



**FÁTIMA MARIA PEREIRA DE REZENDE**

**INTERAÇÕES INTRAMOLECULARES QUE  
CONTRIBUEM PARA A PREFERÊNCIA  
CONFORMACIONAL DA DIFENIDRAMINA  
BIOATIVA: MANIFESTAÇÃO DO EFEITO  
GAUCHE**

**LAVRAS – MG**

**2015**

**FÁTIMA MARIA PEREIRA DE REZENDE**

**INTERAÇÕES INTRAMOLECULARES QUE CONTRIBUEM PARA A  
PREFERÊNCIA CONFORMACIONAL DA DIFENIDRAMINA  
BIOATIVA: MANIFESTAÇÃO DO EFEITO GAUCHE**

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**

**2015**

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

Rezende, Fátima Maria Pereira de.

Interações intramoleculares que contribuem para a preferência conformacional da difenidramina bioativa: manifestação do efeito gauche / Fátima Maria Pereira de Rezende. – Lavras : UFLA, 2015.

70 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Matheus Puggina de Freitas.

Bibliografia.

1. Atração Eletrostática. 2. Interações Hiperconjugativas. 3. Ligação de Hidrogênio. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

**FÁTIMA MARIA PEREIRA DE REZENDE**

**INTERAÇÕES INTRAMOLECULARES QUE CONTRIBUEM PARA A  
PREFERÊNCIA CONFORMACIONAL DA DIFENIDRAMINA  
BIOATIVA: MANIFESTAÇÃO DO EFEITO GAUCHE**

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 26 de fevereiro de 2015.

Dr. Luiz Gustavo de Lima Guimarães                      UFSJ

Dr. Teodorico de Castro Ramalho                      UFLA

Dr. Matheus Puggina de Freitas  
Orientador

**LAVRAS – MG**

**2015**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, por sempre me dar forças, me abençoar e por todas as graças recebidas.

A minha amada mãe pelo imenso amor, apoio e zelo.

A minha irmã Franciely, pelo carinho, amor, zelo, pelos conselhos e por fazer meus dias mais felizes.

A meu pai Antônio (*in memoriam*), por me dar apoio, amor e sempre me ensinar a lutar pelos meus sonhos. Pai, saiba que você é também um dos protagonistas dessa conquista.

Agradeço ao meu orientador Matheus, pelos ensinamentos, paciência e pela amizade.

Aos professores e colegas do Laboratório de Modelagem Molecular.

Aos professores Dr. Teodorico de Castro Ramalho e Dr. Luiz Gustavo de Lima Guimarães por aceitarem o convite para participar como membros da banca da minha defesa de mestrado.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realizar este trabalho; bem como à CAPES, pela bolsa de estudos.

A todos, o meu muito obrigada!

## RESUMO

A difenidramina é usada como um anti-histamínico e trata sintomas comuns da gripe. Normalmente, a difenidramina é comercializada como sal (cloridrato) e ambas as formas, neutra e protonada, exibem o fragmento O-C-C-N, que é passível de exibir o efeito *gauche*. O isomerismo conformacional dessas formas foi avaliado por meio de cálculos teóricos e ressonância magnética nuclear. Os resultados indicaram a predominância da conformação *gauche*, para as formas de cátion e neutra. A forma protonada, além de ser estabilizada por interações hiperconjugativas antiperiplanares do tipo  $\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma^*_{C-O}$  e  $\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma^*_{C-N}$  (assim como a forma neutra), também é estabilizada por interações eletrostáticas entre O e  $N^+$  e por ligação de hidrogênio intramolecular do tipo  $N^+ \cdots H \cdots O$ , segundo cálculos de AIM efetuados para o conformero mais estável. Para a forma neutra, há uma população mensurável de conformeros *anti*, cerca de 10%. Os dados teóricos e experimentais de constante de acoplamento ( $^3J_{H,H}$  em Hz) também apontam a conformação *gauche* como predominante. A estrutura mais estável da forma neutra corresponde à estrutura bioativa, a qual se encontra ligada à enzima histamina metiltransferase, disponível no banco de dados de proteínas (PDB). Em razão da similaridade estrutural entre as geometrias calculadas e experimentais da difenidramina, sugere-se que interações hiperconjugativas antiperiplanares contribuem para a estabilidade conformacional da difenidramina bioativa, além do encaixe induzido pelo sítio ativo da proteína.

Palavras-chave: Atração Eletrostática. Interações Hiperconjugativas. Ligação de Hidrogênio.

## ABSTRACT

Diphenhydramine is used as an antihistamine to treat common symptoms of the flu. It is normally commercialized as a salt (hydrochloride) and both the neutral and protonated forms exhibit the O-C-C-N fragment, which is capable of experiencing the *gauche* effect. The conformational isomerism of these forms was analyzed by means of theoretical calculations and nuclear magnetic resonance. The results indicated the predominance of the *gauche* conformation for the cation and neutral forms. The protonated form, in addition to being stabilized by antiperiplanar hyperconjugative interactions of the  $\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-O}^*$  and  $\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-N}^*$  type (as also occurs in the neutral form), is also stabilized by electrostatic interactions between O and  $N^+$  and by intramolecular hydrogen bond of the  $N^+—H \cdots O$  type, according to AIM calculations conducted for the most stable conformer. For the neutral form, there is a measurable population of about 10% of *anti* conformers. The theoretical and experimental data of coupling constants ( $^3J_{H,H}$  in Hz) also indicate the *gauche* conformation as predominant. The most stable structure for the neutral form corresponds to the bioactive structure, which is bound to the histamine methyltransferase enzyme, available in the protein data bank (PDB). Because of the conformational similarity between the calculated and experimental diphenhydramine geometries, we suggest that antiperiplanar hyperconjugative interactions contribute for the conformational stability of bioactive diphenhydramine, in addition to the induced fit by the protein active site.

Keywords: Electrostatic Attraction. Hyperconjugative Interactions. Hydrogen Bond.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Interações eletrostáticas repulsivas e atrativas em etanos 1,2-substituídos.....	13
Figura 2	Isomerismo conformacional do metilcicloexano.....	14
Figura 3	a) Difenidramina e b) 8-cloroteofilina: componentes do dimenidrinato (Dramin®).....	15
Figura 4	Difenidramina protonada.....	15
Figura 5	Compostos estudados na literatura quanto à existência de ligações de hidrogênio F··HO.....	25
Figura 6	Gráfico molecular do isômero syn-exo (mínimo global), obtido por QTAIM para o 2-fluorbiciclo[2,2,1] heptan-7-ol.....	27
Figura 7	(a) Efeito <i>gauche</i> hiperconjugativo no 1,2-difluór-etano e (b) eletrostático em etanos 1,2-dissubstituídos.....	29
Figura 8	Epimerização de derivados da glicose. De acordo com o efeito anomérico, o anômero $\alpha$ (X axial) é mais estável do que o esperado com base nos efeitos estéricos.....	30
Figura 9	Interpretações para o efeito anomérico em tetraidropiranos substituídos a) repulsão dipolar na forma <i>equatorial</i> ; b) hiperconjugação $n_O \rightarrow \sigma^*_{CX}$ ; c) efeito anomérico exocíclico $n_X \rightarrow \sigma^*_{CO}$ (X = OH); d) hiperconjugação $n_X \rightarrow \sigma^*_{CO}$ (X = OH) na forma <i>equatorial</i> .....	31
Figura 10	Reação de desprotonação do cloridrato de difenidramina com pó de zinco.....	37
Figura 11	Estruturas otimizadas [ $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p)] para 1. *Estrutura para $1a_1$ otimizada em solvente implícito $CHCl_3$ .....	41
Figura 12	Estruturas otimizadas [ $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p)] para 2.....	48
Figura 13	Espectro no infravermelho do cloridrato de difenidramina.....	52

Figura 14	Espectro no infravermelho da difenidramina .....	52
Figura 15	Isomerismo conformacional do cloridrato de difenidramina em torno da ligação C(H <sub>2</sub> )-C(H <sub>2</sub> ) .....	53
Figura 16	Espectros de RMN de H-1 a) experimental, b) simulado e c) expansão dos sinais de RMN simulados e experimentais para os hidrogênios metilênicos do composto 1 (difenidramina protonada). Dados em solução de CDCl <sub>3</sub> .....	54
Figura 17	Gráfico para a curva de Karplus (ângulo diedro em graus ° e <i>J</i> em Hz) .....	56
Figura 18	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H para 2 em CDCl <sub>3</sub> .....	57
Figura 19	Espectro de RMN de <sup>1</sup> H para 2 em CD <sub>3</sub> CN .....	57
Figura 20	Conformações bioativas da difenidramina em interação com a enzima histamina metiltransferase (código PDB: 2AOT) .....	58
Figura 21	Estruturas químicas bioativas da difenidramina (a e b, obtidas do PDB, código 2AOT) e o mínimo global 2g <sub>1</sub> (c) .....	59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados calculados [ $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p)] para 1 .....43
Tabela 2	Interações hiperconjugativas relevantes (kcal mol <sup>-1</sup> ) para o efeito <i>gauche</i> e ligações de hidrogênio em 1. Os dados para a fase gasosa, CHCl <sub>3</sub> e CH <sub>3</sub> CN são separados por ponto e vírgula.....45
Tabela 3	Parâmetros de QTAIM (em au) usados para caracterizar ligação de hidrogênio em 1g <sub>1</sub> relativo ao 1a <sub>2</sub> .....46
Tabela 4	Dados calculados [ $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p)] para 2 .....50
Tabela 5	Interações hiperconjugativas relevantes (kcal mol <sup>-1</sup> ) para o efeito <i>gauche</i> em 2. Os dados no gás, CHCl <sub>3</sub> e CH <sub>3</sub> CN são separados por ponto e vírgula .....51
Tabela 6	Cálculos de <sup>3</sup> J <sub>H1,H3</sub> , <sup>3</sup> J <sub>H1,H4</sub> , <sup>3</sup> J <sub>H2,H3</sub> e <sup>3</sup> J <sub>H2,H4</sub> (Hz) para 1 e 2 em nível $\omega$ B97X-D/6-31g++(d,p) (gás; clorofórmio; acetonitrila). Os valores são representados apenas para confôrmers com energia relativa $\leq 1$ kcal mol <sup>-1</sup> e para 1a <sub>1</sub> .....55

## LISTA DE SIGLAS

AIM	Átomos em Moléculas
AM1	Austin Model 1
BCP	Ponto crítico da ligação
DFT	Teoria do funcional de densidade
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DQI	Departamento de Química
HF	Hatree-Fock (método)
IV	Infravermelho
$^3J$	Constante de acoplamento
L.H.	Ligação de hidrogênio
NBO	Orbitais naturais de ligação
PCM	Modelo de polarização contínuo
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
QTAIM	Teoria Quântica de Átomos em Moléculas
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\rho(r)$	Densidade eletrônica
Ach <sup>+</sup>	Acetilcolina
Au	Unidades arbitrárias
$\epsilon$	Constante dielétrica
MHz	Megahertz (unidade de constante de acoplamento, $J$ )
°C	Temperatura em graus Celsius
cm <sup>-1</sup>	Unidade de número de onda (1/centímetros)
mL	Mililitro
kcalmol <sup>-1</sup>	Quilocaloria por mol
$E(H)$	Energia do átomo de hidrogênio
$M_1(H)$	Primeiro momento de dipolo do átomo de hidrogênio
$V(H)$	Volume do átomo de hidrogênio
$\nabla^2\rho$	Laplaciano ao quadrado
Hz	Hertz

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	17
2.1	Métodos Computacionais .....	17
2.1.1	Métodos de estrutura eletrônica .....	17
2.1.2	Funções de base e o funcional $\omega$ B97X-D .....	19
2.2	Análise conformacional .....	20
2.3	NBO (Natural Bond Orbitals) .....	21
2.4	Efeito do solvente .....	21
2.5	Hiperconjugação .....	23
2.6	Interações intramoleculares .....	24
2.6.1	Ligações de Hidrogênio .....	24
2.6.2	Efeito <i>Gauche</i> : efeitos eletrostáticos, hiperconjugativos e ligações de hidrogênio .....	27
2.6.3	Efeito anomérico .....	29
2.7	Métodos Espectroscópicos .....	31
2.7.1	Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ .....	32
3	OBJETIVO GERAL .....	34
3.1	Objetivos específicos .....	34
4	METODOLOGIA .....	35
4.1	Cálculos teóricos .....	35
4.2	Parte experimental .....	37
4.2.1	Desprotonação com pó de zinco .....	37
4.3	Obtenção dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ e infravermelho .....	38
4.3.1	Espectroscopia no infravermelho .....	38
4.3.2	Espectroscopia de RMN de $^1\text{H}$ (para a difenidramina neutra) .....	38
4.3.3	Espectroscopia de RMN de $^1\text{H}$ (para a difenidramina protonada) .....	39
4.4	Simulação de espectros .....	39
4.5	Estrutura Bioativa .....	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	40
5.1	Difenidramina protonada (1) .....	40
5.2	Difenidramina (2) .....	47
5.3	Síntese da difenidramina neutra e análise no infravermelho .....	51
5.4	Constantes de acoplamento: Dados experimentais (análise de $^1\text{H}$ RMN) e teóricos .....	53
5.5	Insights sobre a Atividade Biológica .....	57
6	CONCLUSÃO .....	60
	REFERÊNCIAS .....	61

## 1 INTRODUÇÃO

Historicamente, a estrutura molecular e, particularmente, a estabilidade de suas conformações têm sido atribuídas a interações intramoleculares clássicas - efeitos estéricos e eletrostáticos. A estrutura helicoidal do DNA, por exemplo, se deve às ligações de hidrogênio intramoleculares, as quais são frequentemente atribuídas a interações eletrostáticas entre um grupo eletronegativo (comumente O e N) e um hidrogênio parcialmente positivo (ligado a um átomo eletronegativo).

A repulsão eletrostática entre substituintes eletronegativos nas posições 1 e 2 em moléculas contendo o fragmento etano desestabiliza a forma *gauche* em relação à *anti*, enquanto a atração entre grupos com cargas opostas conduz à estabilização da conformação *gauche* (Figura 1). A outra interação clássica, o efeito estérico, também é frequentemente utilizada para justificar a estabilidade conformacional de moléculas; por exemplo, a conformação preferencial do metilcicloexano é a *equatorial*, em razão da repulsão estérica envolvendo o grupo metila *axial* (Figura 2) (FREITAS; RAMALHO, 2013).

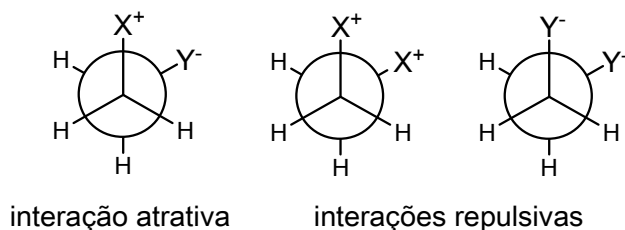


Figura 1 Interações eletrostáticas repulsivas e atrativas em etanos 1,2-substituídos

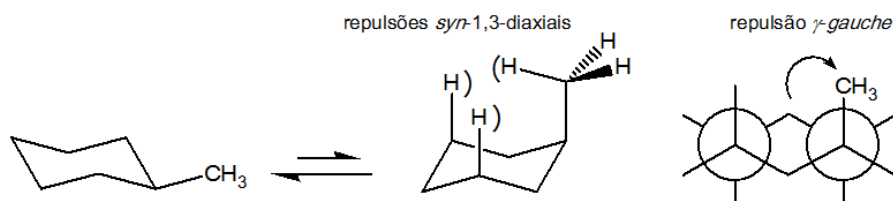


Figura 2 Isomerismo conformacional do metilcicloexano

Interações estereoeletrônicas (podem ser compreendidas como interações entre orbitais e pares de elétrons isolados com um orbital vazio), de origem hiperconjugativa, têm recebido atenção especial há algumas décadas. Recentemente, em um dos poucos estudos nessa área, a hiperconjugação envolvendo o orbital  $\pi^*_{C=O}$  do Ácido acetilsalicílico foi julgada ser uma das principais responsáveis pela estrutura da molécula e, conseqüentemente, por sua atividade analgésica (CHOUDHARY; KAMER; RAINES, 2011). Entretanto, a ligação de hidrogênio intramolecular tem sido atribuída como a responsável pela estrutura cristalina da molécula (GLASER, 2001). Porém, estudos realizados por Partington, Feeney e Burgem (1972) para a acetilcolina (ACh+) mostraram uma falta de correlação entre a conformação predominante e sua atividade biológica. Entre as interações estereoeletrônicas, o efeito *gauche* foi introduzido por Wolfe (1972) para indicar a tendência de algumas espécies em adotar uma estrutura que tivesse um número máximo de interações *gauche* entre os pares de elétrons adjacentes e/ou ligações polares; esse efeito foi observado em fragmentos de etano 1,2-dissubstituídos (substituintes = átomos/ grupos eletronegativos). Dessa forma, a difenidramina (componente do dimenidrinato, juntamente com 8-cloroteofilina: Dramin®, usado no tratamento de náuseas e vômitos, anti-histamínico, anti-muscarínico e possui efeito sedativo) (BELAL; ABDEL-HAY; CLARK, 2015; SWEETMAN, 2009) (Figura 3) fornecem bons prospectos para exibirem o efeito *gauche*, uma vez que apresentam o fragmento O-C-C-N. Além disso, sua forma protonada (Figura 4) (cloridrato, geralmente administrada como

medicamento: também atua como um importante anti-histamínico e ajuda a tratar sintomas de resfriado) (FRAG; MOHAMED; EL-SAYED, 2011) é passível de exibir o efeito *gauche* eletrostático e quântico. A análise conformacional da estrutura mais estável em comparação à conformação bioativa pode auxiliar a compreender o papel de interações intramoleculares no meio biológico.

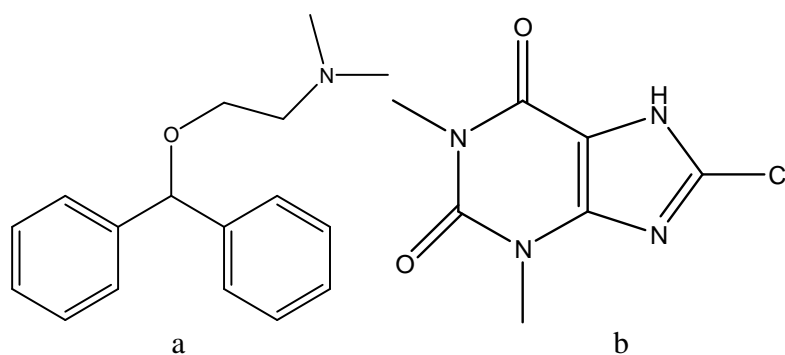


Figura 3 a) Difenidramina e b) 8-cloroteofilina: componentes do dimenidrinato (Dramin®)

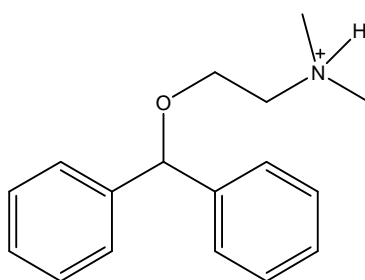


Figura 4 Difenidramina protonada

Portanto, afim de se avaliar a ocorrência do efeito *gauche* (quântico e eletrostático) e suas causas, cálculos teóricos (no gás e em solução) foram realizados para as formas neutra e protonada da difenidramina. Métodos

experimentais de RMN de  $^1\text{H}$  também foram sondas fundamentais para se investigar o isomerismo conformacional das moléculas em estudo. Finalmente, os resultados obtidos para os compostos livres (no gás e em solução) foram comparados à conformação bioativa da difenidramina (interagindo com a enzima histamina metiltransferase), disponível em um banco de dados cristalográficos de proteínas. A partir do conhecimento da natureza da preferência conformacional em compostos bioativos, pode-se contribuir futuramente para o desenvolvimento de novas substâncias, cujas propriedades macroscópicas dependam da sua estereoquímica.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Métodos Computacionais

Os métodos em Química Computacional se dividem em mecânica molecular e estrutura eletrônica. Esse último, por sua vez, inclui os métodos semi-empíricos, *ab-initio* e DFT (*Density Functional Theory*). As simulações em mecânica molecular usam as leis da física clássica para prever propriedades das moléculas. No entanto, para o estudo foram utilizados métodos baseados na mecânica quântica, os quais, juntamente com uma breve introdução sobre funções de base, são descritos nos dois tópicos a seguir.

#### 2.1.1 Métodos de estrutura eletrônica

A mecânica quântica fornece uma descrição matemática da estrutura molecular em termos dos núcleos atômicos e da distribuição eletrônica em torno deles. Para descrever o estado de um sistema, em mecânica quântica, foi postulada a existência de uma função de coordenadas chamada função de onda molecular ou função de estado (Equação 1) (FORESMAN; FRISCH, 1996; PACHECO, 2009).

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

em que  $\hat{H}$  é o operador Hamiltoniano,  $\Psi$  corresponde à função de onda que descreve todo o sistema e  $E$  é a energia de um dos estados físicos do sistema, que frequentemente corresponde ao estado fundamental, ou seja, de menor energia (BRAGA, 2012).

Métodos de estrutura eletrônica empregam leis da mecânica quântica. Os cálculos de estrutura eletrônica subdividem-se em: semi-empíricos, *ab-initio* e métodos híbridos, que são baseados nos funcionais de densidade (BRAGA, 2012; FORESMAN; FRISCH, 1996).

Os métodos semi-empíricos usam parâmetros experimentais. O nome do método deriva do modo como ele é efetuado: de modo empírico e *ab initio*. Os resultados de cálculos semi-empíricos não são exatos e algumas propriedades podem ser preditas erroneamente, sendo particularmente úteis para o tratamento de moléculas de tamanhos que sejam inviáveis para cálculos com métodos *ab initio*. Portanto, sua vantagem está no tempo de cálculo, que é pequeno comparado ao tempo necessário para os cálculos *ab initio* (BRAGA, 2012; FORESMAN; FRISCH, 1996).

Para moléculas simples, o ideal é se utilizar métodos *ab initio*. Nestes casos são utilizados parâmetros experimentais sendo seus cálculos baseados em leis da mecânica quântica e constantes físicas, como: velocidade da luz, massa/carga do elétron e constante de Planck. Porém, esses métodos exigem uma demanda computacional mais elevada se comparada à dos métodos semi-empíricos. Dentre os métodos *ab initio*, o mais comum é o HF (Hartree Fock), que não leva em consideração a correlação eletrônica, ou seja, as interações individuais entre os elétrons (BRAGA, 2012; FORESMAN; FRISCH, 1996).

Um método alternativo similar aos *ab initio* é a Teoria do Funcional de Densidade (DFT), que foi proposto por Hohenberg e Kohn (1964) e é atrativo, pois considera a correlação eletrônica, por meio do uso da densidade eletrônica como variável básica. Nesse caso, para sistemas de muitos corpos, considera-se a quantidade física de densidade eletrônica  $\rho(r)$ . Em termos práticos, o método DFT é computacionalmente simples e, por essa razão, tornou-se uma ferramenta comum em cálculos que visam descrever propriedades do sistema molecular e da matéria condensada, sendo ideal para sistemas biomoleculares; além de tratar

realisticamente problemas como: energia de ligação e de vibração de moléculas e sólidos, impureza em sólidos, determinação do arranjo dos átomos em uma superfície, etc (DUARTE, 2001; KUMAR et al., 2014; PEDROZA, 2010).

### 2.1.2 Funções de base e o funcional $\omega$ B97X-D

Funções de base são descrições matemáticas dos orbitais em um sistema usadas nos cálculos teóricos. Existem vários conjuntos de funções de base e, dentre elas, as mais conhecidas são as de Pople. O programa Gaussian (FRISCH et al., 2009) e outros programas de cálculos de estrutura eletrônica utilizam funções gaussianas. Por exemplo, no presente estudo, foi utilizado o conjunto de bases 6-31++g(d,p), em que o número '6' representa seis funções gaussianas para orbitais de caroço (próximos ao núcleo), '3' representa três funções gaussianas para orbitais de valência interna, '1' indica uma função gaussiana diferente para orbitais de valência externa. Essas funções de base podem ser modificadas pela adição de funções difusas (+ ou ++) e/ou de polarização (d,p ou \*\*). Funções difusas permitem que orbitais ocupem uma maior região no espaço, sendo particularmente úteis na descrição de ânions, moléculas com pares isolados de elétrons e estados excitados. As funções de polarização, por sua vez, permitem que orbitais mudem de forma para determinados átomos; no exemplo, 'd,p' adiciona funções 'p' para os átomos de hidrogênio e 'd' para os átomos pesados (BRAGA, 2012; LUCENA, 2008; YOUNG, 2001).

O funcional  $\omega$ B97X-D apresenta correções para longo alcance (efeitos de dispersão), descrevendo melhores resultados para átomos com possibilidade de excitação e transferência de carga (CHAI; HEAD-GORDON, 2008).

## 2.2 Análise conformacional

Análise conformacional tem sido objeto de investigação há mais de um século, desde que Sachse (1890) reconheceu a existência de dois tipos de ligações C-H para o cicloexano (DUCATI et al., 2008). As conformações referem-se a diferentes arranjos espaciais de uma molécula obtidos pela rotação de uma ligação simples.

A análise conformacional é o estudo dos vários estados de estabilidade termodinâmica, representados por confôrmeros, bem como das consequentes diferenças de propriedades físicas e químicas desses estados. As diferenças de estabilidade termodinâmica de cada confôrmero devem-se às interações atrativas e repulsivas, maiores ou menores, entre os grupos de átomos da molécula, decorrentes de efeitos de repulsão estérica (devido à proximidade dos átomos) ou formação de interações fracas. Essas repulsões estéricas podem ser expressas pela soma de vários fatores energéticos, a saber, as atrações e repulsões decorrentes de interações eletrônicas, nucleares e elétron-núcleo (FRANCO, 2008). As conformações possuem um tempo de vida curto e não podem ser separadas na temperatura ambiente.

O princípio fundamental em análise conformacional é que a rotação em uma ligação simples pode não ser livre, estando restrita a uma barreira de energia que depende dos substituintes e da interação entre os mesmos. Conformações diferem entre si, principalmente, pelos ângulos de torção (ângulo diedro) entre as ligações. Para definir um ângulo diedro são necessários 4 átomos, ou seja, uma molécula deve ter no mínimo 4 átomos para apresentar variabilidade rotacional (NACHOD; ZUCKERMAN, 1971).

Portanto, o conhecimento sobre as preferências conformacionais de compostos orgânicos pode proporcionar vantagens para várias áreas de investigação como, por exemplo, a relação entre a conformação/estereoquímica

e reatividade (DUCATI et al., 2008; LUIBRAND; TAIGOUNOV; TAIGOUNOV, 2001) e a influência de ligantes na conformação bioativa (CRAMER; PETTERSON; BUNCE, 1988; DUCATI et al., 2008).

### 2.3 NBO (Natural Bond Orbitals)

A análise dos orbitais naturais de ligação (do inglês *Natural Bond Orbital*, NBO) permite transformar os orbitais deslocalizados em orbitais localizados (estrutura hipotética de Lewis) e, conseqüentemente, avaliar o impacto de transferências eletrônicas de orbitais preenchidos para orbitais virtuais sobre a energia total de um sistema. Essas interações entre os orbitais ocupados e vazios representam o desvio das moléculas a partir da estrutura de Lewis e pode ser usada como medida da deslocalização eletrônica (VILCACHAGUA, 2011; WEINHOLD; LANDIS, 2005).

Informações importantes, como a energia de hiperconjugação e de Lewis (interações clássicas), são obtidas pelo cálculo de NBO. Quanto maior o valor de energia de hiperconjugação, mais estabilizado por efeitos hiperconjugativos será um determinado conformero; por outro lado, quanto maior o valor da energia de Lewis, maiores efeitos de repulsão estérica e eletrostática a molécula em estudo sofrerá. O método NBO fornece a contribuição energética da transferência de cargas e pode ser utilizado para avaliar, por exemplo, ligações de hidrogênio (L.H).

### 2.4 Efeito do solvente

O solvente desempenha um papel especial na química orgânica e muitos equilíbrios químicos são modificados por uma mudança no ambiente químico. O efeito do solvente no equilíbrio conformacional é particularmente importante

quando os confôrmeros em equilíbrio têm diferentes momentos de dipolo, e é frequentemente racionalizado em termos da interação intermolecular eletrostática soluto-solvente. Problemas relativos aos fenômenos que ocorrem em solução e a influência do solvente no comportamento estrutural das moléculas de soluto são de interesse para a química, bioquímica e física (BUISSONNEAUD; MOURIK; HEAD-GORDON, 2008; CRAMER; TRUHLAR, 1999; YARDAKUL; TANRIBUYU, 2013). O efeito do solvente é considerado fundamental para o desenho de drogas na indústria farmacêutica, pois esse efeito afeta a liberação, transporte e degradação da droga no organismo (TIWARY; MISHRA, 2009; YARDAKUL; TANRIBUYU, 2013). Efeitos do solvente são usualmente tratados teoricamente em dois segmentos. Um dos tratamentos consiste em incluir um determinado número de moléculas de solvente ao redor de moléculas de soluto (efeito de solvente explícito). O outro é o modelo implícito, segundo o qual, por exemplo, a molécula de soluto é introduzida em uma cavidade cercada por um meio de constante dielétrica ( $\epsilon$ ), correspondente à do solvente que se deseja analisar (YARDAKUL; TANRIBUYU, 2013).

O modelo PCM, proposto por Tomasi, Mennucci e Cammi (2005), foi integrado com êxito nos estudos que evidenciam os efeitos de moléculas de soluto no solvente. Segundo esse modelo, o efeito de polarização é calculado por integração numérica e a cavidade do soluto é definida como um conjunto de esferas unidas, em que cada uma delas representa um átomo em particular (FORESMAN; FRISCH, 1996; SILLA, 2013).

## 2.5 Hiperconjugação

O conceito de hiperconjugação foi introduzido por Mulliken há quase 70 anos para a descrição da conjugação  $\sigma$  em interações do tipo  $\sigma \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \sigma^*$  e  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ , ou seja, interações entre orbitais doadores e aceptores de elétrons (ALABUGIN; GILMORE; PETERSON, 2011). A hiperconjugação desempenha efeitos notáveis sobre as propriedades moleculares, como efeito anomérico, reatividade química e seletividade. Propriedades espectroscópicas, como acoplamentos em RMN e mudanças vibracionais, permitem quantificar espécies em equilíbrio, mas não são sondas que permitem uma análise detalhada de interações hiperconjugativas. Por outro lado, descrições qualitativas e teóricas dessas interações podem ser obtidas pelo método teórico dos orbitais naturais de ligação (NBO) (CHEN et al., 2009).

Processos hiperconjugativos estão também relacionados à estabilidade conformacional. Assim, o termo hiperconjugação é usado para se referir à deslocalização  $\sigma$  (enquanto “conjugação” se refere à deslocalização  $\pi$ ). A hiperconjugação é, muitas vezes, referida como conjugação  $\sigma$ . Na teoria do orbital molecular, a hiperconjugação é comumente descrita como a interação entre orbitais eletrônicos, um dos quais corresponde a uma ligação  $\sigma$ . Para a interação ser estável, o orbital de maior energia tem de ser total ou parcialmente vazio, e o de menor energia tem de estar pelo menos parcialmente cheio. O cenário mais comum corresponde à interação entre um orbital preenchido de alta energia (uma ligação ou elétrons  $n$ ) e um orbital antiligante de baixa energia (ALABUGIN; GILMORE; PETERSON, 2011).

## 2.6 Interações intramoleculares

Interações intramoleculares desempenham um papel determinante na definição da estrutura molecular e, conseqüentemente, de suas propriedades macroscópicas (FREITAS; RAMALHO, 2013). Por isso, nos tópicos a seguir (2.6.1, 2.6.2 e 2.6.3), serão abordados as ligações de hidrogênio e o efeito *gauche*, que são passíveis de existir nas estruturas estudadas, além do efeito anomérico, que, apesar de não ser possível de ocorrer nas estruturas químicas em estudo, é uma importante interação para a área de Estereoquímica.

### 2.6.1 Ligações de Hidrogênio

As ligações de hidrogênio são mais fracas que uma ligação química comum. Elas envolvem um átomo de H (com carga parcial positiva), um heteroátomo eletronegativo, como oxigênio, nitrogênio e um halogênio ( $X-H^{\delta+}$ ) e ainda um grupo que atua como receptor de prótons ( $:B$ ), com um par de elétrons disponíveis,  $X-H^{\delta+}\cdots B$ ; essas são as L.H.'s tradicionais (CORMANICH, 2011; STEINER; SAENGER, 1993).

A ligação de hidrogênio (L.H.) é amplamente conhecida como uma interação governante de estabilidades conformacionais, interações enzima-substrato, bem como a hélice do DNA. Portanto, a ligação de hidrogênio desempenha um papel importante na química, bioquímica e ciência dos materiais (ANDRADE et al., 2013; GILLI; GILLI, 2009).

Estudos realizados para moléculas que possuem em sua estrutura átomos de N e O, como o 2-amino-2-metil-propanol, relataram que o efeito *gauche*, que será brevemente descrito, é decorrente da ligação de hidrogênio intramolecular entre  $OH\cdots N$  (ANDRADE; SILLA; FREITAS, 2014). Contudo, interações hiperconjugativas usualmente empregadas para explicar o efeito *gauche* em

sistemas parecidos também são operantes. L.H. intra e intermoleculares  $N\cdots HO$  e  $N-H\cdots O$  também foram encontradas em 1,3-amino- $\alpha/\beta$ -naftóis (LÄMMERMANN et al., 2009).

Por outro lado, há controvérsias sobre a possibilidade de o flúor (em ligações C-F) estabelecer ligações de hidrogênio, uma vez que essas interações são consideradas mais fracas que aquelas envolvendo as ligações C-O e C-N. Átomos de flúor não são bons aceptores de prótons; por outro lado, ligações de hidrogênio envolvendo o átomo de flúor como aceptor de prótons têm sido relatadas em complexos inibitórios de elastase (DUNITZ; TAYLOR, 1997). Há discussões na literatura sobre a origem da L.H. (eletrostática ou hiperconjugativa). Em alguns estudos, enquanto a estrutura I da Figura 5 apresenta L.H. intramolecular  $F\cdots HO$ , as moléculas II, III e IV não exibem a referida interação atrativa (CORMANICH et al., 2011; SENENT et al., 2002; SOUZA; FREITAS, 2011; TAKEMURA et al., 2009).

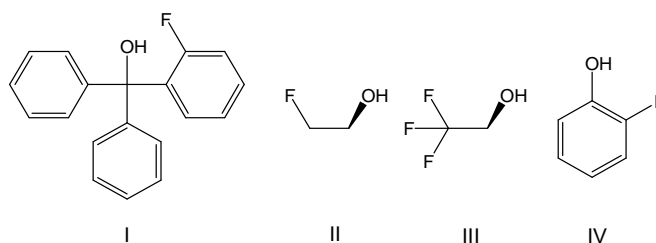


Figura 5 Compostos estudados na literatura quanto à existência de ligações de hidrogênio  $F\cdots HO$

Ferramentas como o QTAIM (Teoria Quântica de Átomos em Moléculas), segundo Koch e Popelier (1995), descrevem parâmetros que podem indicar se há uma possível L.H. O conformero com posicionamento geométrico favorável para estabelecer uma L.H. tem que ser comparado ao conformero impedido de realizá-la, segundo os critérios a seguir:

- a) É fundamental que apareça um ponto crítico (Bond path, BCP) entre o átomo de hidrogênio e o átomo aceptor de próton ( $H^{\delta+}\cdots:B$ );
- b) A densidade eletrônica no BCP entre o átomo de hidrogênio e o átomo aceptor ( $H^{\delta+}\cdots:B$ ) tem que estar no intervalo de 0,002- 0,035 au;
- c) Para o Laplaciano da densidade de elétrons no BCP: intervalo 0,024- 0,139 au;
- d) Na possível L.H.  $H^{\delta+}\cdots:B$ , tem que existir uma dupla penetração do hidrogênio e do átomo receptor de elétrons;
- e) Perda de densidade eletrônica no átomo de hidrogênio;
- f) Desestabilização energética do átomo de hidrogênio;
- g) Diminuição da polarização dipolar do átomo de hidrogênio;
- h) Diminuição do volume do átomo de hidrogênio.

Se o confôrmero estudado não obedecer um ou mais dos critérios estabelecidos, não pode ser considerada a existência de L.H. Mesmo interações ligantes fracas podem ser definidas por QTAIM, por meio dos *caminhos de ligações* (*bond paths*, BP's), que correspondem a linhas de máxima densidade eletrônica ligando átomos vizinhos de um sistema molecular. Segundo enfatizado por Bader inúmeras vezes, a existência de BP's é uma das condições para definir a ligação entre átomos (BADER, 1991, 1998, 2006, 2009, 2010).

Dentre inúmeros casos, ligações de hidrogênio intramoleculares têm sido detectadas por análise NBO e QTAIM. Por exemplo, o confôrmero *syn-exo* do 2-fluorbiciclo[2,2,1] heptan-7-ol exibe interação hiperconjugativa  $n_F \rightarrow \sigma_{OH}^*$  (ligação de hidrogênio  $F \cdots HO$ ), confirmada por QTAIM, segundo o gráfico molecular da Figura 6 (REZENDE et al., 2012). Porém, pouco se sabe sobre a relevância de efeitos hiperconjugativos sobre a estabilidade conformacional de moléculas de interesse biológico.

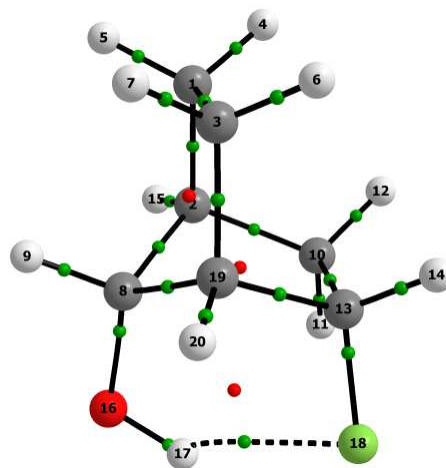


Figura 6 Gráfico molecular do isômero syn-exo (mínimo global), obtido por QTAIM para o 2-fluorbiciclo[2,2,1] heptan-7-ol

### 2.6.2 Efeito *Gauche*: efeitos eletrostáticos, hiperconjugativos e ligações de hidrogênio

O efeito *gauche* é observado em moléculas contendo um fragmento etila 1,2-dissubstituído, em que alguns substituintes são átomos ou grupos eletronegativos. Segundo esse efeito, a conformação *gauche* é a forma preferencial em comparação com a conformação *anti*, embora o conhecimento clássico de repulsão estérica e eletrostática entre substituintes sugira que o equilíbrio devesse ser favorável ao isômero *anti*. O efeito *gauche* foi atribuído, inicialmente, a uma interação atrativa de átomos eletronegativos como par de elétrons da ligação adjacente  $\sigma_{cc}$  (EPIOTIS, 1973).

Atualmente, a explicação mais aceita é baseada em interações hiperconjugativas. A interação é do tipo dois elétrons/dois orbitais, que depende da capacidade doadora e aceptora dos orbitais preenchidos e vazios, da diferença de energia entre eles e sua habilidade de sobreposição (ALABUGIN;

GILMORE; PETERSON, 2011; BUISSONNEAUD; MOURIK; O'HAGAN, 2010).

Tem havido muito interesse ao longo das últimas décadas no 1,2-difluóretano, particularmente porque há uma preferência pela conformação *gauche* sobre a *anti*. Repulsão eletrostática entre os átomos de flúor deveria favorecer o confôrmero *anti*, mas a interação hiperconjugativa antiperiplanar  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CF}}^*$  suplanta a interação repulsiva, tornando o confôrmero *gauche* de menor energia (Figura 7a). Apesar de os outros halogênios (Cl, Br e I) darem origem a orbitais  $\sigma_{\text{CX}}^*$  de menor energia do que  $\sigma_{\text{CF}}^*$ , o confôrmero *gauche* em 1,2-di-haloetanos (halo = Cl, Br e I) é menos estável que o *anti*. Isso se deve ao melhor caráter doador de elétrons do orbital  $\sigma_{\text{CX}}$  do que  $\sigma_{\text{CH}}$  (favorecendo a hiperconjugação  $\sigma_{\text{CX}} \rightarrow \sigma_{\text{CX}}^*$  na forma *anti*) e à maior repulsão *gauche* entre esses halogênios.

O efeito *gauche* hiperconjugativo não é observado somente em moléculas contendo o fragmento F-C-C-F, mas também em outros sistemas em que os substituintes vicinais sejam eletronegativos. Mesmo o modelo hiperconjugativo explicando grande parte dos efeitos *gauche* observados em moléculas contendo o fragmento etano 1,2-dissubstituído, interações eletrostáticas (Figura 7b) também contribuem para a estabilidade do confôrmero *gauche* em alguns casos. Por exemplo, o confôrmero *gauche* do 1,2-dinitroetano é mais estável que o *anti* por aproximadamente  $1 \text{ kcal mol}^{-1}$  na fase gasosa, devido à orientação espacial dos grupos nitro; os átomos de nitrogênio parcialmente positivos de um grupo nitro interagem atrativamente com os átomos de oxigênio parcialmente negativos do outro grupo nitro na molécula (FREITAS; RITTNER, 2007); efeito similar é observado em cátions  $\beta$ -flúor-*N*-etilpiridínios (GOOSEMAN et al., 2007).

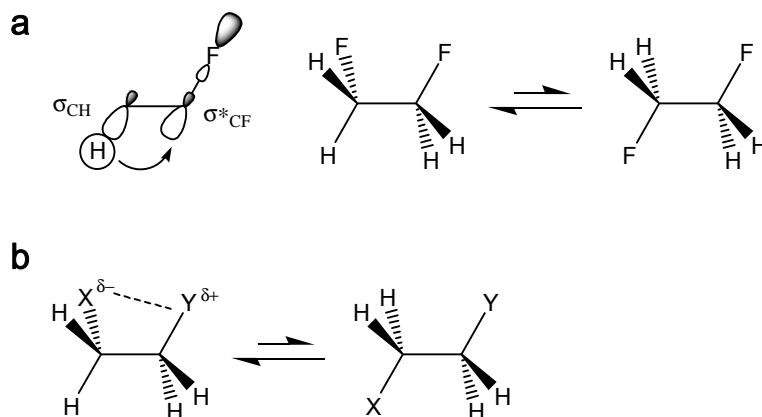


Figura 7 (a) Efeito *gauche* hiperconjugativo no 1,2-difluór-etano e (b) eletrostático em etanos 1,2-dissubstituídos

Outro exemplo de fenômeno eletrostático que pode explicar a estabilidade da forma *gauche* é o caso do  $\beta$ -fluoretilamônio, em que uma forte interação de cargas entre o átomo de flúor e o grupo amônio acontece.

### 2.6.3 Efeito anomérico

O efeito anomérico é um efeito conformacional, que determina a estereoquímica de muitas moléculas, e, apesar de não ser passível de existir nos compostos em estudo deste trabalho, será brevemente descrito a seguir, devido a sua relevância em estudos de análise conformacional. O efeito anomérico é definido como a preferência que substituintes eletronegativos (X) ligados ao carbono anomérico (C-1) na conformação cadeira de monossacarídeos possuem em ocupar a orientação axial (anômero  $\alpha$ ), ao invés da orientação equatorial (anômero  $\beta$ ), menos impedida estericamente (Figura 8) (ELIEL, 1972; FREITAS, 2013). Essa definição tem se estendido para sistemas acíclicos e para

sistemas heterocíclicos (ERDEM; VARNALI; AVIYENTE, 1997; FREITAS, 2013; JUARISTI, 2012; MARTINS; FREITAS, 2008).

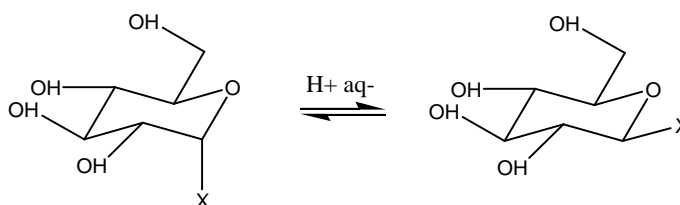


Figura 8 Epimerização de derivados da glicose. De acordo com o efeito anomérico, o anomero  $\alpha$  (X axial) é mais estável do que o esperado com base nos efeitos estéricos

A origem do efeito anomérico, que foi observado pela primeira vez por Edward (1955), tem sido atribuída a efeitos clássicos (interações dipolares) e não clássicos (hiperconjugação). O comportamento tem sido apontado como clássico por causa da estabilidade conformacional dos compostos em solução progressivamente mais polares, onde a forma equatorial é favorecida (CRAMER, 1992; FREITAS, 2013; HA et al., 1991). Mo (2010) reforçou essa hipótese desenvolvendo uma evidência baseada na teoria de ligação de valência, em que a interação eletrostática (Figura 9a), e não a hiperconjugação, seria responsável pelo efeito anomérico. Huang et al. (2011) também afirmaram que o efeito anomérico não é governado por hiperconjugação; o impedimento estérico e interações eletrostáticas foram invocadas em seu lugar. Por outro lado, o efeito anomérico atribuído por hiperconjugação antiperiplanar  $n_{\text{O}} \rightarrow \sigma_{\text{CX}}^*$  explicaria a estabilidade da ligação C-X na orientação axial segundo muitos outros autores (Figura 9b) (FREITAS, 2013; KASAEI et al., 2012; KIRBY, 1983; SALZNER; SCHLEYER, 1994). O modelo hiperconjugativo seria capaz de explicar o maior comprimento da ligação C-X axial em relação à equatorial, em razão do par de elétrons do heteroátomo endocíclico (comumente oxigênio de tetraidropiranos)

ser doado para o orbital antiperiplanar vizinho ( $\sigma_{CX}^*$ ) (Figura 9b) (FREITAS, 2013).

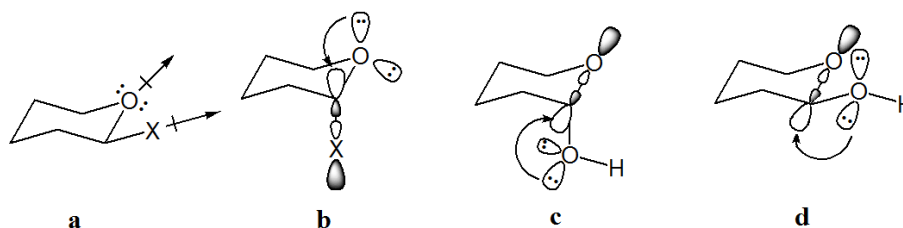


Figura 9 Interpretações para o efeito anomérico em tetraidropiranos substituídos a) repulsão dipolar na forma *equatorial*; b) hiperconjugação  $n_O \rightarrow \sigma_{CX}^*$ ; c) efeito anomérico exocíclico  $n_X \rightarrow \sigma_{CO}^*$  (X = OH); d) hiperconjugação  $n_X \rightarrow \sigma_{CO}^*$  (X = OH) na forma *equatorial*

No entanto, Cocinero et al. (2011) encontraram que a transferência eletrônica do par de elétrons do oxigênio *axial* para o orbital  $\sigma_{CO}^*$  antiperiplanar determina o efeito anomérico exocíclico, em um ambiente livre de solvente (Figura 9c). Porém, o efeito anomérico exocíclico pode não ser responsável pela estabilidade da forma *axial*, pois interação hiperconjugativa similar é observada para a forma *equatorial* (Figura 9d). Assim, não existe consenso geral sobre qual é a origem do efeito anomérico (FREITAS; RAMALHO, 2013).

## 2.7 Métodos Espectroscópicos

No tópico 2.7.1, a seguir, dois métodos espectroscópicos utilizados na realização desse trabalho são descritos. O infravermelho foi usado para avaliar se houve a desprotonação do sal (cloridrato de difenidramina) e o RMN de  $^1\text{H}$  foi outra ferramenta utilizada (além dos cálculos teóricos) para a análise conformacional.

### 2.7.1 Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  é uma ferramenta muito utilizada na elucidação de estruturas (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000). Desse método, pode-se obter dados de constante de acoplamento ( $J$ ) e deslocamento químico ( $\delta$ ), dentre outros. A espectroscopia de ressonância magnética nuclear é uma forma de espectroscopia de absorção (semelhante à do infravermelho). Por meio da RMN, o isomerismo conformacional entre duas espécies pode ser determinado pelas seguintes equações (2), considerando que, na temperatura ambiente, o que se observa, geralmente, é um parâmetro ( $J$  ou  $\delta$ ) médio entre as conformações:

$$\begin{aligned} X_{\text{obs}} &= n_A X_A + n_B X_B \\ n_A + n_B &= 1 \\ n_A/n_B &= \exp(-\Delta E/RT) \\ \Delta E &= E_A - E_B \end{aligned} \quad (2)$$

em que,  $X_{\text{obs}}$  = parâmetro ( $J$  ou  $\delta$ ) observado,  $X_A$  e  $X_B$  são os parâmetros intrínsecos dos confômeros A e B (determinados experimental ou teoricamente), e  $n_A$  e  $n_B$  são as frações molares dos confômeros A e B, respectivamente.

A espectroscopia no infravermelho (IV), por sua vez, dificilmente fornece características estruturais sobre cada átomo da molécula estudada, mas pode permitir a caracterização de grupos funcionais e isomerismos conformacionais de uma amostra. Em 1910, foram iniciados trabalhos que estudam sobre a reflexão e dispersão da luz usando “luz infravermelha”. Em 1930, foram publicados trabalhos sobre a interpretação de espectros de infravermelho (IVES, 1910; KEEFE; WILCOX; CAMPBELL, 2012). A porção

de maior utilidade está entre 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . O IV foi usado como um meio avaliativo de isomerismo conformacional; assim, pode-se variar o solvente afim de se avaliar a conformação predominante, como no trabalho executado por Moreira et al. (2011), em que se constatou que a população *cis* do 2-flúor-fenol é predominante em solvente apolar (cicloexano); já em solução de acetonitrila, ocorre o enfraquecimento de forças atrativas OH...F. Uma banda única em 3597  $\text{cm}^{-1}$  correspondente ao estiramento O-H é observada para o 2-flúor-fenol em solução diluída de cicloexano, sugerindo a presença de um único confôrmero nesta condição. Em solução diluída de acetonitrila, essa banda divide-se em três componentes, em que duas bandas largas são desviadas para números de onda inferiores a 3600  $\text{cm}^{-1}$ , indicando enfraquecimento da ligação O-H (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000).

### 3 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente trabalho foi avaliar se a difenidramina (formas neutra e protonada) é passível de exibir o efeito *gauche*, já que existe o fragmento etila 1,2-dissubstituído (O-C-C-N) em sua estrutura. Ainda, objetivou-se comparar as conformações da difenidramina com a estrutura bioativa da mesma, complexada com a enzima histamina metiltransferase, com a finalidade de inferir a respeito do papel de interações intramoleculares sobre a estrutura cristalizada de moléculas com aplicação biológica.

#### 3.1 Objetivos específicos

- a) Sintetizar a difenidramina a partir da desprotonação de seu cloridrato e analisar por meio de espectroscopia no infravermelho;
- b) Avaliar e interpretar a ocorrência de efeito *gauche* na difenidramina e sua forma protonada, por meio de cálculos teóricos;
- c) Realizar a análise conformacional da difenidramina e sua forma protonada por meio de constantes de acoplamento  $^3J_{H,H}$ .

## 4 METODOLOGIA

Os cálculos teóricos, a síntese da difenidramina desprotonada e as análises espectroscópicas por IV e RMN de  $^1\text{H}$ , para a forma desprotonada (frequência de 60 MHz para  $^1\text{H}$ ) desse trabalho, foram desenvolvidos no Centro de Análise e Prospecção Química (CAPQ) do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  para o cloridrato de difenidramina (frequência de 499.9 MHz para  $^1\text{H}$ ) foram executados na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

### 4.1 Cálculos teóricos

Nomeou-se a difenidramina protonada (cátion) de '**1**' e a forma neutra de '**2**', bem como a conformação gauche de '**g**' e anti de '**a**'.

- a) Como os compostos (difenidramina neutra e protonada) em estudo possuem seis ângulos de torção, os mínimos de energia foram identificados por meio de varredura conformacional usando o método de Monte Carlo, em nível semi-empírico AM1, usando o programa SpartanPro (2000), obtendo-se assim 100 confômeros para cada forma;
- b) Os diferentes confômeros obtidos foram submetidos a cálculos de otimização e frequência em nível HF/6-31g(d,p), usando o programa Gaussian 09W (FRISCH et al., 2009), para verificar a ausência de frequências imaginárias (frequências negativas, ou seja, estados de transição);

- c) A degenerescência conformacional foi verificada, sendo onze confômeros diferentes para a forma protonada e treze para a forma neutra resubmetidos à otimização de geometria em nível  $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p) (esse nível teórico inclui efeitos de dispersão e mostrou boa concordância com resultados CCSD para sistemas aromáticos) em gás e solvente implícito ( $\text{CH}_3\text{CN}$  e  $\text{CHCl}_3$ ), segundo modelo PCM, Polarizable Continuum Model (TOMASI; MENNUCCI; CAMMI, 2005).
- d) As estruturas otimizadas foram submetidas à análise NBO (*Natural Bond Orbital*), em nível  $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p), incluindo deleção de orbitais antiligantes e de Rydberg, para avaliação das interações hiperconjugativas e, conseqüentemente, do efeito *gauche*. O programa utilizado foi o Gaussian 09W (FRISCH et al., 2009). Esses cálculos foram realizados para a molécula isolada e incluindo o efeito implícito dos solventes clorofórmio e acetonitrila.
- e) As estruturas otimizadas com energia relativa  $\leq 1 \text{ kcal mol}^{-1}$ , bem como para a conformação **1a**<sub>1</sub> em solvente implícito ( $\text{CHCl}_3$  e  $\text{CH}_3\text{CN}$ ), foram submetidas a cálculos de constante de acoplamento em nível  $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p), para a determinação das constantes de acoplamento:  $^3J_{\text{H1,H4}}$ ,  $^3J_{\text{H1,H3}}$ ,  $^3J_{\text{H2,H4}}$  e  $^3J_{\text{H2,H3}}$ ; o programa utilizado foi o Gaussian 09W (FRISCH et al., 2009);
- f) Os cálculos de QTAIM (Quantum Theory of Atoms in Molecules) foram executados para o confômero geometricamente favorável **1g**<sub>1</sub>, bem como para o composto de referência **1a**<sub>2</sub>, para avaliar a presença de ligação de hidrogênio intramolecular no primeiro. Os cálculos foram realizados usando o programa AIMALL (KEITH, 2011).

## 4.2 Parte experimental

Os procedimentos experimentais foram executados para desprotonar o cloridrato de difenidramina e realizar espectroscopia de infravermelho, como meio de identificar se houve a desprotonação do sal e o RMN de  $^1\text{H}$  foi realizado para comparar os dados de constantes de acoplamento empíricas e teóricas.

### 4.2.1 Desprotonação com pó de zinco

A uma suspensão de cloridrato de difenidramina (Sigma Aldrich, 29,9 mmol) 8,73 g em éter etílico (150 ml), foi adicionado pó de zinco 6 g (91,8 mmol), similarmente ao procedimento descrito na literatura (ANANDA; BABU, 2001). A mistura foi colocada em um agitador magnético por 10 minutos em temperatura ambiente. Após a reação estar completa (Figura 10), o produto foi filtrado, evaporado em rota-evaporador e nitrogênio seco, obtendo-se 0,86g (28,3mmol) de difenidramina neutra.

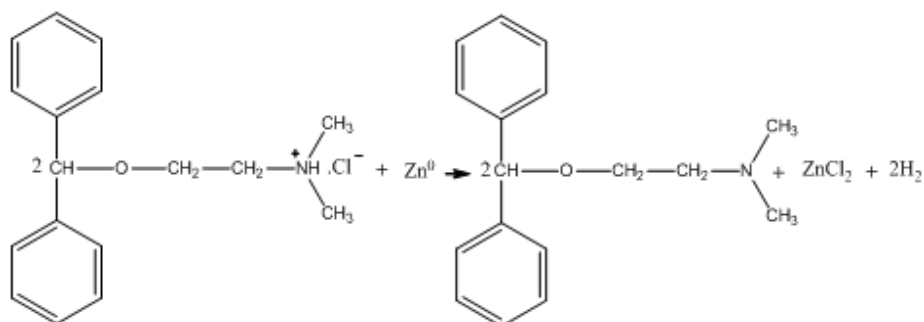


Figura 10 Reação de desprotonação do cloridrato de difenidramina com pó de zinco

### 4.3 Obtenção dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ e infravermelho

Os espectros de infravermelho e de RMN de  $^1\text{H}$  foram obtidos para as formas neutra e protonada. Seguem nos tópicos seguintes: 4.3.1, 4.3.2 e 4.3.3 as condições de obtenção dos espectros.

#### 4.3.1 Espectroscopia no infravermelho

- a) Espectrômetro de infravermelho (IV) da marca Shimadzu-1FT
- b) Condições de análise dos espectros no IV obtidos
- c) Modo de medição: absorbância
- d) Número de varreduras: 32
- e) Resolução:  $2\text{cm}^{-1}$
- f) Apodização: Happ Genzel
- g) Faixa de número de onda:  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$
- h) Difenidramina neutra: filme líquido em janelas de KBr
- i) Cloridrato de difenidramina: pastilhamento com KBr (2 mg/200  $\text{mg}_{\text{KBr}}$ )

#### 4.3.2 Espectroscopia de RMN de $^1\text{H}$ (para a difenidramina neutra)

- a) Espectrômetro de RMN da marca Anasazi 60 MHz
- b) Frequência: 60 MHz
- c) Temperatura:  $25^\circ\text{C}$
- d) Solução  $150\text{ mg mL}^{-1}$  em cada um dos solventes  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{CD}_3\text{CN}$

#### 4.3.3 Espectroscopia de RMN de $^1\text{H}$ (para a difenidramina protonada)

- a) Espectrômetro de RMN da marca Bruker
- b) Frequência: 499.9 MHz
- c) Temperatura: 25° C
- d) solução 20 mg mL<sup>-1</sup> em cada um dos solventes CDCl<sub>3</sub> e CD<sub>3</sub>CN

#### 4.4 Simulação de espectros

Os espectros obtidos em CDCl<sub>3</sub> e em CD<sub>3</sub>CN para o cloridrato de difenidramina apresentaram sinais de hidrogênio (CH<sub>2</sub>) de segunda ordem e, em decorrência, foram realizadas simulações de espectros utilizando um sistema de spins ABCD, utilizando o simulador de espectros disponível em [www.nmrdb.org](http://www.nmrdb.org) e comparando os dados com os espectros experimentais.

#### 4.5 Estrutura Bioativa

A estrutura cristalizada da difenidramina bioativa foi encontrada no PDB (*Protein Data Bank*) com código 2AOT.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Difenidramina protonada (**1**)

A difenidramina protonada (**1**) foi submetida a uma varredura conformacional em nível semi-empírico AM1 usando distribuição de Monte Carlo, obtendo-se 100 confôrmers, sendo muitos deles estruturalmente equivalentes. Cálculos de otimização e frequência foram feitos em nível HF/6-31g(d,p) para checar a ausência de frequências imaginárias e, conseqüentemente, certificar de que os mínimos de energia encontrados não se tratam de estados de transição. Dos cálculos anteriores, obtiveram-se 11 confôrmers não equivalentes para a forma **1**, os quais foram otimizados em nível  $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p) pelo método DFT, tanto para as estruturas no vácuo, quanto em solventes implícitos (CHCl<sub>3</sub> e CH<sub>3</sub>CN, de acordo com o modelo PCM). As geometrias otimizadas para a fase gasosa (exceto para **1a<sub>1</sub>**, que somente convergiu em solução implícita) encontram-se na Figura 11.

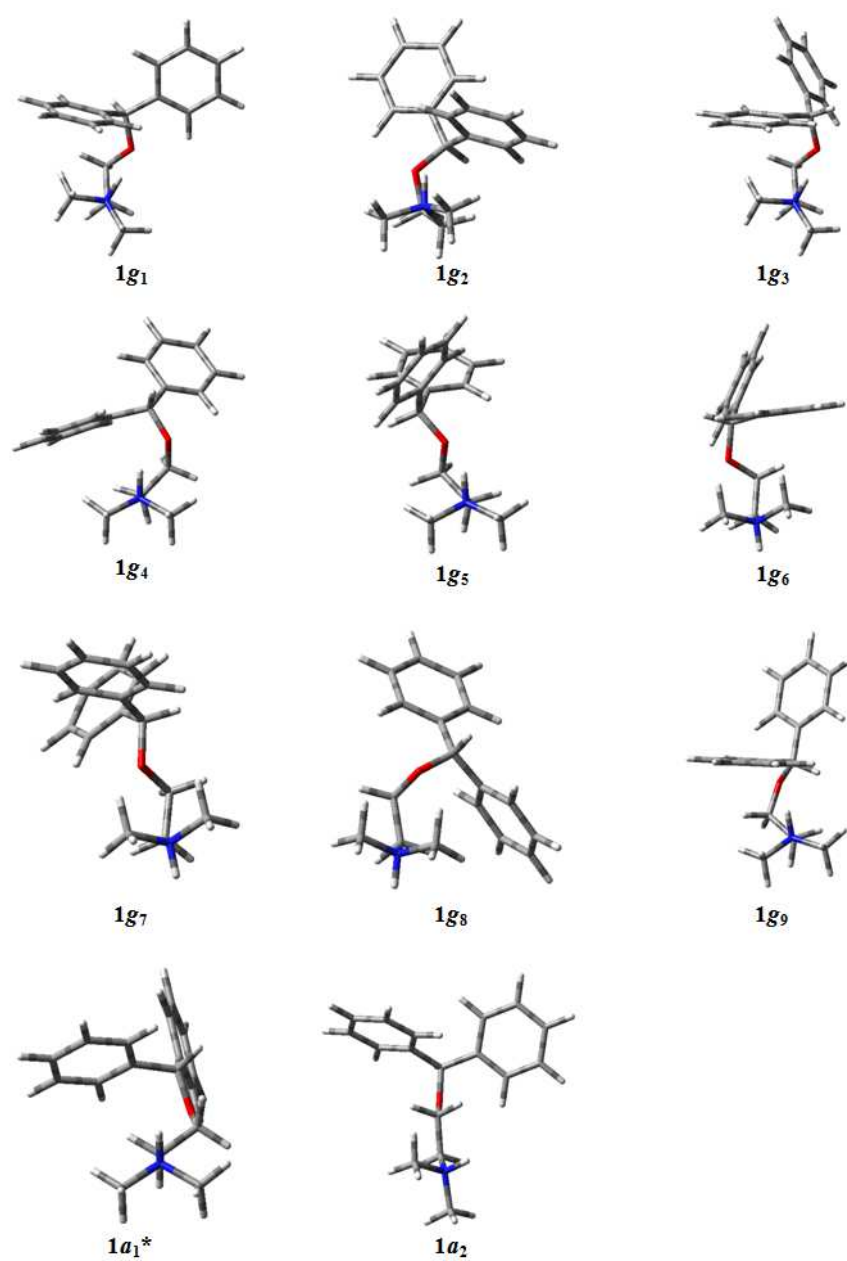


Figura 11 Estruturas otimizadas [ $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p)] para 1. \*Estrutura para  $1a_1$  otimizada em solvente implícito  $\text{CHCl}_3$

De acordo com a Tabela 1, o composto **1** exibe o efeito *gauche*, pois apenas o confômero de elevada energia relativa **1a<sub>2</sub>** (**1a<sub>1</sub>** e **1a<sub>2</sub>** em solução) adota a conformação *anti* para o ângulo diedro O-C-C-N. Em suma, conformação *gauche* é mais estável que a *anti*, independente do meio.

De acordo com estudos anteriores, o fragmento F-C-C-N<sup>+</sup> (GOOSEMAN et al., 2007; LANKIN et al., 2002; O'HAGAN, 2011; SILLA et al., 2014a, 2014b; SINGH et al., 2012; SNYDER et al., 2000; SUN et al., 2005) possui forte preferência *gauche*, pois há grande atração eletrostática entre o átomo eletronegativo flúor e o nitrogênio carregado positivamente, similarmente ao que ocorre com o fragmento O-C-C-N<sup>+</sup>.

Segundo a análise NBO, com deleção de todos orbitais antiligantes e de Rydberg, a energia de hiperconjugação estabiliza mais os confômeros *gauche* (Tabela 1) que os *anti*.

Tabela 1 Dados calculados [ $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p)] para 1

Paramêtros	1g <sub>1</sub>	1g <sub>2</sub>	1g <sub>3</sub>	1g <sub>4</sub>	1g <sub>5</sub>	1g <sub>6</sub>	1g <sub>7</sub>	1g <sub>8</sub>	1g <sub>9</sub>	1a <sub>1</sub>	1a <sub>2</sub>
Gás											
E <sub>rel</sub> (kcal mol <sup>-1</sup> )	0,0	0,2	1,2	1,5	3,3	6,5	7,3	7,5	7,9	-	13,1
O-C-C-N (graus)	53,2	39,7	51,8	-33,5	41,7	-64,9	-51,2	54,0	90,9	-	171,1
E <sub>hiperconj.</sub> (kcal mol <sup>-1</sup> )	-21,7	-24,0	-31,7	-19,5	-10,0	-23,8	-13,0	-12,6	-49,7	-	0,0
E <sub>Lewis</sub> (kcal mol <sup>-1</sup> )	21,7	24,2	32,9	21,0	13,3	30,3	20,3	20,1	57,6	-	13,1
Pop. (%)	52	37	7	4	0	0	0	0	0	-	0
Pop. Lewis (%)	0	0	0	0	46	0	0	0	0	-	54
CHCl <sub>3</sub>											
E <sub>rel</sub>	0	0,3	1,7	2,2	1,8	5,0	4,6	5,8	6,3	7,4	8,7
O-C-C-N	54,3	44,1	54,4	-36,1	46,0	-66,9	-54,6	56,2	95,2	-169,7	171,7
E <sub>hiperconj.</sub>	-23,7	-23,8	-32,1	-24,6	-6,8	-28,6	-11,8	-20,1	-39,5	-1,7	0,0
E <sub>Lewis</sub>	23,7	24,1	33,8	26,8	8,6	33,6	16,4	25,9	45,8	9,1	8,7
Pop.	58	35	3	1	3	0	0	0	0	0	0
Pop. Lewis (%)	0	0	0	0	49	0	0	0	0	17	34
CH <sub>3</sub> CN											
E <sub>rel</sub>	0	0,4	2,1	2,5	1,2	4,7	3,3	5,5	5,7	6,1	7,5
O-C-C-N	52,5	46,6	55,1	-38,0	47,4	-67,7	-60,1	56,2	96,3	-170,4	172,0
E <sub>hiperconj.</sub>	-23,4	-19,7	-32,8	-25,1	-11,0	-29,6	-14,5	-19,8	-35,0	-6,6	0,0
E <sub>Lewis</sub>	23,4	20,1	34,9	27,6	12,2	34,3	17,8	25,3	40,7	12,7	7,5
Pop.	59	30	2	1	8	0	0	0	0	0	0
Pop. Lewis (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

Os confôrmeros *gauche* são estabilizados por interações hiperconjugativas antiperiplanares do tipo  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CO}}^*$  e  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CN}}^*$  (Tabela 2) em **1**. As interações antiperiplanares do tipo  $\sigma_{\text{CN}} \rightarrow \sigma_{\text{CO}}^*$  e  $\sigma_{\text{CO}} \rightarrow \sigma_{\text{CN}}^*$  não estabilizam substancialmente a forma *anti*, uma vez que  $\sigma_{\text{CN}}/\sigma_{\text{CO}}$  e  $\sigma_{\text{CO}}^*/\sigma_{\text{CN}}^*$ , não são bons doadores e aceptores de elétrons, respectivamente (ANDRADE; SILLA; FREITAS, 2014). Pode-se ver a importância da hiperconjugação para a estabilidade dos confôrmeros *gauche* com os dados da distribuição de Boltzmann para a energia de Lewis (simulação com elétrons localizados), assim

sem a hiperconjugação os confôrmeros predominantes seriam o **1a<sub>2</sub>** (54%) seguido do **1g<sub>5</sub>** (46%).

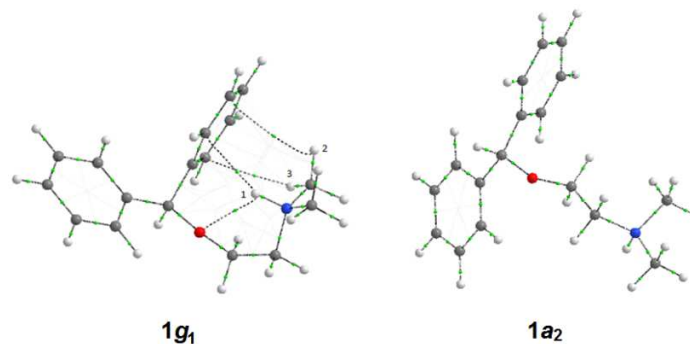
Tabela 2 Interações hiperconjugativas relevantes (kcal mol<sup>-1</sup>) para o efeito *gauche* e ligações de hidrogênio em 1. Os dados para a fase gasosa, CHCl<sub>3</sub> e CH<sub>3</sub>CN são separados por ponto e vírgula

Conf.	$\sigma_{\text{CH} \rightarrow \sigma^*_{\text{CN}}}$	$\sigma_{\text{CH} \rightarrow \sigma^*_{\text{CO}}}$	$\sigma_{\text{CN} \rightarrow \sigma^*_{\text{CH}}}$	$\sigma_{\text{CO} \rightarrow \sigma^*_{\text{CH}}}$	$\sigma_{\text{CN} \rightarrow \sigma^*_{\text{CO}}}$	$\sigma_{\text{CO} \rightarrow \sigma^*_{\text{CN}}}$	$n_{\text{O}} \rightarrow \sigma^*_{\text{NH}}^a$
<b>1g<sub>1</sub></b>	5,1; 5,3; 5,4	3,4;3,8; 4,0	0,8; 0,8; 0,8	0,8; 1,1;1,1	–	–	8,1; 5,7; 4,5
<b>1g<sub>2</sub></b>	4,9; 5,1;5,2	3,8; 4,3; 4,5	0,7; 0,7; 0,7	0,8; 0,9; 0,9	–	–	4,3; 4,6; 4,0
<b>1g<sub>3</sub></b>	5,1; 5,3; 5,5	3,5; 3,9; 4,0	0,8; 0,8; –	1,2; 1,1; –	–	–; –;1,1	8,9; 5,6; 4,7
<b>1g<sub>4</sub></b>	4,2; 4,4; 4,6	3,4; 3,8; 4,1	0,7; 0,7; 0,7	0,7; 0,8; 0,8	–	0,50; –;–	8,5; 6,0; 4,3
<b>1g<sub>5</sub></b>	4,7; 5,0; 5,2	2,9; 3,4; 3,7	0,7; 0,8; 0,8	1,2; 1,1;1,1	0,5; –;–	0,60 ; –;–	11,3; 6,8; 4,1
<b>1g<sub>6</sub></b>	7,3; 6,8; 6,9	4,5; 4,8; 5,1	0,7; 0,7; 0,7	1,0; 0,8; –	–	–	–
<b>1g<sub>7</sub></b>	6,8; 6,7; 6,9	4,1; 4,7; 4,9	0,7; 0,7; 0,7	1,0; 0,9; 0,9	–	–	–
<b>1g<sub>8</sub></b>	6,8; 6,6; 6,7	5,0; 5,5; 5,8	0,7; 0,7; 0,7	0,8;0,7; 0,8	–	–	–
<b>1g<sub>9</sub></b>	5,5; 5,2; 5,0	3,9; 3,7; 3,7	–	0,6; –; 0,5	–	–	–
<b>1a<sub>1</sub></b>	5,1; –; –	3,4; –; –	–	1,2; –;–	–; 1,4; 1,3	–; 2,2; 2,2	–
<b>1a<sub>2</sub></b>	–	1,1; 1,1; –	–	–	1,1;1,3; 1,2	3,1; 2,9;2,8	–

<sup>a</sup> Soma das contribuições de LP<sub>O</sub>(1) e LP<sub>O</sub>(2).

As conformações de baixa energia **1g<sub>1</sub>-1g<sub>5</sub>** apresentam em sua geometria o N-H orientado em direção ao oxigênio, possibilitando a formação de L.H. intramolecular. Para verificar se há, de fato, ligação de hidrogênio intramolecular, foram efetuados cálculos QTAIM para o mínimo global **1g<sub>1</sub>** e para o confôrmero geometricamente impedido de estabelecer a L.H, o **1a<sub>2</sub>**, para fins de comparação dos parâmetros. De acordo com os dados QTAIM (Tabela 3), o mínimo global exibe um ponto crítico entre o N<sup>+</sup>-H e o O, a densidade eletrônica da ligação NH<sup>+</sup>⋯O ( $\rho$ ) está entre 0,004 and 0,04 au e laplaciano  $\nabla^2\rho$  entre 0,024 e 0,139 au, sugerindo a formação de L.H. em **1g<sub>1</sub>**. Outros parâmetros do QTAIM para o hidrogênio H(N<sup>+</sup>) de **1g<sub>1</sub>** em comparação com **1a<sub>2</sub>** mostram perda do primeiro momento de dipolo  $M_1(H)$ , perda do volume do átomo  $V(H)$  e desestabilidade energética  $E(H)$ .

Tabela 3 Parâmetros de QTAIM (em au) usados para caracterizar ligação de hidrogênio em **1g<sub>1</sub>** relativo ao **1a<sub>2</sub>**



Parâmetros	<b>1g<sub>1</sub></b>	<b>1a<sub>2</sub></b> (ref.)
$\rho(r)$ [O⋯H(N)]	0,0229	-
$\nabla^2\rho(r)$ [O⋯H(N)]	0,0785	-
$\epsilon$ [O⋯H(N)]	0,3591	-
$q(H)$	+0,493	+0,457
$M_1(H)$	+0,156	+0,161
$V(H)$	+20,070	+26,651
$E(H)$	-0,4043	-0,4344

De acordo com os critérios QTAIM avaliados, ocorre a formação de L.H. intramolecular em **1g<sub>1</sub>**, que contribui para a sua estabilização, e, segundo a interação hiperconjugativa  $n_{\text{O}} \rightarrow \sigma^*_{\text{NH}}$  (Tabela 2), que aparece para os confôrmeros **1g<sub>1</sub>-1g<sub>5</sub>**, a origem dessa L.H. tem caráter quântico. Assim, o efeito *gauche* é governado por hiperconjugação, atração eletrostática entre O e N<sup>+</sup> e ligações de hidrogênio.

## 5.2 Difenidramina (2)

Similarmente ao composto **1**, a difenidramina neutra (**2**) foi submetida a uma varredura conformacional pelo método de Monte Carlo em nível semi-empírico AM1 (obtendo-se 100 estruturas), com subsequente pré-otimização e cálculos de frequência em nível HF/6-31g(d,p), e refinamento das geometrias de 13 confôrmeros não equivalentes por meio de otimizações em nível  $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p), tanto para a fase gasosa, quanto em solventes (CHCl<sub>3</sub> e CH<sub>3</sub>CN) implícitos, de acordo com o modelo PCM. As geometrias das otimizações no gás encontram-se na Figura 12.

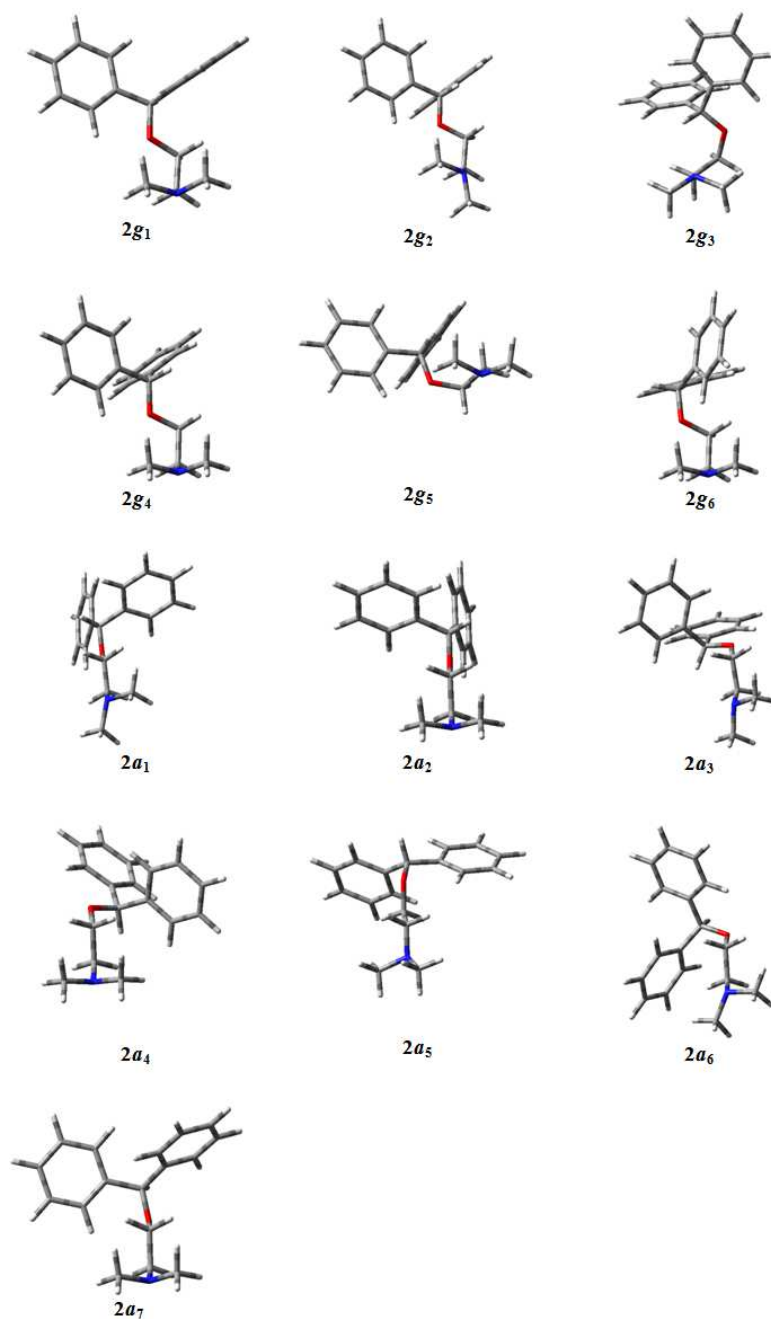


Figura 12 Estruturas otimizadas [ $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p)] para 2

De acordo com os cálculos de otimização, o confômero *anti* mais populoso (**2a<sub>1</sub>**) é 1 kcal mol<sup>-1</sup> menos estável que o mínimo global, que é o confômero *gauche* **2g<sub>1</sub>** (Tabela 4). De acordo com a distribuição de Boltzmann, os cálculos indicam uma população mensurável de confômeros *anti* (cerca de 10%). A contribuição das interações de Lewis (efeitos estéricos e eletrostáticos) como forças desestabilizantes dos confômeros **2a** em relação a **1a** (Tabelas 1 e 4) indica a importância do papel do efeito *gauche* eletrostático e ligação de hidrogênio intramolecular (de natureza eletrostática) para a exclusividade de confômeros *gauche* em **1**; mas interações hiperconjugativas antiperiplanares  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CO}}^*$  e  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CN}}^*$  (Tabela 5), que correspondem a 5-7 kcal mol<sup>-1</sup>, mantêm a difenidramina (**2**) predominante na conformação *gauche* na fase gasosa e em solução. Portanto, a difenidramina neutra também exibe o efeito *gauche*, uma vez que 90% em gás, 87% em solução exibem conformação com essa orientação. Portanto, a decomposição de energia total em contribuições de energia de hiperconjugação e energia de Lewis (estérica e eletrostática) indica que os confômeros *gauche* são mais desestabilizados por repulsão estérica que os confômeros *anti*, mas possivelmente menos que o esperado se a atração eletrostática entre O e N<sup>+</sup> não estivesse presente pois  $\Delta E_{\text{Lewis}}(\mathbf{1g1-1a1}) < \Delta E_{\text{Lewis}}(\mathbf{2g1-2a1})$ .

Tabela 4 Dados calculados [ $\omega$ B97X-D/6-31++g(d,p)] para 2

Paramêtros	2g <sub>1</sub>	2g <sub>2</sub>	2g <sub>3</sub>	2g <sub>4</sub>	2g <sub>5</sub>	2g <sub>6</sub>	2a <sub>1</sub>	2a <sub>2</sub>	2a <sub>3</sub>	2a <sub>4</sub>	2a <sub>5</sub>	2a <sub>6</sub>	2a <sub>7</sub>
<i>Gás</i>													
E <sub>rel</sub> (kcal mol <sup>-1</sup> )	0,0	0,4	0,5	0,8	0,8	2,7	1,0	1,7	2,1	2,6	2,7	2,8	3,2
O-C-C-N (graus)	-65,2	-79,7	-42,4	-69,8	-66,3	-70,1	-175,5	-179,8	-171,2	-175,2	-178,4	-176,6	-177,4
E <sub>hiperconj.</sub> (kcal mol <sup>-1</sup> )	-25,9	-16,1	-25,8	-17,1	-22,1	-29,5	0,0	-4,5	-3,0	-8,9	-11,8	-22,0	-20,2
E <sub>Lewis</sub> (kcal mol <sup>-1</sup> )	25,9	16,5	26,3	18,0	22,9	32,2	1,0	6,2	5,1	11,5	14,5	24,7	23,4
Pop. (%)	37	20	15	9	9	0	7	2	1	0	0	0	0
Pop.Lewis (%)	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
<i>CHCl<sub>3</sub></i>													
E <sub>rel</sub>	0,0	0,6	0,7	0,9	1,0	2,9	1,0	1,6	2,0	2,4	2,8	2,8	3,1
O-C-C-N	-67,9	-79,9	-45,7	-70,7	-65,3	-70,8	-174,6	-179,5	-171,5	-178,6	-177,1	-177,0	-177,0
E <sub>hiperconj.</sub>	-22,7	-12,1	-23,3	-13,6	-18,2	-21,9	0,0	-0,8	-5,7	-10,1	-12,2	-2,0	-15,8
E <sub>Lewis</sub>	22,7	12,7	24,0	14,5	19,2	24,8	1,0	2,4	7,7	12,5	15,0	4,8	18,9
Pop.	41	16	13	9	8	0	8	3	1	1	0	0	0
Pop. Lewis (%)	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
<i>CH<sub>3</sub>CN</i>													
E <sub>rel</sub>	0,0	0,7	0,6	1,1	0,9	3,1	1,0	1,6	1,9	2,4	3,0	3,0	3,3
O-C-C-N	-68,1	-78,8	-47,5	-68,0	-64,6	-71,2	-173,4	-179,7	-173,8	-176,4	-176,9	-180,0	-177,2
E <sub>hiperconj.</sub>	-27,0	-18,0	-30,8	-16,8	-19,3	-22,9	-3,7	-4,8	0,0	-11,0	-13,5	-20,6	-15,6
E <sub>Lewis</sub>	27,0	18,7	31,4	17,9	20,2	26,0	4,7	6,4	1,9	13,4	16,5	23,6	18,9
Pop.	42	13	15	7	9	0	8	3	2	1	0	0	0
Pop. Lewis (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0

Tabela 5 Interações hiperconjugativas relevantes ( $\text{kcal mol}^{-1}$ ) para o efeito *gauche* em 2. Os dados no gás,  $\text{CHCl}_3$  e  $\text{CH}_3\text{CN}$  são separados por ponto e vírgula

Conf.	$\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CN}}^*$	$\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma_{\text{CO}}^*$	$\sigma_{\text{CN}} \rightarrow \sigma_{\text{CH}}^*$	$\sigma_{\text{CO}} \rightarrow \sigma_{\text{CH}}^*$	$\sigma_{\text{CN}} \rightarrow \sigma_{\text{CO}}^*$	$\sigma_{\text{CO}} \rightarrow \sigma_{\text{CN}}^*$
<b>2g<sub>1</sub></b>	4,9; 5,2; 5,1	5,4; 5,6; 5,5	0,9; 0,8; 0,8	0,8; 0,8; 0,8	–	–
<b>2g<sub>2</sub></b>	4,2; 4,4; 4,3	5,2; 5,3; 5,2	0,8; 0,7; 0,7	0,8; 0,8; 0,8	–	–
<b>2g<sub>3</sub></b>	4,5; 4,9; 4,7	5,7; 6,4; 6,0	0,7; 0,7; 0,7	0,7; 0,8; 0,7	–	–
<b>2g<sub>4</sub></b>	5,0; 5,2; 5,1	5,2; 5,5; 5,3	0,7; 0,7; 0,7	0,8; 0,8; 0,8	–	–
<b>2g<sub>5</sub></b>	4,7; 4,8; 4,8	6,7; 7,0; 6,9	0,8; 0,8; 0,8	0,6; 0,6; 0,6	–	–
<b>2g<sub>6</sub></b>	5,3; 5,5; 5,4	5,5; 5,6; 5,6	0,7; 0,7; 0,7	0,8; 0,8; 0,8	–	–
<b>2a<sub>1</sub></b>	–	–	–	–	1,8; 1,8; 1,8	2,0; 2,0; 2,0
<b>2a<sub>2</sub></b>	–	0,64; 0,64; 0,65	–	–	1,4; 1,4; 1,4	2,2; 2,2; 2,2
<b>2a<sub>3</sub></b>	–	–	–	–	1,9; 2,0; 1,9	1,5; 1,6; 1,5
<b>2a<sub>4</sub></b>	–	–; 0,6; –	–	–; –; 1,5	1,8; 1,8; 1,8	1,5; 1,5; 1,5
<b>2a<sub>5</sub></b>	–	0,6; –; 0,5	–	–	1,8; 1,5; 1,9	2,0; 2,1; 2,0
<b>2a<sub>6</sub></b>	–	–	–	–	2,3; 2,2; 2,3	1,5; 1,6; 1,6
<b>2a<sub>7</sub></b>	–	0,5; 0,5; 0,5	–; –; 1,1	–	1,7; 1,5; 1,5	2,2; 2,2; 2,2

### 5.3 Síntese da difenidramina neutra e análise no infravermelho

A síntese da difenidramina se deu conforme o item **4.2.1**. Para confirmar que a reação de desprotonação realmente ocorreu, foi usada a espectroscopia na região do infravermelho (IV). Essa avaliação pode ser realizada comparando-se os espectros das formas neutra e seu correspondente sal (Figuras 13 e 14).

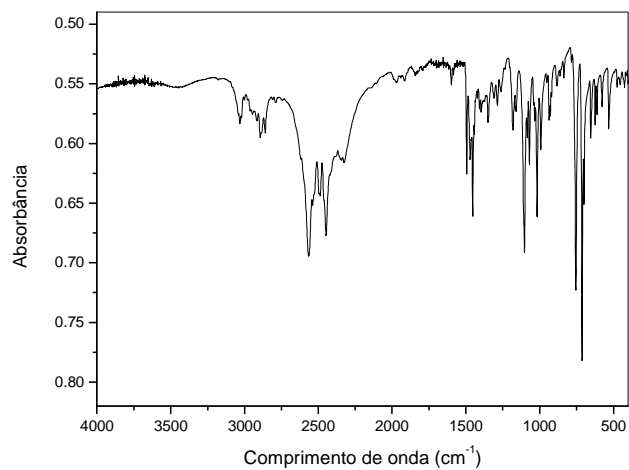


Figura 13 Espectro no infravermelho do cloridrato de difenidramina

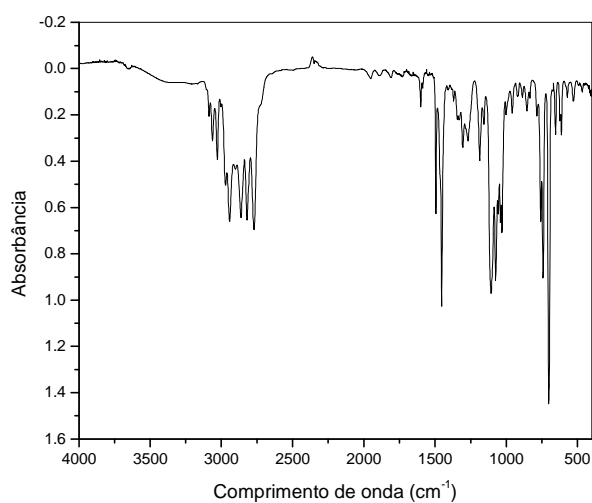


Figura 14 Espectro no infravermelho da difenidramina

Sais de aminas terciárias apresentam bandas de estiramento N-H entre 2250 e 2700 cm<sup>-1</sup> (SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000). Para a difenidramina

protonada (Figura 13), observam-se bandas na região de 2330 a 2570  $\text{cm}^{-1}$ , decorrentes do estiramento N-H e de combinações envolvendo a ligação N-H. O espectro da difenidramina neutra (Figura 14) não apresentou absorções na região de 2000 a 2700  $\text{cm}^{-1}$  e, portanto, observa-se a ocorrência da desprotonação, obtendo a difenidramina neutra, o que pode ser confirmado pela similiaridade dos espectros em relação às demais absorções.

#### 5.4 Constantes de acoplamento: Dados experimentais (análise de $^1\text{H}$ RMN) e teóricos

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para o cloridrato de difenidramina foram obtidos na frequência de 499,9 MHz. O cloridrato de difenidramina possui dois grupos metileno ( $\text{CH}_2$ ), cujos hidrogênios não são magneticamente equivalentes (Figura 15) e, portanto, exibem sinal de segunda ordem no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 16a). Em decorrência, foram feitas simulações de espectro em  $\text{CDCl}_3$  (Figura 16b) e em  $\text{CD}_3\text{CN}$ , usando um sistema de spins do tipo ABCD. As expansões dos sinais dos hidrogênios metilênicos dos espectros experimentais e simulados encontram-se na Figura 16c. Para o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CD}_3\text{CN}$ , não se obteve uma simulação consistente com os dados experimentais e, portanto, a análise por RMN para essa solução não foi considerada.

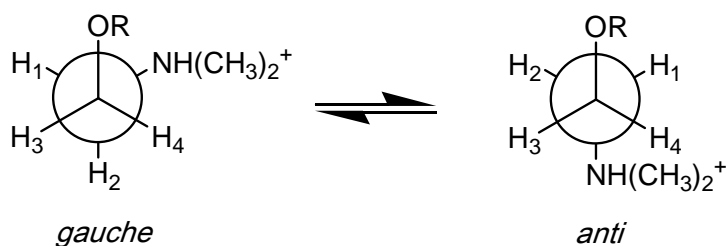


Figura 15 Isomerismo conformacional do cloridrato de difenidramina em torno da ligação  $\text{C}(\text{H}_2)\text{-C}(\text{H}_2)$



Segundo o isomerismo conformacional da Figura 15 e a curva de Karplus (Figura 17), pode-se notar que, em caso de predominância da conformação *gauche*, a constante de acoplamento  ${}^3J_{\text{H1,H4}}$  deve ser grande, enquanto os demais acoplamentos vicinais devem ser pequenos. Por outro lado, caso haja predominância da conformação *anti*,  ${}^3J_{\text{H1,H3}}$  e  ${}^3J_{\text{H2,H4}}$  deveriam ser grandes, enquanto  ${}^3J_{\text{H1,H4}}$  e  ${}^3J_{\text{H2,H3}}$  deveriam ser pequenos. Cálculos de constantes de acoplamento em nível  $\omega\text{B97X-D/6-31++g(d,p)}$  foram efetuados para os confôrmeros com energia relativa  $\leq 1$  kcal mol<sup>-1</sup> e para o confôrmero **1a<sub>1</sub>**. Os resultados para **1** e **2** corroboraram com a curva de Karplus, mostrando que  ${}^3J_{\text{H1,H4}}$  deve ser grande, enquanto  ${}^3J_{\text{H1,H3}}$ ,  ${}^3J_{\text{H2,H4}}$  e  ${}^3J_{\text{H2,H3}}$  são esperados ser pequenos, em caso da predominância *gauche*, segundo a Tabela 6.

Tabela 6 Cálculos de  ${}^3J_{\text{H1,H3}}$ ,  ${}^3J_{\text{H1,H4}}$ ,  ${}^3J_{\text{H2,H3}}$  e  ${}^3J_{\text{H2,H4}}$  (Hz) para **1** e **2** em nível  $\omega\text{B97X-D/6-31g++(d,p)}$  (gás; clorofórmio; acetonitrila). Os valores são representados apenas para confôrmeros com energia relativa  $\leq 1$  kcal mol<sup>-1</sup> e para **1a<sub>1</sub>**

Conf.	${}^3J_{\text{H1,H4}}$	${}^3J_{\text{H1,H3}}$	${}^3J_{\text{H2,H4}}$	${}^3J_{\text{H2,H3}}$
<b>1g<sub>1</sub></b>	10,3; 10,4; 10,4	3,1; 3,0; 3,0	4,5; 4,3; 4,3	0,6; 0,7; 0,8
<b>1g<sub>2</sub></b>	10,4; 10,6; 10,7	5,7; 5,1; 4,7	4,4; 3,9; 3,6	0,2; 0,4; 0,5
<b>1a<sub>1</sub></b>	-; 2,5; 2,6	-; 9,1; 9,2	-; 9,3; 9,4	-; 6,3; 6,2
<b>2g<sub>1</sub></b>	9,6; 9,7; 9,3	1,9; 1,5; 1,5	1,8; 2,2; 2,3	2,5; 2,2; 2,2
<b>2g<sub>2</sub></b>	7,2; 7,3; 7,5	0,7; 0,7; 0,8	0,6; 0,6; 0,6	4,9; 4,9; 4,7
<b>2g<sub>3</sub></b>	10,3; 10,5; 10,6	5,6; 5,2; 5,0	4,7; 4,2; 3,9	0,5; 0,7; 0,8
<b>2g<sub>4</sub></b>	9,0; 8,9; 9,2	1,8; 1,8; 2,4	1,1; 1,0; 1,4	2,7; 2,8; 2,4
<b>2g<sub>5</sub></b>	9,3; 9,4; 9,4	1,5; 1,6; 1,7	2,0; 2,1; 2,2	2,0; 2,8; 2,7
<b>2a<sub>1</sub></b>	4,4; 4,6; 3,8	9,9; 8,7; 9,8	8,5; 9,8; 8,8	4,3; 4,1; 4,8

Essa tendência é observada para **1g<sub>1</sub>**, **1g<sub>2</sub>**, **2g<sub>1</sub>**, **2g<sub>2</sub>**, **2g<sub>3</sub>**, **2g<sub>4</sub>**, **2g<sub>5</sub>**. Para os confôrmeros *anti*, observam-se  ${}^3J_{\text{H1,H3}}$  e  ${}^3J_{\text{H2,H4}}$  com valores grandes, enquanto que  ${}^3J_{\text{H1,H4}}$  e  ${}^3J_{\text{H2,H3}}$  são pequenos.

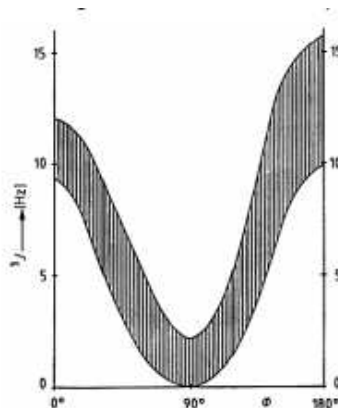


Figura 17 Gráfico para a curva de Karplus (ângulo diedro em graus °e  $J$  em Hz)  
Fonte: Paiva et al. (2010).

A partir da análise da Figura 16, conclui-se que há predominância da conformação *gauche* para **1**, pois  ${}^3J_{H1,H4} = 8,0$  Hz, que é superior aos demais acoplamentos que são pequenos e consistente com valores de acoplamento entre hidrogênios orientados *anti*:  ${}^3J_{H1,H3} = 5,5$  Hz,  ${}^3J_{H2,H4} = 3,5$  Hz e  ${}^3J_{H2,H3} = 4,5$  Hz. Portanto, a existência do efeito *gauche* em **1** foi confirmada experimentalmente.

A difenidramina neutra (**2**) foi experimentalmente sondada por RMN (Figuras 18 e 19), no qual tripletos para os hidrogênios metileno têm constante de acoplamento ( ${}^3J_{H,H}$ ) de 5,9 Hz ( $CDCl_3$ ) e 5,6 Hz (em  $CD_3CN$ ), consistentes com uma média entre os confôrmeros *gauche* e *anti* (mais confôrmeros *gauche* em  $CD_3CN$  do que em solução de  $CDCl_3$ ). Portanto, experimentalmente, o efeito *gauche* em **2** é atenuado em relação a **1**, embora presente; o que está de acordo com as conclusões obtidas dos cálculos teóricos.

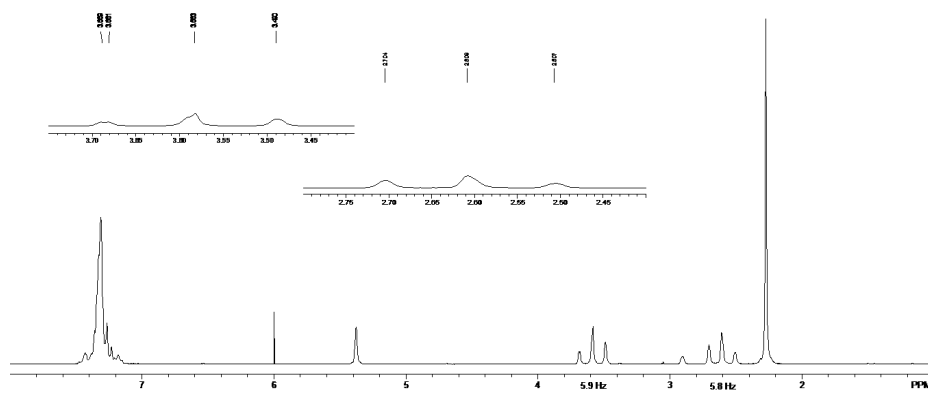


Figura18 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para 2 em  $\text{CDCl}_3$

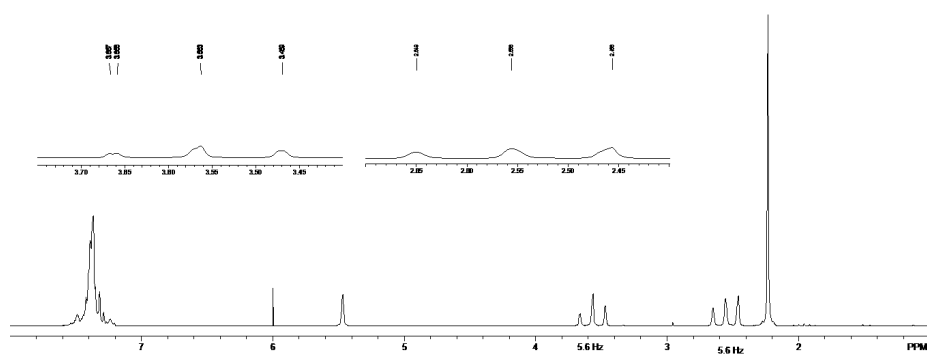


Figura 19 Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para 2 em  $\text{CD}_3\text{CN}$

### 5.5 Insights sobre a Atividade Biológica

Não é comum que conformações de moléculas livres coincidam com suas conformações bioativas, em razão do encaixe induzido pelo sítio ativo das enzimas. Por exemplo, a conformação bioativa do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), um herbicida que se liga à enzima ligase de ubiquitina TIR1 não coincide com a estrutura calculada do seu confôrmero mais

estável (FREITAS; RAMALHO, 2013). A estrutura bioativa foi encontrada no banco de dados de proteínas (PDB, código 2AOT) e se encontra complexada com a enzima histamina metiltransferase. Não está explícito na literatura (HORTON et al., 2005) se a estrutura no cristal é protonada ou não (Figura 20). É importante ressaltar que duas moléculas de difenidramina, muito similares conformacionalmente, foram encontradas complexadas em uma mesma enzima.

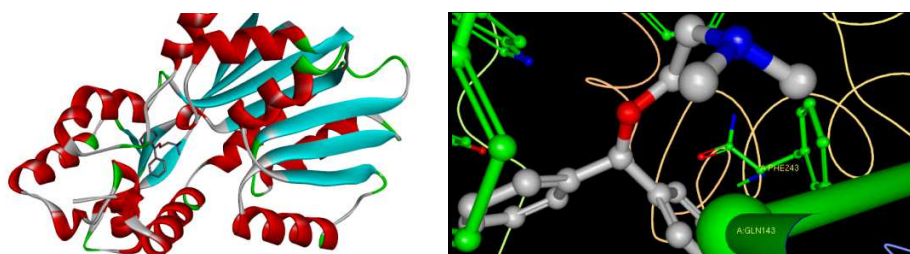


Figura 20 Conformações bioativas da difenidramina em interação com a enzima histamina metiltransferase (código PDB: 2AOT)

As duas moléculas bioativas de difenidramina (Figura 21a,b) têm o fragmento O-C-C-N em orientação *gauche*. Os demais ângulos diedros das moléculas bioativas são congruentes com os do mínimo global  $2g_1$  (C—N—C—C, C—O—C—H e O—C—C—C). Assim, pode-se sugerir que a estabilidade da estrutura bioativa tem contribuições intramoleculares, particularmente aquelas que governam o efeito *gauche* na difenidramina, isto é, há interações hiperconjugativas antiperiplanares  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma^*_{\text{CO}}$  e  $\sigma_{\text{CH}} \rightarrow \sigma^*_{\text{CN}}$ .

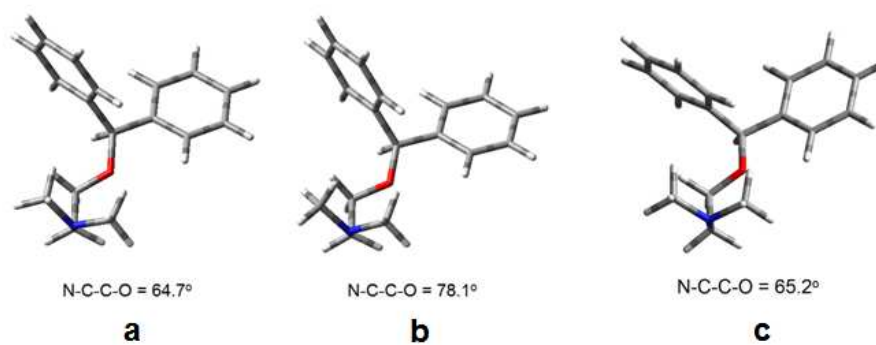


Figura 21 Estruturas químicas bioativas da difenidramina (a e b, obtidas do PDB, código 2AOT) e o mínimo global  $2g_1$  (c)

Entretanto, para  $1g_1$ , a orientação dos grupos *N*-metila é diferente da conformação bioativa, pois neste último caso, tanto o oxigênio quanto o H(N) da forma protonada competem com os resíduos de aminoácidos da enzima histamina metiltransferase para estabelecerem ligações de hidrogênio.

## 6 CONCLUSÃO

Os cálculos teóricos para otimização de geometrias, bem como para a obtenção da constante de acoplamento spin-spin, juntamente com os dados experimentais de RMN de  $^1\text{H}$ , apontaram o confômero *gauche* como predominante para a difenidramina e seu correspondente cloridrato. Portanto, ambos os compostos exibem o efeito *gauche*, mas sua manifestação é mais intensa para a forma protonada, em razão de efeitos eletrostáticos, hiperconjugativos e ligação de hidrogênio intramolecular. Para a difenidramina neutra, apenas interações hiperconjugativas operam como forças atrativas. É importante salientar que o efeito *gauche* persiste em solução para ambos os compostos.

Os espectros no infravermelho demonstraram que, de fato, ocorreu a desprotonação do cloridrato de difenidramina com pó de zinco, o que, posteriormente, habilitou o estudo da difenidramina neutra por RMN de  $^1\text{H}$ , uma vez que a mesma não apresentou absorções na região de 2000 a 2700  $\text{cm}^{-1}$ .

Ainda que a conformação *gauche* para a difenidramina seja menos abundante que para o seu correspondente sal, sua conformação preferencial (tanto na fase gasosa, quanto em solução) preserva as características estruturais encontradas para a molécula bioativa. Esse fato sugere que interações intramoleculares, particularmente a explicação tradicional para o efeito *gauche*, baseada no conceito de hiperconjugação, podem contribuir para estabilizar a conformação bioativa da difenidramina.

**REFERÊNCIAS**

ALABUGIN, I. V.; GILMORE, K. M.; PETERSON, P. W. Hyperconjugation. **WIREs Computational Molecular Science**, New York, v. 1, n.1, p.109-141, Jan. 2011.

ANANDA, K.; BABU, V.V.S. Deprotonation of hydrochloride salts of amino acid eaters and peptide esters using commercial zinc dust. **Journal of Peptide Research**, Copenhagen, v. 57, n. 3, p. 223-226, Mar. 2001.

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

ANDRADE, L.A.F.; SILLA, J.M.; FREITAS, M.P. The gauche effect is governed by internal hydrogen bond in 2-amino-2-methyl-propanol. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v.1072, p. 203-207, Aug. 2014.

BADER, R.F.W. A bond path: a universal indicator of bonded interactions. **Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 102, n. 37, p. 7314-7323, Sept.1998.

BADER, R. F. W. Bond paths are not chemical bonds. **The Journal Physical Chemistry A**, Washington, v. 113, n. 39, p. 10391-10396, Sept. 2009.

BADER, R. F. W. Definition of molecular structure: by choice or by appeal to observation? **The Journal Physical Chemistry A**, Washington, v. 114, n. 28, p. 7431-7444, June 2010.

BADER, R. F. W. Pauli repulsions exist only in the eye of the beholder. **Chemistry - A European Journal**, London, v. 12, n. 10, p. 2896-2901, Mar. 2006.

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.

BELAL, T. S.; ABDEL-HAY, K. M.; CLARK, C. R. Selective determination of dimenhydrinate in presence of six of its related substances and potential impurities using a direct GC/MS method. **Journal of Advanced Research**, New York, v.6, n.2, p. 1-6, Feb. 2015.

BRAGA, C. B. **L-Dopa, L-Dopaquinona e Dopamina: uma análise conformacional através de cálculos teóricos e das espectroscopias de ressonância magnética nuclear e na região do infravermelho**. 2012. 146 p. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada)- Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2012.

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

CHAI, J. D.; HEAD-GORDON, M. Long range corrected hybrid density functional with damped atom-atom dispersion corrections. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Cambridge, v. 10, n.44, p. 6615-6620, Nov.2008.

CHEN, X. et al. Hyperconjugative effects on the electronic wave functions of ethanol. **Chemical Physics Letters**, Amsterdam, v. 472, n.1/3, p. 19-22, Apr. 2009.

CHOUDHARY, A.; KAMER, K. J.; RAINES, R. T. An  $n \rightarrow \pi^*$  interaction in aspirin: implications for structure and reactivity. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v.76, n.11, p. 7933-7937, Oct. 2011.

COCINERO, E. J. et al. Sensing the anomeric effect in a solvent-free environment. **Nature**, London, v. 469, p.76-80, Jan. 2011.

CORMANICH, R. A. **Análise conformacional de alguns aminoácidos e ésteres metílicos de aminoácidos**. 2011.163 p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CORMANICH, R. A. et al.  $^1\text{H}$ (F,H) coupling in 2-fluorophenol revisited: is intramolecular hydrogen bond responsible for this long-range coupling? **Magnetic Resonance in Chemistry**, Chichester, v. 49, n.12, p. 763-767, Dec. 2011.

CRAMER, C. Anomeric and reverse anomeric effects in the gas phase and aqueous solution. **The Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 57, n. 26, p. 7034-7043, Dec. 1992.

CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Implicit solvation models: equilibria, structure, spectra, and dynamics. **Chemical Reviews**, Washington, v. 99, n. 8, p. 2161-2200, July 1999.

CRAMER, R. D.; PETERSON, D. E.; BUNCE, J. D. Comparative molecular field analysis (CoMFA): 1., effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 110, n.18, p. 5959-5967, Aug.1988.

DUARTE, H. A. Índices de reatividade química a partir da teoria do funcional de densidade. **Química Nova**, São Paulo, v.24, n.4, p. 501-508, July/Aug. 2001.

DUCATI, L.C. et al. The case of intramolecular hydrogen bonding, hyperconjugation and classical effects on the conformational isomerism of substituted carbonyl and thiocarbonyl compounds. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, Amsterdam, v. 851, n.1/3, p. 147-157, Feb. 2008.

DUNITZ, J. D.; TAYLOR, R. A. Organic fluorine hardly ever accepts hydrogen bonds. **Chemistry- A European Journal**, London, v. 3, n.1, p. 89-98, Jan.1997.

EDWARD, J. T. Stability of glycosides to acid hydrolyses-A conformational analysis. **Chemistry & Industry**, London, v.36, p. 1102-1104, 1955.

ELIEL, E. L. Conformational analysis in heterocyclic systems: recent results and applications. **Angewandate Chemie**, London, v. 11, n.9, p.739-750, Sept.1972.

EPIOTIS, N. D. Attractive nonbonded interactions in organic molecules. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 95, n.10, p. 3087-3096, May 1973.

ERDEM, S. S.; VARNALI, T.; AVIYENTE, V. *Ab initio* study on the conformational behaviour of ethane-1,1-diol and ethane 1,1,2-triol in solution. **Journal of Physical Organic Chemistry**, New York, v. 10, n. 4, p. 196-206, Apr. 1997.

FORESMAN, J. B.; FRISCH, A. E. **Exploring chemistry with electronic structure methods**. 2<sup>nd</sup> ed. Pittsburg: Gaussian, 1996. 302 p.

FRAG, E. Y. Z.; MOHAMED, G. G.; EL-SAYED, W. G. Potentiometric determination of antihistaminic diphenhydramine hydrochloride in pharmaceutical preparations and biological fluids using screen-printed electrode. **Bioeletrochemistry**, New York, v.82, n.2, p. 79-86, Oct. 2011.

FRANCO, M. L. **Análise conformacional e correções térmicas em moléculas de Cicloalcanos e Etano-Substituídos**. 2008. 141 p. Tese (Doutorado em Ciências)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

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

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 em orbitais em química orgânica**. Lavras: UFLA, 2013. 126 p.

FREITAS, M. P.; RITTNER, R. Is there a general rule for the gauche effect in the conformational isomerism of 1,2- disubstituted ethanes? **Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v.111, n.30, p.7233-7236, July 2007.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 09**: revision A.02. Wallingford: CT, 2009. Software.

GILLI, G.; GILLI, P. **The nature of the hydrogen bond**: outline of a comprehensive hydrogen bond theory. New York: Oxford University, 2009. 315 p.

GLASER, R. Aspirin: ab initio quantum-mechanical study conformational preferences and of neighboring group interactions. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v.66, n.3, p.771-779, Jan. 2001.

GOOSEMAN, N. E. J. et al. An electrostatic effect in  $\beta$ -fluoro and  $\beta$ -hydroxy-N-ethylpyridinium cations. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v.46, n.31, p. 5904-5908, Aug. 2007.

HA, S. et al. Solvent effect on the anomeric equilibrium in D-glucose: a free energy simulation analysis. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v.113, n.5, p.1553-1557, Feb. 1991.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Physical Review**, New York, v. 136, n. 3, p. 864-871, Nov. 1964.

HORTON, J. R. et al. Structural basis for inhibition of histamine N-methyltransferase by diverse drugs. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 353, n. 2, p. 334-344, Oct. 2005.

HUANG, Y. et al. Origin of the anomeric effect: a density functional steric analysis. **The Journal of Chemical Physics**, New York, v. 134, n.8, p. 841031-841039, Feb. 2011.

IVES, H. E. Scattered light in spectrophotometry and a new form of spectrophotometer. **Physical Review Letters**, New York, v.30, p.446-452, Apr. 1910.

JUARISTI, E. Looking for treasure in stereochemistry-land: a path marked by curiosity, obstinacy and serendisity. **The Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 77, n.11, p. 4861-4884, June 2012.

KASAEI, G. A. et al. Complete basis set, hybrid-DFT study and NBO interpretation of conformational analysis of 2-methoxytetrahydropyran and its thiopyran and selenopyran analogues in relation to the anomeric effect. **Molecular Simulation**, New York, v.38, n.12, p. 1022-1031, July 2012.

KEEFE, C. D.; TIFFANI, W.; CAMPBELL, E. Measurement and applications of absolute infrared intensities. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1009, p. 111-122, Feb. 2012.

KEITH, T. A. **AIMALL**. Version 11.04.03. Disponível em: <aim.tkgristmil.com>. Acesso em: 10 dez. 2011.

KIRBY, A. J. **The anomeric effect and related stereoelectronic effects at oxygen**. Berlin: Springer Verlag, 1983. 152 p.

KOCH, U.; POPELIER, P.L.A.Characterization of C-H...O hydrogen bonds on the basis of the charge density. **Journal of Physical Chemistry**, Washington, v.99, n. 24, p.9747-9754, June 1995.

KUMAR, A. et al. Experimental and theoretical (FT-IR, FT-Raman, UV-vis, NMR) spectroscopic analysis and first order hyperpolarizability studies of non-linear optical material: (2E)-3-[4-(methylsulfanyl) phenyl]-1-(4-nitrophenyl) prop-2-en-1-one using density functional theory. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, London, v.130, p. 41-53, Sept. 2014.

LÄMMERMANN, A. et al. Inter-or intramolecular N...H-O or N-H...O hydrogen bonding in 1,3-amino- $\alpha/\beta$ -naphthols: an experimental NMR and computational study. **The Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v.113, n.21, p. 6197- 6205, May 2009.

LANKIN, D. C. et al. The NH---FC dipole orientation effect for pendant exocyclic CH<sub>2</sub>F. **OrganicLetters**, Washington, v. 4, n.21, p. 3557-3560, Oct. 2002.

LUCENA, J. R. **Estudo teórico e experimental de CFC's e HCFC' s isolados em matrizes criogênicas**. 2008. 174 p. Tese (Doutorado em Química)- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

LUIBRAND, R. T.; TAIGOUNOV, I. R.; TAIGOUNOV, A. A. A theoretical study of the reaction of lithium aluminum hydride with formaldehyde and cyclohexanone. **The Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 66, n.22, p. 7254-7262, Nov. 2001.

MARTINS, L. E.; FREITAS, M. P. Anomeric effect plays a major role in the conformational isomerism of fluorinated pnictogen compounds. **Journal of Physical Organic Chemistry**, New York, v. 21, n.10, p.881-885, Oct. 2008.

MO, Y. Computational evidence that hyperconjugative interactions are not responsible for the anomeric effect. **Nature Chemistry**, London, v. 2, n. 8, p. 666-671, July 2010.

MOREIRA, M. A. et al. Theoretical and infrared studies on the conformational of monofluorophenols. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v.1009, p.11-15, Feb. 2012.

NACHOD, F.C.; ZUCKERMAN, J. J. **Determination of organic structures by physical methods**. New York: Academic, 1971. 344 p.

O'HAGAN, D. 3-Fluoro-GABA enantiomers: exploring the conformation of GABA binding to GABA<sub>A</sub> receptors and GABA aminotransferase. **Journal Future Medicinal Chemistry**, London, v. 3, n.2, p. 189-195, Feb. 2011.

PACHECO, A. G. M. **Modelagem molecular comparativa e estudos de acoplamento molecular da enzima Lanosterol 14  $\alpha$ - Desmetilase *Monilophthora pernicioso***. 2009. 93 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.

PAIVA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 4.ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 700 p.

PARTINGTON, P.; FEENEY, J.; BURGEN, A. S. V. The conformation of acetylcholine and related compounds in aqueous solutions as studied by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Molecular Pharmacology**, New York, v. 8, n.3, p. 269-277, May 1972.

PEDROZA, L. S. **Desenvolvimento de novas aproximações para simulações ab initio**. 2010. 191 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

REZENDE, F. M. P. et al. Conformational analysis, stereoelectronic interactions and NMR properties of 2-fluorobicyclo[2.2.1]heptan-7-ols. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, Frankfurt, v. 8, n.1, p. 1227-1232, Aug. 2012.

SACHSE, H. Ueber die geometrischen Isomerien der Hexamethylenderivate. **Chemische Berichte**, Weinheim, v. 23, p. 1363-1370, Apr.1890.

SALZNER,U.; SCHLEYER, P. V. R. Ab initio examination of anomeric effects in tetrahydropyrans, 1,3-Dioxanes, and glucose. **The Journal of Organic Chemistry**, Washington, v.59, n.8, p.2138-2155, Apr. 1994.

SENET, M. L. et al. Theoretical study of the effect of hydrogen-bonding on the stability and vibrational spectrum of isolated 2,2,2-trifluoroethanol and its molecular complexes. **Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v.106, n. 44, p.10673-10680, Nov. 2002.

SILLA, J. M. **Análise conformacional e interações intramoleculares em ácidos aromáticos fluorados e derivados**. 2013. 120 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

SILLA, J. M. et al. Conformational analysis of 2,2-difluoroethylamine hydrochloride: double gauche effect. **Beilstein Journal Organic Chemistry**, Frankfurt, v. 10, n.1, p. 877-882, Apr. 2014a.

SILLA, J. M. et al. Gauche preference of  $\beta$ -fluoroalkyl ammonium salts. **The Journal of Physical Chemistry A**, Washington, v. 118, n.2, p. 503-507, Dec. 2014b.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000.460p.

SINGH, S. et al. Synthesis and conformational analysis of fluorinated piperidic acids. **Synlett**, New York, v. 23, n.16, p. 2421-2425, Oct. 2012.

SNYDER, J. P. et al. The unexpected diaxial orientation of *cis*-3,5-difluoropiperidine in water: a potent CF---NH charge dipole effect. **Journal of the American Chemical Society**, Easton, v. 122, n.3, p. 544-545, Dec. 2000.

SOUZA, F. R.; FREITAS, M. P. Conformational analysis and intramolecular interactions in 2-haloethanols and their methyl ethers. **Computational and Theoretical Chemistry**, Amsterdam, v.964, n.1/3, p.155-159, Mar. 2011.

SPARTAN PRO. Version 1.0.5. Wavefunction: Irvine, 2000. Software.

STEINER, T.; SAENGER, W. Distribution of observed C-H bond lengths in neutron crystal structures and temperature dependence of the mean values. **Acta Crystallographica**, Hoboken, v. 49, n.3, p. 379-384, May 1993.

SUN, A. et al. 3-Fluoropiperidines and N-methyl-3-fluoropiperidinium salts: the persistence of axial fluorine. **Chemistry - A European Journal**, London, v. 11, n.5, p. 1579-1591, Feb. 2005.

SWEETMAN, S. C. (Ed.). **Martindale-the complete drug reference**. 36<sup>th</sup>ed. London: The Pharmaceutical, 2009. v. 1, 576 p.

TAKEMURA, H. et al. The intramolecular C-F...HO hydrogen bond of 2-fluorophenyldiphenylmethanol. **New Journal of Chemistry**, Paris, v.33, n.10, p. 2004-2006, Sept. 2009.

TIWARY, S.; MISHRA, P. C. Vibrational spectra of cysteine zwitterion and mechanism of its formation: bulk and specific solvent effects and geometry optimization in aqueous media. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, London, v. 73, n.4, p. 719-729, Aug. 2009.

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

VILCACHAGUA, J. D. **Interações de orbitais e seus efeitos nas constantes de acoplamento  $^2J_{HH}$  e  $^1J_{CH}$  em 1,3,5-Trítiano E 1,3,5-Trítianos monossustituídos**: um estudo teórico e experimental. 2011. 102 p. Dissertação (Mestrado em Química orgânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

WEINHOLD, F.; LANDIS, C. **Valency and bonding**: a natural orbital donor-acceptor perspective. Cambridge: Cambridge University, 2005. 760 p.

WOLFE, S. Theoretical and experimental bases for the postulate of the gauche effect. **Accounts of Chemical Research**, Washington, v. 5, n.3, p. 102-111, Mar. 1972.

YARDAKUL, S.; TANRIBUYU, S. Theoretical and experimental study of solvent effects on the structure, vibrational spectra, and tautomerism of 3-amino-1,2,4-triazine. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v.1052, p.57-66, Nov. 2013.

YOUNG, D.C. **Computational chemistry**: a practical guide for applying techniques to real-world problems. New York: J. Wiley, 2001. 307 p.