

VITOR DA CUNHA BAIA

**CÁLCULOS TEÓRICOS COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR PARA A
ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DO NOVO ALCALOIDE PIRROLIZIDÍNICO
ISOLADO DE *Crotalaria paulina***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Elson Santiago de Alvarenga

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

B152c
2023
Baia, Vitor da Cunha, 1992-
Cálculos teóricos como ferramenta complementar para a
elucidação estrutural do novo alcaloide pirrolizidínico isolado de
crotalaria paulina / Vitor da Cunha Baia. – Viçosa, MG, 2023.
1 dissertação eletrônica (71 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Elson Santiago de Alvarenga.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Química, 2023.

Referências bibliográficas: f. 51-56.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.087>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Química computacional. 2. Físico-química. 3. Alcaloide
pirrolizidínico - Identificação. 4. Produtos naturais. 5.
Crotalaria paulina. I. Alvarenga, Elson Santiago de, 1967-.
II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDD 22. ed. 541.0285


VITOR DA CUNHA BAIA

**CÁLCULOS TEÓRICOS COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR PARA A
ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DO NOVO ALCALOIDE PIRROLIZIDÍNICO
ISOLADO DE *Crotalaria paulina***


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de fevereiro de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 VITOR DA CUNHA BAIA
Data: 02/03/2023 11:08:26-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Vitor da Cunha Baia
Autor

Documento assinado digitalmente
 ELSON SANTIAGO DE ALVARENGA
Data: 02/03/2023 14:17:53-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Elson Santiago de Alvarenga
Orientador

À minha família dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Senhor e Rei, Jesus, pela grande salvação e pelo cumprimento desta promessa em minha vida.

Sou grato à minha família pelo apoio nesta jornada. Aos meus pais – José e Ana – e aos meus irmãos – Lidiane e Jaderson – minha gratidão. Não poderia me esquecer de minhas sobrinhas, Sarah e Samira. Obrigado por fazerem parte da minha vida.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Elson Santiago de Alvarenga, excelente profissional, que pacientemente me orientou neste período, compartilhando seus conhecimentos em elucidação estrutural e cálculos teóricos. Além de excelente professor, é um exemplo de pessoa a ser seguido. Sou grato também à sua família pelo carinho e acolhimento. De forma muito especial, agradeço à professora Dra. Maria Regina Araújo Gomes, que me fez amar ainda mais a química orgânica. Sou profundamente grato por seu incentivo nesses anos.

Ao meu coorientador, Dr. Antônio Jacinto Demuner, gratidão pela orientação e correções desta dissertação.

Aos amigos e irmãos da Igreja Cristã Maranata, pelas orações, comunhão e amor demonstrados nesta caminhada. Em especial: Jansen, Débora, Arthur, Yasmin, Jerry, José Carlos, Vanda, Renan e Ana Paula.

Agradeço a equipe da Diretoria de Logística (DLO-UFV), pelo apoio durante minhas ausências da diretoria, em especial ao diretor André Possato, pela autorização deste treinamento.

À minha amiga Isabelle Vasconcelos, companheira inseparável de todas as horas, gratidão pelo carinho, cuidado e fidelidade demonstrado nestes anos.

Agradeço aos amigos do Departamento de Química (DEQ-UFV), Bryan Nickson e Érika Loyola, pelo companheirismo e apoio.

À Cristiane Cerceau e Daiane Blank, pelas excelentes contribuições que tornaram este trabalho melhor.

À professora, amiga e irmã Vânia Leal (COLUNI-UFV), pela agradável presença na defesa da dissertação, bem como pelas orações.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio na realização desta pesquisa.

À Universidade Federal de Viçosa, pela excelência no ensino, pesquisa e extensão.

Por fim, agradeço a você leitor, por dedicar parte do seu tempo para ler este trabalho.

A todos, minha gratidão.

“Não temas, porque não serás envergonhado; e não te envergonhes, porque não serás humilhado; antes te esquecerás da vergonha da tua mocidade, e não te lembrarás mais do opróbrio da tua viuvez”.

(Isaías 54:4)

“Porque com alegria saireis, e em paz sereis guiados; os montes e os outeiros romperão em cântico diante de vós, e todas as árvores do campo baterão palmas”.

(Isaías 55:12)

“Naquele dia se dirá a Jerusalém: Não temas, ó Sião, não se enfraqueçam as tuas mãos. O Senhor teu Deus, o poderoso, está no meio de ti, ele salvará; ele se deleitará em ti com alegria; calar-se-á por seu amor, regozijar-se-á em ti com júbilo”.

(Sofonias 3:16,17)

RESUMO

BAIA, Vitor da Cunha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2023. **Cálculos teóricos como ferramenta complementar para a elucidação estrutural do novo alcaloide pirrolizidínico isolado de *Crotalaria paulina***. Orientador: Elson Santiago de Alvarenga.

A área de produtos naturais tem sido alvo de muitas pesquisas envolvendo isolamento, caracterização e quantificação de substâncias bioativas, com potenciais aplicações na indústria farmacêutica e agroquímica. Um dos desafios encontrados nos estudos de produtos naturais é a identificação estrutural dos compostos orgânicos constituintes, muitas vezes de difícil interpretação pelos métodos espectroscópicos tradicionais. Por isso, existem relatos de estruturas assinaladas erroneamente na literatura e que necessitam de revisão. Embora a ressonância magnética nuclear (RMN) seja uma das ferramentas mais poderosas utilizadas para a elucidação estrutural, ainda existem limitações associadas à purificação da amostra, erros sistemáticos e moléculas complexas que demandam o auxílio de protocolos complementares para a correta identificação. Neste sentido, a química computacional se apresenta como uma ferramenta útil para os químicos orgânicos, permitindo o estudo de parâmetros de RMN através de cálculos teóricos, com obtenção de dados calculados que podem ser comparados com os dados experimentais da molécula estudada. Vários métodos estatísticos são encontrados na literatura para avaliar a qualidade do ajuste dos dados, como o CP3, DP4 e DP4+. Enquanto o método CP3 analisa dois conjuntos de dados experimentais com duas estruturas candidatas, os métodos DP4 e DP4+ analisam um conjunto disponível de dados experimentais com duas ou mais estruturas candidatas, indicando aquela que mais se aproxima dos dados experimentais. Esse trabalho descreve detalhadamente a elucidação estrutural de um novo alcaloide pirrolizidínico (AP) isolado da planta *Crotalaria paulina*, com o auxílio de experimentos de RMN e cálculos teóricos, envolvendo a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) e o método estatístico DP4+. Oito possíveis estereoisômeros para o AP foram avaliados por meio dessas ferramentas, indicando que a etilmetilcrotalina (estrutura candidata 3) é a estrutura correta para esse produto natural.

Palavras-chave: Elucidação estrutural. Produtos naturais. Química computacional. Cálculos teóricos. *Crotalaria paulina*.

ABSTRACT

BAIA, Vitor da Cunha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2023. **Theoretical calculations as a complementary tool for the structural elucidation of the new pyrrolizidine alkaloid isolated from *Crotalaria paulina*.** Adviser: Elson Santiago de Alvarenga.

The area of natural products has been the target of much research involving the isolation, characterization and quantification of bioactive substances, with potential applications in the pharmaceutical and agrochemical industries. One of the challenges encountered in studies of natural products is the structural identification of the constituent organic compounds, often difficult to interpret by traditional spectroscopic methods. Therefore, there are reports of structures that have been wrongly marked in the literature and need revision. Although nuclear magnetic resonance (NMR) is one of the most powerful tools used for structural elucidation, there are still limitations associated with sample purification, systematic errors, and complex molecules that require the help of complementary protocols for correct identification. In this sense, computational chemistry presents itself as a useful tool for organic chemists, allowing the study of NMR parameters through theoretical calculations, obtaining calculated data that can be compared with the experimental data of the studied molecule. Several statistical methods are found in the literature for evaluating the quality of fit of the data, such as CP3, DP4 and DP4+. While the CP3 method analyzes two experimental data sets with two candidate structures, the DP4 and DP4+ methods analyze an available experimental data set with two or more candidate structures, indicating the one that most closely matches the experimental data. This paper describes in detail the structural elucidation of a new pyrrolizidine alkaloid (PA) isolated from the plant *Crotalaria paulina*, with the aid of NMR experiments and theoretical calculations, involving Density Functional Theory (DFT) and the DP4+ statistical method. Eight possible stereoisomers for AP were evaluated using these tools, indicating that ethylmethylcrotaline (candidate structure 3) is the correct structure for this natural product.

Keywords: Structural identification. Natural products. Computational chemistry. Theoretical calculations. *Crotalaria paulina*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estruturas dos compostos recentemente identificados por métodos espectroscópicos assistidos por cálculos teóricos.	17
Figura 2 – Plantação de <i>Crotalaria paulina</i>	29
Figura 3 – Estruturas da morfina, atropina e estricnina	31
Figura 4 – Estrutura química de um alcaloide de pirrolizidina e os tipos de bases necinas existentes	32
Figura 5 – Fluxograma das etapas realizadas para os cálculos teóricos e obtenção dos resultados	35
Figura 6 – Estruturas candidatas propostas para o alcaloide pirrolizidínico	35
Figura 7 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para o composto estudado ..	37
Figura 8 – Mapa de contorno COSY (400 MHz, CDCl_3)	38
Figura 9 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 $\delta_{\text{CDCl}_3} = 77,16$ ppm)	39
Figura 10 – Espectro de RMN de ^{13}C DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3 $\delta_{\text{CDCl}_3} = 77,16$ ppm)	40
Figura 11 – Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl_3)	41
Figura 12 – Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl_3)	42
Figura 13 – Correlações chaves de COSY e HMBC para a estrutura candidata 3 ...	43
Gráfico 1 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 1	45
Gráfico 2 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 2	46
Gráfico 3 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 3	46
Gráfico 4 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 4	47
Gráfico 5 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 5	47
Gráfico 6 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 6	48
Gráfico 7 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 7	48
Gráfico 8 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 8	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Deslocamentos químicos experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC e HMBC para o alcaloide pirrolizidínico estudado	43
Tabela 2 – Resultados das análises DP4+ de RMN de ^{13}C e ^1H para as oito estruturas candidatas	44
Tabela 3 – Dados de RMN experimental e tensores de blindagens calculados para as estruturas candidatas 1-4	57
Tabela 4 – Dados de RMN experimental e tensores de blindagens calculados para as estruturas candidatas 5-8	58
Tabela 5 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 1 otimizada e mais estável	59
Tabela 6 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 2 otimizada e mais estável	60
Tabela 7 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 3 otimizada e mais estável	61
Tabela 8 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 4 otimizada e mais estável	62
Tabela 9 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 5 otimizada e mais estável	63
Tabela 10 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 6 otimizada e mais estável	64
Tabela 11 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 7 otimizada e mais estável	65
Tabela 12 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 8 otimizada e mais estável	66
Tabela 13 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 1	67
Tabela 14 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 2	67
Tabela 15 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 3	68
Tabela 16 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 4	68

Tabela 17 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 5.....	69
Tabela 18 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 6.....	69
Tabela 19 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 7.....	70
Tabela 20 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 8.....	70

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CMAE	Erro Absoluto Médio Corrigido (<i>Corrected Mean Absolute Error</i>)
COSY	Espectroscopia de Correlação (<i>Homonuclear Correlation Spectroscopy</i>)
d	Dupleto
DEPT	Intensificação sem distorção por transferência de polarização com retenção de quaternários (<i>Distortionless enhancement by polarization transfer with retention of quaternaries</i>)
DFT	Teoria do funcional da densidade
DRX	Difração de raio-X
EM	Espectrometria de massas
GGA	Aproximação generalizada de gradientes (<i>Generalized gradient approximation</i>)
GTO	Orbitais do tipo gaussiano (<i>Gaussian-Type Orbitals</i>)
HETCOR	Correlação heteronuclear (<i>Heteronuclear correlation</i>)
HF	Hartree-Fock
HMBC	Correlação heteronuclear a múltiplas ligações (<i>Heteronuclear multiple bond correlation</i>)
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>High-performance liquid chromatography</i>)
HSQC	Correlação heteronuclear de quantum único (<i>Heteronuclear single quantum correlation</i>)
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento escalar
LDA	Aproximação da densidade local (<i>Local density approximation</i>)
m/z	Razão massa/carga
MAE	Erro absoluto médio (<i>Mean Absolute error</i>)
NOESY	Espectroscopia de efeito nuclear overhauser (<i>Nuclear overhauser effect spectroscopy</i>)
PCM	Modelo contínuo polarizável (<i>Polarizable Continuum Model</i>)
ppm	Deslocamento químico em partes por milhão
R^2	Coefficiente de correlação
RMN	Ressonância magnética nuclear

RMSD	Desvio médio quadrático (<i>Root mean square deviation</i>)
STO	Orbitais do tipo Slater (<i>Slater-type orbitals</i>)
TMS	Tetrametilsilano
UV/Vis	Ultravioleta Visível
δ	Deslocamento químico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1. Identificação estrutural de produtos naturais.....	18
2.2. Química computacional e cálculos teóricos: ferramentas complementares na identificação estrutural de produtos naturais.....	20
2.2.1. A contribuição de Schrödinger	22
2.2.2. Os métodos computacionais	23
2.2.3. Os métodos estatísticos	26
2.3. O gênero <i>Crotalaria</i> L.....	29
2.4. Alcaloides pirrolizidínicos (APs)	30
3. OBJETIVOS	32
3.1. Objetivo Geral	32
3.2. Objetivos Específicos.....	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1. Material vegetal.....	33
4.2. Isolamento.....	33
4.3. Métodos de espectroscopia de RMN	34
4.4. Cálculos computacionais.....	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
6. CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICE A.....	57

1. INTRODUÇÃO

Estudos envolvendo produtos naturais têm sido amplamente divulgados pelos centros de pesquisa em todo o mundo, em função de suas aplicações tecnológicas na produção de medicamentos, defensivos agrícolas, alimentos, entre outros. Aliada ao desenvolvimento de técnicas de análises espectroscópicas que possibilitaram o avanço na elucidação estrutural dos compostos orgânicos obtidos de produtos naturais, esta área é promissora e fundamental para a existência humana (ALVARENGA *et al.*, 2019b; PINTO *et al.*, 2002).

Encontrados em plantas, animais e micro-organismos, os produtos naturais vêm sendo utilizados desde os tempos remotos de civilizações antigas (PŘICHYSTAL *et al.*, 2016). Relatos pré-históricos apontaram a utilização de plantas pelo ser humano no tratamento de doenças. Há registros históricos e arqueológicos do uso de corantes naturais pelos antigos egípcios, fenícios, gregos e romanos (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). O conhecimento, ainda que primitivo em sua época, do uso desses produtos, foi primordial para o avanço e desenvolvimento da ciência ao longo dos séculos, culminando com o amadurecimento da química de produtos naturais (ALMEIDA JUNIOR, 2021).

Dentre os diversos produtos naturais, os alcaloides pirrolizidínicos (APs) têm se destacado por serem uma classe de metabólitos secundários presentes em muitas plantas e responsáveis pela proteção contra ação de patógenos e pragas. Possuem estrutura básica composta por dois anéis de cinco membros unidos por um átomo de nitrogênio, podendo ter cadeia carbônica saturada ou insaturada e ser encontrados na forma de monoéster ou diéster (bislactona) (OLIVEIRA, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Esses compostos possuem propriedades hepatotóxicas, pneumotóxicas, carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas, sendo, portanto, nocivas ao ser humano e animais (JOOSTEN; VAN VEEN, 2011). São encontrados em uma grande variedade de espécies de plantas, como as do gênero *Senecio*, *Heliotropium* e *Crotalaria* (SANDINI; UDO; SPINOSA, 2013). Na agricultura, espécies de *Crotalaria* têm sido utilizadas na adubação verde, como planta forrageira e no controle de nematoides (MERTZ *et al.*, 2021; THODEN; BOPPRÉ, 2010).

Além disso, possuem potencial aplicação na indústria farmacêutica, pois muitos princípios ativos de medicamentos têm sido obtidos desta fonte. Outras aplicações incluem o isolamento de agroquímicos naturais para a agricultura, desenvolvimento de produtos cosméticos e alimentícios (COSTA *et al.*, 2021a; PINTO *et al.*, 2002).

No Brasil, a química de produtos naturais encontrou progresso nas últimas décadas, em virtude da grande biodiversidade disponível no país e do êxito em trabalhos de pesquisadores empenhados no desenvolvimento desta ciência. Mais recentemente, a área de produtos naturais encontrou uma nova aliada: a química computacional, possibilitando maior rapidez na identificação estrutural e estudos de propriedades moleculares (BERLINCK *et al.*, 2017).

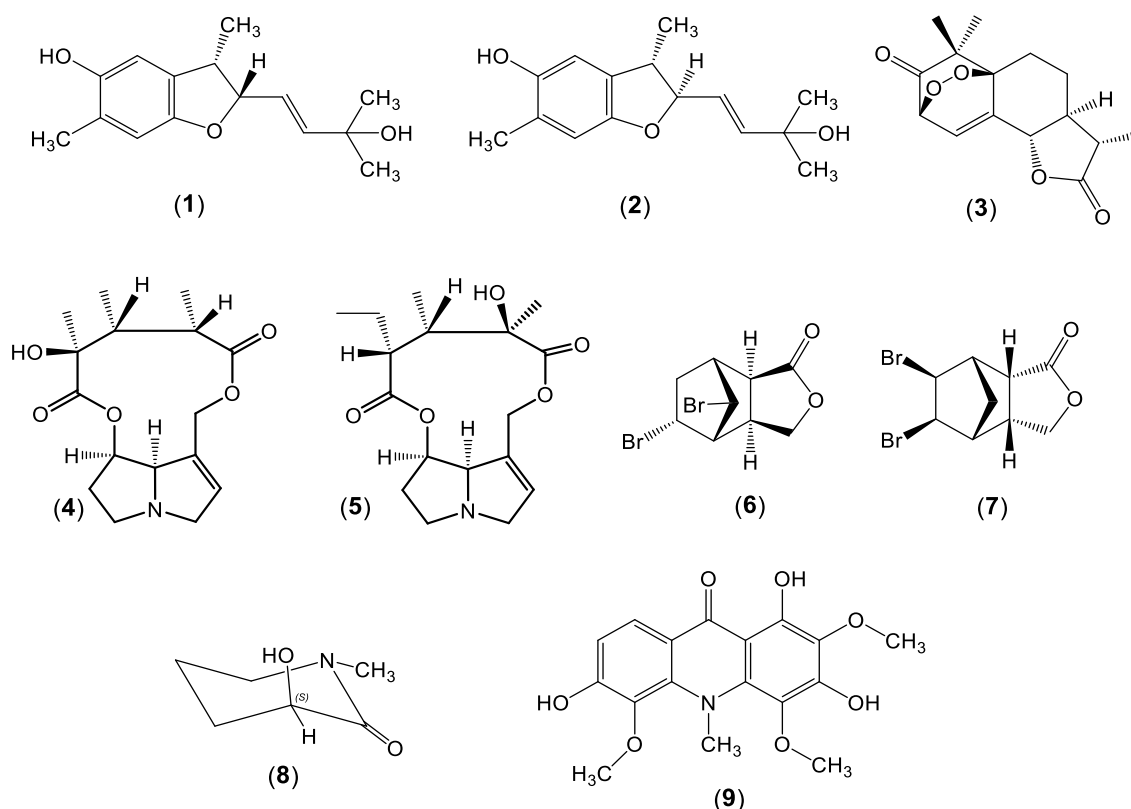
Uma parte importante dos estudos em produtos naturais é a identificação estrutural dos compostos orgânicos constituintes, realizada por métodos espectroscópicos, como o Ultravioleta-Visível (UV), Infravermelho (IV), Raman e Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A RMN é uma das ferramentas mais poderosas para a determinação estrutural de compostos orgânicos (TEIXEIRA; ALVARENGA, 2016), porém muitas estruturas orgânicas de produtos naturais são complexas e de difícil interpretação, necessitando de ferramentas complementares que auxiliem na proposição de estruturas corretas a partir das técnicas espectroscópicas (PINTO *et al.*, 2022a). Essas ferramentas envolvem o uso de programas computacionais e cálculos teóricos baseados em mecânica quântica (ALVARENGA *et al.*, 2019a).

Cálculos teóricos de deslocamento de RMN têm sido utilizados para determinar e/ou confirmar a estereoquímica de estruturas de produtos naturais, muitas vezes assinaladas erroneamente na literatura (TEIXEIRA; ALVARENGA, 2016). Vários métodos de cálculo estão disponíveis, destacando-se aqueles baseados na Teoria do Funcional da Densidade (DFT), apresentando excelentes resultados (ERMANIS *et al.*, 2019; MARCARINO *et al.*, 2020). A predição computacional de RMN fornece valores de deslocamentos químicos que são comparados com os valores experimentais através de métodos estatísticos. Assim é possível definir o conjunto de dados de deslocamento químico calculado que melhor se ajusta aos dados experimentais (ZANARDI; SAROTTI, 2021).

Existem diversos trabalhos publicados envolvendo cálculos teóricos na elucidação estrutural, como os estudos das estruturas químicas dos *Helianuolis* G e H, que confirmaram inequivocamente a estereoquímica desses produtos naturais

(MARTORANO *et al.*, 2021). Publicações recentes do grupo de pesquisa do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV) também têm obtido sucesso no isolamento de produtos naturais e identificação estrutural assistida por cálculos teóricos, especificamente novos alcaloides pirrolizidínicos isolados de *Crotalaria retusa* L (PINTO *et al.*, 2022a), *Crotalaria paulina* (OLIVEIRA *et al.*, 2018) e *Conchocarpus mastigophorus* (PINTO *et al.*, 2022b). Também foram elucidadas as moléculas sintéticas isobenzofuranonas (TEIXEIRA; ALVARENGA, 2016) e lactonas sesquiterpênicas (MARTINS *et al.*, 2022). A Figura 1 apresenta as estruturas desses compostos.

Figura 1 – Estruturas dos compostos recentemente identificados por métodos espectroscópicos assistidos por cálculos teóricos. *Helianuolis* G (1) e H (2), lactona sesquiterpênica (3), alcaloides de pirrolizidina isolados de *Crotalaria retusa* L. (4) e *Crotalaria paulina* (5), isobenzofuranonas (6-7) e *Conchocarpus mastigophorus* (8-9).



Fonte: o autor.

Considerando a importância dos produtos naturais como inspiração para a descoberta de fármacos e agroquímicos, e a necessidade de realizar a correta elucidação estrutural, é que foi proposto este trabalho. Os métodos espectroscópicos são ferramentas indispensáveis para dar conta da estrutura de um produto natural, sendo a

espectroscopia de ressonância magnética nuclear a mais robusta na identificação da estereoquímica relativa. Neste trabalho, descrevemos o isolamento e a elucidação estrutural de um novo alcaloide pirrolizidínico extraído de *Crotalaria paulina*. A estrutura deste novo alcaloide foi determinada pela interpretação dos métodos espectroscópicos; e cálculos teóricos foram realizados para auxiliar na elucidação da estereoquímica relativa.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Identificação estrutural de produtos naturais

A química é uma ciência belíssima! Reconhecida como a ciência central, a química se conecta com outras áreas das ciências da natureza, incluindo a biologia, física, geologia e astronomia. Também faz parte das chamadas ciências exatas, assim como a física e a matemática, possuindo valor inestimável para a humanidade. Dentro desta vasta ciência, encontramos a área da química dos produtos naturais, que está intimamente relacionada à química dos compostos do carbono, a química orgânica (ALMEIDA JUNIOR, 2021).

Pesquisadores desta área estão comprometidos com o isolamento, quantificação e identificação estrutural de substâncias naturais produzidas através do metabolismo de plantas, animais e microrganismos. A identificação ou elucidação estrutural – uma etapa importante para os químicos de produtos naturais – é realizada com o auxílio de métodos espectroscópicos. A espectroscopia se baseia na interação da radiação eletromagnética com a matéria. Ao submeter a matéria a um determinado tipo de radiação, as interações envolvidas promovem mudanças na frequência e amplitude desta radiação, que pode ser quantizada e convertida em gráficos chamados espectros de absorção. Como a absorção da radiação é diferente para cada substância, cada espectro fornecerá informações que possibilitarão ao pesquisador identificar alguns detalhes da substância em estudo (DIEGUEZ *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2018; PINTO; TEIXEIRA; ALVARENGA, 2020).

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma das técnicas espectroscópicas mais importantes para a química orgânica, pois fornece informações específicas sobre a estrutura de um composto. Por meio da RMN é possível identificar o

“esqueleto” carbono-hidrogênio presente na molécula e assim propor sua estrutura. Também considerada espectroscopia de absorção, a RMN fundamenta-se na absorção da radiação eletromagnética na região das ondas de rádio, onde a frequência de absorção é função do campo magnético aplicado à amostra em análise (CASABIANCA, 2020; NASCIMENTO, 2016).

O fenômeno de RMN foi inicialmente descrito e publicado em 1946 por dois grupos de pesquisadores independentes. Um grupo da Universidade de Harvard, formado pelos físicos Purcell, Torrey e Pound; e outro da Universidade de Stanford, formado pelos físicos Bloch, Hansen e Packard. Em menos de dez anos após a sua descoberta, o primeiro espectrômetro de RMN de alta resolução para núcleos de ^1H já estava em uso e era utilizado para a solução de problemas químicos (ABRAGAM, 1961; SLICHTER, 1990).

Na RMN, uma amostra contendo núcleos de hidrogênio (^1H) e carbono (^{13}C), quando submetida a um campo magnético, pode absorver radiação na região da radiofrequência (rf). Na presença do campo magnético, o núcleo muda de direção sobre o próprio eixo de rotação com frequência proporcional ao campo magnético aplicado. Esse fenômeno chamado precessão, é similar ao de um pião cambaleando, e gera um campo elétrico oscilatório de mesma frequência. Se as ondas de radiofrequência dessa frequência forem fornecidas ao núcleo precessando, poderá haver absorção de energia, situação em que o núcleo entra em ressonância com a onda eletromagnética incidente. Daí vem o nome Ressonância Magnética Nuclear (CASABIANCA, 2020; OLIVEIRA, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2017; PINTO *et al.*, 2022a; SILVA, 2019).

Uma das vantagens do uso da RMN está no fato de essa técnica ser não-invasiva e não-destrutiva, preservando a amostra de alterações químicas e físicas, garantindo sua integridade. Outra vantagem está no tempo de análise, com obtenção de resultados mais rápidos em espectrômetros modernos (DIEGUEZ *et al.*, 2018; NASCIMENTO, 2016).

Além da RMN, existem outras técnicas analíticas para elucidação estrutural envolvendo espectroscopia, como a absorção no ultravioleta-visível (UV/Vis), infravermelho (IV), difração de raios-X (DRX) e espectrometria de massas (EM). Apesar dessas técnicas terem contribuído significativamente para o avanço das pesquisas em produtos naturais, existem casos em que a identificação estrutural apenas por meio delas apresentam limitações (SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2014).

Devido à complexidade de muitas estruturas orgânicas e problemas relacionados ao isolamento e purificação dos produtos naturais, fica difícil estabelecer, inequivocamente, a estrutura e estereoquímica correta do composto orgânico. Nesses casos, a química computacional e suas ferramentas envolvendo cálculos teóricos têm sido uma grande aliada dos químicos (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

2.2. Química computacional e cálculos teóricos: ferramentas complementares na identificação estrutural de produtos naturais

Nas últimas décadas, o mundo tem presenciado o avanço das tecnologias da informação (TI), uma área que utiliza a computação para produzir, transmitir, armazenar, acessar e usar diversos tipos de informações. Atualmente, estar distante da tecnologia é quase impossível, pois muitas atividades do cotidiano dependem da internet e de equipamentos eletrônicos. Na química, a computação desempenha papel importante para o estudo de átomos e moléculas, por meio da modelagem molecular, fazendo previsões sobre sistemas moleculares (sólidos, líquidos, gases, plasmas, interfaces e organismos biológicos) e cálculos de propriedades de moléculas reais ou ainda não sintetizadas. Essas duas áreas (química e computação) formam a chamada química computacional (PAULO; RODRIGUES; CARIDADE, 2022).

Muitos químicos orgânicos têm utilizado a química computacional para realizar cálculos teóricos para a identificação de compostos. Os cálculos teóricos de deslocamento químico de RMN exigem inerentemente duas etapas fundamentais. A primeira é um cálculo de otimização de geometria que produz um conjunto de coordenadas nucleares correspondentes a um mínimo na superfície de energia potencial. A segunda etapa é a determinação das próprias constantes de blindagem de RMN, que podem ser convertidas para deslocamentos químicos (BACHRACH, 2014; JENSEN, 2007). Cada um desses cálculos é realizado utilizando um método computacional específico e um conjunto de bases (alguns métodos serão tratados adiante, no tópico 2.2.2).

Os cálculos são realizados através de programas computacionais desenvolvidos para este fim e disponíveis para diversos sistemas operacionais. O avanço da tecnologia e a fabricação de processadores computacionais mais robustos propiciaram maior velocidade na obtenção dos resultados e interpretação dos cálculos.

Softwares como o Gaussian, Spartan, ACD/Labs, ChemBioDraw, Chemcraft, Avogadro, MestreNova e Origin estão disponíveis para pesquisadores e recebem atualizações recorrentes (ALVES, 2010; CARVALHO, 2018; JENSEN, 2007).

Na última década, cerca de 200 artigos científicos relatando identificação de produtos naturais e sintéticos foram publicados (COSTA *et al.*, 2021). Destacam-se Oliveira e colaboradores (2018), que isolaram novos alcaloides pirrolizidínicos de *Crotalaria paulina* e confirmaram a estereoquímica das moléculas através de cálculos DFT. Teixeira e Alvarenga (2016) realizaram identificação estrutural mais precisa de isobenzofuranonas através da comparação de deslocamentos químicos experimentais e teóricos. Recentemente, Pinto e colaboradores (2022a) também obtiveram resultados confiáveis na elucidação estrutural de alcaloides isolados de plantas, utilizando ferramentas de química computacional.

Muitas estruturas orgânicas relatadas na literatura estão sendo revistas e corrigidas com o auxílio dessas ferramentas, favorecendo ainda mais a área de produtos naturais. Por meio de cálculos teóricos de parâmetros de RMN, Martorano e colaboradores (2021) contribuíram para a confirmação da elucidação estrutural de derivados de Helianuol, uma classe de sesquiterpenos isolados de esponjas marinhas e estudados inicialmente por Morimoto e colaboradores (2006).

Nas pesquisas citadas, os cálculos teóricos foram acompanhados de análises estatísticas para comparação dos dados experimentais com os dados calculados. Elas fornecem resultados confiáveis sobre quais deslocamentos químicos de RMN calculados mais se ajustam aos deslocamentos químicos de RMN experimentais (MARCARINO *et al.*, 2022).

O estudo de moléculas envolvendo química computacional pode ser feito por meio de duas abordagens distintas: a mecânica molecular, que utiliza as leis da física clássica para prever as propriedades moleculares, e a teoria da estrutura eletrônica proposta pela mecânica quântica. A partir da década de 1990, devido à evolução dos computadores, os métodos envolvendo cálculos teóricos baseados em mecânica quântica tiveram sua popularização entre os químicos (ALCACER, 2019; PAULO; RODRIGUES; CARIDADE, 2022; RICHARDS; COOPER, 1983). Antes de adentrarmos no assunto dos métodos computacionais, precisamos lembrar sobre a contribuição de Schrödinger para a mecânica quântica.

2.2.1. A contribuição de Schrödinger

Com o surgimento da mecânica quântica no século XX, cientistas começaram a desenvolver métodos matemáticos para estudar propriedades da matéria e solucionar problemas não desvendados pela mecânica clássica. Pesquisadores como Planck, Einstein, Bohr, Schrödinger, Heisenberg, Dirac, entre outros, apresentaram contribuições notáveis no desenvolvimento do novo tipo de mecânica, em resposta às indagações relacionadas à dualidade onda-partícula da matéria e energia (LEWARS, 2011).

A descrição proposta por Schrödinger, em meados da década de 1920, é a mais conhecida dos químicos e envolve a aplicação de uma equação para explicar a dinâmica dos sistemas eletrônicos (Equação 1). A solução desta equação conduz a um conjunto de funções de onda que descrevem o átomo ou molécula (BACHRACH, 2014; BARBOSA, 2018).

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

Na Equação 1, Ψ é a função de onda, E é a energia do sistema associada a esta função, e o termo \hat{H} refere-se ao operador Hamiltoniano, a partir do qual se obtém informações sobre a energia total do sistema. Desta maneira, um sistema molecular arbitrário constituído por N núcleos representados por letras maiúsculas, e n elétrons representados por letras minúsculas, sua descrição completa não relativística é dada pela Equação 2:

$$\hat{H} = \hat{T}_N + \hat{T}_E + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{NN} \quad (\text{Eq. 2})$$

Esta equação demonstra que \hat{T}_N é o operador de energia cinética dos núcleos, \hat{T}_E é o operador de energia cinética dos elétrons, e os termos \hat{V}_{Ne} , \hat{V}_{ee} e \hat{V}_{NN} são os operadores de energia potencial de atração núcleo-elétron, repulsão elétron-elétron e repulsão núcleo-núcleo, respectivamente.

Considerando que em um sistema molecular polieletrônico os elétrons e núcleos possuem velocidades diferentes, admite-se que o operador Hamiltoniano possa ser separado em uma parte eletrônica e outra nuclear. Como o núcleo (mais pesado

em termos de massa) de um átomo possui velocidade menor que o de um elétron (mais leve), logo admite-se que os elétrons respondem instantaneamente a qualquer modificação da geometria molecular. Este conceito é conhecido como a aproximação de Born-Oppenheimer, que separa o movimento nuclear do movimento eletrônico (LEVINE, 2014). O Hamiltoniano eletrônico, \hat{H}_{el} , passa a apresentar a seguinte forma (Equação 3):

$$\hat{H}_{el}\Psi_{el} = E_{el}\Psi_{el} \text{ (Eq. 3)}$$

Nesta equação, a função de onda eletrônica é representada por Ψ_{el} , e a energia eletrônica por E_{el} . A solução da equação eletrônica é obtida utilizando-se uma aproximação para a interação entre os n elétrons do sistema.

A função de onda eletrônica de uma molécula poliatômica depende de vários parâmetros como distâncias de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedros de rotação sobre ligações simples (esses ângulos definem a conformação molecular). Um tratamento teórico completo de uma molécula poliatômica envolve o cálculo da função de onda eletrônica para um intervalo de cada um desses parâmetros. As distâncias de ligação de equilíbrio, ângulos de ligação e ângulos diedros são então encontrados como aqueles valores que minimizam a energia eletrônica, incluindo a repulsão nuclear (LEVINE, 2014).

A proposta de Schrödinger revolucionou o estudo da matéria e energia, porém trouxe um dilema: sua equação somente pode ser resolvida de forma exata para sistemas monoelétrônicos ou átomos hidrogenoides, uma vez que para cada n partículas, são necessárias $3n$ coordenadas para a solução da equação. Com o passar dos anos, vários cientistas desenvolveram métodos para tentar resolver a equação de Schrödinger para sistemas maiores. Esses métodos usam aproximações para resolverem a equação, oferecendo ótimos resultados para aplicações práticas (ALCACER, 2019).

2.2.2. Os métodos computacionais

Existem várias abordagens para calcular as propriedades moleculares e resolver de forma mais simplificada a equação de Schrödinger. Trataremos a seguir,

brevemente, sobre os principais métodos utilizados em química orgânica computacional, como os métodos *ab initio*, semiempíricos e teoria do funcional da densidade (DFT). Esses métodos fornecem ótimos resultados para uma grande variedade de moléculas (SILVA, 2019).

Os **métodos *ab initio*** (expressão latina que significa: *desde o início* ou *desde o começo*) não requerem informações experimentais sobre o sistema molecular que está sendo considerado, mas aplicam várias aproximações matemáticas para resolver a equação de Schrödinger, através do uso de funções de onda para descrever orbitais atômicos para o cálculo de propriedades moleculares (LATOURE, 2017). Dentro desses métodos, encontramos um que é muito utilizado para o cálculo de propriedades moleculares, o método **Hartree-Fock (HF)**. É utilizado nos casos em que a equação descrita pela aproximação de Born-Oppenheimer (citada no tópico anterior) torna-se limitada devido às interações entre elétrons do termo \hat{V}_{ee} . Este método consiste em uma função de onda HF descrita como um produto antissimetrizado, que é requisito do princípio de exclusão de Pauli, e apresenta um termo referente a spin-orbitais u_i , onde cada spin-orbital corresponde ao produto de uma função espacial φ_i , e uma função de spin α_i ou β_i (Equação 4).

$$u_i = \varphi_i\alpha_i \text{ ou } u_i = \varphi_i\beta_i \text{ (Eq. 4)}$$

Neste método, cada elétron é representado por uma função de onda que possui dependência apenas nas coordenadas daquele elétron. A interação entre um determinado elétron e os $n-1$ elétrons restantes é substituída pela interação deste elétron com o campo médio gerado pelos demais elétrons. É obtido um certo conjunto de equações já estabelecidas como equações de Hartree-Fock, aplicando-se o princípio variacional sobre a função proposta e minimizando-se a energia E do sistema com relação aos spin-orbitais (LEVINE, 2014; LEWARS, 2011).

O princípio variacional afirma que qualquer função de onda construída como uma combinação linear de funções terá sua energia maior ou igual a energia fundamental do sistema. Para a realização desse tipo de cálculo é necessário escolher as funções de base, que podem ser definidas como o conjunto de funções matemáticas utilizadas para descrever os orbitais de um sistema. Podem ser de dois tipos: Orbitais do tipo Slater (STO, do inglês *Slater-Type Orbitals*) e orbitais do tipo Gaussiano (GTO,

do inglês *Gaussian-Type Orbitals*). Os orbitais STO são úteis para cálculos envolvendo átomos com orbitais atômicos mais simples, como o átomo de hidrogênio. Para átomos mais complexos, os orbitais GTO são os mais indicados, pois podem ser combinados para a realização dos cálculos e com baixos custos computacionais (LEVINE, 2014).

Um conjunto de funções de base é definido como conjuntos de bases, que devem ser escolhidos de acordo com o tipo de estrutura molecular trabalhada. Exemplos de conjuntos de bases são 6-31G (utilização geral), 6-31G(2df, 2p) (utilização em sistemas cíclicos muito tensionados) e 6-31+G (utilização em moléculas com pares de elétrons não ligantes ou ânions). O uso adequado de conjuntos de bases é um requerimento essencial para o êxito do cálculo.

O **método semiempírico** também utiliza aproximações para resolver a equação de Schrödinger, porém o faz considerando apenas informações sobre os elétrons de valência do sistema, reduzindo substancialmente o custo computacional dos cálculos. Seus resultados são menos confiáveis e retornam menos dados referentes às propriedades físico-químicas do sistema estudado.

O **método Teoria do Funcional da Densidade** (DFT, do inglês *Density Functional Theory*) determina propriedades a partir de cálculos baseados na densidade eletrônica do sistema molecular. A grande vantagem desse método é que a densidade eletrônica é uma variável que depende apenas das coordenadas do espaço (x, y, z) do sistema. É muito utilizada nas áreas da química orgânica e química dos produtos naturais, pois oferece um bom equilíbrio entre o custo operacional e a exatidão nos resultados. A DFT é fundamentada no teorema provado por Hohenberg e Kohn, o qual diz que a energia E_0 e todas as propriedades do estado fundamental de um sistema, ficam determinadas apenas pela densidade eletrônica do estado fundamental ρ (Equação 5):

$$E_0 = E_0(\rho) \quad (\text{Eq. 5})$$

Diferentemente dos métodos *ab initio* e semiempírico, o método DFT não tenta calcular a função de onda molecular, e sim a densidade eletrônica do sistema. Ressalta-se que a função de onda de um sistema de n elétrons contém $3n$ coordenadas, ou seja, um número de coordenadas proporcional ao número de elétrons. Já a

densidade eletrônica é dada pelo quadrado da função de onda integrada sobre $n-1$ elétrons, e depende de somente 3 coordenadas (x, y, z), independentemente do tamanho do sistema. Essa simplificação torna os cálculos viáveis para sistemas maiores e complexos, refletindo nos custos computacionais (BACHRACH, 2014).

Em 1965, os trabalhos conjuntos de Kohn e Sham forneceram uma grande contribuição para a teoria DFT, quando propuseram que o funcional da densidade eletrônica poderia ser expresso como a equação 6:

$$E[\rho] = T_e[\rho] + V_{ne}[\rho] + V_{ee}[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (\text{Eq. 6})$$

Nessa equação, T_e é a energia cinética dos elétrons não interagentes, V_{ne} é a atração entre núcleos e elétrons, V_{ee} é a repulsão entre elétrons e E_{xc} exemplifica o funcional de troca-correlação, que inclui os termos de interação não clássicos (correlação e troca) e mais a parte residual de energia cinética. Os termos T_e , V_{ne} e V_{ee} podem ser calculados exatamente. Já o termo E_{xc} não pode ser calculado de forma exata, sendo necessário o uso de funcionais, que são aproximações desenvolvidas para substituir esse termo (KOHN; SHAM, 1965).

A aproximação mais simples para a E_{xc} é a aproximação de densidade local (LDA, do inglês *Local Density Approximation*), proposta por Kohn e Sham. Outra aproximação é a generalizada de gradientes (GGA, do inglês *Generalized Gradient Approximation*). Becke foi quem desenvolveu o primeiro funcional de troca GGA a ser amplamente utilizado e é geralmente denominado como "B". Lee, Yan e Parr desenvolveram o funcional de correlação "LYP". Essas duas propostas deram origem ao funcional B3LYP, um dos mais conhecidos e utilizados na química orgânica computacional (BECKE, 1993a, 1993b). Outros funcionais existentes incluem o M06-2X, mPW1PW91, CAM e FT97.

2.2.3. Os métodos estatísticos

Para fins de elucidação estrutural de compostos orgânicos, apenas o uso dos métodos computacionais descritos no tópico anterior não é suficiente para afirmar se a metodologia escolhida foi aplicada corretamente para a estrutura da molécula estudada. Com os resultados dos cálculos nas mãos, ou melhor, com os resultados dos

cálculos disponíveis na tela do computador, são necessários o tratamento e a interpretação desses dados. Para isso, existem métodos ou parâmetros estatísticos, cujo objetivo consiste em avaliar a qualidade do ajuste dos dados calculados e experimentais. Muitos métodos simples foram desenvolvidos, como o MAE, CMAE e RMSD; e outros mais complexos como o CP3, DP4, DP4+ e ANN-PRA têm sido amplamente utilizados na elucidação estrutural de produtos naturais complexos (ERMANIS *et al.*, 2016, 2019).

O **erro absoluto médio** (MAE, do inglês *Mean Absolute Error*), é um método de simples correlação que representa o desvio médio entre os valores de deslocamentos químicos calculados (δ_{calc}) e experimentais (δ_{exp}), obtido através da média aritmética do somatório do valor absoluto da diferença entre os deslocamentos químicos calculados e experimentais, conforme equação 7:

$$MAE = \frac{\sum_n |\delta_{\text{calc}} - \delta_{\text{exp}}|}{n} \quad (\text{Eq. 7})$$

O **erro absoluto médio corrigido** (CMAE, do inglês *Corrected Mean Absolute Error*) é similar à equação do MAE, porém utiliza os valores de deslocamentos químicos calculados escalonados (δ_{esc}). Os valores escalonados são obtidos por meio de fatores de escalonamento e visam reduzir possíveis erros sistemáticos dos deslocamentos calculados. A equação do CMAE é expressa por:

$$CMAE = \frac{\sum_n |\delta_{\text{esc}} - \delta_{\text{exp}}|}{n} \quad (\text{Eq. 8})$$

O **desvio médio quadrático** (RMSD, do inglês *Root Mean Square Deviation*) utiliza a raiz quadrada da média aritmética do somatório do valor absoluto da diferença entre os deslocamentos químicos calculados e experimentais elevados ao quadrado, conforme equação 9:

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_n |\delta_{\text{esc}} - \delta_{\text{exp}}|^2}{n}} \quad (\text{Eq. 9})$$

O método estatístico denominado **CP3** foi desenvolvido por Smith e Goodman (2009) e propõe a comparação de dois conjuntos de dados experimentais com duas

estruturas candidatas, indicando a correlação do conjunto de dados com a estrutura candidata correspondente (SMITH; GOODMAN, 2009).

Smith e Goodman (2010) também desenvolveram o método **DP4**, que compara um conjunto disponível de dados experimentais com duas ou mais estruturas candidatas, indicando aquela que mais se aproxima dos dados experimentais (SMITH; GOODMAN, 2010). Esses métodos estatísticos podem ser encontrados no sítio eletrônico do grupo de pesquisa de Smith e Goodman, mantido pela Universidade de Cambridge (<https://www-jmg.ch.cam.ac.uk/tools/nmr/>).

O **DP4+** é o método DP4 modificado por Grimblat e colaboradores (2015), que propuseram uma alteração na formulação estatística de Smith e Goodman, obtendo resultados precisos e confiáveis (GRIMBLAT; ZANARDI; SAROTTI, 2015). Nesse método a probabilidade do candidato x é definida por $P(x)$, que é função das probabilidades utilizando os deslocamentos químicos (δ) escalonados e calculados (não escalonados), conforme equação 7:

$$P(x) = f[P(x)_s; P(x)_u] \quad (\text{Eq. 7})$$

O DP4+ foi construído com 16 parâmetros estatísticos [μ (média), σ (desvio padrão), e v (graus de liberdade)], que dependem do nível de teoria utilizado sendo oito para as distribuições de ^{13}C (v_{scal} , σ_{scal} , $v_{u\text{-sp}^2}$, $\mu_{u\text{-sp}^2}$, $\sigma_{u\text{-sp}^2}$, $v_{u\text{-sp}^3}$, $\mu_{u\text{-sp}^3}$ e $\sigma_{u\text{-sp}^3}$) seguido por oito parâmetros correspondentes para o ^1H . Os autores utilizaram diferentes níveis de teoria no desenvolvimento do DP4+. O nível B3LYP/6-31G(d) foi usado para a otimização da geometria. Para os cálculos de RMN foram usados 24 níveis diferentes de teoria, combinando dois funcionais (B3LYP e mPW1PW91) e seis conjuntos de base [6-31G(d), 6-31G(d, p), 6-31+G(d,p), 6-311G(d), 6-311G(d, p) e 6-311+G(d, p)] com cálculos em fase gasosa ou em solução (PCM e clorofórmio) (GRIMBLAT; ZANARDI; SAROTTI, 2015). Este método está disponível para uso através de uma planilha no formato Excel, no sítio eletrônico mantido pelos desenvolvedores (<https://sarotti-nmr.weebly.com>).

Outro método estatístico é o **ANN-PRA**, baseado em rede neural artificial, que compara um conjunto de dados experimentais a uma estrutura candidata, usando um conjunto de diferentes parâmetros estatísticos (MAD, RMSD, erro máximo, inclinação,

interceptação e R^2 , entre outros) obtido a partir da correlação entre dados experimentais e calculados de RMN de ^{13}C para a estrutura estudada (SAROTTI, 2013).

2.3. O gênero *Crotalaria* L.

O gênero *Crotalaria* pertence à família de plantas Fabaceae, com aproximadamente 700 espécies distribuídas geograficamente em regiões de climas tropicais e subtropicais dos dois hemisférios. São encontradas na Índia, África e América do Sul (MULI *et al.*, 2022). No Brasil, este gênero possui mais de 30 espécies descritas, conhecidas popularmente como “xique-xique”, cascaveleiro ou “guizo de cascavel”, devido ao som produzido quando as vagens secas dessa planta são sacudidas, à semelhança do som do chocalho da serpente. Aliás, o próprio termo “*Crotalaria*” advém do nome científico da cascavel (*Crotalus sp.*) (RECH *et al.*, 2022; SILVA-LOPEZ; PACHECO, 2010).

As características morfológicas deste gênero revelam plantas anuais, eretas, de porte herbáceo ou arbustivo, folhas simples ou unifolioladas, lanceoladas a obovadas, e flores predominantemente amarelas, às vezes estriadas em vermelho, vistosas, apresentando cálice maior que a corola. Possuem odor atraente e alta concentração de néctar e pólen, características adequadas para ação de polinizadores (MEAGHER JR. *et al.*, 2019; OLIVEIRA, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018; RECH *et al.*, 2022). A Figura 2 exibe uma representante do gênero *Crotalaria* L., a *Crotalaria paulina*.

Figura 2 – Plantação de *Crotalaria paulina* (Campo experimental da Universidade Federal de Viçosa)



Fonte: o autor.

As espécies deste gênero podem ser encontradas em diferentes condições ambientais, próximas a rios, morros litorâneos, orlas de florestas, campos e cerrados. Algumas espécies são tóxicas devido à presença de alcaloides pirrolizidínicos (descritos no próximo tópico), metabólitos secundários responsáveis pela defesa dessas plantas. Possuem aplicações na agricultura como planta forrageira e adubo orgânico; e na produção de fibras para confecção de papel (BEETLE, 1952; PEÑALOZA; PE-LÁEZ J., 2009). Estudos recentes têm demonstrado atividade antimicrobiana e no combate a nematoides em plantações (GARCIA *et al.*, 2013; OLIVEIRA, 2017).

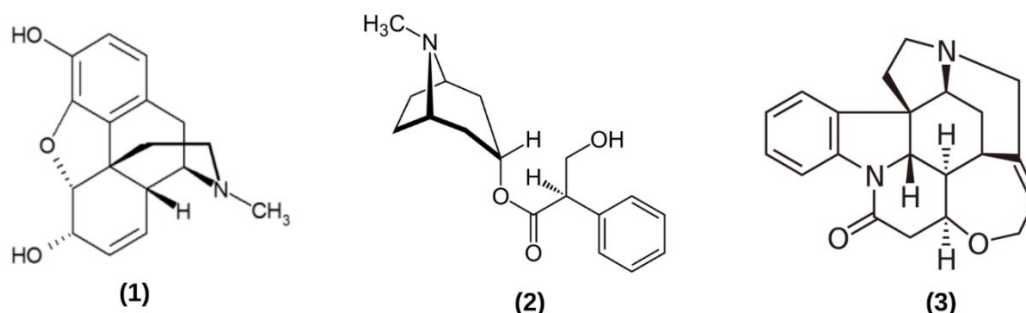
O isolamento e estudo dos produtos naturais obtidos de várias espécies deste gênero tem demonstrado grande potencial farmacológico. Existem relatos de uso das espécies *Crotalaria retusa* L. e *Crotalaria caudata*, em regiões da Tailândia, no tratamento de infecções oculares, doenças de pele e gonorreia (MAREGESI *et al.*, 2007).

2.4. Alcaloides pirrolizidínicos (APs)

Os alcaloides são compostos orgânicos de ocorrência natural assim como os carboidratos, proteínas, lipídios, aminoácidos, antocianinas, flavonoides e esteroides. Contém em sua estrutura átomos de nitrogênio situados em anéis (cíclicos), responsáveis pelo caráter alcalino desses compostos (PINTO *et al.*, 2022a). São produzidos através do metabolismo de plantas e microrganismos, desempenhando importante papel na defesa desses seres vivos. Possuem propriedades anti-inflamatórias, anticancerígenas, analgésicas, anestésicas, antifúngicas e antimicrobianas, despertando o interesse de centros de pesquisa e desenvolvimento (KUREK, 2019).

Exemplos de alcaloides incluem a morfina, estriçnina, atropina (Figura 3), cafeína e nicotina. A morfina foi o primeiro alcaloide isolado a partir da resina da planta papoula do ópio (*Papaver somniferum*), por volta de 1805. Esse alcaloide com efeito analgésico e anestésico foi amplamente utilizado por soldados nas grandes guerras (HAMILTON; BASKETT, 2000). A estriçnina é um alcaloide tóxico usado em formulações de pesticidas, geralmente para controle de roedores; a atropina possui aplicação na oftalmologia, utilizada no tratamento de miopia (BULCAO *et al.*, 2010; CHIA; LU; TAN, 2016; LI *et al.*, 2021).

Figura 3 – Estruturas da morfina (1), atropina (2) e estricnina (3)



Fonte: o autor

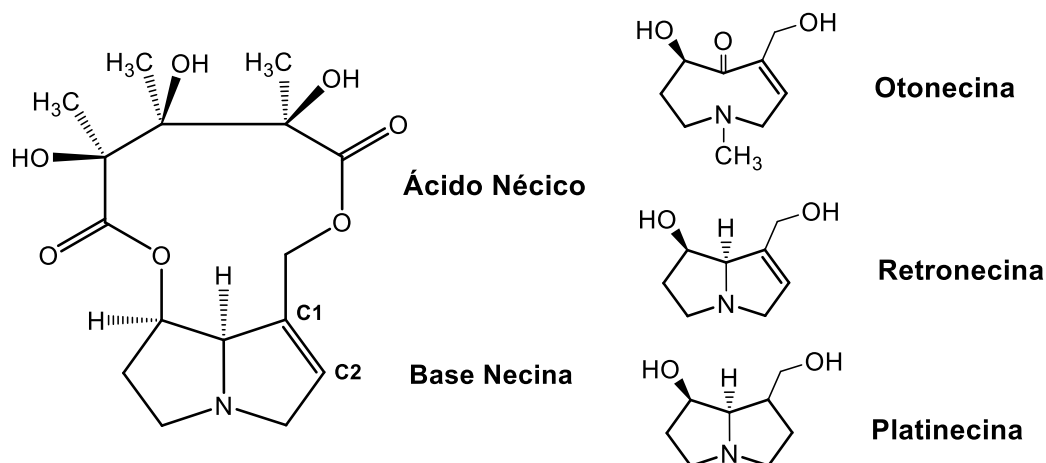
Os métodos de isolamento dos alcaloides consistem em extração com auxílio de solventes e posterior purificação, pois geralmente existem como solução aquosa no tecido de plantas. Os alcaloides podem ser divididos em classes como indóis, quinolinas, isoquinolinas, pirrolidinas, piridinas, pirrolizidinas, tropanos e terpenóides e esteroides. Outro sistema de classificação está ligado a uma família de espécies de plantas que ocorrem (KUREK, 2019).

Os alcaloides de pirrolizidina ou alcaloides pirrolizidínicos (APs) são uma classe de metabólitos secundários presentes em muitas variedades de espécies vegetais, como os das famílias Fabaceae (gênero *Crotalaria*), Astaraceae, Boraginaceae (gênero *Heliotropium*) e Compositae (gênero *Senecio*). Exercem função de defesa nas plantas, sendo responsáveis contra danos causados por patógenos e pragas. A literatura relata casos de intoxicação por APs em animais e humanos, embora existam variedades não tóxicas (LUCENA *et al.*, 2010; SILVA-LOPEZ; PACHECO, 2010). Cerca de 6000 espécies contém a presença desses fitoquímicos, que correspondem a 3% das angiospermas (OLIVEIRA, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018; ROBINS, 1989).

Possuem estrutura básica formada por um núcleo pirrolizidínico, composto por dois anéis de cinco membros unidos por um átomo de nitrogênio na posição 4, podendo ter cadeia carbônica saturada ou insaturada entre os carbonos C1 e C2. Essa estrutura básica também é conhecida como base necina e pode ser do tipo otonecina, retronecina e platinecina. Apresentam também ácidos alifáticos ou cíclicos, genericamente conhecidos como ácidos nécicos, que podem ocorrer na forma de monoéster ou diéster (bis lactona) (KUREK, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2017). A Figura 4 apresenta

a estrutura química de um alcaloide pirrolizidínico e os tipos de bases necinas existentes.

Figura 4 – Estrutura química de um alcaloide de pirrolizidina e os tipos de bases necinas existentes



Fonte: o autor.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Elucidação estrutural de um novo alcaloide pirrolizidínico isolado da *Crotalaria paulina* com o auxílio de métodos espectroscópicos e ferramentas de química computacional.

3.2. Objetivos Específicos

- i) Comparação dos dados de RMN calculados com os experimentais;
- ii) Assinalamento correto da estereoquímica dos carbonos assimétricos na estrutura;
- iii) Confirmação da estrutura proposta na Figura 6 utilizando cálculos teóricos baseados em DFT.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Material vegetal

As sementes da espécie *Crotalaria paulina* foram semeadas em um campo de cultivo da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil, em outubro de 2013. Suas folhas foram coletadas entre os meses de janeiro e março de 2014. A exsicata foi depositada no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Viçosa sob o número de registro VIC 45165.

4.2. Isolamento

A substância foi extraída e parcialmente purificada das folhas de *C. paulina* pelo pesquisador Ramon Prata de Oliveira (2017), pertencente ao grupo de pesquisa de produtos naturais do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) da UFV, seguindo a metodologia descrita por Trigo e colaboradores (TRIGO *et al.*, 1996). Uma das frações (150 mg) obtida a partir de cromatografia de adsorção de coluna foi submetida a análise por HPLC no modo isocrático, utilizando a seguinte mistura de eluentes: (A) 65% de água e (B) 35% de acetonitrila. A esta solução foi adicionado 0,05% de NH₄OH (pH 11 ± 0,5). O tempo de corrida ocorreu na faixa de 0,0 a 16,0 min. O volume de injeção foi de 1000 µL, injetado manualmente, com um fluxo constante de 4,0 mL/min. e usando coluna ODS HYPERSIL (C18), 250,0 mm x 4,6 mm x 5 µm (SUPELCO). Os dados cromatográficos foram obtidos, analisados e armazenados em 210 nm. Os fitoquímicos foram separados manualmente e liofilizados, restando assim 3,8 mg de etilmetilcrotalina.

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foram realizadas em um cromatógrafo líquido SHIMADZU, composto por duas bombas LC-20AT, detector SPD-20A UV/VIS, software (SHIMADZU) LC solution v.1.21 e coluna ODS HYPERSIL (C18), 250,0 mm x 4,6 mm x 5 µm (SUPELCO), equipamentos disponíveis no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Após os procedimentos semipreparativos, as amostras foram liofilizadas utilizando o aparelho Termo Fisher SCIENTIFIC FR-Drying.

4.3. Métodos de espectroscopia de RMN

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H), carbono (RMN de ^{13}C), COSY (espectroscopia de correlação homonuclear), HSQC (correlação heteronuclear simples-quantum), HMBC (correlação heteronuclear de múltiplas ligações) e NOESY (espectroscopia de efeito nuclear Overhauser) foram obtidos em espectrômetro BRUCKER AVANCE DRX-400 linha AVANCE disponível na UFMG. Os deslocamentos químicos (δ) foram registrados em ppm (partes por milhão) e as constantes de acoplamento escalar (J) em Hz (hertz). O tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como padrão de referência interno, tendo o clorofórmio deuterado como solvente. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios foram registrados em relação ao sinal do clorofórmio deuterado em 7,26 ppm. Os deslocamentos químicos de carbono foram referenciados usando o sinal do CDCl_3 em 77,16 ppm.

4.4. Cálculos computacionais

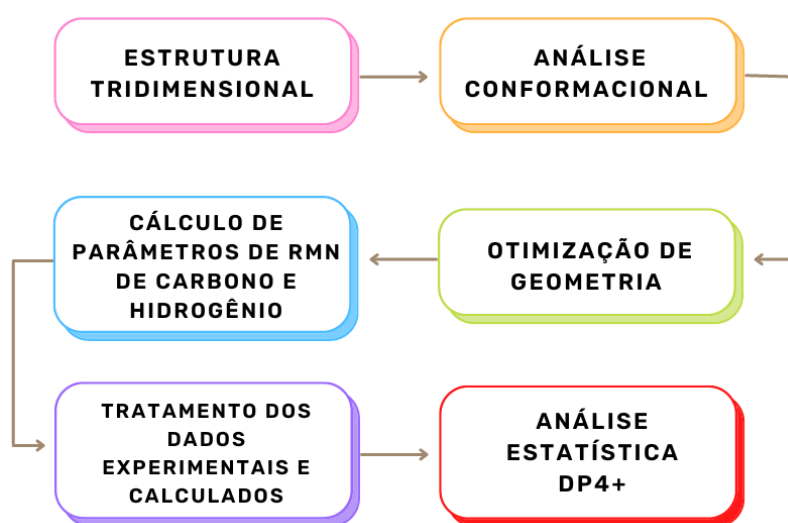
O desenvolvimento deste trabalho seguiu as etapas mostradas no fluxograma da Figura 5 e descritas a seguir. Oito estruturas tridimensionais (3D) candidatas **EC1-EC8 (Figura 6)** foram desenhadas utilizando o software Wavefunction Spartan 14 (versão 1.1.4) e uma busca conformacional foi realizada (SPARTAN'14 (2014) WAVEFUNCTION INC). A pesquisa conformacional foi realizada em fase gasosa usando o campo de força mecânica molecular (MMFF) e procedimento Monte-Carlo, especificando o número de confórmeros igual a 1000. Um total de 12 confórmeros foram selecionados para serem submetidos a cálculos DFT. Essa seleção foi feita com base na baixa contribuição de Boltzmann (menos de 0,01%) dos demais confórmeros e para tornar os cálculos menos dispendiosos. Os arquivos de entrada (input) de todos os confórmeros foram gerados e submetidos à otimização de geometria e cálculo de frequência usando DFT no nível teórico M06-2X/6-31+G(d,p) através do software Gaussian 16 (FRISCH *et al.*, 2016). A solvatação foi considerada nos cálculos pela utilização do modelo contínuo polarizável (PCM, do inglês *Polarizable Continuum Model*) (COSSI *et al.*, 1996; TOMASI; MENNUCCI; CAMMI, 2005).

Os arquivos de saída (output) da etapa anterior foram submetidos aos cálculos dos valores dos tensores de blindagem de RMN, utilizando o nível teórico B3LYP/6-

311G(d,p) no software Gaussian 16. Os tensores de blindagem (Tabelas 3 e 4, Apêndice A) de todos os núcleos foram utilizados para a análise estatística DP4+.

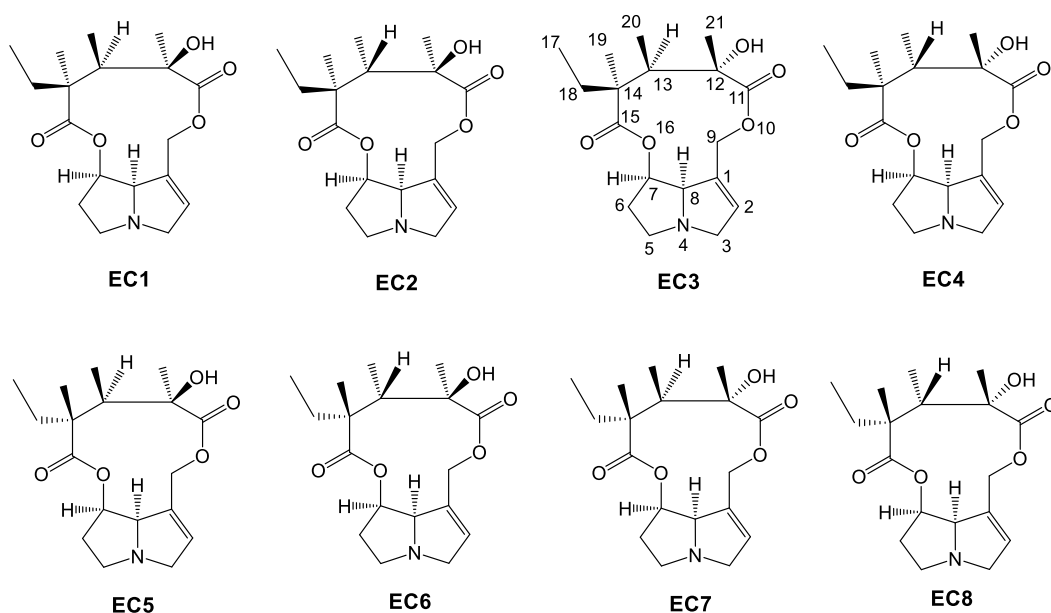
A análise DP4+ foi realizada através da planilha do Microsoft Excel, disponibilizada por Grimblat e colaboradores no site <https://sarotti-nmr.weebly.com>, inserindo os valores de deslocamento químico experimentais e tensores de blindagem calculados (GRIMBLAT; ZANARDI; SAROTTI, 2015; ZANARDI; SAROTTI, 2021).

Figura 5 – Fluxograma das etapas realizadas para os cálculos teóricos e obtenção dos resultados



Fonte: o autor.

Figura 6 – Estruturas candidatas propostas para o alcaloide pirrolizidínico



Fonte: o autor.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo de pesquisa de produtos naturais do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), do Departamento de Química da UFV (Campus Viçosa) isolou e identificou a estrutura de um novo alcaloide pirrolizidínico extraído da planta *Crotalaria paulina*, tradicionalmente utilizada como planta forrageira e adubação verde na agricultura. O extrato dessa planta foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel e uma das frações foi posteriormente purificado por HPLC para obtenção de um alcaloide, que foi analisado por espectrometria de massa de ionização por eletrospray de alta resolução (HRMS-ESI-MS). Esta análise forneceu um pico de íon molecular em m/z 337,1889, que corresponde a um composto com fórmula molecular $C_{18}H_{27}NO_5$. Esse composto foi submetido ao experimento de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para obtenção de espectros que foram comparados com espectros de outros alcaloides isolados por pesquisadores do grupo de pesquisa (OLIVEIRA *et al.*, 2017, 2018; PINTO *et al.*, 2022).

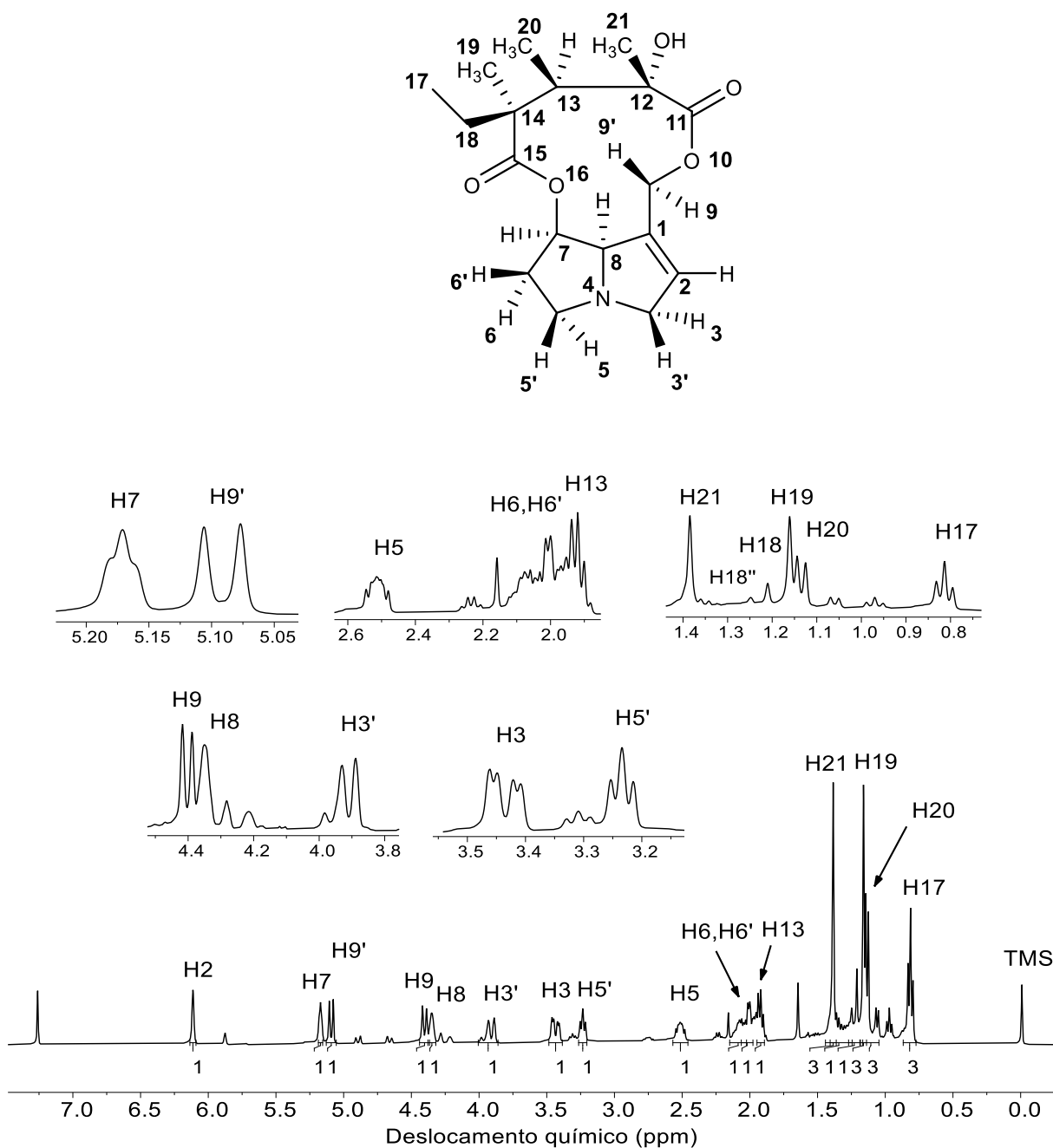
Neste trabalho, métodos espectroscópios e computacionais foram utilizados conjuntamente para a atribuição da configuração relativa dos carbonos assimétricos da estrutura. Dentre os espectros disponíveis, o 1H NOESY (do inglês, *Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*), experimento em duas dimensões que apresenta as correlações entre hidrogênios que interagem via espaço, não permitiu estabelecer, inequivocamente, as atribuições para a determinação da configuração relativa. É comum experimentos de produtos naturais apresentarem impurezas, que dificulta as análises espectroscópicas, como ocorreu neste caso. Para a identificação inicial, foram utilizados os espectros de 1H , ^{13}C , COSY, HSQC e HMBC.

Considerando a similaridade entre os espectros obtidos neste trabalho e espectros obtidos em outros trabalhos do grupo de pesquisa, foi constatada a presença de uma bislactona macrocíclica de onze membros com anel bicíclico insaturado, estruturas comuns de alcaloide de pirrolizidina. Este foi o ponto de partida para a identificação do presente composto. As atribuições dos sinais de RMN apontaram para a estrutura proposta na Figura 6.

A seguir serão apresentadas as principais atribuições encontradas. A Tabela 1 contém todas as atribuições assinaladas. A análise do espectro de RMN de 1H (Figura 7) indicou a presença de um simpleto em 6,11 ppm (s, 1H) correspondente ao H2

ligado ao carbono olefínico C2. Os sinais de H3 e H3' foram identificados como dois dupletos de dupletos em 3,43 ppm (dd, $J = 16,2, 5,7$ Hz, 1H) e 3,92 ppm (dd, $J = 16,2, 5,7$ Hz, 1H), respectivamente.

Figura 7 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para o composto estudado

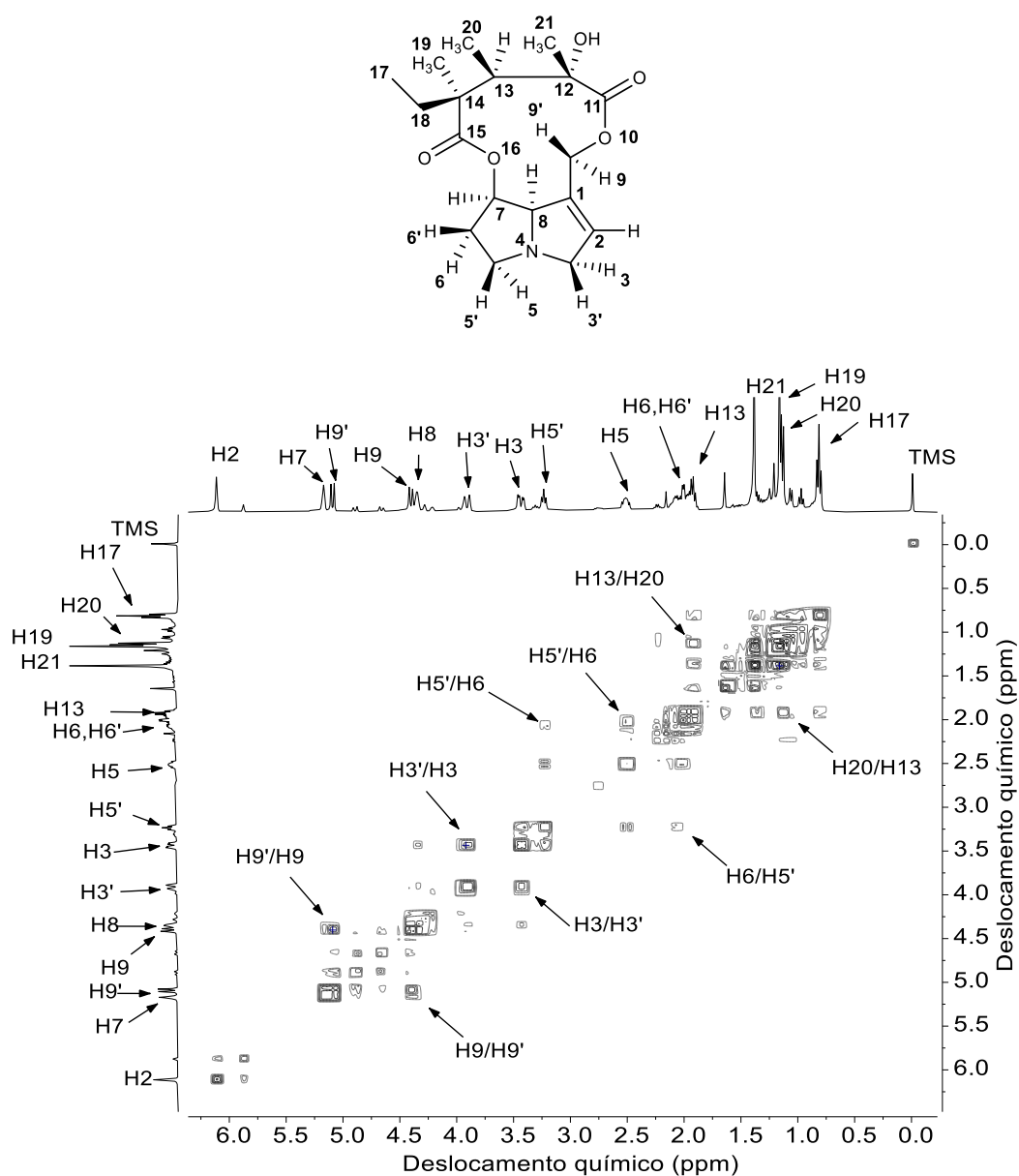


Fonte: o autor.

Os sinais H9 e H9' foram observados como dois dupletos em 4,40 ppm (d, $J = 11,6$ Hz, 1H) e 5,09 ppm (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), respectivamente. Os multipletos em 2,51

e 3,23 ppm foram atribuídos a H5 e H5', respectivamente, com o auxílio do espectro de correlação COSY (em inglês, *Homonuclear Correlated Spectroscopy*) (Figura 8). Esses hidrogênios apresentaram correlações cruzadas no COSY com os sinais em 2,02 e 2,09 ppm, que foram atribuídos a H6 e H6', respectivamente. O tripleto integrado para 3 hidrogênios em 0,81 ppm foi atribuído a H17. Os dois simpletos em 1,16 ppm e 1,38 ppm, integrados para 3 hidrogênios cada, foram atribuídos a H19 e H21, respectivamente. O duplete em 1,13 ppm integrado para 3 hidrogênios foi atribuído a H20.

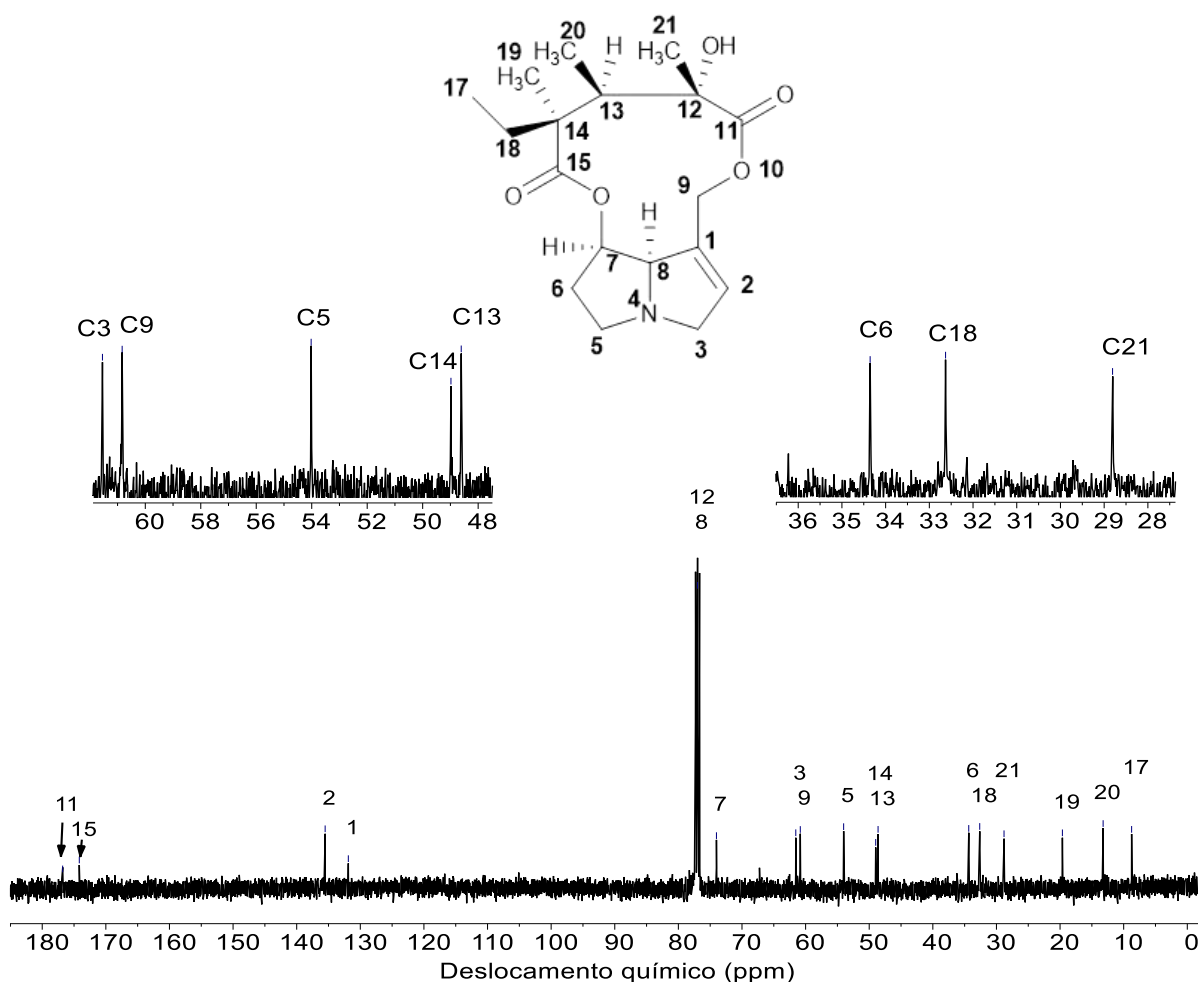
Figura 8 – Mapa de contorno COSY (400 MHz, CDCl₃)



Fonte: o autor.

Ao analisar o espectro de RMN de ^{13}C (Figura 9), foi constatada a presença de sinais mais desblindados em 176,8 ppm, atribuído ao éster carbonil (C11) e 174,2 ppm, atribuído a C15. A carbonila C11 é mais desblindada que a carbonila C15 devido ao efeito de retirada de elétrons do grupo hidroxila na posição α em relação a C11. Na região de deslocamento químico entre 130 e 140 ppm foi constatada a presença de dois sinais, um em 131,9 ppm atribuído a C1 e outro em 135,5 ppm atribuído a C2. Estes valores de deslocamentos químicos estão de acordo com os valores encontrados na literatura para carbonos ligados diretamente a ligações duplas (PAVIA *et al.*, 2015; SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2014).

Figura 9 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 $\delta_{\text{CDCl}_3} = 77,16$ ppm)

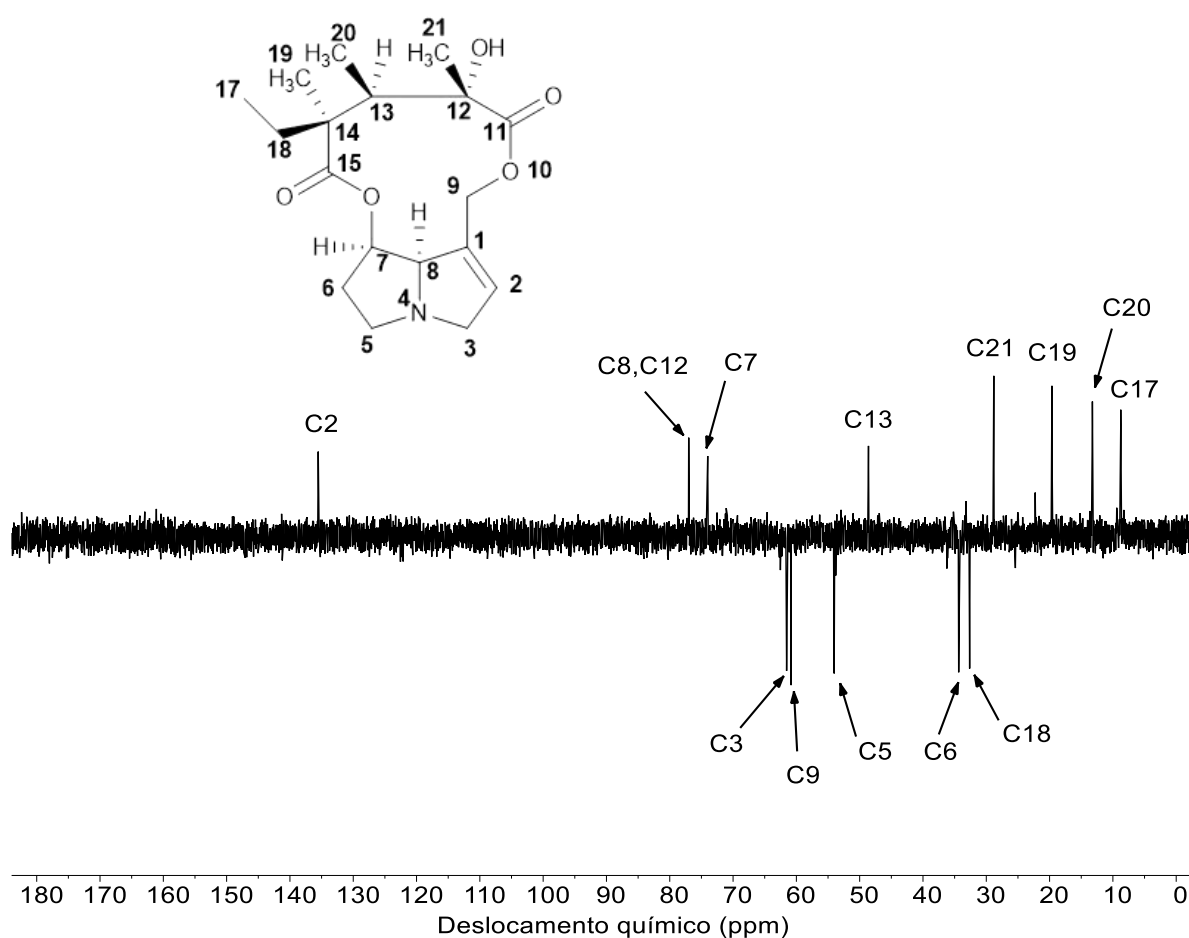


Fonte: o autor.

Os dados do espectro DEPT-135 (em inglês, *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*) (Figura 10) também confirmaram que os carbonos C1, C11 e

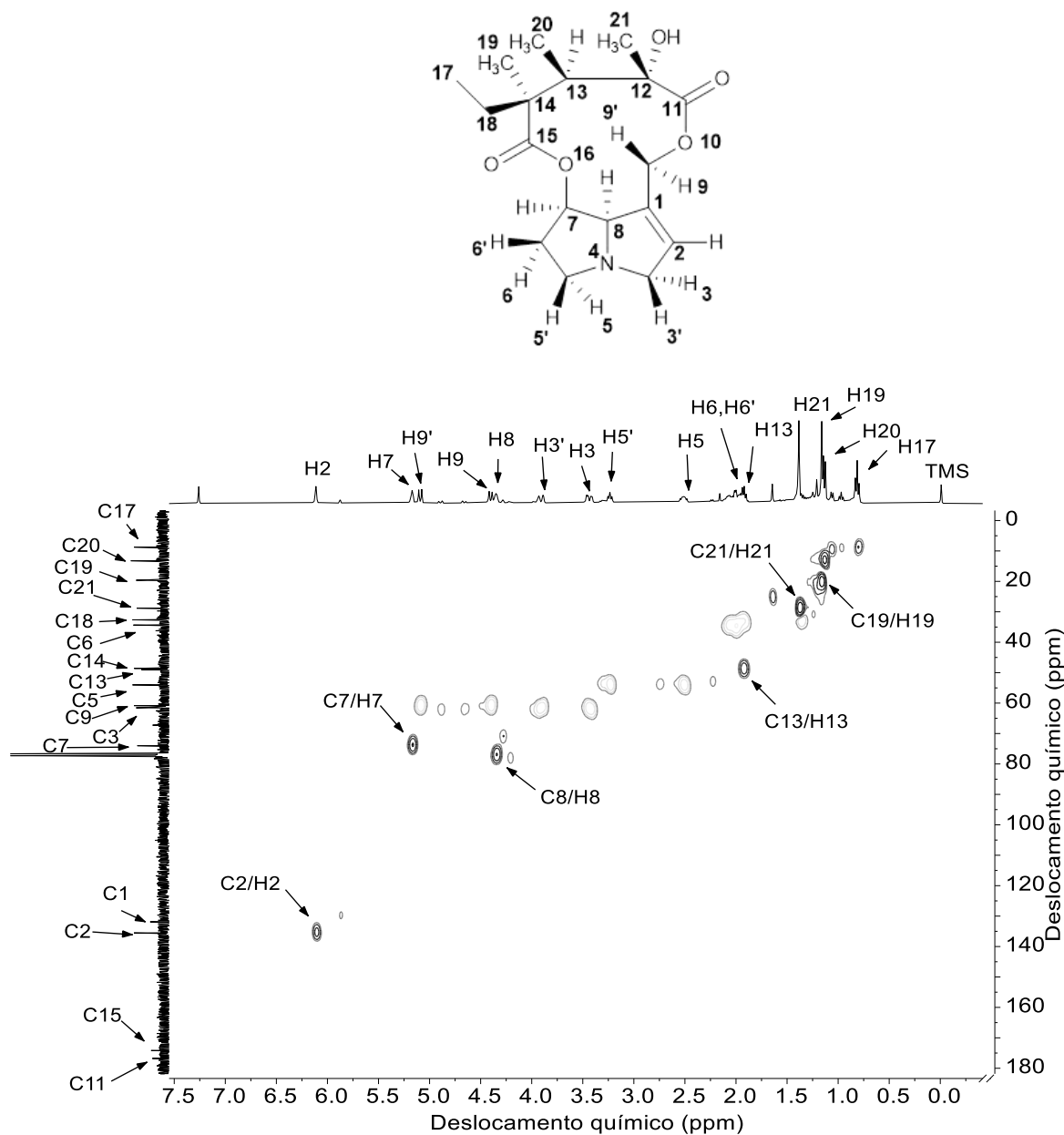
C15 apresentam os deslocamentos químicos relatados, uma vez que esses picos (sem hidrogênios ligados) estão ausentes neste espectro. Neste tipo de experimento há diferenciação de fase entre sinais de átomos de carbonos metílicos e metínicos (sinal positivo, para cima) e carbonos metilênicos (sinal negativo, para baixo). Por isso, através desse espectro foi possível assinalar os carbonos metilênicos C3 (61,5 ppm), C5 (54,0 ppm), C6 (34,4 ppm), C9 (60,8 ppm) e C18 (32,6 ppm), pois esses picos aparecem com sinais negativos neste espectro.

Figura 10 – Espectro de RMN de ^{13}C DEPT-135 (100 MHz, CDCl_3 $\delta_{\text{CDCl}_3} = 77,16$ ppm)



Fonte: o autor.

Ao analisar o espectro HSQC (em inglês, *Heteronuclear Single Quantum Correlation*) (Figura 11), que apresenta as correlações entre os núcleos de carbono e hidrogênios ligados diretamente, foi possível confirmar a correlação dos hidrogênios H13 com o carbono C13, H21 com C21, H7 com C7 e H8 com C8. Também foi possível confirmar que o sinal em 135,5 ppm corresponde a C2.

Figura 11 – Mapa de contorno HSQC (400 MHz, CDCl₃)

Fonte: o autor.

Pelo espectro de HMBC (em inglês, *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) (Figura 12) foi possível verificar a correlação entre o carbono carbonílico C15 e o hidrogênio H13 (1,92 ppm, q, $J = 7,6, 7,1$ Hz, 1H). Outra correlação encontrada foi entre o carbono carbonílico C11 e os hidrogênios H9 e H9', corroborando para a definição da estrutura proposta. Ainda pelo HMBC, foi confirmada a correlação entre o carbono C12 (48,9 ppm) e o hidrogênio metínico H13. Esse hidrogênio também apresentou correlação com os carbonos C11, C14, C19 e C20, confirmando a plausibilidade da

estrutura proposta. Outras correlações chaves estão representadas na Figura 13. Todas as atribuições dos sinais estão relacionadas na Tabela 1.

Figura 12 – Mapa de contorno HMBC (400 MHz, CDCl₃)

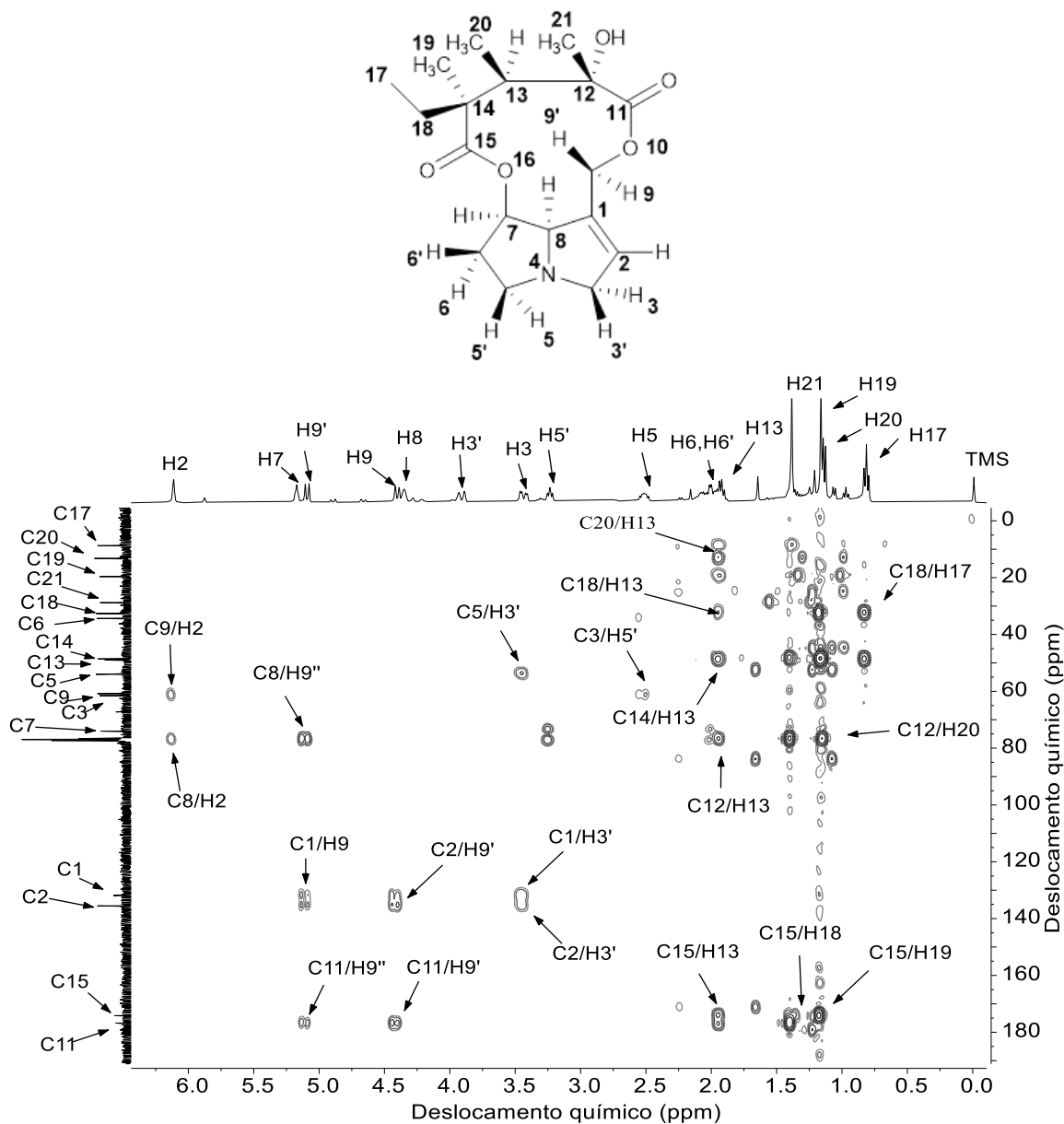
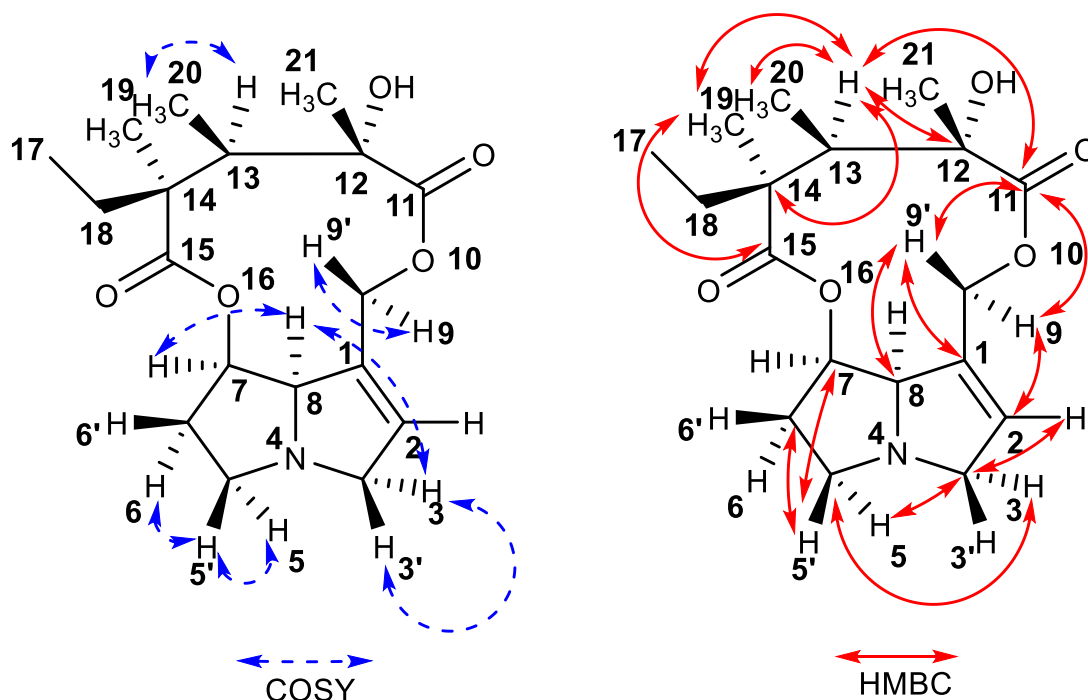


Figura 13 – Correlações chaves de COSY e HMBC para a estrutura candidata 3



Fonte: o autor.

Tabela 1 – Deslocamentos químicos experimentais de RMN de ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC e HMBC para o alcaloide pirrolizidínico estudado

Átomo	δ_{C} (ppm)	Átomo	δ_{H} (ppm); m; J (Hz); nH	COSY	HSQC	HMBC
C1	131,9	-	-	-	-	H9, H9', H3, H3'
C2	135,5	H2	6,11; s; 1H	-	H2	H3, H3', H9, H9'
C3	61,5	H3	3,43; dd, J = 16,2; 5,7 Hz; 1H	H3'	H3, H3'	-
		H3'	3,92; dd, J = 16,2, 5,7 Hz; 1H	H3	-	-
C5	54,0	H5	2,51; m; 1H	H5', H6, H6'	H5, H5'	H3
		H5'	3,23; m; 1H	H5, H6, H6'	-	-
C6	34,4	H6	2,02; m; 1H	H5, H5', H6'	H6', H6'	H5, H5'
		H6'	2,09; m; 1H	H5, H5', H6	-	-
C7	74,0	H7	5,18; d; J = 4,8 Hz; 1H	H8	H7	H5'
C8	77,0	H8	4,35; m; 1H	H7	H8	H6, H6'
C9	60,8	H9	4,40; d; J = 11,6 Hz; 1H	H8, H9'	H9, H9'	-
		H9'	5,09; d; J = 11,6 Hz; 1H	H8, H9	-	-
C11	176,8	-	-	-	-	H9, H9', H13
C12	77,5	-	-	-	-	H13, H20, H21
C13	48,6	H13	1,92; q; J = 7,6; 7,1 Hz; 1H	H20	H13	H19, H20, H21
C14	49,0	-	-	-	-	H13, H19, H20

Átomo	δ_c (ppm)	Átomo	δ_H (ppm); m; J (Hz); nH	COSY	HSQC	HMBC
C15	174,2	-	-	-	-	H13, H18, H19
C17	8,8	H17	0,81; t; J = 7,3 Hz; 3H	H18, H18'	H17	H18
C18	32,6	H18	1,23; m; 1H	H17, H18'	H18, H18'	H13, H17, H19
		H18'	1,34; m; 1H	H17, H18	-	-
C19	19,6	H19	1,16; s; 3H	-	H19	H13, H18
C20	13,2	H20	1,13; d; J = 7,6 Hz; 3H	H13	H20	H13
C21	28,8	H21	1,38; s; 3H	-	H21	-

Fonte: o autor.

A estereoquímica relativa da molécula isolada de *Crotalaria paulina* foi confirmada através de cálculos teóricos de deslocamento químico de RMN de ^1H e ^{13}C utilizando o método estatístico DP4+. Os deslocamentos químicos experimentais e tensores de blindagem calculados para cada estrutura candidata foram organizados e transferidos para a planilha de análise DP4+, disponível para download em <https://sarrotti-nmr.weebly.com>. Após inserção dos dados experimentais e calculados, a planilha executou automaticamente a análise DP4+ e retornou o resultado disponível na Tabela 2.

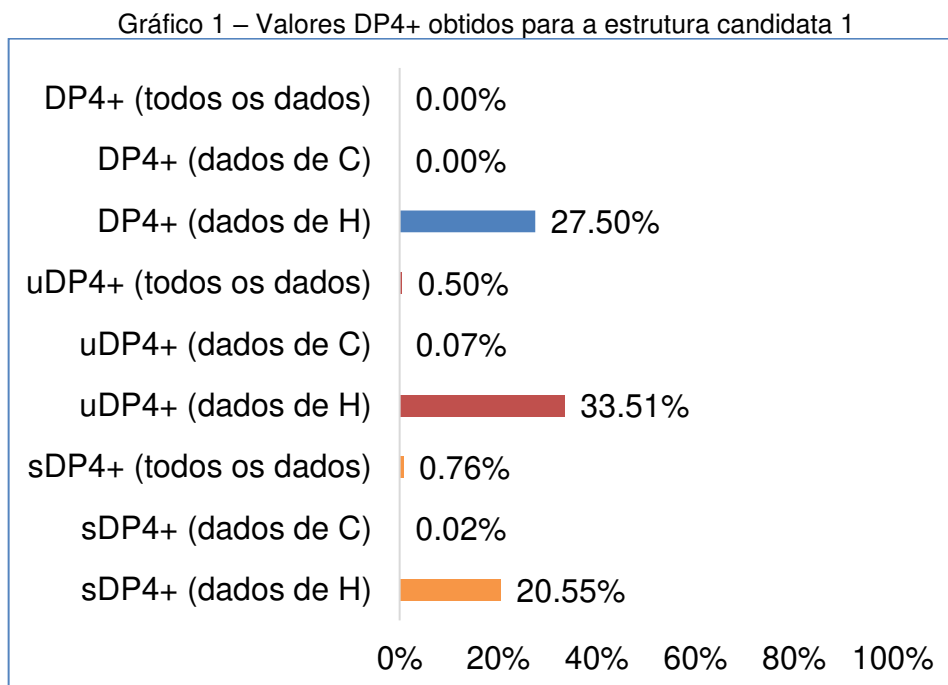
Tabela 2 – Resultados das análises DP4+ de RMN de ^{13}C e ^1H para as oito estruturas candidatas

Estruturas Candidatas	Probabilidade DP4+ (%)	
	^{13}C e ^1H	^{13}C
EC1	0	0
EC2	0	0
EC3	99,9	99,9
EC4	0	0
EC5	0	0
EC6	0	0
EC7	0,1	0,1
EC8	0	0

Fonte: o autor.

A ferramenta DP4+ possui a vantagem de ser de fácil utilização. Apenas inserindo os dados experimentais e teóricos e seguindo as instruções fornecidas pelos desenvolvedores, ela calcula as probabilidades e devolve ao utilizador o resultado na tela. Essa ferramenta apresenta três descritores que são utilizados na análise: sDP4+, uDP4+ e DP4+, que se referem, respectivamente, valores escalonados, não

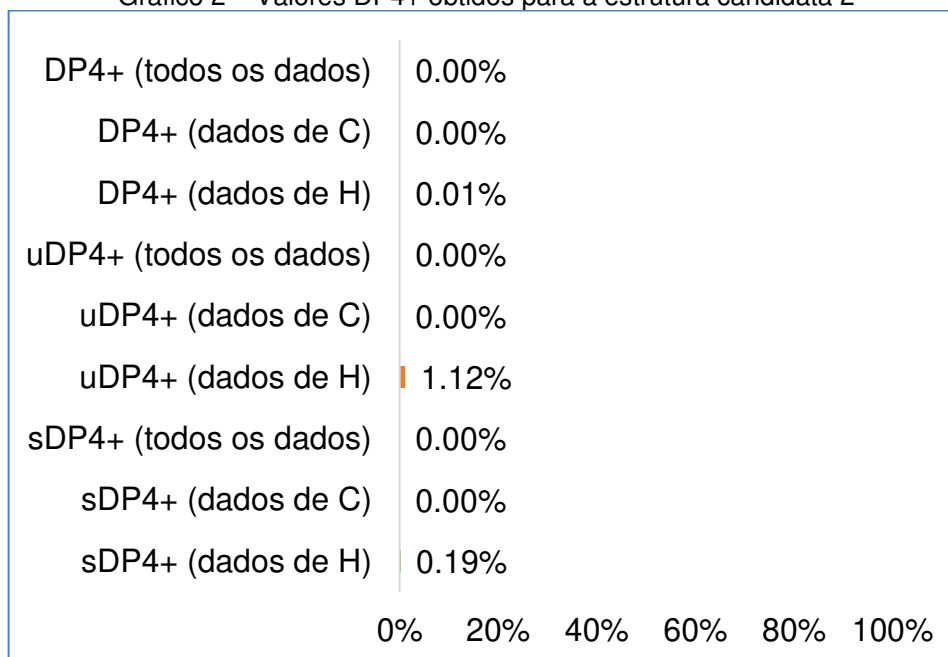
escalonados e todos os valores. Os resultados detalhados indicaram, para cada estrutura candidata, as probabilidades apresentadas nos Gráficos 1 a 8.



Fonte: o autor.

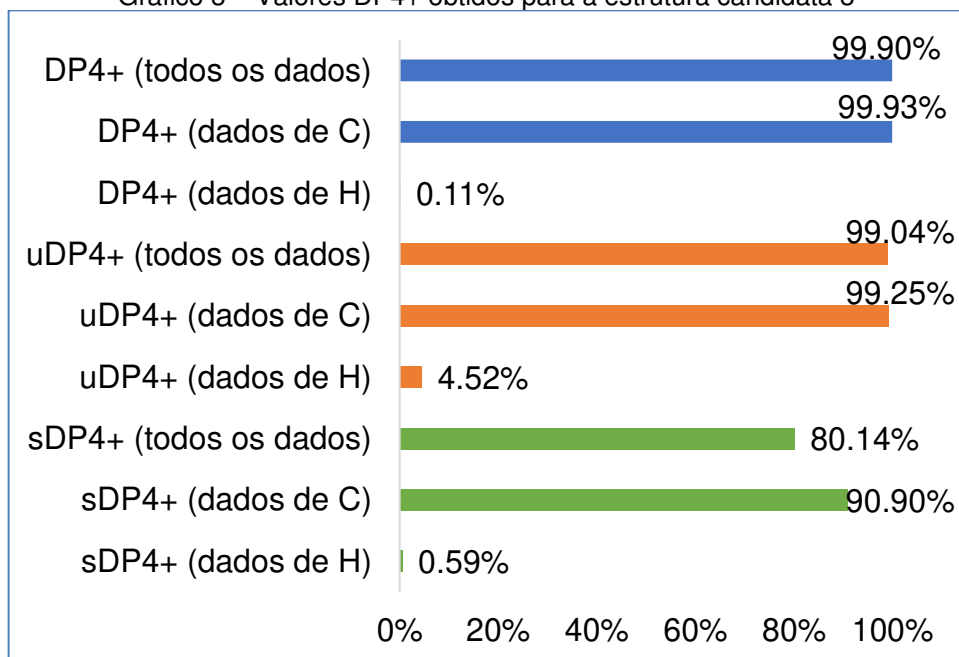
Com base nos valores de DP4+ apresentados para a estrutura candidata 1, nota-se que eles são inconclusivos. Para se ter alta confiança de que o isômero escolhido é o correto, os resultados de DP4+ devem apontar valores superiores a 90% (de preferência próximo a 100% ou exatamente 100%) (COSTA *et al.*, 2021). A estrutura candidata 3 foi a que melhor apresentou correlação para os dados de carbono, com valor de 99,9% para o descritor DP4+ (todos os dados).

Gráfico 2 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 2



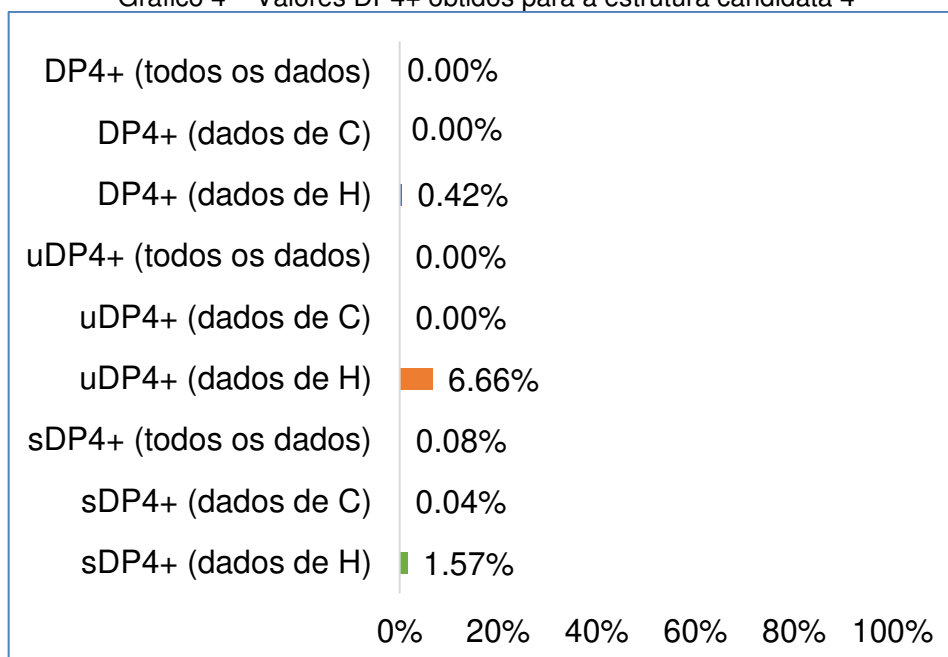
Fonte: o autor.

Gráfico 3 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 3



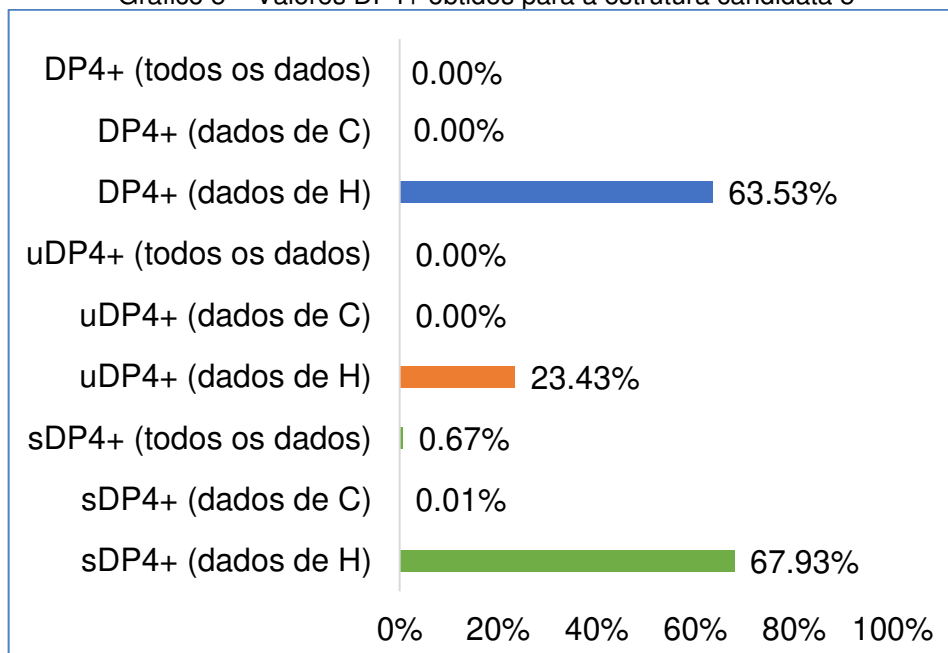
Fonte: o autor.

Gráfico 4 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 4



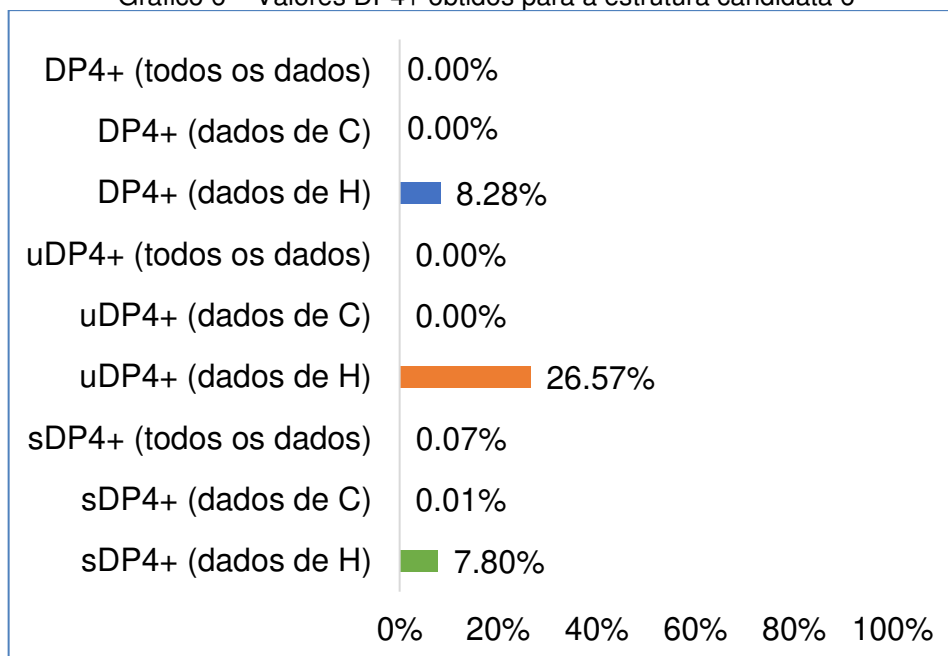
Fonte: o autor.

Gráfico 5 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 5



Fonte: o autor.

Gráfico 6 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 6



Fonte: o autor.

Gráfico 7 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 7

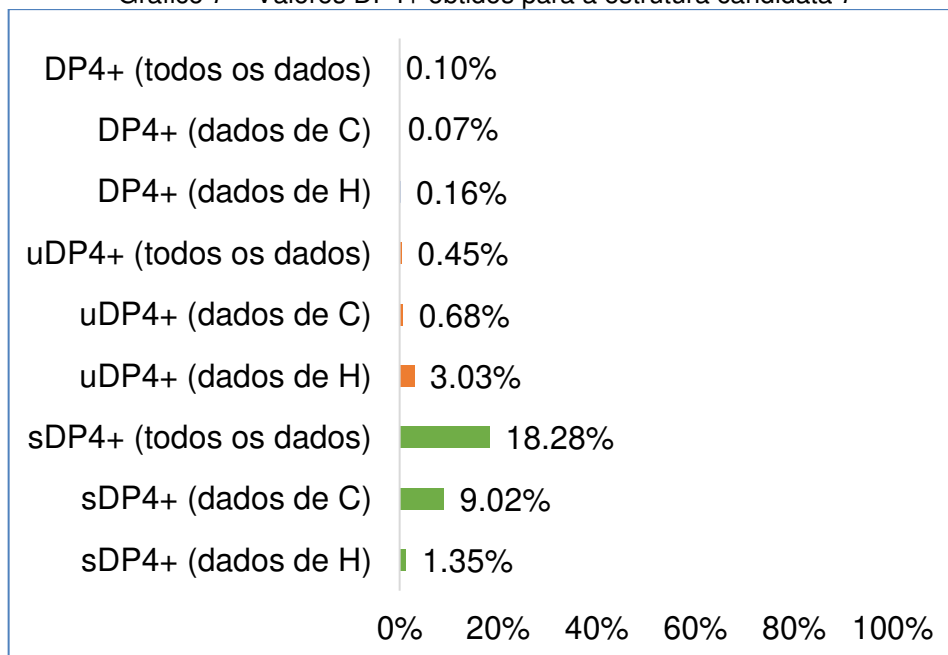
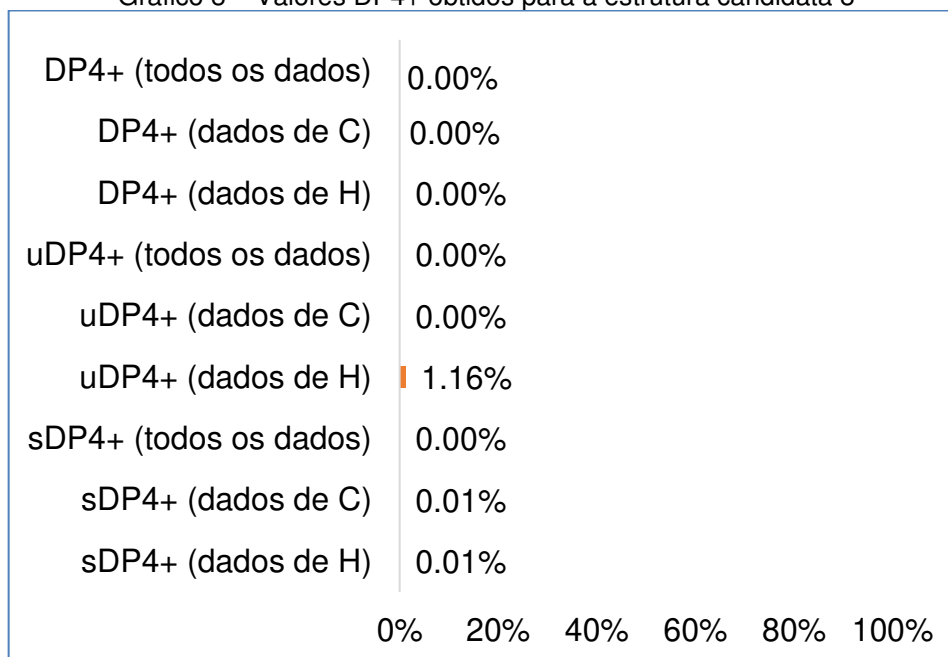


Gráfico 8 – Valores DP4+ obtidos para a estrutura candidata 8



Fonte: o autor.

Observa-se que, para todas as estruturas candidatas, os resultados de DP4+ para os dados de hidrogênio estão inconclusivos, o que impossibilita a definição da estereoquímica relativa analisando somente este núcleo. Em função da proximidade dos sinais e do aparecimento de sinais como multipletos (sobreposição) no espectro experimental de ^1H , a definição exata dos valores de deslocamentos químicos ficou comprometida, refletindo no resultado da análise DP4+ para este núcleo.

Entretanto, a análise DP4+ dos dados de carbono indicou 99,9% de probabilidade para a estrutura candidata 3, tanto para os descritores escalonados quanto para os descritores não escalonados. Pelo fato de os espectros de carbono apresentarem deslocamentos químicos com uma janela espectral mais ampla, possuem sinais mais definidos e espaçados, facilitando suas atribuições. Portanto, os dados de carbono tornaram-se mais influentes na definição do isômero correto pelo DP4+.

Sarotti e colaboradores apontam esse fato em seu artigo (ZANARDI; SAROTTI, 2021), argumentando que o método DP4+ apresenta maior capacidade de atribuição estereoquímica usando apenas dados de um único núcleo (^1H ou ^{13}C), se comparado ao DP4 com todos os dados. Os autores observaram que a combinação de ambos os núcleos é importante na análise, porém uma eventual atribuição inconclusiva de sinais de hidrogênio ou de carbono pode ser corrigida pelo DP4+. Isso demonstra que,

embora haja dúvidas em relação a um dos núcleos analisados, a probabilidade DP4+ têm demonstrado sucesso na elucidação estrutural de moléculas complexas.

Portanto, a interpretação dos dados experimentais associadas aos cálculos computacionais de DFT e a ferramenta estatística DP4+ permitiram identificar o produto natural isolado da *Crotalaria paulina*, como o alcaloide pirrolizidínico representado pela estrutura candidata 3. Os resultados desta pesquisa foram apresentados em formato de painel apresentado no Simpósio de Integração Acadêmica da UFV (SIA 2022) e um manuscrito de artigo científico foi preparado para submissão em uma revista indexada com fator de impacto.

6. CONCLUSÃO

Através dos experimentos de RMN e cálculos teóricos associados ao método de distribuição de probabilidade DP4+, foi possível identificar um novo alcaloide pirrolizidínico isolado de *Crotalaria paulina*. A estrutura do alcaloide foi determinada como sendo a molécula denominada etilmetilcrotalina (Estrutura candidata 3), cujo nome sistemático é:

(3*S*,4*R*,5*S*,8a¹*R*,13a*R*)-3-etil-5-hidroxi-3,4,5-trimetil-4,5,8,8a¹,10,12,13,13a-octahidro-2H-[1,6]dioxacicoundecino[2,3,4-*gh*]pirrolizina-2,6(3H)-diona.

Através deste estudo foi constatado que o uso de cálculos teóricos se constitui uma ferramenta poderosa para a determinação da configuração relativa de compostos orgânicos provenientes de produtos naturais.

REFERÊNCIAS

- ABRAGAM, A. **The Principles of Nuclear Magnetism**. Clarendon Press, 1961.
- ALCACER, L. **Introdução à Mecânica Quântica, com Aplicações à Química Computacional Moderna**. 3. ed. IST Press, 2019.
- ALMEIDA JUNIOR, S. **Produtos Naturais e Suas Aplicações: da comunidade para o laboratório**. Editora Científica Digital, 2021.
- ALVARENGA, E. S.; TEIXEIRA, M. G.; LOPES, D. T.; DEMUNER, A. J. Computation and structural elucidation of compounds formed via epoxide alcoholysis. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 101–107, 2019a. DOI: 10.1002/mrc.4818
- ALVARENGA, E. S.; CARNEIRO, V. M. T.; SILVA, S. A.; SIQUEIRA, R. P.; BRESSAN, G. C. Synthesis of novel amides, characterization by spectrometric methods, cytotoxic activity and theoretical calculations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1191, p. 6–16, 5, 2019b. DOI: 10.1016/j.molstruc.2019.04.021
- BACHRACH, S. M. **Computational Organic Chemistry**. 2. ed. Department of Chemistry, Trinity University, San Antonio, TX: John, 2014.
- BARBOSA, L. R. **Estudo teórico-experimental por RMN para elucidação estrutural de derivados do cardanol, homolicorinas e cicloheptenonas**. Universidade Federal do Espírito Santo, 2018.
- BECKE, A. D. A new mixing of Hartree–Fock and local density-functional theories. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 2, p. 1372–1377, 1993a. DOI: 10.1063/1.464304
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648–5652, 1993b. DOI: 10.1063/1.464913
- BEETLE, A. A. Las Leguminosas Argentinas— Silvestres Y Cultivadas. **Agronomy Journal**, v. 44, n. 8, p. 454, 1952. DOI: 10.2134/agronj1952.00021962004400080022x
- BERLINCK, R. G. S.; BORGES, W. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C.. The chemistry of natural products in Brazil in the XXI century. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706–710, 2017.
- BULCAO, R. P.; TONELLO, R.; PIVA, S. J.; SCHMITT, G. C.; EMANUELLI, T.; DALLEGRAVE, E.; GARCIA, S. C. Intoxication in dogs and cats: toxicological diagnosis using thin layer chromatography and high pressure liquid chromatography with ultraviolet detection in stomach samples. **Ciencia Rural**, v. 40, p. 1109+, 2010.
- CASABIANCA, L. B. Calculating nuclear magnetic resonance chemical shifts in solvated systems. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 2019, p. 611–624, 2020. DOI: 10.1002/mrc.4994

CHIA, A.; LU, Q.-S.; TAN, D. Five-Year Clinical Trial on Atropine for the Treatment of Myopia 2: Myopia Control with Atropine 0.01% Eyedrops. **Ophthalmology**, v. 123, n. 2, p. 391–399, 2016. DOI: 10.1016/j.ophtha.2015.07.004

COSSI, M.; BARONE, V.; CAMMI, R.; TOMASI, J. Ab initio study of solvated molecules: a new implementation of the polarizable continuum model. **Chemical Physics Letters**, v. 255, n. 4–6, p. 327–335, 1996. DOI: 10.1016/0009-2614(96)00349-1

COSTA, F. L. P.; ALBUQUERQUE, A. C. F.; FIOROT, R. G.; LIÃO, L. M.; MARTORANO, L. H.; MOTA, G. V. S.; VALVERDE, A. L.; CARNEIRO, J. W. M.; JUNIOR, F. M. S. Structural characterisation of natural products by means of quantum chemical calculations of NMR parameters: New insights. **Organic Chemistry Frontiers**, v. 8, n. 9, p. 2019–2058, 2021. DOI: 10.1039/d1qo00034a

DIEGUEZ, C. M. T.; MONTANHEIRO, L. V.; CLETO, L. B.; BONFIM, M. J. C. **Os fundamentos quânticos da Ressonância Magnética Nuclear**. v. 40, p. 1–9, 2018.

ERMANIS, K.; PARKES, K. E. B.; AGBACK, T. GOODMAN, J. M. The optimal DFT approach in DP4 NMR structure analysis—pushing the limits of relative configuration elucidation. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 17, n. 24, p. 5886–5890, 2019. DOI: 10.1039/c9ob00840c

GARCIA, J. M.; KAWAKITA, K.; MIOTTO, T. S. S.; SOUZA, M. C. O gênero *Crotalaria* L. (Leguminosae, Faboideae, Crotalarieae) na Planície de Inundação do Alto Rio Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 2, 2013.

GRIMBLAT, N.; ZANARDI, M. M.; SAROTTI, A. M. Beyond DP4: An Improved Probability for the Stereochemical Assignment of Isomeric Compounds using Quantum Chemical Calculations of NMR Shifts. **Journal of Organic Chemistry**, v. 80, n. 24, p. 12526–12534, 2015. DOI: 10.1021/acs.joc.5b02396

HAMILTON, G. R.; BASKETT, T. F. In the arms of morpheus: The development of morphine for postoperative pain relief. **Canadian Journal of Anesthesia**, v. 47, n. 4, p. 367–374, 2000. DOI: 10.1007/BF03020955

JENSEN, F. **Introduction to computational chemistry**. 2. ed. West Sussex, England: John Wiley and Sons Ltd, 2007.

JOOSTEN, L.; VAN VEEN, J. A. Defensive properties of pyrrolizidine alkaloids against microorganisms. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 1, p. 127–136, 2011. DOI: 10.1007/s11101-010-9204-y

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Phys. Rev.**, v. 140, n. 4A, p. A1133-A1138, 1965. DOI: 10.1103/PhysRev.140.A1133

KUREK, J. Introductory Chapter: Alkaloids - Their Importance in Nature and for Human Life. Em: KUREK, J. (Ed.). **Alkaloids**. Rijeka: IntechOpen, 2019. DOI: 10.5772/intechopen.85400

LATOURE, R. A. Molecular Simulation Methods to Investigate Protein Adsorption Behavior at the Atomic Level☆. Em: DUCHEYNE, P. (Ed.). **Comprehensive Biomaterials II**. p. 268–294, Oxford: Elsevier, 2017. DOI: 10.1016/B978-0-12-803581-8.09794-0

LEVINE, I. N. **Quantum Chemistry**. 7. ed. Pearson, 2014.

LEWARS, E. G. Computational chemistry: Introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics. **Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics**, p. 1–664, 2011. DOI: 10.1007/978-90-481-3862-3/COVER

LI, F. F.; ZHANG, Y.; ZHANG, X.; YIP, B. H. K.; TANG, S. M.; KAM, K. W.; YOUNG, A. L.; CHEN, L. J.; THAM, C. C.; PANG, C. P.; YAM, J. C. Age Effect on Treatment Responses to 0.05%, 0.025%, and 0.01% Atropine: Low-Concentration Atropine for Myopia Progression Study. **Ophthalmology**, v. 128, n. 8, p. 1180–1187, 2021. DOI: 10.1016/j.ophtha.2020.12.036

LUCENA, R. B.; RISSI, D. R.; MAIA, L. A.; FLORES, M. M.; DANTAS, A. F. M., NOBRE, V. M. T.; RIET-CORREA, F.; BARROS, C. S. L. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 5, p. 447–452, 2010. DOI: 10.1590/S0100-736X2010000500013

M. J. FRISCH, G. W. TRUCKS, H. B. SCHLEGEL, G. E. SCUSERIA, M. A. ROBB, J. R. CHEESEMAN, G. SCALMANI, V. BARONE, G. A. PETERSSON, H. NAKATSUJI, X. LI, M. CARICATO, A. V. MARENICH, J. BLOINO, B. G. JANESKO, R. GOMPERTS, B. MENNUCCI, H. P. HRATCHIAN, J. V., AND D. J. FOX. **Gaussian 16**, Revision C.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

MARCARINO, M. O.; ZANARDI, M. M.; CICETTI, S.; SAROTTI, A. M. NMR calculations with quantum methods: Development of new tools for structural elucidation and beyond. **Accounts of Chemical Research**, v. 53, n. 9, p. 1922–1932, 2020.

MARCARINO, M. O.; CICETTI, S.; ZANARDI, M. M.; SAROTTI, A. M. A critical review on the use of DP4+ in the structural elucidation of natural products: The good, the bad and the ugly. A practical guide. **Natural Product Reports**, v. 39, n. 1, p. 58–76, 2022. DOI: 10.1039/d1np00030f

MAREGESI, S. M.; NGASSAPA, O. D.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. L. Ethnopharmacological survey of the Bunda district, Tanzania: Plants used to treat infectious diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, n. 3, p. 457–470, 2007. DOI: 10.1016/j.jep.2007.07.006

MARTINS, L. M. O. S.; SANTOS, J. O.; HOYE, T.; ALVARENGA, E. S. Synthesis of a novel naphthalenone endoperoxide and structural elucidation by nuclear magnetic

resonance spectroscopy and theoretical calculation. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 60, n. 1, p. 139–147, 2022. DOI: 10.1002/mrc.5195

MARTORANO, L. H.; BRITO, J. T.; ALBUQUERQUE, A. C. F.; FIOROT, R. G.; RIBEIRO, M. R.; VALVERDE, A. L. Estudo das Estruturas Químicas dos *Helianuols* G e H por Cálculos Teóricos dos Deslocamentos Químicos de RMN de ^1H . **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 5, p. 1140–1146, 2021. DOI: 10.21577/1984-6835.20210059

MEAGHER JR., R. L.; WATROUS, K. M.; FLEISCHER, S. J.; NAGOSHI, R. N., BROWN, J. T.; BOWERS, K.; MILLER, N.; HIGHT, S. D.; LEGASPI, J. C.; WESTBROOK, J. K. Documenting Potential Sunn Hemp (*Crotalaria juncea* L.) (Fabaceae) Pollinators in Florida. **Environmental Entomology**, v. 48, n. 2, p. 343–350, 2019. DOI: 10.1093/ee/nvy190

MERTZ, N. R.; SALES, F. S.; AGUDELO, E. J. G.; MOINO, A. Influence of plants used in agricultural diversification on the nematode *Heterorhabditis amazonensis*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 6, p. 3553–3566, 2021. DOI: 10.5433/1679-0359.2021V42N6SUPL2P3553

MULI, J. K.; NEONDO, J. O.; KAMAU, P. K.; MICHUKI, G. N.; ODARI, E.; BUDAMBULA, N. L. M. Genetic diversity and population structure of wild and cultivated *Crotalaria* species based on genotyping-by-sequencing. **PLoS ONE**, v. 17, p. e0272955, 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0272955

NASCIMENTO, C. **Ressonância Magnética Nuclear**. São Paulo, SP: Blucher, 2016.

OLIVEIRA, R. P. **Isolamento, determinação estrutural e avaliação da atividade antibacteriana de novos alcaloides pirrolizidínicos de *Crotalaria paulina***. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, 2017.

OLIVEIRA, R. P.; DEMUNER, A. J.; ALVARENGA, E. S.; PARMA, M. C.; BARBOSA, L. C. A.; GUIMARÃES, L. M.; AGUIAR, A. R. Experimental and theoretical studies on the characterization of monocrotaline by infrared and Raman spectroscopies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1135, p. 228–233, 2017. DOI: 10.1016/j.molstruc.2017.01.050

OLIVEIRA, R. P.; DEMUNER, A. J.; ALVARENGA, E. S.; BARBOSA, L. C. A.; SILVA, T. M. A novel alkaloid isolated from *Crotalaria paulina* and identified by NMR and DFT calculations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1152, p. 337–343, 2018. DOI: 10.1016/j.molstruc.2017.09.065

PAULO, S.; RODRIGUES, J.; CARIDADE, P. História da química computacional e do uso dos computadores em química. **História da Ciência e Ensino: construindo interfaces**, v. 25, p. 140–153, 2022.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. VYVYAN, J. R. **Introduction to Spectroscopy**. 5. ed. Stamford: Cengage Learning, 2015.

PEÑALOZA, G. C.; PELÁEZ J., C. A. Evaluation of biological activity of *Crotalaria Juncea* extracts through a *Drosophila melanogaster* MODEL. **Vitae**, v. 15, n. 2, 2009. DOI: 10.17533/udea.vitae.801

PINTO, A.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P., EPIFANIO, R. A. Current status, challenges and trends on natural products in Brazil. **Química Nova**, v. 25, n. SUPPL. 1, p. 45–61, 2002. DOI: 10.1590/s0100-40422002000800009

PINTO, B. N. S.; MOURA, G. A.; DEMUNER, A. J.; ALVARENGA, E. S. Structural elucidation of a novel pyrrolizidine alkaloid isolated from *Crotalaria retusa* L. **Journal of Molecular Structure**, v. 1254, 2022a. DOI: 10.1016/j.molstruc.2022.132394

PINTO, B. N. S.; ALVARENGA, E. S.; SANTOS, A. R.; OLIVEIRA, W. F.; PAULA, V. F.; OLIVEIRA, M. N.; JUNIOR, J. M. B; ANDREA, A. N. Structural Elucidation by NMR Analysis Assisted by DFT Calculations of a Novel Natural Product from *Conchocarpus Mastigophorus* (Rutaceae). **Asian Journal of Organic Chemistry**, v. 11, n. 6, 2022b. DOI: 10.1002/AJOC.202200182

PINTO, B. N. S.; TEIXEIRA, M. G.; ALVARENGA, E. S. Synthesis and structural elucidation of a phthalide analog using NMR analysis and DFT calculations. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 58, n. 6, p. 559–565, 2020. DOI: 10.1002/mrc.4976

PŘICHYSTAL, J.; SCHUG, K. A.; LEMR, K.; NOVÁK, J.; HAVLICEK, V. Structural Analysis of Natural Products. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 21, p. 10338–10346, 2016. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b02386

RECH, C.; RIBEIRO, L. P.; BENTO, J. M. S.; POTT, C. A. NARDI, C. Monocrotaline presence in the *Crotalaria* (Fabaceae) plant genus and its influence on arthropods in agroecosystems. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. 1–14, 2022. DOI: 10.1590/1519-6984.256916

RICHARDS, W. G.; COOPER, D. L. **Ab Initio Molecular Orbital Calculations for Chemists**. Clarendon Press, 1983.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; BRYCE, D. L. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 8. ed. State University of New York: Wiley, 2014.

ROBINS, D. J. Biosynthesis of pyrrolizidine alkaloids. **Chemical Society Reviews**, v. 18, n. 0, p. 375–408, 1989. DOI: 10.1039/CS9891800375

SANDINI, T. M.; UDO, M. S. B.; SPINOSA, H. D. S. Senecio brasiliensis e alcaloides pirrolizidínicos: toxicidade em animais e na saúde humana. **Biotemas**, v. 26, n. 2, 2013.

SAROTTI, A. M. Successful combination of computationally inexpensive GIAO ¹³C NMR calculations and artificial neural network pattern recognition: a new strategy for simple and rapid detection of structural misassignments. **Org. Biomol. Chem.**, v. 11, n. 29, p. 4847–4859, 2013.

SILVA, A. J. **Utilização do modelo do PCM para obtenção de propriedades magnéticas de Chalconas**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Goiás, 2019.

SILVA-LOPEZ, R. E.; PACHECO, J. S. Genus *Crotalaria* L. (Leguminosae). Estado da Arte / State of the Art. **Revista Fitos**, v. 5, n. 3, p. 43–52, 2010.

SLICHTER, C. P. Principles of Magnetic Resonance. Springer Series in Solid-State Sciences. v. 1, 1990. DOI: 10.1007/978-3-662-09441-9

SMITH, S. G.; GOODMAN, J. M. Assigning the stereochemistry of pairs of diastereoisomers using GIAO NMR shift calculation. **Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 12, p. 4597–4607, 2009. DOI: 10.1021/jo900408d

SMITH, S. G.; GOODMAN, J. M. Assigning stereochemistry to single diastereoisomers by GIAO NMR calculation: The DP4 probability. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 37, p. 12946–12959, 2010. DOI: 10.1021/ja105035r

SPARTAN'14, WAVEFUNCTION INC.; IRVINE, 2014.

TEIXEIRA, M. G.; ALVARENGA, E. S. Characterization of novel isobenzofuranones by DFT calculations and 2D NMR analysis. **Magnetic Resonance in Chemistry**, p. 623–631, 2016. DOI: 10.1002/mrc.4411

THODEN, T. C.; BOPPRÉ, M. Plants producing pyrrolizidine alkaloids: sustainable tools for nematode management? **Nematology**, v. 12, n. 1, p. 1–24, 2010. DOI: 10.1163/138855409X12549869072248

TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum mechanical continuum solvation models. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 8, p. 2999–3093, 2005. DOI: 10.1021/cr9904009

TRIGO, J. R.; BROWN, K. S.; WITTE, L.; HARTMANN, T.; ERNST, L.; BARATA, L. E. S. Pyrrolizidine alkaloids: different acquisition and use patterns in Apocynaceae and Solanaceae feeding ithomiine butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 58, n. 1, p. 99–123, 1996. DOI: 10.1111/J.1095-8312.1996.TB01663.X

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. DA S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006. DOI: 10.1590/s0100-40422006000200025

ZANARDI, M. M.; SAROTTI, A. M. Sensitivity Analysis of DP4+ with the Probability Distribution Terms: Development of a Universal and Customizable Method. **Journal of Organic Chemistry**, v. 86, n. 12, p. 8544–8548, 2021. DOI: 10.1021/acs.joc.1c00987

APÊNDICE A

Tabela 3 – Dados de RMN experimental e tensores de blindagens calculados para as estruturas candidatas 1-4

Posição		Experimental		Tensores de Blindagem ¹³ C				Tensores de Blindagem ¹ H			
		δ_c (ppm)	δ_H (ppm)	EC1	EC2	EC3	EC4	EC1	EC2	EC3	EC4
C1	-	131,9	-	35,4863	36,3825	37,0264	36,8809	-	-	-	-
C2	H2	135,5	6,11	51,5448	53,4781	51,5872	54,1023	26,0235	26,1040	26,0263	26,1362
C3	H3	61,5	3,43	115,3744	116,5957	116,5141	116,0951	28,4631	28,5571	28,5441	28,5352
-	H3'	-	3,92	-	-	-	-	27,9480	27,9417	27,9380	27,9216
C5	H5	54,0	2,51	125,7248	125,5328	125,6186	125,5907	29,3501	29,4180	29,4254	29,4089
-	H5'	-	3,23	-	-	-	-	28,5690	28,6439	28,6328	28,6151
C6	H6	34,4	2,02	147,8394	148,3834	147,9580	148,4811	29,8994	29,7686	29,5783	29,8362
-	H6'	-	2,09	-	-	-	-	29,8448	29,8860	29,8037	29,8084
C7	H7	74,0	5,18	103,3778	103,5742	101,9756	104,1818	26,6029	26,8921	27,0360	26,8107
C8	H8	77,0	4,35	102,5762	101,9857	101,1727	101,6422	27,6624	27,5868	27,5560	27,6055
C9	H9	60,8	4,40	114,7947	117,6497	118,4744	116,2432	27,0967	26,8204	27,1104	26,9416
-	H9'	-	5,09	-	-	-	-	26,9178	27,0330	26,7373	27,0604
C11	-	176,8	-	4,5029	2,4012	2,4232	3,1572	-	-	-	-
C12	-	77,5	-	101,5435	102,2892	103,2746	103,8630	-	-	-	-
C13	H13	48,6	1,92	129,1942	128,5273	127,8884	131,4522	29,8088	29,6029	29,9661	29,4200
C14	-	49,0	-	130,4392	130,3882	130,2130	129,5811	-	-	-	-
C15	-	174,2	-	1,9201	1,8277	1,7736	2,4405	-	-	-	-
C17	H17	8,8	0,81	172,8637	173,3822	173,4896	173,6341	31,1005	31,1748	31,1093	31,1819
C18	H18	32,6	1,23	151,7003	147,4909	149,4986	147,4851	29,9196	30,1946	29,8601	30,2513
-	H18'	-	1,34	-	-	-	-	30,3991	30,4139	30,4079	30,5021
C19	H19	19,6	1,16	157,8401	166,6515	159,6224	167,9665	30,7054	30,8661	30,7734	30,9136
C20	H20	13,2	1,13	171,1450	171,9600	168,6437	173,0780	30,8127	30,8430	30,5849	30,7957
C21	H21	28,8	1,38	154,1256	161,1343	151,7891	153,1719	30,4704	30,6314	30,5866	30,5609

Tabela 4 – Dados de RMN experimental e tensores de blindagens calculados para as estruturas candidatas 5-8

Posição	Experimental		Tensores de Blindagem ¹³ C				Tensores de Blindagem ¹ H			
	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	EC5	EC6	EC7	EC8	EC5	EC6	EC7	EC8
C1	-	131,9	-	-	-	-	-	-	-	-
C2	H2	135,5	6,11	29,1779	36,1765	36,6850	37,6350	-	-	-
C3	H3	61,5	3,43	45,3646	52,5546	51,2271	53,6614	25,7915	26,0635	26,0039
-	H3'	-	3,92	118,7840	116,3475	116,5997	116,5389	28,6040	28,5440	28,5359
C5	H5	54,0	2,51	-	-	-	-	27,9880	27,9448	27,9450
-	H5'	-	3,23	129,0695	125,6265	125,4949	125,6443	29,5169	29,4128	29,4190
C6	H6	34,4	2,02	-	-	-	-	28,6689	28,6330	28,6425
-	H6'	-	2,09	150,7749	148,1759	147,7034	148,5395	29,9917	29,7377	29,5054
C7	H7	74,0	5,18	-	-	-	-	29,7523	29,9156	29,9153
C8	H8	77,0	4,35	106,6824	102,9830	101,5917	104,8853	26,6889	26,9916	27,1602
C9	H9	60,8	4,40	103,5191	102,0747	101,3325	101,2779	27,7028	27,6063	27,6371
-	H9'	-	5,09	118,9811	117,2754	119,0615	116,6231	27,0770	26,9887	27,2082
C11	-	176,8	-	-	-	-	-	27,0330	26,8795	26,6247
C12	-	77,5	-	6,3816	3,2938	2,1115	2,7571	-	-	-
C13	H13	48,6	1,92	103,7083	102,5516	103,1126	104,5320	-	-	-
C14	-	49,0	-	134,0554	128,3994	128,0418	130,8042	29,7945	29,7392	29,9173
C15	-	174,2	-	131,5763	131,0233	131,2863	130,5417	-	-	-
C17	H17	8,8	0,81	8,3491	1,3510	2,1384	2,2826	-	-	-
C18	H18	32,6	1,23	177,0102	173,2452	173,4595	173,1185	31,2758	31,1210	31,1282
-	H18'	-	1,34	147,7847	153,6026	146,1558	156,0656	30,5261	30,6499	30,0001
C19	H19	19,6	1,16	-	-	-	-	30,3216	29,9794	30,4954
C20	H20	13,2	1,13	169,9188	160,6620	163,8708	159,6894	30,8001	30,7310	30,7490
C21	H21	28,8	1,38	175,2876	171,1047	170,1440	173,6903	30,9500	30,8405	30,6804
				157,1882	158,7960	155,3205	152,6326	30,7269	30,6132	30,5821
										30,5524

Tabela 5 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 1 otimizada e mais estável

Átomo	Número Atômico	Coordenadas Cartesianas (x,y,z)		
1	6	-2.451058	-1.454555	-0.223197
2	6	-3.667340	-1.696629	-0.714654
3	6	-4.643424	-0.622395	-0.317129
4	7	-3.859852	0.267065	0.553274
5	6	-3.953303	1.710225	0.265216
6	6	-2.512259	2.226039	0.340024
7	6	-1.742119	1.023389	-0.188215
8	6	-2.440405	-0.145525	0.521510
9	6	-1.295908	-2.402379	-0.264644
10	8	-0.014547	-1.764583	-0.485344
11	6	0.740511	-1.543838	0.593958
12	6	2.233788	-1.412710	0.267899
13	6	2.615993	-0.256575	-0.703386
14	6	1.991305	1.151681	-0.387986
15	6	0.536440	1.109271	-0.863353
16	8	-0.355407	1.085919	0.139184
17	6	1.752765	2.996549	1.415136
18	6	2.117750	1.543713	1.099089
19	6	2.665843	2.214720	-1.281669
20	6	4.148140	-0.180787	-0.788360
21	6	2.611887	-2.787124	-0.325367
22	1	-3.948383	-2.563990	-1.305510
23	1	-5.029977	-0.086914	-1.199687
24	1	-5.511543	-1.040568	0.208124
25	1	-4.354758	1.875772	-0.745957
26	1	-4.615026	2.218584	0.972649
27	1	-2.353335	3.133047	-0.247967
28	1	-2.210346	2.416291	1.376051
29	1	-1.856988	0.927619	-1.271755
30	1	-2.014571	-0.249516	1.530932
31	1	-1.407548	-3.107880	-1.089801
32	1	-1.232635	-2.950334	0.679973
33	1	3.696935	-2.886396	-0.350411
34	1	2.224440	-3.584328	0.317001
35	1	2.205427	-2.913122	-1.330761
36	1	4.582913	-1.167787	-0.950994
37	1	4.462417	0.446075	-1.623097
38	1	4.574753	0.218511	0.134873
39	1	2.234192	-0.540393	-1.692928
40	1	2.085164	3.140210	-1.285120
41	1	3.667011	2.445381	-0.908868
42	1	2.737614	1.864916	-2.314117
43	1	1.495981	0.880355	1.705044
44	1	3.152322	1.357920	1.405388
45	1	2.463680	3.700836	0.975219
46	1	1.761926	3.155736	2.496658
47	1	0.751431	3.248149	1.052369
48	8	0.224367	1.107528	-2.033842
49	8	0.330115	-1.595631	1.732890
50	8	2.928611	-1.245675	1.484853
51	1	2.301115	-1.346513	2.218608

Tabela 6 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 2 otimizada e mais estável

Átomo	Número Atômico	Coordenadas Cartesianas (x,y,z)		
1	6	-2.379162	-1.420216	-0.286635
2	6	-3.634334	-1.851660	-0.407552
3	6	-4.594370	-0.940748	0.318015
4	7	-3.741519	0.110569	0.893239
5	6	-4.047551	1.490595	0.485575
6	6	-2.685860	2.187432	0.475167
7	6	-1.804790	1.100881	-0.128163
8	6	-2.331190	-0.172912	0.556957
9	6	-1.138636	-1.970845	-0.914321
10	8	-0.051548	-1.701095	-0.006056
11	6	1.192165	-1.840294	-0.491525
12	6	2.231453	-1.437731	0.568479
13	6	2.137458	0.085400	0.942217
14	6	1.919931	1.122342	-0.219122
15	6	0.494222	0.988521	-0.759087
16	8	-0.421959	1.306389	0.174177
17	6	1.531387	3.674178	-0.569705
18	6	2.035093	2.564331	0.355634
19	6	2.902212	0.946653	-1.381722
20	6	3.330147	0.446345	1.838813
21	6	3.606086	-1.924828	0.124913
22	1	-3.953510	-2.735143	-0.952988
23	1	-5.337465	-0.510870	-0.371017
24	1	-5.152457	-1.478652	1.095253
25	1	-4.488461	1.517785	-0.525674
26	1	-4.756078	1.961704	1.173135
27	1	-2.682359	3.116210	-0.099936
28	1	-2.350357	2.397111	1.496655
29	1	-1.931609	1.049066	-1.213678
30	1	-1.722523	-0.334348	1.459693
31	1	-0.913142	-1.463297	-1.858619
32	1	-1.201825	-3.047554	-1.095659
33	1	3.546509	-2.991617	-0.099635
34	1	3.960137	-1.407149	-0.764744
35	1	4.321459	-1.782836	0.935614
36	1	3.497066	-0.353617	2.563940
37	1	4.250315	0.583656	1.261690
38	1	3.141573	1.363704	2.398305
39	1	1.234436	0.157210	1.563460
40	1	2.789993	1.758155	-2.103892
41	1	2.728298	0.014368	-1.921837
42	1	3.930619	0.963234	-1.009098
43	1	1.486729	2.613585	1.302649
44	1	3.090943	2.744605	0.583134
45	1	0.460551	3.576733	-0.774207
46	1	2.060282	3.685780	-1.526437
47	1	1.685870	4.648478	-0.098689
48	8	0.207357	0.665500	-1.890728
49	8	1.432800	-2.216926	-1.612551
50	8	1.942751	-2.192096	1.742060
51	1	1.034858	-1.999117	2.027070

Tabela 7 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 3 otimizada e mais estável

Átomo	Número Atômico	Coordenadas Cartesianas (x,y,z)		
1	6	2.625940	1.331530	0.447498
2	6	3.903979	1.546760	0.133960
3	6	4.666879	0.252300	0.034256
4	7	3.675710	-0.777094	0.378530
5	6	3.528944	-1.888599	-0.572464
6	6	2.033288	-2.208009	-0.565241
7	6	1.425388	-0.809806	-0.448187
8	6	2.356293	-0.144986	0.583614
9	6	1.572736	2.352016	0.726634
10	8	0.442884	2.094376	-0.130360
11	6	-0.727331	1.731142	0.420878
12	6	-1.766468	1.461417	-0.673846
13	6	-2.805884	0.362657	-0.333933
14	6	-2.261871	-1.085949	-0.006152
15	6	-0.896618	-1.331126	-0.654707
16	8	0.091064	-0.752595	0.056915
17	6	-1.538073	-2.693317	1.904744
18	6	-2.130003	-1.334048	1.521424
19	6	-3.250817	-2.087559	-0.621614
20	6	-3.855490	0.819182	0.687680
21	6	-2.447657	2.818775	-0.932649
22	1	4.361342	2.520717	-0.016328
23	1	5.064239	0.101046	-0.982374
24	1	5.524869	0.234645	0.718608
25	1	3.838241	-1.581682	-1.585472
26	1	4.141515	-2.748218	-0.284208
27	1	1.705391	-2.749618	-1.451675
28	1	1.765000	-2.786930	0.326602
29	1	1.455389	-0.289239	-1.415071
30	1	1.943012	-0.375437	1.580603
31	1	1.922848	3.361621	0.501762
32	1	1.236825	2.302740	1.766159
33	1	-2.847380	3.258415	-0.016349
34	1	-1.715420	3.510002	-1.360272
35	1	-3.257855	2.682370	-1.654628
36	1	-3.399267	1.091687	1.641872
37	1	-4.411675	1.679848	0.311265
38	1	-4.585246	0.025342	0.865723
39	1	-3.320082	0.257540	-1.298929
40	1	-3.307539	-1.955109	-1.704315
41	1	-4.247721	-1.937696	-0.195713
42	1	-2.948413	-3.119598	-0.433578
43	1	-1.530909	-0.535550	1.965907
44	1	-3.131198	-1.260707	1.957693
45	1	-0.538476	-2.834987	1.482659
46	1	-2.166860	-3.524847	1.575890
47	1	-1.444818	-2.765563	2.991783
48	8	-0.692555	-1.996379	-1.643321
49	8	-0.954132	1.732844	1.607985
50	8	-1.147509	1.018747	-1.867865
51	1	-0.353215	1.548641	-2.035528

Tabela 8 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 4 otimizada e mais estável

Átomo	Número Atômico	Coordenadas Cartesianas (x,y,z)		
1	6	-2.377679	-1.401150	-0.315743
2	6	-3.633261	-1.823684	-0.456866
3	6	-4.594572	-0.924589	0.280420
4	7	-3.741334	0.106156	0.891149
5	6	-4.041993	1.497938	0.522565
6	6	-2.678562	2.190227	0.533833
7	6	-1.801948	1.118285	-0.099100
8	6	-2.329544	-0.171824	0.555011
9	6	-1.133071	-1.955168	-0.931757
10	8	-0.057524	-1.648898	-0.020203
11	6	1.182226	-1.832722	-0.467915
12	6	2.230779	-1.410886	0.563907
13	6	2.126803	0.094217	0.968605
14	6	1.917677	1.111503	-0.210566
15	6	0.488259	0.994130	-0.737343
16	8	-0.418891	1.317903	0.202139
17	6	1.546292	3.651821	-0.618780
18	6	2.065229	2.564201	0.323547
19	6	2.889066	0.881763	-1.373258
20	6	3.361943	0.455069	1.806023
21	6	2.003018	-2.325043	1.782619
22	1	-3.952735	-2.695270	-1.021060
23	1	-5.329666	-0.473314	-0.403437
24	1	-5.161815	-1.479233	1.039085
25	1	-4.482332	1.556034	-0.487686
26	1	-4.749746	1.949718	1.223564
27	1	-2.670938	3.133844	-0.016320
28	1	-2.343875	2.371774	1.561117
29	1	-1.935131	1.093773	-1.184938
30	1	-1.725209	-0.355276	1.456307
31	1	-0.907362	-1.465797	-1.885396
32	1	-1.182718	-3.036574	-1.086378
33	1	2.830753	-2.212561	2.483614
34	1	1.061277	-2.092444	2.284499
35	1	1.983794	-3.369540	1.457194
36	1	3.544481	-0.295889	2.576359
37	1	4.258779	0.509519	1.183915
38	1	3.225900	1.410031	2.315040
39	1	1.240638	0.180919	1.609750
40	1	3.917032	0.866378	-1.004725
41	1	2.691002	-0.060315	-1.886366
42	1	2.792266	1.678784	-2.114195
43	1	1.541934	2.644430	1.283028
44	1	3.128575	2.738410	0.517065
45	1	2.033627	3.617515	-1.596991
46	1	1.740485	4.638250	-0.189525
47	1	0.465892	3.569062	-0.774465
48	8	0.188956	0.675026	-1.867661
49	8	1.454507	-2.331828	-1.537781
50	8	3.512864	-1.677617	0.035053
51	1	3.411172	-2.126543	-0.820673

Tabela 9 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 5 otimizada e mais estável

Átomo	Número Atômico	Coordenadas Cartesianas (x,y,z)		
1	6	2.553307	-1.294569	0.393235
2	6	3.841149	-1.571867	0.590819
3	6	4.725396	-0.611543	-0.165352
4	7	3.788733	0.303544	-0.835308
5	6	3.924423	1.726334	-0.490868
6	6	2.501688	2.269489	-0.605797
7	6	1.699370	1.132326	0.014571
8	6	2.403137	-0.120612	-0.542516
9	6	1.349892	-1.954647	0.987787
10	8	0.286031	-1.774666	0.035389
11	6	-0.961877	-1.939085	0.481349
12	6	-2.012326	-1.491115	-0.549272
13	6	-2.809340	-0.266651	0.015004
14	6	-2.052952	1.115612	0.012567
15	6	-0.623163	0.926580	0.524542
16	8	0.323564	1.204721	-0.386983
17	6	-2.108792	3.422574	1.186215
18	6	-2.724593	2.027521	1.075526
19	6	-2.087440	1.806826	-1.360138
20	6	-4.149555	-0.135041	-0.721525
21	6	-2.916468	-2.710725	-0.760418
22	1	4.231717	-2.378954	1.203976
23	1	5.395996	-0.060441	0.510924
24	1	5.361240	-1.137476	-0.889165
25	1	4.292893	1.853893	0.541594
26	1	4.624435	2.231204	-1.162764
27	1	2.360051	3.223650	-0.093321
28	1	2.213623	2.381061	-1.656827
29	1	1.752269	1.158683	1.106963
30	1	1.873727	-0.420905	-1.460258
31	1	1.044030	-1.466613	1.919453
32	1	1.500179	-3.021464	1.174699
33	1	-2.300042	-3.578329	-1.009137
34	1	-3.488800	-2.931484	0.142974
35	1	-3.595117	-2.523296	-1.593476
36	1	-3.999884	-0.132096	-1.805757
37	1	-4.815458	-0.961941	-0.469057
38	1	-4.666847	0.787076	-0.449836
39	1	-3.010125	-0.508419	1.067233
40	1	-1.424295	2.673418	-1.375653
41	1	-1.789220	1.135123	-2.165660
42	1	-3.102789	2.156770	-1.566663
43	1	-3.785982	2.123308	0.826405
44	1	-2.661565	1.521815	2.043839
45	1	-2.562188	3.968944	2.017219
46	1	-2.265128	4.011401	0.278422
47	1	-1.030647	3.372925	1.378190
48	8	-0.367951	0.578043	1.658473
49	8	-1.236819	-2.394569	1.566365
50	8	-1.429767	-1.217820	-1.809404
51	1	-0.584827	-0.756780	-1.692237

Tabela 10 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 6 otimizada e mais estável

Átomo	Número Atômico	Coordenadas Cartesianas (x,y,z)		
1	6	2.436927	-1.288181	0.440567
2	6	3.687672	-1.706573	0.632716
3	6	4.670555	-0.852069	-0.129140
4	7	3.837682	0.155457	-0.803348
5	6	4.130517	1.559032	-0.475788
6	6	2.773291	2.254716	-0.577524
7	6	1.858481	1.216027	0.059139
8	6	2.415437	-0.108288	-0.497886
9	6	1.179654	-1.808485	1.060512
10	8	0.127960	-1.634759	0.090177
11	6	-1.133442	-1.756880	0.533852
12	6	-2.128983	-1.456651	-0.599106
13	6	-2.003054	0.016379	-1.127107
14	6	-1.866240	1.185833	-0.082777
15	6	-0.472242	1.118099	0.552468
16	8	0.496320	1.405384	-0.335403
17	6	-3.009366	2.366082	1.920391
18	6	-2.924834	1.120149	1.035317
19	6	-1.949535	2.535198	-0.832111
20	6	-3.127834	0.271852	-2.140317
21	6	-3.523435	-1.889315	-0.163870
22	1	3.987785	-2.549573	1.248533
23	1	5.396041	-0.373866	0.546385
24	1	5.247668	-1.446328	-0.849336
25	1	4.524299	1.654644	0.550752
26	1	4.872190	1.981050	-1.160281
27	1	2.746033	3.221557	-0.070204
28	1	2.486216	2.392054	-1.625650
29	1	1.923470	1.247145	1.150855
30	1	1.843117	-0.346214	-1.407573
31	1	0.906152	-1.232083	1.950534
32	1	1.253871	-2.865871	1.330222
33	1	-3.489492	-2.943420	0.118782
34	1	-3.884395	-1.318636	0.689631
35	1	-4.218519	-1.777872	-0.997112
36	1	-4.080859	0.491523	-1.648526
37	1	-2.886062	1.109179	-2.796501
38	1	-3.262465	-0.612119	-2.767763
39	1	-1.056871	0.022561	-1.686691
40	1	-1.597159	3.353180	-0.198532
41	1	-1.333480	2.523541	-1.733830
42	1	-2.984753	2.748605	-1.111760
43	1	-3.902118	0.950477	0.567943
44	1	-2.711047	0.254725	1.669637
45	1	-3.700814	2.188257	2.748207
46	1	-3.375638	3.235513	1.367879
47	1	-2.034490	2.613298	2.349891
48	8	-0.248221	0.856066	1.714137
49	8	-1.418819	-2.058411	1.666757
50	8	-1.798906	-2.331108	-1.675920
51	1	-0.880533	-2.168451	-1.946058

Tabela 11 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 7 otimizada e mais estável

Átomo	Número Atômico	Coordenadas Cartesianas (x,y,z)		
1	6	-2.798881	-1.183652	0.332339
2	6	-4.074420	-1.265831	-0.047121
3	6	-4.740811	0.084034	-0.015126
4	7	-3.695775	0.989930	0.480942
5	6	-3.437007	2.193991	-0.321509
6	6	-1.922347	2.393270	-0.245757
7	6	-1.423633	0.948912	-0.274059
8	6	-2.432931	0.243465	0.649002
9	6	-1.830689	-2.304644	0.517288
10	8	-0.662097	-2.039925	-0.285135
11	6	0.525127	-1.878151	0.322429
12	6	1.614013	-1.564354	-0.711600
13	6	2.716275	-0.589137	-0.223296
14	6	2.257414	0.843671	0.252440
15	6	0.939942	1.243111	-0.417548
16	8	-0.114068	0.737957	0.254419
17	6	3.179401	3.273186	0.312915
18	6	3.342109	1.845125	-0.207327
19	6	2.066658	0.916602	1.781762
20	6	3.679840	-1.228403	0.784060
21	6	2.204063	-2.929559	-1.110656
22	1	-4.592016	-2.179060	-0.327276
23	1	-5.084894	0.381750	-1.018662
24	1	-5.622646	0.084384	0.638189
25	1	-3.738987	2.037359	-1.370215
26	1	-3.991548	3.057232	0.058468
27	1	-1.529425	3.000879	-1.060136
28	1	-1.634762	2.846583	0.710396
29	1	-1.458453	0.542554	-1.294105
30	1	-2.042147	0.326794	1.677278
31	1	-2.247283	-3.254499	0.175843
32	1	-1.518598	-2.394270	1.561399
33	1	1.435036	-3.515118	-1.622787
34	1	3.036619	-2.771122	-1.801952
35	1	2.553199	-3.494503	-0.243860
36	1	4.211886	-2.067798	0.332627
37	1	4.436271	-0.506638	1.101290
38	1	3.153018	-1.587910	1.670835
39	1	3.275562	-0.414416	-1.153411
40	1	1.570698	1.849596	2.061888
41	1	1.462871	0.088867	2.153271
42	1	3.040130	0.893836	2.279813
43	1	3.343647	1.857013	-1.301943
44	1	4.317397	1.456702	0.109355
45	1	3.310689	3.329115	1.396699
46	1	2.192822	3.674618	0.062819
47	1	3.927991	3.926992	-0.142359
48	8	0.820770	1.963960	-1.380190
49	8	0.723364	-2.087936	1.495300
50	8	1.063330	-0.945334	-1.858959
51	1	0.228222	-1.378046	-2.092960

Tabela 12 – Coordenadas cartesianas da estrutura candidata 8 otimizada e mais estável

Átomo	Número Atômico	Coordenadas Cartesianas (x,y,z)		
1	6	-2.436140	-1.280617	-0.446977
2	6	-3.686190	-1.691807	-0.656941
3	6	-4.674396	-0.833316	0.092413
4	7	-3.843455	0.155739	0.794039
5	6	-4.130009	1.568039	0.503717
6	6	-2.768303	2.254925	0.611476
7	6	-1.859881	1.223086	-0.044214
8	6	-2.419242	-0.105951	0.498076
9	6	-1.175239	-1.811205	-1.049938
10	8	-0.129722	-1.591559	-0.079832
11	6	1.125074	-1.734876	-0.502140
12	6	2.136050	-1.420657	0.602094
13	6	2.008885	0.034936	1.155088
14	6	1.864455	1.182189	0.085537
15	6	0.468296	1.100810	-0.538840
16	8	-0.496198	1.405924	0.347973
17	6	2.994948	2.303770	-1.955640
18	6	2.917907	1.082566	-1.036589
19	6	1.951241	2.553221	0.793142
20	6	3.188230	0.301212	2.102115
21	6	1.872349	-2.460939	1.709607
22	1	-3.983351	-2.530924	-1.279516
23	1	-5.379424	-0.339762	-0.594218
24	1	-5.274492	-1.427913	0.793454
25	1	-4.533386	1.690582	-0.516041
26	1	-4.862770	1.978169	1.205027
27	1	-2.738371	3.229082	0.118500
28	1	-2.476237	2.376212	1.660235
29	1	-1.930675	1.268416	-1.135062
30	1	-1.852960	-0.350528	1.409818
31	1	-0.903057	-1.262142	-1.957047
32	1	-1.238183	-2.878177	-1.281606
33	1	0.935501	-2.258979	2.233455
34	1	1.822447	-3.459873	1.265938
35	1	2.699957	-2.457683	2.419210
36	1	3.039697	1.220247	2.669597
37	1	3.294127	-0.504977	2.829560
38	1	4.128328	0.374170	1.549866
39	1	1.084860	0.056390	1.747534
40	1	1.580896	3.349253	0.141742
41	1	1.351863	2.564247	1.706424
42	1	2.989570	2.783916	1.044966
43	1	3.894099	0.913160	-0.571473
44	1	2.703248	0.198453	-1.643239
45	1	3.356010	3.191030	-1.428122
46	1	2.019959	2.534893	-2.394214
47	1	3.689356	2.107108	-2.776974
48	8	0.238409	0.835482	-1.699258
49	8	1.435397	-2.149510	-1.597126
50	8	3.434607	-1.634797	0.091813
51	1	3.359014	-1.971166	-0.816544

Tabela 13 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 1

Nome do Arquivo	Energia calculada (kcal)	Energia relativa (kcal)	Fator de Boltzmann	Fração molar equivalente
EC1-opt_freq-conf-1.out	-710496.4	0.6	0.34342	0.12796
EC1-opt_freq-conf-2.out	-710496.9	0.04	0.92846	0.34594
EC1-opt_freq-conf-3.out	-710496.4	0.5	0.36482	0.13593
EC1-opt_freq-conf-4.out	-710497.0	0.0	1.00000	0.37260
EC1-opt_freq-conf-6.out	-710494.8	2.2	0.02368	0.00882
EC1-opt_freq-conf-7.out	-710493.4	3.6	0.00227	0.00084
EC1-opt_freq-conf-8.out	-710493.2	3.7	0.00171	0.00064
EC1-opt_freq-conf-9.out	-710493.8	3.1	0.00489	0.00182
EC1-opt_freq-conf-12.out	-710494.5	2.5	0.01452	0.00541

Tabela 14 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 2

Nome do Arquivo	Energia calculada (kcal)	Energia relativa (kcal)	Fator de Boltzmann	Fração molar equivalente
EC2-opt_freq-conf-1.out	-710495.6	3.7	0.00163	0.00105
EC2-opt_freq-conf-2.out	-710495.1	4.3	0.00065	0.00042
EC2-opt_freq-conf-3.out	-710498.6	0.8	0.23872	0.15404
EC2-opt_freq-conf-4.out	-710499.4	0.0	1.00000	0.64527
EC2-opt_freq-conf-5.out	-710497.4	2.0	0.03157	0.02037
EC2-opt_freq-conf-6.out	-710498.4	0.9	0.18548	0.11968
EC2-opt_freq-conf-7.out	-710498.0	1.4	0.08877	0.05728
EC2-opt_freq-conf-10.out	-710495.1	4.3	0.00069	0.00045
EC2-opt_freq-conf-11.out	-710495.7	3.6	0.00197	0.00127
EC2-opt_freq-conf-12.out	-710494.4	4.9	0.00022	0.00014

Tabela 15 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 3

Nome do Arquivo	Energia calculada (kcal)	Energia relativa (kcal)	Fator de Boltzmann	Fração molar equivalente
EC3-opt_freq-conf-1.out	-710498.6	0.2	0.69658	0.24350
EC3-opt_freq-conf-2.out	-710498.7	0.04	0.93043	0.32525
EC3-opt_freq-conf-3.out	-710497.2	1.6	0.06561	0.02293
EC3-opt_freq-conf-4.out	-710498.8	0.0	1.00000	0.34956
EC3-opt_freq-conf-5.out	-710496.7	2.0	0.02897	0.01012
EC3-opt_freq-conf-6.out	-710497.2	1.6	0.06561	0.02293
EC3-opt_freq-conf-7.out	-710496.4	2.3	0.01903	0.00665
EC3-opt_freq-conf-10.out	-710494.6	4.2	0.00081	0.00028
EC3-opt_freq-conf-11.out	-710496.4	2.3	0.01903	0.00665
EC3-opt_freq-conf-12.out	-710496.8	1.9	0.03454	0.01207

Tabela 16 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 4

Nome do Arquivo	Energia calculada (kcal)	Energia relativa (kcal)	Fator de Boltzmann	Fração molar equivalente
EC4-opt_freq-conf-1.out	-710501.8	0.0	1.00000	0.76247
EC4-opt_freq-conf-2.out	-710499.8	2.0	0.03382	0.02579
EC4-opt_freq-conf-3.out	-710498.6	3.1	0.00459	0.00350
EC4-opt_freq-conf-4.out	-710500.2	1.5	0.06731	0.05132
EC4-opt_freq-conf-6.out	-710498.9	2.9	0.00721	0.00550
EC4-opt_freq-conf-9.out	-710499.6	2.1	0.02535	0.01932
EC4-opt_freq-conf-12.out	-710500.8	1.0	0.17312	0.13200

Tabela 17 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 5

Nome do Arquivo	Energia calculada (kcal)	Energia relativa (kcal)	Fator de Boltzmann	Fração molar equivalente
EC5-opt_freq-conf-1.out	-710498.2	0.0	1.00000	0.65690
EC5-opt_freq-conf-2.out	-710496.8	1.3	0.10017	0.06580
EC5-opt_freq-conf-5.out	-710494.4	3.7	0.00173	0.00114
EC5-opt_freq-conf-6.out	-710495.6	2.6	0.01185	0.00778
EC5-opt_freq-conf-7.out	-710497.6	0.6	0.36059	0.23687
EC5-opt_freq-conf-8.out	-710495.5	2.6	0.01050	0.00689
EC5-opt_freq-conf-9.out	-710494.4	3.7	0.00173	0.00114
EC5-opt_freq-conf-10.out	-710496.0	2.2	0.02404	0.01579
EC5-opt_freq-conf-11.out	-710495.5	2.6	0.01165	0.00765

Tabela 18 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 6

Nome do Arquivo	Energia calculada (kcal)	Energia relativa (kcal)	Fator de Boltzmann	Fração molar equivalente
EC6-opt_freq-conf-1.out	-710496.1	2.1	0.02581	0.01469
EC6-opt_freq-conf-3.out	-710497.7	0.6	0.34197	0.19467
EC6-opt_freq-conf-4.out	-710498.3	0.0	1.00000	0.56927
EC6-opt_freq-conf-5.out	-710497.5	0.8	0.25198	0.14345
EC6-opt_freq-conf-6.out	-710496.1	2.2	0.02383	0.01357
EC6-opt_freq-conf-7.out	-710496.7	1.5	0.06955	0.03959
EC6-opt_freq-conf-8.out	-710494.9	3.3	0.00325	0.00185
EC6-opt_freq-conf-10.out	-710495.8	2.5	0.01361	0.00775
EC6-opt_freq-conf-12.out	-710496.2	2.1	0.02647	0.01507

Tabela 19 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 7

Nome do Arquivo	Energia calculada (kcal)	Energia relativa (kcal)	Fator de Boltzmann	Fração molar equivalente
EC7-opt_freq-conf-2.out	-710498.3	0.5	0.42635	0.18844
EC7-opt_freq-conf-3.out	-710497.4	1.4	0.09300	0.04110
EC7-opt_freq-conf-5.out	-710498.8	0.0	1.00000	0.44198
EC7-opt_freq-conf-6.out	-710498.5	0.2	0.62518	0.27631
EC7-opt_freq-conf-7.out	-710496.3	2.5	0.01357	0.00600
EC7-opt_freq-conf-8.out	-710496.3	2.4	0.01503	0.00664
EC7-opt_freq-conf-10.out	-710497.3	1.5	0.07295	0.03224
EC7-opt_freq-conf-11.out	-710494.9	3.8	0.00139	0.00061
EC7-opt_freq-conf-12.out	-710496.3	2.4	0.01503	0.00664

Tabela 20 – Energia calculada, energia relativa, fator de Boltzmann e fração molar equivalente para os confórmeros da estrutura candidata 8

Nome do Arquivo	Energia calculada (kcal)	Energia relativa (kcal)	Fator de Boltzmann	Fração molar equivalente
EC8-opt_freq-conf-1.out	-710500.8	0.0	1.00000	0.48669
EC8-opt_freq-conf-2.out	-710499.1	1.7	0.05302	0.02580
EC8-opt_freq-conf-3.out	-710496.4	4.3	0.00062	0.00030
EC8-opt_freq-conf-5.out	-710496.1	4.7	0.00034	0.00016
EC8-opt_freq-conf-6.out	-710496.7	4.0	0.00098	0.00047
EC8-opt_freq-conf-8.out	-710496.8	3.9	0.00124	0.00060
EC8-opt_freq-conf-10.out	-710496.1	4.6	0.00037	0.00018
EC8-opt_freq-conf-12.out	-710495.8	5.0	0.00020	0.00010

Painel apresentado no SIA-UFV 2022



Simpósio de Integração Acadêmica

"Bicentenário da Independência: 200 anos de ciência, tecnologia e inovação no Brasil e 96 anos de contribuição da UFV"

SIA UFV 2022



CÁLCULOS TEÓRICOS COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR NA ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE UM PRODUTO NATURAL

Vitor da Cunha Baía (vitor@ufv.br), Elson Santiago de Alvarenga (elson@ufv.br), Ramon Prata de Oliveira, Antônio Jacinto Demuner, Bryan Nickson Santana Pinto
Departamento de Química (DEQ) - Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Palavras-Chave: alcalóide pirrolizidínico, produto natural, espectroscopia.

Área Temática/Grande Área: Química Teórica/Química - Categoria do trabalho: Pesquisa

Introdução

Um dos grandes desafios da área de produtos naturais é a correta elucidação estrutural de compostos orgânicos isolados. As técnicas de espectroscopia tradicionais nem sempre são suficientes para estabelecer inequivocamente a estrutura correta da molécula estudada. Recentemente, ferramentas complementares envolvendo cálculos teóricos baseados em mecânica quântica têm sido utilizadas para determinar e/ou confirmar a estereoquímica de estruturas orgânicas. Um dos métodos de cálculo é baseado na Teoria do Funcional da Densidade (DFT), apresentando excelentes resultados [1]. A predição computacional de RMN fornece valores de deslocamentos químicos que são comparados com os valores experimentais através de métodos estatísticos. Assim é possível definir o conjunto de dados de deslocamento químico calculados que melhor se ajusta aos dados experimentais. Estudos recentes com a planta *Crotalaria paulina* (Figura 1) obtiveram o isolamento de compostos orgânicos com potencial antibacteriano [2].



Figura 1 - *Crotalaria paulina*. Jardim Botânico de Brasília, Brasília, DF, Brasil. Foto de Mauricio Mercadante

Objetivo

Este trabalho teve por objetivo auxiliar a elucidação estrutural de um alcalóide pirrolizidínico isolado da planta *Crotalaria paulina*, através da aplicação de ferramentas computacionais envolvendo cálculos teóricos baseados em

DFT e método estatístico DP4+

Materiais e Métodos

A metodologia consistiu em desenhar a estrutura proposta em um software de modelagem molecular, pesquisar os conformeros e gerar os arquivos de entrada para submetê-los ao software de cálculo, além de tratar e interpretar os resultados e propor a estrutura que mais se adequa aos dados experimentais. Oito estruturas candidatas (Figura 2) foram desenhadas no software Spartan 14 e uma busca conformacional foi realizada. Os conformeros foram submetidos à otimização geométrica e cálculo de frequência usando DFT no nível de teoria M06-2X/6-31+ G(d,p).

Os deslocamentos químicos foram obtidos a partir dos valores do tensor de blindagem de RMN, que foram calculados para cada estrutura candidata no nível B3LYP/6-311+G(2d,p) através do software Gaussian 16.

Resultados e Discussão

A fórmula estrutural do produto natural está representada na Figura 2 e foi definida a partir do estudo dos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC e COSY. Esse composto indicou a presença de uma bislactona macrocíclica, em que os principais sinais no espectro de RMN de ^1H e ^{13}C apresentaram dois simpletos metílicos, dois simpletos metilênicos, um tripleto metílico, um grupo metileno e metino oxigenados, dois grupos carbonílicos, dois carbonos amino metilênicos, entre outros.

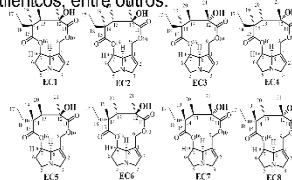


Figura 2 - Oito estruturas candidatas (EC1-EC8) do alcalóide pirrolizidínico isolado de *Crotalaria paulina*.

Os resultados dos cálculos teóricos foram submetidos a análise estatística DP4+, que comparou o conjunto disponível de dados experimentais com os dados teóricos das oito estruturas candidatas [3].

Conclusões

O resultado preliminar do DP4+ indicou que a estrutura candidata 3 é a que mais se correlacionou com os valores de deslocamentos químicos experimentais. Cálculos teóricos se constituem poderosa ferramenta quando associado aos métodos espectrométricos para elucidação estrutural.

Bibliografia

- [1] Pinto B. N. S., Moura G. A., Demuner A. J., Alvarenga E. S. Structural elucidation of a novel pyrrolizidine alkaloid isolated from *Crotalaria retusa* L. *J Mol Struct.* 15 de abril de 2022;1254.
- [2] Oliveira R. P., Demuner A. J., Alvarenga E. S., Barbosa L. C. A. A novel alkaloid isolated from *Crotalaria paulina* and identified by NMR and DFT calculations. *J Mol Struct.* 15 de janeiro de 2018;1152:337-43.
- [3] Grimblat N., Zanardi M. M., Sarotti A. M. Beyond DP4: An Improved Probability for the Stereochemical Assignment of Isomeric Compounds using Quantum Chemical Calculations of NMR Shifts. *J Org Chem.* 2015;80(24):12526-34.