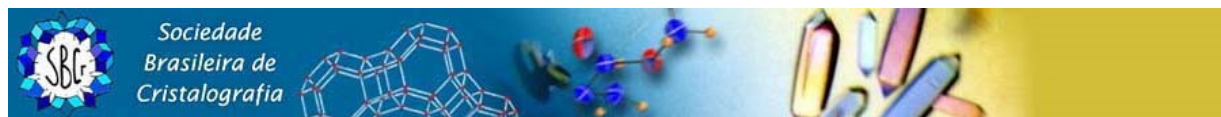




21ª Reunião da ABCr

18 a 20 de Setembro de 2013

UFG, Goiânia, GO



Introdução

A Associação Brasileira de Cristalografia foi fundada em outubro de 1971, como Sociedade Brasileira de Cristalografia, em uma Assembléia especialmente convocada para esse fim. Essa reunião teve a presença de 52 eminentes pesquisadores da época entre os quais 12 geólogos, 14 químicos, 21 físicos e 4 engenheiros provenientes de universidades de São Paulo e do Rio de Janeiro. Uma composição tão eclética já refletia o caráter interdisciplinar da Cristalografia e de sua metodologia de trabalho. Hoje em dia tem-se que acrescentar as contribuições da Cristalografia na Biologia Estrutural e no estudo de Nanomateriais, importantes áreas atuais de aplicação. Por essa razão, embora os pesquisadores que realizam trabalhos de cunho cristalográfico participem de eventos de áreas científicas específicas, as reuniões da ABCr são bastante úteis pelo seu caráter multidisciplinar. Tais reuniões permitirão o contato entre pesquisadores que usam métodos cristalográficos num ambiente bastante diverso, onde se pode inteirar de avanços metodológicos, de novos recursos instrumentais existentes no país e no exterior e das aplicações dos métodos cristalográficos a uma vasta gama de problemas científicos.

Na reunião de fundação definiu-se a finalidade básica da instituição que é de “promover o desenvolvimento da Cristalografia no Brasil nos seus diversos setores básicos, tecnológicos e na formação de recursos humanos em todos os níveis.” Dentro desta finalidade, inclui-se a realização de reuniões científicas periódicas as quais dão oportunidade de aproximar cristalógrafos e cientistas que utilizam métodos cristalográficos de todo o país (e da América Latina). Desde a fundação, tais reuniões foram realizadas anualmente nos primeiros anos e bi-anualmente mais recentemente; a próxima será a 21ª. Todas as reuniões anteriores contaram com o apoio financeiro de órgãos de fomento à pesquisa no país, o que foi fundamental para o sucesso das mesmas. Historicamente as reuniões congregam entre 100 e 150 pesquisadores na área de Cristalografia no país, incluindo estudantes de graduação e pós-graduação.

As reuniões da ABCr têm sido organizadas por comissões lideradas pelo presidente em exercício; em geral, são realizadas na cidade onde o presidente tem suas atividades profissionais.

Mais detalhes sobre a ABCr podem ser encontrados na atual página WEB da associação: <http://www.abcrystalografia.org.br/>.

Importância da Cristalografia

As propriedades biológicas, físicas e químicas de um material ou molécula dependem intrinsecamente do seu arranjo atômico. O conhecimento da estrutura de uma molécula ou conjunto de átomos e de seu arranjo espacial permite entender propriedades, propor modificações e/ou novos processos de produção, além de facilitar a modelagem de funções e o projeto de estruturas similares, com propriedades distintas. São inúmeras as possibilidades de aplicação deste conhecimento nas várias áreas da ciência pura e tecnológica.

A Cristalografia moderna tem por objetivo essencial o conhecimento da estrutura dos materiais em nível atômico, independentemente do seu estado físico e de sua origem, e das relações entre essa estrutura e suas propriedades. Esta definição foi se estabelecendo a partir de 1911, quando a primeira experiência de difração de raios X foi realizada no laboratório de Max von Laue, tendo como resultado duas descobertas fundamentais: a natureza eletromagnética dos raios X e a natureza descontínua da matéria. Estabeleceu-se, dessa forma, o fato de todos os materiais serem constituídos por átomos e/ou moléculas que, nos cristais, apresentam distribuição periódica com organização tridimensional. Materiais que apresentam ordem apenas bi- ou uni-dimensional também apresentam padrões de difração típicos e podem ser analisados por técnicas cristalográficas. Também, partículas de dimensões adequadas dispersas em um meio de densidade eletrônica diferente apresentam propriedades que podem ser observados utilizando-se a técnica de espalhamento de raios X a baixo ângulo, usualmente conhecida por sua sigla SAXS.

A 21ª reunião da ABCr

A atual Reunião da Associação Brasileira de Cristalografia é a vigésima primeira. Essa reunião será organizada por pesquisadores associados da **ABCr**, com a co-participação do Instituto de Física da Universidade Federal de Goiás (UFG). O evento acontecerá nos prédios do Centro de Cultura e Eventos da UFG e do Instituto de Física da UFG, em Goiânia, GO, entre os dias 18 e 20 de setembro de 2013.

A programação do evento e a distribuição das atividades estará disponível na página WEB da ABCr (<http://www.abcrystalografia.com.br>). O programa científico inclui minicurso, palestras convidadas, sugeridas pelo *Comitê Científico*, e comunicações orais a serem selecionadas entre os resumos submetidos ao evento. Como abertura de trabalhos em cada dia, acontecerão palestras tutoriais, apresentando o panorama geral das áreas mais importantes de interesses atuais. Haverá ainda seções de painéis os quais também serão selecionados entre os resumos submetidos. Pretende-se que estas seções estimulem, de uma maneira informal, discussões e trocas de opiniões e experiências científicas.

Além da programação científica, acontecerão as sessões de abertura e de encerramento e um momento de confraternização entre os participantes. É importante frisar que é na reunião da **ABCr** que ocorre a Assembléia Geral da associação a qual está

programada para o último dia do evento. O quadro que se segue resume a proposta atual de programa e distribuição de atividades.

Entre os tópicos que deverão ser abordados nas várias atividades podem-se destacar:

caracterização de nano materiais;
cristalografia de macromoléculas biológicas;
cristalografia de pequenas moléculas;
difração com policristais;
espalhamento de nêutrons;
espalhamento em baixo ângulo;
instrumentação;
polimorfismo e bioatividade;
sistemas aperiódicos.

Resumindo as atividades científicas, teremos:

- 14 comunicações orais;
- 6 palestras convidadas,
- 3 palestras de divulgação pelas empresas do ramo
- 2 sessões de painéis, divididos em
 - Quarta-feira
 - Caracterização de nano materiais
 - Estruturas moleculares e propriedades químicas e
 - Instrumentação e Técnicas Computacionais
 - Quinta-feira
 - Cristalografia de policristais
 - Cristalografia de macromoléculas
- 1 minicurso, na manhã da quarta-feira, com o tema: Resolução e Refinamento de Estruturas Moleculares.

Comissão Organizadora

José Ricardo Sabino (coordenador – UFG)

Marcia Carvalho de Abreu Fantini (USP)

Maria Cristina Nonato (USP-RP)

Nivaldo Speziali (UFMG)

Iris Torriani (UNICAMP)

Comitê Local

José Ricardo Sabino (coordenador – UFG)

Sauli dos Santos Jr. (CAJ-UFG)

Ivo de Almeida Marques (UFG)

Carlito Lariucci (UFG)

Comitê Científico

Carlos basilio Pinheiro (UFMG)

Fabio Furlan Ferreira (LNLS)

Genivaldo Perpetuo (UFOP)

José Marcos Sasaki (UFC)

Lisandro Pavie Cardoso (UNICAMP)

Márcia Fantini (USP)

Maria Cristina Nonato (USP-RP)

Sauli dos Santos Jr. (CAJ-UFG)

Silvana Guilhardi (UFU)

Palestras

Palestra 1

Studies of Ultrasound Induced Polymorph Selection in Triacylglycerols using Simultaneous Time-dependent SAXS/WAXS Synchrotron Radiation

R.I. Ristic

Chemical and Bioengineering Department, University of Sheffield, Mappin street, Sheffield S1 3JD, UK

The aim of these studies is twofold: (1) to establish sound scientific principles that guide a nucleation rate and selection of a desired polymorph in this class of material via application of mechanical energy - ultrasound (US) irradiation and (2) to develop a reliable assessment of the time dependent spherulitic growth kinetics and its coupling with respective time dependent evolution of thermodynamic properties of the crystallising system.

In the first part, we shall consider the crystallisation of typical polymorphic melt-grown materials such as tripalmitin (PPP) and trilaurin (LLL) with and without ultra sound (US) by using in- situ simultaneous synchrotron radiation time-resolved small-angle X-ray scattering (SAXS) and wide angle X-ray scattering (WAXS), SAXS/WAXS. Without US application, both structural forms β' and β crystallised in the melt of either PPP or LLL. With US treatment of the super cooled melt, the following effects were observed: (a) a marked decrease of induction times for PPP and LLL, (b) an increased nucleation rate, and (b) a crystallization of only the β form in both systems. In addition, the crystallisation of LLL, below a certain temperature results to both β' and β crystals regardless the melt was US treated or not. Using the existing knowledge on the dynamic nucleation of collapsing cavities, it was possible to describe, for the first time, the behaviour of the most important parameters and the events that characterize the crystallization of these systems. It was also shown that the interplay of sonication and the temperature of supercooled melts is critical to the selection of only β structure.

In the second part, we shall first demonstrate how in-situ SAXS/WAXS data can be used to monitor the kinetics of crystallisation of an assemble of tri-dimensional spherulites of LLL or more specifically, the isothermal growth rate as a function of time, $R(t)$, of an effective spherulite that consists of an array of crystal fibrils that grow radially outward from a central nucleus. $R(t)$ is determined as a first derivative of the time evolution of the equivalent radius, $r(t)$. Using this time dependent rate and its correlation with its corresponding driving force, we can determine a time dependent thermodynamic force that drives solidification of LLL. In addition to this, we consider other thermodynamic and kinetic aspects of this problem such as time dependent irreversible generation of entropy and its link to thermodynamic force and rate of conversion of LLL molecules into spherulites. The work presented here is generic and as such should not be applicable only to LLL, but also to any spherulitic growth.

Palestra 2

Crystals and artificial crystals for spectroscopy and imaging

Marcelo G. Hönnicke^{a,b}

^a*Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza, Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu-PR, Brazil.*

^b*Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, Universidade Federal de Goiás, Jataí-GO, Brazil.*

X-ray imaging and spectroscopy, or even, combined techniques (spectromicroscopy) [1] has becoming more and more popular. This became possible with the new X-ray sources like metal jet [2] and third generation synchrotrons. Also, the development of new high crystalline quality crystals like sapphire and quartz has contributing to increase the spectra range of spectromicroscopy. Herein, we are going to show some work we have been done with different crystals such as high crystalline quality α -SiO₂ [3] and mosaic LiF, both envisaging spectroscopy and, maybe, spectromicroscopy techniques. Also, the development and applications of crystals and the so-called here, artificial crystals (multilayers and gratings) for checking the crystal quality and for imaging applications are presented. We also present some studies we have been done with mechanically bent crystals and sagittal focusing mirrors for X-ray diffraction and spectroscopy.

[1] Huotari, S., Pylkkänen, T., Verbeni, R., Monaco, G., Hämäläinen K., *Nat. Materials* **10**, 489-493 (2011).

[2] Tuohimaa, T., Otengal, M., Hertz, H. M., *Appl. Phys. Lett.* **91**, art. no. 074104 (2007).

[3] Hönnicke, M. G., Huang, X.-R., Cusatis, C., Koditwuakku, C. N., Cai, Y. Q., *J. Appl. Cryst.* **46** 939-944 (2013).

Acknowledgments:

ABCr, Fundação Araucária (302/2013) and CNPq/PQ (305034/2010-3).

Palestra 3

Aplicações de SAXS à análise estrutural de proteínas em solução

Ricardo Aparicio

*Laboratório de Biologia Estrutural e Cristalografia, Instituto de Química, UNICAMP
CP6154, Campinas – SP, CEP 13083-970 – aparicio@iqm.unicamp.br*

A Biologia Estrutural vem evoluindo rapidamente em termos de acesso a novas tecnologias e da precisão e rapidez com que estruturas tridimensionais de proteínas e outras macromoléculas tornam-se disponíveis. Neste contexto, o Espalhamento de Raios X a Baixos Ângulos (SAXS; Small-Angle X-ray Scattering) assume um papel importante ao possibilitar a análise de proteínas em condições mais próximas das condições fisiológicas, constituindo-se num método poderoso para avaliar a resposta a variações nas condições do meio e para o estudo de interações moleculares e investigação de mudanças conformacionais em solução [1-6], complementando informações obtidas a alta resolução por técnicas como, por exemplo, a Cristalografia por Difração de Raios X, cujo emprego encontra-se mais disseminado no país.

SAXS é uma técnica menos complexa que a Cristalografia, dispensa o uso de cristais, consome menos tempo para produzir resultados e normalmente necessita menor quantidade total de proteína ao longo do desenvolvimento de um projeto científico. A informação obtida por SAXS, embora de baixa resolução (~ 20 Å em casos típicos), permite determinar parâmetros globais como raio de giro e dimensão máxima, e distribuição de distâncias intramoleculares. A partir da curva de espalhamento, é possível averiguar se uma proteína apresenta-se globular e compacta em solução (indicativo da presença de estrutura terciária e correto enovelamento) e, no caso de soluções monodispersas, pode-se, ainda, reconstruir o envelope proteico e realizar ajustes de corpo rígido a partir de modelos atômicos obtidos por métodos computacionais ou experimentais, com a imposição de vínculos e simetrias.

Apesar de não gerar informações quanto à organização interna dos elementos de estrutura secundária e detalhes estruturais mais finos, como os que se pode obter a partir das coordenadas atômicas de um modelo determinado a mais alta resolução (~ 2 Å, limite típico de modelos cristalográficos), SAXS fornece dados preciosos sobre o comportamento e estado da proteína em solução. Estes dados, combinados a informações oriundas de outras fontes, podem levar a uma compreensão mais profunda de características importantes relacionadas ao funcionamento e mecanismo de ação da macromolécula sob estudo.

Nessa apresentação serão abordados, em nível introdutório e acessível, tópicos básicos sobre a técnica, aspectos relacionados à instrumentação, coleta e processamento de dados. A exposição será ilustrada com alguns exemplos e resultados recentes obtidos com a participação de nosso grupo [7-10].

- [1] Rambo, R. P. and Tainer, J. A., *Annu. Rev. Biophys.*, 42, 415-441 (2013).
- [2] Jacques, D. A. and Trewhella, J., *Protein Sci.*, 19, 642-657 (2010).
- [3] Hura, G. L. et al., *Nat. Meth.*, 6, 606 - 612 (2009).
- [4] Lipfert, J. and Doniach, S., *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 36, 307-327 (2007).
- [5] Putnam, C. et al., *Q. Rev. Biophys.*, 40, 191-285 (2007).
- [6] Svergun, D. I and Koch, M. H. J., *Rep. Prog. Phys.*, 66, 1735-1782 (2003).
- [7] Toledo, M.A.S. et al., *Appl. Microbiol. Biot.*, accepted (2013).

- [8] Santos, C. A. et al., FEBS J., 279, 3828-3843 (2012).
[9] Reis, M. A. et al., Biophys. J., 101, 2770-2781 (2011).
[10] Saraiva, A. M. et al., FEBS J., 276, 6751-6762 (2009).

Agradecimentos:

FAPESP; CAPES; CNPq; LNLS/CNPEM. RA é recipiente de bolsa de produtividade do CNPq.

Palestra 4

Molecular mechanisms driving glycoside hydrolases specialized in plant cell-wall degradation

Mario T. Murakami

Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), Centro Nacional de Pesquisas em Energia e Materiais (CNPEM)

Plant biomass is a promising renewable source of energy and its basic building blocks, pentose- and hexose-carbon sugars, are of great interest for a number of industrial sectors. However, these monosaccharides in nature are arranged into a complex molecular architecture with the cellulose fibers embedded into a highly branched and diverse polysaccharide (hemicellulose), which in turn is linked to the lignin, a polyaromatic polymer. For deconstruction of this recalcitrant material via enzymatic routes, it is required a broad and diverse range of glycoside hydrolases and other non- and catalytically active carbohydrate-modifying proteins. In this seminar, our major findings regarding the fine-tuned structure-function-stability relationships of carbohydrate-modifying enzymes and strategies for molecular redesign will be presented.

Palestra 5

Crystal Growth: Principles and Methods

Jesiel F. Carvalho

Instituto de Física - Universidade Federal de Goiás

Crystal growth underlies numerous scientific and technological processes. The development of new crystalline materials and the improvement of their properties are limiting factors for the progress of many fields of science and technology. Particularly, crystal growth and crystallography are two tightly interconnected fields, forming two basic pillars of solid-state science. I will review the basic principles of crystal growth, including driving forces, nucleation, transport processes and interfacial mechanisms, and the basics of crystals growth methods.

Palestra 6

Structural studies of the *Xanthomonas* Type IV secretion system

Chuck S. Farah

Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo

Xanthomonas citri subsp. *citri* (Xac) causes disease in citrus plants. Type IV secretion systems (T4SS) are used by Gram-negative bacteria to translocate protein and DNA substrates across the cell envelope and into target cells. Several species from the genera of *Xanthomonas* phytopathogens possess a *vir* locus that codes for an uncharacterized type IV secretion system with some distinguishing features. Two hypothetical proteins, XAC2609 and XAC2610, whose genes are located in the *vir* locus, were shown to interact with the T4SS proteins VirD4 and VirB11, respectively, and with each other. XAC2609 has region with sequence similarity to glycoside hydrolases, while the XAC2610 sequence is not similar to any known domain. Here we describe the crystal structure of XAC2610 and characterize its interactions with XAC2609. We show that calcium ion binding contributes to XAC2610 stability and strengthens the XAC2609-XAC2610 interaction. Comparison of the XAC2610 with that of other known proteins leads us to propose testable hypothesis regarding the physiological function of the *Xanthomonas* T4SS.

(Financial support from FAPESP, Brazil)

Comunicações orais

Comunicação oral Técnico-Científica – Quinta-feira (11:30h)

Tema: Instrumentação e Técnicas Computacionais

Evaluation of a Hybrid Pixel Array Detector for Small-Molecule Structure Determination

Apresentador: Dr. Masataka Maeyama

Comunicações orais I – Quinta-feira (13:50h)

Tema: Cristalografia de policristais e Caracterização de nano materiais

Modificação de filmes finos de ITO estudados por Refletividade de Raios-X

Apresentador: Guilherme Calligaris de Andrade

Quantificação de fase das associações de fármacos anti-hipertensivos (Losartana/Clortalidona) e (Losartana/Hidroclorotiazida) pelo método de Rietveld

Apresentador: Weberton Reis do Carmo

Preparação de nanopartículas de FeNi pelo método sol-gel proteico

Apresentador: Adanny Filipe Nogueira Martins

Determinação da estrutura do composto magnético molecular $Mn_2[Cu_2(bopba)]_n(DMSO)$ ($n \sim 6$ – bopba ou bis-o-phenylenebis(oxamato) – DMSO ou dimetilsulfoxido) por difração de Raios X de amostras policristalinas

Apresentador: Helio Salim de Amorim

Comunicações orais II – Sexta-feira (11:00h)

Tema: Cristalografia de macromoléculas

Crystals of the complex between the peptide PTRY and trypsin

Apresentador: João Paulo Campos Fernandes

Proteolysis Stabilization of the Cysteine Protease Cruzain with Methyl Methanesulfonate and Iodoacetamide for High Resolution Crystallographic Studies

Apresentador: William Borges Fernandes

Estrutura cristalográfica e cinética enzimática da enzima Liver-type Glutaminase (LGA/GLS2)

Apresentador: Igor Monteze Ferreira

Crystal structure of carbohydrates recognition domains from human galectin-4

Apresentador: Joane Kathelen Rustiguel Bonalumi

Comunicações orais III – Sexta-feira (13:50h)

Tema: Estruturas moleculares e propriedades químicas

Controlling the Valence Tautomer Interconversion Character by Solvation

Apresentador: Marcos Antônio Ribeiro

Similaridade entre complexos de Episopiloturina com potencial atividade contra *Schistosoma mansoni*

Apresentador: Ana Carolina Mafud

Estudo do Polimorfismo em (1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metanol

Apresentador: Jackson Antonio Lamounier Camargos Resende

Difração de raios X por monocristal: uma ferramenta fundamental para a caracterização de compostos magnéticos moleculares

Apresentador: Helio Salim de Amorim

A new and a rare synthon with double pairing motif in salts of the anti-HIV drug lamivudine with 1,2-dicarboxylic acids and their effect on the solubility of the salts

Apresentador: Cameron Capeletti da Silva

Resumos

Estruturas moleculares e propriedades químicas

(Seção de painéis da quarta-feira)

A new and a rare synthon with double pairing motif in salts of the anti-HIV drug lamivudine with 1,2-dicarboxylic acids and their effect on the solubility of the salts.

C. C. da Silva^a, M. L. Cirqueira^a e F. T. Martins^a.

^a*Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiás, Brasil.*

Structures of the anti-HIV drug lamivudine with 1,2-dicarboxylic acids are assembled with in-plane ionic pairs held together by two hydrogen bonds in which the protonated cytosine moiety of the drug acts as donor to both oxygens of the carboxylate motif of the counterion, through a two-point 2-aminopyridinium-carboxylate synthon. Here, we report two lamivudine salts featuring hydrogen bonding donation from cytosine to both carboxylate and carboxyl groups of the 1,2-dicarboxylic acid counterions. Two drug molecules are paired in the plane with the same counterion unit giving rise to a planar trimer and a planar tetramer in the structures of lamivudine hydrogen phthalate hemihydrate and lamivudine hydrogen 4,5-dichlorophthalate, respectively. Furthermore, a new heterosynthon was found in the first salt. This new synthon can be described as a four-point one of two-point 2-aminopyridinium-carboxylate and 2-aminopyridinium-carboxyl synthons fused together^[1]. It has the 2-aminopyridinium-carboxylate pairing and a bifurcated hydrogen bond involving the hydrogen of the amino group on an opposite side relative to the imine proton and both carboxyl oxygens. In addition, water solubility of both lamivudine salts prepared here and of known ones, namely, lamivudine hydrogen phthalate^[2] and lamivudine salicylate monohydrate^[2] were determined in this study. All were less soluble than the lamivudine form II (free base). Such solubility behavior appears to be related to the lipophilicity behavior appears to be related to the lipophilicity of the counterions. Moreover, the unexpected heterosynthons play a fine-tuning role in the slightly higher solubility of lamivudine hydrogen phthalate hemihydrate and lamivudine hydrogen 4,5-dichlorophthalate when compared to the antecedent salts.

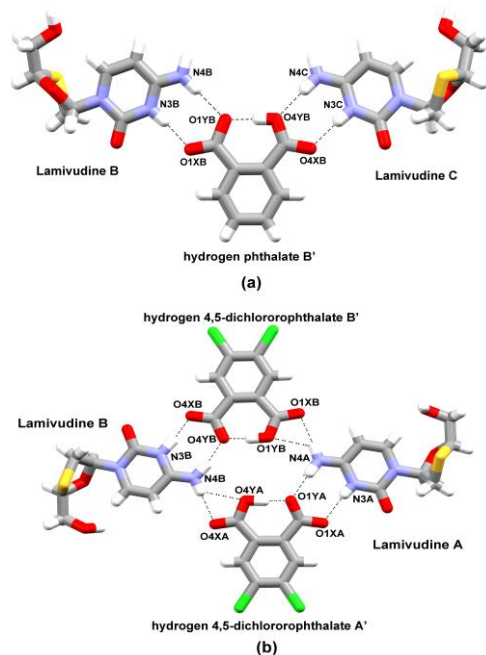


Figure 1: (a) The trimer $B=B'=C$ in lamivudine hydrogen phthalate hemihydrate. (b) The lamivudine hydrogen 4,5-dichlorophthalate tetramer.

Table 1. Solubility in water (mg/mL) of lamivudine salts studied here and their counterions.

	salt solubility	counterion solubility
Lamivudine hydrogen phthalate hemihydrate	5.34±0.31	7.19
Lamivudine hydrogen 4,5-dichlorophthalate	5.01±0.90	0.13
Lamivudine hydrogen phthalate	4.49±0.54	7.19
Lamivudine salicylate monohydrate	3.90±0.27	2.20

References: [1] Bhatt, P. M. et al., *Cryst. Growth Des.*, **9**, 951-957 (2009).[2] Silva, C.C. et al., *CrystEngComm*, **14**, 4562-4566 (2012).

Acknowledgements: We thank FAPEG (Fundação de Amparo à Pesquisa de Goiás) for the financial support (Processo 201210267000285).

Estratégias de engenharia de cristais na síntese de co-cristais do fármaco anti-HIV efavirenz

Isadora Ferreira de Amorim^a, Marília de Lima Cirqueira^a, Felipe Terra Martins^b, Ariane de Melo^b

^aFaculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

^bInstituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

Efavirenz, um fármaco anti-retroviral de primeira linha, inibidor não-nucleosídeo e não competitivo da transcriptase reversa do vírus HIV, possui poucos dados sobre sua estrutura cristalina, constando na literatura apenas dois co-cristais, sintetizados por Desiraju¹.

Com base na escassez de dados sobre sua forma cristalina, utilizamos as estratégias de engenharia de cristais com o objetivo de obter novos co-cristais de efavirenz, através da substituição do co-cristalizante 4,4-bipiridina pelo trans-1,2-bis(4-piridil)etileno (BPE) e pelo 1,2-bis(4-piridil)etano (BPA).

Os cristais foram obtidos a partir da evaporação lenta de solventes, presentes em soluções as quais continham dissolvidos o fármaco e um agente co-cristalizante, ambos em pó. Um único cristal, de cada sistema, foi escolhido e a sua estrutura molecular foi determinada por difração de raios X em monocristal, através do difratômetro APEX II.

Os co-cristais de efavirenz cristalizaram no grupo espacial P1 e sistema cristalino triclinico², com duas moléculas do fármaco e uma molécula do co-cristalizante na unidade assimétrica. Nos dois co-cristais, o fármaco atua como doador de ligação de hidrogênio e o co-cristalizante como receptor, originando uma organização em colunas.

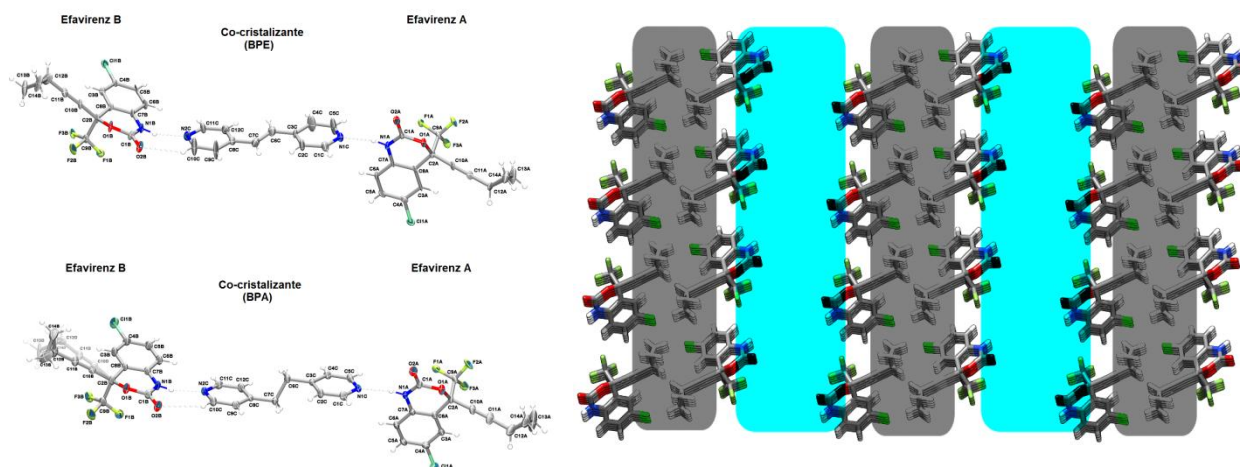


Figura 1 – Unidade assimétrica dos co-cristais de efavirenz com BPE e BPA (à esquerda) e arranjo supramolecular (em colunas) dos mesmos (à direita).

[1] MAHAPATRA, Sudarshan; HAKUR, Tejender S.; DESIRAJU, Gautam R.; **Crystal Growth & Design**, V. 10, 2010.

[2] DE MELO, Ariane; DE AMORIM, Isadora; CIRQUEIRA, Marília; MARTINS, Felipe T., **Crystal Growth & Design**, V. 13, 2013.

Agradecimentos: ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), que forneceu recursos financeiros para o desenvolvimento e conclusão deste projeto.

Difração de Raios X por monocristal: uma ferramenta fundamental para a caracterização de compostos magnéticos moleculares

Maria G.F. Vaz^a, Guilherme P. Guedes^{a,b}, Rafael A. Allão Cassaro^a, Nivaldo L. Speziali^c, Miguel A. Novak^d, Stephane Soriano^e, Helio S. Amorim^d

^aInstituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

^bDepartamento Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Brasil.

^cInstituto de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

^dInstituto de Física, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

^eInstituto de Física, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brazil.

Compostos magnéticos de caráter molecular têm despertado um grande interesse da comunidade científica, uma vez que estes têm potencial aplicação tecnológica^[1], por exemplo, em dispositivos de para armazenamento de informações e sensores. Para a interpretação das propriedades magnéticas destes sistemas moleculares é fundamental o conhecimento da estrutura cristalina, uma vez que fatores geométricos tais como ângulos e distâncias de ligação podem influenciar no modo e na magnitude da interação magnética entre as espécies portadoras dos momentos magnéticos. Cabe ressaltar que interações intermoleculares como ligações de hidrogênio e empilhamento π - π também podem atuar como caminho para o acoplamento magnético e influenciar no comportamento^[2]. Além disso, o conhecimento da estrutura cristalina pode trazer informações importantes sobre a esfera de coordenação de compostos magnéticos moleculares contendo íons anisotrópicos, e com isso auxiliar no entendimento da anisotropia magnética destes sistemas. Neste trabalho será descrita a estrutura cristalina e a correlação magneto-estrutural de compostos tetranucleares de Co(II) contendo ligantes β -dicetonato de fórmula molecular $[\text{Co}_4(\text{L})_4(\text{OMe})_4(\text{MeOH})_4]$, onde L são ligantes do tipo β -dicetonato. Nestes compostos, os íons de Co(II) encontram-se em uma geometria octaédrica distorcida e estão coordenados a três ânions metóxido em ponte, um ligante β -dicetonato e a uma molécula de metanol. Estes íons ocupam vértices alternados de um cubo, conforme ilustrado na Figura 1a. A magnitude e a natureza das interações magnéticas são dependentes do ângulo de ligação Co-O-Co, onde interações ferromagnéticas foram observadas em ângulos de ligação menores que 97° , ao passo que em ângulos maiores que 98° induzem as interações antiferromagnéticas. Também serão mostradas as estruturas cristalinas de dois compostos bimetálicos contendo íons de Cu(II) e Na(I) coordenados a ligantes do tipo oxamato (Figura 1b). Estes compostos cristalizam como polímeros tridimensionais e o conhecimento da estrutura cristalina foi importante na interpretação do comportamento magnético. Fracas interações antiferromagnéticas foram observadas para estes compostos e apesar do caráter tridimensional, um dos compostos comporta-se como dímero magnético com interação magnética intramolecular enquanto o outro como uma cadeia magnética com interações magnéticas intermoleculares.

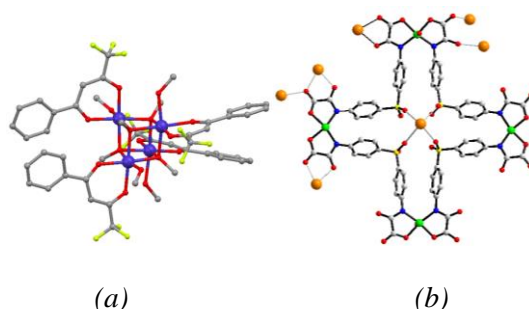


Figura 1: (a) Tetrâmero de Co(II) e (b) composto bimetálico de Cu(II) e Na(I).

[1] Mannini, M.; Pineider, F.; Danieli, C.; Totti, F.; Sorace, L.; Sainctavit, P.; Arrio, M.-A.; Otero, E.; Joly, L.; Cezar, J.C.; Cornia, A.; Sessoli, R. *Nature*, **448**, 417 (2010). [2] Guedes, G. P., Soriano, S., Comerlato, N., Speziali, N.L., Lathi, P.M., Novak, M. A., Vaz, M.G.F., *Eur. J. Inorg. Chem.* 5642 (2012). [3] Rafael A. Allão Cassaro, Samuele Ciattini, Stephane Soriano, Hélio S. Amorim, Nivaldo L. Speziali, Marius Andruh, Maria G. F. Vaz, *Cryst. Growth Des.*, **13**, 2711, (2013).

Agradecimentos: FAPERJ, CNPq e FAPEMIG.

Structural Characterization of the Dimethoxy-chalcone C₁₈H₁₈O₃.

Ricardo Rodrigues Ternavisk¹, Leonardo Rodrigues de Almeida¹, Francisco B. C. Machado², José A. F. F. Rocco², Valter Henrique Carvalho Silva¹, Gilberto Lúcio Benedito de Aquino¹, Ademir João Camargo¹ e Hamilton Barbosa Napolitano¹

¹ Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Brazil.

² Departamento de Química, Instituto Tecnológico de Aeronáutica, São José dos Campos, Brazil.

Chalcones are the class of compounds considered as key precursors for flavonoid and isoflavonoid syntheses. It can be directly obtained by aldol reactions under basic catalytic conditions. Chemically, they consist of open-chain flavonoids in which the two aromatic rings are joined by a three-carbon α,β -unsaturated carbonyl system. Chalcones are a medicinally important class of compounds and are known for possessing various biological activities including anti-inflammatory, anti-leishmania, antimitotic, antiviral and other bioactivities are some few examples of their broad range of action^[1]. The wide action spectrum has attracted our attention to synthesize, crystallize and characterize the chalcone (E)-3-(3,5-dimethoxyphenyl)-1-(4-methylphenyl)prop-2-en-1-one (C₁₈H₁₈O₃). Single crystal X-ray diffraction data were collected at room temperature using a diffractometer type Kappa CCD Enraf-Nonius, Mo K α radiation ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). The structures were solved by direct methods and anisotropically refined with full-matrix least-squares on F² using SHELXL97^[2]. The respective solutions, anisotropic refinements, geometrical calculations, molecular packing and drawings were done with the program package WingX^[3]. The crystallographic data of C₁₈H₁₈O₃ are $a = 16.848(2) \text{ \AA}$, $b = 11.539(2) \text{ \AA}$, $c = 8.089(2) \text{ \AA}$, $\beta = 103.507(5)^\circ$, cell volume $V = 1529.18(6) \text{ \AA}^3$, monoclinic space group P21/c, goodness of fit 1.012 and $R = 0.052$. The experimental absorption spectrum in the infrared range (4000-400 cm⁻¹) of the compound was obtained in a spectrophotometer FT-NIR/MIR PerkinElmer Frontier. The absorption peaks (theoretical and experimental) in the infrared range, showed good agreement being possible to characterize the main groups absorbent. The theoretical calculations were performed by the density functional method (DFT) with the M062X functional, with the 6-311+G(d,p) basis set. The quantum calculations were performed at software Gaussian 09^[4]. The vibrational wavenumbers were calculated and scaled values were compared with experimental FT-IR spectrum. Bond distances and bond angles described by the X-ray diffraction and theoretical calculation are close, showing that the theoretical method employed is reliable. The crystal structure was elucidated by X-ray diffraction technique and the structural data obtained by theoretical and experimental methods showed good agreement.

- [1] Cheenpracha, S.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Subhadhirasakul, S.; Tewtrakal, S.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **14**, 1710, 2005.
- [2] Sheldrick, G. M.; *SHELXS97* and *SHELXL97*; Programs for Crystal Structure Analysis, University of Göttingen: Germany, 1997.
- [3] Farrugia, L. J., *Journal of Applied Crystallography* **30**, 565, 1997.
- [4] Frisch, M. J.; et al. Gaussian 09, Revision B.1; Gaussian: Wallingford, CT, 2009.

Acknowledgments: The authors would like to thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support.

Caracterização estrutural de um polímero de coordenação formado pela Isoniazida, Ácido 1,2,4,5-benzenotetracarboxílico e o íon Co^{+2} .

F. B. de Almeida^a, H. A. de Abreu^b e R. Diniz^a

^aDepartamento de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brasil.

^bInstituto de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Introdução e objetivos

Atualmente, muitos estudos tem sido realizados no intuito de conhecer melhor os polímeros de coordenação, os quais são definidos como estruturas baseadas na ligação entre um íon metálico e um ligante orgânico, que se estende infinitamente em torno dessas, formando uma macro-estrutura¹.

O grande interesse em se estudar esse tipo de estrutura se deve às suas propriedades, que podem ser relacionadas a várias aplicações, tais como sua capacidade de formar poros; que quando presentes na estrutura possibilitam a utilização dos mesmos de varias formas, inclusive na adsorção de gases².

Sabendo dessas propriedades objetivou-se a obtenção de tal tipo de estrutura cristalina para se entender seu possível arranjo cristalino, assim como suas propriedades. Os ligantes orgânicos usados foram a Isoniazida [INH] e o Ácido 1,2,4,5-benzenotetracarboxílico[H₄BTC] reagindo com o sal de cobalto $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Métodos e resultados

A síntese do Polímero de Coordenação foi feita através de uma rota solvotérmica com um aquecimento de 130°C utilizando-se de 0,36mmol de INH e H₄BDC, 0,72mmol de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 1,44mmol de NaOH. Ao fim da síntese notou-se a formação de cristais laranja, tais cristais foram medidos em um equipamento Oxford GEMINI A-Ultra com radiação $\text{K}\alpha\text{Mo}$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) e foram refinados utilizando o pacote de programas Shelxl-97³. O refinamento da estrutura mostrou bons dados estatísticos com $R=0,0501$, $wR=0,1254$ e $S=1,047$.

A partir dos dados cristalográficos notou-se que o composto cristalizou no sistema cristalino ortorrômbico com $a=17,1936(9)\text{ \AA}$, $b=14,3600(7)\text{ \AA}$, $c=9,1136(5)\text{ \AA}$ e $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$, com um volume de $3452,6(3)\text{ \AA}^3$. A estrutura do polímero de coordenação possui dois íons Co^{+2} cristalograficamente independentes com geometria octaédrica distorcida, além de duas moléculas da INH e um BTC⁻⁴ totalmente desprotonado coordenados ao íon metálico de forma bidentada e monodentada, ligando íons diferentes em ponte. Essas coordenações possibilitam que o polímero coordenação se estenda em três diferentes direções cristalográficas caracterizando-o como um polímero de coordenação 3D. Suas propriedades e aplicações ainda não foram bem definidas, mas já se imagina aplica-lo como absorvedor de gases.

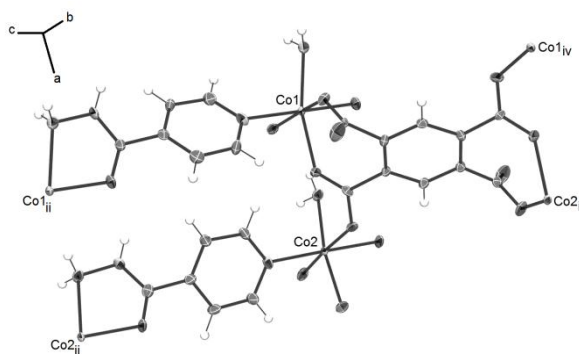


Figura 1: Estrutura do Polímero de Coordenação: *i* – x, y, z ; *ii* – $x, y, 1+z$; *iii* – $1-x, 1/2+y, 1-z$; *iv* – $1/2-x, 1/2+y, -1/2-z$.

Conclusões

Através de uma síntese solvotérmica com os ligantes designados foi possível obter um polímero de coordenação como monocristal, o que possibilitou sua caracterização e estudo estrutural através da difração de raios X.

[1] Steed, J.W.; Atwood, J.L.; Supramolecular Chemistry, 2^a Edição. Editora John Wiley & Sons, West Sussex, Reino Unido (2009).

[2] Millward, A. R.; Yaghi, O. M. *Journal of the American Chemical Society*, 127, 17998 (2005).

[3] Sheldrick, G. M. *Acta Crystallographica Section A*, 64, 112 (2008).

Agradecimentos: FAPEMIG; CNPq; UFJF; CAPES e LabCri pelas medidas de difração de raios X.

Estrutura Cristalina da Forma II do Fármaco Maleato de Enalapril

Márcia C. de Souza^a, Giselle C. Pereira^a e Renata Diniz^a

^aGrupo de Cristalografia de Pequenas Moléculas, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora – MG, Brasil.

A existência de uma ou mais formas cristalinas do mesmo composto, denominado polimorfismo, é muito comum em sólidos farmacêuticos. Diferentes polimorfos podem ser produzidos de acordo com uma grande variedade de influências sobre as condições de cristalização podendo apresentar diferentes propriedades físicas e químicas. Os fármacos inibidores da enzima carboxipeptidase ECA, dentre eles, o maleato de enalapril, têm atraído muita atenção nos últimos anos por sua atuação no controle da hipertensão arterial. A estrutura cristalina da Forma I do fármaco maleato de enalapril já foi resolvida e refinada por dados de difração de raios X por monocristal em 1986.¹ Entretanto, o fármaco maleato de enalapril existe em outra forma polimórfica, denominada Forma II. A determinação estrutural da Forma II do fármaco maleato de enalapril foi feita por dados de difração de raios X por policristal.² Neste trabalho reportamos a estrutura cristalina da Forma II do fármaco maleato de enalapril através de dados de difração de raios X por monocristal.

Monocristais incolores da Forma II de maleato de enalapril foram obtidos através da cristalização de 0,05 mg de maleato de enalapril em água/etanol (1:1). Um monocristal de 0,049 x 0,250 x 0,493 mm foi escolhido para análise por difração de raios X. Esta análise foi realizada em um difratômetro Oxford GEMINI A- Ultra com detector CCD utilizando radiação K α Mo ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) em temperatura ambiente. O refinamento da estrutura foi feito utilizando-se o programa SHELXL-97.³ O composto cristalizou-se no sistema ortorrômbico e grupo espacial P2₁2₁2₁, cuja célula unitária é, a = 6,6434(2) \AA , b = 11,2196(4) \AA , c = 34,0018(2) \AA , e volume igual a 2534,4(2) \AA^3 . O refinamento final de 333 parâmetros utilizando 6487 reflexões independentes apresentou R = 0,078, wR = 0,203 e S = 1,042.

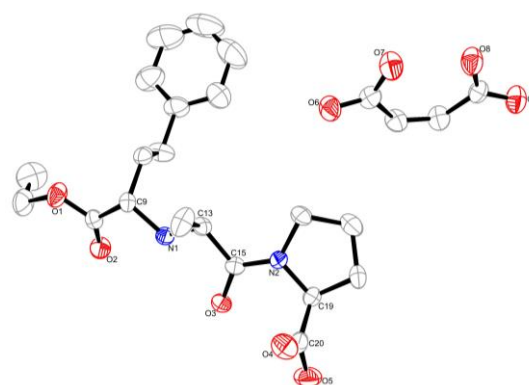


Figura 1: Estrutura cristalina da Forma II do fármaco Maleato de Enalapril.

A Figura 1 mostra a estrutura cristalina da Forma II do fármaco maleato de enalapril. A Forma I cristaliza-se no sistema monoclinico P2₁. Na molécula de maleato da Forma II os átomos de oxigênio apresentam considerável desvio de planaridade. As distâncias desses átomos ao plano médio da molécula são 0,15(2) \AA para O9, 0,15(2) \AA para O8, 0,13(2) \AA para O6 e 0,12(2) \AA para O7. Este desvio é consistente com o maleato na Forma I e é atribuído às ligações de hidrogênio e a efeitos de empacotamento. Assim como na Forma I, a molécula de enalapril na Forma II encontra-se com o átomo de nitrogênio N1 alanil protonado. O N1 forma ligação de hidrogênio com o átomo O6 do maleato ($d_{N...O} = 2,78(2) \text{ \AA}$) e sua distância ao átomo O4 de uma molécula de enalapril adjacente é 3,17(2) \AA . Em ambas as estruturas, as conformações das principais cadeias peptídicas, as quais são consideradas responsáveis pela ligação aos sítios ativos da enzima ECA, permanecem praticamente inalteradas. A cadeia principal atribuída ao peptídeo alanina é descrita pelos ângulos de torção ϕ_1 (C15C13N1C9 igual a 176,2(2) $^\circ$ para Forma II e 175,0 $^\circ$ para a Forma I), ψ_1 (N2C15C13N1 igual a 159,1(2) $^\circ$ para a Forma II e 156,3(3) $^\circ$ para a Forma I) e ω (C19N2C15C13 igual a 176,9(2) $^\circ$ para a Forma II e -177,6(2) $^\circ$ para a Forma I) que correspondem a uma conformação quase totalmente estendida. A cadeia principal atribuída ao peptídeo prolina é descrita por ϕ_2 (C20C19N2C15 igual a -58,9(2) $^\circ$ para a Forma II e -52,8(2) $^\circ$ para a Forma I) e ψ_2 (O5C20C19N2 igual a 139,8(2) $^\circ$ para a Forma II e 139,7(2) $^\circ$ para a Forma I).

[1] Précigoux, G.; Geoffre, S.; Leroy, F. 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. [2] Kiang, Y. H.; Huq, A.; Stephens, P. W.; Xu, W. Structure Determination of Enalapril Maleate Form II from High-Resolution X-ray Powder Diffraction Data. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 92, p. 1844-1853, 2003. [3] Sheldrick, G. M. A short history of SHELX. *Acta Crystallographica A*, v. 64, p. 112-122, 2008. *Agradecimentos*: CAPES, FAPEMIG, CNPq, UFJF e LabCri-UFMG.

Crystal and molecular structures of two polymorphic forms of N-acylhydrazone derivatives

R. de P. Castro^a, J. R. Sabino^a, L. M. Lima^b, D. N. Amaral^b, E. J. Barreiro^b.

^a*Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.*

^b*Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio),
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.*

In this work we report the single-crystal X-ray structural analysis of two polymorphic forms of the compound C₁₈H₂₀N₂O₄. The major feature distinguishing the two polymorphic forms is the presence of two water molecules in polymorph I that play an important role in the packing symmetry of this compound.

Polymorph I: The single crystal sample was obtained by slow evaporation of a solution of DMSO:methanol:dichloromethane (2:1:1). Data collection was performed using Mo-K α radiation at 308 K. 13203 reflections were collected of what 3504 are symmetry independent (R_{int} = 0.0348). This polymorphic form has crystallized in the P2₁2₁2₁ space group. Model refinement was performed with full matrix least squares on F² with final residuals R₁ = 0.049, wR₂ = 0.131 for observed data with I > 2 σ (I), and R₁ = 0.083, wR₂ = 0.154 for all data [1, 2]. The packing is mediated by intermolecular hydrogen interactions between the compound and the water molecules that form channels along of [001].

Polymorph II: The single crystal sample was obtained by slow evaporation of a solution of DMSO:dichloromethane (1:1). Data collection was performed using Mo-K α radiation at 308 K. 12003 reflections were collected of what 3346 are symmetry independent (R_{int} = 0.027). This polymorphic form has crystallized in the Pna2₁ space group. Model refinement was performed with full matrix least squares on F² with final residuals R₁ = 0.040, wR₂ = 0.105 for observed data with I > 2 σ (I), and R₁ = 0.051, wR₂ = 0.112 for all data [1, 2]. The molecule is stabilized by intramolecular interaction of type C–H...N. The packing is mediated by intermolecular hydrogen interactions of type C–H...Oⁱ [ⁱ: -1/2-x, 3/2-y, z] and by weak interactions of type C–H...Oⁱⁱ [ⁱⁱ: -x, 1-y, -1/2+z].

[1] Sheldrick, G. M., *Acta Cryst.* A64 112-122(2008)

[2] Farrugia, L. J., *J. Appl. Cryst.*, **45**, 849-854 (2012).

Acknowledgments: We are grateful to CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and INCT-Inofar (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Fármacos e Medicamentos).

Controlling the Valence Tautomer Interconversion Character by Solvation.

Carlos Pinheiro^a, Marcos Ribeiro^a, Daniel Stasiw^b, David Shultz^b, Philip Pattison^c, Paul Raithby^d

^a*Departamento de Física, UFMG, Belo Horizonte, Brazil;*

^b*Department of Chemistry, North Carolina State University, United States,*

^c*Swiss-Norwegian Beam Line, ESRF, France;*

^d*Chemistry Department, University of Bath, United Kingdom.*

Valence tautomers[1] are bi-stable functional molecular materials in which it is observed charge transference between redox active ligands and a metallic center followed by the change of electronic spin of the metal[1], induced by external stimuli such as illumination[2] and/or changes in temperature and pressure[3]. Valence tautomerism (VT) interconversion is essentially entropically driven, associated with remarkable variations in optical and/or magnetic properties, and can be modulated with slight chemical changes. Typical examples of VT compounds are coordination compounds of Co and *o*-dioxolenes[1] ligands. Crystals of complex [Co^{III}(SQ)(Cat)(4-NO₂-py)₂] (**I**), where py= pyridine, Cat = 3,5-di-*t*-butylcatecholate and SQ= 3,5-di-*t*-butylsemiquinonate, were first studied with respect to low spin (LS) to high spin (HS) thermo and photoinduced conversion. It was reported that **I** become HS-Co^{III} at temperatures below 110 K with non cooperative LS-Co^{III} ↔ HS-Co^{II} tautomeric interconversion[4]. Crystals of [Co^{III}(SQ)(Cat)(4-NO₂-py)₂]·toluene (**II**) and [Co^{III}(SQ)(Cat)(4-NO₂-py)₂]·benzene (**III**) have been prepared to investigate further the solvation effects on the interconversion properties. It has been found that solvated crystals undergo to LS-Co^{III} ↔ HS-Co^{II} interconversion at temperatures below 140 K for **II** and below 110 K for **III**. The tautomeric interconversion in **I** and in **II** has a non cooperative character whereas for **III** it is highly cooperative. The remarkable common structural features in the three dimensional packing of compounds **I**, **II** and **III** are the C_{ar}-H[⋯]Oⁱ_{diox} and C_{ar}-H[⋯]ONOⁱ hydrogen bonds between inlayer *i* symmetry related [Co^{III}(SQ)(Cat)(4-NO₂-py)₂] molecules with distances values summarized below.

	Distances at ca. 100 K (Å)		
	I [4]	II	III
C-H [⋯] O _{diox}	3.24	3.33(2)	3.131(7)
C-H [⋯] ONO	3.32	3.34(2)	3.287(7)
¹ Co ^{III} -Co ^{III}	7.283	7.333(1)	6.9491(8)
² Co ^{III} -Co ^{III}	11.788	11.757(1)	12.331(2)
³ Co ^{III} -Co ^{III}	11.718	14.944(2)	15.357(3)

1, 2 and 3 indicate distances between cobalt atoms in molecules linked by C-H[⋯]O_{diox}, C-H[⋯]ONO and out of layers respectively.

When compared with **I**, the inclusion of the toluene in the lattice of **II** does not affect the symmetry of the crystal structure (**I** and **II** are described by P2₁/c space group, Z=4), but increases the separation between the layers of [Co^{III}(SQ)(Cat)(4-NO₂-py)₂] interacting molecules in ca. 30%, weakening the *t*-butyl interactions, as also observed in [Co^{III}(SQ)(Cat)(4-CN-py)₂] compound[5].

Benzene solvated crystals **III** are described by P $\bar{1}$ space group, Z=2, and at 100 K. When compared with **I** and **II**, benzene solvated crystals present the shortest C_{ar}-H[⋯]Oⁱ_{diox} and similar C_{ar}-H[⋯]ONOⁱ hydrogen bonds lengths. They also present the shortest Co^{III}-Co^{III} distances between inlayer molecules linked by C_{ar}-H[⋯]Oⁱ_{diox} and the longest Co^{III}-Co^{III} distances between out of layer molecules. Thus, as already pointed out before[4], VT in [Co^{III}(SQ)(Cat)(4-NO₂-py)₂] seems to be due to the intermolecular interactions between inlayer molecules, however the interconversion cooperativity seems to be related with the strength of the C_{ar}-H[⋯]Oⁱ_{diox} interaction and with the correspondent Co-Coⁱ separation. Thus solvation plays a key role in the definition of the VT interconversion nature.

[1] D. A. Shultz, Magnetism, Wiley-Vch Verlag GmbH & Amp; Co. KgaA, 2003.

[2] O. Sato, A. Cui, R. Matsuda, J. Tao and S. Hayami (2007). *Acc. Chem. Res.*, **40**, 361–369.

[3] D. N. Hendrickson and C. G. Pierpont (2004). *Top. Curr. Chem.*, **234**, 63.

[4] R. D. Schmidt, D. A. Shultz, J. D. Martin and P. D. Boyle (2010). *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 6261–6273.

[5] R. D. Schmidt, D. A. Shultz and J. D. Martin (2010). *Inorg. Chem.*, **49**, 3162–3168.

Acknowledgments: CNPq, Fapemig, LabCri/UFMG

Transições estruturais termotrópicas no LiRbSO_4

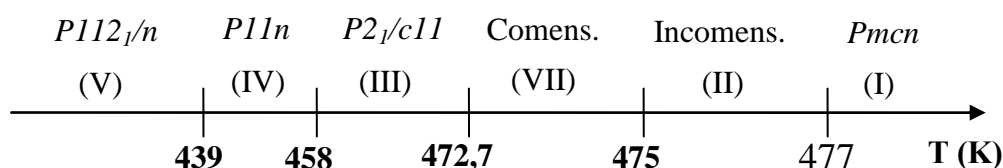
L. T. Oliveira^a, A. Righi^b e N. L. Speziali^b

^aEscola SESI-SAMA, Minaçu, Goiás, Brasil.

^bDepartamento de Física, ICEX, UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

O LiRbSO_4 pertence a uma família de compostos do tipo $Y'Y''\text{SO}_4$, nos quais Y' e Y'' são cátions alcalinos, que apresentam transformações estruturais incluindo fases ferroelétricas, comensuráveis e incomensuráveis.

Este composto apresenta cinco transições de fase acima da temperatura ambiente^{[1][2]}, com simetrias, estruturas e propriedades físicas distintas. De acordo com a literatura, a simetria de cada fase e as temperaturas de transição podem ser esquematizadas conforme a sequência abaixo:

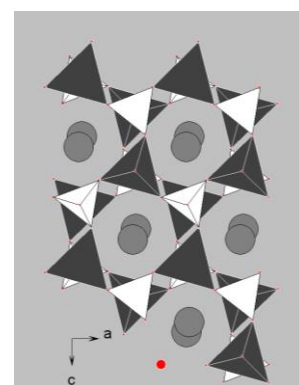


Na fase de temperatura ambiente ($P2_1/n$), a estrutura deste cristal pode ser descrita por conjuntos de tetraedros de SO_4^{2-} (menores) e LiO_4^{7-} (maiores), contendo íons de O^{2-} em comum e íons de Rb^+ ocupando as cavidades, conforme mostrado na figura ao lado. A variedade de transições é, geralmente, atribuída ao movimento relativo destes tetraedros.

Estudos de calorimetria diferencial de varredura (DSC)^[3] abaixo da temperatura ambiente evidenciam anomalias durante o resfriamento e aquecimento.

Foi realizado um estudo minucioso, utilizando difração de raios X (DRX) com monocristais, na região de 120 a 300 K com o intuito de comprovar se as anomalias reportadas se devem a alguma mudança estrutural. Análises prévias garantiram que as amostras utilizadas não apresentavam geminação, uma vez que presença de domínios é uma característica inerente aos cristais da família deste composto.

Resultados de DRX mostram que não há mudança significativa na orientação relativa dos tetraedros de SO_4^{2-} entre 120 e 300 K, evidenciando apenas a contração/dilatação linear devido ao resfriamento/aquecimento. Pode-se concluir por meio desse estudo que a anomalia reportada na literatura não se deve à mudança estrutural.



Projeção no plano $a \times b$ da estrutura do LiRbSO_4 em $T=\text{ambiente}$.

- [1] Mashiyama, H., Unruh, H. G., *Journal of the Physical Society of Japan*, **54** / **2**, 822-828 (1985).
 [2] Kunishige, A., Mashiyama, H., *Journal of the Physical Society of Japan*, **56** / **9**, 3189-3195 (1987).
 [3] Abello, L., Chhor, K., Pommier, C., *Journal of Chemical Thermodynamics*, **19**, 797-808 (1987).

Agradecimentos: trabalho desenvolvido com apoio do CNPq, da FAPEMIG e da FINEP.

Similaridade entre complexos de Episopiloturina com potencial atividade contra *Schistosoma mansoni*

A.C. Mafud^a, H.S. Muniz^a, L.M.C. Véras^{b,c}, M.A. Guimarães^b, D.F. Lima^{c,d}, A.M.C. Ferreira^e, A.S. Nascimento^a, J.R. Leite^b e Y.P. Mascarenhas^a.

^aInstituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil

^bNúcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Brasil.

^cPrograma de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO, Univ. Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

^dAnidro do Brasil Extrações S.A., Parnaíba, Brasil.

^eInstituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

A esquistossomose, causada por parasitas do gênero *Schistosoma*, ainda impõe um considerável problema de saúde pública e seu controle depende quase exclusivamente da droga praziquantel. Episopiloturina (Epii) é um imidazol alcaloide isolado das folhas de *Pilocarpus microphyllus* (Rutaceae), uma planta nativa do Brasil popularmente conhecida como jaborandi, com potencial atividade contra *S. mansoni* [1]. Aqui, apresentamos a análise da similaridade das estruturas da Epii, EpiiHCl e de dois fármacos usados como controle positivo, a pirplatina e praziquantel, através de métodos baseados no coeficiente de partição da densidade eletrônica no cristal e métodos *ab initio* da energia no estado fundamental HF/6-31G [2]. Na Figura 1, estão representadas as superfícies de Hirschfeld [3], através das coordenadas cristalográficas obtidas no banco de dados CCDC, onde 1-praziquantel; 2-pirplatina; 3-EpiiHCl; 4-Epii. Pode-se notar as regiões vermelhas e azuis como representativas, sendo as vermelhas os contatos hidrofóbicos, relacionados ao perfil das ligações não clássicas, como $\pi \dots \pi$, $\pi \dots \text{H-C}$, $\text{H-C} \dots \text{C-H}$. As regiões azuis representam as interações hidrofílicas, que correspondem as interações clássicas do tipo $\text{N-H} \dots \text{O}$, $\text{O-H} \dots \text{N}$, $\text{X} \dots \text{X}$, $\text{X} \dots \text{H-C}$.

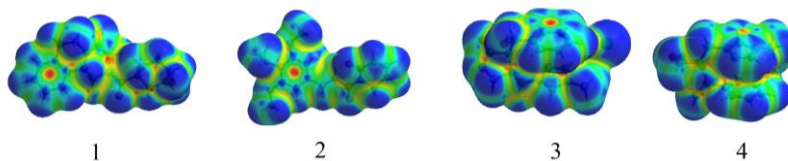


Figura 1: Superfícies de Hirschfeld.

Os resultados dos cálculos de momento dipolo estão mostrados na Tabela 1. A similaridade (Fig.2) dos compostos foi calculada usando o praziquantel como referência.

A densidade eletrônica da nuvem π , do anel benzênico destes compostos, se sobrepõe nos dando indícios que a parte hidrofóbica da molécula pode ser a responsável pela maior atividade da Epii frente à EpiiHCl, já que o coeficiente de similaridade com compostos de atividade comprovada desta é maior.

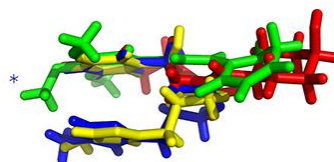


Figura 2: Overlay [4] (Amarelo-Epii; Azul-EpiiHCl; Vermelho-praziquantel; Verde-pirplatina).

Tabela 1: Cálculos de propriedades baseados na estrutura.

	1	2	3	4
Momento dipolo (Debye)	2.82	6.6884	7.6814	17.0796
Similaridade	Pot. Eletrost. (%)	100	52	49
	Raio de vdW (%)	100	90	86
Volume (Å ³)	356,89	336,49	310,31	339,38
Globularidade	0,736	0,669	0,795	0,767

[1] Véraz, L.M.C., Cunha, V.R.R., *PLOs one*, **8**, **6**, e66702 (2013).

[2] M.J. Frisch, *Chem. Listy*, **100**, **4**, A9–A9 (2006).

[3] J.J. McKinnon, M.A. Spackman, A.S. Mitchell, *Acta Cryst. B*, **60**, 627–668(2004).

[4] P. Drasar, *Chem. Listy*, **101**, **7**, 618–619 (2007).

Agradecimentos: CNPq; FAPESP; Capes NANOBIOTEC 705/2009; Phytobios e ANIDRO do Brasil S.A.

Interações de Hidrogênio em Estruturas Supramoleculares de Sais da Diaminometileno Tiourea

G. J. Perpétuo^a, J. Janczak^b

^aDepartamento de Física – Instituto de Ciências Exatas e Biológicas – UFOP, Ouro Preto, Brasil

^bInstitute of Low Temperature and Structure Research – PASci, Wroclaw, Polônia

No presente trabalho apresentamos a análise estrutural de derivados de sais da diaminometileno tiourea. Motivado pelo primeiro estudo [1], onde observamos que o composto comercializado como 2-imino-4-thiobiuret foi de fato elucidado por difração de raios X como sua forma tautomérica 1-(diaminomethylene) thiourea (Fig.1), uma série de cristais de outros sais com a substituição do ânion [2-6] e a protonação do átomo central N, tiveram sua estrutura resolvida, permitindo ainda o entendimento do papel das ligações de hidrogênio na estabilidade molecular e predição de propriedades correlatas dos compostos.

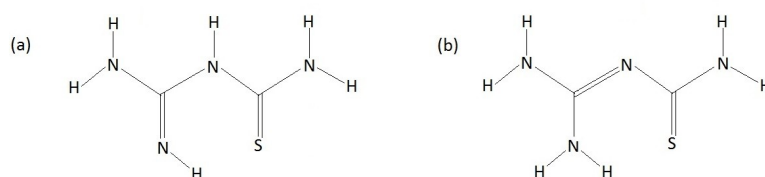


Figura 1: (a) 2-imino-4-thiobiuret; (b) 1-(diaminomethylene)thiourea.

Compostos derivados da tiourea têm grande aplicação em sínteses orgânicas devido à eletronegatividade do enxofre e pelo ligante apresentar interações de natureza ambidentada, permitindo coordenar-se através dos átomos N e S. Na Figura 2 mostramos derivados da diaminometileno tiourea já caracterizados como estruturas supramoleculares.

Figura 2: Fórmula estrutural genérica dos sais $C_2H_7N_4S^+ \cdot X^-$ e $2C_2H_7N_4S^+ \cdot X^{2-}$ sendo o ânion: Cl^- [2], Br^- [2], I^- [2], ClO_4^- [3], HSO_4^- [3], $H_2PO_4^-$ [3], $H_2AsO_4^-$ [3], NO_3^- [4], HPO_3^{2-} [4], $C_6H_2N_3S_7^-$ [5], $C_4H_2O_4^{2-}$ [6].

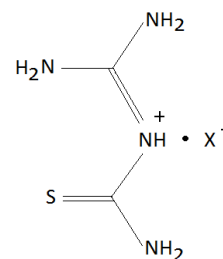


Fig.2

Neste trabalho apresentaremos os resultados para compostos derivados da diaminometileno tiourea com o ácido oxálico, que apresenta *synthons* aptos a formarem interações de hidrogênio do tipo $NH \cdots O$, além da participação de moléculas de água na estrutura, resultando em diferentes formações estruturais bi e tridimensionais. A presença de múltiplas interações de hidrogênio resulta em exemplos interessantes para a engenharia de cristais, onde as interações de um sistema com sua vizinhança fazem parte do planejamento para obtenção de novos materiais [7,8].

- [1] J. Janczak e G. J. Perpétuo, *Acta Cryst.* **C64**, o114-o116 (2008)
- [2] G. J. Perpétuo e J. Janczak, *Acta Cryst.* **C64**, o264-o268 (2008)
- [3] J. Janczak e G. J. Perpétuo, *Acta Cryst.* **C64**, o330-o334 (2008)
- [4] J. Janczak e G. J. Perpétuo, *Acta Cryst.* **C65**, o118-o120 (2009)
- [5] J. Janczak e G. J. Perpétuo, *J. Mol. Struct.* **975**, 166-172 (2010)
- [6] J. Janczak e G. J. Perpétuo, *J. Mol. Struct.* **988**, 73-88 (2011)
- [7] J. C. MacDonald e G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **94**, 2383-2420 (1994)
- [8] G.R. Desiraju, *J. Mol. Struct.* **656**, 5-15 (2003)

Agradecimentos: ABCr; CNPq; CAPES; UFOP.

Estudo do Polimorfismo em (1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metanol

W. B. S. Braga^a, M. C. R. Freitas^a, D. T. G. Gonzaga^a, V. F. Ferreira^a, F. C. da Silva^a, N. A. Rey^b,
J. A. L. C. Resende^a

^a LdrX, Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brasil.

^b Departamento de Química, PUC-Rio, Rio de Janeiro, Brasil.

A introdução na rota sintética “Click Chemistry” por Sharpless et al¹ para a síntese de 1,2,3 triazóis, possibilitou o alto rendimento nesta obtenção deste composto. Assim, tal reação possibilitou que os produtos derivados de 1,2,3 –triazol fossem reconhecidos como importantes alvos de pesquisa, com diversas aplicações principalmente relacionados a ampla atividade biológica (anticancerígeno, antituberculose, antifúngica e antiretrovirais)², além de estudos para aplicação em química de materiais³. Seguindo a tendência de análise de compostos triazólicos, o objetivo do presente trabalho é descrever o polimorfismo no composto (1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metanol.

A síntese do (1-fenil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metanol (TriOH) foi realizada seguindo o procedimento descrito por Pamela Spamer M. Rocha⁴. Monocristais utilizados nos experimentos de difração de raios X foram obtidos a partir da evaporação lenta de soluções dos compostos. O polimorfo 1 (TriOH-1) foi obtido mediante cristalização em metanol, enquanto que o polimorfo 2 (TriOH-2) foi obtido em cristalização em acetato de etila. As estruturas cristalinas são apresentadas na Figura 1 e os dados cristalográficos são apresentados a seguir.

Dados Cristalográficos: **TriOH forma 1:** (C₉H₉N₃O); Triclínico; P1; a=5,6065(6); b=8,367(1); c=9,299(1)Å; α=103.46(1)°; β=96.66(1)°; γ=98.47(1)°; n° refl uni/par = 2610/236; R₁=4,9%; S = 1,03. **TriOH forma 2:** (C₉H₉N₃O); Monoclínico; P2₁/c; a=9,805(2); b=7,955(2); c=11.306(2)Å; β=94.66(3)°; n° refl uni/par = 1610/120; R₁=3,4%; S = 1,07.

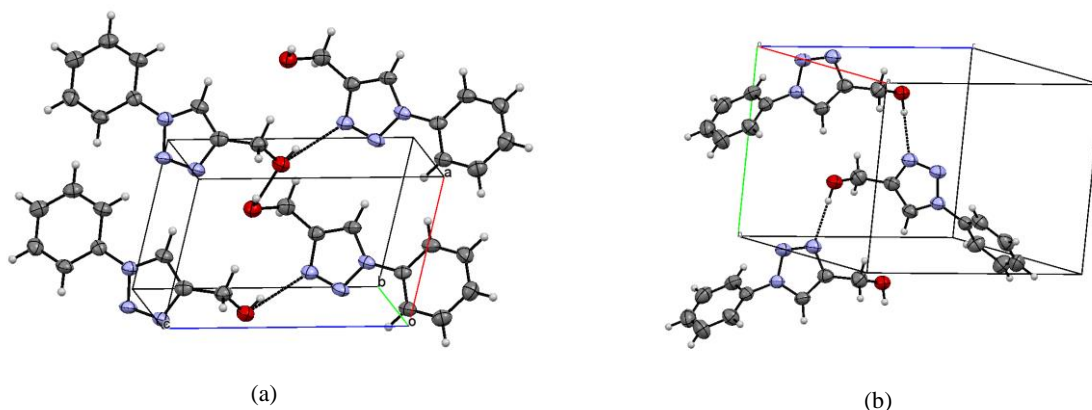


Figura 1: Representação das ligações de hidrogênio no polimorfo 1 (a) e no polimorfo 2(b).

Observam-se diferenças conformacionais entre os polimorfos, sendo as mais relevantes no diedro entre o anel fenil e o anel triazólico e no radical metanólico. Outra importante diferenciação ocorre nas ligações de hidrogênio do grupamento hidroxila, com o polimorfo 1 sendo estabilizado por duas ligações de hidrogênio independentes (uma com o N3 do anel triazólico e outra com o grupamento hidroxila), enquanto que no polimorfo 2 só se observa a interação com o com o N3 do anel triazólico.

[1] Kolb, H.C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **40**, 2004 (2001).

[2] Agalave, S. G.; Maujan, S. R., Pore, V.S.; *Chem. Asian J*, **6**, 2696 (2011).

[3] Freitas, L. B. O. et al; *Quím. Nova*, **34**, 1791 (2011)

[4] Rocha, P. S. M.; Carvalho, F.; Ferreira, V. F.”Síntese de 1,4-naftoquinona-triazólicas com potencial atividade antineoplásicas e tripanocida”. Seminário de Iniciação Científica, 2012, uff.

Agradecimentos: LabCri-UFMG; FAPERJ; CAPES; CNPq; UFF.

Estruturas de complexos da Epiisopiloturina com potencial atividade contra *Schistosoma mansoni*

A.C. Mafud ^a, L.M.C. Vêras^{b,c}, M.A. Guimarães^b, D.F. Lima ^{c,d}, A.M.C. Ferreira ^e, J.R. Leite ^b e Y.P. Mascarenhas^a.

^aInstituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil

^bNúcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Brasil.

^cPrograma de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO, Univ. Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

^dAnidro do Brasil Extrações S.A., Parnaíba, Brasil.

^eInstituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

A Epiisopiloturina (Epii) é um alcalóide imidazólico isolado das folhas de *Pilocarpus microphyllus* (Rutaceae), uma planta nativa do Brasil popularmente conhecida como jaborandi, com potencial atividade contra *S. mansoni* [1]. Aqui, apresentamos as estruturas de dois novos complexos: EpiiHCl e EpiiCu. No composto EpiiHCl (CCDC 945616), C₁₆H₁₈N₂O₃Cl₁, os anéis benzil e imidazol estão inclinados obliquamente um ao outro, com ângulo diedral de 17,5 (1)°. O empacotamento cristalino é estabelecido através de interações de três tipos. O primeiro tipo é o das interações π...π entre os centroides, com distâncias Cg1...Cg2 [x, y, z]: 3,593(2)Å, onde Cg1 é centroide do anel { N1, C11, C10, N2, C19} e Cg2{ C8, C9, C12, C21, C17, C20}. O segundo é das ligações hidrogênio do tipo C–H...X e O–H...X. E o último tipo é uma interação intermolecular anômala entre Cl e N, em uma esfera de coordenação em torno do cloro, Cl...N1 [-x, ½+ y, 1 -z]: 3,153(3)Å, menor do que a soma de seus raios de van der Waals.

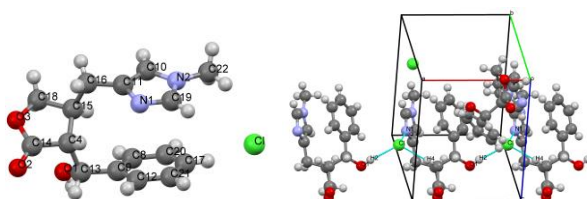


Figura 1: Representação Mercury [2] da unidade assimétrica e empacotamento cristalino da EpiiHCl.

No complexo EpiiCu (CCDC 947608), C₆₄H₄₂N₈O₂₃Cl₂Cu, o átomo Cu^{II} tem geometria quadrado piramidal, com desvios de 0,02°, sendo coordenado por quatro átomos de nitrogênio, do anel imidazólico da epiisopiloturina, e a um átomo O11 do anel furanosil, por operação de simetria [-1+x, y, z]. Neste complexo, os anéis benzil e imidazol formam um ângulo diedral de 54,3(3)°. No empacotamento cristalino, há dois ClO₄⁻ e três moléculas de água, conectadas entre si e ao complexo por ligações hidrogênio, formando uma cadeia unidimensional infinita, na direção de (0 0 1).

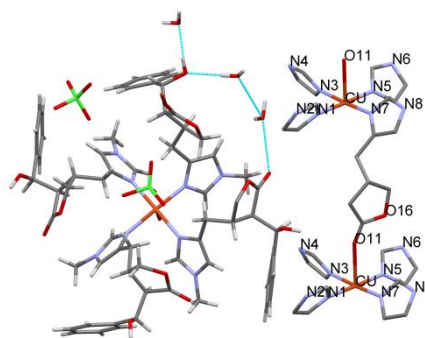


Figura 2: Representação Mercury [2] da unidade assimétrica da EpiiCu.

[1] Vêraz, L.M.C., Cunha, V.R.R., *et alli*, *PLoS one*, **8**, **6**, e66702 (2013).

[2] Macrae, C. F., Bruno, I. J., *et alli*, *J. Appl. Cryst.* **41**, 466–470(2008).

Agradecimentos: CNPq; FAPESP; Capes NANOBIOTEC 705/2009; Phytobios e ANIDRO do Brasil S.A.

Caracterização de nano materiais
(Seção de painéis da quarta-feira)

Structural and textural studies of NiO impregnation in mesoporous ZrO₂-CeO₂ for catalysis applications

R. Bacani^a, A. D. S. Bruno Costa^a, T. S. Martins^b, M. C. A. Fantini^a

^a*Instituto de Física, Universidade de São Paulo – São Paulo, Brasil.*

^b*Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, UNIFESP, São Paulo, Brasil.*

The synthesis of zirconia-based ordered mesoporous structures for catalytic applications is a research area under development. These systems are also potential candidates as anodes in intermediate temperature solid oxide fuel cells (it-SOFC) due to an enhancement on their surface area [1-4]. The structural features of mesoporous zirconia-ceria materials in combination with oxygen storage/release capacity (OSC) are crucial for various catalytic reactions. The direct use of hydrocarbons as fuel for the SOFC (instead of pure H₂), without the necessity of reforming and purification reactors can improve global efficiency of these systems [4].

The X-ray diffraction data showed that ZrO₂-x%CeO₂ samples with x>50 are formed by a larger fraction of the cubic phase (spatial group Fm3m), while for x<50 the major crystalline structure is the tetragonal phase (spatial group P4₂/nmc). The crystallite size of the cubic phase increases with increase in ceria content. The tetragonal crystallite size decreases when ceria content increases. After impregnation, the Rietveld analysis showed a NiO content around 60wt.% for all samples. The lattice parameters for the ZrO₂ tetragonal phase are lower for higher ZrO₂ contents, while for all samples the cubic NiO and CeO₂ parameters do not present changes. The calculated densities are higher for higher ceria content, as expected. The crystallite size of NiO are similar (~20nm) for all samples and 55nm for the NiO standard.

Nitrogen adsorption experiments revealed a broader particle size distribution for higher CeO₂ content. The superficial area values were around 35m²/g for all samples, the average pore diameter and pore volumes were higher when increasing ceria content. After NiO impregnation the particle size distribution was the same for all samples, with two pore sizes, the first around 3nm and a broader peak around 10nm. The superficial area increased to approximately 45m²/g for all samples, and the pore volume was also higher after impregnation and increased when ceria content increased.

These results point up that the impregnation of NiO improves the textural characteristics of the pristine material. The complementary TEM/EDS images present a homogeneous coating of NiO particles over the ZrO₂-x%CeO₂ support, showing that these samples are excellent for catalysis applications.

[1] D. Y. Zhao, J. Feng, Q. Huo, N. Melosh, G. H. Fredrickson, B. F. Chmelka, G. D. Stucky, *Science* 279, 548-552 (1998).

[2] C. Yu, Y. Yu, D. Zhao, *Chem. Comm.* 575-576 (2000).

[3] A. Trovarelli, M. Boaro, E. Rocchini, C. de Leitenburg, G. Dolcetti, *J. Alloys Compd.* 323-324 (2001) 584-591.

[4] S. Larrondo, M. A. Vidal, B. Irigoyen, A. F. Craievich, D. G. Lamas, I. O. Fábregas, et al. *Catal. Today* 107-108 (2005) 53-59.

Acknowledgments: CNPq and FAPESP.

Preparação de nanopartículas de FeNi pelo método sol-gel proteico

T. P. Braga, D. F. Dias, A. F. N. Martins, J. M. Sasaki.

Laboratório de Raios-X, Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

As propriedades superparamagnéticas das nanopartículas estão sendo bastante estudadas nos últimos anos devido às suas aplicações nas áreas médicas e biológicas, pois são utilizadas no tratamento contra o câncer e são importantes vetores de transporte de células, proteínas e medicamentos [1]. Dentre as nanopartículas estudadas encontram-se as ligas de FeNi que possuem várias aplicações na indústria como catalisadores [2]. Desta forma, o desenvolvimento de novas rotas sintéticas simples e baratas para o desenvolvimento desta liga é de considerável importância. Assim, foram preparadas ligas de FeNi estáveis frente a oxidação utilizando o método sol-gel proteico (gelatina). A síntese foi realizada a partir da mistura de soluções de nitrato de ferro, níquel e gelatina bovina comestível. Essa mistura depois da polimerização foi colocada em uma estufa regulada à temperatura de 100°C, permanecendo por um tempo de 72 horas. Depois de seca, a mistura foi retirada da estufa e macerada até a obtenção de um pó, este foi oxidado em uma atmosfera de ar (30mL/min) à temperatura de 700°C. O material obtido sofreu uma série de reduções em atmosfera de hidrogênio, com o fluxo constante de 30mL/min e com variações de temperatura (700°C, 650°C, 600°C e 500°C), com a finalidade de se obter a nanopartícula de FeNi pura.

Foi empregada a difração de Raios-X (DRX) na caracterização das amostras e a partir dos resultados obtidos (Figura 1) foi realizada a identificação das fases utilizando o programa X'pert HighScore, o qual mostrou a obtenção da liga pura de FeNi para as amostras calcinadas a 700 e 650°C. Para as demais temperaturas (600 e 500°C) foram identificadas duas fases, a ferrita de níquel (óxido de espinélio) e a liga FeNi (mistura de fases). Foi possível observar uma variação do tamanho de cristalito com a variação da temperatura de redução, pois à medida que a temperatura diminui ocorre um decréscimo no tamanho de cristalito. Para as amostras calcinadas a 700 e 650°C o tamanho de cristalito praticamente não variou, visto que, a variação de temperatura foi bastante pequena. Os valores obtidos foram 39nm a 700°C e 40nm a 650°C. Os sólidos calcinados a 600°C e 500°C apresentaram uma mistura de fases, cuja concentração de FeNi, usando o método Rietveld, foi de 29,35 e 1,67%, respectivamente. Os tamanhos de cristalito foram de 31nm e 22 nm para as amostras calcinadas a 600 e 500°C, respectivamente.

Portanto, foi constatado, com auxílio do refinamento, que à medida que a temperatura de redução diminui, a concentração da liga FeNi decresce enquanto que a concentração de ferrita aumenta. Para confirmar tais observações, foi realizada uma análise de Redução à Temperatura Programada (TPR) para a amostra previamente oxidada à 700°C em um fluxo de H₂ de 30mL/min. Os perfis de redução indicam que o início da redução ocorre em aproximadamente 310°C e próximo a 640°C a amostra encontra-se totalmente reduzida. Os resultados obtidos nos refinamentos estão de acordo com o TPR, pois para as amostras reduzidas a 600 e 500°C houve um decréscimo da concentração da liga, entretanto, as reduzidas a 650 e 700°C mostraram liga pura.

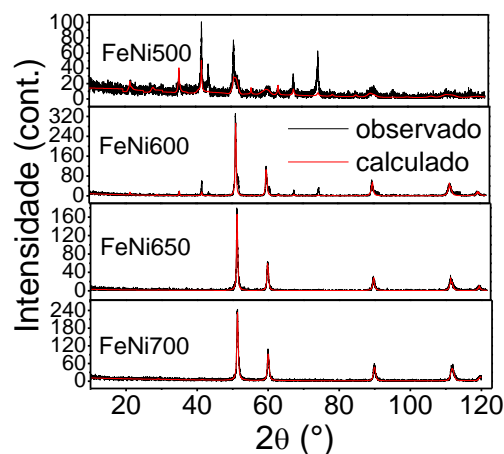


Figura 1: Difratogramas calculado e experimental para as diferentes amostras.

[1] Challa, S.S.R., Kuma, F. M., *Advanced Drug Delivery Reviews*, **63** 9, 789-808 (2011).

[2] Tang, X., Li, L., Shen, B., Wang, C., *Chemosphere*, **91** 9, 13678-1373, (2013).

Agradecimentos: CAPES; CNPq; GelitaTM; Langmuir-Laboratório de Adsorção e Catálise.

Síntese de nanopartículas de FeCo pelo método sol-gel proteico

T. P. Braga, D. F. Dias, M. F. De Sousa, J. M. Sasaki.

Laboratório de Raios-X, Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

Nos últimos anos a nanociência tem levado muitos cientistas a revolucionar a área de materiais. Neste meio encontram-se as ligas de FeCo que apresentam um grande interesse tecnológico apresentando vasta aplicação⁽¹⁾. Apesar da literatura mostrar algumas rotas envolvendo ligas contendo FeCo, são poucos os artigos que enfatizam a formação de nanopartículas⁽²⁾. Portanto, o desenvolvimento de novos métodos que possibilitem a síntese de ligas metálicas compostas de nanopartículas ainda permanece um desafio a ser explorado. Desta forma, foram preparadas ligas usando o método sol-gel proteico. A síntese foi feita a partir da mistura das soluções de nitrato de ferro e cobalto, separadamente, com gelatina comestível. Essa mistura foi deixada na estufa a uma temperatura de 100°C por um período de 48h. Após a secagem a solução foi triturada até a obtenção de um pó, e este foi oxidado em atmosfera de ar (40mL/min) a uma temperatura de 700°C. A partir do material obtido foi realizada uma série de reduções em atmosfera de hidrogênio, fixando o fluxo de redução em 30mL/min e variando a temperatura (500°C, 600°C, 700°C, 800°C) a fim de obter a liga de FeCo com pequeno tamanho de cristalito.

A amostra obtida foi caracterizada por difração de RaiosX (DRX) e a partir dos difratogramas (Figura 1) obtidos foi feita a identificação das fases utilizando o programa X'pert HighScore, o qual mostrou a obtenção da liga pura de FeCo para os sólidos calcinados a 700 e 800°C. Por meio do método Rietveld de refinamento foi possível observar que para a série com variação de temperatura houve um decréscimo no tamanho de partículas à medida que as temperaturas de redução diminuem. Isso indica que a temperatura é um fator que influencia diretamente no tamanho da cristalito. Foi obtido um tamanho de cristalito de 31 nm para amostra reduzida a 500°C e 100 nm para a reduzida a 800°C, valores calculados com base na equação de Scherrer.

Foi observado que à medida que a temperatura de redução diminui, a concentração de liga FeCo decresce e a concentração de óxidos de ferro e de cobalto aumentam. No intuito de confirmar estas observações foi feita uma análise de Redução à Temperatura Programada (TPR) na amostra oxidada previamente à 700°C em um fluxo de H₂ de 40mL/min. O início da redução começa próximo de 400°C e próximo de 670°C a amostra se encontra completamente reduzida. O resultado de TPR está de acordo com os dados obtidos no refinamento, pois para amostra reduzida a 600°C a concentração de óxido foi de cerca de 1% (muito baixa).

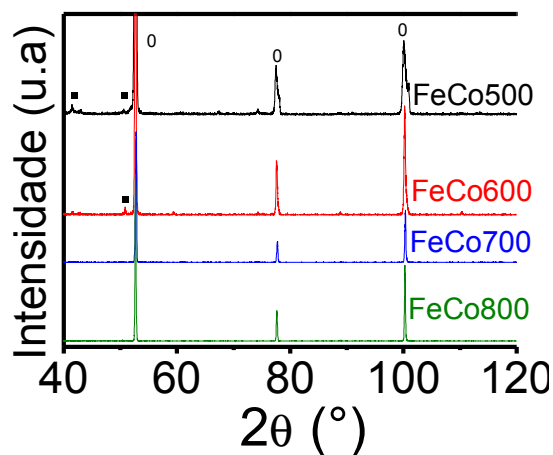


Figura 1: Difratogramas das amostras.

Partindo destes resultados foi feita uma nova série, dessa vez fixando a temperatura de redução em 500°C e variando o fluxo de H₂ (20mL/min, 30mL/min, 40mL/min, 50mL/min) a fim de obter uma liga pura e com menor tamanho de cristalito comparado com os sólidos sintetizados anteriormente.

Através dos refinamentos foi observado que o aumento do fluxo induz a uma queda na concentração dos óxidos e conseqüentemente fez elevar a concentração da liga. Foi obtida a liga pura a uma temperatura de redução de 500°C e fluxo de 40mL/min de H₂, sendo portanto, essa a condição ideal dentro das variáveis estudadas, pois apresentou a liga pura com menor tamanho de cristalito.

[1] K. Zhang, O. Amponsah, M. Arslan, T. Holloway, W. Cao. *J. App. Phys.*, **111**, 07B525 (2012)

[2] A. N. Popova, Y. A. Zaharov, V. M. Pugachev, *Mate. Lett.*, **74**, 173 – 175 (2012).

Agradecimentos: CNPq; Langmuir-Laboratório de Adsorção e Catálise.

N-beam X-ray diffraction study of {113} defects induced by Xe⁺ implantation in Si(001)Guilherme A. Calligaris^a, A. S. de Menezes^b, A. O. dos Santos^c, R. Lang^d e Lisandro P. Cardoso^a^a*Instituto de Física Gleb Wataghin, UNICAMP, Campinas, Brasil.*^b*Departamento de Física CCET, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brazil.*^c*CCSST, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, Brazil.*^d*ICT, Universidade Federal de São Paulo, São José dos Campos, Brazil.*

Investigations about the nanocavities and bubbles formation by inert gas ion implantation in Si matrix and its properties have constituted an ongoing challenge in material science. The most significant applications for the silicon-based technology has been the metal impurities gettering, smart cut process and the relaxation of structures, generally achieved after thermal treatment. However, dislocation/extended defects (so-called {113} defects) are produced by post-implant annealing, which affect directly the nanocavities and/or bubbles structural evolution.

In this work, the formation of {113} defects induced by Xenon gas ion implantation in silicon substrate was studied by high-resolution reciprocal space mappings (RSM) and by the non-conventional synchrotron radiation multiple diffraction technique. For this, Xe⁺ ions at an energy of 80 keV were implanted on Si(001) at room temperature at an ion dose of 5×10^{15} cm⁻². Subsequently the as-implanted sample was cleaved in two pieces. One piece was thermally annealed in air atmosphere at 800 °C for 30 min in order to nucleate such defects. The set of samples used in the present investigation were: pristine Si reference, as-implanted and annealed samples.

Si (113) asymmetrical RSM were applied to observe both in-plane and out-of-plane defect contribution in the Si matrix reciprocal lattice around the matrix peak. Differences in the diffracted intensity pattern, along the crystal truncation rod, were detected in the RSM results for as-implanted and annealed samples, in comparison to pristine Si. The 3-beam BSD case (000)(002)(1-11) and the 4-beam case (000)(002)(1-1-1)(1-13) of the X-ray multiple diffraction (XRMD) were chosen to provide in-plane crystalline perfection information, as well as, along the desirable [113] direction. The ω (incident): ϕ (azimuthal) coupled scan of these two diffraction conditions: BSD and 4-beam have shown expected broader peaks for the as-implanted sample in comparison to the pristine sample, and a clearly observed intensity asymmetry along the ω -axis, due to the strain induced along the c-axis. The annealing effect of reducing the lattice strain can be observed from the 600°C BSD mapping. At 800°C, a huge surface effect is shown through the observed diffuse scattering.

A strong streak corresponding to the diffraction condition trace was observed only in the annealed sample pattern. This remarkable effect can be associated to the presence of {113} defects, which are in the same direction of secondary/coupling diffracting planes (XRMD phenomenon). Therefore, it is believed that the distance between these planes has been modified, which breaks the spatial coherence and increases the diffracted beam intensity (streak). In the pristine-Si and as-implanted samples, the streak is suppressed by the primary extinction effect.

Financial support of CNPq, CAPES and FAPESP.

Instrumentação e Técnicas Computacionais

(Seção de painéis da quarta-feira)

Evaluation of a Hybrid Pixel Array Detector for Small-Molecule Structure Determination

M. Maeyama^a, H. Satoh^a, L. Daniels^b, J. Ferrara^b, K. Aburaya^a, T. Hasegawa^a, A. Yamano^a.

^aRigaku Corporation, Akishima-shi, Japan.

^bRigaku Americas Corporation, Houston, USA.

Biological crystallographers commonly screen protein crystals on home laboratory systems and determine final structures using data from synchrotron facilities. Conversely, chemical crystallographers use home laboratory systems for structure determination almost exclusively, and still produce over forty thousand structures per year. When chemists synthesize materials that produce only tiny crystals a few microns in size, they are less likely to obtain a viable structure because (1) the home-lab equipment is not powerful enough to provide data and (2) these scientists are not familiar with synchrotron use and may be apprehensive about the process.

CCD detectors started a revolution in the field of chemical crystallography fifteen years ago because of relatively high efficiency, relatively low noise and relatively fast readout speed. However, CCD detectors suffer from a narrow dynamic range, and they accumulate dark noise. Long exposure times for weak scatterers should help, but low-angle strong reflections limit exposure time due to overloads and the dark current may outpace the accumulation of very weak reflection intensities.

The Hybrid Pixel Array Detector (HPAD) has had a huge impact on biological crystallography at the synchrotron. HPADs provide higher quality data in shorter collection time than CCD detectors. Higher sensitivity and low total noise improve the signal-to-noise ratio to that of a photon-counting detector. A wide dynamic range and no dark noise make it possible to measure both strong and weak reflections at same time. HPADs also allow shutterless data collection, which removes shutter open/close errors and reduces the total collection time. The benefits are both better data quality and shorter collection time.

The PILATUS¹ detector, manufactured by DECTRIS, is the most commonly deployed HPAD at synchrotron beamlines, and is now poised to become a common home-lab tool. In this study, we configured a PILATUS 200K (a two-module detector) on a home-lab system and compared the results with those from a CCD detector. Figure 1 shows the results for an organic crystal. Data collection consisted of two 180° omega scans (chi=45, phi=0 and 90) to provide complete data for a triclinic system using Mo K α radiation. The internal consistency for the data measured with the PILATUS 200K (1.6%) is significantly better than that (2.1%) for the data measured with the Saturn 724 HG CCD. This improved R_{merge} is specifically due to the improvement in measurement of weak diffraction intensities. The final crystallographic R-values, however, are equivalent. The full advantage of

the PILATUS 200K detector is revealed by noting that the data set required only 17% as long to measure.

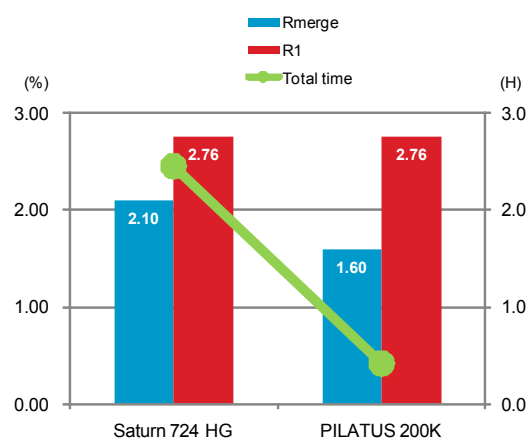


Figure 1: Comparison of Rigaku Saturn 724 HG CCD and PILATUS 200K.

[1] P. Kraft, A. Bergamaschi, Ch. Broennimann, R. Dinapoli, E. F. Eikenberry, B. Henrich, I. Johnson, A. Mozzanica, C. M. Schlepütz, a P. R. Willmott and B. Schmitt, *Synchrotron radiation*, **16**, 368-375 (2009).

Estudo dos Perfis de Cristais de Silício pela Teoria Dinâmica da Difração de Raios X

Francisco Tiago Leitão Muniz, José Marcos Sasaki, Vegner dos Santos Hizau Utuni, Diego Félix Dias
Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.

A teoria dinâmica da difração de raios X é uma teoria que ao contrário da teoria cinemática tem sua origem nas equações de Maxwell e na lei de Bragg e com um tratamento físico mais completo e adequado levando em consideração todas as interações entre os campos de onda eletromagnéticos dentro do cristal e logo, leva em conta também, as propriedades físicas do meio cristalino. Estas interações trazem consigo efeitos que são desprezados na teoria cinemática, teoria mais tradicional e mais comumente utilizada quando se trata de difração de cristais pouco espessos. Este trabalho visa calcular os perfis de difração pela teoria dinâmica com o intuito de confirmar e analisar a presença dos efeitos dinâmicos que, por sua vez, se acentuam com o aumento da espessura da amostra. Esses efeitos são a absorção anômala e os efeitos de extinção. Os cálculos foram feitos com o uso da linguagem de programação Fortran 90 aplicados em monocristais de silício, germânio, arseneto de gálio e fosfeto de índio, com o objetivo de estudar a influência da espessura do cristal e da razão entre as partes imaginária e real do fator de estrutura, nos perfis de difração. Por fim, tendo-se a largura a meia altura, determinados pelos gráficos dos perfis, em função da espessura pôde-se concluir que a equação de Scherrer se aplica bem em cristais pouco espessos, região de espessura onde os efeitos dinâmicos são desprezíveis.

[1] Zachariasen, W., Theory of X-Ray Diffraction in Crystals. Dover Publications, Inc., New York (1945).

[2] Batterman, B. W., Cole, H, Reviews of Modern Physics, **36, 3**, 682-717 (1964).

[3] Authier, A. Dynamical Theory of X-Ray Diffraction. Oxford Science Publications, IUCr, (2001).

[4] Kuryama, M., Miyakama, T., *Acta Cryst.*, **A26**, 667-672 (1970).

Agradecimentos: CAPES; CNPq; UFC.

Cristalografia de policristais
(Seção de painéis da quinta-feira)

Influência do tamanho dos cristalitos na forma do perfil de difração

Marina C. Silva, Mónica E. Bolívar e N. L. Speziali

Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

É sabido que a existência de orientação preferencial em amostras policristalinas pode ser causa de sérios problemas em análises de experimentos de difração. O interesse do presente trabalho é estudar a influência do tamanho de grãos no perfil de difração, realizando-se medidas com amostras de SiO₂ de alta pureza, e aplicando-se o método de Rietveld para análise dos difratogramas.

Por meio de processos de moagem e peneiração foram selecionadas partículas com diferentes intervalos de tamanho, desde a amostra bruta (tal como adquirida) até grãos menores que 5 micrômetros (5 μm). A influência de orientação preferencial foi evidente, sendo mais significativa na amostra bruta; nesta e nas demais foram várias as consequências observadas nos respectivos difratogramas. Por exemplo, amostras oriundas do mesmo processo de seleção, i.e., de mesmo intervalo de tamanho de cristalitos, podem apresentar difratogramas bem diferentes, como ilustrado na figura. Isto é consequência da preparação no porta-amostras, assim como do conjunto de parâmetros instrumentais, incluindo região iluminada pelo feixe de raios X.

Algumas conclusões serão apresentadas.

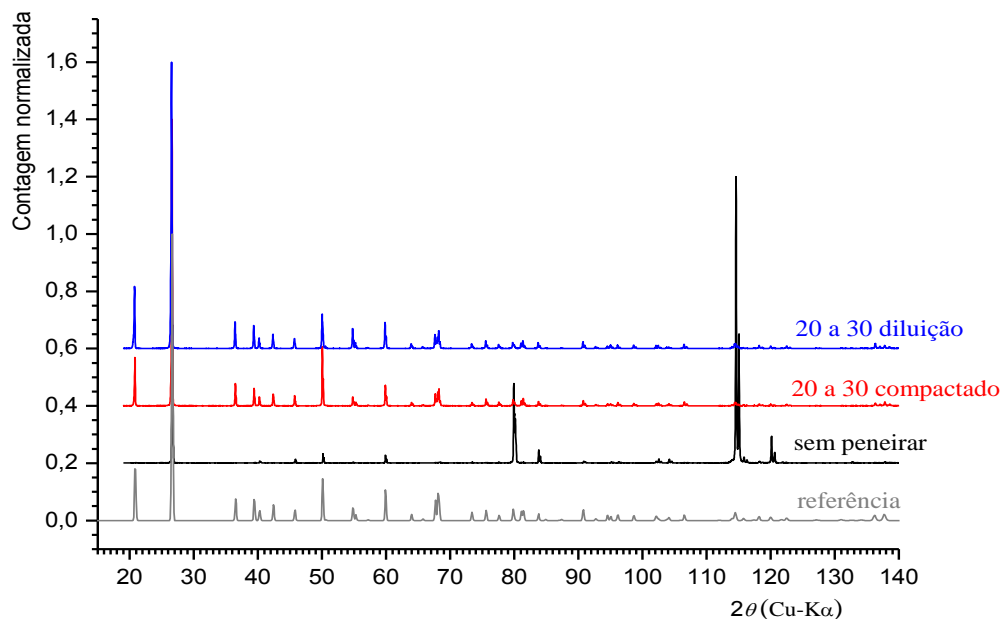


Figura 1: Comparação entre os difratogramas das amostras com mesmo intervalo de tamanho de grão, em azul e vermelho, a que não foi peneirada, em preto, e de um padrão CIF.

Agradecimentos: trabalho desenvolvido com apoio do CNPq e da FAPEMIG.

STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF ALBENDAZOLE WITH THE USE OF X-RAY POWDER DIFFRACTION

K. C. Lira¹ e F. F. Ferreira¹

¹*Centro de Ciências Naturais e Humanas, UFABC, Santo André, SP, Brazil.*

Polycrystalline drugs may present polymorphism (property of a substance to crystallize in more than one form or crystal structure). These variations can cause changes in the physical-chemical properties and differences between the polymorphs such as shape, solubility, density, melting range, among other consequences, can lead to formulations that are not effective or even undesired, being toxic in some cases, although the chemical formula is the same [1].

Drugs such as albendazole (chemical formula C₁₂H₁₅N₃O₂S), which is one of the most effective anthelmintics, [2] showing activity against nematodes, trematodes and cestodes, reasons that added to its safety and low cost have made it a drug widely used in human and veterinary medicines. [3]

The X-ray powder diffraction is a powerful technique used in the structural characterization of drugs, and coupled with the Rietveld method [4], the quantification of the active pharmaceutical ingredient (APIs) phases, through the knowledge of their crystal structures, becomes possible. In this paper we discuss some results on the differences between the polymorphs of albendazole, with data obtained by means of X-ray diffraction, thermal analysis (differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis), Fourier transform infrared spectroscopy and scanning electron microscopy.

Keywords: drugs, crystal structure, polymorphism, X-ray diffraction, Rietveld method, thermal analysis, Fourier transform infrared spectroscopy and scanning electron microscopy.

Work supported by FAPESP (proc. n. 2008/10537-3), CNPQ (proc. n. 556799/2010-0 e 305186/2012) and PPG-Nano/UFABC.

[1] Maria J., *Polimorfismo de fármacos*. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

[2] Pranzo M.B., Cruickshank D., Coruzzi M., Caira M.R., Bettini R., *Enantiotropically Related Albendazole Polymorphs*. Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 99, 3731–3742 (2010).

[3] Campbell, W.C., *The chemotherapy of parasitic infections*. J Parasitol 1986, 72: 45-61.

[4] Rietveld H. M., *J. Appl. Crystallogr.*, **2**, 65 (1969).

kelly.silva@ufabc.edu.br. Av. dos Estados, 5001 - B. Bangu - Santo André - SP.

Caracterização do Compósito WC-10%Co utilizando o Método de Rietveld

Adriano Corrêa Batista^a, Genivaldo Júlio Perpétuo^a, Fernando Gabriel da Silva Araújo^a e Hellen Cristine Prata de Oliveira^b.

^aREDEMAT, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Brasil.

^bDepartamento de Matemática, Centro Superior de Estudos - FACIG, Manhuaçu, Brasil.

A caracterização estrutural dos pós de partida utilizados no processamento do metal duro – WC-10%Co com o pó de WC nanométrico, torna-se uma etapa importante, sendo possível obter informações a cerca do comportamento destes materiais buscando subsídios para maior compreensão deste sistema antes e após o processo de mistura que antecede a sinterização. A análise quantitativa das fases presentes e seu comportamento têm como base o desenvolvimento de metodologias específicas na obtenção de dados precisos utilizando a difração de raios X e o Método de Rietveld.

O uso do Método de Rietveld permitiu o refinamento dos dados oriundos da difração de raios X para o pó de WC nanométrico^[1,2].

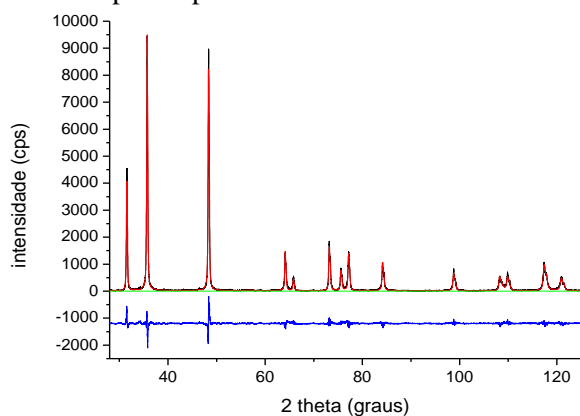


Figura 1 – Gráfico de Rietveld do pó de WC nanométrico.

Na tabela 1 são indicados os valores dos índices de qualidade dos refinamentos, sendo estes reflexos dos processos de fabricação e a moagem de alta energia utilizada para reduzir o tamanho de grão^[2].

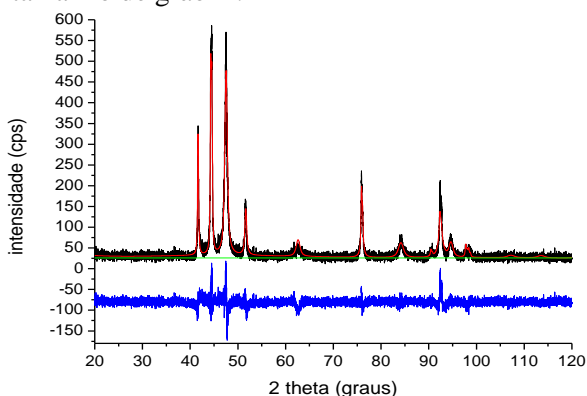


Figura 2 – Gráfico de Rietveld do pó de Co.

O refinamento para o Co revelou 75.58% da presença da fase hp e 24.41% da fase cfc.

No difratograma nota-se a presença da fração amorfa, tornando o background relativamente ruidoso^[2]. A análise quantitativa de fases para a mistura WC-10%Co revelou 90.46% de presença da fase WC (hp) e 9.54% da fase de Co (hp).

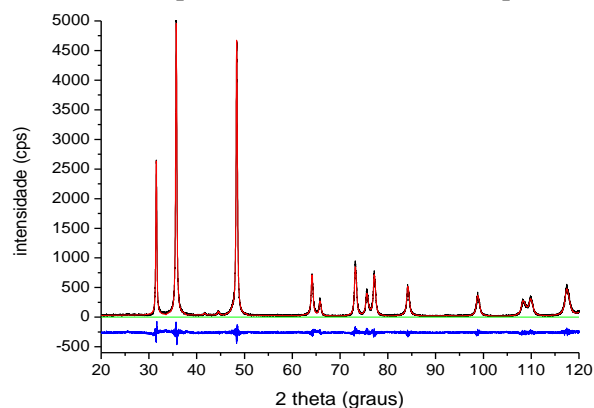


Figura 3 – Gráfico de Rietveld da mistura WC-10%Co.

Valores aproximados da relação teórica de 90% de WC e 10% de Co em peso.

Tabela 1 – Indicadores residuais dos refinamentos de Rietveld para as amostras em pó de WC, Co e da mistura WC-10%Co.

Amostra	$R_{wp}\%$	$R_e\%$	$S\%$	$R_B\%$
WC	13.43	8.09	1.66	2.73
Co	18.81	15.80	1.19	1.69
WC-10%Co	12.27	9.73	1.26	3.94

Com o Método de Rietveld aumentamos a eficiência da identificação das fases, quantificação e modelagem das mesmas. Com a maior quantidade de informações, poderemos monitorar a evolução destas estruturas durante o processo de sinterização, o que poderá ser relacionado com as propriedades mecânicas e suas variações com o surgimento de fases metaestáveis.

[1] Rietveld, H.M., *J.Appl. Crystallogr.*, Vol. 2, p.65-71 (1969).

Análise dos perfis dos picos de silício nos difratogramas de raios X

G. Rodrigues e P. A. Suzuki

*Departamento de Engenharia de Materiais, Escola de Engenharia de Lorena,
Universidade de São Paulo, Lorena - SP, Brasil*

Os difratogramas de pó contêm informações importantes sobre as características estruturais e microestruturais de um material, tais como a natureza de defeitos, tamanho e morfologia de grãos, tensão residual, etc [1]. Estas informações podem ser extraídas a partir da análise dos picos dos difratogramas (amplitude, largura, posição e forma) [2,3]. Os perfis dos picos de difração podem ser analisados a partir do ajuste por curvas matemáticas como gaussiana e lorentziana [2,3]. O silício é um dos materiais utilizados como padrão por apresentar alta cristalinidade e alta simetria, refletindo em picos estreitos e de altas intensidades nos difratogramas. O objetivo deste trabalho foi a análise detalhada dos picos de difração de silício obtidos com diferentes radiações. Silício de alta qualidade em pó foi medido com radiação proveniente de um tubo de cobre e filtro de níquel utilizando um difratômetro Panalytical, modelo Empyrean. O mesmo pó foi medido com radiação de molibdênio e filtro de zircônio utilizando um difratômetro Shimadzu, modelo XRD 6000. Os picos foram ajustados por curvas gaussianas e lorentzianas obtendo-se as posições angulares, amplitude, larguras dos picos, áreas e coeficientes de qualidade. Os coeficientes de qualidade dos ajustes destes picos mostraram que a curva lorentziana ajusta melhor os picos da radiação de cobre ($K\alpha_1$ e $K\alpha_2$). Nos picos obtidos com a radiação de molibdênio, a lorentziana ajustou melhor os picos de $K\alpha_1$, enquanto a gaussiana ajustou melhor os picos de $K\alpha_2$. A separação entre as contribuições $K\alpha_1$ e $K\alpha_2$ aumenta em função de 2θ e exibe comportamentos diferentes para diferentes radiações. Isto mostra que a resolução obtida depende da radiação utilizada. Os picos de baixos ângulos não apresentam separação completa entre as componentes $K\alpha_1$ e $K\alpha_2$. A primeira metade do pico foi melhor ajustado por lorentziana enquanto a segunda metade foi melhor ajustada por gaussiana, o que mostra uma assimetria destes picos. A análise das larguras dos picos em função de 2θ e a relação entre a intensidade e a área dos picos $K\alpha_1$ e $K\alpha_2$ mostraram um melhor resultado para a radiação de cobre.

[1] T. Ungár, Microstructural parameters from X-ray diffraction peak broadening. *Scripta Materialia* **51** 777–781 (2004).

[2] V. K. Pecharsky, *Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials*, Springer, New York (2005).

[3] B. D. Cullity and S. R. Stock, *Elements of X-ray diffraction*, Prentice Hall, 3rd ed., New Jersey (2001).

Agradecimentos: À Pró-reitoria de graduação da Universidade de São Paulo, pela concessão das bolsas de Tutoria Científico-Acadêmica (2012) e Ensinar com Pesquisa (2013).

Síntese do padrão de CeO_2 para determinação da largura instrumental difratométricaA. M. L. Batista^a, F. I. C. C. Martins^b e J. M. Sasaki^c.^a*Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.*^b*Departamento de Química Analítica e Físico-Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.*^c*Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil*

Com uso da difração de raios X por pó, é possível determinar parâmetros físicos de uma rede cristalina e até quantificar suas fases. Alguns desses parâmetros são: as dimensões da célula unitária (parâmetros de rede), seu volume, tamanho de cristal, microdeformação e etc. Contudo, é preciso ser cauteloso com a preparação da amostra e com o alinhamento do difratômetro para que os parâmetros obtidos pela medida sejam confiáveis. Para que os erros sistemáticos não afetem os valores desses parâmetros, utilizam-se materiais padrões que são denominados *SRM - Standard Reference Materials* (Material Padrão de Referência). Em qualquer medida de difração de raios X, o difratograma obtido de uma amostra a ser analisada apresenta efeitos externos, que podem ser, por exemplo, a forma como foi preparada a amostra ou provocado pelo próprio equipamento. Levando em conta que os efeitos instrumentais (sistemáticos) sempre estarão presentes numa medida, então, a questão é saber quantificar esse efeito. O SRM escolhido para esse propósito é o óxido de cério (CeO_2) obtido a partir de sulfato de cério tetra hidratado ($Ce(SO_4)_2 \cdot 4H_2O$) adquirido da Sigma-Aldrich. As principais características do SRM são: cristais com dimensões da ordem de μm , quimicamente inerte, homogêneo, baixa microdeformação e os picos de difração sejam estreitos e intensos. Todas essas condições são essenciais, especialmente o tamanho dos cristais, para determinar a chamada largura instrumental. Segundo a equação de Scherrer, a largura a meia altura (FWHM) de um pico de difração é inversamente proporcional ao tamanho médio dos cristais, ou seja, medidas feitas em cristais espessos, homogêneos e de baixa microdeformação produzirá picos estreitos, e conseqüentemente, a largura e perfis dos picos de difração estão associados a efeitos instrumentais (por exemplo: divergência, fendas, dispersão espectral e etc.). O objetivo deste trabalho consiste em sintetizar o CeO_2 com as condições apresentadas anteriormente para que seja possível, através de auxílio computacional, determinar a largura instrumental do difratômetro. Segundo os resultados apresentados pelo autor do presente trabalho, verifica-se que o óxido de cério sintetizado pode ser utilizado como material padrão de referência para difratometria.

[1] AUDEBRAND, N.; AUFRÉDIC, J. P.; LOUËR, D. *Chem. Mater.* v. **12**, n. **6**, p. 1791 – 1799, (2000).

[2] BALZAR, D. *et al. J. Appl. Cryst.* v. **37**, p. 911 – 924, (2004).

[3] CULLITY, B. D. *Elements of X-ray diffraction*. Addison-Wesley Publishing Company, Canadá, (2001).

[4] CULLITY, B. D. *Elements of X-ray diffraction*. Addison-Wesley Publishing Company, Canadá, (2001).

Agradecimentos: FUNCAP – Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico; UFC – Universidade Federal do Ceará; EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; UFS – Universidade Federal de Sergipe; CNPEM – Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais.

Modificação de filmes finos de ITO estudados por Refletividade de Raios-X

Guilherme A. Calligaris^a, Suelene S. Mammana^b, Alessandra Greatti^b, Francis H. Luiz^b, Francisca I. da Costa^b, Alaide P. Mammana^b, Carlos I. Z. Mammana^b, Daniel den Engelsen^b e Lisandro P. Cardoso^a

^aInstituto de Física Gleb Wataghin, UNICAMP, Campinas, Brasil.

^bAssociação Brasileira de Informática, ABINFO, Campinas, Brasil.

Filmes de Óxido de Índio (ITO), tipicamente compostos por 90% In_2O_3 e 10% SnO_2 , são largamente aplicados em dispositivos tecnológicos que fazem uso de sua alta condutividade e transparência óptica, como células solares, telas de vídeo e telas sensíveis ao toque. A deposição desses filmes geralmente é feita pelo processo de litografia, sendo que um dos passos consiste em “desbastar” (*etching*) o filme até a espessura desejada, utilizando ácido clorídrico (HCl). Contudo, o uso de abrasivos a base de HCl tem algumas desvantagens como: ataque lateral descontrolado do filme de ITO, ataque a camada de metal abaixo do filme de ITO, corrosão de equipamentos e necessária instalação de sistemas e exaustão de fumos. No entanto, ácidos orgânicos, como ácido oxálico, ácido acético, ácido fórmico, ácido cítrico e ácido tartárico, são menos corrosivos e geralmente desgasta a metalização feita abaixo do filme de ITO. Por essa razão, esses ácidos estão sendo utilizados no processo de *etching* de filmes de ITO e outros óxidos condutivos transparentes como ZnOIn (IZO) e InGaZnO (IGZO) [1, 2].

Neste trabalho, a Refletividade de Raios-X (XRR) e a técnica de Difração de Raios-X com Incidência Rasante (GIRXD) foram utilizadas na caracterização de filmes de ITO, com espessuras de 25 e 175 nm, antes e durante o processo de *etching* a base de ácido oxálico. A utilização em conjunto dessas duas técnicas fornece informação estrutural (GIXRD), além de estimativa da espessura, densidade e rugosidade (XRR) do filme analisado. A Fig 1 é um exemplo de medida de XRR em filme fino de ITO antes do processo de *etching*.

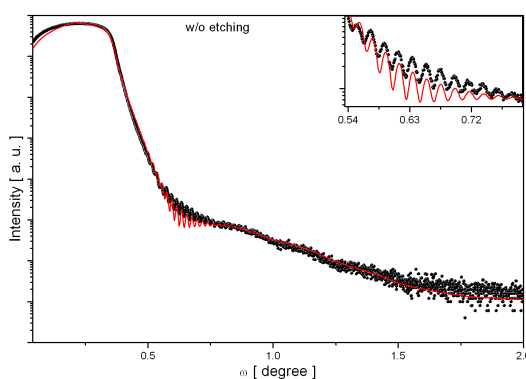


Figura 1: Medida de XRR em filme fino (175 nm) de ITO, com o detalhe da simulação das oscilações.

Os resultados mostraram o efeito do tempo de *etching* através da diminuição da espessura e também da densidade do filme de ITO. Ficou evidente o “desbaste” dos filmes de ITO por *etching*, cujo efeito local foi corroborado por imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura, enquanto que, o efeito mais global foi observado através das análises por XRR.

[1] Tsai, T.-H. e Wu, Y.-F., *Microelectron Eng*, (2006). **83**, 536-541.

[2] Lee, C.-Y., Chang, C., Shih, W.-P., e Dai, C.-L., *Thin Solid Films*, (2010). **518**, 3992-3998.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FAPESP.

Quantificação de fase das associações de fármacos anti-hipertensivos (Losartana /CLortalidona) e (Losartana/Hidroclorotiazida) pelo método de Rietveld.

Weberton Reis do Carmo^a, Fabio Furlan Ferreira^b e Renata Diniz^a.

^aDepartamento de Química - ICE, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-330 Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. ^bUniversidade Federal do ABC, Centro de Ciências Naturais e Humanas, Santo André, São Paulo, Brasil.

A hipertensão arterial é uma doença que acomete milhões de pessoas no mundo todo, por esse motivo a classe de médicos cardiologistas na publicação da VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial [1] ressaltou a importância de não se obter medicamentos anti-hipertensivos via farmácias de manipulação. De acordo com o que foi discutido, isso se deve a inexistência de informações adequadas sobre controle de qualidade, bioequivalência e/ou interação química dos compostos. Os fármacos utilizados no tratamento da hipertensão são administrados oralmente na forma sólida, podendo, portanto, cristalizar-se em diversas formas cristalinas, fenômeno este conhecido como polimorfismo. O polimorfismo em fármacos é um tema de grande interesse para a comunidade científica e apresenta um grande desafio para as indústrias farmacêuticas, uma vez que alterações no arranjo cristalino podem alterar as propriedades físico-químicas dos fármacos [2], e consequentemente, pode afetar o desenvolvimento, a segurança e a eficácia de um medicamento. A principal técnica de caracterização do polimorfismo é a difração de raios X, cuja principal vantagem em relação às outras técnicas consiste na habilidade de diferenciar de maneira inequívoca uma fase cristalina da outra, mesmo que essa possua a mesma composição [3]. Devido aos pontos levantados, nesse trabalho realizou-se a identificação e a quantificação de fases cristalinas dos fármacos anti-hipertensivos, Losartana (LOS-K), Clortalidona (CTD) e Hidroclorotiazida (HCTZ), disponibilizado por farmácias de manipulação da cidade de Juiz de Fora - MG, além da quantificação de fases em associações dos mesmos.

As medidas de difração de raios X por policristais foram realizadas nos difratômetros, *Bruker D8 Advanced*, Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense (IF-UFF) e *Bruker D8 Focus* instalado no Centro Experimental de Multiusuários da Universidade Federal do ABC (UFABC), equipados com tubo de cobre e geometria de Bragg-Brentano. Os resultados mostraram que para os diuréticos (CTD e HCTZ) apenas uma fase cristalina foi encontrada nas amostras. Para LOS-K, inicialmente, foi observado somente a fase monoclinica na amostra, após um ano da aquisição do fármaco foram observadas as fases ortorrômbica [4] 79,5(1) wt% e monoclinica [5] 20,5(1) wt%. A quantidade de LOS-K, CTD e HCTZ, encontrada nas associações LOS-K/CTD e LOS-K/HCTZ foi a mesma sugerida pela farmácia de manipulação. Através do refinamento Rietveld foi verificado a quantidade de 24,9(2) wt% para a CTD, correspondente a forma I [6], 25,0(8) wt% de α -lactose monohidratada [7], correspondente ao excipiente e 50,1(2) wt% de LOS-K (fase monoclinica), para a associação LOS-K/CTD. Para a mistura LOS-K/HCTZ a quantidade encontrada, foi: 50,9(1) wt% de LOS-K (fase monoclinica), 24,6(2) wt% para HCTZ (forma I) [8] e 24,5(1) wt% para α -lactose monohidratado. Os parâmetros estatísticos para o refinamento da amostra LOS-K/CTD foram: $\chi^2 = 1,809$, $R_{wp} = 0,040$, $R_p = 0,034$ e $R_F^2 = 0,065$, e para associação LOS/HCTZ: $\chi^2 = 2,720$, $R_{wp} = 0,066$, $R_p = 0,046$ and $R_F^2 = 0,055$.

Referências Bibliográficas: [1] VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v.95, p.I-III, 2010. [2] LOHANI, S.; GRANT, D. J. W. Thermodynamics of Polymorphs. *Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry*. R. Hilfiker: 21-42, 2006. [3] YU, L. X.; et al. *Pharmaceutical Research*, v.20, n.4, p.531-536, 2003. [4] X.-R. Hu, Y.-W. Wang, J.-M. Gu, *Acta Crystallographica Section E*, m1686-m1688, 2005. [5] D. Fernandez, D. Vega, J.A. Ellena, G. Echeverria, *Acta Crystallographica Section C*, 58, m418-m420, 2002. [6] F.T. Martins, et al, *Crystal Growth & Design*, 9, 3235-3244, 2009. [7] J.H. Smith, S.E. Dann, M.R.J. Elsegood, S.H. Dale, C.G. Blatchford, *Acta Crystallographica Section E*, 61, o2499-o2501, 2005. [8] L. Dupont, O. Dideberg, *Acta Crystallographica Section B*, 28, 2340-2347, 1972.

Agradecimentos: CAPES, FAPEMIG, CNPq, LDRX (IF-UFF) e Centro Experimental de multiusuários (UFABC).

Medidas Síncrotron nos compostos $\text{Yb}_{1-x}\text{Tb}_x\text{MnO}_3$ **Mónica E. Bolívar, Alexandre M. Moreira, N. L. Speziali***Laboratório de Cristalografia, Departamento de Física, ICEx,**Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.*

E-mail: mbolivar@fisica.ufmg.br

Manganitas do tipo RMnO_3 (R = terra rara) têm sido alvo de intensas pesquisas orientadas ao estudo das propriedades magnéticas e suas relações com outras. Propriedades como multiferroicidade e magnetorresistência colossal trouxeram desafios para as modelagens tanto experimentais quanto teóricas.

Amostras policristalinas de manganitas do tipo $\text{Yb}_{1-x}\text{Tb}_x\text{MnO}_3$ com $x = 0; 0,25; 0,50; 0,75$ e 1 foram produzidas pelo método de reação de estado sólido. Medidas magnéticas e, de difração de raios X foram realizadas com todas as composições e em diferentes temperaturas. Análises da estrutura cristalina foram realizadas utilizando dados de difração de raios X coletados com tubo convencional (Cu- $K\alpha$) e difração com fonte síncrotron de comprimento de onda $1,54958 \text{ \AA}$. Os experimentos com síncrotron foram realizados no *LNLS*, em temperatura ambiente (TA) e em baixas temperaturas.

As medidas com tubo convencional foram realizadas no *LabCri* e os resultados obtidos permitiram estudos estruturais bastante significativos [1]. As medidas realizadas no LNLS tinham o objetivo de buscar caracterização de eventuais transições estruturais de fase, uma vez que as medidas magnéticas indicam alterações em grandezas como, p.ex., a magnetização. Também, parâmetros estruturais como distâncias e ângulos de ligação e como distorções e inclinações de unidades moleculares na estrutura poderiam dar subsídios para modelos explicativos das modificações nas características magnéticas.

Os dados de difração em baixas temperaturas mostraram claras mudanças nos parâmetros de rede, mas não foi possível realizar análises mais detalhadas das estruturas, devido à qualidade dos resultados obtidos dos experimentos. No presente trabalho, são feitas discussões de possíveis problemas encontrados nos dados.

[1] Bolívar, M. G.; Moreira, A. M. & Speziali, N. L. (2013). *J. Appl. Cryst.* **46**, 644–648.

Agradecimentos: CNPq; Capes.

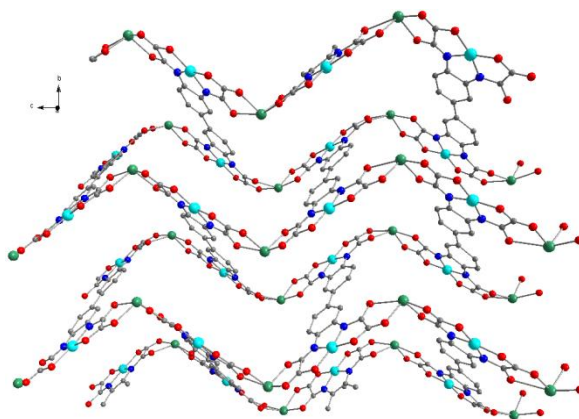
**Determinação da estrutura do composto magnético molecular
 $Mn_2[Cu_2(bopba)]_n \cdot n(DMSO)$ ($n \sim 6$ – bopba ou bis-o-phenylenebis(oxamato) –
 DMSO ou dimetilsulfoxido) por difração de Raios X de amostras policristalinas.**

Marguerite Kalisz^{a,b}, Maria G. F. Vaz^a, Miguel A. Novak^b, Helio S. Amorim^b

^aInstituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Brazil

^bInstituto de Física, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Neste trabalho apresentamos os resultados obtidos na determinação da estrutura cristalográfica por difratometria de pó do composto magnético molecular $Mn_2[Cu_2(bopba)]_n \cdot n(DMSO)$. Difrátogramas de Raios X foram obtidos na estação D10B de difratometria de policristais do LNLS (Laboratório Nacional de Luz Síncrotron), num goniômetro HUBER 4+2 em configuração $\theta - 2\theta$, com passos de $0.02^\circ (2\theta)$ e comprimento de onda $1,7711 \text{ \AA}$. O difratograma foi indexado com os programas TAUPIN^[1] e DICVOL^[2]. Uma cela primitiva foi obtida com alta figura de mérito $M(20)$ de Wolff ($a = 16.918(2) \text{ \AA}$, $b = 9.132(1) \text{ \AA}$, $c = 18.194(3) \text{ \AA}$, $\beta = 92.92(1)^\circ$ e $V = 2807.2 \text{ \AA}^3$). A seleção do grupo espacial de simetria foi concluída ao longo do procedimento de determinação da estrutura considerando as ausências sistemáticas em hkl e por comparação da densidade experimental e densidade calculada. Esta análise conduziu a obtenção do grupo Pc (no.7) com duas formulas unitárias por cela ($Z=2$). A estrutura foi determinada via *simulated annealing method*^[3] tal como implementados nos programas FOX^[4] e DASH^[5]. Os modelos de estrutura assim obtidos foram analisados e refinados via método de Rietveld. Efeitos leves de textura foram observados e adequadamente tratados pela função de March-Dollase. Todas as análises de Rietveld foram realizadas com o programa Fullprof^[6]. A estrutura apresenta fragmentos $[Cu_2(bopba)]^{4+}$ interconectados através de cátions Mn^{2+} ligados a dois oxigênios de um grupo oxamato. A sequência não é planar, mas segundo um arranjo em *zig-zag* ao longo do eixo $-c$. O arranjo de $[Cu_2(bopba)]^{4+}$ interconectados via Mn^{2+} forma camadas paralelas ao plano 100. Na Figura abaixo mostramos em perspectiva detalhes da estrutura sobre o plano bc . (cinza: C, vermelho: O, azul: N, azul claro: Cu, verde: Mn. Por clareza, moléculas de DMSO foram omitidas). Espaços entre as camadas podem conter solventes (DMSO) em quantidade variável, em disposição desordenada (*mess disorder*) e fracamente ligados. Mostramos ainda que a quantidade de solvente presente na estrutura desempenha um papel importante sobre as propriedades magnéticas do composto.



[1] D. Taupin, *J. Appl. Cryst.*, **6**, 380 (1973). [2] A. Boultif & D. Louer, *J. Appl. Cryst.*, **37**, 724-731 (2004). [3] (a) David, W. I. F., Shankland, K. and Shankland, N., Routine Determination of Molecular Crystal Structure from Powder Diffraction Data, *Chem. Commun.*, 931-932 (1998). (b) Andreev, Y. G. and Bruce, P. G., Solving crystal structures of molecular solids without single crystals: a simulated annealing approach, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 4071-4080, (1998). [4] V. Favre-Nicolin, R. Cerny, *J. Appl. Cryst.*, **35**, 734 (2002). [5] Rodriguez-Carvajal, J., *Physica B.*, **192**, 55(1993). [6]

Agradecimentos: FAPERJ, CNPq, CAPES e LNLS.

Determining the Crystal Structure of the Antimalarial Drug (±)-Mefloquine Hydrochloride: a Tetragonal Hydrated Species

Vânia Mendes do Prado^a e Fabio Furlan Ferreira^a.

^a*Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, Brazil.*

Polymorphism is defined as the ability of a given compound, in the solid phase, to exist in more than one molecular arrangement. The physical-chemical properties and biological activity of a drug are influenced by different crystalline forms[1]. Particularly, one of the important questions to be addressed concerns the possible presence of solvent confined within the crystal. If present, the type of solvent and its conformation might greatly influence the atomic arrangement and, most importantly, the drug's biological activity [2].

(±)-Mefloquine hydrochloride (MEFHCl) (IUPAC name R,S erythro- α -2-piperidyl 2,8bis(trifluoromethyl)-4quinolinemethanol hydrochloride), is an effective antimalarial agent and presents the polymorphism phenomenon. Several crystal structures of this drug are described in the literature [3-5]. The tetragonal structure of MEFHCl has been studied by many authors, but there are still doubts regarding the nature of the tetragonal species. Karle and Karle (1991)[6] reported a tetragonal structure ($P4_2/n$, origin at center of symmetry) for MEFHCl· $\frac{1}{2}$ (methanol) solvate, and some reservations regarding whether the solvate incorporated was methanol or water have been made. The former was considered because none of the X-ray diffraction peaks appeared at appropriate distances for hydrogen bonding to the chloride ions, as would be expected for a hydrated hydrochloride [6]. Pitaluga *et al.* (2010)[4] studied the tetragonal species using single-crystal synchrotron data collected at 120 K, however, the same doubts about the nature of the species was found.

In this work, the tetragonal structure of mefloquine hydrochloride was studied in details by X-ray powder diffraction (XRPD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). By means of a structural determination, using the DASH software package, was found the following values: $a = 24.5595 \text{ \AA}$, $b = 24.5595 \text{ \AA}$, $c = 6.3902 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 3854.4 \text{ \AA}^3$, the highest figure-of-merit $M(25) = 34.9$, $F(25) = 79.7$ and space group $P4_2/n$. The best solution found clearly indicates the presence of voids in the unit cell. Thus, we found the same doubts presented already about the nature of the tetragonal species, is a hydrate or a solvate.

To try to resolve this issue, we considered the presence of water within the unit cell, filling up the voids and refining the structure through the Rietveld method. Finally it was found that the resolved crystal structure for tetragonal hydrated mefloquine hydrochloride consists of four formula units per unit cell ($Z = 4$) of a racemic mixture of erythro isomers, thus accommodating 8 mefloquine hydrochloride and 4 water molecules within the unit cell. FTIR data have supported this assertion.

References:

- [1] Bernstein, J. *Polymorphism in Molecular Crystals*, Oxford University Press, Oxford (2002).
- [2] Khankari, R. K., Grant, D. J. W., *Thermochim. Acta*, **248**, 61–79 (1995).
- [3] Kiss, A., Répási, J., Salamon, Z., Novak, C., Pokol, G., Tomor, K., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **12**, 889-893 (1994).
- [4] Pitaluga, A., Prado L.D., Seiceira, R., Wardell, J.L., Wardella, S.M.S.V., *Int. J. Pharm.*, **398**, 50-60 (2010).
- [5] Kitamura, S., Chang, L., Guillory, L., *Int. J. Pharm.*, **101**, 127-144 (1994).
- [6] Karle, J. M.; Karle, I. L., *Acta Crystallogr. C*, **47**, 2391–2395 (1991).

Agradecimentos: FAPESP (proc. nr. 2008/10537-3), CNPq (477296/2011-4, 305186/2012-4), PPG-Nano-UFABC.

Caracterização estrutural dos anti-hipertensivos maleato de enalapril e captopril

J. A. P. Sato^a e F. F. Ferreira^a

^a Centro de Ciências Naturais e Humanas (CCNH), Universidade Federal do ABC, Santo André, Brasil.

A hipertensão arterial é o principal fator de risco para problemas cardíacos. Além de aumentar a possibilidade de o paciente vir a desenvolver doenças renais, derrames e aneurismas, é responsável por um elevado número de óbitos em nível nacional e mundial. Os medicamentos para controlar a doença fazem parte da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) que conta com uma lista de medicamentos para combater as doenças mais comuns que atingem a população brasileira [1]. A presença de formas cristalinas diferentes (polimorfos) para um mesmo fármaco pode alterar algumas propriedades físico-químicas como solubilidade, que implica afetar sua dissolução, bem como a biodisponibilidade do princípio ativo no organismo, comprometendo a eficácia clínica do medicamento [2]. Assim, faz-se necessário o uso de técnicas para a identificação e quantificação destes polimorfos. A difração de raios X, juntamente com o método de Rietveld, mostra-se uma ferramenta promissora ao unir, de forma simultânea e com boa precisão, a identificação e a caracterização estrutural de fármacos, bem como, a quantificação do total de fase amorfa. O método de Rietveld consiste em ajustar o difratograma teórico a um difratograma experimental. Quando a amostra possui mais de uma fase, o difratograma teórico corresponderá à soma dos difratogramas de cada uma das fases que o compõe. O ajuste matemático de um padrão observado (experimental) com um modelo teórico (calculado) é comparado, ponto a ponto e os parâmetros do modelo são ajustados pelo método dos mínimos quadrados. O objetivo do método é minimizar a diferença entre os difratogramas observado e calculado [3].

Uma outra técnica para identificação de diferentes polimorfos é a calorimetria diferencial exploratória (DSC) que é frequentemente utilizada para detectar formas polimórficas porque tipicamente estes possuem diferentes pontos de fusão. Utilizando múltiplas taxas de aquecimento é uma maneira de detectar eventos cinéticos como decomposição ou transformação de uma forma cristalina em outra [4,5].

O presente trabalho relata alguns estudos obtidos para os medicamentos anti-hipertensivos maleato de enalapril e captopril, que constam na lista da RENAME, por meio das técnicas de difração de raios X por policristais utilizando o método de Rietveld para o refinamento das estruturas cristalinas, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e calorimetria diferencial de varredura (DSC).

[1] Sociedade Brasileira de Cardiologia, V. Diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. Arq. Bras. Cardiol., 89(2007)3.

[2] D. Singhal, W. Curatolo, Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective, Advanced Drug Delivery Reviews 56(2004)335-347.

[3] F.F. Ferreira, S.G. Antonio, P.C.P. Rosa, C.O.P. Santos, Crystal Structure Determination of Mebendazole Form A Using High-Resolution Synchrotron X-Ray Powder Diffraction Data, Pharmaceutics, Preformulation and Drug Delivery 99(2010) 1734-1744.

[4] D.P.Ip, G.S.Brenner, J.M.Stevenson, S.Lindenbaum, A.W.Douglas, S.D.Klein, J.A.McCauley, High resolution spectroscopic evidence and solution calorimetry studies on the polymorphs of enalapril maleate, International Journal of Pharmaceutics 28(1986)183-191.

[5] H.K. Stulzer, P.O. Rodrigues, T.M. Cardoso, J.S.R. Matos, M.A.S. Silva, Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets formulations, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 91(2008)323-328.

Agradecimentos: CNPq (proc. n. 477296/2011-4, 305186/2012-4), FAPESP proc. 2008/10537-3), PPG-Nano e CEM.

Cristalografia de macromoléculas
(Seção de painéis da quinta-feira)

Crystal structure of carbohydrates recognition domains from human galectin-4Rustiguel, JK^a, Kumagai, P. S.^b, Dias-Baruffi, M.^c, Costa-Filho, A. J.^d and e Nonato, MC^a^a*Departamento de Física e Química, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP, Brasil.*^b*Departamento de Biofísica, Instituto de Física de São Carlos -USP, Brasil.*^c*Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, Brasil.*^d*Departamento de Física, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Pret - USP, Brasil.*

Galectins are a family of animal lectins which bind β -galactoside by the conserved carbohydrate recognition domains (CRDs). They are extensively distributed in different animal cells and tissues and they are involved in a wide range of biological phenomena including cell adhesion, tumor progression and metastasis. Belonging to this family is the human galectin-4 (hGal-4) that, particularly, is selectively expressed in the gastrointestinal tract. Recent studies have shown that silencing of galectin-4 expression in colorectal cancer is associated with tumor development¹. This protein belongs to the tandem-repeat subgroup, containing two carbohydrates recognition domains (CRD1 at the N-terminal and CRD2 at the C-terminal) connected by a linker peptide. The CRDs were cloned separately and obtained by heterologous expression in *E. coli* followed by affinity purification in Ni-NTA resin. Crystals were obtained by diffusion vapor method. Data set were collected on beamline I04-1 at Diamond Light Source, using a PILATUS detector. The crystallographic structure for both N- and C-terminal domains were solved by molecular replacement with the program phaser.phenix² and refine to 1.48 and 2.65 Å resolution, respectively. The structure of both N- and C-terminal domains of galectin-4 will be used to correlate the structural and functional features of hGal-4 and intrinsic features of galectins from the subgroup *tandem repeat*.

¹ KIM, S. W. et al. Abrogation of galectin-4 expression promotes tumorigenesis in colorectal cancer. **Cell Oncol (Dordr)**, v. 36, n. 2, p. 169-78, Apr 2013.

² ADAMS, P. D. et al. PHENIX: a comprehensive Python-based system for macromolecular structure solution. **Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography**, v. 66, p. 213-221, Feb 2010.

Crystals of the complex between the peptide PTRY and trypsin

J.P.C. Fernandes¹, S.A. de Oliveira², S.M. de Freitas², J.A.R.G. Barbosa^{1,2}.

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília and ²Laboratório de Biofísica, Depto. de Biologia Celular, Inst. de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

Serine proteases are enzymes that catalyse the cleavage of peptide bonds in proteins and thus have extensive functions in the biological systems. For instance, some of these proteases are involved in cancer-associated activities. Inhibition of such enzymes would benefit patients with this disease. Amongst the serine protease inhibitors, the Bowman-Birk family appears as one of the best characterized. The structure of the Bowman-Birk inhibitor extracted from *Vigna unguiculata* (Black-eyed pea Trypsin and Chymotrypsin Inhibitor – BTCl) in complex with bovine serine protease trypsin was solved and deposited with the code 2G81 in protein databank (PDB)^[1]. According to the solved structure, the loop between the disulphide bond formed by residues Cys24 and Cys32 of BTCl, named here PTRY, could be clearly identified as the region responsible for the high binding affinity and consequent inhibition of trypsin. Further studies with PTRY have shown positive results on *in vitro* tests against breast cancer cells^[2]. In the current study we have used this PTRY synthetic 9 amino acids peptide (CTKSIPPQC) in crystallization trials with bovine trypsin (Sigma Aldrich). The initial concentration of trypsin and PTRY were 3.2 mM and 5 mM, respectively. This 1.56 times excess of PTRY with respect to trypsin and a 20 minutes delay prior to setting up the crystallization trials should be enough to guarantee complex formation. The final protein solution contained trypsin 2.5 mM, PTRY 3.9 mM and CaCl₂ 30.8 mM. The crystallization trials were performed by using the sitting drop vapor diffusion method with the Crystal ScreenTM from Hampton Research. Each drop was made by mixing 1 µL of the crystal screen solution and 1 µL of the protein solution. Crystals were obtained in 8 of the 48 different conditions tested (figure 1). Details for each positive crystallization condition will be presented. The next steps will be crystallization refinement, data collection and structure solution of this trypsin:PTRY complex. Its comparison with the trypsin:BTCl complex shall show if the peptide has the same mode of binding and inhibition.

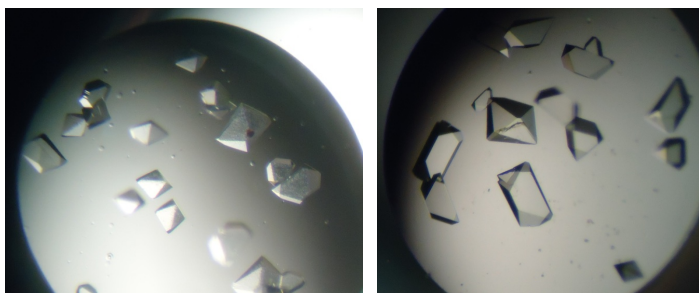


Figure 1: Examples for two successful crystallization conditions with crystals of the complex between bovine trypsin and the peptide PTRY constructed from the protease inhibitor BTCl. On the left, the condition number 4 from the Hampton Research Crystal ScreenTM and on the right, condition number 16.

[1] Barbosa, J.A.R.G., Silva, L.P., Teles, R.C.L., Esteves, G.F., Azevedo, R.B., Ventura, M.M. and Freitas, S.M. *Biophysical Journal*, 92, 1638-1650, 2007.

[2] Oliveira, S.A. *Síntese e Caracterização de Sistemas Nanoestruturados Contendo BTCl e Peptídeos Derivados para Ensaio in vitro com Células de Câncer de Mama*. 84 folhas. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

Acknowledgements: CNPq, CAPES, FAPDF.

Caracterização bioquímica e estrutural da enzima CBH1.2r de *Humicola grisea*

L. A. Malaspina^a, F. P. Faria^b e I. A. Marques^a

^a*Instituto de Física, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.*

^b*Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.*

A biomassa vegetal apresenta grande potencial para aplicações biotecnológicas. Com a crescente demanda por fontes renováveis de energia, tem-se proposto, entre outras, sua utilização para a obtenção de energia, os ditos biocombustíveis de segunda geração^[1]. Para esse fim, a principal abordagem proposta é a degradação enzimática. Neste contexto, o estudo de micro-organismos capazes de realizar a degradação enzimática da biomassa e o estudo das enzimas envolvidas no processo apresenta papel chave.

O fungo termófilo *Humicola grisea* var. *thermoidea* apresenta produção significativa de enzimas lignocelulolíticas ativas a alta temperatura e é considerado um forte candidato a aplicações na indústria. Contudo, a literatura científica ainda carece de informações bioquímicas e estruturais das enzimas do fungo que estão envolvidas na hidrólise da lignocelulose^[2].

A enzima celulolítica CBH1.2 de *H. grisea* foi identificada e clonada em *Pichia pastoris*^[3]. Estabelecemos protocolo para sua purificação, via precipitação por sulfato de amônio, e realizamos experimentos de quantificação de atividade enzimática em substrato CMC, utilizando o método dos açúcares redutores.

Realizamos ensaios robóticos e manuais de cristalização da enzima, obtendo pequenos aglomerados de cristais em forma de agulha para a condição contendo 0,1 M HEPES sodium salt pH 7,5, 2% (v/v) PEG 400 e 2 M de Sulfato de Amônio. Atualmente, estamos tentando otimizar a condição acima. Convém notar que se trata do primeiro projeto de resolução estrutural de uma proteína a ser realizado no estado de Goiás.

[1] Ripoli, T., Ripoli, M., *O setor sucroalcooleiro no Brasil. Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente.* USP, ESALQ., **1**, 302 (2004).

[2] Chaves, V. M. G., *Algumas características fisiológicas e propriedades do complexo celulase de um fungo termofílico isolado de compostagem.*, Universidade Federal de Viçosa-MG (1982).

[3] Oliveira, G. S. *et al.*, World J. Microbiol. Biotechnol., **29**, 19-26 (2013)

Agradecimentos: CAPES e ROBOLAB-Laboratório Automatizado de Cristalização de Macromoléculas no Laboratório Nacional de Biociências - CNPEM/ABNTLuS em Campinas-SP.

Proteolysis Stabilization of the Cysteine Protease Cruzain with Methyl Methanesulfonate and Iodoacetamide for High Resolution Crystallographic Studies

William Borges Fernandes^{a,b}, James H. McKerrow^b, Carlos Alberto Montanari^a.

^a*Nequimed, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brazil.*

^b*Center for Discovery and Innovation in Parasitic Diseases (CDIPD), University of California San Francisco (UCSF), San Francisco, USA*

The widely studied lysosomal cathepsins L, B, H, S, C and K, belong to the papain-like super family of cysteine proteases that are the most abundant and broadly distributed among living organisms. These proteins are expressed as inactive pro-enzymes that self-activate during the maturation event at slightly acidic pH, and become completely active for the degradation of substrates at optimal pH values from 5.5 for Cat L to 6.8 for Cat H [1,2]. The acquisition of high-resolution crystallographic structures for these enzymes are challenging due the self-proteolysis that prevents the stabilization of the protein during the crystallization process. Inhibitors with high binding affinities and good solubility, allow the stabilization of the protein. However, most of the inhibitors reported at PDB for papain family of enzymes are covalent and irreversible inhibitors that nowadays are avoided by the pharmaceutical companies due the possibility of off-target effects. Thus, current efforts focus on discovery of non-covalent reversible inhibitors that act by competitive mechanism. These inhibitors have low binding affinities (from μM to lower mM range of inhibition) when compared to covalent inhibitors, and therefore stabilizing samples for crystallographic studies is challenging [1,2,3].

Cruzain belongs to the papain-like family and is the major cysteine protease of the parasite *T. cruzi* is responsible for the tropical and neglected Chagas disease, and a validated target for the treatment of this disease [3,4]. Herein, we show two crystal structures determined at high resolution of cruzain stabilized by Iodoacetamide (1.60 Å) and Methyl Methanesulfonate (1.95 Å). These small molecules bind covalently to the catalytic cysteine of all cysteine peptidases being irreversible in the case of iodoacetamide, and reversible in the case of MMTS. MMTS can be easily removed by reducing agents such as dithiothreitol (DTT). MMTS is already used to stabilize cruzain during the Lab preparation of the enzyme for biochemical and crystallographic studies to prevent self-degradation.

Crystals of cruzain inactivated by iodoacetamide or MMTS could be used for soaking or co-crystallization with small inhibitors known as Fragments (that are also designed to probe interactions in different sub-sites of the enzyme), since until now there is no technology to get crystals of the Apo form of cruzain due the proteolysis. Cruzain was prepared as described by Lee *et al.* 2012 [4]. Crystals were equilibrated at 1.0 M LiCl, 0.1 M citric acid solution at pH 4.8 and for MMTS complex at 1.25 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and 100 mM Hepes pH 7.5 using hanging drop method at 22°C. The crystal data were collected at ALS beamline 8.3.1 and the structures were solved and refined using Phenix package [5].

Crystallographic Data for Cruzain. Iodoacetamide complex: Unit Cell (Å, °) = 82.0, 34.7, 64.5, 90, 113, 90; space group C121; Z = 1; $I/\sigma = 16.7$ (2.0); Completeness (%) = 95.4 (80.7); $R_{\text{merge}} = 0.057$ (0.464); 88739 reflections observed with 23959 unique; $R_{\text{work}} = 0.143$; $R_{\text{free}} = 0.182$; $\text{RMSD}_{\text{angle}} = 1.13^\circ$; $\text{RMSD}_{\text{bond}} = 0.008$ Å; Protein $B_{\text{factor}} = 14.8$ (Å²). **Cruzain. MMTS complex:** Unit Cell (Å, °) = 82.4, 82.4, 101.6, 90, 90, 120; space group P6₅22; Z = 1; $I/\sigma = 21.8$ (3.1); Completeness (%) = 100.0 (99.8); $R_{\text{merge}} = 0.072$ (0.820); 616168 reflections observed with 56223 unique; $R_{\text{work}} = 0.154$; $R_{\text{free}} = 0.189$; $\text{RMSD}_{\text{angles}} = 1.05^\circ$; $\text{RMSD}_{\text{bond}} = 0.007$ Å; Protein $B_{\text{factor}} = 20.8$ (Å²).

[1] Turk, B., Turk, V., Turk, D., *Biol Chem.*, **378**, 141-50 (1997).

[2] Sajid, M., McKerrow, J., *Molecular & Biochemical Parasitology*, **120**, 1-21 (2002).

[3] Wiggers, H., Rocha, J., Cheliski, J., Montanari, C., *Mol. Inf.*, **30**, 565-578 (2011).

[4] Lee, G., Balouch, E., Goetz, D., McKerrow, J., Craik, C., *Biochemistry*, **51**, 10087-10098 (2012).

[5] Adams, P., Afonine, G., Bunkóczi, V., *et al.*, *Acta Cryst.*, **D66**, 213-221 (2010).

Acknowledgements: CAPES foundation for scholarship to WBF (PDSE program, process BEX 5985/11-0). CNPq and FAPESP (grant #2011/01893-3).

Estrutura cristalográfica e cinética enzimática da enzima Liver-type Glutaminase (LGA/GLS2)

I. M. Ferreira^a, M. Vollmar^b, T. Krojer^b, C. Strain-Damerell^b, N. Burgess-Brown^b, F. von Delft^b, W. Yue^b, S. M. G. Dias^a e A. L. B. Ambrosio^a

^aLaboratório Nacional de Biociências, CNPEM, Campinas-SP, Brasil

^bStructural Genomics Consortium, Oxford, UK.

Descobertas por Hans Krebs há quase cem anos, as glutaminases mitocondriais de mamíferos se mostraram enzimas altamente complexas em termos de sequência primária, levando à especulação sobre possíveis funções adicionais dentro das células, além da atividade catalítica sobre o aminoácido glutamina. Mamíferos contêm dois genes distintos, mas estruturalmente relacionados, que codificam para pelo menos três diferentes isoenzimas conhecidas como *Kidney-type Glutaminase* (ou KGA), *Glutaminase C* (ou GAC) e *Liver-type Glutaminase* (também conhecida como LGA). Uma das características mais importantes dessas proteínas é o padrão de expressão alterado em tecidos tumorais. Resultados obtidos em nosso laboratório demonstram que LGA possui propriedades catalíticas distintas quando comparadas com as demais, inclusive na resposta ao ativador fosfato inorgânico [1]. Sua sequência primária sugere ainda a possibilidade de que LGA possa interagir com outras proteínas em diferentes organelas além da mitocôndria, participando inclusive de maneira direta na regulação de expressão gênica. Outra característica muito interessante das glutaminases, identificada por nosso grupo, é que a ativação delas está associada a formação de fibras, a ordem crescente de atividade é mantida para o tamanho das fibras, ou seja, GAC tem maior atividade e apresenta fibras maiores que KGA, LGA por sua vez não forma fibras [2].

Neste trabalho, pretendemos entender as razões estruturais de tais observações, do ponto de vista da LGA. Até o momento da descrição da atividade das glutaminases nós conhecíamos somente a estrutura cristalográfica do sítio catalítico da KGA e GAC, e agora conseguimos obter a estrutura cristalográfica do domínio glutaminase da LGA. Neste trabalho, comparando as estruturas tentaremos mostrar qual a diferença estrutural que culmina na diferença de eficiência catalítica. Para ajudar a desvendar quais são os resíduos de aminoácido chave no mecanismo, os estudos estruturais estão sendo complementados pela caracterização cinética de diversas mutações pontuais em posições possivelmente críticas para tal atividade.

[1] Cassago A, Ferreira APS, Ferreira IM, Fornezari C, Gomes ERM, Greene KS, Pereira HM, Garratt RC, Dias SMG, Ambrosio ALB, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, (2012).

[2] Ferreira APS, Cassago A, Gonçalves KA, Dias MM, Adamoski D, Ascensão CFR, Honorato RV, Oliveira JF, Ferreira IM, Fornezari C, Bettini J, Oliveira PSL, Paes Leme AF, Portugal RV, Ambrosio ALB, Dias, SMG, *Journal of Biological Chemistry*, **In press** (2013).

Agradecimentos: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP); Laboratório Nacional de Biociências (LNBio).

Estudos Estruturais Preliminares da Enzima Histidina Amônio Liase de *T. cruzi*

R. R. Miranda^a; J. Iulek^a; A. M. Silber^b; M. Silva^c

^aDepartamento de Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Brasil.

^bInstituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

^cInstituto de Ciências, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Brasil.

Os medicamentos correntemente disponíveis para o tratamento da doença de Chagas são o nifurtimox e o benzonidazol, no entanto, estes fármacos apresentam diversas limitações, como a resposta efetiva apenas na fase aguda. Tais limitações tornam evidente a necessidade da descoberta de novas formulações mais efetivas e menos tóxicas. Atualmente inúmeras enzimas são apontadas como potenciais alvos terapêuticos para a doença de Chagas [1]. Dentre essas, destaca-se a enzima Histidina Amônio Liase (TcHAL) (EC 4.3.1.3) envolvida na conversão da histidina em glutamato, importante fonte de carbono e geração de energia para o *T. cruzi* [2]. Este trabalho tem como objetivos, purificar, cristalizar e resolver a estrutura tridimensional por cristalografia da TcHAL. Simultaneamente aos procedimentos experimentais que antecedem aos estudos cristalográficos, a enzima TcHAL foi estudada *in silico* com o propósito de obter o modelo por homologia. Com a estrutura tridimensional serão realizados estudos de triagem virtual de inibidores por Docagem e Dinâmica Molecular. Novos inibidores seletivos da TcHAL poderão ser encontrados. Em colaboração com o Prof. Dr. Ariel Mariano Silber (ICB-USP), a TcHAL foi clonada em vetor pET-28a(+) em fusão com uma cauda de 6 histidinas e expressa em cepa BL21 de *E. coli*. Para expressão em fração solúvel, utilizou-se 0,5 mM de IPTG à 25 °C durante 16 horas de incubação. A proteína foi expressa na fração solúvel e futuramente serão realizados a purificação e ensaios de cristalização.

Para a construção do modelo por homologia foram selecionadas estruturas depositadas no PDB (*Protein Data Bank*), via programa MHOLLINE (<http://www.mholline.lncc.br/>) e a ferramenta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Foram escolhidas as estruturas moldes, códigos PDB: 1GKM, 3KDY, 2OHY, 2O6Y, as quais apresentam > 25% de identidade com a enzima HAL de *T. cruzi*. Os modelos da TcHAL foram obtidos com o programa MODELLER [3]. Os modelos foram avaliados pelo software PROCHECK [4], sendo que o melhor modelo apresentou os seguintes indicativos no diagrama de Ramachandran: 90,3% dos resíduos estão nas regiões favoráveis (excluindo-se as Glicinas), 9,2% em regiões permitidas, 0,4% em regiões generosamente permitidas.

Outros métodos de validação serão aplicados na análise da qualidade do modelo final. Os resultados parciais apresentados apontam boas perspectivas nos estudos estruturais da TcHAL tanto no ambiente virtual quanto nos procedimentos experimentais. Destaca-se que a proteína produzida de maneira heteróloga será em breve purificada e submetida a ensaios de cristalização. O modelo obtido por homologia apresentou boa qualidade estereoquímica. Será dada continuidade aos procedimentos experimentais e *in silico* com a finalidade de elucidar a estrutura tridimensional da TcHAL.

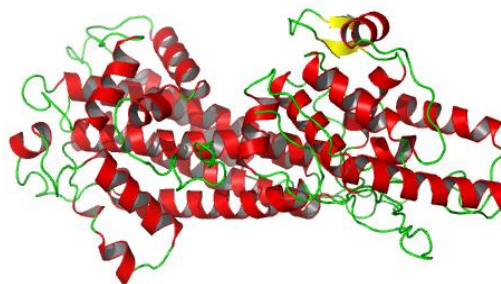


Figura1: Estrutura da Histidina Amônio Liase (TcHAL) obtida por modelagem molecular. Modelo de fitas. α -hélices (vermelho); folhas- β (amarelo) e os loops (verde). Figura produzida com o programa PyMol[5].

[1] Pinto Dias, J. C. *Ann. Intern. Med.*, v. **144**, n. 10, p. 772-774 (2006).

[2] Louie, G. V., M. E. Bowman, et al. *Chem Biol* 13(12): 1327-1338 (2006).

[3] Sali, A. *Suplement* 15. S.6, p.1-5, v. **6.30** (2006).

[4] Laskowski, R. A.; Macarthur, M. W.; MOSS, D. S.; Thornton, J. M. *Journal of Applied Crystallography*, v. **26**, p.283 (1993).

[5] Delano, W.L. <http://www.pymol.org>.

Agradecimentos: Capes; UEPG e UTFPR.

Estudos preliminares de cristalização da proteína Alanina Racemase de *Trypanosoma cruzi* visando determinação cristalográfica da estrutura 3D

A. T. P. Machado^a, J. Iulek^b, A. M. Silber^c M. Silva^d.

^a Departamento de Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Brasil.

^b Departamento de Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Brasil.

^c Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

^d Departamento de ensino, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Brasil.

O *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas é um protozoário capaz de utilizar aminoácidos como fontes de carbono e energia. Atualmente inúmeras enzimas são apontadas como potenciais alvos terapêuticos para a doença de Chagas [1]. Dentre essas, encontra-se a Alanina Racemase (TcAR) (EC 5.1.1.1), enzima do *Trypanosoma cruzi* que atua na produção de aminoácidos envolvida na interconversão de L-alanina a D-alanina. A TcAR é importante reguladora da via metabólica energética em compartimentos intra e/ou extracelulares do parasita, desta forma, a caracterização estrutural e funcional desta proteína seria de fundamental importância para o entendimento e conhecimento molecular deste novo alvo terapêutico. Ressalta-se que o descobrimento de novos quimioterápicos para a doença de Chagas é de suma importância, pois os fármacos disponíveis, por exemplo, o benzonidazol, são efetivos apenas fase aguda da doença [2]. Neste trabalho, a TcAR, isoforma longa apresenta (42 kDa), foi superexpressa na forma solúvel em *E.coli*; as células foram rompidas por sonicação e a proteína solúvel foi utilizada na purificação por afinidade em coluna de níquel. A eficiência da purificação foi analisada por eletroforese em gel SDS-PAGE 12% [3]. As frações contendo a TcAR purificada foram concentradas por ultrafiltração à 10mg/ml, em seguida, foram realizados dois ensaios preliminares de cristalização pelo método de difusão de vapor. Observaram-se precipitados cristalinos em algumas condições testadas, o que pode apontar condições favoráveis para a obtenção de cristais da TcAR. O agente precipitante mais favorável nos testes é o PEG 8000 e PEG 4000. Esse agente precipitante mostrou-se efetivo na cristalização de proteínas homólogas descritas na literatura [4]. Quando obtidos os cristais de TcAR serão submetidos a difração de raios X, para posterior resolução da estrutura tridimensional. Somando-se ao trabalho experimental, realizaram-se trabalhos *in-silico*. A TcAR foi modelada por homologia com o programa Modeller (Figura 1). O modelo obtido será utilizado em docking computacional para a seleção de potenciais inibidores. Inibidores selecionados poderão ser utilizados em ensaios de co-cristalização.

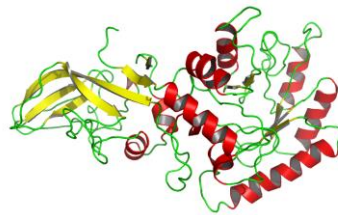


Figura 1: Estrutura da Alanina Racemase de *Trypanosoma cruzi* obtida por modelagem molecular. Modelo de fitas. α -hélices (vermelho); folhas- β (amarelo) e os loops (verde). Figura produzida com o programa PyMol[5].

¹Pinto Dias, J. C. (2006). "The treatment of Chagas disease (South American trypanosomiasis)." *Ann Intern Med* 144(10): 772-4.

² Urbina, J. A. and R. Docampo. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances *Trends Parasitol.* 19(11): 495-501, 2003.

³Laemmli, U. K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227(259): 680-5, 1970.

⁴ Morollo, A. A; Petsko, G, A; Ringer, D. Structure of a Michaelis Complex Analogue: Propionate Binds in the Substrate Carboxylate Site of Alanine Racemase, *Biochemistry*, 38(11): 3293-3301, 1999.

⁵ DELANO, W. L. The Pymol Molecular Graphics System. San Carlos, CA: Delano Scientific, 2002

Agradecimentos: CAPES; Prof. Dr. Ariel Mariano Silber (USP).

Expressão, purificação e ensaio de cristalização da proteína Urocanato Hidratase de *Trypanosoma cruzi*, visando resolução de estrutura 3D por cristalografia

S. B. Sánchez^a; J. Iulek^a; M. J. Barison^b; R. Melo^b; A. M. Silber^b; M. Silva^c

^aDepartamento de Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Brasil.

^bInstituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

^cInstituto de Ciências, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Brasil.

Os fármacos disponíveis para Doença de Chagas (Nifurtimox e Bezonidazol) são efetivos apenas na fase aguda, apresentam efeitos secundários indesejáveis e limitações sociais devido ao alto custo [1]. Esta enfermidade é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, o qual tem seu metabolismo, em grande parte, baseado no consumo de aminoácidos. Dentre esses aminoácidos, encontra-se o glutamato. A via metabólica que leva à conversão de histidina a glutamato neste organismo vem sendo intensamente estudada [2]. Essa via consta de quatro passos enzimáticos: 1: Conversão de histidina em urocanato (pela histidina amônio liase). 2: Conversão do urocanato em 4-imidazolona-5-propionato (pela urocanato hidratase). 3: Conversão de 4-imidazolona-5-propionato em N-formimino-L-glutamato (pela imidazolona-propionase). 4: Conversão de N-formimino-L-glutamato em formamida e L-glutamato (pela formimidóil-glutamase). Estudos detalhados dessas enzimas podem contribuir com o entendimento do metabolismo de aminoácidos em *T. cruzi*. Assim, o presente trabalho tem como objetivo isolar, purificar e cristalizar a proteína Urocanato Hidratase de *T. cruzi* (TcUH) visando resolução de estrutura 3D por cristalografia para futuramente utilizar as informações estruturais em estudos de triagem virtual de inibidores por Docagem e Dinâmica Molecular. Desta forma, novos inibidores seletivos desta proteína poderão ser encontrados e, a longo prazo, contribuir para a descoberta de novos fármacos para a Doença de Chagas.

Em colaboração com o Prof. Ariel Mariano Silber (ICB-USP), a TcUH foi clonada em vetor pET-24(+), que permite a inserção de uma cauda de 6 histidinas na região C-terminal, e expressa em cepa BL21 *códon plus* de *E.coli*. Para expressão em fração solúvel, utilizou-se 0,5 mM de IPTG à 25 °C durante 16 horas de incubação. A purificação foi realizada por cromatografia de afinidade em coluna de níquel agarose e eluída com 500 mM de imidazol. A eficiência da purificação foi constatada por análise de eletroforese [3]. A proteína purificada foi concentrada à 8 mg/mL em dispositivo Centricon, sendo a dosagem feita pelo método de Bradford.

A proteína concentrada foi utilizada em ensaios preliminares de cristalização realizados pela técnica de difusão de vapor em gota suspensa. Foram realizadas 42 ensaios em variadas condições. Em algumas condições testadas observou-se a formação de precipitados microcristalinos. Recentemente, foram obtidos cristais maiores que aguardam testes para confirmar que sejam de proteína.

O trabalho prossegue no aprimoramento das condições promissoras de cristalização e os cristais obtidos serão submetidos à análise por difração de raios X e, caso sejam de proteína, poderão ser utilizados para coleta de dados para posterior resolução da estrutura tridimensional da proteína alvo.

[1] Pinto Dias, J. C. *Ann. Intern. Med.*, v. **144**, p. 772-774 (2006).

[2] Silber, A. M.; Colli, W. Ulrick, H.; Alves, M. J.; Pereira, C. A. *Curr. Drug. Targets - Infect. Disord.* v. **5**, p.53-64 (2005).

[3] Laemmli, U. K. *Nature*, v. **227**, p. 680-685 (1970)

Agradecimentos: Fundação Araucária-Capes; UEPG e UTFPR.

Crystal structure and mutational analysis of fumarate hydratase from *Leishmania major*Feliciano, P.R.¹, Drennan, C.L.², and Nonato, M.C.¹¹Laboratório de Cristalografia de Proteínas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brazil.²Departments of Chemistry and Biology and the Howard Hughes Medical Institute, Massachusetts Institute of Technology, USA.

Leishmaniases, classified as neglected tropical diseases, are caused by different species of the parasite *Leishmania* and affect 12 million people worldwide. Fumarate hydratase (FH) catalyzes the stereospecific reversible hydration of fumarate to malate. Eukaryotes express two isoforms of FH: the mitochondrial isoform (FH-1), which performs this reaction as part of the TCA cycle and as such is central to aerobic respiration, and the cytosolic isoform (FH-2), which is thought to be involved in the metabolism of fumarate. FH-2 from *Leishmania major* (LmFH-2) has been crystallized by the vapour-diffusion technique using PEG as the precipitant agent. X-ray diffraction data were collected at 24-ID-C beam line of the Advanced Photon Source. The crystal structure of LmFH-2 was solved by single anomalous scattering (SAD) techniques using iron as the anomalous scatter. To our knowledge this is the first crystal structure of class I fumarate hydratase to be reported. LmFH-2, an Fe-S cluster-containing homodimeric protein, had its structure solved in complex with substrates and inhibitors. Structural analysis, kinetic characterization and site-directed mutagenesis of LmFH-2 have provided insights into its catalytic mechanism. The structural characterization of FH from *Leishmania major* will not only significantly contribute to the evaluation of FH as a potential drug target against *Leishmaniases*, but also other trypanosomatid-related diseases such as Chagas' disease and Sleeping sickness.

This work was supported by FAPESP. C.L.D. is a Howard Hughes Medical Investigator.