. P. **Superior em anestesiologia: tópicos essenciais**. Curitiba: Laboratório Cristália, 2014. 599 p.

THOMAS, L. H. The calculation of atomic fields. **Cambridge Philosophical Society**, Cambridge, v. 23, n. 5, p. 542-548, Jan. 1927.

THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 49, n. 11, p. 3315-3321, Apr. 2006.

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum mechanical continuum solvation models. **Chemical Reviews**, Washington, v. 105, n. 8, p. 2999-3093, July 2005.

WEINHOLD, F.; LANDIS, C. R. **Valency and bonding: natural bond orbital donor-acceptor perspective**. United States: Cambridge University Press, 2005. 760 p.

WEINHOLD, F.; LANDIS, C. R. **Discovering chemistry with natural bond orbitals**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2012. 336 p.

WIBERG, K. B.; MURCKO, M. A.; LAIDIG, K. E. Origin of the “Gauche Effect” in substituted ethanes and ethenes. **The Journal of Physical Chemistry**, Washington, v. 94, n. 18, p. 6956-6959, Sept. 1990.

WLODARCZAK, G. Microwave and radiowave spectroscopy, applications. In: LINDON, J. C. (Ed.). **Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry**. Oxford: Elsevier, 1999. p. 1297-1307.

WOLFE, S. Gauche effect. Some stereochemical consequences of adjacent electron Pairs and Polar Bonds. **Accounts CJE Chemical Research**, Washington, v. 5, n. 3, p. 102-111, Mar. 1972.

ZIERKIEWICZ, W.; MICHALSKA, D.; ZEEGERS-HUYSKENS, T. Theoretical study of the interaction of a proton with the O, F and Cl atoms of enflurane (CHFC1-CF2-O-CHF2). **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 911, n. 1-3, p. 58-64, Oct. 2009.

## ANEXOS

Anexo A Energias relativas Eletrônica-nuclear ( $\Delta E_{en.}$ ), Lewis ( $\Delta E_{est.}$  e  $\Delta E_{elet.}$ ) e não-Lewis ( $\Delta E_{hip.}$ ), em kcal mol<sup>-1</sup>, para as conformações possíveis do enflurano em fase gasosa e em solventes implícitos, em nível  $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p)

Conf.	Vapor				Cicloexano				Acetonitrila			
	$\Delta E_{en}$	$\Delta E_{hip}$	$\Delta E_{est}$	$\Delta E_{elet}$	$\Delta E_{en}$	$\Delta E_{hip}$	$\Delta E_{est}$	$\Delta E_{elet}$	$\Delta E_{en}$	$\Delta E_{hip}$	$\Delta E_{est}$	$\Delta E_{elet}$
<b>A</b>	0,0	-2,0	13,4	-11,4	0,0	-0,2	11,9	-11,7	0,1	-1,2	15,7	-14,4
<b>a'</b>	0,0	-2,2	14,0	-11,8	0,0	-0,3	12,2	-11,9	0,0	-1,3	16,0	-14,7
<b>B</b>	0,2	-2,1	13,0	-10,7	0,1	-0,2	11,0	-10,7	0,2	-1,2	14,9	-13,5
<b>b'</b>	–	–	–	–	0,2	-0,4	11,3	-10,7	0,2	-1,3	15,1	-13,6
<b>C</b>	0,2	-3,0	11,4	-8,2	0,1	-0,7	9,9	-9,1	0,0	-1,0	13,7	-12,7
<b>c'</b>	0,3	-3,1	11,9	-8,5	0,2	-0,9	10,1	-9,0	0,0	-1,2	14,0	-12,8
<b>D</b>	1,4	0,0	1,9	-0,5	1,5	1,5	0,6	-0,6	1,7	0,0	4,8	-3,1
<b>E</b>	2,1	-6,6	7,9	0,8	2,4	-5,3	6,6	1,1	1,7	-6,0	10,7	-3,0
<b>F</b>	2,1	-0,4	5,1	-2,6	2,1	0,2	4,6	-2,7	2,2	-2,0	6,2	-2,0
<b>G</b>	2,5	-4,2	1,8	4,9	2,6	-2,7	0,7	4,6	2,6	-3,8	4,2	2,3
<b>H</b>	4,0	-4,0	12,2	-4,2	3,9	-2,5	7,4	-1,0	3,7	-4,6	12,1	-3,8
<b>I</b>	4,4	-5,6	4,4	5,6	4,2	-3,8	3,3	4,7	4,1	-4,8	7,3	1,6
<b>J</b>	2,0	-2,1	6,0	-1,9	2,0	2,0	0,5	-0,5	1,9	-0,3	5,2	-3,0
<b>K</b>	1,3	-1,5	1,4	1,4	1,3	0,5	0,1	0,7	1,3	-0,3	4,2	-2,5
<b>L</b>	1,9	-6,2	6,0	2,1	1,7	-4,5	4,6	1,6	1,9	-6,1	9,4	-1,4
<b>M</b>	1,9	-6,2	2,7	5,4	1,7	-4,5	1,4	4,8	1,6	-5,7	5,3	2,0
<b>N</b>	4,0	-6,8	5,5	5,3	3,9	-5,1	4,0	4,9	3,8	-6,2	7,9	2,1
<b>O</b>	4,2	-6,0	12,7	-2,5	1,9	1,3	0,0	0,6	1,8	0,1	5,8	-4,0
<b>P</b>	1,5	-1,3	7,1	-4,3	1,6	0,5	6,1	-4,9	1,8	-0,6	10,2	-7,8
<b>Q</b>	2,0	-6,6	5,0	3,6	1,7	-5,0	3,8	2,9	1,5	-6,1	7,8	-0,2
<b>R</b>	2,4	-4,3	4,5	2,2	2,5	-2,8	3,3	2,0	2,5	-4,4	1,0	6,0
<b>S</b>	1,9	-0,4	1,8	0,5	1,9	1,2	0,1	0,6	1,8	-0,1	5,8	-3,9
<b>T</b>	5,6	-3,7	8,2	1,1	5,4	-1,7	6,8	0,3	5,3	-3,0	9,5	-1,2







Anexo E Interações hiperconjugativas, presentes no efeito anomérico, obtidas por análise NBO em nível  $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p) para as conformações **a-t** do enflurano na fase gás (em kcal mol<sup>-1</sup>)

Confômeros	$n_{O \rightarrow \sigma^*_{C2-F2}}$	$n_{O \rightarrow \sigma^*_{C2-F3}}$	$n_{O \rightarrow \sigma^*_{C3-F4}}$	$n_{O \rightarrow \sigma^*_{C3-F5}}$
<b>a</b>	20,9	20,2	15,0	13,7
<b>a'</b>	21,4	19,6	11,7	16,7
<b>b</b>	19,6	20,8	11,7	16,8
<b>b'</b>	–	–	–	–
<b>c</b>	21,4	21,7	17,0	11,4
<b>c'</b>	22,2	21,1	12,9	15,7
<b>d</b>	16,4	9,8	15,8	14,5
<b>e</b>	14,0	21,1	13,8	18,4
<b>f</b>	10,4	14,5	7,9	19,9
<b>g</b>	9,9	14,7	16,3	19,6
<b>h</b>	10,1	22,1	17,8	8,2
<b>i</b>	19,3	9,2	15,2	19,8
<b>j</b>	11,7	16,0	9,7	19,3
<b>k</b>	9,2	19,6	12,8	17,2
<b>l</b>	22,6	15,7	18,5	13,8
<b>m</b>	15,7	22,5	13,9	21,4
<b>n</b>	9,3	20,7	19,0	14,5
<b>o</b>	22,3	9,6	8,3	17,1
<b>p</b>	17,0	10,3	19,4	9,0
<b>q</b>	21,3	14,3	18,4	13,9
<b>r</b>	15,3	9,6	19,5	16,2
<b>s</b>	14,7	10,3	19,8	8,0
<b>t</b>	9,0	19,0	20,0	15,8

Anexo F Interações hiperconjugativas, presentes no efeito anomérico, obtidas por análise NBO em nível  $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p) para as conformações **a-t** do enflurano em solvente implícito de cicloexano

Confôrmeros	$n_{\text{O}} \rightarrow \sigma^*_{\text{C2F2}}$	$n_{\text{O}} \rightarrow \sigma^*_{\text{C2F3}}$	$n_{\text{O}} \rightarrow \sigma^*_{\text{C3F4}}$	$n_{\text{O}} \rightarrow \sigma^*_{\text{C3F5}}$
<b>a</b>	20,9	20,3	15,1	13,8
<b>a'</b>	21,3	19,7	11,3	17,1
<b>b</b>	21,3	20,8	11,6	17,0
<b>b'</b>	19,5	21,1	14,4	14,6
<b>c</b>	21,1	21,3	17,2	11,2
<b>c'</b>	21,7	20,8	11,1	17,3
<b>d</b>	16,4	9,8	16,2	14,3
<b>e</b>	14,5	21,4	13,7	18,4
<b>f</b>	10,4	14,5	7,9	19,7
<b>g</b>	10,2	14,8	15,7	19,4
<b>h</b>	9,6	22,4	17,5	8,0
<b>i</b>	19,8	9,4	15,1	19,5
<b>j</b>	12,0	14,6	10,8	18,9
<b>k</b>	9,2	19,0	12,8	17,4
<b>l</b>	22,7	15,8	18,5	13,7
<b>m</b>	15,9	22,7	13,7	18,6
<b>n</b>	9,4	20,8	19,0	14,4
<b>o</b>	6,6	10,0	19,9	8,2
<b>p</b>	16,9	10,3	19,5	9,2
<b>q</b>	21,7	14,8	18,4	13,8
<b>r</b>	15,6	9,9	19,3	15,7
<b>s</b>	15,5	10,0	19,9	8,2
<b>t</b>	9,2	19,6	19,5	15,7

Anexo G Interações hiperconjugativas, presentes no efeito anomérico, obtidas por análise NBO em nível  $\omega$ B97X-D/6-311++G(d,p) para as conformações **a-t** do enflurano em solvente implícito de acetonitrila

conformeros	$n_{O} \rightarrow \sigma^*_{C2F2}$	$n_{O} \rightarrow \sigma^*_{C2F3}$	$n_{O} \rightarrow \sigma^*_{C3F4}$	$n_{O} \rightarrow \sigma^*_{C3F5}$
<b>a</b>	20,8	20,4	14,8	14,2
<b>a'</b>	21,1	20,0	11,0	17,4
<b>b</b>	19,5	20,8	11,6	17,2
<b>b'</b>	19,3	21,1	15,5	13,6
<b>c</b>	20,8	20,7	17,5	11,0
<b>c'</b>	20,9	20,5	10,7	17,2
<b>d</b>	16,5	9,7	16,5	14,3
<b>e</b>	15,2	22,3	13,5	18,5
<b>f</b>	10,5	14,4	7,8	19,5
<b>g</b>	11,1	14,2	14,7	19,4
<b>h</b>	9,7	22,5	17,4	8,0
<b>i</b>	20,5	9,6	15,1	19,1
<b>j</b>	11,9	14,5	10,8	18,9
<b>k</b>	9,2	18,1	13,0	17,6
<b>l</b>	4,2	20,1	17,5	11,2
<b>m</b>	16,0	22,8	13,5	18,6
<b>n</b>	3,7	14,3	19,1	9,1
<b>o</b>	5,7	17,0	19,8	8,8
<b>p</b>	16,7	10,4	19,6	9,3
<b>q</b>	22,7	15,5	18,4	13,6
<b>r</b>	15,3	10,7	19,1	14,9
<b>s</b>	17,0	9,3	19,8	8,8
<b>t</b>	9,4	20,8	19,0	15,6

Anexo H Constantes de acoplamento teóricas  ${}^4J_{\text{H,F}}$  (Hz) para os conformêros do enflurano (**a-t**) em solventes implícitos e na fase gás

Conformêros	${}^4J_{\text{H(2)F(2)}}$			${}^4J_{\text{H(2)F(3)}}$		
	Vapor	$\text{C}_6\text{D}_{12}$	$\text{CD}_3\text{CN}$	vapor	$\text{C}_6\text{D}_{12}$	$\text{CD}_3\text{CN}$
<b>a</b>	0,47	0,38	0,34	0,54	0,38	0,31
<b>a'</b>	0,82	0,81	0,79	-0,23	-0,27	-0,32
<b>b</b>	0,63	0,55	0,49	-0,03	-0,12	-0,20
<b>b'</b>	-	0,32	0,08	-	0,62	0,72
<b>c</b>	-0,16	-0,25	-0,32	0,72	0,65	0,57
<b>c'</b>	0,82	0,78	0,02	0,18	-0,20	-0,01
<b>d</b>	0,09	0,07	0,06	1,24	1,04	0,89
<b>e</b>	0,13	0,08	0,02	0,75	0,80	0,89
<b>f</b>	0,11	-0,16	-0,25	-0,63	-0,53	-0,34
<b>g</b>	1,60	1,59	1,50	1,74	1,83	2,18
<b>h</b>	3,88	3,29	3,40	-0,24	-0,04	-0,03
<b>i</b>	0,77	0,75	0,72	0,76	0,76	0,78
<b>j</b>	3,11	2,46	2,46	3,12	2,88	2,77
<b>k</b>	0,67	0,61	0,56	-0,20	-0,17	-0,14
<b>l</b>	0,83	0,85	1,08	0,09	0,07	0,85
<b>m</b>	0,11	0,08	0,06	0,72	0,74	0,77
<b>n</b>	0,50	0,48	0,46	0,62	0,60	0,58
<b>o</b>	-0,15	-0,44	-0,43	0,29	-0,19	-0,31
<b>p</b>	3,06	2,97	2,89	3,47	3,43	3,42
<b>q</b>	0,58	0,61	0,69	0,11	0,07	0,03
<b>r</b>	1,57	1,76	1,81	1,63	1,50	1,51
<b>s</b>	-0,66	-0,44	-0,43	0,12	-0,18	-0,30
<b>t</b>	0,81	0,83	0,84	0,57	0,52	0,52

Anexo I Constantes de acoplamento teóricas  $^3J$  (Hz) para os confômeros do enflurano (**a-t**) na fase gás e em solventes implícitos cicloexano e acetonitrila.

Conf.	$^3J_{H(1)F(2)}$			$^3J_{H(1)F(3)}$			$^3J_{F(1)F(2)}$			$^3J_{F(1)F(3)}$		
	vapor	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	CD <sub>3</sub> CN	vapor	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	CD <sub>3</sub> CN	vapor	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	CD <sub>3</sub> CN	vapor	C <sub>6</sub> D <sub>12</sub>	CD <sub>3</sub> CN
<b>a</b>	-0,73	-0,73	-0,75	11,70	11,77	11,84	-13,66	-13,77	-13,92	-14,21	-14,50	-14,81
<b>a'</b>	-0,94	-0,90	-0,85	11,25	11,39	11,87	-13,98	-13,99	-13,99	-14,49	-14,50	-14,52
<b>b</b>	12,23	13,31	12,37	-2,47	-2,74	-2,47	-17,63	-17,78	-17,95	-10,14	-9,30	-8,37
<b>b'</b>	-	12,23	12,32	-	-2,55	-2,59	-	-17,79	-18,06	-	-9,59	-8,74
<b>c</b>	-0,74	-0,92	-1,13	1,40	1,40	1,40	-6,43	-5,50	-4,50	-14,82	-14,82	-14,81
<b>c'</b>	-0,92	-0,98	-1,09	1,58	1,48	1,39	-7,00	-6,29	-5,22	-14,82	-14,91	-14,94
<b>d</b>	13,24	13,51	13,81	1,91	-1,95	-2,00	-18,30	-18,24	-18,17	-10,15	-9,47	-8,69
<b>e</b>	11,92	12,18	12,49	2,34	-2,43	-2,53	-17,29	-17,54	-17,80	-10,33	-9,63	-8,88
<b>f</b>	14,13	14,30	14,43	2,49	-2,50	-2,68	-17,52	-17,68	-18,05	-10,98	-10,08	-8,62
<b>g</b>	14,05	14,33	14,55	2,22	-2,44	-2,76	-16,63	-16,89	-17,42	-8,39	-7,79	-7,12
<b>h</b>	12,33	12,87	13,62	2,57	-2,67	-2,65	-16,33	-16,62	-16,61	-9,51	-8,97	-8,34
<b>i</b>	12,96	13,24	13,57	2,90	-2,93	-2,95	-18,62	-19,03	-19,53	-16,62	-15,93	-15,18
<b>j</b>	-1,79	-2,13	-2,08	-0,94	-1,02	-0,94	-8,22	-6,94	-5,98	-15,12	-14,99	-15,15
<b>k</b>	-1,90	-2,04	-2,25	-0,47	-4,69	-0,44	-9,95	-9,29	-8,65	-15,13	-15,11	-15,08
<b>l</b>	-1,28	-1,38	-0,97	2,26	2,20	1,90	-7,60	-6,79	-5,12	-15,12	-15,21	-15,21
<b>m</b>	-4,23	-0,54	-0,68	0,98	0,95	0,92	-6,39	-5,58	-4,75	-14,83	-14,90	-14,96
<b>n</b>	-0,52	-0,62	-0,73	0,22	0,15	0,09	-15,21	-14,25	-13,15	-14,47	-14,66	-14,95
<b>o</b>	-1,38	-0,86	-0,81	12,13	13,68	14,20	-14,86	-14,56	-14,59	-18,21	-19,07	-19,13
<b>p</b>	-0,33	-0,35	-0,38	13,39	13,61	13,86	-16,32	-16,43	-16,63	-15,23	-15,54	-15,93
<b>q</b>	-0,67	-0,74	-0,81	11,63	11,87	12,18	-14,21	-14,23	-14,26	-13,33	-13,47	-13,68
<b>r</b>	-6,75	-0,54	-0,49	13,44	13,7	14,19	-13,82	-14,25	-14,37	-19,30	-19,67	-19,84
<b>s</b>	-0,45	-0,85	-0,81	13,79	13,68	14,20	-13,76	-14,55	-14,58	-18,68	-19,08	-19,14
<b>t</b>	-2,09	-2,13	-2,13	13,42	13,62	14,06	-12,02	-11,91	-11,88	-14,28	-14,39	-14,26