



**DENIZE CRISTINA FAVARO**

**“ESTUDO DOS MECANISMOS DE TRANSMISSÃO DOS ACOPLAMENTOS  
ESCALARES VIA LIGAÇÃO E/OU VIA NUVEM ELETRÔNICA PRÓXIMA NO  
ESPAÇO E ESTUDOS DE DIFUSÃO (DOSY) DE  $^{19}\text{F}$ .”**

**CAMPINAS**

**2014**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**DENIZE CRISTINA FAVARO**

**“ESTUDO DOS MECANISMOS DE TRANSMISSÃO DOS ACOPLAMENTOS  
ESCALARES VIA LIGAÇÃO E/OU VIA NUVEM ELETRÔNICA PRÓXIMA NO  
ESPAÇO E ESTUDOS DE DIFUSÃO (DOSY) DE <sup>19</sup>F.”**

**ORIENTADOR: PROF. DR. CLÁUDIO FRANCISCO TORMENA**

**TESE DE DOUTORADO APRESENTADA AO  
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA  
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTORA EM CIÊNCIAS.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA**

**POR DENIZE CRISTINA FAVARO, E ORIENTADA PELO PROF.DR. CLÁUDIO FRANCISCO  
TORMENA.**

---

**Assinatura do Orientador**

**CAMPINAS**

**2014**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca do Instituto de Química  
Simone Lucas Gonçalves de Oliveira - CRB 8/8144

F277e Favaro, Denize Cristina, 1987-  
Estudo dos mecanismos de transmissão dos acoplamentos escalares via ligação e/ou via nuvem eletrônica próxima no espaço e estudos de difusão (DOSY) de  $^{19}\text{F}$  / Denize Cristina Favaro. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Cláudio Francisco Tormena.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Ressonância magnética nuclear. 2. Constantes de acoplamento. 3. Cálculos teóricos. 4. DOSY com detecção de  $^{19}\text{F}$ . I. Tormena, Cláudio Francisco. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Study of the mechanisms of transmission of the scalar couplings through bond and/or through the electronic cloud close in space and studies of diffusion (DOSY) of  $^{19}\text{F}$

**Palavras-chave em inglês:**

Nuclear magnetic resonance

Coupling constants

Theoretical calculation

DOSY with  $^{19}\text{F}$  detection

**Área de concentração:** Química Orgânica

**Titulação:** Doutora em Ciências

**Banca examinadora:**

Cláudio Francisco Tormena [Orientador]

José Daniel Figueroa Villar

Fabio Ceneviva Lacerda Almeida

Anita Jocelyne Marsaioli

José Augusto Rosário Rodrigues

**Data de defesa:** 15-08-2014

**Programa de Pós-Graduação:** Química



“The tragedy of life doesn't lie in not reaching your goal. The tragedy lies in having no goal to reach. It isn't a calamity to die with dreams unfilled, but it is a calamity not to dream. It is not disgrace not to reach the stars, but it is a disgrace to have no stars to reach for.”

**Benjamin E. Mays (American educator, Clergyman, 1895-1984)**



**“Dedico esta Tese de Doutorado primeiramente à minha Mãe (Maria S. Valentim Favaro) e ao meu Pai (Jaime Favaro) sem os quais nada disso seria possível. Dedico, também, aos meus irmãos Jaime Jr. Jú e Leo”.**



## **AGRADECIMENTOS**

Meus Sinceros Agradecimentos:

Primeiramente a Deus e a Nossa Senhora.

A toda minha família, agradecimento especial à minha mãe que sempre me apoiou.

Ao Prof. Dr. Cláudio F. Tormena por todo o apoio, ensinamentos e amizade.

Ao Prof. Dr. Rubens H. Contreras (falecido em 20/05/2014) – por todas as suas contribuições científicas ao longo do meu mestrado e doutorado.

Ao Lucas pela ajuda com os cálculos, discussões e por sua amizade.

Ao Prof. Dr. Roberto Rittner Neto por todo o suporte ao longo desses anos.

Agradecimento especial a Ana C. Ng, que esteve ao meu lado durante esses 3 anos, obrigada pelo carinho, apoio e paciência.

A minha madrinha Aparecida Montes, que sempre me deu muita força e me incentivou.

A Tarcila por todas as vezes que me ouviu e aconselhou, te adoro amiga!!!

A Fernanda (Bocó) que tem aguentado todo o meu nervosismo e ansiedade.

A Tayana e ao Tiago (Borra) que me aguentam há mais de dois anos...

Ao Caio por toda amizade e apoio. A Layara amiga em todas as horas.

A todo o pessoal da central analítica do IQ-USP, agradecimento especial ao Márcio, a Janaina, Nanci e Márcio Nardeli pela amizade e apoio.

Ao meu eterno e mais precioso amigo Almir R. Favaro por tudo o que vivemos juntos, saudade eterna.

Todo pessoal do LFQO, agradecimento especial Thaís, Renan e Monique.

A professora Elza I. S. Andreotti por todo o incentivo, conselhos e amizade.

A Cintia por todas as broncas, conselhos, amizade, auxílio com o Corel e pelas melhores caipirinhas!!! Hehe...

Ao Laboratório de RMN da UNICAMP.

A todos os funcionários e professores do IQ-UNICAMP que de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos Professores Roberto K. Salinas e Shaker Chuck Farah por todas as oportunidades.

Ao CNPq e à FAPESP pelo auxílio financeiro.



## **CURRICULUM VITAE**

Denize Cristina Favaro

## **FORMAÇÃO**

Mestre em Ciências: Instituto de Química, Universidade de Campinas – Unicamp-2011

Bacharel em Química: Universidade Estadual de Maringá – UEM - 2008

## **ARTIGOS PUBLICADOS**

1. “ $^{19}\text{F}$  DOSY NMR analysis for spin systems with  $^n J_{FF}$  couplings” G. D. Poggetto, D. C. Favaro, M. Nilsson, G. A. Morris, C. F. Tormena. *Magn. Reson. Chem.* **2014**, 52, 172-177.
2. "Unusual Through Space, TS, Pathway for the Transmission of  $^{\text{TS}}J_{\text{FH}}$  Coupling: 2-Fluorobenzaldehyde Study Case" D. C. Favaro, R. H. Contreras, C. F. Tormena. *J. Phys. Chem. A.* **2013**.
3. "Cytotoxic non-aromatic B-ring flavanones from Piper carniconnectivum C. DC." G. C. Freitas, J. M. Batista, G. C. Franchi, A. E. Nowill, L. F. Yamaguchi, J. D. Vilcachagua, D. C. Favaro, M. Furlan, E. F. Guimarães, C. S. Jeffrey, C. S. Christopher, M. J. Kato. *Phytochemistry*, **2013**, 97, 81-87.
4. "The electronic origin of unusually large  $^n J_{\text{FN}}$  coupling constants in some fluoroximas" D. C. Favaro, R. H. Contreras, C. F. Tormena. *Magn. Reson. Chem.* **2013**, 51, 334-338.
5. "Effect of Counterions on the Shape, Hydration, and Degree of Order at the Interface of Cationic Micelles: The Triflate Case" F. S. Lima, I. M. Cuccovia, D. Horinek, L. Q. Amaral, K. A. Riske, S. Schreier, R. K. Salinas, E. L. Bastos, P. A. R. Pires, J. C. Bozelli, Jr., D. C. Favaro, A. C. B. Rodrigues, L. G. Dias, O. A. El Seoud, H. Chaimovich. *Langmuir*. **2013** 29, 4193–4203
6. "Infrared and theoretical calculations in 2-halocycloheptanones conformational analysis" T. C. Rozada, G. F. Gauze, D. C. Favaro, R. Rittner, E. A. Basso. *Spectrochimica Acta Part A.* **2012**, 94, 277–287.
7. "Stereochemical Dependence of  $^3 J_{\text{CH}}$  Coupling Constants in 2-Substituted 4-t-Butylcyclohexanone and Their Alcohol Derivatives". D. C. Favaro, L. C. Ducati, F. P. dos Santos, R. H. Contreras, C. F. Tormena. *J. Phys. Chem. A.* **2011**, 115, 14539–14545.
8. "Effect of Electronic Interactions on NMR  $^1 J_{\text{CF}}$  and  $^2 J_{\text{CF}}$  Couplings in *cis*- and *trans*-4-t-Butyl-2-fluorocyclohexanones and Their Alcohol Derivatives". P. R. Anizelli, D. C. Favaro, R. H. Contreras, C. F. Tormena. *J. Phys. Chem. A.* **2011**, 115, 5684–5692.

## PREMIAÇÕES

**2013** Seleccionada para participar do curso: “EMBO Practical Course NMR: Structure, dynamics and function of biomacromolecules by solution NMR. A NMR study of the the VirB9Ct-VirB7Nt complex from the Xanthomonas Type IV Secretion System and calcium-binding domains of the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger of *Drosophila melanogaster*” em Basel - Suíça.

**2012** Primeira colocação no concurso público para Especialista em RMN na Universidade de São Paulo (USP);

**2012** Convite para apresentação Oral no SMASH - 2012 (Small Molecule NMR Conference) com cobertura total de gastos;

**2010** Terceiro lugar entre os trabalhos apresentados na XI Conferência Brasileira de Ressonância Magnética (AUREMN). Categoria: Mestrado.

## APRESENTAÇÃO ORAL OU EM FORMA DE POSTER

ABIKO, L. A. ; HAUK, P. ; FAVARO, D. C. ; OLIVEIRA, L. C. ; BRUSCHWEILER-LI, L. ; BRUSCHWEILER, R. ; SALINAS, R. K. . NMR study of the calcium-binding domains of the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger of *Drosophila melanogaster* by solution NMR. In: 18th International Society of Magnetic Resonance Meeting - ISMAR 2013, 2013, Rio de Janeiro. 18th ISMAR 2013/14th NMR Users Meeting, 2013. p. 82.

OLIVEIRA, L. C. ; SOUZA, D. P. ; FAVARO, D. C. ; DAVALOS, A. L. ; FARAH, S. C. ; SALINAS, R. K. . Solution structure of the VirB9Ct-VirB7Nt complex from the Xanthomonas Type IV Secretion System. In: 18th International Society of Magnetic Resonance Meeting - ISMAR 2013, 2013, Rio de Janeiro. 18th ISMAR 2013/14th NMR Users Meeting, 2013. p. 81.

“Is a planar W arrangement the only one efficient transmission of pathway <sup>4</sup>J<sub>HH</sub>?” Canto, K. F. ; FAVARO, D. C. ; TORMENA, C. F. 13th Nuclear Magnetic Resonance Users Meeting (AUREMN), 2011, Angra dos Reis. 13th Nuclear Magnetic Resonance Users Meeting, 2011.

“Why Study the sign of the geminal coupling constant?” FAVARO, D. C. ; TORMENA, C. F. 13th Nuclear Magnetic Resonance Users Meeting (AUREMN), 2011, Angra dos Reis. 13th Nuclear Magnetic Resonance Users Meeting, 2011.

“Stereochemical Dependence of <sup>3</sup>J<sub>CH</sub> Coupling Constant In 2-Substituted 4-t-Butyl-cyclohexanone” FAVARO, D. C.; TORMENA, C. F. Small Molecule NMR Conference (SMASH), September 18<sup>th</sup>-21<sup>st</sup> 2011, Chamonix, France.

“The Through Space Transmission of <sup>19</sup>F-<sup>15</sup>N Coupling Constant” FAVARO, D. C.; TORMENA, C. F. Small Molecule NMR Conference (SMASH), September 09<sup>th</sup>-12<sup>st</sup> 2012, Providence, USA.

## RESUMO

A tese “Estudo dos mecanismos de transmissão dos acoplamentos escalares via ligações e/ou via nuvem eletrônica próxima no espaço e estudos de difusão (DOSY) de  $^{19}\text{F}$ ” é composta de 5 capítulos. O primeiro capítulo é uma visão geral sobre Ressonância Magnética Nuclear (RMN), sequências de pulso para determinação experimental das constantes de acoplamento, mecanismos envolvidos na transmissão desse importante parâmetro de RMN e Teoria dos Orbitais Naturais de Ligação (NBO). No segundo capítulo há uma introdução sobre acoplamentos transmitidos “espacialmente” (TS). Posteriormente, os valores de  ${}^n J_{FN}$ , cujo  $n \geq 4$ , são correlacionados com distância ( $d_{FN}$ ) e densidade eletrônica ao longo do caminho do acoplamento. No terceiro capítulo os mecanismos de transmissão da constante de acoplamento  $J_{FH}$  em 2-F-benzaldeído foram investigados. A motivação para este estudo foi a observação do maior valor dessa constante em meio polar. Os resultados teóricos mostraram que a forma *sinperiplanar* é a mais estável, porém a porcentagem da forma *antiperiplanar* aumenta em solvente polar. Além disso, os resultados teóricos suportam um  $J_{FH}$  maior para a forma *anti*. Esses resultados corroboram com o dado experimental acima mencionado. Seguindo a apresentação dos resultados, o capítulo 4 versa sobre o uso de constante de acoplamento *vicinal* ( ${}^3 J_{CH}$ ) para a determinação da estereoquímica de duplas ligações. Primeiro apresentamos a metodologia *seI*-HSQMBC-TOCSY utilizada para determinação do acoplamento  ${}^3 J_{CH}$ . Posteriormente apresentamos uma racionalização para os valores observados para derivados de quinolina e pirrolizidinonas, mostrando a importância da ocupância dos orbitais e da % de caráter s dos carbonos envolvidos para a transmissão desse acoplamento. Por fim, no capítulo 5 são apresentados os resultados para os experimentos de DOSY (Diffusion Ordered SpectroscopY). Neste capítulo apresentamos a sequência *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  uma modificação da sequência original *Oneshot*- $^1\text{H}$  para detecção de  $^{19}\text{F}$  com desacoplamento de  $^1\text{H}$ .



## ABSTRACT

The thesis “**Study of the mechanisms of transmission of the scalar couplings through bond and/or through the electronic cloud close in space and studies of diffusion (DOSY) of  $^{19}\text{F}$** ” is composed by 5 chapters. The first chapter is an overview of Nuclear Magnetic Resonance (NMR), pulse sequences to determine experimentally scalar *spin-spin* coupling constants (SSCC), mechanisms involved in the transmission of SSCC and Natural Bond Orbital analysis (NBO). The second chapter introduced the through space coupling constant (TS) transmission pathway. In addition, it was proposed a correlation among the values of  ${}^n J_{\text{FN}}$ , with  $n \geq 4$ , the distance ( $d_{\text{FN}}$ ) and the electronic density along the coupling pathway. In the third chapter the mechanisms involved in the transmission of the  $J_{\text{FH}}$  coupling constant in 2-F-benzaldehyde were investigated. The experimental observation of a higher coupling constant in polar solvent compared to the nonpolar one was our motivation to evaluate in details this coupling constant. It is important to highlight that was not possible to determine experimentally this coupling constant in nonpolar solvent because the value is smaller than spectral resolution. From theoretical calculation it was observed that the *syn periplanar* is the most stable conformer, however the population of the *antiperiplanar* conformer increases in polar solvent. Besides, the theoretical results support higher  $J_{\text{FH}}$  value for the *antiperiplanar* conformer in comparison to *syn periplanar*. These results are in agreement with the experimental. Following the discussion, chapter 4 is related to the application of *vicinal* coupling constant ( ${}^3 J_{\text{CH}}$ ) for relatively stereochemical determination. The experimental  ${}^3 J_{\text{CH}}$  coupling was measured using *sel*-HSQMBC-TOCSY pulse sequence. In addition, it was done a rationalization of the couplings observed for quinolines and pirrozilidinones derivatives, suggesting that the % s character of the carbons and occupancy of the orbitals involved in the coupling pathway describes the experimental behavior. Finally, chapter 5 introduces the use of DOSY (Diffusion Ordered SpectroscopY). For this purpose, It was designed a pulse sequence dubbed *Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$*  – consisting in a modification of the original *Oneshot- $^1\text{H}$*  to allow radiofrequency changes between  $^1\text{H}$  and  $^{19}\text{F}$  channels and a  $^1\text{H}$  decoupling during  $^{19}\text{F}$  acquisition.



## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS .....	xxiii
LISTA DE FIGURAS.....	xxv
LISTA DE TABELAS .....	xxxii
Capítulo 1 .....	1
Conceitos gerais: Constante de acoplamento e Teoria de Orbitais Naturais de Ligação (NBO) .	1
1. Ressonância Magnética Nuclear .....	3
1.1. Constante de Acoplamento .....	4
1.2. Princípios de RMN pulsada: Tipos de pulsos .....	5
1.2.1. Pulsos duros <i>versus</i> Pulsos seletivos .....	5
1.3. Técnicas de correlação heteronuclear.....	7
1.3.1. Experimentos de detecção inversa. Correlações a uma ligação: HSQC .....	7
1.3.2. Experimentos de detecção inversa. Correlações a longa distância: HMBC ..	9
1.3.3. Experimentos de detecção inversa: Medidas de ${}^nJ_{CH}$ .....	10
1.3.4. Experimento de HSQC-TOCSY .....	11
1.3.4.1. Experimento de HSQC-TOCSY- IPAP.....	12
1.3.5. Experimento de IPAP-HSQMBC.....	14
1.3.6. Experimento de HSQMBC-TOCSY-IPAP com pulso seletivo.....	15
1.3.7. Mecanismos de transmissão da constante de acoplamento <i>escalar</i> spin-spin ( $J$ ) .....	19
1.4. Teoria dos orbitais naturais de ligação (NBO) .....	22
Capítulo 2 .....	27
Acoplamento escalar spin-spin através do espaço ( ${}^{TS}J$ ) : ${}^nJ_{FN}$ .....	27
2. Introdução.....	29
2.1. Objetivos.....	32
2.2. Detalhes experimentais: Instrumentação.....	33

2.3.	Síntese e purificação dos compostos .....	33
2.3.1.	Síntese da 2-F-4-tBu-ciclohexanona.....	33
2.3.2.	Síntese das fluoroximas (8 e 9) .....	34
2.3.3.	Síntese das fluoroximas (10 <i>E</i> e 10 <i>Z</i> ).....	36
2.4.	Detalhes Computacionais.....	36
2.5.	Resultados e Discussão .....	37
2.5.1	Oximas ( <i>E</i> ) e ( <i>Z</i> ) de 2-F-acetofenona.....	37
2.5.2	$J_{FN}$ .....	40
2.5.2.	Oxima ( <i>E</i> )- <i>cis</i> -2-F-4-tBu-ciclohexanona.....	48
2.6.	Conclusão.....	49
Capítulo 3 .....		53
Caminho não usual de transmissão do acoplamento $^{TS}J_{FH}$ : 2-F-benzaldeído .....		53
3.	Introdução.....	55
3.1.	Objetivo .....	55
3.2.	Detalhes experimentais .....	56
3.3.	Detalhes Computacionais .....	56
3.4.	Resultados e Discussão .....	56
3.5.	Conclusão.....	71
Capítulo 4 .....		73
Acoplamento escalar spin-spin vicinal e estereoquímica .....		73
4.	Introdução.....	75
4.1.	Objetivos.....	80
4.2.	Instrumentação .....	80
4.3.	Resultados e Discussão .....	81
4.3.1.	Implementação da sequência <i>se</i> -HSQMBC-TOCSY .....	81
4.3.2.	Estudos dos fatores que afetam as constantes de acoplamento $^3J_{CH}$ .....	86

4.3.2.1.	Derivados de quinolina .....	86
4.3.2.2.	Pirrolizidinonas.....	95
4.4.	Conclusão.....	98
Capítulo 5	.....	101
Difusão	.....	101
5.	Introdução.....	103
5.1.1.	O experimento de eco de spin .....	103
5.1.2.	Eco de Gradiente .....	105
5.1.3.	Eco estimulado .....	107
5.1.4.	Eco estimulado com gradientes bipolares (BPP-STE) e "eddy current" ou Corrente de Foucault (BPP-LED) .....	108
5.1.5.	O experimento <i>Oneshot</i> .....	109
5.1.6.	DOSY envolvendo a detecção do núcleo de $^{19}\text{F}$ .....	110
5.1.	Objetivos.....	110
5.2.	Instrumentação .....	110
5.3.	Experimentos de difusão com detecção de $^{19}\text{F}$ .....	111
5.4.	Resultados e Discussão .....	111
5.4.1.	Mistura 1: 2-flúorfenol+3-flúoranisol.....	113
5.4.2.	Mistura 2 .....	116
5.4.3.	Uso de DOSY de $^{19}\text{F}$ para a análise de fármacos (degradação do ezetimibe) .....	118
5.5.	Conclusão.....	124
ANEXOS A (Capítulo 2)	.....	127
ANEXOS B (Capítulo 3)	.....	141
ANEXOS C (Capítulo 4)	.....	147
ANEXOS D (Capítulo 5)	.....	165



## LISTA DE ABREVIATURAS

BD – Bonding

BIRD - Bilinear Rotation Decoupling

BPP – Bipolar Pulse

CCSD – Coupled Clusters Single and Doubles

COSY – Correlation Spectroscopy

DIPSI – Decoupling In the Presence of Scalar Interactions

DOSY – Diffusion Ordered Spectroscopy

DSO – Spin órbita diamagnético

FC – Contato de Fermi

FCCP-CMO – Fermi Contact Coupling Pathways using Canonical Molecular Orbitals

FID – Free Induction Decay

HETCOR – Heteronuclear Correlation

HMBC – Heteronuclear Multiplo Bond Correlation

HMQC – Heteronuclear Multiplo Quantum Coherence

HSQC – Heteronuclear Single Quantum Coherence

HSQMBC – Heteronuclear Single Quantum Multiplo Bond Correlation

INEPT – Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer

IPAP – In-phase (IP) Anti-phase (AP)

$J$  – Constante de acoplamento escalar *spin-spin*

LED – eddy current

LP – “*Lone Pairs*”

NBO – Orbitais Naturais de Ligação

NOE – Nuclear Overhauser Effect ou Efeito Nuclear Overhauser

PEP – Preservation of Equivalent Pathway

PFG – Pulse Field Gradients

PSO – spin órbita paramagnético

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SD – Spin Dipolar

SOPPA – Second–Order Polarization Propagator Approximation

STE – Stimulated Echo

TBI – Triple Resonance Broad Band Probe

TOCSY – Total Correlation Spectroscopy

TS – *“Through space”*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplo mais simples de sequência de pulsos. ....	5
Figura 2. Efeito de um campo $B_1$ aplicado ao longo de y sobre um spin alinhado inicialmente ao longo de z. <sup>3</sup> .....	6
Figura 3. Perfis de excitação de pulsos seletivos: retangular e gaussiano.....	6
Figura 4. Sequência de pulsos básica de um experimento HSQC com os produtos de operadores. ....	8
Figura 5. Sequências de pulsos (a) HMQC e (b) “low pass filter” HMBC. ....	10
Figura 6. Sequência de pulsos do experimento HSQC-TOCSY. Para o TOCSY se utiliza o trem de pulsos DIPSI.....	12
Figura 7. Representação esquemática da metodologia IPAP. ....	13
Figura 8. Sequência de pulso HSQC-TOCSY-IPAP utilizada para determinar os acoplamentos $^nJ_{CH}$ .....	13
Figura 9. Correlação envolvendo o carbono carbonílico $C_1$ e o hidrogênio $H_4$ da molécula de crotonato de etila.....	14
Figura 10. Sequência de pulso do experimento 2D IPAP-HSQMBC.....	15
Figura 11. Sequência de pulsos do experimento de sel-HSQMBC-TOCSY. O pulso de $180^\circ$ seletivo aplicado no canal do próton pode ser aplicado para uma única ou para múltiplas frequências. Dois experimentos independentes IP ( $\psi=y$ , $\epsilon=on$ ) e AP ( $\psi=x$ , $\epsilon=off$ ) devem ser realizados.....	16
Figura 12. Mecanismos de transmissão da constante de acoplamento escalar J. a) Campo magnético do núcleo induz a uma polarização de spin no sistema eletrônico que é transferida através das ligações químicas para o outro núcleo. b) Momento magnético induzido no sistema eletrônico via o spin eletrônico. O núcleo induz uma densidade de corrente com um momento magnético associado que será transmitido de um núcleo para outro através das ligações químicas. ....	20
Figura 13. Interação perturbativa acceptor-doador, envolvendo um orbital ocupado $\sigma$ e um orbital vazio $\sigma^*$ .....	23
Figura 14. Alguns sistemas onde são observados acoplamentos escalares “através do espaço”.....	29

Figura 15. Estruturas de algumas das fluoroximas estudadas. ....	29
Figura 16. Orbitais ligantes e antiligantes gerados pela sobreposição de dois pares de elétrons livres dos núcleos magnéticos A e B (A e B = $^{19}\text{F}$ , $^{15}\text{N}$ , $^{31}\text{P}$ , entre outros). ....	31
Figura 17. Fluoroximas E/Z derivadas da cis/trans-2-F-4-tBu-ciclohexanona e da 2-F-acetofenona. ....	32
Figura 18. Espectro de RMN de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$ para a oxima derivada da 2-F-acetofenona. ....	38
Figura 19. A regressão exponencial foi realizada utilizando valores da constante de acoplamento onde a separação entre F-N é $\geq 4$ ligações, pois neste caso a transmissão via espaço é máxima e a via ligação é mínima. ....	42
Figura 20. Termo de Contato de Fermi (FC) em função da variação do ângulo diedro $\text{C}_1\text{-C}_2\text{-C}_3\text{-N}$ . ....	44
Figura 21. Densidade eletrônica ( $D_{ij}$ ) vs $J^{\text{FC}}$ (a) B3LYP/EPR-III; (b) SOPPA(CCSD)/EPR-III e $D_{ij}$ vs $J^{\text{TOTAL}}$ (c) B3LYP/EPR-III e (d) SOPPA(CCSD)/EPR-III. ....	47
Figura 22. Termo de contato de Fermi ( $^3J^{\text{FC}}$ ) para a oxima ( <i>E</i> )-cis-2-F-4-t-butil-ciclohexanona (8E) versus ângulo de ligação $\text{C}_2\text{-C}_1\text{-C}_6$ e distância ( $d_{\text{FN}}$ ). ....	49
Figura 23. 2-F-benzaldeído e as duas possíveis orientações para o grupo formila. Representações dos pares de elétrons não ligantes do oxigênio e do flúor. ....	55
Figura 24. Sinal do hidrogênio $\text{H}_f$ obtido do espectro de $^1\text{H}$ do 2-F-benzaldeído; a) benzeno- $\text{d}_6$ , b) experimento com desacoplamento homonuclear dos hidrogênios aromáticos (benzeno- $\text{d}_6$ ); c) DMSO- $\text{d}_6$ e d) experimento com desacoplamento homonuclear dos hidrogênios aromáticos (DMSO- $\text{d}_6$ ). ....	58
Figura 25. Mapa de contorno (HETCOR) $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$ do 2-flúorbenzaldeído em benzeno- $\text{d}_6$ . ....	59
Figura 26. Mapa de contorno (HETCOR) $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$ do 2-flúorbenzaldeído em DMSO- $\text{d}_6$ . ....	59
Figura 27. Variação da sobreposição entre $\text{LP}_2(\text{F})\text{-}\sigma_{\text{C-H}_f}$ e $\sigma_{\text{C-F}}\text{-}\sigma_{\text{C-H}_f}$ versus ângulo de ligação do 2-fluorobenzaldeído (orientação sin). ....	62
Figura 28. (a) Configuração para a ligação C-F expressa no sistema de eixo principal PSO (X,Y,Z). (b) Sistema de coordenadas cartesianas para cada núcleo acoplado de flúor ( $\xi$ , $\psi$ , $\zeta$ ). ....	64

Figura 29. CMO 20 e CMO 24 referentes ao grupo formila na orientação anti. ....	66
Figura 30.(a,b)Sistemas modelo escolhidos para investigar diferentes mecanismos de transmissão para o termo FC para a constante de acoplamento $J_{FH}$ .....	68
Figura 31. Variação de ${}^F C J_{FH2}$ para o sistema modelo metano – F-H (modelo que mimetiza o confôrmero anti) para diferentes arranjos do dímero. ....	69
Figura 32. “Plots” dos CMOs 8, 9 e 12 para o sistema modelo flúormetano-formaldeído. ....	71
Figura 33. Estruturas do norbornano e norborneno com os valores dos acoplamentos vicinais ${}^3 J_{HH}$ . ....	76
Figura 34. Determinação da estereoquímica E/Z da Scytonemin via ${}^3 J_{CH}$ . ....	77
Figura 35. 2-X-4-t-butilcicloexanonas e 2-X-4-t-butilcicloexanóis (X=H, Me, F, Cl e Br) utilizados como compostos modelo. ....	78
Figura 36. Comparação da constante de acoplamento ${}^3 J_{C2H6eq}$ versus o ângulo interno em: a) trans-2-X-4-t-butilcicloexanonas; b) cis-2-X-4-t-butilcicloexanones (X = H, Me, F, Cl, Br). ....	79
Figura 37. Valores de ${}^3 J_{CH}$ para a 6-Cl-2-Me-quinolina. ....	79
Figura 38. Quinolinas e pirrolizidinonas utilizadas no estudo de ${}^3 J_{CH}$ .....	80
Figura 39. Sequência de pulsos utilizada para calibração do pulso de refocalização seletiva. ....	82
Figura 40. Exemplo de otimização do pulso de refocalização seletiva ( ${}^1 H$ em 1,29 ppm). ....	83
Figura 41. Mapas de contorno (a) IP e (b) AP obtidos a partir da excitação seletiva do ${}^1 H$ em 1,89 ppm. Duração do pulso: 40,1 ms; Tempo de mistura:60ms.....	84
Figura 42. Slice do $C_3$ (142 ppm) a partir do experimento sel-HSQMBC-TOCSY com excitação seletiva do ${}^1 H$ em 1,89 ppm. Duração do pulso: 40,1ms; Tempo de mistura: 60ms.....	85
Figura 43. sel-HSQMBC-TOCSY (IP) em benzeno- $d_6$ para 2-Me-6-Br-quinolina com refocalização seletiva do $H_5$ (7,52 ppm). Foi utilizado como pulso de refocalização seletiva (p12) o Gaus1_180r.1000, cuja duração foi de 67,8 ms; o tempo de mistura do TOCSY foi 60 ms.....	87

Figura 44. Projeção 1D da região do carbono C <sub>6</sub> referente ao acoplamento com os hidrogênios H <sub>5</sub> , H <sub>7</sub> e H <sub>8</sub> da 2-Me-6-Br-quinolina obtidos do experimento sel-HSQMBC-TOCSY (IP) com refocalização seletiva do H <sub>5</sub> (7,52 ppm). .....	88
Figura 45. Projeção 1D da região do carbono C <sub>2</sub> referente ao acoplamento com os hidrogênios H <sub>3</sub> e H <sub>4</sub> da 2-Me-6-Br-quinolina obtidos do experimento sel-HSQMBC-TOCSY (IP) com refocalização seletiva do H <sub>3</sub> (6,62 ppm). .....	89
Figura 46. Projeção 1D da região do carbono C <sub>10</sub> referente ao acoplamento com os hidrogênios H <sub>3</sub> e H <sub>4</sub> de 2-Me-6-Br-quinolina obtidos do experimento sel-HSQMBC-TOCSY (IP) com refocalização seletiva do H <sub>3</sub> (6,62 ppm). .....	90
Figura 47. Sequência de pulsos básica para a medida de coeficientes de difusão – eco de spin. ....	104
Figura 48. Sequência de Pulsos para induzir um eco de gradiente. ....	105
Figura 49. Efeito, na magnetização transvesa, da aplicação de gradientes (G <sub>z</sub> ) de versus tempo. A aplicação do primeiro gradiente defasa a magnetização, já a aplicação de um gradiente reverso de mesma duração e intensidade que o primeiro faz com que surja o eco (refocalização dos spins). ....	106
Figura 50. Sequência de pulsos com eco estimulado (STE). ....	107
Figura 51. Sequências de pulsos melhoradas derivadas da sequência eco estimulado. ....	108
Figura 52. Sequência de pulsos DOSY Oneshot. ....	109
Figura 53. Sequência de pulsos <sup>19</sup> F DOSY baseada na sequência de eco estimulado ( <sup>1</sup> H-DOSY), incluindo desacoplamento de <sup>1</sup> H. Δ: tempo de difusão, δ é a “força” do gradiente. ....	111
Figura 54. Curvas de decaimento simuladas: rampa de gradiente 10 a 90% em 9 passos para os mesmos Δ e δ, mas considerando três coeficientes de difusão. ....	112
Figura 55. Decaimento dos sinais da mistura de 2-fluorofenol e 3-fluoroanisol a 25°C em DMSO-d <sub>6</sub> obtidos com a sequência Oneshot- <sup>1</sup> H. ....	113
Figura 56. Espectro DOSY utilizando a sequência Oneshot- <sup>1</sup> H para uma amostra contendo 2-fluorofenol e 3-fluoroanisol a 25°C em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	114
Figura 57. Decaimento dos sinais da mistura de 2-fluorofenol e 3-fluoroanisol a 25°C em DMSO-d <sub>6</sub> obtidos com a sequência Oneshot- <sup>19</sup> F{ <sup>1</sup> H}. ....	115

Figura 58. Espectro DOSY utilizando a sequência Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ para uma amostra contendo 2-fluorofenol e 3-fluoroanisol a 25°C em DMSO- $d_6$ . .....	115
Figura 59. Mistura de flúorbenzenos preparada em 0,8mL de DMSO- $d_6$ . .....	116
Figura 60. Decaimento dos sinais da mistura 2 a 25°C em DMSO- $d_6$ obtidos com a sequência Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ . .....	117
Figura 61. Espectro DOSY utilizando a sequência Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ para a mistura 2 a 25°C em DMSO- $d_6$ . .....	117
Figura 62. Espectro Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ para uma amostra de ezetimibe recém-preparada em DMSO- $d_6$ a 25°C. .....	119
Figura 63. Espectro Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ do ezetimibe ( $\delta^{19}\text{F} = -116,4\text{ppm}$ e $-118,7\text{ppm}$ ), $D = 2,08 \pm 0,02 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ e do produto de degradação ( $\delta^{19}\text{F} = -115,5\text{ppm}$ e $-119,4\text{ppm}$ ) $D = 2,17 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ . .....	120
Figura 64. Espectros de RMN de $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ para uma série de zero a 270 min. adquiridos em intervalos de 30 min. para uma amostra de ezetimibe em DMSO- $d_6$ a 70°C. ....	121
Figura 65. Experimento Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ realizado a 25°C (com a projeção 1D do espectro de $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ ) no topo) para a amostra de ezetimibe em DMSO- $d_6$ submetida a uma temperatura de 70°C por 270 min. ....	122
Figura 66. Experimento Oneshot $^{19}\text{F}$ (470,59MHz) realizado a 25°C (com a projeção 1D do espectro de $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ ) no topo) para a amostra de ezetimibe em DMSO- $d_6$ submetida a uma temperatura de 70°C por 270 min e deixada à temperatura ambiente por duas semanas. ....	123



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Momento de dipolo, diferença de energia e fração molar para os confômeros das oximas 10E e 10Z no vácuo, $\text{CDCl}_3$ e em DMSO. ....	39
Tabela 2. Constante de acoplamento ${}^n J_{NF}$ (Hz) experimental e teórica (B3LYP/EPR-III) para as flúor oximas 3-10. ....	40
Tabela 3. Constante de acoplamento ${}^n J_{NF}$ (Hz) experimental e teórica (SOPPA(CCSD)/EPR-III) para as flúor oximas 3-10. ....	41
Tabela 4. Ocupância dos pares de elétrons do flúor ( $\text{LP}_{1,2,3}$ ) e do nitrogênio para as fluoroximas 3-9 em B3LYP/EPR-III. ....	44
Tabela 5. Caráter s % dos pares de elétrons do flúor ( $\text{LP}_{1,2,3}$ ) e do nitrogênio para as fluoroximas 3-9 em B3LYP/EPR-III. ....	45
Tabela 6. Densidade eletrônica ponderada pela matriz overlap, caráter s e ocupância dos pares de elétrons do flúor e do nitrogênio para as fluoroximas 3-9. ....	46
Tabela 7. Energias obtidas para o 2-fluorobenzaldeído para as orientações sin- e <i>antiperiplanar</i> do grupo formila e fração molar para a forma sin calculada com o nível de teoria MP2/aug-cc-pVTZ. ....	60
Tabela 8. Termos de Ramsey e $J_{FH}^{\text{TOTAL}}$ (Hz) calculado sem SOPPA(CCSD)/EPR-III para os confômeros sin- e <i>antiperiplanar</i> de 2-flúorbenzaldeído. ....	61
Tabela 9. CMOs expandidos em termo de NBO's que mais contribuem para a transmissão do termo FC do $J_{FH}$ no sistema modelo formaldeído-flúormetano. ....	70
Tabela 10. Constantes de acoplamento ( ${}^n J_{CH}$ ) em Hz para o crotonato de etila determinados através do espectro de RMN de ${}^{13}\text{C}$ - ${}^1\text{H}$ e dos experimentos de HSQC-TOCSY-IPAP e sel-HSQMBC-TOCSY. ....	86
Tabela 11. Constantes de acoplamento ${}^n J_{CH}$ (Hz) para a 2-Me-6-X-quinolina (X=F, Cl e Br). Os valores experimentais foram mensurados em benzeno- $\text{d}_6$ ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) utilizando a sequência de pulsos sel-HSQMBC-TOCSY e os calculados, entre parênteses, foram obtidos com o nível de teoria B3LYP/EPR-III utilizando a estrutura de mínimo otimizada em MP2/aug-cc-pVDZ. ....	91
Tabela 12. Interações hiperconjugativas (kcal/mol) envolvendo o caminho do acoplamento ${}^3 J_{CH}$ para a 2-Me-6-X-quinolina (X=F, Cl e Br). ....	92

Tabela 13. Constante de acoplamento ${}^3J_{CH}$ experimental (preto) e teórica (azul), ocupância dos orbitais e % de caráter s dos carbonos ao longo do caminho do acoplamento para 6-Br-2-Me-quinolina..	93
Tabela 14. Constante de acoplamento ${}^3J_{CH}$ experimental, ocupância dos orbitais e % de caráter s dos carbonos ao longo do caminho do acoplamento para 6-Br-2-metóxinaftaleno.	94
Tabela 15. Ângulos diedros $H_9-C_9=C_2-C_3$ ( $\varphi$ ) e $H_9-C_9=C_2-C_1$ ( $\theta$ ) e ${}^3J_{C_3H_9}$ e ${}^3J_{C_1H_9}$ experimentais e teóricos em Hz para <i>E</i> - e <i>Z</i> - <i>p</i> -NO <sub>2</sub> -benzilideno-pirrolizidinonas 25-( <i>E</i> ) e ( <i>Z</i> ).	96
Tabela 16. Principais interações hiperconjugativas (kcal/mol) envolvendo o caminho dos acoplamentos ${}^3J_{C_1H_9}$ e ${}^3J_{C_3H_9}$ e % de caráter s dos carbonos ( $C_3$ e $C_1$ ) para os derivados de pirrolizidinonas.	97
Tabela A1. Constante de acoplamento ${}^nJ_{NF}$ (Hz) experimental e teórica (B3LYP/6-311++G(d,p)) e distância ( $d_{NF}$ ) em ângstrom (Å) experimental e calculada (B3LYP/aug-cc-pVTZ) para as flúor oximas 3-9.	139
Tabela A2. Constante de acoplamento ${}^nJ_{NF}$ (Hz) experimental e teórica (SOPPA(CCSD)/6-311++G(d,p)) para as flúor oximas 1-7.	140
Tabela B1. Expansão dos CMOs em termos de NBOs, utilizando o programa NBO 5.0, que contribuem para a transmissão da constante de acoplamento $J_{FH}$ em 2-F-benzaldeído.	145

# Capítulo 1

## **Conceitos gerais: Constante de acoplamento e Teoria de Orbitais Naturais de Ligação (NBO)**



## 1. Ressonância Magnética Nuclear

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma ferramenta poderosa muito utilizada para a determinação da estereoquímica relativa<sup>1</sup> ou absoluta de compostos orgânicos e,<sup>2</sup> também, na investigação da estrutura, dinâmica e cinética química de uma vasta gama de sistemas biológicos.

O fenômeno básico da RMN é similar ao de outras formas de espectroscopia, ou seja, é necessária a existência de dois ou mais estados que diferem em energia. No caso da RMN, núcleos cujo número quântico de spin ( $I$ ) é diferente de zero possuem um momento angular de spin ( $I$ ) e, conseqüentemente, um momento de dipolo magnético nuclear ( $\mu$ ) capaz de interagir com o campo magnético externo ( $B_0$ ) dando origem a estados com diferentes energias. O momento angular de spin é quantizado e seu valor em módulo pode ser obtido através da **Equação 1**.<sup>3</sup>

$$\vec{I} = \frac{h}{2\pi} \sqrt{I(I+1)} \quad (1)$$

Em geral estamos mais interessados na componente z do momento angular de spin, esta é restrita a valores inteiros de  $\hbar$  que vão de  $-I$  a  $+I$ . Desse modo, núcleos cujo  $I = \frac{1}{2}$  possuem apenas dois momentos angulares  $\vec{I}_z = +\frac{\hbar}{2}$  ou  $\vec{I}_z = -\frac{\hbar}{2}$ .<sup>3</sup>

O momento de dipolo magnético e o momento angular de spin são grandezas diretamente proporcionais  $\vec{\mu} = \gamma \vec{I}$ , onde a constante de proporcionalidade ( $\gamma$ ) é denominada de razão magnetogírica e é característica de cada núcleo.

A necessidade de um campo magnético externo para a criação dos estados fundamental e excitado(s) faz com que a frequência característica das transições não seja fixa, mas dependentes do campo magnético aplicado, daí a existência de equipamentos cuja frequência do núcleo  $^1\text{H}$  ("referência") é 600 ou 800 MHz, por exemplo. Além disso, a RMN se difere das demais técnicas espectroscópicas quanto ao tempo de vida do estado excitado que é cerca de  $10^9$  vezes mais longo que o tempo de vida dos estados excitados eletrônicos. Tal característica traz alguns benefícios à RMN tais como: *i*) linhas finas; *ii*) manipulação dos estados excitados em experimentos multidimensionais e *iii*) estudar movimentos moleculares que ocorrem na escala de picosegundos a segundos.<sup>3</sup>

A possibilidade de manipulação de estados excitados faz da RMN uma poderosa ferramenta para a análise de diversas características do composto em estudo. É possível inferir sobre o ambiente do núcleo (deslocamento químico); determinar sua conectividade (acoplamento escalar); proximidade espacial (acoplamento dipolar); tamanho (relaxação e difusão). No decorrer dessa tese será dada ênfase a dois parâmetros muito importantes em ressonância magnética nuclear - **constantes de acoplamento e coeficiente de difusão translacional**.

As constantes de acoplamento compreendem 3 capítulos da presente tese, logo, será dada uma breve introdução e as demais discussões serão realizadas nos capítulos 2-4. Já os experimentos de difusão serão discutidos no capítulo 5.

## 1.1. Constante de Acoplamento

A constante de acoplamento escalar *spin-spin* ( $J$ ) é definida como a interação entre dois núcleos magnéticos, mediados pelos elétrons. Devido à sua sensibilidade aos efeitos locais de distribuição eletrônica, ângulos de ligação e efeitos dos substituintes, esta é considerada um importante parâmetro em RMN.

Com o desenvolvimento de equipamentos de campos mais altos e novas sequências de pulsos, que permitiram a realização de experimentos de RMN em duas e três dimensões (2D e 3D, respectivamente), tornou-se possível a determinação das constantes de acoplamento que fizeram da RMN uma poderosa ferramenta para a análise da conformação e da estereoquímica de moléculas orgânicas complexas.<sup>4,5,6,7,8,9,10,11,12,13</sup>

Independentemente da natureza das moléculas (orgânica, organometálica ou inorgânica) ou do seu tamanho (moléculas pequenas, peptídeos ou proteínas), a constante de acoplamento escalar é uma ferramenta chave para o estudo estrutural. Até o início da década de 60 do século passado, acreditava-se que a transmissão do acoplamento escalar ocorria somente através dos elétrons envolvidos em ligações covalentes,<sup>14</sup> porém, um número significativo de estudos experimentais e teóricos, mostrou que existe uma transmissão da informação nuclear operando através do espaço, “*Through Space* (TS)”. É importante ressaltar que não se deve confundir o

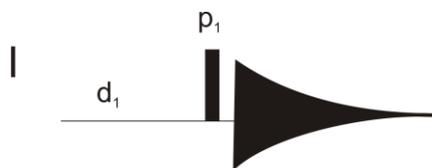
acoplamento escalar via espaço com acoplamento dipolar, enquanto o primeiro é transmitido através dos elétrons e abrange uma faixa muito grande de valores, que varia de 4 Hz até 800 Hz, dependendo dos núcleos envolvidos;<sup>15, 16</sup> o último é transmitido por interações dipolares e apresenta um valor médio nulo em soluções isotrópicas.

## 1.2. Princípios de RMN pulsada: Tipos de pulsos

### 1.2.1. Pulsos duros *versus* Pulsos seletivos

Na ausência de um campo magnético os spins podem adotar todas as orientações possíveis, porém quando submetidos a um campo magnético externo ( $B_0$ ) tendem a se alinhar com esse campo criando uma magnetização resultante (por convenção denominada  $M_z$ ). No entanto, para que essa magnetização resultante possa ser detectada é necessário que ela possua componentes ao longo do plano transversal ( $xy$ ). Na era da RMN pulsada, a forma como isso é realizado é através da aplicação de um campo magnético oscilante ( $B_1$ ), perpendicular a  $B_0$ .

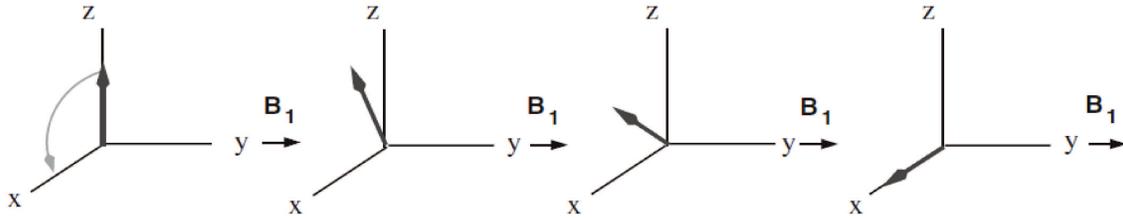
Em um referencial girante, quando o campo  $B_1$  está ligado, a magnetização ao longo de  $z$  “enxerga” um campo aparentemente estático e *precessa* ao seu redor até que este seja desligado (origem do nome ressonância magnética pulsada e do fato de nos referirmos a este campo magnético oscilante como pulso). O exemplo mais simples de ressonância magnética pulsada consiste de um pulso ao longo de  $x$  ou  $y$  ( $p_1$ ) seguido de um período de aquisição, ver **Figura 1**.



**Figura 1.** Exemplo mais simples de sequência de pulsos.

No experimento mostrado na Fig. 1, o pulso de R.F ( $p_1$ ) é aplicado de forma que todos os spins de um dado isótopo sejam excitados “igualmente” (excitação não seletiva). O efeito de  $p_1$  sobre a magnetização dependerá da sua potência que está intimamente relacionada à sua banda de excitação ( $\omega_1 = \gamma B_1$ ) e da sua duração ( $\tau_p$ ), ou

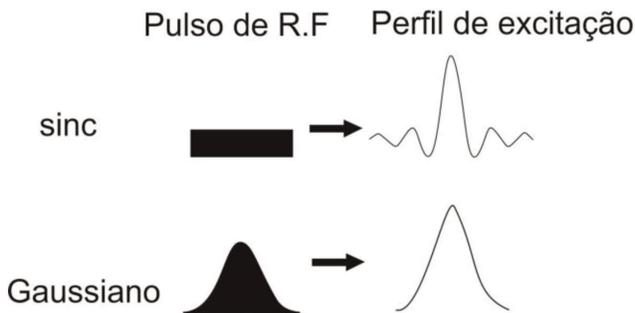
seja, um pulso de duração  $\tau_p$  aplicado com uma banda de excitação  $\gamma B_1$  deslocará a magnetização de um ângulo  $\theta = \gamma B_1 \tau_p$  (ângulo de nutação) em relação ao eixo z (Figura 2).<sup>3</sup>



**Figura 2.** Efeito de um campo  $B_1$  aplicado ao longo de y sobre um spin alinhado inicialmente ao longo de z.<sup>3</sup>

Nota-se, através da equação acima que a banda de excitação de um pulso ( $\omega_1$ ) é inversamente relacionada à duração deste, ou seja, para diminuirmos a banda de excitação ( $\omega_1 - \Delta\omega_1$ ) mantendo o mesmo ângulo de nutação será necessário aumentar a sua duração ( $\tau_p + \Delta\tau_p$ ); este é o princípio da “excitação seletiva”.

É importante destacar que cada tipo de pulso possui um perfil de excitação característico: pulsos retangulares, por exemplo, possuem um perfil de excitação com algumas ondulações que vão muito além do seu centro, enquanto os pulsos gaussianos por não possuírem tais ondulações ficam mais restritos ao centro de sua aplicação, ver **Figura 3**. Devido a essas características os pulsos retangulares são preteridos pelos pulsos gaussianos em sequências de pulso onde a excitação seletiva de sinais com deslocamentos químicos próximos é desejada.



**Figura 3.** Perfis de excitação de pulsos seletivos: retangular e gaussiano.

### 1.3. Técnicas de correlação heteronuclear

No método de detecção inversa o núcleo de menor razão giromagnética  $\gamma$  é detectado de forma indireta, os experimentos são realizados de tal maneira que a magnetização inicial do núcleo  $^1\text{H}$  é transferida via um INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer) para o heteronúcleo ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{31}\text{P}$ , etc...).<sup>17</sup>

#### 1.3.1. Experimentos de detecção inversa. Correlações a uma ligação: HSQC

O experimento de HSQC<sup>18</sup> (Heteronuclear Single Quantum Coherence) é uma das ferramentas mais importantes para o estudo de moléculas em solução, constituindo a base de muitos experimentos de RMN multidimensional, desenvolvidos para o estudo de moléculas pequenas, médias em abundância natural e de biomoléculas marcadas isotopicamente, em particular proteínas e nucleotídeos.<sup>19</sup>

A sequência de pulsos de um experimento HSQC é baseada em um bloco de transferência de magnetização conhecido como INEPT<sup>17a</sup>, muito utilizado em sequências de pulsos multidimensionais.

Na **Figura 4** está apresentada a sequência de pulsos básica de um experimento HSQC, onde na primeira parte, INEPT, temos:

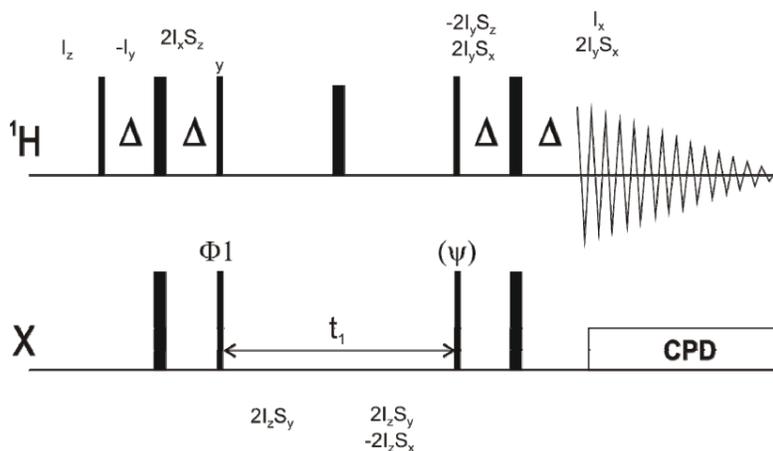
- i) Evolução do acoplamento  $^1J_{XH}$  durante o período  $2\Delta$  (onde  $\Delta$  é  $1/4J_{XH}$ );
- ii) Re-focalização do deslocamento químico de  $^1\text{H}$  através da aplicação de um pulso de  $180^\circ$  na metade do período de evolução (*eco de spin*);
- iii) Transferência de magnetização do  $^1\text{H}$  para o núcleo X durante a aplicação simultânea de dois pulsos de  $90^\circ$  em ambos os núcleos ( $2I_xS_z \rightarrow 2I_zS_y$ ).

Durante o período de evolução  $t_1$  apenas o deslocamento químico do núcleo X evolui, o acoplamento  $^1J_{XH}$  é re-focalizado pelo pulso de  $180^\circ$  aplicado no canal de  $^1\text{H}$  na metade do período de evolução. É importante ressaltar que durante o período  $t_1$ , variável, é criada a “segunda dimensão”.

Na parte final da sequência, retro-INEPT:

- iv) A magnetização é transferida do núcleo X para o  $^1\text{H}$  durante a aplicação dos pulsos de  $90^\circ$  em ambos os núcleos;
- v) Evolução do acoplamento durante o período  $2\Delta$  e re-focalização do deslocamento químico de  $^1\text{H}$ .

Durante o período de aquisição ( $t_2$ ) ocorre evolução do deslocamento químico de  $^1\text{H}$  e, caso o experimento seja realizado sem desacoplamento, de  $^1J_{XH}$ . É importante ressaltar, que uma vez que a magnetização final é uma magnetização  $I_x$  em fase, é possível a aplicação de desacoplamento durante a aquisição de forma a obter uma simplificação espectral e um ganho de sensibilidade.



**Figura 4.** Sequência de pulsos básica de um experimento HSQC com os produtos de operadores.

A magnetização, indesejada, proveniente dos prótons ligados a  $^{12}\text{C}$  ou  $^{14}\text{N}$  pode ser eliminada aplicando ciclagem de fase ou gradientes de campo.

A importância de experimentos como o HSQC, onde o heteronúcleo é detectado de forma indireta, fica bastante clara ao analisar a **Equação 2**. É possível notar que em experimentos heteronucleares, é altamente vantajoso do ponto de vista da sensibilidade, iniciar uma sequência excitando o hidrogênio, seguido de transferência de polarização para o heteronúcleo e subsequente transferência reversa de polarização e detecção em hidrogênio.<sup>20</sup>

$$\frac{S}{N} \alpha \gamma_{ex} \gamma_{det}^{3/2} [1 - \exp(-R_{1,ex} \tau_c)] \quad (2)$$

Vale ressaltar que o experimento de HMQC<sup>21</sup> (**H**eteronuclear **M**ultiplo **Q**uantum **C**orrelation) também é muito utilizado quando se deseja observar correlações a uma ligação e, que a nível prático, o experimento de HMQC tende a ser mais robusto no que diz respeito às imperfeições experimentais ou erros de calibração de pulso, porém o HSQC é a técnica mais indicada para trabalhos onde se requer uma alta resolução (evolução de magnetização monoquântica), além de ser mais favorável às modificações da sequência.

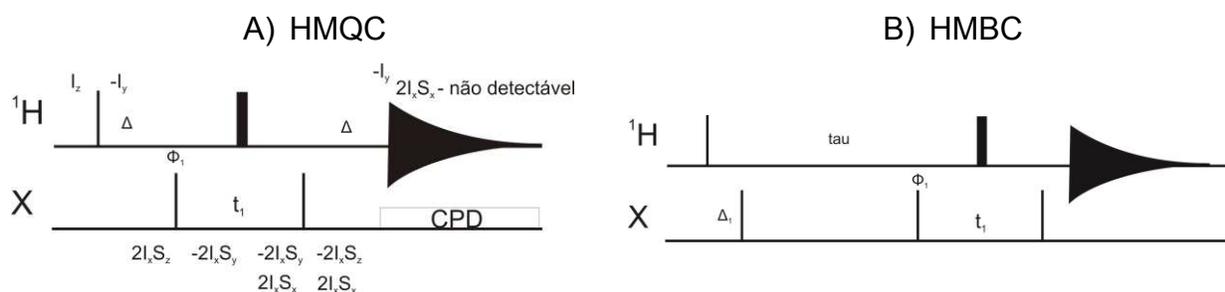
### 1.3.2. Experimentos de detecção inversa. Correlações a longa distância: HMBC

O experimento HMBC<sup>22</sup> (**H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation) é um dos experimentos mais importantes para a elucidação estrutural de moléculas orgânicas pequenas.<sup>23</sup> A sequência de pulsos HMBC é bastante semelhante à sequência HMQC,<sup>21</sup> **Figura 5**, porém apresenta algumas modificações fundamentais:

(a) supressão do período de re-focalização depois da aplicação do primeiro pulso de 90° sobre o heteronúcleo;

(b) manter o acoplamento durante a aquisição (magnetização é antifase durante a aquisição) e;

(c) introdução de um primeiro pulso de 90° que minimiza os sinais provenientes do acoplamento  $^1J_{XH}$  ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  diretamente ligados).



**Figura 5.** Sequências de pulsos (a) HMQC:  $\Delta = \frac{1}{2^1 J_{CH}}$ ;  $\Phi_1 = x, -x$  e (b) “low pass filter”

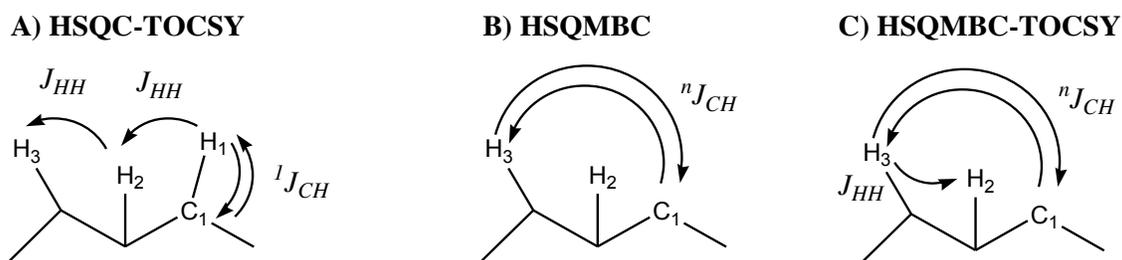
HMBC:  $\Delta_1 = \frac{1}{2^1 J_{CH}}$ ;  $\tau = \frac{1}{2^n J_{CH}}$ ;  $\Phi_1 = x, -x$ .

Um dos grandes problemas do experimento de HMBC é a grande faixa dos valores de  ${}^n J_{XH}$  (de 0 a 30 Hz). Desta forma é recomendado realizar diferentes experimentos com  $\tau$ , otimizado para diferentes valores de  ${}^n J_{XH}$  (normalmente 4,0, 6,0, 8,0 ou 12,0 Hz) para assegurar que se obtenha o máximo de informações possíveis. Porém, esta metodologia pode ser demorada e tediosa.

### 1.3.3. Experimentos de detecção inversa: Medidas de ${}^n J_{CH}$

Apesar do extenso número de técnicas de RMN desenvolvidas para a medida de constantes de acoplamento  ${}^n J_{CH}$ , ainda existem muitas dúvidas no que se refere à escolha do melhor método a ser utilizado e muitas discussões cercam a confiabilidade e a simplicidade da análise dos dados e determinação das constantes de acoplamento.

Dentre estas sequências de pulsos as mais largamente utilizadas são aquelas que consistem de um bloco do tipo HSQC seguido de uma transferência via TOCSY ( ${}^1 J_{CH} + J_{HH}$ ), **esquema 1A**.<sup>24</sup> Embora estas sequências forneçam tanto a magnitude quanto o sinal das constantes de acoplamento  ${}^n J_{CH}$ , independentemente do seu valor, elas se aplicam apenas a carbonos hidrogenados.



**Esquema 1.** Mecanismos de transferência de coerência nos experimentos de A) HSQC-TOCSY,<sup>30</sup> B) HSQMBC<sup>31,32</sup> e C) HSQMBC-TOCSY.

Por outro lado, os experimentos baseados na transferência direta de  ${}^nJ_{CH}$  (**Esquema 1B e 1C**), geralmente falham na medida de constantes de acoplamento pequenas (0-3 Hz), além de não fornecerem informações a respeito do sinal.<sup>24</sup>

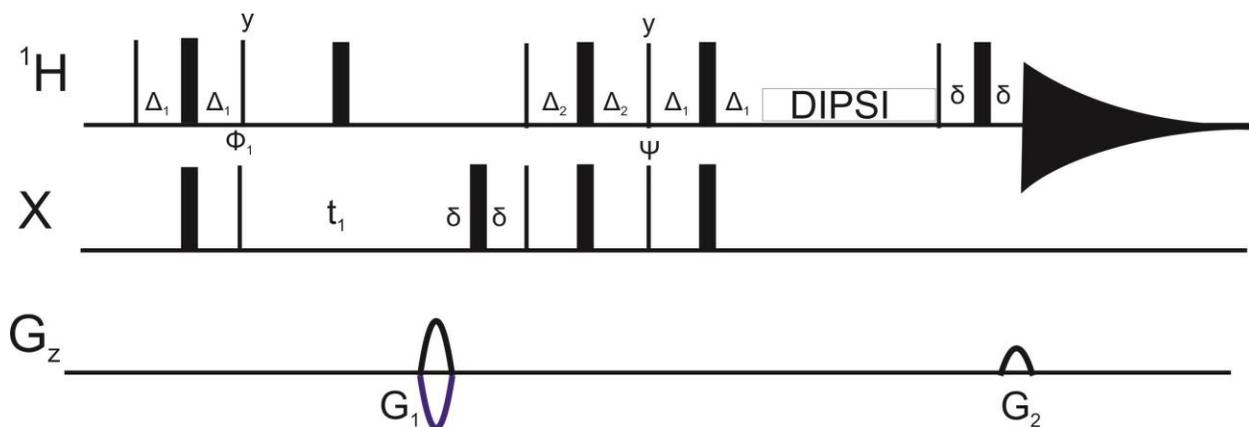
Devido à sua importância, o uso da constante de acoplamento para estudo conformacional,<sup>25, 26, 27, 28, 29</sup> será discutido, nas próximas sessões, a precisão, confiabilidade, simplicidade na análise de dados e determinação das constantes de acoplamento das sequências HSQC-TOCSY<sup>30</sup>, HSQMBC<sup>31, 32</sup> e *sel*-HSQMBC-TOCSY<sup>24</sup>.

### 1.3.4. Experimento de HSQC-TOCSY

O experimento de HSQC-TOCSY,<sup>30</sup> como próprio acrônimo indica, nada mais é que uma combinação de um experimento de HSQC com um bloco de transferência de magnetização homonuclear TOCSY.<sup>33</sup> O primeiro bloco codifica cada próton com relação ao deslocamento químico do heteronúcleo ao qual está diretamente ligado, resolvendo assim muitos problemas de sobreposição. Já o segundo bloco conecta este heteronúcleo com todo o seu subsistema de spin.

A perda de sensibilidade é uma desvantagem dessa técnica em relação ao TOCSY-2D homonuclear. Isso ocorre, pois a magnetização é codificada em relação ao heteronúcleo no primeiro bloco do experimento (HSQC), que no caso de  ${}^{13}\text{C}$  constitui apenas 1% dos carbonos da amostra.

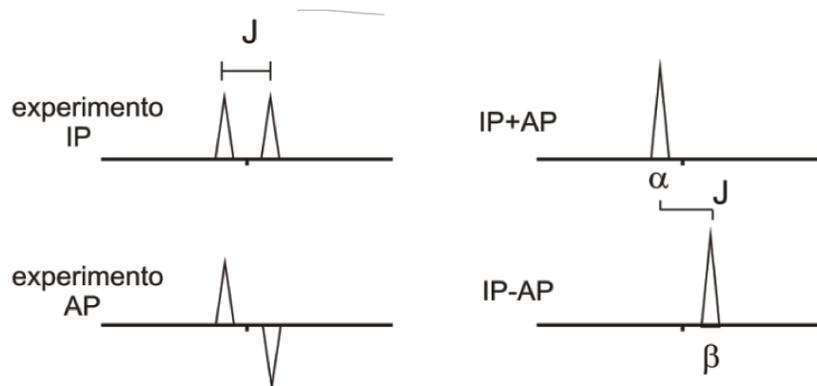
Atualmente, a sequência HSQC-TOCSY que é utilizada de forma rotineira nos laboratórios de RMN, possui pulsos de gradiente, a metodologia PEP<sup>34</sup> e o trem de pulsos DIPSI-2, ver **Figura 6**.<sup>35</sup>



**Figura 6.** Sequência de pulsos do experimento HSQC-TOCSY. Para o TOCSY se utiliza o trem de pulsos DIPSI:  $\Delta = \frac{1}{2^1 J_{CH}}$ ;  $\Phi_1 = x, -x$ ;  $\psi = x, x, -x, -x$ .

#### 1.3.4.1. Experimento de HSQC-TOCSY- IPAP

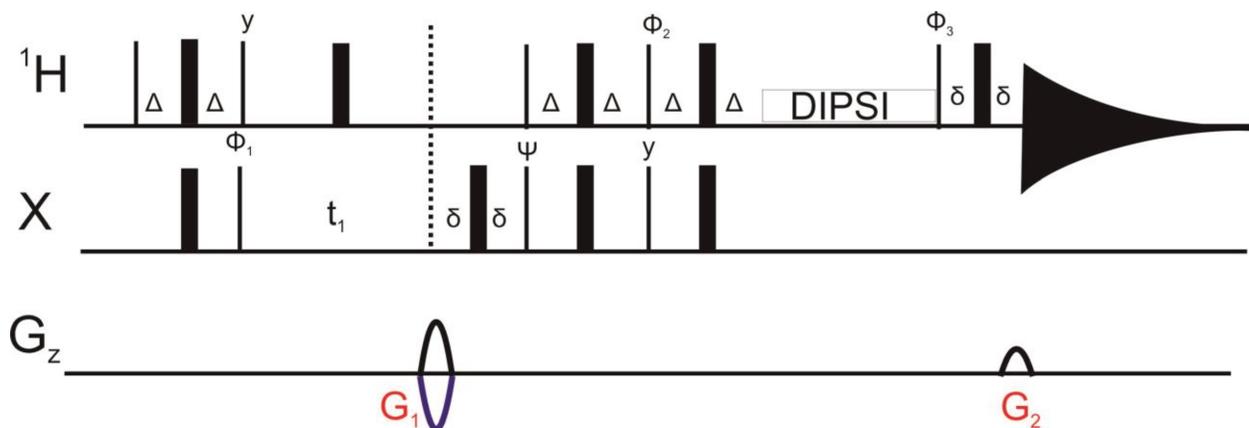
A metodologia IPAP (*InPhase AntiPhase*)<sup>36</sup> requer a obtenção de dois espectros, um com o sinal em fase (IP) e o outro com o sinal em antifase (AP). A adição e subtração dos experimentos na etapa do processamento do FID (Free Induction Decay) resultam na obtenção de dois sub-espectros, onde as componentes  $\alpha$  e  $\beta$  do multipletto, ao longo de F2 ou F1, estão separadas pelo acoplamento escalar  $J$ , ver **Figura 7**.



**Figura 7.** Representação esquemática da metodologia IPAP.

A fim de evitar extensivos problemas de “cross-talk” e, conseqüentemente evitar a introdução de erros nas medidas, é importante que os experimentos IP e AP sejam adquiridos da maneira mais equivalente possível. “Cross-talk” é definido como uma porcentagem remanescente de componentes indesejadas devido ao não cancelamento perfeito durante o procedimento de soma e subtração.<sup>37</sup>

A seqüência de pulsos HSQC-TOCSY-IPAP, **Figura 8**, é um dos experimentos mais comuns que utilizam essa metodologia.

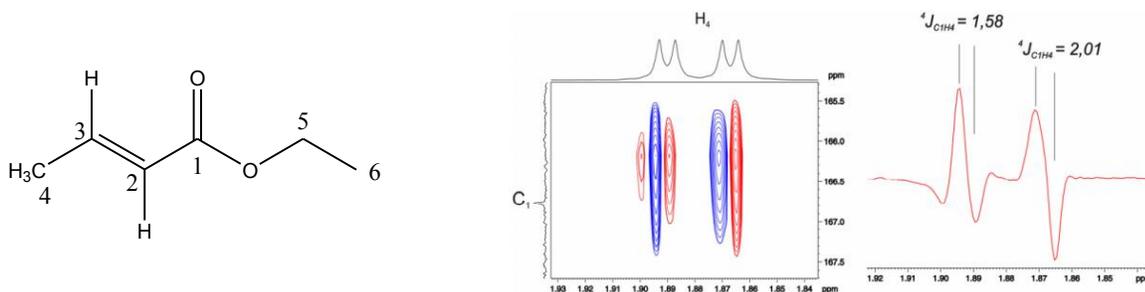


**Figura 8.** Sequência de pulso HSQC-TOCSY-IPAP utilizada para determinar os acoplamentos  ${}^nJ_{CH}$ :  $\Delta = \frac{1}{2 \cdot {}^1J_{CH}}$  ;  $\Phi_1 = x, -x$  ;  $\Psi = x, x - x, -x$  ;  $\Phi_2 = y (IP), x (AP)$  ;  $\Phi_3 = x (IP), y (AP)$ .

Para obter o espectro HSQC-TOCSY-IPAP<sup>38,19</sup> é necessário editar a fase dos pulsos  $\Phi_2$  e  $\Phi_3$ . A aquisição do experimento IP necessita que os pulsos  $\Phi_2$  e  $\Phi_3$  apresentem fase Y e X respectivamente ( $\Phi_2=Y$  e  $\Phi_3=X$ ), enquanto o experimento AP necessita que os mesmos pulsos tenham as fases trocadas  $\Phi_2=X$  e  $\Phi_3=Y$  (Fig.8).

### 1.3.5. Experimento de IPAP-HSQMBC

O experimento HSQMBC<sup>31,32</sup> (Hetero Single Quantum Multiple Bond Connectivity) consiste de uma versão modificada do experimento HSQC, ajustado para determinar acoplamentos a longa distância  ${}^n J_{XH}$ . As primeiras versões dessa sequência possuíam algumas desvantagens como o aquecimento, sequências que usam o bloco CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill)<sup>39</sup> para minimizar a modulação devido aos acoplamentos homonucleares  $J_{HH}$ . Além disso, um dos maiores problemas das primeiras versões da sequência HSQMBC está relacionado à precisão nas medidas das constantes acoplamentos,<sup>40</sup> ver **Figura 9**.

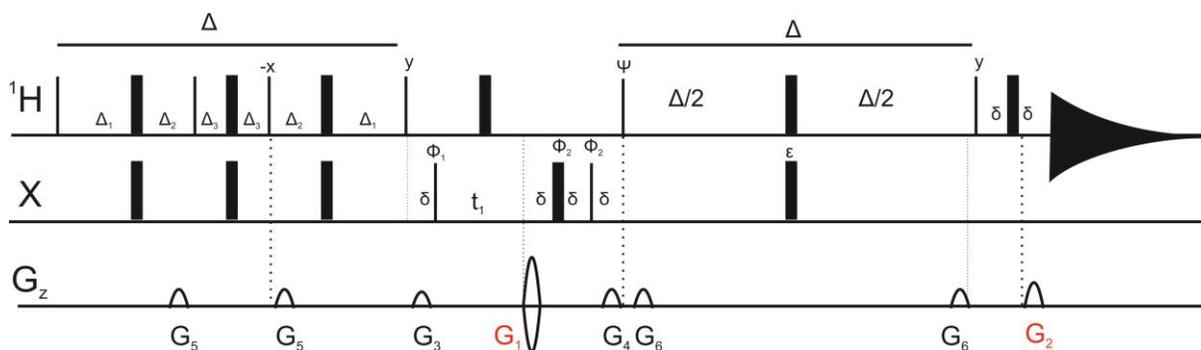


**Figura 9.** Correlação envolvendo o carbono carbonílico  $C_1$  e o hidrogênio  $H_4$  da molécula de crotonato de etila.

Pode-se notar que o mesmo multiplete, proveniente da correlação entre  $C_4$  e  $H_1$ , apresenta diferentes valores de constante de acoplamento. Este problema é descrito na literatura<sup>90</sup> como sendo resultante da medida do acoplamento de um sinal em antifase sendo necessária a realização de um ajuste (“*fitting*”) para uma medida mais confiável. No entanto, a aplicação do ajuste nem sempre é uma tarefa trivial, pois a

precisão da medida depende tanto da forma do multipletto, quanto da resolução do sinal do  $^1\text{H}$  o qual se pretende determinar a constante de acoplamento.

Na tentativa de superar esses problemas uma versão modificada da sequência, IPAP-HSQMBC<sup>32</sup> (**Figura 10**), foi proposta a fim de facilitar a medida das constantes de acoplamento à longa distância. Neste experimento os efeitos da modulação  $J_{HH}$  são menores, pois são compensados no processo de adição/subtração dos dados em fase (IP) e antifase (AP).



**Figura 10.** Sequência de pulso do experimento 2D IPAP-HSQMBC.

Esta sequência é baseada na G-BIRD-HSQMBC<sup>41</sup>, onde um período de refocalização adicional foi introduzido antes da aquisição para obter os dados complementares IP e AP,<sup>42</sup> que são obtidos quando  $\epsilon=on$  e *off* respectivamente.

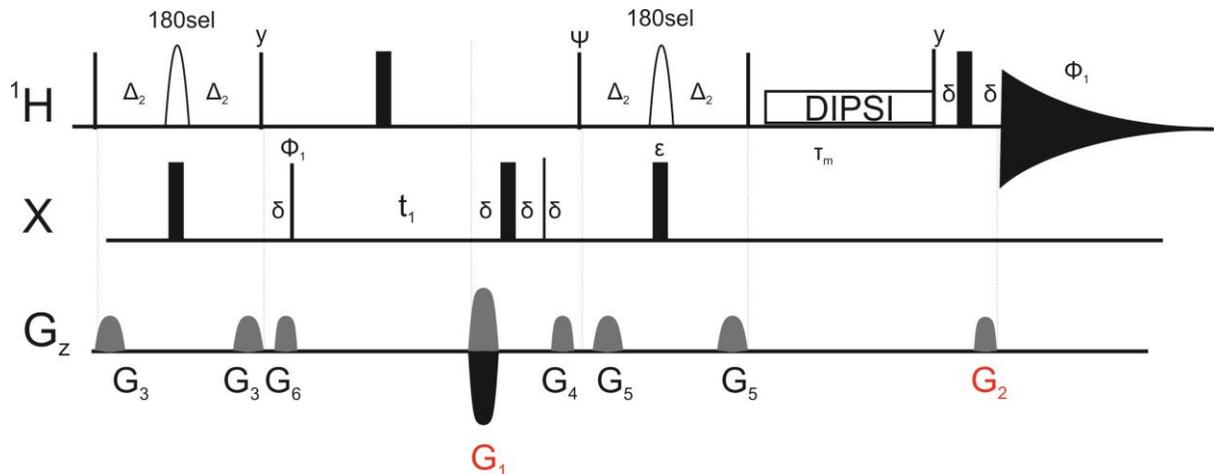
É importante ressaltar que embora esta sequência possa ser utilizada para a determinação de constantes de acoplamento tanto em carbonos protonados como não protonados, esta ainda sofre com problemas de "cross-talk" devido a não equivalência entre os experimentos IP e AP. Além disso, esta não fornece informações a respeito do sinal do acoplamento.

### 1.3.6. Experimento de HSQMBC-TOCSY-IPAP com pulso seletivo

Como mencionado anteriormente, a sequência de pulsos HSQC-TOCSY-IPAP é fornece tanto a magnitude quanto o sinal das constantes de acoplamento, porém é restrita a carbonos hidrogenados. Já sequências como HSQMBC<sup>31</sup> e IPAP-HSQMBC<sup>32</sup>

tipicamente falham na medida de constantes de acoplamento pequenas (0-3 Hz) e não fornecem informações a respeito do sinal.<sup>24</sup>

Recentemente Parella e colaboradores<sup>24</sup> desenvolveram uma sequência de pulsos que consiste em uma modificação do experimento de HSQC-TOCSY-IPAP<sup>38,19</sup>. Nesta sequência os pulsos de 180° no bloco de INEPT foram substituídos por pulsos seletivos, de forma que a refocalização do  $^nJ_{CH}$  é seletiva e não mais "broadband". Além disso, os tempos nos quais a magnetização é deixada evoluir sob influência do acoplamento heteronuclear ( $\Delta$ ) são ajustados para a evolução dos acoplamentos a longa distância ( $^nJ_{CH}$ ) e são aplicados gradientes de igual magnitude e fase antes e após os pulsos de 180° (**Figura 11**).



**Figura 11.** Sequência de pulsos do experimento de *sel*-HSQMBC-TOCSY. O pulso de 180° seletivo aplicado no canal do próton pode ser aplicado para uma única ou para múltiplas frequências. Dois experimentos independentes IP ( $\psi=y$ ,  $\epsilon=on$ ) e AP ( $\psi=x$ ,  $\epsilon=off$ ) devem ser realizados.

Para entendermos o porquê das modificações citadas acima é importante ter em mente o conceito de eco de gradiente e pulso seletivo. Na sequência de HSQC-TOCSY-IPAP (Fig. 08) o bloco INEPT é tradicional, sem pulsos seletivos, de forma que ocorre a refocalização de todos os deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  ( $\Omega_H$ ) e o

acoplamento  ${}^1J_{CH}$  evolui durante todo o período  $2\Delta$ , como se pode observar na descrição de produtos de operadores abaixo.

- Evolução sob influência do deslocamento químico ( $\Omega_H\Delta I_z$ ):

$$\begin{aligned}
 I_{1z} &\xrightarrow{90^\circ I_x} -I_y \xrightarrow{\Delta\Omega_H I_z} -I_{1y} \cos(\Delta\Omega_H) + I_{1x} \sin(\Delta\Omega_H) \xrightarrow{180^\circ I_{1x} + 180^\circ S_x} I_{1y} \cos(\Delta\Omega_H) + I_{1x} \sin(\Delta\Omega_H) \\
 &\xrightarrow{\Delta\Omega_H I_z} [I_{1y} \cos^2(\Delta\Omega_H) - I_{1x} \cos(\Delta\Omega_H) \sin(\Delta\Omega_H)] \\
 &+ [I_{1x} \sin(\Delta\Omega_H) \cos(\Delta\Omega_H) + I_{1y} \sin^2(\Delta\Omega_H)] \rightarrow I_{1y} [\cos^2(\Delta\Omega_H) + \sin^2(\Delta\Omega_H)] \\
 &\rightarrow I_{1y}
 \end{aligned}$$

- Evolução sob influência do acoplamento heteronuclear ( $2\pi\Delta J I_z S_z$ ):

$$\begin{aligned}
 I_{1z} &\xrightarrow{90^\circ I_x} -I_y \xrightarrow{(2\pi\Delta)2I_z S_z} -I_{1y} \cos(2\pi J\Delta) + 2I_{1x} S_z \sin(2\pi J\Delta) \xrightarrow{180^\circ I_{1x} + 180^\circ S_x} I_{1y} \cos(2\pi J\Delta) \\
 &- 2I_{1x} S_z \sin(2\pi J\Delta)
 \end{aligned}$$

O resultado do produto de operadores mostra claramente que o deslocamento químico de  ${}^1H$  é refocalizado, mas o acoplamento escalar evolui durante  $2\Delta$ .

A sequência, intitulada *sel*-HSQMBC-TOCSY (Fig.11), possui três modificações fundamentais localizadas tanto no primeiro bloco INEPT quanto no retro-INEPT. Essas mudanças consistem na aplicação de pulso de refocalização seletivo em hidrogênio que juntamente com os dois gradientes, aplicados após o primeiro pulso de  $90_x^\circ$  e imediatamente antes do pulso de  $90_y^\circ$ , formam um eco de gradiente seletivo, ou seja, apenas as magnetizações referentes aos  ${}^1H$  afetados pelo pulso seletivo serão refocalizadas pela aplicação do segundo gradiente. Além disso, o período  $\Delta$  é modulado para evolução do acoplamento a longa distância ( ${}^nJ_{CH}$   $n>1$ ).

De forma semelhante à sequência de pulsos HSQC-TOCSY-IPAP<sup>38</sup>, a sequência *sel*-HSQMBC-TOCSY gera multipletos em fase (IP) e antifase (AP), logo, a análise das constantes de acoplamento deve ser realizada a partir da soma/subtração dos FID's

advindos de cada um dos experimentos. Como discutido anteriormente, esta análise gera um conjunto de multipletos  $\alpha/\beta$  complementares em que a separação em Hz corresponde ao valor da constante de acoplamento.

Uma das maiores vantagens dessa sequência de pulsos reside no fato da evolução tanto do acoplamento homonuclear ( ${}^nJ_{HH}$ ) quanto do heteronuclear ( ${}^nJ_{CH}$ ) gerar multipletos com fase absorptiva. Além disso, o TOCSY preserva a informação dos estados  $\alpha/\beta$  do  ${}^{13}\text{C}$  permitindo a determinação do sinal da constante de acoplamento.

O mecanismo de transferência de coerência do experimento de *sel*-HSQMBC-TOCSY consiste de duas etapas sequenciais  ${}^nJ_{CH} + J_{HH}$ . O sucesso deste método consiste, primeiramente, na existência de um acoplamento grande entre o hidrogênio inicial ( $\text{H}_3$ ) e o carbono ( $\text{C}_1$ ) e, secundariamente, da transferência efetiva de magnetização ao terceiro spin ( $\text{H}_2$ ) através do TOCSY, ver **Esquema 1C** (pág. 9). Assim, aplicando um pulso seletivo de  $180^\circ$  em  $\text{H}_3$ , a intensidade do sinal do  $J_{\text{C}_1\text{H}_2}$  resultará de um mecanismo aditivo de  ${}^nJ_{\text{C}_1\text{H}_3} + J_{\text{H}_2\text{H}_3}$ :

$$\sin(2\pi {}^nJ_{\text{C}_1\text{H}_3}\Delta) \cos(\pi {}^nJ_{\text{H}_2\text{H}_3}\tau_m) [1 + \sin(2\pi {}^nJ_{\text{C}_1\text{H}_3}\Delta)],^{24}$$

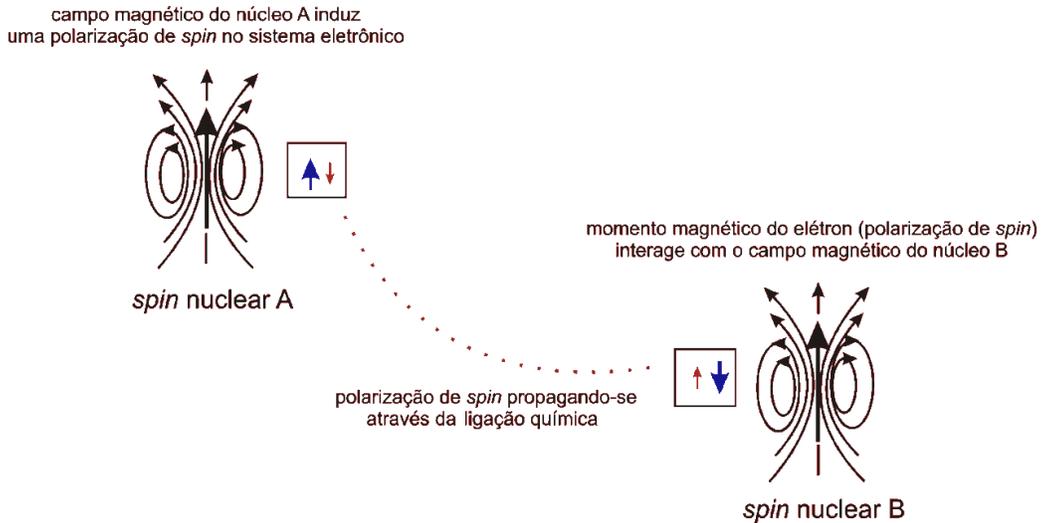
como podemos notar a intensidade do sinal é completamente independente do valor de  ${}^nJ_{\text{C}_1\text{H}_2}$  e também da multiplicidade do carbono.

Vale ressaltar, que na sequência *sel*-HSQMBC-TOCSY não temos a constante de acoplamento  ${}^1J_{CH}$  para servir como referência para a determinação do sinal das constantes  ${}^nJ_{CH}$ . Neste caso utilizamos a constante de acoplamento *vicinal* ( ${}^3J_{CH}$ ), pois esta é sempre positiva podendo, portanto, ser utilizada como referência para a determinação do sinal das demais constantes de acoplamento referentes a um mesmo carbono.

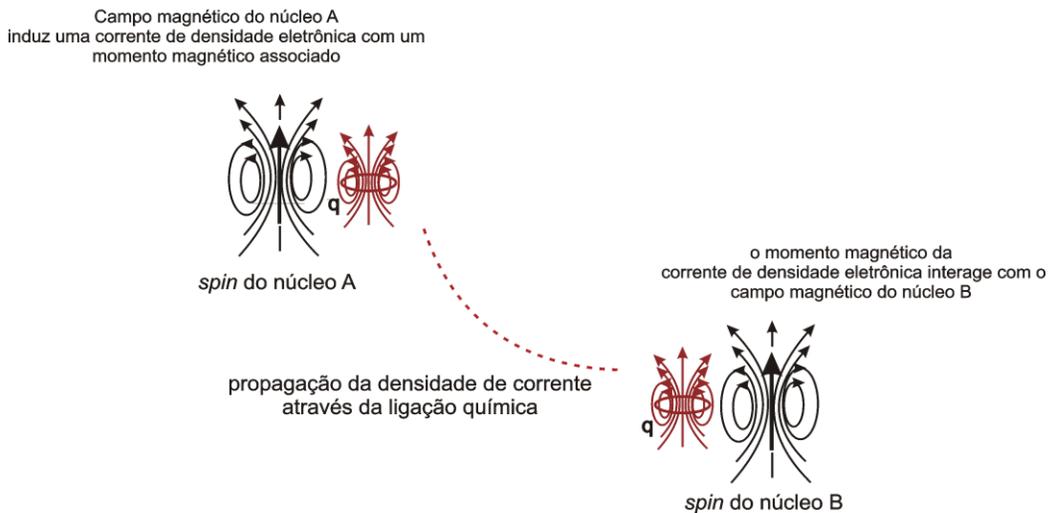
### 1.3.7. Mecanismos de transmissão da constante de acoplamento *escalar spin-spin* ( $J$ )

A constante de acoplamento *spin-spin* é a interação, entre dois núcleos magnéticos, mediada pelos elétrons. Essa interação pode ocorrer através de dois mecanismos básicos. O campo magnético de um núcleo induz localmente um momento magnético no sistema eletrônico. Este momento magnético eletrônico pode ocorrer na forma: a) de uma polarização dos spins dos elétrons, que é um aumento ou diminuição, local, da probabilidade de se encontrar os elétrons com spin  $\alpha$  (para cima) *versus* spin  $\beta$  (para baixo) ou b) pela indução de uma densidade de corrente orbital (**Figura 12**).<sup>43</sup>

## Mecanismo de transmissão *via* polarização de *spin* eletrônico (FC e SD)



## Mecanismo de transmissão orbital eletrônico (PSO e DSO)



**Figura 12.** Mecanismos de transmissão da constante de acoplamento escalar  $J$ .

- Campo magnético do núcleo induz a uma polarização de *spin* no sistema eletrônico que é transferida através das ligações químicas para o outro núcleo.
- Momento magnético induzido no sistema eletrônico via o *spin* eletrônico. O núcleo induz uma densidade de corrente com um momento magnético associado que será transmitido de um núcleo para outro através das ligações químicas.

O movimento dos elétrons em um sistema de muitos elétrons está acoplado pela interação eletrostática (Coulômbica). Logo, efeitos locais, tais como o momento magnético eletrônico localmente induzido, terão um efeito sobre toda a estrutura eletrônica da molécula.

Na teoria não relativística de Ramsey, são quatro as contribuições que descrevem o valor teórico da constante de acoplamento indireta *spin-spin*. O mecanismo de transmissão orbital se subdivide nos termos spin órbita diamagnético (**DSO**) e spin órbita paramagnético (**PSO**). Já o mecanismo de transmissão via spin é subdividido nos termos o spin dipolar (**SD**) e contato de Fermi (**FC**), **Equações 3-6**.

$$\left(\hat{O}_{KL}^{OD}\right)_{\alpha\alpha} = \left(\frac{\mu_0}{4\pi}\right)^2 \frac{e^2 \hbar^2}{m_e} \sum_i \frac{\vec{r}_{iL} \cdot \vec{r}_{iK} - (\vec{r}_{iL})_\alpha (\vec{r}_{iK})_\alpha}{|r_{iK}|^3 |r_{iL}|^3} \quad (3)$$

$$\left(\hat{O}_K^{OP}\right)_\alpha = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{e\hbar}{m_e} \sum_i \frac{(\vec{l}_{iK})_\alpha}{|r_{iK}|^3} \quad (4)$$

$$\left(\hat{O}_K^{FC}\right)_\alpha = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{4\pi g_e e\hbar}{3m_e} \sum_i (\vec{s}_i)_\alpha \delta(\vec{r}_{iK}) \quad (5)$$

$$\left(\hat{O}_K^{SD}\right) = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{g_e e\hbar}{2m_e} \sum_i \frac{3(\vec{s}_i \cdot \vec{r}_{iK})(\vec{r}_{iK})_\alpha - r_{iK}^2 (\vec{s}_i)_\alpha}{|r_{iK}|^5} \quad (6)$$

A razão magnetogírica do núcleo K é  $\gamma_K$ ;  $\vec{r}_{iK} = \vec{r}_i - \vec{R}_K$  é a diferença do vetor posição do elétron i e o núcleo K;  $\vec{s}_i$  é o operador de spin do elétron i; e  $\vec{l}_{iK} = \vec{l}_i(\vec{R}_K)$  é o operador momento angular orbital do elétron i com respeito à posição do núcleo K (unidades SI) e  $\delta$  é a função delta de Dirac.<sup>44</sup>

O termo de contato de Fermi surge devido à polarização de spin do sistema eletrônico causado por um núcleo, que resulta de uma interação de transferência desta polarização de spin para outro núcleo (Fig. 12A). Teoricamente o núcleo é tratado como pontos de carga e dipolos magnéticos, o termo “**contato**”, surge principalmente devido

à interação local do núcleo com o spin local dos elétrons, que seriam, portanto, os pontos de carga. O restante da interação entre o spin nuclear com o spin eletrônico é um dipolo magnético que é descrito pelo operador spin-dipolar (SD).

O mecanismo orbital eletrônico (Fig. 12B) é dividido em uma contribuição paramagnética (PSO) e diamagnética (DSO). Teoricamente eles podem ser distinguidos como dois operadores independentes, entretanto apenas sua soma apresenta significado físico. O mecanismo PSO, tipicamente, apresenta valores pequenos, enquanto o mecanismo DSO é usualmente negligenciado.

Embora na maioria dos casos o termo FC descreva quase que totalmente o valor da constante de acoplamento envolvendo núcleos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , as outras contribuições não podem a priori ser negligenciadas, o que aumenta a necessidade de maiores esforços computacionais. Em segundo lugar, os termos FC e SD envolvem perturbações em estado excitado tripleto, o que requer uma descrição flexível da estrutura eletrônica molecular. E, finalmente, para que um cálculo descreva com precisão o termo FC, é necessário descrever com precisão a densidade eletrônica próxima do núcleo atômico (elétrons nos orbitais  $s$ ). Por estes motivos, o cálculo de constante de acoplamento para sistemas moleculares grandes apresenta-se como um desafio para a química computacional.<sup>45</sup>

Por fim, é interessante ressaltar que experimentalmente o acoplamento  $J$  é a soma de todos estes mecanismos, podendo assumir valores positivos ou negativos dependendo da influência relativa de cada mecanismo e das razões giromagnéticas de cada núcleo.<sup>46</sup>

#### **1.4. Teoria dos orbitais naturais de ligação (NBO)**

Embora os cálculos de orbital molecular (OM) possam fornecer resultados bastante satisfatórios com respeito às energias relativas, e mesmo para as energias totais, se for incluída correlação eletrônica junto com um conjunto adequado de funções de bases, eles não são capazes de explicar o porquê uma espécie (A) é mais estável que uma espécie (B). Para explicar isso, são necessários métodos que sejam capazes de abranger conceitos como pares isolados, ligações simples e múltiplas, ou seja,

métodos que buscam incorporar as ideias de ligação de valência. Dentre esses o mais popular é o dos “Orbitais Naturais de Ligação” (“*Natural Bond Orbitals*”, *NBO*).<sup>47</sup>

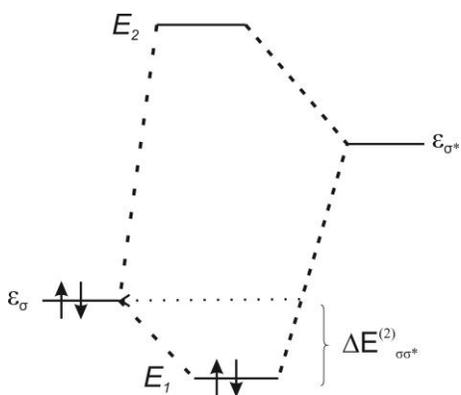
Löwdin<sup>48</sup> numa tentativa de fornecer ferramentas para interpretar as funções de onda da mecânica quântica, propôs a **Equação 7**:

$$\rho = \sum_k n_k X_k^* X_k \quad (7)$$

onde  $n_k$  é o número de ocupação do  $k$ -ésimo orbital e os orbitais  $X_k$  que satisfazem a equação acima são chamados de “orbitais naturais”.

Percebendo a importância da aplicação do trabalho de Löwdin<sup>48</sup> nos conceitos de hibridização e ligação química, Foster e Weinhold<sup>49</sup> propuseram um procedimento para construir Orbitais Naturais Atômicos (NAO) e, a partir destes, Orbitais Naturais Híbridos (NHO). Os NBO's assim construídos permitiriam descrever a estrutura química de uma molécula a partir de ligações entre dois átomos e dos pares de elétrons isolados, de forma muito similar às estruturas de Lewis.

Uma importante ferramenta da teoria NBO é permitir a análise de interações de transferências de carga dos orbitais ligantes para antiligantes, bem como as implicações energéticas associadas. Isso é feito a partir de um procedimento de perturbação de segunda ordem (ver **Figura 13**).



**Figura 13.** Interação perturbativa acceptor-doador, envolvendo um orbital ocupado  $\sigma$  e um orbital vazio  $\sigma^*$ .

A energia de estabilização pode ser expressa de acordo com a **Equação 8** abaixo:

$$\Delta E_{\sigma \sigma^*}^{(2)} = \frac{q_i F_{ij}^2}{\varepsilon_{\sigma^*} - \varepsilon_{\sigma}} \quad (8)$$

Onde:

- $q_i$  é a ocupância do orbital doador;
- $\varepsilon_{\sigma^*}$  é a energia do orbital antiligante;
- $\varepsilon_{\sigma}$  é a energia do orbital ligante e;
- $\hat{F}$  é o operador de Fock efetivo.

- 
- 1 G. Kummerlöwe, B. Luy, Annual Reports on NMR Spectroscopy 68 (2009) 193.
  - 2 J. M. Seco, E. Quiñoá, R. Riguera, Chem. Rev. 104 (2004) 17.
  - 3 G. S. Rule, T. K. Hitchens (2006). Fundamentals of Protein NMR Spectroscopy (Focus on Structural Biology). Netherlands: Springer. Capítulo 1.
  - 4 R. H. Contreras, J. E. Peralta, Prog. NMR Spectrosc. 37 (2000) 321.
  - 5 J. R. Tolman, J. H. Prestegard, J. Magn. Reson. B. 112 (1996) 245.
  - 6 G. W. Vuister, T. Yamazaki, D. A. Torchia, A. Bax, J. Biomol. NMR. 3 (1993) 297.
  - 7 J.-S. Hu, S. Grzesiek, A. Bax, J. Am. Chem. Soc. 119 (1997) 1803.
  - 8 A. F. Lohr, H. Ruterjans, J. Am. Chem. Soc. 119 (1997) 1468.
  - 9 A. Pardi, Methods Enzymol. 261 (1995) 350.
  - 10 S. S. Wijimenga, M. M. W. Mooren, C. W. Hilbers, in: G. C. K. Roberts (Ed.), NMR of Macromolecules, Oxford, Oxford, 1993.
  - 11 A. C. Wang, A. Bax, J. Am. Chem. Soc. 118 (1996) 2483.
  - 12 M. J. Minch, Concepts Magn. Reson. 6 (1994) 41.
  - 13 T. Parella, J. F. Espinosa, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 73 (2013) 17.
  - 14 a) K. L. Servis, F. R. Jerome, J. Am. Chem. Soc. 93 (1971) 1535; b) F. R. Jerome, K. L. Servis, J. Am. Chem. Soc. 94 (1972) 5896.
  - 15 J.-C. Hierso, D. Armspach, D. Matt, C. R. Chimie 12 (2009) 1002.
  - 16 a) F. B. Mallory, C. W. Mallory, M. Fedarko, J. Am. Chem. Soc. 96 (1974) 3536; b) F. B. Mallory, C. W. Mallory, W. M. Ricker, J. Am. Chem. Soc. 97 (1975) 4770; c) F. B. Mallory, C. W. Mallory, W. M. Ricker, J. Org. Chem. 50 (1985) 457; d) F. B. Mallory, E. D. Luzik, C. W. Mallory, P. J. Carroll, J. Org. Chem. 57 (1992) 366.

- 
- 17 a) G. A. Morris, R. Freeman, *J. Am. Chem. Soc.* 101, 760-762 (1979); b) G.A. Morris, *J. Am. Chem. Soc.* 102 (1980) 428; c) T. D. W. Claridge (2009), "High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry" *Tetrahedron Organic Chemistry*, New York. Capítulo 9.
- 18 G. Bodenhausen, D. J. Ruben, *Chem. Phys. Lett.* 69 (1980) 185.
- 19 P. Nolis, J. F. Espinosa, T. Parella, *J. Magn. Reson.* 180 (2006) 39.
- 20 P. K. Mandal, A. Majumdar, *Concepts Magn. Reson. A.* 20 (2004) 1.
- 21 A. Bax, R. Griffey, B. Hawkins. *J Magn Reson* 55 (1983) 301.
- 22 A. Bax, M. F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986) 2093.
- 23 a) G. E. Martin, R. C. Crouch, *Nat. Prod.* 54 (1991) 1. b) G. E. Martin, R. C. Crouch, *Mod. Methods Plant. Anal.* 15 (1994) 25. c) D. J. Falkner, *Nat. Prod. Rep.* 17 (2000) 7.
- 24 J. Saurí, J. F. Espinosa, T. Parella, *Angew. Chem. Int. Ed.* 51 (2012) 1.
- 25 C. F. Tormena, M. P. Freitas, R. Rittner, R. J. Abraham, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 6 (2004) 1152.
- 26 P. R. Anizelli, J. D. Vilcachagua, A. Cunha Neto, C. F. Tormena, *J. Phys. Chem. A* 112 (2008) 8785.
- 27 M. P. Freitas, C. F. Tormena, R. Rittner R. J. Abraham, *J. Phys. Org. Chem.* 16 (2002) 27.
- 28 C. C. Bocca, E. A. Basso, B. C. Fiorin, C. F. Tormena, F. P. dos Santos, *J. Phys. Chem. A* 110 (2006) 9438
- 29 J. C. Cedran, F. P. dos Santos, E. A. Basso, C. F. Tormena, *J. Phys. Chem. A* 111 (2007) 11701.
- 30 a) D. G. Davis, *J. Magn. Reson.* 84 (1989) 417. b) J. Cavanagh, M. Rance, *J. Magn. Reson.* 88 (1990) 72. c) J. Cavanagh, A. G. Palmer III, M. Wright, M. Rance, *J. Magn. Reson.* 91 (1991) 429.
- 31 R. T. Williamson, B. L. Marquez, W. H. Gerwick, K. E. Köver, *Magn. Reson. Chem.* 38 (2000) 265.
- 32 S. Gil, J. F. Espinosa, T. Parella, *J. Magn. Reson.* 207 (2010) 312.
- 33 a) L. Braunschweiler, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* 53 (1983) 521. b) A. Bax, D. G. Davis, *J. Magn. Reson.* 65 (1985) 355.
- 34 a) A. G. Palmer III, P. E. Cavanagh, M. Wright, M. Rance, *J. Magn. Reson.* 93 (1991) 151. b) L.E. Kay, P. Keifer and T. Saarinen, *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992) 10663.
- 35 a) W. Willker, D. Leibfritz, R. Kerssebaum, W. Bermel, *Magn. Reson. Chem.* 31 (1993) 287. b) K. E. Köver, V. J. Hruby, D. Uhrin, *J. Magn. Reson.* 129 (1997) 125.
- 36 M. Ottiger, F. Delaglio, A. Bax. *J. Magn. Reson.* 131 (1998) 373..

- 
- 37 J. S. i Jiménez, “Modern NMR Methodologies for the Measurement of Homo- and Heteronuclear Coupling Constants in Small Molecules” Tese de Doutorado, Universitat Autònoma de Barcelona, 2014.
- 38 K.E. Köver, V.J. Hruby, D. Uhrin, J. Magn. Reson. 129 (1997) 125.
- 39 a) H. Y. Carr, E. M. Purcell, Phys. Rev. 94 (1954) 630. b) S. Meiboom, D. Gill, Rev. Sci. Instrum. 29 (1958) 688.
- 40 F. P. dos Santos, “Determinação e Análise das Constantes de Acoplamento  $nJ_{CH}$  ( $n = 2, 3, 4$ ) em Derivados do Norbonano” Tese de Doutorado, Unicamp, 2009.
- 41 B. L. Marquez, W. H. Gerwick, R. T. Williamson, Magn. Reson. Chem. 39 (2001) 499
- 42 P. Nolis, “Disseny i aplicació de nous mètodes de RMN” Tese de Doutorado, Universitat Autònoma de Barcelona, 2007.
- 43 J. Autschabach, B. L. Guennic, J. Chem. Edu. 84 (2007) 156.
- 44 a) N. F. Ramsey, Phys. Rev. 91 (1953) 303. b) T. Helgaker., M. Jaszunzki, K. Ruud, Chem. Rev. 99 (1999) 293.
- 45 T. Helgaker, M. Jaszunski, M. Pecul, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 53 (2008) 249
- 46 J. Kwalewski, Annu. Rep NMR Spectrosc. 12 (1982) 81.
- 47 a) F. Weinhold, In The Encyclopedia of Computational Chemistry; Schleyer, P. V. R., Ed.; John Wiley & Sons: Chichester, U.K., 1998; 1792. b) A. L. Reed, L. A. Curtiss, F. Weinhold, Chem. Rev. 88 (1988) 899.
- 48 P. Löwdin, Phys. Rev. 97 (1955) 1474.
- 49 J. P. Foster, F. Weinhold, J. Am. Chem. Soc. 102 (1980) 7211.

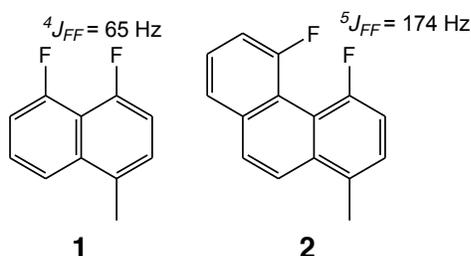
## Capítulo 2

**Acoplamento escalar spin-spin através  
do espaço ( $^{TS}\mathcal{J}$ ) :  ${}^n J_{FN}$**



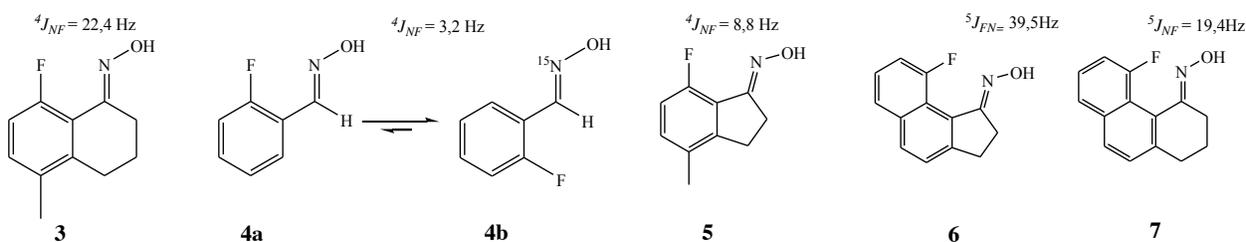
## 2. Introdução

Nos trabalhos mais antigos os acoplamentos envolvendo núcleos separados por no mínimo 4 ligações covalentes eram reportados como acoplamentos a **longa distância**. Porém, a utilização do termo longa distância ou através de várias ligações químicas leva a interpretações equivocadas, pois com exceção de sistemas completamente conjugados a transmissão do acoplamento escalar *spin-spin* não ocorre através de muitas ligações.<sup>50</sup> Além disso, uma importante característica dos compostos onde é observado esse “acoplamento a longa distância” é a proximidade espacial dos núcleos envolvidos, ou seja, a transmissão da informação é uma consequência da interação escalar núcleo-núcleo (spin-spin) mediada pelos elétrons, porém via nuvem eletrônica próxima no espaço (**Figura 14**).<sup>15,16</sup>



**Figura 14.** Alguns sistemas onde são observados acoplamentos escalares “através do espaço”.

Outro exemplo de transmissão de acoplamento através do espaço foi reportado por Mallory e colaboradores<sup>51</sup> em 1985 para as fluoroximas **3** e **4** (Fig. 15). Os autores observaram que para o composto **3** o acoplamento entre o átomo de flúor e de nitrogênio ( ${}^TJ_{NF}$ ) é de 22,4 Hz enquanto para o composto **4** é de 3,2 Hz. Inicialmente, o menor valor para o composto **4** foi atribuído à preferência conformacional, onde o átomo de flúor se encontra numa relação *trans* ao nitrogênio.



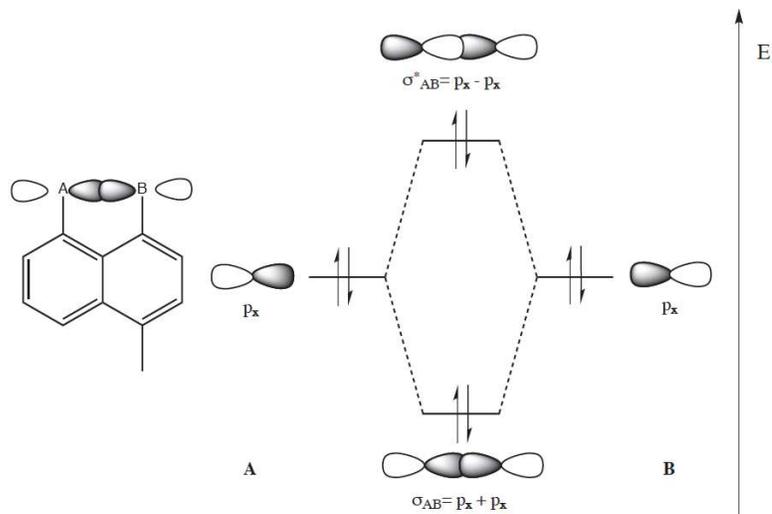
**Figura 15.** Estruturas de algumas das fluoroximas estudadas.

Em um estudo posterior realizado pelo mesmo grupo<sup>16d</sup> foi observado que o acoplamento  ${}^{TS}J_{NF}$  para o composto **7** é menor (19,7 Hz) em comparação com o **6** (39,5 Hz). Essa diferença foi justificada devido à maior distância N---F em **7** do que em **6** devido às distorções no anel saturado de seis membros observados apenas para o composto **7**. No entanto, em nenhum desses estudos foi realizada uma análise teórica detalhada dos acoplamentos ou da estrutura molecular.

Além dos acoplamentos através do espaço apresentados acima, outro tipo de acoplamento que não ocorre através das ligações covalentes, são aqueles transmitidos através das ligações de hidrogênio (combinação entre ligação covalente e interação eletrostática que varia de sistema para sistema) intra- ou intermoleculares, designados como  ${}^hJ_{XY}$  (onde h se refere ao acoplamento através da ligação de hidrogênio). Esses acoplamentos têm sido amplamente utilizados no estudo estrutural de biomoléculas, onde os acoplamentos entre os núcleos de  ${}^1\text{H}$ ,  ${}^{13}\text{C}$  e  ${}^{15}\text{N}$ , têm sido medidos e empregados na determinação da estrutura tridimensional de proteínas e peptídeos.<sup>52</sup> Dentre todos os acoplamentos através da ligação de hidrogênio os mais importantes são os acoplamentos  ${}^{2h}J_{NN}$  e  ${}^{1h}J_{NH}$  presentes nos pares de bases dos ácidos nucleicos (DNA e RNA).<sup>53</sup>

Os mesmos mecanismos de transmissão das constantes de acoplamento através da ligação de hidrogênio observados em biomoléculas, também são responsáveis pelas observações experimentais de acoplamentos através da ligação de hidrogênio em sistemas orgânicos mais simples, tais como diois<sup>54</sup> ( ${}^{2h}J_{HH}$ ) ou mesmo em álcoois fluorados<sup>55</sup> ( ${}^{1h}J_{HF}$ ). Esses acoplamentos tem sido utilizados para determinação da estereoquímica relativa em 1,3-diois acíclicos,<sup>54</sup> bem como para avaliar a estrutura de dímeros em solução e na fase sólida.<sup>55</sup>

O modelo mais simples utilizado para explicar a transmissão do acoplamento através do espaço é baseado na sobreposição da nuvem eletrônica (orbitais não ligantes ou LP's) dos núcleos magnéticos acoplados próximos no espaço (**Figura 16**).



**Figura 16.** Orbitais ligantes e antiligantes gerados pela sobreposição de dois pares de elétrons livres dos núcleos magnéticos A e B (A e B =  $^{19}\text{F}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{31}\text{P}$ , entre outros).

Segundo os autores<sup>56,15</sup> a combinação entre os dois pares de elétrons não ligantes dos átomos A e B originaria dois novos orbitais, sendo um ligante e outro antiligante. Embora o ganho energético de estabilização seja nulo, ambos os orbitais estariam ocupados, essa sobreposição de orbitais daria origem a um novo caminho para a transmissão da informação (spin-spin) entre os núcleos acoplados. Embora este modelo ofereça uma explicação lógica, a proximidade espacial entre dois núcleos não é suficiente para explicar a transmissão do acoplamento.

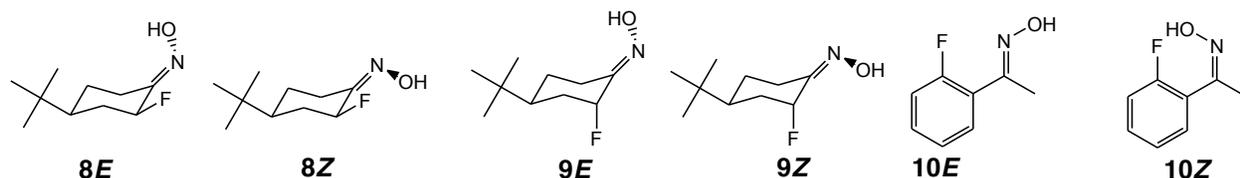
Um caso que exemplifica a fragilidade desse modelo envolve a transmissão da constante de acoplamento  $^{TS}J_{FH}$  no flúorfenol.<sup>57</sup> Recentemente, demonstrou-se que o acoplamento  $^{TS}J_{FH}$  envolvendo 2-fluorfenóis não é transmitido via ligação de hidrogênio, como previamente aceito, mas por interações através do espaço envolvendo os átomos de flúor e oxigênio. Além disso, uma avaliação crítica mostrou que a transmissão dessa constante não se dá por um único caminho, mas ocorre como a somatória de diferentes contribuições: a) interações de troca ocorrendo na região onde as nuvens eletrônicas ao redor do F e do OH se sobrepõem (“*overlap*”); b) transferência direta de carga entre

LP<sub>1,2,3</sub>(F) ou do orbital ligante  $\sigma_{C-F}$  e o antiligante  $\sigma^*_{C-F}$ ; c) interações hiperconjugativas concatenadas.<sup>57</sup>

É importante salientar que uma das maiores dificuldades no estudo do mecanismo de transmissão do acoplamento através do espaço ( $^{TS}J_{AB}$ ) é conhecer qual a real parcela de contribuição das componentes através das ligações, para estimar a componente através do espaço. A aproximação adotada, nestes casos, é utilizar sistemas onde os núcleos A e B (no caso da flúoroximas: flúor e nitrogênio) estão separados por mais de quatro ligações químicas, convencionando-se que a componente através das ligações covalentes é nula.<sup>58</sup>

## 2.1. Objetivos

Em virtude do que foi apresentado, o presente projeto tem como objetivo no que se refere ao estudo do mecanismo de transmissão da constante de acoplamento  $J_{FN}$ : (i) responder às dúvidas e controvérsias presentes na corrente literatura sobre os mecanismos de transmissão das constantes de acoplamento  $^{TS}J_{NF}$ , tendo as estruturas presentes na **Figura 15** como compostos modelo; (ii) sintetizar as fluoroximas derivadas da *cis/trans*-2-F-4-t-butilciclohexanona e 2-F-acetofenona, **Figura 17**; (iii) mensurar o acoplamento nitrogênio-flúor para estes compostos; (iv) avaliar como a transmissão da informação entre os núcleos acoplados é afetada pela orientação do grupo OH (isômeros *E* e *Z*), bem como da posição do átomo de flúor (*cis* ou *trans*).



**Figura 17.** Fluoroximas *E/Z* derivadas da *cis/trans*-2-F-4-tBu-ciclohexanona e da 2-F-acetofenona.

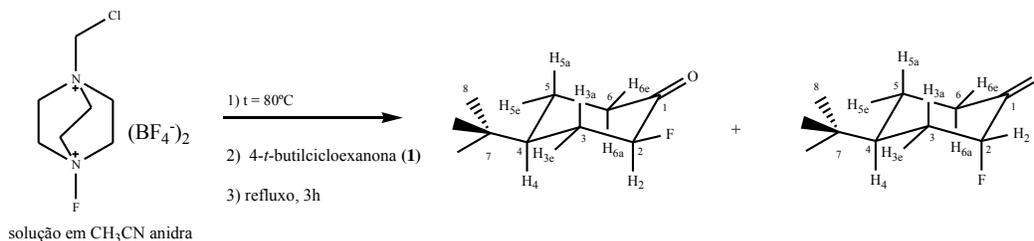
É importante destacar que a utilização de experimentos de RMN envolvendo o núcleo de  $^{19}F$  vem crescendo nos últimos anos<sup>59</sup> devido, principalmente, a atividade biológica,<sup>60</sup> apresentada pelos compostos contendo o átomo de flúor.

## 2.2. Detalhes experimentais: Instrumentação

Os experimentos foram realizados em um espectrômetro Bruker Avance III equipado com uma sonda de 5 mm (*smartprobe* – BBFO) com gradiente (Gz) operando a 499,87 MHz e 470,29 MHz para  $^1\text{H}$  e  $^{19}\text{F}$ , respectivamente; em um Bruker Avance III 400MHz e um espectrômetro Ascend 600 MHz, ambos equipados com sonda tripla inversa (TBI) presentes no IQ-UNICAMP.

## 2.3. Síntese e purificação dos compostos

### 2.3.1. Síntese da 2-F-4-tBu-cicloexanona



Em um balão de três bocas, previamente flambado e sob atmosfera de  $\text{N}_2$ , foi adicionado 2,3 g (6,6 mmol) de 1-clorometil-4-F-1,4-diazoniobiciclo-[2.2.2]-octano bis (tetrafluorborato) e 70 mL de acetonitrila seca. Elevou-se a temperatura do banho a 80 °C até todo o reagente de fluoração solubilizar. Em seguida, adicionou-se uma mistura composta de 0,9 g (5,84 mmol) de 4-t-butilcicloexanona em 5,0 mL de acetonitrila seca. Posteriormente, elevou-se a temperatura até o refluxo e manteve-se em agitação por 17h. Ao final das 17h o solvente foi rotaevaporado e adicionou-se 50,0 mL de diclorometano e o material foi filtrado. A fase orgânica foi neutralizada e colocada no secante. Após filtração, o solvente foi rotaevaporado e obteve-se como produto 0,6 g de um óleo castanho, aproximadamente 59 % de rendimento. A separação dos diastereoisômeros foi realizada via cromatografia em coluna, onde foi utilizada como fase estacionária sílica gel (230-400 mesh) e como fase móvel, a mistura hexano:acetato de etila 8:2. Obteve-se dois sólidos brancos como produtos *cis* e *trans*-2-F-4-t-butilcicloexanona.

### **cis-2-F-4-tBu-ciclohexanona**

RMN de  $^1\text{H}$  em Acetona- $\text{d}_6$  a 400,13 MHz,  $\delta$  em ppm; 5,11 ( $\text{H}_2$ , dddd,  $^2J_{\text{H}_2\text{F}} = 48,6$  Hz,  $^3J_{\text{H}_2\text{H}_3\text{a}} = 11,6$  Hz,  $^3J_{\text{H}_2\text{H}_3\text{e}} = 6,7$  Hz,  $^4J_{\text{H}_2\text{H}_6\text{a}} = 0,9$  Hz); 1,50 ( $\text{H}_{3\text{a}}$ , dq,  $^2J_{\text{H}_3\text{aH}_3\text{e}} = ^3J_{\text{H}_2\text{H}_3\text{a}} = ^3J_{\text{H}_3\text{aH}_4} = 12,3$  Hz,  $^3J_{\text{H}_3\text{aF}} = 9,6$  Hz);  $\sim 2,5$  ( $\text{H}_{3\text{e}}$ , m); 1,80 ( $\text{H}_4$ , dtt,  $^3J_{\text{H}_4\text{H}_3\text{a}} = ^3J_{\text{H}_4\text{H}_5\text{a}} = 12,3$  Hz,  $^3J_{\text{H}_4\text{H}_3\text{e}} = ^3J_{\text{H}_4\text{H}_5\text{e}} = 2,9$  Hz,  $^4J_{\text{H}_4\text{F}} = 4,7$  Hz); 1,41 ( $\text{H}_{5\text{a}}$ , m);  $\sim 2,1$  ( $\text{H}_{5\text{e}}$ , m);  $\sim 2,5$  ( $\text{H}_{6\text{a}}$ , m); 2,32 ( $\text{H}_{6\text{e}}$ , dddd,  $^2J_{\text{H}_{6\text{eH}_6\text{a}}} = 14,0$  Hz,  $^3J_{\text{H}_{6\text{eH}_5\text{a}}} = 4,3$  Hz,  $^3J_{\text{H}_{6\text{eH}_5\text{e}}} = 2,7$  Hz,  $^4J_{\text{H}_{6\text{eF}}} = 8,8$  Hz) 0,96 (9H, s,  $^1J_{\text{CH}} = 125,0$  Hz).

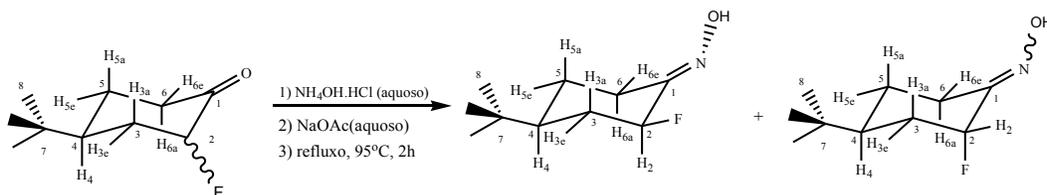
RMN de  $^{13}\text{C}$  –  $\{^1\text{H}\}$  em Acetona- $\text{d}_6$  a 100,62 MHz,  $\delta$  em ppm; 206,1 ( $\text{C}_1$ , d,  $^2J_{\text{C}_1\text{F}} = 13,7$  Hz); 93,2 ( $\text{C}_2$ , d,  $^1J_{\text{CF}} = 192,1$  Hz); 36,2 ( $\text{C}_3$ , d,  $^2J_{\text{CF}} = 17,5$  Hz); 45,8 ( $\text{C}_4$ , d,  $^3J_{\text{CF}} = 8,3$  Hz); 28,5 ( $\text{C}_5$ , d,  $^4J_{\text{CF}} = 1,1$  Hz); 39,6 ( $\text{C}_6$ , s); 32,9 ( $\text{C}_7$ , d,  $^4J_{\text{CF}} = 1,0$  Hz); 27,9 ( $\text{C}_8$ , s).

### **trans-2-F-4-tBu-ciclohexanona**

RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  a 400,13 MHz,  $\delta$  em ppm; 4,67 ( $\text{H}_2$ , m); 1,61 ( $\text{H}_{3\text{a}}$ , dddd,  $^3J_{\text{H}_3\text{aF}} = 43,4$  Hz,  $^2J_{\text{H}_3\text{aH}_3\text{e}} = 14,7$  Hz,  $^3J_{\text{H}_3\text{aH}_4} = 12,6$  Hz,  $^3J_{\text{H}_3\text{aH}_2} = 2,5$  Hz); 2,41 ( $\text{H}_{3\text{e}}$ , m); 1,88 ( $\text{H}_4$ , tt,  $^3J_{\text{H}_4\text{H}_3\text{a}} = ^3J_{\text{H}_4\text{H}_5\text{a}} = 12,5$  Hz,  $^3J_{\text{H}_4\text{H}_3\text{e}} = ^3J_{\text{H}_4\text{H}_5\text{e}} = 3,6$  Hz); 1,46 ( $\text{H}_{5\text{a}}$ , m); 2,12 ( $\text{H}_{5\text{e}}$ ,  $^2J_{\text{H}_{5\text{eH}_5\text{a}}} = 12,8$  Hz,  $^3J_{\text{H}_{5\text{eH}_6\text{e}}} = 3,3$  Hz,  $^3J_{\text{H}_{5\text{eH}_6\text{a}}} = 5,8$  Hz,  $^3J_{\text{H}_{5\text{eH}_4}} = 3,6$  Hz); 2,80 ( $\text{H}_{6\text{a}}$ , tt,  $^2J_{\text{H}_{6\text{aH}_6\text{e}}} = ^3J_{\text{H}_{6\text{aH}_5\text{a}}} = 13,8$  Hz,  $^3J_{\text{H}_{6\text{aH}_5\text{e}}} = ^4J_{\text{H}_{6\text{aF}}} = 5,8$  Hz); 2,38 ( $\text{H}_{6\text{e}}$ , m) 0,92 (9H, s,  $^1J_{\text{CH}} = 124,8$  Hz).

RMN de  $^{13}\text{C}$  –  $\{^1\text{H}\}$  em Acetona- $\text{d}_6$  a 100,62 MHz,  $\delta$  em ppm; 207,9 ( $\text{C}_1$ , d,  $^2J_{\text{C}_1\text{F}} = 21,0$  Hz); 92,9 ( $\text{C}_2$ , d,  $^1J_{\text{CF}} = 177,1$  Hz); 34,6 ( $\text{C}_3$ , d,  $^2J_{\text{CF}} = 22,2$  Hz); 40,7 ( $\text{C}_4$ , d,  $^3J_{\text{CF}} = 1,6$  Hz); 28,2 ( $\text{C}_5$ , s); 37,6 ( $\text{C}_6$ , d,  $^3J_{\text{C}_6\text{F}} = 2,4$  Hz); 32,3 ( $\text{C}_7$ , s); 27,6 ( $\text{C}_8$ , s).

### **2.3.2. Síntese das fluoroximas (8 e 9)**



Em um balão, equipado com agitador magnético e condensador de refluxo, adicionou-se 0,7g de 2-F-4-tBu-ciclohexanona e 15 mL de metanol. Em seguida,

adicionou-se uma solução aquosa de hidrocloreto de hidroxilamina (cerca de 366,8 mg de  $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$  em 5 mL de água). Em seguida, adicionou-se uma solução aquosa de acetato de sódio (cerca de 309,8 mg em 5 mL de água) até atingir um pH de aproximadamente 5.

Posteriormente, elevou-se a temperatura até o refluxo (aproximadamente 95 °C) e manteve-se em agitação por 2h. Ao final das 2h, o aquecimento foi desligado e permitiu-se que a mistura atingisse a temperatura ambiente; à solução fria foi adicionado 20 mL de água e 40 mL de  $\text{CHCl}_3$ . A fase orgânica foi lavada com água e colocada no secante, após filtração, o solvente foi rotaevaporado obtendo-se uma solução castanho claro composta do de 1 isômero da oxima *cis* e dois isômeros E/Z da oxima *trans*.

A purificação e separação dos diastereoisômeros foram realizadas em duas etapas: i) observou-se que ao adicionar hexano à mistura havia a precipitação de um sólido branco, este foi identificado via RMN como sendo o isômero da oxima *cis*; ii) não foi possível separar os isômeros E/Z da oxima *trans*, mas sua purificação foi realizada através de coluna cromatográfica, onde foi utilizada como fase estacionária sílica gel (230-400 mesh) e como fase móvel, a mistura hexano:acetato de etila 8:2, obtendo-se os isômeros na proporção aproximada de 92/8.

### **Oxima (E) de *cis*-2-F-4-tBu-cicloexanona**

RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  a 600,17 MHz,  $\delta$  em ppm; 5,01 ( $\text{H}_2$ , ddd,  $^2J_{\text{H}_2\text{F}} = 48,2$  Hz,  $^3J_{\text{H}_2\text{H}_3\text{a}} = 10,4$  Hz,  $^3J_{\text{H}_2\text{H}_3\text{e}} = 5,6$  Hz); 1,53 ( $\text{H}_{3\text{a}}$ , dq,  $^2J_{\text{H}_3\text{aH}_3\text{e}} = ^3J_{\text{H}_2\text{H}_3\text{a}} = ^3J_{\text{H}_3\text{aH}_4} = 12,4$  Hz,  $^3J_{\text{FH}_3\text{a}} = 10,5$  Hz); ~ 2,34 ( $\text{H}_{3\text{e}}$ , m); 1,32 ( $\text{H}_4$ , ttd,  $^3J_{\text{H}_4\text{H}_3\text{a}} = ^3J_{\text{H}_4\text{H}_5\text{a}} = 12,4$  Hz,  $^3J_{\text{H}_4\text{H}_3\text{e}} = ^3J_{\text{H}_4\text{H}_5\text{e}} = 3,40$  Hz,  $^4J_{\text{H}_4\text{F}} = 1,30$  Hz); 1,25 ( $\text{H}_{5\text{a}}$ , qd distorcido,  $^2J_{\text{H}_5\text{aH}_5\text{e}} = ^3J_{\text{H}_5\text{aH}_6\text{a}} = 13,3$  Hz,  $^3J_{\text{H}_5\text{aH}_4} = 12,4$  Hz,  $^3J_{\text{H}_5\text{aH}_6\text{e}} = 4,6$  Hz); ~1,87 ( $\text{H}_{5\text{e}}$ , m); ~ 1,73 ( $\text{H}_{6\text{a}}$ , m); 3,38 ( $\text{H}_{6\text{e}}$ , dtd,  $^2J_{\text{H}_6\text{eH}_6\text{a}} = 15,3$  Hz,  $^3J_{\text{H}_6\text{eH}_5\text{a}} = ^4J_{\text{H}_6\text{eF}} = 4,6$  Hz,  $^3J_{\text{H}_6\text{eH}_5\text{e}} = 2,4$  Hz) 0,90 (9H, s).

RMN de  $^{13}\text{C}$  –  $\{^1\text{H}\}$  em  $\text{CDCl}_3$  a 150,92 MHz,  $\delta$  em ppm; 156,9 ( $\text{C}_1$ , d,  $^2J_{\text{C}_1\text{F}} = 9,9$  Hz); 90,0 ( $\text{C}_2$ , d,  $^1J_{\text{CF}} = 184,2$  Hz); 34,9 ( $\text{C}_3$ , d,  $^2J_{\text{CF}} = 17,7$  Hz); 45,1 ( $\text{C}_4$ , d,  $^3J_{\text{CF}} = 7,6$  Hz); 25,2 ( $\text{C}_5$ , s); 23,0 ( $\text{C}_6$ , s); 32,6 ( $\text{C}_7$ , s); 27,6 ( $\text{C}_8$ , s).

Experimento de NOESY- $^1\text{H}^1\text{H}$  (Tempo de mistura = 800ms) em DMSO comprova a orientação *E* da dupla ligação, pois a hidroxila da oxima apresenta uma correlação forte com o hidrogênio  $\text{H}_{6e}$  em 3,38ppm ( $\text{CDCl}_3$ ) e 3,04ppm (DMSO).

### Oxima (*E*) de *trans*-2-F-4-tBu-cicloexanona

RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  a 600,17 MHz,  $\delta$  em ppm; 5,01 ( $\text{H}_2$ , m); 1,38 ( $\text{H}_{3a}$ , dtd,  $^3J_{\text{FH}3a}=46\text{Hz}$ ,  $^2J_{\text{H}3a\text{H}3e} = ^3J_{\text{H}3a\text{H}4} = 12,9$  Hz,  $^3J_{\text{H}3a\text{H}2} = 2,4$  Hz );  $\sim 2,33$  ( $\text{H}_{3e}$ , tq,  $^3J_{\text{FH}3e}=^2J_{\text{H}3a\text{H}3e} = 12,9$  Hz,  $^3J_{\text{H}3e\text{H}2} = ^3J_{\text{H}3e\text{H}4} = 3,2$  Hz); 1,71 ( $\text{H}_4$ , tt,  $^3J_{\text{H}4\text{H}3a} = ^3J_{\text{H}4\text{H}5a} = 12,9\text{Hz}$ ,  $^3J_{\text{H}4\text{H}3e} = ^3J_{\text{H}4\text{H}5e} = 3,2\text{Hz}$ ); 1,15 ( $\text{H}_{5a}$ , distorcido,  $^2J_{\text{H}5a\text{H}5e} = ^3J_{\text{H}5a6a} = \text{Hz}$ ,  $^3J_{\text{H}5a\text{H}4} = \text{Hz}$ ,  $^3J_{\text{H}5a\text{H}6e} = \text{Hz}$ ); 1,95 ( $\text{H}_{5e}$ , m) ; 2,03 ( $\text{H}_{6a}$ , m) ; 3,30 ( $\text{H}_{6e}$ , m) 0,89 (9H, s).

RMN de  $^{13}\text{C} - \{^1\text{H}\}$  em  $\text{CDCl}_3$  a 150,92 MHz,  $\delta$  em ppm; 157,7 ( $\text{C}_1$ , d,  $^2J_{\text{C}_1\text{F}}=20,8$  Hz); 90,2 ( $\text{C}_2$ , d,  $^1J_{\text{CF}}= 167,4$  Hz); 23,4 ( $\text{C}_3$ , d,  $^2J_{\text{CF}}= 23,4$  Hz ); 40,9 ( $\text{C}_4$ , s); 25,9 ( $\text{C}_5$ , s); 21,3 ( $\text{C}_6$ , s); 29,9 ( $\text{C}_7$ , s); 27,5 ( $\text{C}_8$ , s).

O experimento de NOESY- $^1\text{H}^1\text{H}$  (Tempo de mistura = 800ms) em DMSO mostra interação da hidroxila da oxima com os hidrogênios  $\text{H}_{6e}$  em 3,30ppm ( $\text{CDCl}_3$ ) e 3,15ppm (DMSO) e  $\text{H}_2$  o que nos deixou em dúvidas sobre a orientação *E* ou *Z* da dupla ligação. Com base nos valores das constantes de acoplamento e no valor experimental de  $J_{\text{FN}}$  (nulo), concluiu-se que o produto majoritário era a oxima *Z*.

### 2.3.3. Síntese das fluoroximas (10*E* e 10*Z*)

A síntese da fluoroxima 10 (isômeros *E* e *Z*) foi realizada a partir da 2-F-acetofenona comercial (Aldrich) (**Figuras A9-A11**) sem purificação prévia, utilizando o mesmo procedimento do item 2.3.2 Partiu-se de 300 mg da 2-F-acetofenona obtendo-se como produto final um sólido branco (240 mg) - aproximadamente 72% de rendimento.

## 2.4. Detalhes Computacionais

As estruturas de mínimo para as fluoroximas em estudo foram obtidas utilizando o nível de teoria B3LYP/aug-cc-pVTZ. Os valores teóricos das constantes de acoplamento foram obtidos utilizando os métodos B3LYP, utilizando o pacote

Gaussian09, e SOPPA(CCSD), empregando o programa Dalton2.0, combinados com dois conjuntos de funções de base, chamadas, EPR-III e 6-311++G(d,p), totalizando 4 níveis de teoria. As interações hiperconjugativas foram analisadas utilizando a teoria dos Orbitais Naturais de Ligação (NBO), utilizando o nível de teoria B3LYP/EPR-III.

Todos os cálculos foram realizados no dalton-Cluster que possui computadores Core2 X4 2.83 GHz equipados com HD de 350 GB SATA-2 munidos de 8000 MB de memória RAM.

## 2.5. Resultados e Discussão

### 2.5.1 Oximas (*E*) e (*Z*) de 2-F-acetofenona

Através da comparação dos RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do produto (**Figura 18**) com os do reagente de partida, ambos em DMSO- $d_6$  (**Figura A10-A11**), pode-se observar que todo o reagente de partida foi consumido, pois além de não ser observado o sinal referente à carbonila em 195,3 ppm há o aparecimento de dois sinais em 150,9 e em 148,1 ppm que são referentes aos carbonos de duas oximas. Além disso, como se pode observar no espectro de  $^1\text{H}$  abaixo, há dois sinais em 11,4 e 10,7 ppm na proporção de 90:10 que são referentes à hidroxila da oximas *E* e *Z*. Para confirmar qual a proporção de cada um dos isômeros foi realizado o experimento de NOESY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura A12). Neste, foi possível observar uma correlação entre o grupo metila (2,13 ppm) e o sinal mais intenso das hidroxilas (11,40 ppm), ou seja o produto formado consiste de uma mistura dos isômeros *E* (90%) e *Z* (10%).

oxima de 2-fluoroacetofenona

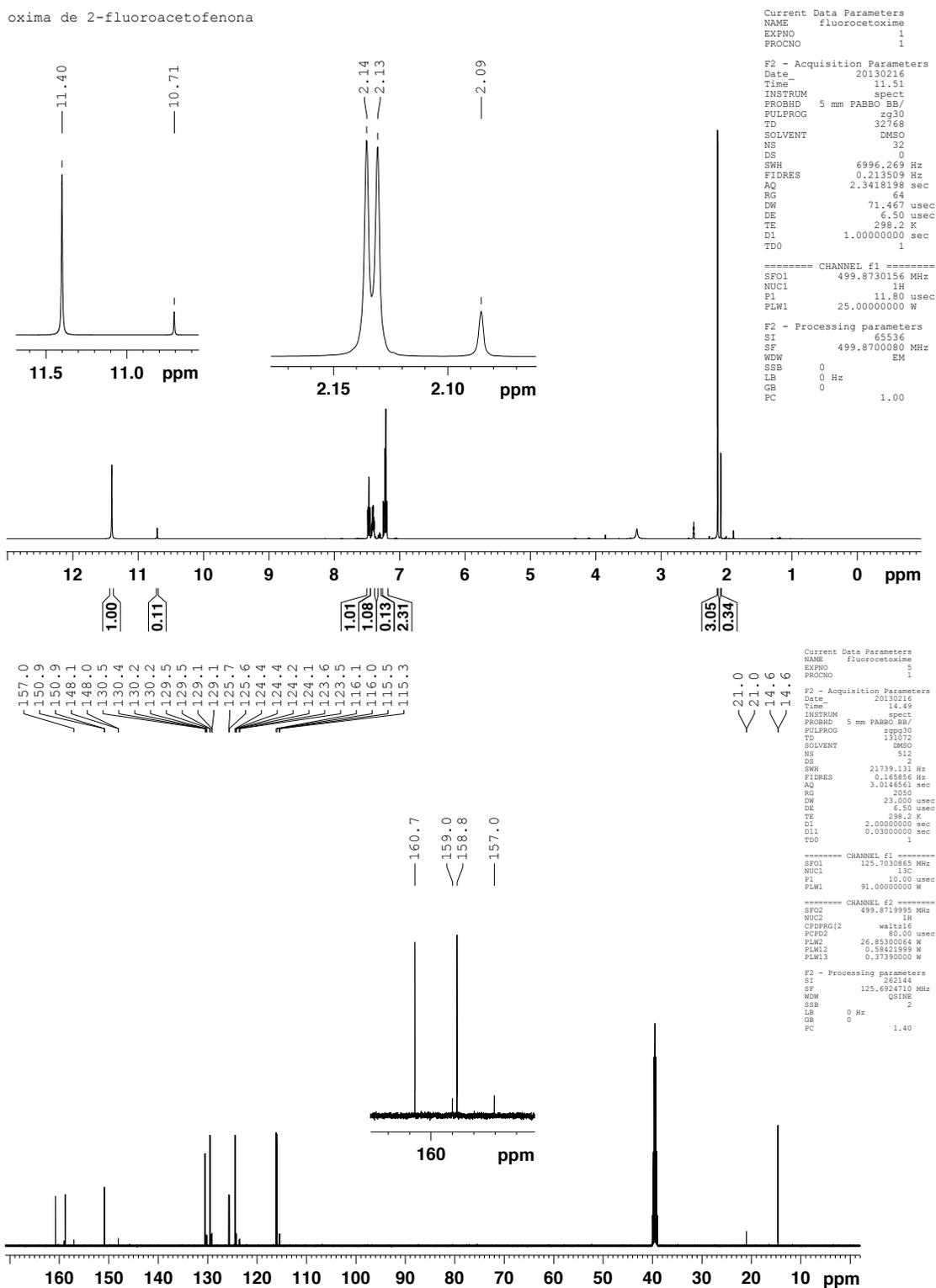
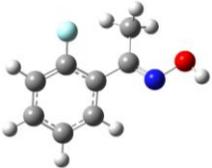


Figura 18. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C para a oxima derivada da 2-F-acetofenona.

O cálculo de otimização das flúoroximas 10*Z* e 10*E*, também indicaram a formação de dois diferentes confôrmeros para cada isômero. As energias para a molécula isolada, em CHCl<sub>3</sub> e em DMSO, assim como os momentos de dipolo estão apresentadas na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Momento de dipolo ( $\mu$ ), diferença de energia ( $\Delta E$  – kcal/mol) e fração molar ( $n$ ) para os confôrmeros das oximas 10*E* e 10*Z* no vácuo, CDCl<sub>3</sub> e em DMSO.

	10 <i>E</i>		10 <i>Z</i>	
	I	ii	I	ii
				
	Vácuo		Vácuo	
$\mu$ (Debye)	1,243	1,804	1,574	1,790
$\Delta E$	0,0	2,82	0,0	0,37
$n$ (%)	99	1	65	35
	CDCl <sub>3</sub>		CDCl <sub>3</sub>	
$\Delta E$	0,0	1,24	0,43	0,0
$n$ (%)	89	11	33	67
	DMSO		DMSO	
$\Delta E$	0,0	0,87	0,65	0,0
$n$ (%)	81	19	25	75
$n_{10E}:n_{10Z}$ em DMSO(%)	82:18			

Os cálculos de otimização em DMSO apontam para a maior estabilidade do isômero *E* (similar ao resultado obtido experimentalmente); a diferença de energia entre os confôrmeros mais estáveis dos isômeros *E* e *Z* foi de 0,9 kcal/mol o que corresponde a uma população de 82% (*E*) e 18% (*Z*). Além disso, é interessante notar que a energia relativa entre os confôrmeros do isômero 10 diminui à medida em que aumentamos a polaridade do solvente – resultado condizente com a diferença entre os momentos de dipolo dos dois confôrmeros.

## 2.5.2 $J_{FN}$

Nas Tabelas 2 e 3 estão apresentados os quarto termos isotrópicos de  $J_{FN}$  obtidos através de dois diferentes níveis de teoria bem como os valores experimentais para as oximas 3-10 (as tabelas referentes aos cálculos utilizando os níveis de teoria B3LYP/6-311++G(d,p) e SOPPA/6-311++G(d,p) estão em anexo – Tabelas A1 e A2, respectivamente). Para as flúoroximas 10Z e 10E os valores dos termos isotrópicos, assim como o valor total, foram ponderados pela razão molar dos diferentes conformêros obtidos dos cálculos em DMSO.

**Tabela 2.** Constante de acoplamento  ${}^nJ_{NF}$  (Hz) experimental e teórica (B3LYP/EPR-III) para as flúor oximas 3-10.

Compostos	FC	SD	PSO	DSO	Total	IExp,I	$d_{NF}$ (calc.)	$d_{NF}$ (X-ray)
<b>3</b>	-22,95	-1,01	-1,39	-0,17	-25,52	22,4	2,694	2,595
<b>4a</b>	-19,58	-2,45	-1,4	-0,14	-23,57	3,2 <sup>a</sup>	2,755	- <sup>c</sup>
<b>4b</b>	-0,16	-0,014	1,36	0,186	1,37	3,2 <sup>a</sup>	4,057	- <sup>c</sup>
<b>5</b>	-9,42	-1,94	-0,63	-0,13	-12,12	8,8	2,946	2,897
<b>6</b>	-45,25	0,38	0,40	-0,21	-44,68	39,5	2,645	2,627
<b>7</b>	-22,13	0,15	1,09	-0,19	-21,08	19,4	2,672	2,642
<b>8E</b>	-13,67	0,002	1,12	-0,10	-12,65	10,7	2,644	- <sup>d</sup>
<b>9Z</b>	-2,00	1,65	1,63	0,079	1,36	0	3,656	- <sup>d</sup>
<b>9E</b>	-6,22	0,10	-1,17	0,041	-7,25	-	3,232	- <sup>d</sup>
<b>10Z</b>	-1,51 <sup>b</sup>	0,38 <sup>b</sup>	-0,52 <sup>b</sup>	-0,01 <sup>b</sup>	-1,68 <sup>b</sup>	0	3,311 <sup>b</sup>	- <sup>d</sup>
<b>10E</b>	-2,98 <sup>b</sup>	-0,08 <sup>b</sup>	0,04 <sup>b</sup>	0,01 <sup>b</sup>	-3,12 <sup>b</sup>	3,1 <sup>c</sup>	3,679 <sup>b</sup>	- <sup>d</sup>

<sup>a</sup> O valor do  $J_{FN}$  experimental é uma média das conformações 4a e 4b; <sup>b</sup> valor ponderado (conformações I e II) -  $J_{FN}$  e % calculados em DMSO; <sup>c</sup> DMSO. <sup>d</sup> Análise de raio-X não realizada

**Tabela 3.** Constante de acoplamento  ${}^nJ_{NF}$  (Hz) experimental e teórica (SOPPA(CCSD)/EPR-III) para as flúor oximas **3-10**.

Compostos	FC	SD	PSO	DSO	Total	IExp.I
<b>3</b>	-18,19	-0,92	-1,25	-0,17	-20,53	22,4
<b>4a</b>	-15,00	-2,11	-1,30	-0,14	-18,55	3,2 <sup>a</sup>
<b>4b</b>	0,24	-1,44	0,52	0,08	-0,60	3,2 <sup>a</sup>
<b>5</b>	-6,87	-1,68	-0,66	-0,13	-9,34	8,8
<b>6</b>	-36,42	0,38	0,43	-0,21	-35,82	39,5
<b>7</b>	-17,79	0,081	0,97	-0,19	-16,93	19,4
<b>8E</b>	-9,00	-0,013	0,807	-0,10	-8,31	10,7
<b>9Z</b>	-2,62	1,11	1,85	0,079	0,43	0
<b>9E</b>	-6,51	0,0089	-0,55	0,0409	-7,01	-
<b>10Z</b>	b	b	b	b	b	0
<b>10E</b>	b	b	b	b	b	3,1 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> O valor do  $J_{FN}$  experimental é uma média das conformações 4a e 4b; <sup>b</sup> valor ponderado (conformações I e II) -  $J_{FN}$  e % calculados em DMSO; <sup>c</sup>DMSO.

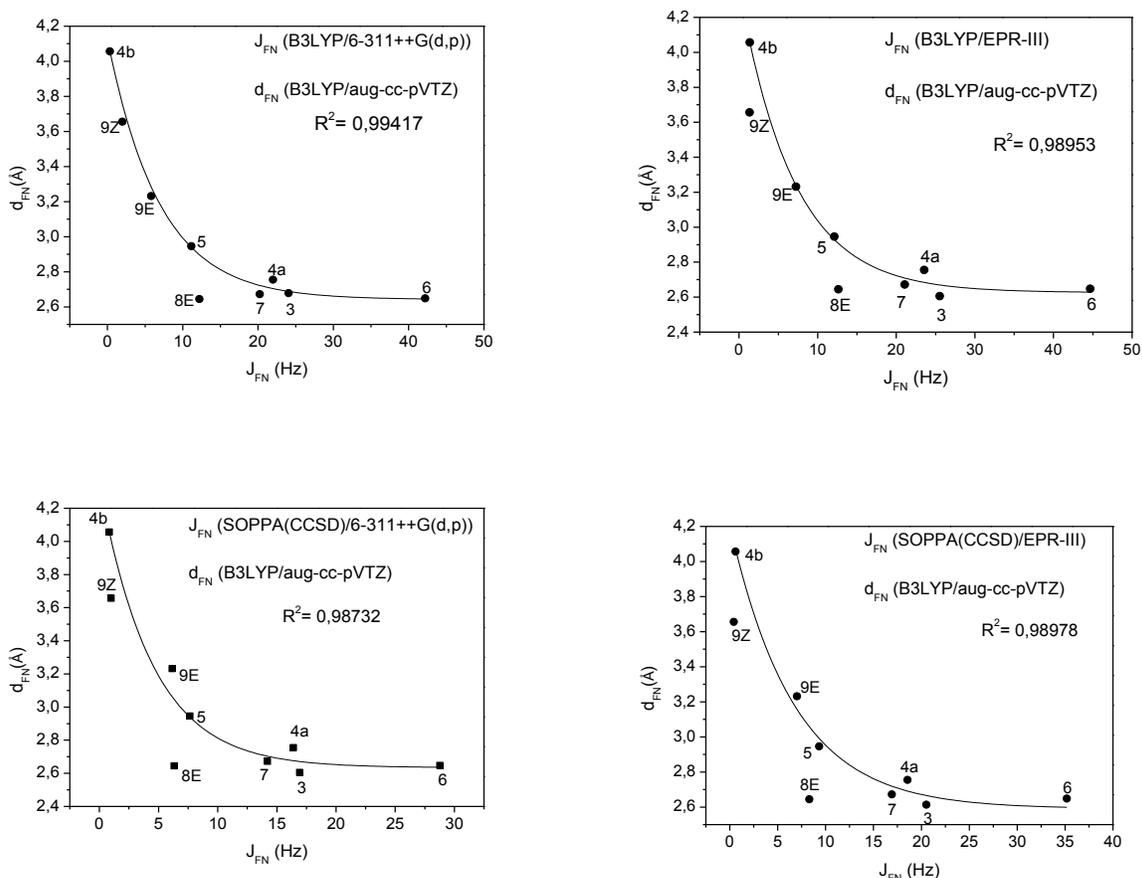
A eficiência da transmissão da constante de acoplamento através do espaço é dependente principalmente de quatro fatores: (i) da distância  $d_{FN}$ ; (ii) da orientação relativa dos pares de elétrons não ligantes do flúor e do nitrogênio; (iii) do caráter s dos pares de elétrons não ligantes do flúor e do nitrogênio e da extensão do overlap, que por sua vez é fortemente dependente da orientação, proximidade e ocupância das nuvens eletrônicas. Nas sessões a seguir discutiremos a relevância de cada um dos termos para a transmissão da constante de acoplamento  ${}^nJ_{FN}$  para as oximas **3-9**.

### (i) Distância $d_{FN}$

Mallory e colaboradores<sup>58</sup> reportaram que para alguns fluornaftalenos existe uma relação inversa e exponencial entre a distância de separação espacial entre F-F e os valores da constante de acoplamento ( $J_{FF}$ ). Ao realizarmos o mesmo tipo de análise para as fluoroximas, pode-se observar um comportamento bastante semelhante entre a

constante de acoplamento  $J_{FN}$  e  $d_{FN}$ , ver **Figura 19**. Além disso, pode-se observar que nem todos os compostos seguem essa tendência como é o caso do composto **8E**, cujo comportamento "anômalo" será discutido na próxima sessão.

Ademais, para quase todos os compostos a  $d_{FN}$  é menor que a soma dos raios de van der Waals do flúor e do nitrogênio ( $1,47+1,55=3,02$  Å). Os resultados acima citados sugerem que a transmissão do acoplamento  $J_{FN}$  é dominada pela sobreposição ("overlap") dos pares de elétrons (*lonepairs* "LPs") dos átomos de flúor e nitrogênio e, também, pela sobreposição entre os LP's do flúor e o orbital da ligação N-O, ou seja, uma transmissão via nuvem eletrônica próxima no espaço.

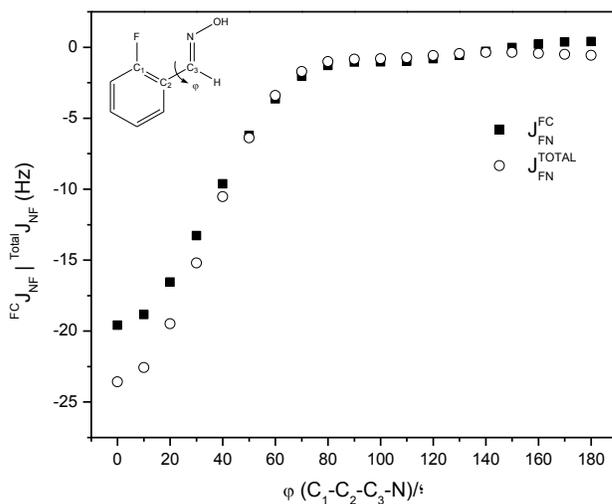


**Figura 19.** A regressão exponencial foi realizada utilizando valores da constante de acoplamento onde a separação entre F-N é  $\geq 4$  ligações, pois neste caso a transmissão via espaço é máxima e a via ligação é mínima.

### (iii) % de Caráter s dos LP's do flúor e Matriz "Overlap"

Em estudos de análise conformacional os efeitos estérico e hiperconjugativo estão muito presentes e, costumeiramente, as interações hiperconjugativas são as principais responsáveis pelas diferenças energéticas entre confôrmeros. No entanto, a importância relativa das contribuições “estéricas” *versus* “hiperconjugativas” é reversa quando estamos analisando a transmissão do acoplamento escalar. Isso se deve ao fato dos orbitais ocupados (LPs e  $\sigma$ ) transmitirem o contato de Fermi de forma muito mais eficiente que um orbital de baixa ocupância ( $\sigma^*$ ).<sup>61</sup> Com isso em mente e analisando as Tabelas 2 e 3, onde se pode observar que a constante de acoplamento  $J_{FN}$  é descrita quase que completamente pelo contato de Fermi (FC), levantou-se a hipótese de que, além da distância espacial entre os átomos envolvidos no acoplamento, a sobreposição, a % de caráter s e a ocupância ( $\rho$ ) dos orbitais envolvidos na transmissão do acoplamento  $J_{FN}$  podem afetar consideravelmente sua magnitude.

Um importante resultado que dá sustentação a esta hipótese foi obtido quando variamos o ângulo diedro  $\varphi = C_1-C_2-C_3-N$  da fluoroxima **4** de  $0^\circ$  (confôrmero **4a**) a  $180^\circ$  (confôrmero **4b**). Na **Figura 20** os valores de FC, assim como de  $J_{FN}$ , foram plotados contra os valores do ângulo diedro  $\varphi$ . Observa-se que a magnitude tanto da constante de acoplamento quanto do termo de contato de Fermi é máximo para  $\varphi = 0^\circ$  e próximo de zero a partir de  $80^\circ$ , ou seja, quando praticamente não há mais sobreposição entre os orbitais não ligantes do flúor e do nitrogênio.



**Figura 20.** Termo de Contato de Fermi (FC) em função da variação do ângulo diedro  $C_1-C_2-C_3-N$ .

Nas **Tabelas 4 e 5** é possível observar a ocupância ( $\rho$ ) e a % de caráter  $s$  entre dos principais orbitais envolvidos na transmissão da constante  $J_{FN}$  para os compostos **3-9**.

**Tabela 4.** Ocupância dos pares de elétrons do flúor ( $LP_{1,2,3}$ ) e do nitrogênio para as fluoroximas **3-9** em B3LYP/EPR-III.

Compostos	Ocupância ( $\rho$ )			
	$LP_1(N)$	$LP_1(F)$	$LP_2(F)$	$LP_3(F)$
<b>3</b>	1,959	1,989	1,967	1,919
<b>4a</b>	1,961	1,989	1,967	1,915
<b>4b</b>	1,961	1,989	1,968	1,926
<b>5</b>	1,953	1,989	1,966	1,919
<b>6</b>	1,955	1,989	1,968	1,918
<b>7</b>	1,957	1,989	1,968	1,922
<b>8E</b>	1,953	1,992	1,970	1,966
<b>9Z</b>	1,956	1,993	1,974	1,969
<b>9E</b>	1,953	1,993	1,978	1,968

**Tabela 5.** Caráter s % dos pares de elétrons do flúor (LP<sub>1,2,3</sub>) e do nitrogênio para as fluoroximas **3-9** em B3LYP/EPR-III.

Compostos	% caráter s			
	LP <sub>1</sub> (N)	LP <sub>1</sub> (F)	LP <sub>2</sub> (F)	LP <sub>3</sub> (F)
<b>3</b>	42,3	70,2	0,15	0,01
<b>4a</b>	42,4	70,3	0,03	-
<b>4b</b>	41,8	70,5	0,02	-
<b>5</b>	42,3	70,4	0,03	-
<b>6</b>	42,5	70,6	0,04	0,01
<b>7</b>	42,2	70,4	0,21	0,04
<b>8E</b>	42,1	73,2	0,18	0,02
<b>9Z</b>	41,7	74,0	0,42	0,34
<b>9E</b>	41,6	74,1	0,24	0,46

Na **Tabela 6** estão presentes os valores da matriz sobreposição ( $S_{ij}$ ) que mostra a extensão do “*overlap*” entre dois orbitais. Multiplicando-se os valores de  $S_{ij}$  pela ocupância dos orbitais envolvidos (considerando a % de caráter s dos respectivos orbitais), é possível estimar a densidade eletrônica compartilhada pelos dois átomos ( $D_{ij}$ ), neste caso flúor e nitrogênio.

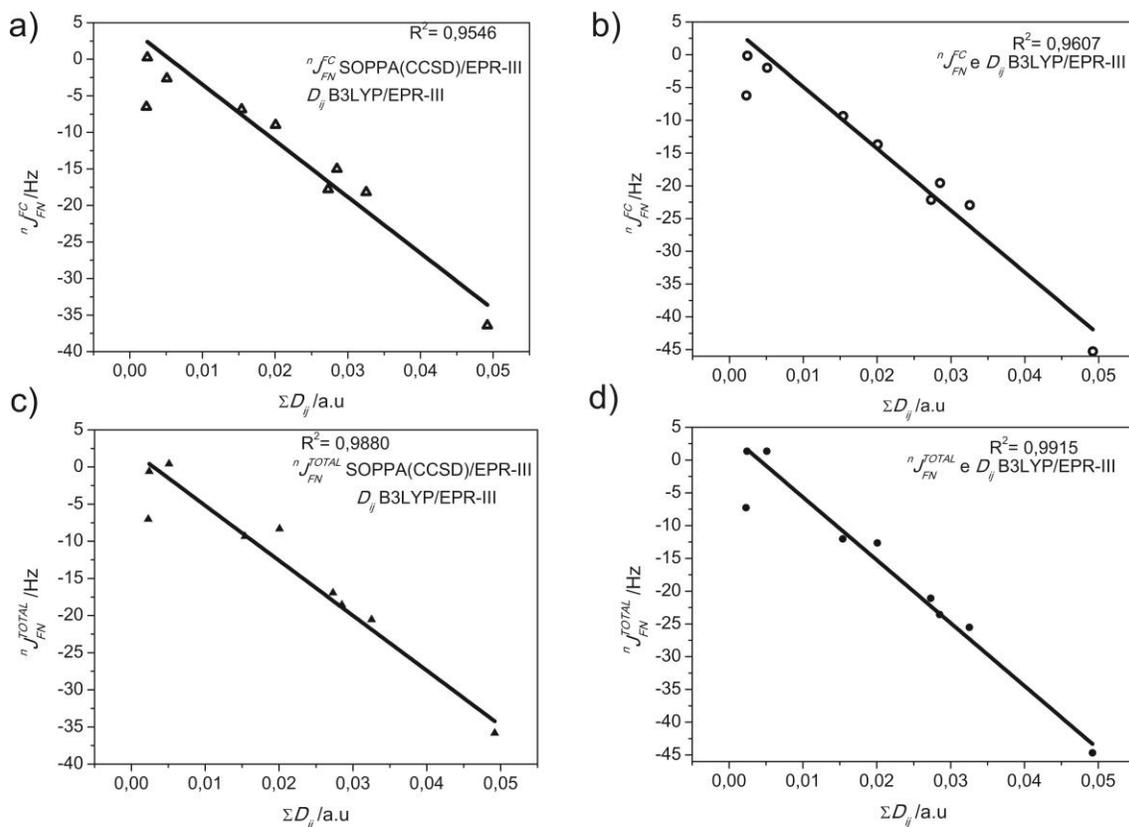
**Tabela 6.** Densidade eletrônica ponderada pela matriz overlap, caráter s e ocupância dos pares de elétrons do flúor e do nitrogênio para as fluoroximas **3-9**.

Compostos	$D_{ij} = S_{ij} \left\{ \left[ \rho_i \left( \frac{\% s \text{ char}}{100} \right) \right] * \rho_j \left( \frac{\% s \text{ char}}{100} \right) \right\}$			$\sum D_{ij}$
	LP <sub>1</sub> (F) – LP <sub>1</sub> (N) * 10 <sup>-2</sup>	LP <sub>2</sub> (F) – LP <sub>1</sub> (N) * 10 <sup>-5</sup>	LP <sub>3</sub> (F) – LP <sub>1</sub> (N) * 10 <sup>-5</sup>	
<b>3</b>	3,20	15,2	0,26	3,26
<b>4a</b>	2,90	1,80	0,00	2,85
<b>4b</b>	0,20	0,03	0,00	2,41
<b>5</b>	1,50	1,86	0,00	1,54
<b>6</b>	4,90	3,90	0,52	4,92
<b>7</b>	2,70	11,7	2,29	2,73
<b>8E</b>	2,00	1,34	1,68	2,00
<b>9Z</b>	0,50	0,95	2,46	0,51
<b>9E</b>	0,20	1,43	0,81	0,23

Ao observar os resultados, acreditamos que a distância entre os núcleos que se acoplam não é suficiente para explicar os valores das constantes de acoplamento através do espaço pelas seguintes razões: *i*) devido à possibilidade desses núcleos próximos se encontrarem em uma orientação relativa que não permita a interação das nuvens eletrônicas; *ii*) que a interação seja menos eficiente que núcleos um pouco mais distantes, um exemplo são os compostos **3 e 7**, onde no composto **3** os núcleos de flúor e nitrogênio estão mais distantes, porém para o composto **3** o valor do  $J_{FN}$  é cerca de 3 Hz maior que para o **7**; *iii*) uma pequena variação na distância pode resultar em uma grande diferença no valor da constante de acoplamento; e *iv*) pode haver mais de um mecanismo atuando na transmissão da informação de um núcleo para o outro resultando em comportamentos "anômalos" como é o caso do composto **8E**. Pelas razões apresentadas acima, acredita-se que a melhor forma de racionalizar os resultados obtidos é através da densidade eletrônica entre os núcleos ( $D_{ij}$ ).

Na **Figura 21** a densidade eletrônica compartilhada pelos núcleos de flúor e nitrogênio foi correlacionada com o termo de contato de Fermi e a constante de

acoplamento (obtidos em dois níveis de teoria B3LYP/EPR-III e SOPPA(CCSD)/EPR-III. A regressão linear foi realizada utilizando valores da constante de acoplamento onde a separação entre F-N é  $\geq 4$  ligações, pois neste caso a transmissão via espaço é máxima e a via ligação é mínima. Podemos observar que a densidade eletrônica entre os núcleos é diretamente proporcional à magnitude da constante de acoplamento, o que evidencia a existência de uma transmissão via espaço da constante de acoplamento flúor-nitrogênio para as fluoroximas em estudo.

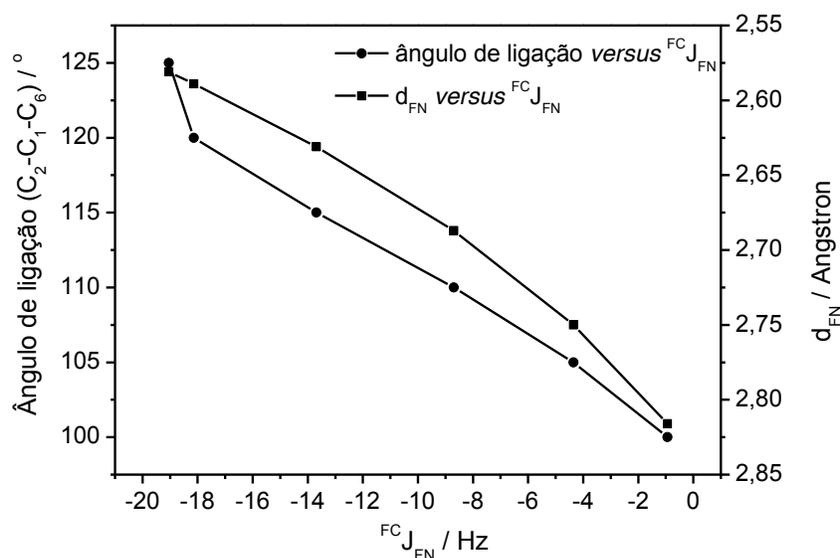


**Figura 21.** Densidade eletrônica ( $D_{ij}$ ) vs  $J^{FC}$  (a) B3LYP/EPR-III; (b) SOPPA(CCSD)/EPR-III e  $D_{ij}$  vs  $J^{TOTAL}$  (c) B3LYP/EPR-III e (d) SOPPA(CCSD)/EPR-III.

### 2.5.2. Oxima (E)- *cis*-2-F-4-tBu-cicloexanona

Na sessão anterior, mencionou-se o comportamento anômalo da oxima **8E** quando plotamos os valores das constantes de acoplamento  $J_{FN}$  versus  $d_{FN}$ . Neste caso temos uma oxima derivada da 2-F-4-tBu-cicloexanona na configuração *cis*, ou seja, temos um acoplamento vicinal entre os átomos de flúor e nitrogênio o que nos leva a acreditar que além da transmissão via espaço, devido à proximidade das nuvens eletrônicas dos núcleos envolvidos, existe um segundo caminho de transmissão da informação que se dá via ligação. Além disso, como o valor da constante de acoplamento se encontra abaixo do valor esperado para a distância entre os núcleos, os mecanismos devem operar em direções opostas, ou seja, enquanto a sobreposição dos pares de elétrons não ligantes do nitrogênio e do flúor ou mesmo a interação entre os orbitais  $LP_{1,2}(F)$  e  $\sigma_{N-O}$  (mecanismo via nuvem eletrônica próxima no espaço) aumenta a magnitude da constante de acoplamento; o mecanismo via ligação [ $LP(N) \rightarrow \sigma^*_{C1C6}$ ;  $\sigma_{C1C6} \rightarrow \sigma^*_{C2F}$ ] diminui a magnitude do  $J_{FN}$ .

Para dar suporte a estas racionalizações, o acoplamento  $J_{FN}$  foi calculado para diferentes valores de  $\theta = C_2-C_1-C_6$ , variado de 5 em 5 graus para a oxima **8E**, enquanto todos os demais parâmetros geométricos foram permitidos relaxar, ver **Figura 22**.



**Figura 22.** Termo de contato de Fermi ( ${}^3J^{\text{FC}}$ ) para a oxima (*E*)-*cis*-2-F-4-t-butil-cicloexanona (8E) versus ângulo de ligação  $\text{C}_2\text{-C}_1\text{-C}_6$  e distância ( $d_{\text{FN}}$ ).

Na Fig. 22 temos o termo de contato de Fermi plotado contra o ângulo interno  $\theta$  e a distância  $d_{\text{FN}}$ . Observa-se que o aumento do valor de  $\theta$  de  $100^\circ$  a  $125^\circ$  leva a uma diminuição da distância e a um aumento do valor absoluto do termo de FC da constante de acoplamento  $J_{\text{FN}}$ . Além disso, nota-se também que para os valores onde o ângulo interno é mínimo ( $\theta = 100^\circ$ ) ou máximo ( $\theta = 125^\circ$ ), as curvas convergem para um mesmo valor. No entanto, entre os dois extremos elas se afastam uma da outra – sugerindo que dois mecanismos estão operando (TS e TB).

## 2.6. Conclusão<sup>62</sup>

A partir do que foi discutido anteriormente, pode-se concluir que a transmissão da constante de acoplamento  $J_{\text{FN}}$  não é governada apenas pela distância entre os átomos de  ${}^{19}\text{F}$  e  ${}^{15}\text{N}$ , como é frequentemente descrito na literatura, mas pela orientação relativa dos átomos de flúor e nitrogênio e, especialmente, pelo caráter s dos orbitais envolvidos na transmissão do termo de contato de Fermi.

Além disso, demonstrou-se que a densidade eletrônica entre os átomos que se acoplam é a melhor forma de racionalizar os valores de  $J_{FN}$  obtidos, como pôde ser observado (Figura 21) se dois núcleos (neste caso nitrogênio e flúor) compartilham uma alta densidade eletrônica com um alto caráter s será observado um alto valor de constante de acoplamento entre eles. Esses resultados ressaltam a importância das interações de “*overlap*” na transmissão das constantes de acoplamento através do espaço.

Por fim, a existência de uma correlação linear entre as duas propriedades, como observado entre  $D_{ij}$  e o FC, torna mais fácil estimar o valor de um baseado no conhecimento do outro, pois neste caso o que temos é uma correlação direta ou inversa entre essas duas propriedades. Em vista de tudo o que foi observado, pode-se afirmar que os mecanismos envolvidos na transmissão dessa constante de acoplamento podem ser descritos, na maioria dos casos, como uma soma das interações hiperconjugativas entre  $LP_{1,2}(F)$  e  $\sigma^*_{N-O}$  e pela sobreposição dos orbitais  $LP_{1,2}(F)$  e  $LP(N)$ .

---

50 J. Grafenstein, T. Tuttle, D. Cremer, Phys. Chem. Chem. Phys. 7 (2005) 452.

51 F. B. Mallory, C. W. Mallory, J. Am. Chem. Soc. 107 (1985) 4816.

52 S. Grzesiek, F. Cordier, V. Jaravine, M. Barfield, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 45 (2004) 275.

53 a) K. Pervushin, A. Ono, C. Fernandez, T. Szyperski, M. Kainosho, K. Wüthrich, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95 (1998) 14147; b) A. J. Dingley, S. Grzesiek, J. Am. Chem. Soc. 120 (1998) 8293.

54 N. M. Loening, C. E. Anderson, W. S. Iskenderian, C. D. Anderson, S. D. Rychnovsky, M. Barfield, D. J. O’Leary, Org. Lett. 8 (2006) 5321.

55 a) H. Takemura, R. Ueda, T. Iwanaga, J. Fluor. Chem. 130 (2009) 684; b) H. Takemura, M. Kaneko, K. Sako, T. Iwanaga, New J. Chem. 33 (2009) 2004.

56 F. B. Mallory, J. Am. Chem. Soc. 95 (1973) 7747.

57 R. A. Cormanich, M. A. Moreira, M. P. Freitas, T. C. Ramalho, C. P. A. Anconi, R. Rittner, R. H. Contreras, C. F. Tormena, Magn. Reson. Chem. 49 (2011) 763.

---

58 F. B. Mallory, C. W. Mallory, K. E. Butler, M. B. Lewis, A. Q. Xia, E. D. Jr. Luzik, L. E. Fredenburgh, M. M. Ramanjulu, Q. N. Van, D. A. Freed, C. C. Wray, C. Hann, M. Nerz-Stormes, P. J. Carroll, L. E. Chirlan, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 4108.

59 a) L. Fielding, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 51 (2007) 219. b) D. O'Hagan, *Chem. Soc. Rev.* 37 (2008) 308. c) B. Puffer, C. Kreutz, U. Rieder, M-O. Ebert, R. Konrat, R. Micura, *Nucleic Acids Res.* 37 (2009) 7728. d) V. V. Grushin, *Acc. Chem. Res.* 43 (2010) 160. e) A. S. Eustaquio, D. O'Hagan, B. S. Moore, *J. Nat. Prod.* 73 (2010) 378.

60 a) W. K. Hagmann, *J. Med. Chem.* 51 (2008) 4359; b) S. Puser, P. R. Moore, S. Swallow, V. Gouverneur, *Chem. Soc. Rev.* 37 (2008) 320.

61 S. J. Wilkens, W. M. Westler, J. L. Markley, F. Weinhold, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 12026.

62 D. C. Favaro, R. H. Contreras, C. F. Tormena, *Magn. Reson. Chem.* 51 (2013) 334.



## Capítulo 3

**Caminho não usual de transmissão do  
acoplamento  $^{TS}J_{FH}$ : 2-F-benzaldeído**



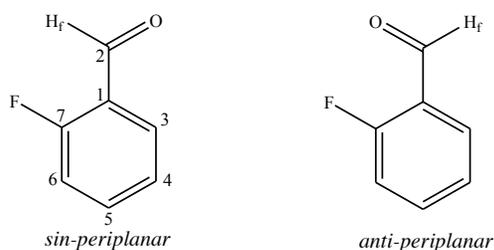
### 3. Introdução

O estudo de constantes de acoplamento “através do espaço”  $^{TS}J_{FH}$  está associado a discussões controversas no que se refere à elusiva concepção de ligação de hidrogênio, entre os átomos de flúor e hidrogênio, quando este acoplamento está presente.<sup>63</sup> Por exemplo, discute-se a possibilidade do acoplamento entre F/H, quando grupos C-F e O-H se encontram próximos, ser devido à existência de interações entre C-F/H-O ou à sobreposição das nuvens eletrônicas do flúor e do OH (a mesma discussão também é pertinente em acoplamentos C-F/H-C).<sup>63b,57</sup> Independentemente dos mecanismos envolvidos na transmissão da constante de acoplamento  $J_{FH}$ , esta tem sido utilizada constantemente como prova de proximidade espacial entre os átomos de  $^{19}\text{F}$  e  $^1\text{H}$ .<sup>55,63b,64</sup>

Como foi citado anteriormente, em um trabalho realizado pelo grupo, demonstrou-se que o acoplamento  $^{TS}J_{FH}$  envolvendo 2-fluorfenóis não é transmitido via ligação de hidrogênio, mas principalmente por um mecanismo de troca devido à interação entre as nuvens eletrônicas do F e do OH.<sup>57</sup> De forma semelhante ao 2-flúorfenol, o 2-flúorbenzaldeído possui um arranjo que permite a transmissão tanto via ligação de hidrogênio quanto “através do espaço”.

#### 3.1. Objetivo

Para um entendimento mais amplo dos mecanismos envolvidos na transmissão desse acoplamento, realizou-se um estudo teórico e experimental para o 2-fluorbenzaldeído (**Figura 23**).



**Figura 23.** 2-F-benzaldeído e as duas possíveis orientações para o grupo formila. Representações dos pares de elétrons não ligantes do oxigênio e do flúor.

### 3.2. Detalhes experimentais

Os experimentos foram realizados em um espectrômetro Bruker Avance III equipado com uma sonda de 5 mm (*smartprobe* – BBFO) com gradiente (Gz) operando a 499,87 MHz e 470,29 MHz para  $^1\text{H}$  e  $^{19}\text{F}$ , respectivamente. O 2-F-benzaldeído utilizado é de origem comercial. As amostras foram preparadas como soluções de 10 mg de soluto em 0,7 mL de solvente (benzeno- $\text{d}_6$  ou DMSO- $\text{d}_6$ ). As constantes de acoplamento foram mensuradas a partir do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  e, inequivocamente assinaladas utilizando os mapas de contorno COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  e experimentos de longa distância  $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$ .

### 3.3. Detalhes Computacionais

As estruturas de mínimo para o 2-flúorbenzaldeído no vácuo foram obtidas utilizando o nível de teoria MP2/aug-cc-pVTZ. Para estudar o efeito do solvente na preferência conformacional de 2-F-benzaldeído foram realizados cálculos em MP2/aug-cc-pVTZ utilizando o modelo SMD. Todos os cálculos foram realizados no Dalton-Cluster que possui computadores Core2 X4 2.83 GHz equipados com HD de 350 GB SATA-2 munidos de 16000 MB de memória RAM.

### 3.4. Resultados e Discussão

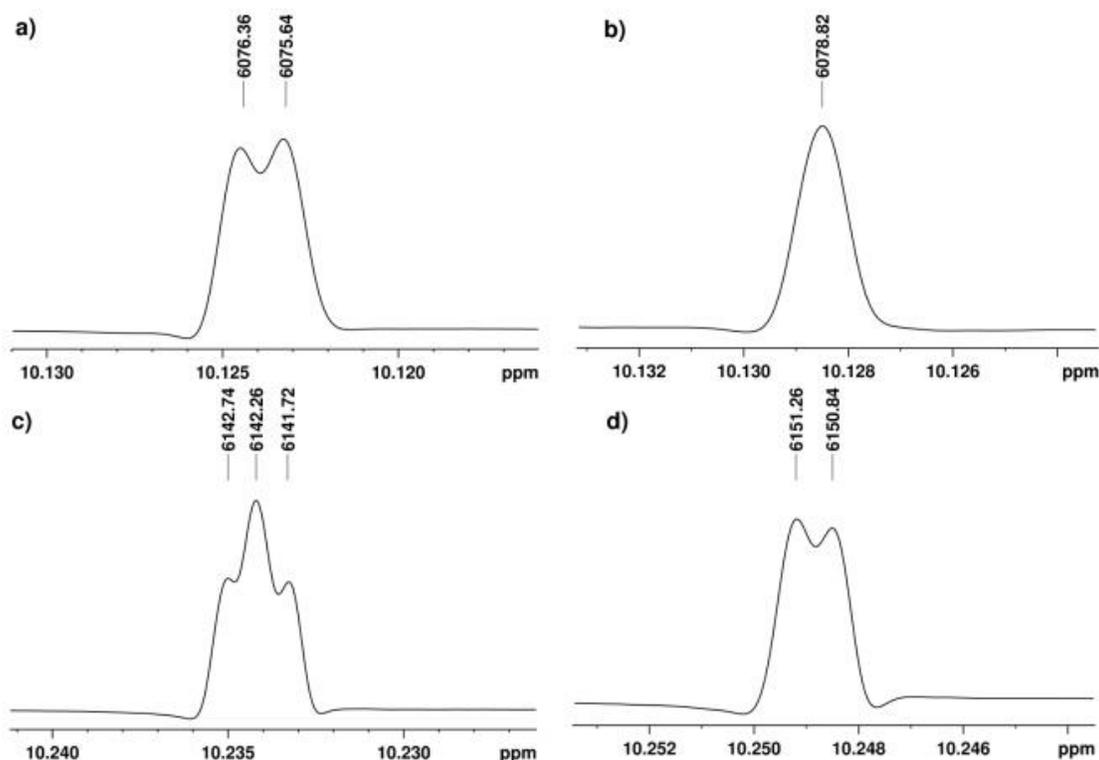
Como se pode observar na **Figura 23** dependendo da orientação do grupo formila a molécula é mais ou menos polar. Esta observação ficou evidenciada após a realização de cálculos para a molécula isolada nas formas *sinperiplanar* ( $\mu=3,8$  Debye) e *antiperiplanar* ( $\mu=5,2$  Debye). No intuito de observar se essa diferença de momento de dipolo, obtida dos cálculos para uma molécula isolada levaria a alguma diferença evidente experimentalmente foram obtidos espectros de  $^1\text{H}$  em dois solventes com polaridades bastante distintas: DMSO ( $\epsilon=46,7$ ) e benzeno- $\text{d}_6$  ( $\epsilon=2,3$ ).

Nota-se que o hidrogênio do grupo formila ( $\text{H}_f$ ) possui ambientes químicos diferentes de acordo com a sua orientação. Devido a essa característica, este

hidrogênio foi utilizado como sonda para eventuais mudanças de orientação. Nas **Figuras 24a e 24c**, pode-se observar que o sinal referente ao H<sub>f</sub> apresenta multiplicidades distintas quando em solvente não-polar (benzeno-d<sub>6</sub>) e polar (DMSO-d<sub>6</sub>), *duplete* e *tripleto* distorcidos, respectivamente.

Para essa diferença de multiplicidade é possível levantar três hipóteses plausíveis: a) quando o hidrogênio H<sub>f</sub> se encontra em um solvente não-polar está acoplado a um hidrogênio aromático e em solvente polar a dois; b) tanto em solvente polar como apolar o hidrogênio H<sub>f</sub> está acoplado a apenas um hidrogênio aromático, porém em solvente polar a forma *antiperiplanar* é favorecida e o H<sub>f</sub> acopla com o flúor via interações de troca (semelhante ao 2-fluorfenol) – mecanismo de transmissão através do espaço ou c) a orientação do grupo formila (*antiperiplanar*) em solvente polar favorece interações hiperconjugativas e o mecanismo de transmissão do acoplamento entre H<sub>f</sub> e o flúor é puramente via ligação.

A fim de nos certificarmos a respeito da primeira hipótese foram realizados experimentos com desacoplamento homonuclear dos hidrogênios aromáticos para ambas as amostras (benzeno-d<sub>6</sub> e DMSO- d<sub>6</sub>). Como se pode observar, **Figura 24b e 24d**, ao desacoplar os hidrogênios aromáticos o sinal do H<sub>f</sub> apresenta-se como um singleto para a solução em benzeno-d<sub>6</sub> (Fig. 24b), mas como um *duplete* em DMSO- d<sub>6</sub>. Além disso, nos experimentos de COSY (**Figura B1 e B2**) foi observado, tanto em benzeno-d<sub>6</sub> quanto em DMSO-d<sub>6</sub>, apenas uma correlação de H<sub>f</sub> com os hidrogênios aromáticos. Este resultado preliminar sugere que tanto em solvente polar quanto em apolar o hidrogênio do grupo formila está acoplado a um único hidrogênio aromático.



**Figura 24.** Sinal do hidrogênio  $H_f$  obtido do espectro de  $^1H$  do 2-F-benzaldeído; a) benzeno- $d_6$ , b) experimento com desacoplamento homonuclear dos hidrogênios aromáticos (benzeno- $d_6$ ); c) DMSO- $d_6$  e d) experimento com desacoplamento homonuclear dos hidrogênios aromáticos (DMSO- $d_6$ ).

A fim de confirmar se a constante de acoplamento remanescente era devido ao acoplamento do flúor com  $H_f$  (validando as hipóteses b e c), experimentos de RMN 2D  $^1H$ - $^{19}F$  (HETCOR – **HET**eronuclear **COR**relation)<sup>65</sup> foram realizados para o 2-F-benzaldeído em ambos os solventes (**Figuras 25 e 26**). Os experimentos de HETCOR mostraram, de forma inequívoca, que em ambos os solventes existe uma correlação entre o  $^1H_f$  e o núcleo de  $^{19}F$ . Em benzeno- $d_6$  este acoplamento é menor que a resolução espectral, no espectro 1D de  $^1H$ , e não pôde ser determinado, no entanto em DMSO- $d_6$  esse acoplamento é de 0,48 Hz.

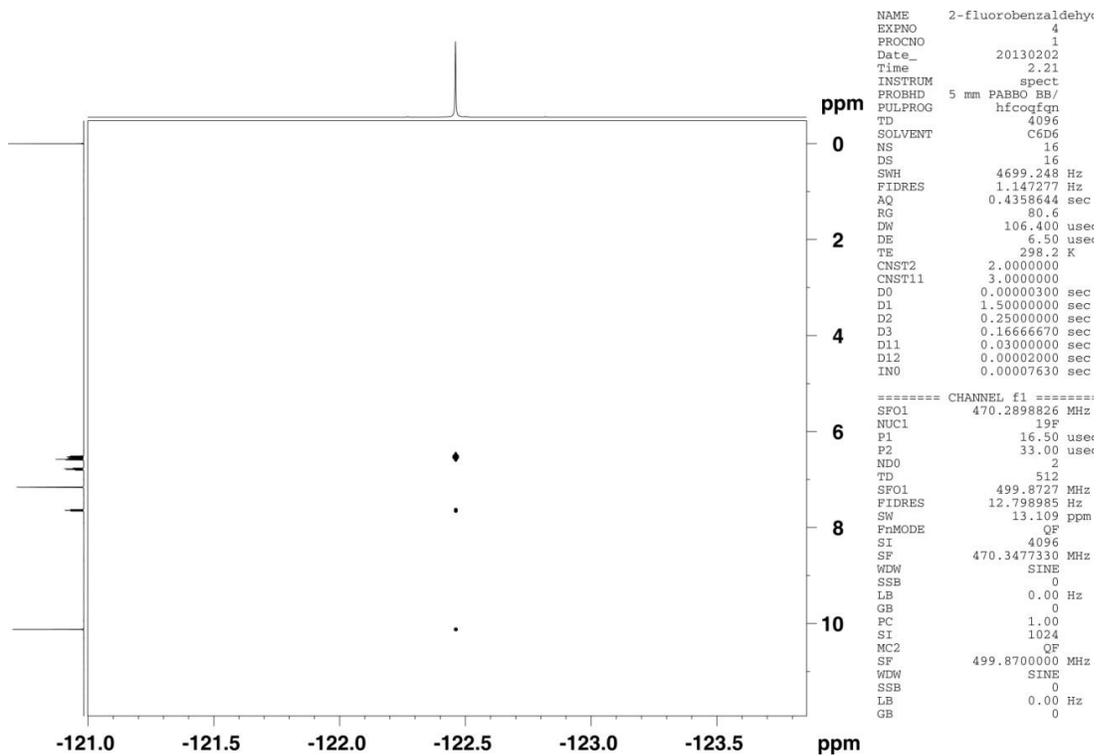


Figura 25. Mapa de contorno (HETCOR)  $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$  do 2-flúorbenzaldeído em benzeno- $d_6$ .

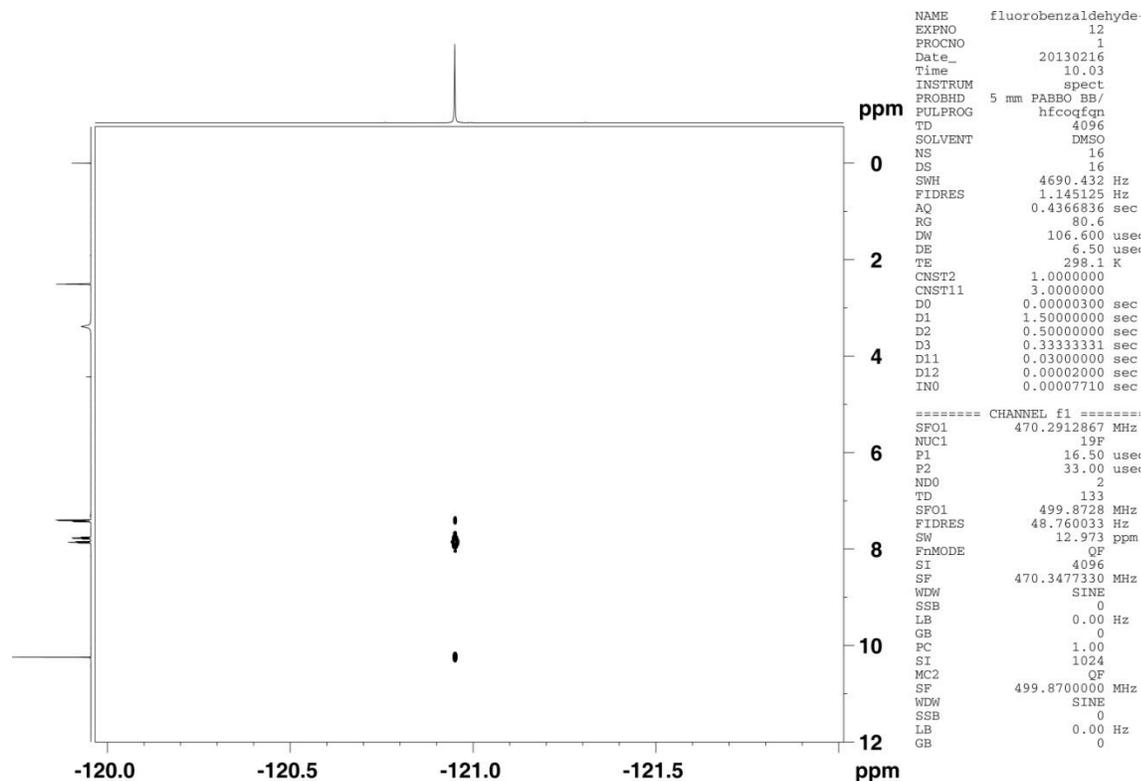


Figura 26. Mapa de contorno (HETCOR)  $^1\text{H}$ - $^{19}\text{F}$  do 2-flúorbenzaldeído em DMSO- $d_6$ .

A partir dos resultados obtidos, as questões que permanecem não respondidas são: Por que este acoplamento é maior em solvente polar? Qual o mecanismo de transmissão (através do espaço, via ligação ou uma soma de ambos)?

Como mencionado anteriormente, o 2-F-benzaldeído apresenta dois arranjos conformacionais para o grupo formila (Fig.23), para determinar qual a forma mais estável quando consideramos uma molécula isolada (vácuo) bem como quando ela está em solução, foram obtidas as estruturas de mínimo utilizando o nível de teoria MP2/aug-cc-pVTZ, os resultados estão presentes na **Tabela 7**.

**Tabela 7.** Energias obtidas para o 2-fluorobenzaldeído para as orientações *sin*- e *antiperiplanar* do grupo formila e fração molar para a forma *sin* calculada com o nível de teoria MP2/aug-cc-pVTZ.

Solvente	$E_{sin}^{[a]}$	$E_{anti}^{[a]}$	$\Delta E^{[b]}$	$n_{sin}$
Molécula Isolada	-444,031731	-444,028321	2,1	0,97
Benzeno	-444,041117	-444,038621	1,6	0,94
DMSO	-444,040899	-444,039893	0,6	0,73

[a] unidades atômicas; [b] kcal/mol.

Os resultados apresentados na Tabela 7 mostram que o confôrmero *sin* é muito mais estável que o *anti* na fase isolada, porém à medida que a polaridade do solvente aumenta essa diferença de energia diminui chegando a 0,6 kcal/mol em DMSO. Ainda que esse aumento de estabilidade do confôrmero *anti* fosse esperado, devido ao momento de dipolo mencionado anteriormente, os resultados apresentados até o presente momento não explicam por que na forma *sin* em que o flúor e o hidrogênio do grupo formila estão próximos o acoplamento é menor que na forma *anti*. Com o intuito de racionalizar este resultado, o  $J_{FHf}$  foi calculado utilizando o nível de teoria SOPPA(CCSD)/EPR-III considerando a molécula isolada. Os resultados para os quatro termos de Ramsey estão dispostos na **Tabela 8**.

**Tabela 8.** Termos de Ramsey e  $J_{FH}^{Total}$  (Hz) calculado sem SOPPA(CCSD)/EPR-III para os confôrmeros *sin*- e *antiperiplanar* de 2-flúorbenzaldeído.

Termos de Ramsey	Conformação	
	<i>sin</i>	<i>anti</i>
$^{FC}J_{FHf}$	0,05	-1,84
$^{SD}J_{FHf}$	-0,17	-0,31
$^{PSO}J_{FHf}$	-0,75	0,99
$^{DSO}J_{FHf}$	1,41	-1,42
$^{total}J_{FHf}$	0,55	-2,58

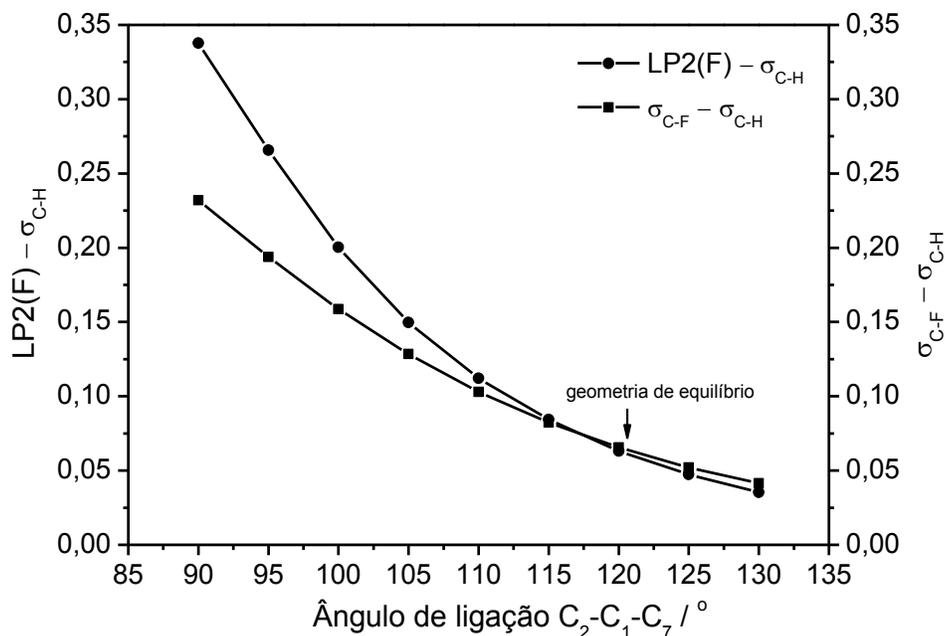
É interessante racionalizar, sempre que possível, as diferenças entre as contribuições de cada termo de Ramsey. Para ambos os  $^{TS}J_{FHf}$ , apresentados na Tabela 8, as racionalizações para cada um dos termos estão apresentadas a seguir:

a) Sobre o termo de FC. A análise dos dados contidos na Tabela 8 mostra que para o confôrmero *antiperiplanar* tanto o valor absoluto do termo de contato de Fermi quanto o valor total do  $J_{FHf}$  são maiores que para a forma *sinperiplanar*. Este resultado corrobora com os dados experimentais que mostram que em solvente polar, onde a diferença entre as populações *sin* e *antiperiplanar* é menor, o valor dessa constante é maior.

Os resultados apresentados acima, embora nos tenha causado certa surpresa, apresentam uma semelhança muito grande com os reportados recentemente<sup>57</sup> para o *o*-flúorfenol, onde as contribuições das matrizes de *overlap* dos orbitais  $\sigma_{OH}/LP_1(F)$  e  $\sigma_{OH}/\sigma_{C_2F_2}$  para o termo de contato de Fermi para o confôrmero *sin* são de sinais opostos.

A fim de investigar se o mesmo ocorria para o 2-flúorbenzaldeído, variou-se o ângulo de ligação C<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub> de 90 a 130° de 5 em 5 graus e calculou-se, para cada geometria de mínimo, a matriz de sobreposição ( $S_{ij}$ ) para os orbitais  $LP_2(F)/\sigma_{CHF}$  e  $\sigma_{C-F}/\sigma_{C-Hf}$ . Nota-se, na **Figura 27**, que as matrizes de sobreposição apresentam valores

absolutos iguais para valores de ângulo de ligação ( $C_2-C_1-C_7$ ) próximos ao valor de equilíbrio. Além disso, os valores absolutos de  $S_{ij}$  diminuem com o aumento do ângulo de ligação e, o mais importante, as contribuições se cancelam na estrutura de equilíbrio. Este resultado é um indicativo de que a transmissão da constante de acoplamento  $J_{FHf}$  para o 2-flúorbenzaldeído não se dá via ligação de hidrogênio.



**Figura 27.** Variação da sobreposição entre  $LP_2(F) - \sigma_{C-H}$  e  $\sigma_{C-F} - \sigma_{C-H}$  versus ângulo de ligação do 2-fluorobenzaldeído (orientação *sin*).

Uma rápida observação do confômero *anti* (Fig. 23) sugere uma proximidade espacial entre os átomos de flúor e oxigênio. Esta suposição foi comprovada a partir da medida da distância entre  $F \cdots O$  na estrutura de equilíbrio 2,80 Å, notavelmente menor que a soma dos raios de van der Waals que é de 2,99 Å (1,47 + 1,52) Å. A proximidade entre dois átomos com uma nuvem eletrônica densa gera uma compressão estérica, que se reflete em um aumento da % de caráter s do orbital  $LP_2(F)$ .<sup>66</sup> Através da análise cuidadosa dos resultados provenientes do NBO, observou-se que a % de caráter s do  $LP_2(F)$  é 0,32 ao passo que para o confômero *sin* é de apenas 0,02. A proximidade espacial e conseqüente compressão estérica “contamina” o  $LP_1(O)$  com a informação

do contato de Fermi do flúor; conseqüentemente, um caminho eficiente é ativado para a transmissão do termo FC. É importante salientar que o sinal dessa constante não foi determinado experimentalmente.

b) Sobre o termo SD. Esta é a menor diferença entre os confôrmeros *sin*- e *antiperiplanar*, no entanto realizar uma análise qualitativa desta pequena diferença não é uma tarefa fácil.

c) Sobre o termo PSO. A racionalização para a diferença entre os termos PSO dos confôrmeros *sin*- e *antiperiplanar* é obtida empregando uma análise qualitativa previamente descrita.<sup>67</sup> Com esta aproximação cada componente do tensor do termo PSO pode ser escrito através de contribuições NBO como na equação 8, onde  $\alpha$  é uma coordenada cartesiana;  $i$  e  $j$  são os orbitais ocupados e  $a$  e  $b$  são os orbitais vazios.

$${}^{TS} J_{ia,jb}^{PSO\alpha\alpha}(F,H) = U_{ia,F}^{PSO,\alpha} {}^1W_{ia,jb} U_{jb,H}^{PSO,\alpha} \quad (8)$$

Onde

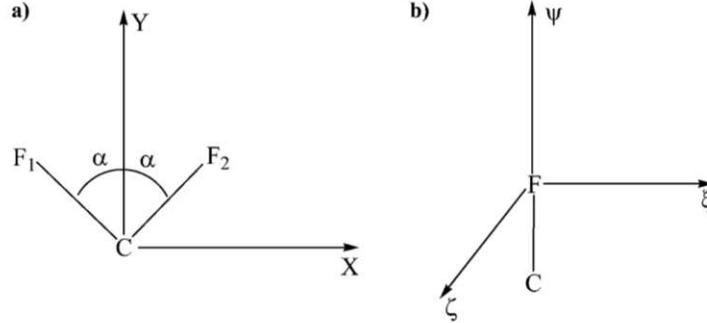
$$U_{ia,F}^{PSO,\alpha} = \langle i | \frac{(\vec{r}_F \times \vec{\nabla})_\alpha}{r_F^3} | a \rangle$$

$$U_{jb,H}^{PSO,\alpha} = \langle j | \frac{(\vec{r}_B \times \vec{\nabla})_\alpha}{r_H^3} | b \rangle \quad (9)$$

são os “perturbadores”, que constituem o sistema de “emissor/receptor” para estes NBOs; o sistema de transmissão é dado pela matriz  ${}^1W_{ia,jb}$ .

O sistema de transmissão é dado pela matriz  ${}^1W_{ia,jb}$ . O tensor PSO origina do produto vetorial entre os dois “perturbadores”, **Equação 9**. No entanto, o significado dos “perturbadores” é mais fácil de ser visualizado se empregarmos um sistema de coordenadas cartesianas centrado no átomo de F. Considere um exemplo simples como a molécula de CF<sub>2</sub>H<sub>2</sub>. Na **Figura 28a** os hidrogênios se encontram ao longo do

plano YZ ao passo que as ligações C-F se encontram ao longo do plano XY. Ao mudarmos o sistema de coordenadas para um sistema centrado em um dos átomos de flúor (**Figura 28b**) temos que: os orbitais  $LP_1(F)$ ,  $\sigma_{CF}$  e  $\sigma^*_{CF}$  se encontram ao longo de  $\psi$ ; o  $LP_2(F)$  ao longo de  $\xi$  e o  $LP_3(F)$  ao longo de  $\zeta$ .<sup>67</sup>



**Figura 28.** (a) Configuração para a ligação C-F expressa no sistema de eixo principal PSO (X,Y,Z). (b) Sistema de coordenadas cartesianas para cada núcleo acoplado de flúor ( $\xi$ ,  $\psi$ ,  $\zeta$ ).

Isso indica que as componentes do numerador da equação de cada perturbador (equação 8) está da seguinte maneira: rotacionando o  $LP_3(F)$  de  $+90^\circ$  ao redor de  $\xi$ , este se sobrepõe com o orbital antiligante  $\sigma^*_{CF}$ , gerando uma componente negativa em  $\psi$ . Similarmente, rotacionando o  $LP_2(F)$  de  $-90^\circ$  ao redor do eixo  $\zeta$  ele se sobrepõe com o orbital  $\sigma^*_{CF}$ , rendendo uma componente  $\psi$  negativa; no entanto, como o ângulo de rotação é negativo, esta componente é positiva (**Equação 10**) – ângulo de rotação positivo – contribuição negativa; ângulo de rotação negativo – contribuição positiva.

$$n_{J_{F_1F_2}^{PSO}} = \frac{1}{3} \sum_{\nu} J_{F_1F_2}^{PSO,\nu\nu} \quad \text{com}$$

$$J_{F_1F_2}^{PSO,\nu\nu} = -\Omega^{PSO} \gamma_F^2 \sum_{ia,jb} n_{J_{F_1F_2}^{PSO,\nu\nu}}(F_1F_2) \quad (10)$$

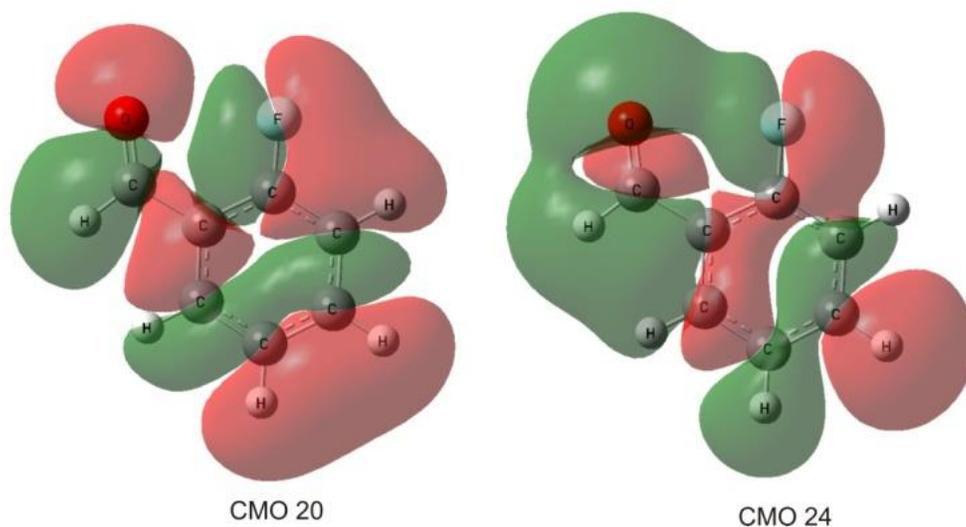
O resultado acima indica que existe uma competição no sinal do PSO, podendo ser positivo ou negativo. Obviamente, a contribuição do  $LP_1(F)$  ou do orbital ligante (C-F) é negligenciável quando consideramos uma rotação em torno do eixo  $\psi$ .

Agora, considere a regra da mão direita (polegar apontado para o eixo de rotação e os outros dedos como o  $LP_2(F)$ ) vamos observar o efeito dos “perturbadores” no caso dos isômeros *sin*- e *antiperiplanar* de 2-flúorbenzaldeído. Para o confômero *sin*, por exemplo, quando rotacionamos o  $LP_2(F)$  por um ângulo de  $90^\circ$  ao redor de um eixo perpendicular ao plano da molécula, ele sobrepõe com o orbital  $\sigma^*_{CH}$ , gerando uma contribuição negativa para o PSO (o sinal negativo é proveniente da equação que descreve o termo PSO – eq. 10). Para o confômero *anti*, a sobreposição do  $LP_2(F)$  ocorre com o lóbulo traseiro ou “*rearlobe*” e não com o orbital  $\sigma^*_{CH}$ . Como as fases dos dois orbitais são opostas, realizamos uma rotação de  $-90^\circ$  ao redor do mesmo eixo molecular. Além disso, o resultado do cálculo da matriz “*overlap*” ( $S_{ij}$ ) mostra que para o confômero *anti*, esta sobreposição é mais eficiente (-0,0564) que para o *sin* (0,0159).

d) Sobre o termo DSO: A tendência da contribuição isotrópica do termo DSO para qualquer SSCC segue uma tendência bem conhecida.<sup>68</sup> Na verdade, se o espaço ocupado por elétrons de um composto estudado é dividido, em duas regiões distintas, por uma esfera cuja região é a distância F---H, então elétrons que pertencem a esta esfera contribuem positivamente para o termo isotrópico DSO. Por outro lado, elétrons que se encontram fora dessa esfera contribuem negativamente. Consequentemente, a mudança de sinal do termo DSO nos confômeros *sin* e *anti* é facilmente racionalizada.

A racionalização apresentada acima para a contribuição FC do acoplamento  $^{TS}J_{FHF}$  é bastante apelativa, porém ela pode ser fundamentada utilizando um método recentemente desenvolvido e conhecido pelo acrônimo, FCCP-CMO<sup>69</sup> (**F**ermi **C**ontact **C**oupling **P**athways using **C**anonical **M**olecular **O**rbitals). Este método é baseado na relação entre o Buraco de Fermi (“*Fermi Hole*”) e as interações de transmissão do termo FC.<sup>43</sup> O principal ponto é determinar a região ocupada por cada CMO. Esta tarefa pode ser realizada com a expansão de cada CMO em termos de NBO’s.

Para o confômero *anti* a análise de FCCP-CMO mostrou que a transmissão do acoplamento  $^{TS}J_{FHf}$  é mediada por transições virtuais entre orbitais ocupados e vazios, exceto pelo termo FC que é transmitido principalmente por interações de troca, em ambos os casos, apenas CMOs contendo em suas expansões NBO's de ambos os núcleos contribuem para a transmissão da informação. Neste caso, apenas os CMOs ocupados que possuem os núcleos de F e H<sub>f</sub>, que são os CMO's 20 e 24 (**Tabela B1**). Isso indica que o principal mecanismo de transmissão do termo FC para o acoplamento  $^{TS}J_{FHf}$  são interações de troca nas regiões de sobreposição entre as nuvens eletrônicas dos átomos de F e H<sub>f</sub>, CMOs 20 e 24 que contêm em suas expansões NBO os orbitais LP<sub>2</sub>(F) e  $\sigma_{C-Hf}$ . Na **Figura 29** encontra-se a representação desses CMOs para o confômero *anti* de 2-flúorbenzaldeído.



**Figura 29.** CMO 20 e CMO 24 referentes ao grupo formila na orientação *anti*.

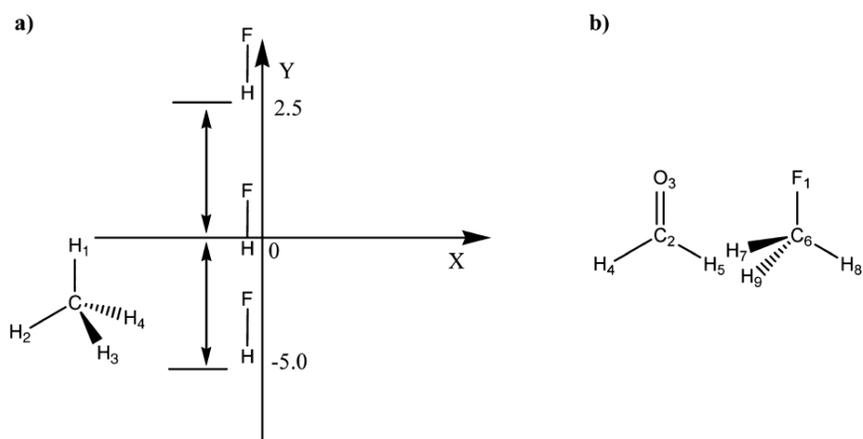
É bem estabelecido na literatura<sup>43</sup> que apenas os Orbitais Moleculares com uma % de caráter s significativa em ambos os núcleos acoplados, neste caso flúor e H<sub>f</sub>, podem contribuir significativamente para a transmissão do termo FC. A proximidade espacial entre os núcleos de flúor e oxigênio na forma *anti* leva a uma compressão estérica devido à interação entre suas nuvens eletrônicas. Esta interação provoca um aumento do caráter s do LP<sub>2</sub>(F) de 0,00 para 0,32%. O aumento do caráter s do LP<sub>2</sub>(F)

permite a transmissão do termo FC do  $LP_2(F)$  para o  $LP_1(O)$  como observado na análise FCCP-CMO e, por fim, uma interação hiperconjugativas fraca entre  $LP_1(O) \rightarrow \sigma^*_{C-H_f}$  (em torno de  $1 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) transmite a informação do termo FC do  $LP_1(O)$  para o hidrogênio formila ( $H_f$ ). Esta interação fraca é responsável pela constante de acoplamento observada experimentalmente.

Para o conformero *sin* a proximidade  $F \cdots H_f$  não gera nenhuma compressão estérica como a mencionada acima para o *anti* e, conseqüentemente, o caráter s do  $LP_2(F)$  nessa orientação é cerca de 15 vezes menor (0,02%).

Além disso, para a conformação *sin* existe uma competição entre as sobreposições dos orbitais  $\sigma_{C-H_f}/\sigma_{F-C_2}$  e  $\sigma_{C-H_f}/LP_1(F)$ , onde as interações de troca ocorrem e levam a contribuições opostas para o termo FC (Fig. 27) e, de acordo com as observações experimentais descritas acima, apenas uma pequena contribuição para o acoplamento  ${}^{TS}J_{FH_f}$  permanece. É importante ressaltar que os “plots” presentes na Figura 29 representam muito bem a racionalização da transmissão do termo FC.

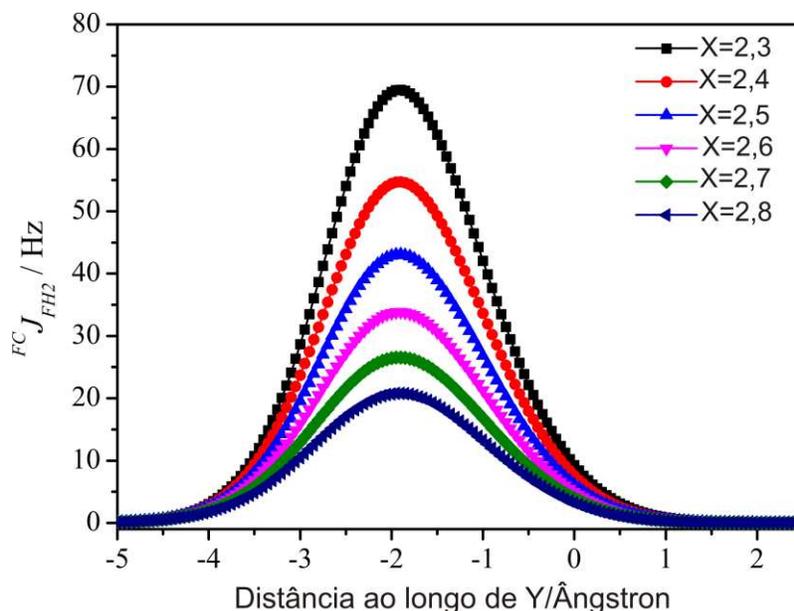
Para reforçar nossa racionalização sobre os mecanismos de transmissão através do espaço e através das ligações para a constante de acoplamento  ${}^{TS}J_{FH_f}$ , foram escolhidos dois modelos muito simples onde não há ligações químicas conectando os núcleos que se acoplam. Dessa forma, é obvio que a transmissão da informação ocorre via espaço, ver **Figura 30**.



**Figura 30.**(a,b)Sistemas modelo escolhidos para investigar diferentes mecanismos de transmissão para o termo FC para a constante de acoplamento  $J_{FH}$ .

Para este sistema modelo (Fig. 30a) as geometrias de mínimo das moléculas de metano e H-F foram obtidas separadamente. Os dímeros foram obtidos colocando a ligação H-F paralela à ligação C-H<sub>1</sub> do metano, definindo um plano bissector. Para mimetizar o acoplamento  $^{TS}J_{FHf}$  para a conformação *anti*-2-flúorbenzaldeído, foram realizados cálculos para a constante de acoplamento  $J_{FH2}$  variando, em passos de 0,01 Å, a posição da molécula de metano ao longo do eixo X (separação horizontal) de 2,3 a 2,8 Å e para cada ponto variando a posição da molécula de H-F de -5 a 2 Å ao longo de Y, respectivamente. Todos os cálculos foram realizados utilizando o nível de teoria BHandH/EPR-III.

Assim, foram obtidas seis curvas que estão apresentadas na **Figura 31**.



**Figura 31.** Variação de  ${}^{FC}J_{FH2}$  para o sistema modelo metano – F-H (modelo que mimetiza o confôrmere *anti*) para diferentes arranjos do dímero.

Na Figura 31, a curva para  $X=2,3$  Å atinge seu valor máximo para  $Y=-1,9$  Å, onde o valor do termo  ${}^{FC}J_{FH2}$  é maior que 70 Hz e então diminui para 0 Hz quando  $Y=-5,0$  Å. É importante salientar que a constante de acoplamento entre os átomos de F e  $H_2$ , apresentada na Figura 20, são transmitidas puramente via espaço, uma vez que não há ligação formal conectando as duas moléculas. Uma importante interação para a contribuição FC é a interação hiperconjugativas envolvendo o  $LP_2(F)$  e o orbital antiligante  $\sigma^*_{C1H2}$ , o que depende fortemente da interação de sobreposição entre a ligação C- $H_2$  e o par de elétrons não ligante  $LP_2(F)$ .

O modelo apresentado na Figura 30a apresenta valores positivos de FC (Fig. 31) e para o confôrmere *anti* essa contribuição é negativa. Conseqüentemente, para obtermos um modelo mais fidedigno para o 2-flúorbenzaldeído, escolhemos um dímero composto de formaldeído e flúormetano (Figura 30b). O modelo presente na Figura 30b foi construído mantendo o grupo carbonila e a ligação C-F do flúormetano na mesma configuração, assim como no confôrmere *anti* de 2-flúorbenzaldeído e os

demais átomos foram trocados para obtermos o sistema modelo formaldeído-flúormetano.

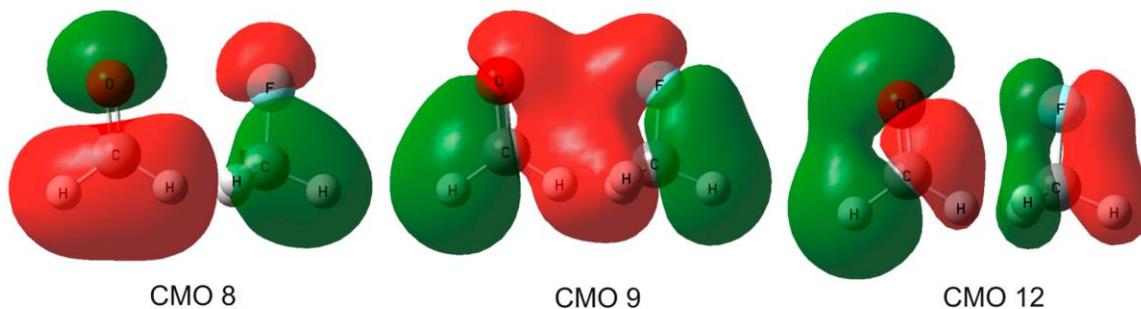
A constante de acoplamento entre os átomos de flúor e  $H_f$  ( $H_4$ ) para este sistema modelo foi calculada utilizando o nível de teoria SOPPA(CCSD)/EPR-III. O valor calculado para o termo FC, envolvendo os átomos de F e  $H_4$ , foi de -33,9 Hz. Este resultado corrobora com nossa conclusão de que a constante de acoplamento  $J_{FH_f}$  em 2-flúorbenzaldeído é transmitida através do espaço ao invés de via ligação, afinal, neste modelo (Fig. 30b) não há ligação química covalente conectando os dois núcleos. Além disso, o sinal do termo FC para o modelo presente na Figura 30b é oposto em relação ao modelo apresentado na Figura 30a.

Assim como para o confômero *anti*, realizou-se uma análise de FCCP-CMO para o modelo presente na Fig. 30b. A principal contribuição para o termo de FC é proveniente dos orbitais canônicos CMO8, CMO9 e CMO12 (**Tabela 9**).

**Tabela 9.** CMOs expandidos em termo de NBO's que mais contribuem para a transmissão do termo FC do  $J_{FH}$  no sistema modelo formaldeído-flúormetano.

MO 8 (occ): e = -0,633514 au	MO 9 (occ): e = -0,534599 au	MO 12 (occ): e = -0,444077 au
0,615*[5]:BD(1)C2-H5	-0,577*[4]: BD(1)C2-H4	-0,584*[16]: LP(1)O
0,503*[4]:BD (1)C2-H4	-0,450*[7]: BD(1)C6-H8	-0,496*[4]: BD(1)C2-H 4
-0,381*[7]:BD(1)C6-H8	0,292*[6]: BD(1)C6-H7	-0,343*[2]: BD (1)C2-O3
-0,341*[16]:LP(1)O	-0,264*[14]: LP(2)F	-0,313*[17]: LP(2)O
0,229*[13]:LP(1)F	-0,236*[17]: LP(2)O	0,234*[14]: LP(2)F

Os CMOs presentes na Tabela 9 estão representados na **Figura 32**. Pode-se observar que eles se assemelham muito aos presentes na Figura 29 para o confômero *anti* do 2-flúorbenzaldeído.



**Figura 32.** “Plots” dos CMOs 8, 9 e 12 para o sistema modelo flúormetano-formaldeído.

### 3.5. Conclusão<sup>70</sup>

Os resultados discutidos acima deixam claro que se deve ter cuidado ao utilizar a constante de acoplamento  ${}^{TS}J_{FHf}$  para determinar a preferência conformacional dos compostos aromáticos contendo um grupo aldeído adjacente. É importante ressaltar, também, que os resultados discutidos neste trabalho têm respaldo de observações reportadas previamente sobre os mecanismos de transmissão do termo FC de constantes de acoplamento  $J_{FHf}$  transmitidas através do espaço. Além disso, como podemos observar para a orientação *sinperiplanar* do grupo formila, o termo FC para este confôrmero é próximo de zero. Este valor é proveniente das contribuições de sinais opostos provenientes das sobreposições  $LP(F)/\sigma_{C-Hf}$  e  $\sigma_{C-F}/\sigma_{C-H}$ . Por fim, vale ressaltar a adequada racionalização do sinal para o termo isotrópico PSO utilizando a descrição qualitativa mostrada acima.

63 a) H. Takemura, M. Kotoku, M. Yasutake, T. Shinmyozu, Eur. J. Org. Chem. (2004) 2019. b) J-C. Hierso, Chem. Rev. 114 (2014) 4838.

- 
- 64 A. Mele, B. Vergani, F. Viani, S. V. Meille, A. Farina, P. Bravo, *Eur. J. Org. Chem.* (1999) 187.
- 65 A. Bax, G. A. Morris, *J. Magn. Reson.* 42 (1981) 501.
- 66 R. H. Contreras, M. B. Ferraro, M. C. R. de Azúa G. A. Aucar, "High Resolution NMR Spectroscopy: Understanding Molecules and Their Electronic Structures – Capítulo 2", New York, 2013.
- 67 L. C. Ducati, R. H. Contreras, C. F. Tormena, *J. Phys. Chem. A*, 116 (2012) 4930.
- 68 J. E. Perez, F. S. Ortiz, R. H. Contreras, C. G. Giribet, M. C. Ruiz de Azúa, *J. Mol. Struct. THEOCHEM*, 210 (1990) 193.
- 69 R. H. Contreras, R. H.; G. Gotelli, L. C. Ducati, T. M. Barbosa, C. F. Tormena, *J. Phys. Chem. A*, 114 (2010) 1044.
- 70 D. C. Favaro, R. H. Contreras, C. F. Tormena, *J. Phys. Chem. A*, 117 (2013) 7939.

## Capítulo 4

# **Acoplamento heteronuclear escalar spin-spin vicinal e estereoquímica**



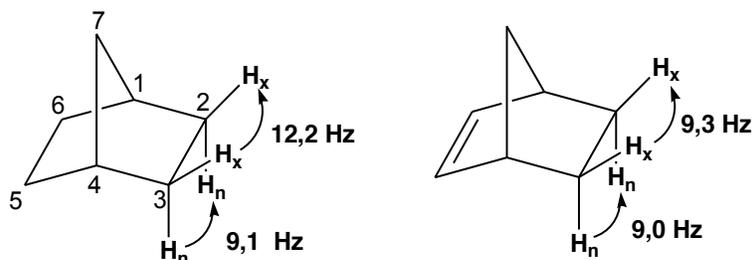
## 4. Introdução

Constantes de acoplamento escalar homo e heteronuclear são largamente utilizadas em RMN como indicador de estrutura molecular. Ao longo dos anos esses estudos auxiliaram na determinação de configuração relativa e conformação de diversos compostos orgânicos. Por ser mais facilmente determinada, a constante de acoplamento hidrogênio-hidrogênio é mais utilizada, especialmente o acoplamento vicinal ( $^3J_{HH}$ ). Tal fato é devido aos trabalhos pioneiros de Karplus<sup>71</sup> que relacionaram o valor dessa constante ao ângulo diedro ( $\Phi$ ) do fragmento H–C–C–H. Existe na literatura um grande número de trabalhos<sup>72, 73, 74, 75</sup> onde configuração ou conformação são relacionadas à dependência de  $^3J_{HH}$  ao  $\cos^2 \Phi$ .<sup>76</sup>

Posteriormente, demonstrou-se que constantes de acoplamento  $^3J_{HH}$  dependem, também, de outros parâmetros moleculares, sendo acrescentadas correções à equação empírica de Karplus<sup>71</sup>, a qual relaciona termos estruturais como: comprimento de ligação, eletronegatividade e orientação de substituintes no fragmento H–C–C–H (considerando os efeitos substituição  $\alpha$  e  $\beta$ ), ângulo formado pela ligação H–C–C e interações hiperconjugativas envolvendo orbitais e pares de elétrons não ligantes vizinhos ao fragmento H–C–C–H. Com o uso de tais correções, tornou-se possível a determinação mais precisa dos valores de  $J$  a partir dos ângulos diedros e vice-versa.<sup>76,77,78,79,80,81,82,83,84</sup>

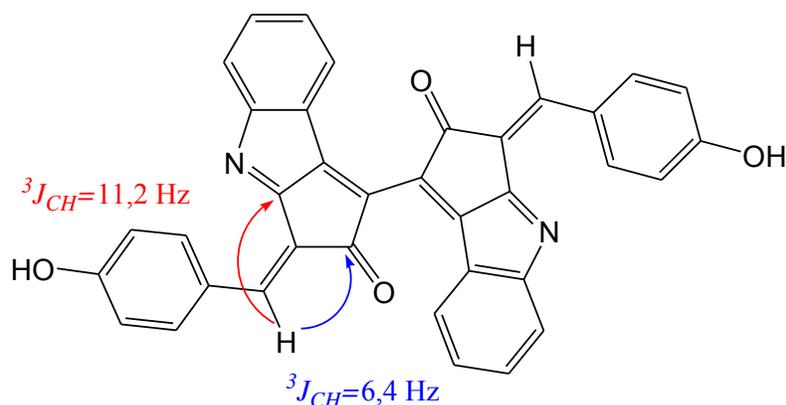
Além desses parâmetros adicionais se fazerem necessários em várias ocasiões, existem inúmeros casos onde mesmo com as correções acrescentadas à equação original de Karplus, não é possível explicar o comportamento anômalo de algumas constantes de acoplamento. Um caso interessante foi observado para os derivados do norbornano, onde a constante de acoplamento entre os hidrogênios vicinais *exo* ( $^3J_{HxHx}$ ) são consideravelmente maiores que entre os hidrogênios vicinais *endo* ( $^3J_{HnHn}$ ). No norborneno, por outro lado, a constante de acoplamento  $^3J_{HxHx}$  e  $^3J_{HnHn}$  tem praticamente o mesmo valor, ver **Figura 33**. Estudos utilizando cálculos semi-empíricos<sup>78</sup> mostraram que no caso do norbornano a diferença nos acoplamentos  $^3J_{HH}$  se deve à interação eletrostática entre o grupo metileno da ponte (H-C<sub>7</sub>-H) e o caminho do acoplamento  $^3J_{HxHx}$  (H<sub>x</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>-H<sub>x</sub>). Para o norborneno a presença da dupla ligação

diminuiria a interação do metileno da ponte com o caminho do acoplamento  $H_x-C_2-C_3-H_x$  devido à presença dos elétrons em orbitais  $\pi$  da dupla ligação, deixando os acoplamentos  ${}^3J_{HH}$  semelhantes ( ${}^3J_{H_xH_x} = {}^3J_{H_nH_n}$ ).<sup>78</sup> Um outro trabalho,<sup>85</sup> propõe que a diferença entre as constantes de acoplamento no norbornano se deve às interações hiperconjugativas, as quais dependem da habilidade do orbital ligante e antiligante ( $\sigma$  e  $\sigma^*$ ) de doar e receber densidade eletrônica, respectivamente. No norbornano a interação hiperconjugativa entre os orbitais  $\sigma_{C_1-C_7} \rightarrow \sigma^*_{C_2-H_n}$  é mais efetiva que a interação  $\sigma_{C_1-C_6} \rightarrow \sigma^*_{C_2-H_x}$ .<sup>86</sup> Isto é ocasionado pela tensão angular existente entre as ligações da ponte ( $C_1-C_7-C_4$ ), que torna o orbital  $\sigma_{C_1-C_7}$  um melhor doador que o orbital  $\sigma_{C_1-C_6}$ . Um estudo experimental para o 2-*exo*-bromonorbornano demonstrou que o valor do acoplamento  ${}^3J_{H_nH_n}$  é 7,0 Hz, sendo 2,1 Hz menor que o acoplamento  ${}^3J_{H_nH_n}$  no norbornano. Esta redução foi atribuída à forte interação de orbitais  $LP(Br) \rightarrow \sigma^*_{C_2-H_n}$  presente no 2-*exo*-bromonorbornano.<sup>87</sup>



**Figura 33.** Estruturas do norbornano e norborneno com os valores dos acoplamentos vicinais  ${}^3J_{HH}$ .

É interessante notar que esses fatores afetam a constante de acoplamento  ${}^3J_{CH}$  de forma similar. Esta constante “negligenciada” inúmeras vezes no passado, devido à dificuldade de sua determinação de forma confiável é, atualmente, uma das constantes de acoplamento mais estudadas. Devido ao surgimento de técnicas como HSQC-TOCSY-IPAP<sup>38,19</sup> e HSQMBC<sup>31,32</sup> um grande número de trabalhos,<sup>88, 89, 90, 91</sup> tem relacionado  ${}^3J_{CH}$  à configuração/conformação, sendo especialmente útil quando parâmetros mais utilizados como  ${}^nJ_{HH}$  ( $n=3$  ou 4) e o Efeito Nuclear Overhauser (NOE) são inconclusivos,<sup>90</sup> ver **Figura 34**.



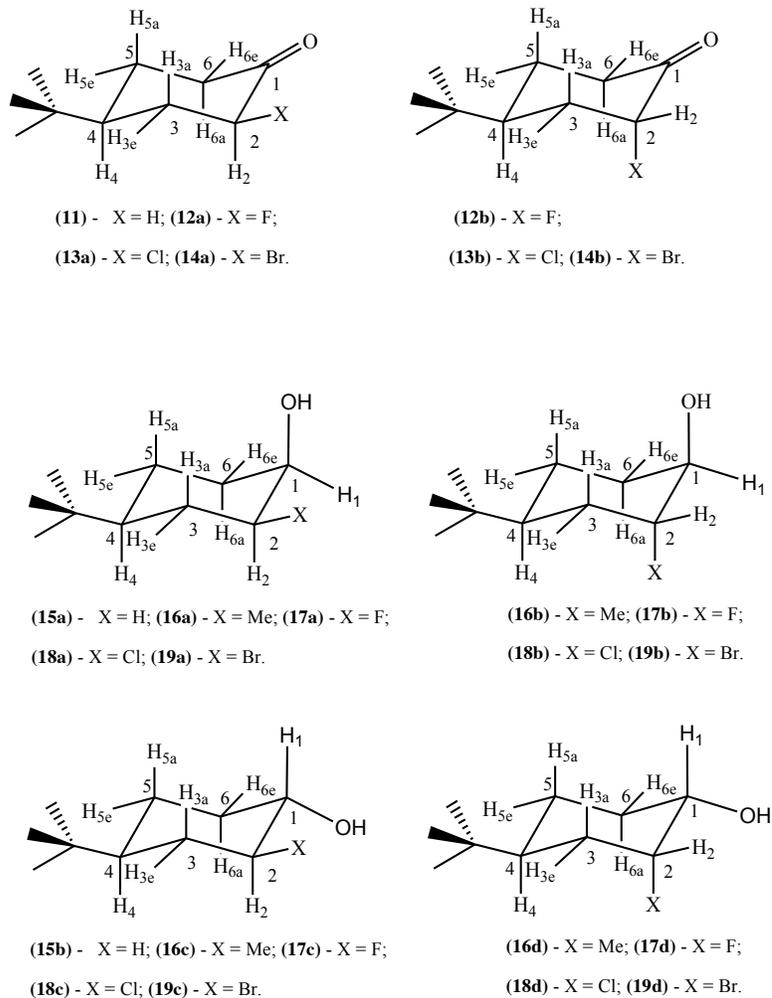
**Figura 34.** Determinação da estereoquímica *E/Z* da Scytonemin via  $^3J_{CH}$ .

Aydin e Gunther<sup>92</sup> realizaram um estudo sobre  $^3J_{CH}$  utilizando alguns hidrocarbonetos de estrutura rígida substituídos, norbornanos e adamantanos, e a partir dos resultados obtidos elaboraram a **Equação 11**, onde  $^3J_{CH}(0^\circ) = 7,7 \text{ Hz}$ ;  $^3J_{CH}(60^\circ) = 2,0 \text{ Hz}$  e  $^3J_{CH}(180^\circ) = 9,4 \text{ Hz}$ , entre parênteses estão os ângulos diedros entre os núcleos que se acoplam. Tal estudo mostrou que em muitos casos a relação de Karplus é seguida fielmente, no entanto, os efeitos da substituição podem ser dramáticos.

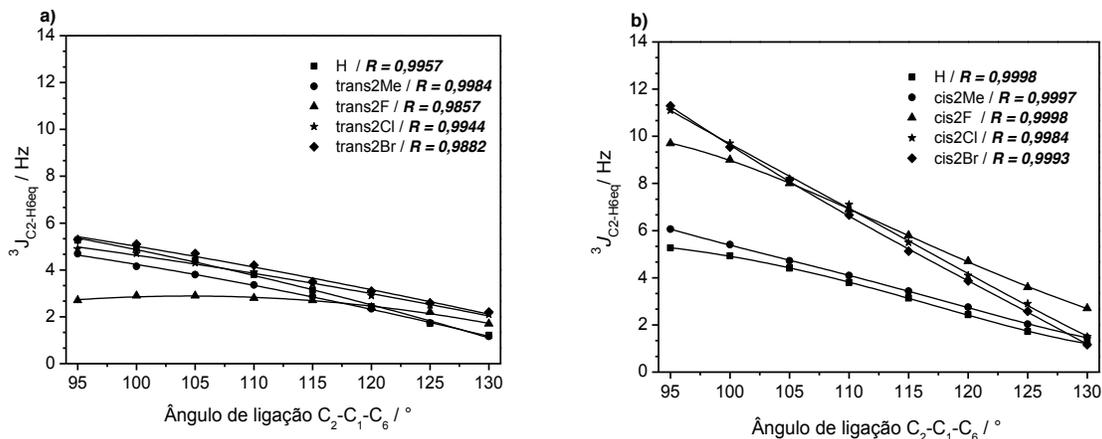
$$^3J_{CH} = 4,50 - 0,87 \cos(\phi) + 4,03 \cos(2\phi) \quad (11)$$

Um estudo recente, realizado em nosso laboratório,<sup>93</sup> mostrou que as diferenças existentes entre as constantes de  $^3J_{C_2H_{6eq}}$  em *cis-trans*-2-X-4-t-butil-cicloexanona (X = H, CH<sub>3</sub>, F, Cl, Br) e seus álcoois derivados, **Figura 35**, não dependem do ângulo diedro C<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-H<sub>6eq</sub>. O valor da constante de acoplamento entre o carbono C<sub>2</sub> e o hidrogênio H<sub>6eq</sub> é dependente da orientação do substituinte e do ângulo interno (C<sub>2</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), chegando a ser aproximadamente o dobro quando este se encontra na equatorial (*cis*), **Figura 36**. Isto ocorre, pois a constante em questão é dependente das interações de troca que ocorrem através da sobreposição ("overlap") do "rear lobe" ou lóbulo traseiro das ligações  $\sigma_{C_2-X}$  e  $\sigma_{C_6H_{6eq}}$  (para os derivados equatoriais) e entre  $\sigma_{C_2-H_2}$  e  $\sigma_{C_6H_{6eq}}$ , para os casos onde o substituinte se encontra na axial. Além disso, foi mostrado no

presente estudo que a efetividade das interações de troca, acima mencionadas, depende da distância C<sub>2</sub>---C<sub>6</sub> e da orientação relativa e tamanho do lóbulo traseiro.

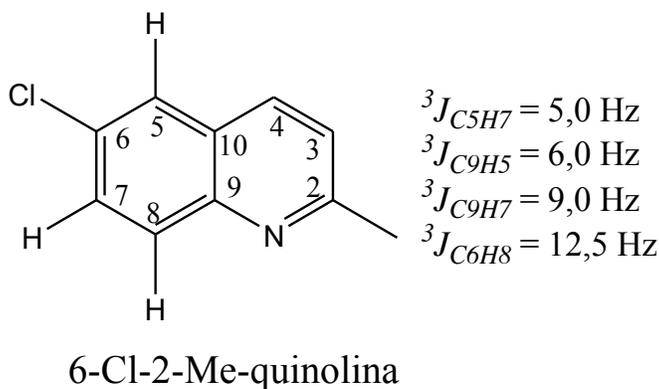


**Figura 35.** 2-X-4-t-butilcicloexanonas e 2-X-4-t-butilcicloexanóis (X=H, Me, F, Cl e Br) utilizados como compostos modelo.



**Figura 36.** Comparação da constante de acoplamento  $^3J_{C2H6eq}$  versus o ângulo interno em: a) *trans*-2-X-4-t-butilcicloexanonas; b) *cis*-2-X-4-t-butilcicloexanones (X = H, Me, F, Cl, Br).

Recentemente, Sakamoto e Ono<sup>94</sup> publicaram um trabalho mostrando que as constantes de acoplamento  $^3J_{CH}$  para a 6-Cl-2-metil-quinolina não seguem a esperada relação de Aydin e Günter, **Figura 37**. Como se pode observar embora o ângulo diedro entre os núcleos envolvidos no acoplamento seja sempre de 180° os valores de  $^3J_{CH}$  variaram entre 5 Hz a 12,5 Hz.



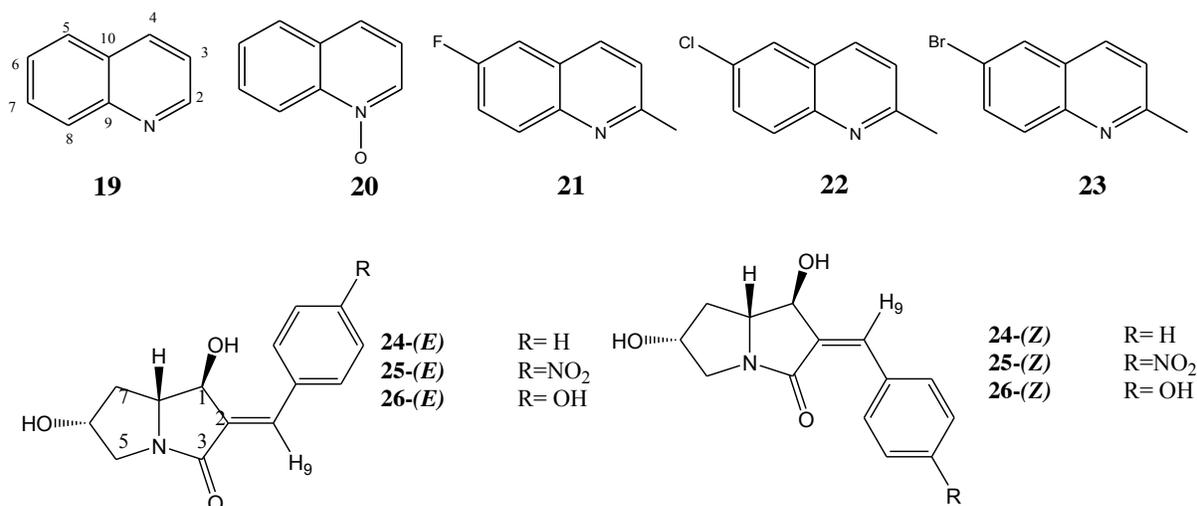
**Figura 37.** Valores de  $^3J_{CH}$  para a 6-Cl-2-Me-quinolina.

Com base no que foi apresentado até o presente momento, nota-se que embora a constante de acoplamento  $^3J_{CH}$  venha sendo utilizada em diversos estudos

envolvendo atribuição de estereoquímica, principalmente estereoquímica *E* e *Z* em duplas ligações,<sup>90</sup> ainda é necessária uma análise mais detalhada dos fatores que afetam sua transmissão para que essa constante possa ser empregada como ferramenta em estudos conformacionais/configuracionais.

#### 4.1. Objetivos

Determinar as constantes de acoplamento  $^3J_{CH}$  em derivados de quinolina e pirrolizidinonas (**Figura 38**) a fim de racionalizar quais os principais efeitos envolvidos na transmissão desse acoplamento e, assim, sabermos quando é possível utilizar essa informação para determinação de estereoquímica de dupla ligação.



**Figura 38.** Quinolinas e pirrolizidinonas utilizadas no estudo de  $^3J_{CH}$ .

#### 4.2. Instrumentação

Equipamento de RMN Bruker AVANCE III 400MHz e Ascend 600MHz equipado com uma sonda tripla inversa (TBI) do IQ-UNICAMP. Dalton-Cluster: Computadores Core2 X4 2.83 GHz equipados com HD de 350 GB SATA-2 munidos de 16000 MB de memória RAM.

### 4.3. Resultados e Discussão

O uso das constantes de acoplamento  ${}^nJ_{CH}$  para a resolução de problemas estruturais, embora ainda não seja frequente, está em constante crescimento. Além de dificuldades relacionadas à baixa sensibilidade do  ${}^{13}\text{C}$ , não há na presente literatura muitos trabalhos que correlacionem constantes de acoplamento à longa distância  ${}^nJ_{CH}$  à configuração da molécula.

Atualmente, há uma série de experimentos, principalmente envolvendo detecção inversa, que são utilizados para a determinação das constantes de acoplamento  ${}^nJ_{CH}$ .<sup>24</sup> No presente trabalho, as constantes de acoplamento  ${}^nJ_{CH}$  foram determinadas experimentalmente utilizando as sequências de pulsos HSQC-TOCSY-IPAP<sup>38,19</sup> e *se*-HSQMBC-TOCSY<sup>24</sup>.

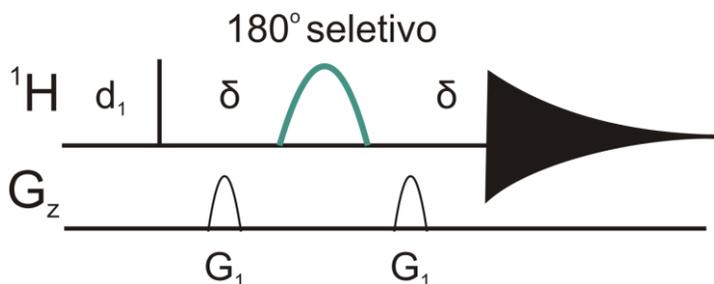
#### 4.3.1. Implementação da sequência *se*-HSQMBC-TOCSY

A sequência de pulsos utilizada para o experimento *se*-HSQMBC-TOCSY foi obtida da literatura<sup>24</sup> e implementada nos equipamentos Bruker Avance-III 400 e 600 MHz presentes no IQ-Unicamp.

Após a implementação, realizamos o experimento para uma amostra padrão, cujos valores das constantes de acoplamento são conhecidos, de forma a nos certificarmos se a sequência era capaz de reproduzir corretamente os valores das constantes de acoplamento  ${}^nJ_{CH}$  deste padrão. Por razões de simplicidade espectral, sinais de  ${}^1\text{H}$  bem resolvidos e de fácil interpretação, a substância utilizada como padrão foi o crotonato de etila.

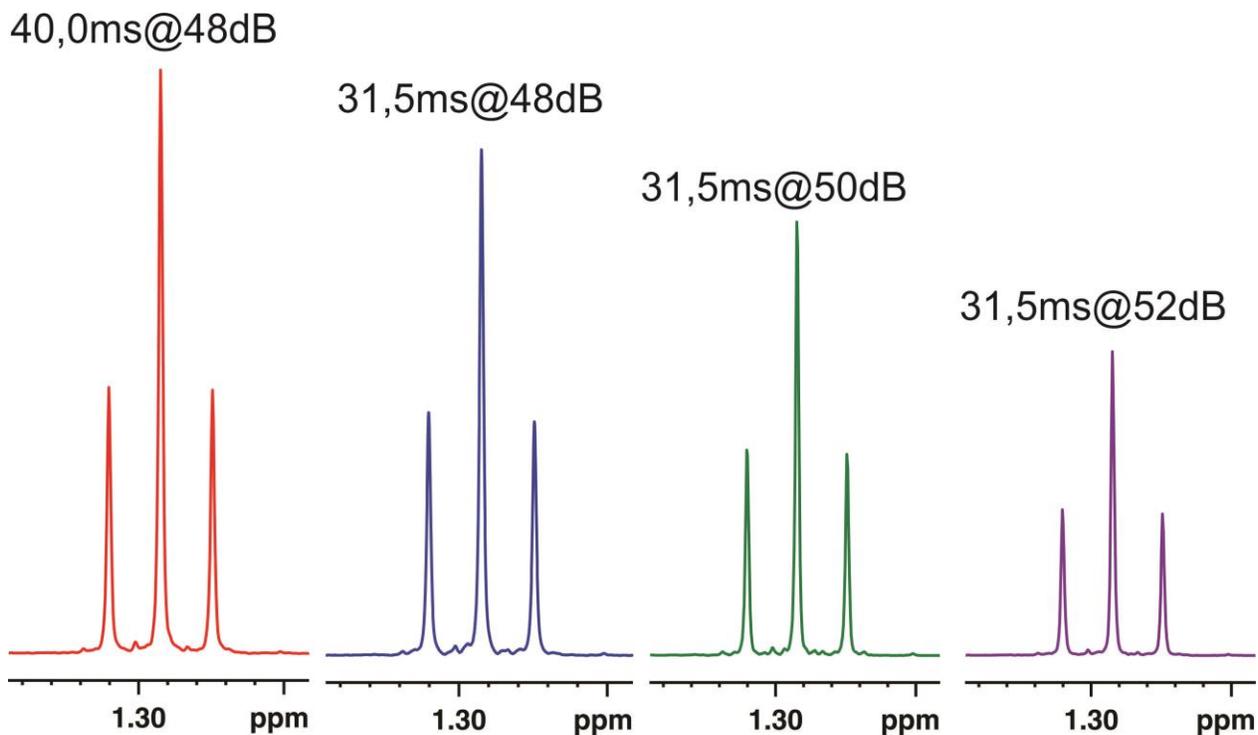
Os valores das constantes de acoplamento, obtidos através do espectro de  ${}^{13}\text{C}$  acoplado a  ${}^1\text{H}$  ( ${}^{13}\text{C}$ - ${}^1\text{H}$ ), foram tomados como referência para comparação com os valores a serem determinados através do experimento *se*-HSQMBC-TOCSY<sup>24</sup>. Além disso, para determinar a acurácia na determinação dos sinais das constantes os resultados obtidos foram comparados aos observados utilizando a sequência HSQC-TOCSY-IPAP<sup>38,19</sup>

Para a calibração do pulso de  $180^\circ$  seletivo foi utilizada a sequência *selgpse* em que temos um eco de gradiente, exatamente como na sequência implementada, ver **Figura 39**.



**Figura 39.** Sequência de pulsos utilizada para calibração do pulso de refocalização seletiva.

A calibração do pulso consiste, essencialmente, em obter seletivamente o sinal desejado com sua máxima intensidade, ver **Figura 40**. No entanto, vale ressaltar que a escolha do sinal a ser refocalizado é muito importante, pois a eficiência do primeiro passo de transferência de magnetização ( $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$  via  $^n J_{CH}$ ) é essencial para o êxito no experimento de *sel*-HSQMBC-TOCSY.

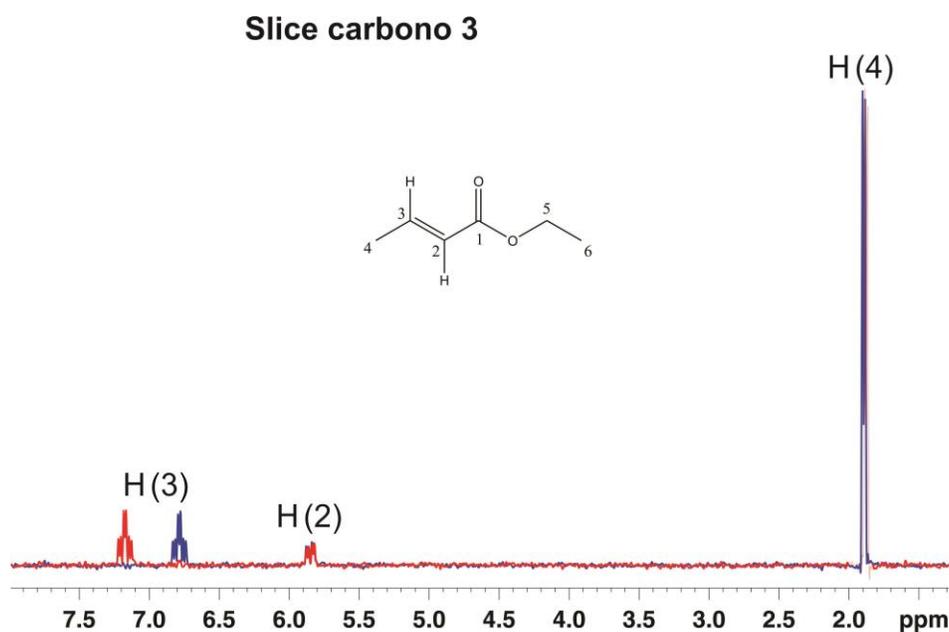


**Figura 40.** Exemplo de otimização do pulso de refocalização seletiva ( $^1\text{H}$  em 1,29 ppm).

No intuito de comparar, também, os valores das constantes de acoplamento envolvendo os carbonos da dupla ligação, realizou-se a calibração do pulso seletivo para o  $^1\text{H}$  em 1,89 ppm (hidrogênios da metila ligada ao  $\text{C}_4$ ), utilizando a sequência de pulsos mencionada anteriormente. Em seguida foram obtidos os experimentos com os multipletos em fase e antifase, cujos mapas de contorno estão apresentados nas **Figuras 41a** (IP) e **41b** (AP). Vale ressaltar que a escolha da metila se deve ao fato desses 3H's apresentarem um acoplamento grande tanto com  $\text{C}_2$  quanto com  $\text{C}_3$ , o que é essencial para a sequência *se*-HSQMBC-TOCSY.



acoplados, é observada uma diferença de deslocamento entre os dois multipletos que consiste no valor da constante de acoplamento em Hz entre o hidrogênio e o carbono em questão, cujo resultado pode ser observado na **Figura 42** para a sequência *sel*-HSQMBC-TOCSY.



**Figura 42.** Slice do C<sub>3</sub> (142 ppm) a partir do experimento *sel*-HSQMBC-TOCSY com excitação seletiva do <sup>1</sup>H em 1,89 ppm. Duração do pulso: 40,1ms; Tempo de mistura: 60ms.

Na **Tabela 10** estão apresentados alguns acoplamentos  ${}^nJ_{CH}$  do crotonato de etila determinados através do espectro de <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H e dos experimentos HSQMBC<sup>31,32</sup>, *sel*-HSQMBC-TOCSY<sup>24</sup> e HSQC-TOCSY-IPAP<sup>38,19</sup>.

**Tabela 10.** Constantes de acoplamento ( ${}^nJ_{CH}$ ) em Hz para o crotonato de etila determinados através do espectro de RMN de  ${}^{13}\text{C}$ - ${}^1\text{H}$  e dos experimentos de HSQC-TOCSY-IPAP e *sel*-HSQMBC-TOCSY.

${}^nJ_{CH}$	${}^{13}\text{C}$	HSQMBC	HSQC-TOCSY	<i>sel</i> -HSQMBC-TOCSY
${}^2J_{C_2H_3}$	1,9	1,8	-1,8	-2,2
${}^3J_{C_2H_4}$	6,6	6,5	+6,5	+6,7
${}^2J_{C_3H_2}$	0	1,0	-0,6	-0,9
${}^2J_{C_3H_4}$	7,0	7,0	-6,9	-6,9
${}^2J_{C_5H_6}$	4,5	4,5	-4,3	-4,6

Os resultados apresentados acima mostram que os valores dos acoplamentos  ${}^nJ_{CH}$  obtidos com a técnica *sel*-HSQMBC-TOCSY estão em concordância com os valores determinados no espectro de  ${}^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ . Esta excelente correlação entre os valores das constantes de acoplamento nos levou a concluir que a técnica *sel*-HSQMBC-TOCSY estava corretamente implementada.

#### 4.3.2. Estudos dos fatores que afetam as constantes de acoplamento

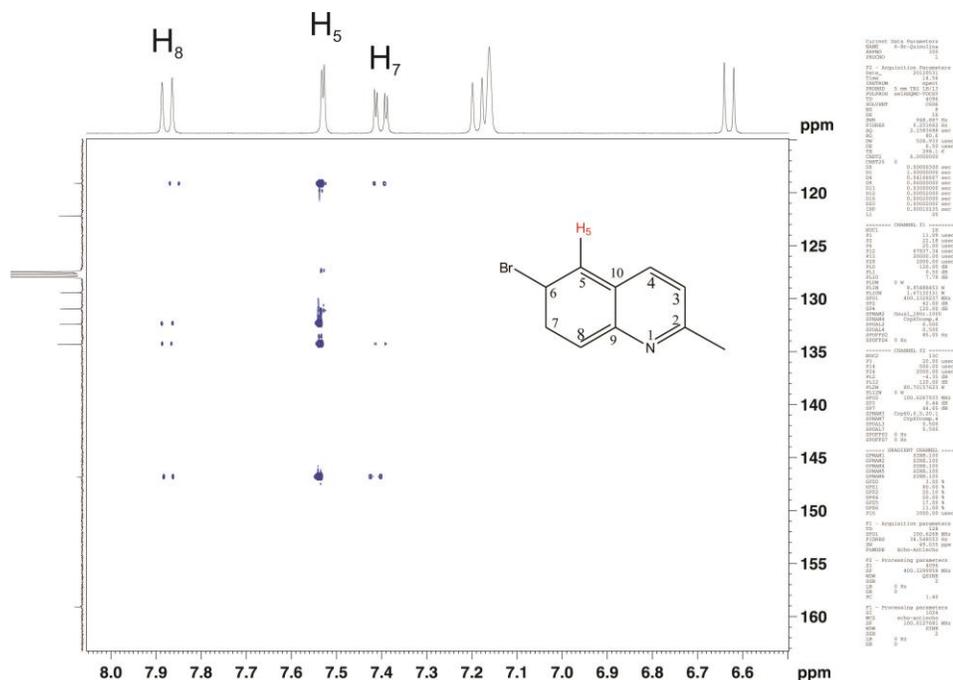
##### ${}^3J_{CH}$

##### 4.3.2.1. Derivados de quinolina

Os resultados obtidos por Sakamoto e Ono<sup>94</sup> nos chamaram a atenção e nos levaram a indagar sobre quais os fatores que afetam a constante de acoplamento  ${}^3J_{CH}$  em quinolinas (Fig. 38). Para isso, determinamos os valores experimentais das constantes  ${}^3J_{CH}$  utilizando a sequência de pulsos *sel*-HSQMBC-TOCSY para as quinolinas **19-23**.

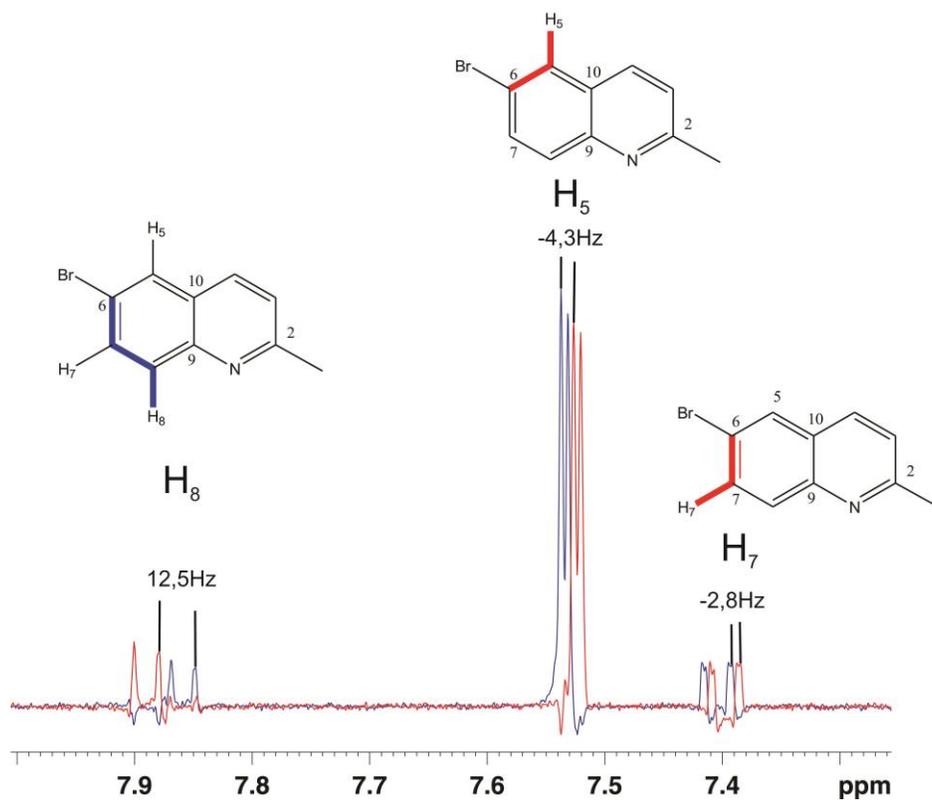
Nas Figuras que se seguem (**43-47**) estão exemplificados como foram realizadas as determinações das constantes de acoplamento para 6-Br-2-Me-quinolina, o mesmo tipo de análise foi realizado para os demais compostos. A seguir, na **Figura 43** é possível observar o mapa de contorno relativo ao experimento *sel*-HSQMBC-TOCSY-IP

da 2-Me-6-Br-quinolina. Como citado anteriormente, a sequência acima citada é realizada de forma a obter a refocalização da magnetização de um ou mais hidrogênios seletivamente. Na Fig. 43, foi realizada a refocalização da magnetização proveniente do H<sub>5</sub>, logo, observa-se apenas os sinais onde a transferência via TOCSY a partir do H<sub>5</sub> é efetiva, neste caso apenas para os hidrogênios H<sub>7</sub> (7,40 ppm) e H<sub>8</sub> (7,88 ppm).



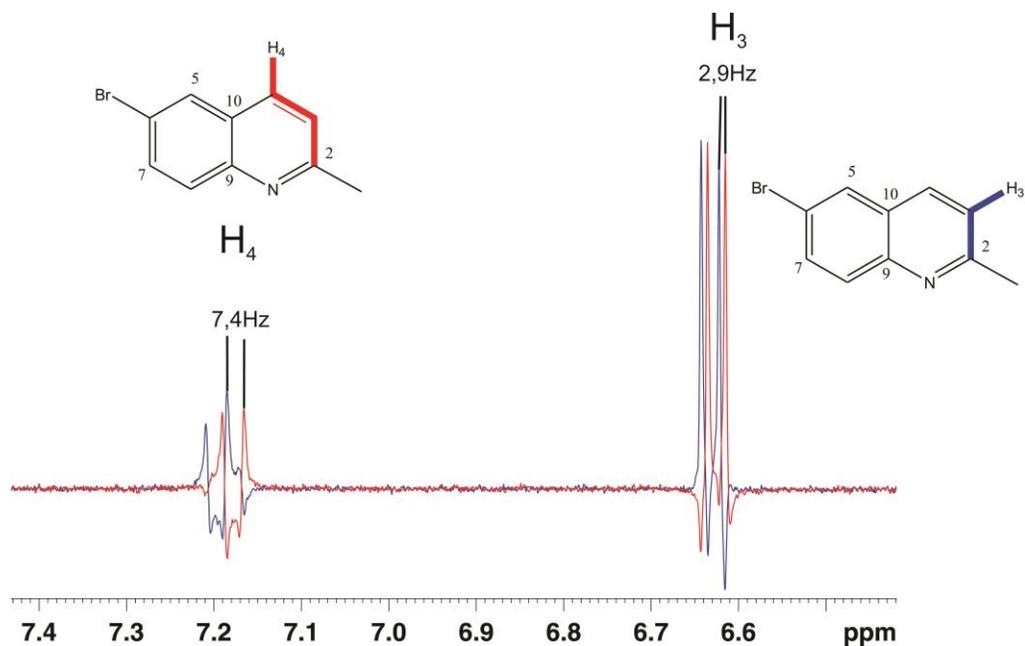
**Figura 43.** *sel*-HSQMBC-TOCSY (IP) em benzeno-d<sub>6</sub> para 2-Me-6-Br-quinolina com refocalização seletiva do H<sub>5</sub> (7,52 ppm). Foi utilizado como pulso de refocalização seletiva (p12) o Gaus1\_180r.1000, cuja duração foi de 67,8 ms; o tempo de mistura do TOCSY foi 60 ms.

Na **Figura 44**, é possível observar as projeções relativas aos multipletos resultantes da soma e subtração dos experimentos em fase (IP) e antifase (AP) [IP+AP ( $\alpha$ ) e IP-AP ( $\beta$ )] da região correspondente ao acoplamento do C<sub>6</sub> com os hidrogênios H<sub>5</sub>, H<sub>7</sub> e H<sub>8</sub>. Nota-se que embora o  $^1J_{CH}$  esteja ausente (C<sub>6</sub> é quaternário) é possível determinar o sinal da constante de acoplamento utilizando como referência o  $^3J_{CH}$ , pois esta constante assim como a primeira é sempre positiva.

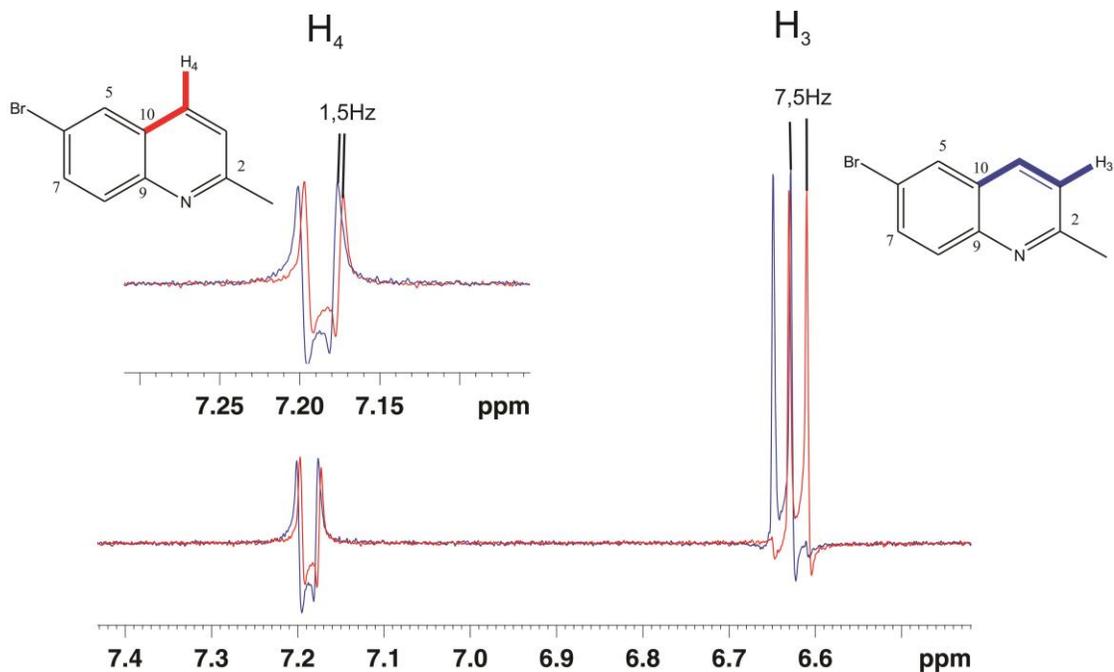


**Figura 44.** Projeção 1D da região do carbono C<sub>6</sub> referente ao acoplamento com os hidrogênios H<sub>5</sub>, H<sub>7</sub> e H<sub>8</sub> da 2-Me-6-Br-quinolina obtidos do experimento *seI*-HSQMBC-TOCSY (IP) com refocalização seletiva do H<sub>5</sub> (7,52 ppm).

Já nas **Figuras 45 e 46**, pode-se observar a aplicação da sequência de pulsos *seI*-HSQMBC-TOCSY para a determinação da magnitude e sinal das constantes de acoplamento envolvendo os carbonos C<sub>2</sub> e C<sub>10</sub>, ambos carbonos quaternários.



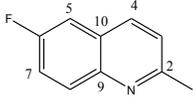
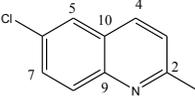
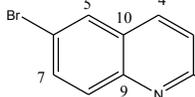
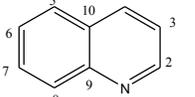
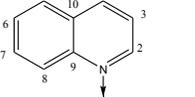
**Figura 45.** Projeção 1D da região do carbono C<sub>2</sub> referente ao acoplamento com os hidrogênios H<sub>3</sub> e H<sub>4</sub> da 2-Me-6-Br-quinolina obtidos do experimento sel-HSQMBC-TOCSY (IP) com refocalização seletiva do H<sub>3</sub> (6,62 ppm).



**Figura 46.** Projeção 1D da região do carbono  $C_{10}$  referente ao acoplamento com os hidrogênios  $H_3$  e  $H_4$  de 2-Me-6-Br-quinolina obtidos do experimento *sel*-HSQMBC-TOCSY (IP) com refocalização seletiva do  $H_3$  (6,62 ppm).

Os valores de  $^3J_{CH}$  experimentais e teóricos (obtidos com o nível de teoria B3LYP/EPR-III utilizando a estrutura de mínimo otimizada em MP2/aug-cc-pVDZ) para os derivados 6-X-2-Me-quinolina (X= F, Cl e Br) estão apresentados na **Tabela 11**.

**Tabela 11.** Constantes de acoplamento  ${}^nJ_{CH}$ (Hz) para a 2-Me-6-X-quinolina (X=F, Cl e Br). Os valores experimentais foram mensurados em benzeno- $d_6$  ( $C_6D_6$ ) utilizando a sequência de pulsos *sel*-HSQMBC-TOCSY e os calculados, entre parênteses, foram obtidos com o nível de teoria B3LYP/EPR-III utilizando a estrutura de mínimo otimizada em MP2/aug-cc-pVDZ.

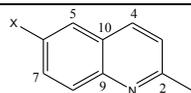
					
	${}^3J_{CH}$ (Hz)				
$C_2H_4$	7,8 (7,7)	7,8 (7,7)	7,6 (7,6)	7,8(7,8)	9,5(9,5)
$C_6H_8$	12,0 (12,6)	12,5 (13,6)	12,4 (13,0)	8,6(9,2)	9,4(8,6)
$C_7H_5$	5,1 (5,3)	6,6 (6,8)	** (6,3)	** (8,0)	8,8*(7,9)
$C_9H_4$	5,2 (5,5)	?(5,4)	** (5,4)	** (5,4)	7,0(7,0)
$C_9H_5$	6,5 (6,6)	6,3 (6,6)	** (6,6)	6,3(6,6)	8,0(8,0)
$C_9H_7$	9,5 (9,5)	9,2 (9,4)	9,1 (9,4)	9,4(9,5)	9,5(9,8)
$C_{10}H_3$	7,5 (7,4)	7,5 (7,4)	7,4 (7,3)	** (7,3)	9,7(9,7)
$C_{10}H_6$	-	-	-	8,6(8,6)	8,6(8,6)
$C_{10}H_8$	5,8 (6,2)	?(6,8)	** (5,9)	4,9(5,2)	4,5(5,0)

\* valor determinado utilizando a sequência HSQC-TOCSY-IPAP. \*\* Valor não determinado experimentalmente.

Na tabela acima, observa-se que os valores obtidos teoricamente descrevem muito bem os experimentais (não apenas em termos de magnitude, mas também com relação ao sinal), ou seja, as geometrias de mínimo obtidas para essas quinolinas estão bem descritas e o nível de teoria utilizado nos cálculos de constante de acoplamento foi adequado. Além disso, os valores de  ${}^3J_{CH}$  apresentam valores bem distintos variando entre 5,1-12,5Hz, dependendo das características do carbono ao qual um dado hidrogênio se encontra acoplado.

Na tentativa de responder à questão sobre a diferença entre os valores de constante de acoplamento  ${}^3J_{CH}$  acima apresentados, analisaram-se as interações hiperconjugativas ao longo do caminho dos acoplamentos, os resultados estão apresentados na **Tabela12**.

**Tabela 12.** Interações hiperconjugativas (kcal/mol) envolvendo o caminho do acoplamento  $^3J_{CH}$  para a 2-Me-6-X-quinolina (X=F, Cl e Br).

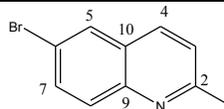


X	$\sigma_{C4H4 \rightarrow \sigma^*_{C2C3}}$	$\sigma_{C8H8 \rightarrow \sigma^*_{C6C7}}$	$\sigma_{C5H5 \rightarrow \sigma^*_{C9C10}}$	$\sigma_{C7H7 \rightarrow \sigma^*_{C8C9}}$	$\sigma_{C3H3 \rightarrow \sigma^*_{C4C10}}$
F	3,65	3,42	4,16	3,30	3,57
Cl	3,66	3,88	3,68	3,50	3,72
Br	3,89	4,22	3,72	3,64	3,95
X	$\sigma_{C2C3 \rightarrow \sigma^*_{C4H4}}$	$\sigma_{C6C7 \rightarrow \sigma^*_{C8H8}}$	$\sigma_{C9C10 \rightarrow \sigma^*_{C5H5}}$	$\sigma_{C8C9 \rightarrow \sigma^*_{C7H7}}$	$\sigma_{C4C10 \rightarrow \sigma^*_{C3H3}}$
F	2,68	2,35	2,02	2,48	2,60
Cl	2,68	2,24	1,93	2,39	2,62
Br	2,85	2,40	1,94	2,46	2,70
X	Total= $E_d+E_r$				
F	6,33	5,77	6,18	5,78	6,17
Cl	6,34	6,12	5,61	5,89	6,34
Br	6,74	6,62	5,66	6,10	6,65

Como podemos observar na tabela acima as interações hiperconjugativas não explicam as diferenças de  $^3J_{CH}$  sendo necessário, portanto, uma análise mais detalhada para justificar os valores observados.

Como o termo de FC é o principal responsável pela transmissão da constante de acoplamento  $^3J_{CH}$ , analisou-se a % de caráter s dos carbonos e ocupância dos orbitais ao longo do caminho do acoplamento, pois estes são determinantes para a transmissão. Os resultados para a 6-Br-2-Me-quinolina, calculados utilizando o método B3LYP e a função de base EPR-III para C e H e aug-cc-pVTZ para Br e N, estão apresentados na **Tabela 13**. Para os demais compostos os dados estão na **Tabela C1** em anexo.

**Tabela 13.** Constante de acoplamento  $^3J_{CH}$  experimental (preto) e teórica (vermelho), ocupância dos orbitais e % de caráter s dos carbonos ao longo do caminho do acoplamento para 6-Br-2-Me-quinolina.



$J$ (Hz)	Orbitais do caminho						
	Ocupância ( $\rho$ )		% de caráter s				
$C_6H_8$	$\sigma_{C6C7}$	$\sigma_{C7C8}$	<b>C<sub>6</sub></b>	C <sub>7</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>	
12,4	<b>1,982</b>	1,973	<b>38,2</b>	34,0	36,1	36,1	
$C_9H_4$	$\sigma_{C4C10}$	$\sigma_{C9C10}$	C <sub>4</sub>	C <sub>10</sub>	<b>C<sub>9</sub></b>	C <sub>10</sub>	
<b>5,4</b>	<b>1,968</b>	1,969	33,1	33,5	<b>33,9</b>	32,0	
$C_9H_5$	$\sigma_{C5C10}$	$\sigma_{C9C10}$	C <sub>5</sub>	C <sub>10</sub>	<b>C<sub>9</sub></b>	C <sub>10</sub>	
<b>6,6</b>	1,958	<b>1,969</b>	33,4	34,3	<b>33,9</b>	32,0	
$C_9H_7$	$\sigma_{C7C8}$	$\sigma_{C8C9}$	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>8</sub>	<b>C<sub>9</sub></b>	
9,1	1,973	<b>1,979</b>	36,1	36,1	33,7	<b>34,4</b>	
$C_{10}H_3$	$\sigma_{C3C4}$	$\sigma_{C4C10}$	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub>	<b>C<sub>10</sub></b>	
<b>7,4</b>	1,981	<b>1,968</b>	36,5	36,5	33,1	<b>33,5</b>	

Valor calculado

Nota-se, na tabela acima, que as constantes de acoplamento são dependentes tanto da % de caráter s dos carbonos, principalmente do carbono envolvido no acoplamento, quanto da ocupância dos orbitais presentes nos caminhos do acoplamento. Um exemplo é a constante de acoplamento  $^3J_{C_6H_8}$  (12,4Hz). A presença do Br (átomo eletronegativo) na posição 6 aumenta o caráter s do C<sub>6</sub> e, conseqüentemente, tornando a transmissão do termo de FC do H<sub>8</sub> para esse carbono mais efetiva que nos demais acoplamentos. Além da constante de acoplamento  $^3J_{C_6H_8}$ , as constantes de acoplamento  $^3J_{C_9H_7}$  e  $^3J_{C_{10}H_3}$  também merecem destaque. Como se pode observar na Tabela 12, essas duas constantes apresentam uma diferença de 2

Hz, exceto no derivado *N*-óxido-quinolina, onde essas constantes são essencialmente idênticas.

Esse fato nos levou a acreditar que a interação hiperconjugativas do par de elétrons não ligante do nitrogênio, principalmente com a ligação  $\sigma^*_{C_9C_{10}}$ , leva a uma diminuição no valor da constante de acoplamento entre o carbono  $C_{10}$  e o  $H_3$ .

Numa tentativa de comprovar que essa diferença é realmente devida à presença do par de elétrons do nitrogênio, determinamos as constantes de acoplamento  $^3J_{CH}$  para 6-Br-2-metóxi-naftaleno – composto semelhante estruturalmente à 6-Br-2-Me-quinolina, porém sem o nitrogênio na posição 1. Os valores dos acoplamentos, assim como das ocupâncias e % de caráter  $s$  ao longo do caminho do acoplamento, estão apresentados na **Tabela 14**.

**Tabela 14.** Constante de acoplamento  $^3J_{CH}$  experimental, ocupância dos orbitais e % de caráter  $s$  dos carbonos ao longo do caminho do acoplamento para 6-Br-2-metóxi-naftaleno.

$J$ (Hz)	Orbitais do caminho					
	Ocupância ( $\rho$ )		% de caráter $s$			
$C_6H_8$	$\sigma_{C_6C_7}$	$\sigma_{C_7C_8}$	<b><math>C_6</math></b>	$C_7$	$C_7$	$C_8$
12,1	1,983	1,973	<b>38,0</b>	34,1	35,9	35,9
$C_9H_4$	$\sigma_{C_4C_{10}}$	$\sigma_{C_9C_{10}}$	$C_4$	$C_{10}$	<b><math>C_9</math></b>	$C_{10}$
<b>5,3</b>	1,975	1,972	34,2	33,4	<b>32,5</b>	32,4
$C_9H_5$	$\sigma_{C_5C_{10}}$	$\sigma_{C_9C_{10}}$	$C_5$	$C_{10}$	<b><math>C_9</math></b>	$C_{10}$
6,0	1,968	1,972	34,3	34,0	<b>32,5</b>	32,4
$C_9H_7$	$\sigma_{C_7C_8}$	$\sigma_{C_8C_9}$	$C_7$	$C_8$	$C_8$	<b><math>C_9</math></b>
8,1	1,973	1,977	35,9	35,9	34,5	<b>33,8</b>
$C_{10}H_3$	$\sigma_{C_3C_4}$	$\sigma_{C_4C_{10}}$	$C_3$	$C_4$	$C_4$	<b><math>C_{10}</math></b>
8,5	1,978	1,975	36,9	35,9	34,2	<b>33,4</b>

Valor calculado

Como podemos observar na tabela acima, os valores das constantes de acoplamento se assemelham muito ao valores para 6-Br-2-Me-quinolina, exceto pelos

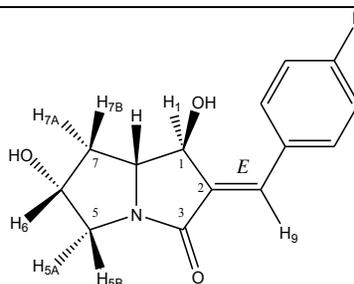
valores de  ${}^3J_{C_9H_7}$  e  ${}^3J_{C_{10}H_3}$  que, para o derivado do naftaleno, são praticamente idênticas. Nota-se, também, que para o derivado de quinolina o acoplamento entre C<sub>9</sub> e H<sub>7</sub> é maior que para o derivado de naftaleno. Isso se deve à presença do nitrogênio ligado diretamente ao C<sub>9</sub> no derivado de quinolina. Diferentemente do acoplamento envolvendo C<sub>10</sub> e H<sub>3</sub>, neste caso não há doação de densidade eletrônica para o caminho do acoplamento; porém a presença do nitrogênio em 6-Br-2-Me-quinolina faz com que o C<sub>9</sub> apresente uma % de caráter s maior (34,4) que no caso de 6-Br-2-metóxinaftaleno (33,8), resultando em uma transmissão mais eficiente da informação.

Além das observações acima citadas, vale ressaltar que as ocupâncias dos orbitais e a % de caráter s dos carbonos envolvidos diretamente nos acoplamentos também são bastante semelhantes no 6-Br-2-metóxinaftaleno, o que reforça a importância dessas propriedades na transmissão do acoplamento  ${}^3J_{CH}$ , além do ângulo diedro entre os núcleos que se acoplam.

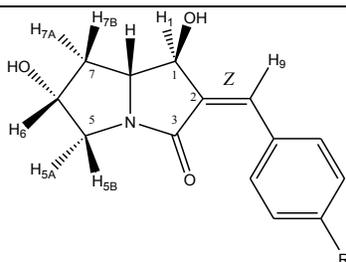
#### 4.3.2.2. Pirrolizidinonas

A fim de aplicar o que foi discutido acima para determinar a orientação *E* e *Z* de duplas ligações utilizando constante de acoplamento *vicinal*  ${}^{13}C-{}^1H$ ; determinamos, em um trabalho conjunto com K. R. de Luna Freire,<sup>95,96</sup> os valores experimentais (HSQC-TOCSY-IPAP e *seI*-HSQMBC-TOCSY) e teóricos das constantes de acoplamento  ${}^3J_{CH}$  (entre o H<sub>9</sub> e os carbonos C<sub>1</sub> e C<sub>3</sub>) de (*E*)- e (*Z*)-benzilideno-pirrolizidinonas, ver **Tabela 15**.

**Tabela 15.** Ângulos diedros  $H_9-C_9=C_2-C_3$  ( $\varphi$ ) e  $H_9-C_9=C_2-C_1$  ( $\theta$ ),  ${}^3J_{C_3H_9}$  e  ${}^3J_{C_1H_9}$  experimentais e teóricos em Hz para *E*- e *Z*-*p*-R-benzilideno-pirrolizidinonas.



R	<i>J</i> (Hz)				Ângulo diedro (°)	
	Experimental		Teórico		$\varphi$	$\Theta$
	$C_1H_9$	$C_3H_9$	$C_1H_9$	$C_3H_9$		
H	8,4	6,4	8,2	6,3	2,1	176,2
OH	8,6	6,6	9,1	7,0	2,1	176,2
NO <sub>2</sub>	8,4	6,4	8,4	6,4	1,0	176,0



R	<i>J</i> (Hz)				Ângulo diedro (°)	
	Experimental		Teórico		$\varphi$	$\Theta$
	$C_1H_9$	$C_3H_9$	$C_1H_9$	$C_3H_9$		
H		-	6,8	12,2	178,7	0,3
OH	6,0	11,5	6,8	12,1	178,9	0,6
NO <sub>2</sub>	5,2	11,1	6,3	11,7	178,2	0,7

Analisando a tabela acima, pode-se observar que a tendência é a mesma para todos os derivados da pirrolizidinona, ou seja, para o isômero *Z* a diferença entre as constantes de acoplamento  ${}^3J_{C_1H_9}$  e  ${}^3J_{C_3H_9}$  é bem significativa (~5Hz). No entanto, para

o isômero *E*, essa diferença é de apenas 2 Hz. Ao observarmos os valores de ângulos diedros para os dois isômeros, nota-se que estes não justificam a diferença observada.

Uma vez que os ângulos diedros não justificam os valores observados, analisou-se as principais interações hiperconjugativas, para o caminho do acoplamento ( $\sigma_{C9H9} \rightarrow \sigma^*_{C1C2}$  (*E*) e  $\sigma_{C9H9} \rightarrow \sigma^*_{C2C3}$  (*Z*)), e a % de caráter *s* dos carbonos envolvidos no acoplamento, os valores estão apresentados na **Tabela 16**.

**Tabela 16.** Principais interações hiperconjugativas (kcal/mol) envolvendo o caminho dos acoplamentos  $^3J_{C1H9}$  e  $^3J_{C3H9}$  e % de caráter *s* dos carbonos ( $C_3$  e  $C_1$ ) para os derivados de pirrolizidinonas.

R	$\sigma_{C9H9} \rightarrow \sigma^*_{C1C2}$	retro	% caráter <i>s</i>	
			$C_3$	$C_1$
H	9,6	2,4	34,6	28,7
OH	9,6	2,3	35,8	28,8
NO <sub>2</sub>	8,9	2,5	34,4	28,3

R	$\sigma_{C9H9} \rightarrow \sigma^*_{C2C3}$	retro	% caráter <i>s</i>	
			$C_3$	$C_1$
H	9,2	2,5	34,8	28,4
OH	9,1	2,5	35,0	29,0
NO <sub>2</sub>	8,9	2,5	34,8	28,8

As interações hiperconjugativas  $\sigma_{C9H9} \rightarrow \sigma^*_{C2C3}$  para o isômero *E* e  $\sigma_{C9H9} \rightarrow \sigma^*_{C1C2}$  *Z* apresentaram valores abaixo do threshold do NBO (0,5kcal/mol) ou da mesma ordem.

Para facilitar a discussão, tomemos como exemplo o derivado nitro (NO<sub>2</sub>) a partir deste ponto. Observa-se que ambas as interações hiperconjugativas  $\sigma_{C9H9} \rightarrow \sigma^*_{C1C2}$  (*E*) e  $\sigma_{C9H9} \rightarrow \sigma^*_{C2C3}$  (*Z*) tem mesma energia (8,9 kcal/mol), assim como as “back donations” (2,47 e 2,48 kcal/mol, respectivamente). Logo, olhando apenas para as interações hiperconjugativas não é possível racionalizar os valores observados. Entretanto, ao atrelarmos os valores dessas interações à % de caráter s dos carbonos a diferença entre os valores fica bastante evidente.

Observe que o acoplamento  $^3J_{C3H9}$  para o isômero (*E*) é bastante semelhante à constante de acoplamento  $^3J_{C1H9}$  para o isômero (*Z*). Neste caso os átomos envolvidos no acoplamento estão em uma orientação *cis*, a interação hiperconjugativa não é efetiva e o caráter s dos carbonos parece não influenciar na transmissão desse acoplamento.

Já as constantes de acoplamento  $^3J_{C1H9}$  para o isômero (*E*) e  $^3J_{C3H9}$  para o isômero (*Z*) apresentam uma diferença significativa (~3 Hz). Neste caso, a interação hiperconjugativa é a mesma (8,9 kcal/mol), porém para o isômero (*Z*), o H<sub>9</sub> é *trans* em relação ao carbono carbonílico (34,4% de caráter s) enquanto que no (*E*) ele é *trans* em relação ao carbono carbinólico (28,3% de caráter s). Assim, de forma semelhante ao observado para a quinolinas e seus derivados, a % de caráter s dos carbonos envolvidos no acoplamento são de suma importância para a transmissão da informação.

#### 4.4. Conclusão

Analisando os resultados obtidos para os derivados de quinolinas fica evidente a importância da % de caráter s e da ocupância dos orbitais, ao longo do caminho do acoplamento, para a transmissão da constante de acoplamento *vicinal*  $J_{CH}$ . Como se pode notar, embora a presença de um átomo eletronegativo no C<sub>6</sub> não tenha levado a um aumento considerável da energia de interação  $\sigma_{C8H8} \rightarrow \sigma^*_{C6C7}$  as 6-X-2-Me-quinolinas (X=F, Cl e Br) apresentaram um acoplamento  $^3J_{C6H8}$  cerca de 3Hz maior que a quinolinas e o derivado *N*-óxido-quinolina. Outro resultado interessante é o efeito

“negativo” do par de elétrons do nitrogênio para o acoplamento  $^3J_{C_{10}H_3}$ . Nota-se que embora este seja, em termos de conectividade, muito semelhante ao  $^3J_{C_9H_7}$  o último é consideravelmente maior em todos os derivados exceto no *N*-óxido onde o par de elétrons está ausente e as constantes de acoplamento são idênticas. Além disso, os resultados obtidos para o 6-Br-2-metóxinaftaleno corroboram com a afirmação do efeito “negativo” do par de elétrons do nitrogênio. Como se pode observar na Tabela 14, para este composto os acoplamentos  $^3J_{C_9H_7}$  e  $^3J_{C_{10}H_3}$  são muito semelhantes.

Por fim, os resultados obtidos para os derivados de pirrolizidinonas também mostram que a constante de acoplamento  $^3J_{CH}$  pode ser utilizada diretamente para determinação de estereoquímica de duplas ligações quando os carbonos envolvidos possuem % de caráter *s* similares. Caso isso não ocorra, como se pode notar no caso onde a dupla ligação é (*E*) que os valores da constante de acoplamento não apresentam valores muito distintos, pois neste caso o carbono *trans* ao H<sub>9</sub> possui um caráter *s* bem menor que o carbono *cis*.

---

71 a) M. J. Karplus. Chem.Phys. 30 (1959) 11. b) M. Karplus, J. Am. Chem. Soc. 85 (1963) 2870.

72 R. J. Abraham and K. G. R. Pacheler, Mol. Phys. 7 (1964) 165.

73 K. G. R. Pacheler, J. Chem. Soc. Perkin Trans.2 (1972) 1936.

74 F. A. A. M. De Leeuw, C. Altona, H. Kessler, W. Bermel, A. Friedrich, G. Krack, W. E. Hull, J. Am. Chem. Soc. 105 (1983) 2237.

75 M. Barfield, I. Burfitt, D. Doddrell, J. Am. Chem. Soc. 97 (1975) 2631.

76 W. A. Thomas, Prog. NMR Spectrosc. 30 (1997) 183.

77 M. Barfield, W. B. Smith, J. Am. Chem. Soc. 114 (1992) 1574.

78 W. B. Smith, M. Barfield, Magn. Reson. Chem. 31 (1993) 696.

79 K. Imai, E. Osawa, Magn. Reson. Chem. 28 (1990) 668.

80 E. Osawa, T. Ouchi, N. Saito, M. Yamato, O.-S. Lee, M.-K. Seo, Magn. Reson. Chem. 30 (1992) 1104.

- 
- 81 C. Altona, J. H. Ippel, A. J. A. W. Hoekzema, C. Erkelens, M. Groesbeek, L. A. Donders, *Magn. Reson. Chem.* 27 (1989) 564.
- 82 C. Altona, R. Francke, R. De Haan, J. H. Ippel, G. J. Daalmans, A. J. A. W. Hoekzema, J. Van Vijk, *Magn. Reson. Chem.* 32 (1994) 670.
- 83 E. Diez, J. San Fabian, J. Guilleme, C. Altona, L. A. Donders, *Mol. Phys.* 68 (1989) 49.
- 84 L. A. Donders, F. A. A. M. De Leeuw, C. Altona, *Magn. Reson. Chem.* 27 (1989) 556.
- 85 R. J. Abraham, J. Fisher, *Magn. Reson. Chem.* 23 (1985) 862.
- 86 J. L. Marshall, S. R. Walter, M. Barfield, A. L. Segre, *Tetrahedron*, 32 (1976) 537.
- 87 R. Wasylischen, T. Schaefer, *Can. J. Chem.* 50 (1972) 2710.
- 88 G. E. Martin, A. S. Zektzer, *Magn. Reson. Chem.* 26 (1988) 631
- 89 T. Parella, F. Sánchez-Ferrando, A. Virgili, *Bull. Magn. Reson.* 14 (1992) 263
- 90 B. L. Marquez, W. H. Gerwick, R. T. Williamson, *Magn. Reson. Chem.* 39 (2001) 499.
- 91 V. Lacerda Jr, G. V. J. da Silva, M. G. Constantino, C. F. Tormena, R. T. Williamson, B. L. Marquez, *Magn. Reson. Chem.* 45 (2007) 82.
- 92 R. Aydin, H. Günther, *Magn. Reson. Chem.* 28 (1990) 448.
- 93 D. C. Favaro, L. C. Ducati, F. P. dos Santos, R. H. Contreras, C. F. Tormena, *J. Phys. Chem. A* 115 (2011) 14539.
- 94 Y. Sakamoto, M. J. Ono, *Mol. Struct.* 1013 (2012) 61.
- 95 K. R. de Luna Freire, C. F. Tormena, F. Coelho, *Synlett.* 14 (2011) 2059
- 96 K. R. de Luna Freire, "Síntese Assimétrica de Pirrolizidinonas e Pirrolizidinas Substituídas a Partir da Reação de Morita-Baylis-Hillman" Tese de Doutorado, Unicamp, 2011.

# Capítulo 5

## Difusão



## 5. Introdução

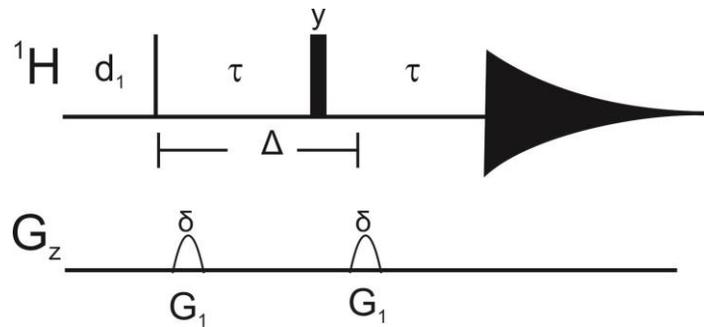
A difusão, de uma molécula em solução, pode ser entendida como um movimento translacional randômico (Browniano) que surge da energia térmica do sistema. O potencial associado entre estudo de difusão translacional e sua relação com o tamanho molecular, forma, agregação, encapsulamento e complexação fazem da técnica de DOSY (**D**iffusion **O**rdered **S**pectroscop**Y**) uma importante ferramenta em RMN.<sup>17c</sup>

A medida do coeficiente de difusão consiste em determinar a "velocidade" de deslocamento de uma molécula em solução e pode ser associada, intuitivamente, ao seu tamanho - fornecendo ensaios complementares da estrutura molecular e de seu comportamento em solução. Além de ser uma importante ferramenta para a separação espectral de misturas complexas de substâncias com mobilidades distintas. Um fato curioso é que embora os experimentos de difusão possam parecer bastante simples, apenas nos últimos anos, com o melhoramento tecnológico das sondas com gradiente, as medidas dos coeficientes de difusão se tornaram acessíveis e confiáveis.

Como a medida do coeficiente de difusão é baseada em um fenômeno chamado "eco", é importante discutirmos dois blocos fundamentais em RMN (i) o eco de spin ou "*spin-echo*" e o (ii) eco de gradiente.

### 5.1.1.O experimento de eco de spin

O esquema básico para a caracterização do coeficiente de difusão é combinar o experimento de eco de spin com gradientes de campo ("**P**ulse **F**ield **G**radiente" mais conhecidos pela sigla PFG), ver **Figura 47**.



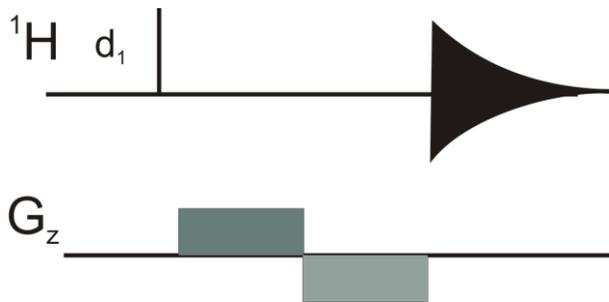
**Figura 47.** Sequência de pulsos básica para a medida de coeficientes de difusão – eco de spin.

Na ausência dos gradientes de campo esta sequência age apenas refocalizando o deslocamento químico de forma que o sinal detectado é atenuado apenas pela relaxação transversal durante o período  $2\tau$ , ou seja, como um eco de spin. Porém, ao aplicarmos os gradientes de campo o vetor magnetização sofre a imposição de uma fase espacial (consequência da aplicação do primeiro gradiente). Essa magnetização é refocalizada em seguida pelo segundo gradiente de mesma duração e magnitude que o primeiro. É importante frisar que a refocalização completa da magnetização ocorrerá somente se o campo sentido pelo spin for idêntico durante a aplicação dos dois gradientes, ou seja, caso a molécula não difunda durante o período  $\Delta$ . Caso a molécula difunda durante este período apenas parte da magnetização será refocalizada e, conseqüentemente, o sinal detectado sofre uma atenuação que é dependente de quão rápido a molécula se move durante o período  $\Delta$ .

A caracterização do coeficiente de difusão pode ser realizada variando (a) o  $\Delta$ ; (b) a duração do gradiente ( $\delta$ ) ou (c) a amplitude dos pulsos de gradiente ( $G_z$ ) enquanto a intensidade do sinal é monitorada. Assim, existem três maneiras distintas de trabalharmos durante os experimentos de difusão. Ao aumentarmos o  $\Delta$  (i) damos mais tempo para as moléculas difundirem, ao passo que se aumentarmos  $\delta$  (ii) e  $G_z$  (iii) impomos uma maior defasagem do sinal. Embora o experimento possa ser realizado utilizando variáveis distintas, em todos os casos a quantidade de sinal refocalizado está relacionada à mobilidade da molécula em solução.

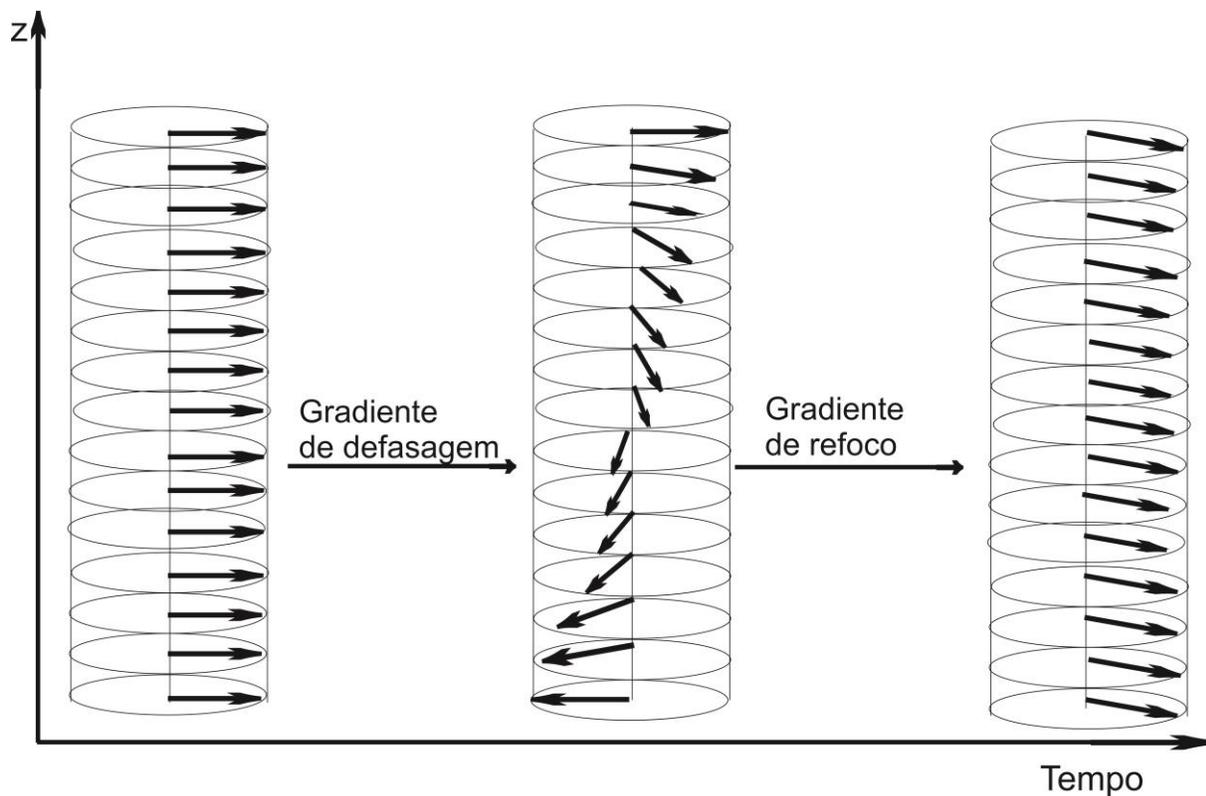
Deve-se ressaltar que o aumento de  $\Delta$  é limitado pela relaxação, neste caso transversal ( $T_2$ ). Devido a esta limitação, foram desenvolvidas várias sequências onde a permanência da magnetização no plano transversal é mínima durante o período  $\Delta$ . Além disso, o tempo de difusão é mantido constante enquanto os valores de  $\delta$  e  $G_z$  são variados. Assim, embora as perdas por relaxação continuem elas são constantes durante todo o experimento e não contribuem para a atenuação progressiva do sinal. É importante frisar que valores de  $\delta$  e  $G_z$  são limitados pelo tipo de sonda utilizada nas medidas.

### 5.1.2. Eco de Gradiente



**Figura 48.** Sequência de Pulsos para induzir um eco de gradiente.<sup>97</sup>

Na **Figura 48**, pode-se observar o experimento que caracteriza um eco de gradiente. Após a excitação da magnetização pelo pulso de  $90^\circ$ , um gradiente de campo é aplicado ao longo do eixo-z. Após um dado intervalo de tempo um gradiente de mesma duração e intensidade, mas com fase inversa, é aplicado no intuito de se obter um eco de gradiente (re-focalizar a magnetização que foi defasada pelo primeiro gradiente). Na **Figuras 49** é possível observar o que ocorre com a magnetização ao longo do tempo durante a aplicação do gradiente de campo.



**Figura 49.** Efeito, na magnetização transvesa, da aplicação de gradientes ( $G_z$ ) de versus tempo. A aplicação do primeiro gradiente defasa a magnetização, já a aplicação de um gradiente reverso de mesma duração e intensidade que o primeiro faz com que surja o eco (refocalização dos spins).

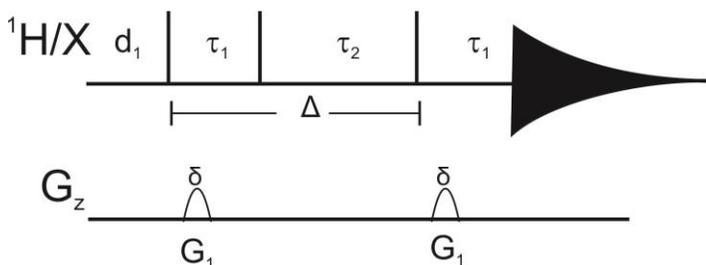
Ao observarmos a Fig. 49 com atenção, pode-se notar que a fase do vetor magnetização é diferente no início e no eco, isso ocorre devido à evolução em paralelo do deslocamento químico durante a aplicação do gradiente, ou seja, durante um eco de gradiente o deslocamento químico não é refocalizado. Essa é uma das principais diferenças existentes entre o eco de gradiente e o eco de spin. No experimento de eco de spin, ocorre a refocalização não apenas do deslocamento químico, mas também de imperfeições advindas da não homogeneidade do campo, o que resulta em um menor número de artefatos. Esta característica é a razão pela qual as sequências utilizadas para mensurar coeficientes de difusão são derivadas, em sua maioria, desta sequência (spin-eco) e não do eco de gradiente.<sup>98</sup>

Tendo em mente o princípio da técnica, da qual a maioria das sequências de pulsos para mensurar coeficientes de difusão é derivada, nas sessões seguintes serão discutidas as características das sequências (i) eco estimulado (STE) e suas variações (BBP-STE e BBP-LED) e a (ii) *Oneshot* (sequência da qual foi derivada a sequência para determinar coeficiente de difusão observando  $^{19}\text{F}$ ).

### 5.1.3. Eco estimulado

Ao observarmos a sequência de eco de spin (Fig. 47), pode-se observar que durante todo o período de difusão ( $2\tau$ ) a magnetização se encontra no plano transversal. Durante o período em que a magnetização se encontra no plano  $xy$ , o sinal proveniente da mesma é atenuado devido à relaxação por  $T_2$  e, conseqüentemente, limita o tempo de difusão ( $\Delta$ ). Esse problema se agrava à medida que o tamanho molecular aumenta, pois moléculas maiores necessitam de um período de difusão maior para realizar um movimento translacional significativo, porém é necessário ter em mente que moléculas maiores possuem  $T_2$  curtos e a necessidade de períodos de difusão longos pode resultar em uma razão sinal/ruído inaceitável.

Uma alternativa para este problema é a sequência de eco estimulado (**ST**imulated-**E**cho ou STE), **Figura 50**, nesta sequência a magnetização se encontra no plano transversal apenas durante um curto intervalo de tempo  $\tau_1$  (1-10 ms) e longitudinal no restante do período  $\tau_2$ , ou seja, nesta sequência de pulso as perdas por relaxação são ditadas pela relaxação mais lenta  $T_1$ .



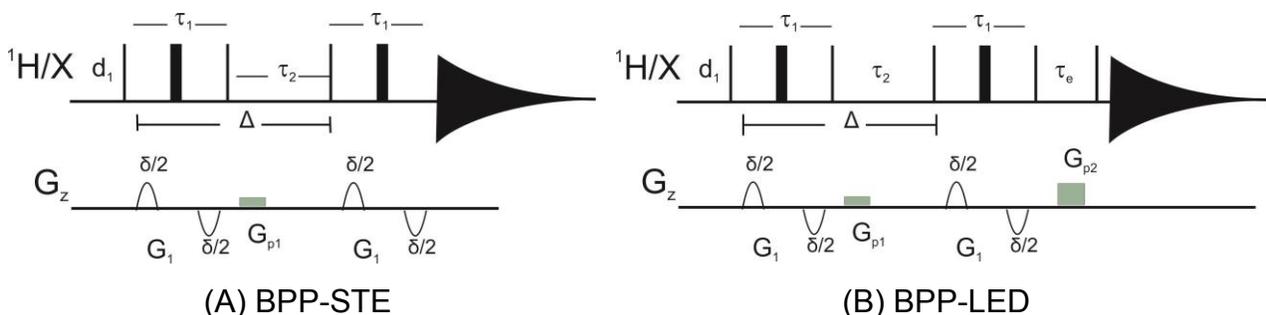
**Figura 50.** Sequência de pulsos com eco estimulado (STE).

Esta sequência de pulsos apresenta uma desvantagem em relação à anterior no que se refere à intensidade do sinal (metade do sinal é perdido), porém este é um problema tolerável devido às melhoras advindas dessa sequência.

Para entender como essa perda ocorre, considere um spin não acoplado submetido à sequência acima: após o pulso de  $90^\circ$  é criada uma magnetização transversa ( $-I_y$ ) que evolui sob efeito do deslocamento químico durante um período  $\tau_1$  para  $-I_y + I_x$  (com modulação  $\cos \Omega\tau_1$  e  $\sin \Omega\tau_1$ , respectivamente), quando o segundo pulso de  $90^\circ$  é aplicado ao longo do eixo-x apenas a magnetização  $-I_y$  é afetada ( $-I_z \cos \Omega\tau_1$ ) a magnetização  $I_x$  continua no plano transversal e é eliminada por ciclagem de fase.

#### 5.1.4. Eco estimulado com gradientes bipolares (BPP-STE) e "eddy current" ou Corrente de Foucault (BPP-LED)

Após o desenvolvimento da sequência de eco estimulado, algumas melhorias foram surgindo visando, principalmente, eliminar distorções da linha de base e reduzir o tempo de experimento. Entre as mudanças, surgiram sequências com pulsos de gradiente bipolares (BPP) e, também, sequências que além de aplicarem os BPP também tiveram introduzidas modificações visando à eliminação da corrente de Foucault. Na **Figura 51** estão presentes as sequências de pulsos com gradientes bipolares citadas acima.



**Figura 51.** Sequências de pulsos melhoradas derivadas da sequência eco estimulado.

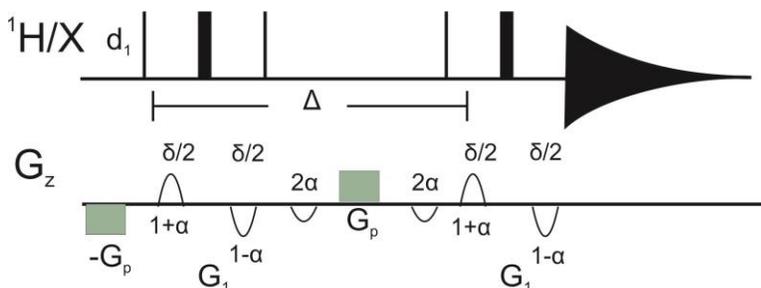
Ao compararmos a seqüência de eco estimulado (Fig. 50) com as seqüências BPP-STE e BPP-LED (Fig 51), nota-se que o número de pulsos de gradiente e de radiofrequência aumentou nas seqüências modificadas, passando de dois para cinco. É importante ressaltar que o gradiente ( $G_{p1}$ ) é um "spoil" ou purga (aplicado para limpar a magnetização que se encontra no plano transversal), os demais gradientes que possuem metade da duração dos utilizados na seqüência "original" são aplicados intercalados por um pulso de  $180^\circ$ .

### 5.1.5.O experimento *Oneshot*

Dentre as diversas seqüências de pulsos utilizadas para a realização dos experimentos de DOSY as mais utilizadas são as que empregam variações da seqüência eco estimulado.<sup>99</sup> A melhor escolha dependerá das características da amostra. Seqüências de pulsos usando gradientes de campo bipolares intercalados por um pulso de  $180^\circ$  possuem diversas vantagens:

- a supressão de artefatos causados pela diferença de relaxação em sistemas fortemente acoplados;
- evita perdas de sinal devido à difusão de spins;
- redução de erros devido à corrente espúria;
- refocalização do sinal de deutério, minimizando perturbações do sinal do lock.<sup>100</sup>

Dentre as seqüências aplicadas para a medida de coeficientes de difusão, a *Oneshot*<sup>100</sup> (**Figura 52**) é uma seqüência bastante interessante, principalmente por não se fazer necessário o uso de ciclagem de fase o que leva, conseqüentemente, a um menor tempo de experimento.



**Figura 52.** Seqüência de pulsos DOSY *Oneshot*.

O princípio da sequência *Oneshot* está no uso de gradientes não balanceados, de forma que qualquer magnetização não refocalizada pela aplicação dos gradientes desbalanceados ou que não são afetados pelo pulso de  $180^\circ$  será defasada removendo, assim, a necessidade da aplicação da ciclagem de fase.

### 5.1.6. DOSY envolvendo a detecção do núcleo de $^{19}\text{F}$ .

A utilização de RMN de flúor ( $^{19}\text{F}$ ) aplicada a projetos envolvendo desenvolvimento de novos fármacos tem se tornado bastante popular nos últimos anos. Diversos grupos, acadêmicos e industriais, têm investido bastante na aplicação dessa metodologia na identificação e otimização de processos, inclusive em ensaios bioquímicos e de afinidade.<sup>101, 102, 103</sup> Embora tenham ocorrido diversos avanços, a maioria dos estudos são baseados no uso do deslocamento químico. Recentemente Dalvit e Vulpetti<sup>101</sup> publicaram um trabalho aplicando experimentos de difusão baseados na sequência “*spin echo*” para observação de  $^{19}\text{F}$  para a separação de misturas complexas.

## 5.1. Objetivos

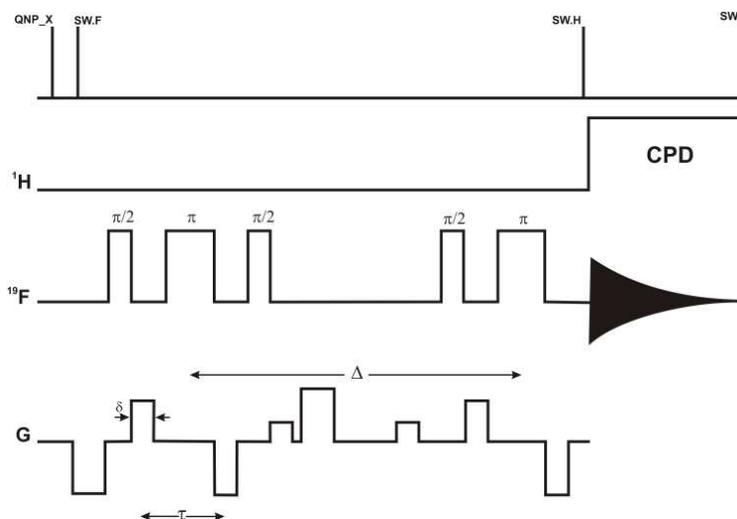
O presente projeto visa modificar a sequência *Oneshot*<sup>100</sup> para a observação de  $^{19}\text{F}$  e, utilizar a mesma (modificada para a observação de  $^{19}\text{F}$  e desacoplamento de  $^1\text{H}$ ) para estudar a difusão de flúorbenzenos e medicamentos fluorados no intuito de uma aplicação futura na análise de metabólitos.

## 5.2. Instrumentação

Equipamento Bruker Avance III equipado com uma sonda de 5 mm (“*smartprobe*” – BBFO) com gradiente ( $G_z=53 \text{ G.cm}^{-1}$ ) operando a 499,87 MHz e 470,29 MHz para  $^1\text{H}$  e  $^{19}\text{F}$ , respectivamente.

### 5.3. Experimentos de difusão com detecção de $^{19}\text{F}$

Os experimentos de difusão de DOSY com detecção de  $^{19}\text{F}$  foram adquiridos utilizando a sequência de pulso  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ -*Oneshot* que consiste da sequência *Oneshot* modificada para detecção em  $^{19}\text{F}$  e desacoplamento *broadband* (waltz16) de  $^1\text{H}$  e chaveamento (unidade QNP) para mudança entre  $^{19}\text{F}$  e  $^1\text{H}$  (**Figura 53**).



**Figura 53.** Sequência de pulsos  $^{19}\text{F}$  DOSY baseada na sequência de eco estimulado ( $^1\text{H}$ -DOSY), incluindo desacoplamento de  $^1\text{H}$ .  $\Delta$ : tempo de difusão,  $\delta$  é a “força” do gradiente.

### 5.4. Resultados e Discussão

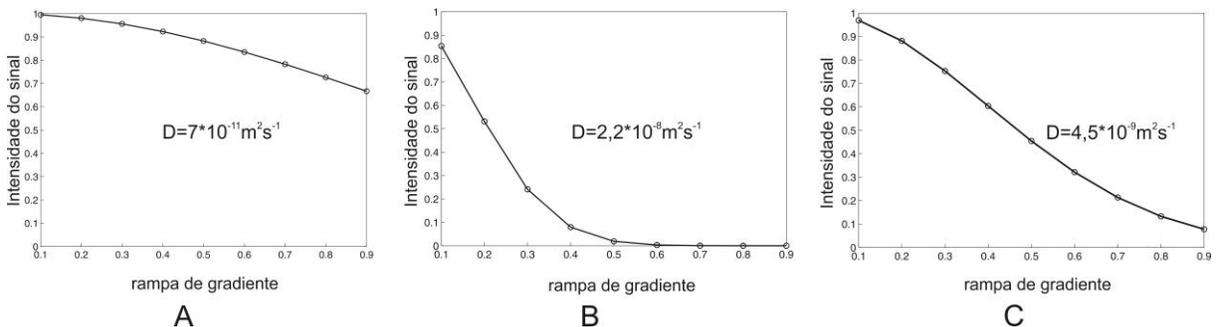
De acordo com a equação de Stejskal-Tanner<sup>104</sup>, equação 13, o coeficiente de difusão depende da razão magnetogírica ( $\gamma$ ) do núcleo observado, da “força” ( $G_z$ ) e duração ( $\delta$ ) dos gradientes e, também, do tempo deixado para a molécula difundir ( $\Delta$ ).

$$I_G = I_{G=0} \exp\left(-(\gamma\delta G)^2 D \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)\right) \quad (13)$$

Tomando como base estas informações e sabendo que a força do gradiente é limitada pela sonda, em nosso caso  $G \approx 53$  G/cm. Durante a realização dos experimentos de difusão foram testadas várias condições que envolviam a variação do tempo de difusão ( $\Delta = d20$ ) e da duração dos gradientes ( $\delta = 2 * p30$ ). É importante ressaltar que o valor de  $\Delta$  ou  $d20$  é limitado pela relaxação e, portanto, deve-se evitar valores muito longos que possam resultar em perdas significativas de sinal.

Na **Figura 54** estão presentes três possíveis curvas de decaimento da intensidade do sinal em função de uma rampa de gradientes de 10-90% G, onde  $G = 50$  G/cm. Os valores de  $\Delta$  e  $\delta$  utilizados na simulação foram 100ms e 4ms, respectivamente.

- Curva A – decaimento não satisfatório, intensidade do sinal no primeiro ponto e no último são muito próximas:  $\Delta$  e  $\delta$  muito curtos;
- Curva B – decaimento muito rápido, nota-se que a intensidade do sinal é nula já no sétimo ponto da rampa:  $\Delta$  e  $\delta$  muito longos;
- Curva C – decaimento desejado  $\rightarrow \frac{S_{16}}{S_1} \cong 0,05$ :  $\Delta$  e  $\delta$  ideais.

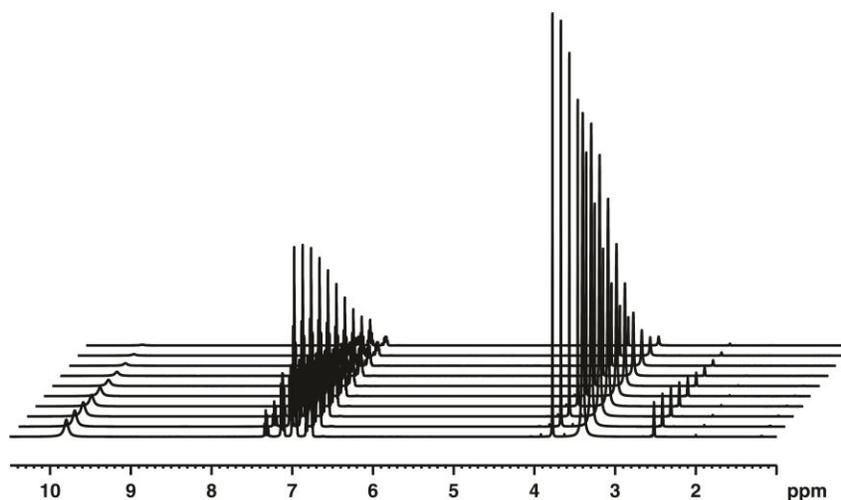


**Figura 54.** Curvas de decaimento simuladas: rampa de gradiente 10 a 90% em 9 passos para os mesmos  $\Delta$  e  $\delta$ , mas considerando três coeficientes de difusão.

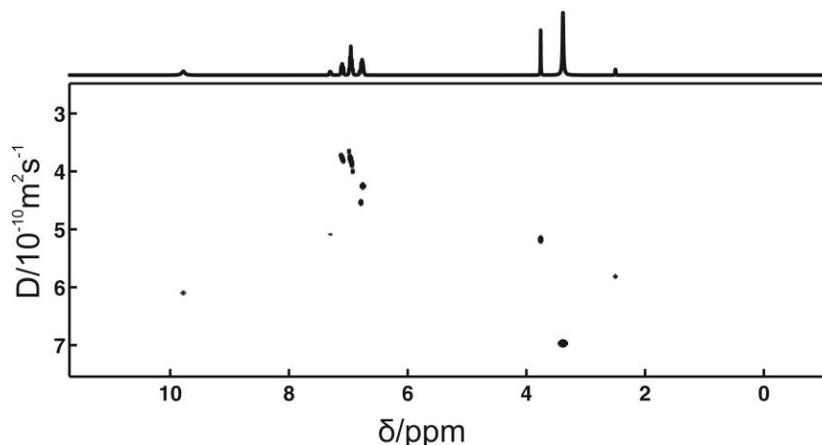
Após a implementação da sequência *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ , realizamos o experimento para duas misturas, cujos componentes eram conhecidos, de forma a nos certificarmos se a sequência era capaz de produzir resultados satisfatórios (coeficientes de difusão condizentes com a massa molar dos compostos em solução). Para isso foi utilizada duas misturas de flúorbenzenos.

### 5.4.1. Mistura 1: 2-flúorfenol+3-flúoranisol

Como exemplificado na curva simulada (Fig. 54C), a intensidade do sinal referente ao último ponto da curva deve ter aproximadamente 5-10% da intensidade do sinal no primeiro ponto da rampa. Para a mistura 1 (9,3mg de 2-flúorfenol e 4,8mg de 3-flúoranisol em 0,7mL de DMSO), os experimentos, *Oneshot*- $^1\text{H}$  e *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ , foram adquiridos utilizando: i) tempo de difusão ( $\Delta$ ) de 50ms; ii) tempo total do pulso de codificação (“*encoding*”) ( $\delta=2^*p30$ ) de 3,6ms e iii) uma rampa linear de 10 gradientes nominais com amplitudes entre 0,96 e 33,7G  $\text{cm}^{-1}$  (2-70%). Os experimentos foram realizados a 25°C e os espectros foram processados utilizando o programa DOSY Toolbox<sup>105</sup> e uma função de decaimento exponencial (LB) de 5Hz sem “*zero filling*”, os resultados estão apresentados nas **Figuras 55 e 56**.



**Figura 55.** Decaimento dos sinais da mistura de 2-fluorofenol e 3-fluoroanisol a 25°C em DMSO- $d_6$  obtidos com a sequência *Oneshot*- $^1\text{H}$ .

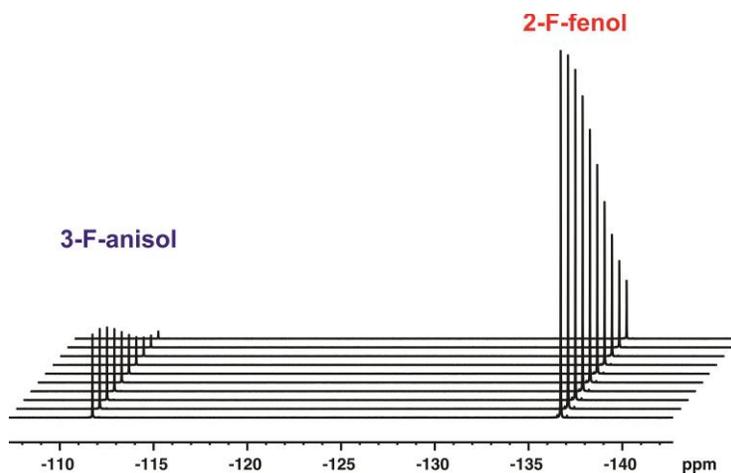


**Figura 56.** Espectro DOSY utilizando a sequência *Oneshot*- $^1\text{H}$  para uma amostra contendo 2-fluorofenol e 3-fluoroanisol a  $25^\circ\text{C}$  em  $\text{DMSO}-d_6$ .

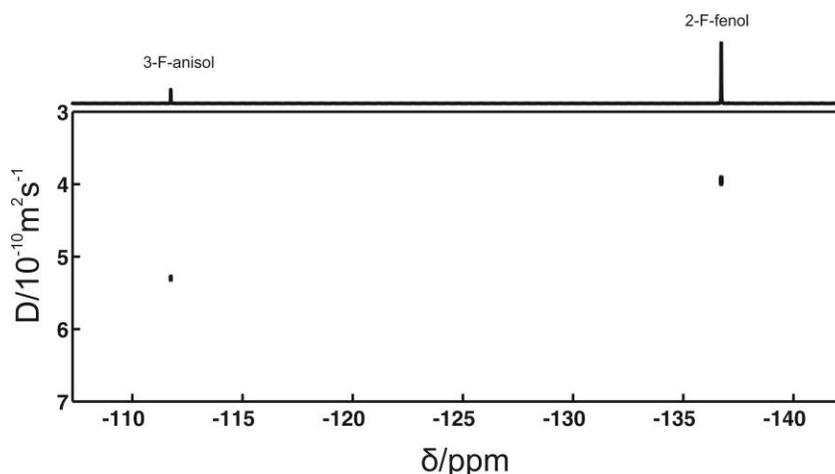
Ao observarmos o espectro *Oneshot* com detecção de  $^1\text{H}$ , devido à grande sobreposição de sinais na região característica de aromáticos, temos a falsa impressão da existência de mais de dois componentes na mistura. Isso ocorre, pois os sinais sobrepostos apresentam um coeficiente de difusão médio ( $D_m$ ) que difere dos coeficientes de difusão reais. Uma vez que os dois compostos apresentam sinais com frequências bastante distintas (OH em 9,8ppm e  $\text{OCH}_3$  em 3,8ppm) podemos, a princípio, estimar os coeficientes de difusão dos dois compostos através desses dois sinais. Os valores obtidos foram  $6,09 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$  para o 2-flúorfenol e  $5,18 \pm 0,02 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$  para o 3-flúoranisol. Na região dos aromáticos os coeficientes de difusão variam entre  $3,7$ - $5,1 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ .

Nas **Figuras 57 e 58** estão apresentados os decaimentos dos sinais de  $^{19}\text{F}$  em função do gradiente (1D e pseudo-2D, respectivamente). Ao contrário do que ocorre no caso do espectro de  $^1\text{H}$ , no espectro de  $^{19}\text{F}$  os sinais referentes aos dois componentes apresentam deslocamentos químicos bastante distintos. Somado a isso o desacoplamento “*broadband*” de  $^1\text{H}$ , temos um espectro bem simples composto de apenas dois sinais – um para cada um dos compostos. A análise do espectro presente na Figura 62 mostra a existência de dois em solução. Os coeficientes de difusão

obtidos para o 2-flúorfenol ( $\delta^{19}\text{F} = -136,7\text{ppm}$ ) foi de  $3,99 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$  e para o 3-fluoranisol ( $\delta^{19}\text{F} = -111,7\text{ppm}$ ) foi de  $5,32 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ . Como se pode notar, o coeficiente de difusão determinado para o 3-fluoranisol é o mesmo nos dois experimentos. No caso do 2-fluorfenol, a determinação do coeficiente de difusão a partir do sinal da hidroxila não é confiável, pois como este hidrogênio é lábil o valor observado é muito maior que o real.



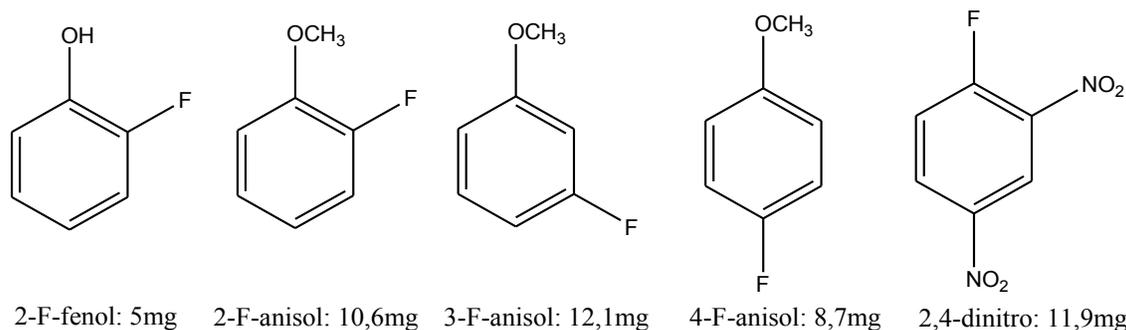
**Figura 57.** Decaimento dos sinais da mistura de 2-fluorofenol e 3-fluoroanisol a  $25^\circ\text{C}$  em  $\text{DMSO-}d_6$  obtidos com a sequência *Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$* .



**Figura 58.** Espectro DOSY utilizando a sequência *Oneshot- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$*  para uma amostra contendo 2-fluorofenol e 3-fluoroanisol a  $25^\circ\text{C}$  em  $\text{DMSO-}d_6$ .

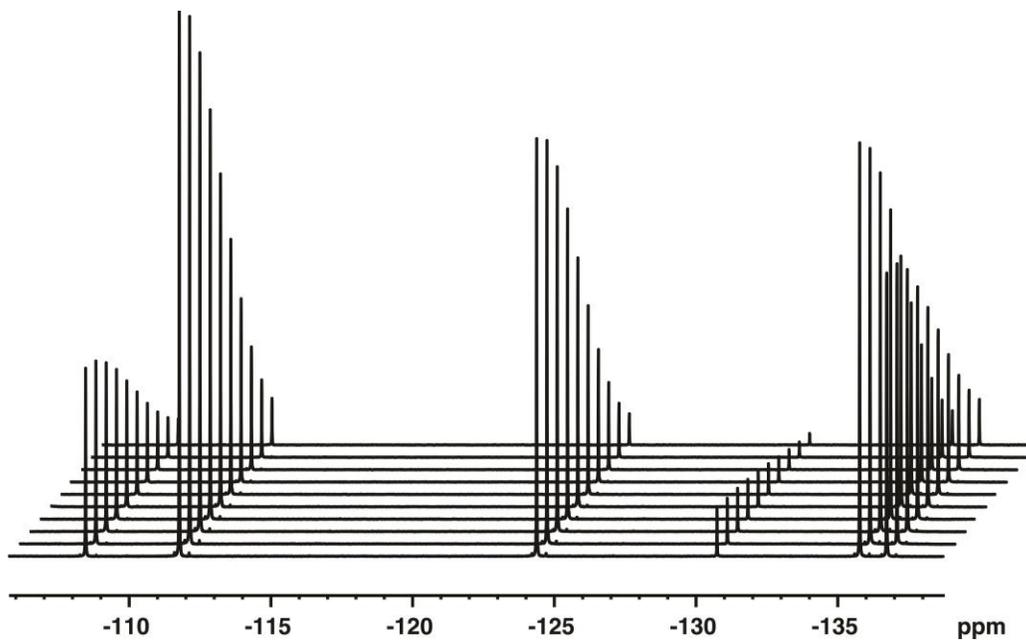
### 5.4.2. Mistura 2

Para demonstrar a eficiência da sequência *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  para “separar” misturas complexas, foi preparada uma mistura de cinco flúorbenzenos com massa molecular bem semelhante, **Figura 59**.

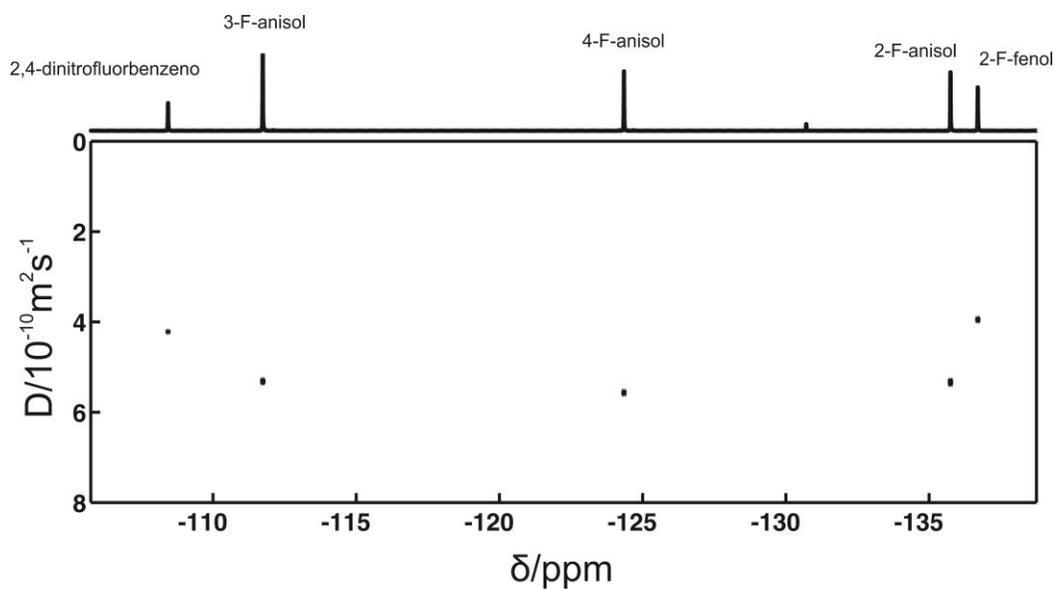


**Figura 59.** Mistura de flúorbenzenos preparada em 0,8mL de  $\text{DMSO-}d_6$ .

Para a mistura 2 os experimentos, *Oneshot*- $^1\text{H}$  (Figura D1 em anexo) e *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ , foram adquiridos utilizando: i) tempo de difusão ( $\Delta$ ) de 50ms; ii) tempo total do pulso de codificação (“encoding”) (p30) de 1,8ms e iii) uma rampa linear de 10 gradientes nominais com amplitudes entre 0,96 e 33,7G  $\text{cm}^{-1}$  (2-70%). Os experimentos foram realizados a 25°C e os espectros foram processados utilizando o programa DOSY Toolbox e uma função de decaimento exponencial (LB) de 5Hz sem “zero filling”, os resultados estão apresentados nas **Figuras 60 e 61**.



**Figura 60.** Decaimento dos sinais da mistura 2 a 25°C em DMSO- $d_6$  obtidos com a sequência *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ .



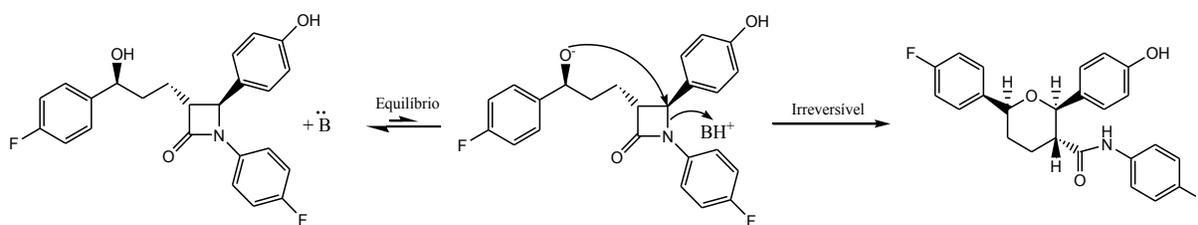
**Figura 61.** Espectro DOSY utilizando a sequência *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  para a mistura 2 a 25°C em DMSO- $d_6$ .

Como podemos observar na Fig. 61, mesmo para uma mistura complexa de cinco componentes bastante semelhantes, a sequência *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{1\text{H}\}$  foi capaz de fornecer dados satisfatórios. A análise do espectro de DOSY, presente na Fig. 64, mostra a existência de ao menos 3 compostos. A discriminação entre o 2-fluoranol e o 3-fluoranol e 4-fluoranol, que apresentaram mesmo coeficiente de difusão, só foi possível devido ao conhecimento prévio dos deslocamentos químicos. Os coeficientes de difusão obtidos para os componentes da mistura a 25 °C foram: i) 2-flúorfenol ( $\delta^{19}\text{F} = -136,7\text{ppm}$ ) foi de  $3,95 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ; ii) 2-fluoranol ( $\delta^{19}\text{F} = -135,8\text{ppm}$ ) foi de  $5,34 \pm 0,04 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ; iii) 3-fluoranol ( $\delta^{19}\text{F} = -111,7\text{ppm}$ ) foi de  $5,32 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ; iv) 4-fluoranol ( $\delta^{19}\text{F} = -124,4\text{ppm}$ ) foi de  $5,57 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ; v) 2,4-dinitro-fluorbenzeno ( $\delta^{19}\text{F} = -108,4\text{ppm}$ ) foi de  $4,22 \pm 0,02 \times 10^{-10} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$ .

### 5.4.3. Uso de DOSY de $^{19}\text{F}$ para a análise de fármacos (degradação do ezetimibe)

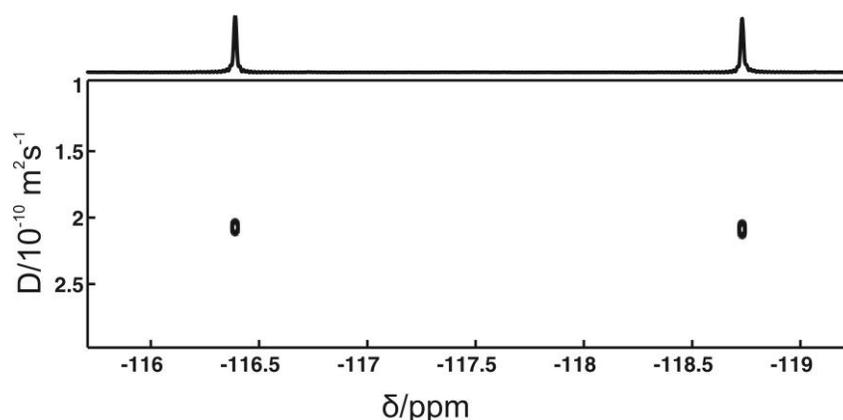
O ezetimibe, 1-(4-fluorofenil)-3(R)-[3-(4-fluorofenil)-3-hidroxiopropil]-4(S)-(4-hidroxifenil)-2-azetidiona], é um forte inibidor de absorção de colesterol no intestino e, além disso, reduz os níveis de LDL (*“low density lipoprotein”*) no plasma. Devido à sua importância na medicina, o ezetimibe é bastante estudado e é sabido que essa droga sofre fácil degradação quando exposto ao calor, meio básico ou mesmo com o tempo que permanece em solução.

Recentemente,<sup>106</sup> foi publicada a estrutura do principal produto de degradação do ezetimibe quando submetido a um meio básico. Segundo os autores, a formação do produto de degradação é resultado da desprotonação do álcool seguida de uma reação de substituição nucleofílica intramolecular, veja o **esquema 2**.



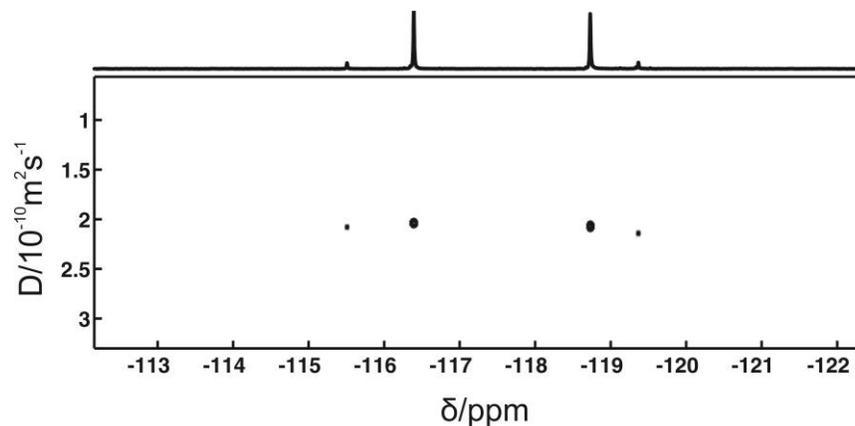
**Esquema 2.** Degradação do Ezetimibe.

A fim de entendermos melhor o processo de degradação dessa droga, submetemos o mesmo a condições diversas. Primeiramente, para termos uma referência, realizamos o experimento de *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  utilizando uma amostra recém-preparada em  $\text{DMSO-}d_6$  a  $25^\circ\text{C}$  para evitar convecção (**Figura 62**). Observa-se que a amostra recém-preparada contém apenas o ezetimibe e que, as ressonâncias correspondentes aos dois tipos de  $^{19}\text{F}$ , estão totalmente desacopladas de hidrogênios. É importante mencionar que os coeficientes de difusão ( $2,09 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  e  $2,08 \pm 0,02 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) correspondem aos mesmos obtidos através do DOSY- $^1\text{H}$  (**Figura D2**).



**Figura 62.** Espectro *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  para uma amostra de ezetimibe recém-preparada em  $\text{DMSO-}d_6$  a  $25^\circ\text{C}$ .

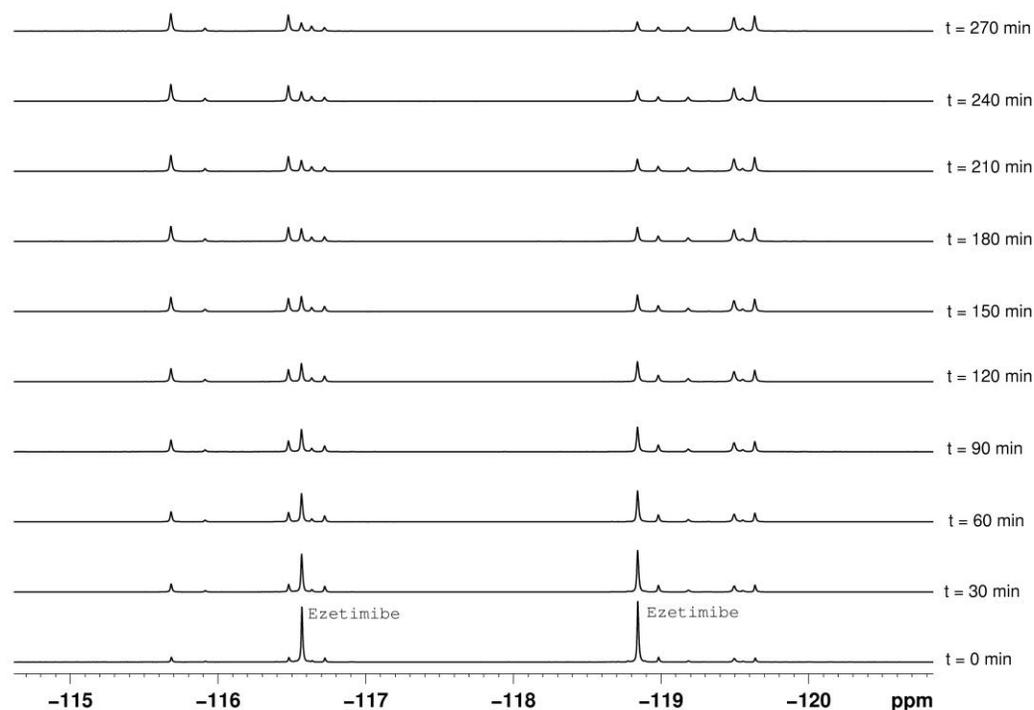
Para analisarmos a degradação do ezetimibe com o tempo, deixamos a amostra recém-preparada por aproximadamente uma semana no tubo de ressonância e realizamos um novo experimento. Observa-se na **Figura 63** que a amostra agora contém, além do ezetimibe, um produto de degradação. Com base no coeficiente de difusão, o produto é bastante semelhante ao ezetimibe no que se refere à forma e massa molar, o que está totalmente de acordo com o trabalho publicado recentemente.<sup>106</sup>



**Figura 63.** Espectro *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  do ezetimibe ( $\delta^{19}\text{F} = -116,4\text{ppm}$  e  $-118,7\text{ppm}$ ),  $D = 2,08 \pm 0,02 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  e do produto de degradação ( $\delta^{19}\text{F} = -115,5\text{ppm}$  e  $-119,4\text{ppm}$ )  $D = 2,17 \pm 0,03 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .

É importante ressaltar que a relação ezetimibe/produto de degradação se manteve praticamente constante, mesmo após um mês.

O efeito da temperatura no processo de degradação do ezetimibe foi avaliado adquirindo espectros de  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  para uma amostra a  $70^\circ\text{C}$  em  $\text{DMSO-}d_6$  durante 270 min. em intervalos de 30 min. (**Figura 64**). O primeiro espectro (tempo zero) foi adquirido 5 min. após a temperatura ter sido equilibrada.



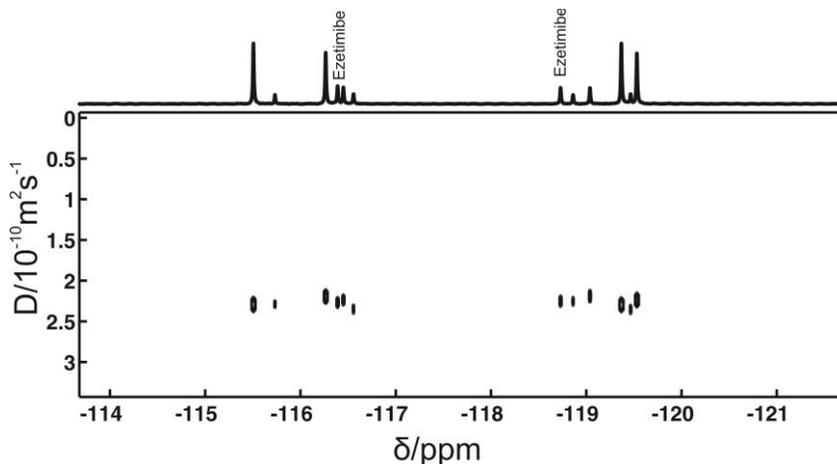
**Figura 64.** Espectros de RMN de  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  para uma série de zero a 270 min. adquiridos em intervalos de 30 min. para uma amostra de ezetimibe em  $\text{DMSO-d}_6$  a  $70^\circ\text{C}$ .

Nota-se que mesmo no primeiro espectro de  $^{19}\text{F}$  (tempo zero) há pequenas quantidades de produtos de degradação (muitos dos quais não estão presentes à temperatura ambiente Fig. 63), provavelmente, devido ao período necessário para equilibrar a temperatura. A formação dos produtos de degradação pode ser facilmente acompanhada através da Figura 64. A diminuição da intensidade dos sinais referentes ao ezetimibe e aumento da intensidade de alguns dos sinais referentes aos produtos de degradação, sugerem a presença de ao menos 5 diferentes produtos e intermediários contendo  $^{19}\text{F}$ .

Os resultados apresentados acima mostram que mesmo na ausência de uma solução alcalina, o ezetimibe sofre uma degradação considerável a  $70^\circ\text{C}$ . Além disso, é

possível observar que a formação dos diferentes produtos apresenta velocidades distintas.

Após os 270 min. a amostra foi resfriada lentamente à temperatura ambiente (25 °C) e experimentos de difusão *Oneshot*- $^1\text{H}$  (**Figura D3**) e *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  foi adquirido para se obter informações a respeito dos tamanhos relativos dos produtos de degradação (**Figura 65**).



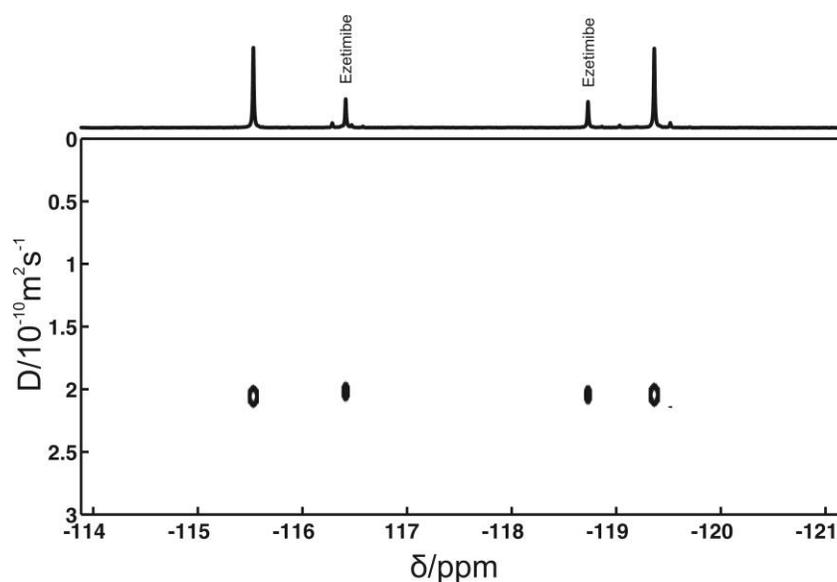
**Figura 65.** Experimento *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  realizado a 25°C (com a projeção 1D do espectro de  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ ) no topo) para a amostra de ezetimibe em  $\text{DMSO}-d_6$  submetida a uma temperatura de 70°C por 270 min.

O experimento de difusão mostra claramente que houve a formação de ao menos cinco produtos de degradação contendo  $^{19}\text{F}$  e todos com massa molar semelhante ao próprio ezetimibe. Este resultado descarta hipóteses de degradações em produtos menores contendo  $^{19}\text{F}$  sugerindo, portanto, que eles possam ser resultados de isomerização.

A presença de diferentes espécies, possivelmente isômeros, foi detectada pela dependência da concentração dessas em função do tempo (Fig. 64). Em casos onde há uma mistura com compostos muito similares é muito difícil inferir que os sinais são provenientes de diferentes espécies. No entanto, recentemente, foi demonstrado pelo nosso grupo em um trabalho envolvendo *Oneshot*- $^1\text{H}$  que a simples adição de

surfactante pode modular o comportamento dos compostos em solução e auxiliar na separação dos sinais referentes a isômeros cujos coeficientes de difusão eram praticamente idênticos na mistura nativa.<sup>107, 108, 109</sup> A técnica de *Oneshot*- $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  é bastante útil quando se utiliza a adição de surfactantes como alternativa, pois a maioria dos surfactantes apresentam muitos sinais no espectro de  $^1\text{H}$  (podendo atrapalhar na análise dos sinais provenientes da amostra), porém são completamente invisíveis no espectro de  $^{19}\text{F}$ . Embora interessante tal aplicação não é do escopo do presente trabalho.

A fim de avaliar a estabilidade dos produtos de degradação à temperatura ambiente, a mistura foi deixada por quatro semanas a  $25^\circ\text{C}$  e em seguida foi adquirido um novo experimento de DOSY- $^{19}\text{F}$ , ver **Figura 66**.



**Figura 66.** Experimento *Oneshot* $^{19}\text{F}$  (470,59MHz) realizado a  $25^\circ\text{C}$  (com a projeção 1D do espectro de  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ ) no topo para a amostra de ezetimibe em  $\text{DMSO-d}_6$  submetida a uma temperatura de  $70^\circ\text{C}$  por 270 min e deixada à temperatura ambiente por duas semanas.

Como podemos observar na Fig. 66, após as duas semanas em solução apenas o ezetimibe e um único produto dos produtos de degradação com deslocamento químico em  $^{19}\text{F}$  em -115,5 ppm e -119,4 ppm foram detectados. Nota-se que este produto se encontra em maior concentração que o ezetimibe e que os demais compostos remanescentes estão presentes em baixíssima concentração. Este resultado sugere que ao menos três dos compostos detectados durante o processo de degradação eram intermediários não estáveis que foram convertidos a um produto de degradação mais estável.

## 5.5. Conclusão<sup>110</sup>

Além disso, observou-se que os experimentos baseados na observação de  $^{19}\text{F}$  fornecem resultados que são mais simples de serem trabalhados. A simplicidade dos dados é proveniente de dois fatores (i) há poucos núcleos de flúor em uma mesma molécula; (ii) o deslocamento químico de um dado núcleo de  $^{19}\text{F}$  é bastante sensível ao ambiente químico em que ele se encontra.

Para finalizar a nossa discussão sobre os experimentos de difusão, é importante ressaltar para que os resultados sejam confiáveis é necessário observar um bom decaimento do sinal à medida que variamos o gradiente ao longo do eixo z. Um bom decaimento é dependente de ótimo controle sobre a temperatura, esta não pode variar durante a realização do experimento.

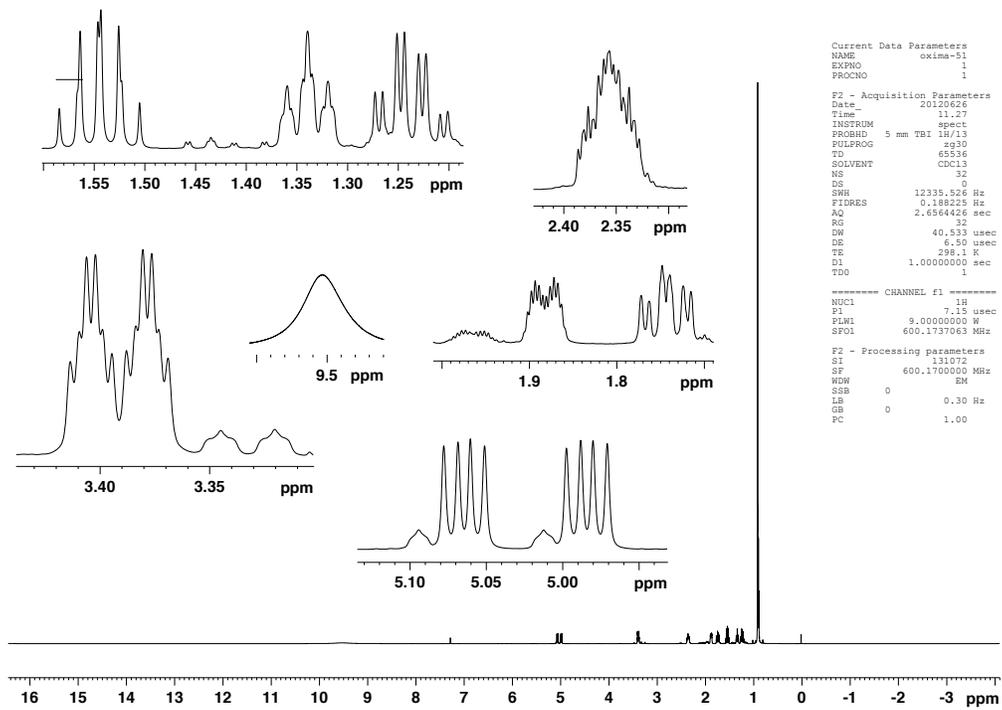
Vale ressaltar que a identificação dos produtos de degradação do ezetimibe, assim como os problemas resultantes da modulação do sinal pela evolução do acoplamento  $J_{FF}$  são parte da dissertação de mestrado do aluno Guilherme Dal Poggetto.

- 
- 97 M. H. Levitt (2007). Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance. 2nd ed. Chichester, John Wiley & Sons , 307.
- 98 W. S. Price, Concepts Magn. Reson. 9 (1997) 299.
- 99 J. E. Tanner, J. Chem. Phys. 52 (1970) 2523.
- 100 M. D. Pelta, G. A. Morris, M. J. Stcherdroff, S. J. Hammond, Magn. Reson. Chem. 40 (2002) S147.
- 101 C. Dalvit, A. Vulpetti, Magn. Reson. Chem. 50 (2012) 592.
- 102 C. Dalvit, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 51 (2007) 243.
- 103 B. J. Stockman. J. Am. Chem. Soc. 130 (2008) 5870.
- 104 E. O. Stejskal, J. E. Tanner, J. Chem. Phys. 42 (1965) 288.
- 105 M. Nilsson, J. Magn. Reson. 200 (2009) 296.
- 106 Z. Sánta, J. Kóti, K. Szöke, K. Vukics, C. Szántay Jr., J. Pharmaceut. Biomed. Anal. 58 (2012) 125
- 107 R. Evans, S. Haiber, M. Nilsson, G.A. Morris, Anal. Chem. 81 (2009) 4548.
- 108 C.F. Tormena, R. Evans, S. Haiber, M. Nilsson, G.A. Morris, Magn. Reson. Chem. 48, 550 (2010).
- 109 C.F. Tormena, R. Evans, S. Haiber, M. Nilsson, G.A. Morris, Magn. Reson. Chem. 50, 458 (2012).
- 110 G. Dal Poggetto, D. C. Favaro, M. Nilsson, G. A. Morris, C. F. Tormena, 52 (2014) 172.

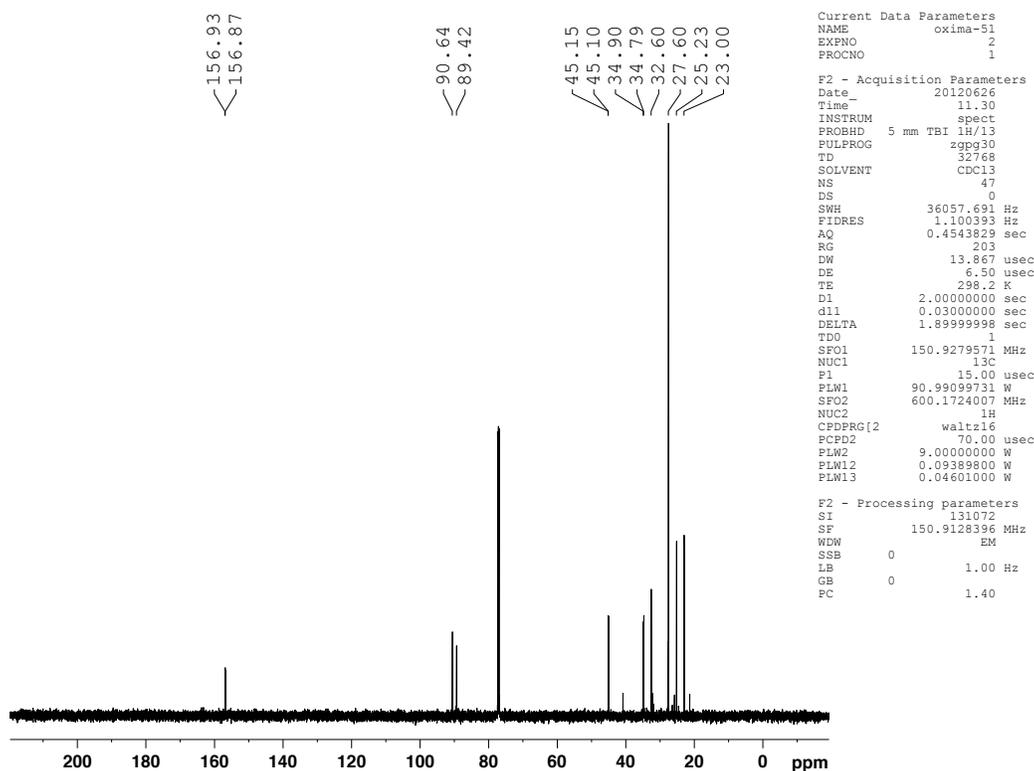


## **ANEXOS A (Capítulo 2)**



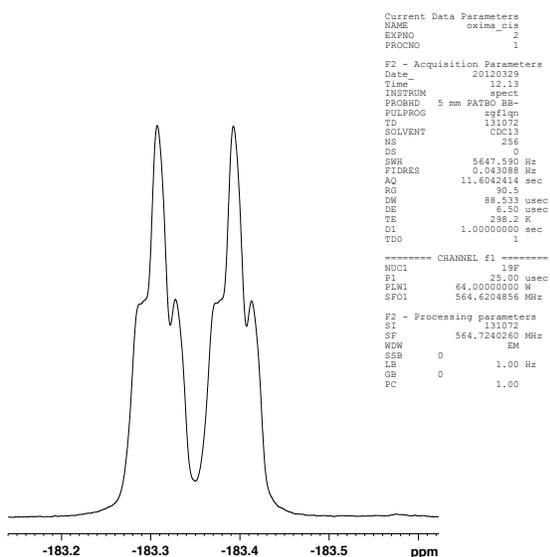


**Figura A1.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da mistura das fluoroximas derivadas da *cis*- e *trans*-4-t-butilciclohexanona.

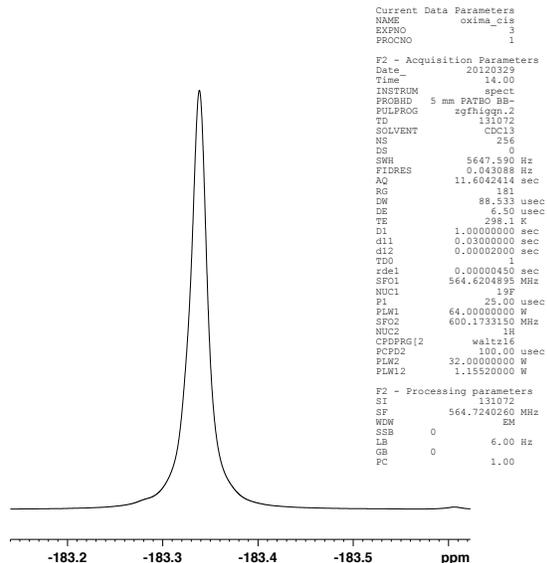


**Figura A2.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da mistura das fluoroximas derivadas da *trans*-4-*t*-butilciclohexanona.

**A)**

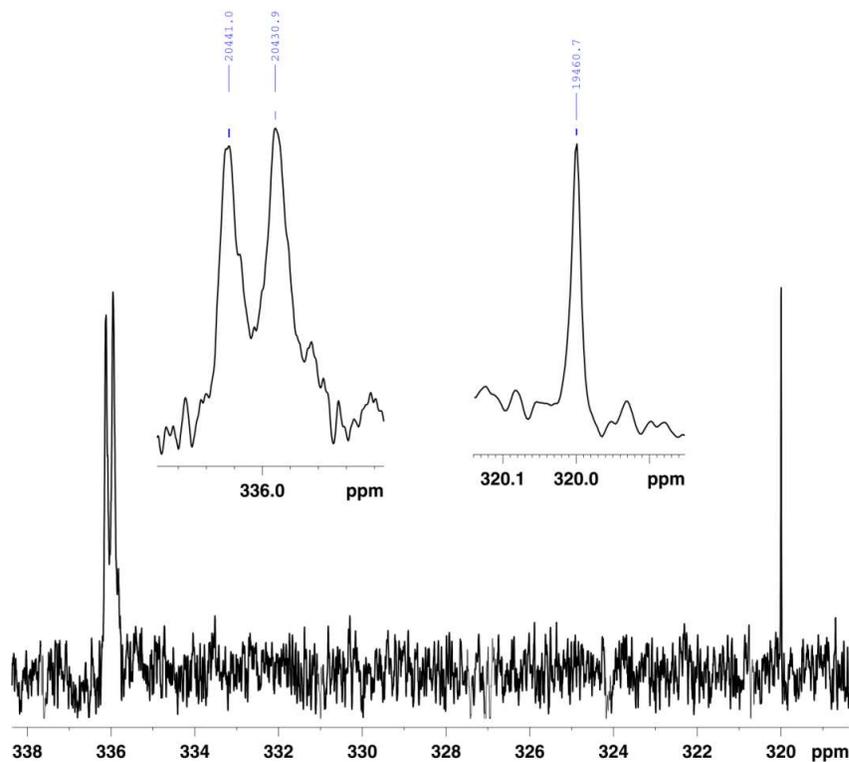


**B)**



**Figura A3.** Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  para a oxima derivada da *cis*-4-*t*-butilciclohexanona: A) acoplado e B) desacoplado de  $^1\text{H}$

oximes (E) cis and (Z) trans of 4-t-bu-cyclohexanone



```
Current Data Parameters
NAME      oxima-51
EXPNO    2
PROCNO   1

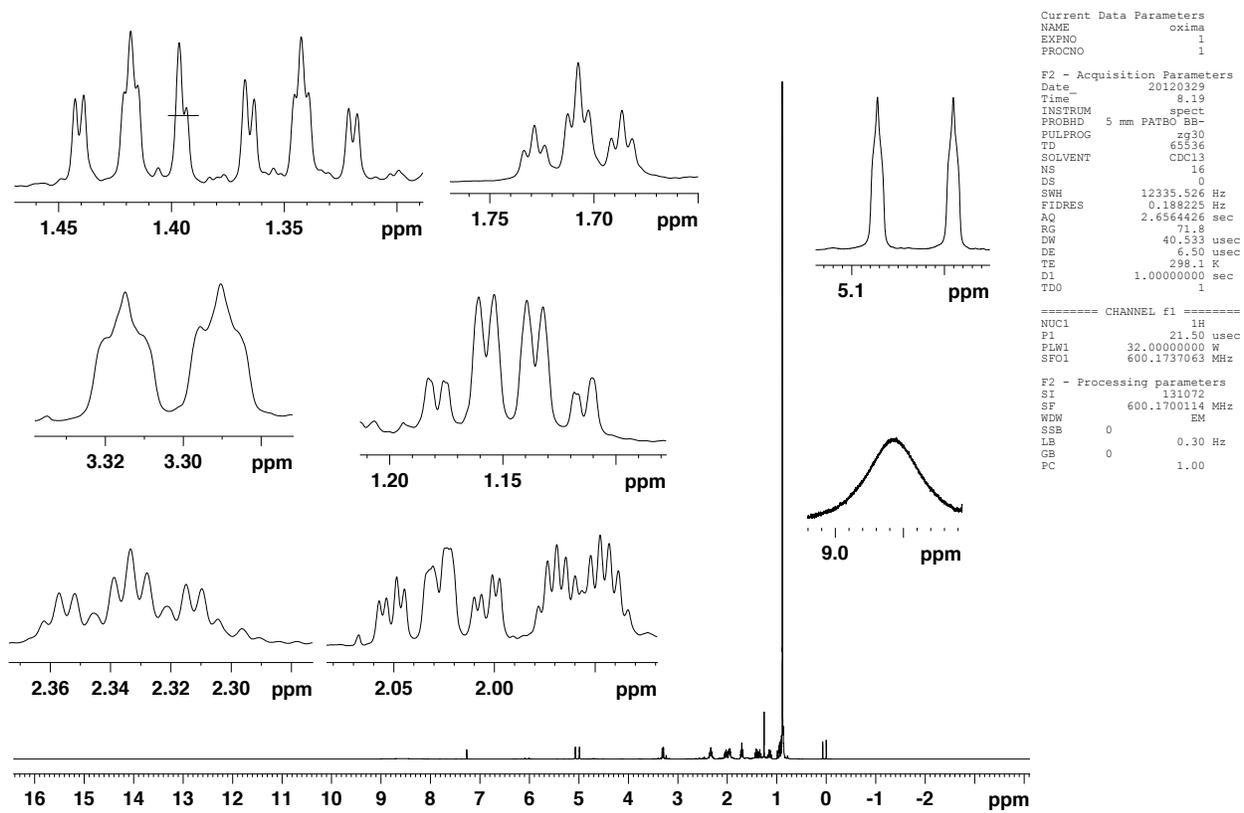
F2 - Acquisition Parameters
Date_    20120709
Time     9.39
INSTRUM  spect
PROBHD   5 mm PATBO BB-
PULPROG  zgig
TD       32768
SOLVENT  CDCl3
NS       12288
DS       0
SWH      9146.342 Hz
FIDRES   0.279124 Hz
AQ       1.7913673 sec
RG       2.25
DW       54.667 usec
DE       6.50 usec
TE       298.3 K
D1       5.00000000 sec
D11      0.03000000 sec
TD0      1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1     15N
P1       14.00 usec
PLW1     127.63999939 W
SFO1     60.8341587 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2  waltz16
NUC2     1H
PCPD2    80.00 usec
PLW2     24.60000038 W
PLW12    1.24539995 W
SFO2     600.1724007 MHz

F2 - Processing parameters
SI       65536
SF       60.8146980 MHz
WDW      EM
SSB      0
LB       0.90 Hz
GB       0
PC       1.00
```

**Figura A4.** Espectro de RMN de <sup>15</sup>N da mistura das fluoroximas derivadas da *cis*- e *trans*-2-F-4-*t*-butilcicloexanona.



**Figura A5.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da fluoroxima derivada da *trans*-2-F-4-*t*-butilciclohexanona

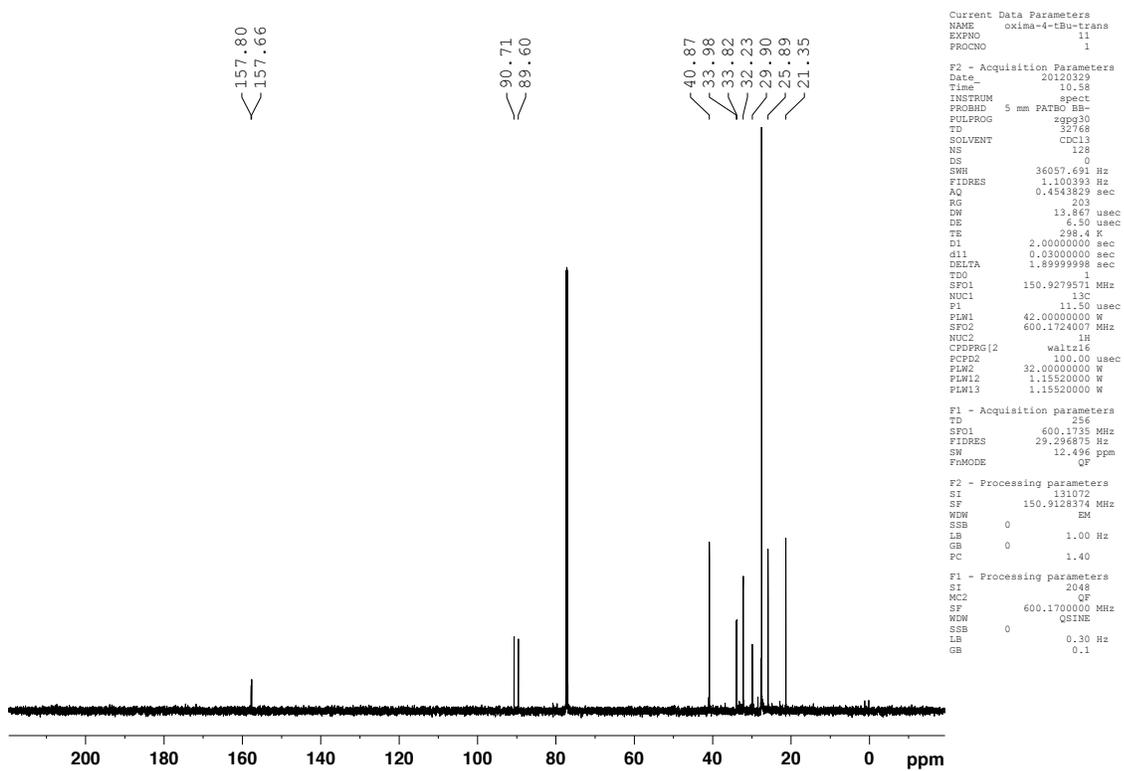


Figura A6. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  da fluoroxima derivada da *trans*-2-F-4-*t*-butilcicloexanona

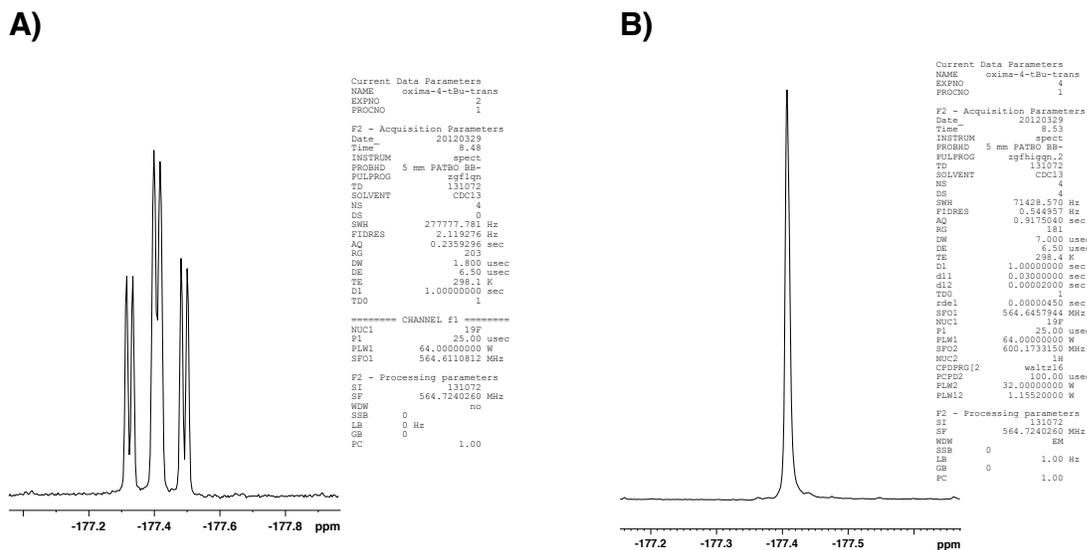
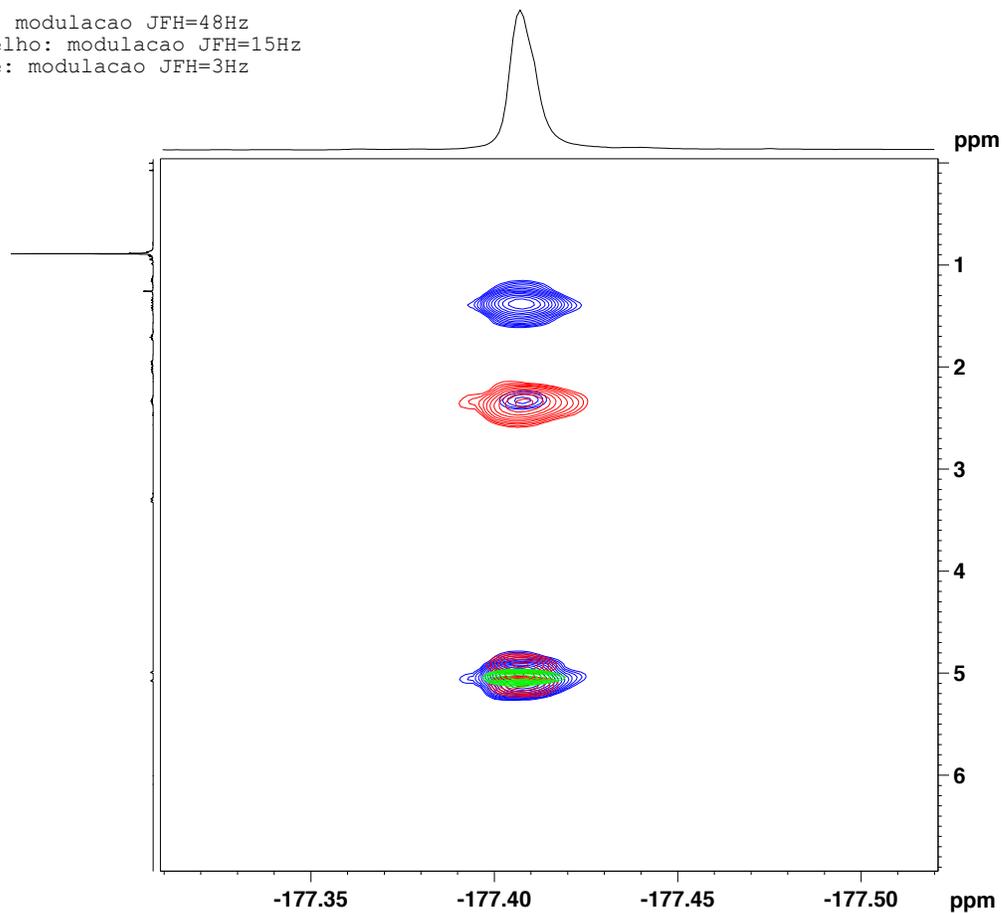
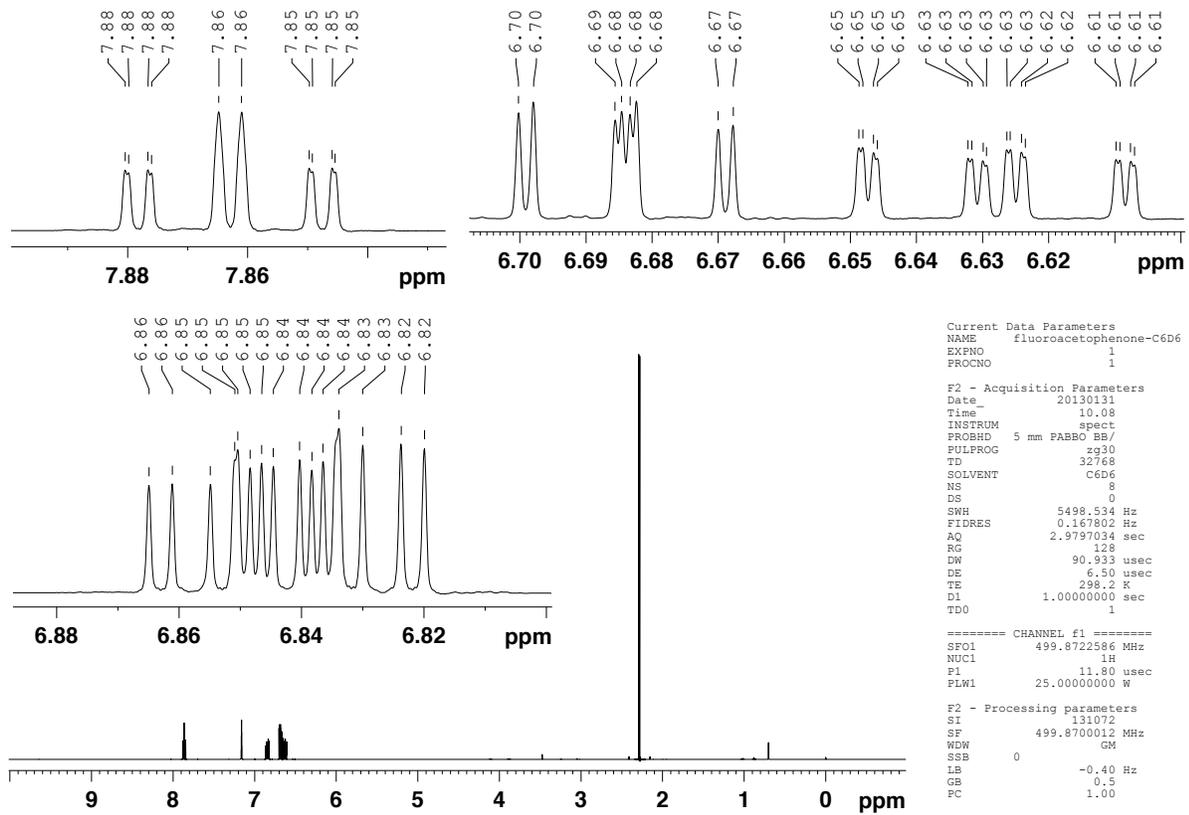


Figura A7. Espectro de RMN de  $^{19}\text{F}$  para a oxima derivada da *trans*-4-*t*-butilcicloexanona: A) acoplado e B) desacoplado de  $^1\text{H}$ .

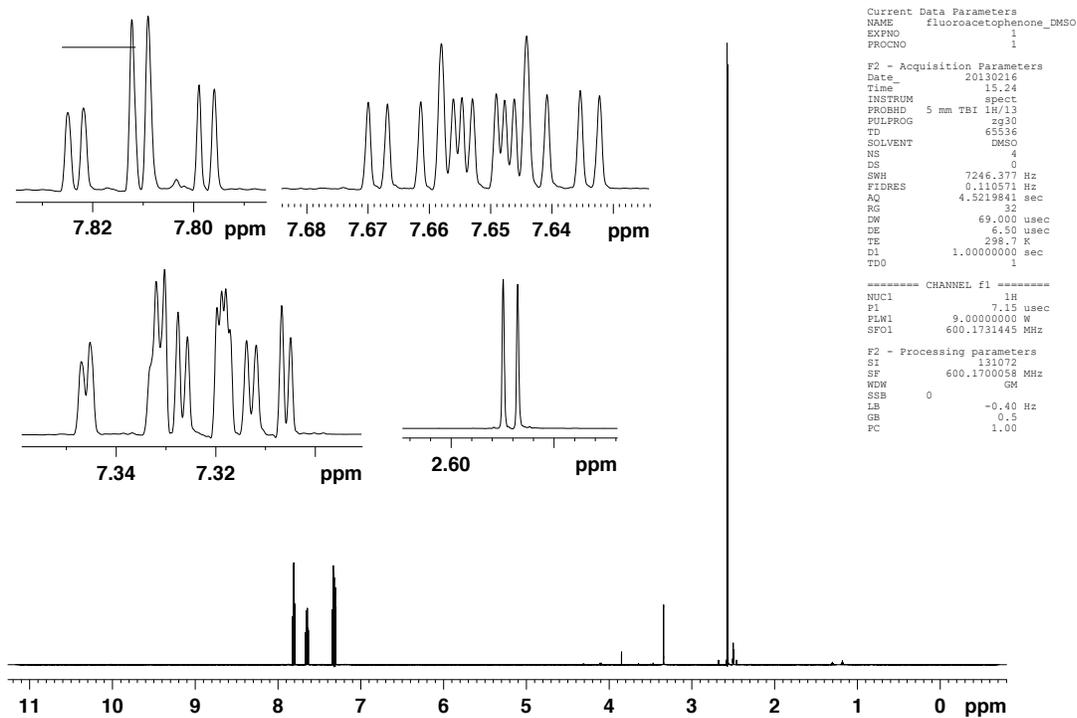
azul: modulacao JFH=48Hz  
vermelho: modulacao JFH=15Hz  
Verde: modulacao JFH=3Hz



**Figura A8.** Mapa de contorno  $^{19}\text{F}$ - $^1\text{H}$ - HETCOR com diferentes modulações ( $J_{FH}$ ) para oxima derivada da *trans*-2-F-4-*t*-buticicloexanona



**Figura A9.** Espectro de RMN 1D de  $^1\text{H}$  de 2-F-acetofenona em benzeno- $\text{d}_6$ .



**Figura A10.** Espectro de RMN 1D de  $^1\text{H}$  de 2-F-acetofenona em  $\text{DMSO-d}_6$ .

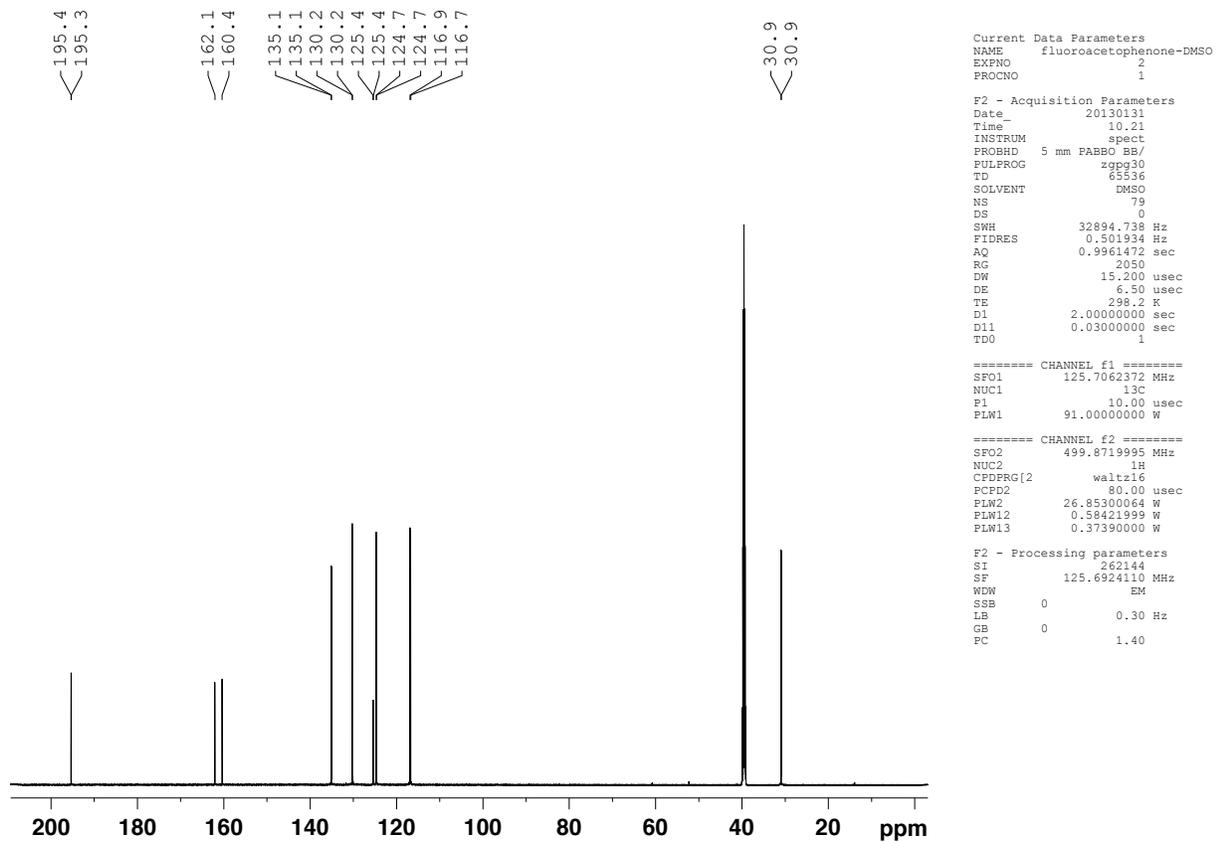


Figura A11. Espectro de RMN 1D de  $^{13}\text{C}$  de 2-F-acetofenona em  $\text{DMSO-d}_6$ .

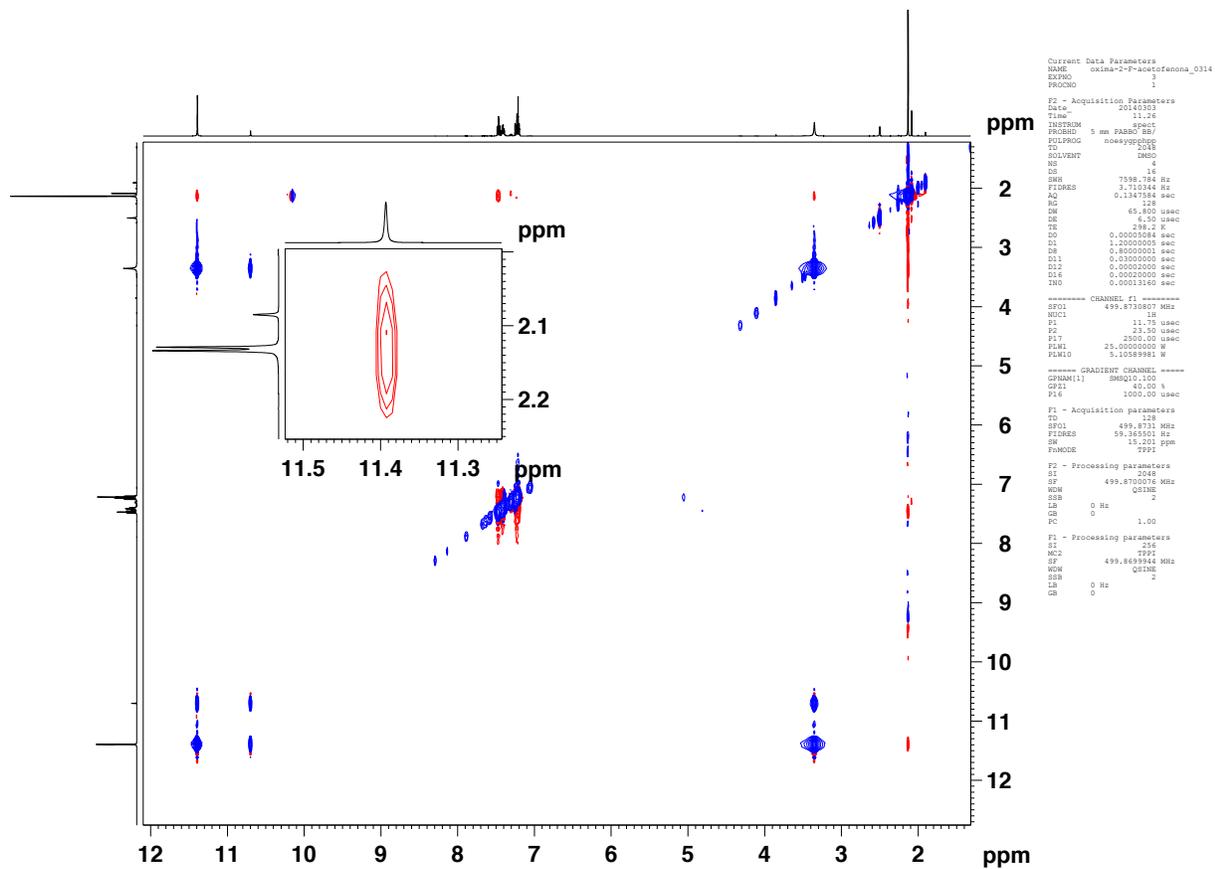


Figura A12. Espectro de RMN 2D-NOESY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  de 2-F-acetofenona em  $\text{DMSO-d}_6$ .

**Tabela A17.** Constante de acoplamento  ${}^nJ_{NF}$  (Hz) experimental e teórica (B3LYP/6-311++G(d,p)) e distância ( $d_{NF}$ ) em ângstrom (Å) experimental e calculada (B3LYP/aug-cc-pVTZ) para as flúor oximas 3-9.

Compostos	FC	SD	PSO	DSO	Total	Exp,l	$d_{NF}$	$d_{NF}(X\text{-ray})$
<b>3</b>	-21,55	-0,97	-1,37	-0,17	-24,06	22,4	2,678	2,595
<b>4a</b>	-18,14	-2,33	-1,38	-0,14	-21,99	3,2 <sup>a</sup>	2,755	- <sup>c</sup>
<b>4b</b>	0,54	-1,64	0,69	0,079	-0,331	3,2 <sup>a</sup>	4,057	- <sup>c</sup>
<b>5</b>	-8,56	-1,84	-0,62	-0,13	-11,15	8,8	2,946	2,897
<b>6</b>	-42,66	0,35	0,36	-0,2	-42,15	39,5	2,645	2,627
<b>7</b>	-21,22	0,14	1,04	-0,19	-20,23	19,4	2,672	2,642
<b>8E</b>	-13,19	-0,001	1,07	-0,1	-12,22	10,7	2,644	- <sup>c</sup>
<b>9Z</b>	-1,28	1,59	1,59	0,076	1,98	0	3,656	- <sup>c</sup>
<b>9E</b>	-4,81	0,1	-1,14	0,04	-5,81	- <sup>b</sup>	3,232	- <sup>c</sup>

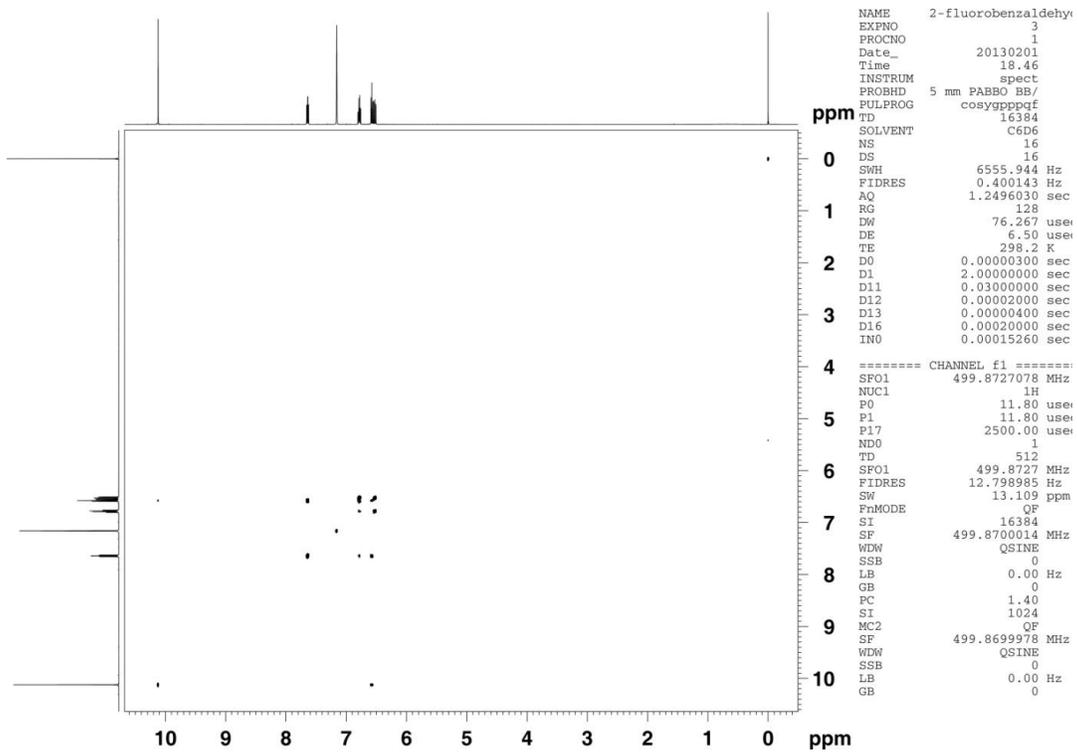
<sup>a</sup> O valor do  $J_{FN}$  experimental é uma média das conformações 4a e 4b; <sup>b</sup> não determinados experimentalmente; <sup>c</sup> Análise de raio-X não realizada.

**Tabela 18.** Constante de acoplamento  ${}^nJ_{NF}$  (Hz) experimental e teórica (SOPPA(CCSD)/6-311++G(d,p)) para as flúor oximas 1-7.

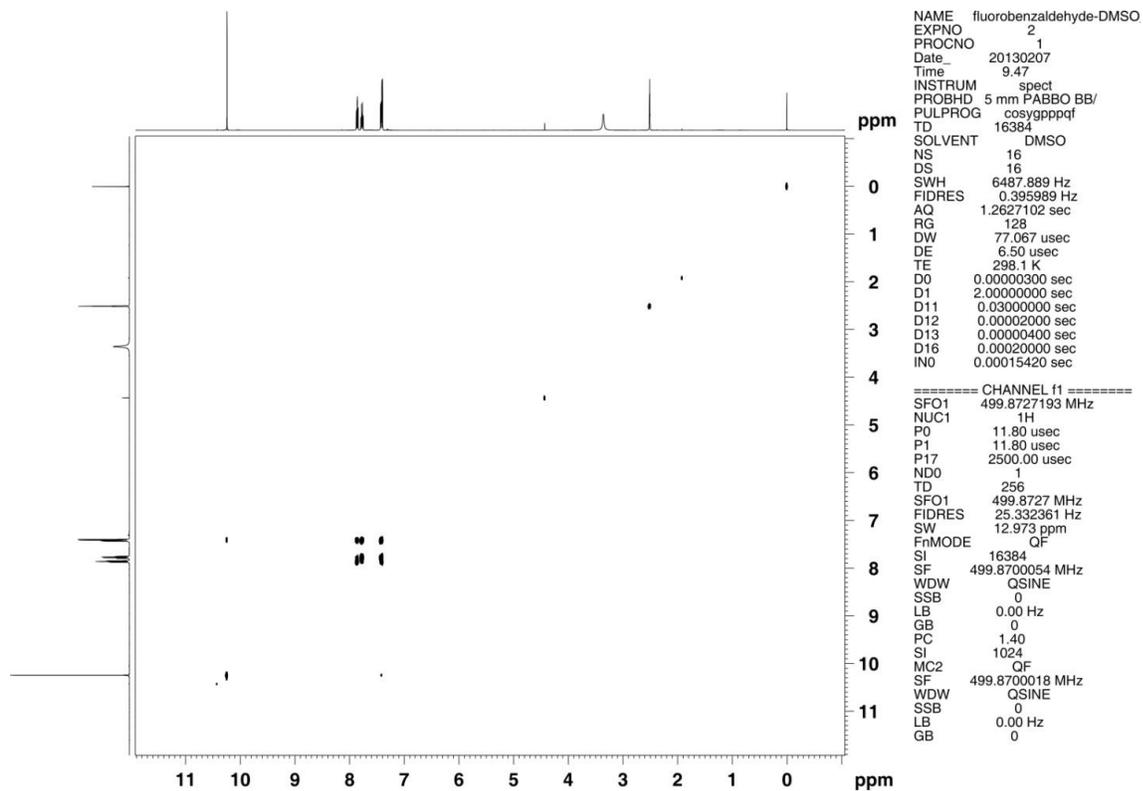
<b>Compostos</b>	<b>FC</b>	<b>SD</b>	<b>PSO</b>	<b>DSO</b>	<b>Total</b>	<b> Exp,l</b>
<b>3</b>	-14,39	-1,05	-1,33	-0,16	-16,93	22,4
<b>4a</b>	-12,6	-2,2	-1,46	-0,14	-16,40	3,2
<b>4b</b>	0,17	-1,58	0,49	0,079	-0,84	3,2
<b>5</b>	-5,02	-1,87	-0,64	-0,13	-7,66	8,8
<b>6</b>	-29,2	0,40	0,22	-0,20	-28,78	39,5
<b>7</b>	-14,90	0,079	0,81	-0,19	-14,20	19,4
<b>8E</b>	-6,99	-0,0067	0,78	-0,1	-6,32	10,7
<b>9Z</b>	-2,16	1,10	1,98	0,076	1,00	0
<b>9E</b>	-5,59	-0,083	-0,52	0,039	-6,15	-

## **ANEXOS B (Capítulo 3)**





**Figura B1.** Mapa de contorno COSY para o 2-flúorbenzaldeído em benzeno- $d_6$ .



**Figura B2.** Mapa de contorno COSY para o 2-flúorbenzaldeído em DMSO- $d_6$ .

**Tabela B19.** Expansão dos CMOs em termos de NBOs, utilizando o programa NBO 5.0, que contribuem para a transmissão da constante de acoplamento  $J_{FH}$  em 2-F-benzaldeído.

CMO 20	CMO 24
Energia do orbital = -0.494618 a.u.	Energia do orbital = -0.440228 a.u.
-0.412*[1]: BD ( 1) C 1- C 2	-0.665*[31]: LP ( 1) O 9(lp)
-0.371*[13]: BD ( 1) C 5- C 6	-0.382*[16]: BD ( 1) C 8- O 9
0.351*[29]: LP ( 2) F 7(lp)	0.351*[29]: LP ( 2) F 7(lp)
0.306*[10]: BD ( 1) C 4- C 5	-0.340*[4]: BD ( 1) C 1- H13
0.291*[15]: BD ( 1) C 6- H12	-0.240*[18]: BD ( 1) C 8- H14
0.266*[31]: LP ( 1) O 9(lp)	
-0.260*[4]: BD ( 1) C 1- H13	
0.252*[5]: BD ( 1) C 2- C 3	
-0.248*[18]: BD ( 1) C 8- H14	



## **ANEXOS C (Capítulo 4)**



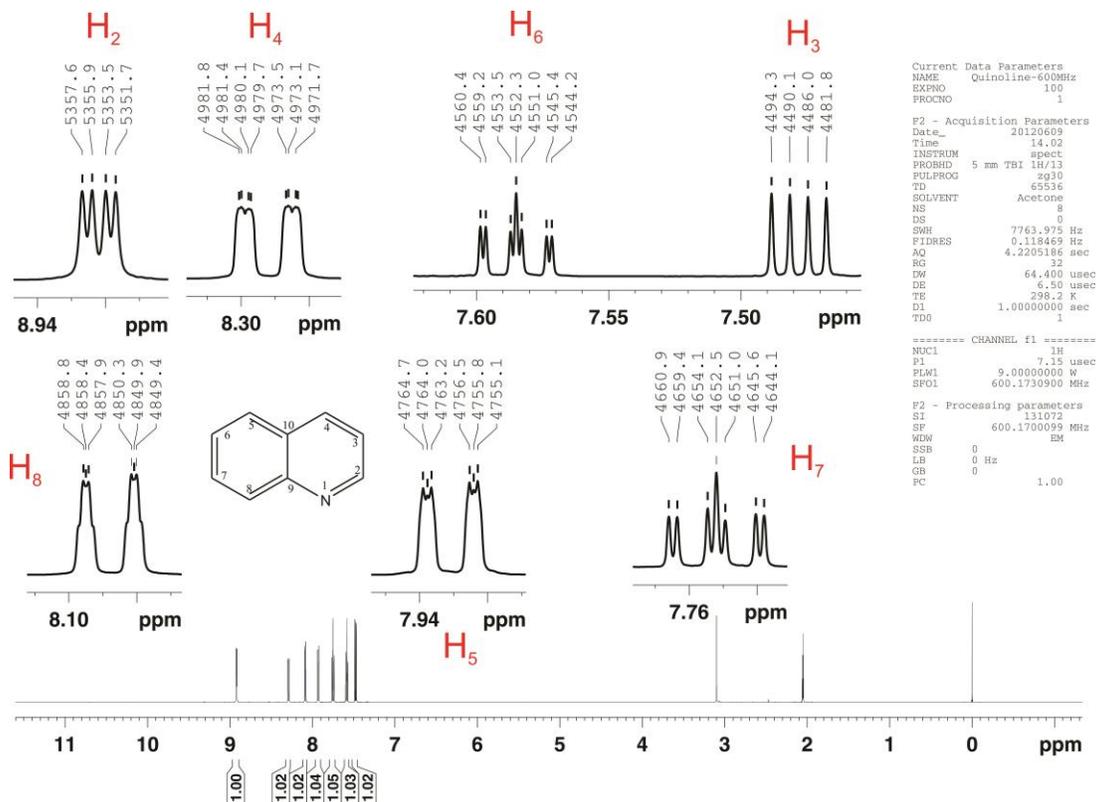


Figura C1. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de Quinolina em acetona-d<sub>6</sub>.

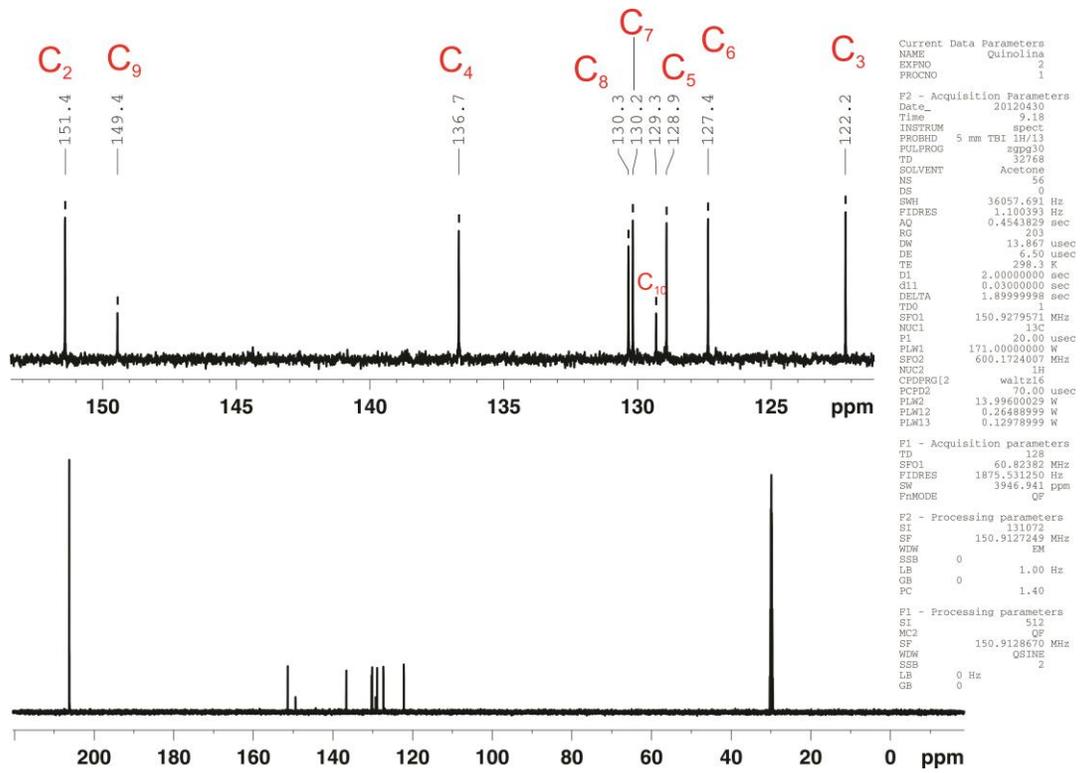
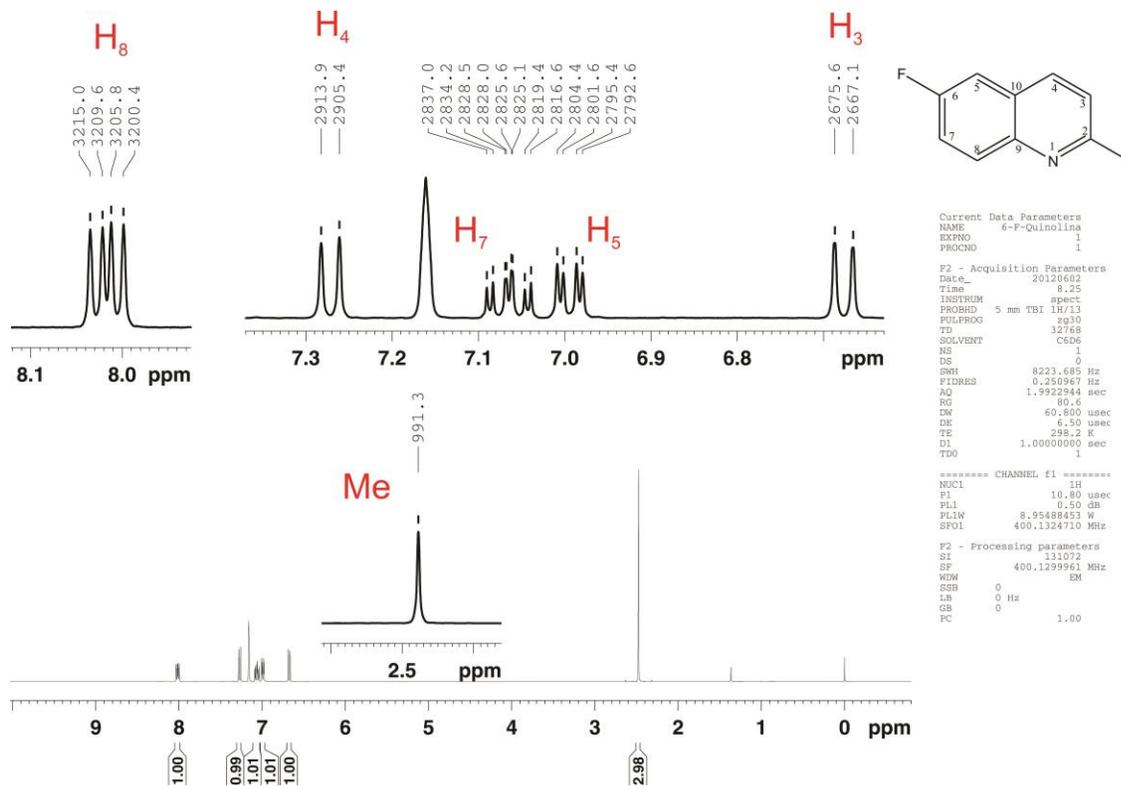


Figura C2. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de Quinolina em acetona- $d_6$ .



**Figura C3.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 6-F-2-Me-quinolina em benzeno- $d_6$ .

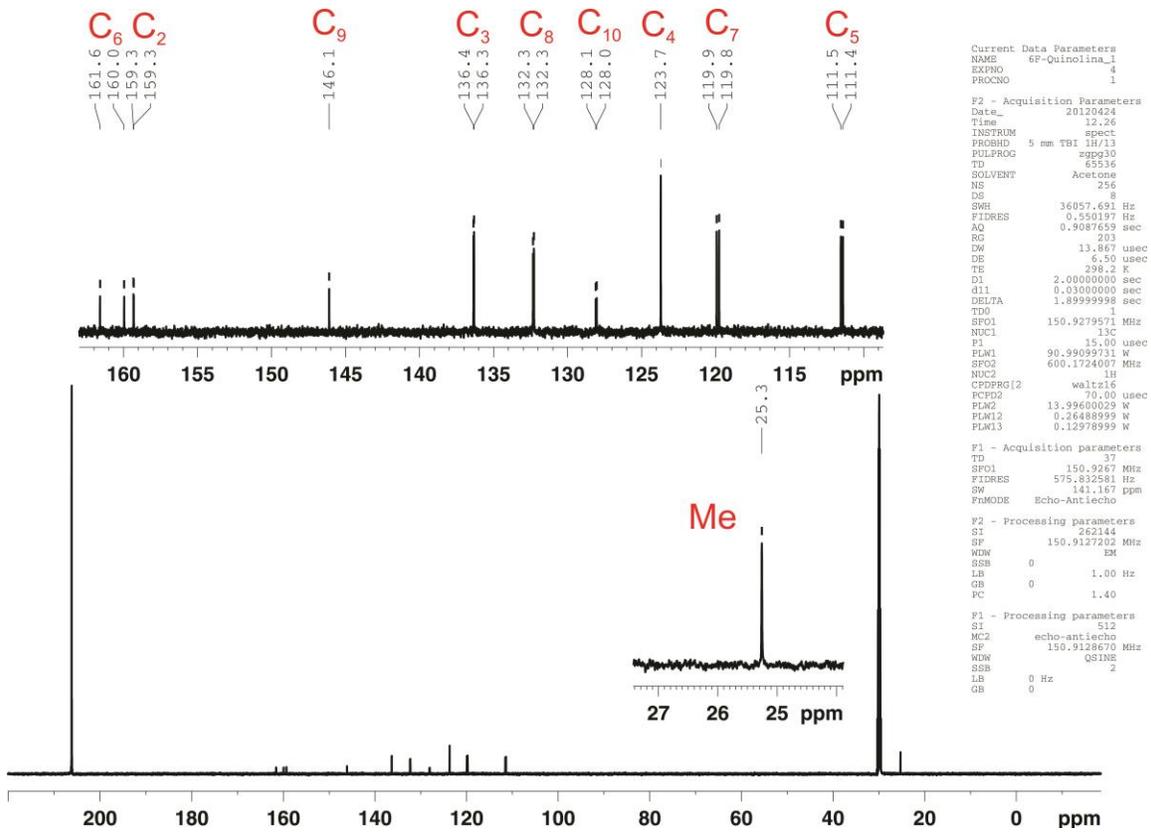


Figura C4. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 6-F-2-Me-quinolina em acetona- $d_6$ .

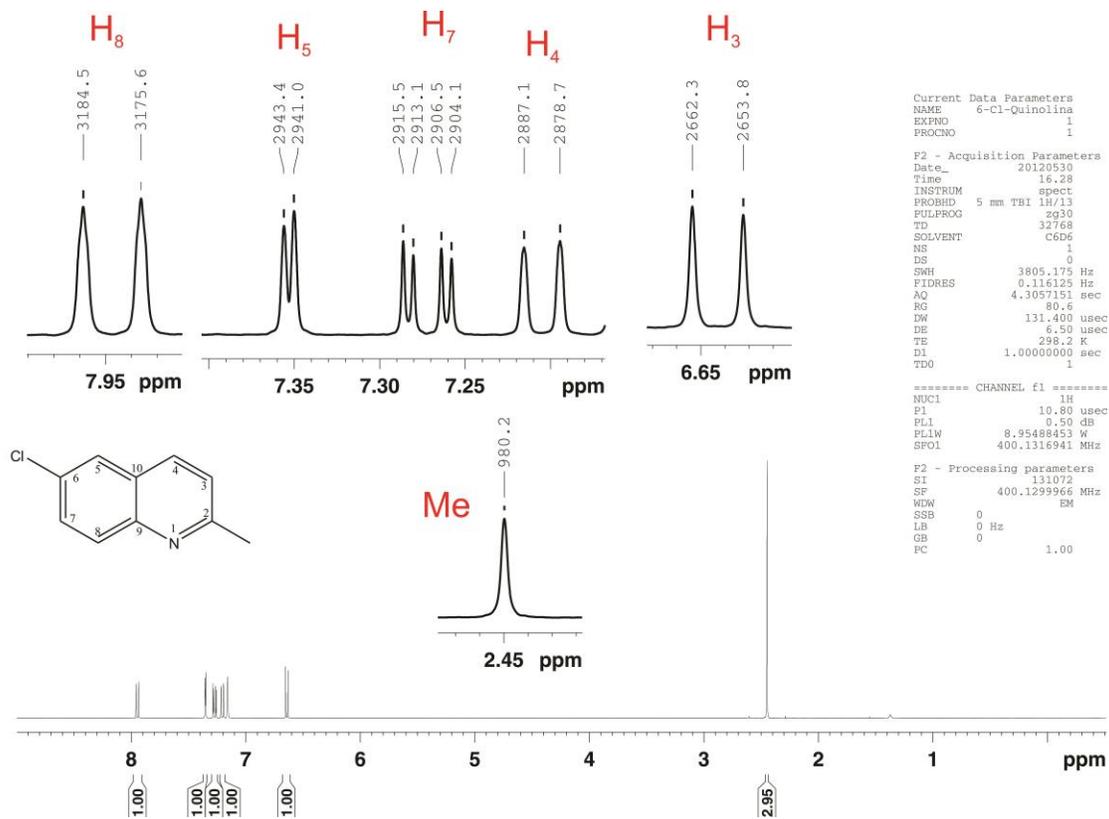


Figura C5. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 6-Cl-2-Me-quinolina em benzeno-d<sub>6</sub>.

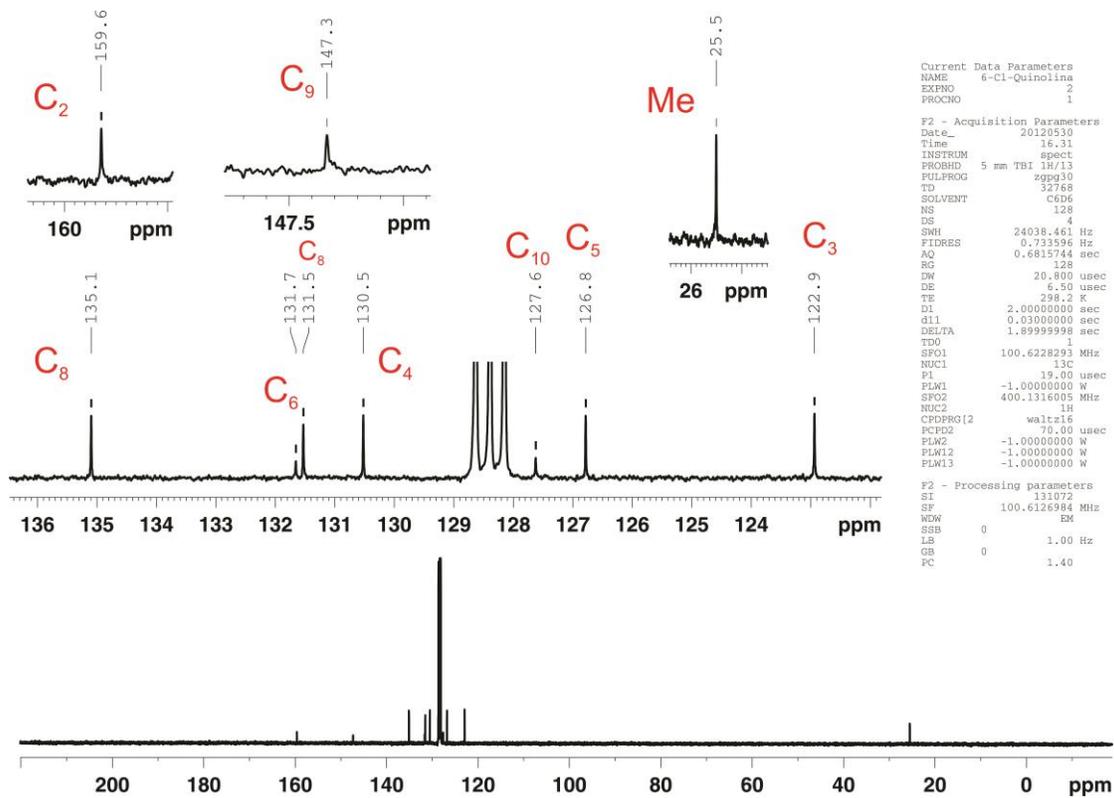


Figura C6. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 6-Cl-2-Me-quinolina em benzeno- $d_6$ .

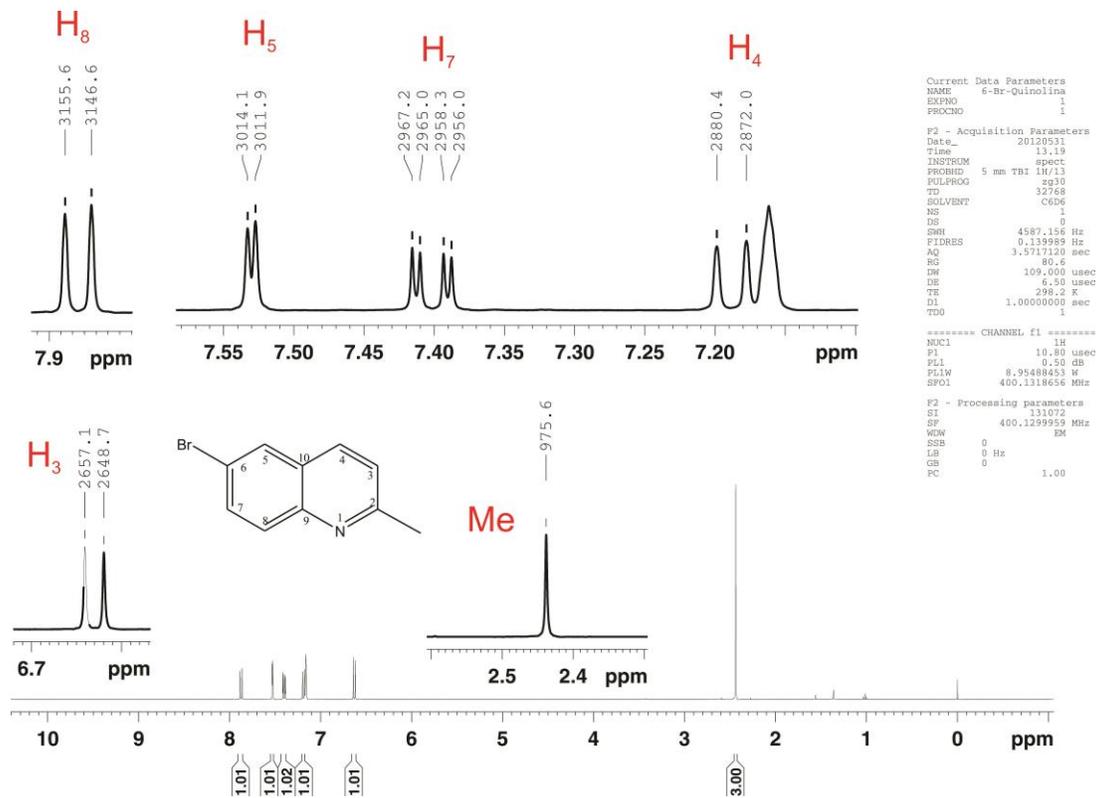


Figura C7. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 6-Br-2-Me-quinolina em benzeno- $d_6$ .

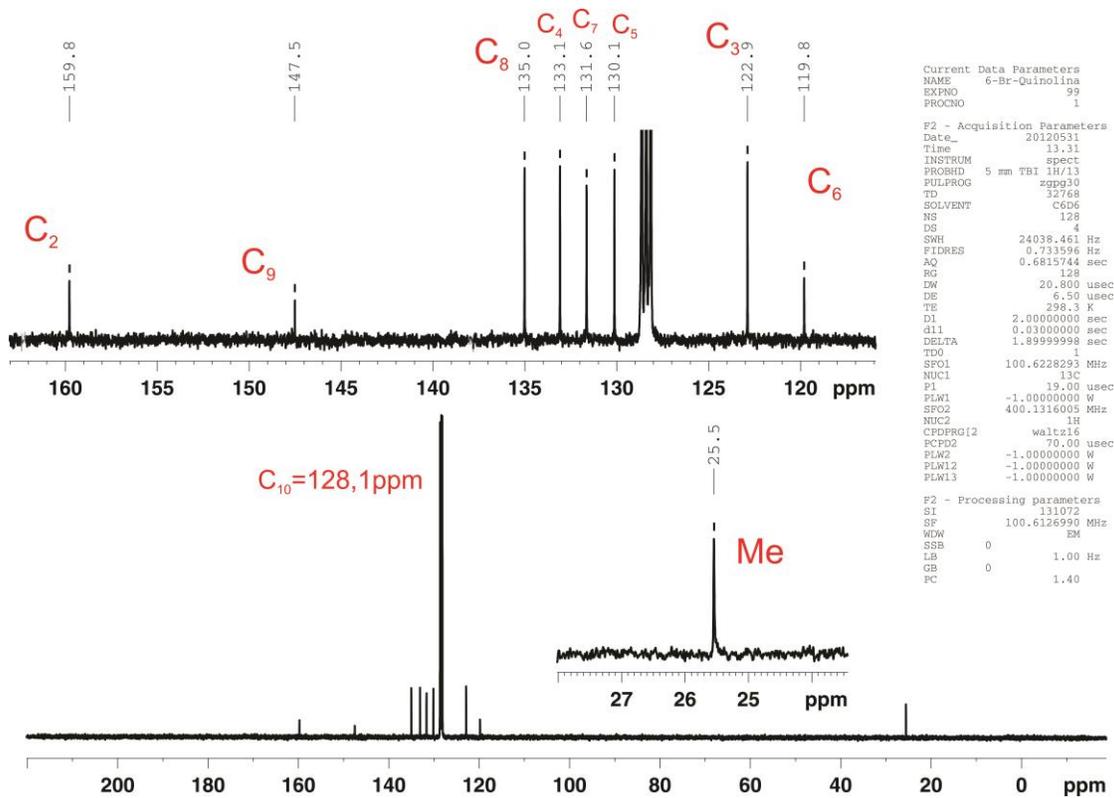


Figura C8. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 6-Br-2-Me-quinolina em benzeno- $d_6$ .

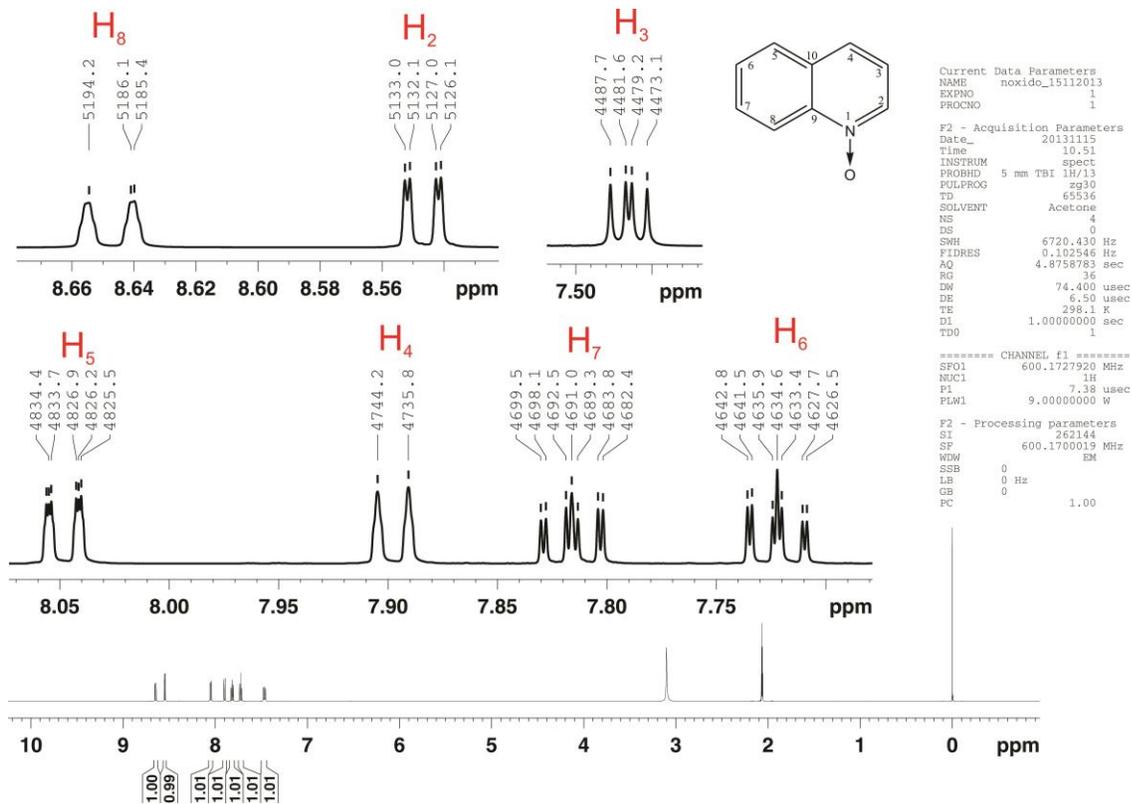
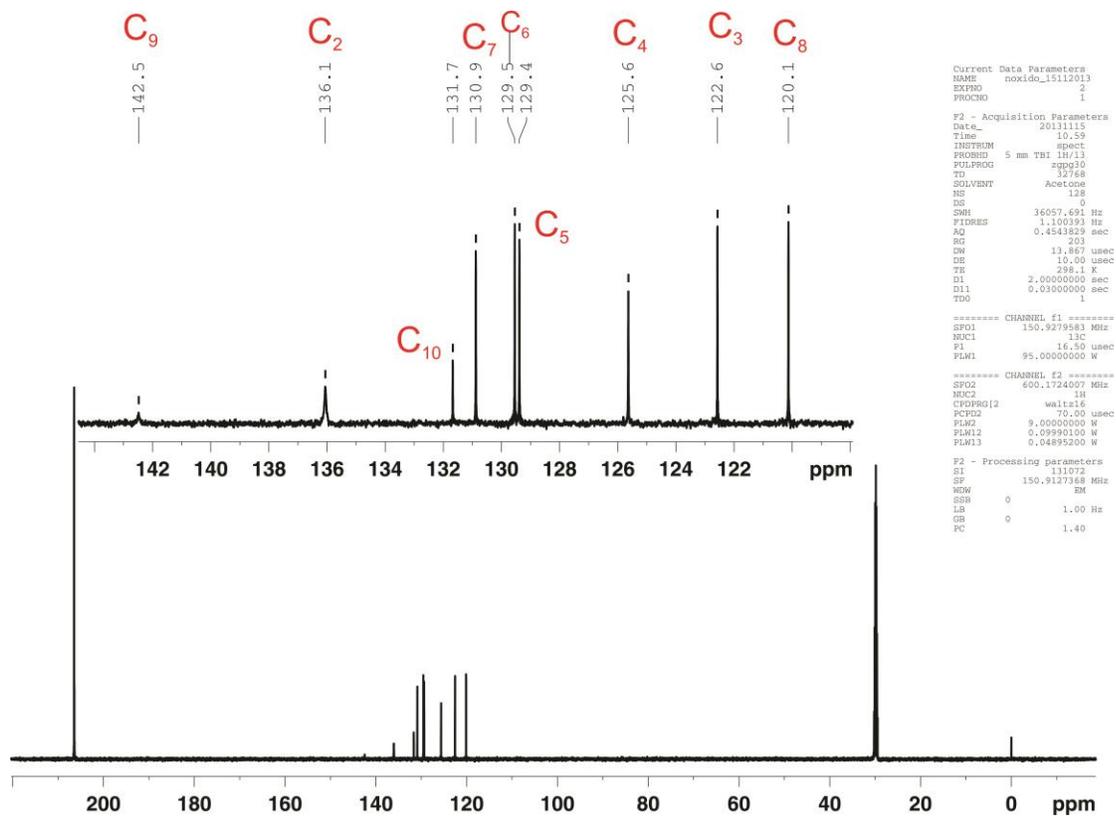


Figura C9. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de *N*-óxido-quinolina em acetona- $d_6$ .



**Figura C10.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de *N*-óxido-quinolina em acetona- $d_6$ .  
2-Br-6-metóxinaftaleno (numeração igual ao das quinolinas para facilitar comparação)

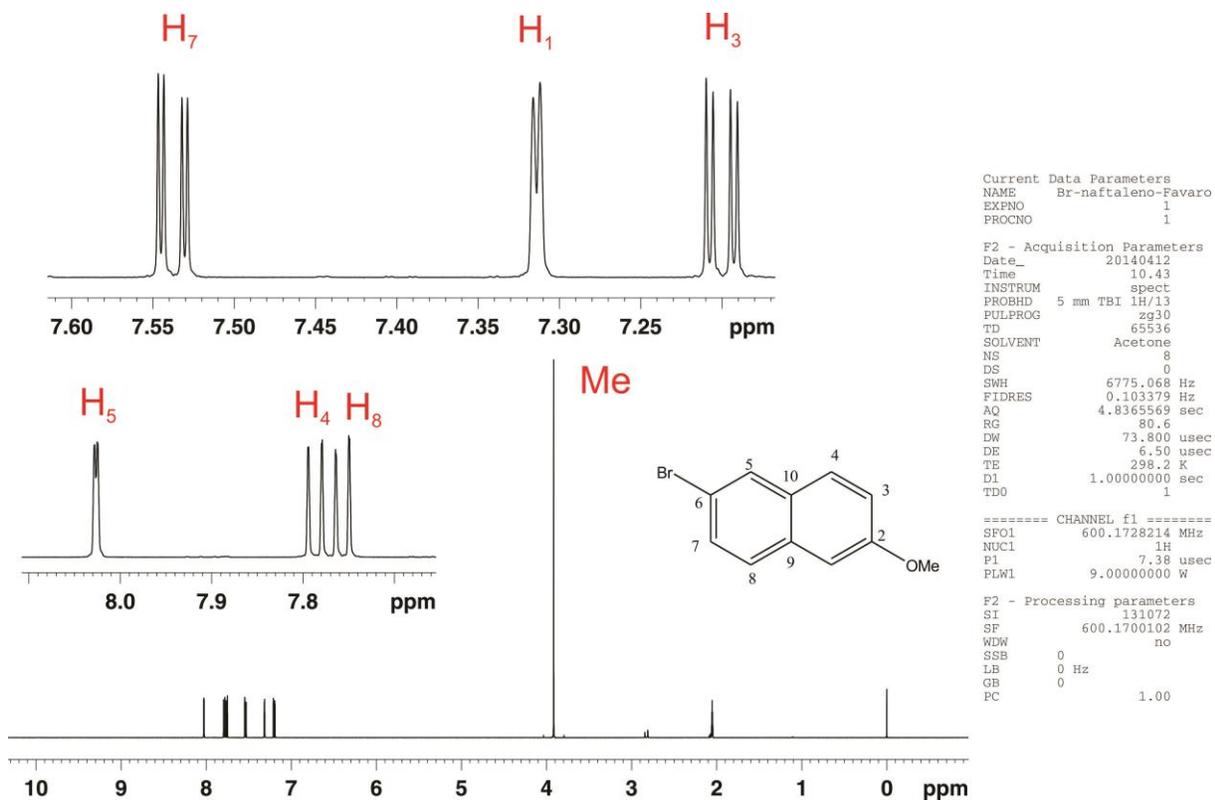


Figura C11. Espectro 1D de  $^1\text{H}$  de 6-Br-2-metóxi-naftaleno em Acetona- $d_6$  (600MHz).

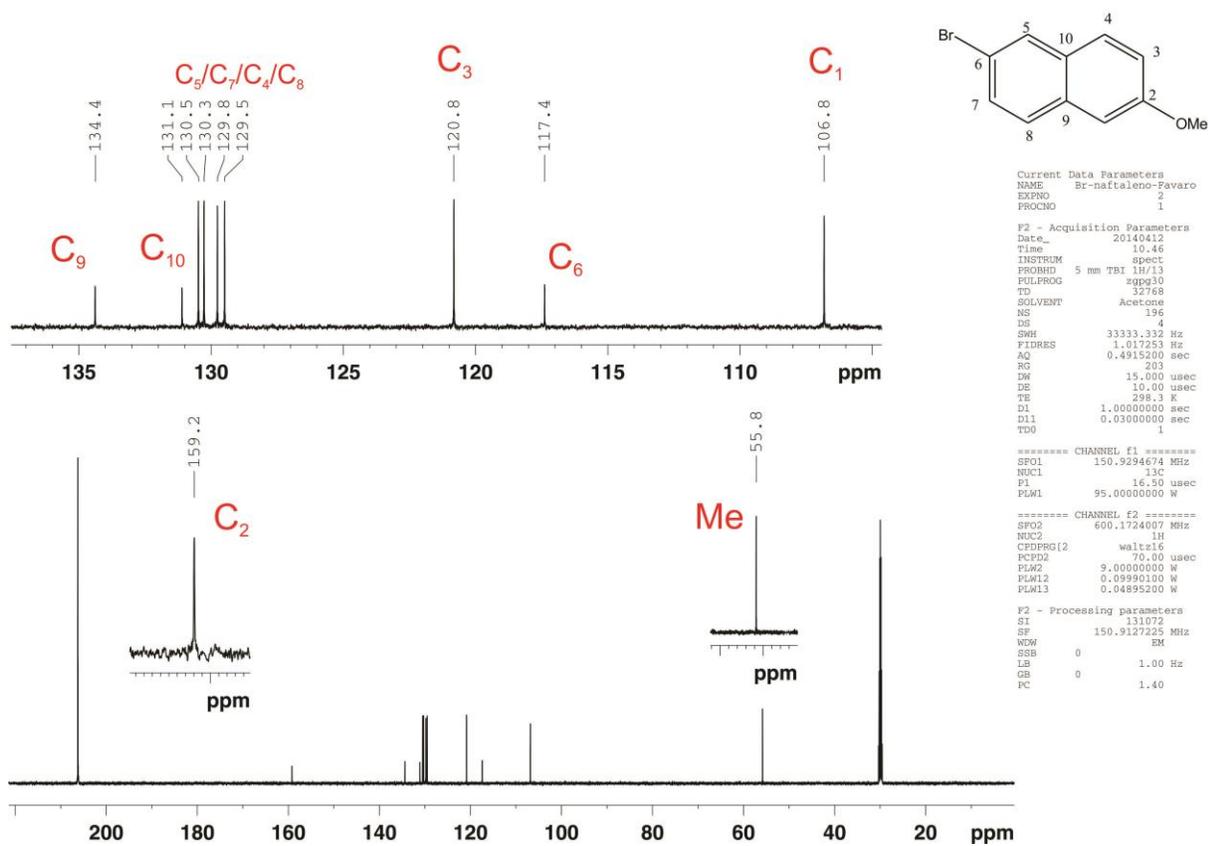
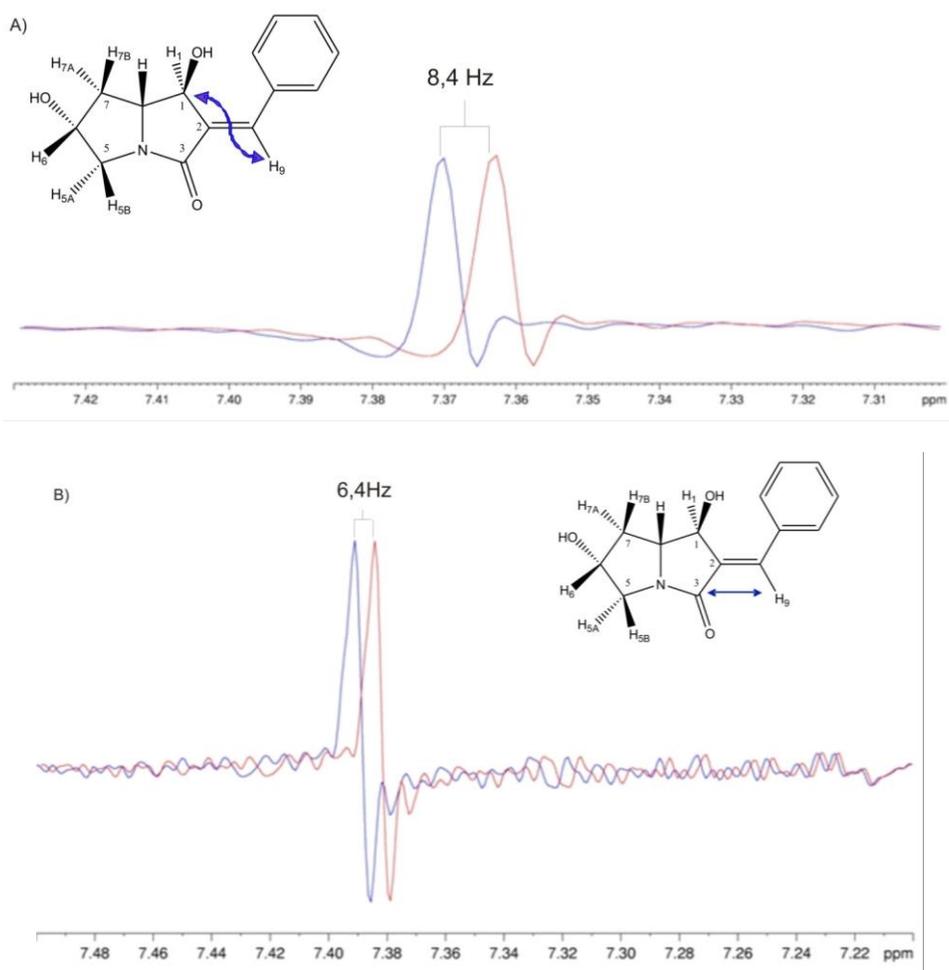
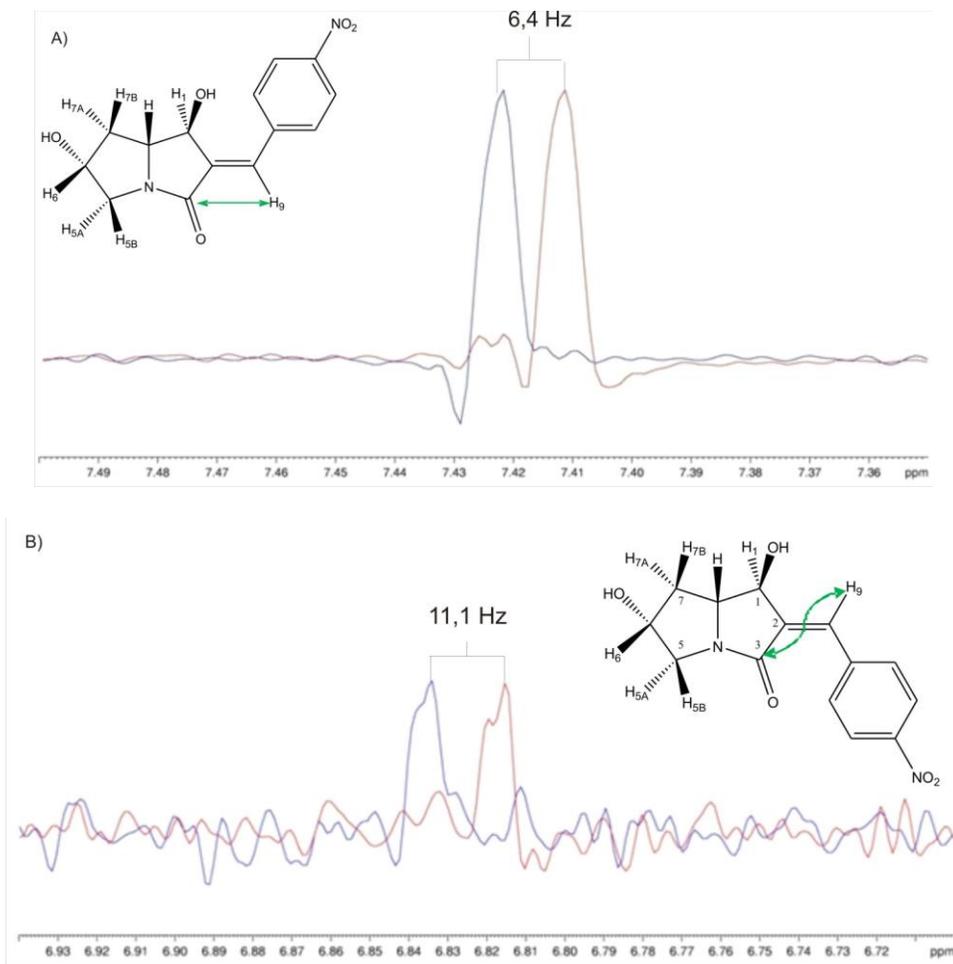


Figura C12. Espectro 1D de  $^{13}\text{C}$  de 6-Br-2-metóxi-naftaleno em Acetona- $d_6$  (600MHz).

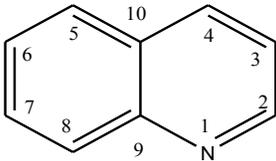
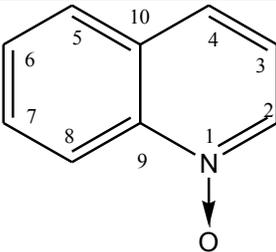


**Figura C13.** Projeções em uma dimensão (1D) do mapa de contorno [IP+AP (azul) e IP-AP (vermelho)], do experimento HSQC-TOCSY-IPAP referentes ao carbono 3 para a região do hidrogênio 9 da pirrolizidina 24-(*E*) com os carbonos (A) C<sub>1</sub> (B) C<sub>3</sub>.



**Figura C14.** Projeções em uma dimensão (1D) do mapa de contorno [IP+AP (azul) e IP-AP (vermelho)], do experimento sel-HSQMBC-TOCSY referentes ao C<sub>3</sub> para a região do H<sub>9</sub> das nitro-pirrolizidinonas(A) 25-(E) e (B)25-(Z).

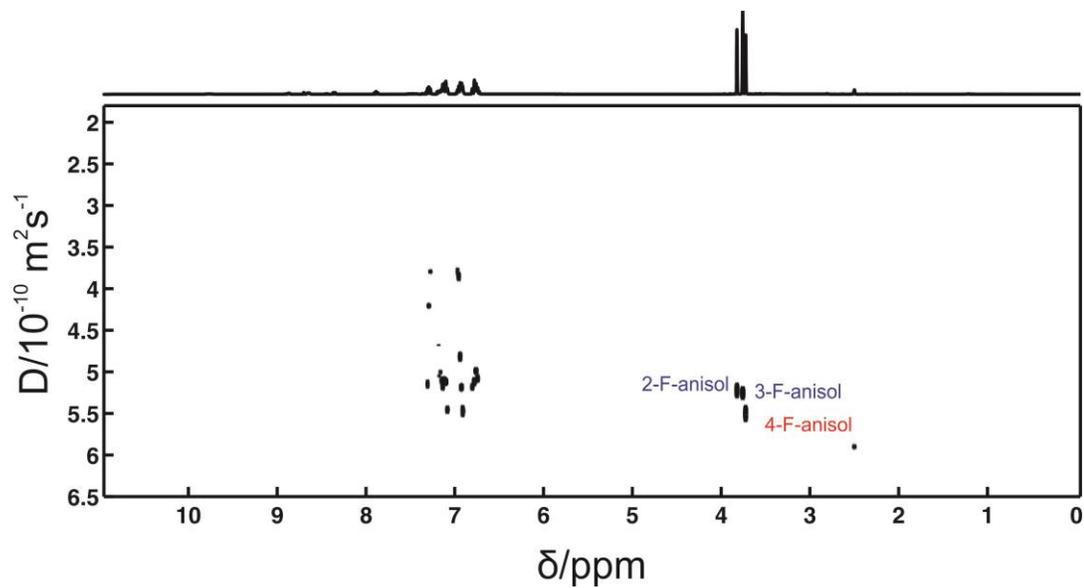
**Tabela C1.** Interações hiperconjugativas (kcal/mol) envolvendo o caminho do acoplamento  ${}^3J_{CH}$  para quinolina e *N*-óxido-quinolina.

				
$\sigma_{C4H4} \rightarrow \sigma^*_{C2C3}$	$\sigma_{C8H8} \rightarrow \sigma^*_{C6C7}$	$\sigma_{C5H5} \rightarrow \sigma^*_{C9C10}$	$\sigma_{C7H7} \rightarrow \sigma^*_{C8C9}$	$\sigma_{C3H3} \rightarrow \sigma^*_{C4C10}$
4,0	4,3	4,4	3,8	3,9
$\sigma_{C2C3} \rightarrow \sigma^*_{C4H4}$	$\sigma_{C6C7} \rightarrow \sigma^*_{C8H8}$	$\sigma_{C9C10} \rightarrow \sigma^*_{C5H5}$	$\sigma_{C8C9} \rightarrow \sigma^*_{C7H7}$	$\sigma_{C4C10} \rightarrow \sigma^*_{C3H3}$
2,3	2,7	1,9	2,4	2,7
Total= $E_d+E_r$				
6,3	7,0	6,3	6,2	6,6
				
$\sigma_{C4H4} \rightarrow \sigma^*_{C2C3}$	$\sigma_{C8H8} \rightarrow \sigma^*_{C6C7}$	$\sigma_{C5H5} \rightarrow \sigma^*_{C9C10}$	$\sigma_{C7H7} \rightarrow \sigma^*_{C8C9}$	$\sigma_{C3H3} \rightarrow \sigma^*_{C4C10}$
3,6	4,1	3,8	3,7	3,7
$\sigma_{C2C3} \rightarrow \sigma^*_{C4H4}$	$\sigma_{C6C7} \rightarrow \sigma^*_{C8H8}$	$\sigma_{C9C10} \rightarrow \sigma^*_{C5H5}$	$\sigma_{C8C9} \rightarrow \sigma^*_{C7H7}$	$\sigma_{C4C10} \rightarrow \sigma^*_{C3H3}$
2,0	2,5	1,9	2,3	2,7
Total= $E_d+E_r$				
5,6	6,6	5,7	6,0	6,4

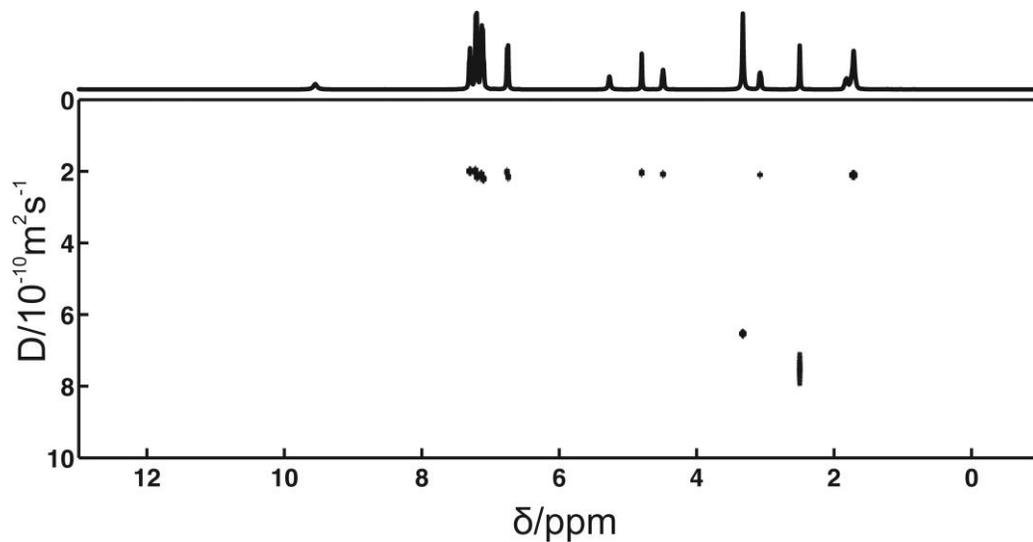


## **ANEXOS D (Capítulo 5)**

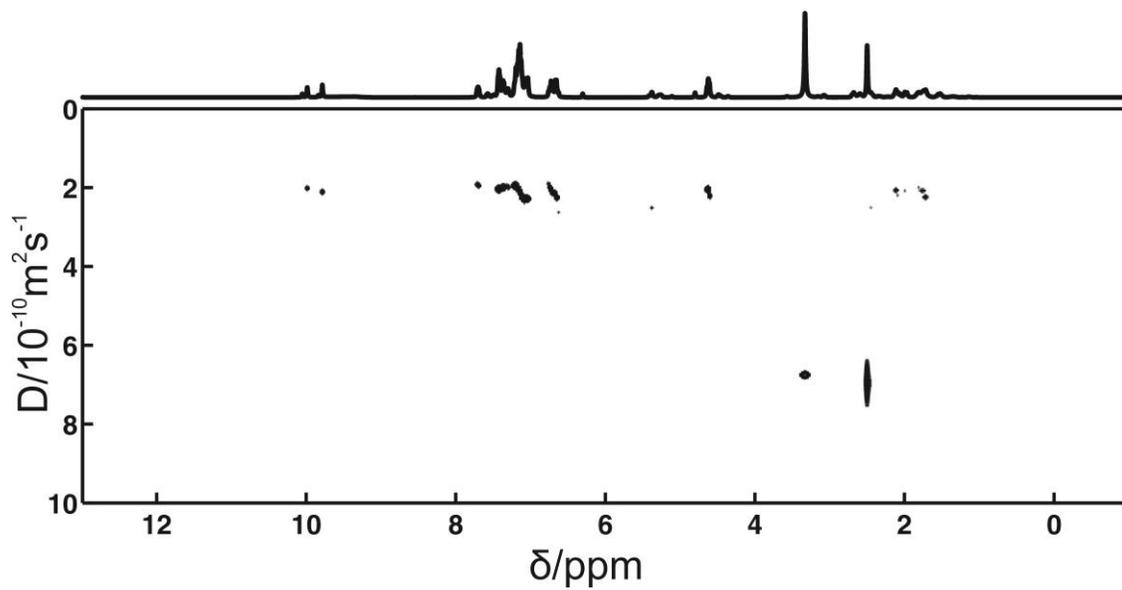




**Figure D1.** Espectro DOSY utilizando a sequência *Oneshot*- $^1\text{H}$  para a mistura 2 a 25°C em  $\text{DMSO-}d_6$ .



**Figure D2.** Espectro DOSY a 25°C utilizando a sequência *Oneshot*- $^1\text{H}$  para a amostra de ezetimibe recém preparada em  $\text{DMSO-}d_6$ .



**Figure D3.** Espectro DOSY em DMSO- $d_6$  a 25°C utilizando a sequência *Oneshot*- $^1\text{H}$  para a amostra de ezetimibe submetida a 70°C e resfriada à temperatura ambiente.