

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

DAIANE DE SOUZA CARVALHO

**GÉIS POLIMÉRICOS APLICADOS À ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE
MOLÉCULAS ORGÂNICAS EM RMN**

Recife

2019

DAIANE DE SOUZA CARVALHO

**GÉIS POLIMÉRICOS APLICADOS À ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE
MOLÉCULAS ORGÂNICAS EM RMN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência de Materiais do Centro de Ciências Exatas e da
Natureza da Universidade Federal de Pernambuco para a
obtenção do título de mestre em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Materiais Não Metálicos

Orientador: Prof. Dr. Armando Juan Navarro Vazquez

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Hallwass

Recife

2019

Catálogo na fonte
Bibliotecária Mariana de Souza Alves CRB4-2105

C331g Carvalho, Daiane de Souza
Géis poliméricos aplicados à elucidação estrutural de moléculas orgânicas em RMN/ Daiane de Souza Carvalho – 2019.
69 f., fig.; tab.

Orientador: Armando Juan Navarro Vazquez.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Ciência de Materiais. Recife, 2019.
Inclui referências.

1. Materiais Não Metálicos. 2. Géis. 3. Elucidação estrutural.
4. RMN. I. Navarro Vazquez, Armando Juan (orientador). II. Título.

620.19 CDD (22. ed.) UFPE - CCEN 2020-14

DAIANE DE SOUZA CARVALHO

**GÉIS POLIMÉRICOS APLICADOS À ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE
MOLÉCULAS ORGÂNICAS EM RMN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 25/03/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Armando Juan Navarro Vazquez (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Celso Pinto de Melo (Examinador Interno)
Universidade de Pernambuco

Prof. Walter Mendes de Azevedo (Examinador Interno)
Universidade de Pernambuco

Prof. Wilson Barros Júnior (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

*Aos meus pais, Pedro e Neuza e ao meu esposo, Danilo
por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos.
Meu amor por vocês é eterno!*

AGRADECIMENTOS

Á Deus primeiramente por me dar coragem e determinação para seguir em frente em toda minha caminhada acadêmica;

Á minha família por toda força e apoio durante tempos bons e ruins, a minha mãe Neuza e meu pai Pedro por nunca terem deixado nada faltar mesmo em momentos de grande dificuldade, por todo apoio moral, afeto e carinho.

Ao meu esposo Danilo Bernardo pela paciência, incentivo e conhecimentos compartilhados;

Aos meus amigos de laboratório Cleyton, Gabriela, Adonias, Higor, Eric, Letícia e Gerson pelos momentos de descontração e companheirismo;

Ao meu orientador Armando Navarro pela contribuição na minha vida acadêmica e pela disponibilidade em sempre me ajudar.

Ao meu co-orientador Fernando Hallwass pela paciência e pelos conhecimentos compartilhados durante esse período;

Aos técnicos da Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE, em especial a Eliete e Abene pelo trabalho prestado e pela contribuição na realização das análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN);

Á Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa de mestrado;

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco pela minha formação.

RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidos meios de alinhamento com base na metodologia dos géis indutores de alinhamento (do inglês, *strain-induced alignment in a gel* – SAG), sendo avaliada a eficiência de três meios de alinhamento diferentes: poliacrilonitrila (PAN) em DMSO- d_6 , *N*-vinil-2-pirrolidona/acrilonitrila (NVP/AN) em $CDCl_3$, e *N,N*-dimetilacrilamida em D_2O para o estudo de parâmetros anisotrópicos de Ressonância Magnética Nuclear – RMN, como o acoplamento dipolar residual (do inglês, *Residual Dipolar Coupling* – RDC) e anisotropia do deslocamento químico residual (do inglês, *Residual Chemical Shift Anisotropy*). As moléculas testes para realização deste estudo foram a brucina e α -santonina, dois produtos naturais com vários centros estereogênicos. Para a elucidação estrutural das moléculas foram realizados espectros de 1H , 2H , ^{13}C e HSQC. Para a determinação do espaço conformacional de todos os diastereoisômeros foram executados cálculos de mecânica molecular, usando o campo de força MMFF94. As estruturas obtidas foram então refinadas no nível de DFT os tensores de blindagem química foram calculados mediante o método DFT/GIAO. O experimento realizado com o gel PAN para a brucina forneceu valores apropriados de RDC, na faixa -33,6 a +34,1 Hz. Um fator de qualidade Q de 0,093 foi obtido para a configuração correta da brucina. Já o RCSA proporcionou um fator de qualidade $Q=0,125$ para a estrutura correta. Para a α -Santonina usando o gel de PAN foi possível obter valores de RDC na faixa de -15,6 a +14,5 Hz e um fator de qualidade $Q= 0,026$ para a estrutura correta, além de um fator de qualidade Q de 0,089 para a estrutura correta obtido através do RCSA. Para os géis de *N*-vinil-2-pirrolidona/acrilonitrila (NVP/AN) não foi possível obter nenhum valor de RDC, pois no espectro de HSQC foram observados muitos sinais do gel que se sobrepunham com os sinais da brucina, além de que nem todos os sinais da brucina apareceram no espectro. Já géis autorreticulados de *N,N*-dimetilacrilamida não se mostraram eficientes como meio de alinhamento em experimentos iniciais.

Palavras-chave: Géis. Elucidação estrutural. RMN. RDC. RCSA.

ABSTRACT

In this work, alignment media were developed based on the methodology of strain-induced alignment in gel (SAG), and the efficiency of three different alignment media: polyacrylonitrile (PAN) in DMSO- d_6 , *N*-vinyl-2-pyrrolidone / acrylonitrile (NVP / AN) in CDCl₃, and *N,N*-dimethylacrylamide in D₂O for the study of anisotropic parameters of Nuclear Magnetic Resonance (NMR) such as residual dipole couplings (RDCs) and residual chemical shift anisotropies (RCSAs). The test molecules for this study were brucine and α -santonin, two natural products with several stereogenic centers. For the structural elucidation of the molecules ¹H, ²H, ¹³C and HSQC spectra were recorded. For the determination of the conformational space of all diastereoisomers, molecular mechanics calculations were performed using the MMFF94 force field. The obtained structures were then refined at the DFT level and the chemical shielding tensors were calculated using the DFT / GIAO method. The experiment performed with the PAN gel for brucine provided appropriate values of RDC in the range -33.6 to +34.1 Hz. A quality factor Q of 0.093 was obtained for the correct brucine configuration. The RCSA provided a quality factor $Q = 0.125$ for the correct structure. For α -santonin using the PAN gel it was possible to obtain RDC values in the range of -15.6 to +14.5 Hz and a quality factor $Q = 0.026$ for the correct structure. A Q quality factor of 0.089, for the correct structure, was obtained through the analysis of the RCSAs. It was not possible to measure any RDCs in the *N*-vinyl-2-pyrrolidone / acrylonitrile (NVP / AN) gels, since many signals of the gel overlapped with the brucine signals and even more not all brucine signs appeared on the HSQC spectrum. Self-crosslinked *N,N*-dimethylacrylamide gels were not shown to be efficient as an alignment medium in initial experiments.

Keywords: Gels. Structural elucidation. NMR. RDC. RCSA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Dispositivo de Kuchel.....	17
Figura 2 -	Dispositivo New Era TM para compressão de gel.....	17
Figura 3 -	Reação de polimerização da acrilonitrila.	19
Figura 4 -	Mecanismo de autorreticulação de DMMA iniciada por persulfato de potássio onde os radicais persulfato atacam os grupos metila e retiram um hidrogênio. Então, a cadeia crescente pode se conectar a outra cadeia, levando a uma rede interligada.	21
Figura 5-	Representação do acoplamento dipolar entre dois spins I e S, onde θ é o ângulo formado entre os vetores do acoplamento heteronuclear IS e a direção do campo magnético externo \mathbf{B}_0	22
Figura 6 -	Esquema geral para a obtenção de informações estruturais em moléculas rígidas.	25
Figura 7 -	Medição de RDCs para grupos metino, metileno e metila em um experimento HSQC acoplado em F1.	28
Figura 8 -	Estrutura do sulfato de fibrosterol A com numeração atômica.....	29
Figura 9 -	Estrutura da 2-fenil-3-benzazepina.	30
Figura 10 -	Estruturas de estrona (esquerda) e 13-epi-estrona (direita), respectivamente. .	31
Figura 11 -	Intumescimento dos géis PAN (pedaços de 1 cm) em diferentes solventes.	39
Figura 12 -	Espectro de ² H-NMR do gel PAN (0,7% EGDA) intumescido em DMSO- <i>d</i> ₆ : (a) comprimido e (b) relaxado.....	40
Figura 13 -	Espectro de ² H-NMR do gel PAN (0,9% EGDA) intumescido em DMSO- <i>d</i> ₆ : (a) comprimido e (b) relaxado.....	40
Figura 14 -	Mapa de imagem de calor do gel de PMMA e a (b) representação visual de encurvadura no gel de PMMA mostrando camadas de solventes isotrópicos em torno do gel (HELLEMANN <i>et al.</i> , 2016).....	41
Figura 15 -	Espectro de HSQC ¹ H- ¹³ C acoplado em F1 da α santonina no gel de PAN no estado relaxado.....	42
Figura 16 -	Espectro de HSQC ¹ H- ¹³ C acoplado em F1 da α santonina no gel de PAN no estado comprimido.....	43
Figura 17 -	Espectro de HSQC ¹ H- ¹³ C acoplado em F1 da brucina no gel de PAN relaxado.	44

Figura 18 -	Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C acoplado em F1 da brucina no gel de PAN comprimido.	44
Figura 19 -	Expansão dos espectros de RMN de HSQC acoplados ^1H - ^{13}C sobrepostos mostrando sinais de brucina de C4-H4 e C1-H1 nas condições comprimida (verde) e relaxada (vermelha).	45
Figura 20 -	Estrutura da α -santonina	46
Figura 21 -	Expansão (156,40 a 157,50 ppm) dos espectros de RMN de ^{13}C da α -santonina no gel PAN comprimido (rosa) e relaxado (verde).	48
Figura 22 -	Fatores Q para as oito configurações da α -santonina, aplicando três procedimentos diferentes: usando apenas dados de RDCs, usando apenas dados de RCSAs e combinando dados de RDCs e RCSAs.	49
Figura 23 -	Estrutura da brucina	50
Figura 24 -	Parte dos espectros F1 HSQC acoplados a ^1H - ^{13}C (a) antes e (b) após a transformação de predição linear: para trás para 6; Pontos base: 256; coeficientes: 16; método: Toeplitz; Os espectros foram apodizados nas dimensões F1 e F2 mediante funções gaussianas.	51
Figura 25 -	Fatores Q para as treze configurações geradas da brucina, aplicando três procedimentos diferentes: usando apenas dados de RDCs, usando apenas dados de RCSAs e combinando dados de RDCs e RCSAs.	54
Figura 26 -	Espectro de RMN de ^2H em CDCl_3 : a) com o gel NVP/AN relaxado; b) com o gel NVP/AN comprimido.	56
Figura 27 -	Espectro de RMN de ^1H da brucina em CDCl_3	57
Figura 28 -	Espectro de RMN de ^1H da brucina no gel relaxado de NVP/AN em CDCl_3	57
Figura 29 -	Espectro de RMN de ^1H da brucina no gel comprimido de NVP/AN em CDCl_3	58
Figura 30 -	Espectro de RMN de HSQC acoplado em F1 da brucina no gel relaxado de NVP/AN em CDCl_3	59
Figura 31 -	Espectro de RMN de HSQC acoplado em F1 da brucina no gel comprimido de NVP/AN em CDCl_3	59
Figura 32 -	Espectro de ^2H -NMR do gel de DMMA intumescido em D_2O	60

Figura 33 - Espectro de ^2H -NMR do gel de DMMA intumescido em CD_3OD .
.....61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da α -santonina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel PAN/DMSO- d_6	46
Tabela 2 -	Deslocamento químico de ^{13}C de α -santonina, RCSA e $\Delta\delta_{isotrópicos}$ obtidos experimentalmente em gel PAN / DMSO- d_6	47
Tabela 3 -	Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da brucina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel PAN/DMSO- d_6	50
Tabela 4 -	Deslocamento químico de ^{13}C da brucina, RCSA e $\Delta\delta_{isotrópicos}$ obtidos experimentalmente em gel PAN / DMSO- d_6	52

LISTA DE ABREVIATURAS

AIBN	2,2'-azobis (2-metilpropionitrilo)
AN	Acrilonitrila
APS	Persulfato de amônio
B₀	Campo magnético externo
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
DMMA	<i>N,N</i> -dimetilacrilamida
DMF	Dimetilformamida
DMSO-<i>d</i>₆	Dimetil Sulfóxido deuterado
D₂O	Água deuterada
EGDA	<i>Ethylene glycol diacrylate</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz	Hertz
<i>J</i>	Acoplamento Escalar
NOE	<i>Nuclear Overhauser effect</i>
NVP	<i>N</i> -Vinil-2-pirrolidona
NVP/AN	<i>N</i> -Vinil-2-pirrolidona/acrilonitrila
PAN	Poliacrilonitrila
PMMA	Polimetilmetacrilato
<i>Q</i>	Fator de qualidade
RDC	<i>Residual Dipolar Coupling</i>
RCSA	<i>Residual Chemical Shift Anisotropy</i>
RMN	Ressonância magnética nuclear

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	MEIOS DE ALINHAMENTO BASEADOS EM GÉIS	16
1.1.1	Acrilonitrila	18
1.1.2	<i>N</i>-vinil-2-pirrolidona	20
1.1.3	<i>N, N</i>-dimetilacrilamida	20
1.2	APLICAÇÕES DOS MEIOS ORIENTADOS PARA ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE MOLÉCULAS ORGÂNICAS	21
1.2.1	Acoplamento Dipolar	21
1.2.2	Anisotropia Residual do Deslocamento Químico (RCSA)	23
1.2.3	Obtenção de informações estruturais baseadas em medidas de RDCs e RCSAs .	24
1.2.4	Acoplamento Quadrupolar	25
1.2.5	Medidas experimentais de RDCs	26
1.2.6	Aplicações dos parâmetros anisotrópicos	28
1.3	OBJETIVOS	31
1.3.1	Objetivos gerais	31
1.3.2	Objetivos Específicos	32
2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	33
2.1	PROCEDIMENTOS GERAIS	33
2.2	SÍNTESE DOS GÉIS	33
2.2.1	Síntese dos géis de Poliacrilonitrila	33
2.2.2	Síntese dos géis de <i>N</i>-vinil-2-pirrolidona/acrilonitrila	34
2.2.3	Síntese dos géis de <i>N, N</i>-dimetilacrilamida	34
2.3	EXPERIMENTOS DE RMN	35
2.3.1	Brucina no gel de PAN	35
2.3.2	α-Santonina no gel de PAN	35
2.3.3	Brucina no gel de NVP/AN	36
2.3.4	Experimentos de RMN no gel de DMMA em metanol	36
2.3.5	Experimentos de RMN no gel de DMMA em água	36
2.3.6	Experimentos de RMN de deutério	37
2.4	MEDIDAS EXPERIMENTAIS DE RDCs E RCSAs NO GEL DE POLIACRILONITRILA	37

2.5	MODELAGEM MOLECULAR	37
2.6	OBTENÇÃO DOS RDCs E RCSAs CALCULADOS	37
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
3.1	GÉIS DE POLIACRILONITRILA	39
3.1.1	Medidas de RDC/RCSA no gel de PAN para a α-santonina	45
3.1.2	Medidas de RDC/RCSA no gel de PAN para a brucina	49
3.2	GÉIS DE N-VINIL-2-PIRROLIDONA/ACRILONITRILA	54
3.3	GÉIS AUTORRETICULADOS DE N, N-DIMETILACRILAMIDA	60
4	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	62
	REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos foram desenvolvidas inúmeras ferramentas para o estudo estereoquímico de moléculas orgânicas por meio de RMN (CLARIDGE, 2016; DIAS *et al.*, 2016). Dentre essas ferramentas podemos destacar a RMN de meios parcialmente alinhados. Apesar de ser conhecida desde os anos sessenta (SAUPE; ENGLERT, 1963), o uso da RMN em meios parcialmente alinhados só foi nas últimas duas décadas, que, alicerçada no desenvolvimento dos meios de alinhamento fraco, e começando com os trabalhos de (MANGONI *et al.*, 2003; SHAPIRO *et al.*, 2004; THIELE; BERGER, 2003), conseguiu ser considerada uma ferramenta útil na elucidação estrutural de compostos orgânicos nos casos em que as técnicas tradicionais de RMN como o efeito nuclear Overhauser (NOE) e a análise do acoplamento escalar (J), não são suficientes para determinar a estrutura (GARCÍA *et al.*, 2009; GIL *et al.*, 2008);.

A RMN em meios parcialmente alinhados é hoje uma ferramenta poderosa na elucidação estrutural de compostos orgânicos sintéticos e naturais (CLARIDGE, 2016; Li *et al.*, 2018). Os meios de alinhamento permitem a observação de parâmetros de RMN anisotrópicos residuais, como o acoplamento dipolar residual (RDCs), sendo este o mais empregado. Parâmetros anisotrópicos fornecem informações estruturais que complementam e ampliam a RMN isotrópica convencional (SUN *et al.*, 2011). Os RDCs têm sido usados para resolver problemas de conformação, (GAYATHRI *et al.*, 2010; LANCEFIELD *et al.*, 2015) configuração relativa (BÖTTCHER; THIELE, 2012; CORNILESCU *et al.*, 2017; SUN *et al.*, 2011; TROCHE-PESQUEIRA *et al.*, 2017) e até mesmo constituição (KUMMERLÖWE *et al.*, 2011a; LIU *et al.*, 2017) de pequenas moléculas orgânicas. Além dos RDCs, tem havido recentemente considerável interesse na aplicação de anisotropia química residual (RCSA) para problemas estruturais. Enquanto os RDCs correlacionam a orientação relativa de vetores internucleares, os RCSAs informam da orientação relativa dos tensores de blindagem química (NATH *et al.*, 2016).

Nas últimas décadas foram desenvolvidos vários meios de alinhamentos compatíveis com os solventes comuns em RMN (MERLE *et al.*, 2013; NAUMANN *et al.*, 2007; THIELE, 2004). Estes meios são conhecidos como meios de alinhamento fraco e fornecem graus de ordem menores de 10^{-2} enquanto conservam a resolução espectral característica da RMN de líquidos. Duas principais famílias de materiais têm sido desenvolvidas, os cristais líquidos liotrópicos, e a outra são géis indutores de alinhamento (*strain-induced alignment in a gel* (SAG)). Os dois

métodos geram um bom grau de alinhamento para a medição dos parâmetros anisotrópicos e existem muitos exemplos na atualidade de aplicação destas duas famílias de meios (HALLWASS *et al.*, 2011; KUMMERLÖWE *et al.*, 2011a; THIELE, 2004; TROCHE-PESQUEIRA *et al.*, 2014).

1.1 MEIOS DE ALINHAMENTO BASEADOS EM GÉIS

O primeiro trabalho descrito para uma molécula orgânica com alinhamento parcial foi relatada por Saupe e Englert, onde eles estudaram o benzeno em uma fase cristalina líquida nemática (SAUPE; ENGLERT, 1963). Porém estes meios nemáticos fornecem um grau de alinhamento excessivamente grande, impossibilitando a análise estrutural de moléculas orgânicas comuns, exceto nos casos mais simples para moléculas de tamanho muito pequeno ou alta simetria. O uso de fases liotrópicas permite, porém, a obtenção de graus de alinhamento mais pequenos. Estes chamados meios de alinhamento fraco constituíram uma revolução na aplicabilidade da RMN em meios orientados no campo da RMN de biomoléculas e posteriormente moléculas orgânicas pequenas.

O alinhamento também pode ser induzido por interação do analito com uma rede molecular orientada como Deloche e Samulski mostraram em seu trabalho pioneiro em 1981. O método é conhecido como SAG (*strain-induced alignment in a gel*, alinhamento induzido por deformação em um gel) (DELOCHE; SAMULSKI, 1981). Neste método, o gel deve ser comprimido ou esticado para gerar um ambiente de meio anisotrópico para o alinhamento da molécula em estudo. As amostras no SAG são preparadas deixando que um gel polimérico intumescça dentro de um tubo RMN. Além disso, é introduzida uma deformação anisotrópica, comprimindo ou esticando mecanicamente o gel dentro do tubo de RMN (THIELE, 2008). O grau de orientação induzida por esses géis pode ser ajustado escolhendo diferentes graus de reticulação do gel e comprimindo ou esticando mecanicamente o gel no tubo de RMN. (KUMMERLÖWE *et al.*, 2007; THIELE, 2008).

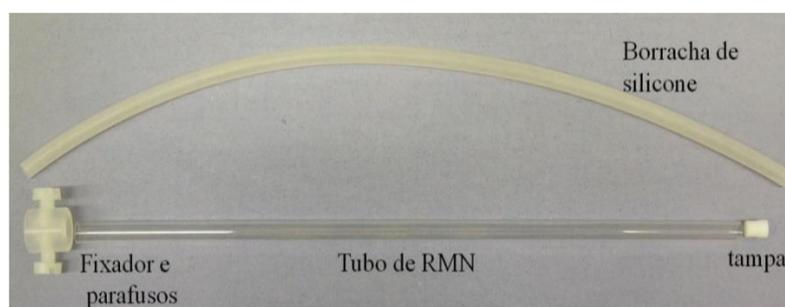
Apenas em 2000, o método SAG foi colocado em prática por Tycko e colaboradores (TYCKO *et al.*, 2000), onde intumesceram géis de poli(acrilamida em água, e posteriormente, mediram RDCs mediante compressão e estiramento da amostra.

Em 2005, Luy expandiu o método SAG para solventes orgânicos, intumescendo um polímero de poliestireno (PS) reticulado em clorofórmio (LUY *et al.*, 2005). Além do

clorofórmio, o gel PS reticulado é compatível com uma ampla faixa de solventes orgânicos, incluindo tetraidrofurano e benzeno.

A metodologia SAG pode ser usada em combinação com um dispositivo de borracha desenvolvido por Kuchel, que aplicou o dispositivo ao estiramento rápido e reversível da gelatina (KUCHEL *et al.*, 2006). O dispositivo de Kuchel permitia também o controle preciso do grau de alinhamento da amostra (Figura 1).

Figura 1 - Dispositivo de Kuchel.



Fonte: KUCHEL *et al.* (2006).

Em 2008, Luy e colaboradores estenderam a aplicação do aparato de Kuchel para géis de poliacrilamida (PH) no meio aquoso e poliacrilonitrila (PAN) em DMSO (KUMMERLOWE *et al.*, 2008).

Outro desenvolvimento importante foi a preparação de géis com compressão reversível por Gil e colaboradores (GAYATHRI *et al.*, 2010a). Neste método, o gel é comprimido usando uma haste de teflon ou vidro. A Figura 2 mostra um dispositivo de compressão da marca New EraTM que é utilizado para a compressão reversível de géis.

Figura 2 - Dispositivo New EraTM para compressão de gel.



Fonte: <https://newera-spectro.com/compression-gel-device> (2019).

Gil e colaboradores (GAYATHRI *et al.*, 2010a) prepararam géis de polimetilmetacrilato - PMMA e eles notaram que a elasticidade desse gel intumescido permitia a reversibilidade do processo de compressão e um controle muito preciso do grau de alinhamento. O método foi

depois estendido a outras combinações de polímero-solvente como os géis baseados em di(etilenoglicol) metacrilato de éter metílico (DEGMEMA) em metanol (GARCÍA *et al.*, 2017) ou poli-HEMA/DMSO-d6 (GIL-SILVA *et al.*, 2016).

Apenas os géis poli-HEMA(GIL-SILVA *et al.*, 2016) permitem a extração de RDCs em um único experimento, devido à grande diferença na suscetibilidade magnética entre o solvente isotrópico livre e o polímero intumescido, que é da ordem de aproximadamente 0,1 ppm. Outros géis desenvolvidos e novos géis compatíveis com diferentes solventes orgânicos foram produzidos, como o gel de polivinil acetato (PVAc) reticulado desenvolvido por Luy e colaboradores. Este gel intumescer em uma variedade de solventes orgânicos, como DMSO, metanol, acetona, THF, dioxano, acetonitrila e clorofórmio (FREUDENBERGER *et al.*, 2005). Gel de polimetilmetacrilato (PMMA) reticulado que intumescer em clorofórmio produzido por Gil e colaboradores (GIL *et al.*, 2008). Gel de polidimetilsiloxano (PDMS) (FREUDENBERGER *et al.*, 2004), compatível com água. Géis de poliacrilonitrila (PAN) estirados, (KUMMERLÖWE *et al.*, 2007, KUMMERLÖWE *et al.*, 2010a) reticulados através de irradiação com radiação β ; copolímeros iônicos baseados em acrilamida (HABERZ *et al.*, 2005); Géis “universais” de poli (óxido de etileno) (MERLE *et al.*, 2013). Uma ressalva em muitos desses géis é a presença de fortes sinais residuais no espectro do HSQC, particularmente dos prótons na cadeia lateral móvel.

Neste trabalho de mestrado foram preparados géis poliméricos a partir dos monômeros de acrilonitrila, *N*-vinil-2-pirrolidona e *N,N*-dimetilacrilamida pela polimerização radicalar. Comentaremos em seguida algumas das peculiaridades da polimerização destes monômeros.

1.1.1 Acrilonitrila

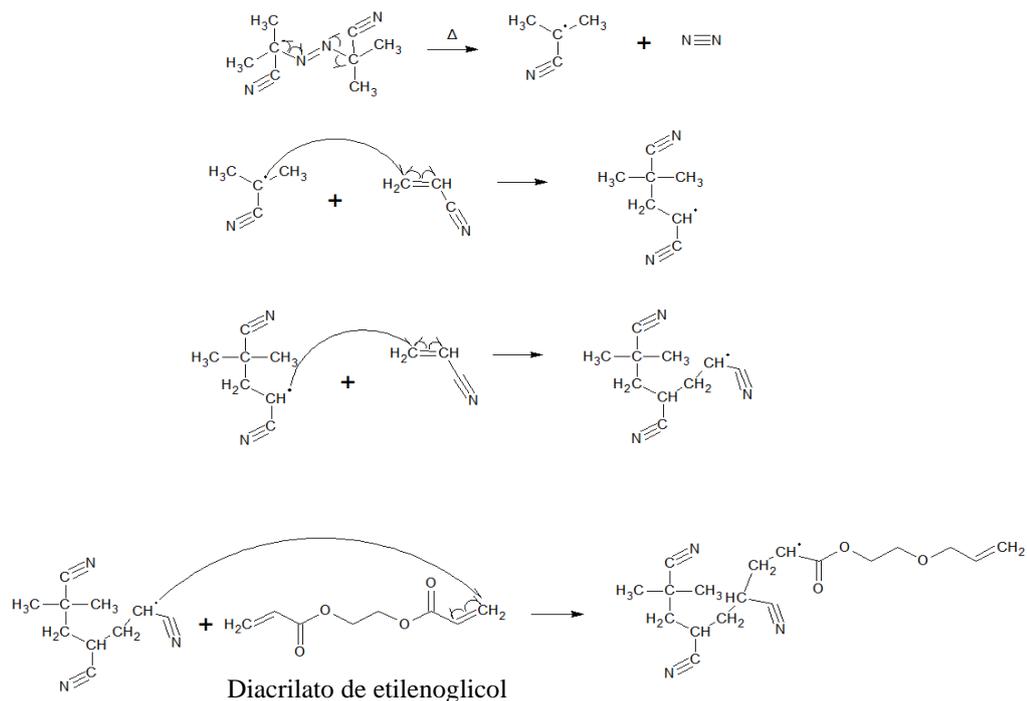
A polimerização da acrilonitrila ocorre na presença de radicais livres ou iniciadores aniônicos. Iniciadores peróxidos convencionais, como peróxido de benzóila e peróxido de hidrogênio, e compostos azo, como o 2,2-azobis (isobutironitrila) e o 2,2-azobis (2,4-dimetilvaleronitrila), podem ser usados em temperaturas moderadas abaixo de 100°C. A polimerização pode ser realizada em massa, emulsão, suspensão ou solução (NOMURA; MASUDA, 2003).

O polímero de poliacrilonitrila é conhecido por ser insolúvel em seu próprio monômero, (assim como muitos solventes orgânicos), exceto em solventes polares, como DMF e DMSO (OLABISI; ADEWALE, 2016). A DMF é um dos melhores solventes para a poliacrilonitrila e

é usada amplamente. Além de DMSO ou DMF, outros solventes importantes são também usados como dimetilacetamida, carbonato de etileno ou propileno, ou soluções aquosas concentradas de HNO_3 , H_2SO_4 e ZnCl_2 (NOMURA; MASUDA, 2003).

Na reação de polimerização de acrilonitrila em DMF, iniciada por AIBN a cerca de 50 a 60 °C, os radicais primários da decomposição de AIBN reagem com monômero iniciando o crescimento da cadeia polimérica. Cerca de metade dos radicais primários são eficazes, sendo os outros perdidos em reações colaterais que não levam ao polímero (THOMAS, 1961). Para a reticulação do gel, normalmente é utilizado um agente reticulante, responsável da formação das ligações cruzadas entre as cadeias de polímeros em solução (GUPTA *et al.*, 2002). Na Figura 3 é mostrado o mecanismo de reação de polimerização da acrilonitrila iniciada por 2,2'-azobis (2-metilpropionitrilo) – AIBN, com ênfase na adição do agente de reticulação, o diacrilato de etilenoglicol.

Figura 3 - Reação de polimerização da acrilonitrila.



Fonte: A autora (2019).

Outro processo de reticulação da acrilonitrila é mediante irradiação com radiação β ou γ . Luy e seu grupo desenvolveram géis de poli(acrilonitrila) (PAN) irradiado em DMSO, porém a síntese do gel demanda o uso de acelerador de partículas, que não é um método de preparação tão comum. Na nossa experiência estes géis nem sempre apresentam uma boa homogeneidade

física, além de precisarem de longos tempos de difusão da amostra (KUMMERLÖWE *et al*, 2007) .

1.1.2. *N*-vinil-2-pirrolidona

O monômero *N*-vinilpirrolidona (NVP) é solúvel em água e em uma grande variedade de solventes orgânicos, que se estende desde solventes extremamente hidrofílicos, até líquidos hidrofóbicos, como o butanol e clorofórmio. Os solventes mais usados para solubilizar a Poli (*N*-vinil-2-pirrolidona) são etanol, isopropanol e propileno glicol (OSKAR, 2005).

A poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) é um polímero vinílico, formado por cadeias de múltiplos meros de *N*-vinil-2-pirrolidona, obtido por meio da polimerização em solução via radical livre, em meio aquoso ou em solventes orgânicos. Além do AIBN, outros iniciadores, como o peróxido de *terc*-butila, são utilizados para a polimerização da NVP em solução aquosa ou água/álcool (OSKAR, 2005).

Na literatura é reportado o uso de géis de *N*-vinil-2-pirrolidona para várias aplicações como curativo (ŞEN; AVCI, 2005); liberação controlada de drogas; (AHMAD *et al*, 2004); sensores biológicos (SERAP DERMAN *et al.*, 2012). Porém não se tem relato do seu uso como meio de alinhamento.

1.1.3 *N, N*-dimetilacrilamida

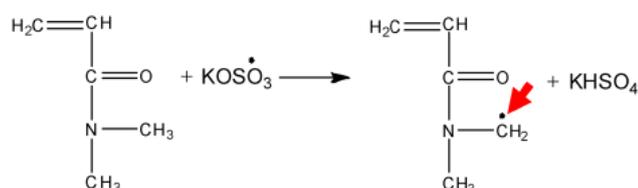
Os géis de *N, N*-dimetilacrilamida geralmente são sintetizados mediante polimerização radicalar na presença de um agente reticulante, como a *N, N*-metilenobisacrilamida (BIS) *N, N*-Metileno-bisacrilamida (BIS) (HARAGUCHI *et al.*, 2003; NITA *et al.*, 2013; PACIOS *et al.*, 2004).

Um trabalho particularmente interessante envolvendo o monômero de *N, N*-dimetilacrilamida (DMMA) consiste na preparação de géis autorreticulados de *N, N*-dimetilacrilamida desenvolvidos por Cipriano e colaboradores (CIPRIANO *et al.*, 2014). Estes géis foram polimerizados em água deionizada usando o KPS como iniciador de radicais livres. As propriedades superiores dos géis baseados nesse monômero são devido a uma distribuição mais uniforme de ligações cruzadas dentro de suas redes.

A facilidade em se autorreticular do *N, N*-dimetilacrilamida na presença de iniciadores como o persulfato de potássio é conhecida desde a década de 60 (NEEDLES; WHITFIELD,

1965). O mecanismo proposto para isto está indicado na Figura 4. Ocorre que os radicais persulfato da KPS podem retirar um hidrogênio de uma ou das duas metilas no DMMA, o que resultaria em um radical metileno. Depois o grupo metileno pode ligar-se a outra cadeia polimérica, através da ligação dupla ou a outro grupo metileno. As cadeias poliméricas tornam-se ramificadas e reticuladas umas às outras, formando assim o gel (CIPRIANO *et al.*, 2014).

Figura 4 - Mecanismo de autorreticulação de DMMA iniciada por persulfato de potássio onde os radicais persulfato atacam os grupos metila e retiram um hidrogênio. Então, a cadeia crescente pode se conectar a outra cadeia, levando a uma rede interligada.



Fonte: CIPRIANO *et al.* (2014).

1.2 APLICAÇÕES DOS MEIOS ORIENTADOS PARA ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE MOLÉCULAS ORGÂNICAS

Na presença de um campo magnético, um núcleo atômico de número quântico de spin $I = 1/2$ passa a ter dois diferentes estados energéticos, sendo a diferença entre esses estados energéticos, proporcional à força do campo magnético. Este efeito denomina-se efeito Zeeman e é diretamente responsável pelo fenômeno do deslocamento químico. Informações sobre a estrutura e dinâmica podem ser obtidas levando em conta outras interações magnéticas e eletrônicas, que em campos magnéticos intensos podem ser consideradas como perturbações da interação de Zeeman. Essas interações são o acoplamento escalar, acoplamento dipolar spin-spin ou o acoplamento quadrupolar spin-núcleo.

1.2.1 Acoplamento Dipolar

O acoplamento dipolar origina-se com a interação entre momentos magnéticos de dois diferentes spins nucleares que estão próximos espacialmente. Este acoplamento pode ser homonuclear, quando os núcleos são iguais ($I - I$; $S - S$), ou heteronuclear, quando os dois núcleos que interagem são diferentes ($I - S$). São rotulados como I o spin nuclear mais

abundante, por exemplo, os ^1H , e S o spin nuclear menos abundante, tal como ^{13}C ou ^{15}N (KRAMER *et al.*, 2004).

O Hamiltoniano de acoplamento dipolar (fraco) de dois spins, I e S , é dado pela equação 1:

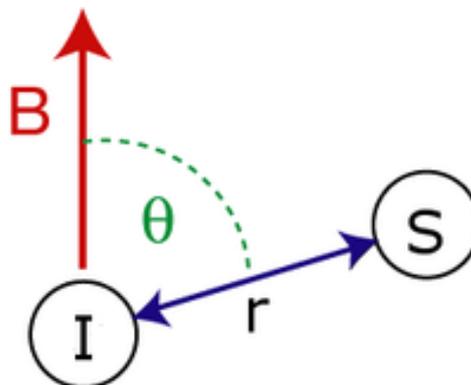
$$H_{IS} = k \left(\frac{3\cos^2\theta - 1}{2} \right) I_Z S_Z \quad (1)$$

onde o parâmetro k é uma constante do acoplamento dipolar, que pode ser calculado conforme a equação a seguir:

$$k = - \left(\frac{\mu_0}{4\pi^2} \right) \frac{\hbar\gamma_I\gamma_S}{r_{IS}^3} \quad (2)$$

onde, μ_0 é a constante de permeabilidade do vácuo ($4\pi \times 10^{-7} \text{ NA}^2$), \hbar é a constante de Planck dividida por 2π , γ_I e γ_S são as respectivas razões giromagnéticas dos spins nucleares I e S , r_{IS} é igual à distância internuclear entre I e S e I_z e S_z são, respectivamente, os operadores de I e S do momento angular do spin nuclear na componente Z . O ângulo θ descreve a orientação formada entre o vetor internuclear e a direção apontada pelo campo magnético externo \mathbf{B}_0 . A Figura 5 representa a interação dipolar entre dois spins I e S , presentes em uma molécula.

Figura 5 - Representação do acoplamento dipolar entre dois spins I e S , onde θ é o ângulo formado entre os vetores do acoplamento heteronuclear IS e a direção do campo magnético externo \mathbf{B}_0 .



Fonte: https://en.wikipedia.org/wiki/Residual_dipolar_coupling (2019).

Em uma solução isotrópica, como as moléculas estão em movimento randômico, ou seja, podem se mover livremente em todas as direções o valor médio do termo $\langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle$ é zero cancelando o acoplamento dipolar. Por isso não é possível observar, no estado líquido isotrópico, nenhum acoplamento dipolar exceto pelo seu efeito na relaxação. No entanto, o valor desse termo pode ser diferente de zero, caso a solução não seja isotrópica, podendo então observar de forma parcial o acoplamento dipolar, essa pequena parte do acoplamento visualizada ficou conhecida como acoplamento dipolar residual (RDC, do inglês *Residual Dipolar Coupling*). E para que sejam observados os RDCs é necessário o uso de meios que orientem parcialmente as moléculas, também conhecidos como meios alinhados que já foram comentados anteriormente.

O Hamiltoniano de acoplamento dipolar (D) é semelhante ao do acoplamento escalar (J) e contribui para o desdobramento dos sinais de ressonância, por isso, núcleos interligados por acoplamento escalar em um meio orientado, darão resultados que são a soma dos acoplamentos escalar e dipolar, ou seja, um acoplamento total (T) (Equação 3).

$$T = J + D \quad (3)$$

1.2.2 Anisotropia Residual do Deslocamento Químico (RCSA)

O deslocamento químico de um núcleo, i , em uma molécula surge do efeito da blindagem nuclear de um campo magnético aplicado, induzido pela circulação de elétrons ao redor do núcleo (LEVITT, 2008). O deslocamento químico é o parâmetro mais simples de medir em RMN e combinado com o alinhamento molecular parcial pode revelar o componente anisotrópico do tensor de deslocamento químico, e isso é mostrado como anisotropia de deslocamento químico residual (RCSA) que recentemente tem havido considerável interesse na sua aplicação para resolver problemas estruturais e, como, são refletidos no deslocamento químico, os RCSAs são medidos com alta sensibilidade, tornando fácil a medição de pequenas amostras para as quais a medição de RDC seria difícil de detectar (NATH *et al.*, 2016).

Da mesma forma que os RDCs, que relatam a orientação relativa de vetores internucleares, os RCSAs relatam a orientação relativa dos tensores de blindagem química e sua orientação em relação à estrutura de alinhamento (LIU *et al.*, 2018a). É uma técnica bastante importante, pois pode ser aplicada para carbonos protonados e não protonados em qualquer estrutura orgânica (LIU *et al.*, 2017).

O meio onde a molécula for inserida para ser analisada pode afetar a anisotropia, dessa forma é necessário que haja um alinhamento do meio, embora parcial, provocando um desvio dos deslocamentos químico dos sinais de RMN ($\Delta\delta$) em relação ao seu valor isotrópico (δ_{iso}).

A medição de RCSAs é muito mais exigente tecnicamente, pois mesmo mudanças mínimas entre os dois graus de alinhamento, necessárias para extrair o componente anisotrópico do deslocamento químico, causam mudanças importantes no componente isotrópico. No entanto, o grande desafio é eliminar de maneira confiável as alterações de deslocamento químico isotrópico durante o alinhamento (NATH *et al.*, 2016).

A anisotropia do deslocamento químico residual é apenas uma pequena parte do valor total da anisotropia do deslocamento químico que pode ser calculada conforme a expressão (Equação 4):

$$\Delta\delta_{\text{RCSA}} = \frac{2}{3} \sum_{\alpha\beta=xyz} S_{\alpha\beta} S_{\alpha\beta}^i \quad (4)$$

onde $S_{\alpha\beta}$ e $S_{\alpha\beta}^i$ são os elementos de matriz dos tensores de Saupe e de deslocamento químico, respectivamente.

1.2.3 Obtenção de informações estruturais baseadas em medidas de RDCs e RCSAs

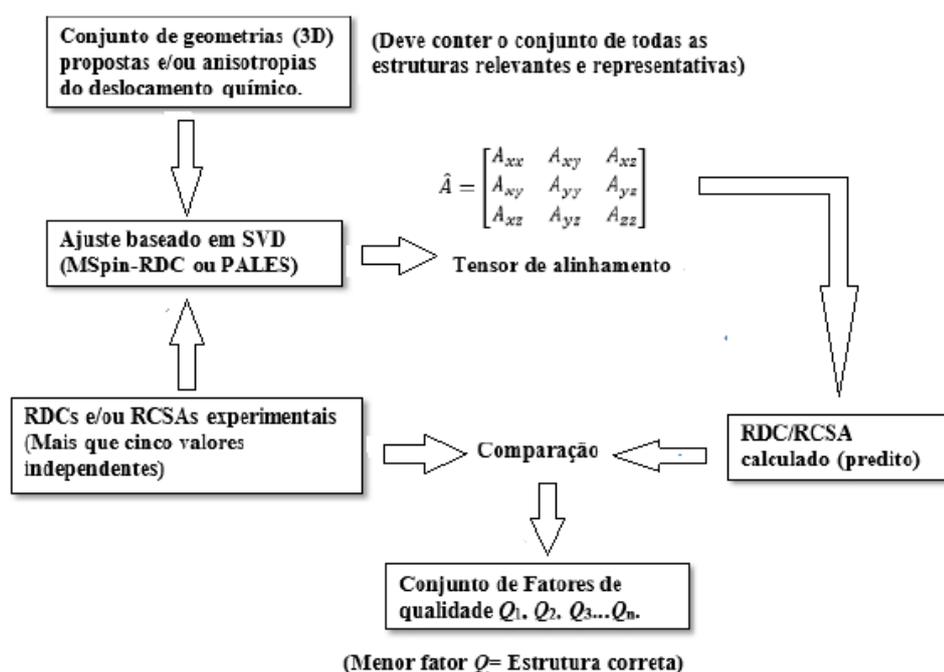
Como os parâmetros RDCs e RCSAs dependem do ângulo formado a partir do vetor da ligação heteronuclear dos spins I e S e a direção do campo magnético externo \mathbf{B}_0 , podem ser utilizados para a determinação da estrutura tridimensional de pequenas moléculas orgânicas. A grande dificuldade na utilização de RDCs e RCSAs está atrelada à interpretação de forma correta dos dados fornecidos experimentalmente, e a conversão destes parâmetros adicionais em dados que ajudem na elucidação estrutural das moléculas.

Considerando moléculas rígidas, nas quais as distâncias internucleares podem ser consideradas fixas, a orientação média das mesmas pode ser expressa em termos de uma matriz 3 x 3, simétrica e com traço igual a zero, chamada matriz de ordem ou tensor de alinhamento e matriz de Saupe (KRAMER *et al.*, 2004; SAUPE, 2014). Este tensor de alinhamento é essencial para a obtenção de informações estruturais.

A Figura 6 mostra um esquema geral para a obtenção de informações estruturais baseadas nas medidas dos parâmetros de RDCs e RCSAs para moléculas rígidas e semirrígidas. De forma

geral, as estruturas diastereoisoméricas 2^{N-1} de uma molécula com N estereocentros, devem ser geradas para cada uma delas. Para cada distereoisômero é computada uma estrutura 3D e essa geometria, juntamente com os dados experimentais do RDC e/ou RCSA, é alimentada para um programa de computador como MSpin (NAVARRO-VÁZQUEZ, 2012) ou PALES (ZWECKSTETTER, 2008). Para determinação do tensor de alinhamento para cada uma das possíveis estruturas 3D é necessário realizar o cálculo SVD. Uma vez que esses tensores são calculados, os RDCs e/ou RCSAs são recalculados a partir da geometria molecular e comparados com os dados iniciais. O ajuste entre os dados computados e experimentais é comumente expresso em termos do fator de qualidade Cornilescu Q (CORNILESCU; BAX, 2000). Idealmente, para a estrutura correta, o fator Q deve ser zero ou mais próximo à zero.

Figura 6 - Esquema geral para a obtenção de informações estruturais em moléculas rígidas.



Fonte: Adaptado de Teles (2015).

1.2.4 Acoplamento Quadrupolar

Os núcleos que possuem spin nuclear maior do que 1/2, conhecidos como núcleos quadrupolares, possuem momento de quadrupolo elétrico sensível ao gradiente de campo elétrico (EFG, *electric field gradient*) na posição do núcleo. Valiosas informações sobre a vizinhança do núcleo podem ser obtidas a partir dos parâmetros da interação quadrupolar,

podendo ser utilizada como uma fonte de informações para se determinar a estrutura atômica e molecular (SUITS, 2006).

As interações quadrupolares também podem ser tratadas como uma perturbação dos níveis de energia de Zeeman no limite de campo alto. Temos como principal exemplo o núcleo de ^2H , aonde existem três níveis de energia para um núcleo isolados de spin 1, que originarão um par de linhas. A expressão para o acoplamento quadrupolar, está representada pela equação 5 (SUITS, 2006):

$$\Delta\nu = \frac{3e^2qQ}{2h} S_{\text{system}} \left\langle \frac{3\cos^2\theta - 1}{2} \right\rangle \quad (5)$$

Onde, Q , q , e correspondem ao momento quadrupolar, ao gradiente de campo elétrico e a carga elétrica, respectivamente. O fator e^2qQ é conhecida como a constante quadrupolar nuclear e θ é o ângulo entre o tensor de gradiente de campo elétrico e o campo magnético. S_{system} é um parâmetro de ordem. A obtenção de informações sobre o grau de ordem e a homogeneidade do meio orientador pode ser obtida com a observação do acoplamento quadrupolar do solvente deuterado empregado (TRIGO-MOURIÑO *et al.*, 2010). O aumento da sensibilidade dos equipamentos de RMN permite a medição dos acoplamentos quadrupolares de ^2H em abundância natural para o seu uso na resolução de problemas estruturais em moléculas orgânicas pequenas (NAVARRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2017).

1.2.5. Medidas experimentais de RDCs

O acoplamento residual surge em meios parcialmente orientados, de modo que o acoplamento existente entre o par de spin I e S é a soma do acoplamento escalar com o acoplamento dipolar. A resultante é identificada como T , assim, para podermos adquirir o RDC, basta subtrair T , obtido em meio anisotrópico, do J acoplamento escalar medido em meio isotrópico, como demonstra a equação 6.

$$RDC = T - J \quad (6)$$

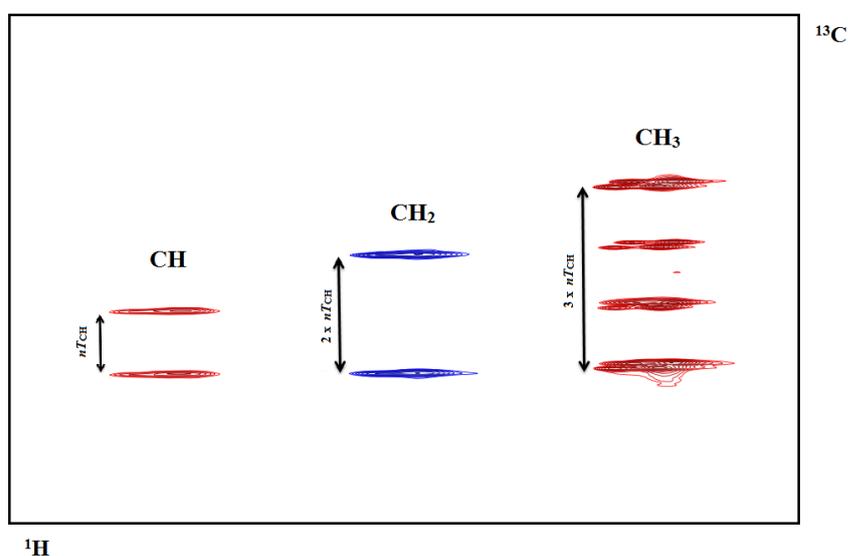
Assim, dois experimentos são realizados, o primeiro em meio parcialmente orientado (anisotrópico) que fornece os acoplamentos totais, T , e o segundo em meio não orientado

(isotrópico) que fornecerá os acoplamentos escalares (J). Os pares de núcleos fornecem dados de RDCs, os núcleos mais utilizados são os pares carbono e hidrogênio a uma ($^1D_{C-H}$) ou a duas ($^2D_{C-H}$) ligações de distância.

Para a medida de RDCs são realizados experimentos de correlações heteronucleares bidimensionais, como por exemplo o HSQC (*Heteronuclear Single Quantum Coherence*). Os experimentos acoplados de HSQC podem ser realizados com a detecção do acoplamento C-H na dimensão direta (F2) ou indireta (F1). O experimento HSQC acoplado em F1 (dimensão indireta) tem uma resolução digital inferior ao obtido em F2 (dimensão direta). Para compensar esta diminuição na resolução usam-se diferentes técnicas, como por exemplo, a técnica de *folding* (PAIVA *et al.*, 2010). Com isso, a janela espectral diminui e os sinais aparecem rebatidos, ou seja, para uma janela espectral com 100 ppm os sinais de carbono com hibridização sp^2 irão surgir na mesma região dos carbonos sp^3 . Outra técnica é o uso de um bloco de evolução do acoplamento escalar (THIELE; BERMEL, 2012). Mediante a introdução deste bloco pode-se também multiplicar a constante de acoplamento por um fator k arbitrário (k usualmente é igual a 3 ou 4). A precisão na determinação do acoplamento escalar vem dada pela expressão: o acoplamento observado é igual ao desdobramento observado dividido pelo fator k .

No caso de grupos metileno a distância entre as linhas exteriores do duplo duplete é igual à soma dos acoplamentos ativo e passivo. Portanto apenas podemos definir um acoplamento médio observado $^1T_{CH} = \frac{^1T_{CHa} + ^1T_{CHb}}{2}$. Se o fator k igual a 3 for usado deve-se tomar cuidado quando for calculando o RDC, pois o resultado deve ser dividido por 3 quando se trata de um acoplamento CH, por 6 ao se tratar de um acoplamento CH_2 e por 9 quando for CH_3 (YU *et al.*, 2011). A Figura 7 mostra a medição de RDCs para grupos metino, metileno e metila em um experimento HSQC acoplado em F1, onde n é o fator de escala aplicado.

Figura 7 - Medição de RDCs para grupos metino, metileno e metila em um experimento HSQC acoplado em F1.



Fonte: A autora (2019).

1.2.6 Aplicações dos parâmetros anisotrópicos

A primeira pequena molécula a ser alinhada foi benzeno em 1963; entretanto, seu alinhamento em cristais líquidos orgânicos era tão forte que os espectros se tornavam muito difíceis de analisar. Porém, nas décadas de 70 e 80 a RMN em meios orientados foi aplicada na análise conformacional de moléculas simples, como derivados de bisfenila (BURNELL; LANGE, 2003). A primeira aplicação de RDCs na análise configuracional de pequenas moléculas orgânicas foi proposta em 2003 quase ao mesmo tempo por (MANGONI *et al.*, 2003; YAN *et al.*, 2003), embora seus métodos limitassem ao uso de meios de alinhamento compatível com água. Após isso, o desenvolvimento de meios de alinhamento compatíveis com solventes orgânicos começou com uso de fases liotrópicas líquidas cristalinas formadas por homopolipeptídeos (PBLG, PELG) dissolvidos em CDCl_3 (THIELE; BERGER, 2003; VERDIER *et al.*, 2003).

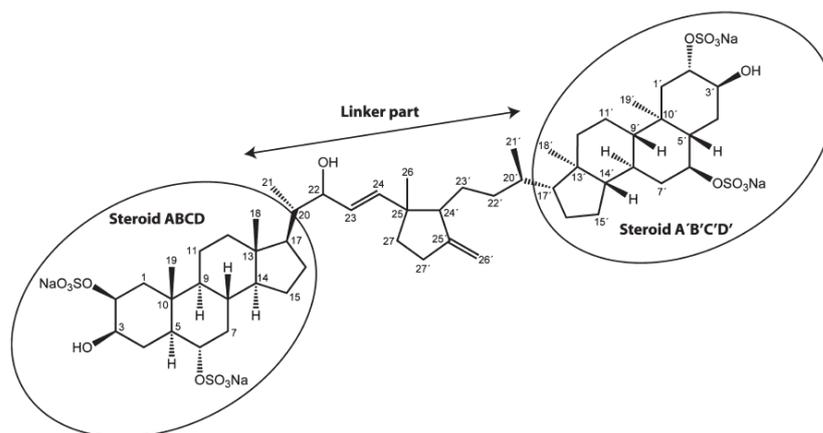
A aplicação dos géis poliméricos deformados mecanicamente e compatíveis com solventes orgânicos foi iniciada pelo grupo de Luy, mediante o uso de géis de poliestireno reticulado esticado e intumescido em CDCl_3 (LUY *et al.*, 2004). A partir disso, outras combinações polímero-gel/ solvente orgânico foram desenvolvidas (GAYATHRI *et al.*, 2010a; GIL *et al.*, 2008; KUMMERLOWE *et al.*, 2008), principalmente pelo grupo de pesquisa de

Luy, bem como métodos para o estiramento reversível (KUMMERLÖWE *et al.*, 2010b) e compressão (GAYATHRI *et al.*, 2010) de géis.

Além do uso de RDC em macromoléculas com importância biológica, como por exemplo proteínas e ácidos nucleicos (DE ALBA; TJANDRA, 2002), o parâmetro RDC tem sido bastante usado para resolver problemas de configuração relativa, conformação, e da constituição de pequenas moléculas orgânicas (GIL, 2011).

Um excelente exemplo da aplicação dos RDCs para a determinação da configuração de moléculas orgânicas foi a molécula de sulfato de fibrosterol A (Figura 8). Nesse estudo os autores dividiram a molécula em três regiões: esteroide ABCD, esteroide A'B'C'D' sendo o foco principal do trabalho a determinação da configuração das posições 22,25 e 24' (SUN *et al.*, 2011).

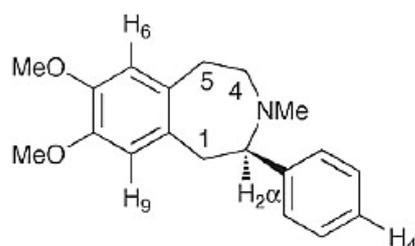
Figura 8 - Estrutura do sulfato de fibrosterol A com numeração atômica.



Fonte: SUN *et al.* (2011).

Devido à grande flexibilidade da molécula muitos movimentos de grande escala são observados e mudam a forma da molécula inteira. Tais movimentos representam grandes desafios para a elucidação da estrutura e a correta determinação da configuração. Os autores conseguiram determinar a estrutura correta da fibrosferol A por meio de uma análise de tensor de alinhamento múltiplo baseado em acoplamento dipolar residual complementado por dinâmica molecular (SUN *et al.*, 2011). Os RDCs também foram empregados para análise conformacional como foi para a determinação da conformação preferida da 2-fenil-3-benzazepina com atribuição simultânea dos prótons metilenos diastereotópicos (Figura 9) (GAYATHRI *et al.*, 2010).

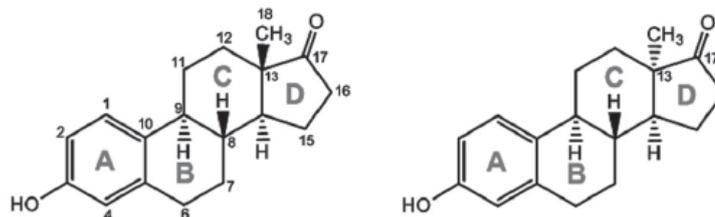
Figura 9 - Estrutura da 2-fenil-3-benzazepina.



Fonte: GAYATHRI *et al.* (2010).

A primeira tentativa de usar RCSAs ^{13}C para análise configuracional foi descrita por (HALLWASS *et al.*, 2011). Para evitar mudanças nas condições de solvatação entre o gel esticado e relaxado os autores fizeram uso do dispositivo de alongamento de (KUCHEL *et al.*, 2006). Os autores conseguiram diferenciar a configuração correta da molécula de estrona em relação ao seu diastereoisômero 13-epi-estrona (Figura 10), mostrando a potencialidade deste parâmetro, quando associado aos RDCs. Para solucionar a interferência do meio de alinhamento (gel ácido (S)-2-acrilamida-1-propanosulfônico (APS)) os RDCs e RCSAs foram medidos empregando duas condições de esticamento diferentes no dispositivo de Kuchel.

Figura 10 - Estruturas de estrona (esquerda) e 13-epi-estrona (direita), respectivamente.



Fonte: HALLWASS *et al.* (2011).

Outras técnicas relatadas envolvem o uso de sondas de ângulos variáveis, (KUMMERLÖWE *et al.*, 2011b), fases liotrópicas polipeptídicas (LIU *et al.*, 2018), géis esticados em tubos de RMN de duas seções diferentes de diâmetro interno (HALLWASS *et al.*, 2018; HELLEMANN; GIL, 2018; LIU; PRESTEGARD, 2010, NATH *et al.*, 2016), ou géis de RMN compressíveis (HALLWASS *et al.*, 2018; NATH *et al.*, 2016). O uso simultâneo de RDCs e RCSAs tem se mostrado valioso para a elucidação estrutural de compostos de difícil elucidação (LIU *et al.*, 2017; MEVERS *et al.*, 2016). Um protocolo detalhado para a técnica de géis de estiramento/compressão foi relatado recentemente na revista *Nature Protocols* (LIU, *et al.*, 2018a).

O uso de géis mecanicamente compressíveis (GAYATHRI *et al.*, 2010) é talvez o método mais simples para medir RDCs e RCSAs de pequenos analitos. No entanto, até agora apenas o gel de PMMA compatível com CDCl_3 foi usado para medição simultânea de RDCs/RCSAs (HALLWASS *et al.*, 2018; NATH *et al.*, 2016);. Dessa forma seria altamente desejável sermos capazes de empregar a mesma metodologia em outros solventes como por exemplo $\text{DMSO-}d_6$ e D_2O .

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivos gerais

O objetivo deste trabalho é desenvolver novos meios de alinhamento compatíveis com diversos solventes orgânicos para obtenção de parâmetros anisotrópicos em RMN.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Realizar a síntese de géis de poliacrilonitrila reticulados quimicamente;
- Realizar a síntese dos géis copolímeros de *N*-vinil-2-pirrolidona/acrilonitrila;
- Realizar a síntese dos géis de *N,N*-dimetilacrilamida autorreticulados;
- Avaliar o intumescimento dos géis em diferentes solventes orgânicos;
- Testar o desempenho do gel de PAN como meio de alinhamento para a medição de RDCs e RCSA em produtos naturais usando brucina e α -santonina como moléculas teste;
- Testar o desempenho do copolímero de *N*-vinil-2-pirrolidona como meio de alinhamento para a medição de RDCs e RCSA em produtos naturais usando de novo brucina e α -santonina como moléculas teste.
- Testar o gel de *N,N*-dimetilacrilamida autorreticulado como meio de alinhamento.

2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 PROCEDIMENTOS GERAIS

Os reagentes utilizados foram: acrilonitrila; diacrilato de etileno glicol 98% (EGDA); 2,2'-azobis (2-metilpropionitrilo) 98% (AIBN); álcool metílico 99%; dimetilformamida (DMF); clorofórmio 98% (CHCl₃); Água destilada; *N*-vinil-2-pirrolidona; *N,N*-dimetilacrilamida 99% (DMMA); persulfato de amônia 98%; dimetilsulfóxido 98% (DMSO); D₂O (D, 99,8%); DMSO-*d*₆ (D, 99,9%) e CDCl₃ (D,99,8%), α -Santonina (99%); brucina (99%) .Todos os solventes e reagentes utilizados nas reações foram de grau analítico das marcas SigmaAldrich, Vetec, Synth, Dinâmica, e Moderna.

Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro Agilent de 400 MHz, operando a temperatura de 298K, com frequências de ressonância de 399,75 MHz para o ¹H, 61,36 MHz para o ²H e 100,51 MHz para o ¹³C. Os experimentos foram realizados em DMSO-*d*₆ (D, 99,9%), CDCl₃ (D, 99,8%) e D₂O D, 99,8%) utilizando tubos de RMN de 5 mm e o aparelho para compressão do gel elaborado por NewEra™ (Figura 2).

Com base em metodologias já bem descritas para a preparação de géis poliméricos (LIU *et al.*, 2018) apresentamos a seguir o procedimento de síntese para os três géis poliméricos desenvolvidos neste trabalho.

2.2 SÍNTESE DOS GÉIS

Os géis foram preparados mediante polimerização radicalar em solução livre. A metodologia utilizada foi baseada no trabalho de Gayathri e colaboradores (GAYATHRI. *et al*, 2010).

2.2.1 Síntese dos géis de Poliacrilonitrila

Uma solução contendo 500 μ L (7,6 mmol) de acrilonitrila, 0,0015 g ($8,86 \times 10^{-3}$ mmol) de 2,20-azobis (2-metilpropionitrilo) e 250 μ L de dimetilformamida foi misturada com 9,5 μ L (0,055 mmol) de diacrilato de etilenoglicol. A fração do agente de reticulação na mistura de polimerização foi 0,7% molar. A solução foi transferida para um tubo de RMN (diâmetro interno = 3 mm), que foi selado à chama (purificação do tubo não foi necessário). O tubo de

RMN foi então levado ao forno a 60 °C. A polimerização foi realizada por 24 h. Depois disso, o tubo foi retirado do forno. Depois de quebrar a parte superior dos tubos, os géis puderam ser facilmente removidos deles com a ajuda de movimentos circulares suaves. Os géis foram cortados em bastões de 2,5 cm de comprimento e colocados em recipientes de vidro fechado com tampa, juntamente com DMSO-*d*₆ para lavagem. Foi realizada a lavagem do gel para remover monômero que não reagiu. Após 24 horas o DMSO-*d*₆ foi trocado. O procedimento foi repetido quatro vezes. A quantidade total de solvente utilizada foi de aproximadamente 4 mL.

2.2.2 Síntese dos géis de *N*-vinil-2-pirrolidona/acrilonitrila

Uma solução contendo 400 µL (3,7 mmol) de *N*-vinil-2-pirrolidona, 100 µL (1,52 mmol) de acrilonitrila, 0,0015 g ($8,86 \times 10^{-3}$ mmol) de AIBN e 250 µL de metanol foi misturada com 1,6 µL ($9,4 \times 10^{-4}$ mmol) de diacrilato de etilenoglicol. A fração do agente de reticulação na mistura de polimerização foi 0,2% molar. A solução foi transferida para um tubo de RMN (diâmetro interno = 3 mm), que foi selado à chama (purificação do tubo não foi necessário). O tubo de RMN foi então levado ao forno a 60° C. A polimerização foi realizada por 24 h. Depois disso, o tubo foi retirado do forno. Depois de quebrar a parte superior dos tubos, os géis puderam ser facilmente removidos deles com a ajuda de movimentos circulares suaves. Os géis foram cortados em bastões de 2,5 cm de comprimento e colocados em recipientes de vidro juntamente com CDCl₃ para lavagem. Foi realizada a lavagem do gel para remover monômero que não reagiu. Após 24 horas o CDCl₃ foi trocado. O procedimento foi repetido quatro vezes. A quantidade total de solvente utilizada foi de aproximadamente 4 mL.

2.2.3 Síntese dos géis de *N, N*-dimetilacrilamida

Foi feita uma solução contendo 500 µL (4,8 mmol) de *N, N*-dimetilacrilamida 0,0015 g ($6,57 \times 10^{-3}$ mmol) de persulfato de amônio e 250 µL de água destilada. A solução foi transferida para um tubo de RMN (diâmetro interno = 3 mm) e colocada no sonicador com a função de desgaseificação também ativada durante 90 minutos. Após isso o tubo foi selado à chama (a purga do oxigênio no tubo não foi necessária). O tubo de RMN foi então levado ao forno a 60 ° C. A polimerização foi realizada por 48 h. Depois disso, o tubo foi retirado do forno. Depois de quebrar a parte superior dos tubos, os géis não foram removidos facilmente tendo que

quebrar todo o tubo. Os géis foram cortados em bastões de 2,5 cm de comprimento e colocados em recipientes de vidro juntamente com D₂O para lavagem. Após 24 horas a D₂O foi trocada. O procedimento foi repetido quatro vezes. A quantidade total de solvente utilizada foi de aproximadamente 4 mL. Foi realizada a lavagem do gel para remover monômero que não reagiu

Vale salientar que esse gel é autorreticulado conforme descrito anteriormente, ou seja, na reação não é utilizado reticulante devido ao processo de polimerização do *N*, *N*-dimetilacrilamida iniciada pelo persulfato de potássio.

2.3 EXPERIMENTOS DE RMN

2.3.1 Brucina no gel de PAN

Todos os experimentos de RMN foram realizados com o gel nos estados comprimido e relaxado.

O espectro de RMN de ¹H foi adquirido, utilizando sequência de pulso simples, com pulso de 5,20 μs, tempo de aquisição de 2,46 s, 8 transientes, tempo de relaxação 1,0 s, largura espectral de 3,3 kHz e tempo total de aquisição de 28 s.

O espectro de RMN de ¹³C foi adquirido com pulso de 4,56 μs, tempo de aquisição de 1,62 s, tempo de relaxação 1,5 s, largura espectral de 20,2 kHz e tempo total de aquisição de 8h 40 min.

O espectro de HSQC acoplado em F1 foi adquirido com tempo de aquisição de 0,319 s, tempo de relaxação 1,0 s, 4 transientes, 2048 incrementos em t1, largura espectral em F1 15,6 kHz e largura espectral em F2 3,2 kHz e tempo total de aquisição de 7h 19 min e as constantes de acoplamento foram multiplicadas por um fator $k = 3$.

2.3.2 α -Santonina no gel de PAN

Todos os experimentos de RMN foram realizados com o gel comprimido e relaxado.

O espectro de RMN de ¹H foi adquirido, utilizando sequência de pulso simples, com pulso de 5,20 μs, tempo de aquisição de 2,56 s, 8 transientes, tempo de relaxação 1,0 s, largura espectral de 4,0 kHz e tempo total de aquisição de 29 s.

O espectro de RMN de ^{13}C foi adquirido com pulso de 4,56 μs , tempo de aquisição de 1,62 s, tempo de relaxação 1,0 s, largura espectral de 20,2 kHz e tempo total de aquisição de 5h 58 min.

O espectro de $g\text{HSQC}$ acoplado em F1 foi adquirido com tempo de aquisição de 0,15 s, tempo de relaxação 1,0 s, 4 transientes, 1024 incrementos em t_1 , largura espectral em F1 10,45 kHz e largura espectral em F2 4,0 kHz e tempo total de aquisição de 3h 7min e os acoplamentos próton-carbono foram multiplicados por um fator $k = 3$.

2.3.3 Brucina no gel de NVP/AN

O espectro de RMN de ^1H foi adquirido, utilizando sequência de pulso simples, com pulso de 5,20 μs , tempo de aquisição de 2,56 s, 8 transientes, tempo de relaxação 1,0 s, largura espectral de 6,41 kHz e tempo total de aquisição de 15 s.

O espectro de HSQC acoplado em F1 foi adquirido com tempo de aquisição de 0,256 s, tempo de relaxação 1,0 s, 20 transientes, 896 incrementos em t_1 , largura espectral em F1 12,03 kHz e largura espectral em F2 4,0 kHz e tempo total de aquisição de 14h 14min e os acoplamentos foram multiplicados por um fator $k = 3$.

2.3.4 Experimentos de RMN no gel de DMMA em metanol

O espectro de RMN de ^1H foi adquirido com pulso de 5,20 μs , tempo de aquisição de 2,56 s, 8 transientes, tempo de relaxação 1,0 s, largura espectral de 6,41 kHz e tempo total de aquisição de 29 s.

2.3.5 Experimentos de RMN no gel de DMMA em água

O espectro de RMN de ^1H foi adquirido, utilizando sequência de pulso simples, com pulso de 5,20 μs , tempo de aquisição de 3,42 s, 8 transientes, tempo de relaxação 1,0 s, largura espectral de 2,39 kHz e tempo total de aquisição de 36 s.

2.3.6 Experimentos de RMN de deutério

Experimentos de ^2H foram realizados para os três tipos de géis com compressão e relaxado. Os espectros de RMN de ^2H foram adquiridos com pulso de 300 μs , tempo de aquisição de 2,0 s, tempo de relaxação 1,0 s e tempo total de aquisição de 18 s.

2.4 MEDIDAS EXPERIMENTAIS DE RDCs E RCSAs NO GEL DE POLIACRILONITRILA

Para as medidas experimentais de RDCs, foram obtidos experimentos de RMN $g\text{HSQC } ^1\text{H}-^{13}\text{C}$ acoplados em F1 no meio isotrópico (gel relaxado) e anisotrópico (gel comprimido). Os géis lavados foram inchados em um tubo de RMN de 5 mm, seguido pela adição de uma solução de 20 mg das amostras em 500 μL de $\text{DMSO}-d_6$). O gel foi deixado a inchar durante 24 horas antes da medição, a fim de atingir um bom grau de homogeneidade física. Para medida dos RCSAs foram realizados experimentos de RMN de ^{13}C nas duas condições de alinhamento descritas acima.

2.5 MODELAGEM MOLECULAR

As treze e oito estruturas diastereoisômicas possíveis para a brucina e α -Santonina, respectivamente foram sujeitas à busca conformacional usando o campo de força MMFF94 (HALGEN, 1995) implementado no *software* Macromodel (MACROMODEL, 2018). No caso da brucina um único conformero foi encontrado para todas as configurações na janela de energia escolhida após que os rotâmeros triviais originados pelos grupos metoxi foram filtrados. Posteriormente, as conformações selecionadas, para todos os diastereoisômeros, foram otimizadas no nível de teoria M062X / 6-31+G **. Já para a α -Santonina as estruturas foram então refinadas no nível B3LYP / 6-31G * e os tensores de blindagem química foram calculados no nível PBE0 usando o conjunto de bases pcS-1 (JENSEN, 2008). Todos os cálculos foram feitos usando o *software* Gaussian09.

2.6 OBTENÇÃO DOS RDCs E RCSAs CALCULADOS

O programa MSpin-RDC {Formatting Citation} foi usado para realizar o melhor ajuste (SVD) entre os RDCs e RCSAs obtidos experimentalmente e as estruturas propostas, gerando

valores calculados (previstos). A qualidade do ajuste foi expressa em termos do fator de qualidade de Cornilescu (Q). Quanto mais próximo o fator Q de zero, significa que a estrutura de teste fornecida se ajusta melhor aos RDCs e RCSAs observados experimentalmente e calculados, ou seja, quanto menor o valor de Q significa que o “d” (acoplamento dipolares residuais experimentais e calculados) são bem próximos (CORNILESCU; BAX, 2000) de acordo com a equação7:

$$Q = \sqrt{\sum_{IS} \frac{(d_{IS}^{exp} - d_{IS}^{calc})^2}{(d_{IS}^{exp})^2}} \quad (7)$$

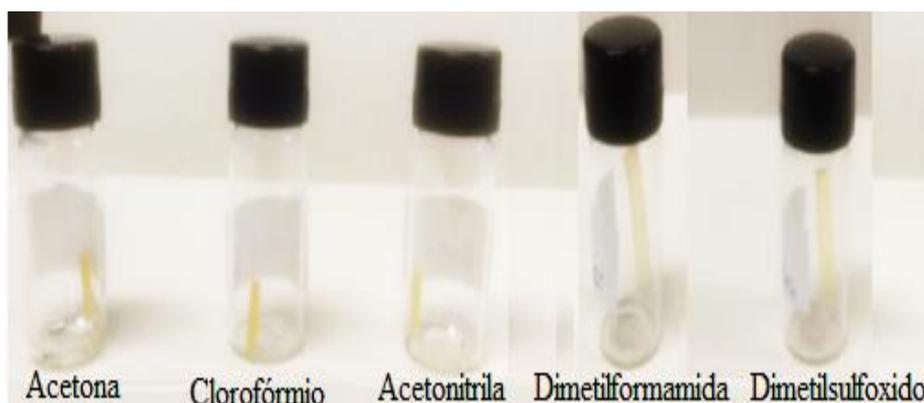
Onde (d_{IS}^{exp}) são os resultados do acoplamento dipolar residuais experimentais e (d_{IS}^{calc}) os calculados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 GÉIS DE POLIACRILONITRILA

Os géis sintetizados apresentaram visualmente uma aparência homogênea e uma excelente reversibilidade do processo de compressão. Avaliamos seu intumescimento em diferentes solventes orgânicos como DMSO, DMF, clorofórmio, acetona e acetonitrila. Após 10 horas, o gel inchou completamente em DMSO. Além do DMSO, verificou-se que os géis também incharam em DMF, mas não em clorofórmio, acetona ou acetonitrila. Como mostrado na Figura 11 os géis que intumesceram em dimetilformamida e dimetilsulfoxido foi observado que os pedaços de géis de 1 cm cresceram aproximadamente o dobro.

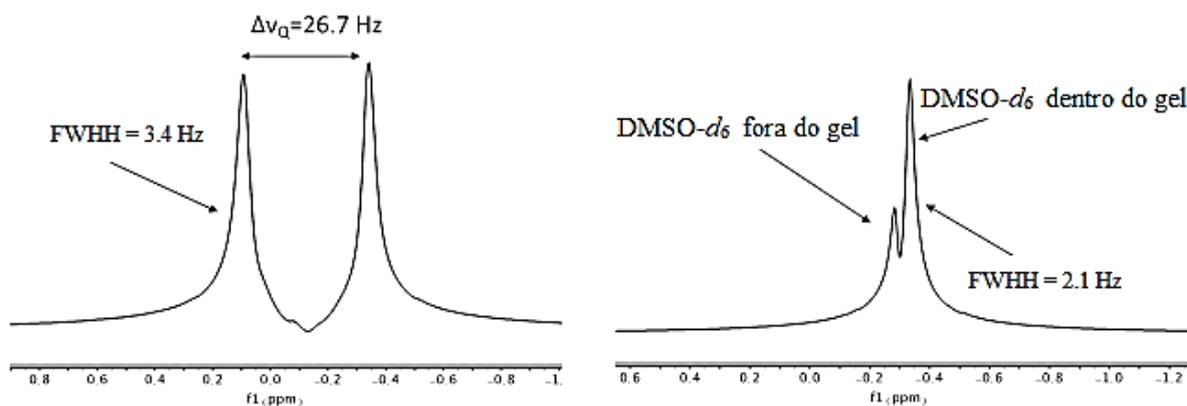
Figura 11 - Intumescimento dos géis PAN (pedaços de 1 cm) em diferentes solventes.



Fonte: A autora (2019).

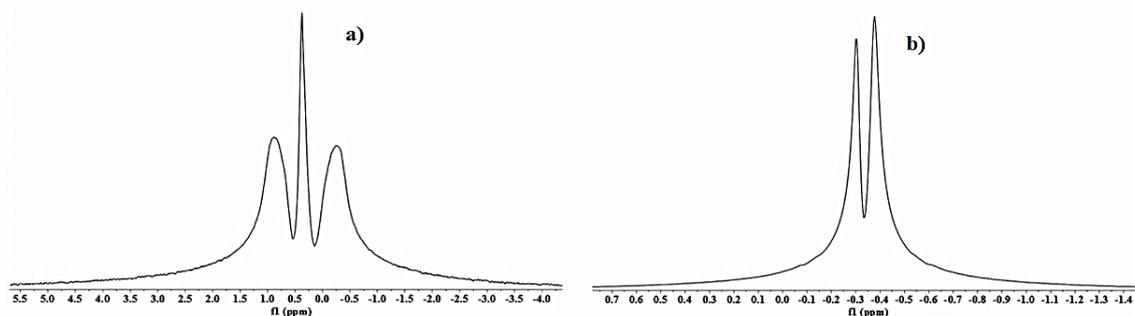
Investigamos a concentração do agente de reticulação, EGDA, no gel de PAN, testando duas concentrações 0,7 e 0,9 mol%. Os melhores resultados foram obtidos na concentração de 0,7 mol% de EGDA de acordo com a Figura 12.

Figura 12 - Espectro de ^2H -NMR do gel PAN (0,7% EGDA) intumescido em $\text{DMSO-}d_6$: (a) comprimido e (b) relaxado.



Fonte: A autora (2019).

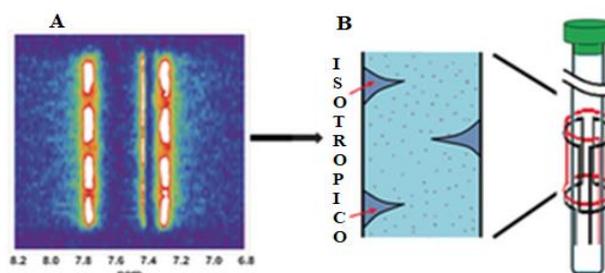
Figura 13 - Espectro de ^2H -NMR do gel PAN (0,9% EGDA) intumescido em $\text{DMSO-}d_6$: (a) comprimido e (b) relaxado.



Fonte: A autora (2019).

Os espectros foram medidos em duas condições de alinhamento diferentes: a primeira foi o gel no estado relaxado isotrópico e a segunda o estado anisotrópico comprimido. A compressão foi feita usando o dispositivo comercial NewEraTM (New Era, 2012). A Figura 12 mostra o sinal ^2H $\text{DMSO-}d_6$ nestas duas condições de alinhamento: (a) gel comprimido e (b) relaxado. No espectro ^2H do gel relaxado, dois sinais são observados. O pico menos intenso corresponde a uma camada isotrópica de solvente em torno do gel, enquanto o mais intenso corresponde ao $\text{DMSO-}d_6$ dentro do polímero (HELLEMANN *et al.*, 2016), como ilustrado na Figura 14 para o gel de poli metilmetacrilato – PMMA. A figura mostra um (a) mapa de imagem de calor do gel de PMMA e a (b) representação visual de encurvadura no gel de PMMA mostrando camadas de solventes isotrópicos em torno do gel.

Figura 14 - Mapa de imagem de calor do gel de PMMA e a (b) representação visual de encurvadura no gel de PMMA mostrando camadas de solventes isotrópicos em torno do gel (HELLEMANN *et al.*, 2016).

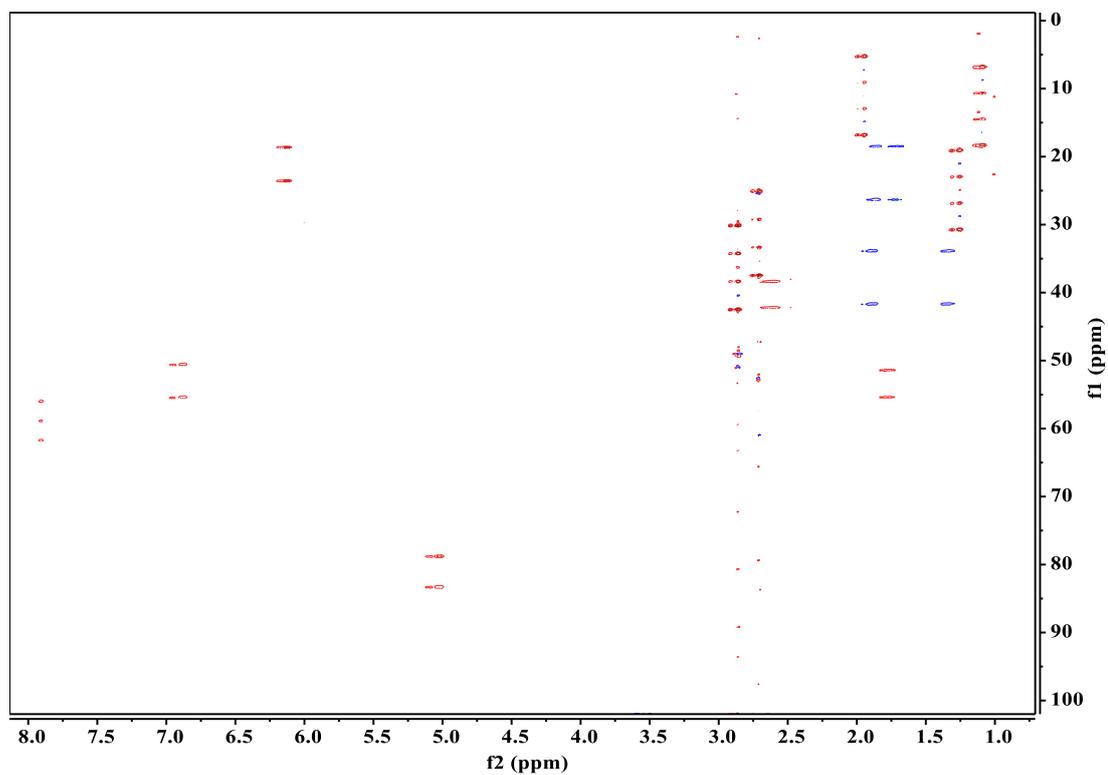


Fonte: HELLEMANN *et al.* (2016).

Quando o gel é totalmente comprimido, o sinal de DMSO- d_6 no espectro de ^2H desdobra-se em um duplete de 26,7 Hz. O solvente isotrópico quase não pode ser observado neste grau de compressão. O desdobramento observado é muito maior do que a desdobramento de 3,8 Hz relatada para os géis de poli-HEMA (GIL-SILVA *et al.*, 2016) para uma densidade de reticulação de 0,2-0,3% molar. Pela largura de linha a meia altura os géis apareceram bem homogêneos os valores são 2,1 e 3,4 Hz para o gel no estado relaxado e comprimido, respectivamente (Figura 12), esses valores são bem parecidos com os valores encontrados para as larguras de linha a meia altura dos géis de PMMA ou poli-HEMA habitualmente em uma faixa de 1,5 a 3 Hz. Quando usamos um grau de reticulação mais elevado (0,9% molar) obtiveram-se géis que eram demasiado heterogêneos fisicamente de acordo com espectros de ^2H observados (Figura 13). A taxa de reticulação de 0,7% fornece portanto um ótimo grau de alinhamento para moléculas de tamanhos moleculares típicos de fármacos e metabolitos naturais.

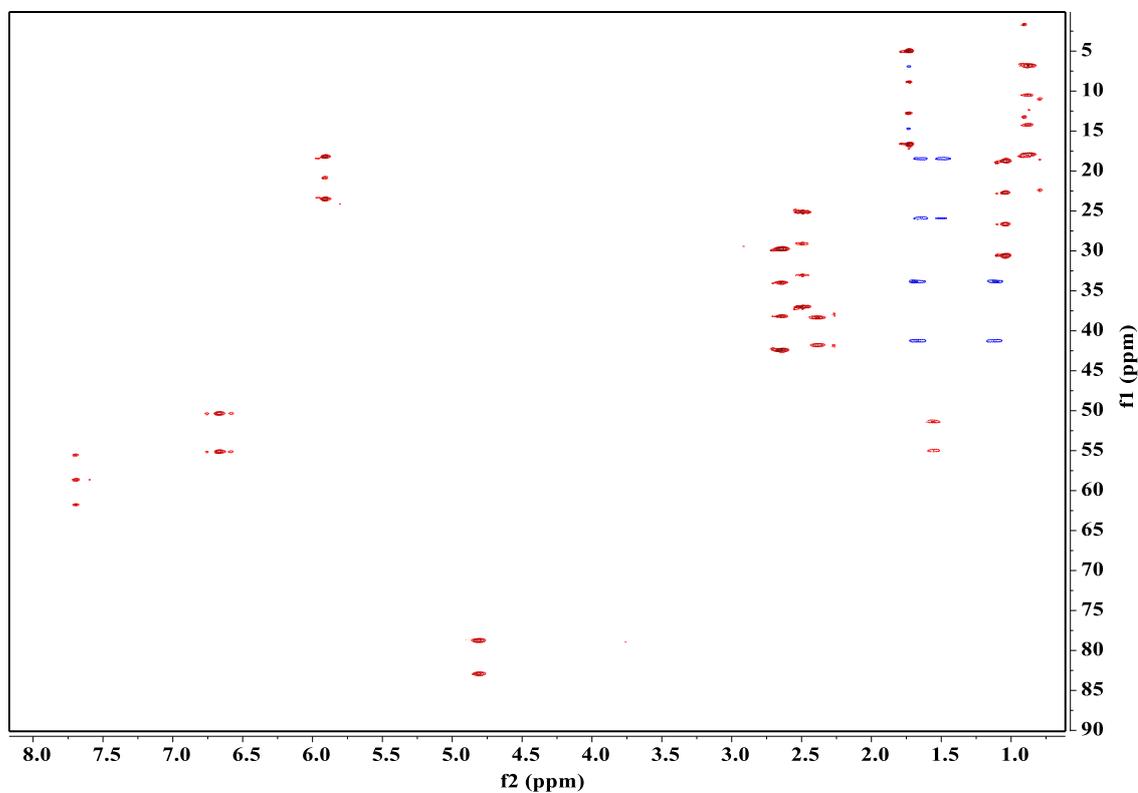
Para os experimentos de HSQC acoplado em F1 foram medidos os acoplamentos a uma ligação ^1H - ^{13}C filtrado por BIRD e com fator de escala do acoplamento (fator de escala $k = 3$) (THIELE; BERMEL, 2012). A α -santonina e a brucina mostradas a seguir foram selecionadas como moléculas teste, pois são moléculas rígidas e apresentam carbonos com anisotropia do deslocamento químico grande e são moléculas bem descritas na literatura (BERNSTEIN; HALL, 1985; TELES *et al.*, 2015). As Figuras 15 e 16 mostram os espectros de HSQC acoplado em F1 para α -santonina no gel de PAN nos estados relaxado e comprimido respectivamente.

Figura 15 - Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C acoplado em F1 da α santonina no gel de PAN no estado relaxado.



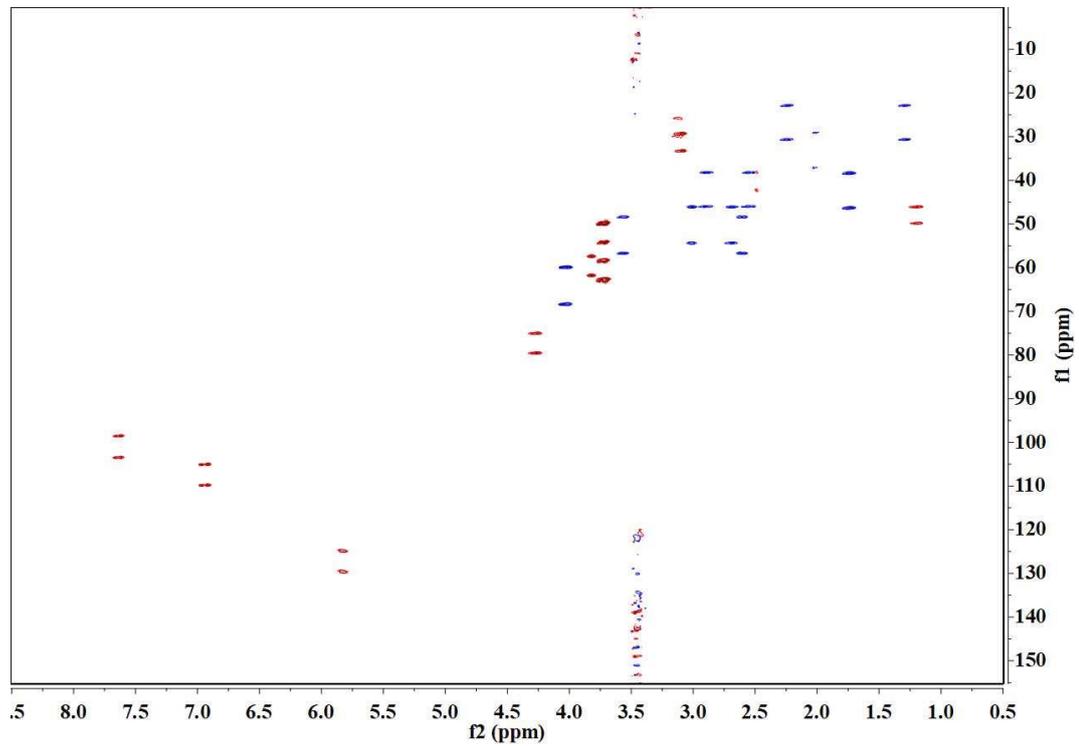
Fonte: A autora (2019).

Figura 16 - Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C acoplado em F1 da α santonina no gel de PAN no estado comprimido.

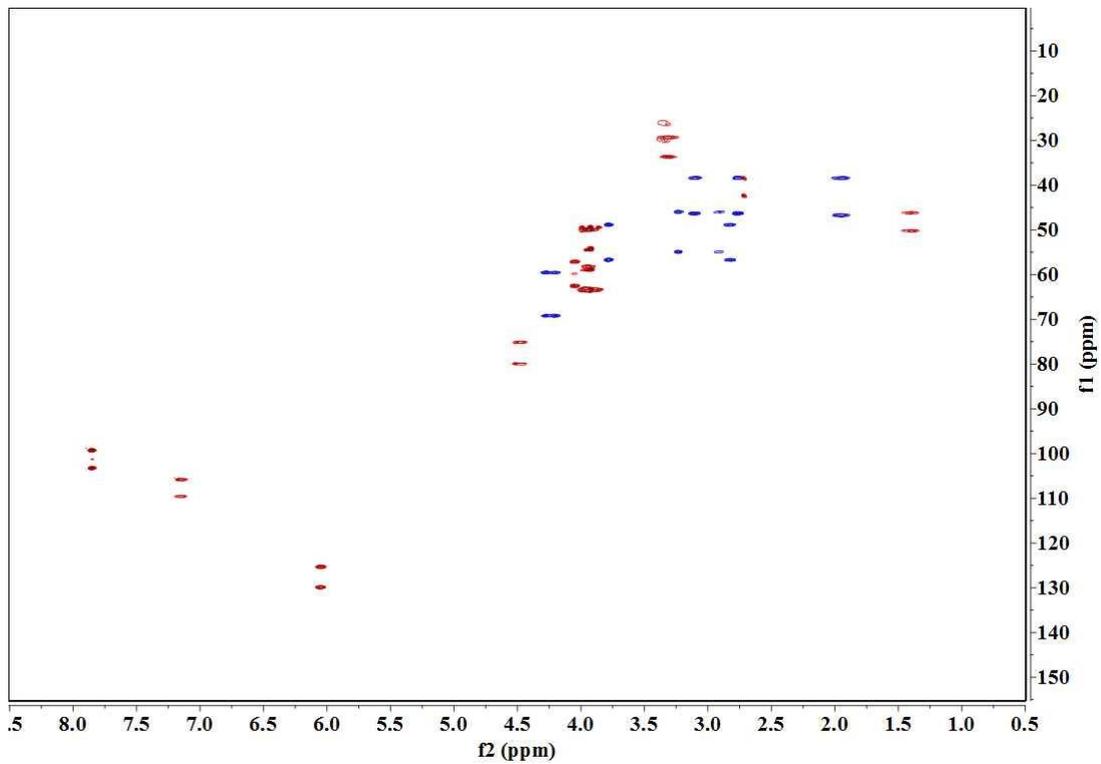


Fonte: A autora (2019).

O mesmo experimento de HSQC acoplado em F1 para o gel de PAN nos estados comprimido e relaxado também foi realizado usando a brucina como mostrado nas Figuras 17 e 18 respectivamente.

Figura 17 - Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C acoplado em F1 da brucina no gel de PAN relaxado.

Fonte: A autora (2019).

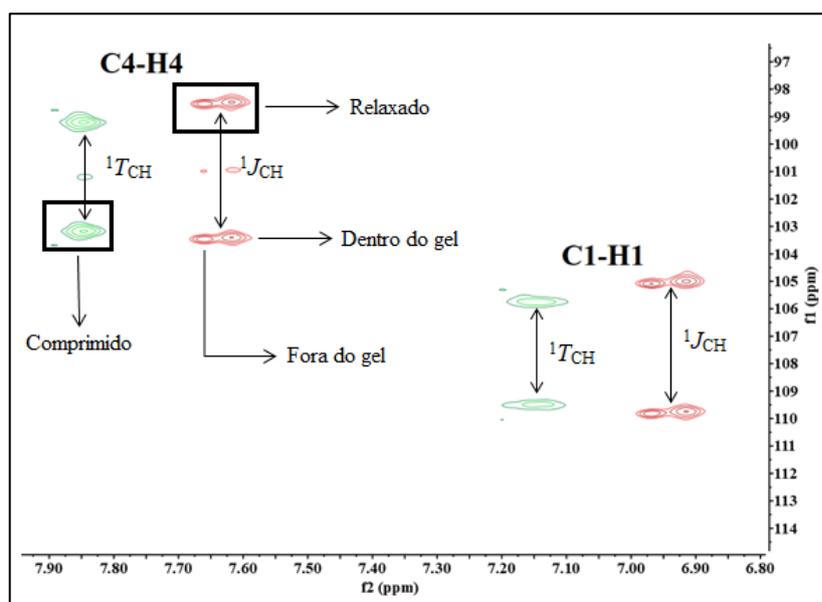
Figura 18 - Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C acoplado em F1 da brucina no gel de PAN comprimido.

Fonte: A autora (2019).

No espectro de HSQC com o gel comprimido não conseguimos observar os sinais de correlação do carbono 15 com os hidrogênios metílicos.

Na Figura 19 são mostrados os sinais de correlação entre carbono e hidrogênio no espectro HSQC acoplado a F1 dos pares C4-H4 e C1-H1. O experimento de HSQC acoplado em F1 fornece para cada sinal, ou seja, para cada par de C-H um dubleto que é devido ao acoplamento que é medido pela distância entre os sinais no meio anisotrópico e meio isotrópico. Os sinais observados são essenciais para obtenção dos valores de RDC. Os valores dos RDCs foram obtidos a partir da diferença (${}^1D_{CH} = {}^1T_{CH} - {}^1J_{CH}$) entre o acoplamento total ${}^1T_{CH}$ (condição comprimida, verde) e o acoplamento ${}^1J_{CH}$ (condição relaxada, vermelha).

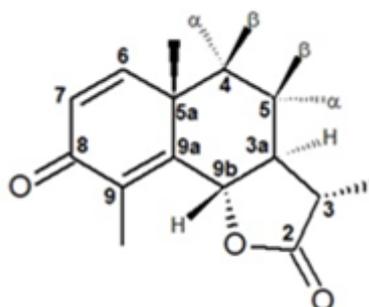
Figura 19 - Expansão dos espectros de RMN de HSQC acoplados ${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$ sobrepostos mostrando sinais de brucina de C4-H4 e C1-H1 nas condições comprimida (verde) e relaxada (vermelha).



Fonte: A autora (2019).

3.1.1 Medidas de RDC/RCSA no gel de PAN para a α -santonina

O desempenho do gel de PAN como novo meio de alinhamento foi testado usando a α -santonina (Figura 20). Foi possível medir dez valores de RDC, variando de -15,6 a +14,5 Hz como mostrado na Tabela 1. O valor ${}^1D_{CH}$ para os hidrogênios diastereotópicos dos C4 e C5 não foram analisados separadamente.

Figura 20 - Estrutura da α -santonina

Fonte: A autora (2019).

Tabela 1 - Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da α -santonina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel PAN/DMSO- d_6 .

Índice	Índice (DFT/MSpin)	$^1J_{CH}$ (Hz)	$^1T_{CH}$ (Hz)	$^1D_{CH}$ (Hz)
3	13	128,7	113,2	-15,6
3a	8	130,9	117,5	-13,4
4	9	130,0	122,7	-7,3
5	10	130,4	122,6	-7,7
6	6	161,3	159,4	-1,9
7	1	164,7	179,2	14,5
9b	7	150,6	139,2	-11,4
<u>CH3-C3</u>	18	128,3	123,3	-5,05
<u>CH3-5a</u>	14	129,9	132,2	2,2
<u>CH3-C9</u>	16	128,8	130,4	1,6

Fonte: A autora (2019).

Os RDCs obtidos foram então aplicados para determinar a configuração relativa de α -santonina. As estruturas de DFT para os oito diastereoisômeros foram obtidas do trabalho de Teles e colaboradores (TELES *et al.*, 2015). A α -santonina é um composto natural que apresenta quatro estereocentros designados como C5a, C9b, C3a e C3 (Figura 20). Com base no número de estereocentros este composto possui oito diastereoisômeros. Neste trabalho as geometrias foram calculadas ao nível B3LYP/6-31G* enquanto os tensores de blindagem química foram calculados ao nível PBE0 usando o conjunto de bases pcS-1.

Os valores experimentais de RDC (Tabela 2) foram então ajustados para cada um dos oito diastereoisômeros usando o procedimento SVD (LOSONCZI *et al.*, 1999), conforme implementado no programa MSpin-RDC (NAVARRO-VÁZQUEZ, 2012). A qualidade do ajuste foi expressa em termos do fator Q de Cornilescu (CORNILESCU; BAX, 2000). Um excelente fator Q de 0,026 foi obtido para a configuração correta de α -santonina, enquanto a

segunda melhor estrutura obteve um fator Q de 0,102. Os RDCs medidos fornecem, portanto, boa discriminação para a configuração correta da α -santonina, uma vez que, quanto mais próximo de zero o fator Q melhor será o ajuste entre os RDCs experimentais e os calculados.

Na Tabela 2 são mostrados os valores do deslocamento químico de ^{13}C de α -santonina e os valores de RCSA e $\Delta\delta_{\text{isotrópicos}}$ obtidos experimentalmente em gel PAN/DMSO- d_6 .

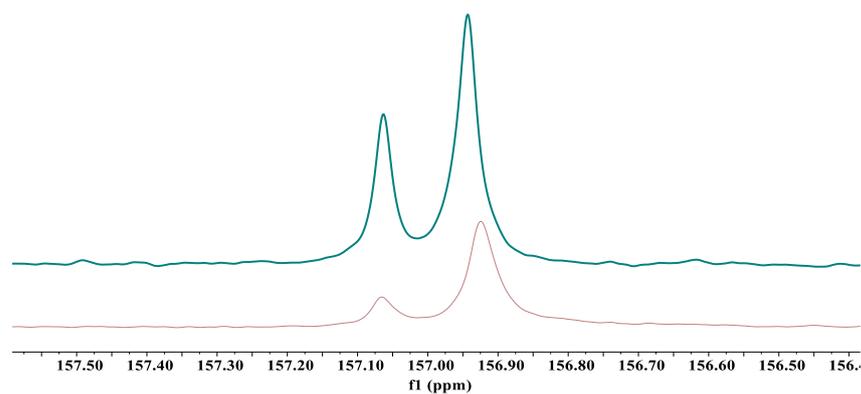
Tabela 2 - Deslocamento químico de ^{13}C de α -santonina, RCSA e $\Delta\delta_{\text{isotrópicos}}$ obtidos experimentalmente em gel PAN / DMSO- d_6 .

Índices	Índices (DFT/MSpin)	δ (^{13}C) (ppm)	RCSA (ppb)	RCSA (Hz)	$\Delta\delta$ isotrópico (ppb)	$\Delta\delta$ isotrópico (Hz)
3a	8	53,0	0,00	0,00	-72,0	-7,24
9b	7	80,6	0,00	0,00	-30,8	-3,10
7	1	124,7	-21,1	-2,12	-117,0	-11,76
<u>CH3-C9</u>	16	10,6	0,00	0,00	-17,4	-1,75
<u>CH3-C3</u>	18	12,2	6,7	0,67	-29,4	-2,96
<u>CH3-C5a</u>	14	24,5	-6,5	-0,65	-60,4	-6,07
6	6	156,6	-20,5	-2,06	-119,7	-12,03
5	10	37,4	0,00	0,00	-49,9	-5,02
4	9	22,0	0,00	0,00	-28,8	-2,89
8	2	185,6	-4,0	-0,40	-24,5	-2,46
2	12	178,0	-16,2	-1,63	-48,7	-4,90
9a	4	153,3	-36,0	-3,62	-132,0	-13,27
5a	5	41,5	0,00	0,00	-65,6	-6,59
9	3	126,3	-9,8	-0,99	0,00	0,00

Fonte: A autora (2019).

Os valores de RCSAs foram obtidos comparando simplesmente o desvio químico nos espectros de RMN de ^{13}C relaxados e comprimidos como mostrado na Figura 21. Um problema fundamental é como referenciar os dois espectros. Uma solução simples, previamente proposta, é empregar um sinal da molécula com um mínimo de anisotropia do tensor de blindagem química (HALLWASS *et al.*, 2011). O uso de moléculas altamente simétricas, onde o RCSA desaparece, como TMS ou CCl_4 também tem sido proposto (HELLEMANN *et al.*, 2016; NATH *et al.*, 2016);. No entanto, aqui observamos que indo do estado relaxado para o estado comprimido os sinais de ^{13}C do polímero são distorcidos enquanto a distância entre o sinal ^{13}C residual do polímero e o sinal DMSO- d_6 são mantidos constante. Portanto, o uso dos sinais do solvente ^{13}C DMSO- d_6 como referência para a determinação dos deslocamentos químicos nos estados comprimidos e relaxados pareceu-nos apropriado e simples.

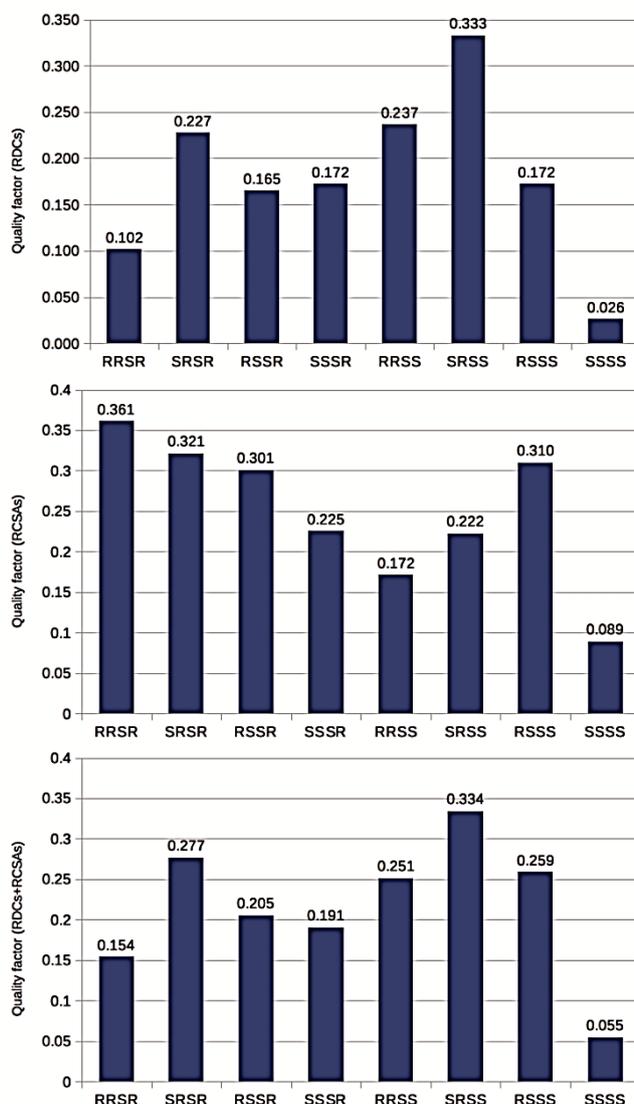
Figura 21 - Expansão (156,40 a 157,50 ppm) dos espectros de RMN de ^{13}C da α -santonina no gel PAN comprimido (rosa) e relaxado (verde).



Fonte: A autora (2019).

O ajuste dos valores de RDCs e RCSA, isoladamente ou em combinação, resultou em baixos fatores Q de RDC e RCSA para os diastereoisômeros da α -santonina (Figura 22).

Figura 22 - Fatores Q para as oito configurações da α -santonina, aplicando três procedimentos diferentes: usando apenas dados de RDCs, usando apenas dados de RCSAs e combinando dados de RDCs e RCSAs



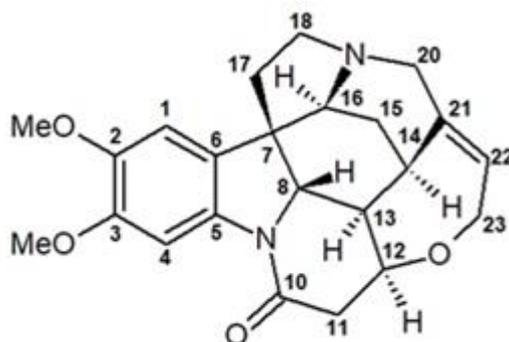
Fonte: A autora (2019).

3.1.2 Medidas de RDC/RCSA no gel de PAN para a brucina

O desempenho do gel de PAN para a medição de RDC/RCSA também foi analisado usando a molécula de brucina (Figura 23). Para a obtenção dos RDCs foi realizado o espectro de RMN HSQC acoplado em $F1$ da amostra de brucina alinhada no gel de PAN, para a obtenção das constantes de acoplamento total (T). Estes valores foram comparados, com os respectivos valores, das constantes de acoplamento escalar (J), obtidos ao realizar o mesmo experimento

para o gel no estado relaxado. A diferença entre estes dois valores forneceu o RDC experimental (Tabela 3).

Figura 23 - Estrutura da brucina



Fonte: A autora (2019).

Tabela 3 - Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da brucina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel PAN/DMSO- d_6 .

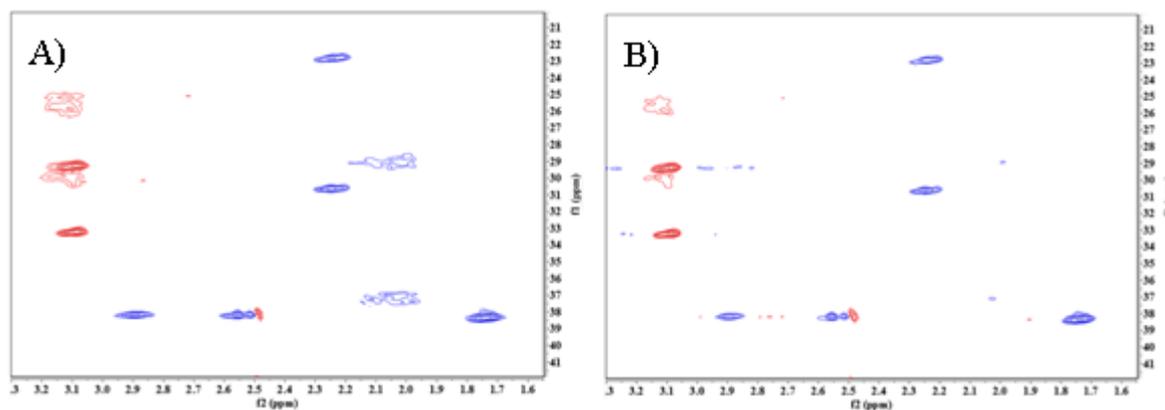
Índices	Índices (DFT/MSpin)	$^1J_{CH}$ (Hz)	$^1T_{CH}$ (Hz)	$^1D_{CH}$ (Hz)
1	22	159,3	125,6	-33,6
4	25	165,2	132,4	-32,7
8	18	138,5	131,3	-7,2
11	20	130,2	133,3	3,0
12	16	150,4	162,9	12,4
13	10	126,1	131,8	5,7
14	11	132,4	144,2	11,8
16	9	147,0	181,1	34,1
17	13	133,0	138,8	5,0
18	15	138,4	149,7	11,2
20	18	138,5	131,3	-7,2
22	23	158,9	153,4	-5,0
23	24	141,2	162,3	21,0
OMe-C2	OMe-C26	144,2	151,5	7,2
OMe-C3	OMe-C27	144,4	155,7	11,3

Fonte: A autora (2019).

Foi possível medir quinze valores de RDC, variando de -33,6 a +34,1 Hz como mostrado na Tabela 3. O valor $^1D_{CH}$ para o metileno C15 não pôde ser extraído provavelmente devido uma excessiva dispersão do sinal pelos acoplamentos próton-próton ou tempo de relaxação T_2 excessivamente curto. Por outro lado, a falta de prótons de cadeia lateral em acrilonitrila fornece um fundo espectral limpo em experimentos de HSQC e somente sinais residuais de 1H fracos

podem ser distinguidos em aproximadamente 3,1 e 2,1 ppm). Estes sinais, de T_2 muito curtos, podem ser ainda mais minimizados usando predição linear reversa, como mostrado na Figura 24.

Figura 24 - Parte dos espectros F1 HSQC acoplados a ^1H - ^{13}C (a) antes e (b) após a transformação de predição linear: para trás para 6; Pontos base: 256; coeficientes: 16; método: Toeplitz; Os espectros foram apodizados nas dimensões F1 e F2 mediante funções gaussianas.



Fonte: A autora (2019).

Os RDCs obtidos foram então aplicados para determinar a configuração relativa da brucina. Dos possíveis 32 diastereoisômeros, apenas treze geometrias 3D podem ser montadas pelo programa Ligprep sem distorção excessiva da geometria molecular. Os espaços conformacionais para esses treze diastereoisômeros foram obtidos usando uma pesquisa conformacional baseada em mecânica molecular (MMFF94) no software Macromodel (MACROMODEL, 2018). Um único conformador foi encontrado para todas as configurações na janela de energia escolhida depois que os rotâmeros das MeO foram filtrados. As estruturas obtidas foram então reotimizadas no nível de teoria M062X/6-31+G**. Os tensores de proteção química foram calculados nas estruturas M062X ao nível PBE0/6-311+G**. Todos os cálculos foram feitos usando o software Gaussian09.

Os valores experimentais da RDC foram então ajustados para cada um dos treze diastereoisômeros usando o procedimento SVD (LOSONCZI *et al.*, 1999), conforme implementado no programa MSpin-RDC (NAVARRO-VÁZQUEZ, 2012). A qualidade do ajuste foi expressa em termos do fator Q (CORNILESCU; BAX, 2000). Um fator Q de 0,093 foi obtido para a configuração correta de brucina, enquanto a segunda melhor estrutura obteve um fator Q de 0,161. Os RDCs experimentais fornecem, portanto, boa discriminação entre as estruturas. Excluímos os RDCs dos grupos metoxi devido à grande sobreposição desses sinais

no espectro e também por uma questão de simplicidade da análise, uma vez que não temos que considerar então a possível rotação ao redor da ligação C-O.

Os valores de RCSA foram obtidos comparando simplesmente o desvio químico nos espectros de RMN de ^{13}C relaxados e comprimidos após referenciar os dois espectros ao sinal de ^{13}C do solvente (DMSO- d_6). Conforme relatado acima, a compressão do gel muda a relação de massa polímero solvente e, portanto, as condições de solvatação das moléculas hospede. Pequenas mudanças nas condições de solvatação causam mudanças nos deslocamentos químicos da ordem dos RCSAs esperados e dificultam, portanto, a medição destes.

Esta contribuição, que podemos chamar isotrópica, pode ser quantificada graças ao fato que, no gel no estado relaxado, existe uma camada de solvente que rodeia o polímero, portanto dois sinais podem ser visualizados no espectro. As pequenas diferenças de deslocamento químico $\Delta\delta_{iso}$ entre estes dois meios é causada pela diferença da solvatação molecular causada pelo polímero. Griesinger e colaboradores (NATH *et al.*, 2016). Consideraram que a mudança no deslocamento químico causada pela expulsão do solvente após compressão do polímero era, para todos os sinais, uma fração $c\Delta\delta_{iso}$ fator c pode ser estimado a partir da estrutura molecular ou, otimizado simultaneamente com os parâmetros do tensor de alinhamento (HALLWASS *et al.*, 2018). Este último método foi o empregado neste trabalho. Os valores dos RCSAs e $\Delta\delta_{isotrópicos}$ medidos experimentalmente são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Deslocamento químico de ^{13}C da brucina, RCSA e $\Delta\delta_{isotrópicos}$ obtidos experimentalmente em gel PAN / DMSO- d_6 .

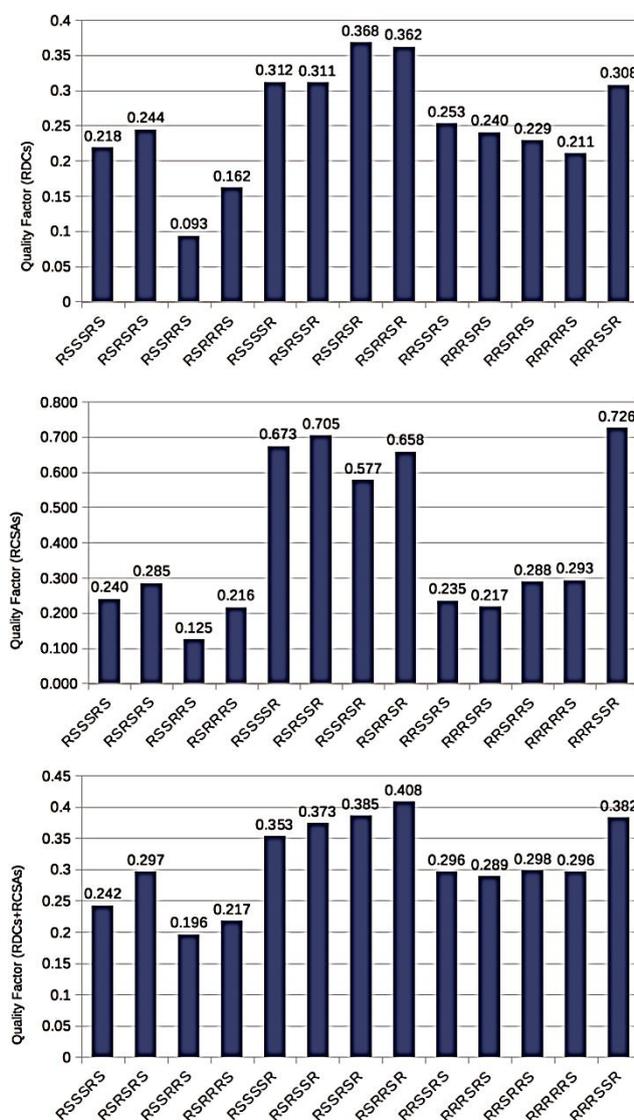
Índices	Índice (DFT/MSpin)	δ (^{13}C) (ppm)	RCSA (ppb)	RCSA (Hz)	$\Delta\delta$ isotrópico (ppb)	$\Delta\delta$ isotrópico (Hz)
1	22	107,0	24,4	2,45	-79,4	-7,98
2	26	145,7	-17,7	-1,78	-82,3	-8,27
3	27	148,3	23,0	2,31	-42,4	-4,26
4	25	100,5	27,3	2,74	-61,5	-6,18
5	19	135,4	-58,6	-5,89	-61,5	-6,18
6	14	124,2	0,00	0,00	-195,8	-1968
7	7	51,3	-9,7	-0,98	-36,1	-3,63
8	8	59,9	-27,7	-2,78	-98,9	-9,94
10	21	168,5	-28,1	-2,82	-27,5	-2,76
11	20	41,6	0,00	0,00	0,00	0,00
12	16	76,8	9,8	0,99	-58,6	-5,89
13	10	47,4	-12,0	-1,21	-83,3	-8,37
14	11	30,8	-13,6	-1,37	-97,1	-9,76
15	12	26,3	-13,6	-1,37	-120,1	-12,07
16	9	59,0	-13,4	-1,35	0,00	0,00
17	13	41,9	-10,8	-1,09	-126,8	-12,75

18	15	49,7	-15,9	-1,60	-53,5	-5,38
20	18	52,1	0,00	0,00	-122,4	-12,30
21	14	124,2	0,00	0,00	-195,8	-19,68
22	23	126,3	70,8	7,08	288,3	28,8
23	24	63,3	-28,1	-2,81	-51,9	-5,19
OMe-C2	OMe-C26	56,0	-20,0	-2,01	-50,3	-5,06
OMe-C3	OMe-C27	55,6	-33,7	-3,39	-33,0	-3,32

Fonte: A autora (2019).

Na Figura 25 o ajuste SVD dos dados RCSA proporcionou um baixo fator $Q = 0,125$ para a estrutura correta, bem como boa discriminação entre estereoisômeros com um $Q = 0,216$ para a segunda melhor estrutura. No entanto, neste caso, a combinação de RDCs e RCSAs não melhorou a discriminação e o fator Q aumentou para 0,196, enquanto novamente uma segunda melhor pontuação de 0,217 foi obtida.

Figura 25 - Fatores Q para as treze configurações geradas da brucina, aplicando três procedimentos diferentes: usando apenas dados de RDCs, usando apenas dados de RCSAs e combinando dados de RDCs e RCSAs.



Fonte: A autora (2019).

3.2 GÉIS DE N-VINIL-2-PIRROLIDONA/ACRILONITRILA

Inicialmente foram feitos géis apenas de *N*-vinil-2-pirrolidona que seria um meio de alinhamento compatível com CDCl_3 , porém o gel ficou bastante grudado no tubo de RMN e não conseguimos de nenhuma forma retirá-lo do tubo.

Na tentativa de melhorar os géis de *N*-vinil-2-pirrolidona pensamos em copolimerizar com acrilonitrila a fim de reduzir a cristalinidade do polímero e produzir um gel menos frágil.

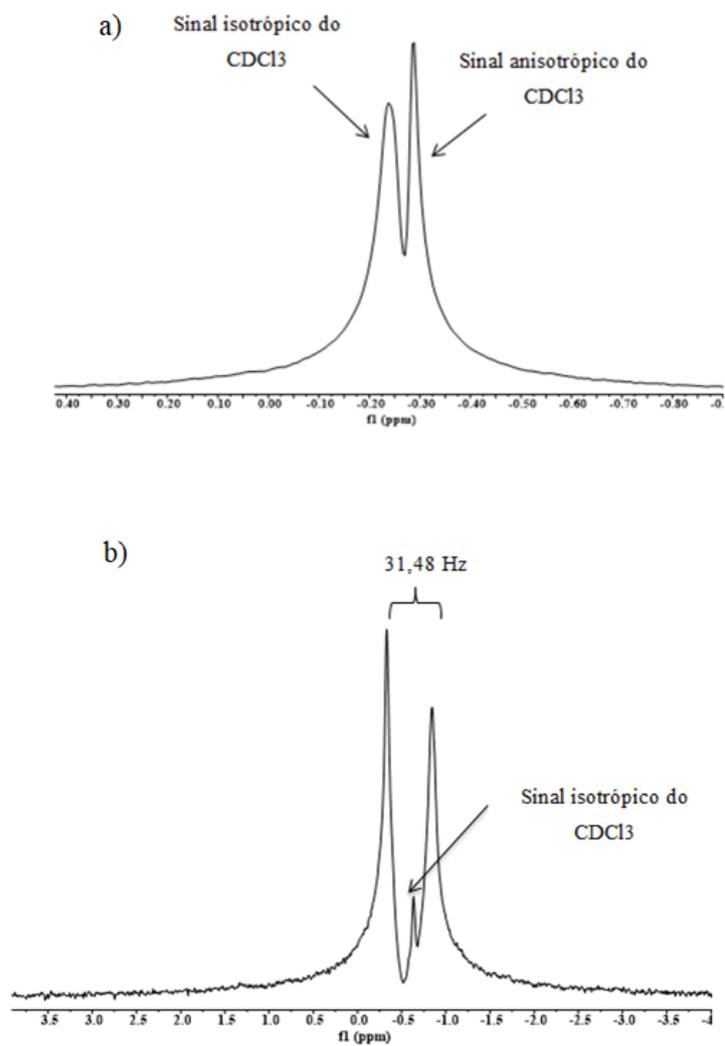
Preparamos os géis copoliméricos com uma fração molar de 0,37% de *N*-vinil-2-pirrolidona e 0,15% de acrilonitrila seguindo a metodologia citada no procedimento experimental conseguimos géis com aparência física homogênea.

Assim como nos géis de poliacrilonitrila, os géis copoliméricos de *N*-vinil-2-pirrolidona/acrilonitrila foram lavados e intumescidos em um tubo de RMN de 5 mm, seguido pela adição de uma solução de 20 mg de brucina em 500 μ L de DMSO- d_6 . O gel foi deixado para intumescer durante 24 horas antes da medição, a fim de atingir um bom grau de homogeneidade física.

Para confirmar que houve variação no grau de alinhamento, foram realizados experimentos de RMN de ^2H como mostrado na Figura 26.

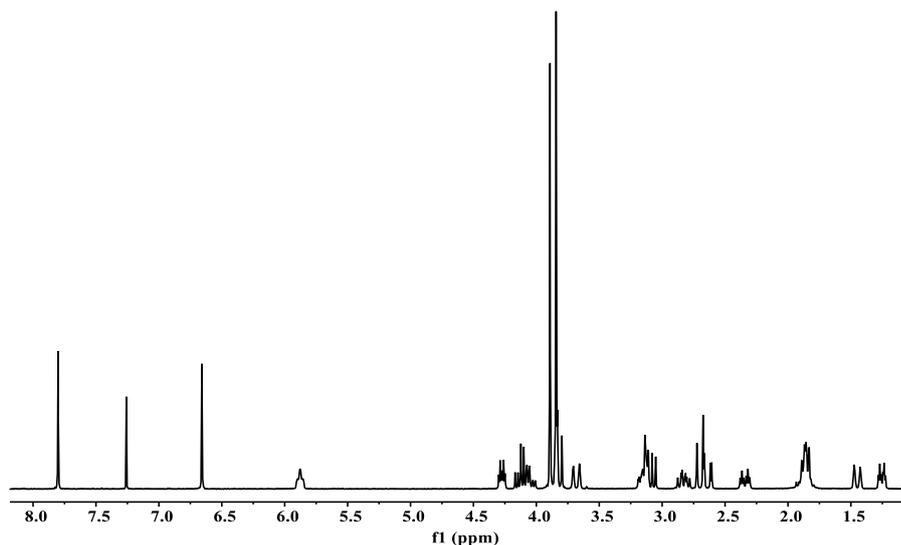
A Figura 26 mostra os espectros de ^2H medidos em duas condições de alinhamento diferentes: A compressão foi feita usando o dispositivo comercial NewEraTM. No espectro ^2H do gel relaxado, dois sinais são observados. O pico menos intenso corresponde a uma camada isotrópica de solvente em torno do gel, enquanto o mais intenso corresponde ao CDCl_3 dentro do polímero (HELLEMANN *et al.*, 2016). Quando o gel é totalmente comprimido, o sinal CDCl_3 se divide bem em um duplete de 31,48 Hz. O solvente isotrópico ainda é visto nesse grau de compressão. Nesta condição, o sinal isotrópico não se encontra sobreposto aos anisotrópicos (Figura 26, b).

Figura 26 - Espectro de RMN de ^2H em CDCl_3 : a) com o gel NVP/AN relaxado; b) com o gel NVP/AN comprimido.



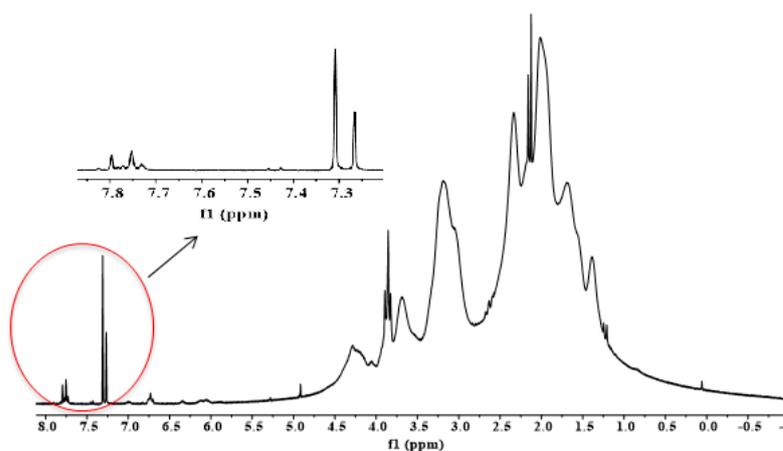
Fonte: A autora (2019).

Na Figura 27 é mostrado o espectro de RMN de ^1H da brucina. Com base nos resultados obtidos é possível realizar a comparação com a brucina no gel relaxado e comprimido.

Figura 27 - Espectro de RMN de ^1H da brucina em CDCl_3 .

Fonte: A autora (2019).

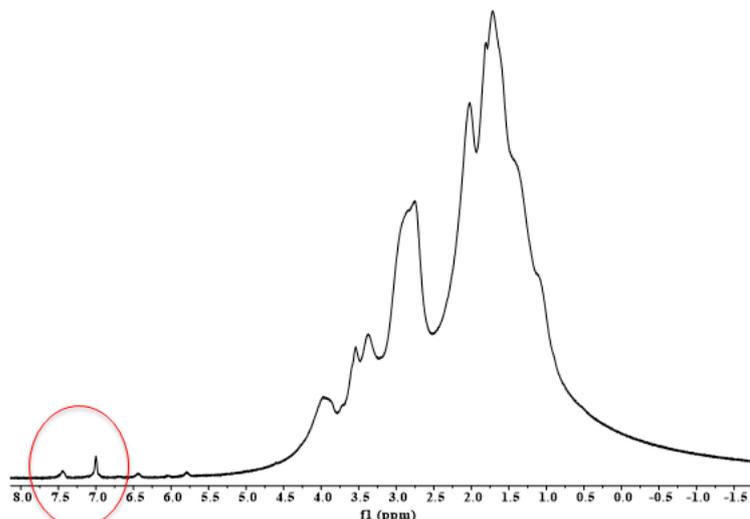
Na Figura 28 é possível observar apenas dois sinais da brucina correspondente aos hidrogênios entre as regiões de 8,0 a 7,0 ppm (no círculo vermelho). Observam-se os sinais de RMN de ^1H referentes à presença da solução dentro do gel (anisotrópico) e fora do gel (isotrópico).

Figura 28 - Espectro de RMN de ^1H da brucina no gel relaxado de NVP/AN em CDCl_3 .

Fonte: A autora (2019).

Os demais sinais espectrais estão totalmente sobrepostos impedindo a distinção entre os sinais da brucina e do gel. Isso se torna ainda mais evidente quando o gel é comprimido, assim como demonstra a Figura 29.

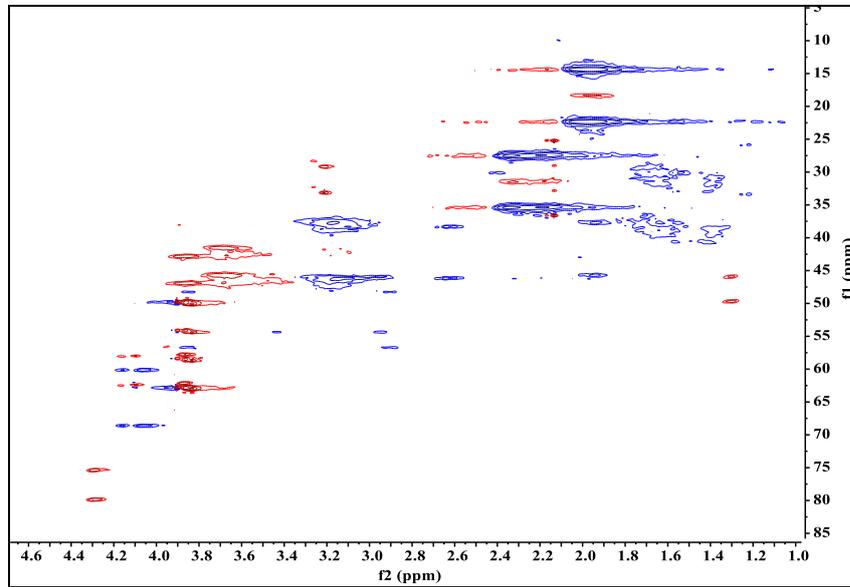
Figura 29 - Espectro de RMN de ^1H da brucina no gel comprimido de NVP/AN em CDCl_3 .



Fonte: A autora (2019).

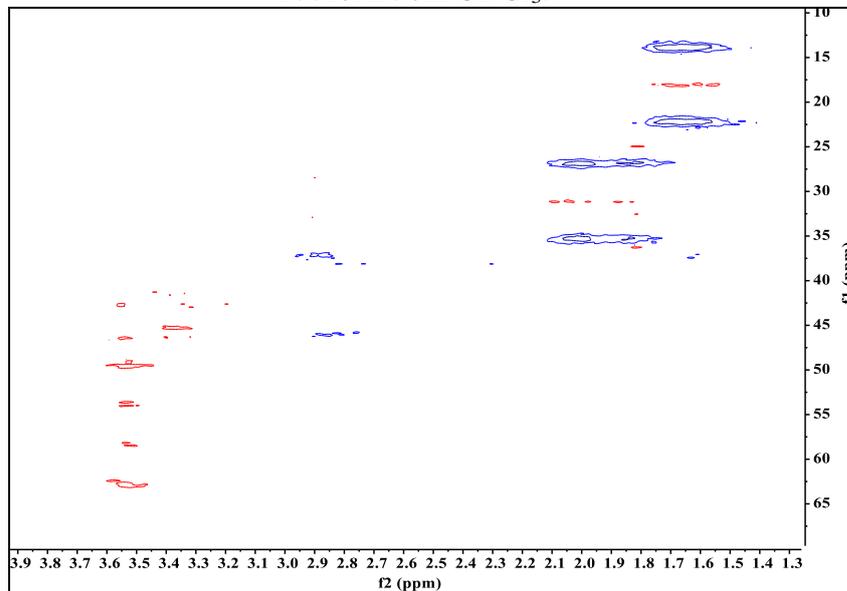
Nos espectros de RMN de HSQC acoplado em F1, mostrados nas Figuras 30 e 31 é possível observar apenas alguns sinais da brucina. Isso já era esperado levando em consideração os resultados obtidos nos espectros de ^1H . Acreditamos que o gel de NVP/AN não foi uma boa escolha. Devido à falta de informações nos espectros não conseguimos medir nenhum valor de RDC. Porém, o uso de copolimerização apresenta-se como uma técnica promissória para a preparação de géis poliméricos menos frágeis e outras combinações serão investigadas.

Figura 30 - Espectro de RMN de HSQC acoplado em F1 da brucina no gel relaxado de NVP/AN em CDCl_3 .



Fonte: A autora (2019).

Figura 31 - Espectro de RMN de HSQC acoplado em F1 da brucina no gel comprimido de NVP/AN em CDCl_3 .



Fonte: A autora (2019).

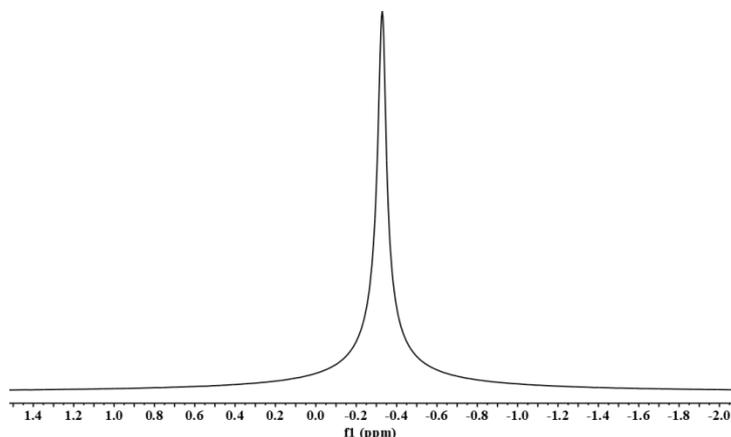
3.3 GÉIS AUTORRETICULADOS DE *N, N*-DIMETILACRILAMIDA

Levando em consideração os géis autorreticulados desenvolvidos por Cipriano e colaboradores (CIPRIANO *et al.*, 2014) tentamos explorar as propriedades desses géis nos géis produzidos por nós. Porém os géis se apresentaram frágeis e esfarelado ao comprimir.

Inicialmente foram feitos testes quanto ao intumescimento do gel em alguns solventes e notamos que os géis cresceram o dobro em clorofórmio, metanol e água.

Para avaliar o grau de alinhamento do gel foi realizado o experimento de ^2H , como mostrado na Figura 32. Podemos observar um único sinal de ^2H para D_2O no gel relaxado, isso indica que não está havendo a formação de fase anisotrópica no meio. Ao tentarmos comprimir o gel no tubo, como realizado nos experimentos para o gel de PAN, o mesmo quebrou-se, impossibilitando que fossem realizados os espectros para o gel comprimido.

Figura 32 - Espectro de ^2H -NMR do gel de DMMA intumescido em D_2O .

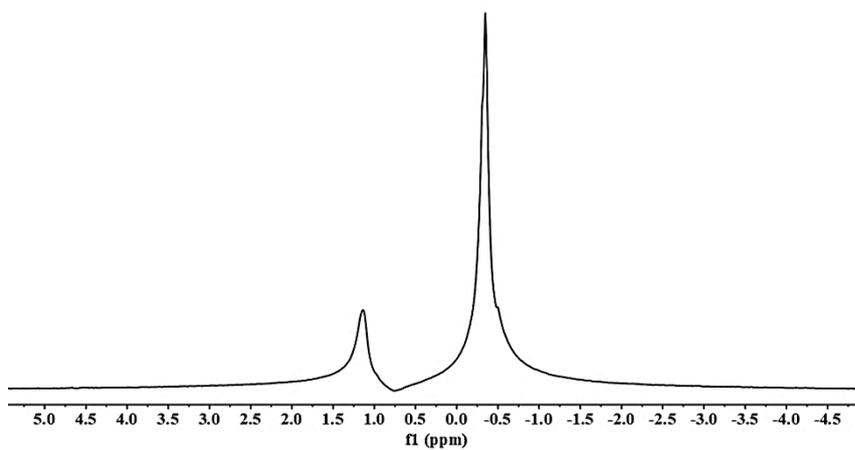


Fonte: A autora (2019).

Resolvemos selecionar um novo solvente para avaliar o comportamento do gel, optamos por usar o metanol deuterado CD_3OD , levando em consideração a pequena quantidade de trabalhos publicados na literatura. Na Figura 33 não houve separação dos picos para o sinal de CD_3 ou OD na molécula de metanol no gel relaxado na tentativa de comprimir o gel, ele novamente quebrou impossibilitando que fossem realizados os espectros para o gel comprimido. Fizemos vários testes com o gel de DMMA/ H_2O e DMMA/MeOH com os géis esticados, mas não apresentaram o desdobramento do sinal no espectro de ^2H . Os géis obtidos têm um diâmetro de aproximadamente 3 mm, eles apresentam esta medida devido ao tubo que

é utilizado para a polimerização. Para a realização dos experimentos de RMN eles foram inseridos em tubos de 5 mm, atingindo aproximadamente 5 cm.

Figura 33 - Espectro de ^2H -NMR do gel de DMMA intumescido em CD_3OD .



Fonte: A autora (2019).

4 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho foram preparados diferentes géis e testados com moléculas teste, α -santonina e brucina. O gel de PAN quimicamente reticulado mostrou-se um meio de alinhamento muito útil para a extração de RDCs e RCSAs em DMSO- d_6 . Isso foi observado através dos resultados do fator de qualidade obtidos para as moléculas teste, onde a configuração correta para a α -santonina e para a brucina apresentaram fator de qualidade de 0,026 e 0,093, respectivamente, usando apenas os dados de RDC. E usando os valores de Quando comparado com outros géis, o gel pode ser facilmente preparado usando reagentes comuns e baratos, fornece um bom grau de alinhamento para compostos com massa molecular de droga típica e espectros de HSQC muito limpos devido à falta de prótons na cadeia lateral de monômero.

O gel de *N*-vinil-2-pirrolidona/acrilonitrila embora tenha apresentado um bom splitting de deutério tem um sinal residual do polímero excessivamente intenso o que impede o seu uso como meio de alinhamento.

O gel de autorreticulação de DMMA é necessário otimizar a síntese ou até mesmo mudar o diâmetro do recipiente usado para polimerização para que ao colocar em um tubo de RMN de 5 mm de diâmetro o gel não toque completamente as paredes do tubo e possa realizar a compressão do gel.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, B.; BASHIR, S.; NISA, S. Chemically Crosslinked (VP / HEMA) Copolymer for the Controlled Release of Cyclic Oligopeptide. **Turk. J. Chem.**, v. 28, p. 279–285, 2004.
- BERNSTEIN, M. A.; HALL, L. D. An evaluation of high resolution nuclear magnetic resonance experiments and protocols in the structure elucidation of organic molecules. I. A relatively simple system, brucine. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 483–490, 1985.
- BÖTTCHER, B.; THIELE, C. M. Determining the stereochemistry of molecules from residual dipolar couplings (RDCs). **eMagRes**. v. 1, n. 1, p. 169–180, 2012.
- BURNELL, E. E.; LANGE, C. A. NMR of Ordered Liquids. **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, Boston, London, 2003.
- CIPRIANO, BANI H., BANIK, S. J. et al. Superabsorbent Hydrogels That Are Robust and Highly Stretchable. **Macromolecules**, v. 47, n. 13, p. 4445–4452, 2014.
- CLARIDGE, T. D. W. **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry**, 3rd ed. Elsevier Science: Oxford, 2016.
- CORNILESCU, G. et al. Progressive Stereo Locking (PSL): A Residual Dipolar Coupling Based Force Field Method for Determining the Relative Configuration of Natural Products and Other Small Molecules. **ACS Chemical Biology**, v. 12, n. 8, p. 2157–2163, 2017.
- CORNILESCU, G.; BAX, A. Measurement of proton, nitrogen, and carbonyl chemical shielding anisotropies in a protein dissolved in a dilute liquid crystalline phase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 41, p. 10143–10154, 2000.
- DE ALBA, E.; TJANDRA, N. NMR dipolar couplings for the structure determination of biopolymers in solution. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, v. 40, n. 2, p. 175–197, 2002.
- DELOCHE, B.; SAMULSKI, E. T. Short-Range Nematic-like Orientational Order in Strained Elastomers: A Deuterium Magnetic Resonance Study. **Macromolecules**, v. 14, n. 3, p. 575–581, 1981.
- DEVICE NEW ERA™. Disponível em: <https://newera-spectro.com/compression-gel-device>. Acesso em: 14 mar.19
- DIAS, D. A. et al. Current and future perspectives on the structural identification of small molecules in biological systems. **Metabolites**, v. 6, n. 4, 2016.
- FREUDENBERGER, J. C. et al. Stretched poly(dimethylsiloxane) gels as NMR alignment media for apolar and weakly polar organic solvents: An ideal tool for measuring RDCs at low molecular concentrations. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 45, p. 14690–14691, 2004.

- FREUDENBERGER, J. C. et al. Stretched poly(vinyl acetate) gels as NMR alignment media for the measurement of residual dipolar couplings in polar organic solvents. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 44, n. 3, p. 423–426, 2005.
- GARCÍA, M. E. et al. Stereochemistry determination by powder X-ray diffraction analysis and NMR spectroscopy residual dipolar couplings. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 48, n. 31, p. 5670–5674, 2009.
- GARCÍA, M. E. et al. Di(ethylene glycol) methyl ether methacrylate (DEGMEMA)-derived gels align small organic molecules in methanol. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 206–209, 2017.
- GAUSSIAN 09, Revisão B.01, MJ Frisch, et al. Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2016.
- GAYATHRI, C.; LA FUENTE, M. C. et al. Probing heterocycle conformation with residual dipolar couplings. **Chemical Communications**, v. 46, n. 32, p. 5879–5881, 2010.
- GAYATHRI, C.; TSAREVSKY, N. V.; GIL, R. R. Residual dipolar couplings (RDCs) analysis of small molecules made easy: Fast and tuneable alignment by reversible compression/relaxation of reusable PMMA gels. **Chemistry - A European Journal**, v. 16, n. 12, p. 3622–3626, 2010a.
- GIL-SILVA, L. F. et al. Collection of NMR Scalar and Residual Dipolar Couplings Using a Single Experiment. **Chemistry - A European Journal**, v. 22, n. 2, p. 472–476, 2016.
- GIL, R. R. et al. Stretched poly(methyl methacrylate) gel aligns small organic molecules in chloroform. Stereochemical analysis and diastereotopic proton NMR assignment in ludartin using residual dipolar couplings and 3J coupling constant analysis. **Journal of Organic Chemistry**, v. 73, n. 3, p. 840–848, 2008.
- GIL, R. R. Constitutional, configurational, and conformational analysis of small organic molecules on the basis of NMR residual dipolar couplings. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 32, p. 7222–7224, 2011.
- GUPTA, P.; VERMANI, K.; GARG, S. Hydrogels: From controlled release to pH-responsive drug delivery. **Drug Discovery Today**, v. 7, n. 10, p. 569–579, 2002.
- HABERZ, P.; FARJON, J.; GRIESINGER, C. A DMSO-compatible orienting medium: Towards the investigation of the stereochemistry of natural products. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 44, n. 3, p. 427–429, 2005.
- HALGEN, T. A. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization and performance of MMFF94. **Journal of Computational Chemistry**, v. 17, p. 490–519, 1995.
- HALLWASS, F. et al. Residual chemical shift anisotropy (RCSA): A tool for the analysis of the configuration of small molecules. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 40, p. 9487–9490, 2011.

HALLWASS, F. et al. Measurement of residual chemical shift anisotropies in compressed polymethylmethacrylate gels. Automatic compensation of gel isotropic shift contribution. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 56, n. 5, p. 321–328, 2018.

HARAGUCHI, K.; FARNWORTH, R.; OHBAYASHI, A.; TAKEHISA, T. Compositional Effects on Mechanical Properties of Nanocomposite Hydrogels Composed of Poly(N,N-dimethylacrylamide) and Clay. **Macromolecules**, v. 36, n. 15, p. 5732–5741, 2003.

HELLEMANN, E. et al. Mechanical Behavior of Polymer Gels for RDCs and RCSAs Collection: NMR Imaging Study of Buckling Phenomena. **Chemistry - A European Journal**, v. 22, n. 46, p. 16632–16635, 2016.

HELLEMANN, E.; GIL, R. R. New Stretching Method for Aligning Gels: Its Application to the Measurement Residual Chemical Shift Anisotropies (RCSAs) without the Need for Isotropic Shift Correction. **Chemistry - A European Journal**, v. 24, n. 15, p. 3689–3693, 2018.

JENSEN, F. Basis set convergence of nuclear magnetic shielding constants calculated by density functional methods. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 4, n. 5, p. 719–727, 2008.

KRAMER, F. et al. Residual dipolar coupling constants: An elementary derivation of key equations. **Concepts in Magnetic Resonance Part A: Bridging Education and Research**, v. 21, n. 1, p. 10–21, 2004.

KUCHEL, P. W. et al. Apparatus for rapid adjustment of the degree of alignment of NMR samples in aqueous media: Verification with residual quadrupolar splittings in ^{23}Na and ^{133}Cs spectra. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 180, n. 2, p. 256–265, 2006.

KUMMERLÖWE, G.; AUERNHEIMER, J.; LENDLEIN, A. LUY, B. Stretched Poly(acrylonitrile) as a Scalable Alignment Medium for DMSO. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, 6080-6081, 2007.

KUMMERLOWE, G. et al. Precise Measurement of RDCs in Water and DMSO Based Gels Using a Silicone Rubber Tube for Tunable Stretching. **The Open Spectroscopy Journal**, v. 2, n. 1, p. 29–33, 2008.

KUMMERLÖWE, G. et al. Artifact-free measurement of residual dipolar couplings in DMSO by the use of cross-linked perdeuterated poly(acrylonitrile) as alignment medium. **Chemical Communications**, v. 46, n. 43, p. 8273–8275, 2010a.

KUMMERLÖWE, G. et al. Tunable alignment for all polymer gel/solvent combinations for the measurement of anisotropic NMR parameters. **Chemistry - A European Journal**, v. 16, n. 24, p. 7087–7089, 2010b.

KUMMERLÖWE, G. et al. Residual dipolar couplings as a powerful tool for constitutional analysis: The unexpected formation of tricyclic compounds. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 11, p. 2643–2645, 2011a.

- KUMMERLÖWE, G. et al. Variable angle NMR spectroscopy and its application to the measurement of residual chemical shift anisotropy. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 209, n. 1, p. 19–30, 2011b.
- LANCEFIELD, C. S. et al. The use of residual dipolar coupling for conformational analysis of structurally related natural products. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 467–475, 2015.
- LEVITT, M. H. Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance, 2nd edition, 2008.
- LI, G. W. et al. Residual Dipolar Couplings in Structure Determination of Natural Products. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 8, n. 4, p. 279–295, 2018.
- LIU, YIZHOU, NAVARRO-VÁZQUEZ, A. et al. Application of anisotropic NMR parameters to the confirmation of molecular structure. **Nature Protocols**, v. 14, n. 1, p. 217–247, 2018a.
- LIU, Y. et al. Unequivocal determination of complex molecular structures using anisotropic NMR measurements. **Science**, v. 356, n. 6333, 2017.
- LIU, Y. et al. Enhanced measurement of residual chemical shift anisotropy for small molecule structure elucidation. **Chemical Communications**, v. 54, n. 34, p. 4254–4257, 2018.
- LIU, Y.; PRESTEGARD, J. H. A device for the measurement of residual chemical shift anisotropy and residual dipolar coupling in soluble and membrane-associated proteins. **Journal of Biomolecular NMR**, v. 47, n. 4, p. 249–258, 2010.
- LIGPREP. Schrödinger Release 2018-4: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, 2018.
- LOSONCZI, J. A. et al. Order Matrix Analysis of Residual Dipolar Couplings Using Singular Value Decomposition. v. 342, p. 334–342, 1999.
- LUY, B. et al. Orientational properties of stretched polystyrene gels in organic solvents and the suppression of their residual ¹H NMR signals. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 17, p. 6459–6465, 2005.
- LUY, B.; KOBZAR, K.; KESSLER, H. An easy and scalable method for the partial alignment of organic molecules for measuring residual dipolar couplings. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 43, n. 9, p. 1092–1094, 2004.
- MACROMODEL. Schrödinger Release 2018-4: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, 2018.
- MANGONI, A.; ESPOSITO, V.; RANDAZZO, A. Configuration assignment in small organic molecules via residual dipolar couplings. **Chemical Communications**, v. 9, n. 1, p. 154–155, 2003.
- MERLE, C. et al. Crosslinked poly(ethylene oxide) as a versatile alignment medium for the

measurement of residual anisotropic NMR parameters. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 39, p. 10309–10312, 2013.

MEVERS, E. et al. Homodimericin A: A Complex Hexacyclic Fungal Metabolite. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 38, p. 12324–12327, 2016.

NATH, N. et al. Determination of Relative Configuration from Residual Chemical Shift Anisotropy. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 30, p. 9548–9556, 2016.

NAUMANN, C. et al. Tunable-alignment chiral system based on gelatin for NMR spectroscopy. **Journal of the American Chemical Society**, v. 129, n. 17, p. 5340–5341, 2007.

NAVARRO-VÁZQUEZ, A. MSpin-RDC. A program for the use of residual dipolar couplings for structure elucidation of small molecules. **Magnetic Resonance in Chemistry** n. 50, p. S73–S79, 2012.

NAVARRO-VÁZQUEZ, A.; BERDAGUÉ, P.; LESOT, P. Integrated Computational Protocol for the Analysis of Quadrupolar Splittings from Natural-Abundance Deuterium NMR Spectra in (Chiral) Oriented Media. **ChemPhysChem**, v. 18, n. 10, p. 1219, 2017.

NEEDLES, H. L.; WHITFIELD, R. E. Crosslinking of Copolymers Containing N,N-Dimethylacrylamide. **Journal of polymer science: part A**. v. 3, p. 3543–3548, 1965.

NITA, L. E. et al. Hydrogel based on poly (n,n-dimethylacrylamide-co- sensitive behavior. Synthesis and characterisation. *Revue Roumaine de Chimie*, v. 58, p. 137–143, 2013.

NOMURA, R.; MASUDA, T. Acetylenic Polymers, Substituted. **Encyclopedia of Polymer Science and Technology**, 2003.

OLABISI, O.; ADEWALE, K. **Handbook of thermoplastics**. Second edition, 2016.

OSKAR, N. Polystyrenes and Other Aromatic Poly(vinyl compound)s. In **Handbook of polymers synthesis**. eds. Donald E. Hudgin, p 69, vol 1. New York. 2005.

PACIOS, I. E.; HORTA, A.; RENAMAYOR, C. S. Macroporous gels of poly(N,N-dimethylacrylamide) obtained in the lamellar system AOT/water. **Macromolecules**, v. 37, n. 12, p. 4643–4650, 2004.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia** - 4ª Ed.: Cengage Learning, 2010.

SAUPE, A., ENGLERT, G. High-resolution nuclear magnetic resonance spectra of orientated molecules. **Physical Review Letters**, v. 11, p. 462–466, 1963.

SAUPE, A. Recent Results in the Physics of Liquid Crystals. **Collective Properties of Physical Systems**, v. 11, n. 2, p. 228–229, 2014.

ŞEN, M.; AVCI, E. N. Radiation synthesis of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)-κ-carrageenan

hydrogels and their use in wound dressing applications. I. Preliminary laboratory tests. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 74, n. 2, p. 187–196, 2005.

SERAP DERMAN, K. K.; BANU MANSUROGLU*, Z. M. Poly (N-Vinyl-2-Pyrrolidone-co -Acrylic Acid) - Bovine Serum Albumin Complex Formation Studied by HPLC and UV / Vis Spectroscopy. v. 17, n. 4, p. 6–13, 2012.

SHAPIRO, M. J. et al. Complete Relative Stereochemistry of Multiple Stereocenters Using Only Residual Dipolar Couplings. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 15, p. 5008–5017, 2004.

SUITS, B. H. Nuclear quadrupole resonance spectroscopy. In: **Handbook of Applied Solid State Spectroscopy**. Vij DR (Ed.), Kluwer Scientific, 2006.

SUN, H. et al. Challenge of large-scale motion for residual dipolar coupling based analysis of configuration: The case of fibrosterol sulfate A. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 37, p. 14629–14636, 2011.

TELES, R.R. et al. *Quim. Nova.*, v. 38, n. 10, p. 1345–1350, 2015.

THIELE, C. M. Simultaneous assignment of all diastereotopic protons in strychnine using RDCs: PELG as alignment medium for organic molecules. **Journal of Organic Chemistry**, v. 69, n. 22, p. 7403–7413, 2004.

THIELE, C. M. Residual dipolar couplings (RDCs) in organic structure determination. **European Journal of Organic Chemistry**, n. 34, p. 5673–5685, 2008.

THIELE, C. M.; BERGER, S. Probing the diastereotopicity of methylene protons in strychnine using residual dipolar couplings. **Organic Letters**, v. 5, n. 5, p. 705–708, 2003.

THIELE, C. M.; BERMEL, W. Speeding up the measurement of one-bond scalar (1J) and residual dipolar couplings (1D) by using non-uniform sampling (NUS). **Journal of Magnetic Resonance**, v. 216, p. 134–143, 2012.

THOMAS, W. M. Mechanism of acrylonitrile polymerization. **Fortschritte der Hochpolymeren-Forschung**, v. 2, n. 3, p. 401–441, 1961.

TRIGO-MOURIÑO, P. et al. Conformational analysis of an isoquinolinium hydrochloride in water using residual dipolar couplings. **Journal of Organic Chemistry**, v. 75, n. 9, p. 3101–3104, 2010.

TROCHE-PESQUEIRA, E. et al. Computer-Assisted 3D Structure Elucidation of Natural Products using Residual Dipolar Couplings. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 56, n. 13, p. 3660–3664, 2017.

TROCHE-PESQUEIRA, E.; CID, M. M.; NAVARRO-VÁZQUEZ, A. Disodium cromoglycate: Exploiting its properties as a NMR weak-aligning medium for small organic molecules. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 12, n. 12, p. 1957–1965, 2014.

TYCKO, R.; BLANCO, F. J.; ISHII, Y. Alignment of biopolymers in strained gels: A new way to create detectable dipole-dipole couplings in high-resolution biomolecular NMR [23]. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 38, p. 9340–9341, 2000.

VERDIER, L. et al. Measurement of long range H, C couplings in natural products in orienting media: A tool for structure elucidation of natural products. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 163, n. 2, p. 353–359, 2003.

YAN, J. et al. A novel method for the determination of stereochemistry in six-membered chairlike rings using residual dipolar couplings. **Journal of Organic Chemistry**, v. 68, n. 5, p. 1786–1795, 2003.

YU, B. et al. More accurate $^1J_{CH}$ coupling measurement in the presence of $^3J_{HH}$ strong coupling in natural abundance. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 215, p. 10–22, 2011.

ZWECKSTETTER, M. NMR: Prediction of molecular alignment from structure using the PALES software. **Nature Protocols**, v. 3, n. 4, p. 679–690, 2008.