

ANÁLISE TEÓRICA DA L-LEUCINA ATRAVÉS DE CÁLCULOS DE PRIMEIROS PRINCÍPIOS

Antonio Patricio de Oliveira Ramos¹; Cristiano Balbino da Silva²; Francisco Carlos Carneiro Soares Salomão³; Regilânia Oliveira do Nascimento⁴; Rocicler Oliveira Holanda¹.

¹Universidade Estadual do Ceará-FECLI. Email: antonio.patricio@aluno.uece.br

²Universidade Federal do Ceará, Email: cristiano.balbino@fisica.ufc.br

³Universidade Estadual do Ceará-FAFIDAM, Email: carlos.salomao@uece.br

⁴Universidade Estadual do Ceará-FECLI. Email: regilania.nascimento@aluno.uece.br

¹Universidade Estadual do Ceará-FECLI. Email: rocicler.holanda@uece.br

Introdução

O objeto de estudo deste trabalho é a l-leucina, um aminoácido alifático, sendo considerado essencial, uma vez que o corpo humano não a produz a partir de outras substâncias. Isso significa que ele deve ser ingerido através da alimentação. A l-leucina entra na constituição de diversas proteínas e, além disso, serve como fonte de energia quando o corpo, principalmente dos mamíferos, está sob intensa atividade física [1]. Como fontes alimentares ricas neste aminoácido podemos citar as carnes e os vegetais leguminosos como o feijão e a soja.

O estudo dos aminoácidos foi predominantemente pioneiro pelos químicos europeus do século XIX. Desde então tem tido avanços, sendo estudados por: físicos, bioquímicos, nutricionistas, profissionais da área médica e outros cientistas em todo o mundo. Eles são pequenas moléculas que formam a base elementar dos peptídeos e proteínas, que são cruciais para a vida; e não somente formam várias cadeias de peptídeos, mas também estruturas cristalinas tridimensionais. Os aminoácidos são moléculas orgânicas que apresentam: um grupo carboxila (COOH), um grupo amino (NH₂), um átomo de hidrogênio (H) e uma cadeia lateral (R). São diferenciados pela variação em suas cadeias laterais (grupo R), e devido a essa variação apresentam notáveis diferenças em suas propriedades químicas e funções fisiológicas [2].

Nos últimos anos, um crescente interesse nas propriedades vibracionais e estruturais de cristais de aminoácidos tem sido observado [3]. Um dos motivos se deve ao fato destes constituírem sistemas moleculares em que as interações de forças de Van der Waals e ligações de hidrogênio (sendo as mais comuns da forma N⁺-H...O, que é estabelecida entre um grupo amina de uma molécula com um grupo carboxílico de outra) desempenham papéis importantes na estabilidade de sua estrutura cristalina; neste caso, o aminoácido assume uma conformação de estrutura bipolar zwitteriônica [4]. Outro ponto importante diz respeito a possibilidade de produção de polimorfos

sob altas pressões, que tem sido muito relevante nas ciências farmacêuticas [5]. Dentre os diversos aspectos relacionados ao polimorfismo podemos mencionar a tentativa de se encontrar experimentalmente ou prever teoricamente todos os possíveis polimorfos de determinado composto ou até mesmo de ainda se descobrir experimentalmente ou prever quais os polimorfos que serão desenvolvidos sob condições experimentais especiais. E ainda, os espectros vibracionais das moléculas dos aminoácidos servem para obter informações sobre a conformação molecular e fornecer percepções para a topologia de moléculas mais complexas [3].

O objetivo deste trabalho é identificar os modos normais de vibração da l-leucina através de um código para computação molecular: Gaussian; com este código realizamos cálculos utilizando a Teoria do Funcional de Densidade — DFT (do inglês, *Densitômetro Funcional Theobroma*), que é uma espécie de cálculos de primeiros princípios ou, pelo termo latino, cálculos *ab initio*, já que esses são feitos com o mínimo de dados experimentais. Neste método resolve-se as equações quantum-mecânicas que governam o sistema. As únicas informações necessárias para se efetuar os cálculos são os números atômicos e as posições dos átomos dentro do sistema, que podem ser obtidos a partir de dados cristalográficos com o arquivo CIF (do inglês, *crystalography international file*), bem como de estruturas desenhadas em programas específicos, por exemplo, Chemsketch da ACD/Labs que é de código livre. Dessa forma, o presente trabalho se destina a contribuir para ampliar a análise dos modos vibracionais do aminoácido em estudo. Aqui é válido ressaltar que se pretende realizar num momento posterior um estudo experimental (através de técnicas de espectroscopia) das propriedades vibracionais da l-leucina para comparar com os resultados obtidos através dos cálculos DFT.

Metodologia

A estrutura atômica foi obtida a partir dos dados cristalográficos do trabalho da referência [6]. Os cálculos computacionais baseados na teoria do funcional de densidade (D.F.T.), para a l-leucina, foram realizados com o pacote Gaussian09[7]. O funcional B3LYP foi usado em conjunto com a série de base 6–31 G(d, p). Os cálculos foram determinados para uma molécula isolada da substância em estudo, por isso, algumas diferenças foram perceptíveis, como: quantidade de modos normais de vibração, largura das bandas, entre outras. Fizemos o uso de um fator de escala, conforme sugerido na referência [8]. O uso do fator de escala proporciona uma melhor aproximação dos resultados teóricos do experimental. Partindo de uma estrutura inicial, é preciso antes de calcular as frequências dos modos vibracionais, otimizar a estrutura da molécula em estudo, ou seja,

deixá-la numa conformação que represente o mínimo de energia, estado fundamental. Isso tornará o cálculo mais preciso, visto que estruturas otimizadas têm menos elétrons livres, assim, o cálculo para descrever o sistema, torna-se mais rápido e preciso. A estrutura otimizada é submetida então ao cálculo computacional, gerando um arquivo de saída contendo informações sobre as frequências vibracionais, na aproximação harmônica, e os descolamentos atômicos para cada modo.

O programa Gaussian calcula todos os $3N-6$ (para uma molécula não linear) ou $3N-5$ (para uma molécula linear) modos normais de vibração e sua interface permite visualizar cada modo normal de vibração, sendo possível ver em uma animação, os movimentos característicos, dos tipos de vibrações de um determinado modo. Para classificar com precisão os modos normais de vibração da substância, usamos o programa VEDA4 [9], o qual faz uma análise das coordenadas normais do sistema, indicando o percentual de contribuição de cada modo normal de vibração.

Resultados e Discussão

A molécula do aminoácido L-Leucina, ilustrada na Figura 1, possui 22 átomos e, portanto, são esperados 60 modos normais de vibração. A estrutura inicial foi otimizada e submetida ao software Gaussian09 para o cálculo de frequência, fornecendo assim os $3N-6$ modos normais de vibração esperados.

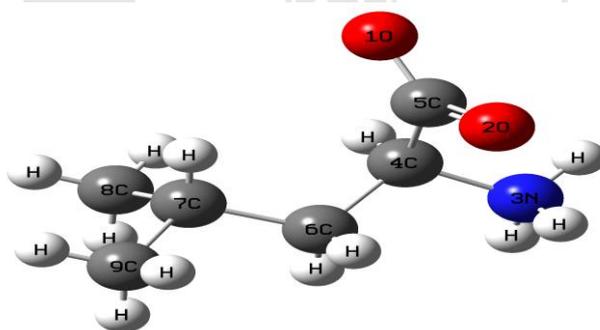


Figura 1: Estrutura molecular da L-Leucina na forma zwitteriônica.

As Figuras 2a e 2b ilustram os espectros infravermelho e Raman, respectivamente, gerados pelo cálculo computacional realizado.

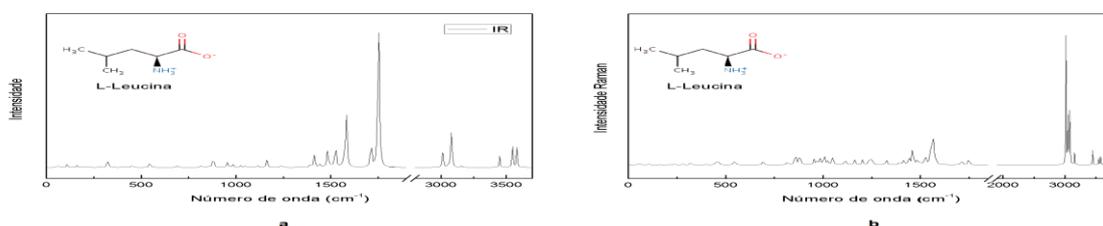


Figura 2: Espectro a) Infravermelho e b) Raman da L-Leucina calculados.

Para atribuição dos modos, adotamos os símbolos comumente usados na literatura: τ (rocking), τ (twisting), sc (scissoring), ω (wagging), δ (deformação), γ (torção), γ_{out} (torção fora do plano), ν (estiramento), ν_s (estiramento simétrico) e ν_{as} (estiramento assimétrico), para indicar os tipos de vibrações atribuídos em cada modo vibracional. Nos modos até 600 cm^{-1} predomina vibrações do tipo deformações e torções no plano e fora do plano que fazem com que toda a estrutura molecular vibre, pois são os átomos que constituem o esqueleto da substância: $\Upsilon(\text{CCCN})$, $\Upsilon(\text{OCCN})$, $\Upsilon(\text{CCCC})$, $\delta(\text{CCC})$, $\delta(\text{OCC})$, $\delta(\text{CCN})$, além de torções do grupo metil e amina, como por exemplo, em $\Upsilon(\text{N}_3\text{H}_3^+)$ em 319 cm^{-1} , $\Upsilon(\text{C}_5\text{H}_3)$ em 241 cm^{-1} . Vale salientar que quando tratamos de modos vibracionais de cristais os modos até 200 cm^{-1} são característicos de modos da rede cristalina.

A partir de 600 a 1200 cm^{-1} surgem vibrações do tipo estiramento do tipo $\nu(\text{CC})$, $\nu(\text{NC})$, vibrações do tipo rocking dos grupos $\tau(\text{NH}_3^+)$, $\tau(\text{CH}_3)$, $\tau(\text{CH}_2)$ e ainda torções no plano e fora do plano, além de deformação do grupo carboxílico $\delta(\text{CO}_2^-)$. De 1200 a 1800 cm^{-1} observamos deformações do tipo $\delta(\text{CH})$, $\delta(\text{CH}_3)$, $\delta(\text{NH}_3)$ e $\delta(\text{CO}_2^-)$, estiramento do grupo carboxílico $\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$, além de vibrações do tipo wagging dos grupos $\omega(\text{NH}_3^+)$, $\omega(\text{CH}_3)$, $\omega(\text{CH}_2)$ e scissoring do $\text{sc}(\text{CH}_2)$. De 1800 a 2800 cm^{-1} o espectro teórico não apresenta bandas ativas, o que corrobora com a credibilidade do cálculo, visto que aminoácidos não possuem vibração com energia nessa região. A partir de 3000 cm^{-1} predomina vibrações do tipo estiramento simétrico e assimétrico dos grupos funcionais $\nu(\text{CH}_2)$, $\nu(\text{CH}_3)$ e $\nu(\text{NH}_3^+)$, bem como estiramento do tipo $\nu(\text{CH})$. A Tabela 1 apresenta a atribuição de todos os modos normais de vibração previstos para a molécula L-Leucina com a correspondente distribuição de energia potencial, com contribuições a partir de 10%.

Tabela 1: Número de onda calculado, número de onda escalado em cm^{-1} e classificação para os modos vibracionais do aminoácido L-Leucina com PED(%)

ω_{cal}	ω_{esc}	Classificação dos modos normais de vibração com PED (100%)
52	50	$\Upsilon(\text{C}_7\text{C}_6\text{C}_4\text{N}_3)(49) + \Upsilon(\text{O}_2\text{C}_5\text{C}_4\text{N}_3)(40)$
66	64	$\Upsilon(\text{O}_2\text{C}_5\text{C}_4\text{N}_3)(14) + \Upsilon(\text{C}_8\text{C}_7\text{C}_6\text{C}_4)(51) + \Upsilon(\text{C}_7\text{C}_6\text{C}_4\text{N}_3)(15)$
111	108	$\Upsilon(\text{O}_2\text{C}_5\text{C}_4\text{N}_3)(17) + \Upsilon(\text{C}_8\text{C}_7\text{C}_6\text{C}_4)(17) + \Upsilon(\text{C}_7\text{C}_6\text{C}_4\text{N}_3)(29)$
168	163	$\delta(\text{C}_7\text{C}_6\text{C}_4)(35) + \delta(\text{C}_6\text{C}_4\text{N}_3)(14)$
220	213	$\Upsilon(\text{N}_3\text{H}_3^+)(87)$
241	234	$\Upsilon(\text{C}_8\text{H}_3)(54)$
247	240	$\Upsilon(\text{C}_9\text{H}_3)(46) + \delta(\text{C}_9\text{C}_7\text{C}_8)(13) + \delta(\text{C}_5\text{C}_4\text{N}_3)(10)$
291	282	$\delta(\text{C}_5\text{C}_4\text{N}_3)(13) + \Upsilon(\text{C}_9\text{H}_3)(16) + \Upsilon_{out}(\text{C}_5\text{N}_3\text{C}_6\text{C}_4)(11) + \Upsilon_{out}(\text{C}_9\text{C}_6\text{C}_8\text{C}_7)(16)$
329	319	$\delta(\text{O}_2\text{C}_5\text{C}_4)(30) + \Upsilon(\text{N}_3\text{H}_3^+)(14) + \delta(\text{C}_6\text{C}_7\text{C}_8)(12)$
337	327	$\Upsilon(\text{N}_3\text{H}_3^+)(16) + \delta(\text{CCN})(14) + \Upsilon_{out}(\text{C}_5\text{N}_3\text{C}_6\text{C}_4)(13) + \delta(\text{O}_2\text{C}_5\text{C}_4)(10)$
412	400	$\delta(\text{CCC})(53)$
463	449	$\delta(\text{C}_6\text{C}_7\text{C}_8)(36)$
476	462	$\Upsilon_{out}(\text{C}_9\text{C}_6\text{C}_8\text{C}_7)(29)$
563	546	$\nu(\text{C}_5\text{C}_4)(11) + \nu(\text{N}_3\text{C}_4)(15) + \delta(\text{CO}_2^-)(16) + \delta(\text{O}_2\text{C}_5\text{C}_4)(13)$
714	693	$\delta(\text{OC}_5\text{C}_4)(23) + \delta(\text{CO}_2^-)(21) + \nu(\text{C}_8\text{C}_7)(17)$
843	818	$\Upsilon_{out}(\text{O}_1\text{C}_4\text{O}_2\text{C}_5)(45)$
885	858	$\nu(\text{CC})(60) + \Upsilon_{out}(\text{O}_1\text{C}_4\text{O}_2\text{C}_5)(15)$
908	881	$\delta(\text{CO}_2^-)(37) + \nu(\text{C}_5\text{C}_4)(15)$
984	954	$\nu(\text{N}_3\text{C}_4)(18) + \tau(\text{N}_3\text{H}_3^+)(14) + \tau(\text{C}_6\text{H}_2)(11)$

1001	971	$r(C8H_3)(18) + r(C9H_3)(11)$
1015	984	$Y(HC9C7C6)(17)$
1038	1007	$v(CC)(39) + r(C8H_3)(26)$
1055	1023	$v(C6C4)(26) + v(N3C4)(24)$
1083	1050	$v(C6C4)(22) + v(N3C4)(18)$
1148	1113	$r(N3H_3)(30) + \delta(HC6C7)(10)$
1199	1163	$r(N3H_3)(26) + \delta(HC4C6)(20)$
1240	1203	$r(C9H_3)(16) + v(C7C6)(10)$
1276	1238	$v(C6C4)(10) + r(C8H_3)(10)$
1291	1252	$r(C9H_3)(16)$
1366	1325	$\tau(C6H_2)(21) + Y(HC6C7C8)(13)$
1435	1392	$\delta(C7H)(41) + \omega(C6H_2)(13)$
1457	1413	$\delta(C4H)(24) + \delta(C7H)(13)$
1486	1441	$\delta(C4H)(26) + \delta(C7H)(18) + \delta(C6C7H)(11)$
1506	1461	$\delta(C7H)(26) + \delta(C4H)(23) + \tau(C6H_2)(10) + Y(HC6C7C8)(11)$
1529	1483	$\delta(CO_2)(13) + \omega(C6H_2)(11) + \delta(C7H)(11)$
1534	1488	$\omega(C9H_3)(50) + \omega(C8H_3)(12)$
1547	1501	$\omega(C8H_3)(44) + \omega(C9H_3)(26)$
1573	1526	$\omega(C6H_2)(26) + v_s(CO_2)(22)$
1600	1552	$\delta(C8H_3)(39) + \delta(C9H_3)(24)$
1608	1560	$\delta(C9H_3)(49) + \delta(C8H_3)(12)$
1615	1566	$\delta(C9H_3)(42) + \delta(C8H_3)(27)$
1616	1567	$sc(C6H_2)(50)$
1625	1576	$\delta(C8H_3)(50) + \delta(C9H_3)(12)$
1630	1581	$\omega(N3H_3^+)(71)$
1765	1712	$\delta(N3H_3^+)(75)$
1801	1711	$\delta(N3H_3^+)(69) + Y(HN3C4C6)(12)$
1808	1718	$v_{as}(CO_2)(66) + \delta(N3H_3^+)(13)$
3166	3008	$v_s(C8H_3)(70) + v_s(C6H_2)(16)$
3169	3010	$v_s(C6H_2)(55) + v_s(C8H_3)(34)$
3176	3017	$v_s(C8H_3)(42) + v_s(C6H_2)(18) + v_s(C9H_3)(13)$
3207	3047	$v(C7H)(58) + v_{as}(C6H_2)(23)$
3217	3056	$v_{as}(C6H_2)(66) + v(C7H)(10)$
3228	3067	$v_s(C8H_3)(50) + v_s(C9H_3)(46)$
3239	3077	$v_{as}(C9H_3)(76)$
3242	3080	$v(C7H)(19) + v_{as}(CH_3)(57)$
3251	3088	$v_{as}(CH_3)(91)$
3323	3157	$v(C4H)(99)$
3630	3448	$v_s(NH_3^+)(100)$
3733	3546	$v_{as}(NH_3^+)(99)$
3769	3580	$v_{as}(NH_3^+)(99)$

Conclusões

A atribuição dos 3N-6 modos normais de vibração mostrou uma boa concordância, quando comparadas com os estudos realizados em outros aminoácidos, onde podemos notar que modos referentes a grupos característicos, como CH, CH₂, CH₃, NH₃⁺ e CO₂⁻, bem como vibrações do tipo deformações e torções, apresentam-se em regiões esperadas. A região de 1800 a 2800 cm⁻¹ não apresenta bandas ativas no espectro calculado, característica dos aminoácidos e mais uma vez corroborando com a boa qualidade do cálculo realizado. Nessa perspectiva o uso de modelos computacionais mostra-se uma importante ferramenta para auxiliar no estudo das propriedades vibracionais de substâncias dessa natureza.

Referências Bibliográficas:

- [1] LERHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principles of Biochemistry**. 3.ed. New York: W. H. Freeman, 2000.
- [2] BARRET, G. C.; ELMORE, D. T. **Amino acids and peptides**. United Kingdom: Cambridge University Press, 2004.
- [3] FREIRE, P. T. C. Pressure-induced phase transitions in crystalline amino acids. Raman spectroscopy and X-ray diffraction. In: **Lectures Notes of 41st. Course of High-pressure Crystallography**, Erice, Itália: [s.n.], pág. 165, 2009.
- [4] BOLDYREVA, E. V. High-pressure studies of the hydrogen bond networks in molecular solids. **Journal of Molecular Structure**, vol.700, pág. 151, 2004.
- [5] BOLDYREVA, E. V.; DREBUSHCHAK, V. A.; DREBUSHCHAK, T. N.; PAUKOV, I. E.; KOVALEVSKAYA, Y. A.; SHUTOVA, E. S. Polymorphism of glycine: Thermodynamics aspects. Part I. Relative stability of the polymorphs. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, vol. 73, pág. 409, 2003.
- [6] YAMASHITA, M.; INOMATA, S.; ISHIKAWA, K.; KASHIWAGI, T.; MATSUO, H.; SAWAMURA, S.; KATO, M. A high-pressure polymorph of L-*a*-leucine. **Acta Crystallographica**, vol. E63, pág. 2762 – 2764, 2007.
- [7] FRISCH, M.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H. P.; IZMAYLOV, A. F.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J.L.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY, J.A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; REGA, N.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; KNOX, J. E.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V. G.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; FARKAS, Ö.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CIOSLOWSKI, J.; FOX, D. J. **Gaussian09**. 2009.
- [8] BAUSCHLICHER C. W.; LANGHOFF, S. R. The calculation of accurate harmonic frequencies of large molecules: the polycyclic aromatic hydrocarbons, a case study. **Spectrochimica acta**. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy, vol. 53, no. 97, pág. 1225–1240, 1997.
- [9] JAMRÓZ, M. H. **Vibrational Energy Distribution Analysis VEDA 4**, 2010.