

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós-Graduação em Química
Mestrado em Química

Márcia Cristina de Souza

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE COMPLEXOS
ENVOLVENDO OS FÁRMACOS MALEATO DE ENALAPRIL,
HIDROCLOROTIAZIDA E CLORTALIDONA**

Juiz de Fora
2011

Márcia Cristina de Souza

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE COMPLEXOS
ENVOLVENDO OS FÁRMACOS MALEATO DE ENALAPRIL,
HIDROCLOROTIAZIDA E CLORTALIDONA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração Físico-Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Diniz

Juiz de Fora

2011

*Este trabalho é dedicado ao amor da minha vida,
ao grande Mestre que Deus colocou ao meu lado:
meu paizinho lindo. É para você gordinho. A
conquista É NOSSA.*

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar o dom da vida e a sabedoria para conquistar mais esta etapa. A Ti Senhor toda honra e toda glória!

Ao *meu grande mestre e incentivador João Bebiano de Souza*, muito obrigada paizinho. Obrigada por todo amor, toda confiança em minha capacidade científica, por fazer a minha vida muito mais feliz com seus conselhos, sua imensa sabedoria e alegria e por fazer deste sonho o seu sonho também. Obrigada por todo sacrifício realizado para que eu pudesse estudar, jamais me esquecerei. Tenho certeza que de onde você estiver estará muito feliz com esta etapa vencida. Nada teria sentido se não fosse pela certeza que de alguma forma você está presente e feliz com esta vitória. Minha eterna gratidão.

À *minha mãezinha Cida* por todo amor e incentivo e por, muitas vezes, se sacrificar para que eu pudesse conquistar esta etapa. Obrigada por ser este grande exemplo de mãe.

Ao *meu noivo Leonardo*, o meu grande amor. Obrigada pelo amor correspondido, pela compreensão por tanto estudo sempre e mais ainda por me fazer ver que a vida vale a pena. Te amo!

Ao *meu irmão Marcos* pelo carinho e torcida.

À *minha primona, minha irmãzinha Pollyana*. Muito obrigada pela confiança e por acreditar sempre que eu iria conseguir.

À *minha sogra Rosa e à meu sogro Seu Édson* meu agradecimento pela torcida e por entender sempre minha ausência.

A *toda minha família*, em especial minha segunda mãe Ritinha que me acolheu com tanto amor, minha madrinha Ana por toda oração e minha madrinha Tereza. Obrigada aos meus tios e primos, Maria, Deley, Guta, Pedro, Michel, Zé Carlim, Larissa, Sávio, Cristiane.

Aos *meus avós João e Jovita* por todo incentivo e exemplo de amor.

Aos meus amigos do grupo de cristalografia da UFJF, Clarinha, Weberton, Luciano, Chris, Felipe, Gabi, Gisele, Stephane, Leonardo, Antônio.

Ao *meu amigo de todas as horas Weberton* por toda compreensão e incentivo.

Ao *Chris* pela ajuda com as sínteses e por fazer do laboratório um ambiente mais legal.

Aos *amigos do NEEM*, simplesmente adoro vocês. Nelson, Vanessinha, Carol, Maria, Mariana, Renatinha, Charlane, Cadu. É bom demais estar com vocês.

A turma mais animada de química da UFJF: 2º semestre 2005. Vocês são muito especiais pra mim. A todos amigos: Renatinha, Lígia, Patty, Marcelo, Gislaine, Marcos, Juliana, Marluce, Knop, Dilierge, Guilherme, Silvioney.

As amigas que sempre me apoiaram Luciana e Vanessa.

Ao *professor Dr. Alexandre Leitão* pelo incentivo enorme e também por contribuir de forma determinante em minha formação profissional.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Química da UFJF, que tanto contribuíram para minha formação.

À Universidade Federal de Juiz de Fora por possibilitar a realização deste trabalho.

A todos os órgãos de fomento: CNPq, FAPEMIG, CAPES.

Ao *professor Carlos Basílio Pinheiro* do LabCri (Laboratório de Cristalografia da Universidade Federal de Minas Gerais) por toda disponibilidade em ensinar difração de raios X e realizar as medidas e também pela grande acolhida em Belo Horizonte.

À professora Maria Irene Yoshida (Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais) pelas análises termogravimétricas.

À *minha orientadora Renata Diniz* pelo grande incentivo desde a época da iniciação científica, pela enorme paciência e compreensão em todos os momentos e principalmente pela amizade compartilhada. Obrigada pelo exemplo de profissionalismo e por despertar em mim este grande interesse pela pesquisa em química, mais especificamente em difração de raios X.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho meu muito obrigado.

Tudo posso Naquele que me fortalece.

Filipenses, 4:13.

RESUMO

A busca pelo entendimento do mecanismo de ação de medicamentos tem sido realizada constantemente no intuito de elucidar a estrutura molecular bem como os grupos funcionais de interesse, importantes para que haja uma atividade farmacológica adequada. Tendo em vista que o mecanismo de ação do fármaco anti-hipertensivo maleato de enalapril esteja vinculado à formação de um complexo *in vivo* com o íon Zn^{2+} presente no sítio ativo da enzima carboxipeptidase (ECA), este trabalho consistiu na síntese e caracterização estrutural de cinco complexos metálicos de Zn^{2+} com os fármacos maleato de enalapril, hidroclorotiazida e clortalidona, além da obtenção de um novo derivado do fármaco clortalidona. A técnica mais utilizada para caracterização estrutural é a difração de raios X, desta forma este trabalho descreve a caracterização por meio dessa técnica aplicada a monocristais, de três compostos inéditos. Além da difração de raios X, outras técnicas como espectroscopia vibracional na região do infravermelho e Raman, análises termogravimétricas, análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e cloro (CHNCl) foram utilizadas. Dentre os complexos formados, apenas aqueles que contêm o fármaco maleato de enalapril foram caracterizados por difração de raios X. Na formação dos complexos envolvendo o fármaco maleato de enalapril, percebeu-se que a síntese por difusão dá origem a um complexo metálico em que apenas o íon maleato está presente na estrutura. Com intuito de se obter um complexo em que o princípio ativo do fármaco, o enalapril, estivesse presente, foi proposta uma nova rota sintética. Nesta síntese o primeiro passo foi a retirada do íon maleato da solução, seguida da adição do íon metálico Zn^{2+} . O novo complexo formado apresentou o fármaco enalapril coordenado ao zinco pelo átomo de oxigênio do grupo carboxilato de modo monodentado. Desta maneira o íon metálico adotou uma geometria tetraédrica indicando que *in vitro* a complexação do enalapril ao íon Zn^{2+} é semelhante ao que é sugerido *in vivo*. Este complexo apresentou grupo espacial C222 e é estabilizado por ligações de hidrogênio. A estrutura cristalina obtida revelou ainda a presença de desordem ocupacional em um átomo de oxigênio do contra-íon perclorato. A fim de amenizar esta desordem fez-se a medida deste monocristal a baixa temperatura. Ao final desta medida percebeu-se a ocorrência de uma transição de fase ordem-desordem, uma vez que a estrutura cristalina do complexo enalapril-Zn (ENAZn) é ordenada a baixa temperatura e desordenada em temperatura ambiente. Estes complexos são polimorfos conformacionais apresentando como principal diferença em suas

estruturas os ângulos de torção. A partir da análise espectroscópica pôde-se inferir que os fármacos clortalidona e hidroclorotiazida tenham se coordenado ao íon Zn^{2+} , ambos de modo quelato, pelo grupo γ -lactama e pelo anel heterocíclico, respectivamente. Além disso, foi obtido um novo derivado do fármaco clortalidona utilizando uma síntese com estufa para aquecimento controlado. Um mecanismo para formação deste novo derivado da clortalidona foi proposto no qual o $Zn(ClO_4)_2$ atua como ácido de Lewis. Este composto foi caracterizado por difração de raios X e apresentou sistema cristalino ortorrômbico com grupo espacial $Pca2_1$. Ainda foram obtidos monocristais dos fármacos hidroclorotiazida e clortalidona puros que também foram analisados por difração de raios X.

Palavras-chave: Anti-hipertensivos. Maleato de enalapril. Hidroclorotiazida. Clortalidona. Difração de raios X.

ABSTRACT

The research of drugs mechanism of action has been held continuously in order to elucidate the molecular structure and functional groups of interest. It is important for the suitable pharmacological activity. Since the mechanism of action of the enalapril maleate antihypertensive drug is related to the formation of a *in vivo* complex with the Zn^{2+} present in the active site of carboxypeptidase enzyme (ECA), this work consisted of synthesis and structural characterization of five metal complexes of Zn^{2+} with the enalapril maleate, hydrochlorothiazide and chlorthalidone drugs, in addition to obtaining a new derivate of the chlorthalidone drug. The most used technique for structural characterization is the X-ray diffraction, thus this work describes the characterization using this technique applied to single crystals, in three novel compounds. In addition to X-ray diffraction, other techniques such as vibrational spectroscopy in the infrared and Raman, thermogravimetric analysis, elemental analysis of carbon, hydrogen, nitrogen and chlorine (CHNCl) were used. Among the complexes formed, only those that contain the drug enalapril were characterized by X-ray diffraction. In the formation of complexes involving the enalapril drug, was noted that the synthesis by slowing addition gives rise to a metal complex in which only the maleate ion is present in the structure. In order to obtain a complex in which the drug active principle, the enalapril, was present, was proposed a new synthetic route. In this synthesis the first step was the removal of the maleate ion of the solution, followed by addition of the Zn^{2+} metal ion. The new complex formed showed the enalapril drug coordinated to the zinc by oxygen atom of the carboxylate group in monodentate mode. Thus the metal ion has a tetrahedral geometry indicating that *in vitro* the enalapril complexation with the Zn^{2+} ion is similar to what is suggested *in vivo*. This complex crystallizes in C222 space group and is stabilized by hydrogen bonds. The structure crystal obtained also revealed the presence occupational disorder in the oxygen atom of the perchlorate counter ion. In order to alleviate this disorder, it made a new measure of this single crystal at low temperature. At the end of this measure was perceived the occurrence of an order-disorder phase transition, since the crystal structure of the complex enalapril-Zn (ENAZn) is ordered at low temperature and disordered at room temperature. These complexes are conformational polymorphs presenting the main difference in their structures the torsion angles. From the spectroscopic analysis could be inferred that the hydrochlorothiazide and chlorthalidone drugs coordinated Zn^{2+} ion in a chelate mode by

γ -lactam group and the heterocyclic ring, respectively. In addition a new derivative of the chlorthalidone drug was obtained using a synthesis with a stove for heating. A mechanism for the formation of this new derivate of chlorthalidone was proposed in which the $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2$ acts a Lewis acid. This compound was characterized by X-ray diffraction and showed orthorhombic crystal system with $\text{Pca}2_1$ space group. Were also to obtained single crystals of pure hydrochlorothiazide and chlorthalidone drugs that were also analyzed by X-ray diffraction.

Keywords: Antihypertensives. Enalapril maleate. Hydrochlorothiazide. Chlorthalidone. X-ray diffraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Taxas de mortalidade por DCV e suas diferentes causas no Brasil, em 2007.....	21
Figura 1.2: Sistema urinário humano.....	24
Figura 1.3: Estrutura cristalina da hidroclorotiazida.....	25
Figura 1.4: Ligações de hidrogênio intermoleculares da hidroclorotiazida.....	26
Figura 1.5: Estrutura cristalina de duas formas polimórficas da clortalidona.....	27
Figura 1.6: Ativação do sistema renina-angiotensina.....	29
Figura 1.7: Estrutura cristalina do fármaco maleato de enalapril.....	32
Figura 1.8: Estrutura química do enalapril e de seu metabólito ativo, o íon enalaprilato.....	33
Figura 1.9: Estrutura molecular da ECA interagindo com o enalaprilato.....	34
Figura 1.10: Estrutura cristalina do inibidor enalaprilato interagindo com a enzima ECA.....	34
Figura 2.1: Representação esquemática de um espectro de emissão de raios X.....	41
Figura 2.2: Difração de raios X por um cristal.....	44
Figura 2.3: Fatores de espalhamento atômico para titânio (Ti), silício (Si), e oxigênio (O), em função de $(\sin\theta)/\lambda$	46
Figura 2.4: Soma das ondas espalhadas por cinco átomos hipotéticos A, B, C, D e E.....	48
Figura 2.5: Representação de \vec{f}_A como um número complexo em um diagrama de Argand.....	49
Figura 2.6: Parâmetros de vibração anisotrópicos de um grupo etil desordenado: à esquerda sem tratamento de desordem e à direita com tratamento de desordem.....	56
Figura 4.1: Espectro de absorção na região do infravermelho dos monocristais de hidroclorotiazida e do fármaco hidroclorotiazida.....	70
Figura 4.2: Espectro Raman dos monocristais de hidroclorotiazida e do fármaco hidroclorotiazida.....	70
Figura 4.3: Estrutura cristalina da hidroclorotiazida.....	71
Figura 4.4: Ligações de hidrogênio intermoleculares da hidroclorotiazida.....	72
Figura 4.5: Ligações de hidrogênio não convencionais da hidroclorotiazida.....	72
Figura 4.6: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo HIDZn e do fármaco hidroclorotiazida.....	73
Figura 4.7: Espectro Raman do complexo HIDZn e do fármaco hidroclorotiazida.....	74
Figura 4.8: (a) TG e (b) DTA do complexo HIDZn.....	76
Figura 4.9: Estrutura molecular proposta para o complexo HIDZn.....	77
Figura 4.10: Espectro de absorção na região do infravermelho dos monocristais de clortalidona e do fármaco clortalidona.....	78

Figura 4.11: Espectro Raman dos monocristais de clortalidona e do fármaco clortalidona.....	79
Figura 4.12: Estrutura cristalina da forma I da clortalidona.....	80
Figura 4.13: Ligações de hidrogênio intermoleculares que originam dímeros do fármaco clortalidona.....	81
Figura 4.14: Ligações de hidrogênio intermoleculares da clortalidona ao longo do eixo cristalográfico <i>a</i>	81
Figura 4.15: Espectro de absorção na região do infravermelho do composto etil-clortalidona e do fármaco clortalidona.....	83
Figura 4.16: Espectro Raman do composto etil-clortalidona e do fármaco clortalidona.....	83
Figura 4.17: (a) TG e (b) DTA do composto etil-clortalidona.....	86
Figura 4.18: Estrutura cristalina do composto etil-clortalidona.....	87
Figura 4.19: Ligações de hidrogênio intramoleculares do composto etil-clortalidona.....	89
Figura 4.20: Ligações de hidrogênio intramoleculares do composto etil-clortalidona.....	90
Figura 4.21: Arranjo bidimensional do composto etil-clortalidona.....	92
Figura 4.22: Ligações de hidrogênio intermoleculares que se estendem em zig-zag no composto etil-clortalidona.....	93
Figura 4.23: Arranjo tridimensional do composto etil-clortalidona.....	93
Figura 4.24: Interações do tipo $C-H \cdots \pi$ presentes no composto etil-clortalidona.....	94
Figura 4.25: Interações aromáticas do tipo <i>edge-to-face</i> presentes no composto etil-clortalidona.....	95
Figura 4.26: Mecanismo proposto para a formação do composto etil-clortalidona.....	96
Figura 4.27: Difratoogramas dos compostos (a) etil-clortalidona e (b) clortalidona.....	97
Figura 4.28: Espectro de RMN de 1H do composto etil-clortalidona.....	98
Figura 4.29: Espectro de RMN de ^{13}C do composto etil-clortalidona.....	99
Figura 4.30: Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo CLOZn e do fármaco clortalidona.....	100
Figura 4.31: Espectro Raman do complexo CLOZn e do fármaco clortalidona.....	101
Figura 4.32: Curva termogravimétrica do complexo CLOZn.....	104
Figura 4.33: Estrutura molecular proposta para o complexo CLOZn.....	105
Figura 4.34: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo MAZn e do fármaco maleato de enalapril.....	106
Figura 4.35: Estrutura cristalina do complexo MAZn.....	108
Figura 4.36: Ligações de hidrogênio presentes no complexo MAZn.....	109
Figura 4.37: (a) TG e (b) DTA do complexo MAZn.....	110
Figura 4.38: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo ENAZn e do fármaco maleato de enalapril.....	111
Figura 4.39: Espectro Raman do complexo ENAZn e do fármaco maleato de enalapril.....	111

Figura 4.40: Curva termogravimétrica do complexo ENAZn.....	114
Figura 4.41: Estrutura cristalina do complexo ENAZn gerada pelo programa ORTEP.....	115
Figura 4.42: Desordem ocupacional nos átomos de oxigênio do íon perclorato no complexo ENAZn.....	116
Figura 4.43: Estrutura cristalina do composto ENAZnBT.....	117
Figura 4.44: Curva dsc do complexo ENAZn.....	121
Figura 4.45: Célula unitária do composto ENAZn.....	124
Figura 4.46: Célula unitária do composto ENAZnBT.....	124
Figura 4.47: Ângulo de torção entre C1C2N1C6 em ENAZn.....	125
Figura 4.48: Ângulo de torção entre C1C2N1C6 em ENAZnBT.....	126
Figura 4.49: Ângulo de torção entre N2C9C13C14 em ENAZn.....	126
Figura 4.50: Ângulo de torção entre N2C9C10C11 em ENAZnBT.....	127
Figura 4.51: Ângulo de torção entre C10C9C13C14 em ENAZn.....	127
Figura 4.52: Ângulo de torção entre C18C9C10C11 em ENAZnBT.....	128
Figura 4.53: Ligações de hidrogênio envolvendo os íons perclorato presentes na rede cristalina do composto ENAZn.....	129
Figura 4.54: Ligações de hidrogênio envolvendo os íons perclorato presentes na rede cristalina do composto ENAZnBT.....	129
Figura 4.55: Ligações de hidrogênio dos grupos amina presentes no composto ENAZn.....	130
Figura 4.56: Ligações de hidrogênio dos grupos amina presentes no composto ENAZnBT.....	130
Figura 4.57: Difrátogramas (a) policristais do complexo ENAZn e (b) monocristal do complexo ENAZn.....	132

LISTA DE TABELA

Tabela 1.1: Características dos inibidores da enzima conversora da angiotensina.....	30
Tabela 2.1: Comprimentos de onda característicos de quatro metais usados como ânodo.....	42
Tabela 4.1: Análise elementar de CHN dos monocristais de hidroclorotiazida.....	71
Tabela 4.2: Atribuições espectroscópicas do fármaco hidroclorotiazida e do complexo HIDZn.....	75
Tabela 4.3: Análise elementar de CHNCl do complexo HIDZn.....	75
Tabela 4.4: Análise elementar de CHN dos monocristais de clortalidona.....	79
Tabela 4.5: Atribuições espectroscópicas do fármaco clortalidona e do composto etil-clortalidona.....	84
Tabela 4.6: Análise elementar de CHN do composto etil-clortalidona.....	85
Tabela 4.7: Dados cristalográficos do composto etil-clortalidona.....	88
Tabela 4.8: Ligações de hidrogênio do composto etil-clortalidona.....	91
Tabela 4.9: Atribuições espectroscópicas do fármaco clortalidona e do complexo CLOZn.....	102
Tabela 4.10: Análise elementar de CHNCl para o complexo CLOZn ($ZnClOCl_2 \cdot 2H_2O$).....	103
Tabela 4.11: Atribuições espectroscópicas do fármaco maleato de enalapril e do complexo MAZn.....	107
Tabela 4.12: Atribuições espectroscópicas do fármaco maleato de enalapril e do complexo ENAZn.....	112
Tabela 4.13: Análise elementar de CHN do composto ENAZn ($[Zn(ENA)_4] \cdot (ClO_4)_2$).....	113
Tabela 4.14: Dados cristalográficos dos cristais ENAZn e ENAZnBT.....	119
Tabela 4.15: Principais distâncias e ângulos de ligações envolvidos nos complexos ENAZn e ENAZnBT.....	123
Tabela 4.16: Ligações de hidrogênio nos compostos ENAZn e ENAZnBT.....	131

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ENA = Enalapril

MA = Maleato de Enalapril

CLO = Clortalidona

HID = Hidroclorotiazida

HAS = Hipertensão Arterial Sistêmica

OMS = Organização Mundial de Saúde

DCV = Doenças Cardiovasculares

ECA = Enzima Carboxipeptidase

IECA = Fármacos Inibidores da Enzima Carboxipeptidase

HIDZn = Complexo hidroclorotiazida com Zn^{2+}

CLOZn = Complexo clortalidona com Zn^{2+}

MAZn = Complexo hidrogeno-maleato com Zn^{2+}

ENAZn = Complexo enalapril com Zn^{2+}

ENAZnBT = Complexo enalapril com Zn^{2+} medido à baixa temperatura

RMN = Análise por Ressonância Magnética Nuclear

DSC = Análise por Calorimetria Exploratória Diferencial

CHNCl = Análise Elementar de Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e Cloro

TG = Análise Termogravimétrica

DTA = Análise Térmica Diferencial

IV = Infravermelho

F = forte

f = fraca

m = média

mf = muito fraca

mF = muito forte

o = ombro

PA = pureza analítica

v = estiramento

δ = deformação angular no plano

γ = deformação angular fora do plano

$\nu(\text{CH})_{\text{ar}}$ = estiramento CH de aromático

$v(\text{CH})_{\text{al}}$ = estiramento CH de alifático

$v(\text{CO})_{\text{est}}$ = estiramento CO de éster

$v(\text{CO})_{\text{ac}}$ = estiramento CO de ácido carboxílico

$v(\text{CO})_{\text{ami}}$ = estiramento CO de amida

$v(\text{CO})_{\text{mal}}$ = estiramento CO da carbonila presente no maleato

$v(\text{CCO})_{\text{ace}}$ = estiramento CCO de acetato

$v(\text{CCO})_{\text{est}}$ = estiramento CCO de éster

2D = bidimensional

3D = tridimensional

R = coeficiente de correlação

wR = coeficiente de correlação ponderado

S = qualidade do ajuste de perfil

LabCri = Laboratório de Cristalografia do Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	20
1.1 PRESSÃO SANGUÍNEA OU ARTERIAL.....	20
1.2 HIPERTENSÃO ARTERIAL.....	20
1.2.1 Fatores de risco à Hipertensão Arterial.....	22
1.2.2 Tratamentos da Hipertensão Arterial.....	23
1.3 FÁRMACOS DIURÉTICOS.....	24
1.3.1 Diurético tiazídico Hidroclorotiazida.....	25
1.3.2 Diurético tiazídico Clortalidona.....	26
1.4 FÁRMACOS INIBIDORES DA ENZIMA CARBOXIPEPTIDASE (IECA).....	28
1.4.1 Sistema Renina-Angiotensina.....	28
1.4.2 Fármacos IECA.....	29
1.4.2.1 Histórico dos IECA.....	29
1.4.2.2 Mecanismo de ação.....	31
1.4.3 Fármaco IECA Enalapril.....	31
1.4.3.1 Maleato de Enalapril.....	31
1.4.3.2 Enalapril e Enalaprilato.....	32
1.4.4 Efeitos colaterais decorrentes do uso dos IECA.....	35
1.5 TERAPÊUTICA ANTI-HIPERTENSIVA COMBINADA.....	35
1.6 OBJETIVOS.....	36
2 CRISTALOGRAFIA	38
2.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	38
2.1.1 Lei de Bragg.....	39
2.1.2 Produção de raios X.....	40
2.1.3 Experimentos de difração.....	43
2.2 INTENSIDADE DO FEIXE DIFRATADO.....	45
2.2.1 Simetria e intensidade das reflexões.....	50
2.3 DETERMINAÇÃO DE ESTRUTURA CRISTALINA USANDO A DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	51
2.4 DESORDEM EM CRISTAIS.....	54
2.4.1 Tipos de desordem.....	54
2.4.1.1 Desordem substitucional.....	55
2.4.1.2 Desordem posicional.....	55

2.4.2 Refinamento de estruturas desordenadas.....	56
2.4.2.1 Refinamento de desordem através do programa SHELXL.....	57
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	60
3.1 SÍNTESES.....	60
3.1.1 Sínteses envolvendo o fármaco Hidroclorotiazida.....	60
3.1.1.1 Síntese de monocristais de hidroclorotiazida.....	60
3.1.1.2 Síntese do complexo hidroclorotiazida com Zn^{2+} (HIDZn).....	60
3.1.2 Sínteses envolvendo o fármaco Clortalidona.....	61
3.1.2.1 Síntese de monocristais de clortalidona.....	61
3.1.2.2 Síntese de um novo derivado da clortalidona (etil-clortalidona).....	61
3.1.2.3 Síntese do complexo clortalidona com Zn^{2+} (CLOZn).....	62
3.1.3 Sínteses envolvendo o fármaco Maleato de Enalapril.....	62
3.1.3.1 Síntese do complexo hidrogeno-maleato com Zn^{2+} (MAZn).....	62
3.1.3.2 Síntese do complexo enalapril com Zn^{2+} (ENAZn).....	63
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO.....	64
3.2.1 Reagentes.....	64
3.2.2 Análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e cloro.....	64
3.2.3 Espectros vibracionais.....	64
3.2.3.1 Espectros vibracionais na região do infravermelho.....	64
3.2.3.2 Espectros vibracionais Raman.....	65
3.2.4 Análises térmicas.....	65
3.2.4.1 TG / DTA.....	65
3.2.4.2 Análise por calorimetria exploratória diferencial.....	65
3.2.5 Análise por ressonância magnética nuclear.....	66
3.2.6 Difração de raios X.....	66
3.2.6.1 Difração de raios X por monocristais.....	66
3.2.6.2 Difração de raios X por policristais.....	67
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
4.1 COMPOSTOS DO FÁRMACO HIDROCLOROTIAZIDA.....	69
4.1.1 Monocristais de hidroclorotiazida.....	69
4.1.2 Complexo de hidroclorotiazida com Zn^{2+} (HIDZn).....	73
4.2 COMPOSTOS DO FÁRMACO CLORTALIDONA.....	78
4.2.1 Monocristais de clortalidona	78
4.2.2 Derivado da clortalidona (etil-clortalidona).....	82
4.2.3 Complexo de clortalidona com Zn^{2+} (CLOZn).....	100

4.3 COMPOSTOS DO FÁRMACO MALEATO DE ENALAPRIL.....	105
4.3.1 Complexo de maleato com Zn^{2+} (MAZn).....	105
4.3.2 Complexo de enalapril com Zn^{2+} (ENAZn).....	110
5 CONCLUSÕES.....	134
REFERÊNCIAS.....	136
ANEXOS.....	141

CAPÍTULO 1:
INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1. PRESSÃO SANGUÍNEA OU ARTERIAL

O sangue é um tecido conjuntivo líquido que circula pelo sistema vascular sanguíneo dos animais vertebrados. O sangue tem como função a manutenção da vida do organismo por meio do transporte de nutrientes, toxinas, oxigênio e gás carbônico (WIKIPÉDIA, 2011). Durante o processo de transporte de substâncias o sangue é bombeado pelo coração e percorre as artérias e as veias, levando para as células todo combustível necessário para sua manutenção (açúcar e oxigênio) e retirando destas células ácidos e gás carbônico.

Em sua passagem por dentro das artérias o sangue encontra uma resistência provocada pelo atrito com as paredes das mesmas. Quanto mais estreita for a artéria, maior será a resistência à passagem do sangue. A força que o coração exerce para bombear o sangue é chamada de pressão máxima ou sistólica e a resistência que a artéria oferece à passagem do sangue é chamada de pressão mínima ou diastólica. Desta maneira uma pressão arterial de 120 x 80 mmHg informa que a pressão exercida pelo coração para bombear o sangue é 120 mmHg e que a resistência das artérias à passagem deste sangue é 80 mmHg (BERTULANI, 2009). A hipertensão arterial (ou pressão alta) tem sua origem no estreitamento do calibre das artérias, o que obriga o coração a aumentar sua pressão para poder empurrar o sangue por dentro destas artérias estreitadas.

1.2. HIPERTENSÃO ARTERIAL

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma das doenças com maior prevalência em todo o mundo afetando milhões de pessoas. Ela se desenvolve quando os níveis da pressão arterial encontram-se acima dos valores de referência para a população em geral. Para a

Organização Mundial de Saúde (OMS) os valores admitidos são: 120 x 80 mmHg, em que a pressão arterial é considerada ótima e 130 x 85 mmHg sendo considerada limite. Valores pressóricos superiores a 140 x 90 mmHg denotam hipertensão.

Conforme as Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial da Sociedade Brasileira de Cardiologia, a hipertensão pode ser dividida em estágios: 1 (leve - 140 x 90 mmHg e 159 x 99 mmHg), 2 (moderada - 160 x 100 mmHg e 179 x 109 mmHg) e 3 (grave - acima de 180 x 110 mmHg). Qualquer indivíduo pode apresentar pressão arterial acima de 140 x 90 mmHg sem que seja considerado hipertenso. Apenas a manutenção de níveis permanentemente elevados, em múltiplas medições, em diferentes horários, posições e condições (repouso, sentado ou deitado) caracterizam a hipertensão arterial. Esta situação aumenta o risco de problemas cardiovasculares futuros, tais como: doença cerebrovascular, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca e renal crônica e doença vascular de extremidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

No Brasil, as doenças cardiovasculares (DCV) têm sido a principal causa de morte. Em 2007 ocorreram 308.466 óbitos por doenças relacionadas com o aparelho circulatório. Na Figura 1.1 podem ser observadas as diferentes causas de mortalidade associadas às DCV. O acidente vascular encefálico causa a maior taxa de mortalidade por DCV com aproximadamente 31,4% dos casos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

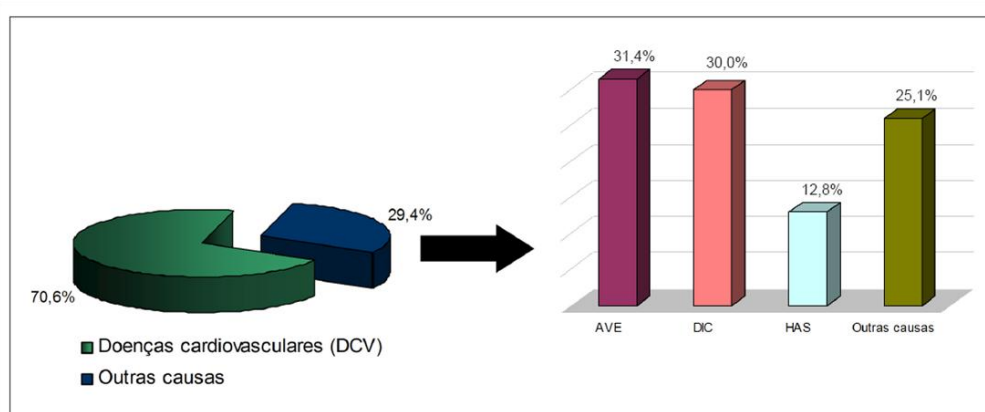


Figura 1.1. Taxas de mortalidade por DCV e suas diferentes causas no Brasil, em 2007 (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010). AVE – acidente vascular encefálico; DIC – doença isquêmica do coração; HAS – hipertensão arterial sistêmica.

Pesquisas divulgadas pelo Ministério da Saúde em 26 de abril de 2011, dia Nacional de Prevenção e Combate à Hipertensão Arterial, mostram que a proporção de brasileiros diagnosticados com hipertensão aumentou nos últimos cinco anos totalizando 23,3% da população de brasileiros em 2010 (BRASIL, 2011). A pesquisa mostrou também que o diagnóstico da hipertensão é maior em mulheres (25,5%) do que em homens (20,7%). No entanto, em ambos os sexos com o avanço da idade a hipertensão arterial se torna mais comum, alcançando 55% dos indivíduos na faixa etária de 55 anos ou mais.

1.2.1. Fatores de risco à Hipertensão Arterial

Alguns fatores de risco para hipertensão arterial sistêmica são:

- Idade: a pressão arterial aumenta linearmente com a idade, sendo superior a 60% na faixa etária acima de 65 anos;
- Sexo e etnia: taxas de hipertensão são mais elevadas para homens até os 50 anos e para mulheres a partir de 60 anos; o risco de hipertensão é de até 130% maior em mulheres afrodescendentes em relação às mulheres brancas;
- Sal: ingestão excessiva de sódio tem sido correlacionada com a elevação da pressão arterial;
- Obesidade: o excesso de massa corporal é um fator predisponente para a hipertensão arterial;
- Álcool: o consumo elevado de bebidas alcoólicas aumenta a pressão arterial;
- Sedentarismo: indivíduos sedentários apresentam risco aproximadamente 30% maior de desenvolver hipertensão que os ativos.

1.2.2. Tratamentos da Hipertensão Arterial

Existem basicamente dois tipos de tratamento para hipertensão arterial: o tratamento não-medicamentoso e o medicamentoso. O tratamento não medicamentoso exige modificações do estilo de vida do indivíduo no controle da pressão arterial, tais como: manutenção de um peso corporal adequado; padrão alimentar rico em frutas, verduras e legumes; redução do consumo de sal; moderação no consumo de álcool; atividade física regular; dentre outras.

O tratamento medicamentoso deve não só reduzir a pressão arterial como também os eventos cardiovasculares fatais e não-fatais, e, se possível, a taxa de mortalidade. Vale a pena ressaltar que nesse tipo de tratamento a escolha do fármaco anti-hipertensivo a ser usado é de extrema importância. Alguns aspectos importantes na escolha do anti-hipertensivo devem ser observados, como por exemplo: ser eficaz por via oral; ser bem tolerado pelo organismo; permitir administração em menor número possível de tomadas, com preferência para dose única diária; ser iniciado com menores doses, podendo ser aumentada gradativamente; não ser obtido por meio de manipulação uma vez que não há um controle adequado da matéria prima; ser considerado em associação para os pacientes com hipertensão em estágios dois e três.

Os fármacos anti-hipertensivos preferenciais para a realização do controle da pressão arterial em monoterapia inicial são: diuréticos; betabloqueadores; bloqueadores dos canais de cálcio; inibidores da enzima carboxipeptidase (ECA) responsável pela conversão da angiotensina I em angiotensina II e os bloqueadores do receptor tipo 1 da angiotensina II (AT1). Esse receptor é uma proteína componente da membrana celular que ao se ligar quimicamente à angiotensina II provoca uma série de reações celulares, sendo uma das mais importantes a vasoconstrição.

1.3. FÁRMACOS DIURÉTICOS

Os diuréticos são os fármacos que atuam nos rins, aumentando o volume e o grau de diluição da urina (SOBIOLOGIA, 2010). Estes fármacos também promovem a eliminação de eletrólitos como os íons sódio e cloreto, sendo usados, portanto, no tratamento da hipertensão arterial. O local de ação dessas drogas é o néfron. A Figura 1.2 mostra o sistema urinário humano (em destaque têm-se o rim e o néfron).

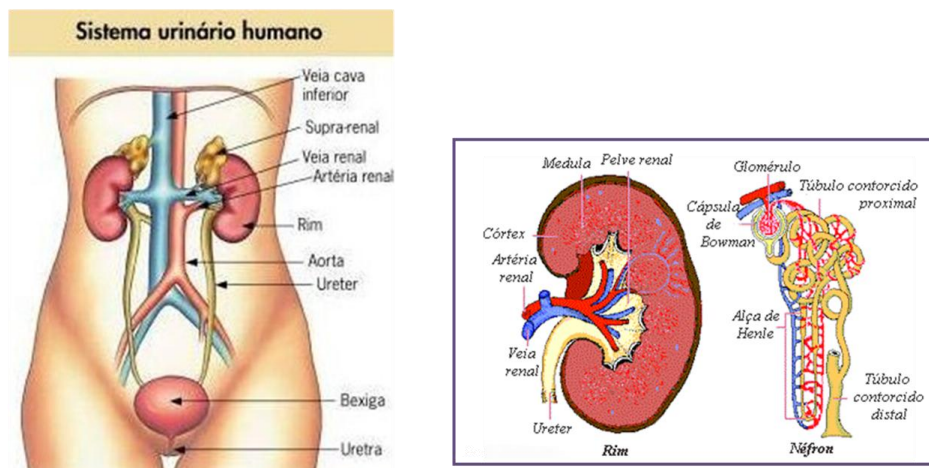


Figura 1.2. Sistema urinário humano (em destaque o rim e o néfron) (SOBIOLOGIA, 2010).

O aparelho urinário tem a tarefa de separar as substâncias nocivas do sangue e de eliminá-las através da urina. Este sistema compõe-se dos rins, que contém os bacinetes renais com os respectivos ureteres, da bexiga e da uretra. Os rins extraem os produtos residuais do sangue através de milhões de pequenos filtros, denominados néfrons, que são as unidades funcionais dos rins. Cada néfron apresenta duas partes principais: a cápsula glomerular (ou cápsula de Bowman) e os túbulos renais.

Há grupos de diuréticos que atuam diretamente nos túbulos renais, são eles: diuréticos de alça, poupadores de potássio e tiazídicos. Os diuréticos tiazídicos, dentre eles, a hidroclorotiazida e a clortalidona, inibem o transportador de Na^+/Cl^- das células tubulares distais, diminuindo assim a reabsorção de sal e água pelo organismo que passam então a ser

excretados em maior quantidade pela urina (PIMENTA, 2008). Como consequência tem-se a diminuição da pressão arterial.

1.3.1. Diurético tiazídico Hidroclorotiazida

A hidroclorotiazida é um fármaco diurético tiazídico usado no combate à hipertensão arterial. Este fármaco pertence ao grupo das sulfonamidas e teve sua estrutura cristalina descrita na literatura por Dupont em 1972 (DUPONT, 1972). A estrutura cristalina da hidroclorotiazida pode ser observada na Figura 1.3 e apresenta grupo espacial $P2_1$ com duas moléculas do fármaco por célula unitária. A molécula é planar em sua maioria, com exceção apenas dos quatro átomos de oxigênio e de dois átomos de nitrogênio que não pertencem ao plano formado pelos demais átomos. A estabilização da estrutura é alcançada através de ligações de hidrogênio intermoleculares do tipo $N-H \cdots O$ como mostra a Figura 1.4.

A hidroclorotiazida é um fármaco eficaz como monoterapia no tratamento da hipertensão arterial, tendo sido comprovada sua eficácia na redução da morbimortalidade cardiovascular. Entre as vantagens de seu uso incluem-se baixo custo, utilização oral e grande eficácia farmacêutica. Entre os efeitos indesejáveis ressalta-se fundamentalmente a hipopotassemia e a hiperuricemia (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

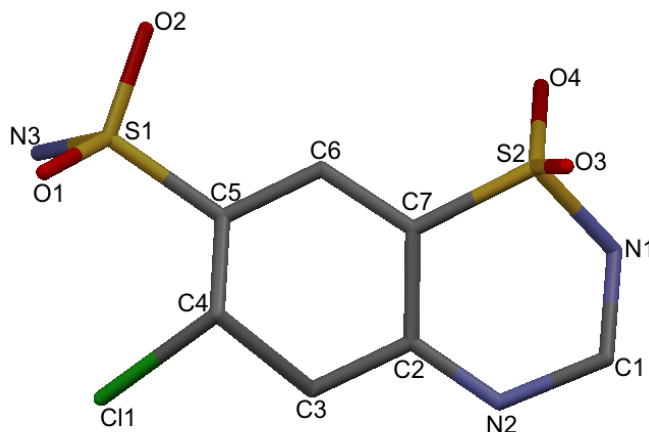


Figura 1.3. Estrutura cristalina da hidroclorotiazida (DUPONT, 1972).

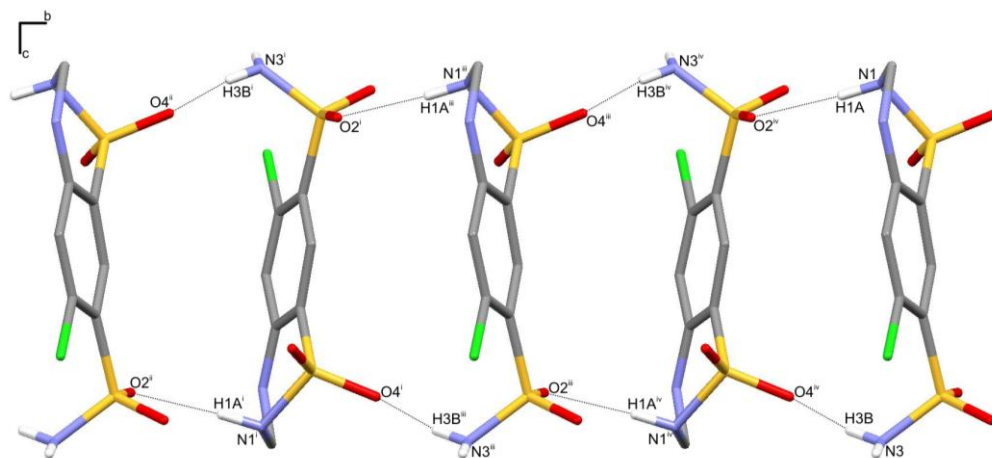


Figura 1.4. Ligações de hidrogênio intermoleculares da hidroclorotiazida. Códigos de simetria: (i) $1-x, -1,5+y, 2-z$; (ii) $x, -2+y, z$; (iii) $x, -1+y, z$; (iv) $1-x, -1/2+y, 2-z$.

1.3.2. Diurético tiazídico Clortalidona

A clortalidona é um ingrediente farmacêutico ativo com grande atividade oral. É clinicamente usada como diurético/anti-hipertensivo, sendo praticamente insolúvel em água, éter e clorofórmio, parcialmente solúvel em etanol e solúvel em metanol (MARTINS, 2009). A clortalidona também pertence ao grupo das sulfonamidas assim como a hidroclorotiazida e apresenta duas formas cristalinas polimórficas (forma I e forma III) descritas na literatura por Martins e colaboradores em 2009 (MARTINS, 2009). As estruturas cristalinas das duas formas polimórficas da clortalidona podem ser observadas na Figura 1.5.

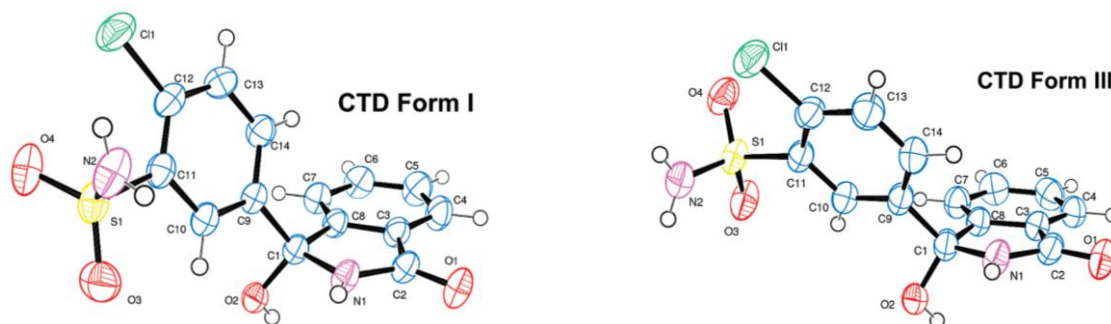


Figura 1.5. Estrutura cristalina de duas formas polimórficas da clortalidona (MARTINS, 2009).

As formas I e III da clortalidona cristalizam-se no grupo espacial triclinico centro simétrico ($P\bar{1}$) com duas moléculas de clortalidona por célula unitária. A principal diferença entre as duas formas se refere ao eixo de rotação da ligação C1-C9. Devido a este fato, os confôrmeros da clortalidona apresentam diferentes orientações do grupo clorobenzenosulfonamida. Uma torção de aproximadamente 90° é observada ao se comparar estes grupos.

Este estudo realizado por Martins e colaboradores (MARTINS, 2009) propiciou o conhecimento a nível atômico da fase sólida (forma I da clortalidona) utilizada na formulação de medicamentos que possuem clortalidona como ingrediente farmacêutico ativo. A forma III revelou-se o confôrmero mais estável do fármaco, embora a forma I seja a usada comercialmente. A presença do polimorfismo desperta a atenção sobre as transformações de fase entre as formas I e III da clortalidona e também para a importância da investigação exaustiva deste fenômeno.

Polimorfismo é a capacidade de um composto existir em mais de uma fase cristalina. Em estruturas cristalinas polimórficas são observadas diferenças no empacotamento cristalino e também, na maioria dos casos, nos arranjos conformacionais dos compostos (polimorfismo conformacional). Em fármacos isto é particularmente importante porque diferentes formas cristalinas podem apresentar diferentes propriedades químicas e físicas. Fatores como dissolução, solubilidade, densidade e ponto de fusão podem ser afetados, sofrendo alterações significativas. Essas mudanças podem prejudicar as propriedades farmacocinéticas do medicamento, levando o mesmo a apresentar toxicidade ou ineficácia.

1.4. FÁRMACOS INIBIDORES DA ENZIMA CARBOXIPEPTIDASE (IECA)

1.4.1. Sistema Renina-Angiotensina

O sistema renina-angiotensina é precoce e intensamente ativado em insuficiência cardíaca congestiva. Quanto maior a gravidade da insuficiência cardíaca congestiva, maior a sua ativação; esta, todavia, é detectada mesmo na presença apenas de disfunção, sem sintomas associados (FEITOSA, 2001). A disfunção ventricular estimula a produção de renina que é uma enzima circulante liberada pelas células justaglomerulares dos rins. A enzima renina age no angiotensinogênio (uma proteína sintetizada no fígado), separando um decapeptídeo, a angiotensina I, da extremidade n-terminal de sua estrutura. A angiotensina I por sua vez, ao passar pelos pulmões ou pelo fígado é convertida pela enzima conversora da angiotensina (ECA) num octopeptídeo, a angiotensina II. A ECA é uma enzima zinco metalopeptidase que se liga à membrana presente no plasma sanguíneo e na superfície das células endoteliais, que é particularmente abundante no pulmão. A Figura 1.6 mostra a ativação do sistema renina-angiotensina (FEITOSA, 2001).

A angiotensina II é a responsável por quase todas as ações do sistema renina-angiotensina e, assim ativada, promove:

- Ativação simpática com conseqüente taquicardia;
- Ação direta em arteríolas, determinando vasoconstrição;
- Aumento da produção de vasopressina (hormônio anti-diurético);
- Aumento de produção de aldosterona (hormônio que faz regulação de sódio e potássio no sangue).

Todos esses fatores levam a um aumento significativo da pressão arterial.

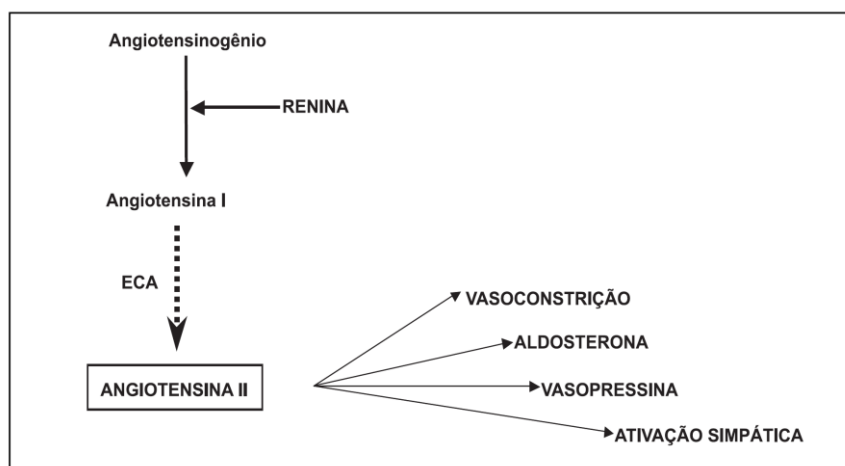


Figura 1.6. Ativação do sistema renina-angiotensina (FEITOSA, 2001).

1.4.2. Fármacos IECA

Diante do conhecimento estabelecido dos potenciais malefícios causados pelo sistema renina-angiotensina quando ativado em insuficiência cardíaca congestiva, não é surpreendente a constatação dos benefícios resultantes do emprego de inibidores da ECA que visam diminuir a formação de angiotensina II.

1.4.2.1. Histórico dos IECA

A introdução dos anti-hipertensivos IECA resultou dos trabalhos experimentais de Sérgio Ferreira (apud OIGMAN, 1998) com o veneno obtido da cobra *Bothrops jararaca*. Neste veneno foi identificado um nonapeptídeo capaz de impedir, quando administrado intravenosamente, a conversão de angiotensina I em angiotensina II, inibindo a enzima conversora (OIGMAN, 1998). A partir do conhecimento desta ação inibitória e também da estrutura molecular da enzima ECA, identificando-se o sítio ativo da enzima, foi desenvolvido

extensos estudos de ligação entre a enzima e possíveis inibidores. Diversos pesquisadores se empenharam em desenvolver drogas anti-hipertensivas estáveis e com uma maior potência inibitória por via oral (IANZER, 2006).

O Captopril foi o primeiro inibidor sintético delineado para a ECA que apresentou grande potência inibitória sobre a enzima e atividade por via oral. O planejamento molecular do captopril fundamentou-se, de maneira geral, na construção de unidades peptídicas simples, elaboradas a partir da unidade terminal do substrato natural da ECA, a angiotensina I, em uma estratégia de identificação de um protótipo dirigido ao sítio-ativo (AZEVEDO, 2007).

O desenvolvimento do Captopril por um custo baixo de produção e potência inibitória maior fez com que vários derivados deste fármaco fossem sintetizados. A Tabela 1.1 apresenta alguns inibidores da ECA usados em monoterapia inicial e que são comercializados. Note que é possível observar nesta tabela as principais diferenças entre estes fármacos. Eles diferem-se principalmente quanto à capacidade em se ligar ao átomo de zinco presente no sítio ativo da enzima e também ao efeito da inibição da ECA ser do próprio fármaco ou do metabólito ativo.

Tabela 1.1. Características dos inibidores da enzima conversora da angiotensina (OIGMAN, 1998).

Droga	Ligação ao zinco	Pró-droga	Via de eliminação	Duração da ação / horas	Dose / mg
Benazepril	Carboxila	Sim	Renal	24 +	10-40
Captopril	Sulfidríla	Não	Renal	6-10	25-150
Cilazapril	Carboxila	Sim	Renal	24 +	2,5-5,0
Enalapril	Carboxila	Sim	Renal	18-24	5-40
Fosinopril	Fosforila	Sim	Renal-hepática	24 +	10-40
Lisinopril	Carboxila	Não	Renal	18-24	5-40
Ramipril	Carboxila	Sim	Renal	24 +	1,25-20

1.4.2.2. Mecanismo de ação

O principal mecanismo de ação dos inibidores da ECA é o impedimento da produção e consequente formação da angiotensina II (FEITOSA, 2001; OIGMAN, 1998). Acredita-se que a inibição se dê pela ligação do fármaco ao sítio ativo de Zn^{2+} presente na estrutura da enzima.

Uma vez que os inibidores da ECA atenuam ou eliminam as respostas à angiotensina I, mas não à angiotensina II, os mesmos são fármacos altamente seletivos. Não interagem diretamente com outros componentes do sistema renina-angiotensina, e os principais efeitos farmacológicos e clínicos derivam da supressão da síntese da angiotensina II (AZEVEDO, 2007).

1.4.3. Fármaco IECA Enalapril

1.4.3.1. Maleato de Enalapril

O fármaco enalapril apresenta baixa solubilidade o que dificulta a sua absorção pelo organismo. Devido a este fato o fármaco enalapril é administrado na forma de maleato. Na forma de maleato de enalapril há um aumento de solubilidade e com isso da absorção e da disponibilidade do fármaco *in vivo*. A estrutura cristalina do fármaco maleato de enalapril pode ser observada na Figura 1.7 (PRÉCIGOUX, 1986). Este fármaco cristalizou-se no sistema cristalino monoclinico com grupo espacial $P2_1$. A neutralização desta estrutura foi alcançada pela protonação do grupo NH da porção Alanil do enalapril e desprotonação do oxigênio do maleato. Dois dos quatro átomos de oxigênio do maleato apresentaram considerável desvio de planaridade. Ligações de hidrogênio foram observadas entre os grupos NH da estrutura do enalapril e os átomos de oxigênio do íon maleato. Além destas ligações de

hidrogênio, interações de van der Waals foram observadas e também contribuíram para a estabilização do composto.

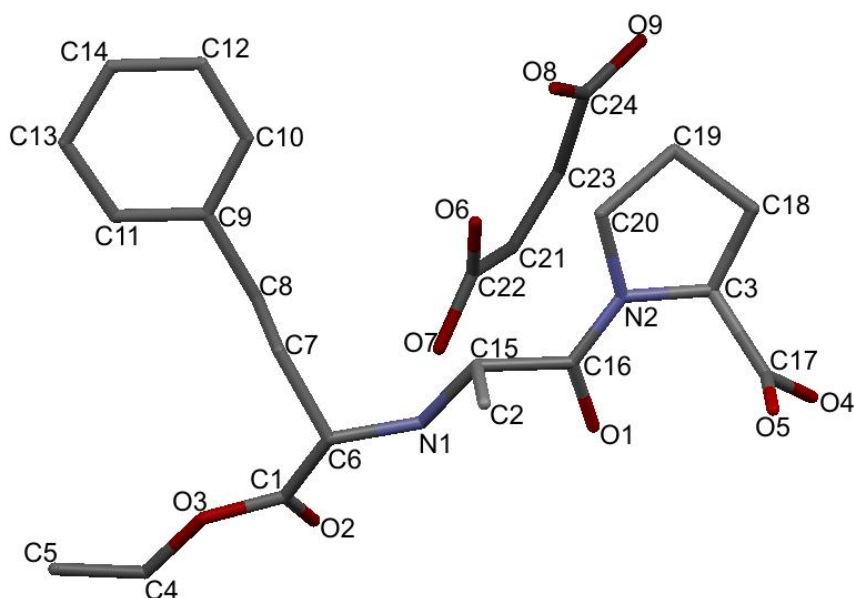


Figura 1.7. Estrutura cristalina do fármaco maleato de enalapril (PRÉCIGOUX, 1986).

1.4.3.2. Enalapril e Enalaprilato

O enalapril, cuja estrutura química está representada na Figura 1.8 é um pró-fármaco hidrolisado por esterases no fígado, produzindo seu metabólito ativo, o ácido dicarboxílico enalaprilato (Figura 1.8), o qual é um inibidor altamente potente da ECA. O enalapril sofre substituição metabólica *in vivo* de C_2H_5 por H formando desta maneira o íon enalaprilato.

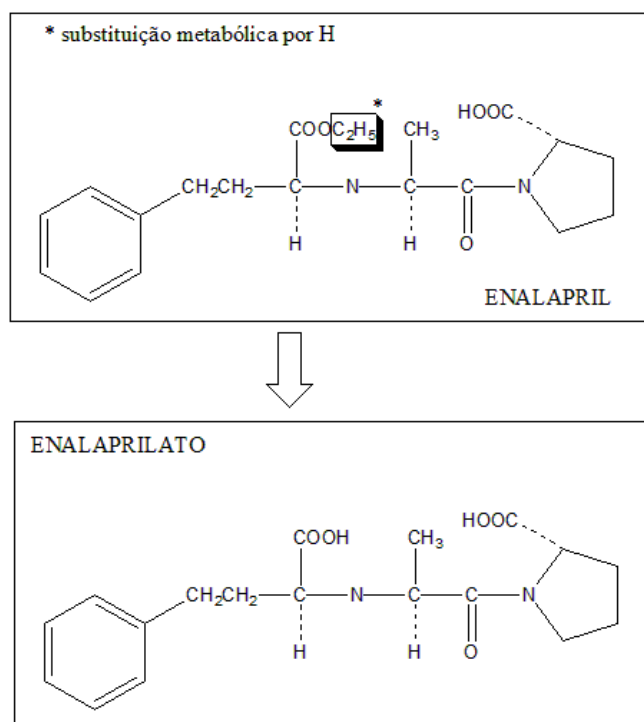


Figura 1.8. Estrutura química do enalapril e de seu metabólito ativo, o íon enalaprilato (OLIVERA, 2009).

Estudos realizados por Oigman e Fritsch (OIGMAN, 1998) indicaram uma possível estrutura molecular da enzima conversora da angiotensina interagindo com o inibidor enalaprilato. Nesta estrutura molecular o íon enalaprilato se coordena ao átomo de zinco presente no sítio ativo da enzima através do átomo de oxigênio do grupo carboxilato, conforme ilustra o esquema da Figura 1.9.

Entretanto, somente através do conhecimento da estrutura cristalina da enzima ECA com o íon enalaprilato as ligações presentes entre o metabólito ativo e a enzima foram esclarecidas (NATESH, 2004). Nesta estrutura cristalina obtida por Natesh e colaboradores o grupo carboxilato do inibidor enalaprilato interage diretamente com o íon Zn^{2+} no sítio ativo da enzima ECA como pode ser observado na Figura 1.10. Várias ligações de hidrogênio entre moléculas de água e o íon enalaprilato estão presentes e também estabilizam o composto cristalino.

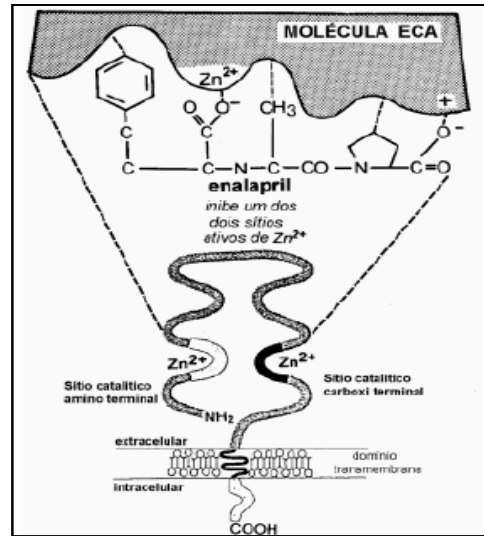


Figura 1.9. Estrutura molecular da ECA interagindo com o enalaprilato (OIGMAN, 1998).

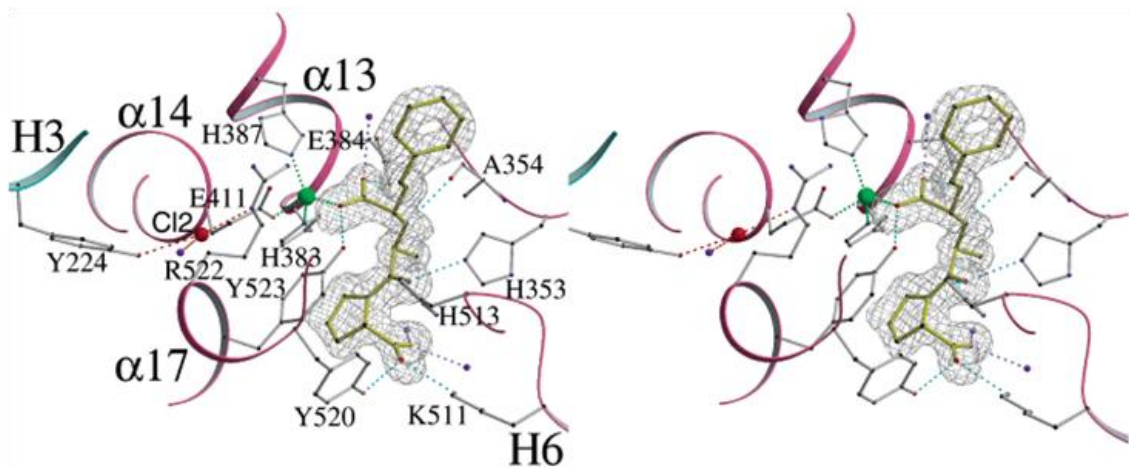


Figura 1.10. Estrutura cristalina do inibidor enalaprilato interagindo com a enzima ECA. O íon Zn^{2+} está representado pela cor verde, Cl2 por vermelho, o inibidor em amarelo e moléculas de água em violeta (NATESH, 2004).

O fármaco enalapril ao ser ingerido no organismo humano sofre hidrólise formando uma grande porcentagem de enalaprilato e uma pequena de enalapril que permanece não hidrolisado. As concentrações plasmáticas máximas do enalapril e do enalaprilato são alcançadas em 1h e 3h à 4h, respectivamente (OLIVERA, 2009) após a administração da droga.

O enalapril apresenta tempo de meia-vida de 1,3 h, enquanto o enalaprilato devido a sua forte ligação à ECA tem uma meia-vida plasmática de 11h. Devido ao tempo de meia-

vida do enalapril ser menor que o do enalaprilato este fármaco exerce uma pequena atividade inibitória quando comparada a do íon enalaprilato.

1.4.4. Efeitos colaterais decorrentes do uso dos IECA

Os inibidores da ECA são drogas com bom perfil de tolerabilidade e muitos dos efeitos observados, como cefaléia, tonteira e fadiga, não diferem do placebo. Contudo a tosse constitui o efeito adverso mais observado, podendo atingir de 5% a 18% dos hipertensos (OIGMAN, 1998).

1.5. TERAPÊUTICA ANTI-HIPERTENSIVA COMBINADA

Em cerca de 2/3 dos casos de hipertensão arterial, a monoterapia não é suficiente para atingir as reduções de pressões previstas, logo, faz-se necessário uma terapêutica anti-hipertensiva combinada (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010). Algumas associações ditas eficazes são:

- Diuréticos de diferentes mecanismos de ação;
- Betabloqueadores e diuréticos;
- Bloqueadores do receptor AT1 e diuréticos e
- Inibidores da ECA e diuréticos.

Acredita-se que um bom controle pressórico seja atingido em uma proporção maior de pacientes com o uso de baixas doses de duas drogas que agem em diferentes sistemas fisiológicos (BORTOLOTTI, 2003).

1.6. OBJETIVOS

A busca pelo entendimento do mecanismo de ação de medicamentos tem sido realizada constantemente no intuito de elucidar a estrutura molecular bem como os grupos funcionais de interesse, importantes para que haja uma atividade farmacológica adequada. Tendo em vista que o mecanismo de ação do fármaco anti-hipertensivo maleato de enalapril esteja vinculado à formação de um complexo *in vivo* com o íon Zn^{2+} presente no sítio ativo da enzima carboxipeptidase (ECA), este projeto tem como objetivo principal o estudo da estrutura cristalina de um complexo metálico de Zn^{2+} com o fármaco maleato de enalapril na tentativa de investigar a forma de coordenação deste fármaco ao sítio metálico e comparar o resultado obtido com a proposta biológica de interação.

A síntese e caracterização estrutural de complexos metálicos de Zn^{2+} com os fármacos hidroclorotiazida e clortalidona também será analisada para verificação de possível competição (uma vez que são comercializados associações farmacêuticas de maleato de enalapril/hidroclorotiazida e maleato de enalapril/clortalidona), no que se refere a formação desses complexos de Zn^{+2} , no organismo humano.

A investigação das estruturas cristalinas obtidas fornecerá os possíveis modos de coordenação desses ligantes com o sítio metálico, além da proporção metal-ligante nos complexos formados e as interações intermoleculares responsáveis pela estabilização do sólido cristalino. Contudo, espera-se que a análise detalhada das estruturas cristalinas formadas ajude no entendimento do mecanismo de ação desses fármacos que não se encontra totalmente elucidado.

CAPÍTULO 2:
CRISTALOGRAFIA

2. CRISTALOGRAFIA

A cristalografia é a ciência que estuda a teoria e as técnicas pelas quais os arranjos atômicos em sólidos cristalinos podem ser estabelecidos (DINIZ, 2003). Uma das técnicas mais utilizadas para identificar estes arranjos atômicos é a difração de raios X.

2.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A difração de raios X é uma das principais técnicas de caracterização estrutural de materiais cristalinos, encontrando diversas aplicações em várias áreas como engenharia, ciências de materiais, geociências e principalmente na química.

Wilhelm Conrad Rontgen em 1895 (WIKIPÉDIA, 2011) descobriu e batizou os raios X a partir de experimentos com tubos de raios catódicos. A natureza desta nova radiação descoberta foi algo de muita discussão sendo por isso chamada de radiação X. O físico alemão Max Von Laue em 1912 (LADD, 2003) percebeu que os raios X poderiam ser difratados por planos da rede de um cristal, dando origem a pontos de difração ou pontos de Laue. Posteriormente os Bragg formularam uma equação extremamente simples para prever os ângulos onde seriam encontrados os picos de intensidade máxima de difração (WOOLFSON, 1997). Assim, conhecendo-se as distâncias interatômicas, os problemas envolvidos na determinação da estrutura cristalina puderam ser resolvidos e os Bragg determinaram a primeira estrutura cristalina, a do NaCl. Este feito transformou a difração de raios X na primeira ferramenta eficiente para determinar a estrutura atômica dos materiais fazendo com que a técnica obtivesse rapidamente grande popularidade entre os institutos de pesquisa.

Quando o comprimento de onda da radiação X incidente é da mesma ordem de grandeza do espaçamento interatômico, o espalhamento em um cristal é chamado de difração e dá origem a uma série de feixes bem definidos arranjados em uma geometria característica

formando um padrão de difração. As posições e intensidades dos feixes difratados são obtidas em função dos arranjos dos átomos no espaço e algumas propriedades, especialmente, no caso de raios X, o número atômico dos átomos. Se as posições e as intensidades dos feixes difratados são conhecidas, é possível deduzir o arranjo dos átomos no cristal e sua natureza química (TILLEY, 2006).

Inicialmente, podem-se usar as posições dos feixes difratados para gerar informação sobre o tamanho da célula unitária do cristal. Posteriormente, devem-se calcular as intensidades dos feixes difratados e relacionar estes dados com a estrutura cristalina. Finalmente é necessário recriar uma imagem do cristal, a estrutura cristalina, usando a informação contida no padrão de difração.

2.1.1. Lei de Bragg

Em 1913 W. H. Bragg e W. L. Bragg observaram que alguns compostos nos quais seus átomos apresentam distâncias interatômicas da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda (λ) da radiação incidente (substâncias cristalinas) produzem um padrão de difração de raios X. Assim, ao incidir raios X sobre um material cristalino a radiação é espalhada em certas direções ao contrário de substâncias amorfas nas quais a radiação é espalhada em várias direções (WOOLFSON, 1997).

Ao se considerar a radiação que é refletida por sucessivos planos paralelos de Bragg, planos estes separados por uma distância d , é possível que os feixes refletidos sofram interferência construtiva produzindo um feixe refletido de maior intensidade. A condição para a interferência construtiva é que a diferença de caminho percorrido entre os feixes seja igual a um número inteiro do comprimento de onda. Assim, os máximos e mínimos das ondas que sofrem interferência coincidem e o feixe refletido resultante apresentará maior intensidade. Esta condição pode ser descrita pela Equação 2.1 que representa a Lei de Bragg:

$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin\theta \quad (2.1)$$

onde n representa um número inteiro, λ é o comprimento de onda da radiação incidente, d_{hkl} é a distância interplanar e θ é o ângulo de difração ou ângulo de Bragg. Desta forma a lei de Bragg define as condições pelas quais a difração ocorre e descreve a posição das ondas difratadas (TILLEY, 2006), sem fazer nenhuma referência à intensidade.

Em um cristal está contido um número infinito de planos atômicos, sendo que a lei de Bragg é aplicada a todos eles. Se um cristal em um feixe de radiação é girado, cada série de planos difratará a radiação quando o valor de $n\theta$ for apropriado. Este é o princípio pelo qual os dados de difração são coletados para todo o cristal.

A equação de Bragg, aplicada aos dados de difração, resulta em uma lista de valores de d_{hkl} para um composto. É possível, colocando esta série de dados em conjunto, determinar o tamanho da célula unitária do material produzindo o padrão de difração. Em efeito, isto significa atribuir um valor de hkl para cada feixe difratado, um processo chamado indexação do padrão de difração.

2.1.2. Produção de raios X

A produção de raios X é feita basicamente através da utilização de duas fontes. A primeira fonte é chamada de tubo de raios X, na qual ondas eletromagnéticas são geradas através do impacto de elétrons de alta energia com um alvo metálico. Este método é também conhecido como método convencional de produção de raios X por ser o método mais simples e barato e de maior utilização em laboratórios. A segunda fonte de produção de raios X é chamada de radiação síncrotron e apresenta uma série de vantagens em relação às fontes convencionais, como por exemplo, a intensidade da radiação utilizada que chega a ser cerca de dez vezes maior que a produzida por tubos de raios X e a escolha do comprimento de onda em que se deseja trabalhar. Nesta fonte, elétrons de alta energia são confinados em um anel e ficam armazenados se movimentando em uma órbita circular, acelerando em direção ao centro do anel e emitindo, desta forma, radiação eletromagnética em diversos comprimentos de onda.

Devido à utilização do método convencional de produção de raios X neste trabalho, somente este será discutido de forma mais detalhada. No método convencional o tubo de raios X consiste de um ânodo estacionário junto a um cátodo. Ambos são inseridos em um recipiente de metal sob alto vácuo. Aproximadamente 95% da energia dos elétrons incidentes no alvo metálico são convertidas em calor o qual precisa ser dissipado rapidamente para não causar derretimento do ânodo. Desta forma, o ânodo deve ser continuamente resfriado com água fria para evitar o colapso do alvo metálico. Nestes tubos de raios X um feixe de elétrons é emitido pelo cátodo, geralmente um filamento de tungstênio, e acelerado através de uma diferença de potencial em direção ao ânodo. A produção de raios X ocorre pelo impacto de alta energia dos elétrons com o alvo metálico (ânodo). A alta energia é suficiente para retirar um elétron da camada mais interna do ânodo metálico. Esta vacância produzida na camada interna é preenchida pela ocupação de um elétron da camada mais externa, liberando energia na forma de um fóton de raios X.

Uma fonte convencional de produção de raios X recebe o nome do metal utilizado como ânodo para gerar a radiação, portanto um tubo que possui molibdênio como ânodo recebe o nome de tubo de molibdênio e produz raios X de comprimento de onda de 0,71705 Å. O espectro de raios X, gerado por uma fonte convencional, consiste de pelo menos três picos intensos sobrepostos a uma linha base contínua denominada de radiação branca (Figura 2.1).

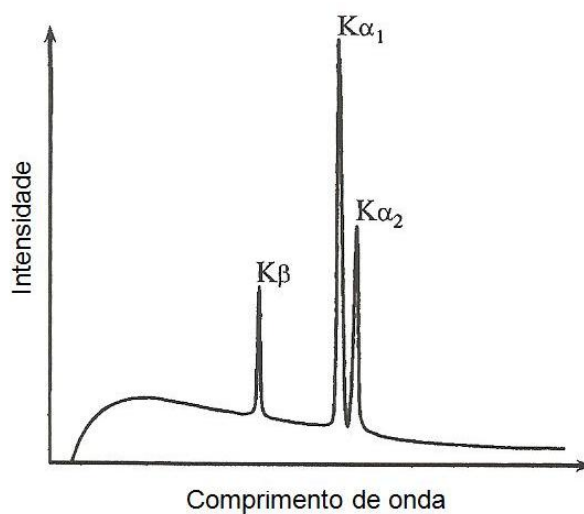


Figura 2.1. Representação esquemática de um espectro de emissão de raios X (PERCHASKY, 2005).

As três linhas características do espectro da Figura 2.1 resultam da transição de elétrons de camadas mais externas do átomo utilizado como alvo metálico para vacâncias em níveis de energia mais internos. Essas vacâncias surgem porque elétrons são ejetados da camada pelo impacto com um elétron acelerado no tubo. As diferenças de energia entre os vários níveis são específicas de cada elemento e, portanto, cada elemento químico emite raios X com um comprimento de onda característico (CHAGAS, 2010). A Tabela 2.1 exibe os comprimentos de onda de alguns materiais utilizados como ânodo.

Tabela 2.1. Comprimentos de onda característicos de quatro metais usados como ânodo.

Metal	Comprimento de onda / Å			
	$K\alpha_{\text{médio}}$	$K\alpha_1$	$K\alpha_2$	$K\beta$
Mo	0,71705	0,70931	0,71361	0,63230
Cu	1,54187	1,54059	1,54444	1,39225
Co	1,79030	1,78900	1,79289	1,62082
Fe	1,93739	1,93608	1,94002	1,75664

A radiação gerada pela transição de elétrons da camada L para a K é chamada de radiação $K\alpha$ e da camada M para a K é chamada de $K\beta$. A componente $K\alpha$ consiste de dois comprimentos de onda característicos chamados $K\alpha_1$ e $K\alpha_2$. Os comprimentos de onda indesejáveis $K\alpha_2$ e $K\beta$ podem ser removidos através do uso de monocromadores, que selecionam apenas o comprimento de onda de interesse. Porém, o uso de monocromadores reduz a intensidade da luz incidente e da difratada. Assim, na maioria dos experimentos de difração de raios X que utilizam fontes convencionais, $K\alpha_1$ e $K\alpha_2$ são aceitáveis porque a remoção completa de $K\alpha_2$ reduz substancialmente a intensidade do feixe incidente e aumenta o tempo de experimento necessário para se obter dados de alta qualidade.

Quando os raios X atravessam uma distância infinitesimal, dx , da amostra, sua intensidade reduz por uma fração infinitesimal dI/I , a qual pode ser definida pela seguinte equação diferencial:

$$\frac{dI}{I} = -\mu dx \quad (2.2)$$

onde μ é o coeficiente de absorção linear do material.

Integrando a Equação 2.2, obtêm-se a expressão para a intensidade transmitida (I_t) em função da intensidade incidente (I_0):

$$I_t = I_0 \exp(-\mu x) \quad (2.3)$$

2.1.3. Experimentos de difração

A interação de raios X com um cristal pode ser descrita como um efeito combinado de espalhamento e interferência. No experimento de difração, dois espalhamentos são observados: o espalhamento elástico ou espalhamento Thomson e o inelástico ou Compton. No espalhamento Thomson os elétrons absorvem energia do feixe de raios X incidente e o espalham em todas as direções, sem modificar seu comprimento de onda. No espalhamento Compton ocorre uma colisão inelástica o que modifica o comprimento de onda do fóton incidente. Quando os raios X são espalhados por um cristal também ocorre interferência entre os raios espalhados, que podem ser tanto construtiva quanto destrutiva. Na interferência construtiva os máximos e os mínimos das ondas que sofrem interferência coincidem e o feixe refletido apresenta maior intensidade. Na interferência destrutiva os máximos e os mínimos das ondas não coincidem e nenhuma intensidade é observada no padrão de difração.

A Figura 2.2 mostra um corte de um cristal cujos átomos estão arranjados em um conjunto de planos paralelos (A, B e C) perpendiculares ao plano do desenho e espaçados por uma distância d . Assumindo que um feixe paralelo e monocromático de raios X de comprimento de onda λ incida neste cristal a um ângulo θ , medido entre o raio incidente e o plano cristalino, a condição na qual o feixe incidente é difratado pelo cristal é fornecida pela Lei de Bragg.

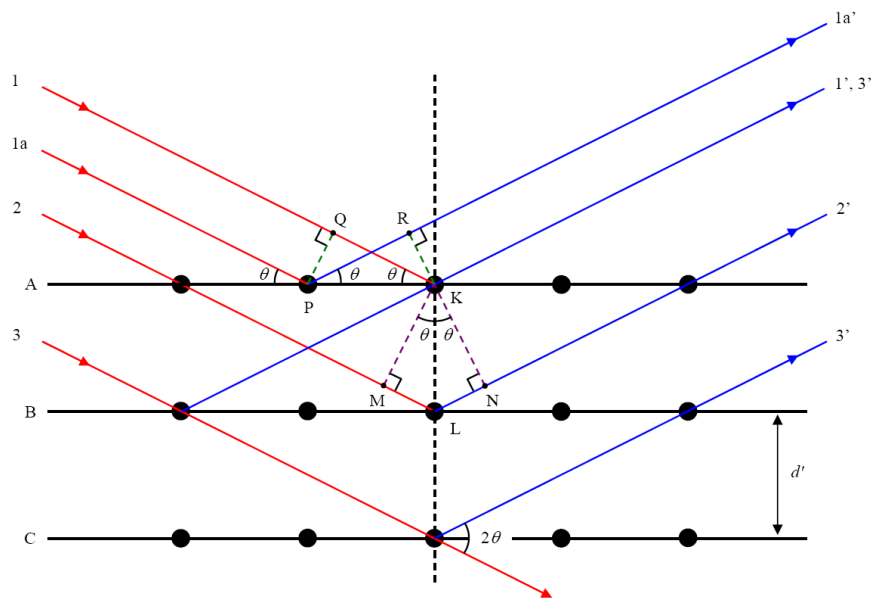


Figura 2.2. Difração de raios X por um cristal (VIÇOSA, 2011).

A diferença de caminho entre os raios incidentes 1 e 1a e os raios espalhados 1' e 1a' é dada por:

$$QK - PR = PK \cos \theta - PK \cos \theta = 0 \quad (2.4)$$

Isto significa que se os raios incidentes em um plano cristalino estão em fase, os raios espalhados também estão em fase.

A diferença de caminho entre os raios incidentes 1 e 2 e os raios espalhados 1' e 2' é dada por:

$$ML + LN = d' \sin \theta + d' \sin \theta = 2d' \sin \theta. \quad (2.5)$$

Para que a diferença de fase entre estes raios seja nula a diferença de caminho dada pela Equação 2.5 deve ser um múltiplo inteiro do comprimento de onda:

$$n\lambda = 2d' \sin \theta. \quad (2.6)$$

Esta equação é exatamente igual à obtida pela Lei de Bragg.

2.2. INTENSIDADE DO FEIXE DIFRATADO

A determinação da rede cristalina apropriada, cúbica de face centrada ou corpo centrado, por exemplo, requer informações das intensidades dos feixes difratados. O mais importante para proceder com a determinação completa da estrutura cristalina é entender a relação entre a intensidade de um feixe difratado por uma série de planos (hkl) e os átomos que compõem estes planos.

As intensidades dos feixes difratados variam de um tipo de radiação para outra e dependem dos seguintes fatores:

- da natureza da radiação;
- do ângulo de Bragg do feixe difratado;
- do poder de difração dos átomos presentes – o fator de espalhamento atômico;
- do arranjo dos átomos no cristal – o fator de estrutura;
- das vibrações térmicas dos átomos – o fator de temperatura;
- da espessura, forma e perfeição do cristal – o fator de forma, dentre outras.

Para explicar estes fatores é conveniente descrever a determinação das intensidades com relação à difração de raios X.

No caso de raios X, o feixe inicial é quase inalterado ao passar por um monocristal. Por esta razão é razoável assumir que cada fóton de raios X difratado é espalhado somente uma vez. O espalhamento novamente dos feixes difratados em direção ao feixe incidente é ignorado. Esta aproximação é a base da teoria de difração de raios X que é dependente de cálculos teóricos da intensidade do feixe difratado.

Os raios X são difratados preferencialmente pela densidade eletrônica de cada átomo. O espalhamento do feixe de raios X aumenta à medida que o número de elétrons, ou da mesma forma, o número atômico, Z , do átomo aumenta. Assim, os metais pesados tais como o chumbo, Pb ($Z = 82$) espalham raios X muito mais fortemente que átomos leves como o carbono, C ($Z = 6$). O poder de espalhamento atômico de um átomo por um feixe de raios X é chamado de fator de espalhamento atômico, f_a (TILLEY, 2006).

Verifica-se que o espalhamento é dependente do ângulo de espalhamento, sendo este uma função de $(\text{sen}\theta)/\lambda$, o qual usando a lei de Bragg é igual a $1/2d_{hkl}$. A curva do fator de espalhamento atômico para todos os átomos tem uma forma similar, como pode ser observado na Figura 2.3. Em $(\text{sen}\theta)/\lambda = \text{zero}$ o fator de espalhamento atômico é igual ao número atômico, Z , do elemento em questão.

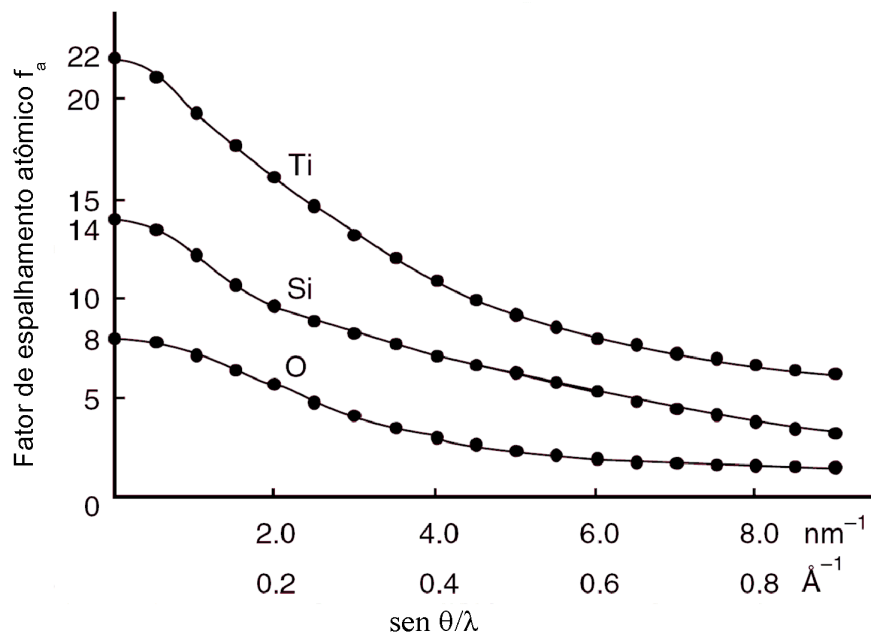


Figura 2.3. Fatores de espalhamento atômico para titânio (Ti), silício (Si), e oxigênio (O), em função de $(\text{sen}\theta)/\lambda$ (TILLEY, 2006).

Para obter a intensidade total da radiação espalhada pela célula unitária, o espalhamento de todos os átomos na mesma deve ser combinado. Isto é feito através da soma de todas as ondas espalhadas por cada série de planos hkl , para obter um valor chamado de fator de estrutura, $\vec{F}(hkl)$, para cada plano hkl .

A amplitude da radiação difratada espalhada por um átomo em um plano hkl é fornecida pelo valor de f_a apropriado para um valor correto de $(\text{sen}\theta)/\lambda$. Todavia, pelo fato dos átomos estarem em vários locais na célula unitária, as ondas espalhadas por cada átomo muitas vezes não estão em fase, o que é chamado diferença de fase entre as ondas.

A maneira pela qual as radiações espalhadas são somadas é governada pelas fases relativas de cada onda espalhada. A diferença de fase entre duas ondas espalhadas é

representada pelo ângulo de fase que é medido em radianos. Ondas que estão em fase têm um ângulo da fase 0 ou um múltiplo de 2π . Ondas que estão fora de fase apresentam uma diferença de fase de π ou um múltiplo ímpar de π . Se duas ondas com uma diferença de fase de 2π são somadas, o resultado é uma onda com o dobro de amplitude da original, enquanto que se a diferença de fase é π , o resultado é zero.

A diferença de fase entre as ondas espalhadas por dois átomos depende de suas posições relativas na célula unitária e das direções ao longo da qual as ondas se somam. As direções de importância estão especificadas pela equação de Bragg, que, por simplicidade são indicadas pelos índices dos planos hkl envolvidos no espalhamento. A fase da onda espalhada por um átomo A na posição x_A, y_A, z_A , no feixe refletido hkl é:

$$2\pi(hx_A + ky_A + lz_A) = \phi_A \quad (2.7)$$

onde x_A, y_A, z_A são as coordenadas fracionais com relação aos eixos da célula unitária, como é normalmente usado. Quando as ondas espalhadas por todos os átomos da célula unitária são somadas, a forma resultante da onda dependerá do poder de espalhamento dos átomos envolvidos e as fases individuais de todas as ondas separadas.

O espalhamento de um átomo A é representado pelo vetor \vec{f}_A que tem um tamanho igual à amplitude espalhada, f_A , e um ângulo de fase ϕ_A . Para desenhar um diagrama, um vetor \vec{f}_A , de comprimento f_A , é desenhado em um ângulo ϕ_A em uma direção anti-horária ao eixo horizontal ($-x$). A fim de retratar o espalhamento completo de uma célula unitária, o espalhamento de cada um dos N átomos na célula é representado pelos vetores \vec{f}_n , de comprimento f_n , desenhados em um ângulo ϕ_n , da horizontal, aonde n vai de 1 a N . O comprimento do vetor $\vec{F}(hkl)$ é escrito como $F(hkl)$. Percebe-se que o valor de ϕ_{hkl} é igual à soma de todos os ângulos de fase, ϕ_n , das ondas espalhadas pelos n átomos. A Figura 2.4 mostra a soma das ondas espalhadas por cinco átomos hipotéticos A, B, C, D e E.

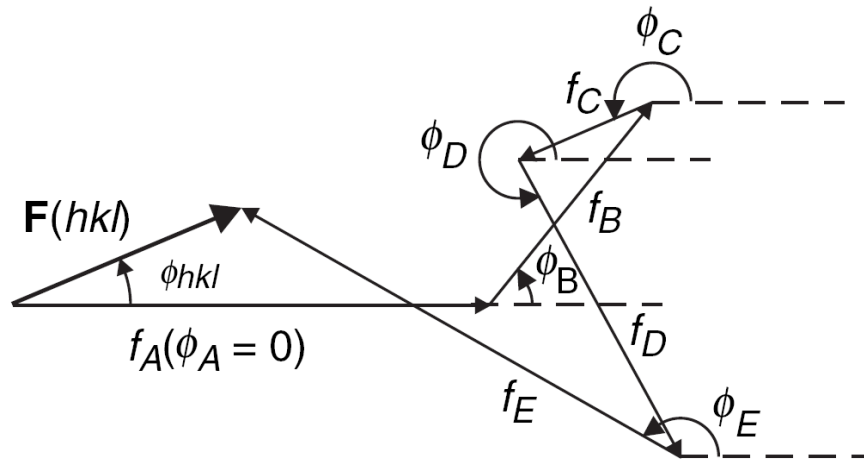


Figura 2.4. Soma das ondas espalhadas por cinco átomos hipotéticos A, B, C, D e E (TILLEY, 2006).

O método gráfico descrito fornece uma visão do espalhamento de uma célula unitária, mas é impraticável como um método para o cálculo das intensidades das ondas difratadas. A soma algébrica pode ser usada para este fim. A maneira mais simples de realizar isto é expressar a onda espalhada como uma amplitude complexa f_A :

$$\vec{f}_A = f_A \exp[2\pi i(hx_A + ky_A + lz_A)] = f_A e^{i\phi_A} \quad (2.8)$$

A Equação 2.8 pode ser escrita de forma semelhante como um número complexo:

$$\vec{f}_A = a_{hkl} + ib_{hkl} \quad (2.9)$$

$$\vec{f}_A = f_A \{ \cos \phi_A + i \operatorname{sen} \phi_A \} \quad (2.10)$$

$$\vec{f}_A = f_A \{ \cos[2\pi(hx_A + ky_A + lz_A)] + i \operatorname{sen}[2\pi(hx_A + ky_A + lz_A)] \} \quad (2.11)$$

Esta representação do espalhamento pode ser desenhada como um diagrama de Argand usado para descrever números complexos. Este diagrama pode ser visualizado na Figura 2.5.

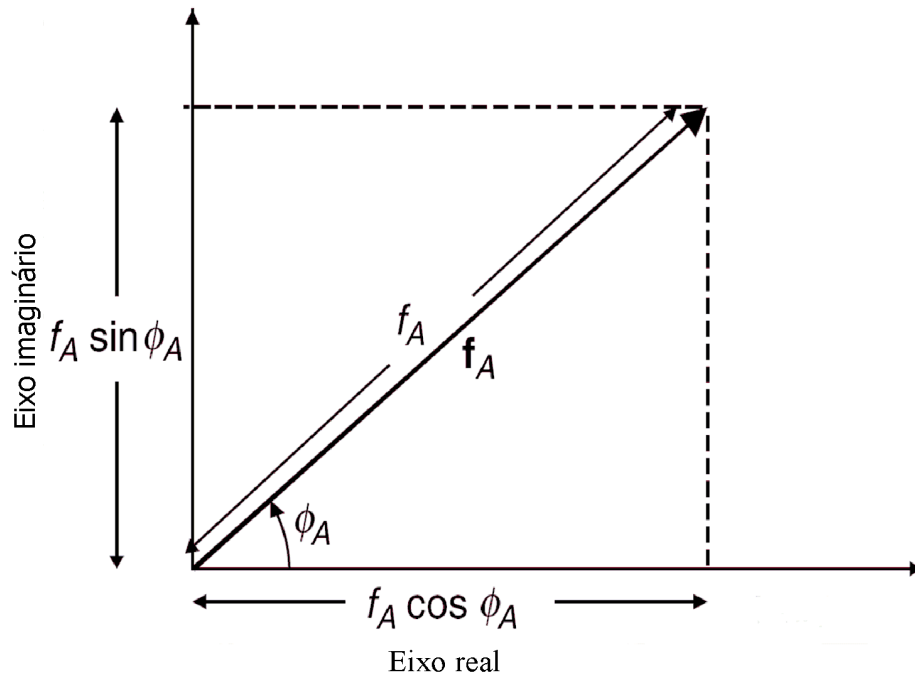


Figura 2.5. Representação de \vec{f}_A como um número complexo em um diagrama de Argand (TILLEY, 2006).

Desta forma, o espalhamento total de uma célula unitária contendo N átomos diferentes é:

$$\vec{F}(hkl) = \sum_{n=1}^N f_n \exp[2\pi i(hx_n + ky_n + lz_n)] \quad (2.12)$$

$$\vec{F}(hkl) = F(hkl)e^{i\phi_{hkl}} = \sum_{n=1}^N f_n \cos 2\pi(hx_n + ky_n + lz_n) + i \sum_{n=1}^N f_n \sin 2\pi(hx_n + ky_n + lz_n) \quad (2.13)$$

$$\vec{F}(hkl) = A_{hkl} + iB_{hkl} \quad (2.14)$$

onde hkl são os índices de Miller do plano. O somatório é realizado sobre todos N átomos na célula unitária, cada um tendo um fator de espalhamento atômico. A magnitude do espalhamento é $F(hkl)$, o módulo de $\vec{F}(hkl)$.

A intensidade espalhada por todos os átomos na célula unitária, $I_o(hkl)$, é escrita como $|\vec{F}(hkl)|^2$, ou seja, o módulo de $\vec{F}(hkl)$ ao quadrado.

$$I_o(hkl) \propto |\vec{F}(hkl)|^2 = F(hkl)^2 \quad (2.15)$$

$$I_o(hkl) = \left\{ \sum_{n=1}^N f_n \exp[2\pi i(hx_n + ky_n + lz_n)] \right\}^2 \quad (2.16)$$

$$I_o(hkl) = \left\{ \sum_{n=1}^N f_n \cos 2\pi(hx_n + ky_n + lz_n) + i \sum_{n=1}^N f_n \sin 2\pi(hx_n + ky_n + lz_n) \right\}^2 \quad (2.17)$$

$$I_o(hkl) = A_{hkl}^2 + B_{hkl}^2 \quad (2.18)$$

Se a célula unitária tem centro de simetria os termos relativos ao seno, B_{hkl}^2 , podem ser omitidos, uma vez que sua soma será igual à zero.

2.2.1. Simetria e intensidades das reflexões

Os átomos na célula unitária determinam a intensidade de um feixe de radiação difratado através do fator de estrutura, como descrito anteriormente. Isto significa que haverá relações entre os vários valores de $\vec{F}(hkl)$ que surgirão por causa da simetria da célula unitária. A simetria da estrutura, portanto, terá uma parte importante na intensidade difratada. Uma consequência disto é a Lei de Friedel que afirma que os fatores de estrutura, \vec{F} , do par de reflexões hkl e $\bar{h}\bar{k}\bar{l}$ são iguais em magnitude, mas tem fases opostas. Isto é:

$$F(hkl) = F(\bar{h}\bar{k}\bar{l}); \quad \phi_{hkl} = -\phi_{\bar{h}\bar{k}\bar{l}} \quad (2.19)$$

Tais pares de reflexões são chamados de pares de Friedel (GIACOVAZZO, 2002). Por causa disto, as intensidades podem ser expressas como:

$$F(hkl)^2 = I_o(hkl) = F(\bar{h}\bar{k}\bar{l})^2 = I_o(\bar{h}\bar{k}\bar{l}) \quad (2.20)$$

As intensidades dos pares de Friedel são iguais. Isto leva um padrão de difração de um cristal parecer centrossimétrico mesmo para cristais que não tenham centro de simetria.

A consequência mais importante dos elementos de simetria presentes em um cristal é que alguns planos hkl têm $F(hkl) = \text{zero}$ e assim nunca darão origem a um feixe difratado,

independente dos átomos que estejam presentes. Esta “falta” de feixes difratados é chamada de ausências sistemáticas.

2.3. DETERMINAÇÃO DE ESTRUTURA CRISTALINA USANDO A DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Como discutido anteriormente, para gerar uma estrutura é necessário recombinar os feixes que compõem o padrão de difração. Infelizmente, isto não pode ser realizado por meio de lentes, e o processo é feito então matematicamente.

Um monocristal do material, de tamanho milimétrico, é colocado em um equipamento que utiliza raios X para ser difratado. Cada plano de átomos no cristal dá origem a um feixe difratado. A posição e a intensidade de cada feixe são gravadas. Este conjunto de dados, chamado de arquivo hkl , compreende posição, intensidade e um índice hkl . O problema é converter matematicamente o conjunto de dados em um mapa de densidade eletrônica. A forma como isto é feito é similar àquela descrita para a formação da imagem na microscopia eletrônica. As contribuições de toda a série de reflexões hkl são adicionadas.

A amplitude de onda total, $\vec{F}(hkl)$, espalhada por N espalhadores, é dada pela soma das amplitudes de ondas espalhadas por cada espalhador:

$$\vec{F}(hkl) = \sum_{n=1}^N f_n \exp[2\pi i(hx_n + ky_n + lz_n)] \quad (2.21)$$

Se este conjunto de espalhadores são os elétrons em um cristal, o termo \vec{F} é denominado de fator de estrutura e f_n é o fator de espalhamento atômico como foi concluído anteriormente.

Os raios X são espalhados principalmente pelos elétrons, portanto, em um cristal as espécies espalhadoras de raios X não podem ser consideradas como espalhadores pontuais, mas sim como uma densidade eletrônica $\rho(x, y, z)$ cuja unidade é expressa em elétrons por volume. Considerando volumes infinitesimais dv , a carga pontual efetiva de elétrons

(densidade eletrônica) é dada por $\rho(x, y, z)dv$. Desta forma a amplitude da onda espalhada por esta quantidade será $\rho(x, y, z)dv$ vezes a amplitude de um único elétron na mesma posição. Para obter-se a amplitude total de uma distribuição eletrônica faz-se uma integral desta quantidade sobre todo o volume do espaço onde a densidade eletrônica não é nula. A amplitude total da distribuição de densidade eletrônica $\rho(x, y, z)$, expressa como fração de um elétron pontual na origem (DINIZ, 2003), é dada por:

$$F(hkl) = \int_v \rho(x, y, z) \exp[2\pi i(hx_n + ky_n + lz_n)] dv \quad (2.22)$$

onde a integração é sobre o volume do espaço em que $\rho(x, y, z)$ é não nulo. Se esta equação for comparada à expressão da transformada de Fourier abaixo:

$$F(s) = \int_v f(r) \exp(2\pi i\vec{s} \cdot \vec{r}) dv \quad (2.23)$$

pode-se perceber que $F(hkl)$ é a transformada de Fourier de $\rho(x, y, z)$. Isto indica que a transformada inversa também é válida, ou seja, a densidade eletrônica de um cristal é a transformada de Fourier inversa da amplitude da onda espalhada em um experimento de difração de raios X.

$$\rho(x, y, z) = \int_{v^*} F(hkl) \exp[-2\pi i(hx_n + ky_n + lz_n)] dv^* \quad (2.24)$$

onde a integração é feita sobre o volume do espaço recíproco.

O valor $F(hkl)$ é obtido facilmente, uma vez que é igual à raiz quadrada da intensidade medida. Todavia a diferença de fase não pode ser obtida a partir do experimento. Este fato tem sido o desafio dos cristalógrafos e é conhecido como o problema das fases. Para solucionar este problema existem métodos descritos na literatura como o método do metal pesado ou método de Patterson (EGERT, 1983; PATTERSON, 1934) e os Métodos Diretos (GIACOVAZZO, 2002).

O procedimento para determinação estrutural de um monocristal através do experimento de difração de raios X pode ser resumido nas seguintes etapas:

- Obter uma série precisa de valores de intensidades no experimento;
- Determinar a célula unitária e o índice de reflexões difratadas em termos de hkl . Determinar o grupo espacial do cristal usando ausências sistemáticas;

- Construir um modelo possível do cristal usando conhecimento químico e através da resolução do problema das fases;
- Comparar as intensidades, ou mais usualmente, os fatores de estrutura (o calculado através do modelo estrutural matemático usado) e o obtido experimentalmente;
- Ajustar as posições atômicas no modelo até se obter uma boa concordância entre os valores observados e os calculados. Este processo é chamado de refinamento. A estrutura cristalina é geralmente considerada satisfatória quando, no processo de refinamento, um valor baixo do coeficiente de correlação, R (Equação 2.25), do coeficiente de correlação ponderado, wR (Equação 2.26), e da qualidade de ajuste de perfil, S (Equação 2.27), (SHELDRICK, 1997) são obtidos.

$$R = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|} \quad (2.25)$$

$$wR = \left\{ \frac{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2]}{\sum [w(F_o^2)^2]} \right\}^{1/2} \quad (2.26)$$

$$S = \left\{ \frac{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2]}{(n - p)} \right\}^{1/2} \quad (2.27)$$

$$w = \frac{1}{\left[\sigma^2(F_o^2) + (aP)^2 + bP \right]} \quad \text{onde } P = \frac{\left[2F_c^2 + \text{Max}(F_o^2, 0) \right]}{3} \quad (2.28)$$

em que F_o é o fator de estrutura observado; F_c é o fator de estrutura calculado; w é o peso dado para as reflexões (Equação 2.28); n é o número de reflexões utilizadas no refinamento e p é o número de parâmetros refinados. De acordo com a comunidade cristalográfica um bom refinamento é obtido quando R for menor que 0,05; wR for menor que 0,15 e S se aproximar de 1.

2.4. DESORDEM EM CRISTAIS

Um cristal ideal, ou seja, aquele no qual cada célula unitária que o compõem tem exatamente a mesma orientação com todas as moléculas na mesma conformação, não existe. Na maioria dos cristais reais há defeitos ou impurezas na rede cristalina. Frequentemente, partes das moléculas (ou em alguns casos extremos moléculas inteiras) são encontradas em mais de uma orientação independente cristalograficamente. Podem-se citar três casos: mais que uma molécula por unidade assimétrica, gemação e desordem (MULLER, 2006).

No caso de desordem a orientação de alguns átomos difere aleatoriamente dos seus correspondentes em posição ou orientação. A estrutura determinada através de um padrão de difração é a média espacial feita sobre todo o cristal. Na maioria dos casos, desordem afeta apenas pequena parte das moléculas como cadeias laterais orgânicas que apresentam grande liberdade para girar. Desordem em moléculas de solventes livres localizadas em cavidades na estrutura cristalina também é muito comum.

2.4.1. Tipos de desordem

Em princípio, podem-se distinguir dois tipos de desordem (MULLER, 2006):

- (1) Desordem substitucional
- (2) Desordem posicional: estática ou dinâmica

2.4.1.1. Desordem substitucional

A desordem substitucional descreve uma situação em que o mesmo sítio é ocupado por átomos diferentes em diferentes células unitárias (MULLER, 2006). Este tipo de desordem é especialmente conhecida em minerais e alguns cristais de sais. Por exemplo: em algumas zeólitas os átomos de Al e Si ocupam o mesmo sítio (NEUHOFF, 2003).

O refinamento de desordem substitucional é relativamente fácil, a grande dificuldade é reconhecer a ocorrência desta desordem. O alerta mais claro desta desordem (e na maioria dos casos o único) refere-se ao parâmetro de vibração anisotrópico, que para o átomo que ocupa o sítio cristalográfico compartilhado é muito maior do que o observado para os demais átomos da rede cristalina.

2.4.1.2. Desordem posicional

A desordem posicional é o caso “normal” de desordem: um átomo ocupa mais de um sítio cristalográfico (MULLER, 2006). Esta desordem pode acontecer em uma única célula unitária (desordem dinâmica, um movimento real no estado sólido) ou ser distribuída entre diferentes células unitárias (desordem estática).

No caso da desordem posicional estática a molécula pode possuir duas (ou raramente mais) conformações bem definidas similares em termos energéticos. Como é a média espacial que é utilizada para o refinamento vê-se uma superposição de ambas as conformações. As duas posições aparecem como sítios atômicos divididos. Uma vez reconhecida, tal desordem é refinada com relativa facilidade.

Desordem posicional dinâmica é um pouco mais complicada que a estática. Se todo ângulo rotacional, por exemplo, de um grupo butil terminal é energeticamente semelhante e não há nenhum impedimento estérico, este grupo de átomos pode girar livremente no cristal (pelo menos em temperatura ambiente). É difícil descrever esta situação no programa de refinamento. Normalmente o problema se reduz a um refinamento de apenas dois ou três

sítios por átomo e se aceita um elipsóide de vibração anisotrópico alongado. Felizmente, em muitos casos, a desordem posicional dinâmica pode ser evitada ou pelo menos reduzida através da medida das intensidades difratadas do cristal em baixas temperaturas (em torno de 150 K).

2.4.2. Refinamento de estruturas desordenadas

Normalmente a solução e o refinamento inicial de uma parte da estrutura desordenada não são problemáticos. No entanto, os elipsóides derivados dos parâmetros de vibração anisotrópicos podem ser atribuídos pelo programa de forma incorreta, uma vez que o programa tenta descrever dois ou mais sítios atômicos com somente um elipsóide (Figura 2.6) e a presença de picos de densidade eletrônica residual relativamente alta próximos aos átomos desordenados não é incomum (MULLER, 2006).

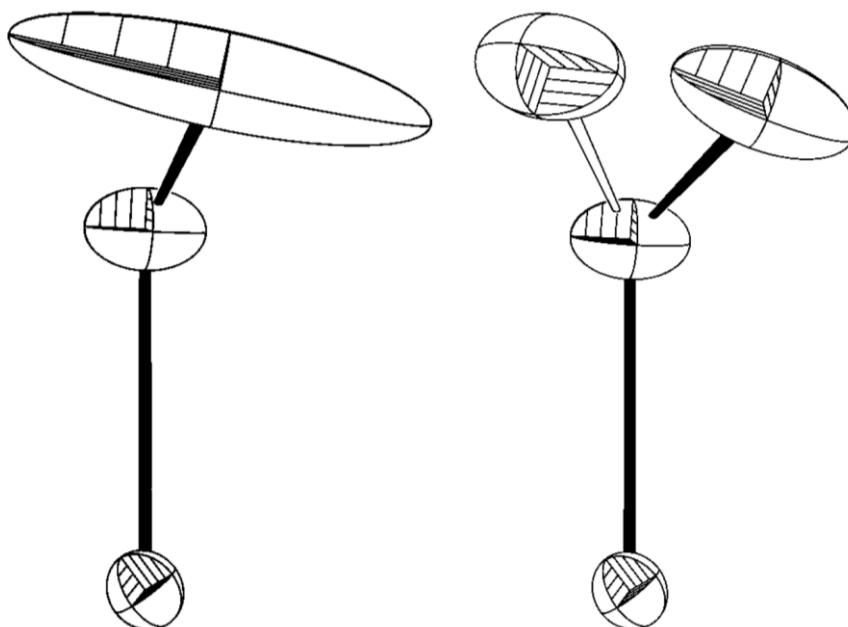


Figura 2.6. Parâmetros de vibração anisotrópicos de um grupo etil desordenado: à esquerda sem tratamento de desordem e à direita com tratamento de desordem. Note que sem o tratamento de desordem o programa tenta descrever ambas as posições atômicas com um elipsóide extremamente achatado (MULLER, 2006).

Para descrever uma desordem é suficiente, na maioria dos casos, conhecer duas posições de ocupação diferentes para cada átomo desordenado. O princípio do refinamento de desordem é simples. O programa precisa saber duas séries de coordenadas (que são as posições) de cada átomo juntamente com a sua ocupação relativa (que é a razão de ocupação daquele determinado átomo naquela célula unitária). As ocupações relativas podem ser dadas ou refinadas, sendo a última impossível para alguns programas de refinamento. Encontrar as coordenadas dos componentes é frequentemente muito mais complicado que identificar a desordem. Neste contexto, é sempre uma boa idéia refinar a desordem inicialmente com os parâmetros térmicos isotrópicos.

2.4.2.1. Refinamento de desordem através do programa SHELXL (SHELDRICK, 1997)

O programa SHELXL (SHELDRICK, 1997) refina desordem dividindo os átomos desordenados em grupos, os componentes da desordem. As ocupações de grupos desordenados têm permissão para serem refinadas livremente. Junto com a instrução PART, a introdução das chamadas variáveis livres faz o refinamento das desordens serem fácil e universal. Para uma melhor compreensão, o refinamento de desordem posicional com apenas dois componentes será descrita.

- A instrução PART

A instrução PART no arquivo.ins divide os átomos desordenados em dois ou mais grupos. Assim, cada grupo representa um componente da desordem e ambos os grupos contêm os mesmos átomos, mas em locais diferentes. Em frente ao primeiro átomo desordenado escreve-se PART 1 imediatamente seguido por todos os átomos do primeiro componente. Antes dos átomos do segundo componente escreve-se PART 2. Depois de todos os átomos desordenados escreve-se PART 0 para indicar o fim das divisões. Na etapa seguinte a razão dos dois componentes deve ser levada em conta. Se a desordem não envolve qualquer posição especial, a ocupação de ambos os componentes podem possuir qualquer razão. É importante, contudo, que os fatores de ocupação somem exatamente um.

A ocupação é refinada com a ajuda de uma variável livre dada no arquivo.ins. A linha que procede diretamente o primeiro átomo no arquivo.ins começa com FVAR e contém o fator de escala, também conhecido como primeira variável livre. Para o refinamento de uma desordem o fator de escala deve ser seguido de uma segunda variável livre, cujo valor está entre 0 e 1, que descreve a fração de células unitárias no cristal que mostra a conformação descrita na PART 1. Isto significa que a segunda variável livre é equivalente a ocupação dos átomos em um componente. Por exemplo, um valor de 0,6 para a segunda variável livre corresponde a uma razão de 0,6:0,4, descrevendo uma desordem de 60-40%. Os valores das variáveis livres são refináveis, mas é preciso estimar um valor inicial. O valor de 0,5 é sempre um valor de partida razoável para esta variável (MULLER, 2006).

Finalmente os fatores de ocupação dos átomos desordenados devem ser escritos para referirem-se a segunda variável livre. Isto é feito alterando o valor do fator de ocupação de 11.0000 para 21.0000 para os átomos na PART 1 e de 11.0000 para -21.0000 para os átomos da PART 2. O fator de ocupação é escrito para cada átomo na sexta coluna do arquivo.ins. 21.0000 significa que o fator de ocupação é 1.0000 vezes o valor da segunda variável livre, enquanto -21.0000 define o fator de ocupação para 1 menos o valor da segunda variável livre, completando a desordem.

CAPÍTULO 3:
PARTE EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. SÍNTESES

3.1.1. Sínteses envolvendo o fármaco Hidroclorotiazida

3.1.1.1. Síntese de monocristais de hidroclorotiazida

Inicialmente utilizou-se a síntese hidrotérmica para a obtenção de um complexo entre o fármaco hidroclorotiazida e o íon Zn^{2+} , mas ao final da síntese, os monocristais obtidos retratavam a estrutura cristalina do fármaco hidroclorotiazida puro. Nesta síntese, misturou-se uma solução de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (0,07 mmol) a uma solução do fármaco hidroclorotiazida (0,07 mmol) em água. A rampa de aquecimento usada teve início em 25°C. A temperatura foi aumentada até 130°C durante aproximadamente 3 horas e mantida constante por 26 horas. O retorno à temperatura ambiente foi feito em 40 horas. Ao final deste processo observou-se a formação de alguns cristais incolores adequados para a análise por difração de raios X de monocristal.

3.1.1.2. Síntese do complexo hidroclorotiazida com Zn^{2+} (HIDZn)

Solubilizou-se cerca de 23 mg de $ZnCl_2$ (0,14 mmol) e 50 mg do fármaco hidroclorotiazida (0,14 mmol) em 12 mL de etanol e água. Esta mistura foi acondicionada em

um recipiente de teflon e levada para o interior de uma estufa. A rampa de aquecimento usada teve início em 25°C. A temperatura foi aumentada até 140°C durante 12 horas e mantida constante por 30 horas. O retorno à temperatura de 25°C foi feito em aproximadamente 2 horas. Ao final deste processo observou-se a formação de um precipitado branco.

3.1.2. Sínteses envolvendo o fármaco Clortalidona

3.1.2.1. Síntese de monocristais de clortalidona

O objetivo inicial desta síntese foi a obtenção de um complexo entre o fármaco clortalidona e o íon Zn^{2+} , entretanto, os monocristais obtidos indicaram a presença apenas do fármaco clortalidona puro. Estes monocristais foram obtidos pela mistura lenta de uma solução de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (1 mmol) em uma solução do fármaco clortalidona (1 mmol) usando água como solvente. Após alguns dias observou-se a formação de alguns cristais incolores apropriados à análise por difração de raios X de monocristais.

3.1.2.2. Síntese de um novo derivado da clortalidona (etil-clortalidona)

Para a síntese do composto etil-clortalidona utilizou-se um recipiente de teflon presente no interior de uma autoclave e uma estufa para aquecimento. Uma solução de $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (1 mmol) foi misturada a uma solução do fármaco clortalidona (2 mmol) em etanol e água (1:1). O aquecimento da estufa teve início em 25°C e a temperatura foi aumentada gradativamente até 110°C, mantendo-se assim durante 30 horas. Após 30 horas o

sistema foi resfriado até a temperatura ambiente. Ao se retirar a solução, observou-se a formação de alguns cristais incolores, apropriados à análise por difração de raios X.

3.1.2.3. Síntese do complexo clortalidona com Zn^{2+} (CLOZn)

Utilizou-se a síntese hidrotérmica para obtenção do composto CLOZn. Foi misturada uma solução de $ZnCl_2$ (1 mmol) a uma solução do fármaco clortalidona (1 mmol) em água. A rampa de aquecimento usada teve início em $25^\circ C$. A temperatura foi aumentada até $150^\circ C$ durante 5 horas e mantida constante por 20 horas. O retorno à temperatura de $25^\circ C$ foi feita em 15 horas. Ao final deste processo observou-se a formação de um precipitado branco.

3.1.3. Sínteses envolvendo o fármaco Maleato de Enalapril

3.1.3.1. Síntese do complexo hidrogeno-maleato com Zn^{2+} (MAZn)

O complexo MAZn foi obtido por mistura simples e lenta de uma solução de $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ (1 mmol) em uma solução do fármaco maleato de enalapril (1 mmol) usando água e etanol como solventes. A solução resultante foi deixada em repouso por cerca de 20 dias e após este período observou-se a formação de alguns cristais incolores apropriados à análise por difração de raios X de monocristal.

3.1.3.2. Síntese do complexo enalapril com Zn^{2+} (ENAZn)

A síntese do complexo ENAZn realizou-se em duas etapas:

1ª etapa: retirada do maleato com a formação do complexo MABa.

Uma vez que o interesse principal deste projeto é a análise da complexação do princípio ativo do fármaco com o zinco, a retirada do maleato é fundamental. Para realizar esta síntese utilizou-se o trabalho de Jiang-Lin Zheng (ZHENG, 2007) que descreve um complexo de maleato com o íon Ba^{+2} com aproximadamente 100% de rendimento. Uma mistura do fármaco maleato de enalapril e $BaCO_3$ (em uma relação estequiométrica de 1:1 utilizando água e etanol como solventes) foi levada a reagir por 72 horas a $45^\circ C$ com agitação. Após uma semana observou-se que a solução tornou-se turva e após um mês ocorreu a formação de um precipitado bem fino (MABa). Este precipitado foi filtrado e a solução restante utilizada para a 2ª etapa da síntese.

2ª etapa: formação do complexo ENAZn.

Levou-se a solução restante da etapa 1 ao rota-vapor de maneira que ficasse o mais concentrada possível. Preparou-se uma solução de $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$ utilizando-se um excesso de três vezes deste sal metálico. Esta solução foi adicionada por mistura simples e lenta a solução concentrada restante da etapa 1 e após uma semana observou-se a formação de alguns cristais incolores aptos à análise por difração de raios X de monocristal.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

3.2.1. Reagentes

Todos os reagentes são da Aldrich com alto grau de pureza (PA), com exceção da clortalidona que foi fornecida pela farmácia universitária da Universidade Federal de Juiz de Fora.

3.2.2. Análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e cloro (CHNCl)

A análise elementar de C, H, N e Cl foram realizadas em um analisador Perkin-Elmer 2400, na central analítica da Universidade de São Paulo.

3.2.3. Espectros vibracionais

3.2.3.1. Espectros vibracionais na região do infravermelho (IV)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram registrados em um espectrômetro FT-IR Bomem MB102 na região de $4000-400\text{ cm}^{-1}$ com uma média de 64 varreduras e 4 cm^{-1} de resolução espectral utilizando como suporte pastilhas de KBr.

3.2.3.2. Espectros vibracionais Raman

As análises de espectroscopia Raman foram realizadas utilizando um instrumento Brucker RFS 100 equipado com um laser Nd³⁺ / YAG operando em 1064 nm, no infravermelho próximo, e um detector CCD resfriado com nitrogênio líquido, com uma média de 512 acumulações e 4 cm⁻¹ de resolução espectral.

3.2.4. Análises térmicas

3.2.4.1. TG / DTA

Os dados das análises térmicas (TG e DTA) foram coletados em um equipamento Shimadzu TG-60 utilizando 6,0 mg de amostra acondicionada em cadinho de platina. As amostras foram aquecidas a 10 °C/min da temperatura ambiente até 900 °C em uma atmosfera dinâmica de nitrogênio (vazão = 50 mL/min).

3.2.4.2. Análise por calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os dados da análise por calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram coletados em um equipamento Shimadzu DSC-60 utilizando 6,0 mg de amostra acondicionada em cadinho de alumínio. Apenas o composto ENAZn foi analisado por esta técnica. Este

composto foi resfriado até -100°C e depois aquecido desta temperatura baixa até a ambiente em uma atmosfera dinâmica de nitrogênio (vazão = 50 mL/min).

3.2.5. Análise por ressonância magnética nuclear (RMN)

A análise por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C foi realizada em um equipamento de Ressonância Magnética Nuclear da Brücker de 300 MHz em DMSO-d_6 para o composto etil-clortalidona.

3.2.6. Difração de raios X

3.2.6.1. Difração de raios X por monocristais

Os dados de difração de raios X de monocristais de todos os compostos foram obtidos em um difratômetro Oxford GEMINI A - Ultra com detector CCD pertencente ao Laboratório de Cristalografia (LabCri), localizado no Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais. Utilizou-se para as medidas a radiação $\text{K}\alpha\text{Mo}$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e a $\text{K}\alpha\text{Cu}$ ($\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$), em baixa temperatura (150 K) e em temperatura ambiente (298 K). Para coleta dos dados, redução e refinamento das células unitárias, utilizou-se o programa CrysAlis RED, Oxford diffraction Ltda – Version 1.171.32.38 (CRYSTALIS PRO, 2010). As estruturas foram resolvidas e refinadas utilizando-se SHELXL-97 (SHELDRICK, 1997). O parâmetro empírico x de correção de extinção isotrópica foi refinado de acordo com o método descrito por Larson (LARSON, 1970). Foi aplicada a correção de absorção multiscan (BLESSING, 1995). Foram atribuídos os parâmetros de deslocamento anisotrópico a todos os átomos não-

hidrogenóides. Átomos de hidrogênio foram localizados a partir dos mapas da diferença de Fourier e os parâmetros de deslocamento isotrópico foram refinados em grupo ou fixados. As estruturas foram desenhadas utilizando-se os programas ORTEP-3 for Windows (FARRUGIA, 1997) e MERCURY (MACRAE, 2006).

3.2.6.2. Difração de raios X por policristais

Os compostos clortalidona e ENAZn foram analisados em um difratômetro Rigaku – Geiger Flex, com tubo de cobre ($K\alpha = 1,54056 \text{ \AA}$), monocromador de grafite e geometria de Bragg-Brentano, no Laboratório de Cristalografia do Departamento de Física da UFMG. As fendas utilizadas em todas as medidas foram $DS = 1^\circ$, $SS = 1^\circ$, $RS = 0,6^\circ$ e $RSm = 0,8^\circ$. A tensão aplicada foi de 40 kV e a corrente de 30 mA.

CAPÍTULO 4:
RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. COMPOSTOS DO FÁRMACO HIDROCLOROTIAZIDA

4.1.1. Monocristais de hidroclorotiazida

a) Espectros vibracionais e análise elementar de CHN

As análises espectroscópicas vibracionais na região do infravermelho e Raman (Figuras 4.1 e 4.2, respectivamente) forneceram indícios de que os monocristais obtidos nesta síntese retratavam o fármaco hidroclorotiazida puro. Isso também pôde ser observado pela análise elementar de CHN para este composto exposta na Tabela 4.1.

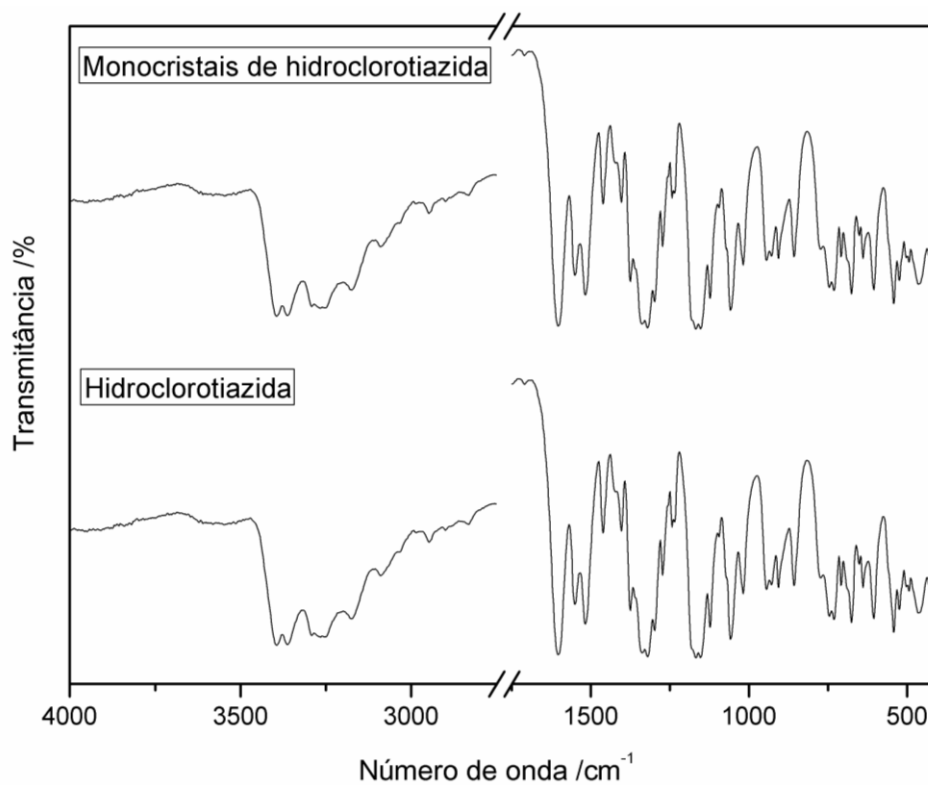


Figura 4.1. Espectro de absorção na região do infravermelho dos monocristais de hidroclorotiazida e do fármaco hidroclorotiazida.

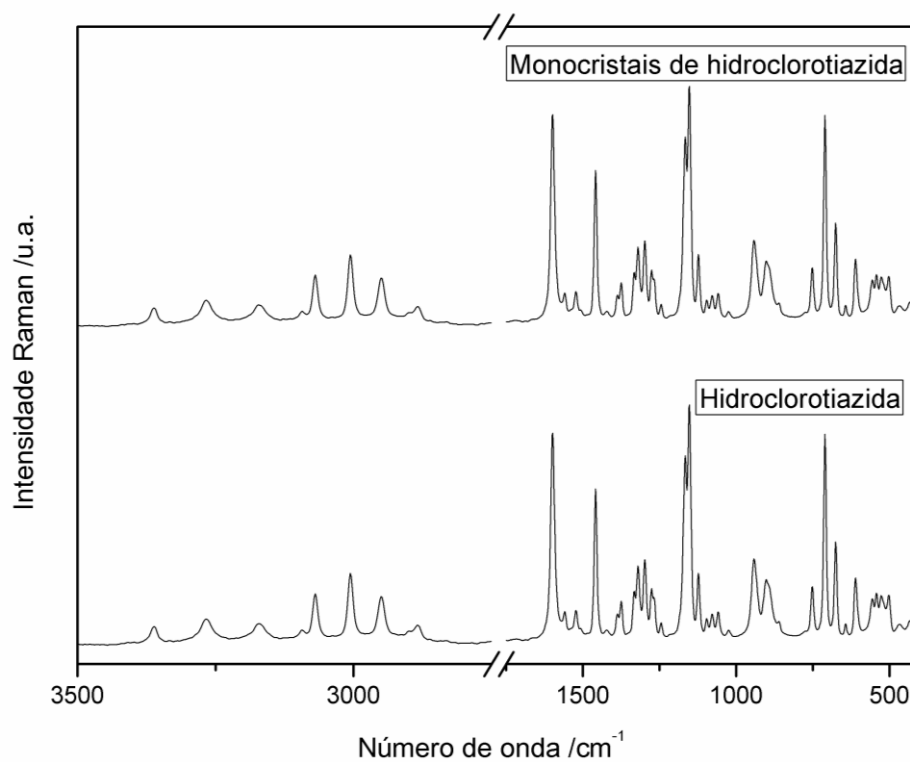


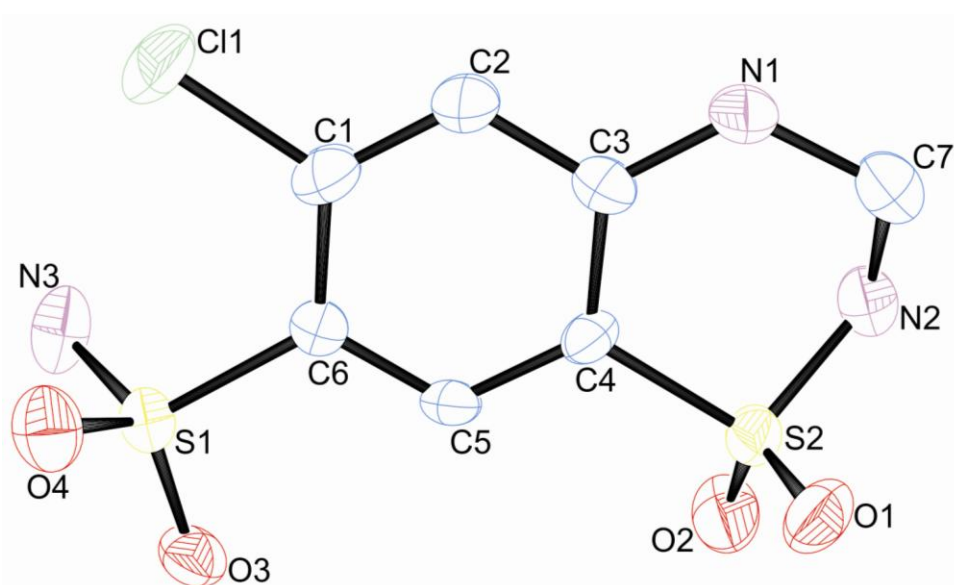
Figura 4.2. Espectro Raman dos monocristais de hidroclorotiazida e do fármaco hidroclorotiazida.

Tabela 4.1. Análise elementar de CHN dos monocristais de hidroclorotiazida.

	C (%)	H (%)	N (%)
Experimental	28,27	2,66	13,99
Calculado	28,24	2,71	14,11
Erro (%)	0,11	1,85	0,85

b) Difração de raios X de monocristal

A difração de raios X de monocristal esclareceu a suspeita inicial de que o fármaco hidroclorotiazida não havia se complexado ao sítio metálico, uma vez que, após o refinamento dos dados obtidos foi encontrado a estrutura cristalina do fármaco hidroclorotiazida puro, conforme Dupont já havia descrito (DUPONT, 1972). A estrutura cristalina encontra-se na Figura 4.3.

**Figura 4.3.** Estrutura cristalina da hidroclorotiazida (DUPONT, 1972).

A estrutura cristalina da hidroclorotiazida é estabilizada por ligações de hidrogênio intermoleculares do tipo N-H...O entre N3-H3B...O1^{iv} e N2-H2A...O3^{iv} ao longo do plano *bc*, que geram um arranjo 2D (Figura 4.4) e por ligações de hidrogênio não convencionais do tipo C-H...O entre C2-H2...O2ⁱⁱⁱ (Figura 4.5) que consolidam o arranjo tridimensional do fármaco (Códigos de simetria: (i) $1-x, -1,5+y, 2-z$; (ii) $x, -2+y, z$; (iii) $x, -1+y, z$; (iv) $1-x, -1/2+y, 2-z$ e (i) $-2+x, y, z$; (ii) $-3+x, y, z$; (iii) $-1+x, y, z$).

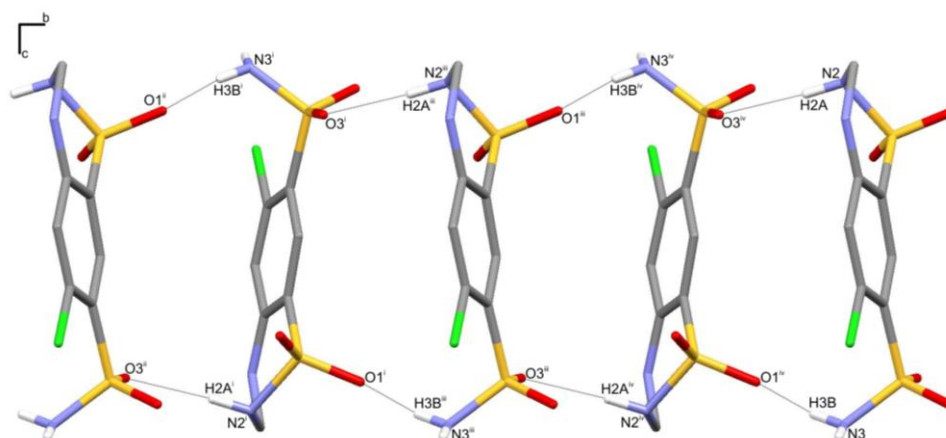


Figura 4.4. Ligações de hidrogênio intermoleculares da hidroclorotiazida. Códigos de simetria: (i) $1-x, -1,5+y, 2-z$; (ii) $x, -2+y, z$; (iii) $x, -1+y, z$; (iv) $1-x, -1/2+y, 2-z$.

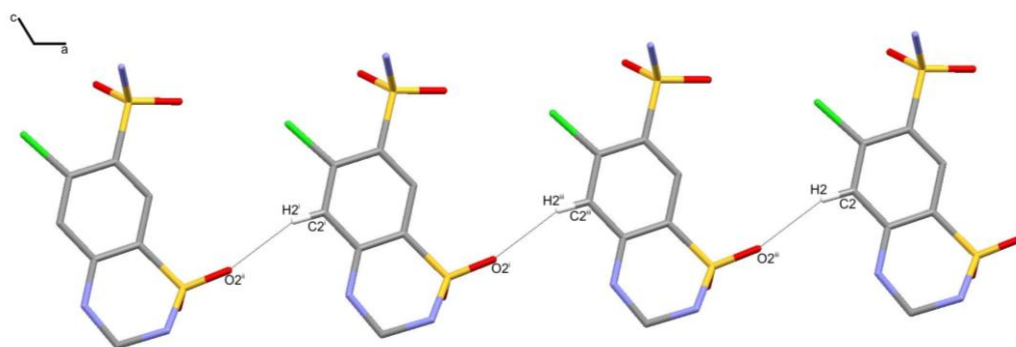


Figura 4.5. Ligações de hidrogênio não convencionais da hidroclorotiazida. Códigos de simetria: (i) $-2+x, y, z$; (ii) $-3+x, y, z$; (iii) $-1+x, y, z$.

4.1.2. Complexo de hidroclorotiazida com Zn^{2+} (HIDZn)

a) Espectros vibracionais

Os espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho e Raman do complexo HIDZn e do fármaco hidroclorotiazida encontram-se nas Figuras 4.6 e 4.7, respectivamente. As principais atribuições dos modos vibracionais presentes nestes compostos encontram-se na Tabela 4.2 (SILVERSTEIN, 2006).

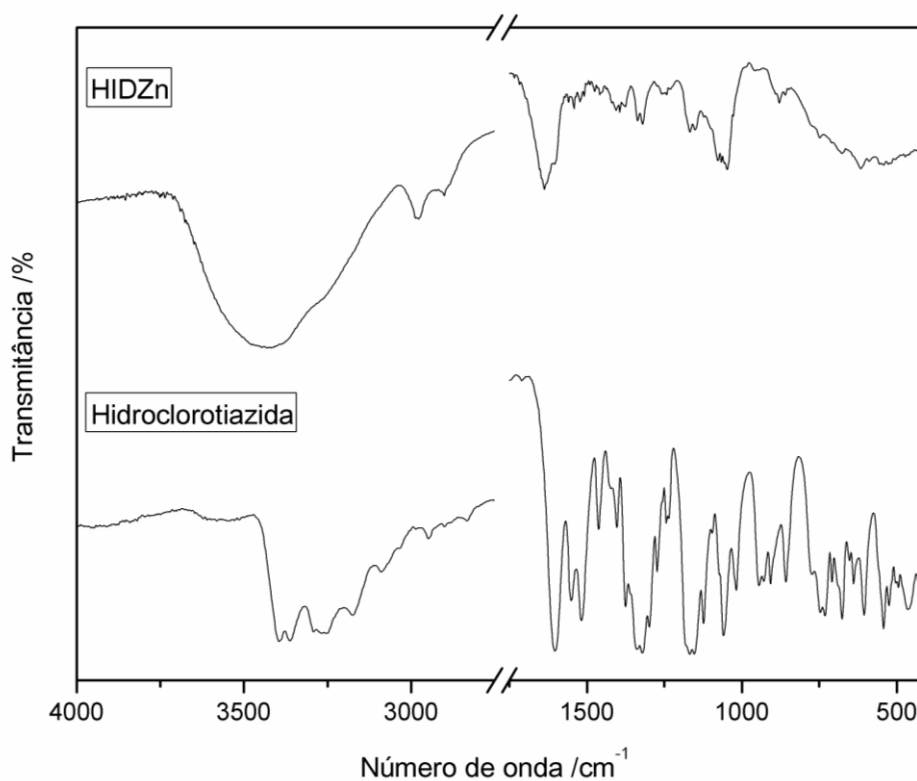


Figura 4.6. Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo HIDZn e do fármaco hidroclorotiazida.

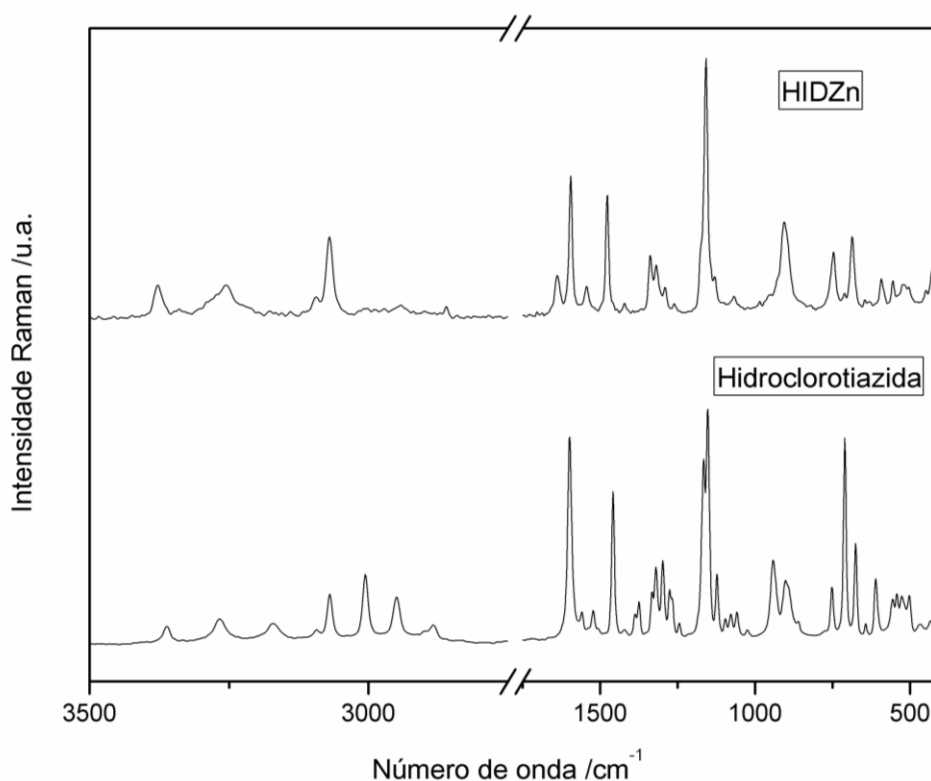


Figura 4.7. Espectro Raman do complexo HIDZn e do fármaco hidroclorotiazida.

O espectro Raman forneceu indícios da possível coordenação do fármaco hidroclorotiazida ao íon Zn^{2+} pelos átomos de nitrogênio do anel heterocíclico e oxigênio do grupo sulfo ligado a este anel, uma vez que ocorreram deslocamentos dos modos vibracionais atribuídos aos $\nu(NH)$ e $\nu(SO)$ para menores números de onda (3262 cm^{-1} para 3253 cm^{-1} e 1178 cm^{-1} para 1166 cm^{-1} , respectivamente). O espectro de absorção na região do infravermelho não forneceu nenhuma informação quanto à coordenação do fármaco ao sítio metálico uma vez que não houve nenhum deslocamento significativo de bandas. Apenas uma banda referente ao $\nu(OH)$ de possíveis moléculas de água presentes na estrutura do complexo pôde ser observada em 3437 cm^{-1} . Espera-se então que no complexo HIDZn o fármaco tenha se coordenado de forma bidentada ao sítio metálico pelos átomos de nitrogênio e oxigênio presentes no anel heterocíclico e no grupo sulfo, respectivamente, e também que moléculas de água estejam presentes na estrutura deste complexo.

Tabela 4.2. Atribuições espectroscópicas do fármaco hidroclorotiazida e do complexo HIDZn (em cm^{-1}) (SILVERSTEIN, 2006).

Hidroclorotiazida		HIDZn		Atribuições
IV	R	IV	R	
-	-	3437 F	-	$\nu(\text{OH})$
3257 F	3262 o	3254 o	3253 m	$\nu(\text{NH})$
3086 f	3067 f	-	3076 m	$\nu(\text{CH})$
1628 F	1610 m	1628 F	1635 m	$\delta(\text{NH})$
1550 m	1552 mf	1543 mf	1543 f	$\nu(\text{CC})$
1167 mF	1178 F	1163 m	1166 mF	$\nu(\text{SO})$
735 m	711 F	745 mf	743 m	$\gamma(\text{CH})$
606 m	612 f	613 mf	603 f	$\nu(\text{CCL})$

b) Análise elementar de CHNCl

Os dados da análise elementar de CHNCl do composto HIDZn estão expostos na Tabela 4.3. Através desta análise foi possível sugerir uma relação estequiométrica metal-ligante de 1:1, com a presença de três moléculas de água de hidratação e dois íons cloretos ($\text{ZnHIDCl}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).

Tabela 4.3. Análise elementar de CHNCl do complexo HIDZn.

	C (%)	H (%)	N (%)	Cl (%)
Experimental	17,83	3,57	8,51	21,41
Calculado	17,23	2,89	8,61	21,79
Erro (%)	3,48	23,53	1,16	1,74

c) Análises térmicas (TG / DTA)

A análise termogravimétrica realizada para o composto HIDZn, demonstrada na Figura 4.8(a) exibe três perdas de massa sendo que a primeira em 128°C é relativa à saída de três mols de água e um mol de amônia. A segunda perda de massa refere-se à termodecomposição parcial do fármaco com perda de massa relativa ao grupo clorobenzenosulfonamida. O resíduo final não pôde ser identificado uma vez que não foi alcançado um patamar. Desta forma, através da análise termogravimétrica pode-se inferir que estejam presentes neste composto três moléculas de água de hidratação.

A curva DTA (Figura 4.8(b)) concorda com os resultados encontrados através da curva termogravimétrica confirmando as perdas de massa, sendo todos os eventos endotérmicos. O primeiro pico em 71°C é condizente ao processo de desidratação do complexo e os demais são atribuídos a termodecomposição do composto HIDZn.

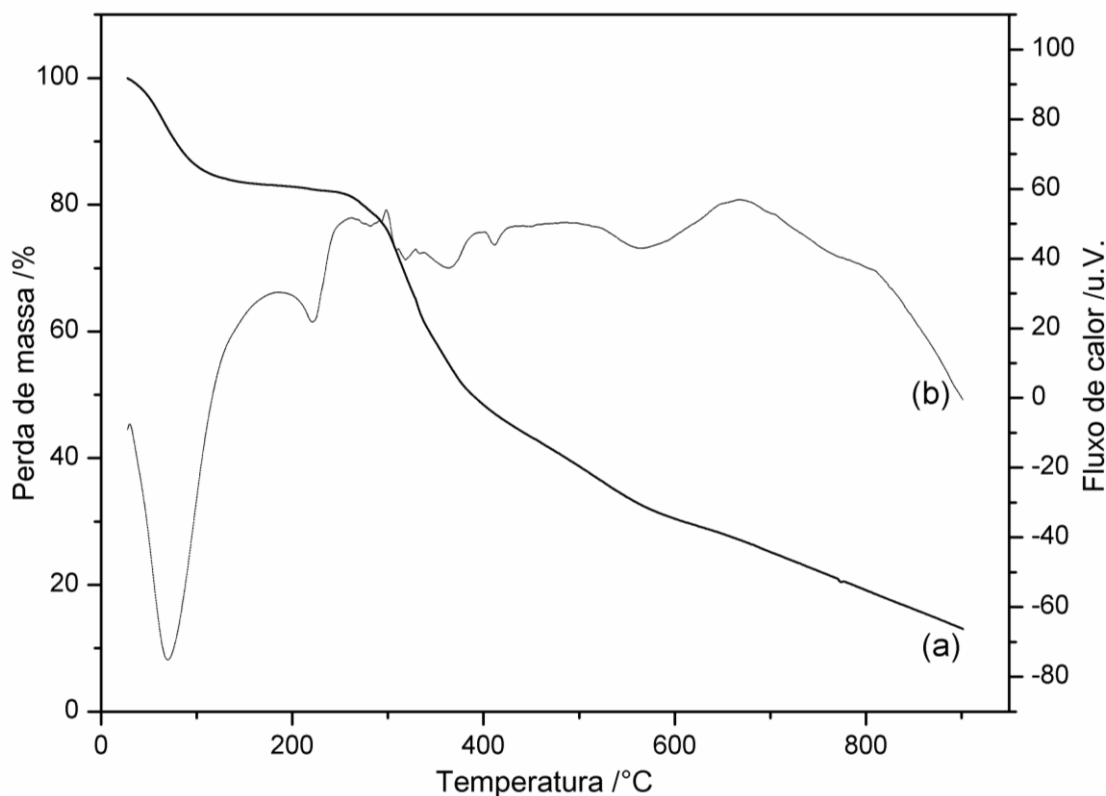


Figura 4.8. (a) TG e (b) DTA do complexo HIDZn.

d) Comentários gerais a respeito do complexo HIDZn

Através dos dados espectroscópicos vibracionais é possível sugerir que o fármaco hidroclorotiazida tenha se coordenado ao íon Zn^{2+} por um dos nitrogênios do anel heterocíclico e pelo oxigênio do grupo sulfô deste anel. A esfera de coordenação do íon metálico é completada pela sua coordenação a dois íons cloretos adotando desta forma uma geometria tetraédrica, que é a preferencial para o íon Zn^{2+} . Além disso, as análises termogravimétricas e de CHNCl indicaram a presença de três moléculas de água de hidratação no complexo, sugeridas anteriormente pelo aparecimento de uma banda larga referente ao $\nu(OH)$ no espectro infravermelho. A Figura 4.9 mostra a estrutura molecular proposta para o complexo HIDZn.

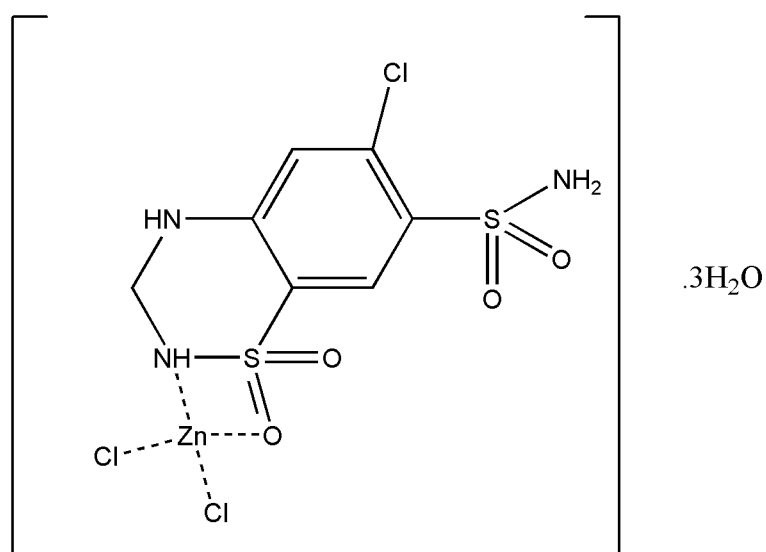


Figura 4.9. Estrutura molecular proposta para o complexo HIDZn.

4.2. COMPOSTOS DO FÁRMACO CLORTALIDONA

4.2.1. Monocristais de clortalidona

a) Espectros vibracionais e análise elementar de CHN

As análises espectroscópicas vibracionais na região do infravermelho e Raman (Figuras 4.10 e 4.11, respectivamente) forneceram indícios de que os monocristais obtidos nesta síntese retratavam o fármaco clortalidona puro. Isso também pôde ser observado pela análise elementar de CHN para este composto exposta na Tabela 4.4.

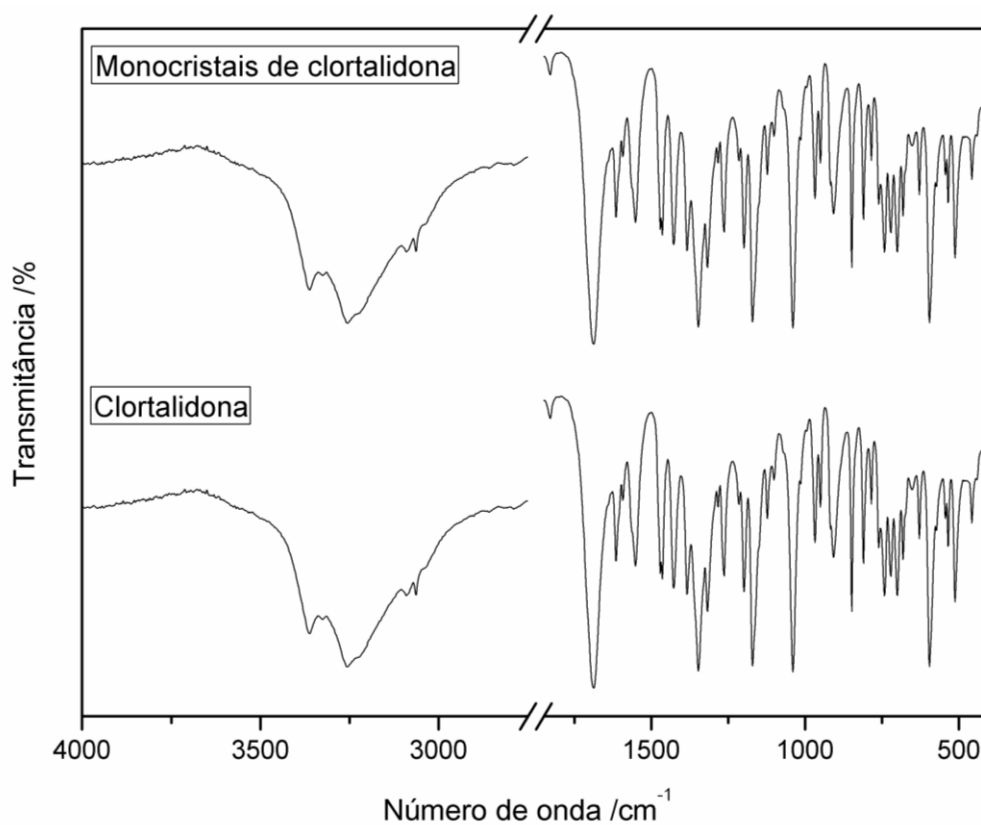


Figura 4.10. Espectro de absorção na região do infravermelho dos monocristais de clortalidona e do fármaco clortalidona.

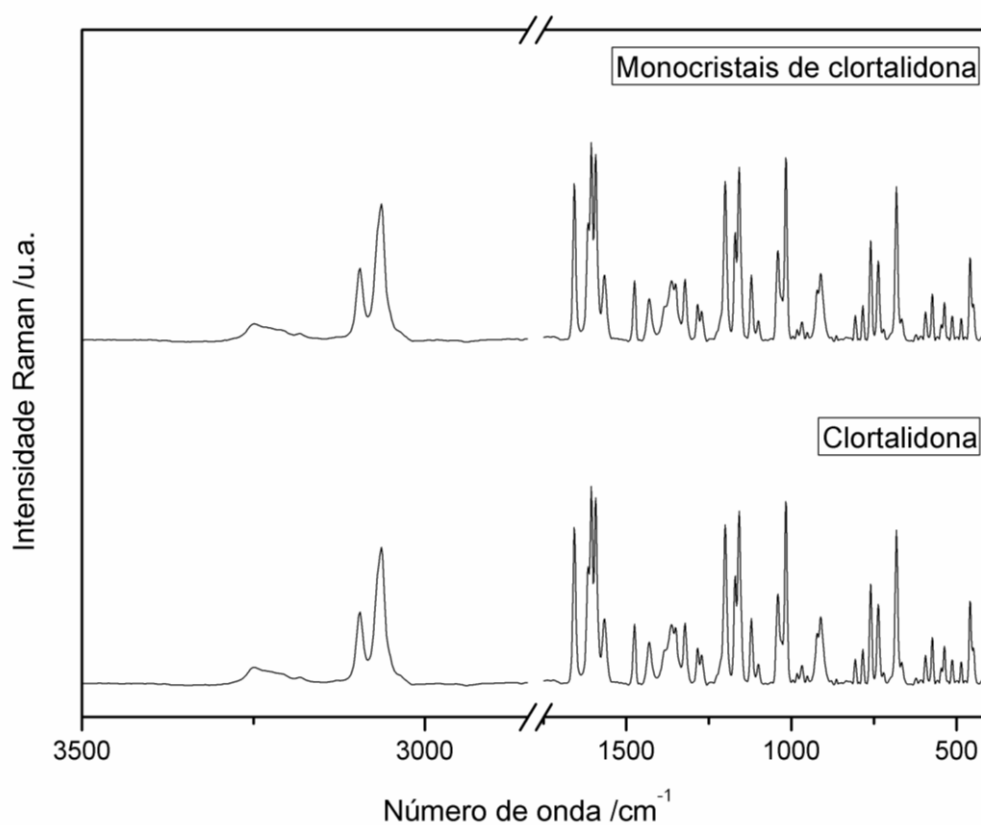


Figura 4.11. Espectro Raman dos monocristais de clortalidona e do fármaco clortalidona.

Tabela 4.4. Análise elementar de CHN dos monocristais de clortalidona.

	C (%)	H (%)	N (%)
Experimental	49,48	3,53	8,08
Calculado	49,64	3,27	8,27
Erro (%)	0,32	7,95	2,30

b) Difração de raios X de monocristal

A difração de raios X de monocristal esclareceu a suspeita inicial de que o fármaco clortalidona não houvesse complexado ao sítio metálico, uma vez que, após o refinamento dos dados, foi obtida a estrutura cristalina da forma I do fármaco clortalidona, conforme Martins e

colaboradores já haviam descrito (MARTINS, 2009). A estrutura cristalina encontra-se na Figura 4.12.

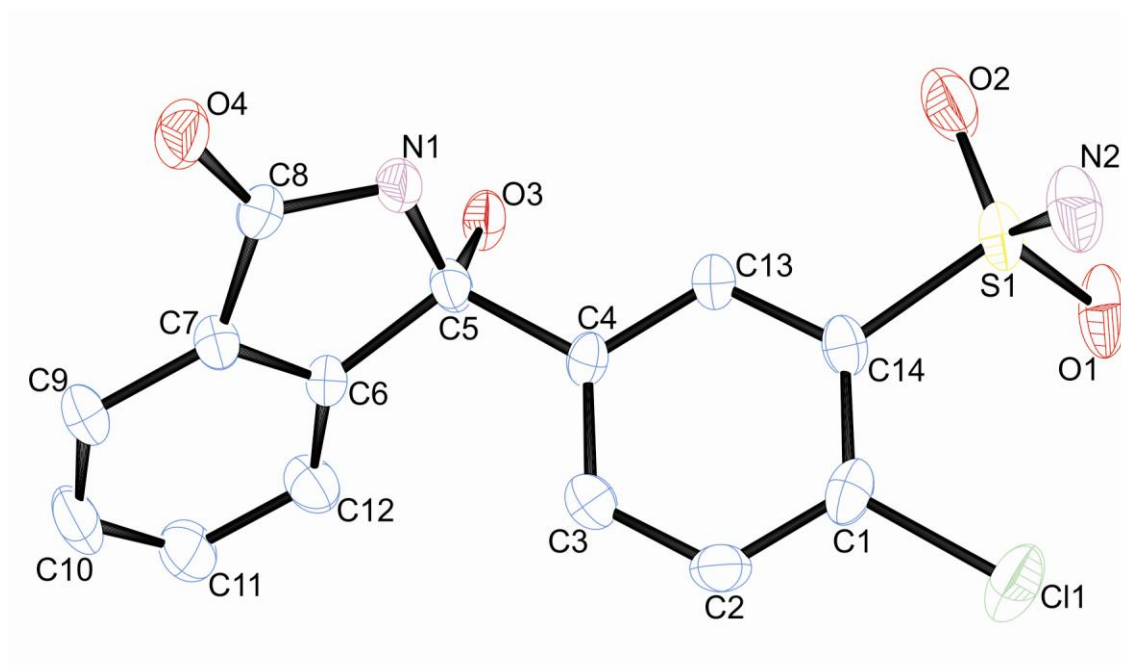


Figura 4.12. Estrutura cristalina da forma I da clortalidona (MARTINS, 2009).

Neste composto diversas interações intermoleculares são responsáveis por sua estabilização e extensão em três dimensões. A Figura 4.13 demonstra as ligações de hidrogênio intermoleculares entre $N1-H1 \cdots O4^i$ e $N1^i-H1^i \cdots O4$ que ligam duas moléculas de clortalidona dando origem a dímeros do fármaco (Código de simetria: *(i)* $-x, -1-y, -z$). A Figura 4.14 ilustra outras ligações de hidrogênio intermoleculares entre os átomos $N2-H2B \cdots O3^{ii}$ (Códigos de simetria: *(i)* $1+x, y, z$; *(ii)* $-1+x, y, z$; *(iii)* $-2+x, y, z$).

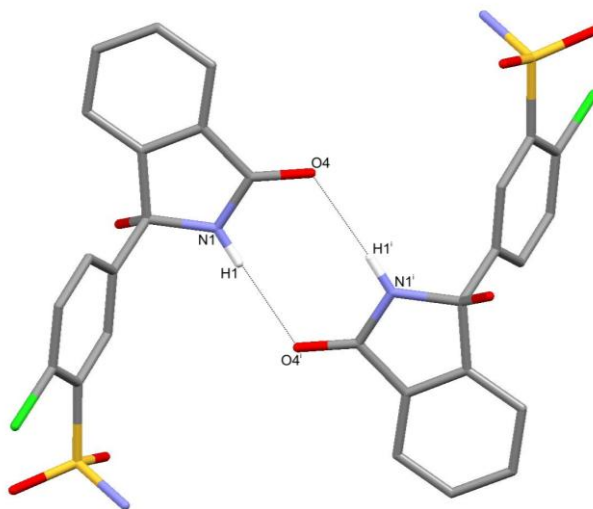


Figura 4.13. Ligações de hidrogênio intermoleculares que originam dímeros do fármaco clortalidona. Código de simetria: (i) $-x, -1-y, -z$.

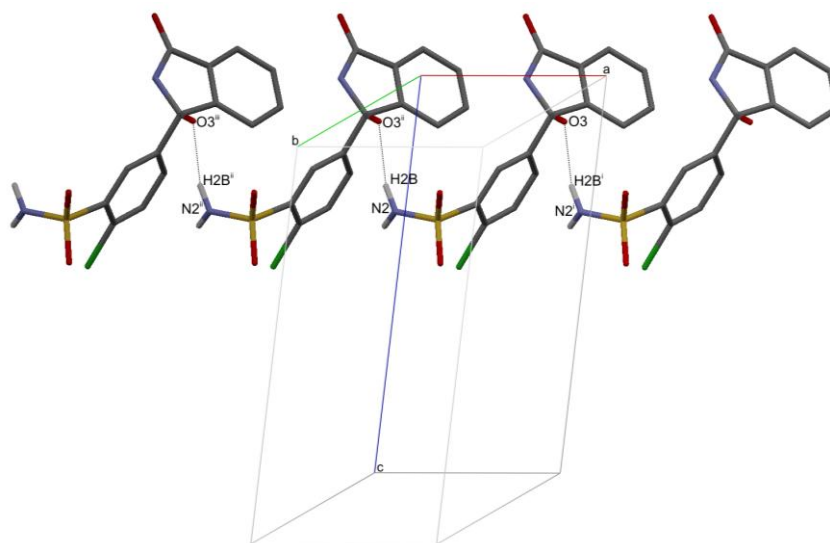


Figura 4.14. Ligações de hidrogênio intermoleculares da clortalidona ao longo do eixo cristalográfico a . Códigos de simetria: (i) $1+x, y, z$; (ii) $-1+x, y, z$; (iii) $-2+x, y, z$.

4.2.2. Derivado da clortalidona (etil-clortalidona)

a) Espectros vibracionais

O espectro vibracional de absorção na região do infravermelho e o espectro Raman do composto etil-clortalidona e do fármaco clortalidona encontram-se nas Figuras 4.15 e 4.16, respectivamente. Em uma primeira análise, algo que chamou a atenção nestes espectros obtidos foi o aparecimento de bandas na região de $\nu(\text{CH})$, $\nu_{\text{ass}}(\text{CH})_2$ e $\nu_{\text{ass}}(\text{CH})_3$ nos espectros do composto formado. Essas bandas não são típicas do fármaco clortalidona.

A primeira suspeita era que talvez tivesse ocorrido a termodecomposição do ligante uma vez que a síntese foi realizada em uma estufa com uma determinada pressão e temperatura de 110°C. No entanto, através da análise do monocristal obtido por difração de raios X foi possível observar que não ocorreu a termodecomposição do ligante mais sim a formação de um novo derivado do fármaco. Com esta informação, foi possível fazer uma análise espectroscópica mais detalhada. Na Tabela 4.5 encontram-se as principais atribuições espectroscópicas do composto formado etil-clortalidona e do fármaco clortalidona.

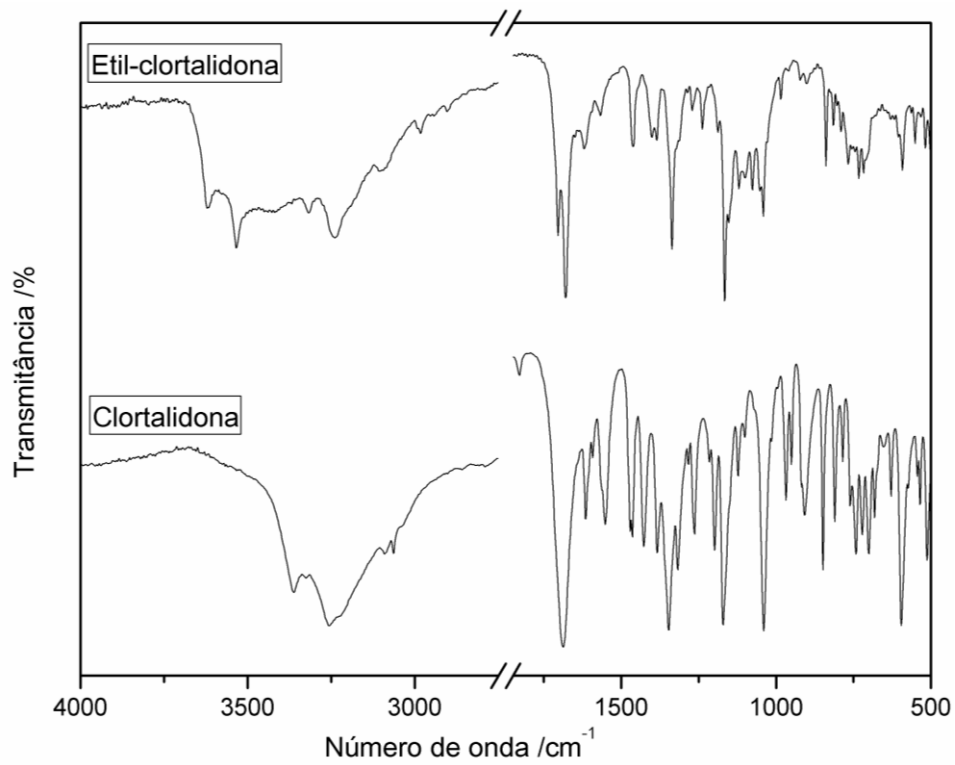


Figura 4.15. Espectro de absorção na região do infravermelho do composto etil-clortalidona e do fármaco clortalidona.

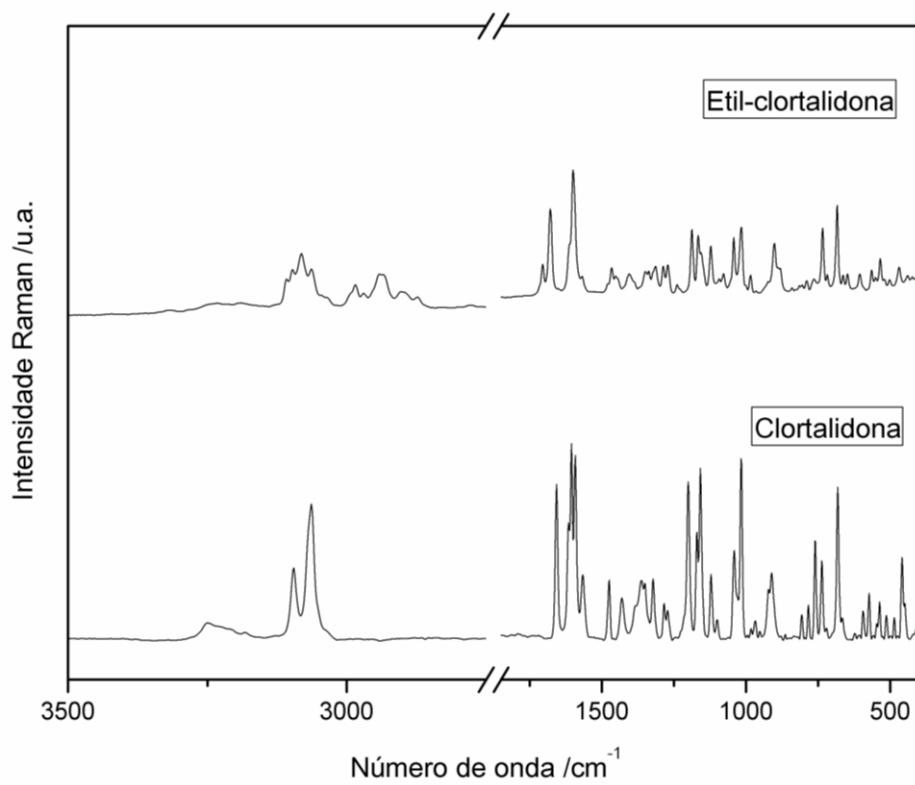


Figura 4.16. Espectro Raman do composto etil-clortalidona e do fármaco clortalidona.

Tabela 4.5. Atribuições espectroscópicas do fármaco clortalidona e do composto etil-clortalidona (em cm^{-1}) (SILVERSTEIN, 2006).

Clortalidona		Etil-clortalidona		Atribuições
IV	R	IV	R	
-	-	3532 m	-	$\nu(\text{OH})$
3259 m	3251 o	3245 m	-	$\nu(\text{NH})$
3092 f	3070 F	3092 f	3080 m	$\nu(\text{CH})$
-	-	2987 f	2987 f	$\nu(\text{CH})$
-	-	2987 f	2987 f	$\nu_{\text{ass}}(\text{CH}_3)$
-	-	2939 mf	2936 mf	$\nu_{\text{ass}}(\text{CH}_2)$
-	-	2891 mf	2894 mf	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
-	-	2891 mf	2894 mf	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1681 mF	1662 F	1680 mF	1678 m	$\nu(\text{CO})$
1623 m	1611 m	1621 f	1611 m	$\delta(\text{NH})$
1553 m	1571 m	1563 f	1566 mf	$\nu(\text{CC})$
-	-	1467 m	1463 f	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
-	-	1458 m	1446 f	$\delta_{\text{ass}}(\text{CH}_3)$
1165 mF	1163 F	1164 mF	1172 m	$\nu(\text{SO})$
1161 mF	1156 F	1162 mF	1161 m	$\delta(\text{CH})$
759 f	759 m	760 f	-	$\gamma(\text{CH})$
-	-	722 m	730 m	$\delta_{\text{ass}}(\text{CH}_2)$
605 F	682 F	606 f	682 F	$\nu(\text{CCl})$

b) Análise elementar de CHN

Na Tabela 4.6 encontram-se os valores calculados com seus respectivos desvios para a análise elementar de CHN do composto etil-clortalidona. Através da análise elementar foi possível estabelecer a fórmula molecular mínima $C_{16}H_{15}ClN_2O_4S.H_2O$ para o composto etil-clortalidona.

Tabela 4.6. Análise elementar de CHN do composto etil-clortalidona.

	C (%)	H (%)	N (%)
Experimental	49,87	4,22	6,93
Calculado	49,94	4,45	7,28
Erro (%)	0,14	5,17	4,81

c) Análises termogravimétricas

A curva termogravimétrica do composto etil-clortalidona encontra-se na Figura 4.17. Pode-se observar através desta curva obtida que até a temperatura final da análise (próximo a $700^{\circ}C$) não ocorreu a termodecomposição total do ligante, uma vez que a massa restante nesta temperatura não se aproximou de zero. Devido a este fato ter ocorrido não foi possível realizar uma proposta para a termodecomposição total deste composto formado. Apenas uma primeira perda de massa em $69^{\circ}C$ foi tentativamente atribuída à saída de um mol de água de hidratação do composto (erro relativo de 4,97%). Esta perda de massa pode ser observada através de um pico endotérmico na curva DTA da Figura 4.17(b).

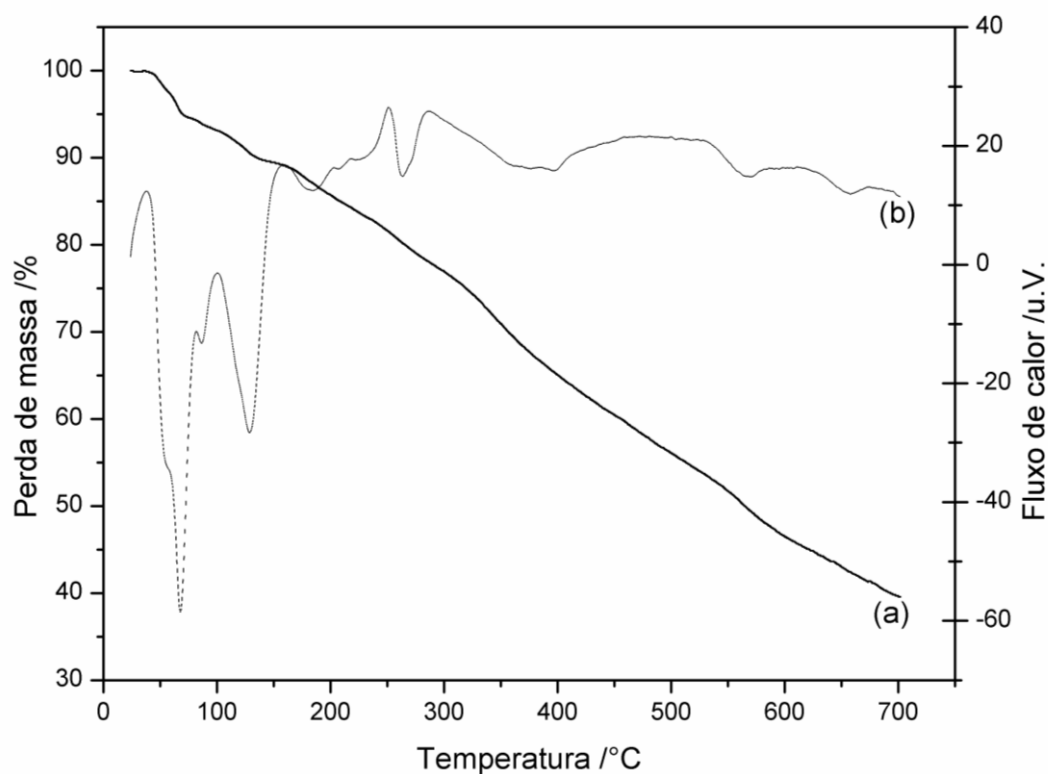


Figura 4.17. (a) TG e (b) DTA do composto etil-clortalidona.

d) Difração de raios X de monocristal

A difração de raios X revelou que o íon Zn^{2+} não se coordenou a clortalidona levando assim a formação de um novo derivado do fármaco. Além disso, foi possível confirmar a estrutura proposta pela análise elementar de CHN. A Figura 4.18 mostra a estrutura cristalina do novo ligante formado. A principal diferença observada quando se compara com a estrutura da clortalidona já publicada (MARTINS, 2009) foi o aparecimento de um grupo etila no ligante, além de uma molécula de água na rede cristalina. A Tabela 4.7 mostra os dados cristalográficos da estrutura cristalina do novo composto formado.

Uma vez que esta estrutura não apresentou centro de inversão (grupo espacial $Pca2_1$) o parâmetro de Flack (FLACK, 1983) que dispõe sobre a forma enantiomérica correta usada durante o refinamento deve ser analisado. Se o valor deste parâmetro ao final do refinamento for próximo a 1 a estrutura refinada deve ser invertida; se for em torno de 0,5 tem-se uma

mistura racêmica ou uma escolha equivocada do grupo espacial (foi usado um grupo espacial que não apresentava centro de inversão durante o refinamento e na verdade, o composto apresentava centro de inversão) e se aproximar de 0 a estrutura está correta. Além da análise desses valores, algo muito importante que deve ser verificado é o erro associado ao valor deste parâmetro. Por exemplo, para o composto etil-clortalidona o parâmetro de Flack foi igual a 0,28(5) indicando que 72% das células unitárias encontram-se em uma forma enantiomérica e 28% em outra.

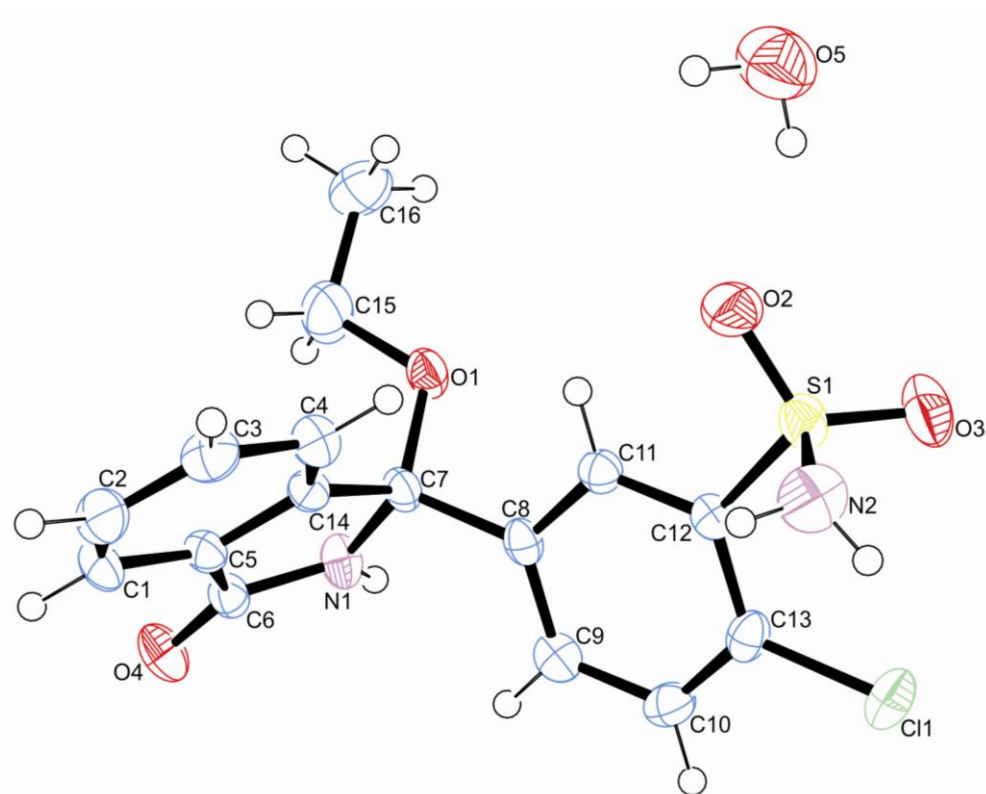


Figura 4.18. Estrutura cristalina do composto etil-clortalidona.

Tabela 4.7. Dados cristalográficos do composto etil-clortalidona.

Composto	Etil-clortalidona
Fórmula Molecular	C ₁₆ H ₁₇ ClN ₂ O ₅ S
Massa Molecular / g.mol ⁻¹	384,83
Sistema Cristalino	Ortorrômico
Grupo Espacial	Pca2 ₁
a / Å	7,928(2)
b / Å	10,920(2)
c / Å	19,459(4)
$\alpha = \beta = \gamma / ^\circ$	90
V / Å ³	1684,67(1)
Z	4
Tamanho do cristal / mm	0,39 x 0,12 x 0,10
d _{calc.} / g.cm ⁻³	1,517
Reflexões: medidas/únicas	6088/3596
Reflexões observadas [$F_o^2 > 2\sigma(F_o^2)$]	2919
Nº de parâmetros refinados	231
R	0,033
wR	0,071
S	0,945

O composto etil-clortalidona apresenta quatro moléculas do ligante por célula unitária. As médias das distâncias de ligação C-C do anel aromático e C-N do anel isoindolinil são 1,385(2) Å e 1,409(3) Å, respectivamente. Esses valores são comparáveis aos observados em compostos similares (MARTINS, 2009). O ângulo de torção entre o anel isoindolinil e a cadeia alifática é 51,93(1)° (C15-O1-C7-N1). O ângulo entre o anel isoindolinil e o anel aromático é 65,87(7)°, que é muito similar ao mesmo ângulo observado nas formas I e III da

clortalidona (66,54 e 64,38°, respectivamente). Esse resultado indica que a inclusão do grupo etil na molécula de clortalidona não afetou significativamente a conformação da molécula.

O empacotamento cristalino é estabilizado por ligações de hidrogênio intermoleculares do tipo O-H...O e N-H...O e intramoleculares do tipo C-H...O. As ligações de hidrogênio não convencionais intramoleculares (médias a fracas) podem ser observadas entre os átomos de C1-H1...O4, C9-H9...N1 e C11-H11...O2 como mostram as Figuras 4.19 e 4.20. A Tabela 4.8 mostra os valores para as principais ligações de hidrogênio presentes no composto.

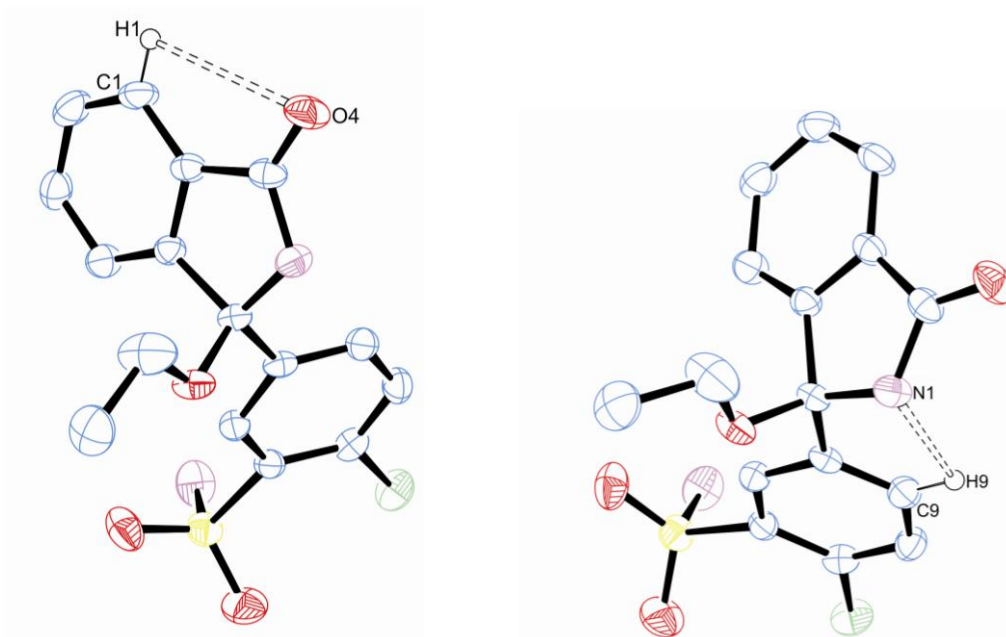


Figura 4.19. Ligações de hidrogênio intramoleculares do composto etil-clortalidona.

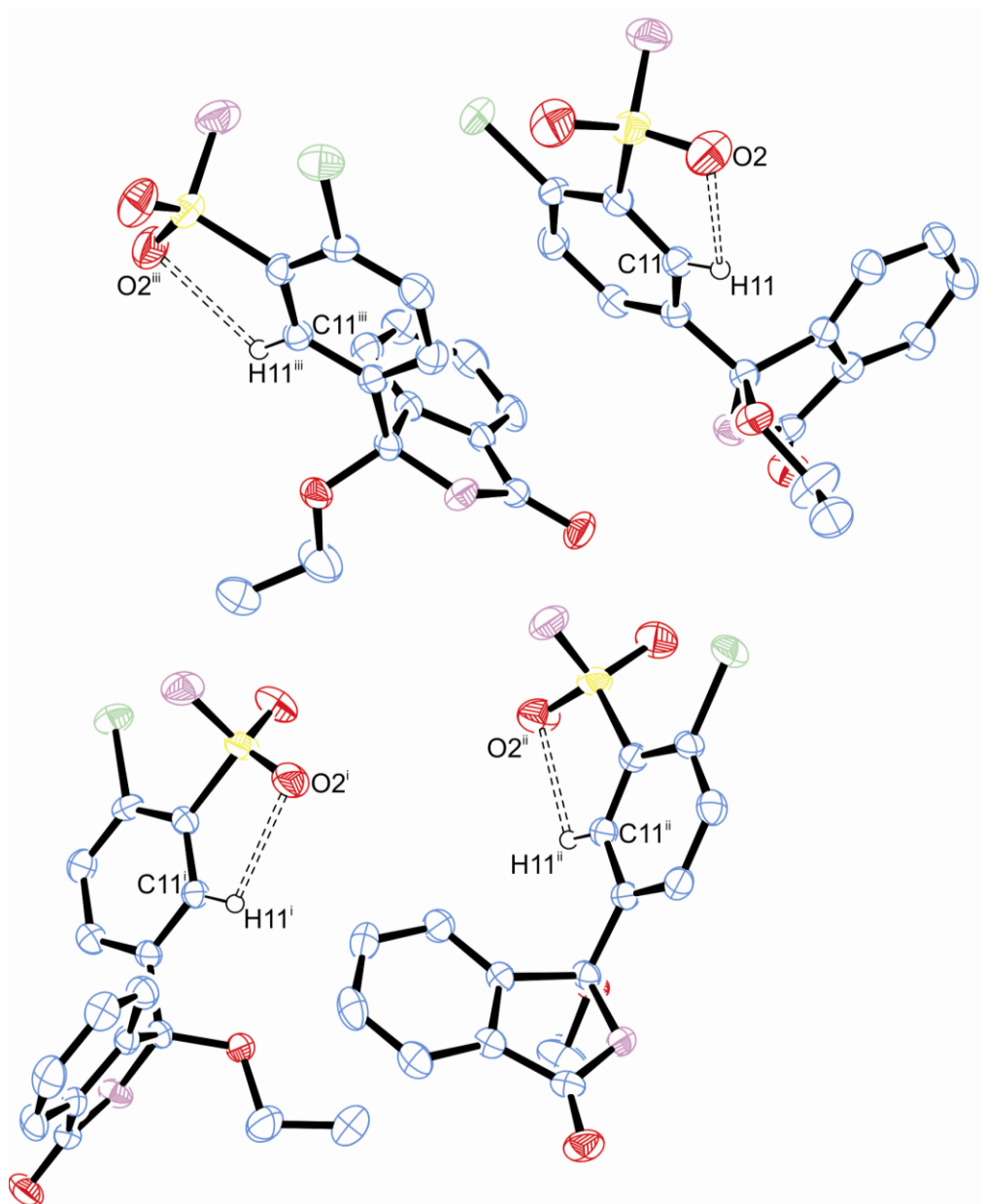


Figura 4.20. Ligações de hidrogênio intramoleculares do composto etil-clortalidona. Códigos de simetria: (i) $-x+1/2, y+1, z+1/2$; (ii) $-x, -y+1, z+1/2$; (iii) $x+1/2, -y+1, z$.

Tabela 4.8. Ligações de hidrogênio do composto etil-clortalidona.

D	H	A	D-H / Å	H...A / Å	D...A / Å	D-H...A / °
N1	H1A	O4	0,895(2)	2,060(2)	2,969(3)	174,4(2)
C1	H1	O4	0,932(2)	2,980(3)	3,119(2)	89,8(2)
C9	H9	N1	0,9300	2,5200	2,864(3)	102,00
C11	H11	O2	0,9300	2,4000	2,824(3)	107,00
O5	H5A	O2	0,8600	2,2200	2,970(3)	148,00
O5	H5B	O3	0,8800	2,3800	3,204(4)	156(5)
N2	H2A	O4	0,8600	2,4900	3,184(3)	138(3)
N2	H2B	O5	0,9000	2,1300	2,960(3)	154(5)

D = átomo doador da ligação de hidrogênio e A = átomo receptor da ligação de hidrogênio.

Uma extensa cadeia de ligações de hidrogênio intermoleculares conecta as moléculas de etil-clortalidona em um arranjo supramolecular. É conveniente considerar subestruturas individuais geradas por diferentes moléculas deste composto na unidade assimétrica através de ligações de hidrogênio intermoleculares, e depois considerar a combinação destas subestruturas originando um arranjo tridimensional (3D).

Ligações de hidrogênio intermoleculares envolvendo moléculas de água da rede que agem como doadores e receptores dessa interação dão origem a um arranjo bidimensional (2D) paralelo ao plano *ab* (Figura 4.21). Essas ligações N2-H2B...O5 e O5-H5B...O3 produzem cadeias que são conectadas *via* ligações de hidrogênio O5-H5A...O2 formando anéis cuja nomenclatura é $R_3^4(12)$. Essa notação foi proposta por Etter e colaboradores (ETTER, 1990) e pode ser utilizada para estruturas supramoleculares estabilizadas por ligações de hidrogênio. Nesta notação a ligação de hidrogênio é descrita usando o termo G que se refere ao padrão da ligação de hidrogênio formada no composto em questão. Este descritor G é obtido pela fórmula $G_d^a(r)$ em que *d* são os doadores da ligação, *a* os receptores da ligação e *r* é o grau, que pode estar relacionado ao número de átomos em um anel ou ao número de átomos da unidade de repetição ao longo de uma cadeia infinita. G pode ser denotado por quatro letras dependendo do tipo de ligações de hidrogênio presentes (intra ou intermoleculares). G pode ser S no caso de descrever uma ligação de hidrogênio

intramolecular e C ou R no caso de descrever uma ligação de hidrogênio intermolecular. G pode ser escrito como C para o caso de formação de cadeias infinitas e como R para o caso de haver formação de anéis. Em alguns casos a ligação de hidrogênio de maior importância no composto é descrita por N_1 . Para o composto etil-clortalidona, o arranjo supramolecular pode ser representado por $N_1 = C(6)2R_3^4(12)$. O arranjo supramolecular tridimensional da molécula é observado através de fracas ligações de hidrogênio entre $N2-H2A \cdots O4$ (Figura 4.22) que geram cadeias $C(10)$ com uma sequência de propagação em zig-zag (ângulo $77,09^\circ$) ao longo do eixo cristalográfico c . Este arranjo tridimensional pode ser observado na

Figura 4.23. Desta forma, a descrição completa destas interações é:

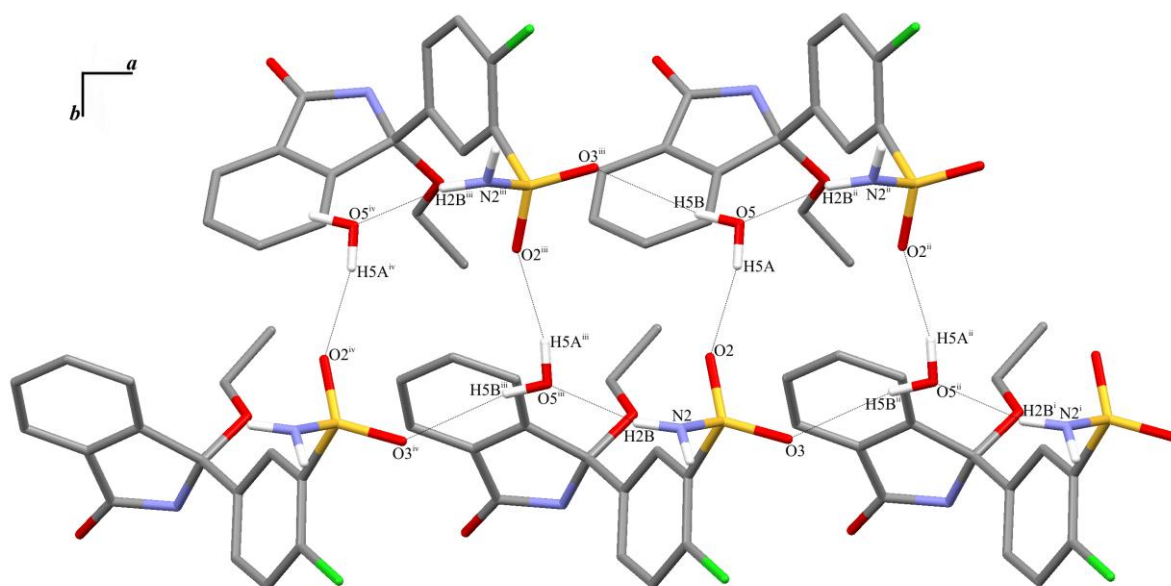
$$\begin{aligned} N_1 &= C(6)2R_3^4(12) \\ N_2 &= C(10) \end{aligned}$$


Figura 4.21. Arranjo bidimensional do composto etil-clortalidona. Códigos de simetria: (i) $1+x, y, z$; (ii) $1/2+x, -y, z$; (iii) $-1/2+x, -y, z$; (iv) $-1+x, y, z$.

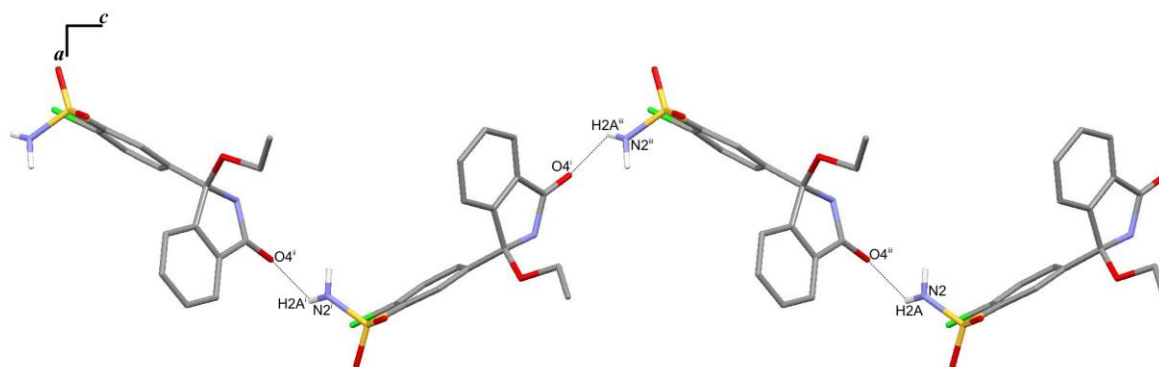


Figura 4.22. Ligações de hidrogênio intermoleculares que se estendem em zig-zag no composto etil-clortalidona. Códigos de simetria: (i) $x, y, -1+z$; (ii) $-1/2-x, y, -1,5+z$; (iii) $-1/2-x, y, -1/2+z$.

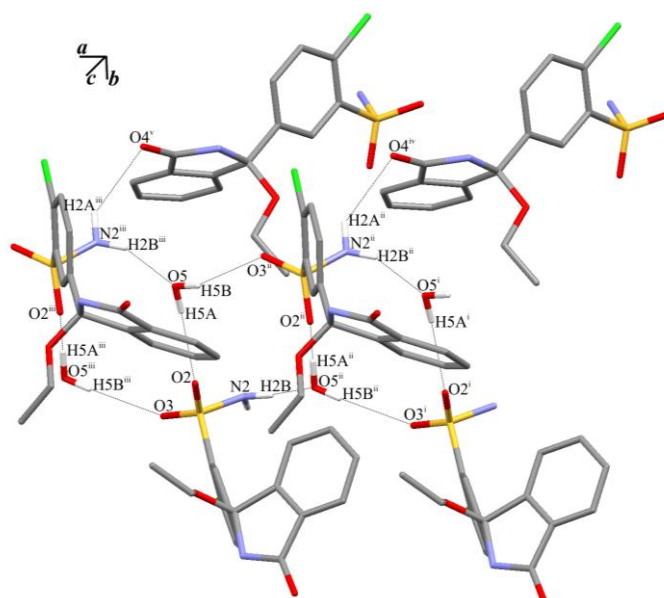


Figura 4.23. Arranjo tridimensional do composto etil-clortalidona. Códigos de simetria: (i) $-1+x, y, z$; (ii) $-1/2+x, -y, z$; (iii) $1/2+x, -y, z$; (iv) $-1-x, -y, -1/2+z$; (v) $-x, -y, -1/2+z$.

Interações do tipo $C-H \cdots \pi$ também estão presentes neste composto ao longo do eixo cristalográfico a conforme denota a distância entre $C10 \cdots \pi$ em torno de $3,694(2) \text{ \AA}$ (CALHORDA, 2000). A Figura 4.24 ilustra este tipo de interação no composto.

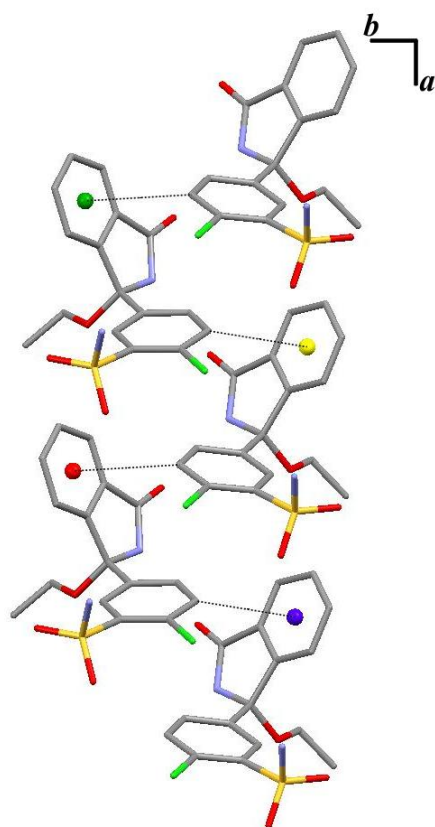


Figura 4.24. Interações do tipo $C-H \cdots \pi$ presentes no composto etil-clortalidona.

Outra interação denotada como aromática do tipo *edge-to-face* por Khlobystov e colaboradores (KHLOBYSTOV, 2001) pode ser evidenciada na Figura 4.25.

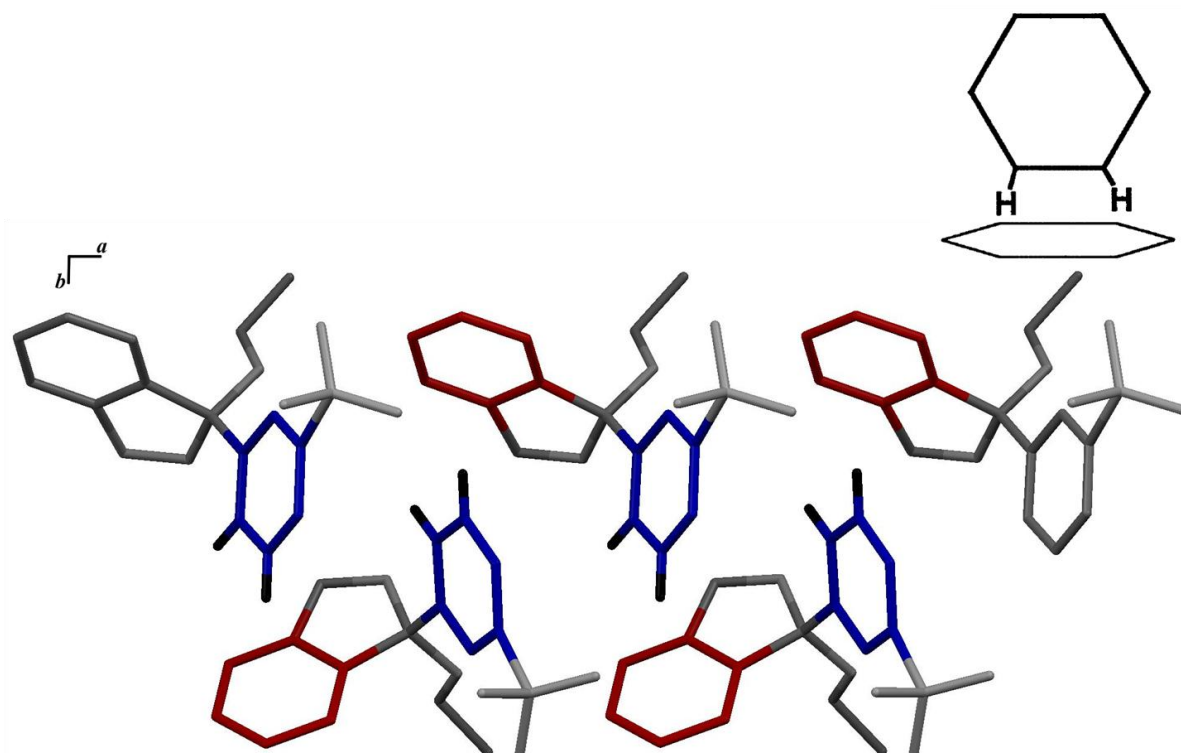


Figura 4.25: Interações aromáticas do tipo *edge-to-face* presentes no composto etil-clortalidona.

e) Mecanismo de formação do composto etil-clortalidona

Uma vez que um novo composto derivado da clortalidona foi formado, um mecanismo no intuito de esclarecer a síntese realizada foi proposto. Este mecanismo pode ser visualizado na Figura 4.26. Neste mecanismo, o perclorato de zinco atua como um ácido de Lewis formando um complexo estável com o grupamento hidroxila do fármaco clortalidona através da associação com um par de elétrons livres do oxigênio. O complexo formado entra em ressonância levando a formação de um carbocátion secundário que é extremamente estável por toda deslocalização eletrônica (e com isso possibilidade de ressonância) em sua volta. Este carbocátion é então atacado pelo nucleófilo que nesta reação é o etanol presente na solução e isto leva a formação deste composto inédito.

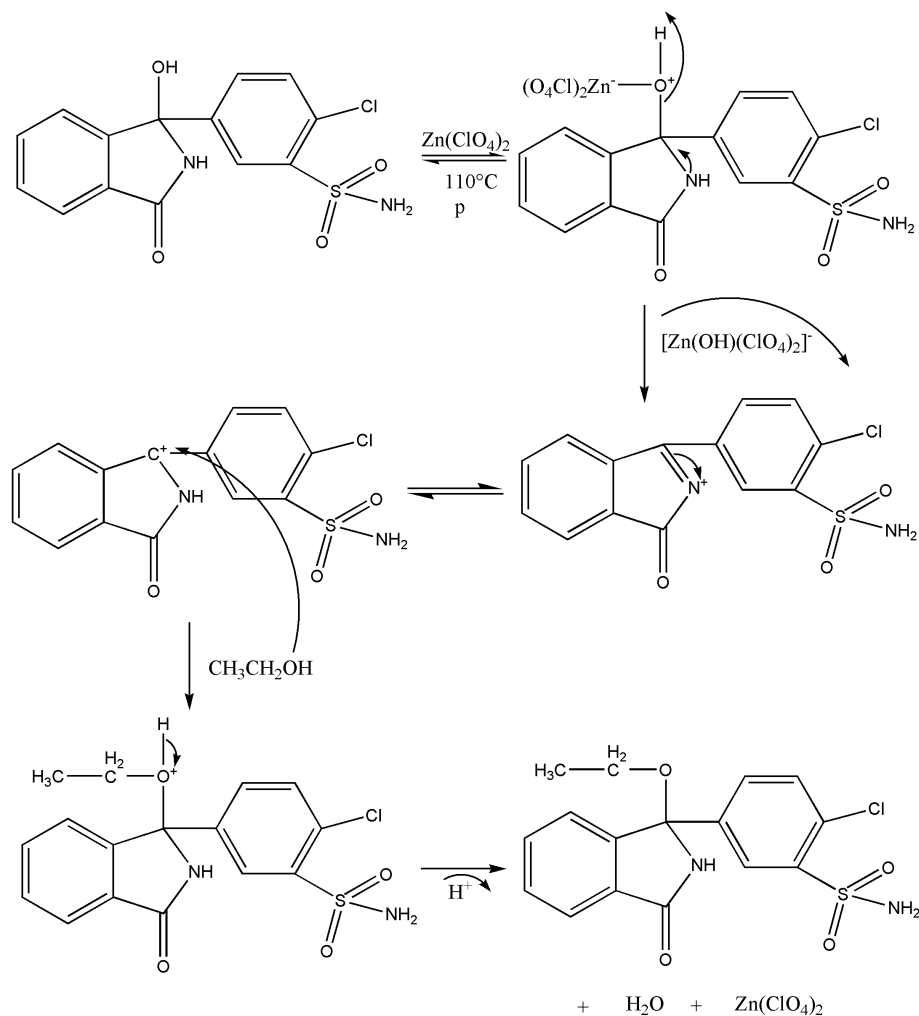


Figura 4.26. Mecanismo proposto para a formação do composto etil-clortalidona.

f) Difração de raios X de policristal

No início da análise estrutural deste composto acreditou-se que se tratava de um pseudopolimorfo da clortalidona (AGUIAR, 1999), mas o aparecimento de um grupo etila na estrutura fez com que esta hipótese fosse descartada. Uma segunda opção foi a de que houvesse algum tipo de impureza no reagente usado para fazer a síntese (uma vez que seu grau de pureza não havia sido relatado pelo fornecedor), sendo esta impureza o novo composto obtido. No entanto, a análise de difração de raios X de policristal do fármaco clortalidona foi fundamental para elucidar esta dúvida. A simples comparação dos picos de

Bragg nos difratogramas do fármaco e do composto etil-clortalidona (simulado através do arquivo.cif de sua estrutura cristalina) forneceu indícios da ausência deste novo composto no fármaco clortalidona. Isso pôde ser constatado pelo simples fato de alguns picos de Bragg do difratograma do novo ligante sintetizado não estarem presentes no difratograma da clortalidona. A Figura 4.27 mostra os difratogramas do composto etil-clortalidona e do fármaco clortalidona.

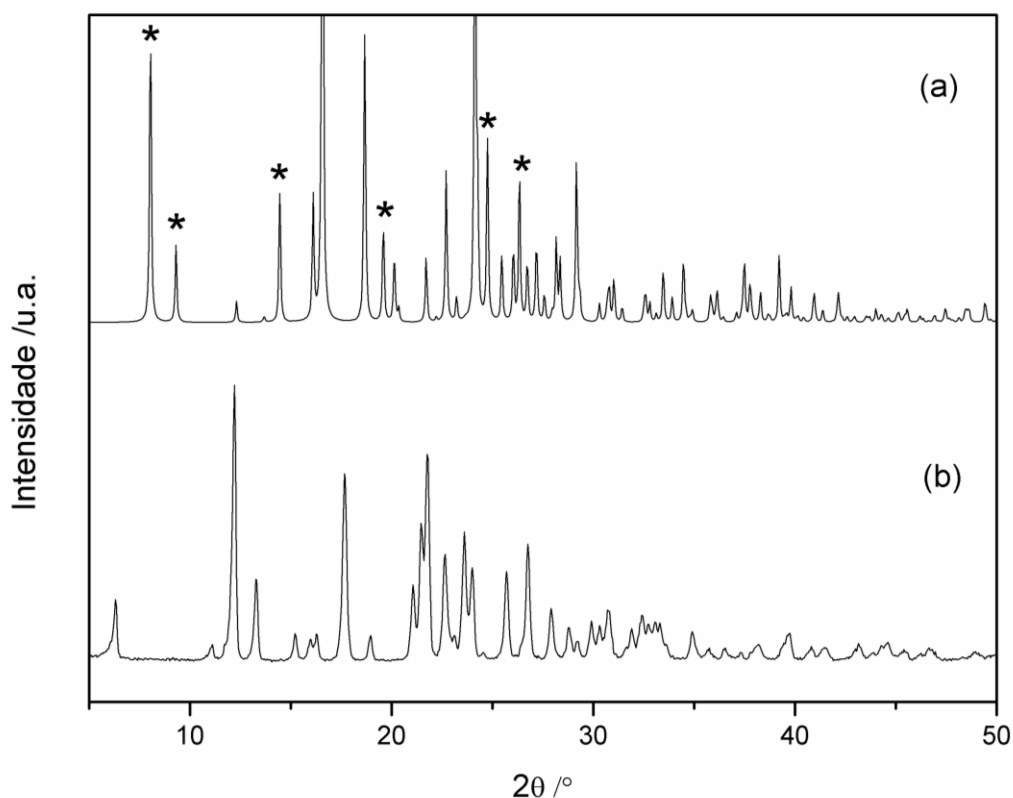


Figura 4.27. Difratogramas dos compostos (a) etil-clortalidona e (b) clortalidona.

g) Análise por ressonância magnética nuclear (RMN)

Uma análise por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) foi realizada em DMSO-d₆ para o composto etil-clortalidona. O espectro de RMN de ¹H (Figura 4.28) apresentou os seguintes sinais: um tripleto em torno de δ 1,10 referente aos três hidrogênios

do grupo CH_3 , um quarteto em δ 3,06 referente aos hidrogênios do grupo CH_2 , entre δ 6,53 e δ 8,08 sinais referentes aos hidrogênios presentes nos anéis aromáticos e em torno de δ 9,50 um sinal referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio do grupo γ -lactama. Os átomos de hidrogênio diretamente ligados ao nitrogênio do grupo sulfonamida não puderam ser observados no espectro obtido.

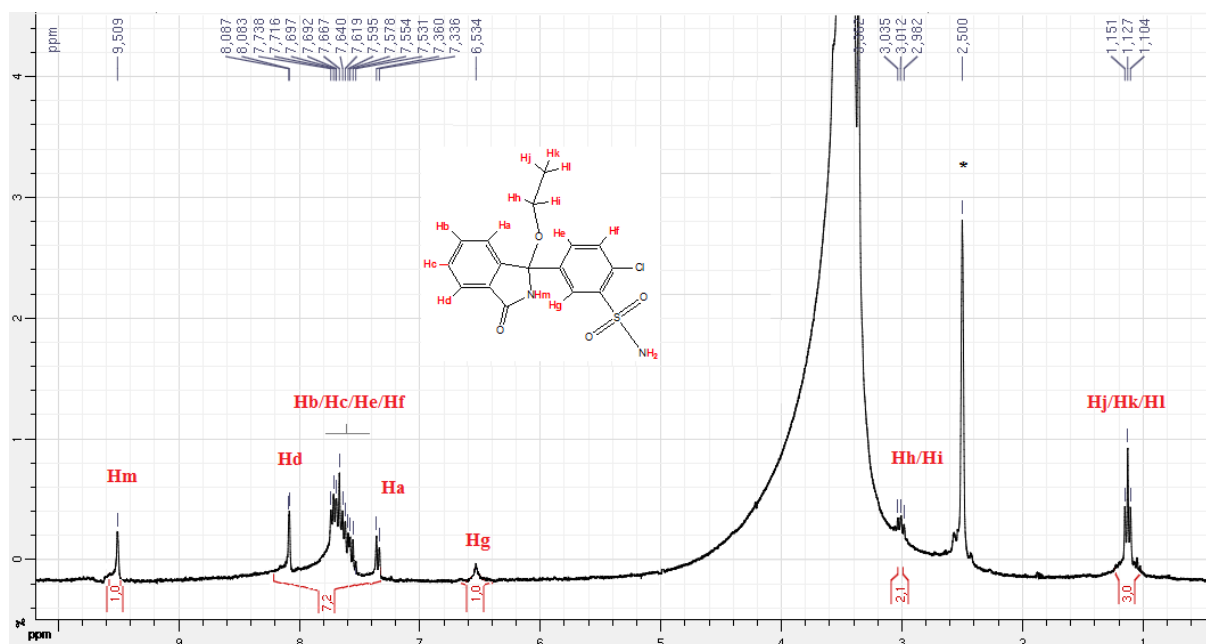


Figura 4.28. Espectro de RMN de ^1H do composto etil-clortalidona.

No espectro de RMN de ^{13}C para o composto etil-clortalidona (Figura 4.29) observam-se sinais referentes ao carbono do grupo CH_3 (δ 29,25) e ao carbono do grupo CH_2 (δ 86,17). Além destes sinais outros podem ser notados: sinais entre δ 123,02 e δ 146,27 referentes aos carbonos dos anéis aromáticos e um sinal em δ 168,85 referente ao carbono da carbonila.

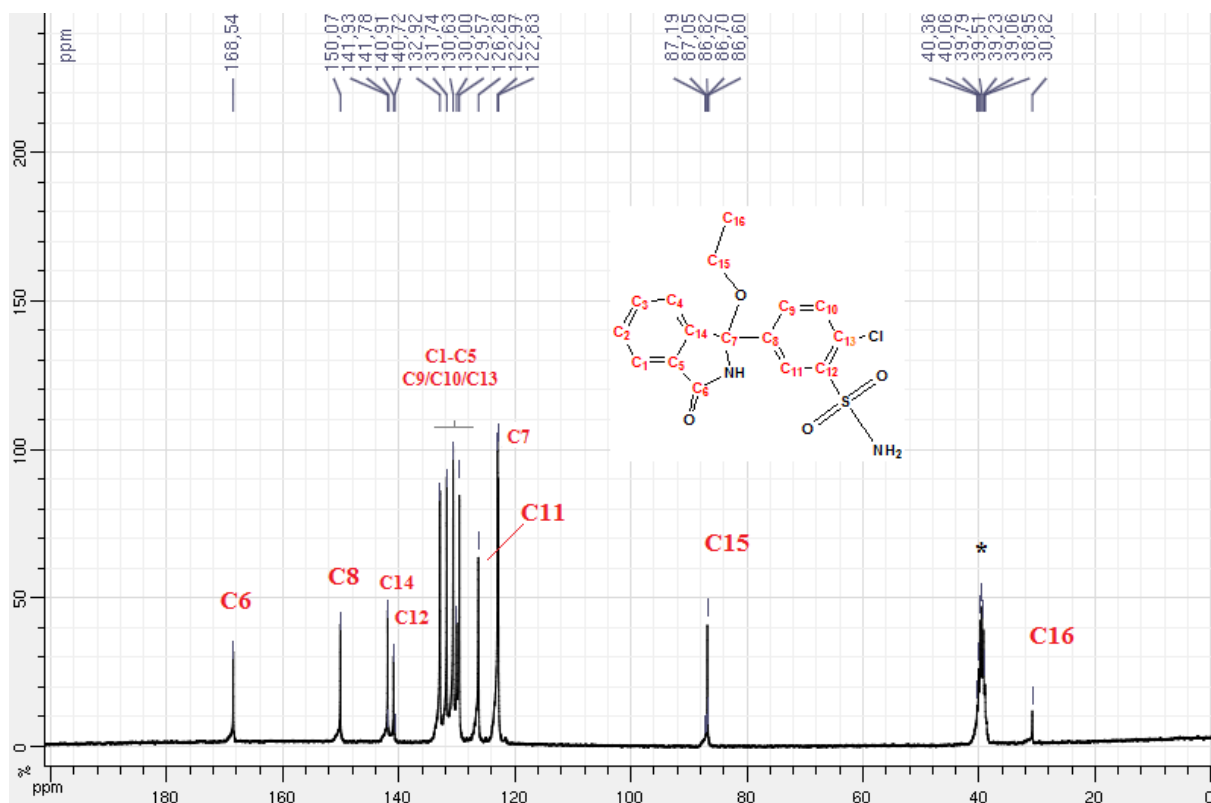


Figura 4.29. Espectro de RMN de ^{13}C do composto etil-clortalidona.

h) Comentários gerais a respeito do composto etil-clortalidona

Todas as análises realizadas foram elucidativas quanto à formação do novo derivado do fármaco clortalidona conforme a difração de raios X de monocristal já demonstrava. A síntese realizada foi esclarecida pelo mecanismo de reação proposto para a formação deste composto no qual o perclorato de zinco age como um ácido de Lewis.

4.2.3. Complexo de clortalidona com Zn^{2+} (CLOZn)

a) Espectros vibracionais

Nas Figuras 4.30 e 4.31 encontram-se os espectros vibracionais na região do infravermelho e Raman do complexo CLOZn e do fármaco clortalidona, respectivamente.

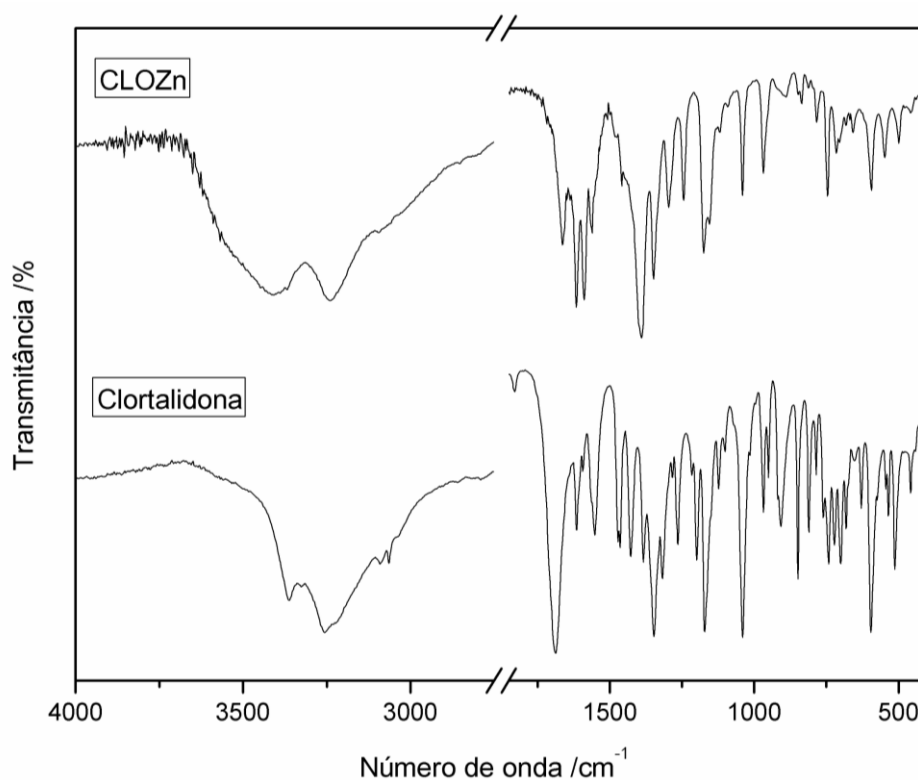


Figura 4.30. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo CLOZn e do fármaco clortalidona.

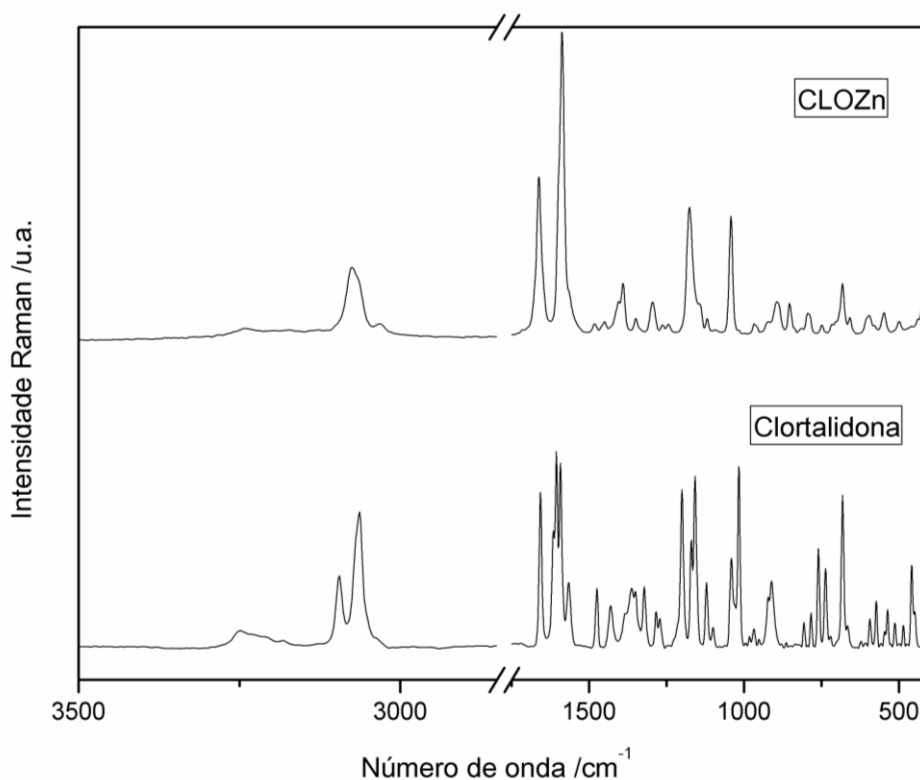


Figura 4.31. Espectro Raman do complexo CLOZn e do fármaco clortalidona.

Através da comparação dos espectros vibracionais na região do infravermelho, observa-se um deslocamento para menores números de onda do modo vibracional atribuído ao $\nu(\text{CO})$ do grupo γ -lactama. Este modo está presente no fármaco em 1681 cm^{-1} e foi deslocado para 1660 cm^{-1} no complexo formado, podendo então indicar que o fármaco tenha se coordenado ao zinco por este sítio. Ainda é observada no espectro de infravermelho do complexo CLOZn uma banda larga em 3411 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{OH})$ de possíveis moléculas de água presentes no composto formado. Algo bastante relevante foi uma mudança nos espectros de infravermelho e Raman da banda referente ao $\nu(\text{NH})$ que foi deslocada em ambos os casos para menores números de onda no complexo formado (3259 cm^{-1} para 3241 cm^{-1} e 3251 cm^{-1} para 3238 cm^{-1} , respectivamente). Isto também sugere que a clortalidona tenha se coordenado ao zinco pelo átomo de nitrogênio. Estes resultados foram sugestivos quanto à coordenação em modo quelato do fármaco frente ao metal zinco e quanto à presença de moléculas de água no complexo formado. A Tabela 4.9 mostra as principais atribuições espectroscópicas do complexo CLOZn e também do fármaco clortalidona.

Tabela 4.9. Atribuições espectroscópicas do fármaco clortalidona e do complexo CLOZn (em cm^{-1}) (SILVERSTEIN, 2006).

Clortalidona		CLOZn		Atribuições
IV	R	IV	R	
-	-	3411 F	-	$\nu(\text{OH})$
3259 m	3251 o	3241 F	3238 o	$\nu(\text{NH})$
3092 f	3070 F	3096 o	3073 m	$\nu(\text{CH})$
1681 mF	1662 F	1660 m	1662 F	$\nu(\text{CO})$
1623 m	1611 m	1612 F	-	$\delta(\text{NH})$
1553 m	1571 m	1564 m	1582 mF	$\nu(\text{CC})$
1165 mF	1163 F	1168 F	1173 F	$\nu(\text{SO})$
1161 mF	1156 F	1155 m	-	$\delta(\text{CH})$
759 f	759 m	-	750 mf	$\gamma(\text{CH})$
605 F	682 F	601 m	682 F	$\nu(\text{CCL})$

b) Análise elementar de CHNCl

A análise elementar de CHNCl foi realizada para este complexo e pode ser observada na Tabela 4.10. Através desta análise foi possível sugerir a proposta de uma relação estequiométrica metal-ligante de 1:1, com a presença de duas moléculas de água de hidratação e dois íons cloretos, o que garante a neutralidade do composto formado.

Tabela 4.10. Análise elementar de CHNCl para o complexo CLOZn ($\text{ZnCLOCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

	C (%)	H (%)	N (%)	Cl (%)
Experimental	33,11	3,82	5,17	19,84
Calculado	32,90	2,96	5,48	20,81
Erro (%)	0,64	29,05	5,66	4,66

c) Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica realizada para o composto CLOZn, demonstrada na Figura 4.32, exibe três perdas de massa sendo que a primeira em 94°C é relativa à saída de dois mols de água. A segunda e terceira perdas de massa em conjunto referem-se à termod decomposição parcial do fármaco com perdas de massa relativas aos grupos clorobenzenosulfonamida e ao anel aromático. O resíduo final não pôde ser identificado uma vez que não foi alcançado um patamar. Desta forma, através da análise termogravimétrica pode-se inferir que estejam presentes neste composto duas moléculas de água de hidratação. A curva DTA não foi obtida para este complexo.

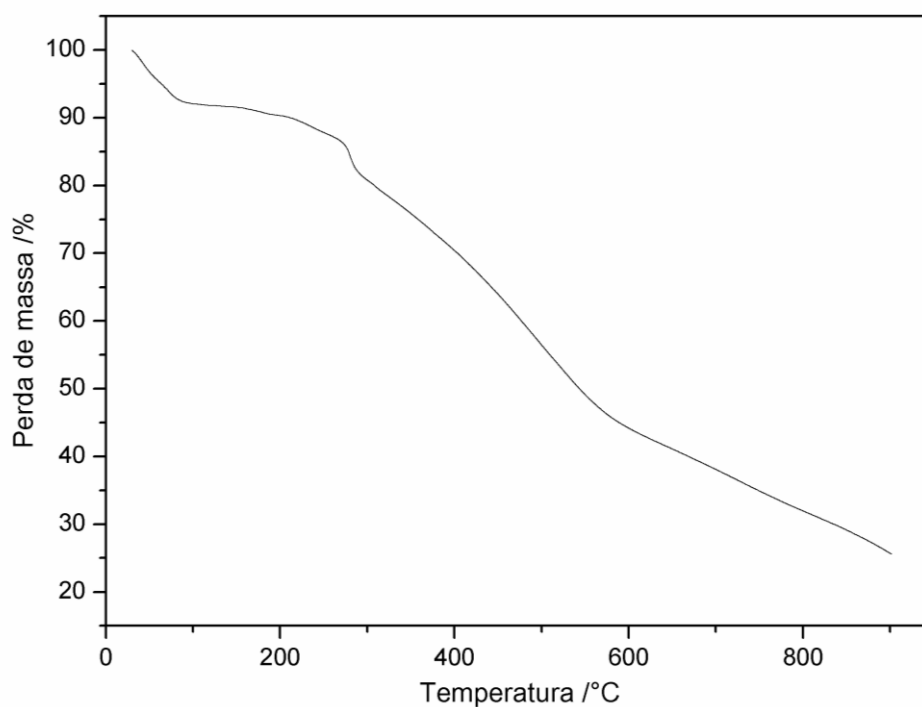


Figura 4.32. Curva termogravimétrica do complexo CLOZn.

d) Comentários gerais a respeito do complexo CLOZn

Através dos dados espectroscópicos vibracionais é possível sugerir que o fármaco clortalidona tenha se coordenado ao íon Zn^{2+} pelos átomos de oxigênio e nitrogênio do grupo γ -lactama. A esfera de coordenação do íon metálico é completada pela sua coordenação a dois íons cloretos adotando desta forma uma geometria tetraédrica. Além disso, a análise termogravimétrica e de CHNCl indicaram a presença de duas moléculas de água de hidratação no complexo, ambas notadas anteriormente pelo aparecimento de uma banda larga referente ao $\nu(OH)$ no espectro infravermelho do complexo. A Figura 4.33 mostra a estrutura molecular proposta para o complexo CLOZn.

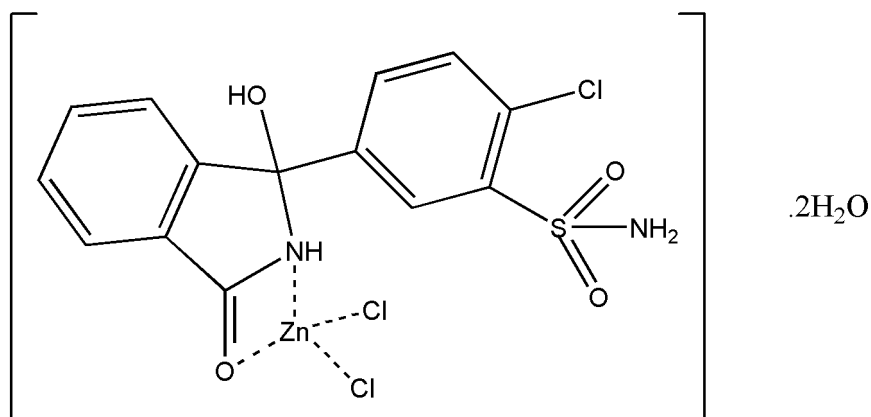


Figura 4.33. Estrutura molecular proposta para o complexo CLOZn.

4.3. COMPOSTOS DO FÁRMACO MALEATO DE ENALAPRIL

4.3.1. Complexo de hidrogeno-maleato com Zn^{2+} (MAZn)

a) Espectros vibracionais

Os espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho do complexo MAZn e do fármaco maleato de enalapril encontram-se na Figura 4.34.

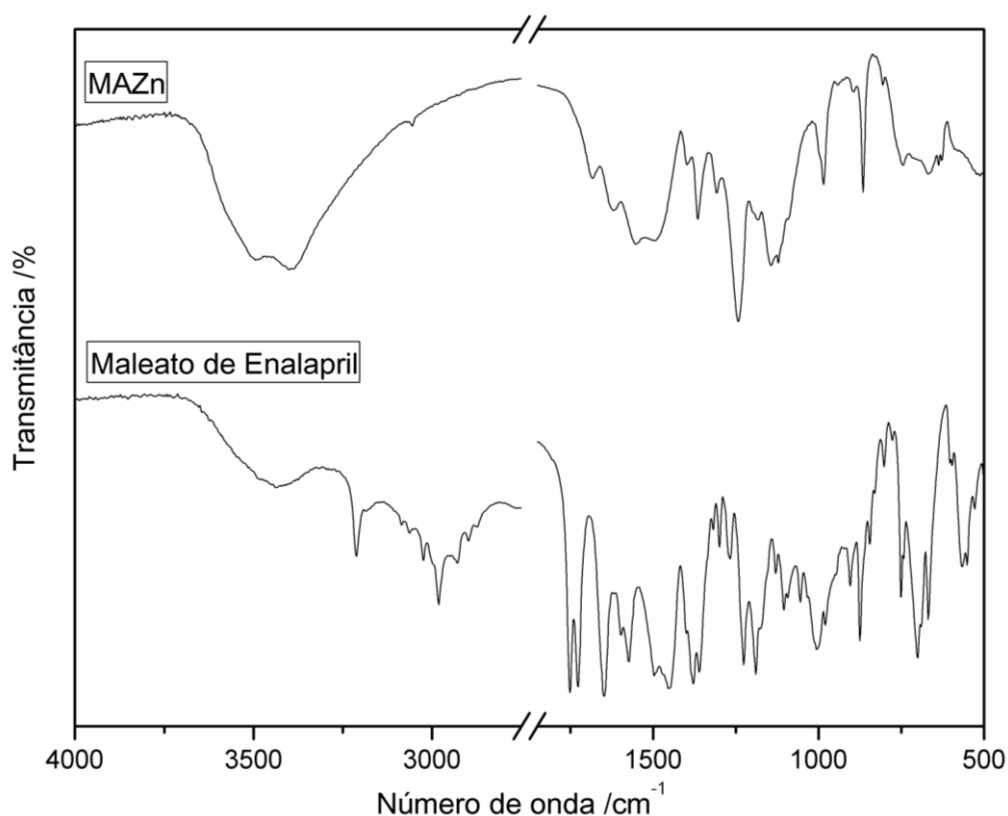


Figura 4.34. Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo MAZn e do fármaco maleato de enalapril.

Um fato inesperado na análise do espectro vibracional de absorção na região do infravermelho do complexo MAZn foi a ausência de algumas bandas características do fármaco maleato de enalapril, tais como $\nu(\text{NH})$, $\nu(\text{CH})_{\text{ar}}$, $\nu(\text{CO})_{\text{est}}$. Isso levou a suspeita de que o enalapril não houvesse participado da reação e não estivesse presente no composto formado.

No entanto, somente a partir da análise deste composto por difração de raios X de monocristal foi possível o esclarecimento a respeito do complexo formado. Conforme os dados vibracionais já indicavam, somente o maleato estava presente no produto formado. Isto possibilitou uma atribuição espectroscópica mais acertada deste complexo. As atribuições espectroscópicas do fármaco maleato de enalapril e do complexo MAZn encontram-se na Tabela 4.11 (RIBEIRO, 2008; WIDJAJA, 2007).

Ao se comparar os espectros vibracionais de infravermelho obtidos pode-se notar um deslocamento para menores números de onda da banda referente ao $\nu(\text{CO})_{\text{mal}}$ presente em 1577 cm^{-1} no espectro do fármaco maleato de enalapril e em 1555 cm^{-1} no espectro do complexo MAZn. Este deslocamento é sugestivo quanto à coordenação do maleato ao sítio

metálico pelo átomo de oxigênio do grupo carboxilato. A presença de uma banda larga no espectro do composto formado em 3505 cm^{-1} foi atribuída ao $\nu(\text{OH})$ de moléculas de água, indicando assim a possível presença destas moléculas neste complexo.

Tabela 4.11. Atribuições espectroscópicas do fármaco maleato de enalapril e do complexo MAZn (em cm^{-1}) (RIBEIRO, 2008; WIDJAJA, 2007).

Maleato de Enalapril		MAZn	Atribuições
IV	R	IV	
-	-	3505 F	$\nu(\text{OH})$
3214 m	-	-	$\nu(\text{NH})$
3026 f	3051 m	-	$\nu(\text{CH})_{\text{ar}}$
2983 m	2981 F	-	$\nu(\text{CH})_{\text{al}}$
2983 m	2981 F	-	$\nu_{\text{ass}}(\text{CH}_3)$
2930 f	2932 F	-	$\nu_{\text{ass}}(\text{CH}_2)$
2897 mf	2891 f	-	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
2897 mf	2891 f	-	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1749 mF	1748 f	-	$\nu(\text{CO})_{\text{est}}$
1729 mF	1730 mf	-	$\nu(\text{CO})_{\text{ac}}$
1647 mF	1648 mf	-	$\nu(\text{CO})_{\text{ami}}$
1577 m	1584 mf	1555 F	$\nu(\text{CO})_{\text{mal}}$
1455 F	1456 m	-	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1221 F	1215 mf	-	$\nu(\text{CCO})_{\text{ace}}$
1191 F	-	-	$\nu(\text{CCO})_{\text{est}}$
746 m	748 mf	749 f	$\gamma(\text{CH})$

b) Difração de raios X de monocristal

A estrutura cristalina do composto obtido pode ser observada na Figura 4.35. Pode-se notar a presença de duas moléculas de maleato que se coordenam ao sítio metálico pelos átomos de oxigênio do carboxilato de modo monodentado. A esfera de coordenação do íon Zn^{2+} é completada com quatro moléculas de água, adotando uma geometria octaédrica levemente distorcida. Esta estrutura cristalina já foi descrita anteriormente por Sequeira e colaboradores (SEQUEIRA, 1992).

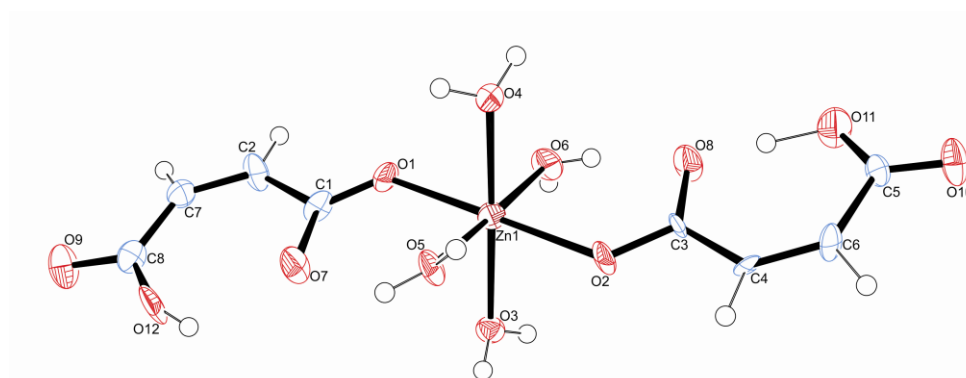


Figura 4.35. Estrutura cristalina do complexo MAZn (SEQUEIRA, 1992).

Ligações de hidrogênio entre moléculas de maleato e moléculas de água são responsáveis por estabilizar este complexo. Estas ligações dão origem a uma estrutura supramolecular que se estende em 3D. A Figura 4.36 demonstra algumas das ligações de hidrogênio presentes no complexo MAZn.

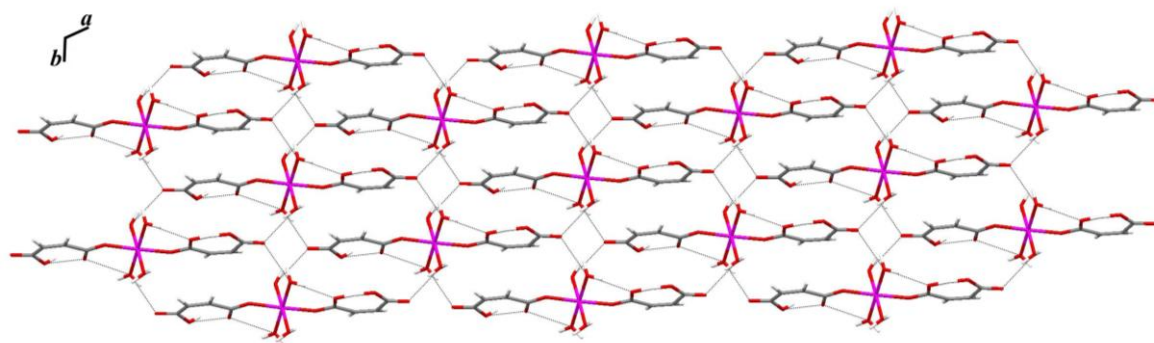


Figura 4.36. Ligações de hidrogênio presentes no complexo MAZn.

c) Análises térmicas (TG / DTA)

Somente a partir da obtenção da estrutura cristalina foi possível realizar uma análise termogravimétrica para o composto MAZn, demonstrada na Figura 4.37. A curva termogravimétrica obtida exibe sete perdas de massa sendo que a soma das quatro primeiras em 97, 115, 154 e 204°C respectivamente, são relativas à decomposição de hidrogenomaleato e a saída de três mols de água de coordenação. A soma da quinta, sexta e sétima perdas de massa equivalem à termodecomposição de 1 mol do ligante e a saída de um mol de água. Finalmente pode-se atribuir a massa do resíduo (28,98%) condizente com ZnO somado a um material remanescente do ligante (erro relativo de 1,01%). Desta forma, a estequiometria metal-ligante é 1:2, com a presença de quatro moléculas de água de coordenação.

A curva DTA (Figura 4.37(b)) concorda com os resultados encontrados através da curva termogravimétrica confirmando as sete perdas de massa, apresentando eventos endotérmicos e exotérmicos. Os primeiros picos são condizentes ao processo de desidratação do complexo e os demais são atribuídos a termodecomposição do composto MAZn.

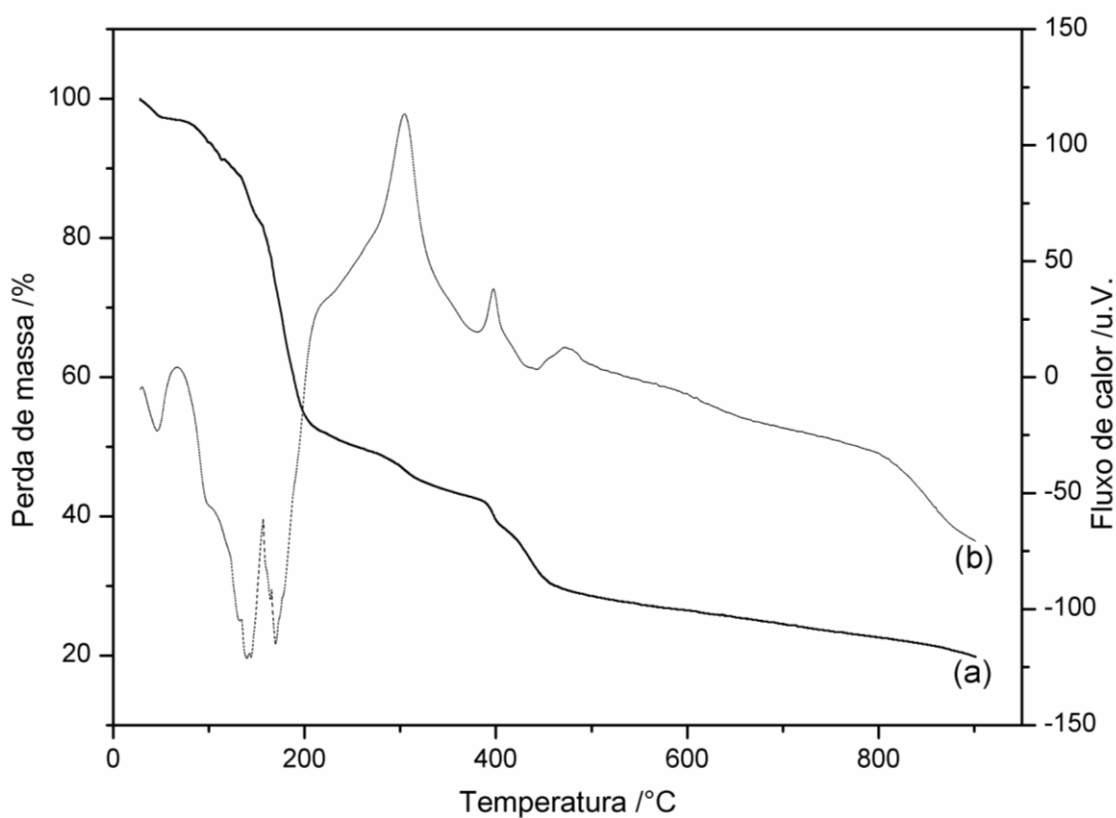


Figura 4.37. (a) TG e (b) DTA do complexo MAZn.

4.3.2. Complexo de enalapril com Zn^{2+} (ENAZn)

a) Espectros vibracionais

Os espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho e os espectros Raman do complexo ENAZn e do fármaco maleato de enalapril encontram-se nas Figuras 4.38 e 4.39 respectivamente. As atribuições espectroscópicas vibracionais associadas a este complexo encontram-se na Tabela 4.12.

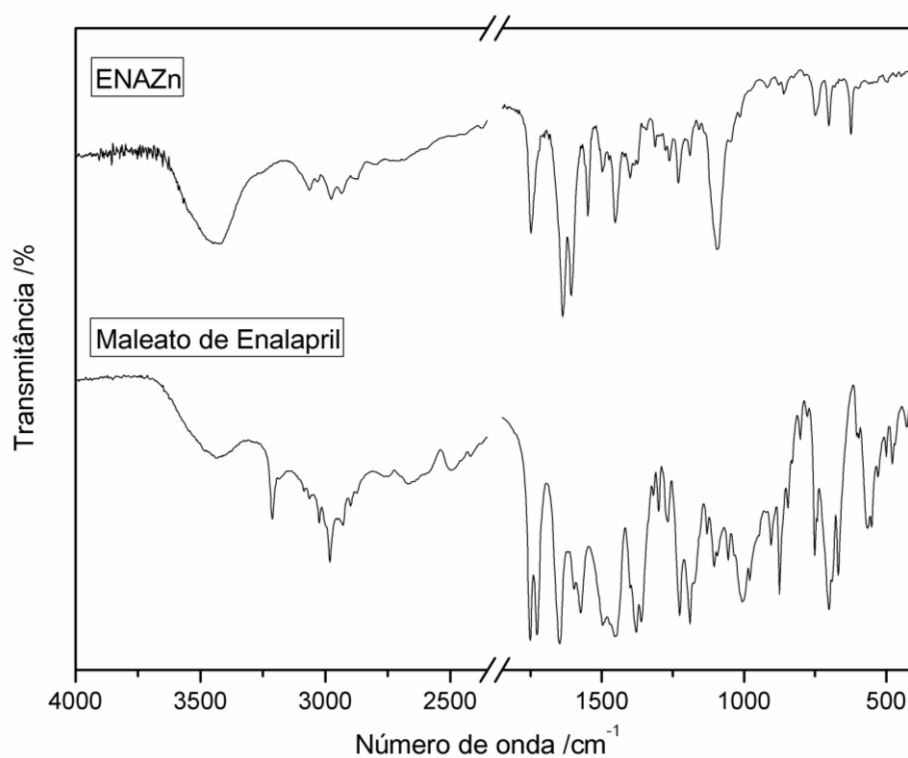


Figura 4.38. Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo ENAZn e do fármaco maleato de enalapril.

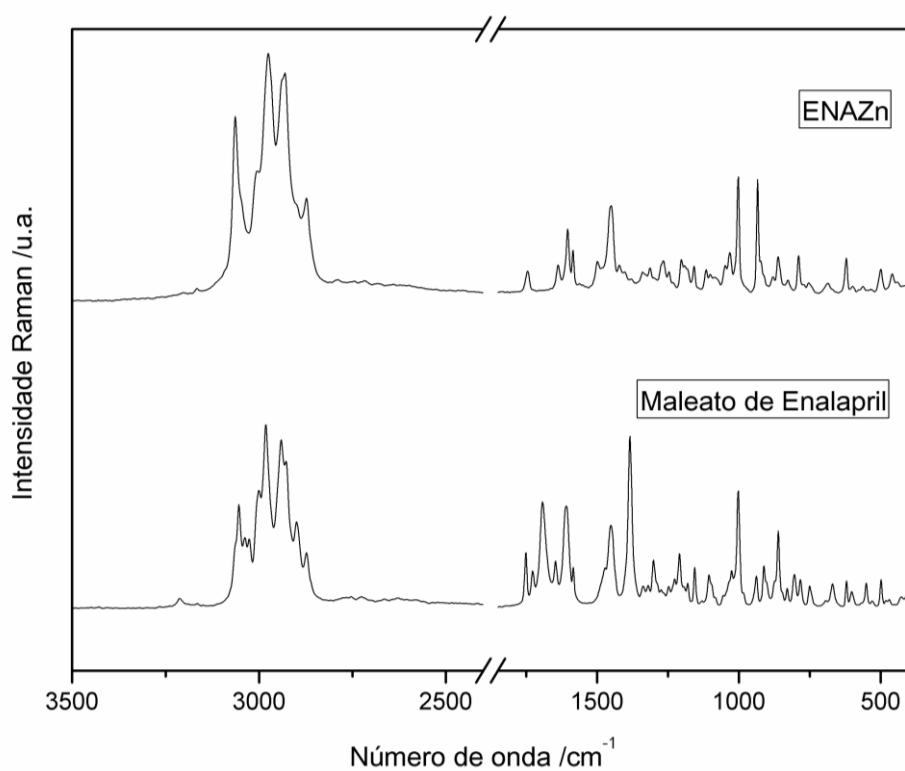


Figura 4.39. Espectro Raman do complexo ENAZn e do fármaco maleato de enalapril.

Tabela 4.12. Atribuições espectroscópicas do fármaco maleato de enalapril e do complexo ENAZn (em cm^{-1}) (RIBEIRO, 2008; WIDJAJA, 2007).

Maleato de Enalapril		ENAZn		Atribuições
IV	R	IV	R	
3214 m	-	3241 o	-	$\nu(\text{NH})$
3026 f	3051 m	3071 f	3067 F	$\nu(\text{CH})_{\text{ar}}$
2983 m	2981 F	2981 f	2977 F	$\nu(\text{CH})_{\text{al}}$
2983 m	2981 F	2981 f	2977 F	$\nu_{\text{ass}}(\text{CH}_3)$
2930 f	2932 F	2935 f	2935 F	$\nu_{\text{ass}}(\text{CH}_2)$
2897 mf	2891 f	2875 f	2874 m	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
2897 mf	2891 f	2875 f	2874 m	$\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$
1749 mF	1748 f	1748 F	1746 mf	$\nu(\text{CO})_{\text{est}}$
1729 mF	1730 mf	1724 mf	1730 mf	$\nu(\text{CO})_{\text{ac}}$
1647 mF	1648 mf	1640 mF	1641 f	$\nu(\text{CO})_{\text{ami}}$
1577 m	1584 mf	-	-	$\nu(\text{CO})_{\text{mal}}$
1455 F	1456 m	1456 m	1454 m	$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1221 F	1215 mf	1225 m	1243 mf	$\nu(\text{CCO})_{\text{ace}}$
1191 F	-	1184 f	1190 f	$\nu(\text{CCO})_{\text{est}}$
-	-	1096 F	-	$\nu(\text{ClO})$
746 m	748 mf	747 f	-	$\gamma(\text{CH})$

Para o complexo ENAZn observam-se algumas bandas características do composto enalapril, tais como $\nu(\text{CO})_{\text{ami}}$, $\nu(\text{CH})_{\text{ar}}$, $\nu(\text{CO})_{\text{est}}$ presentes em ambos os espectros vibracionais (infravermelho e Raman). Isto sugere que o composto enalapril esteja presente no complexo formado.

Através da espectroscopia vibracional na região do infravermelho para o complexo ENAZn percebe-se um deslocamento para menores números de onda do modo referente ao estiramento da carbonila do ácido carboxílico ($\nu(\text{CO})_{\text{ac}}$) presente na molécula de enalapril.

Isto pode ser um indício da coordenação do ligante por este átomo de oxigênio carbonílico. Pela espectroscopia Raman não foi possível inferir acerca de quais átomos estariam coordenados o sítio metálico, uma vez que a banda referente ao $\nu(\text{CO})_{\text{ac}}$ não sofreu deslocamento perceptível, ressaltando que devido a intensidade muito fraca desta banda, sua diferenciação da banda referente ao $\nu(\text{CO})_{\text{est}}$ não é muito simples. Foi possível observar uma banda intensa em torno de 1096 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{ClO})$, indicando assim a possível presença do contra-íon perclorato no complexo formado.

b) Análise elementar de CHN

Os dados da análise elementar de CHN para o composto ENAZn estão expostos na Tabela 4.13. Através desta análise foi possível sugerir uma relação estequiométrica metal-ligante de 1:4, com a presença de dois contra-íons perclorato.

Tabela 4.13. Análise elementar de CHN do composto ENAZn ($[\text{Zn}(\text{ENA})_4] \cdot (\text{ClO}_4)_2$).

	C (%)	H (%)	N (%)
Experimental	53,91	6,44	6,36
Calculado	54,28	6,38	6,33
Erro (%)	0,68	0,94	0,47

c) Análise termogravimétrica

A curva termogravimétrica obtida encontra-se na Figura 4.40 e exibe três perdas de massa sendo que a soma das duas primeiras em 184 e 434°C são relativas à perda de massa referente à um mol de íon perclorato e de três mols de enalapril desprotonado. A última perda

de massa equivale à termodecomposição de 1 mol do ligante e de um mol do íon perclorato. Finalmente pode-se atribuir a massa do resíduo (7,69%) condizente a ZnO somado a um material remanescente do ligante (erro relativo de 5,19%). Desta forma, a estequiometria metal-ligante é 1:4, com a presença de dois íons perclorato no composto. A curva DTA não foi obtida para este complexo.

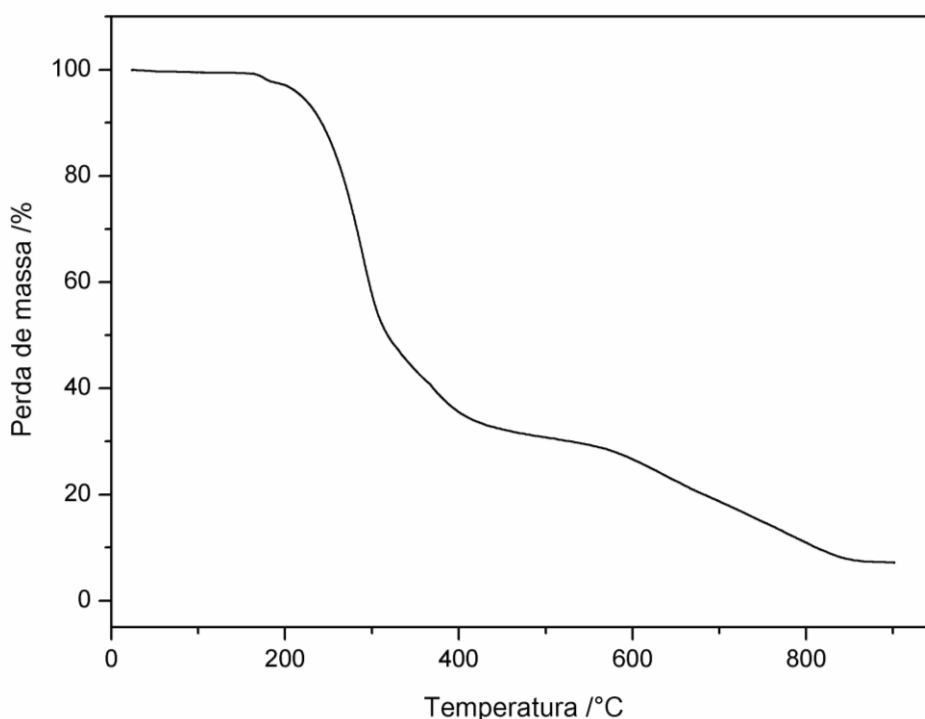


Figura 4.40. Curva termogravimétrica do complexo ENAZn.

d) Difração de raios X de monocristal

A difração de raios X de monocristal para o complexo ENAZn revelou a presença de quatro moléculas do composto enalapril que se coordenam ao íon Zn^{2+} pelo átomo de oxigênio do carboxilato de sua estrutura de modo monodentado. Com a perda do próton do grupo ácido das moléculas de enalapril ocorreu a protonação dos átomos de nitrogênio do grupo amina. A neutralização do complexo foi obtida pela presença de dois contra-íons

perclorato na estrutura cristalina. Na Figura 4.41 encontra-se a estrutura cristalina do complexo ENAZn gerada pelo programa ORTEP (FARRUGIA, 1997).

Nesta estrutura cristalina, o átomo de zinco está em uma posição especial ($x = 1, y = 0$ e $z = 1$) que é uma posição onde um elemento de simetria está presente. Neste composto o elemento de simetria presente nesta posição são eixos de rotação de ordem dois. O íon metálico Zn^{2+} adotou uma geometria tetraédrica, coordenando-se a quatro átomos de oxigênio do grupo carboxilato do enalapril. Conforme relatos da literatura já indicavam, os fármacos inibidores da ECA se ligam pelo grupo carboxila, no caso do enalapril, aos átomos de zinco que estão contidos no sítio ativo da enzima ECA, inativando-a. Desta forma, a estrutura cristalina obtida está em acordo com a proposta biológica já realizada em trabalhos anteriores (OIGMAN, 1998).

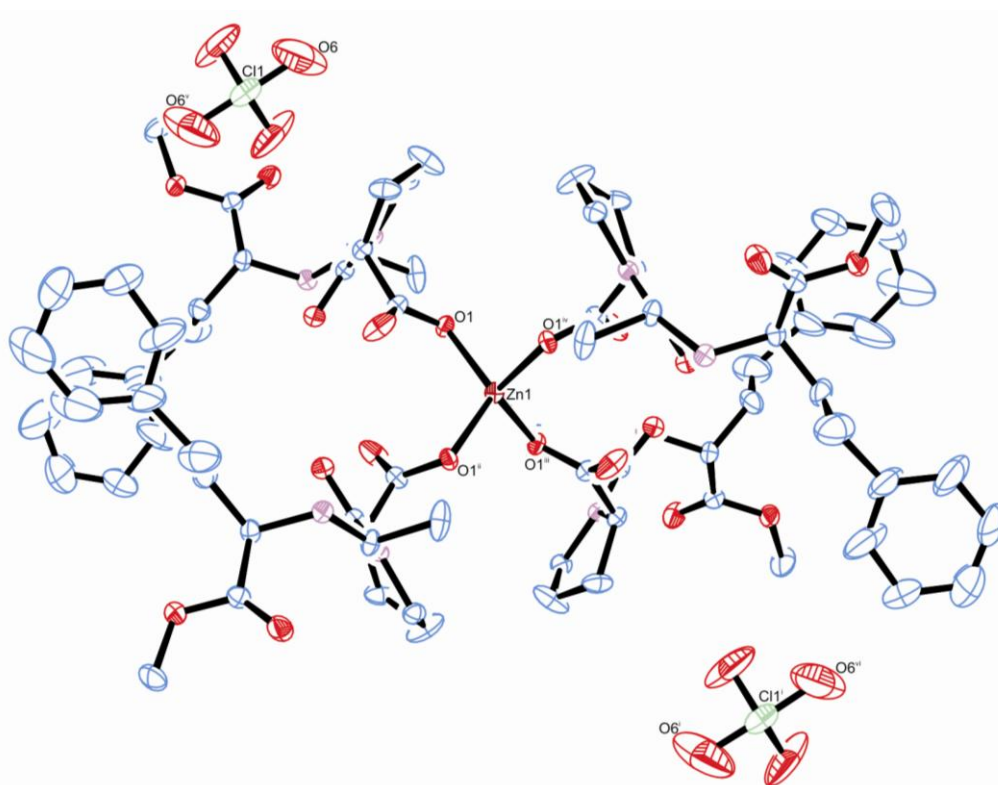


Figura 4.41. Estrutura cristalina do complexo ENAZn gerada pelo programa ORTEP (FARRUGIA, 1997). Códigos de simetria: (i) $-x, -y, z-1$; (ii) $x, -y, -z$; (iii) $-x, -y, z$; (iv) $-x, y, -z$; (v) $-x+1/2, -y+1/2, z$; (vi) $x-1/2, y-1/2, z-1$.

O refinamento do complexo ENAZn sugeriu que o átomo de oxigênio O6 do íon perclorato estivesse desordenado. O efeito de desordem posicional é perceptível em diversos compostos, sendo bastante comuns em moléculas de água e em alguns contra-íons, como o

perclorato (MARINHO, 2010). Desta maneira, este átomo foi refinado com fatores de ocupação distintos. A desordem refinada de O6/O6A apresentou uma razão de componentes livres de 0,60:0,40. A desordem nos átomos de oxigênio do contra-íon perclorato (O6 e O6A) pode ser vista na Figura 4.42, na qual estes átomos estão localizados em dois diferentes sítios com a distribuição ocupacional de 60 e 40%, respectivamente.

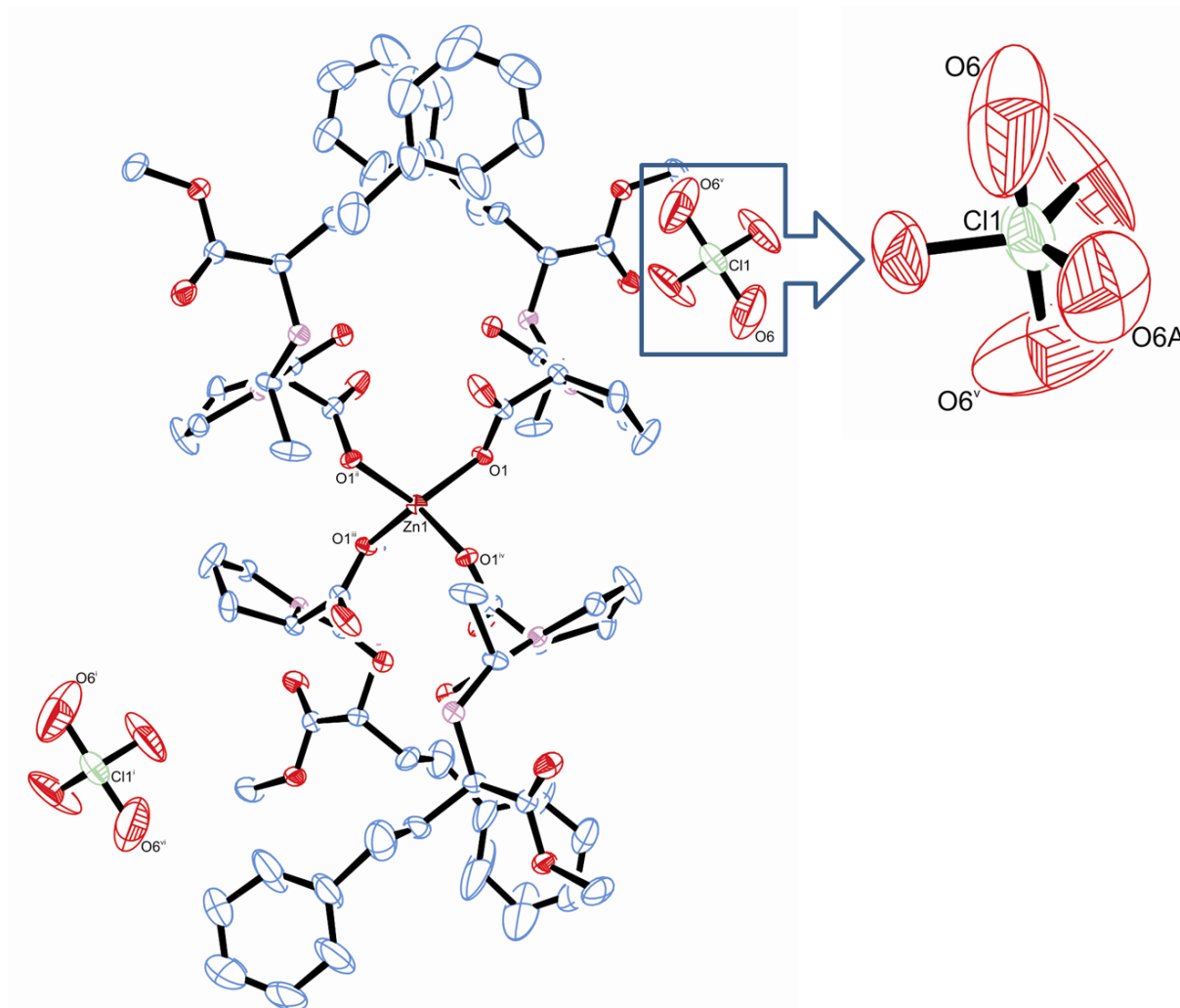


Figura 4.42. Desordem ocupacional nos átomos de oxigênio do íon perclorato no complexo ENAZn.

e) Difração de raios X de monocristal à baixa temperatura

Uma vez que a estrutura cristalina do complexo ENAZn apresentou desordem de ocupação, fez-se a medida de difração de raios X de um monocristal deste composto à baixa temperatura. Em temperaturas mais baixas espera-se que efeitos de desordem sejam diminuídos da estrutura do composto, uma vez que a posição de equilíbrio associada à vibração térmica de cada átomo é mais acertada. Pode-se perceber através da estrutura cristalina obtida deste complexo em baixa temperatura (150K) na Figura 4.43 a ausência de desordem ocupacional. Este complexo no qual ocorreu a medida de difração de raios X de monocristal à baixa temperatura foi denominado ENAZnBT.

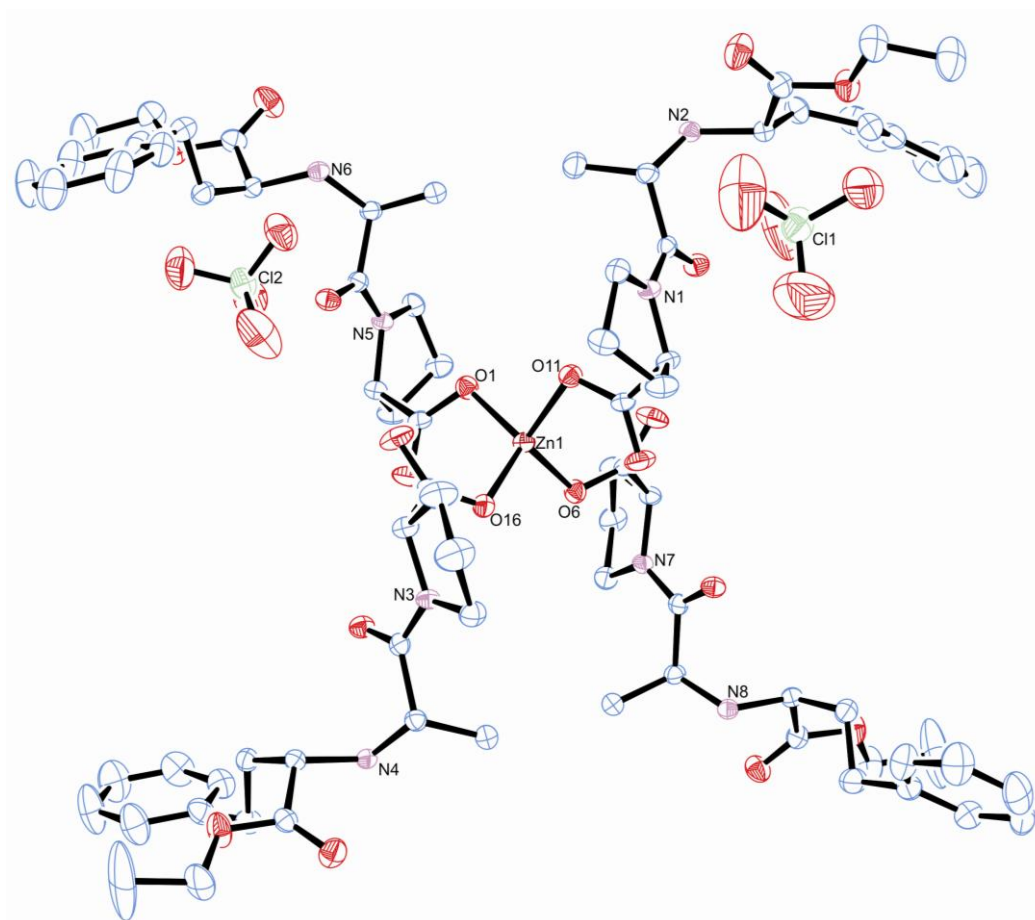


Figura 4.43. Estrutura cristalina do composto ENAZnBT.

A estrutura cristalina do composto ENAZnBT também mostrou que o enalapril se coordenou ao íon Zn^{2+} pelos átomos de oxigênio do grupo carboxilato, além de se observar a presença de dois contra-íons perclorato, assim como na estrutura do complexo ENAZn.

A princípio, pensou-se em fazer a análise deste complexo à baixa temperatura apenas para diminuir efeitos de desordem, mas, ao final da medida de difração, os dados obtidos indicaram a ocorrência de uma transição de fase no cristal medido com a temperatura mais baixa. Isto possibilitou uma discussão mais acurada acerca desta transição de fase ocorrida e também uma comparação entre as duas estruturas obtidas. Na Tabela 4.14 encontram-se os dados cristalográficos referentes às duas estruturas ENAZn e ENAZnBT.

Tabela 4.14. Dados cristalográficos dos cristais ENAZn e ENAZnBT.

Composto	ENAZn	ENAZnBT
Fórmula Molecular	$C_{80}H_{112}Cl_2N_8O_{28}Zn$	$C_{80}H_{112}Cl_2N_8O_{28}Zn$
Massa Molecular / $g.mol^{-1}$	1770,05	1770,05
Sistema Cristalino	Ortorrômbico	Ortorrômbico
Grupo Espacial	C222	$P2_12_12_1$
a / Å	21,002(2)	17,519(2)
b / Å	24,870(2)	20,840(2)
c / Å	9,230(2)	23,655(2)
$\alpha = \beta = \gamma / ^\circ$	90	90
V / Å ³	4451,10(2)	8636,10(2)
Z	2	4
Temperatura / K	298(2)	150(2)
$d_{calc.} / g.cm^{-3}$	1,301	1,361
Reflexões: medidas/únicas	6512/3342	29182/13257
Reflexões observadas [$F_o^2 > 2\sigma(F_o^2)$]	2911	12453
Nº de parâmetros refinados	296	1072
R	0,067	0,037
wR	0,184	0,098
S	1,044	1,021

f) Transição de fase e polimorfismo conformacional no complexo ENAZn

A transição de fase ocorrida no complexo ENAZn ao realizar-se a medida de difração de raios X de monocristal em baixa temperatura pôde ser constatada, em uma primeira

análise, observando-se a Tabela 4.14. Através da análise desta tabela, percebem-se diferenças nos parâmetros de rede e nos grupos espaciais dos compostos ENAZn e ENAZnBT. Com a medida em temperatura mais baixa ocorreu uma redução de simetria (o grupo espacial C222 do composto ENAZn é mais simétrico que o grupo P2₁2₁2₁ do composto ENAZnBT).

Estes compostos obtidos são polimorfos, mas especificamente polimorfos conformacionais. Diferenças significativas na conformação molecular destes compostos são essencialmente localizadas nos ângulos de torções.

Cristais polimorfos podem (ou não) se interconverter via uma transição de fase (BRAGA, 1998). Os cristais polimorfos deste trabalho não se interconvertem via uma transição de fase. Uma transição de fase ordem-desordem é observada nestes cristais, uma vez que a estrutura cristalina do complexo ENAZn é ordenada em baixa temperatura e desordenada em temperatura ambiente. Esta transição de fase ordem-desordem é uma das principais diferenças observadas nestes compostos e afeta de maneira significativa as mudanças conformacionais observadas.

g) Determinação da faixa da temperatura de transição de fase do complexo ENAZn através de medidas de difração de raios X com diminuição de temperatura

A medida de difração de raios X de um monocristal do complexo ENAZn em diferentes temperaturas pré-estabelecidas forneceu a faixa de temperatura aproximada na qual ocorre a transição de fase no complexo ENAZn.

Uma série de quatro pré-experimentos (determinam os parâmetros da célula unitária e também o tempo da medida de difração de raios X a ser feita) foram realizados em um monocristal do composto ENAZn. O primeiro pré-experimento foi realizado em temperatura ambiente (298 K) e a célula unitária inicial do complexo ENAZn ($a = 21,002(2) \text{ \AA}$, $b = 24,870(2) \text{ \AA}$, $c = 9,230(2) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$) foi obtida. A temperatura foi diminuída para 240 K e depois para 200 K e a mesma célula unitária inicial foi obtida. Somente ao se reduzir a temperatura do pré-experimento para 150 K é que foi possível observar uma mudança nos parâmetros de rede da célula unitária do complexo ENAZn ($a = 17,519(2) \text{ \AA}$, $b = 20,840(2) \text{ \AA}$,

$c = 23,655(2) \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$), indicando assim que a faixa de temperatura na qual ocorre a transição de fase no complexo ENAZn é 150K-200K.

h) Análise por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise do complexo ENAZn por DSC não forneceu a temperatura na qual ocorre a transição de fase. Uma suposição pode ser feita na tentativa de explicar o porquê da não visualização da transição de fase na curva dsc deste complexo. A explicação se refere a pouca diferença entre os compostos. Ambos os compostos ENAZn e ENAZnBT possuem o mesmo sistema cristalino (ortorrômbico) e apenas grupos espaciais diferentes. Isso pode não ter sido suficiente para a visualização da transição de fase. A Figura 4.44 mostra a curva dsc para o complexo ENAZn (da temperatura ambiente de 23°C à temperatura baixa de -100°C e da temperatura baixa de -100°C à temperatura ambiente de 23°C).

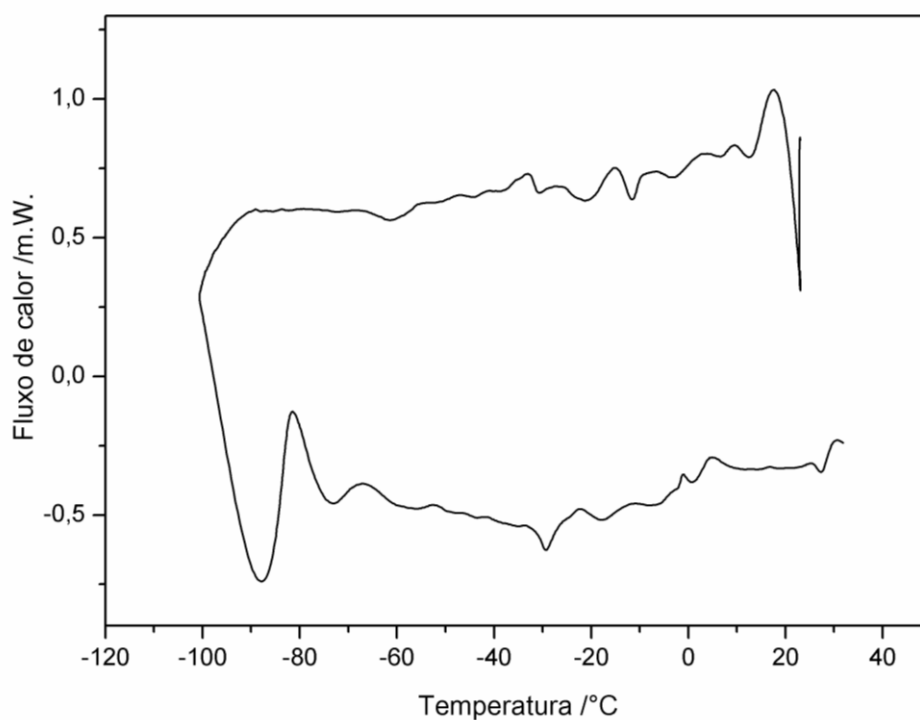


Figura 4.44. Curva dsc do complexo ENAZn.

i) Teste de reversibilidade de transição de fase do complexo ENAZn

O complexo ENAZn foi testado quanto a sua reversibilidade de transição de fase. O monocristal deste complexo medido à temperatura de 150 K (temperatura na qual já ocorreu a transição de fase) foi novamente medido a temperatura de 298 K. Observou-se que a transição de fase no complexo ENAZn é irreversível, uma vez que este monocristal medido a baixa temperatura não retorna ao polimorfo inicial medido a temperatura ambiente. Isto pôde ser observado pelos valores dos parâmetros de rede da célula unitária que permaneceram inalterados.

j) Principais diferenças conformacionais nos compostos ENAZn e ENAZnBT

A nível molecular, as moléculas de ENAZn e ENAZnBT diferem somente na orientação relativa dos anéis presentes no enalapril, além de algumas distâncias e ângulos de ligações presentes, conforme demonstra a Tabela 4.15 com as principais distâncias e ângulos de ligações envolvidos nos complexos ENAZn e ENAZnBT. A nível cristalino diferem-se na orientação relativa das moléculas, conforme demonstra as Figuras 4.45 e 4.46 relativas às células unitárias dos compostos ENAZn e ENAZnBT.

Tabela 4.15. Principais distâncias e ângulos de ligações envolvidos nos complexos ENAZn e ENAZnBT.

ENAZn		ENAZnBT	
<i>Distâncias de ligação / Å</i>		<i>Distâncias de ligação / Å</i>	
Zn1-O1	2,021(2)	Zn1-O1	2,015(2)
Zn1-O1 ⁱ	2,021(2)	Zn1-O6	1,996(2)
Zn1-O1 ⁱⁱ	2,021(2)	Zn1-O11	2,000(2)
Zn-O1 ⁱⁱⁱ	2,021(2)	Zn1-O16	1,992(2)
C11-O6A	1,350(3)	C11-O25	1,387(3)
C11-O7	1,298(3)	C11-O27	1,398(4)
C11-O7 ^{iv}	1,298(3)	C11-O28	1,408(4)
C11-O6	1,361(4)	C11-O26	1,418(3)
C11-O6 ^{iv}	1,361(4)		
<i>Ângulos de ligação / °</i>		<i>Ângulos de ligação / °</i>	
O1 ⁱ -Zn1-O1	119,46(2)	O11-Zn1-O1	103,48(7)
O1 ⁱ -Zn1-O1 ⁱⁱ	102,49(2)	O6-Zn1-O1	102,47(7)
O1-Zn1-O1 ⁱⁱ	107,67(2)	O16-Zn1-O1	119,84(7)
O1 ⁱ -Zn1-O1 ⁱⁱⁱ	107,67(2)	O6-Zn1-O11	118,69(7)
O1-Zn1-O1 ⁱⁱⁱ	102,87(2)	O16-Zn1-O11	104,10(7)
O1 ⁱⁱ -Zn1-O1 ⁱⁱⁱ	119,46(2)	O16-Zn1-O6	109,04(8)
O6A-C11-O7	118,09(3)	O28-C11-O26	110,40(2)
O6A-C11-O7 ^{iv}	118,09(3)	O27-C11-O26	111,30(2)
O7-C11-O7 ^{iv}	124,02(3)	O25-C11-O26	109,93(2)
O6A-C11-O6 ^{iv}	90,61(2)	O27-C11-O28	108,30(2)
O7-C11-O6 ^{iv}	88,09(2)	O25-C11-O28	108,30(3)
O7 ^{iv} -C11-O6 ^{iv}	92,03(2)	O25-C11-O27	108,50(2)

Códigos de simetria: (i) $x, -y, 2-z$; (ii) $2-x, y, 2-z$; (iii) $2-x, -y, z$; (iv) $2,5-x, 1/2-y, z$.

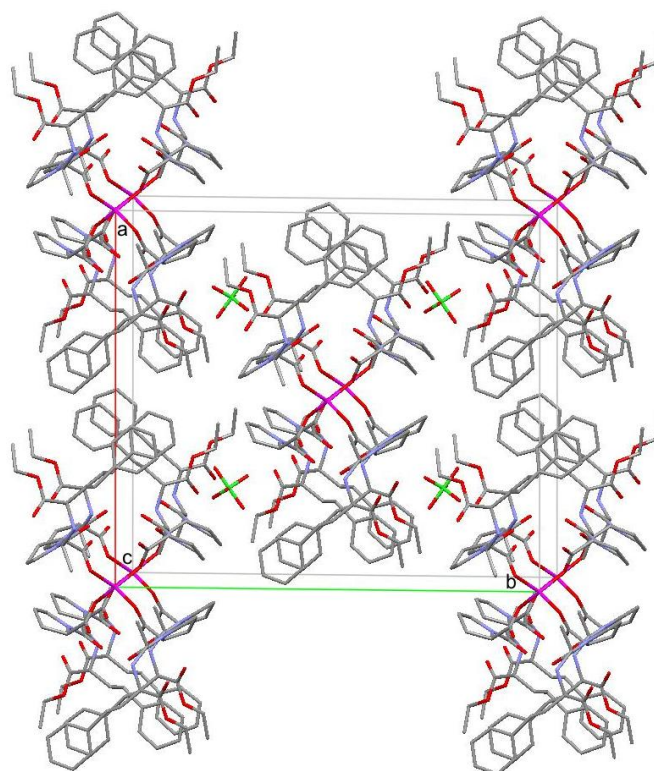


Figura 4.45. Célula unitária do composto ENAZn.

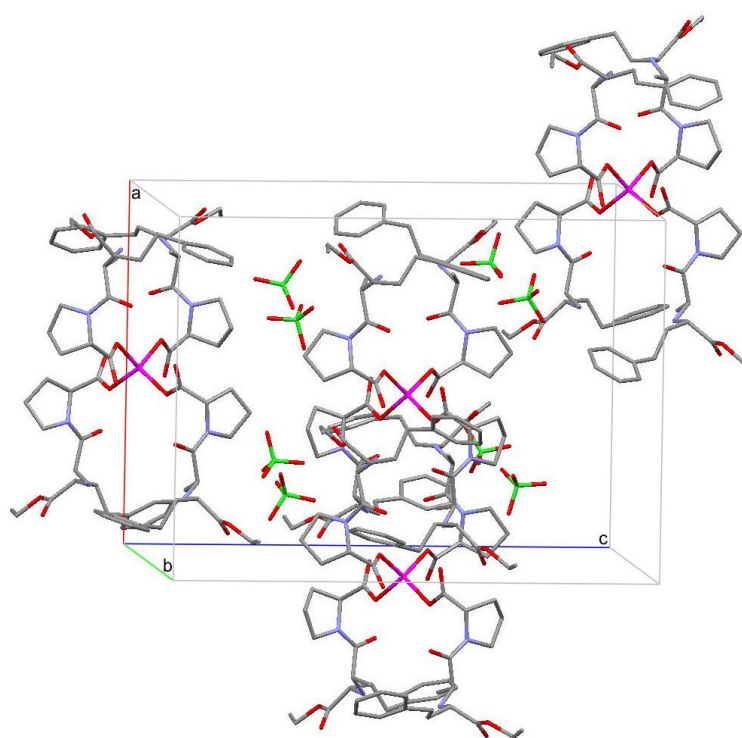


Figura 4.46. Célula unitária do composto ENAZnBT.

Algumas diferenças nos ângulos de torção em ENAZn e ENAZnBT são observadas, tais como: o ângulo de torção entre C1C2N1C6 que é igual a $76,75^\circ$ em ENAZn e $-80,45^\circ$ em ENAZnBT (Figuras 4.47 e 4.48, respectivamente); o ângulo de torção entre N2C9C13C14 que é igual a $-69,19^\circ$ em ENAZn e o correspondente em ENAZnBT N2C9C10C11 igual a $-161,88^\circ$ (Figuras 4.49 e 4.50, respectivamente) e os ângulos de torção entre os carbonos alifáticos (C10C9C13C14 com ângulo igual a $54,83^\circ$ em ENAZn (Figura 4.51) e C18C9C10C11 com ângulo igual a $76,43^\circ$ em ENAZnBT (Figura 4.52)).

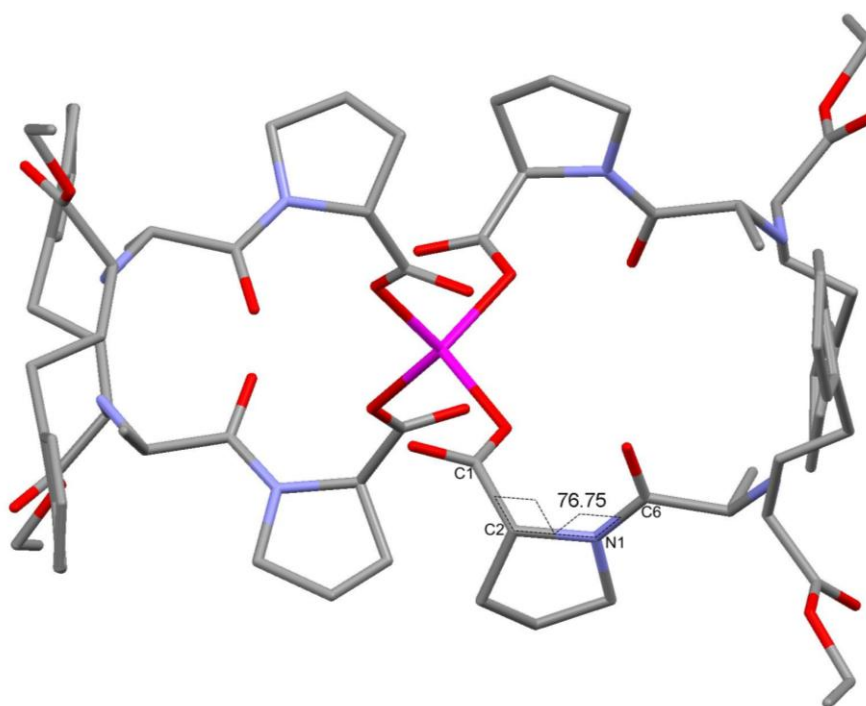


Figura 4.47. Ângulo de torção entre C1C2N1C6 em ENAZn.

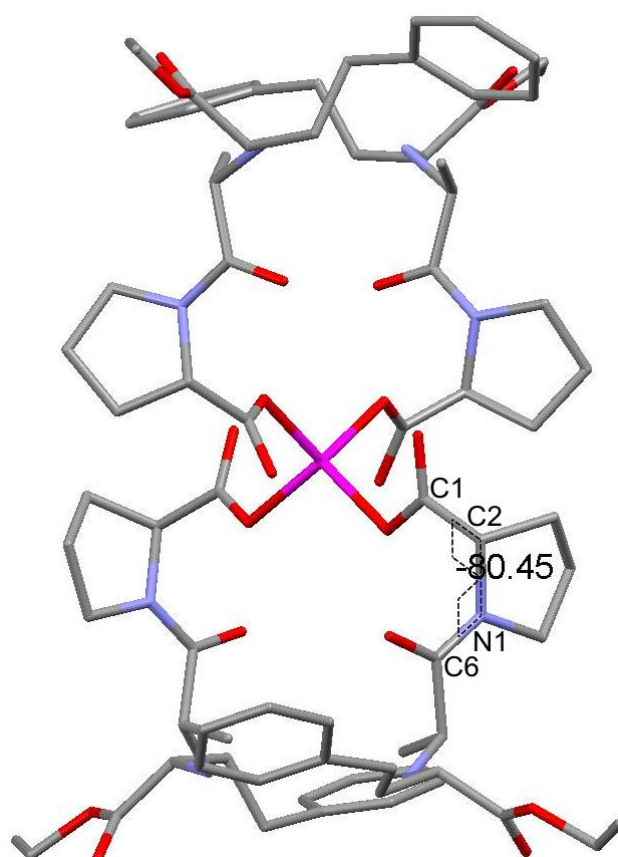


Figura 4.48. Ângulo de torção entre C1C2N1C6 em ENAZnBT.

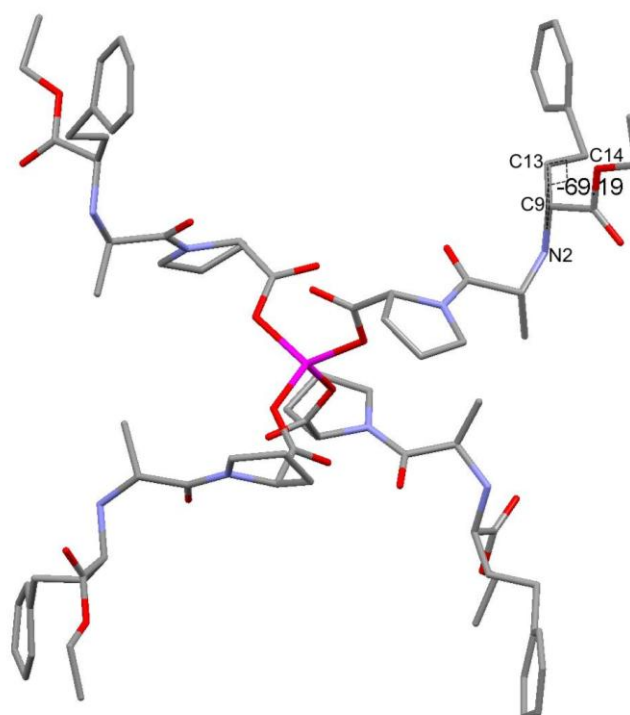


Figura 4.49. Ângulo de torção entre N2C9C13C14 em ENAZn.

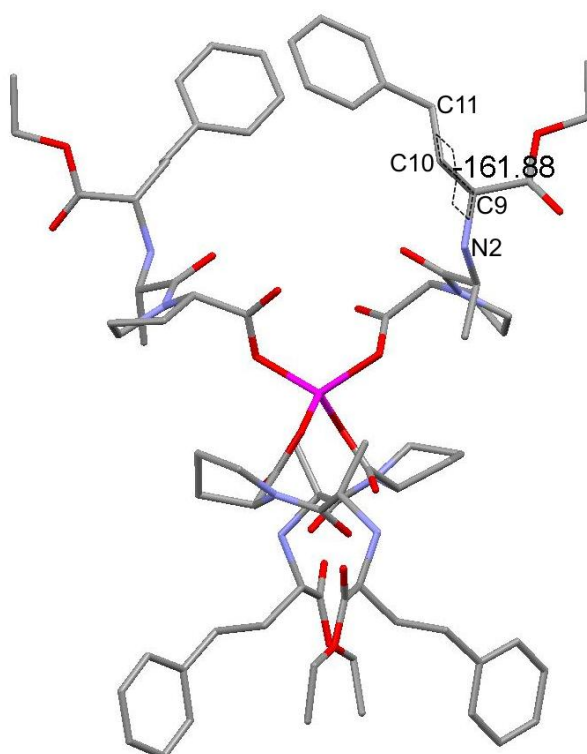


Figura 4.50. Ângulo de torção entre N2C9C10C11 em ENAZnBT.

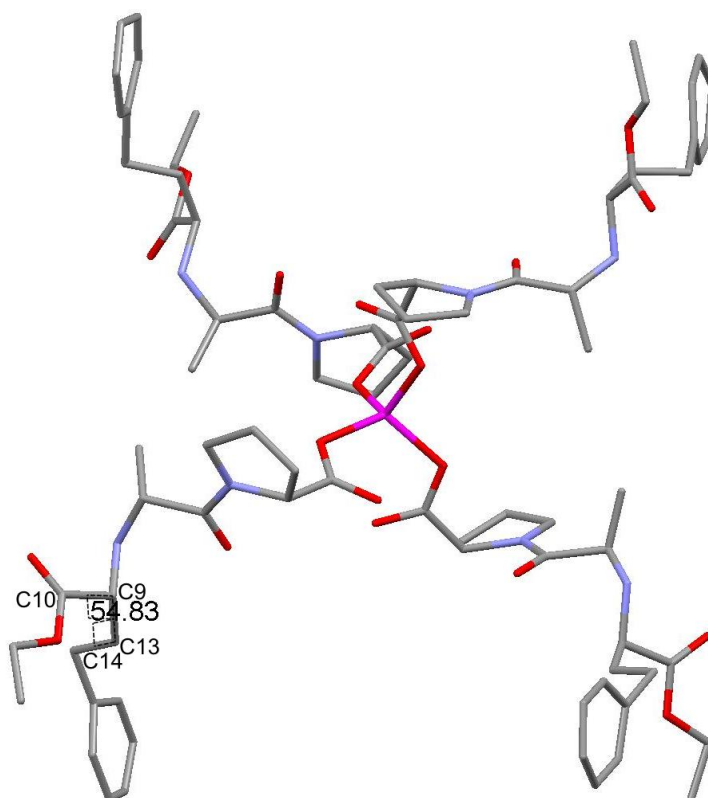


Figura 4.51. Ângulo de torção entre C10C9C13C14 em ENAZn.

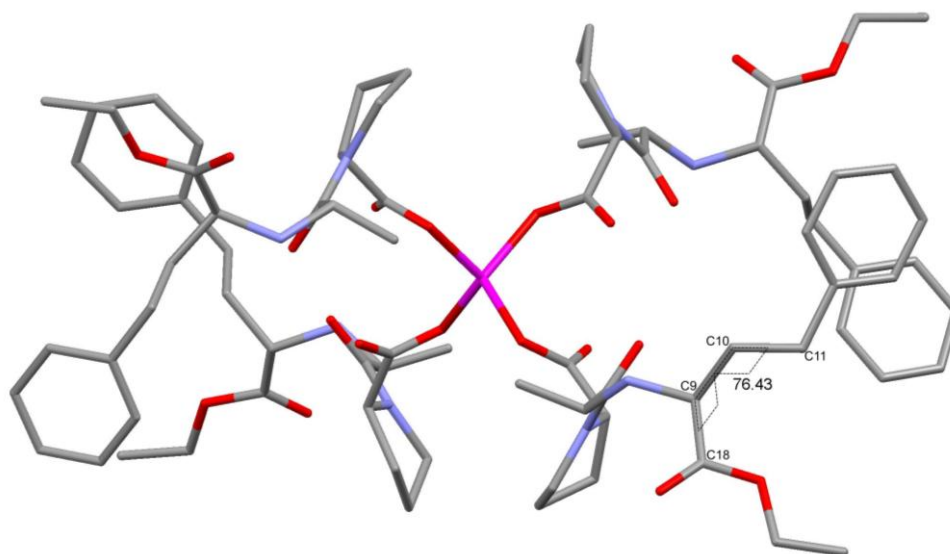


Figura 4.52. Ângulo de torção entre C18C9C10C11 em ENAZnBT.

k) Interações moleculares nos compostos ENAZn e ENAZnBT

As principais interações responsáveis pela estabilização de ambos os compostos ENAZn e ENAZnBT são as ligações de hidrogênio. Diversas interações desse tipo estão presentes nestes compostos e são responsáveis por gerar estruturas supramoleculares que se estendem em 3D. Ligações de hidrogênio não convencionais entre os átomos de hidrogênio ligados aos de carbono da cadeia alifática de ambos os compostos e os átomos de oxigênio dos contra-íons perclorato podem ser vistas nas Figuras 4.53 e 4.54. As Figuras 4.55 e 4.56 demonstram algumas ligações de hidrogênio envolvendo átomos de hidrogênio ligados aos de nitrogênio do grupo amina e átomos de oxigênio da estrutura ao longo do eixo cristalográfico *c* para ENAZn e ao longo do eixo cristalográfico *a* para ENAZnBT.

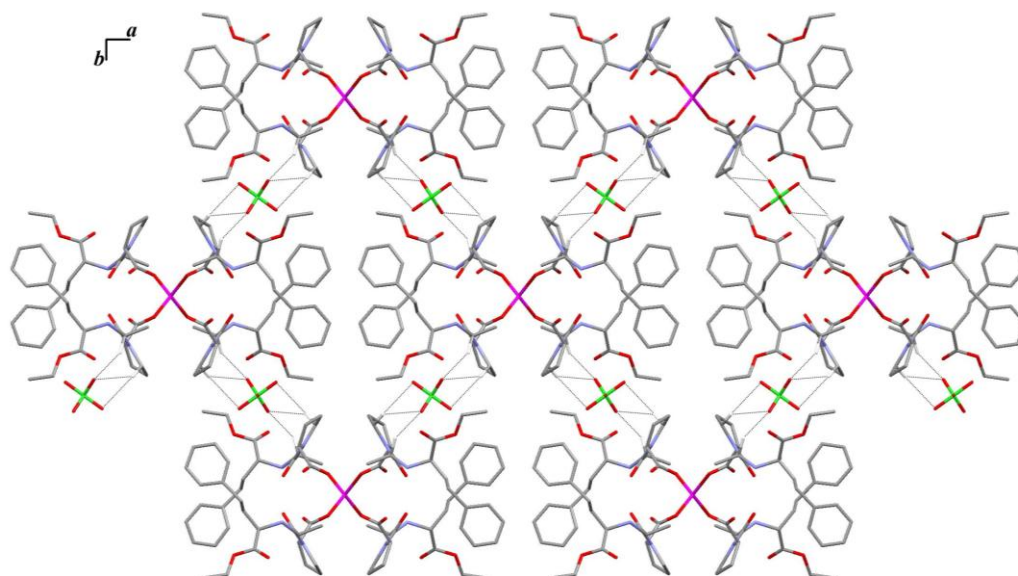


Figura 4.53. Ligações de hidrogênio envolvendo os íons perclorato presentes na rede cristalina do composto ENAZn.

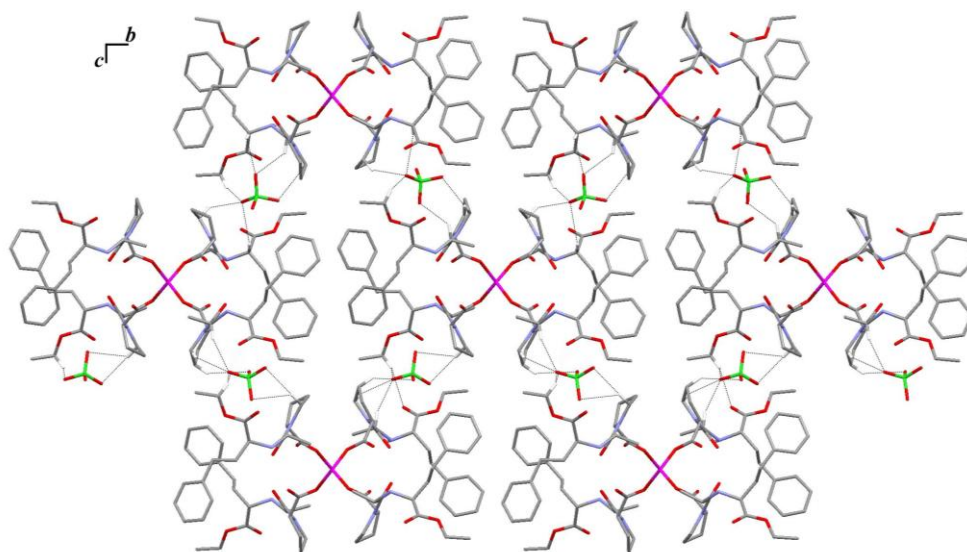


Figura 4.54. Ligações de hidrogênio envolvendo os íons perclorato presentes na rede cristalina do composto ENAZnBT.

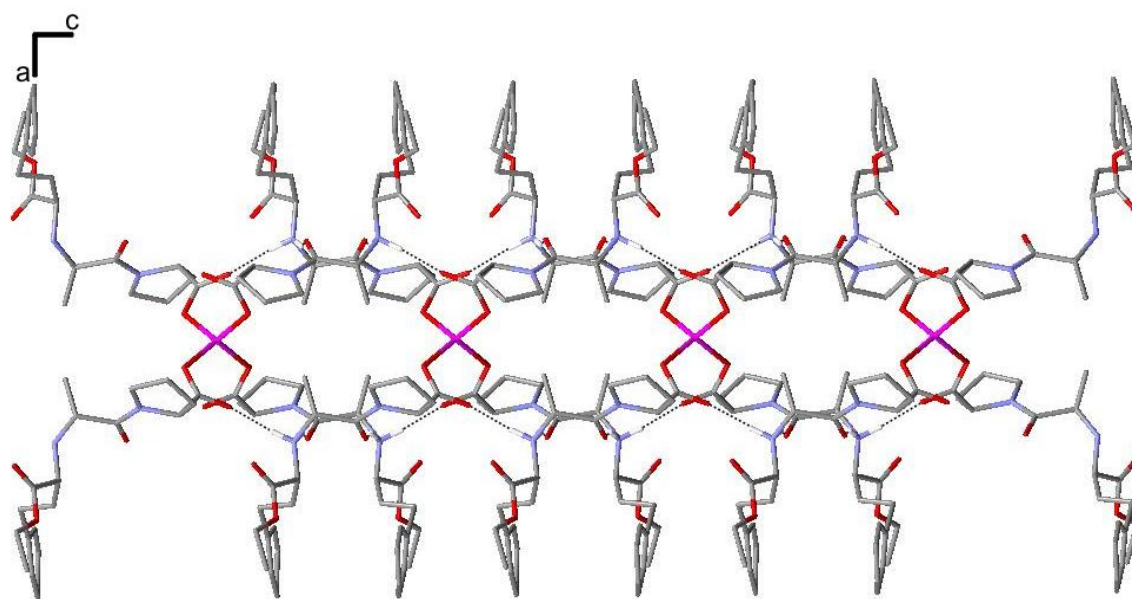


Figura 4.55. Ligações de hidrogênio dos grupos amina presentes no composto ENAZn.

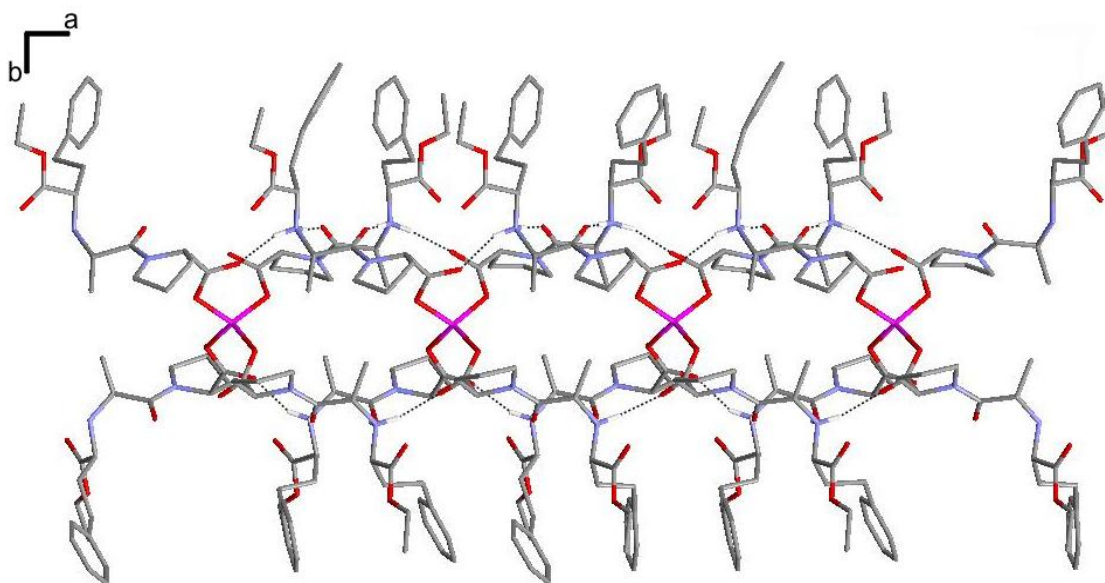


Figura 4.56. Ligações de hidrogênio dos grupos amina presentes no composto ENAZnBT.

A Tabela 4.16 mostra os valores para as principais distâncias envolvidas nestas ligações de hidrogênio. As ligações de hidrogênio presentes em ambos os compostos são de moderadas a fracas como pode ser observado pelas distâncias entre $D \cdots A$ (DINIZ, 2003).

Tabela 4.16. Ligações de hidrogênio nos compostos ENAZn e ENAZnBT.

ENAZn					
D	H	A	D-H / Å	H...A / Å	D...A / Å
N2	H7	O2	0,90(3)	1,90(2)	2,810(3)
N2	H7B	O3	0,90(3)	2,41(2)	2,856(3)
C5	H5B	O7	0,97(2)	2,470(3)	3,310(4)
C5	H7A	O4	1,00(2)	2,520(3)	3,380(4)
C8	H8A	O2	0,98(2)	2,330(3)	3,100(3)
ENAZnBT					
D	H	A	D-H / Å	H...A / Å	D...A / Å
N2	H2A	O2	0,87(2)	1,85(2)	2,683(3)
N2	H2B	O18	0,87(2)	1,99(2)	2,856(3)
N4	H4	O18	0,88(2)	2,31(3)	2,643(3)
N6	H6	O4	0,88(2)	2,39(3)	2,741(3)
C5	H5B	O25	0,97(2)	2,580(3)	3,245(4)
C5	H5B	O27	0,97(2)	2,520(3)	3,480(4)
C8	H8A	O2	0,96(2)	2,270(3)	2,998(3)

l) Verificação de geminação no monocristal do complexo ENAZn

Uma verificação acerca de uma possível geminação no monocristal do complexo ENAZn foi realizada através de uma comparação do difratograma do cristal ENAZn (simulado através do arquivo.cif de sua estrutura cristalina) com o difratograma experimental obtido de policristais deste complexo. A Figura 4.57 mostra (a) o difratograma de policristais do complexo ENAZn e (b) o difratograma simulado (através do arquivo.cif) do cristal ENAZn

usado na medida. Pode-se observar pela simples comparação dos difratogramas que o cristal ENAZn não apresenta geminação uma vez que os picos de Bragg dos difratogramas são coincidentes.

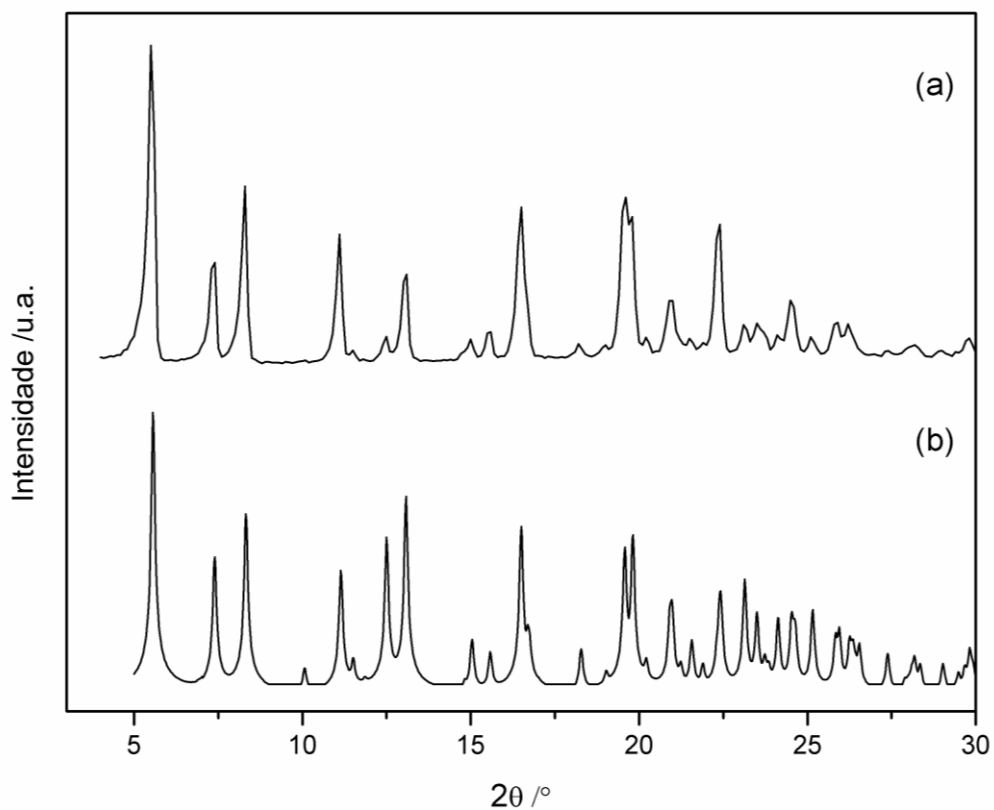


Figura 4.57. Difratogramas (a) policristais do complexo ENAZn e (b) monocristal do complexo ENAZn.

m) Comentários gerais a respeito do complexo ENAZn

Todas as análises realizadas foram elucidativas quanto à formação de um novo complexo do fármaco enalapril com o íon Zn^{2+} . A difração de raios X de monocristal mostrou que o fármaco enalapril se coordena ao íon metálico Zn^{2+} pelos átomos de oxigênio do grupo carboxilato de sua estrutura de modo monodentado. Esta estrutura cristalina indicou que *in vitro* a complexação do enalapril ao íon Zn^{2+} é semelhante ao que é sugerido *in vivo*.

**CAPÍTULO 5:
CONCLUSÕES**

5. CONCLUSÕES

As investigações estruturais dos compostos formados neste trabalho auxiliaram o entendimento do mecanismo de ação destes fármacos no organismo, uma vez que foi possível observar a formação de complexos *in vitro* semelhante ao que é sugerido na literatura como proposta de formação destes compostos *in vivo*. Todos os complexos formados foram caracterizados pelas técnicas usuais de espectroscopia vibracional (IV e Raman), análise elementar de CHN sendo que no caso dos complexos HIDZn e CLOZn também foi realizado a análise elementar de cloro, análises térmicas, ressonância magnética nuclear para o novo derivado da clortalidona, análise por calorimetria exploratória diferencial somente para o complexo ENAZn e alguns compostos foram analisados por difração de raios X de monocristal e policristal.

O ligante hidrocloreotiazida aparentemente coordena-se de forma bidentada ao sítio metálico de Zn^{2+} pelo anel heterocíclico através dos átomos de nitrogênio e oxigênio do grupo sulfo. Isto pôde ser verificado pela análise dos espectros vibracionais deste composto uma vez que ocorreram deslocamentos dos modos vibracionais atribuídos aos $\nu(NH)$ e $\nu(SO)$ para menores números de onda. A esfera de coordenação do íon metálico é completada pela coordenação a dois íons cloreto adotando desta forma uma geometria tetraédrica. Além disso, as análises térmicas e de CHNCl indicaram a presença de três moléculas de água de hidratação no complexo. A formação do complexo envolvendo este fármaco e o íon zinco exigiu condições drásticas de síntese usando alta temperatura (140 °C) e pressão.

O ligante clortalidona parece coordenar-se de modo quelato ao íon Zn^{2+} através dos átomos de oxigênio e nitrogênio do grupo γ -lactama. Esta coordenação pode ser observada pelo deslocamento para menores números de onda do modo vibracional atribuído ao $\nu(CO)$ e $\nu(NH)$ do grupo γ -lactama. As condições de síntese para a obtenção deste complexo são bem específicas, envolvendo alta temperatura (150°C), pressão e somente meio aquoso.

As sínteses dos complexos diuréticos-Zn exigiu condições drásticas de síntese, indicando que no caso das associações o enalapril tem coordenação preferencial ao íon metálico quando comparada aos diuréticos.

O ligante clortalidona, na presença de $Zn(ClO_4)_2 \cdot 6H_2O$, água e etanol e utilizando-se rampa de programação em estufa para aquecimento à temperatura de 110 °C, forma um novo

derivado do fármaco. Este composto ao ser caracterizado por difração de raios X apresentou sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial $Pca2_1$. O empacotamento cristalino é estabilizado por ligações de hidrogênio intermoleculares do tipo $O-H\cdots O$ e $N-H\cdots O$ e intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$. Um mecanismo para formação deste novo derivado da clortalidona foi proposto no qual o $Zn(ClO_4)_2$ atua como ácido de Lewis.

Para obtenção de um complexo entre o composto enalapril e o íon Zn^{2+} o maleato precisou ser retirado da solução do fármaco. Somente após a retirada do maleato ocorreu a coordenação do enalapril pelo átomo de oxigênio do grupo carboxilato de modo monodentado ao íon Zn^{2+} . Desta maneira o íon metálico adotou uma geometria tetraédrica indicando que *in vitro* a complexação do enalapril ao íon Zn^{2+} é semelhante ao que é sugerido *in vivo*. Este complexo apresentou grupo espacial $C222$ e é estabilizado por ligações de hidrogênio. A estrutura cristalina obtida revelou ainda a presença de desordem ocupacional em um átomo de oxigênio do contra-íon perclorato. A fim de amenizar esta desordem fez-se a medida deste monocristal a baixa temperatura. Ao final desta medida percebeu-se a ocorrência de uma transição de fase ordem-desordem, uma vez que a estrutura cristalina do complexo enalapril-Zn é ordenada a baixa temperatura e desordenada em temperatura ambiente. Além disso, ocorreu uma mudança na estrutura cristalina do composto medido a temperatura ambiente, uma vez que os parâmetros de rede e o grupo espacial ($P2_12_12_1$) são diferentes dos obtidos a temperatura ambiente. Estes complexos são polimorfos conformacionais apresentando como principal diferença em suas estruturas os ângulos de torção na molécula do ligante. A faixa da temperatura da transição de fase foi determinada por medidas de difração de raios X com diminuição de temperatura. Através de um teste de reversibilidade de transição de fase foi possível ainda observar que a transição de fase no complexo ENAZn é irreversível.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, M. R. M. P.; GEMAL, A. L.; GIL R. A. S. S. Caracterização de polimorfismo em fármacos por ressonância magnética nuclear no estado sólido. **Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 553-564, 1999.

AZEVEDO, Roberta de Cássia Pimentel. **Estudo da liberação *in vitro* de captopril cápsulas magistrais por cromatografia líquida de alta eficiência**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, 2007.

BERTULANI, Carlos. **Pressão arterial**: o que significam os números de uma medida de pressão arterial? Rio de Janeiro: Ensino de física à distância, [2009?]. Disponível em: <http://www.if.ufrj.br/teaching/fis2/hidrostatica/pressao_art.html>. Acesso em: 04 mai. 2011.

BLESSING, R. H. An empirical correction for absorption anisotropy. **Acta Crystallographica A**, v. 51, p. 33-38, 1995.

BORTOLOTTI, Luis Aparecido. Bases farmacológicas para associação fixa de drogas. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 10, n. 4, p. 260-264, 2003.

BRAGA, Dario; GREPIONI, Fabrizia; DESIRAJU, Gautam R. Crystal Engineering and Organometallic Architecture. **Chemical Reviews**, v. 98, p. 1375-1405, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hipertensão arterial atinge 23,3 % dos brasileiros**, 2011. Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=1498&CO_NOTICIA=12487>. Acesso em: 04 mai. 2011.

CALHORDA, Maria José. Weak hydrogen bonds: theoretical studies. **Chemical Communications**, p. 801-809, 2000.

CHAGAS, Luciano Honorato. **Estudos estruturais de hidrotalcitas e derivados por difração de raios X de policristais**. 2010. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, 2010.

CRYSTALIS PRO, Oxford Diffraction Ltd. **Version 1.171.33.55 (release 05-01-2010 CrysAlis171.NET) (compiled Jan 5 2010, 16:28:46)**. New York: Oxford Diffraction Ltd, 2010.

DINIZ, Renata. **Ligações de Hidrogênio em Sólidos**. 2003. 203f. Tese (Doutorado em Química)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

DUPONT, Par L.; DIDEBERG O. Structure Cristalline de l'Hydrochlorothiazide, $C_7H_8ClN_3O_4S_2$. **Acta Crystallographica B**, v. 28, p. 2340-2347, 1972.

EGERT, E. Patterson search - an alternative to direct methods. **Acta Crystallographica A**, v. 39, p. 936-940, 1983.

ETTER, Margaret C.; MACDONALD, John C. Graph-Set Analysis of Hydrogen-Bond Patterns in Organic Crystals. **Acta Crystallographica B**, v. 46, p. 256-262, 1990.

FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows: a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). **Journal Applied Crystallography**, v. 30, p. 565, 1997.

FEITOSA, Gilson Soares. O comportamento do sistema renina-angiotensina na insuficiência cardíaca congestiva. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, n. 4, p. 425-430, 2001.

FLACK, H. D. On enantiomorph-polarity estimation. **Acta Crystallographica A**, v. 39, p. 876-881, 1983.

GIACOVAZZO, C. et al. **Fundamentals of Crystallography**. 2. ed. New York: Oxford University Press, 2002.

IANZER, Danielle Alves. **A ação cardiovascular dos peptídeos ricos em prolina da *Bothrops jararaca* não está relacionada com a inibição da enzima conversora de angiotensina I e potenciação da bradicinina**. 2006. 138f. Tese (Doutorado em Ciências)-Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2006.

KHLOBYSTOV, Andrei N. et al. Supramolecular design of one-dimensional coordination polymers based on silver(I) complexes of aromatic nitrogen-donor ligands. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 222, p. 155-192, 2001.

LADD, M. F. C.; PALMER, R. A. **Structure Determination by X-ray Crystallography**. 4. ed. New York: Kluwer Academic, 2003.

LARSON, A. C. **Crystallographic Computing**. Copenhagen: Munksgaard, 1970.

MACRAE, C. F. et al. Mercury: visualization and analysis of crystal structures. **Journal Applied Crystallography**, v. 39, p. 453-457, 2006.

MARINHO, Maria Vanda et al. Syntheses, crystal structures and electron paramagnetic resonance studies of Co^{II} -and- Mn^{II} -coordination polymers with the twisted ligand di(4-pyridyl)disulfide in double bridge fashion. **Polyhedron**, v. 29, p. 2657-2666, 2010.

MARTINS, Felipe T. et al. Conformational Polymorphism in Racemic Crystals of the Diuretic Drug Chlortalidone. **Crystal Growth e Design**, v. 9, n. 7, p. 3235-3244, 2009.

MULLER, P. et al. **Crystal Structure Refinement: A Crystallographer's Guide to SHELXL**. 1. ed. New York: Oxford University Press, 2006.

NATESH, Ramanathan et al. Structural Details on the Binding of Antihypertensive Drugs Captopril and Enalaprilat to Human Testicular Angiotensin I-Converting Enzyme. **Biochemistry**, v. 43, p. 8718-8724, 2004.

NEUHOFF, Philip S.; STEBBINS, Jonathan F.; BIRD, Dennis K. Si-Al disorder and solid solutions in analcime, chabazite, and wairakite. **American Mineralogist**, v. 88, n. 2-3, p. 410-423, 2003.

OIGMAN, Wille; FRITSCH, Mario Toros. Drogas que intervêm no sistema renina-angiotensina. **HiperAtivo**, v. 5, n. 2, p. 84-90, 1998.

OLIVERA, Carolina Maria Xaubet. **Estudo da utilização dos inibidores da enzima conversora da angiotensina, captopril e enalapril, dispensados pelas farmácias das unidades públicas de saúde do Distrito Oeste de Ribeirão Preto-SP**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

PATTERSON, A. L. A Fourier Series Method for the Determination of the Components of Interatomic Distances in Crystals. **Physical Review**, v. 46, p. 372-376, 1934.

PERCHASKY, V. K.; ZAVALIJ, P. Y. **Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of Materials**. 2. ed. USA: Springer, 2005.

PIMENTA, Eduardo. Hydrochlorothiazide vs. Chlorthalidone: all thiazides are the same? **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 15, n. 3, p. 166-167, 2008.

PRÉCIGOUX, Gilles; GEOFFRE, Serge; LEROY, Françoise. N-(1-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolinium-Hydrogen Maleate (1/1), Enalapril (MK-421). **Acta Crystallographica C**, v. 42, p. 1022-1024, 1986.

RIBEIRO, Cristiane. **Intercalação de Ânion Enalaprilato em Hidróxido Duplo Lamelar Recoberto com Xiloglucana: Estudos de Liberação *in vitro***. 2008. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

SEQUEIRA, A.; RAJAGOPAL, H. Tetraaquabis(hydrogenmaleato)zinc(II) by Neutron Diffraction and Tetraaquabis(hydrogenmaleato)nickel(II) by High-Order X-ray Diffraction. **Acta Crystallographica C**, v. 48, p. 1192-1197, 1992.

SHELDRICK, G. M. **SHELXL-97**: A program for Crystal Structure Refinement. Germany: University of Göttingen, 1997.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SOBIOLOGIA: urina: o sistema urinário, 2010. Disponível em: <<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Corpo/excrecao2.php>>. Acesso em: 04 mai. 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 17, n.1, p. 4-64, jan./mar. 2010.

TILLEY, Richard J. D. **Crystals and Crystal Structures**. 2. ed. England: John Wiley e Sons Ltd, 2006.

VIÇOSA, Universidade Federal: raios X, 2011. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dpf/320/RaiosX.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 2011.

ZHENG, Jiang-Lin; LIN, Shu-Kun. Poly[tetraaquabis(μ -hidrogen maleato)barium(II)]. **Acta Crystallographica E**, v. 63, p. m1607-m1609, 2007.

WIDJAJA, Effendi et al. Multivariate data analysis as a tool to investigate the reaction kinetics of intramolecular cyclization of enalapril maleate studied by isothermal and non-isothermal FT-IR microscopy. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 32, p. 349-356, 2007.

WIKIPÉDIA: raios X, 2011. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Raios_X>. Acesso em: 04 jun. 2011.

WIKIPÉDIA: sangue, 2011. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Sangue>>. Acesso em: 04 mai. 2011.

WOOLFSON, Michael M. **An introduction to x-ray crystallography**. 2. ed. New York: Cambridge University Press, 1997.

ANEXOS

COMUNICAÇÕES CIENTÍFICAS APRESENTADAS EM CONGRESSOS PROVENIENTES DO TRABALHO DE MESTRADO

➤ COMUNICAÇÕES ORAIS

- Márcia C. de Souza, Chris H. J. Franco, Renata Diniz; “Estrutura Cristalina de um Novo Derivado do Fármaco Clortalidona Candidato a Potente Agente Anti-hipertensivo”. XXIV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG. Viçosa, 2010.
- Márcia C. de Souza, Chris H. J. Franco, Renata Diniz; “Estrutura Cristalina de um Complexo de Zn(II) com o Fármaco Enalapril”. 20ª Reunião da Associação Brasileira de Cristalografia. LNLS – Campinas, 2011.

➤ PÔSTER

- Márcia Cristina de Souza, Chris H. J. Franco, Carlos Basílio Pinheiro, Renata Diniz; “Conformational Polymorphism and Order-Disorder Phase Transition in Enalapril-Zn Complex”. XXII Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography. Madrid, Spain, 2011.

PUBLICAÇÃO DE CAPÍTULO NO LIVRO “VIBRATIONAL SPECTROSCOPY”

Title: Structure characterization of materials by association of the Raman Spectra and X-Ray diffraction data.

Authors: Luciano H. Chagas, Márcia C. de Souza, Weberton R. do Carmo, Heitor A. De Abreu and Renata Diniz.

ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO:

Márcia C. de Souza, Chris H. J. Franco, Vanessa E. de Oliveira and Renata Diniz; “Crystal and Vibrational Analysis of a novel alcohol derivate from chlorthalidone: ethylchlorthalidone”. **Journal of Chemical Crystallography**.