



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

DAIANE DE SOUZA CARVALHO

**SÍNTESE E APLICAÇÃO DE GÉIS POLIMÉRICOS COMO MEIOS DE
ALINHAMENTO EM RMN**

Recife
2023

DAIANE DE SOUZA CARVALHO

**SÍNTESE E APLICAÇÃO DE GÉIS POLIMÉRICOS COMO MEIOS DE
ALINHAMENTO EM RMN**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciência de Materiais. Área de concentração: Materiais não metálicos.

Orientador: Prof.º Dr. Armando Juan Navarro-Vázquez.

Coorientador: Prof.º Dr. Fernando Hallwass.

Recife
2023

Catálogo na fonte
Bibliotecária Mônica Uchôa, CRB4-1010

C331s Carvalho, Daiane de Souza
 Síntese e aplicação de géis poliméricos como meios de alinhamento em RMN /
 Daiane de Souza Carvalho. – 2023.
 145 f.: il., fig., tab.

 Orientador: Armando Juan Navarro-Vázquez.
 Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Ciência de
 Materiais, Recife, 2023.
 Inclui referências e apêndices.

 1. Géis poliméricos. 2. RDC. 3. RCSA. 4. Determinação estrutural. I. Navarro-
 Vázquez, Armando Juan (Orientador). II. Título.

620.19 CDD (23. ed.) UFPE - CCEN 2023 – 204

DAIANE DE SOUZA CARVALHO

**SÍNTESE E APLICAÇÃO DE GÉIS POLIMÉRICOS COMO MEIOS DE
ALINHAMENTO EM RMN**

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

Aprovada em: 21/07/2023.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Dr. Armando Juan Navarro-Vázquez (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profª. Drª. Yêda Medeiros Bastos de Almeida (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº. Dr. Juan Carlos Fuentes-Monteverde (Examinador Externo)
Instituto Max Planck de Química Biofísica

Profº. Dr. Victor Manuel Sanchez Pedregal (Examinador Externo)
Universidade de Santiago de Compostela

Profº. Dr. Massimo Lazzari (Examinador Externo)
Universidade de Santiago de Compostela

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

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

À 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, afeto e carinho;

Às minhas irmãs Mariane e Larissa que são minhas companheiras.

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

Aos amigos que conheci no PGMTR/UFPE;

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

À técnica Ingrid Vanessa, do PGMTR/UFPE, pela disponibilidade e gentileza;

À Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade de realizar o doutorado;

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa de doutorado.

RESUMO

Três polímeros reticulados foram preparados neste trabalho, a saber, poly-*N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (p-DMA/AN), poly (acrilonitrila/ácido 2-acrilamida-2-metil-1-propano sulfônico) (p-AN/AMPS) e poliestireno (PS) por meio de síntese radicalar. Estes polímeros foram intumescidos em uma variedade de solventes fornecendo diferentes géis poliméricos. Todos eles puderam ser comprimidos mecanicamente, de forma reversível, gerando a anisotropia necessária para serem empregados como meios de alinhamento de RMN para a medição de parâmetros anisotrópicos de RMN, como os acoplamentos dipolares residuais (RDCs) ou as anisotropias do deslocamento químico residual (RCSAs), parâmetros que foram posteriormente aplicados para fins de elucidação estrutural de pequenas moléculas. O copolímero p-DMA/AN pôde ser intumescido nos solventes orgânicos polares acetonitrila- d_3 e metanol- d_4 , enquanto o copolímero iônico p-AN/AMPS foi compatível com D_2O . Por outro lado, o polímero PS pôde ser intumescido em tolueno, dioxano, tetrahydrofurano e clorofórmio. A avaliação inicial do comportamento de RMN desses géis realizou-se através da medição da divisão quadrupolar dos solvente deuterados em experimentos de RMN de 2H após compressão mecânica. O comportamento de todos esses géis como meio de alinhamento de RMN foi estudado em diferentes moléculas orgânicas. Os géis de p-DMA/AN foram testados nos produtos naturais α -santonina e brucina, enquanto foram empregadas as moléculas de sacarose, 5-norbornen-2-ol, azidotimidina (AZT) e cefuroxima para os géis de p-AN/AMPS. Finalmente, o gel de PS foi testado usando a molécula de brucina. RDCs de 1H - ^{13}C e RCSAs de ^{13}C para todas essas moléculas foram extraídos com a ajuda de experimentos 1H - ^{13}C HSQC bidimensionais e experimentos unidimensionais $\{^1H\}$ - ^{13}C , respectivamente. Esses dados foram ajustados a modelos moleculares tridimensionais usando o método de decomposição de valor singular e a qualidade do ajuste foi expressa em termos do desvio quadrático médio escalado Q . O gel p-DMA/AN apresentou para as moléculas de α -santonina e brucina em acetonitrila- d_3 valores de RDCs de -14,4 a 5,4 Hz ($Q=0,011$) e -9,9 a 23,0 Hz ($Q=0,047$), respectivamente. Em metanol- d_4 , a brucina forneceu RDCs em uma faixa de -15,1 a 15,9 Hz ($Q=0,069$). O gel p-AN/AMPS apresentou valores de RDC na faixa de -8,0 a 11,0 Hz obtidos para sacarose, correspondendo a um fator Q de 0,016 para o melhor modelo conformacional, enquanto para 5-norbornen-2-ol foram obtidos RDCs entre -14,7 a 30,9 Hz ($Q=0,069$).

Por fim, o gel de poliestireno obtido a partir do intumescimento em tolueno- d_8 forneceu valores de RDC e RCSA para a molécula de brucina nas faixas de -13,0 a 8,0 Hz e 0,057 a 0,120 ppm, respectivamente. O ajuste desses valores de RDCs e RCSAs forneceu fatores Q de 0,052 e 0,076, respectivamente.

Palavras-chave: géis poliméricos; RDC; RCSA; determinação estrutural.

ABSTRACT

Three new cross-linked polymers were developed in this work, namely poly (*N,N*-dimethylacrylamide/acrylonitrile) (p-DMA/AN), poly (acrylonitrile/2-acrylamide-2-methyl-1-propane sulfonic acid) (AN/AMPS) and polystyrene (PS) through free radical synthesis. These polymers were swollen in a variety of solvents providing different polymer gels. They could be mechanically compressed, in a reversible way, generating the necessary anisotropy to be employed as NMR aligning media for the measurement of NMR anisotropic parameters, such as residual dipolar coupling (RDCs) or residual chemical shift anisotropy (RCSAs), parameters which were later applied for small-molecule structural elucidation purposes. The p-DMA/AN copolymer could be efficiently swollen in the acetonitrile-*d*₃ and methanol-*d*₄ polar organic solvents while the AN/AMPS ionic copolymer was compatible with D₂O. In the other hand, the PS polymer could be swollen in toluene, dioxane, tetrahydrofuran and chloroform. Initial evaluation of the NMR behavior of these gels could be ascertained through measurement of deuterated solvent quadrupolar splittings in ²H NMR experiments upon mechanical compression. DMA/AN gels were tested on α-santonin and brucine natural products, while AN/AMPS gels were tested on the sucrose, 5-norbornen-2-ol, azidothymidine (AZT) and cefuroxime molecules. Finally, the PS gel was tested using the brucine molecule. ¹H-¹³C RDCs and ¹³C-RCSAs for all these molecules were extracted with the help of two-dimensional ¹H-¹³C HSQC experiments and {¹H}-¹³C one-dimensional experiments respectively. These data were fitted to three-dimensional molecular models using the singular value decomposition method and the quality of the fitting was expressed in terms of the so-called quality factor *Q* (a scaled RMSD). The p-DMA/AN gel showed good performance for the measurement of RDCs in acetonitrile-*d*₃ and methanol-*d*₄. For the α-santonin and brucine molecules in acetonitrile-*d*₃ RDCs were measured in a range of -14.4 to 5.4 Hz (*Q*=0.011) and -9.9 to 23.0 Hz (*Q*=0.047). Utilizing methanol-*d*₄ brucine furnished RDCs in a range of -15.1 to 15.9 Hz (*Q*=0.069), respectively. In all cases the correct diastereoisomer could be discriminated from the corresponding diastereoisomer pools. However, both in acetonitrile-*d*₃ methanol-*d*₄, due to the peaks being very broad the extracted ¹³C RCSAs were far from having enough accuracy enough as to be applied to the discrimination of diastereoisomers. The p-DMA/AN gel presented RDC values of -14.4 to 5.4 Hz (*Q*=0.011) and -9.9 to 23.0 Hz for the α-santonin and brucine molecules in

acetonitrile-d₃ ($Q=0.047$), respectively. In methanol-d₄, brucine provided RDCs in a range of -15.1 to 15.9 Hz ($Q=0.069$). The p-AN/AMPS gel presented RDC values in the range of -8.0 to 11.0 Hz obtained for sucrose, corresponding to a Q factor of 0.016 for the best conformational model, while for 5-norbornel-2-ol they were RDCs were obtained between -14.7 to 30.9 Hz ($Q=0.069$). Finally, the polystyrene gel obtained from swelling in toluene-d₈ provided RDC and RCSA values for the brucine molecule in the ranges of -13.0 to 8.0 Hz and 0.057 to 0.120 ppm, respectively. Adjustment of these RDCs and RCSAs values provided Q factors of 0.052 and 0.076, respectively.

Keywords: polymeric gels; RDC; RCSA; structural determination.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Reação de polimerização da poliacrilonitrila reticulada.....	25
Figura 2 –	Estrutura da rede de géis (a) homogêneo e (b) heterogêneo.....	26
Figura 3 –	Produtos naturais cuja estrutura foi atribuída por meio de RDCs e RCSAs.....	28
Figura 4 –	Diferentes propostas estruturais para o aquatólido.....	29
Figura 5 –	Dispositivos usados para gerar o estiramento de géis poliméricos (a) dispositivo de Kuchel, (b) dispositivo de Liu e Prestegard e (c) adaptação do dispositivo de Kuchel.....	35
Figura 6 –	Dispositivos usados para gerar a compressão de géis poliméricos.....	36
Figura 7 –	Mapa de imagem de calor (a) e a representação visual de encurvadura no gel de PMMA mostrando camadas de solvente isotrópico em torno do gel.....	37
Figura 8 –	Representação do processo de compressão/relaxamento do gel de PMMA.....	38
Figura 9 –	Gel de PAN intumescido em DMSO- d_6 desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa.....	39
Figura 10 –	Representação do acoplamento dipolar entre dois spins I e S , onde θ_{IS} é o ângulo formado entre o vetor que une os spins I e S , e a direção do campo magnético externo B_0	42
Figura 11 –	Representação de como realizar a medida do acoplamento total para grupos metino, metileno e metila em um experimento HSQC acoplado em F1.....	44
Figura 12 –	Orientação dos eixos principais do nitrogênio da amida no quadro molecular.....	45
Figura 13 –	Espectro de RMN de 2H do gel de PAN em DMSO- d_6 (a) com compressão e (b) sem compressão.....	51
Figura 14 –	Esquema geral para a obtenção de informações estruturais usando RDCs e RCSAs.....	53
Figura 15 –	Gel de DMA/AN intumescido em acetonitrila- d_3	65

Figura 16 – Espectro de RMN de ^2H do gel de DMA/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em acetonitrila- d_3	66
Figura 17 – Estrutura e numeração da molécula de α -santonina.....	67
Figura 18 – Espectros de HSQC da α -santonina acoplado em F1 no gel de DMA/AN com o gel (a) relaxado (isotrópico), (b) comprimido (anisotrópico) e (c) expansão do espectro mostrando a medida do acoplamento para o par C9b-H9b	68
Figura 19 – Fatores Q para as oito configurações da α -santonina usando dados de RDCs.....	69
Figura 20 – Espectros de RMN de ^{13}C da α -santonina do gel de DMA/AN relaxado (isotrópico) na cor vermelha e comprimido (anisotrópico) em azul, intumescido em acetonitrila- d_3	70
Figura 21 – Fatores Q para as oito configurações da α -santonina usando dados de RCSAs, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3 ...	72
Figura 22 – Fatores Q para as oito configurações da α -santonina usando dados de RDCs e RCSAs combinados, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3	72
Figura 23 – Estrutura da brucina com a identificação numérica dos carbonos.....	73
Figura 24 – Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RDCs, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3	74
Figura 25 – Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RCSAs, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3	76
Figura 26 – Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RDCs e RCSAs combinados, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3	76
Figura 27 – Espectro de RMN de ^2H do gel de DMA/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em metanol- d_4	78

Figura 28 – Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C acoplados em F1 da brucina no gel de DMA/AN em metanol- d_4 comprimido (anisotrópico) mostrando a sobreposição de alguns sinais.....	79
Figura 29 – Estruturas dos treze diastereoisômeros da brucina.....	80
Figura 30 – Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RDCs, no gel DMA/AN/metanol- d_4	81
Figura 31 – Espectros de RMN de ^{13}C do gel de DMA/AN relaxado (isotrópico) na cor vermelha e comprimido (anisotrópico) em preto intumescido em metanol- d_4	81
Figura 32 – Estrutura e numeração de sacarose.....	84
Figura 33 – Espectro de RMN de ^2H do gel de AN/AMPS (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em D_2O	85
Figura 34 – Espectros de RMN ^2H no gel relaxado e comprimido em etapas sucessivas de até 5 mm.....	86
Figura 35 – Espectro de RMN de ^1H da sacarose no gel de AN/AMPS relaxado com detalhe para a região do próton anomérico.....	87
Figura 36 – Espectros de RMN de ^1H correspondentes à região do próton anomérico da sacarose no gel relaxado e comprimidos em etapas sucessivas até 5 mm.....	88
Figura 37 – Espectros de HSQC acoplado em F1 da sacarose no gel AN/AMPS/ D_2O com o gel (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico).....	88
Figura 38 – Estrutura da sacarose com definição de ângulos diedros...	90
Figura 39 – Conformações da sacarose ajustados por meio do uso dos RDCs implementados no programa StereoFitter.....	91
Figura 40 – Estrutura do 5-norbornen-2-ol com a identificação numérica dos carbonos.....	92
Figura 41 – Espectro de RMN de ^2H do gel de AMPS/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em D_2O	93
Figura 42 – Espectro de HSQC acoplado em F1 do 5-norbornen-2-ol no gel AN/AMPS/ D_2O comprimido.....	94

Figura 43 – Estrutura Azidotimidina (AZT).....	95
Figura 44 – Espectro de RMN de ^2H do gel de AMPS/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em D_2O	96
Figura 45 – Estrutura da cefuroxima sódica.....	97
Figura 46 – Espectro de RMN de ^2H do gel de AMPS/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em D_2O	98
Figura 47 – Espectro de RMN de ^2H do gel de poliestireno relaxado (isotrópico).....	100
Figura 48 – Espectro de RMN de ^2H do gel de poliestireno comprimido (anisotrópico)	101
Figura 49 – Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RDCs, no gel poliestireno/ tolueno- d_8	103
Figura 50 – Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RCSAs, no gel poliestireno/tolueno- d_8	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Géis poliméricos reticulados e suas compatibilidades com solvente.....	40
Tabela 2 –	Reagentes utilizados nas sínteses dos géis.....	56
Tabela 3 –	Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da α -santonina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3	68
Tabela 4 –	Deslocamento químico de ^{13}C da α -santonina, RCSA e $\Delta\delta_{isotrópicos}$ experimentalmente no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3	71
Tabela 5 –	Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da brucina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3	73
Tabela 6 –	Deslocamento químico de ^{13}C da brucina, RCSA e $\Delta\delta_{isotrópicos}$ experimentalmente no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3	75
Tabela 7 –	Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da brucina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel DMA/AN/metanol- d_4	79
Tabela 8 –	Intumescimento do gel em diferentes temperaturas.....	86
Tabela 9 –	Valores para a divisão quadrupolar de 2H e acoplamento escalar do próton anomérico da sacarose de acordo com o grau de compressão do gel. O gel foi comprimido em quatro etapas de ~1-1,5 mm até 5 mm.....	81
Tabela 10 –	Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da sacarose e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel AN/AMPS/D $_2$ O.....	89
Tabela 11 –	Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) do 5-norbornen-2-ol e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel AN/AMPS/D $_2$ O.....	94
Tabela 12 –	Influência do sal no inchaço do gel.....	98

Tabela 13 –	Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da brucina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel poliestireno/tolueno- d_8	102
Tabela 14 –	Deslocamento químico de ^{13}C da brucina, RCSA e $\Delta\delta_{isotrópicos}$ experimentalmente no gel poliestireno/tolueno- d_8	104

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIBN	2,2'-azobis (2-metilpropionitrilo)
AN	Acrilonitrila
AMPS	Ácido 2-acrilamido-2-metil-1-propano sulfônico
B_0	Campo magnético externo
BDA	Diacrilato de 1,4-butanodiol
DMA	<i>N,N</i> -dimetilacrilamida
DFT	<i>Density Functional Theory</i>
EGDA	Diacrilato de etilenoglicol
GIAO	<i>Gauge-Including Atomic Orbitals</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
J	Acoplamento escalar
PS	Poliestireno
Q	Fator de qualidade
RDC	<i>Residual Dipolar Coupling</i>
RCSA	<i>Residual Chemical Shift Anisotropy</i>
SAG	<i>Strain-induced alignment in gels</i>
SVD	<i>Singular Value Decomposition</i>
T	Acoplamento total

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	20
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
2.1	GÉIS POLIMÉRICOS.....	22
2.2	O PROBLEMA DA DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	27
2.3	MEIOS DE ALINHAMENTO FRACO	30
2.3.1	Meios de alinhamento baseados em cristais líquidos liotrópicos	31
2.3.2	Meios de alinhamento baseados em géis poliméricos	33
2.4	PARÂMETROS ANISOTRÓPICOS DE RMN.....	40
2.4.1	Acoplamento Dipolar Residual	41
2.4.1.1	Medidas experimentais de RDCs	42
2.4.2	Anisotropia do Deslocamento Químico Residual.....	44
2.4.2.1	Medidas experimentais de RCSA.....	47
2.4.3	Acoplamento Quadrupolar Residual	49
2.5	OBTENÇÃO DE INFORMAÇÕES ESTRUTURAIS BASEADAS EM MEDIDAS DE RDCS E RCSAS	52
3	OBJETIVOS	54
3.1	OBJETIVO GERAL	54
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	54
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	55
4.1	EQUIPAMENTOS, SOLVENTES E REAGENTES	55
4.2	SÍNTESE DOS GÉIS POLIMÉRICOS	57
4.2.1	Síntese dos géis de <i>N, N</i>-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN)	57
4.2.2	Síntese dos géis de Acrilonitrila/Ácido 2-acrilamida-2-metil-1-propano sulfônico (AN/AMPS)	58
4.2.3	Síntese dos géis de poliestireno.....	58
4.3	ANÁLISES DE RMN	59
4.3.1	Preparação das amostras.....	59
4.3.2	Experimentos de RMN	59
4.3.2.1	α -santonina	59
4.3.2.2	Brucina.....	60
4.3.2.3	Sacarose.....	60

4.3.2.4	5-norbornen-2-ol	61
4.3.3	Experimentos de RMN de Deutério.....	61
4.4	CÁLCULOS TEÓRICOS	61
4.4.1	Modelagem molecular da α-santonina e brucina.....	61
4.4.2	Modelagem molecular da sacarose	62
4.4.3	Modelagem molecular do 5-norbornen-2-ol.....	62
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1	GÉIS DE <i>N,N</i> -DIMETILACRILAMIDA/ACRILONITRILA (DMA/aN)	63
5.1.1	Aplicação do gel de <i>N,N</i>-dimetilacrilamida/acrilonitrila (50:50) como meio de alinhamento	65
5.1.1.1	Medidas dos RDCs da α -santonina no gel de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (50:50) em acetonitrila	67
5.1.1.2	Medidas dos RCSAs da α -santonina no gel de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (50:50) em acetonitrila	69
5.1.1.3	Medidas dos RDCs da brucina no gel de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (50:50) em acetonitrila	72
5.1.1.4	Medidas dos RCSAs da brucina no gel de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (50:50) em acetonitrila	74
5.1.2	Aplicação do gel de <i>N,N</i>-dimetilacrilamida/acrilonitrila (75:25) em metanol como meio de alinhamento.....	76
5.1.2.1	Medidas dos RDCs da brucina no gel de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (75:25) em metanol.....	78
5.1.2.2	Medidas dos RCSAs da brucina no gel de <i>N,N</i> -dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (75:25) em metanol.....	81
5.2	GEL DE ACRILONITRILA/ÁCIDO 2-ACRILAMIDA-2-METIL-1-PROPANO SULFÔNICO (AN/AMPS).....	82
5.2.1	Aplicação do gel de AN/AMPS como meio de alinhamento em água .	84
5.2.1.1	Sacarose.....	84
5.2.1.2	5-norbornen-2-ol	92
5.2.1.3	Azidotimidina (AZT).....	95
5.2.1.4	Cefuroxima sódica	96
5.3	GEL DE POLIESTIRENO.....	99
5.3.1	Aplicação do gel de poliestireno como meio de alinhamento	99
5.3.1.1	Medidas dos RDCs da brucina no gel de poliestireno em tolueno.....	101

5.3.1.2	Medidas dos RCSAs da brucina no gel de poliestireno em tolueno.....	103
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	106
6.1	CONCLUSÕES.....	106
6.2	PERSPECTIVAS	107
	REFERÊNCIAS.....	108
	APÊNDICE A – ESPECTROS DE HSQC-F1 DE A-SANTONINA, BRUCINA, SACAROSE, 5-NORBORNEN-2OL, AZIDOTIMIDINA (AZT) E CEFUROXIMA NOS GÉIS.....	122
	APÊNDICE B – ESPECTROS DE ¹³C DE BRUCINA, A-SANTONINA, NOS GÉIS DE DMA/AN E POLIESTIRENO.....	130
	APÊNDICE C – INPUT DA A-SANTONINA E BRUCINA NO GEL DE DMA/AN	134
	APÊNDICE D– INPUT DA SACAROSE E 5-NORBORNEN-2-OL NO GEL DE AN/AMPS	141
	APÊNDICE E – INPUT DA BRUCINA NO GEL DE POLIESTIRENO	143

1 INTRODUÇÃO

Desde as suas primeiras aplicações até os dias atuais, os géis poliméricos despertam o interesse de cientistas de diferentes áreas de pesquisa (BHATTACHARYA & SHUNMUGAM, 2020; BRAHIM *et al.*, 2022; FLORY, 1953; HAN *et al.*, 2013). Entre as diversas áreas, uma que tem ganhado destaque nas últimas duas décadas é o uso destes géis como meios de alinhamento, com aplicação em ressonância magnética nuclear (RMN) (LIU *et al.*, 2019). As possibilidades de utilização de géis poliméricos nessa área concentram-se na ampla disponibilidade de diversos monômeros, os quais apresentam propriedades variadas e, portanto, podem ser usados, de forma individual ou combinada, na síntese de géis com propriedades desejadas.

A determinação da estrutura de moléculas orgânicas utilizando a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é com certeza a técnica mais importante para a determinação estrutural em química orgânica, tanto na área de síntese, quanto na área de produtos naturais. Contudo, novos desafios em elucidação estrutural levaram a importantes aprimoramentos e surgimento de novas técnicas em RMN, como ilustrado em diversos casos em que os métodos convencionais de análises não foram suficientes para elucidar com clareza a estrutura de compostos orgânicos complexos (LIU *et al.*, 2017; MILANOWSKI *et al.*, 2018; NDUKWE *et al.*, 2020). Métodos de determinação estrutural, como o uso de técnicas computacionais envolvendo a predição quantitativa de deslocamentos químicos e acoplamentos escalares com métodos baseados na teoria do funcional da densidade (DFT) e a RMN de meios orientados, ou alinhados, são exemplos de metodologias que complementam as técnicas tradicionais de RMN disponíveis.

Existem diversos protocolos para o emprego da predição quantitativa de deslocamentos químicos, e acoplamentos escalares em problemas de elucidação estrutural (GRIMBLAT *et al.*, 2015; KUTATELADZE & MUKHINA *et al.*, 2014; LODEWYK *et al.*, 2012; NAVARRO-VÁZQUEZ *et al.*, 2018). Protocolos que podem ser aplicados não só a problemas de constituição química, ou seja, a elucidação do grafo molecular (representação molecular), mas também à determinação da configuração estereoquímica relativa.

A técnica de RMN em meios de alinhamento, ou orientados baseia-se no alinhamento da molécula a partir da geração de um pequeno grau de anisotropia nos graus de liberdade da rotação molecular que permite recuperar uma fração dos parâmetros anisotrópicos, como os acoplamentos dipolares residuais (RDCs), anisotropias dos deslocamentos químicos residuais (RCSAs) ou os acoplamentos quadrupolares residuais (RQCs). Nas condições de alinhamento, a parte anisotrópica é recuperada parcialmente e assim, é possível obter informações estruturais. Os parâmetros mais empregados são, sem dúvida, os RDCs. Estes fornecem informação acerca dos ângulos relativos dos vetores internucleares, independentemente da distância entre eles. Esta informação pode ser facilmente usada para estabelecer a configuração relativa das moléculas, mesmo daquelas com vários estereocentros (MANGONI *et al.*, 2003; MA *et al.*, 2020; YAN *et al.*, 2004).

Um dos principais problemas no desenvolvimento da área de RMN de meios orientados é, sobretudo, produzir meios de alinhamento que sejam compatíveis com os solventes deuterados comuns, de fácil emprego, fisicamente homogêneos, e forneçam parâmetros anisotrópicos (RDCs e RCSAs) na faixa de valores desejada.

Mesmo com uma generosa quantidade de meios de alinhamento (LI *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2019), é importante ter tantos meios de alinhamento disponíveis quanto possível, compatíveis com um determinado solvente, garantindo a compatibilidade química com o maior número possível de analitos envolvendo diferentes funcionalidades e tamanhos moleculares.

Este trabalho apresenta três novos géis poliméricos, que são de fato compatíveis com diversos solventes como, água, acetonitrila, metanol e tolueno e aplicáveis à medição de RDCs ou RCSAs. Estes géis apresentam importantes vantagens como o seu fácil método de síntese e processo de lavagem para retirada de monômeros residuais; compressão reversível para geração de anisotropia; e espectros de RMN sem quase ou nenhum sinal de fundo, tornando tais géis bons meios de alinhamento para determinação da configuração stereoquímica e conformação de moléculas orgânicas de origem natural ou sintética e, portanto, com aplicação no meio acadêmico ou industrial, à química de produtos naturais, química medicinal ou química orgânica sintética.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 GÉIS POLIMÉRICOS

Os géis poliméricos consistem em cadeias poliméricas, unidas por ligações cruzadas. Quando imersos em solventes, estes géis absorvem o solvente dentro de sua estrutura tridimensional, e este fica aprisionado na rede polimérica que não pode ser dissolvida devido à presença de ligações químicas que impedem sua dissolução (CUSSLER *et al.*, 1993; OSADA *et al.*, 2000; SHIBAYAMA & TANAKA, 1993).

Os géis poliméricos podem ser classificados como químicos ou físicos. Os géis químicos são reticulados por meio de ligações covalentes, enquanto nos géis físicos a rede polimérica é formada por forças fracas como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas ou iônicas ou a combinação delas (BOHIDAR *et al.*, 2003; OSADA *et al.*, 2000; ROGOVINA *et al.*, 2008).

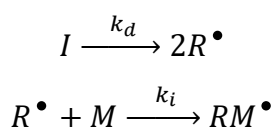
O processo de formação das ligações cruzadas ou reticulação polimérica pode ser realizado por irradiação ou por reação química. A reação de reticulação por irradiação usa feixes de elétrons, raios gama, raios-X ou raios ultravioletas para excitar os elétrons das ligações químicas dos reagentes formando radicais livres que reagem para formar uma estrutura reticulada. No caso da reticulação mediante reações químicas, são usados agentes químicos na reticulação (RATNER *et al.*, 1996).

A polimerização para a formação de géis é frequentemente realizada via radicais livres através de um processo em cadeia. Este tipo de polimerização envolve três etapas: iniciação, propagação e terminação. Estas etapas estão descritas de forma geral nas equações 1-3. A reação de iniciação pode ocorrer por decomposição térmica ou fotoquímica de um iniciador de radicais, que deve ter uma ligação química frágil para se decompor homoliticamente formando dois radicais livres como centros ativos. Os iniciadores mais utilizados são peróxidos orgânicos ou compostos azo, sendo o 2,2'-azobis (2-metilpropionitrilo) (AIBN) o iniciador azo mais frequentemente empregado.

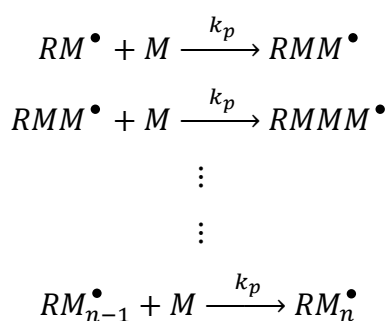
Os radicais livres formados irão reagir com as moléculas de monômero presente no meio reacional iniciando a polimerização. A etapa de propagação é a fase de crescimento da macromolécula, em que as moléculas de monômero são continuamente adicionadas aos radicais livres em crescimento, ou seja, o radical monomérico que foi formado na etapa de iniciação reage com as moléculas de

monômero fazendo com que o comprimento da cadeia do radical livre aumente. A etapa de terminação ocorre com a interrupção do crescimento da cadeia através do desaparecimento do radical livre, que pode acontecer por recombinação de dois radicais ativos (terminação por reações de combinação) formando uma ligação covalente simples C-C. A terminação pode ocorrer também por reações de desproporcionamento, as quais ocorrem pela transferência de um hidrogênio de uma cadeia em crescimento para o centro ativo de outra, conservando-se a molecularidade inicial (CANEVAROLO JUNIOR, 2006; SZWARC, 1956; YAMADA & ZETTERLUND, 2002).

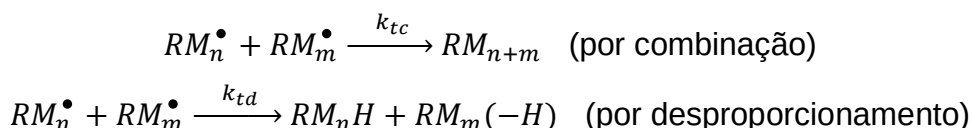
Iniciação (1)



Propagação (2)



Terminação (3)

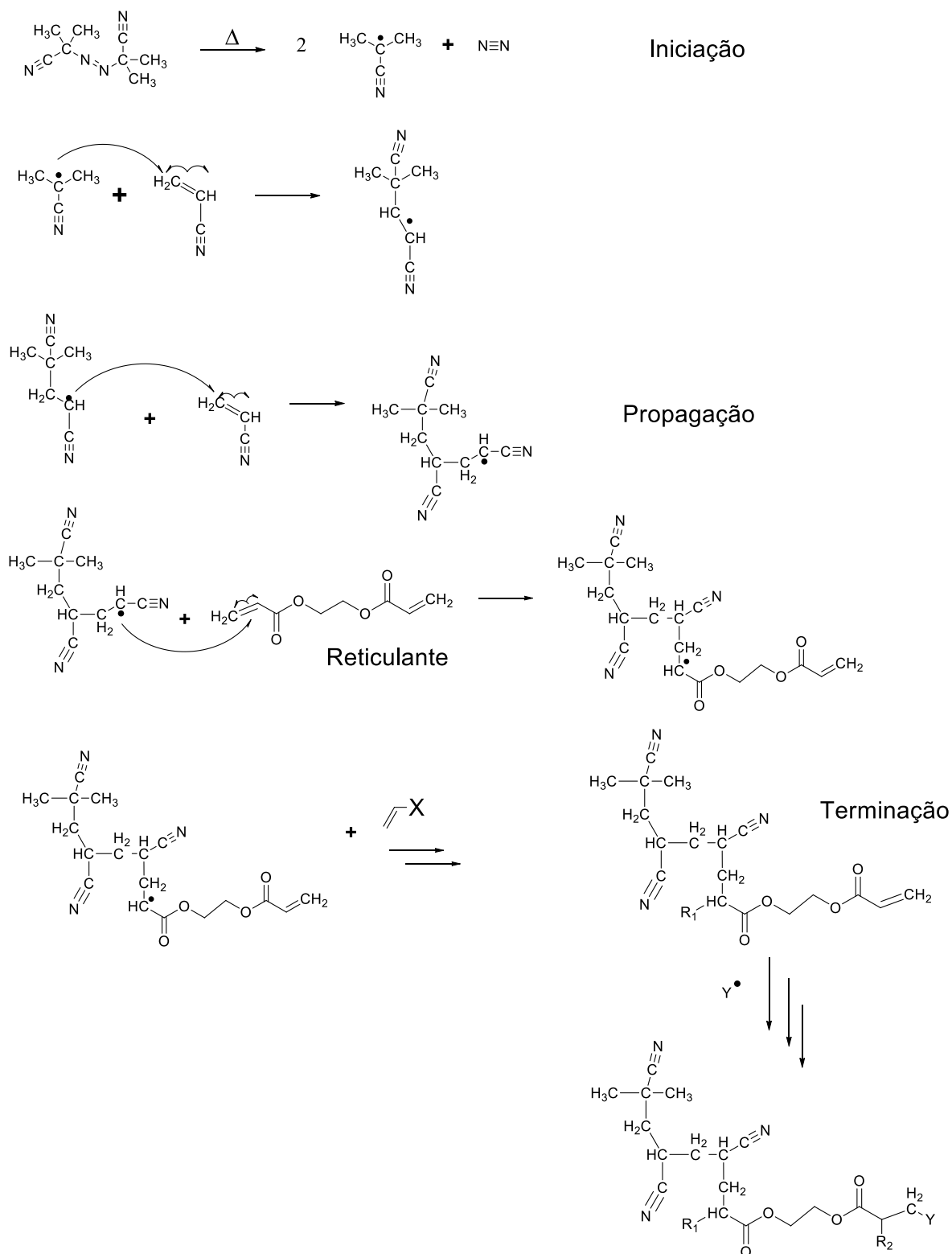


As equações de 1-3 ilustram de forma genérica o mecanismo da reação de polimerização via radical livre. Onde I : iniciador; $R^\bullet$: radical livre formado; M : monômero; $RM^\bullet$: cadeia polimérica primária composta de uma unidade monomérica; $RM_n^\bullet$: cadeia polimérica em crescimento; k_d : constante da taxa de decomposição do iniciador; k_i : constante da taxa de iniciação; k_p : constante da taxa de propagação; k_{tc} : constante da taxa de terminação por combinação; k_{td} : constante da taxa de

terminação por desproporcionamento; RM_{n+m} , RM_nH e $RM_m(-H)$ são polímeros cujas cadeias já cessaram o seu crescimento (MACHADO, 2012; MANO & MENDES, 2004).

No caso dos polímeros reticulados, que consistem em uma rede tridimensional, a reticulação ocorre quando as cadeias poliméricas lineares ou ramificadas são interligadas por ligações covalentes. Como mencionado anteriormente, esse processo pode ocorrer irradiando-se o próprio polímero ou por meio de reações químicas envolvendo um agente de reticulação, o qual é incorporado à cadeia polimérica em crescimento de forma aleatória em qualquer uma das extremidades da cadeia. É importante destacar que na formação do polímero via radical livre, a reticulação ocorre nesse mesmo processo. A Figura 1 mostra um exemplo da reação da poliacrilonitrila via radical livre, utilizando o AIBN como iniciador radicalar e o diacrilato de etilenoglicol como agente de reticulação.

Figura 1- Reação de polimerização da poliacrilonitrila reticulada.



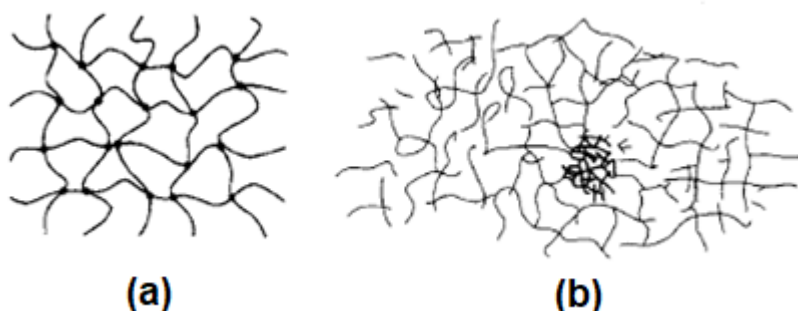
Fonte: A autora (2021).

A polimerização radicalar pode ser aplicada a uma vasta gama de monômeros e permite a utilização de diferentes condições de reação em massa, emulsão,

suspensão ou solução, além disso a copolimerização de diferentes monômeros permite obter uma grande variedade de compostos, permitindo modelar as propriedades químicas e físicas dos polímeros obtidos para inúmeras aplicações (MATYJASZEWSKI & DAVIS, 2002).

Na formação da rede polimérica pode ocorrer a estruturação homogênea, em que as unidades reticuladas são uniformemente distribuídas, ou heterogênea, em que as unidades reticuladas são localmente concentradas acarretando na formação de microgéis (Figura 2) (OSADA *et al.*, 2000). Normalmente, a formação de microgéis na rede acontece no início da polimerização via radical livre, quando ocorrem múltiplas reações de reticulação, formando agregados bastante compactos no estado pré-gel (LIU, & OPPERMANN, 2006). Dessa forma, a falta de homogeneidade estrutural da rede polimérica causa fragilidade mecânica nos géis poliméricos e restringe sua aplicabilidade (PANYUKOV & RABIN, 1996).

Figura 2 - Estrutura da rede de géis (a) homogêneo e (b) heterogêneo.



Fonte: OSADA (p. 8, 2000).

Uma das propriedades importantes dos géis é a sua capacidade de intumescimento na presença de determinados solventes que podem penetrar na matriz do gel dando lugar à interação gel-solvente (BOHIDAR *et al.*, 2003). O grau de intumescimento está relacionado não só à natureza do gel, mas também à densidade de ligações cruzadas na rede polimérica desempenhando grande influência sobre o comportamento físico do gel. De forma geral, quanto menor o grau de reticulação, maior será o intumescimento do gel (AKCELRUD, 2007; FLORY & REHNER, 1943).

Existem diversas aplicações de géis poliméricos, em diferentes áreas de pesquisas como dispositivos para liberação controlada de fármacos, sensores biológicos, na purificação de água residual etc. (ABDEL-AAL *et al.*, 2006); HOU *et al.*,

2019; MAHDAVINIA *et al.*, 2004; TAVAKOLI & TANG, 2017; WU *et al.*, 2005). A aplicação desses géis é diretamente dependente de suas propriedades, ou seja, depende da estrutura da rede polimérica que compõe o gel e a interação da rede e o solvente. Nos últimos anos os géis poliméricos tornaram-se um material importante para espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) em meios orientados, que fornece parâmetros anisotrópicos aplicados a diversos problemas estruturais em moléculas orgânicas (LIU *et al.*, 2019).

2.2 O PROBLEMA DA DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

A determinação da estrutura correta de moléculas orgânicas é um campo científico sempre em desenvolvimento, visto que, constantemente surgem novas estruturas moleculares desafiadoras, como resultado de síntese química ou isolamento de fontes naturais. A pesquisa farmacêutica, por exemplo, depende criteriosamente de uma elucidação estrutural correta envolvendo não só a constituição molecular, mas também a configuração estereoquímica e até a conformação molecular para um estudo efetivo das relações estrutura-atividade (LIU *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2019).

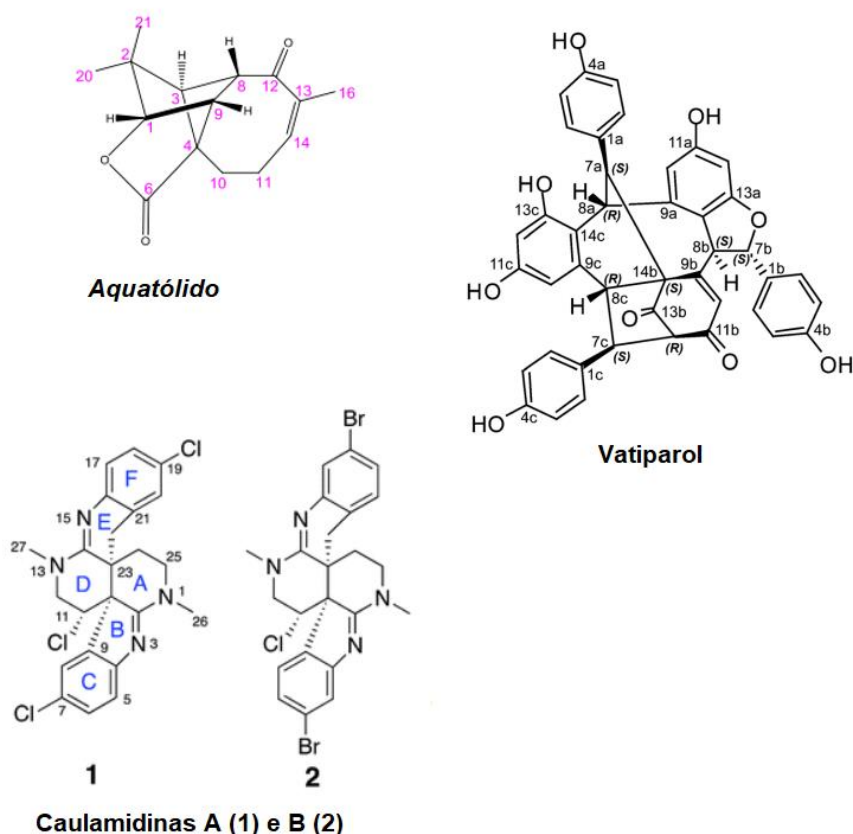
Uma técnica padrão para determinação de compostos cristalinos é a cristalografia de raios-X, mas frequentemente não é possível obter a amostra na forma de cristal e, nesses casos, a RMN é o método de escolha a determinação da estrutura molecular (BRETON & REYNOLDS, 2013; BURNS & REYNOLDS, 2019). Entretanto, em certas circunstâncias não é possível determinar ou verificar a estrutura molecular com total certeza, particularmente quanto à estereoquímica molecular, uma vez que, os parâmetros comuns como deslocamento químico (δ), acoplamento escalar (J) (COXON, 2009) ou efeito nuclear Overhauser (NOE) (GARCÍA *et al.*, 2009; GIL *et al.*, 2008; NEUHAUS, 2011) podem não ser suficientes para a resolução do problema.

Deve ser destacado que uma atribuição estrutural incorreta pode ser causada, por uma interpretação incorreta dos dados disponíveis ou por um número insuficiente de dados para tratar os aspectos estruturais específicos da molécula sob estudo (BURNS & REYNOLDS, 2019; NICOLAU & SNYDER, 2005).

Com o propósito de complementar as técnicas tradicionais de RMN duas ferramentas tornaram-se recentemente disponíveis, a primeira é a predição quantitativa de deslocamentos químicos e acoplamentos escalares mediante técnicas

DFT (NAVARRO-VÁZQUEZ, 2020; WILLOUGHBY *et al.*, 2014). A segunda é a RMN em meios orientados, ou alinhados, que será ilustrada a seguir por meio de alguns exemplos escolhidos da literatura recente. São estes os compostos aquatólido, vatiparol, caulamidina A e caulamidina B (Figura 3). Nestes exemplos demonstraremos a importância dos parâmetros anisotrópicos de RMN, obtidos mediante o uso da RMN de meios orientados, a saber: acoplamento dipolar residual (RDC) e anisotropia do deslocamento químico residual (RCSA). A partir desses parâmetros foi possível estabelecer a constituição e configuração desses compostos que foram essenciais para o desenvolvimento e comprovação do método nos últimos anos.

Figura 3 - Produtos naturais cuja estrutura foi atribuída por meio de RDCs e RCSAs.

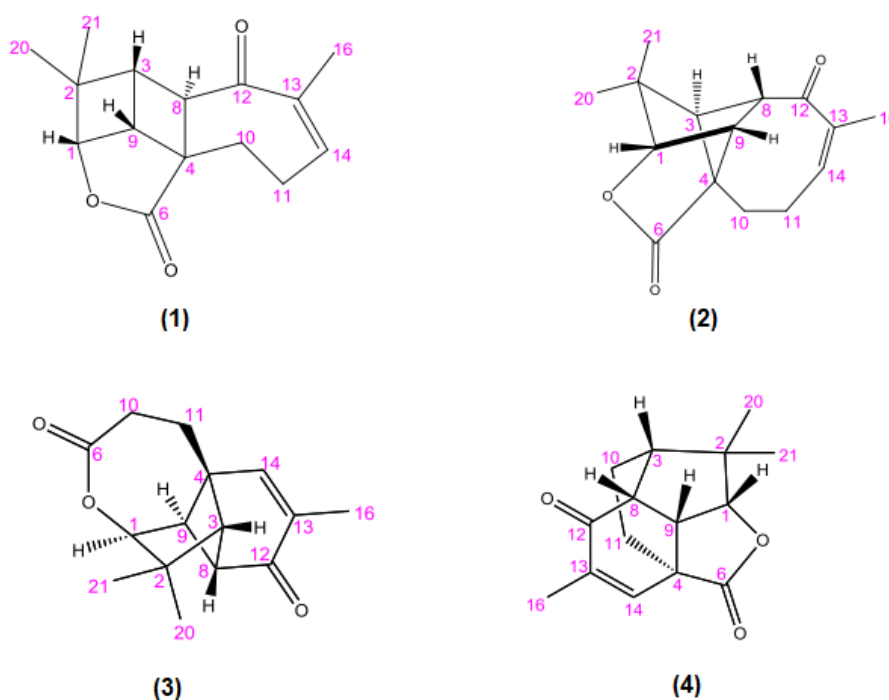


Fonte: (GE *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2017; MILANOWSKI *et al.*, 2018).

O aquatólido é uma lactona sesquiterpênica, isolada de *asteriscus aquaticus* por San Feliciano (SAN FELICIANO *et al.*, 1989). Os autores propuseram, baseando-se nos dados de RMN mono e bidimensionais a estrutura **(1)** (Figura 4). Mais tarde a Tantillo e colaboradores isolaram novamente o produto. A nova análise dos dados de

RMM, complementada por previsões mecano-quânticas de várias constantes de acoplamento, conduziu à estrutura revisada **(2)**, finalmente verificada mediante cristalografia de raios-X, que permitiu também a determinação da configuração absoluta (LODEWYK *et al.*, 2012) (Figura 4). A análise CASE (*computer assisted structural elucidation*) de Buevich e Elyashberg **(2)** das correlações de RMN reportadas mostrou que além da estrutura **(2)** as estruturas **(3)** e **(4)** eram também compatíveis com os dados experimentais (Figura 4). Porém as estruturas podiam ser discernidas mediante previsões DFT dos deslocamentos de ^{13}C . (BUEVICH & ELYASHBERG, 2016). Recentemente, Liu e colaboradores realizaram medidas de RDCs e RCSAs dessa estrutura (LIU, *et al.*, 2017), e demonstraram que as diferentes possibilidades estruturais fornecidas pelo método CASE podiam ser diferenciadas usando os RDCs e RCSAs obtidos experimentalmente.

Figura 4 - Diferentes propostas estruturais para o aquatólido



Fonte: (LIU *et al.*, 2017).

O uso desses parâmetros anisotrópicos foi essencial para a determinação da configuração relativa e absoluta de três novos produtos naturais com algumas particularidades, vatiparol, caulamidina A e caulamidina B (Figura 3). No caso do vatiparol, foram empregadas técnicas cromatográficas, análises de RMN

convencional e medição de dados anisotrópicos (RDCs) utilizando um gel de acrilamida dentro de um tubo de RMN de 1,7 mm, além de abordagens computacionais. Como no isolamento de produtos naturais é comum obter o produto final em quantidades muito pequenas, os autores possuíam apenas 1 mg do vatiparol. Uma vez determinada a configuração relativa, a configuração absoluta foi determinada mediante experimentos de dicroísmo circular eletrônico (ECD) em combinação com previsões de DFT. Esse trabalho mostra que é possível o emprego da RMN de meios orientados em conjunto com outras técnicas para a determinação da estrutura e configuração estereoquímica de produtos naturais, *de novo*, na presença de quantidades limitadas da molécula sob estudo, e, em combinação (GE *et al.*, 2012).

As caulamidinas A e B foram isoladas em 2000 em estudos de extratos do briozoário *Caulibugula intermis*. Os autores utilizaram técnicas espectroscópicas para caracterizar os dois compostos e propuseram a estrutura representada na Figura 3 para a caulamidina A, porém sem prova clara de corresponder à estrutura correta, além disso não foi possível atribuir a estrutura da caulamidina B. Para a determinação da estrutura das caulamidinas foram utilizadas técnicas convencionais e parâmetros anisotrópicos de RMN (RDCs e RCSAs) combinadas com análise CASE e estudos computacionais de DFT. O emprego dessas técnicas foram fundamentais para a determinação final da estrutura dos dois compostos (MILANOWSKI *et al.*, 2004; MILANOWSKI *et al.*, 2018).

Em resumo, as aplicações combinadas de RMN de meios orientados e técnicas computacionais fornecem informações que podem ajudar a resolver problemas estruturais desafiadores, como os citados anteriormente, reduzindo erros e evitando o aumento de estruturas incorretas.

2.3 MEIOS DE ALINHAMENTO FRACO

A RMN de meios parcialmente alinhados tem a sua origem no trabalho de Alfred Saupe nos anos sessenta (SAUPE & ENGLERT, 1963) usando cristais líquidos termotrópicos como meios de alinhamento, mas apenas nas últimas duas décadas essa técnica tornou-se aplicável a problemas práticos de determinação estrutural alicerçada no desenvolvimento dos chamados meios de alinhamento fraco. Com os meios de alinhamento fraco é possível obter graus de alinhamento pequenos (graus de ordem na faixa de 10^{-2} a 10^{-4}) e consequentemente espectros muito mais simples,

onde os acoplamentos dipolares têm magnitudes próximas aos dos correspondentes acoplamentos escalares (LUY & KESSLER, 2008; SCHMIDTS, 2017).

Atualmente, existem dois tipos de meios de alinhamento para o estudo de parâmetros anisotrópicos em RMN, os géis poliméricos, comprimidos ou alongados, e os cristais líquidos liotrópicos. Devido à grande anisotropia de susceptibilidade magnética dos cristais líquidos liotrópicos, sob determinadas condições de temperatura e concentração eles se alinham na presença de um campo magnético externo suficientemente intenso. Neste sistema o alinhamento é parcialmente transmitido ao solvente e às moléculas em solução, o que torna possível a medição dos parâmetros anisotrópicos. Por outro lado, nos géis poliméricos a anisotropia é gerada através da deformação mecânica do gel (DELOCHE & SAMULSKI, 1981; LIU *et al.*, 2019; SASS *et al.*, 2000; TYCKO *et al.*, 2000). Estudaremos a seguir as características principais destes dois tipos de meios de alinhamento.

2.3.1 Meios de alinhamento baseados em cristais líquidos liotrópicos

A maior parte dos cristais líquidos liotrópicos usados como meio de alinhamento em RMN para moléculas pequenas em solventes orgânicos são baseados no uso de polímeros rígidos helicoidais. Os mais comuns são os homopolipeptídeos como o poli- γ -(benzil-L-glutamato) (PBLG) (CANET *et al.*, 1995; LESOT *et al.*, 1995; LESOT *et al.*, 1996; SARFATI *et al.*, 2000), o poli- γ -(etil-L-glutamato) (PELG) (AROULANDA *et al.*, 2001; THIELE, 2004) e a poli- ϵ -(carboxibenzil-L-lisina) (PCBLL) (AROULANDA *et al.*, 2001) compatíveis com clorofórmio. Após o seu emprego inicial, principalmente na medição de acoplamentos quadrupolares residuais (RQCs) (CZARNIECKA & SAMULSKI, 1981) o PBLG e PELG, foram empregados com sucesso na medição de RDCs e RCSAs aplicados à elucidação estrutural de pequenas moléculas (IKENNA *et al.*, 2019; MARX & THIELE, 2009; SANCHEZ-PEDREGAL *et al.*, 2009; THIELE & BERGER, 2003; VERDIER *et al.*, 2003).

Outros polímeros helicoidais aplicados à medição de RDCs são poliacetilenos derivados de valina desenvolvidos recentemente pelo grupo de Reggelin (LESOT *et al.*, 2019; MEYER *et al.*, 2012). Este tipo de material apresenta menor grau de alinhamento e, conseqüentemente, melhor resolução espectral (KRUPP & REGGELIN, 2012; KRUPP *et al.*, 2020; LESOT *et al.*, 2019). Poliguanidinas helicoidais compatíveis com CDCl_3 também foram utilizadas como meio de

alinhamento, mas apresentam um elevado grau de ordem (ARNOLD *et al.*, 2010). O grau de orientação em alguns desses meios pode atingir valores de 10^{-2} o que pode dificultar a extração dos RDCs (LIU *et al.*, 2018). Porém esta mesma propriedade torna os cristais líquidos liotrópicos, baseados em polímeros helicoidais, meios interessantes para a extração de RCSAs como foi mostrado por Williamson e colaboradores em seus trabalhos com PBLG compatível com CDCl_3 (LIU *et al.*, 2018a; RECCHIA *et al.*, 2020).

Nos últimos anos outros cristais líquidos liotrópicos foram desenvolvidos como é o caso dos cristais líquidos baseados em óxido de grafeno compatíveis com DMSO (FRANÇA *et al.*, 2016; LEI *et al.*, 2014; ZONG *et al.*, 2016). Em 2017, Lei e colaboradores produziram o primeiro cristal líquido compatível com metanol a partir de nanotubos de oligopeptídeos automontados (LEI *et al.*, 2017). Nanocristais de celulose também foram empregados como meio orientador para medir RDCs de pequenas moléculas orgânicas em DMSO (MA *et al.*, 2020). Recentemente, o nosso grupo de pesquisa desenvolveu um cristal líquido baseado numa bisperilenimida mesogênica que permite a extração de RDCs em solução aquosa a partir de um único experimento de HSQC acoplado a F1, minimizando dessa forma o tempo de análises (SILVA *et al.*, 2020). Outras fases estudadas no nosso laboratório são aquelas formadas pelo cromoglicato de sódio (TROCHE-PESQUEIRA *et al.*, 2014) e o mesógeno discótico trifenilênico TP6EO2M (SOUSA, 2019). Em 2020, Lei e colaboradores utilizaram oligopeptídeos anfifílicos automontados, compatível com diferentes solventes polares, como CD_3OD , $\text{DMSO}-d_6$ e D_2O (LEI *et al.*, 2020). Outros cristais líquidos compatíveis com D_2O são baseados em 1,3,5-benzenotricarboxamida (BTA) desenvolvidos pelo grupo de Thiele (KNOLL *et al.*, 2022), cristais líquidos de Mxenos $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ (LEI *et al.*, 2022) e um oligopeptídeo natural derivado de aminoácidos $(\text{FK})_4$ que também é compatível com CD_3OD (YU *et al.*, 2022).

Apesar da quantidade de cristais líquidos disponíveis atualmente é necessário que outros meios sejam planejados e produzidos visando sanar algumas dificuldades, como a síntese desses materiais que, na maioria das vezes, não é de fácil execução, o que compromete a sua aplicação rotineira.

2.3.2 Meios de alinhamento baseados em géis poliméricos

Deloche e Samulski mostraram em seu trabalho pioneiro em 1981 que era possível a medição de parâmetros anisotrópicos utilizando géis poliméricos deformados mecanicamente. Eles estudaram a elasticidade do polímero sintético poliisopreno medindo o acoplamento quadrupolar de deutério dos solventes C_6D_6 e $CDCl_3$ em função do alongamento do gel (DELOCHE; SAMULSKI, 1981).

A geração de anisotropia mediante a deformação de géis reticulados é conhecida como alinhamento induzido por deformação em um gel (SAG) (do inglês *strain-induced alignment in a gel*) (DELOCHE; SAMULSKI, 1981). Na aplicação mais simples deste conceito os géis poliméricos são reticulados dentro de tubos de RMN, geralmente com diâmetros de 5 mm. Em outras abordagens são utilizados tubos de RMN de 3 mm na formação do gel (LIU *et al.*, 2019) ou até 1.7 mm (GE *et al.*, 2012; NATH *et al.*, 2020).

Em metodologias mais elaboradas que apresentaremos nesta seção é possível controlar o grau de deformação e, portanto, alinhamento, mediante o uso de dispositivos específicos de estiramento ou compressão. Note-se que o grau intrínseco de orientação depende, por sua vez, da natureza e grau de reticulação do gel (KUMMERLÖWE *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2019; LUY *et al.*, 2004; THIELE, 2008).

A partir do trabalho de Deloche, em 2000 dois grupos de pesquisadores independentes desenvolveram géis de poliacrilamida que podiam ser intumescidos e alongados mecanicamente gerando a anisotropia necessária para a medida de RDCs em proteínas (SASS *et al.*, 2000; TYCKO *et al.*, 2000). O uso dos RDCs permitia a determinação da estrutura terciária de proteínas com maior precisão do que o uso de distâncias internucleares, derivadas de experimentos NOESY e acoplamentos escalares (SASS *et al.*, 2000; TYCKO *et al.*, 2000).

As medidas de RDCs foram facilitadas ainda mais com o desenvolvimento de dispositivos que complementaram a metodologia SAG, como o dispositivo de alongamento desenvolvido por Chou e colaboradores, hoje em dia disponível comercialmente (ATKINSON *et al.*, 2016; CHOU *et al.*, 2001; (LEE *et al.*, 2020). No dispositivo de Chou o alongamento do gel na direção axial é obtido empurrando o gel intumescido em água através de um funil em um tubo de RMN com extremidade aberta e com um diâmetro interno menor que o diâmetro do gel (CHOU *et al.*, 2001).

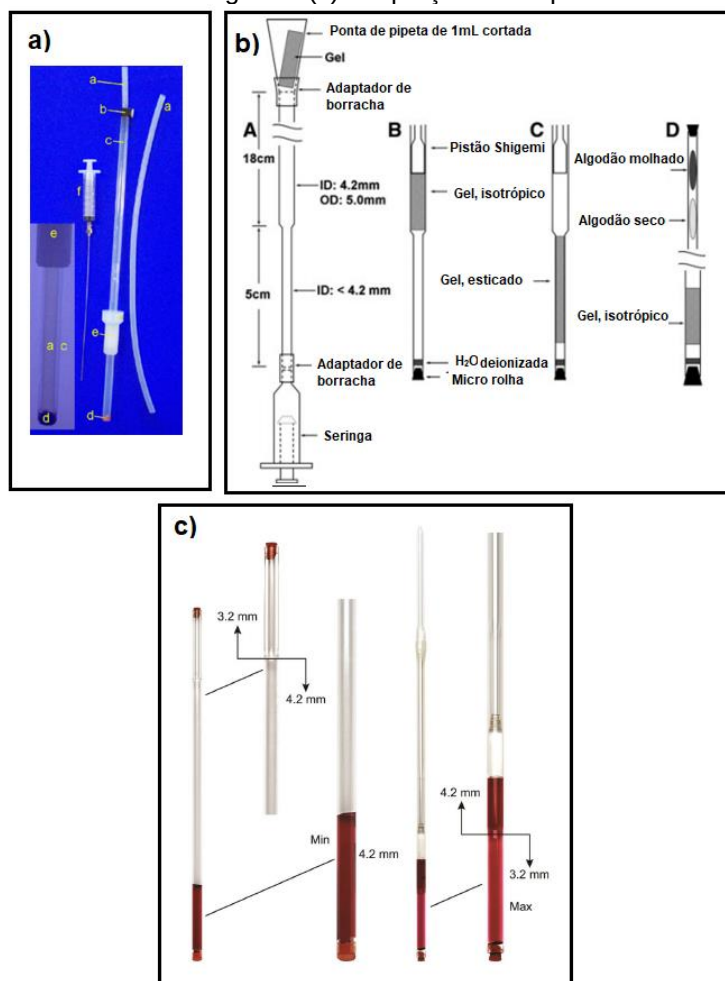
Com o avanço nos estudos, o método SAG, inicialmente aplicado a biopolímeros, estendeu-se em 2004 com o trabalho de Luy e colaboradores e abrangeu também a análise de moléculas pequenas solúveis em solventes orgânicos. Em um primeiro trabalho o grupo de Luy expandiu o método SAG para solventes orgânicos com o desenvolvimento de um gel de poliestireno (PS) reticulado quimicamente com divinil benzeno, que era compatível com solventes de baixa polaridade como clorofórmio (CHCl_3), diclorometano (DCM), benzeno, tetraidrofurano (THF) ou dioxano (LUY *et al.*, 2004).

Para eliminar os sinais de poliestireno nos espectros de RMN, que dificulta a extração de RDCs em condições de baixa concentração de analito, os autores desenvolveram a versão deuterada deste gel que permite a obtenção de espectros sem sinais de base do polímero (KUMMERLÖWE *et al.*, 2008). Após o desenvolvimento dos géis de poliestireno, o mesmo grupo de pesquisa desenvolveu géis de poli (dimetilsiloxano) (PDMS) e poli (acetato de vinila) (PVAC). A reticulação do PDMS se deu através da irradiação com raios β através de um acelerador de elétrons. Este gel intumescceu em DCM, CHCl_3 , THF, *n*-hexano e benzeno (FREUDENBERGER *et al.*, 2004). Por outro lado, os géis de poli (acetato de vinila) (PVAC) foram reticulados quimicamente e são aplicados a solventes como metanol, acetona, acetonitrila e DMSO (FREUDENBERGER *et al.*, 2005).

A maior parte das primeiras aplicações de SAG foram baseadas no auto alongamento do gel em um tubo de RMN de 5 mm. Conforme o gel absorve o solvente após o gel tocar as paredes do tubo o intumescimento acontece apenas na direção axial gerando-se desta forma anisotropia, porém, esse processo é frequentemente demorado (GIL *et al.*, 2008). Em 2006, Kuchel e colaboradores apresentaram um dispositivo que facilitava o esticamento dos géis (Figura 5a). O dispositivo é composto de um tubo de borracha de silicone que hospeda o gel, inserido em um tubo de vidro, o grau do alinhamento é controlado a partir do estiramento mecânico da borracha de silicone. Os autores aplicaram o dispositivo a um gel de gelatina e observaram os acoplamentos quadrupolares de ^{23}Na e ^{133}Cs (KUCHEL *et al.*, 2006). A limitação desse dispositivo é que o tubo de borracha de silicone não pode ser utilizado com solventes como clorofórmio. Em 2008, Luy e colaboradores estenderam a aplicação do aparato de Kuchel para géis de poliacrilamida (PH) em meio aquoso e poliacrilonitrila (PAN) em DMSO (KUMMERLOWE *et al.*, 2008). O dispositivo de Kuchel também foi empregado por Griesinger e colaboradores para a medição de

RCSAs usando um gel copolímero de *N,N*-dimetilacrilamida e ácido (*S*)-2-acrilamido-1-propanossulfônico (APS) compatível com DMSO (HALLWASS, *et al.*, 2011).

Figura 5- Dispositivos usados para gerar o estiramento de géis poliméricos (a) dispositivo de Kuchel, (b) dispositivo de Liu e Prestegard e (c) adaptação do dispositivo de Kuchel



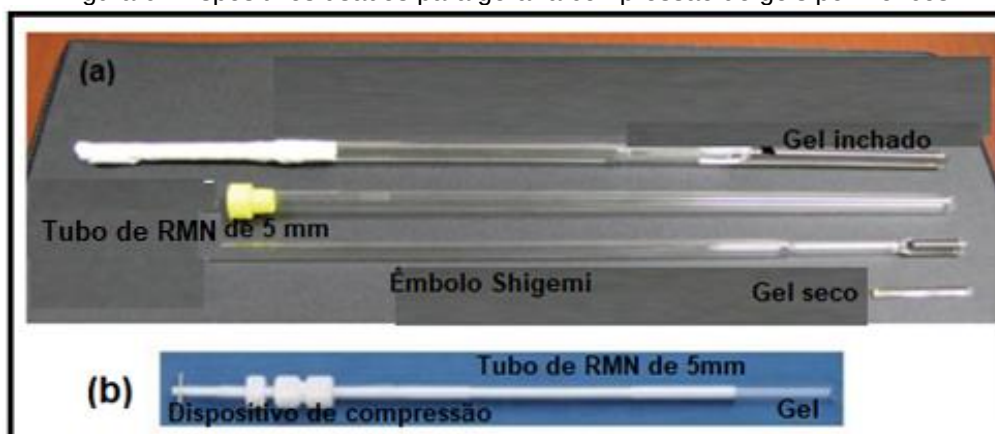
Fonte: a) (KUCHEL *et al.*, 2006); b), (LIU & PRESTEGARD, 2010) e c) (NATH *et al.*, 2016).

Outro tipo de dispositivo é o desenvolvido em 2010 por Liu e Prestegard para a medição de RDCs e RCSAs. A Figura 5b apresenta detalhes do dispositivo, o qual é constituído por um tubo com duas seções que permitem atingir um estado relaxado (isotrópico) ou esticado (orientado) à mesma amostra de gel. A parte superior e a parte inferior do dispositivo têm diâmetros internos diferentes, sendo o diâmetro da parte inferior menor para promover o estiramento do gel. Os autores mostraram o desempenho do dispositivo utilizando um gel de poliacrilamida estirado em dois estados que permite a medição isotrópica e alinhada da proteína no mesmo gel (LIU & PRESTEGARD, 2010). Usando este método, a composição do solvente, gel e analito permanece constante entre os dois estados de alinhamento, evitando, assim,

problemas relacionados a mudanças de deslocamentos químicos isotrópicos (LIU & PRESTEGARD, 2010). Mais tarde o dispositivo foi adaptado para a obtenção de RDCs e RCSAs de pequenas moléculas orgânicas compatíveis com diversos solvente orgânicos (Figura 5c) (NATH *et al.*, 2016). A Figura 5c mostra o dispositivo para estiramento de gel, o qual é composto de um tubo de RMN de dois estágios, ou seja, para medição de alinhamento mínimo e alinhamento máximo. O gel é estirado pressionando-o da região larga do tubo para a parte estreita.

O método baseado na compressão de géis já havia sido descrito em 2000 para géis de poliacrilamida compatível com água (MEIRE *et al.*, 2001; SASS *et al.*, 2000; SHORTLE & ACKERMAN, 2001). Porém em 2010 Gil e colaboradores aplicaram a metodologia para géis de polimetilmetacrilato (PMMA) através da compressão/relaxamento reversível dos géis em clorofórmio. Esse procedimento permitiu a medição de RDCs, sem a necessidade de preparar uma amostra com condições isotrópicas em outro tubo de RMN (GAYATHRI *et al.*, 2010a). Embora o gel pode ser comprimido simplesmente usando um êmbolo Shigemi (Figura 6a) é possível também usar um dispositivo de plástico junto com tubos de RMN de 5 mm modificados, atualmente comercializado pela empresa New EraTM. Este dispositivo fornece uma regulação precisa do grau de alinhamento (Figura 6b).

Figura 6- Dispositivos usados para gerar a compressão de géis poliméricos.

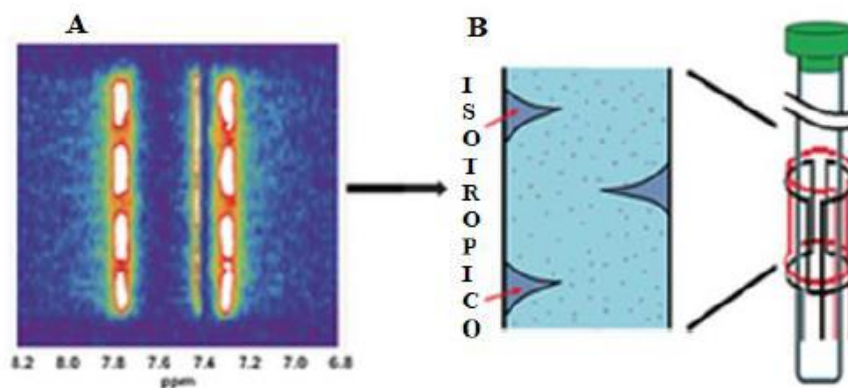


Fonte: (a) Êmbolo Shigemi (GAYATHRI *et al.*, 2010a) (b) <https://newera-spectro.com/compression-gel-device>.

Utilizando o dispositivo de compressão (Figura 6b) o gel pode ser comprimido para gerar qualquer grau de alinhamento entre quase zero e o máximo. Quando o dispositivo é travado em um determinado grau de compressão, o tubo de RMN é

firmemente vedado pela porca e pelo parafuso, permitindo a realização de experimentos que demandam um tempo maior de aquisição. O gel intumescido no solvente geralmente tem um diâmetro de aproximadamente 3,6–3,8 mm, e o diâmetro interno de um tubo de 5 mm é aproximadamente 4,0–4,2 mm, dessa forma sempre há uma camada de solução isotrópica (solvente e molécula em estudo) presente entre o gel e a parede do tubo, mesmo quando o gel está totalmente comprimido ainda existem bolsas de solução isotrópica devido à flambagem do gel como ilustrado na Figura 7 para o gel de poli(metilmetacrilato) (PMMA). A Figura 7 mostra um (a) mapa de imagem de calor do gel de PMMA e a (b) representação visual da flambagem do gel de PMMA mostrando camadas de solventes isotrópicos em torno do gel. (HELLEMANN *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2019).

Figura 7 - Mapa de imagem de calor (a) e a representação visual de encurvadura no gel de PMMA mostrando camadas de solvente isotrópico em torno do gel.



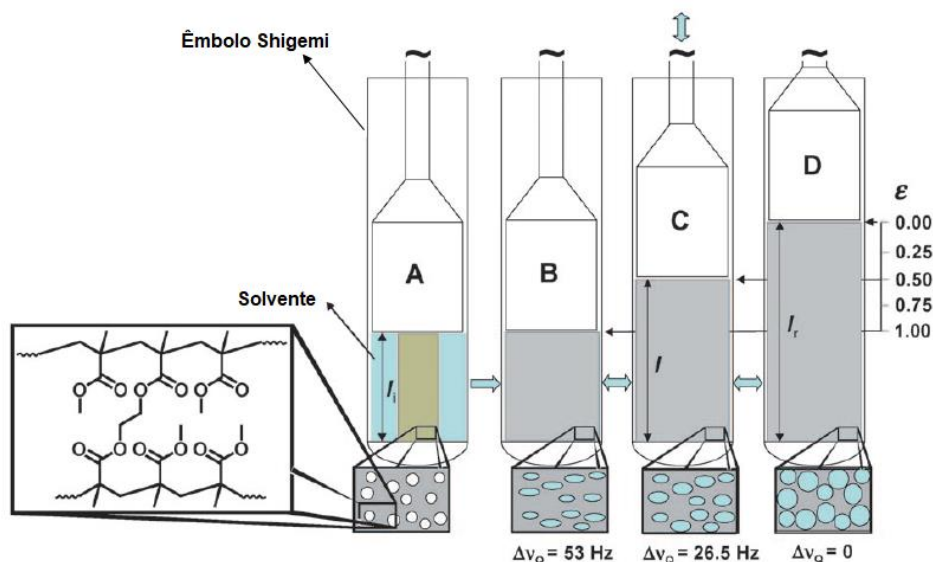
Fonte: Hellemann *et al.* (2016).

A Figura 8 representa um exemplo de compressão/relaxamento do gel reversível de PMMA. Em “A” um pedaço de PMMA reticulado seco é colocado em um tubo de RMN com CDCl_3 , o gel intumescce no solvente, porém sob a restrição de um êmbolo Shigemi. As “cavidades” do gel tornam-se oblatas, gerando anisotropia e dessa forma é possível observar o acoplamento quadrupolar residual do deutério ($\Delta\nu_Q$) do solvente CDCl_3 no espectro de ^2H de 53 Hz (B). Quando o êmbolo é puxado para cima a anisotropia da cavidade diminui aos poucos (C) e o gel tem agora um caráter isotrópico onde $\Delta\nu_Q$ é zero (D). Portanto, utilizando o dispositivo de compressão o grau de alinhamento do gel pode ser ajustado movendo o dispositivo

para efetuar uma compressão maior ou menor, dessa maneira o $\Delta\nu_Q$ do solvente depende linearmente desse grau de compressão (GAYATHRI *et al.*, 2010a).

Géis de PMMA compressíveis compatíveis com clorofórmio também foram empregados para a medição de RCSAs (HALLWASS *et al.*, 2018; NATH *et al.*, 2016).

Figura 8- Representação do processo de compressão/relaxamento do gel de PMMA.



Fonte: Gayathri *et al.*, (2010a).

O grupo de Gil desenvolveu outros géis compressíveis mecanicamente como o poli-DEGMEMA compatível com CD_3OD (GARCÍA *et al.*, 2016) e o poli (2-hidroxietil metacrilato) (poli-HEMA) compatível com $\text{DMSO}-d_6$. Uma novidade significativa do gel de poli-HEMA é que devido à diferença significativa na susceptibilidade magnética entre o solvente dentro e fora do gel, é possível extrair em um mesmo experimento dados isotrópicos e anisotrópicos de RMN. A vantagem disso é que a medição na fase anisotrópica e isotrópica podem ser feitas simultaneamente na mesma amostra diminuindo o tempo das análises (GIL-SILVA *et al.*, 2016). Recentemente, esse mesmo grupo desenvolveu um gel baseado em um copolímero de metacrilato de metila/acrilomorfolina, aplicado à análise de pequenas moléculas e peptídeos cíclicos em água (FARLEY *et al.*, 2021).

Durante o projeto de mestrado da autora foi desenvolvido um gel de poli(acrilonitrila) (PAN) (Figura 9) quimicamente reticulado compatível com $\text{DMSO}-d_6$ e que também é susceptível de compressão reversível. A síntese do gel de PAN é simples e pode ser reproduzida facilmente. Não havendo prótons na cadeia lateral do

polímero os espectros de HSQC são limpos e são necessárias apenas 24 horas para intumescer o gel e alcançar o equilíbrio do sistema gel/solvente/molécula. Além disso, foi possível, usando a metodologia descrita, medir RDCs e RCSAs das moléculas testes como a α -santonina e brucina. Foi este um resultado relevante, tendo em vista que o DMSO- d_6 é um solvente de RMN amplamente utilizado na pesquisa farmacêutica (CARVALHO *et al.*, 2019).

Figura 9- Gel de PAN intumescido em DMSO- d_6 desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa.



Fonte: CARVALHO *et al.*, (2019).

Um resumo dos principais géis reticulados e suas compatibilidades com determinados solventes desenvolvidos até o momento é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1- Géis poliméricos reticulados e suas compatibilidades com solvente.

Géis poliméricos	Solventes compatíveis	Referências
Poli (acrilamida) (PH)	D ₂ O, DMSO- <i>d</i> ₆	(HABERZ <i>et al.</i> , 2005)
Poli (acrilonitrila) (PAN)	DMSO- <i>d</i> ₆	(KUMMERLÖWE <i>et al.</i> , 2007)
Poli (acetato de vinila) (PVAc)	DMSO- <i>d</i> ₆ , CD ₃ OD, CD ₃ CN, CDCl ₃	(CARVALHO <i>et al.</i> , 2019)
Poli (estireno) (PS)	CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , THF, C ₆ D ₆ , dioxano	(FREUDENBERGER <i>et al.</i> , 2005)
Poli (estireno) deuterado		LUY <i>et al.</i> , 2004)
Poli (dimetilsiloxano) (PDMS)	CDCl ₃	(KUMMERLÖWE <i>et al.</i> , 2008)
Poli (metil metacrilato) (PMMA)	CDCl ₃	(FREUDENBERGER <i>et al.</i> , 2004)
		(GIL <i>et al.</i> , 2008)
		(GAYATHRI <i>et al.</i> , 2010a)
Poli (γ-benzil- L- glutamato) (PBLG)	CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , THF, C ₆ D ₆ , dioxano	(MONTAG <i>et al.</i> , 2013)
Poli (óxido de etileno) (PEO)	D ₂ O, CD ₃ CN, CD ₃ OD, DMSO- <i>d</i> ₆ , acetona, THF, CDCl ₃ , CD ₂ Cl ₂ , C ₆ D ₆ , dioxano, <i>n</i> -hexano	(MERLE <i>et al.</i> , 2013)
Poli (metacrilato de 2-hidroxietila (p-HEMA)	DMSO- <i>d</i> ₆	(GIL-SILVA <i>et al.</i> , 2016)
Poli (Metacrilato de éter di etilenoglicol) metílico (p-DEGMEMA)	CD ₃ OD	(GARCÍA <i>et al.</i> , 2016)
Metacrilato de metila/acrilomorfolina	D ₂ O	(FARLEY <i>et al.</i> , 2021).

Fonte: A autora (2022).

2.4 PARÂMETROS ANISOTRÓPICOS DE RMN

Todos os parâmetros de RMN têm caráter, em princípio, anisotrópico e têm representações tensoriais. Esta anisotropia é manifestada na RMN no estado sólido. Porém, em líquidos isotrópicos o rápido movimento rotacional da molécula em todas as direções do espaço faz com que só o valor médio destes observáveis seja detectado. No caso do acoplamento dipolar ou quadrupolar este valor médio é igual a zero, enquanto o deslocamento químico e o acoplamento escalar isotrópicos tem um valor médio diferente de zero (FACELLI & BARFIEL *et al.*, 1984; HAUBENREISSER *et al.*, 1987).

2.4.1 Acoplamento Dipolar Residual

Os acoplamentos dipolares, ao contrário dos acoplamentos escalares, que resultam da interação através das ligações químicas, originam-se por meio de interações espaciais. A interação dipolo-dipolo ocorre entre dois spins nucleares, ou seja, o acoplamento dipolar é a interação do dipolo magnético do núcleo I com o campo magnético gerado pelo núcleo S e vice-versa. 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, o ^1H , e S o spin nuclear menos abundante, tal como ^{13}C ou ^{15}N (KRAMER *et al.*, 2004).

O Hamiltoniano que descreve o acoplamento dipolar de dois spins, I e S , é dado pela equação 4:

$$H_D = \frac{\hbar\gamma_I\gamma_S}{4\pi^2r_{IS}^3} \langle 1 - 3 \cos^2 \theta \rangle (3I_Z S_Z - \vec{I} \cdot \vec{S}) \quad (4)$$

Onde, $\hbar$ é a constante de Planck dividida por 2π , γ_I e γ_S são as razões giromagnéticas dos spins nucleares I e S , respectivamente, r_{IS} é a distância internuclear entre I e S . O ângulo θ descreve a orientação formada entre o vetor internuclear e a direção apontada pelo campo magnético externo $\mathbf{B}_0$.

Considerando o produto escalar $\vec{I} \cdot \vec{S}$, a equação 4 pode ser reescrita da seguinte forma:

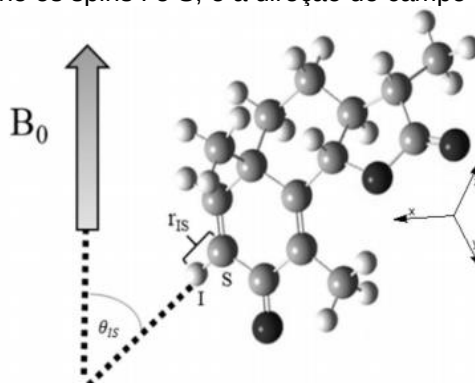
$$H_D = D_{IS}(\theta) [2I_Z S_Z - (I_X S_X + I_Y S_Y)] \quad (5)$$

Onde D_{IS} corresponde a:

$$D_{IS}(\theta) = \frac{\hbar\gamma_I\gamma_S}{4\pi^2r_{IS}^3} \langle 1 - 3 \cos^2 \theta \rangle \quad (6)$$

A Figura 10 representa a interação dipolar entre dois spins I e S , presentes na molécula.

Figura 10- Representação do acoplamento dipolar entre dois spins I e S, onde θ_{IS} é o ângulo formado entre o vetor que une os spins I e S, e a direção do campo magnético externo B_0 .



Fonte: TELES *et al.*, (2015).

Em soluções isotrópicas convencionais as moléculas estão livres para rotarem em qualquer direção e o resultado é que o valor médio do termo $\langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle$ é igual a zero e, conseqüentemente o acoplamento dipolar é zerado.

Para observar o acoplamento dipolar em solução, o conjunto de estados rotacionais precisa ser modificado para que não seja mais completamente isotrópico e dessa forma o termo $\langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle$ será diferente de zero. Contudo, a restrição do movimento molecular deve ser pequena, para fornecer acoplamentos dipolares residuais (RDCs) pequenos e espectros ainda interpretáveis.

Outros parâmetros anisotrópicos que podem ser observados em condições anisotrópicas são a anisotropia de deslocamento químico residual (RCSA) e o acoplamento quadrupolar residual (RQC) e serão discutidos ao longo desse tópico.

2.4.1.1 Medidas experimentais de RDCs

Para a medição de RDCs, geralmente são realizados dois experimentos de RMN, o primeiro em meio parcialmente orientado, o qual chamamos de meio anisotrópico e que fornece os acoplamentos totais, $^1T_{CH}$, e o segundo em meio não orientado (isotrópico) que fornecerá os acoplamentos escalares, J . Desse modo, o acoplamento existente no meio anisotrópico entre o par de spin I e S , como por exemplo o par 1H - ^{13}C , é a soma do acoplamento escalar ($^1J_{CH}$) com o acoplamento dipolar ($^1D_{CH}$) e, esse acoplamento é identificado como $^1T_{CH}$ ($^1J_{CH} + ^1D_{CH}$), ou seja, acoplamento total. Para adquirir os RDCs $^1D_{CH}$, basta subtrair T , obtido em meio

anisotrópico, do acoplamento escalar ($^1J_{CH}$) medido em meio isotrópico, como demonstra a equação 7:

O componente $^1D_{CH}$ da constante de acoplamento total medida em um meio anisotrópico é o RDC, que pode ser positivo ou negativo, isto significa que a constante de acoplamento total medida em meio anisotrópico pode ser maior ou menor que o valor de $^1J_{CH}$ (LIU *et al.*, 2017).

$$^1D_{CH} = ^1T_{CH} - ^1J_{CH} \quad (7)$$

A maneira mais usual e fácil de medir RDCs de tipo $^1D_{CH}$ é através do acoplamento dipolar 1H - ^{13}C a uma ligação ($^1D_{CH}$), usando um experimento do tipo *Heteronuclear Single Quantum Coherence* (HSQC) acoplado, onde é possível observar os acoplamentos próton-carbono tanto na direção F2 (dimensão direta) quanto na direção F1 (dimensão indireta). Os experimentos de HSQC mais populares para medir $^1D_{CH}$ são o CLIP-HSQC acoplado em F2 e o HSQC *J*-resolvido acoplado em F1.

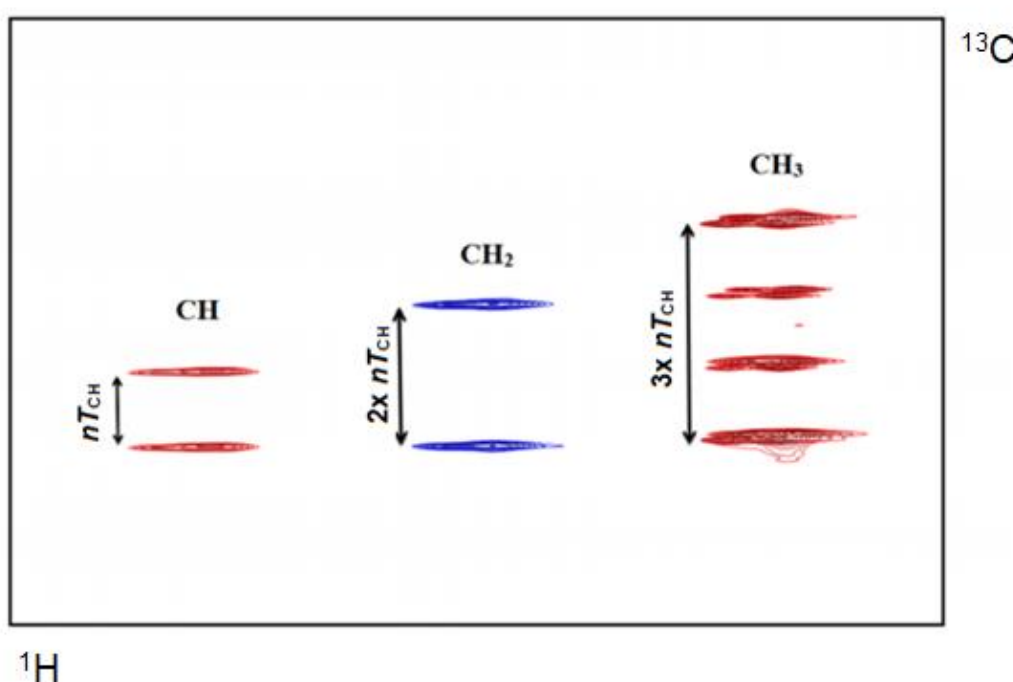
Para compensar a menor resolução digital associada à dimensão indireta F1. são usadas algumas estratégias, por exemplo o uso de um bloco de evolução do acoplamento escalar (*J-scaling*) que às vezes é combinado com um filtro BIRD (do inglês *bilinear rotation decoupling*) ou a técnica de rebatimento (*folding*).

Com a introdução do bloco de evolução do acoplamento escalar (*J-scaling*) multiplica-se a constante de acoplamento C–H por um fator k arbitrário (k usualmente é igual a 3 ou 4). Contudo, se o fator k for usado é necessário descontar esse fator quando estiver sendo calculando o RDC. Logo, o desdobramento medido deve ser dividido por k quando se trata de um acoplamento CH, por $2k$ ao se tratar de um acoplamento CH_2 e por $3k$ quando for CH_3 (YU *et al.*, 2012). Por meio do uso de um filtro BIRD é possível suprimir os acoplamentos a longa distância $^nJ_{CH}$, reduzindo a largura dos picos na dimensão indireta (CLARIDGE, 2016; FURRER, *et al.*, 2007).

A técnica de rebatimento (*folding*) também é usada para compensar a diminuição da resolução digital. Nesta técnica o espectro de HSQC é “dobrado” na dimensão F1, permitindo assim o uso de uma janela espectral menor. Por causa da condição de Nyquist, os sinais aparecem rebatidos, ou seja, para uma janela espectral com 100 ppm os sinais de carbono com hibridização sp^2 (região entre 100 e 220ppm) surgirão na mesma região dos carbonos sp^3 (região entre 0 e 100ppm).

A Figura 11 mostra a representação de como adquirir as medidas de acoplamento total para grupos metino, metileno e metila em um experimento HSQC acoplado em F1 e a partir dessas medidas obter os valores de RDCs. No exemplo o n representa o fator de escala k aplicado e T o acoplamento total. No exemplo é mostrado a obtenção da medida para o acoplamento total, porém para o acoplamento escalar a medida é realizada da mesma forma.

Figura 11- Representação de como realizar a medida do acoplamento total para grupos metino, metileno e metila em um experimento HSQC acoplado em F1.



Fonte: A autora (2021).

2.4.2 Anisotropia do Deslocamento Químico Residual

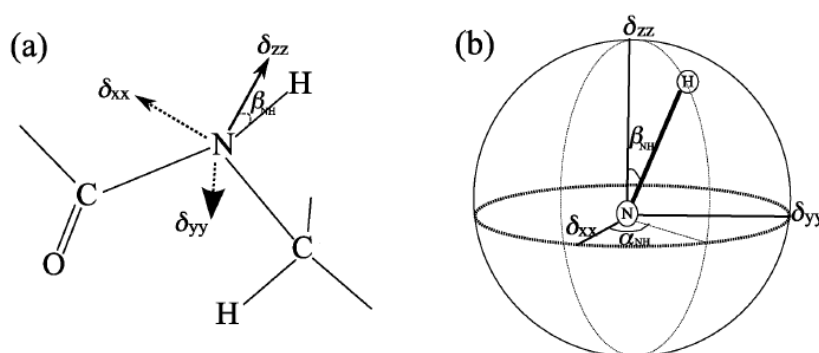
O deslocamento químico de um núcleo i , surge do efeito da blindagem eletrônica. O campo magnético externo B_0 induz correntes nas nuvens de elétrons na molécula e essas correntes circulantes, isto é, circulação de elétrons ao redor do núcleo geram um campo magnético induzido (LEVITT, 2008).

Matematicamente, o deslocamento químico pode ser representado como um tensor e descrito como uma matriz 3×3 (equação 8) que pode ser diagonalizada para fornecer uma matriz diagonal. Os eixos do marco de referência correspondente à representação diagonal são chamados por convenção X, Y e Z. Suas direções

geralmente se correlacionam com características estruturais moleculares locais (LEVITT, 2008). A Figura 12 mostra o tensor no marco de referência principal do nitrogênio da amida no quadro molecular.

$$\begin{bmatrix} \delta_{xx} & \delta_{xy} & \delta_{xz} \\ \delta_{yx} & \delta_{yy} & \delta_{yz} \\ \delta_{zx} & \delta_{zy} & \delta_{zz} \end{bmatrix} \quad (8)$$

Figura 12 - Orientação dos eixos principais do nitrogênio da amida no quadro molecular



Fonte: HOU *et al.*, (2010).

Em uma solução isotrópica, o movimento rotacional molecular aleatório leva à observação de um deslocamento químico isotrópico (δ_{iso}), sendo esta grandeza a média dos três valores principais dos elementos da diagonal da matriz (equação 9) que representa o tensor de deslocamento químico do núcleo, quer dizer, o traço da matriz (equação 8).

$$\delta_{iso} = \frac{1}{3}(\delta_{XX} + \delta_{YY} + \delta_{ZZ}) \quad (9)$$

A equação que descreve o deslocamento químico (δ_{obs}) de um núcleo, com spin I , pode ser representado por uma contribuição isotrópica (δ_{iso}) e outra anisotrópica (δ_{CSA}) como representado a seguir:

$$\delta_{obs} = \frac{1}{3}(\delta_{XX} + \delta_{YY} + \delta_{ZZ}) + \frac{2}{3}\delta_{CSA} \quad (10)$$

Em meios orientados o δ_{obs} diferencia-se do deslocamento isotrópico por uma contribuição anisotrópica que pode ser expressa como:

$$\delta_{CSA} = \frac{2}{3} \sum_{j=\{x,y,z\}} \left\langle \frac{3 \cos^2 \theta_j - 1}{2} \right\rangle \delta_{jj} \quad (11)$$

Onde o termo δ_{jj} são os elementos da diagonal do tensor de deslocamento químico na sua representação diagonalizada, θ_j é o ângulo formado entre o eixo principal do tensor de deslocamento químico e o campo magnético externo (LOSONCZI *et al.*, 1999).

Na equação 11 podemos observar que a componente anisotrópica do deslocamento químico apresenta dependência com a média do termo angular em θ , assim como visto no acoplamento dipolar. A média deste parâmetro anisotrópico para uma molécula com coordenadas em um sistema cartesiano arbitrário pode ser apresentada por uma matriz de Saupe com seus elementos definidos conforme a equação 12 (LOSONCZI *et al.*, 1999).

$$S_{ij} = \left\langle \frac{3 \cos \theta_i \cos \theta_j - 1}{2} \right\rangle \quad (12)$$

A matriz de Saupe corresponde ao tensor de alinhamento ($\hat{A}$) fatorado por $3/2$, dessa forma a Equação 12 pode ser reescrita mostrando a anisotropia do deslocamento químico como sendo o resultado da multiplicação escalar entre o tensor de alinhamento e o tensor de deslocamento químico (Equação 13).

$$\delta_{CSA} = \sum_{ij=\{x,y,z\}} A_{ij} \delta_{ij} \quad (13)$$

Como mencionado anteriormente a componente anisotrópica do deslocamento químico tem dependência angular, ela fornece informações estruturais, o que a torna uma ferramenta importante para obter informações estruturais de longo alcance. Portanto, essa componente quando obtida em meio parcialmente orientado, nos permite observar uma pequena parte do CSA designada como RCSA (CORNILESCU *et al.*, 1998). Os RCSAs são baseados na diferença observada entre os valores de deslocamento químico isotrópico e anisotrópico e, portanto, dependem da orientação

relativa dos tensores de blindagem química a respeito do tensor de alinhamento (HALLWASS *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2019).

2.4.2.1 Medidas experimentais de RCSA

Em contraste com os RDCs, os RCSAs de ^{13}C são geralmente medidos a partir de um simples espectro unidimensional de RMN de ^{13}C . As medidas de RDCs e RCSAs são altamente complementares e podem ser combinadas para avaliar a estrutura de forma mais robusta. Enquanto os RDCs fornecem informações sobre ângulos relativos entre vetores internucleares, geralmente vetores de ligação ^1H - ^{13}C , os RCSAs fornecem informações sobre as orientações relativas dos tensores de deslocamento químico. Como os RCSAs de ^{13}C podem ser medidos de carbonos protonados e não protonados em qualquer estrutura orgânica, têm a vantagem de fornecer informações orientacionais sobre carbonos não protonados que só poderiam ser alcançadas através de medições de RDCs de longo alcance, que apresentam uma dificuldade maior para a sua medição (LIU *et al.*, 2019). Recentemente, alguns pesquisadores exploraram a aplicação do RCSAs de ^1H à elucidação estrutural de produtos naturais. Os ^1H -RCSAs podem ser medidos mesmo quando a quantidade do composto é pequena, por causa da alta abundância natural e constante giromagnética do núcleo de ^1H (NATH *et al.*, 2020).

Os valores de RCSA são extraídos como diferenças de deslocamento químico entre duas condições de alinhamento tais que entre elas haja uma mudança mínima nas condições de solvatação ou temperatura. Este cuidado nas condições de alinhamento é necessário devido à alta sensibilidade do deslocamento químico às interações intermoleculares. Para a extração destes valores é comum tomar um dos sinais de ^{13}C da molécula como referência interna (*ref*) tornando a medição do RCSA independente da calibração do deslocamento químico com relação a uma referência externa. É habitual escolher esta referência interna (*ref*) selecionando o carbono da molécula com menor anisotropia do tensor de blindagem química (HALLWASS *et al.*, 2018). Foi proposto também o uso, como referências externas, de moléculas altamente simétricas como TMS ou CCl_4 , onde o RCSA seria muito pequeno, embora não estritamente nulo (HELLEMANN *et al.*, 2016; NATH *et al.*, 2016) por causa da contribuição vibracional ao deslocamento químico. Embora não seja um procedimento geral, no nosso trabalho com géis de PAN verificamos que era, nesse caso particular,

possível obter RCSAs precisos simplesmente usando o sinal do solvente (DMSO- d_6) como referência (CARVALHO *et al.*, 2019).

O RCSA pode ser expresso em função dos valores de deslocamento medidos e os tensores de alinhamento correspondentes a duas condições de alinhamento como descrito na Equação 14 (HALLWASS *et al.*, 2011):

$$\begin{aligned}
 RCSA_k &= (\delta^{(1,k)} - \delta^{(1,ref)}) - (\delta^{(2,k)} - \delta^{(2,ref)}) \\
 &= \sum_{ij=\{x,y,z\}} (A_{ij}^{(1)} - A_{ij}^{(2)}) (\delta_{ij}^{CSA_k} - \delta_{ij}^{CSA_{ref}}) \\
 &= \sum_{ij=\{x,y,z\}} (A_{ij}^{(1)} - A_{ij}^{(2)}) \delta_{ij}^{CSA_k} - (A_{ij}^{(1)} - A_{ij}^{(2)}) \delta_{ij}^{CSA_{ref}} \quad (14)
 \end{aligned}$$

Onde, $RCSA_k$ representa o RCSA para um núcleo k , e os termos $\delta^{(1,k)}$, $\delta^{(1,ref)}$, $\delta^{(2,k)}$ e $\delta^{(2,ref)}$ representam os deslocamentos químicos do núcleo k e do núcleo de referência interna, ambos submetidos às condições de alinhamento anisotrópicas (1) e (2), $\delta_{ij}^{CSA_k}$ e $\delta_{ij}^{CSA_{ref}}$ são os elementos dos tensores de deslocamento químico do núcleo k e do núcleo de referência. Salientamos que a condição de alinhamento (2) pode não corresponder a um meio isotrópico, mas simplesmente um meio com um grau de alinhamento menor.

Um dos problemas na medida dos RCSAs é o impacto das mudanças nas condições de solvatação entre as condições de alinhamento (1) e (2). Por exemplo a compressão de um gel expulsa certa quantidade de solvente fora do polímero mudando, portanto, a relação polímero/solvente. Essas alterações afetam pouco ou minimamente as medições de RDCs, mas afetam de forma importante os valores medidos de RCSA, uma vez que a parte isotrópica dos tensores de blindagem é afetada por pequenas variações com a solvatação. (LIU *et al.*, 2010).

Para resolver este problema nos géis compressíveis, Griesinger e colaboradores, estimaram a variação da componente isotrópica do deslocamento químico conforme o meio é sujeito a mudanças no grau de compressão (gel comprimido e gel relaxado). Para isto, eles assumiram que essa variação seria proporcional à alteração da componente isotrópica do deslocamento químico observado entre às medidas do deslocamento químico obtidas dentro e fora do gel relaxado (NATH *et al.*, 2016).

Esta contribuição isotrópica ($\Delta\delta_{\text{isotrópico}}$), pode ser quantificada graças ao fato que, no gel no estado relaxado, existe uma camada de solvente que circunda o polímero, portanto dois sinais de carbono podem ser observados correspondentes à molécula dentro (sem alteração da componente anisotrópica) e fora (isotrópico) do gel relaxado. Dessa forma, quando são realizadas as medidas da diferença de deslocamento químico entre os sinais dentro e fora do gel relaxado, o efeito do gel no deslocamento químico isotrópico de cada sinal i pode ser medido. A correção baseia-se em considerar a alteração da componente isotrópica após compressão do gel linearmente proporcional à diferença previamente observada entre o sinal fora, e dentro do gel relaxado. Anteriormente, um fator de proporcionalidade comum c foi usado para corrigir o deslocamento isotrópico indesejado. O fator de proporcionalidade era estimado a partir dos próprios dados espectrais e a estrutura molecular. Posteriormente, Navarro-Vázquez e colaboradores mostraram que era possível otimizar este fator simultaneamente com os componentes do tensor de alinhamento durante o ajuste SVD no programa MSpin (HALLWASS *et al.*, 2018).

2.4.3 Acoplamento Quadrupolar Residual

Os núcleos que possuem spin nuclear maior que 1/2, conhecidos como núcleos quadrupolares, possuem momento de quadrupolo elétrico sensível ao gradiente de campo elétrico (EFG, *electric field gradient*) cuja interação com o gradiente de campo elétrico (EFG) no núcleo causa um desdobramento das linhas de ressonância chamado acoplamento quadrupolar ($\Delta\nu_Q$). Vale ressaltar que o momento de quadrupolo é uma propriedade intrínseca dos núcleos quadrupolares, enquanto o EFG é uma propriedade molecular. Informações valiosas sobre o entorno químico do núcleo podem ser obtidas a partir da magnitude da interação quadrupolar (SUITS, 2006).

O acoplamento quadrupolar é um parâmetro anisotrópico de RMN e, igualmente ao acoplamento dipolar, no movimento isotrópico molecular seu valor devido ao movimento randômico é zerado (equação 15). No entanto, em meios anisotrópicos, um acoplamento quadrupolar residual é observado. A equação para o acoplamento quadrupolar, está representada pela equação 15:

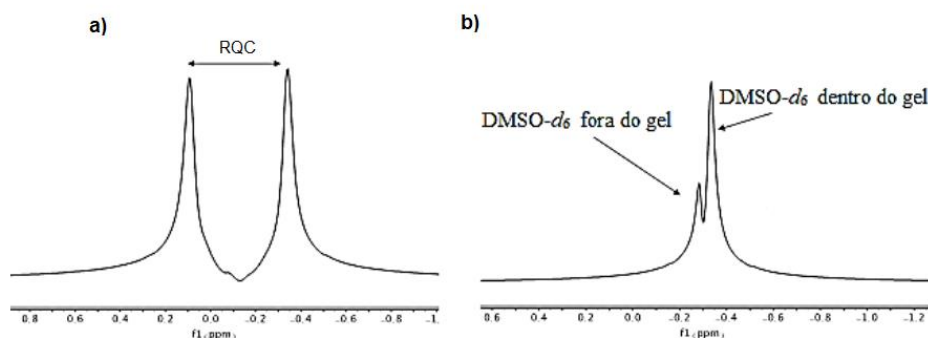
$$\Delta\nu_Q = \frac{3e^2qQ}{2h} S \left\langle \frac{3\cos^2\theta - 1}{2} \right\rangle \quad (15)$$

Onde, e , Q , e q correspondem à carga elétrica, momento quadrupolar, e gradiente de campo elétrico, 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 é o parâmetro de ordem. O fator angular, segundo polinômio de Legendre, origina-se pela rotação do sistema molecular. Em meios isotrópicos este fator angular é zerado e, portanto, o acoplamento quadrupolar não é diretamente observado (SUITS, 2006).

Em meios orientados o fator angular é diferente de zero e o acoplamento quadrupolar ($\Delta\nu_Q$) manifesta-se como um desdobramento do espectro de RMN de núcleo quadrupolar correspondente. Por exemplo, o desdobramento do sinal dos núcleos de deutério (^2H) do solvente deuterado indica a existência de alinhamento no sistema, como mostrado na (Figura 13a).

A Figura 13 mostra um exemplo do espectro de ^2H em que é possível observar o valor do acoplamento quadrupolar residual em um gel de poliacrilonitro (PAN), em (a) quando o gel é comprimido, a anisotropia é gerada e os acoplamentos quadrupolares residuais tornam-se visíveis em forma de dupletos. Quando o gel está relaxado no tubo de RMN, ou seja, sem compressão (b), são observados dois picos, um menos intenso que corresponde ao DMSO- d_6 residual fora o gel (isotrópico) e o pico mais intenso corresponde ao solvente dentro do gel (anisotrópico). É importante ressaltar que o pico mais intenso no espectro (b) se divide em um duplete quando o gel é comprimido e, dessa forma é possível medir o RQC observado em (a).

Figura 13- Espectro de RMN de ^2H do gel de PAN em $\text{DMSO-}d_6$ (a) com compressão e (b) sem compressão.



Fonte: CARVALHO *et al.*, (2019)

O tamanho do RQC depende, sobretudo, da magnitude do EFG do núcleo considerado e do grau de alinhamento, uma vez que o momento quadrupolo do ^2H é uma constante como mencionado anteriormente (GIL, 2017).

Analisando a forma dos picos do acoplamento quadrupolar ($\Delta\nu_Q$) é possível estimar o grau de homogeneidade do meio orientador, ou seja, quando os picos estão simétricos e finos indicam um meio homogêneo, enquanto que picos largos e não simétricos indicam diferentes condições de alinhamento em diferentes pontos da amostra. No caso dos géis a não homogeneidade da rede polimérica também acarreta o surgimento de sinais largos.

Experimentos de RMN usando imagens de ^2H também podem ser usadas para avaliar a distribuição espacial da divisão quadrupolar de deutério ao longo da direção z de amostras anisotrópicas. Com essas imagens é possível monitorar o processo de equilíbrio do meio de alinhamento, a força de alinhamento e, ainda, e no caso dos géis, pode revelar, por exemplo, inomogeneidade de alinhamento devido a géis quebrados (TRIGO-MOURIÑO *et al.*, 2013).

2.5 OBTENÇÃO DE INFORMAÇÕES ESTRUTURAIS BASEADAS EM MEDIDAS DE RDCS E RCSAS

Os RDCs dependem do ângulo formado a partir do vetor internuclear dos spins I e S e a direção do campo magnético externo B_0 , ou seja, correlacionam a orientação relativa de vetores internucleares. Por outro lado, os RCSAs informam da orientação relativa dos tensores de blindagem química (NATH *et al.*, 2016). Devido a esses fatores, os RDCs e RCSAs podem ser utilizados para a determinação da estrutura tridimensional de moléculas orgânicas.

A grande dificuldade na utilização de RDCs e RCSAs está atrelada à interpretação de forma correta dos dados fornecidos experimentalmente, e à conversão destes parâmetros em dados que ajudem na elucidação estrutural das moléculas. Um esquema geral para a obtenção de informações estruturais é apresentado na Figura 14.

Os protocolos mais comuns para a análise estrutural de moléculas pequenas mediante RDCs ou RCSAs baseiam-se na geração de um conjunto de estruturas 3D da molécula em estudo, essas estruturas geralmente são obtidas por métodos de modelagem molecular que podem ser baseados em campos de força ou em métodos mecânico-quânticos, especialmente aqueles baseados na teoria do funcional da densidade (DFT). Posteriormente, com os dados de RDCs ou RCSAs experimentais coletados dos espectros de HSQC e ^{13}C respectivamente, é realizado, para cada estrutura, na forma de uma estrutura única ou um *ensemble* conformacional, um ajuste do tensor de alinhamento aos dados espectrais mediante ajuste de mínimos quadrados. Este ajuste é na maioria das ocasiões realizado por meio da decomposição do valor singular (SVD) como implementado em programas como MSpin (NAVARRO-VÁZQUEZ, 2012) ou PALES (ZWECKSTETTER, 2008). Uma vez que esses tensores são calculados, os RDCs e/ou RCSAs são recalculados a partir da geometria molecular e comparados com os dados experimentais. A estrutura que melhor se ajuste aos dados experimentais será considerada a estrutura correta. O ajuste entre RDCs ou RCSAs experimentais e recalculados é usualmente expresso em termos do fator de qualidade de Cornilescu (Q) (CORNILESCU; BAX, 2000). Idealmente, para a estrutura correta, o fator Q deve ser zero ou mais próximo à zero. No entanto, um Q menor que 0,05 é considerado um ajuste excelente e um Q entre 0,05 e 0,10 é considerado um ajuste razoavelmente bom para moléculas pequenas

(GIL, 2017). As equações 16 a 18 mostram as expressões para o cálculo do fator de qualidade Q empregado no ajuste de RDCs (16) e RCSAs (17), bem como na combinação desses dois parâmetros (18).

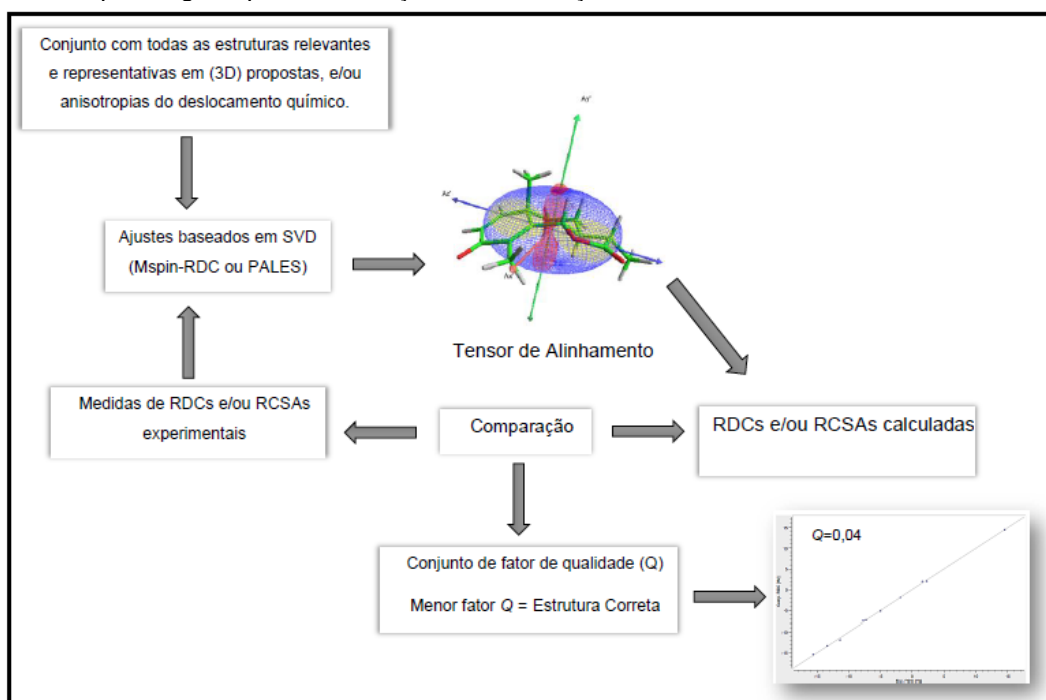
$$Q = \sqrt{\frac{\sum (D_{exp} - D_{calc})^2}{\sum D_{exp}^2}} \quad (16) \quad Q = \sqrt{\frac{\sum (RCSA_{exp} - RCSA_{calc})^2}{\sum RCSA_{exp}^2}} \quad (17)$$

$$Q = \sqrt{\frac{\sum (D_{exp} - D_{calc})^2}{\sum D_{exp}^2} + \frac{\sum (RCSA_{exp} - RCSA_{calc})^2}{\sum RCSA_{exp}^2}} \quad (18)$$

Onde, D_{exp} são os resultados dos acoplamentos dipolares residuais experimentais e D_{calc} os calculados. δ_{exp} e δ_{calc} são os dados experimentais e calculados da anisotropia de deslocamentos químicos residuais, respectivamente.

A Figura 14 mostra um esquema geral para a obtenção de informações estruturais baseadas nas medidas dos parâmetros de RDCs e RCSAs para moléculas rígidas e semirrígidas.

Figura 14- Esquema geral para a obtenção de informações estruturais usando RDCs e RCSAs.



Fonte: Adaptado de Gil & Navarro-Vázquez (2017).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

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

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a síntese de géis de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN);
- Testar o desempenho dos géis de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) como meio de alinhamento para a medição de RDCs e RCSAs em moléculas orgânicas como brucina e α -santonina;
- Realizar a síntese de géis de acrilonitrila/ácido 2-acrilamida-2-metil-1-propano sulfônico (AN/AMPS);
- Testar o desempenho dos géis de acrilonitrila/ácido 2-acrilamida-2-metil-1-propano sulfônico (AN/AMPS) como meio de alinhamento para a medição de RDCs em diferentes moléculas compatíveis com água;
- Realizar a síntese de géis de poliestireno (PS);
- Testar o desempenho dos géis de poliestireno como meio de alinhamento para a medição de RDCs e RCSAs na molécula de brucina.

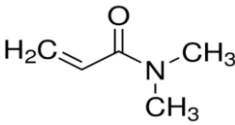
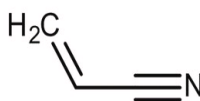
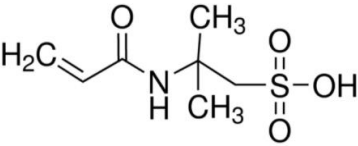
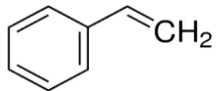
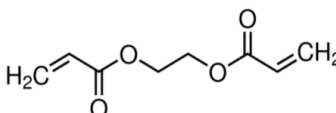
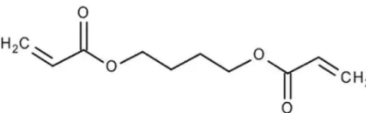
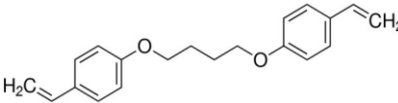
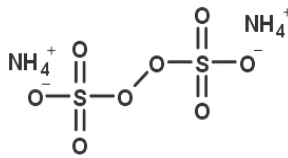
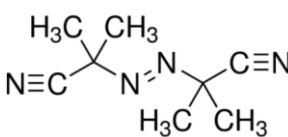
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 EQUIPAMENTOS, SOLVENTES E REAGENTES

Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro Agilent de 400 MHz, operando à temperatura de 298 K, com frequências de ressonância de 399,75 MHz para o ^1H , 61,36 MHz para o ^2H e 100,51 MHz para o ^{13}C . Os experimentos foram realizados em acetonitrila- d_3 (grau de deuteração de 99,9%), metanol- d_4 (grau de deuteração de 99,8%) e D_2O (grau de deuteração de 99,8%), utilizando tubos de RMN de 5 mm e o aparelho para compressão do gel elaborado por NewEra™ (Figura 6b). O solvente utilizado para a polimerização dos géis foi a *N,N*-dimetilformamida (DMF). Os solventes para lavagem dos géis foram a acetonitrila, água destilada, metanol e tolueno.

Os monômeros foram filtrados sobre alumina básica para retirar os inibidores de polimerização. Os demais reagentes foram utilizados conforme recebidos pelos fabricantes, sem tratamento ou purificação prévios. Na Tabela 2 são apresentadas as estruturas moleculares e informações de todos os reagentes utilizados na síntese dos géis.

Tabela 2 - Reagentes utilizados nas sínteses dos géis.

Reagente	Função	Estrutura Molecular	Informações
<i>N,N</i> -dimetilacrilamida (DMA)	Monômero		Marca: Sigma-Aldrich Pureza: 99%
Acrilonitrila (AN)	Monômero		Marca: Alpha Aesar Pureza: 99%
Ácido 2-acrilamida-2-metil-1-propano sulfônico (AMPS)	Monômero		Marca: Sigma-Aldrich Pureza: 99%
Estireno	Monômero		Marca: Sigma-Aldrich: 99%
Diacrilato de etileno glicol (EGDA)	Reticulante		Marca: Sigma-Aldrich Pureza: 98%
Diacrilato de 1,4-butanodiol (BDA)	Reticulante		Marca: Ambeed Pureza: 90%
1,4-bis(4-vinilfenoxi) butano	Reticulante		Marca: Sigma-Aldrich Pureza: 90%
Persulfato de amônia (APS)	Iniciador radicalar		Marca: Sigma-Aldrich Pureza: 98%
2,20-azobis (2-metilpropionitrilo) (AIBN)	Iniciador radicalar		Marca: Fluka Pureza: 98%

Fonte: A autora (2022).

4.2 SÍNTESE DOS GÉIS POLIMÉRICOS

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 géis poliméricos desenvolvidos neste trabalho.

4.2.1 Síntese dos géis de *N, N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN)

Foram sintetizados dois tipos de géis de *N, N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) os quais foram rotulados como (DMA/AN)/acetonitrila (50:50) e (DMA/AN)/metanol (75:25). A síntese ocorreu da mesma forma para os dois tipos de géis.

Os monômeros *N, N*-dimetilacrilamida (DMA) e acrilonitrila (AN) foram filtrados em uma seringa contendo alumina básica e um filtro de HPLC na ponta, para retirar o inibidor de polimerização. Para os géis de (DMA/AN)/acetonitrila (50:50) foram adicionados 250 μL (3,8 mmol) de DMA e 250 μL (2,43 mmol) de AN em um frasco de vidro. Em seguida foram adicionados 250 μL de DMF, 5,4 μL (0,0313 mmol) de EGDA e 1,5 mg de AIBN. Para os géis de (DMA/AN)/metanol (75:25) foram adicionados 375 μL (3,64 mmol) de DMA e 125 μL (1,90 mmol) de AN em um frasco de vidro e acrescentado 250 μL de DMF, 4,81 μL (0,028 mmol) de EGDA e 1,5 mg de AIBN. A fração do agente de reticulação em relação aos monômeros foi 0,5% molar. Cada solução contida no frasco de vidro foi transferida para um tubo de RMN com 3 mm de diâmetro. Os tubos de RMN foram selados à chama e levados ao forno a 60° C. A polimerização foi realizada por 24 h. Depois disso, os tubos foram retirados do forno. Depois de quebrar a parte superior dos tubos, os géis puderam ser facilmente removidos com a ajuda de movimentos circulares suaves. Os géis foram cortados em bastões de 2,5 cm de comprimento e depois os géis de DMA/AN 50:50 foram lavados com acetonitrila e os géis de DMA/AN 75:25 com metanol para eliminação de possíveis resíduos de monômeros. Após 24 horas os solventes foram trocados. O procedimento de lavagem foi repetido no total quatro vezes para cada gel, sendo que para cada lavagem foi utilizada 1 mL de solvente, totalizando 4 mL. Após esse procedimento de lavagem, os géis foram colocados em placas de petri e deixados para secar à temperatura ambiente.

4.2.2 Síntese dos géis de Acrilonitrila/Ácido 2-acrilamida-2-metil-1-propano sulfônico (AN/AMPS)

O monômero de acrilonitrila (AN) foi filtrado em uma seringa com um filtro contendo alumina básica para retirar o inibidor de polimerização. O monômero de AMPS foi pesado em uma balança analítica. Em um frasco de vidro 0,145 g de AMPS foram dissolvidos em 400 μL de DMF e em seguida adicionados 400 μL (6,08 mmol) de AN, 0,7 μL ($3,34 \times 10^{-3}$ mmol) de BDA e 1,5 mg de AIBN. A fração do agente de reticulação em relação aos monômeros foi 0,05% molar. Esta solução foi transferida para um tubo de RMN com 3 mm de diâmetro. O tubo de RMN foi selado à chama e levado ao forno a 60° C. A polimerização foi realizada por 24 h. Depois disso, os tubos foram retirados do forno. Depois de quebrar a parte superior dos tubos o polímero foi facilmente removido com a ajuda de movimentos circulares suaves. Foram cortados bastões de 2,5 cm de comprimento e lavado uma vez com água destilada, duas vezes com uma solução de carbonato de potássio com concentração 0,003 mol/L e pH=9 e uma vez com água deuterada. Após o último ciclo de lavagem, o gel foi deixado em placas de petri para secar à temperatura ambiente.

4.2.3 Síntese dos géis de poliestireno

O monômero de estireno foi filtrado em uma seringa contendo alumina básica e um filtro de HPLC na ponta, para retirar o inibidor de polimerização. Em um frasco de vidro foram adicionados 18,2 mg do reticulante 1,4-bis(4-vinilfenoxi) butano, 500 μL (4,35 mmol) de estireno, 250 μL de DMF e 1,5 mg de AIBN. A fração do agente de reticulação em relação ao monômero foi 1,3 % molar. A solução contida no frasco de vidro foi transferida para um tubo de RMN com 3 mm de diâmetro. O tubo de RMN foi selado à chama e 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, o polímero foi facilmente removido com a ajuda de movimentos circulares suaves. Foram cortados bastões de 2,5 cm de comprimento e depois lavados com tolueno para eliminação de possíveis resíduos de monômero. Após 24 horas foi trocado o solvente. O procedimento de lavagem foi repetido no total quatro vezes, sendo que para cada lavagem foi utilizada 1 mL de solvente, totalizando 4 mL. Após

esse procedimento de lavagem, os géis foram colocados em placas de petri e deixados para secar à temperatura ambiente.

4.3 ANÁLISES DE RMN

4.3.1 Preparação das amostras

Para a obtenção das medidas experimentais de RDCs e RCSAs, após a preparação dos géis na forma de bastões com diâmetro entre 2,0 – 2,5 mm, os géis cortados em pedaços com comprimento de 2,5 cm foram inseridos em tubos de RMN de 5 mm e preparados como descrito nos seguintes sistemas:

- ✓ Gel de DMA/AN/acetonitrila- d_3 (0,6 mL) com 15 mg de α -santonina;
- ✓ Gel de DMA/AN/acetonitrila- d_3 (0,6 mL) com 15 mg de brucina;
- ✓ Gel de DMA/AN/metanol- d_4 (0,6 mL) com 15 mg de brucina;
- ✓ Gel de AN/AMPS/D₂O (0,6 mL) com 15 mg de sacarose;
- ✓ Gel de AN/AMPS/D₂O (0,6 mL) com 15 mg de 5-norbornen-2ol;
- ✓ Gel de AN/AMPS/D₂O (0,6 mL) com 15 mg de azidotimidina (AZT);
- ✓ Gel de AN/AMPS/D₂O (0,6 mL) com 8 mg de cefuroxima sódica;
- ✓ Gel de Poliestireno/tolueno- d_8 (0,6 mL) com 15 mg de brucina.

Os géis intumesceram nos tubos de RMN e atingiram o seu equilíbrio em aproximadamente 1 dia.

4.3.2 Experimentos de RMN

Todos os experimentos de RMN foram realizados com os géis nos seus estados relaxado (isotrópico) e comprimido (anisotrópico).

4.3.2.1 α -santonina

Os espectros de RMN de HSQC acoplados em F1 foram adquiridos com tempo de aquisição de 0,150 s, 8 transientes, 1024 incrementos em t₁, largura espectral de 11 kHz em F1 e 3 kHz em F2 com multiplicação das constantes de acoplamento por um fator $k=3$. O tempo total do experimento foi de 7h 40 m.

Os espectros $\{^1\text{H}\}\text{-}^{13}\text{C}$ desacoplados foram adquiridos com tempo de aquisição de 0,57 s, tempo de espera de 2s, 16768 transientes, largura espectral de 21,92 kHz. O tempo total do experimento foi de 12h 30min.

4.3.2.2 Brucina

Para a brucina no gel de DMA/AN empregaram-se os seguintes parâmetros:

Os espectros de RMN de HSQC acoplados em F1 foram adquiridos com tempo de aquisição de 0,150 s, 8 transientes, 1024 incrementos em t1, largura espectral de 10 kHz em F1 e 4 kHz em F2, e com multiplicação das constantes de acoplamento por um fator $k=3$. O tempo total da aquisição foi de 7h 40 m.

Os espectros $\{^1\text{H}\}\text{-}^{13}\text{C}$ desacoplados foram adquiridos com tempo de aquisição de 0,57 s, tempo de espera de 2s, 36000 transientes. O tempo total do experimento foi de 12h 30min.

Para a brucina no gel de poliestireno os parâmetros empregados foram:

Os espectros de RMN de HSQC acoplados em F1 foram adquiridos com tempo de aquisição de 0,183 s, 4 transientes, 1024 incrementos em t1, largura espectral de 16 kHz em F1 e 5,6 kHz em F2 e com multiplicação das constantes de acoplamento por um fator $k=3$. O tempo total do experimento foi de 3h 30min.

Os espectros $\{^1\text{H}\}\text{-}^{13}\text{C}$ desacoplados foram adquiridos com tempo de aquisição de 1,59 s, tempo de espera de 1s, 20000 transientes. O tempo total do experimento foi de 14h 30min.

4.3.2.3 Sacarose

Para a sacarose foram realizados espectros de RMN de HSQC acoplados em F1 foi adquirido com tempo de aquisição de 0,107 s, 4 transientes, 1024 incrementos em t1, largura espectral de 5 kHz em F1 e 2,4 kHz em F2 e com multiplicação das constantes de acoplamento por um fator $k=3$. O tempo total dos experimentos foi de 3h 30min.

4.3.2.4 5-norbornen-2-ol

Os espectros de RMN de HSQC acoplado em F1 foram adquiridos com tempo de aquisição de 0,320 s, 4 transientes, 1024 incrementos em t1, largura espectral de 14 kHz em F1 e 2,8 kHz em F2 e com multiplicação das constantes de acoplamento por um fator $k=3$. O tempo total do experimento foi de 3h 30min.

4.3.3 Experimentos de RMN de Deutério

Para todos os tipos de géis foram realizados experimentos de RMN de ^2H . A sequência de pulsos utilizada para obtenção do espectro de RMN de ^2H foi a de pulso simples (*single pulse*) com pulso de 150,0 μs , tempo de aquisição de 2,00 s, 1 transiente, largura espectral de 3,67 kHz, 8 k pontos de memória e tempo total de aquisição de 22s.

4.4 CÁLCULOS TEÓRICOS

4.4.1 Modelagem molecular da α -santonina e brucina

Realizou-se uma busca conformacional sobre as oito possíveis estruturas de α -santonina usando o campo de força MMFF94 (HALGEN, 1995) como implementado no programa Macromodel (MACROMODEL, 2018), usando-se um filtro de energia relativa de 5 kcal/mol. As estruturas assim obtidas foram otimizadas ao nível de teoria B3LYP/6-31G* com o auxílio do software Gaussian09 (GAUSSIAN09, 2016).

No caso da molécula de brucina, dos 32 diastereoisômeros possíveis, apenas treze geometrias 3D podem ser montadas pelo programa Ligprep (LIGPREP, 2018) sem distorção excessiva. Nota-se que as treze configurações não correspondem totalmente com as treze configurações reportadas por Bifulco. (BIFULCO *et al.*, 2013). Para todos os diastereoisômeros foi encontrado um único conformero numa janela de energia de 5 kcal/mol. Além do mais, só foram guardadas aquelas estruturas que apresentavam grupos metoxi coplanares com o anel aromático. Todas as estruturas assim obtidas foram então reotimizadas ao nível de teoria M062X/6-31+G**. As geometrias M062X foram usadas para o cálculo dos tensores de blindagem química ao nível GIAO B3LYP/6-31G*.

4.4.2 Modelagem molecular da sacarose

A molécula de sacarose foi objeto de uma busca conformacional tipo Monte Carlo usando o campo de força MMFF94 conforme implementado no programa MacroModel. Só aquelas estruturas cuja energia relativa sobre a conformação basal era menor do que 10 kcal/mol foram guardadas no *ensemble* final, fornecendo um total de 355 estruturas. Todas estas conformações foram refinadas ao nível de teoria de M062X/6-31+G** implementado no Gaussian09 e carregado em IEFPCM com os parâmetros de solvatação em água. O tensor de blindagem química foi computado ao nível GIAO/PBE0/6-311+G** empregando as geometrias M062X. Para todos os cálculos de DFT empregou-se o programa Gaussian09 (GAUSSIAN09, 2016).

4.4.3 Modelagem molecular do 5-norbornen-2-ol

As estruturas MMFF94 obtidas de forma semelhante, aos casos anteriores, para os isômeros *endo* e *exo* de 5-norbornen-2-ol foram reotimizadas para o nível DFT M062X/6-31+G** (ZHAO & TRUHLAR, 2008) usando a grade ultrafina em Gaussian09 (GAUSSIAN09, 2016), resultando em um conjunto final de 6 estruturas, 3 para *exo* e 3 para *endo*. Os tensores de blindagem química foram obtidos por cálculos de ponto único nas estruturas previamente otimizadas usando o funcional PBE0 (ADAMO & BARONE, 1999) e o conjunto de bases 6-311+G**.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 GÉIS DE *N,N*-DIMETILACRILAMIDA/ACRILONITRILA (DMA/AN)

Em 2014 Cipriano e colaboradores desenvolveram géis de acrilamida autorreticulados que apresentavam uma alta resistência mecânica (CIPRIANO *et al.*, 2014). Segundo os autores, esses géis formados pelo processo de autorreticulação são altamente elásticos se comparado com géis convencionais e podem ser esticados até 1350% no estado não inchado e 400% no estado inchado, de acordo com os testes realizados. Além do mais, os géis também são superabsorventes e podem absorver até 3.000 vezes seu peso em água. O processo de autorreticulação mencionado no artigo de Cipriano e colaboradores é baseado na capacidade de autorreticulação do monômero de *N,N*-dimetilacrilamida (DMA) que já é conhecida desde a década de 50 (NEEDLES; WHITFIELD, 1965). A polimerização do hidrogel é conduzida pelo *N,N*-dimetilacrilamida (DMA) na presença do iniciador de radicais livres, persulfato de potássio (KPS), juntamente com o comonômero iônico, acrilato de sódio, sem a utilização de nenhum tipo de reticulante. Consideramos interessante explorar as propriedades desses géis como meio de alinhamento com o intuito de produzir meios de alinhamento com melhor comportamento mecânico e, potencialmente, uma maior reusabilidade.

Seguindo o procedimento relatado, realizamos a síntese de géis de *N,N*-dimetilacrilamida autorreticulados, ou seja, os géis foram polimerizados sem o uso de reticulante, simplesmente usando o persulfato de amônia como iniciador radicalar e água destilada como solvente. Para a nossa surpresa, os géis sintetizados são bastantes quebradiços após compressão do gel no tubo de RMN. Diante disso, optamos por investigar as propriedades de géis baseados em poliacrilamida, porém utilizando reticulante. Os géis de poliacrilamida foram um dos primeiros meios de alinhamento desenvolvidos para biomoléculas, porém não são bons meios de alinhamento para moléculas pequenas em solução aquosa devido, primeiro ao elevado grau de alinhamento fornecido, e segundo o gel resulta de forma geral muito frágil sendo relativamente complicada a sua preparação.

Decidimos então que seria interessante a preparação de géis baseados em DMA que pudessem ser comprimidos de forma reversível e que pequenas moléculas orgânicas tivessem um grau de alinhamento apropriado. Em uma série de

experimentos preliminares, e como material de referência, sintetizamos diversos géis de p-DMA usando diferentes concentrações do reticulante diacrilato de etileno glicol (EGDA) (0,3; 0,5; 0,7% molar) em dimetilformamida como solvente. O gel com 0,3% de EGDA inchou muito em acetonitrila e também em água, tocando as paredes do tubo de RMN de 5 mm e não pôde ser, portanto, comprimido. O gel com 0,7% de EGDA ficou muito rígido e também não conseguimos comprimi-lo. O gel com 0,5% inchou em água menos que o gel com 0,3% e conseguimos comprimi-lo de forma reversível no tubo de RMN de 5 mm. Assim, realizamos os experimentos de RMN de ^2H com o gel de 0,5% para avalia-lo como meio de alinhamento, mas o gel não apresentou desdobramento do sinal de ^2H , o que nos levou a concluir que o gel não pode ser aplicado como meio de alinhamento. Esses resultados nos levaram a realizar a síntese do copolímero DMA/AN. Com o intuito de evitar os problemas desta fragilidade dos polímeros de DMA, tentamos sintetizar um copolímero de acrilamida com acrilonitrila, tentando reduzir a cristalinidade do gel, tendo em conta também as excelentes propriedades dos géis de poliacrilonitrila recentemente desenvolvidos por nós (CARVALHO *et al.*, 2019).

Para a síntese dos géis copoliméricos, primeiramente, utilizamos 50% em volume de cada monômero, ou seja, 50% de *N,N*-dimetilacrilamida e 50% acrilonitrila. Esse gel apresentou boa compressão reversível. Posteriormente, sintetizamos géis com uma quantidade maior de *N,N*-dimetilacrilamida, 75% em volume e 25% de acrilonitrila, para avaliarmos o comportamento do gel nessas condições. A quantidade de reticulante para cada formulação foi fixada em 0,5% de EDGA, tendo em vista que, em testes anteriores essa quantidade de reticulante foi bastante satisfatória. Os resultados referentes ao desempenho dos géis *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN), que foram compatíveis com acetonitrila e metanol como meio de alinhamento, serão apresentados e discutidos a seguir utilizando moléculas orgânicas como brucina e α -santonina.

5.1.1 Aplicação do gel de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (50:50) como meio de alinhamento

O intumescimento dos géis de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila, em uma relação 50:50, foi avaliado em água e diferentes solventes orgânicos como dimetilsulfóxido, acetonitrila, metanol, tetrahidrofurano, clorofórmio, acetona e água. Após 24 horas observou-se que o gel intumescceu bem em acetonitrila e foi observado um leve intumescimento em DMSO- d_6 . O gel intumescido em CH_3CN apresentava um comprimento de aproximadamente 4 cm indicando que o gel 50:50 sintetizado poderia ser um bom meio de alinhamento. A acetonitrila foi o solvente escolhido para a realização do estudo deste gel como meio de alinhamento. Este é um resultado relevante, pois a acetonitrila é um dos solventes preferidos para a medida do dicroísmo circular, uma técnica essencial para a determinação da configuração absoluta de compostos orgânicos (PETROVIC *et al.*, 2010). O uso da informação conformacional obtida por meio dos acoplamentos dipolares medidos em géis compatíveis com acetonitrila permitiria uma predição baseada em técnicas de DFT mais precisa, sendo que as populações dos diferentes conformêros poderiam ser determinadas pelas análises dos RDCs obtidos no meio de alinhamento (TROCHE-PESQUEIRA *et al.*, 2017).

Antes da aquisição dos espectros de RMN o gel ficou equilibrando por quatro dias para garantir uma boa homogeneidade do gel (Figura 15).

Figura 15- Gel de DMA/AN intumescido em acetonitrila- d_3 .



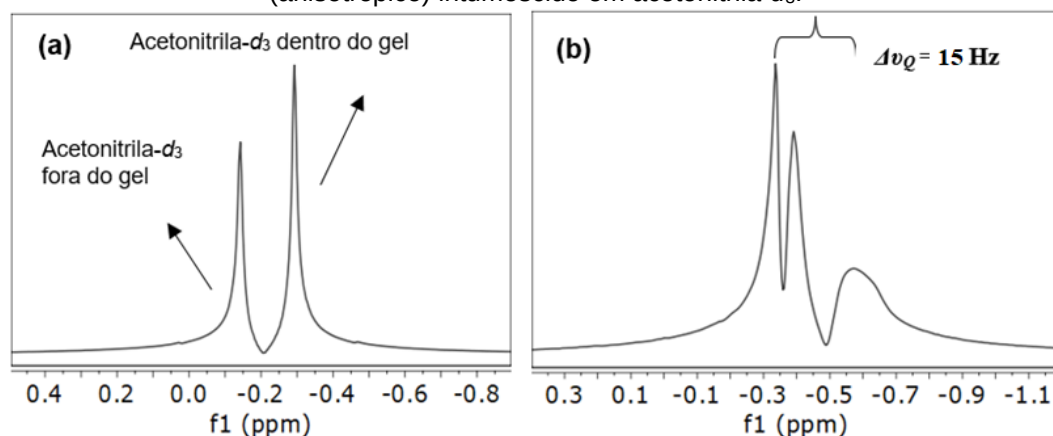
Fonte: A autora (2021).

A seguir foram realizados experimentos de RMN de ^2H como uma primeira avaliação das propriedades do gel como meio de alinhamento. Em um tubo de RMN de 5 mm contendo o gel intumescido em acetonitrila deuterada foi analisado nos estados relaxado (isotrópico) e comprimido (potencialmente anisotrópico) (Figura 16).

Quando o gel está relaxado é possível observar o sinal do solvente dentro do gel (pico mais intenso) e o sinal proveniente de uma camada isotrópica de solvente em torno do gel (pico menos intenso).

Usando o dispositivo desenvolvido por NewEra™ (Figura 6b), (New Era, 2012) o gel pôde-se comprimir até atingir apenas 3 cm de comprimento. Como resultado da anisotropia criada pela compressão, o sinal no espectro de ^2H correspondente a CD_3CN dentro do gel desdobrou-se em um duplete de 15 Hz. O singlete correspondente ao resto de solvente isotrópico ainda é observado no gel comprimido.

Figura 16- Espectro de RMN de ^2H do gel de DMA/AN (a)relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em acetonitrila- d_3 .



Fonte: A autora (2021).

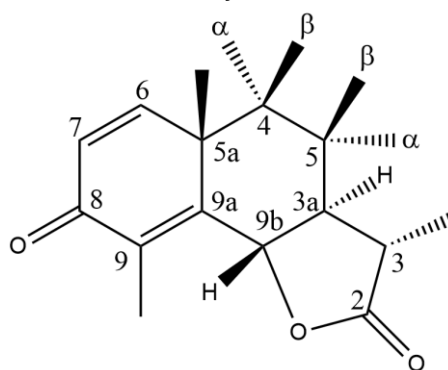
Visualmente o gel tem uma aparência bastante homogênea e sua compressão é reversível, podendo ser executada várias vezes. No espectro no espectro de ^2H com o gel comprimido é possível observar o diferente largo das duas linhas do duplete que se deve à existência de inhomogeneidade física que gera diferentes graus de alinhamento ao longo do gel como descrito em experimentos de imagem de ^2H -RMN (TRIGO-MOURIÑO *et al.*, 2013). No entanto, esse grau de inhomogeneidade não comprometeu a aplicação do gel como meio de alinhamento para a medida dos RDCs.

Com o intuito de avaliar o gel como meio orientador para a extração de RDCs e RCSAs, utilizamos duas moléculas testes α -santonina e brucina, moléculas alvo de análise no nosso estudo prévio usando géis de poliacrilonitrila. Além disso, são moléculas de fácil acesso do nosso grupo de pesquisa. Os resultados são apresentados a seguir.

5.1.1.1 Medidas dos RDCs da α -santonina no gel de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (50:50) em acetonitrila

Os RDCs $^1D_{CH}$ para a molécula de α -santonina (Figura 17) no gel DMA/AN (50:50) foram medidos mediante experimentos de HSQC acoplado em F1. A Figura 18 apresenta os espectros de HSQC-F1 para a molécula de α -santonina no gel nas condições diferentes: (a) relaxada (isotrópica) e (b) comprimido (anisotrópica).

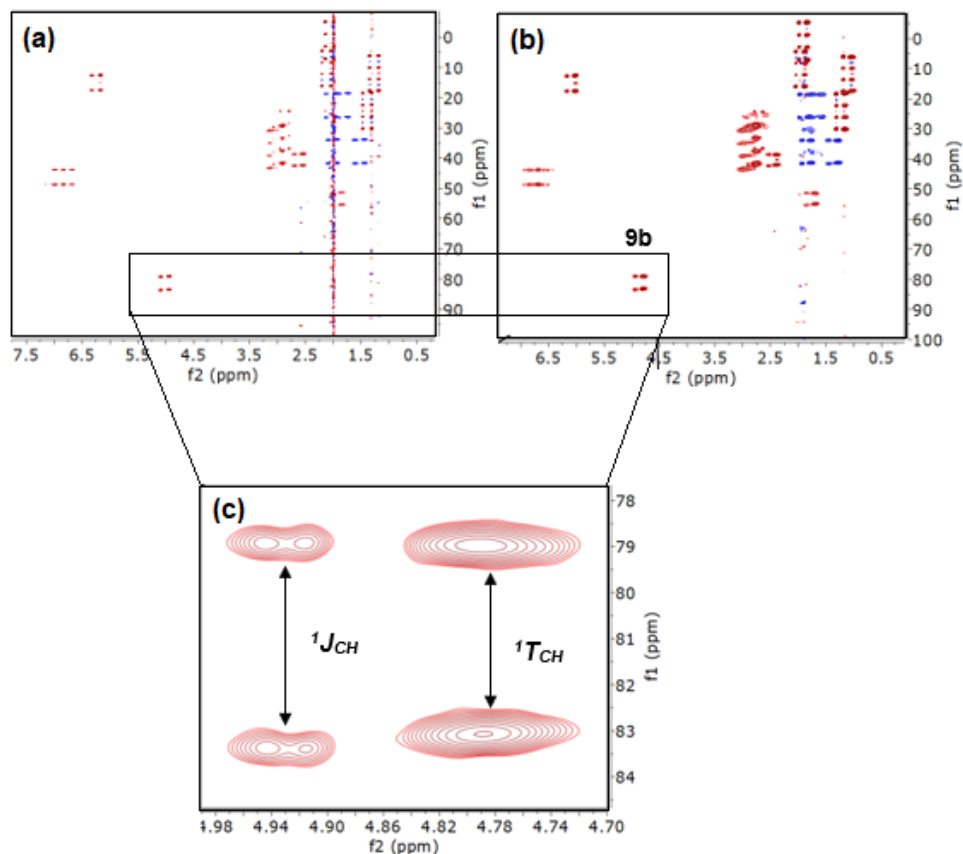
Figura 17- Estrutura e numeração da molécula de α -santonina



Fonte: A autora (2021).

Na Figura 18c são mostrados os sinais de correlação entre carbono e hidrogênio para o par C9b-H9b α -santonina. O experimento de HSQC acoplado em F1 fornece para cada sinal, ou seja, para cada par de C-H um duplete que é devido ao acoplamento (desdobramento do sinal). Os sinais observados são essenciais para obtenção dos valores de RDC. Estes valores foram obtidos a partir da diferença ($^1D_{CH} = ^1T_{CH} - ^1J_{CH}$) entre o acoplamento total $^1T_{CH}$ (condição comprimida) e o acoplamento $^1J_{CH}$ (condição relaxada).

Figura 18- Espectros de HSQC da α -santonina acoplado em F1 no gel de DMA/AN com o gel (a) relaxado (isotrópico), (b) comprimido (anisotrópico) e (c) expansão do espectro mostrando a medida do acoplamento para o par C9b-H9b.



Fonte: A autora (2021).

Após a realização dos experimentos de HSQC-F1, foi possível medir, para a α -santonina, os dez valores de RDCs $^1D_{CH}$ da α -santonina em um intervalo de -14,4 a 5,4 Hz (Tabela 3).

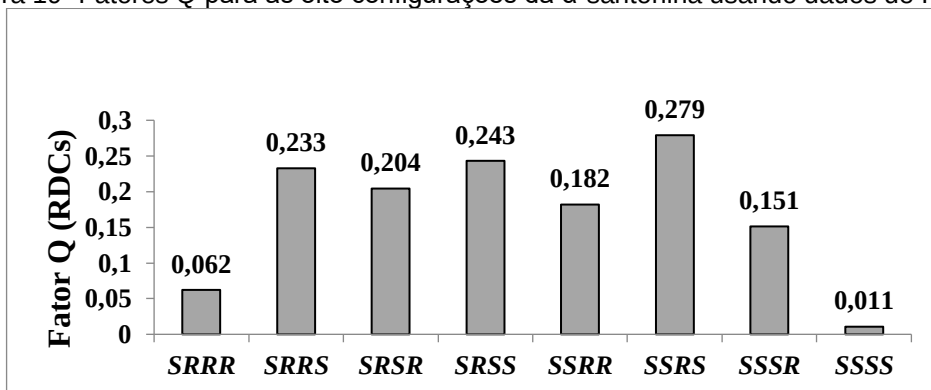
Tabela 3 - Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da α -santonina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3 .

Índice do átomo de carbono	$^1T_{CH}$ (Hz)	$^1J_{CH}$ (Hz)	$^1D_{CH}$ (Hz)
3	113,4	127,8	-14,4
3a	118,8	133,2	-14,4
4	124,6	130,9	-6,3
5	124,2	129,6	-5,4
6	163,8	160,2	3,6
7	171,0	165,6	5,4
9b	136,8	149,4	-12,6
CH3-C3	124,8	128,4	-3,6
CH3-C5a	132,6	129,6	3,0
CH3-C9	128,4	129,0	-0,6

Fonte: A autora (2021).

Os RDCs $^1D_{CH}$ obtidos foram aplicados à determinação da configuração relativa da α -santonina, que apresenta quatro estereocentros nas posições C5a, C9b, C3a e C3 (Figura 17) apresentando, portanto, oito possíveis diastereoisômeros. Após o ajuste do SVD, usando o programa MSpin, destes dados de RDCs às estruturas dos oito diastereoisômeros obteve-se um fator de qualidade $Q = 0,011$ para a configuração correta da α -santonina (SSSS) enquanto que a segunda estrutura melhor classificada (SRRR) obteve um fator Q de 0,062 (Figura 19). Desta forma, os RDCs medidos forneceram uma boa discriminação da configuração relativa na α -santonina, lembrando que, quanto mais próximo de zero o fator Q , melhor o ajuste entre os RDCs experimentais e os calculados. Os arquivos de entrada para o programa MSpin *input* contendo os valores de RDCs experimentais estão disponíveis no Apêndice C 1.

Figura 19- Fatores Q para as oito configurações da α -santonina usando dados de RDCs.



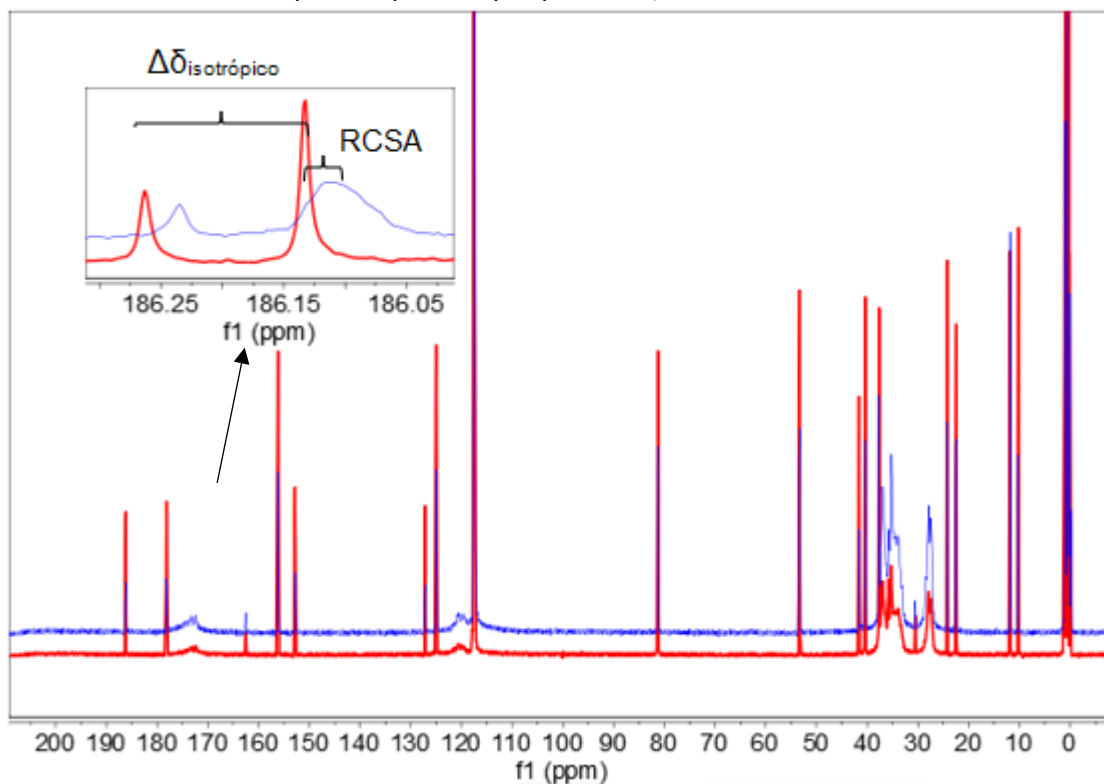
Fonte: A autora (2021).

5.1.1.2 Medidas dos RCSAs da α -santonina no gel de N,N -dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (50:50) em acetonitrila

Os valores de RCSAs foram obtidos a partir da diferença de deslocamento químico nos espectros de RMN de ^{13}C para o gel relaxado e comprimido como mostrado na Figura 20. Um problema fundamental é como referenciar os dois espectros para a obtenção do RCSA a correção isotrópica como discutido anteriormente. A referência que tomamos primeiramente foi o carbono da metila ligado ao carbono 9 ($\underline{C}H_3-C_9$) mais blindado no espectro, porém o sinal deste está muito alargado, e devido a isto tomamos como referência o segundo carbono mais blindado que corresponde ao carbono da metila ligado ao carbono 3 ($\underline{C}H_3-C_3$). A Tabela 4 apresenta os valores dos RCSAs experimentais e os valores referentes ao

deslocamento químico da contribuição isotrópica ($\Delta\delta_{\text{isotrópico}}$) medidos no gel relaxado. Os dados de *input* contendo os valores de RCSAs experimentais estão disponíveis no Apêndice C 2.

Figura 20 - Espectros de RMN de ^{13}C da α -santonina do gel de DMA/AN relaxado (isotrópico) na cor vermelha e comprimido (anisotrópico) em azul, intumescido em acetonitrila- d_3 .



Fonte: A autora (2021).

Tabela 4 - Deslocamento químico de ^{13}C da α -santonina, RCSA e $\Delta\delta_{\text{isotrópico}}$ experimentalmente no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3 .

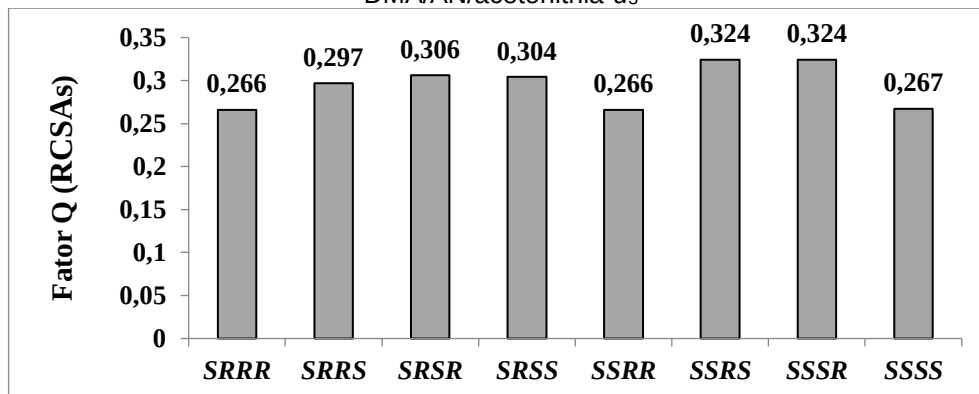
Átomo de Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	RCSA _{experimental} (ppm)	$\Delta\delta_{\text{isotrópico}}$ (ppm)
2	178,1	-0,022	0,097
3a	53,3	-0,012	0,016
3	40,3	-0,014	0,143
4	22,4	-0,015	0,014
5	37,6	-0,011	0,129
5a	41,6	-0,006	0,110
6	156,1	-0,019	0,069
7	124,9	-0,025	-0,108
8	186,1	-0,023	0,130
9	127,1	-0,027	0,175
9a	152,8	-0,024	0,073
9b	81,2	-0,010	0,142
<u>CH₃</u> -C3*	11,9	-	-
<u>CH₃</u> -C5a	24,2	-0,012	0,072
<u>CH₃</u> -C9	10,2	-0,002	-0,000

* Referência interna.

Fonte: A autora (2021).

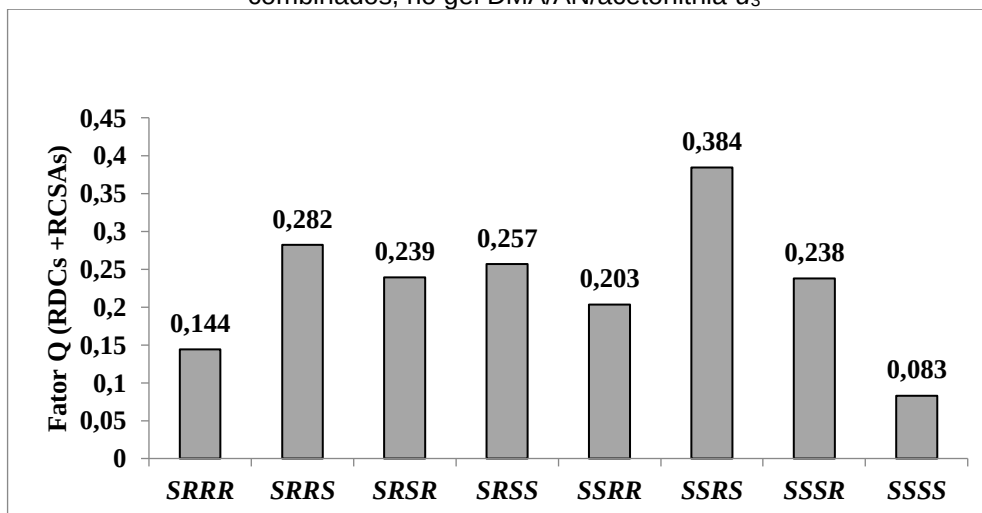
De forma semelhante aos RDCs, os RCSAs obtidos foram aplicados à determinação da configuração relativa da α -santonina. Após o ajuste do SVD desses dados de RCSAs às estruturas e blindagens químicas calculadas para os oito diastereoisoômeros forneceu um fator de qualidade $Q = 0,267$ para a configuração correta da α -santonina (SSSS), mas um valor $Q = 0,266$ quase idêntico foi obtido para a estrutura incorreta (SSRR) (Figura 21). Quando combinamos os valores de RDCs e RCSAs no ajuste de SVD obtivemos o menor fator $Q = 0,083$ para a estrutura correta (SSSS) (Figura 22). Possivelmente, a falta de discriminação quando só os valores de RCSAs foram usados é causada pela excessiva largura dos sinais de ^{13}C no espectro do gel comprimido.

Figura 21 - Fatores Q para as oito configurações da α -santonina usando dados de RCSAs, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3



Fonte: A autora (2021).

Figura 22 - Fatores Q para as oito configurações da α -santonina usando dados de RDCs e RCSAs combinados, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3

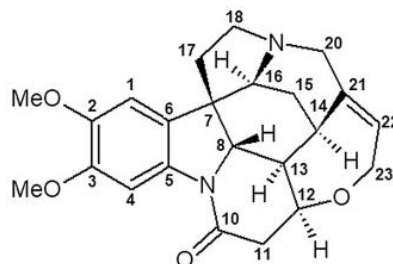


Fonte: A autora (2021).

5.1.1.3 Medidas dos RDCs da brucina no gel de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (50:50) em acetonitrila

Avaliamos o desempenho do gel de DMA/AN também com a molécula de brucina (Figura 23). Foi possível medir 15 valores de RDCs que variaram de -9,9 a 23,0 Hz (Tabela 5). Apenas o valor de RDC para o acoplamento C8-H8 não pôde ser extraído, devido ao fato de o sinal no espectro correspondente ao gel comprimido aparecer sobreposto a outros sinais no espectro HQSC-F1. Contudo, a falta do RDC correspondente ao par C8-H8 não comprometeu a discriminação da estrutura correta.

Figura 23 - Estrutura da brucina com a identificação numérica dos carbonos.



Fonte: A autora (2021).

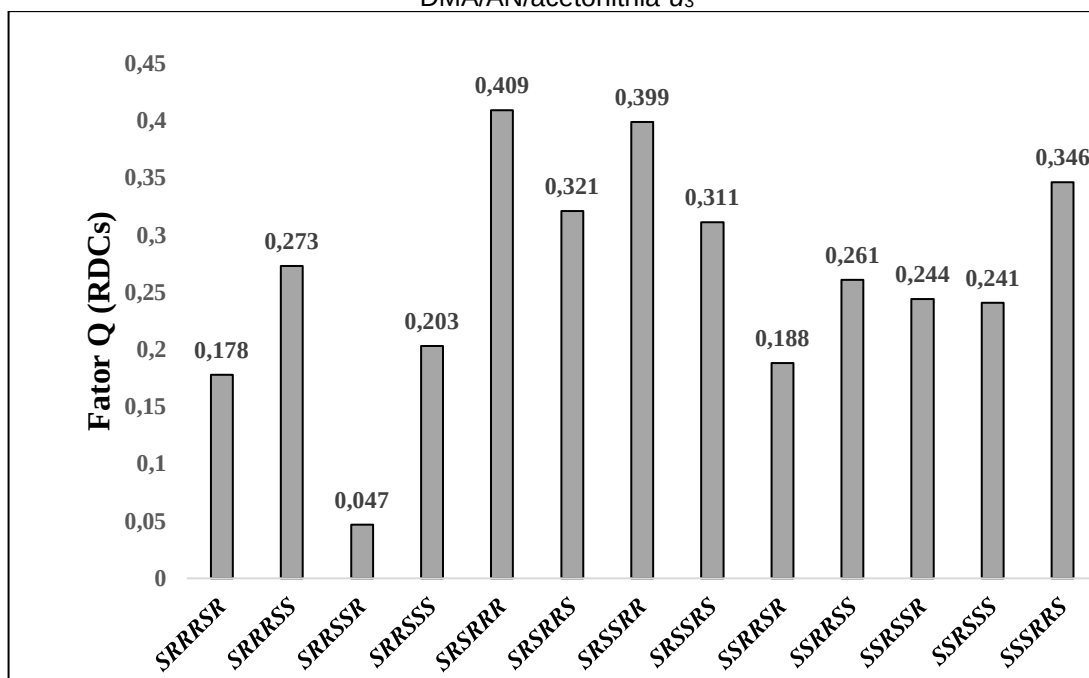
Tabela 5 - Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da brucina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos experimentalmente no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3 .

Índice do átomo de carbono	$^1T_{CH}$ (Hz)	$^1J_{CH}$ (Hz)	$^1D_{CH}$ (Hz)
1	148,3	157,9	-9,6
4	156,8	165,6	-8,8
11	131,1	130,5	0,6
12	150,2	150,8	-0,6
13	126,1	125,9	0,2
14	131,6	132,0	-0,4
15	120,4	130,3	-9,9
16	171,0	147,0	23,0
17	138,8	132,8	6,0
18	146,6	138,3	8,3
20	132,8	138,8	-6,0
22	154,0	159,2	-5,2
23	149,3	141,6	7,7
OMe-C2	148,7	144,7	4,0
OMe-C3	145,7	144,1	1,6

Fonte: A autora (2021).

Os valores experimentais de RDC foram ajustados para cada um dos treze diastereoisômeros da brucina de forma similar à α -santonina. Um fator Q de 0,047 (*SRRSSR*) foi obtido para a configuração correta da brucina, enquanto a segunda melhor estrutura obteve um fator Q de 0,178 (Figura 24). Os RDCs experimentais forneceram, portanto, boa discriminação entre as estruturas. O arquivo de entrada para o programa MSpin está disponível no Apêndice C 3.

Figura 24 - Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RDCs, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3



Fonte: A autora (2021).

5.1.1.4 Medidas dos RCSAs da brucina no gel de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (50:50) em acetonitrila

Novamente os valores de RCSAs foram obtidos comparando o deslocamento químico nos espectros de RMN de ^{13}C para o gel relaxado e comprimido. A referência interna que tomamos foi o carbono mais blindado que correspondente ao carbono 15 da brucina. A Tabela 6 apresenta os valores dos RCSAs experimentais e os valores referentes ao deslocamento químico da contribuição isotrópica ($\Delta\delta_{\text{isotrópicos}}$) medidos no gel relaxado. Os dados do arquivo de entrada contendo os valores de RCSAs experimentais estão disponíveis no Apêndice C 4.

Os sinais da brucina ficaram bastante alargados no gel comprimido. A sobreposição dos sinais fez com que não fosse possível a extração dos RCSAs de algumas regiões com carbonos próximos como é o caso dos carbonos 11 e 17 que ficam na região entre 41 e 42 ppm, os carbonos 7 e 20 na região entre 51 e 52 ppm e os carbonos dos grupos metoxila na região entre 55 e 56 ppm.

Tabela 6- Deslocamento químico de ^{13}C da brucina, RCSA e $\Delta\delta_{\text{isotrópicos}}$ experimentalmente no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3 .

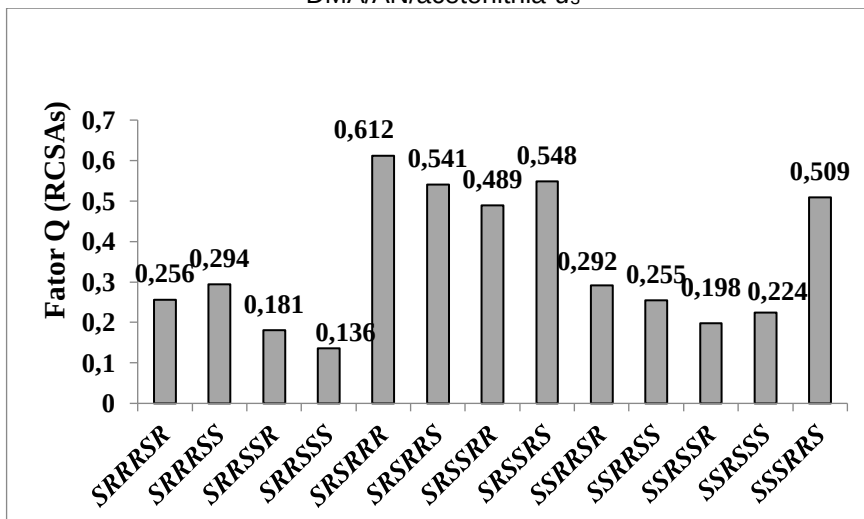
Átomo de Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	RCSA _{experimental} (ppm)	$\Delta\delta_{\text{isotrópico}}$ (ppm)
1	106,9	-0,005	0,103
2	146,2	-0,030	0,167
3	148,9	-0,003	0,172
4	100,7	0,004	0,131
5	135,9	-0,053	0,193
6	124,2	-0,015	0,247
7	51,0	ND	ND
8	60,2	-0,008	0,182
10	169,0	-0,034	0,140
11	41,0	ND	ND
12	77,3	0,000	0,183
13	47,8	-0,010	0,189
14	31,2	-0,011	0,194
15*	26,4	-	-
16	59,5	-0,008	0,147
17	42,0	ND	ND
18	49,7	-0,014	0,107
20	52,0	ND	ND
21	140,1	-0,027	0,405
22	126,9	-0,019	0,152
23	64,0	-0,017	0,146
OMe-C2	56,0	ND	ND
OMe-C3	55,6	ND	ND

ND: Não determinado. *: Referência interna.

Fonte: A autora (2022).

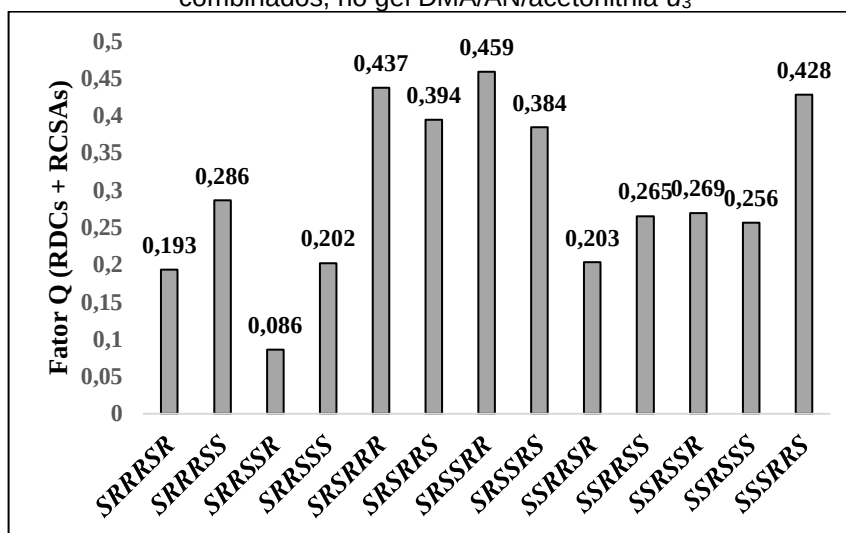
Após o ajuste por SVD desses dados de RCSAs para a geometria otimizada das estruturas no programa MSpin forneceu um fator de qualidade $Q = 0,181$ para a configuração correta da brucina (*SRRSSR*), porém um fator menor $Q = 0,136$ foi obtido para o epímero *SRRSSS* (Figura 25). Quando combinamos os valores de RDCs e RCSAs e obtivemos o menor fator $Q = 0,086$ para a estrutura correta (*SRRSSR*) (Figura 26). Da mesma forma que ocorreu com os resultados da α -santonina, acreditamos que o ajuste, quando empregando apenas com valores de RCSAs, forneceu resultados imprecisos devido à excessiva largura dos sinais no espectro de ^{13}C .

Figura 25 - Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RCSAs, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3



Fonte: A autora (2022).

Figura 26 - Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RDCs e RCSAs combinados, no gel DMA/AN/acetonitrila- d_3



Fonte: A autora (2022).

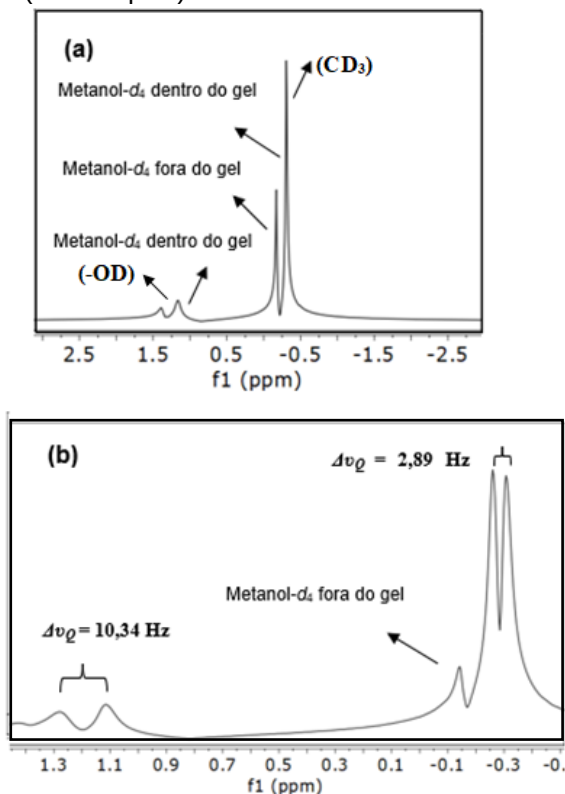
5.1.2 Aplicação do gel de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (75:25) em metanol como meio de alinhamento

Após a sua síntese, o intumescimento do gel 75:25, foi avaliado em diferentes solventes como dimetilsulfóxido, acetonitrila, metanol, tetrahidrofurano, clorofórmio, acetona e água. Após 24 horas o gel intumescceu bem em metanol e também em acetonitrila. Os géis intumescidos apresentaram um comprimento de aproximadamente 4 cm. Dessa forma, o metanol foi o solvente escolhido para a

realização do estudo deste gel como meio de alinhamento. Para a realização dos espectros de RMN o gel foi colocado em um tubo de RMN junto ao solvente e a molécula teste. Este sistema ficou equilibrando por quatro dias para garantir a homogeneidade mecânica e difusão da molécula teste no gel.

Após a avaliação do intumescimento do gel em metanol, foram realizados experimentos de RMN de ^2H a fim de investigar as suas características como meio de alinhamento. O tubo de RMN de 5 mm contendo o gel intumescido com CD_3OD foi analisado no estado relaxado e no comprimido (Figura 27). A Figura 27b mostra o espectro de ^2H para o gel totalmente comprimido mostrando um valor de divisão quadrupolar para o sinal da hidroxila deuterada de 10,3 Hz. Este valor é aproximadamente setenta por cento maior do que reportado por Gil e colaboradores (6,1 Hz) para o gel de metacrilato de éter dietilenoglicol metílico (p-DEGMEMMA) (GARCÍA *et al.*, 2016).

Figura 27 - Espectro de RMN de ^2H do gel de DMA/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em metanol- d_4 .

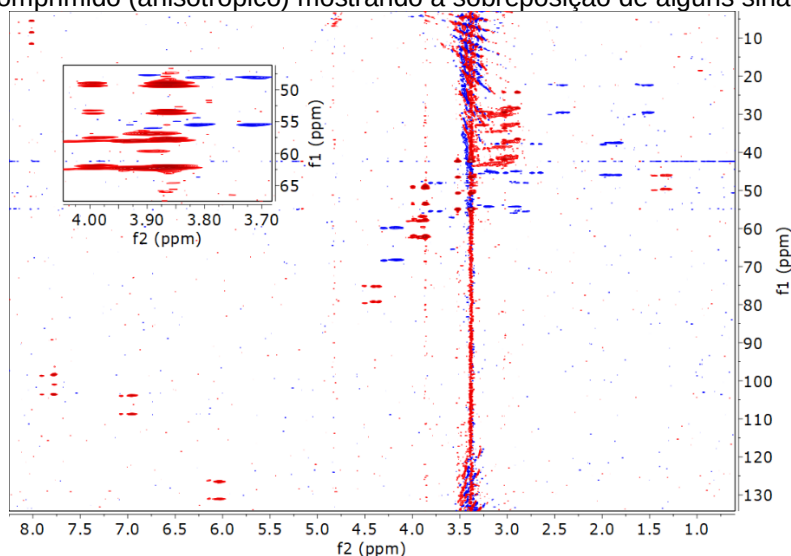


Fonte: A autora (2021).

5.1.2.1 Medidas dos RDCs da brucina no gel de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (75:25) em metanol

O desempenho do gel como meio de alinhamento foi também testado na molécula de brucina. Foi possível obter quinze valores de RDCs entre -15,1 e 15,9 Hz (Tabela 7). Apenas o valor de RDC do par C16-H16 não foi possível extrair, devido à sobreposição do sinal correspondente no espectro de HSQC com os sinais do gel comprimido. A Figura 28 apresenta o espectro de HSQC-F1 da brucina no gel comprimido, evidenciando esta sobreposição.

Figura 28 - Espectro de HSQC ^1H - ^{13}C acoplados em F1 da brucina no gel de DMA/AN em metanol- d_4 comprimido (anisotrópico) mostrando a sobreposição de alguns sinais.



Fonte: A autora (2021).

Tabela 7 - Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{\text{CH}}$), acoplamento total ($^1T_{\text{CH}}$) da brucina e valores de RDC ($^1D_{\text{CH}}$) obtidos experimentalmente no gel DMA/AN/metanol- d_4 .

Índice do átomo de carbono	$^1T_{\text{CH}}$ (Hz)	$^1J_{\text{CH}}$ (Hz)	$^1D_{\text{CH}}$ (Hz)
1	163,5	157,2	6,3
4	172,4	166,1	6,3
8	143,3	145,8	-2,5
11	127,7	130,4	-2,7
12	134,5	149,6	-15,1
13	122,3	125,5	-3,2
14	117,9	133,1	-15,2
15	120,3	131,1	-10,8
16	ND	ND	ND
17	141,4	133,8	7,6
18	155,3	139,5	15,8
20	124,4	139,5	-15,1
22	153,4	158,5	-5,1
23	140,7	141,4	-0,7
OMe-C2	143,3	144,5	-1,2
OMe-C3	145,0	144,5	0,5

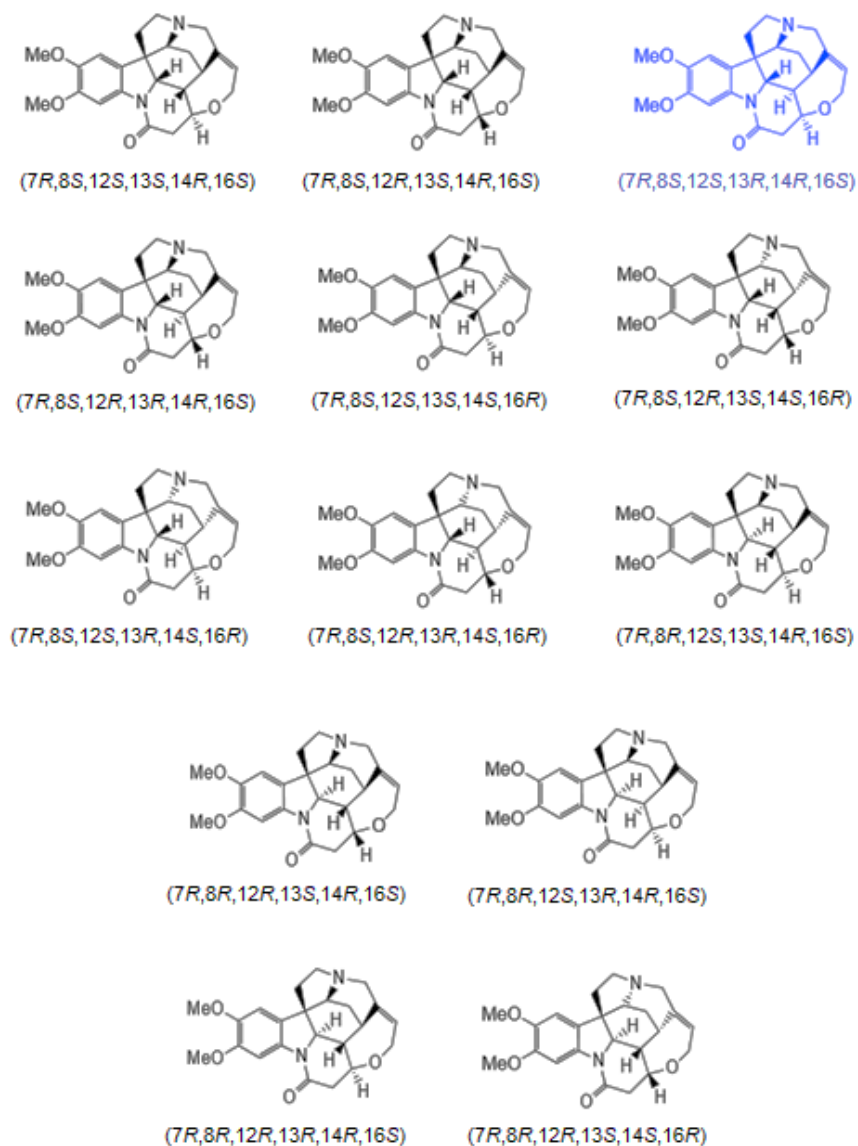
ND: Não determinado.

Fonte: A autora (2022).

Estes RDCs experimentais (Tabela 7) foram ajustados mediante SVD às estruturas dos diferentes diastereoisômeros da brucina (Figura 29) obtendo-se um fator de qualidade $Q = 0,069$ para a configuração correta da brucina (*SRRSSR*) destacada em azul na Figura 29, enquanto que obteve-se obteve um fator Q de 0,219 para a segunda melhor estrutura (Figura 30). Dessa forma, os RDCs medidos

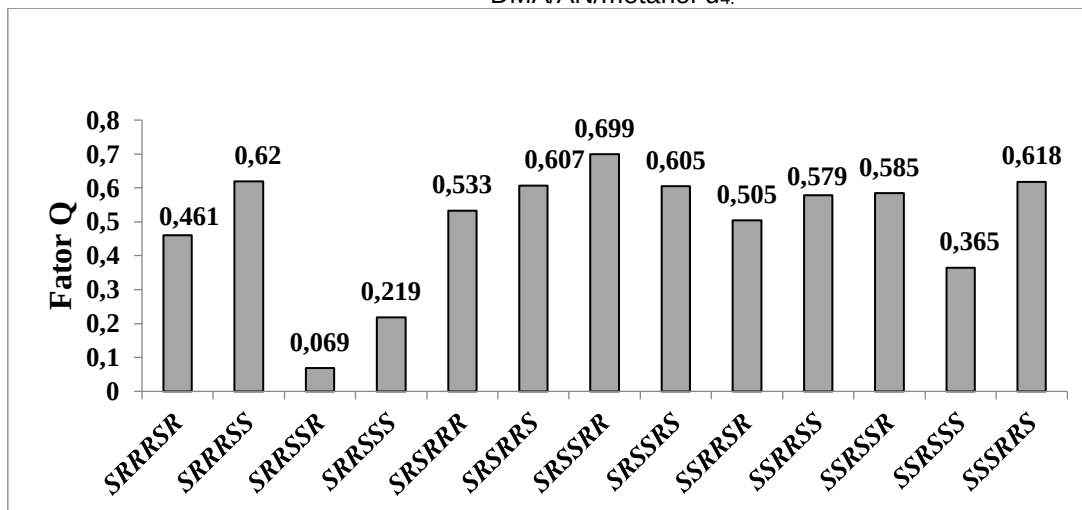
forneem, boa discriminação para a configuração correta da brucina. Os arquivos de entrada para o programa MSpin estão disponíveis no Apêndice C 5.

Figura 29 – Estruturas dos treze diastereoisômeros da brucina.



Fonte: A autora (2021).

Figura 30 - Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RDCs, no gel DMA/AN/metanol- d_4 .



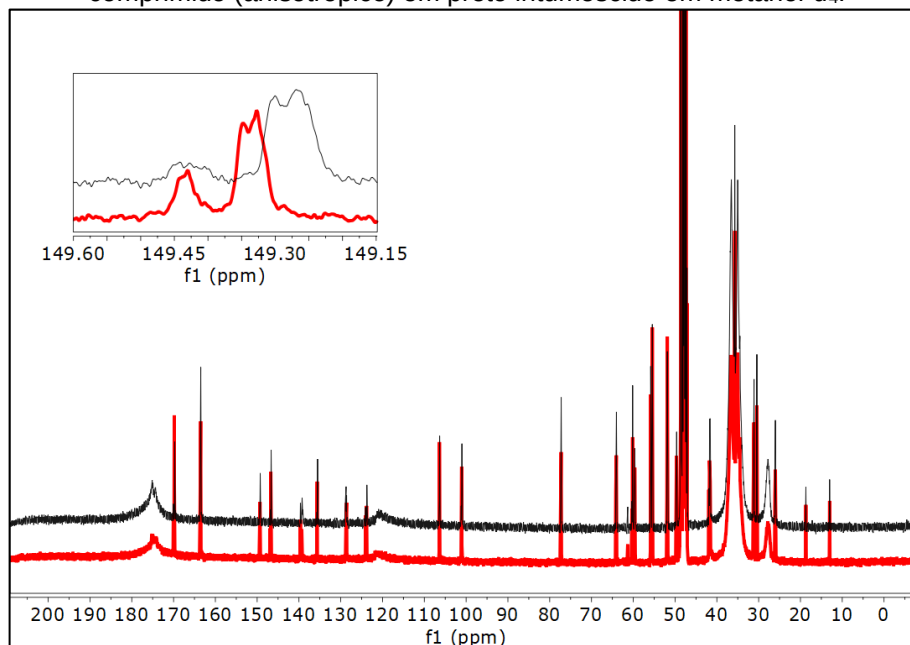
Fonte: A autora (2022).

5.1.2.2 Medidas dos RCSAs da brucina no gel de *N,N*-dimetilacrilamida/acrilonitrila (DMA/AN) (75:25) em metanol

Com os espectros de ^{13}C da brucina no gel de DMA/AN em metanol não conseguimos obter medidas precisas de RCSA por causa do alargamento dos sinais, especialmente, no estado comprimido e apenas nove RCSAs puderam ser medidos com alguma confiança. Ainda assim, os sinais referentes a estas medidas são muito alargados dificultando a precisão. A Figura 31 mostra os espectros de RMN de ^{13}C do gel de DMA/AN relaxado (isotrópico) na cor vermelha e comprimido (anisotrópico) em preto intumescido em metanol- d_4 , com destaque para o carbono 3 da brucina em 149 ppm.

Analisando a largura de linha a meia altura dos sinais da brucina no espectro de RMN de ^{13}C , notamos que a largura dos sinais do gel relaxado e comprimido são bem distintos. Os valores são de aproximadamente 3 Hz para o gel relaxado e 6 Hz para o gel comprimido. Comparando esses valores aos obtidos no gel de poli(acrilonitrila) (trabalho de mestrado da autora) que são 2 Hz e 3 Hz, respectivamente é possível observar que o gel de DMA/AN/metanol apresenta sinais alargados. Possivelmente, o alargamento dos sinais no estado comprimido do gel é causado por uma maior inhomogeneidade física e flambagem do gel e, por sua vez, causa uma maior dificuldade para obter um bom *shimming*. A Figura 31 mostra um destaque para a sobreposição do sinal em 149 ppm do carbono 23 no gel relaxado e comprimido em que é evidenciado o alargamento do sinal.

Figura 31 - Espectros de RMN de ^{13}C do gel de DMA/AN relaxado (isotrópico) na cor vermelha e comprimido (anisotrópico) em preto intumescido em metanol- d_4 .



Fonte: A autora (2021).

O gel de DMA/AN apresentou resultados satisfatórios em relação à extração dos acoplamentos dipolares residuais (RDCs), tanto empregando acetonitrila como metanol como solvente, o que ficou evidente nos resultados utilizando as moléculas teste α -santonina e brucina, permitindo, assim, a sua aplicação como meio de alinhamento.

5.2 GEL DE ACRILONITRILA/ÁCIDO 2-ACRILAMIDA-2-METIL-1-PROPANO SULFÔNICO (AN/AMPS)

Inicialmente, o gel de AN/AMPS foi sintetizado utilizando diacrilato de etileno glicol (EGDA) como reticulante. O gel apresentou um aspecto visual bastante homogêneo, porém com a compressão do gel notou-se uma pequena ondulação no mesmo. Dessa forma, pensamos em utilizar diacrilato de 1,4-butanodiol (BDA), um reticulante com uma cadeia carbônica maior que o EGDA, a fim de tornar o polímero mais flexível. A melhor concentração de reticulante encontrada para os géis foi de 0,05%, outras concentrações como 0,1 e 0,2% o gel, após intumescer, chegava a tocar as paredes do tubo de RMN, impossibilitando a compressão do mesmo. Após

a polimerização com BDA e lavagem do gel como citado no procedimento experimental, o gel foi testado quanto ao seu intumescimento em alguns solventes como acetonitrila, metanol, dimetilsulfóxido, clorofórmio e água, onde se observou um bom grau de intumescimento. Devido a isso, os experimentos de RMN foram realizados com o gel em água deuterada (D_2O), investigando as propriedades deste polímero como meio de alinhamento para soluções aquosas.

Investigamos, inicialmente, o comportamento do gel frente a diferentes temperaturas em uma faixa de 0° a 60°C. Tomando como referência o intumescimento a 30°C (100% de intumescimento), baixando a temperatura para 0 °C causa uma diminuição de 40% do inchamento enquanto aquecendo até 60 °C o intumescimento é aumentado, por exemplo, em 20%. O gel incha muito bem de 30 a 60 °C, mas a taxa de intumescimento diminui em temperaturas mais baixas como mostrado na (Tabela 8).

Tabela 8 - Intumescimento do gel em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Comprimento (cm) ^a
0	0,8
10	0,8
20	0,8
30	1,0
40	1,1
50	1,1
60	1,1

a) O comprimento do polímero seco é de 0,5 cm.

Fonte: A autora (2022).

Após os testes anteriores foi preparado um tubo de RMN de 5 mm com o sistema gel/molécula/solvente e foi realizado experimentos de RMN de HSQC-F1. Com os resultados desses espectros de HSQC percebemos que a sacarose, molécula teste, estava hidrolisando no gel, devido a isto o protocolo de lavagem foi modificado e uma etapa de lavagem com uma solução aquosa de carbonato de potássio com pH 9 foi usada para corrigir o pH do gel e evitar a hidrólise ácida na molécula em estudo. Usando este protocolo de lavagem não foi observada a hidrólise de nenhuma molécula teste.

Testamos o desempenho do gel como meio de alinhamento de RMN utilizando várias moléculas compatíveis com água de diferentes naturezas químicas, algumas

delas já alvo de análise de RDC, três moléculas não iônicas, nomeadamente sacarose (SILVA, *et al.*, 2020; VENABLE *et al.*, 2005), 5-norbornen-2-ol (TROCHE-PESQUEIRA, *et al.*, 2014) e azidotimidina (AZT) e, finalmente, cefuroxima sódica como exemplo de molécula iônica.

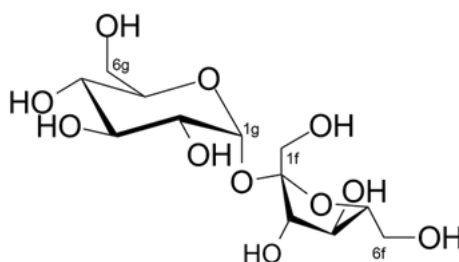
5.2.1 Aplicação do gel de AN/AMPS como meio de alinhamento em água

5.2.1.1 Sacarose

A molécula de sacarose foi objeto de estudo no novo gel compatível com água. A Figura 32 apresenta a estrutura química da sacarose em que *g* e *f* referem-se a anéis de glucopiranosil e frutofuranosil, respectivamente.

Para a realização das análises de RMN foi preparado um tubo de RMN de 5mm com 600 μ l de D₂O e 15 mg de sacarose. Após o intumescimento o gel relaxado apresentou um comprimento de 4 cm e após a compressão do gel com o dispositivo o comprimento do gel foi reduzido para 3,5 cm.

Figura 32 - Estrutura e numeração de sacarose.

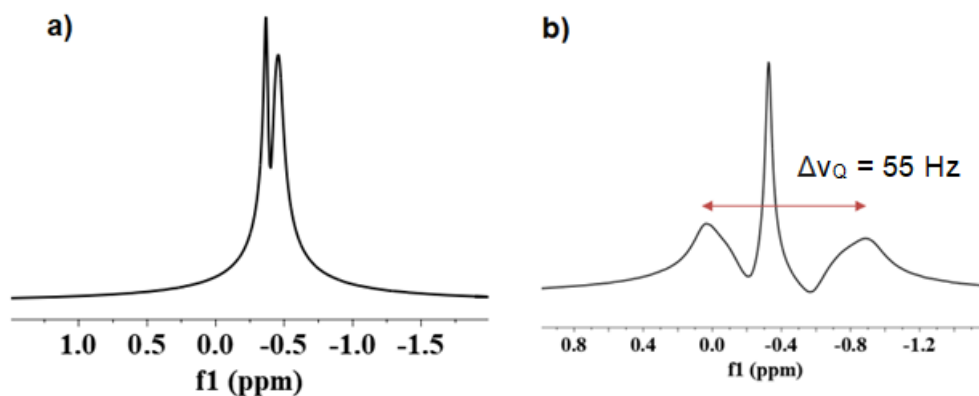


Fonte: A autora (2022).

Para a avaliação inicial do grau de alinhamento e homogeneidade do gel, foram realizados experimentos de RMN ²H. Os espectros foram medidos em duas condições distintas: a primeira com o gel no estado isotrópico (relaxado) (Figura 33a) e a segunda com o gel no estado comprimido (anisotrópico) (Figura 33b). No estado comprimido foi observado um valor da divisão quadrupolar de 55 Hz. Na Figura 33b, podemos observar um sinal intenso com uma largura de linha menor, referente ao sinal isotrópico da D₂O, isso ocorre devido a maior mobilidade do solvente fora do gel. Em contrapartida, o sinal de D₂O anisotrópico, origina sinais com uma largura de linha

maior, em virtude de uma maior restrição do movimento do solvente, por causa da compressão do gel, resultando em tempos de relaxação mais longos.

Figura 33 - Espectro de RMN de ^2H do gel de AN/AMPS (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em D_2O .



Fonte: A autora (2022).

É possível, no entanto, reduzir amplamente o grau de alinhamento do gel ajustando adequadamente o grau de compressão. Conforme as Figuras 34-36 em que são mostrados os espectros de ^2H e ^1H do gel contendo sacarose é possível acompanhar a mudança no perfil do espectro de acordo com a compressão do gel. Realizamos a compressão do gel em etapas de aproximadamente 1-1,5 mm até 5 mm como mostra a tabela 9. Nesse caso, é observado uma variação nos valores da divisão quadrupolar com o aumento da compressão do gel que variou de 0 com o gel relaxado a 55 Hz, como também no acoplamento escalar medido para o próton anomérico da sacarose que variou de 3,80 Hz para o gel relaxado a 11,3 Hz com a compressão de 5 mm do gel (tabela 9).

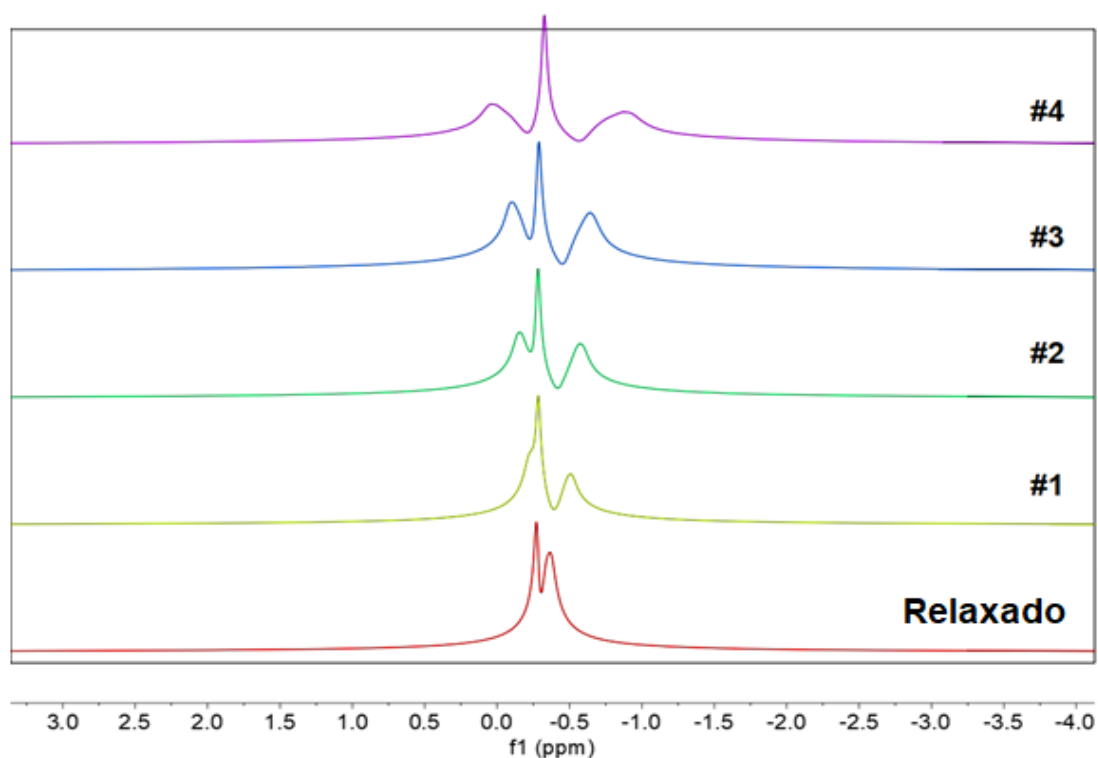
Tabela 9 - Valores para a divisão quadrupolar de ^2H e acoplamento escalar do próton anomérico da sacarose de acordo com o grau de compressão do gel. O gel foi comprimido em quatro etapas de ~1-1,5 mm até 5 mm.

Etapa de compressão	^1H (Hz)	^2H (Hz)
Relaxado	3,80	0,0
#1	6,7	17,0
#2	7,8	25,7
#3	8,7	33,4
#4 ^a	11,3	55,0

a) Compressão de 5 mm.

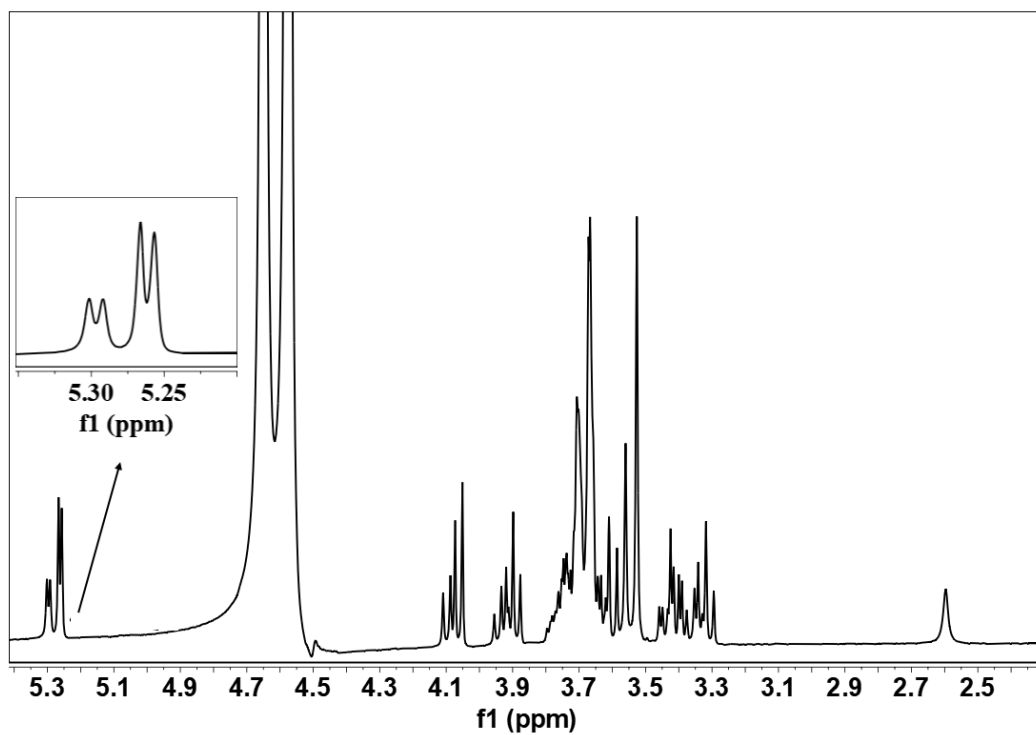
Fonte: A autora (2023).

Figura 34 - Espectros de RMN ^2H no gel relaxado e comprimido em etapas sucessivas de até 5 mm.



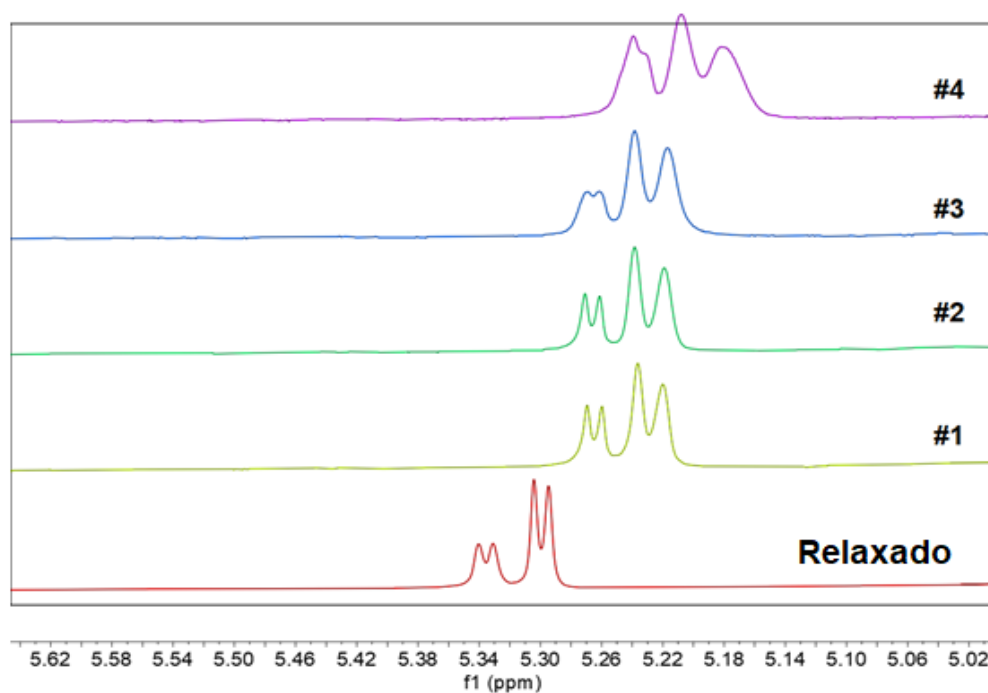
Fonte: A autora (2023).

Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H da sacarose no gel de AN/AMPS relaxado com detalhe para a região do próton anomérico.



Fonte: A autora (2023).

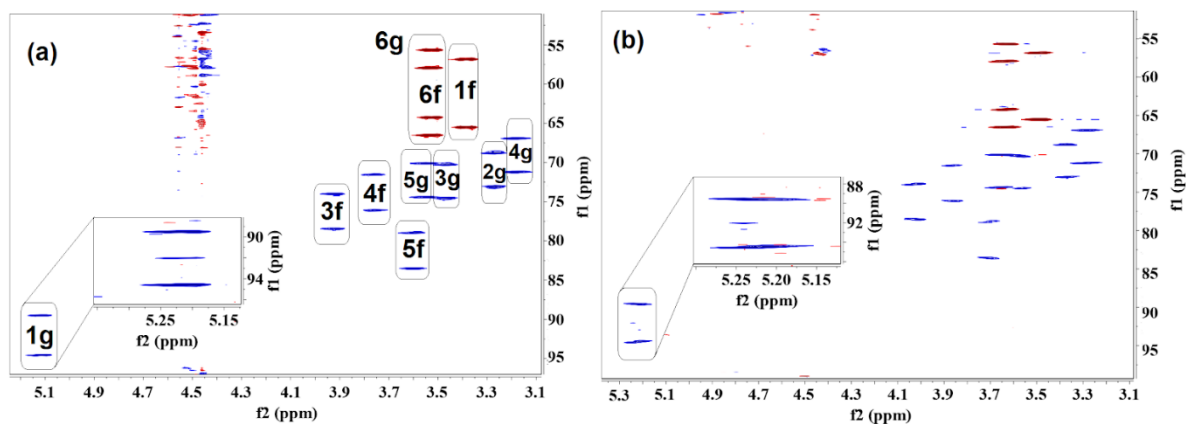
Figura 36 - Espectros de ^1H NMR correspondentes à região do próton anomérico da sacarose no gel relaxado e comprimidos em etapas sucessivas até 5 mm.



Fonte: A autora (2023).

Para a medição dos RDCs foram realizados os espectros de HSQC-F1 ^1H - ^{13}C nas duas condições isotrópico (gel relaxado) e anisotrópico (gel comprimido). O espectro de HSQC-F1 da sacarose nestas duas condições é apresentado na Figura 37.

Figura 37 - Espectros de HSQC acoplado em F1 da sacarose no gel AN/AMPS/ D_2O com o gel (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico).



Fonte: A autora (2023).

Os RDCs $^1D_{CH}$ foram determinados como a diferença entre os acoplamentos medidos nos estados comprimido ($^1T_{CH}$) e relaxado ($^1J_{CH}$) do gel ($^1D_{CH} = ^1T_{CH} - ^1J_{CH}$). Os espectros HSQC-F1 obtidos foram muito limpos com pouco ou nenhum sinal do polímero (Figura 37). A sobreposição de sinal também não foi observada e a diferença de deslocamento químico entre os sinais dentro e fora do gel é de aproximadamente 0,04 ppm. Estas características são muito importantes, tendo em vista que sinais de fundo, seja do polímero ou até mesmo de algum reagente ou solvente da polimerização, atrapalham a visualização dos sinais da molécula teste. A partir desses experimentos, foi possível determinar todos os RDCs $^1D_{CH}$ da sacarose compreendendo uma faixa de -8,0 a 11 Hz, conforme mostrado na Tabela 10.

De acordo com os valores $^1J_{CH}$ mostrados na Tabela 10 é possível observar que os valores isotrópicos de $^1J_{CH}$ encontrados no gel relaxado estão de acordo com os observados no trabalho de Silva (SILVA *et al.*, 2020), porém os valores encontrados neste trabalho apresenta algumas diferenças importantes daqueles relatados por Venable e Knoll (KNOLL *et al.*, 2022; VENABLE *et al.*, 2005).

Tabela 10 - Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da sacarose e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos no gel AN/AMPS/D₂O.

Acoplamento	$^1T_{CH}^a$ (Hz)	$^1J_{CH}^a$ (Hz)	$^1J_{CH}^b$ (Hz)	$^1J_{CH}^c$ (Hz)	$^1J_{CH}^d$ (Hz)	$^1D_{CH}^a$ (Hz)
C1g-H1g	161,1	169,1	170,3	169,6	169,9	-8,0
C2g-H2g	137,3	141,6	141,5	143,9	144,3	-4,3
C3g-H3g	139,5	142,4	142,3	145,3	145,4	-2,9
C4g-H4g	141,0	144,0	144,3	144,8	144,5	-3,0
C5g-H5g	141,3	144,3	144,5	144,9	144,3	-3,0
C6g-H6g	142,3	143,9	143,7	-	-	-1,6
C1f-H1f	145,6	144,9	145,0	-	-	0,7
C3f-H3f	155,5	148,1	149,0	143,1	144,6	7,4
C4f-H4f	154,1	150,6	151,8	138,4	145,2	3,5
C5f-H5f	163,1	152,4	152,2	147,1	148,9	10,7
C6f-H6f	143,8	144,0	143,9	-	-	-0,2

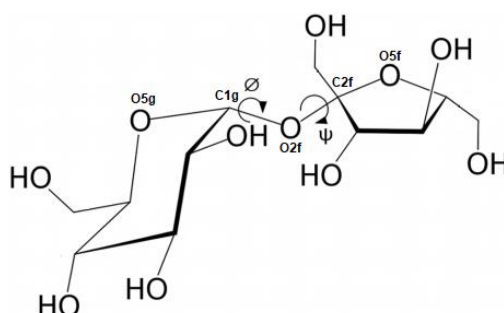
a) Valores $^1J_{CH}$ obtidos neste trabalho b) valores $^1J_{CH}$ de Silva *et al.*, 2020, c) Venable *et al.*, 2005 e d) valores $^1J_{CH}$ de Knoll *et al.*, 2022.

Fonte: A autora (2023).

Após a obtenção dos dados de RDCs experimentais, estes foram utilizados para estudar a conformação da sacarose. Todos os arquivos de entrada contendo os valores de RDCs experimentais estão disponíveis no Apêndice D 1. Para este estudo, usamos o ensemble de 355 conformações de sacarose obtido usando o campo de força MMFF94 reportado em Silva *et al.*, 2020. Em seguida os dados de RDCs obtidos experimentalmente foram carregados no programa StereoFitter juntamente com as 355 conformações, onde foi realizada uma seleção conformacional baseada no critério de Akaike. Tendo em vista que a sacarose tem elevado grau de flexibilidade, para podermos aplicar a aproximação do tensor único, tivemos que escolher um marco de referência comum às diferentes conformações. Este marco de referência foi definido mediante sobreposição, para isto, foram escolhidos os átomos que definem o centro tetraédrico em C1g (C2g-C1g-H1g-O1g-O2f) como fragmento comum às diferentes conformações.

A conformação das moléculas de dissacarídeos pode ser definida pelos ângulos diedros de torção Φ (phi) e Ψ (psi) ao redor da ligação glicosídica. Para a sacarose os ângulos diedros Φ e Ψ são definidos como Φ (O5g-C1g-O2f-C2f) e Ψ (C1g-O2f-C2f-O5f) (Figura 38).

Figura 38 - Estrutura da sacarose com definição de ângulos diedros.



Fonte: Adaptado de Rozada *et al.*, (2016).

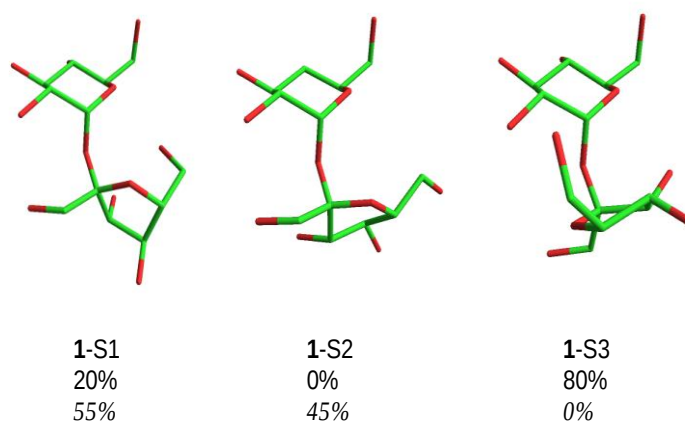
O programa StereoFitter permite gerar diferentes combinações de conformações até minimizar o valor do critério de informação de Akaike (AIC) definido como na equação 18:

$$AIC = c^2 + 2(m - 1) = \sum \left(\frac{D_{exp} - D_{calc}}{s^D} \right)^2 + 2(m - 1) \quad (18)$$

Onde m é o número de conformações no *ensemble* considerado e σ^D a incerteza associada ao ajuste dos RDCs (no nosso caso foi considerada uma incerteza $\sigma^D = 1$ Hz).

O melhor ajuste entre os RDCs e o conjunto de conformações apresentou um fator $Q = 0,016$ que corresponde ao par de conformações representado na Figura 39. A primeira conformação, 1-S1, é próxima da conformação de raios X com ângulos $\Phi = 112^\circ$ e $\Psi = -36^\circ$ (os ângulos na estrutura cristalina são $\Phi = 108^\circ$ e $\Psi = -45^\circ$ (BROWN e LEVY, 1973), e está próximo da conformação maior obtida por Silva no cristal líquido de bisperilenimida ($\Phi = 113^\circ$ e $\Psi = -56^\circ$) (SILVA *et al.*, 2020). A segunda conformação, 1-S3, nome que segue convenção no trabalho de Immel (IMMEL & LICHTENTHALER, 1995), apresenta valores de $\Phi = 106^\circ$ e $\Psi = 67^\circ$, enquanto os valores correspondentes na segunda conformação no trabalho de Silva são de $\Phi = 106^\circ$ e $\Psi = -168^\circ$ mais próximo da conformação 1-S2 de Immel. A proporção da população computada entre os conformadores 1-S1 e 1-S3 foi de 20:80, enquanto 1-S1 e 1-S2 foram de 55:45. Possivelmente, os dados RDC encontrados para a sacarose no gel de AN/AMPS são menos precisos devido ao pequeno tamanho dos RDCs, uma comparação justa entre esses valores envolveria uma análise estatística adequada, e provavelmente, indo além da aproximação do tensor único, que não é o objetivo do presente trabalho.

Figura 39 - Conformações da sacarose ajustados por meio do uso dos RDCs implementados no programa StereoFitter.



Fonte: A autora (2023). Tipo normal: populações computadas neste trabalho. Tipo itálico: os obtidos por Silva (SILVA *et al.*, 2020).

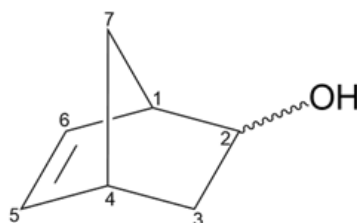
Para comparar o grau de alinhamento, ou seja, a força do alinhamento do gel de AN/AMPS com outros meios já descritos na literatura, utilizamos os resultados de

RDCs da sacarose publicados no trabalho de Silva e colaboradores (SILVA *et al.*, 2020). Ao fazermos o ajuste de RDCs experimentais e calculados no programa MSpin é gerado um tensor de alinhamento, assim comparamos o tensor de alinhamento da sacarose obtido no gel de AN/AMPS com o obtido por Silva no cristal líquido de bisperilenimida. Esses dois tensores podem ser comparados em termos de grau de ordem generalizado (GDO), em que o GDO reflete o grau de orientação da molécula alinhada (KRAMER *et al.*, 2004). Um valor de GDO de $5,0 \times 10^{-4}$ foi encontrado para a sacarose no gel de AN/AMPS menor do que $2,8 \times 10^{-3}$ valor obtido ajustando os valores de RDCs obtidos com cristal líquido de bisperilenimida (SILVA *et al.*, 2020). Esse resultado é bastante coerente quando comparamos os valores de RDCs obtidos no gel e no cristal líquido, em que os valores de RDCs do gel são menores, indicando que o gel tem uma força de alinhamento menor que o cristal líquido, o que já era esperado.

5.2.1.2 5-norbornen-2-ol

Continuamos nossos testes do gel de AN/AMPS com a molécula 5-norbornen-2-ol (Figura 40), que está disponível comercialmente como uma mistura dos isômeros *endo* e *exo*, para testar o gel como meio de alinhamento obtivemos novamente espectros de RMN muito limpos sem sinais de fundo (os espectros estão disponíveis no Apêndice A).

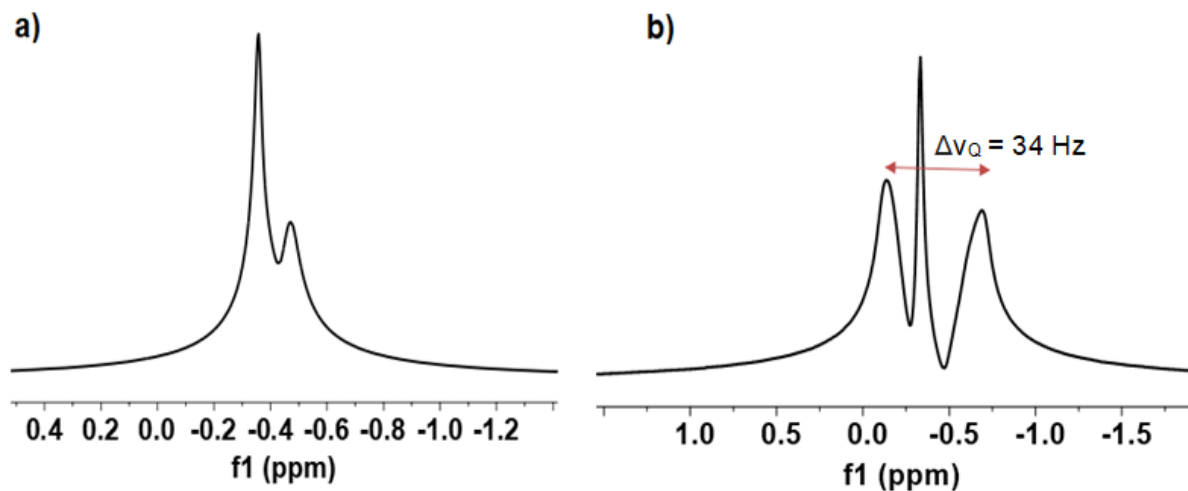
Figura 40 - Estrutura do 5-norbornen-2-ol com a identificação numérica dos carbonos.



Fonte: A autora (2023).

Foram realizados experimentos de RMN de ^2H . Os espectros foram medidos em duas condições distintas: a primeira com o gel no estado isotrópico (relaxado) (Figura 41a) e a segunda com o gel no estado comprimido (anisotrópico) (Figura 41b). Uma divisão de aproximadamente 34 Hz foi observada após a compressão do gel.

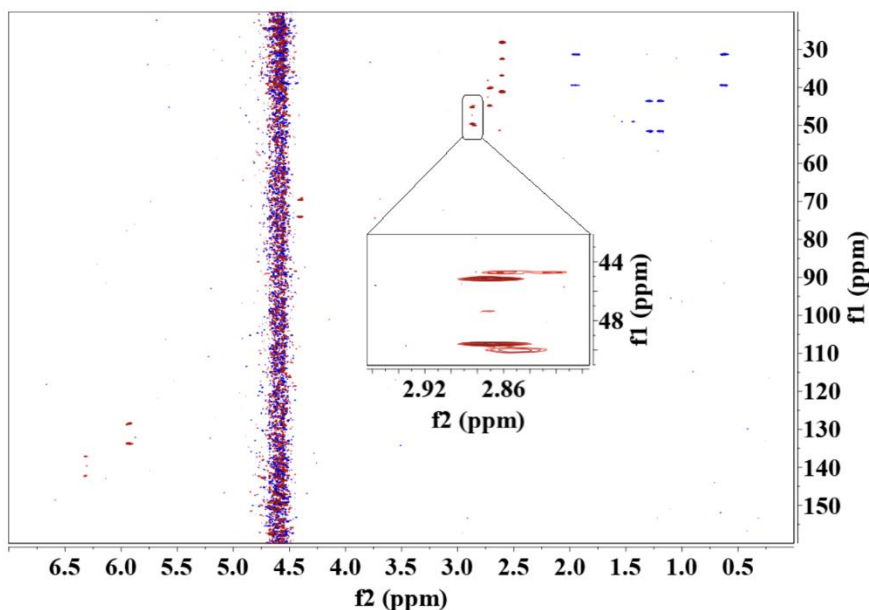
Figura 41 - Espectro de RMN de ^2H do gel de AMPS/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em D_2O .



Fonte: A autora (2023).

Exploramos a grande diferença de suscetibilidade magnética entre D_2O e o gel intumescido, com diferença no deslocamento químico de 0,03 ppm para medir os RDCs $^1D_{\text{CH}}$ em um único experimento no gel comprimido. Devido à diferença de suscetibilidade magnética, os valores de $^1D_{\text{CH}}$ RDCs foram obtidos utilizando apenas o espectro HSQC-F1 com o gel comprimido (Figura 42).

Figura 42- Espectro de HSQC acoplado em F1 do 5-norbornen-2-ol no gel AN/AMPS/D₂O comprimido.



Fonte: A autora (2023).

Foi possível extrair, dos espectros HSQC, todos os sete RDCs $^1D_{CH}$ pertencentes ao isômero endo principal, que variaram de -14,7 a 30,9 Hz (Tabela 11). Todos os dados de input estão disponíveis no Apêndice D 2. Ajustando esses RDCs à estrutura endo de 5-norbornen-2-ol, um fator $Q = 0,069$ foi obtido, enquanto que ajustá-los ao diastereoisômero exo resulta em um fator Q mais alto de 0,102.

Tabela 11 - Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) do 5-norbornen-2-ol e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos no gel AN/AMPS/D₂O.

Átomos	1H (ppm)	^{13}C (ppm)	$^1T_{CH}$ (Hz)	$^1J_{CH}$ (Hz)	$^1D_{CH}^a$ (Hz)
1-endo	2,7	42,5	168,8	149,3	19,5
2-endo	4,4	71,2	168,5	151,3	17,2
3-endo	2,0-0,6	35,4	137,6	134,1	3,5
4-endo	2,9	47,3	178,1	147,4	30,9
5-endo	6,3	139,7	195,8	169,5	26,3
6-endo	5,9	131,2	196,5	176,4	20,1
7-endo	1,3-1,2	47,7	120,4	135,1	-14,7

Fonte: A autora (2023).

Os resultados obtidos estão de acordo com os obtidos por Troche-Pesqueira usando o meio de alinhamento de cristais líquidos cromoglicato dissódico (TROCHE-

PESQUEIRA *et al.*, 2014). Vale a pena ressaltar que para uma molécula tão pequena como 5-norbornen-2-ol obtivemos RDCs tão grandes quanto 30 Hz, o que corresponde a uma ordem de grau generalizada (GDO) de $1,3 \times 10^{-3}$ ligeiramente maior do que $1,2 \times 10^{-3}$ valor obtido ajustando os valores de RDCs obtidos com o cromoglicato à mesma estrutura *endo* (KRAMER *et al.*, 2004).

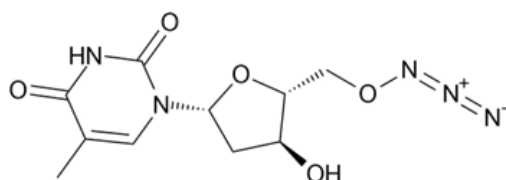
Para critério de comparação do grau de ordem obtido em outros meios de alinhamento usando géis compatíveis com água, o valor de $GDO = 1,4 \times 10^{-3}$ é obtido ajustando os dados relatados para cloridrato de estricnina relatados no gel à base de acrilomorfolina (FARLEY *et al.*, 2021), enquanto um valor de $GDO = 1,0 \times 10^{-3}$ foi relatado por Trigo-Mouriño em géis esticados de poliacrilamida-AMPS para *N*-metil codeína TRIGO-MOURIÑO *et al.*, 2012.

Com os resultados obtidos com 5-norbornen-2-ol é importante ressaltar que o gel de AN/AMPS parece ser uma boa alternativa para a análise de RDC de analitos muito pequenos, que às vezes podem ser problemáticos em géis poliméricos por causa de um alinhamento excessivamente fraco.

5.2.1.3 Azidotimidina (AZT)

O gel de AN/AMPS também foi testado como meio de alinhamento com a molécula de azidotimidina (AZT) (Figura 43).

Figura 43 - Estrutura Azidotimidina (AZT)

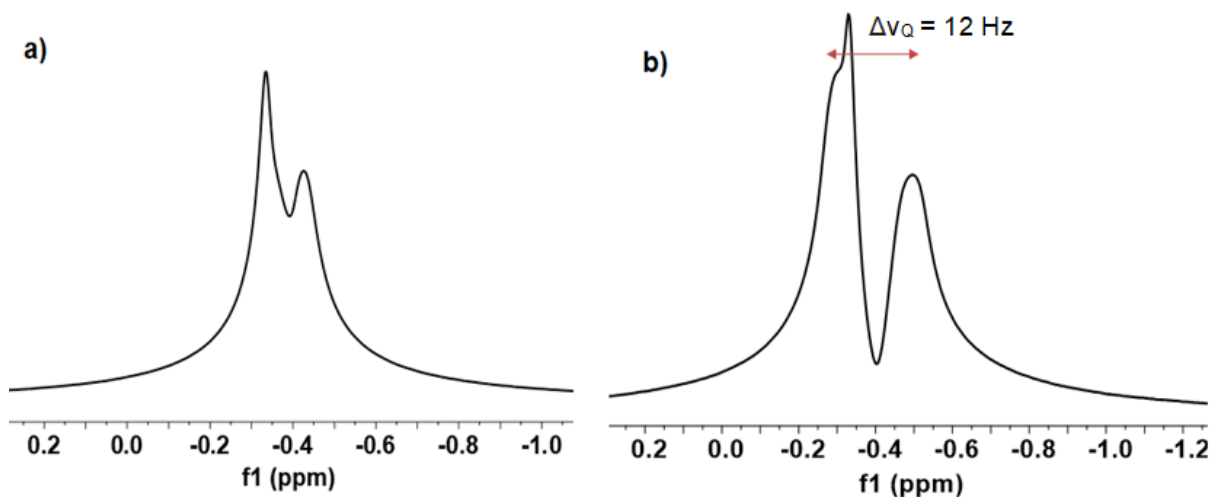


Fonte: A autora (2023).

Uma solução com 15 mg de AZT e 500 μL de D_2O foi preparada e inserida em um tubo de RMN junto com o gel. Primeiramente, o gel foi comprimido com o auxílio do aparelho de compressão e realizamos um experimento de ^2H , em que observamos um desdobramento de 12Hz (Figura 44). Notamos que o gel só pode ser comprimido em 0,3 cm. Curiosamente, no estado relaxado ou comprimido do gel, só pudemos diferenciar claramente os sinais provenientes do AZT na camada circundante

isotrópica de D₂O, enquanto sinais muito amplos foram observados para a molécula dentro do gel. Provavelmente, esse fenômeno é devido a uma forte interação entre a molécula e o gel. Por esse motivo não foi possível a extração de quaisquer valores de RDCs.

Figura 44 - Espectro de RMN de ²H do gel de AMPS/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em D₂O.

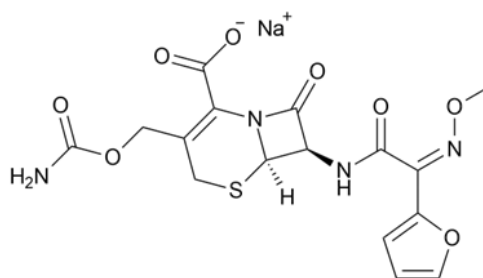


Fonte: A autora (2023).

5.2.1.4 Cefuroxima sódica

Como exemplo final, utilizamos a cefuroxima sódica (Figura 45), uma molécula iônica, para avaliarmos o comportamento do gel frente a moléculas não neutras.

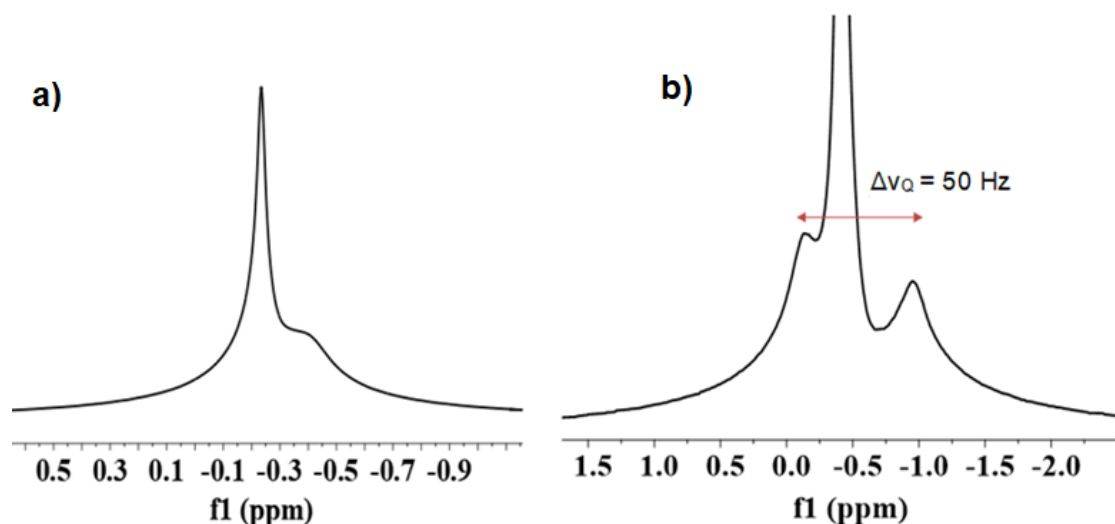
Figura 45 - Estrutura da cefuroxima sódica.



Fonte: A autora (2023).

Primeiramente, preparamos um tubo de RMN de 5 mm com uma solução contendo 8 mg cefuroxima em D₂O, observamos que o gel não intumescia bem e ao comprimi-lo, o gel apresentava uma curvatura bastante evidente (HELLEMAN *et al.*, 2016), provavelmente o sal de cefuroxima sódica estava causando a presença de pontes salinas (TRIGO-MOURIÑO *et al.*, 2012), dificultando o intumescimento do gel. Isso pode ser observado na Figura 46b, em que se nota uma quantidade muito grande de água isotrópica da camada de solvente ao redor do gel. Curiosamente, ao comprimir o gel e realizar o experimento de RMN de ²H, o espectro (Figura 46b) mostrou uma grande divisão quadrupolar de 50 Hz de D₂O dentro do gel. No espectro com o gel comprimido, a maior parte do sinal da cefuroxima correspondeu à parte dissolvida na camada isotrópica, sendo o sinal da fase anisotrópica muito fraco para permitir uma extração bem-sucedida dos RDCs. Assim, utilizando a molécula iônica de cefuroxima sódica não conseguimos extrair valores de RDCs.

Figura 46 - Espectro de RMN de ^2H do gel de AMPS/AN (a) relaxado (isotrópico) e (b) comprimido (anisotrópico) intumescido em D_2O .



Fonte: A autora (2023).

Diante do resultado obtido com a cefuroxima em que o gel não intumescceu bem, investigamos o intumescimento do gel frente a soluções salinas. Para analisar melhor como a presença de compostos de sal afeta o inchaço do gel, intumescemos vários pedaços de gel em soluções de NaCl, KCl e CaCl_2 0,1 M. Conforme observado na Tabela 12 nas soluções salinas o intumescimento do gel é reduzido de 40 (KCl) para 70% (CaCl_2) quando comparado com o intumescimento em água destilada. Isso significa que em soluções salinas o gel tende a intumescer pouco, porém com moléculas neutras gel apresenta resultados satisfatórios.

Tabela 12 - Influência do sal no inchaço do gel.

Solução (0,1M)	Comprimento (cm) ^a
H_2O	2,0
NaCl	1,5
KCl	1,6
CaCl_2	1,3

a) Os bastões de polímero originais possuem 1,0 cm de comprimento.

Fonte: A autora (2023).

O gel copolímero de AN/AMPS de alinhamento fraco compatível com água apresentou um bom grau de alinhamento no dissacarídeo sacarose e, mais

importante, valores de RDCs grandes e fáceis de medir em um analito tão pequeno como 5-norbornenol 2. No entanto, algumas limitações foram observadas em moléculas como AZT ou sal de cefuroxima sódica devido à forte interação desses analitos com o gel que impediu a extração de RDCs

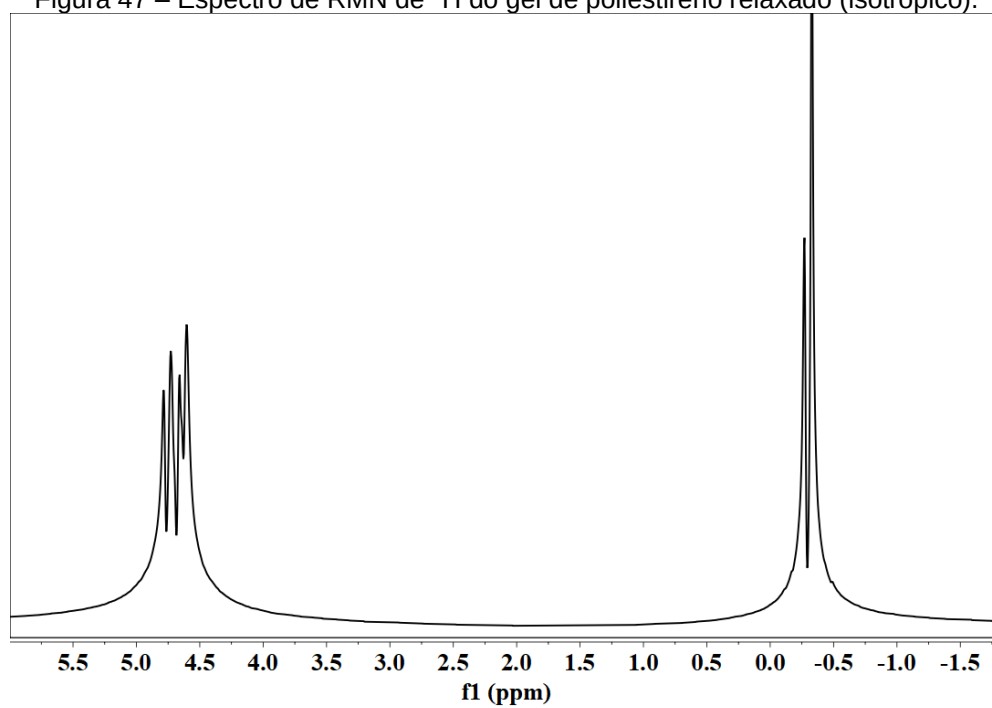
5.3 GEL DE POLIESTIRENO

Para a preparação do gel de poliestireno testamos a polimerização utilizando tolueno, dioxano e terc-butanol como solventes, porém o polímero formado apresentava muitas bolhas, problema que foi resolvido realizando a polimerização em dimetilformamida. Após encontrar o solvente adequado, testamos as seguintes quantidades do reticulante 1,4-bis(4-vinilfenoxi) butano 0,9; 1,1; 1,2; 1,3% molar em relação ao monômero. A melhor concentração de reticulante foi 1,3%, sendo que quantidades menores de reticulante resultavam em um intumescimento excessivo do gel que chegava a tocar as paredes do tubo de RMN e não era possível comprimi-lo. A polimerização ocorreu em tubos de RMN de 3 mm, selados por chama, com azobisisobutironitrila (AIBN) como iniciador radicalar. Após 24 horas, os tubos foram cuidadosamente quebrados e o bastão de gel cortado em pedaços de 2,5 cm. O gel foi testado quanto ao intumescimento nos solventes, dioxano, tetrahidrofurano, clorofórmio e tolueno e em todos esses solventes o gel intumescceu bem.

5.3.1 Aplicação do gel de poliestireno como meio de alinhamento

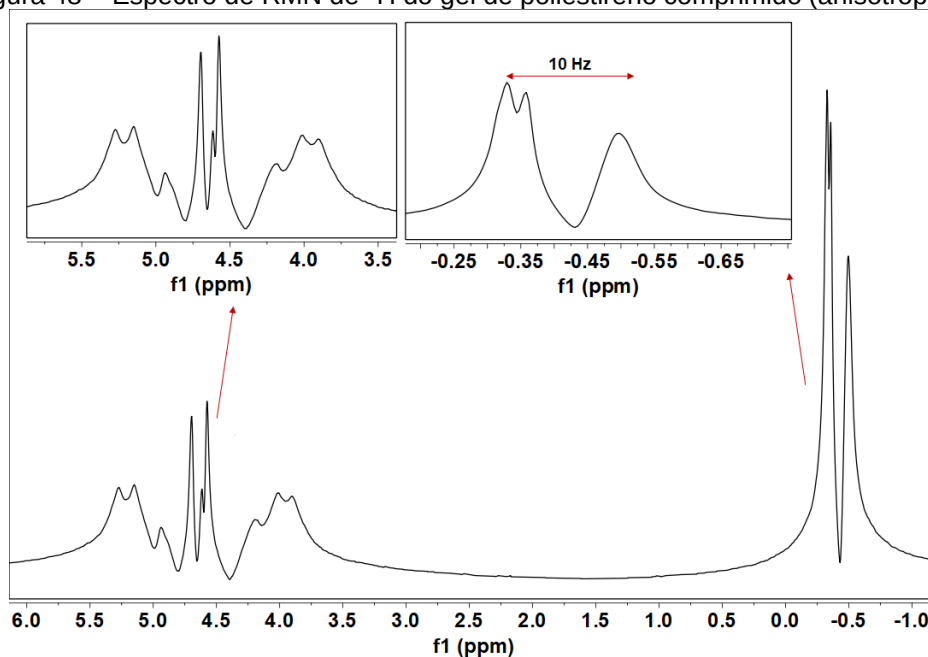
Após o gel lavado, este foi seco na bancada a temperatura ambiente e depois foi preparado um tubo de RMN com 15 mg de brucina e 600 μ L de tolueno- d_8 . Para a avaliação inicial do grau de alinhamento e homogeneidade do gel, foram realizados experimentos de RMN de ^2H . Os espectros foram medidos em duas condições distintas: a primeira com o gel no estado isotrópico (relaxado) (Figura 47) e a segunda com o gel no estado comprimido (anisotrópico) (Figura 48). Ao comprimir o gel foi observado um valor de divisão quadrupolar do sinal do tolueno- d_8 de 10 Hz como mostrado na Figura 48. O gel apresentou uma aparência física bastante homogênea e compressão reversível.

Figura 47 – Espectro de RMN de ^2H do gel de poliestireno relaxado (isotrópico).



Fonte: A autora (2023).

Figura 48 – Espectro de RMN de ^2H do gel de poliestireno comprimido (anisotrópico).



Fonte: A autora (2023).

5.3.1.1 Medidas dos RDCs da brucina no gel de poliestireno em tolueno

O desempenho do gel como meio de alinhamento foi testado com a molécula de brucina. Os RDCs $^1D_{\text{CH}}$ foram determinados como a diferença entre os acoplamentos medidos nos estados comprimido ($^1T_{\text{CH}}$) e relaxado ($^1J_{\text{CH}}$) do gel ($^1D_{\text{CH}} = ^1T_{\text{CH}} - ^1J_{\text{CH}}$). Os espectros HSQC-F1 obtidos foram bastante limpos com pouco ou nenhum sinal do polímero. Os espectros de HSQC-F1 estão disponíveis no apêndice A. Foi possível obter todos os valores de RDCs $^1D_{\text{CH}}$ da brucina, que apresentaram uma variação de -13,1 a 7,8 Hz (Tabela 13).

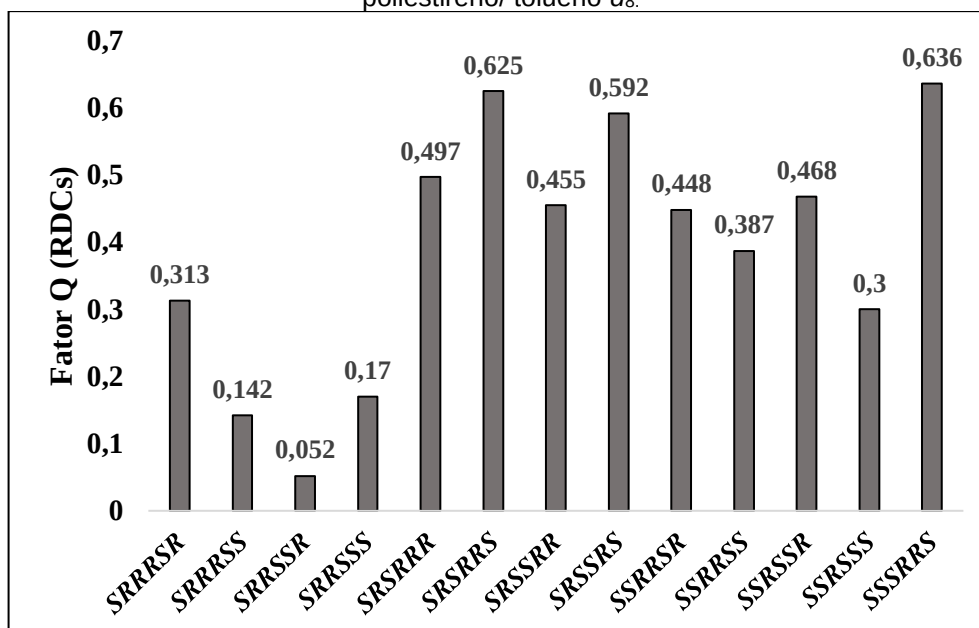
Tabela 13 - Constantes de acoplamento escalar ($^1J_{CH}$), acoplamento total ($^1T_{CH}$) da brucina e valores de RDC ($^1D_{CH}$) obtidos no gel poliestireno/tolueno- d_8 .

Índice do átomo de carbono	$^1T_{CH}$ (Hz)	$^1J_{CH}$ (Hz)	$^1D_{CH}$ (Hz)
1	163,5	155,8	7,7
4	172,5	165,7	6,8
8	138,4	145,5	-7,1
11	123,6	128,6	-5,0
12	136,1	149,2	-13,1
13	125,6	125,6	0,0
14	119,1	130,0	-10,9
15	132,8	130,1	2,7
16	154,4	146,6	7,8
17	130,9	132,0	-1,1
18	141,1	138,2	2,9
20	131,2	138,2	-7,0
22	162,8	159,4	3,4
23	134,4	140,7	-6,3
OMe-C2	141,2	143,3	-2,1
OMe-C3	141,6	143,9	-2,3

Fonte: A autora (2023).

Os valores de RDCs experimentais foram utilizados para estudar a configuração relativa da brucina, uma molécula já bem descrita na literatura. Para isso foi realizado o ajuste do SVD para a geometria otimizada das estruturas dos diferentes diastereoisômeros da brucina (Figura 29) no programa MSpin que forneceu um fator de qualidade $Q = 0,052$ para a configuração correta da brucina (*SRRSSR*), enquanto que a segunda melhor estrutura obteve um fator Q de 0,170 (Figura 49). Dessa forma, os RDCs medidos fornecem, boa discriminação para a configuração correta da brucina. Os arquivos de entrada para o programa MSpin estão disponíveis no Apêndice E 1.

Figura 49 - Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RDCs, no gel poliestireno/ tolueno- d_8 .



Fonte: A autora (2023).

5.3.1.2 Medidas dos RCSAs da brucina no gel de poliestireno em tolueno

Os valores de RCSAs foram obtidos comparando o deslocamento químico nos espectros de RMN de ^{13}C para o gel relaxado e comprimido. A referência interna que tomamos foi o sinal da metila do tolueno. A Tabela 14 apresenta os valores dos RCSAs experimentais e os valores referentes ao deslocamento químico da contribuição isotrópica ($\Delta\delta_{\text{isotrópicos}}$) medidos no gel relaxado. Os dados do arquivo de entrada contendo os valores de RCSAs experimentais estão disponíveis no Apêndice E 2.

O espectro de RMN de ^{13}C da brucina com o gel comprimido apresentou alguns sinais alargados. Do total de vinte e três sinais de carbonos disponíveis na molécula e brucina, oito ficaram alargados, e não foi possível realizar as medidas de RCSAs para esses sinais. Os quinze sinais de carbonos restantes foram suficientes para uma correta discriminação da configuração relativa da brucina como mostrado na Figura 50.

Tabela 14 - Deslocamento químico de ^{13}C da brucina, RCSA e $\Delta\delta_{\text{isotrópicos}}$ experimentalmente no gel de poliestireno/tolueno- d_8 .

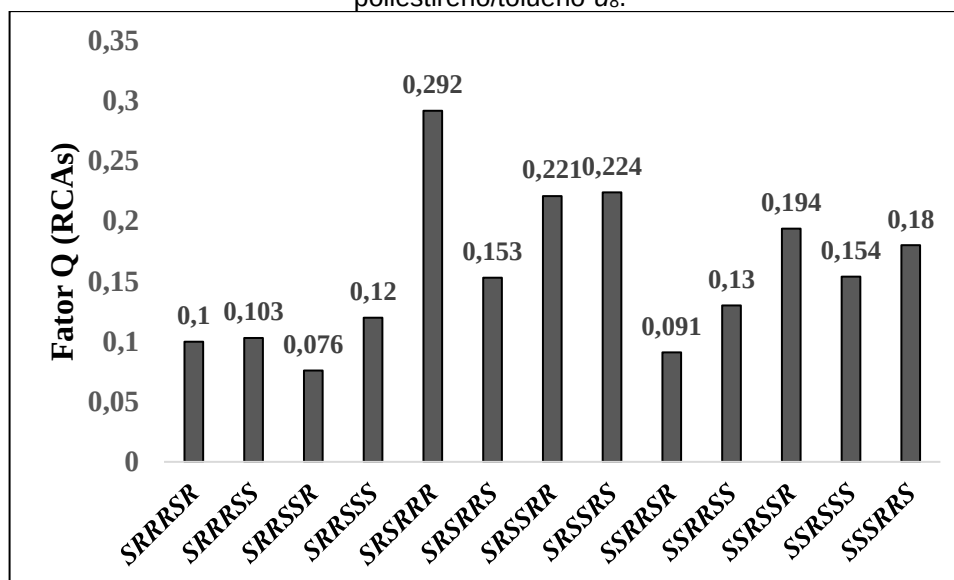
Átomo de Carbono	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	RCSA _{experimental} (ppm)	$\Delta\delta_{\text{isotrópico}}$ (ppm)
1	112,2	-0,068	0,120
2	151,7	-0,054	0,090
3	155,4	-0,061	0,102
4	106,9	ND	ND
5	142,4	-0,067	0,077
6	124,5	-0,068	0,094
7	56,7	-0,013	0,078
8	64,8	-0,015	0,071
10	173,2	-0,053	0,078
11	52,7	-0,010	0,066
12	82,8	0,013	0,096
13	47,3	ND	ND
14	45,7	ND	ND
15	36,5	-0,018	0,085
16	65,2	-0,011	0,073
17	31,6	ND	ND
18	57,6	ND	ND
20	55,1	-0,022	0,062
21	145,8	-0,043	0,094
22	131,4	-0,032	0,057
23	69,1	ND	ND
OMe-C2	60,4	ND	ND
OMe-C3	61,4	ND	ND

ND: Não determinado.

Fonte: A autora (2023).

Após o ajuste por SVD desses dados de RCSAs para a geometria otimizada das estruturas no programa MSpin forneceu um fator de qualidade $Q = 0,076$ para a configuração correta da brucina (*SRRSSR*) e um segundo menor valor foi $Q = 0,091$ foi obtido para a estrutura incorreta (*SSRRSR*) (Figura 50).

Figura 50 - Fatores Q para as trezes configurações da brucina usando dados de RCSAs, no gel poliestireno/tolueno- d_8 .



Fonte: A autora (2023).

O gel de poliestireno apresentou um resultado satisfatório quando empregado com a molécula teste brucina. Este novo meio de alinhamento compatível com tolueno contribui para a expansão dos meios de alinhamento como o único meio compatível com tolueno demonstrado na literatura. Outro trabalho com géis de poliestireno como meio de alinhamento empregou a metodologia de alongamento do gel e utilizaram clorofórmio como solvente não obtiveram resultados satisfatórios, tendo em vista que, os espectros apresentavam bastante sinais do polímero, além do mais o gel demorava longos períodos de tempos para equilibrar e para a da molécula de estudo difundir no gel (LUY *et al.*, 2004).

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6.1 CONCLUSÕES

Este trabalho apresentou três géis poliméricos aplicados como meio de alinhamento para a RMN de meios orientados. Os géis de DMA/AN polimerizado com 0,5% do reticulante apresentaram um grau de alinhamento adequado nos dois solventes empregados, acetonitrila e metanol. Nos testes iniciais com as moléculas de α -santonina e brucina foi possível atestar o bom comportamento destes géis como meio orientador para aquisição de RDCs. Os valores de RDCs para a α -santonina e brucina em acetonitrila variaram de -11,4 a 5,4 Hz e -9,9 a 23,0 respectivamente. Para a brucina em metanol os valores de RDCs variaram de -15,1 a 15,9 Hz. Os RCSAs de ^{13}C não foram muito precisos devido ao alargamento dos sinais. Além do mais, com os dados de RDCs, foi possível obter fatores de qualidade satisfatórios, que indicaram um ajuste em concordância dos dados experimentais e calculados, e com isso foi possível determinar a configuração relativa correta das moléculas testes.

O gel de AN/AMPS polimerizado com 0,05% do reticulante mostrou um grau de alinhamento adequado em meio aquoso, sendo possível sua utilização como meio orientador na RMN, demonstrados pelas análises com sacarose e 5-norbornen-2-ol, em que os valores de RDCs variaram de -8,0 a 11 Hz e -14,7 a 30,9 Hz, respectivamente. Os espectros de HSQC-F1 são muito limpos sem sinais de fundo e não houve sobreposição de sinais nos espectros, o que revela um resultado muito satisfatório. No entanto, foram observadas limitações importantes em moléculas para AZT, em que a forte interação da molécula com o gel causa grande alargamento dos sinais, ou sal de cefuroxima sódica, em que a natureza salina do analito impediu o inchamento bem-sucedido do gel.

O gel de poliestireno mostrou-se como um bom meio orientador para tolueno, o que foi comprovado com a molécula de brucina. Os valores de RDCs da molécula neste gel variaram de -13,1 a 7,8 Hz, além disso os valores de RCSAs mostraram resultados positivos, sendo possível a discriminação correta da configuração relativa da brucina utilizando tanto os dados de RDCs quanto de RCSAs.

6.2 PERSPECTIVAS

A partir dos resultados apresentados neste trabalho, ainda poderá ser possível de executar as seguintes propostas:

- Estudar os três tipos de géis desenvolvidos neste trabalho com novas moléculas orgânicas;
- Estudar os géis compatíveis com acetonitrila combinados com dados quirópticos para atribuição da configuração absoluta de moléculas testes;
- Avaliar os géis de poliestireno como meios orientadores à análise estrutural de compostos organometálicos e a sua aplicabilidade como meio de intumescimento para diferentes solventes orgânicos;
- Avaliar os géis de poliestireno como meios orientadores para a análise de compostos organolíticos e organomagnessianos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AAL SE, GAD, YH, DESSOUKI, AM. Use of rice straw and radiationmodified maize starch/acrylonitrile in the treatment of wastewater. **Journal of Hazardous Materials** 129(1):204–21, 2006.
- ADAMO, C. & BARONE, V. **The Journal of Chemical Physics**. 110, 6158. 1999.
- AKCELRUD, L.; “Fundamentos da ciência dos polímeros”, In: Ligações Cruzadas. **Manole**. São Paulo, 2007.
- ARNOLD, L., MARX, A., THIELE, C. M. & REGGELIN, M. Polyguanidines as chiral orienting media for organic compounds. **Chemistry - A European Journal**. 16, 10342–10346, 2010.
- AROULANDA, C., SARFATI, M., COURTIEU, J., and LESOT, P. Investigation of the enantioselectivity of three polypeptide liquid-crystalline solvents using NMR spectroscopy. **Enantiomer**, 6, 281–287, 2001.
- ATKINSON J, CLARKE M. W, WARNICA J. M, BODDINGTON K. F, GRAETHER S. P. Structure of an Intrinsically Disordered Stress Protein Alone and Bound to a Membrane Surface. **Biophysical Journal**. 9,111(3):480-491,2016.
- BHATTACHARYA, S. & SHUNMUGAM, R. Polymer based gels and their applications in remediation of dyes from textile effluents, **Journal of Macromolecular Science**, Part A. 57, 906-926, 2020.
- BIFULCO, G.; RICCIO, R.; MARTIN, G.E; BUEVICH, A.V.; WILLIAMSON, R.T. Quantum chemical calculations of ¹J(CC) coupling constants for the stereochemical determination of organic compounds. **Organic Letters** 15, pp. 654-657,2013.
- BOHIDAR, H.B., DUBIN, P., OSADA, Y. Polymer Gels, Fundamentals and Applications. **American Chemical Society**. 2003.
- BÖTTCHER, B.; THIELE, C. M. Determining the stereochemistry of molecules from residual dipolar couplings (RDCs). **eMagRes**. v. 1, n. 1, p. 169–180, 2012.
- BRAHIM, A. A; BAI, B.; and SCHUMAN, T. Comprehensive Review of Polymer and Polymer Gel Treatments for Natural Gas-Related Conformance Control. **Gels**, 8, 353, 2022.
- BRETON, R. C. & REYNOLDS, W. F. Using NMR to identify and characterize natural products. **Natural Product Reports**. 30, 501-524. 2013.
- BROWN, G.M. E LEVY, H.A. Further Refinement of the Structure of Sucrose Based on Neutron-Diffraction Data **Acta Crystallographica Section B**, v. 29, 790 – 797, 1973.

BROWN, S. P. & EMSLEY, L. Solid-State NMR. Em Handbook of Spectroscopy. v.1. p. 272, eds. G. Gauglitz & T. Vo-Dinh. **WILEY-VCH**, 2003.

BUEVICH, A. V. AND ELYASHBERG, Synergistic Combination of CASE Algorithms and DFT Chemical Shift Predictions: A Powerful Approach for Structure Elucidation, Verification and Revision. **Journal of Natural Products**. 79, 12, 3105-3116, 2016.

BURNS, D. C.; REYNOLDS, W. F. Minimizing the risk of deducing wrong natural product structures from NMR data. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 59, p. 500–533, 2019.

CANET, I.; COURTIEU, J.; LOEWENSTEIN, A.; MEDDOUR, A.; PÉCHINÉ, J.-M., Enantiomeric analysis in a polypeptide lyotropic liquid crystal by deuterium NMR. **Journal of the American Chemical Society**. 117, 6520–6526, 1995.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. *Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros*. 2. ed. rev. e amp. São Paulo: **Artliber Editora**, 2006.

CARVALHO, D. S.; SILVA, D. G. B.; HALLWASS, F.; NAVARRO- VÁZQUEZ, A. Chemically cross-linked polyacrylonitrile. A DMSO compatible NMR alignment medium for measurement of residual dipolar couplings and residual chemical shift anisotropies **Journal of Magnetic Resonance**, v.302, 21-27. 2019.

CHOU, J. et al. A simple apparatus for generating stretched polyacrylamide gels, yielding uniform alignment of proteins and detergent micelles. **Journal of Biomolecular NMR** 21, 377–382, 2001.

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.

COLEMAN, P. C.; COUCOURAKIS, E. D.; PRETORIUS, J. A. Crystal structure of retrorsine **South African Journal of Chemistry** 33, 116, 1980.

CORNILESCU, G., MARQUARDT, J. L., OTTIGER, M. & BAX, A. Validation of protein structure from anisotropic carbonyl chemical shifts in a dilute liquid crystalline phase. **Journal of the American Chemical Society** . 120, 6836–6837, 1998.

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.

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.

COXON, B. Developments in the Karplus equation as they relate to the NMR coupling constants of carbohydrates. In: **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**. V. 62, 17-82. 2009.

CUSSLER, E. L.; WANG, K. L.; BURBAN, J. H. "Hydrogels as Separation Agents". In: **Advances in Polymer Science**. Responsive Gels: Volume Transitions II, p. 67. Editora Springer-Verlag, 1993.

CZARNIECKA, K. & SAMULSKI, E. T. "Polypeptide Liquid Crystals: A Deuterium NMR Study", **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, 63, 205–214. 1981.

DECHO, A.W. Imaging an alginate polymer gel matrix using atomic force microscopy. **Carbohydrate Research**, v. 315, 330–333, 1999.

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.

FACELLI, J. C. & BARFIEL, M. The importance of multicenter integrals in semiempirical calculations of nuclear spin-spin coupling constants. 2. Anisotropic coupling, **Journal of Magnetic Resonance** v. 59, p. 452-468, 1984.

FARLEY, K. A.; KOOS, M. R. M.; CHE, Y.; HORST, R.; LIMBERAKIS, C.; BELLENGER, J.; LIRA, R.; GIL-SILVA, L. F.; GIL, R. R. Cross-Linked Poly-4-Acrylomorpholine: A Flexible and Reversibly Compressible Aligning Gel for Anisotropic NMR Analysis of Peptides and Small Molecules in Water. **Angewandte Chemie**, v.133, 26518-26523, 2021.

FRANÇA, J. A. A.; NAVARRO-VÁZQUEZ, A.; LEI, X.; SUN, H.; GRIESINGER, C.; HALLWASS, F. Complete NMR assignment and conformational analysis of 17- α -ethinyloestradiol by using RDCs obtained in grafted graphene oxide. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 55, p. 297-303, 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.

FLORY, P. J. Principles of Polymer Chemistry. Cornell University Press. Ithaca, 1953.

FLORY, P.; REHNER Jr. J., Statistical Mechanics of Cross-Linked Polymer Networks II Swelling, **The Journal of Chemical Physics**, v.11, p. 521-526, 1943.

FURRER, J., JOHN, M., KESSLER, H. & LUY, B. J-Spectroscopy in the presence of residual dipolar couplings: Determination of one-bond coupling constants and scalable resolution. **Journal of Biomolecular NMR**, 37, 231–243 2007.

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, 2016.

GAUSSIAN 09, Revisão B.01, MJ Frisch, et al. Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2016.

GAYATHRI, C.; LA FUENTE, M. C.; LUY, B.; GIL, R. R.; NAVARRO-VAZQUEZ, A. 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.

GE, H.-M.; SUN, H.; JIANG, N.; QIN, Y.-H.; DOU, H.; YAN, T.; HOU, Y.-Y.; GRIESINGER, C.; TAN, R.-X. Relative and Absolute Configuration of Vatiparol (1 mg): A Novel Anti-inflammatory Polyphenol. **Chemistry - A European Journal** 18, 5213– 5221, 2012.

GIL, R. R. Residual Dipolar Couplings in Small-Molecule NMR: Em **Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry**. Third Edition, 2017.

GIL, R. R., GAYATHRI, C., TSAREVSKY, N. V. & MATYJASZEWSKI, K. 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., GRIESINGER, C., NAVARRO-VÁZQUEZ, A. & SUN, H. Structural Elucidation of Small Organic Molecules Assisted by NMR in Aligned Media. in **Structure Elucidation in Organic Chemistry: The Search for the Right Tools** 279–323, 2015.

GIL, R. R. & NAVARRO-VÁZQUEZ, A. Application of the nuclear overhauser effect to the structural elucidation of natural products. Em *modern NMR approaches to the structure elucidation of natural products: Volume 2: Data Acquisition and Applications to Compound Classes* (eds. Williams, A., Martin, G. & Rovnyak, D.) (**Royal Society of Chemistry**, 2017).

GIL-SILVA, L. F. SANTAMARÍA-FERNÁNDEZ, R., NAVARRO-VÁZQUEZ, A. & Gil, R. R. Collection of NMR Scalar and Residual Dipolar Couplings Using a Single Experiment. **Chemistry - A European Journal**, v. 22, n. 2, p. 472–476, 2016.

GRIMBLAT, N.; ZANARDI, M. M.; SAROTTI, A. M. Beyond DP4: an Improved Probability for the Stereochemical Assignment of Isomeric Compounds using Quantum Chemical Calculations of NMR Shifts. **The Journal of Organic Chemistry**. 80, 12526–12534, 2015.

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.

HAN, Y.; XU, Z.; GAO, C. Ultrathin graphene nanofiltration membrane for water purification. **Advanced Functional Materials**. 23, 3693–3700, 2013.

HAUBENREISSER, U.; STERNBERG, U.; GRIMMER, A-R. High-field ^{31}P N.M.R. investigations of the chemical shielding and indirect dipolar coupling of polycrystalline fluorophosphates, **Molecular Physics** v. 60, n. 1, 151-163, 1987.

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.

HOU, G.; PARAMASIVAM, S.; BYEON, IN-JA L.; GRONENBORN, A. M. AND POLENOVA, T. Determination of relative tensor orientations by γ -encoded chemical shift anisotropy/heteronuclear dipolar coupling 3D NMR spectroscopy in biological solids. **Physical Chemistry Chemical Physics**. 12, 14873-14883, 2010.

HOU, N.; WANG, R.; GENG, R., WANG, F.; JIAO, T.; ZHANG, L.; ZHOU, J. BAI, Z. AND PEN, Q. Facile preparation of self-assembled hydrogels constructed from polycyclodextrin and poly-adamantane as highly selective adsorbents for wastewater treatment. **Soft Matter**, 15, 6097–6106, 2019.

HSU, T.; COHEN, C. Observations on the structure of a polyacrylamide gel from electron micrographs. **Polymer**. v, 25, 1419-1423, 1984.

IKENNA E. NDUKWE, XIAO WANG, ISTVÁN PELCZER, MIKHAIL REIBARKH, R. THOMAS WILLIAMSON, YIZHOU LIU, GARY E. MARTIN. PBLG as a versatile liquid crystalline medium for anisotropic NMR data acquisition. **Chemical Communications**. 55 (30), 4327-4330, 2019.

IMMEL, S. & LICHTENTHALER F. W. The conformation of sucrose in water: A molecular dynamics approach. **Liebigs Annalen**. 1925-1937, 1995.

KNOLL, K.; HEROLD, D.; HIRSCHMANN, M.; THIELE, C.M. A supramolecular and liquid crystalline water-based alignment medium based on azobenzene-substituted 1,3,5-benzenetricarboxamides **Magnetic Resonance in Chemistry**, 60, 563–571, 2022.

KRAMER, F.; DESHMUKH, M. V.; KESSLER, H.; GLASER, S. J. 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.

KRUPP, A. & REGGELIN, M. Phenylalanine-based polyarylacetylenes as enantiomer-differentiating alignment media. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 50, S45–S52, 2012.

KRUPP, A.; NOLL, M.; REGGELIN, M. Valine derived poly (acetylenes) as versatile chiral lyotropic liquid crystalline alignment media for RDC-based structure elucidations. **Magnetic Resonance in Chemistry**, 1-10, 2020.

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.; KNÖR, S.; FRANK, AO; PAULULAT, T; KESSLER, H.; LUY, B. Deuterated polymer gels for measuring anisotropic NMR parameters with strongly reduced artefacts. **Chemical Communications**, 44, 5722 -5724, 2008.

KUMMERLOWE, G; HALBACH, F.; LAUFER, B. AND LUY, BURKHARD. Precise Measurement of RDCs in Water and DMSO Based Gels Using a Silicone Rubber Tube for Tunable Stretching. **The Open Spectroscopy Journal**, 2, 29-33, 2008.

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.

KUTATELADZE, A. G.; MUKHINA, O. A. Minimalist Relativistic Force Field: Prediction of Proton–Proton Coupling Constants in ^1H NMR Spectra Is Perfected with NBO Hybridization Parameters **The Journal of Organic Chemistry**.79, 8397–8406, 2014.

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.

LEE Y, JANG A, JEONG MC, PARK N, PARK J, LEE WC, CHEONG C, KIM Y. Structural Characterization of an ACP from *Thermotoga maritima*: Insights into Hyperthermal Adaptation. **International Journal of Molecular Sciences**. 9;21(7):2600, 2020.

LEI, X.; XU, Z.; SUN, H.; WANG, S.; GRIESINGER, C.; PENG, L.; GAO, C.; TAN, R.X. Graphene oxide liquid crystals as a versatile and tunable alignment medium for the measurement of residual dipolar couplings in organic solvents. **Journal of the American Chemical Society**. 13;136(32):11280-3, 2014.

LEI, X.; QIU, F.; SUN, H.; BAI, L.; WANG, W. X; XIANG, W.; XIAO, H. A Self-Assembled Oligopeptide as a Versatile NMR Alignment Medium for the Measurement of Residual Dipolar Couplings in Methanol. **Angewandte Chemie - International Edition**. 9;56(42):12857-12861, 2017.

LEI, X. et al. Measurement of Residual Dipolar Couplings of Organic Molecules in Multiple Solvent Systems using a Liquid Crystalline based Medium. **Angewandte Chemie**, v. 132, p. 17245 –17251, 2020.

LEI, X. et al. Ti₃C₂T_x MXene Liquid Crystal: Access to Create Background-Free and Easy-Made Alignment Medium. **ACS Nano**, v. 16, n. 4, p. 5454–5462, 2022.

LESOT, P.; GOUNELLE, Y.; MERLET, D.; LOEWENSTEIN, A.; COURTIEU, J. Measurement and analysis of the molecular ordering tensors of two enantiomers oriented in a polypeptide liquid crystalline system. **The Journal of Physical Chemistry A**. 99, 14871– 14875, 1995.

LESOT, P.; MERLET, D.; COURTIEU, J.; EMSLEY, J.W., Discrimination and analysis of the NMR spectra of enantiomers dissolved in chiral liquid crystal solvents through 2D correlation spectroscopy. **Liquid Crystals**. 427–435, 21, 1996.

LESOT, P.; MERLET, D.; LOEWENSTEIN, A., COURTIEU, J. Enantiomeric visualisation using proton-decoupled natural abundance deuterium NMR in poly(cbenzyl-L-glutamate) liquid crystalline solutions, **Tetrahedron Asymmetry** 9, 1871–1881, 1998.

LESOT, P.; BERDAGUÉ, P.; MEDDOUR, A.; KREITER, A.; NOLL, M.; REGGELIN, M. ²H and ¹³C NMR-Based Enantiodetection Using Polyacetylene versus Polypeptide Aligning Media: Versatile and Complementary Tools for Chemists. **Chempluschem**. 84(2):144-153, 2019.

LEVITT, M. H. Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance, 2nd edition, 2008.

LI, G-W; LIU, H.; QIU, F.; WANG, X-J; LEI, X-X. Residual Dipolar Couplings in Structure Determination of Natural Products. **Natural Products and Bioprospecting**. 8, 279–295. 2018.

LI, X. L.; CHI, L. P.; NAVARRO-VÁZQUEZ, A., HWANG, S.; SCHMIEDER, P.; LI, X.; LI, X.; YANG, S. Q.; LEI, X.; WANG, B. G.; SUN, H. Stereochemical Elucidation of Natural Products from Residual Chemical Shift Anisotropies in a Liquid Crystalline Phase. **Journal of the American Chemical Society**. 142, 5, 2301–2309, 2020.

LIGPREP. Schrödinger Release 2018-4: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, 2018.

LIU, R.; OPPERMANN, W. Spatial Inhomogeneities of Polystyrene Gels Prepared from Semidilute Solutions. **Macromolecules**, 39, 4159 – 4167, 2006.

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.

LIU, Y.; SAURÍ, J.; MEVERS, E.; PECZUH, M. W.; HIEMSTRA, H.; CLARDY J.; MARTIN, G. E.; WILLIAMSON, R. T. Unequivocal determination of complex molecular structures using anisotropic NMR measurements. **Science**, v. 356, n. 6333, 2017.

LIU, Y.; COHEN, R. D.; MARTIN, G. E.; WILLIAMSON, R. T. A practical strategy for the accurate measurement of residual dipolar couplings in strongly aligned small molecules. **Journal of Magnetic Resonance**. 291, 63. 2018.

LIU, Y.; COHEN, R. D.; GUSTAFSON, K. R.; MARTIN, G. E.; WILLIAMSON, R. T. Enhanced measurement of residual chemical shift anisotropy for small molecule structure elucidation. **Chemical Communications**. 54, 4254–4257, 2018a.

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, 2019.

LODEWYK, M. W.; SIEBERT, M. R.; TANTILLO, D. J. Computational Prediction of ^1H and ^{13}C Chemical Shifts: A Useful Tool for Natural Product, Mechanistic, and Synthetic. Organic Chemistry. **Chemical Reviews**. 112, 1839–1862, 2012.

LODEWYK, M. W.; SOLDI, C.; JONES, P. B.; OLMSTEAD, M. M.; RITA, J.; SHAW, J. T.; TANTILLO, D. J. The correct structure of aquatolide-experimental validation of a theoretically-predicted structural revision. **Journal of the American Chemical Society** 13, 18550 – 18553, 2012.

LORENZO, F. D. e SEIFFERT, S. Nanostructural heterogeneity in polymer networks and gels. **Polymer Chemistry**, v. 6, 5515-5528, 2015.

LOSONCZI, J. A., ANDREC, M., FISCHER, M. W. & PRESTEGARD, J. H. Order Matrix Analysis of Residual Dipolar Couplings Using Singular Value Decomposition. **Journal of Magnetic Resonance** 138, 334–342, 1999.

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.

LUY, B.; KESSLER H. Partial Alignment for Structure Determination of Organic Molecules. In: **Springer International Publishing, Modern Magnetic Resonance**. 1279–1285, 2008.

MA, Z.-K.; HAN, X.-Y.; LIU, H.; JI, J.-C.; QIN, S.-Y.; LI, X.-D.; LEI, X. Lyotropic liquid crystal to measure residual dipolar couplings in dimethyl sulfoxide based on modified cellulose nanocrystals. **New Journal of Chemistry**. 44, 4262-4265, 2020.

MACHADO, A. C. S. D. V. Síntese e caracterização de oligômeros termossensíveis com grupos terminais reativos via polimerização radicalar controlada. 2012. 188f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

MACROMODEL. Schrödinger Release 2018-4: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, 2018.

MAHDAVINIA, G. R.; POURJAVADI, A.; HOSSEINZADEH, H.; ZOHURIAAN, M. J. Modified chitosan 4. Superabsorbent hydrogels from poly(acrylic) acid-co-acrylamide grafted chitosan with salt- and pH-responsiveness properties. **European Polymer Journal**, 40, 1399-1407. 2004.

MANGONI, A.; ESPOSITO, V.; RANDAZZO, A. Configuration assignment in small organic molecules *via* residual dipolar couplings. **Chemical Communications**.154-155. 2003.

MANO, E. B.; MENDES, L. C. Introdução a polímeros. 2. ed. rev. e aum. São Paulo: Edgard Blücher, 2004.

MARTÍN-PASTOR M.; CANALES, A., C. FRANCISCO; ASENSIO, J. L.; JIMÉNEZ-BARBERO, J. Limited Flexibility of Lactose Detected from Residual Dipolar Couplings Using Molecular Dynamics Simulations and Steric Alignment Methods, **Journal of the American Chemical Society** 127, 3589-3595. 2005.

MARX, A. & THIELE, C. “Orientational properties of poly-gamma-benzyl-L-glutamate: influence of molecular weight and solvent on order parameters of the solute”, **Chemistry - A European Journal**, 15, 254–260, 2009.

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.

MEYER, N.; KRUPP, C. A., Schmidts V., Thiele, C. M. Reggelin, M. “Polyacetylenes as Enantiodifferentiating Alignment Media”. **Angewandte Chemie International Edition**. 124, 8459–8463, 2012.

MILANOWSKI, D. J.; GUSTAFSON, K. R.; KELLEY, J. A; MCMAHON, J. B. Caulibugulones A–F, Novel Cytotoxic Isoquinoline Quinones and Iminoquinones from the Marine Bryozoan Caulibugula intermis. **Journal of Natural Products**. V. 67, 70–73. 2004.

MILANOWSKI, D. J.; OKU, N.; CARTNER, L. K.; BOKESCH, H. R. ; WILLIAMSON, R. T.; SAUR'I, J.; LIU, Y.. BLINOV, K. A ; DING, Y. ; LI, X.-C.; FERREIRA, D.; WALKER, L. A.; KHAN, S. ; DAVIESCOLEMAN, M. T.; KELLEY, J. A.; MCMAHON, J. B.; MARTIN, G. E. AND GUSTAFSON, K. R. Unequivocal determination of caulamidines A and B: application and validation of new tools in the structure elucidation tool box. **Chemical Science**, 9, 307–314, 2018.

MONTAG, C. M. THIELE. Cross-Linked Helically Chiral Poly-(γ -benzyl-L-glutamate) as Enantiodiscriminating Alignment Medium. **Chemistry - A European Journal**, 19, 2271-2274, 2013.

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., R. Gil, R. & Blinov, K. Computer-Assisted 3D Structure Elucidation (CASE-3D) of Natural Products Combining Isotropic and Anisotropic NMR Parameters. **Journal of Natural Products** 81, 2018.

NAVARRO-VÁZQUEZ, A. A DFT/machine-learning hybrid method for the prediction of $^3\text{J}_{\text{HCCH}}$ couplings. **Magnetic Resonance in Chemistry**. 1–9, 2020.

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.

NATH, N. FUENTES-MONTEVERDE, J.C., PECH-PUCH, D *et al.* Relative configuration of micrograms of natural compounds using proton residual chemical shift anisotropy. **Nature communications**, 11, 4372, 2020.

NDUKWE, I. E.; LAM; Y-HONG; PANDEY, S. K; HAUG, B. E.; BAYER, A.; SHERER, E. C; A. B. KIRILL, WILLIAMSON, T. R. ISAKSSON, J. REIBARKH, M.; LIU, Y. AND MARTIN G. E. Unequivocal structure confirmation of a breitfussin analog by anisotropic NMR measurements, **Chemical Science**, 11, 2081–12088, 2020.

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

NEUHAUS, D. Nuclear Overhauser Effect, Wiley-on-Line Library, 2011.

New Era Enterprise. Inc. Vineland, NJ, USA. Disponível em: <https://newera-spectro.com/compression-gel-device>. Acesso em: 05 mar.21.

NICOLAU, K. C. & SNYDER, S. A. Chasing molecules that were never there: misassigned natural products and the role of chemical synthesis in modern structure elucidation. **Angewandte Chemie - International Edition**. 44, 1012–1044 2005.

OSADA, Y.; KAJIWARA, K.; TANAKA, T.; ISHIDA, H., **Gels handbook**; Elsevier Science & Technology: Amsterdam, 2000.

PANYUKOV, S. & RABIN, Y. Polymer gels: frozen inhomogeneities and density fluctuations. **Macromolecules** 29, 7960–7975, 1996.

PETROVIC, A. G; NAVARRO-VÁZQUEZ, A.; ALONSO-GÓMEZ, J. L. From Relative to Absolute Configuration of Complex Natural Products: Interplay Between NMR, ECD, VCD, and ORD Assisted by *ab initio* Calculations **Current Organic Chemistry**, 14, 1612-1628, 2010.

QIN, S.-Y.; JIANG, Y.; SUN, H.; LIU, H.; ZHANG, A.-Q.; LEI, X. Measurement of Residual Dipolar Couplings of Organic Molecules in Multiple Solvent Systems Using a Liquid-Crystalline-Based Medium. **Angewandte Chemie - International Edition**. 59, 17097, 2020.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMOS, J. E. "*Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*". **Editora Academic Press**, 1996.

RECCHIA, M. J. J.; COHEN, R. D.; LIU, Y.; SHERER, E. C., HARPER, J. K.; MARTIN, G. E.; WILLIAMSON, R. T. "One-Shot" Measurement of Residual Chemical Shift Anisotropy Using Poly- γ -benzyl-L-glutamate as an Alignment Medium. **Organic Letters**, 22, 8850, 2020.

ROGOVINA, L.Z.; VASIL'EV, V.G.; BRAUDO, E.E. Definition of the concept of polymer gel. **Polymer Science Series C**. 50, 85. 2008.

ROZADA, T. C.; PONTES, R. M.; RITTNERB, R.; BASSO, E. A. Stereoelectronic effects of the glycosidic linkage on the conformational preference of D-sucrose. **RSC Advances**. 6, 112806–112812, 2016.

SANCHEZ-PEDREGAL, V.M., SANTAMARIA-FERNÁNDEZ, R., and NAVARRO-VÁZQUEZ, A. Residual dipolar couplings of freely rotating groups in small molecules. Stereochemical assignment and side-chain conformation of 8-phenylmenthol. **Organic Letters** , 11, 1471–1474, 2009.

SAN FELICIANO, A.; MERDARDE, M.; DEL CORRAL, J. M. M.; ARAMBURU, A.; GORDALIZA, M.; BARRERO, AF. Aquatolide. Um novo tipo de lactona sesquiterpênica relacionada ao humulano. **Tetrahedron Letters**. 30, 2851-2854, 1989.

SARFATI, M.; LESOT, P.; MERLET, D.; COURTIEU, J. Theoretical and experimental aspects of enantiomeric differentiation using natural abundance multinuclear NMR spectroscopy in chiral polypeptide liquid crystals, **Chemical Communications**. 2069–208. 2000.

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

SASS, H. J., MUSCO, G., J. STAHL, S., T. WINGFIELD, P. & GRZESIEK, S. Solution NMR of proteins within polyacrylamide gels: Diffusional properties and residual alignment by mechanical stress or embedding of oriented purple membranes. **Journal of Biomolecular NMR**. 18, 303–309, 2000.

SCHMIDTS, V. Perspectives in the Application of Residual Dipolar Couplings in the Structure Elucidation of Weakly Aligned Small Molecules. **Magnetic Resonance in Chemistry**. 55, 54-60, 2017.

SHORTLE, D. & ACKERMAN, M.S. Persistence of Native-Like Topology in a Denatured Protein in 8 M Urea **Science**, 293, 487–489, 2001.

SILVA, D.G.B; HALLWASS, F; NAVARRO-VÁZQUEZ A. Single experimente measurement of residual dipolar couplings in aqueous solution using a biphasic bisperylene imide chromonic liquid crystal. **Magnetic Resonance in Chemistry**. 1–6. 2020.

SOUSA, C. M. M. Síntese e aplicação de fases cromônicas usadas na elucidação estrutural de pequenas moléculas orgânicas em rmn. 2019. 187f. Tese (Doutorado em Ciência de Materiais) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

StereoFitter 1.0, MestreLab Research SL, Santiago de Compostela.

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.

SUZUKI, A., YAMAZAKI, M.; KOBKI, Y. Direct observation of polymer gel surfaces by atomic force microscopy **The Journal of Chemical Physics**, v. 104, 1751–1757, 1996.

SZWARC, M., LEVY, M., MILKOVICH, R. M., **Journal American Chemistry Society**., 78, 2656, 1956.

TAVAKOLI J, TANG Y. Hydrogel Based Sensors for Biomedical Applications: An Updated Review. **Polymers (Basel)**, 9:364, 2017.

TELES, R. R., FRANÇA, J. A. A., Navarro-Vázquez, A. & Hallwass, F. Atribuição da Estereoquímica da α -Santonina Através das Medidas do Acoplamento Dipolar Residual. **Química Nova**. 38, 1345–1350 2015.

THIELE, C. M; BERGER, S. Probing the Diastereotopicity of Methylene Protons in Strychnine Using Residual Dipolar Couplings. **Organic Letters**. 5, 705-708, 2003.

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**. 34, p. 5673–5685, 2008.

TRIGO-MOURIÑO, P; NAVARRO-VÁZQUEZ, A.; SÁNCHEZ-PEDREGAL, V. M. Influence of solvent and salt concentration on the alignment properties of acrylamide copolymer gels for the measurement of RDC. **Magnetic Resonance in Chemistry**. 50, S29–37, 2012.

TRIGO-MOURIÑO, P., MERLE, C., KOOS, M. R. M., LUY, B. & Gil, R. R. Probing spatial distribution of alignment by deuterium NMR imaging. **Chemistry- A European Journal**, 19, 7013–7019, 2013.

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.

TROCHE-PESQUEIRA, E., Anklin, C., Gil, R. R. & Navarro-Vázquez, A. Computer-Assisted 3D Structure Elucidation of Natural Products using Residual Dipolar Couplings. **Angewandte Chemie - International Edition**. 56, 3660–3664, 2017.

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. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 38, p. 9340–9341, 2000.

VENABLE, R. M.; DELAGLIO, F.; NORRIS, S. E.; FREEDBERG, D. I., The utility of residual dipolar couplings in detecting motion in carbohydrates: application to sucrose. **Carbohydrate Research**, v. 340, 863, 2005.

VERDIER, L.; SAKHAI, P.; ZWECKSTETTER, M.; GRIESINGER, C. 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**. 163 (2), 353–359, 2003.

WILLOUGHBY, P., JANSMA, M. & HOYE, T. A guide to small-molecule structure assignment through computation of (^1H and ^{13}C) NMR chemical shifts. **Nature Protocols**. 9, 643–660, 2014.

WU, J.Y.; LIU, S.Q.; HENG, P. W.S.; YANG, Y.Y. “Evaluating Proteins Release from, and Their Interactions with, Thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide) Hydrogels”. **Journal of Controlled Release**, 102, 361-372, 2005.

YAMADA, B. & ZETTERLUND, P.B. General Chemistry of Radical Polymerization. Em: **Handbook of Radical Polymerization**. John Wiley & Sons, Inc. 2002.

YAN, J., DELAGLIO, F., KAERNER, A., KLINE, A. D., MO, H., SHAPIRO, M. J., SMITKA, T. A., STEPHENSON, G. A., and ZARTLER, E. R. Complete relative stereochemistry of multiple stereocenters using only residual dipolar couplings. **Journal of the American Chemical Society** .126, 5008–5017. 2004.

YIN, L.; FEI, L.; CUI, F.; TANG, C.; YIN, C. Superporous hydrogels containing poly(acrylic acid-co-acrylamide)/O-carboxymethyl chitosan interpenetrating polymer networks. **Biomaterials**,v. 28, 1258–1266, 2007.

YU, B. et al. More accurate $^1J_{\text{CH}}$ coupling measurement in the presence of $^3J_{\text{-HH}}$ strong coupling in natural abundance. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 215, p. 10–22, 2012.

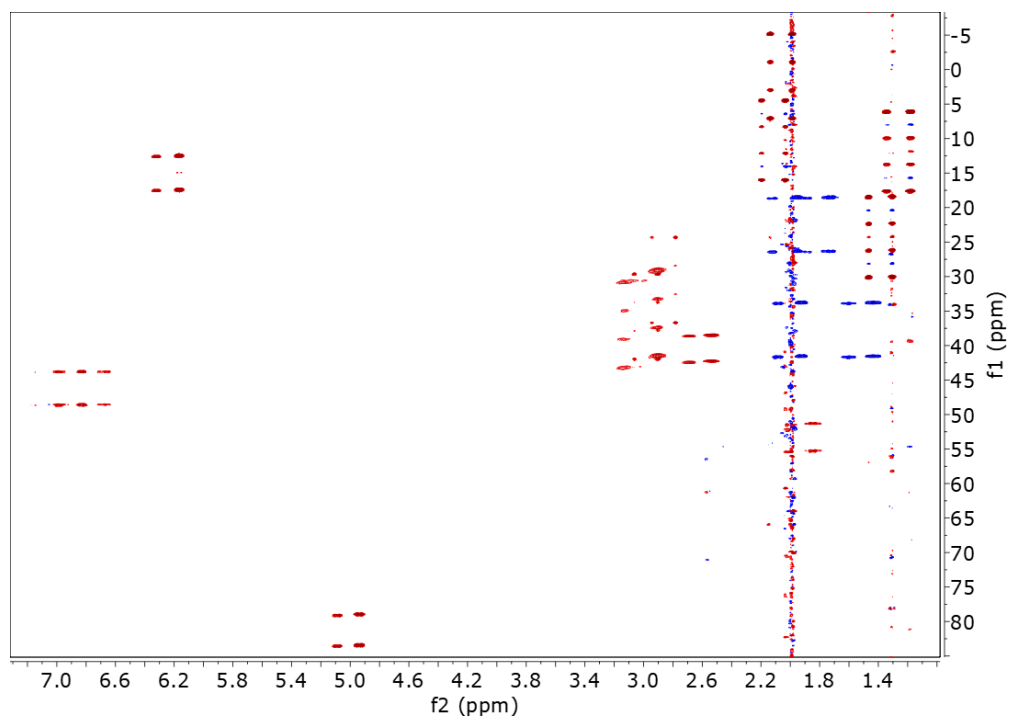
YU, G.; et al. Self-Assembled Oligopeptide (FK)₄ as a Chiral Alignment. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 14, p. 29223–29229, 2022.

ZHAO, Y. & TRUHLAR, D. G. **Accounts of Chemical Research**. 2008, 41, 157–167.

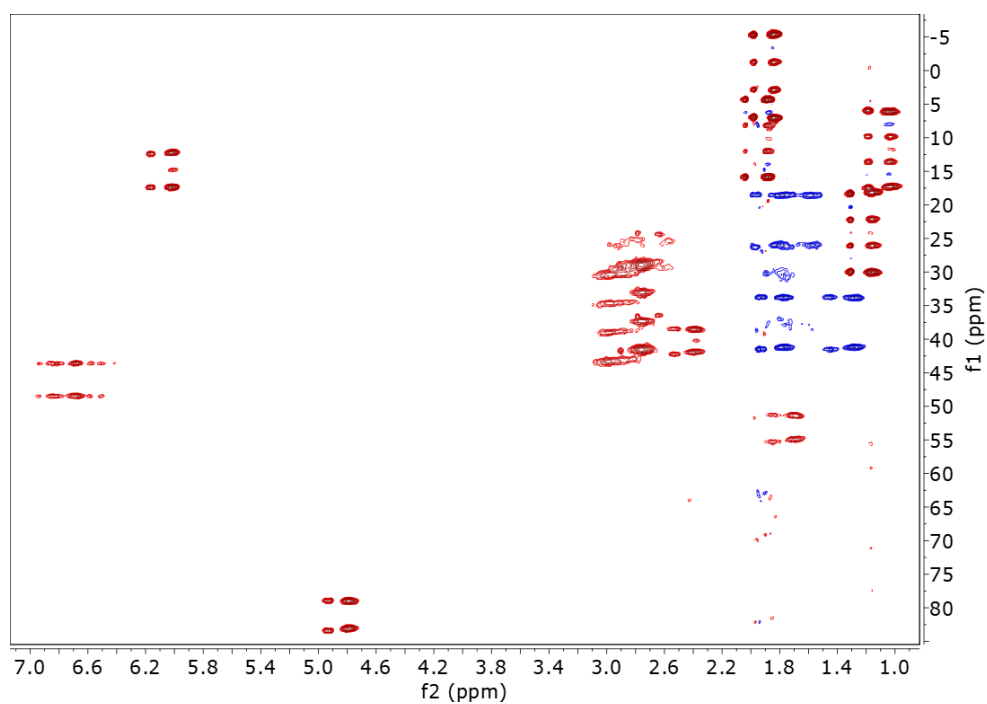
ZONG, W.; LI, G.-W.; CAO, J.-M.; LEI, X.; HU, M.-L.; SUN, H., GRIESINGER, C.; TAN, R. X. An Alignment Medium for Measuring Residual Dipolar Couplings in Pure DMSO: Liquid Crystals from Graphene Oxide Grafted with Polymer Brushes. **Angewandte Chemie - International Edition**. 55, 3690–3693, 2016.

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

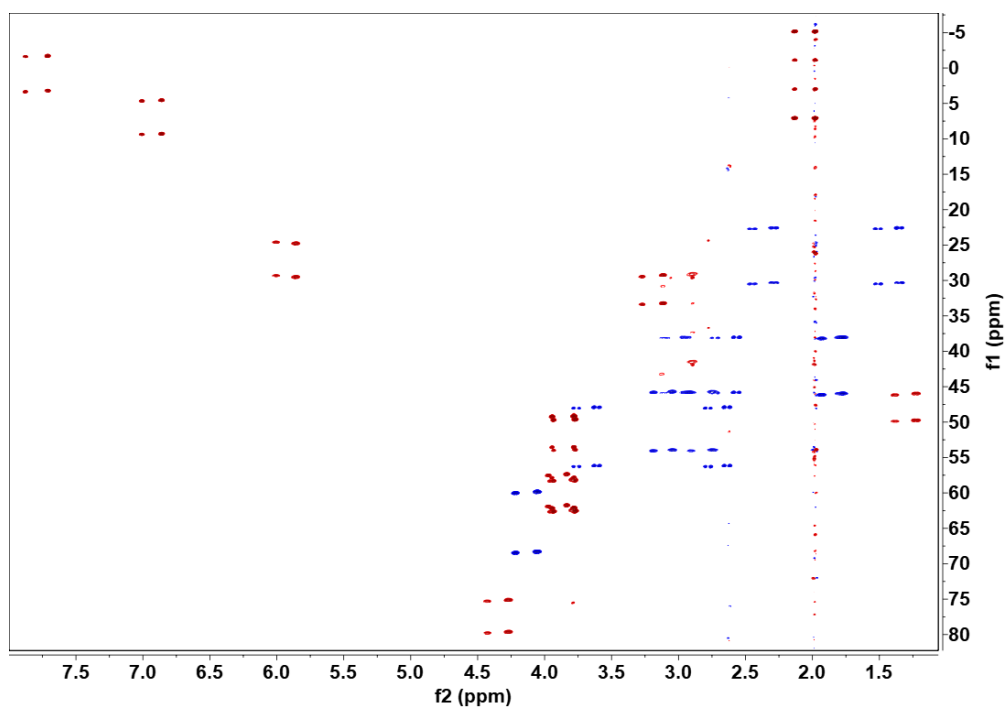
APÊNDICE A – ESPECTROS DE HSQC-F1 DE α -SANTONINA, BRUCINA, SACAROSE, 5-NORBORNEN-2OL, AZIDOTIMIDINA (AZT) E CEFUROXIMA NOS GÉIS



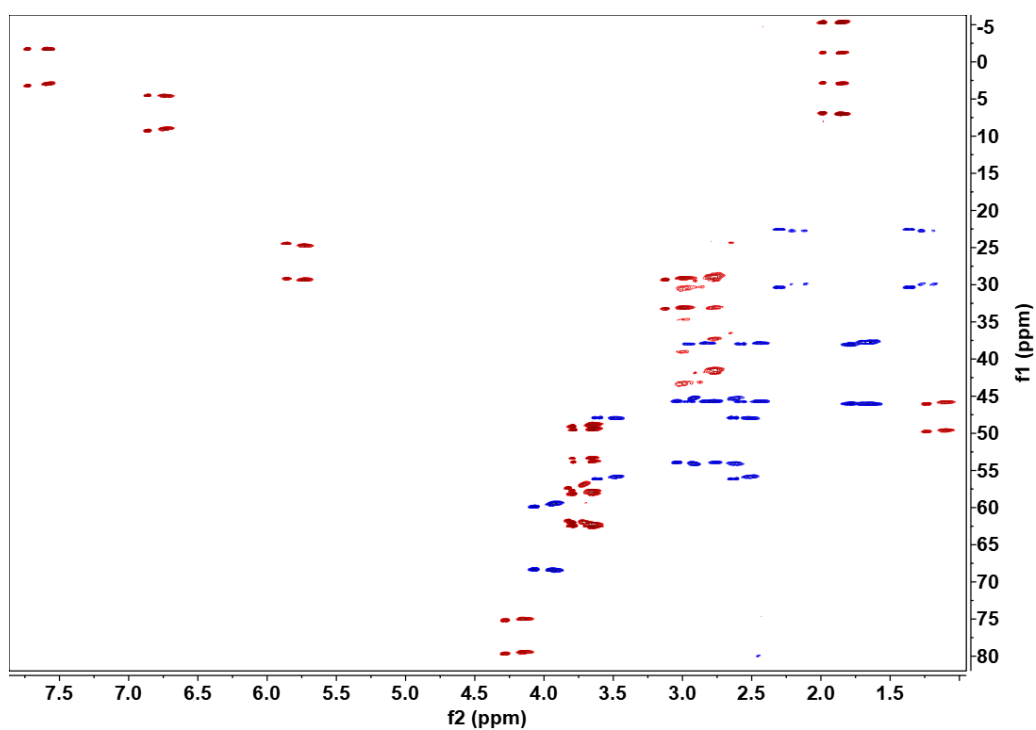
A 1 - Espectro de HSQC-F1 da α -santonina no gel de DMA/AN/ acetonitrila- d_3 relaxado.



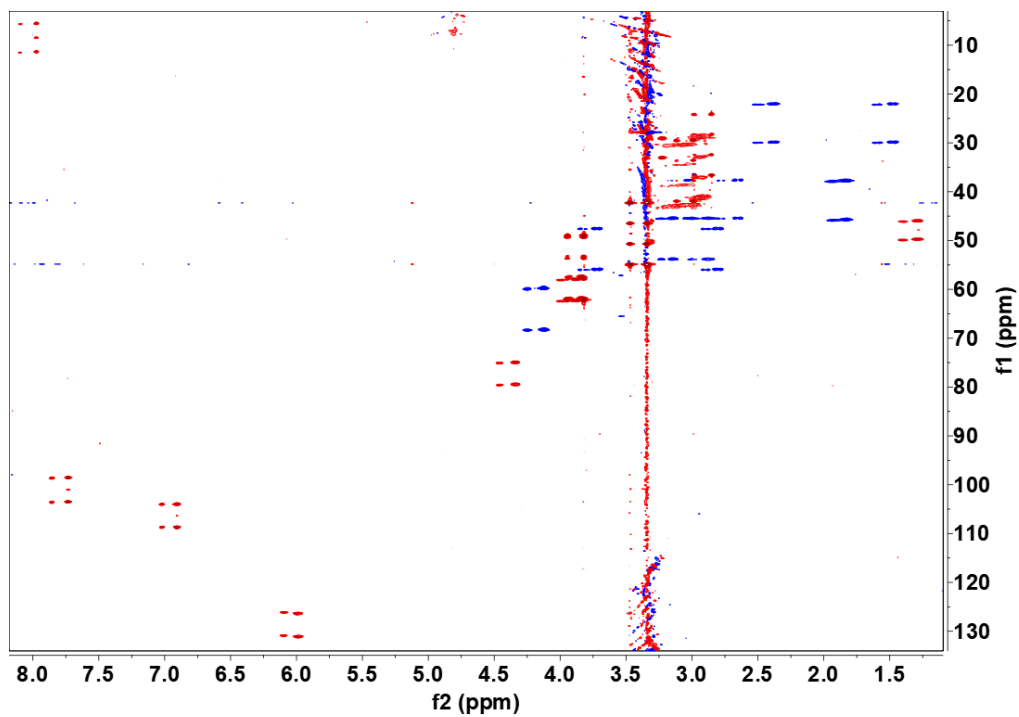
A 2- Espectro de HSQC-F1 da α -santonina no gel de DMA/AN/ acetonitrila- d_3 comprimido.



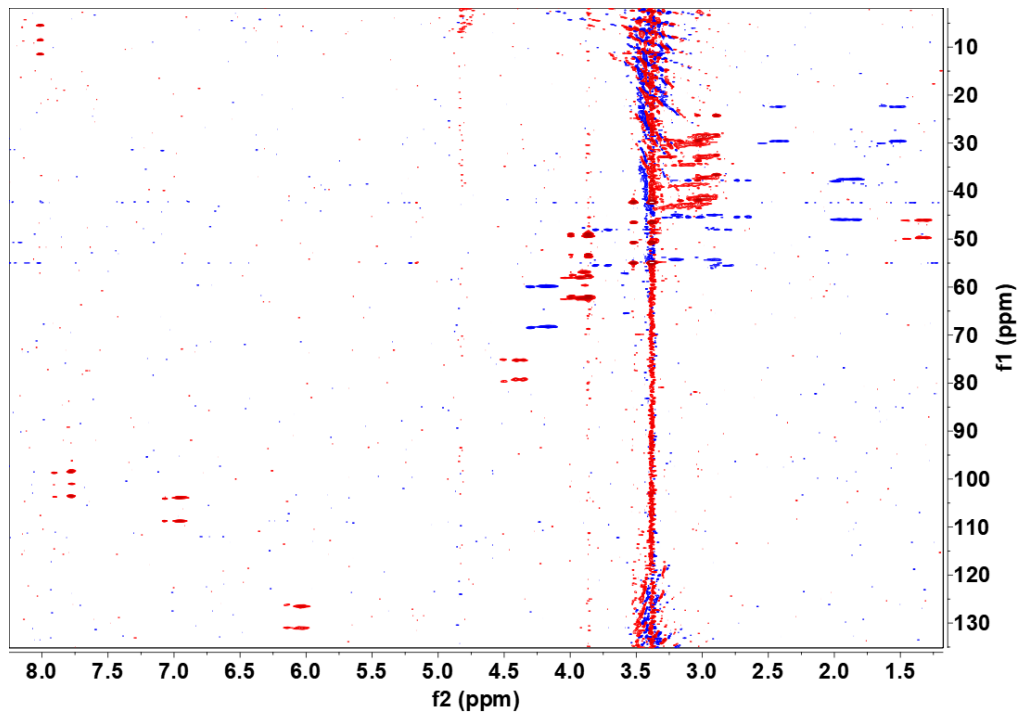
A 3- Espectro de HSQC-F1 da brucina no gel de DMA/AN/ acetonitrila- d_3 relaxado.



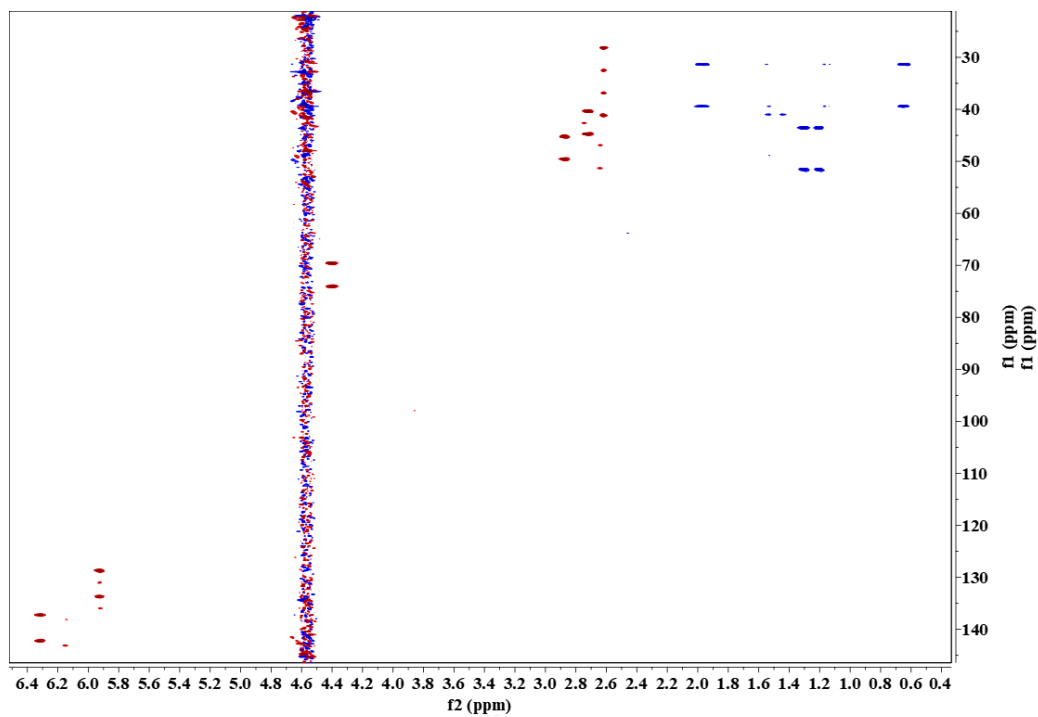
A 4- Espectro de HSQC-F1 da brucina no gel de DMA/AN/acetonitrila- d_3 comprimido.



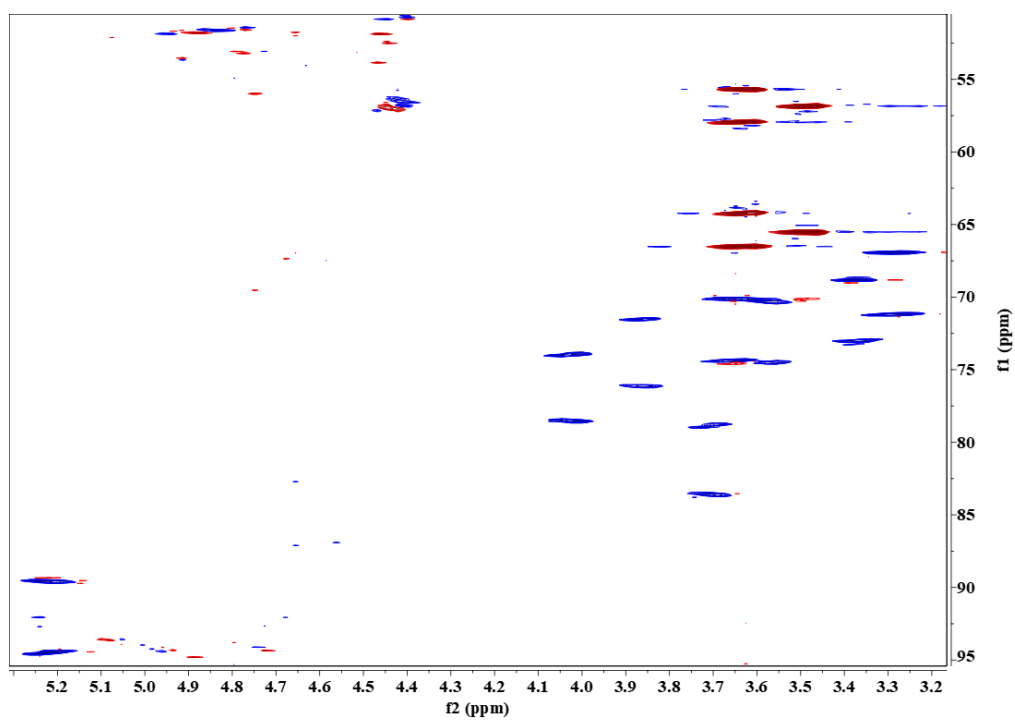
A 5- Espectro de HSQC-F1 da brucina no gel de DMA/AN/metanol- d_4 relaxado.



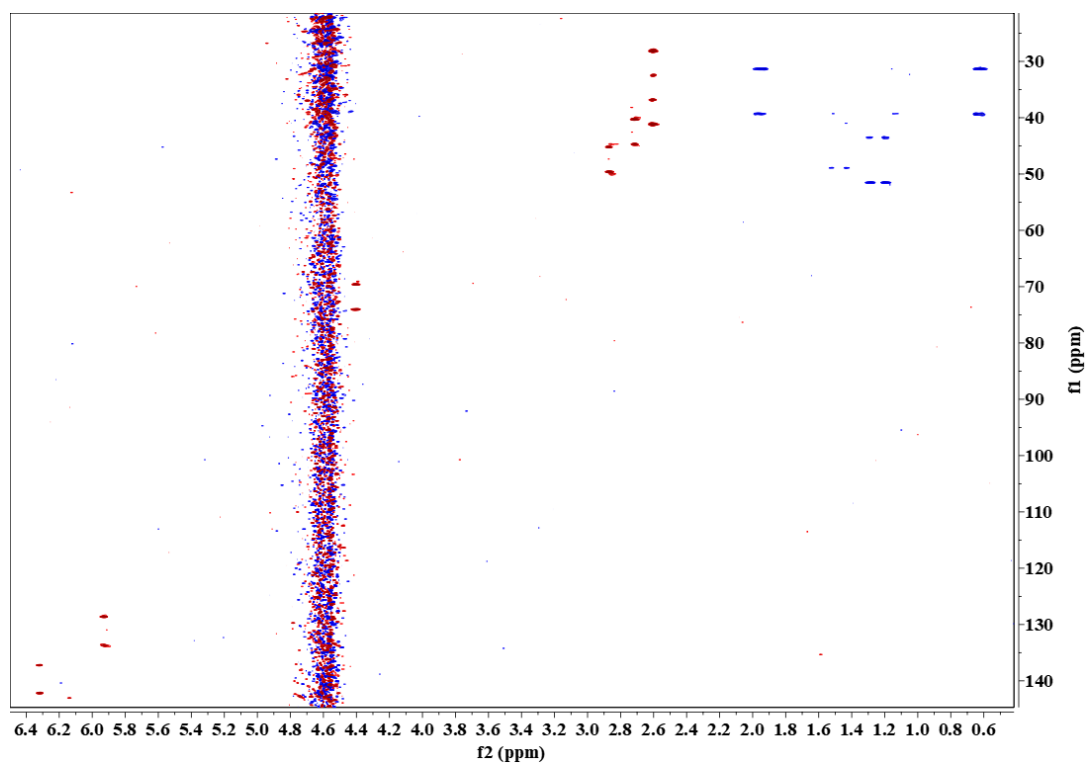
A 6- Espectro de HSQC-F1 da brucina no gel de DMA/AN/metanol- d_4 comprimido.



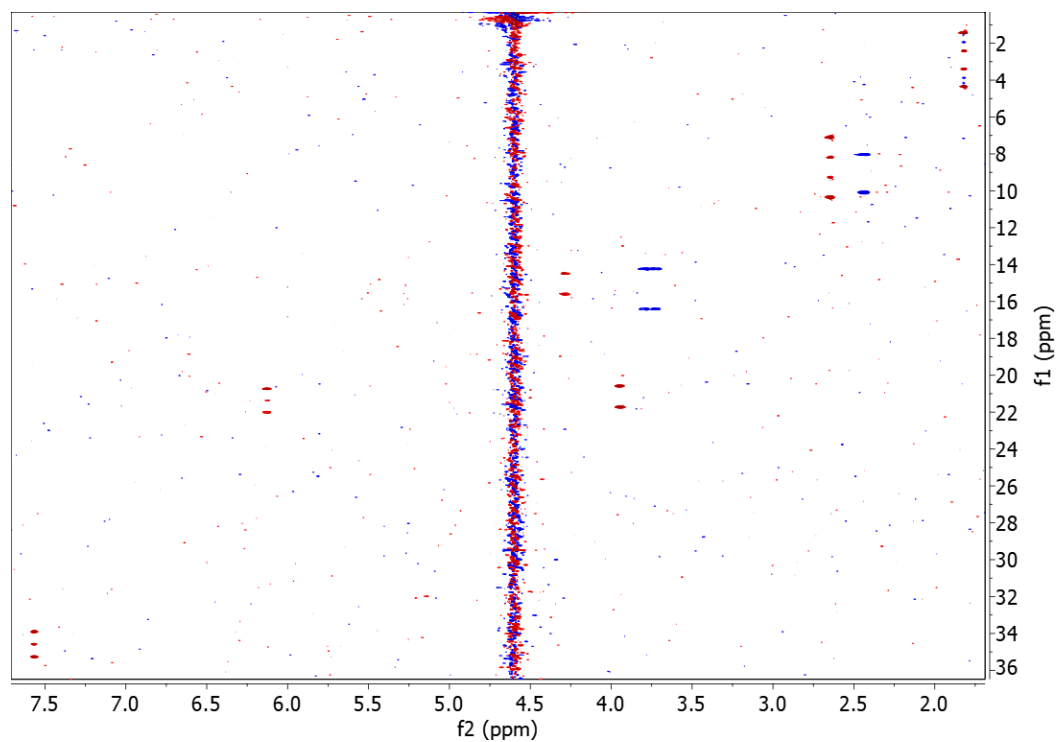
A 7 - Espectro de HSQC-F1 da sacarose no gel de AN/AMPS/D₂O relaxado.



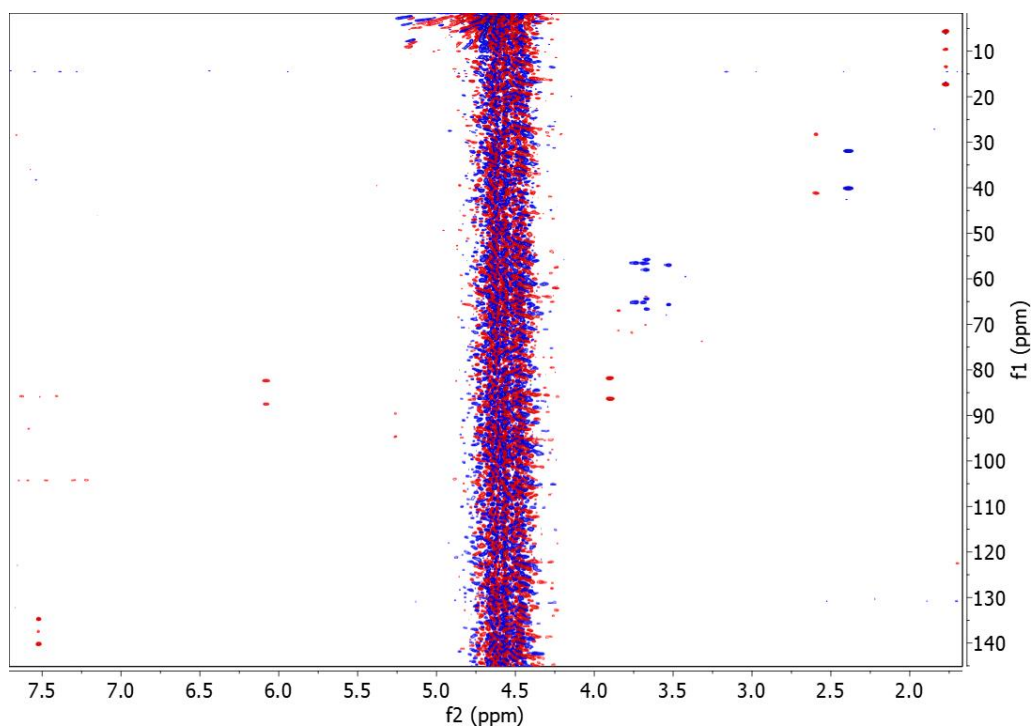
A 8 - Espectro de HSQC-F1 da sacarose no gel de AN/AMPS/D₂O comprimido.



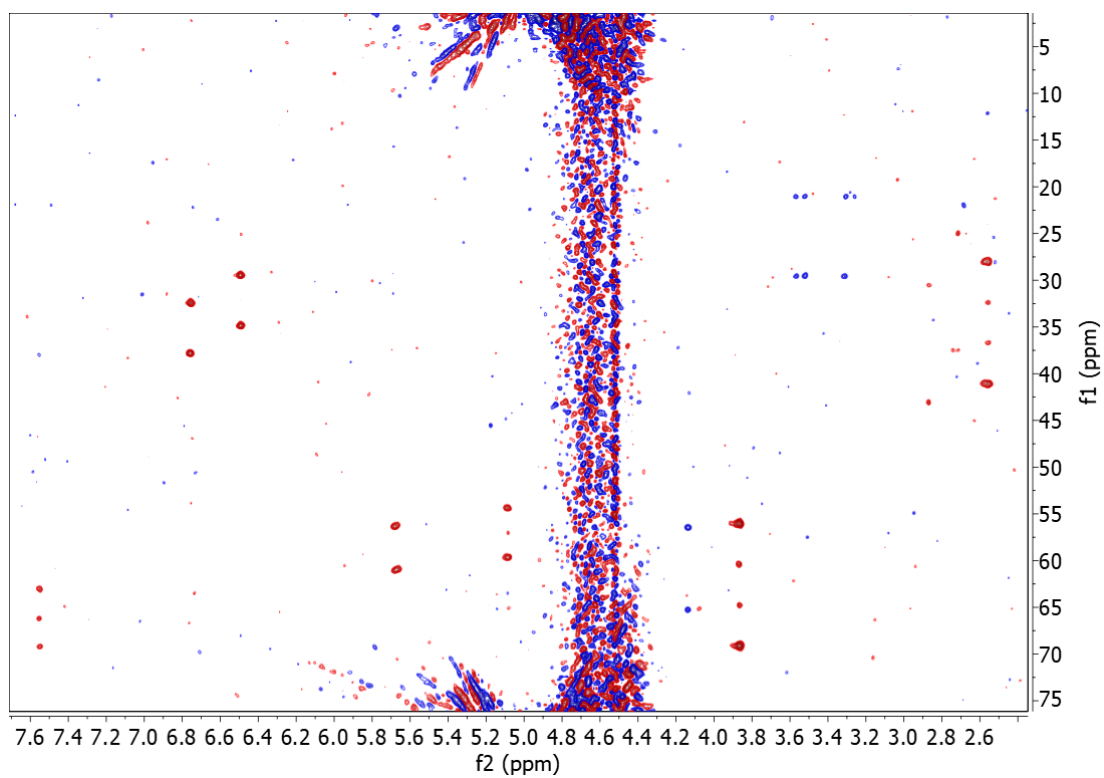
A 9- Espectro de HSQC-F1 do 5-norbornen-2-ol no gel de AN/AMPS/D₂O comprimido.



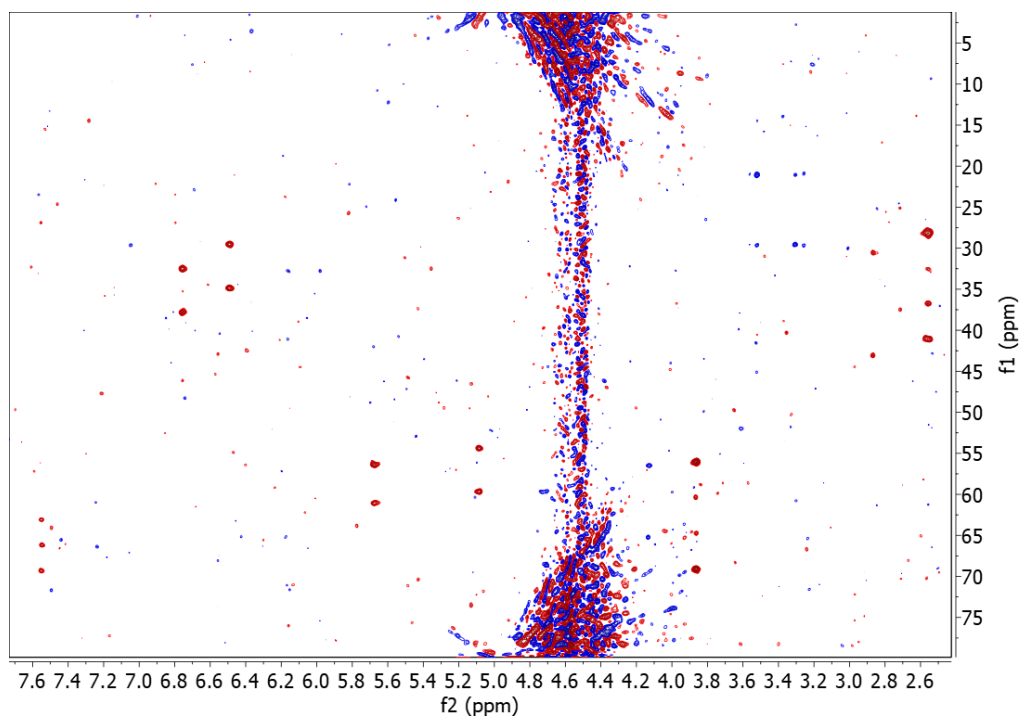
A 10 - Espectro de HSQC-F1 do AZT no gel de AN/AMPS/D₂O relaxado.



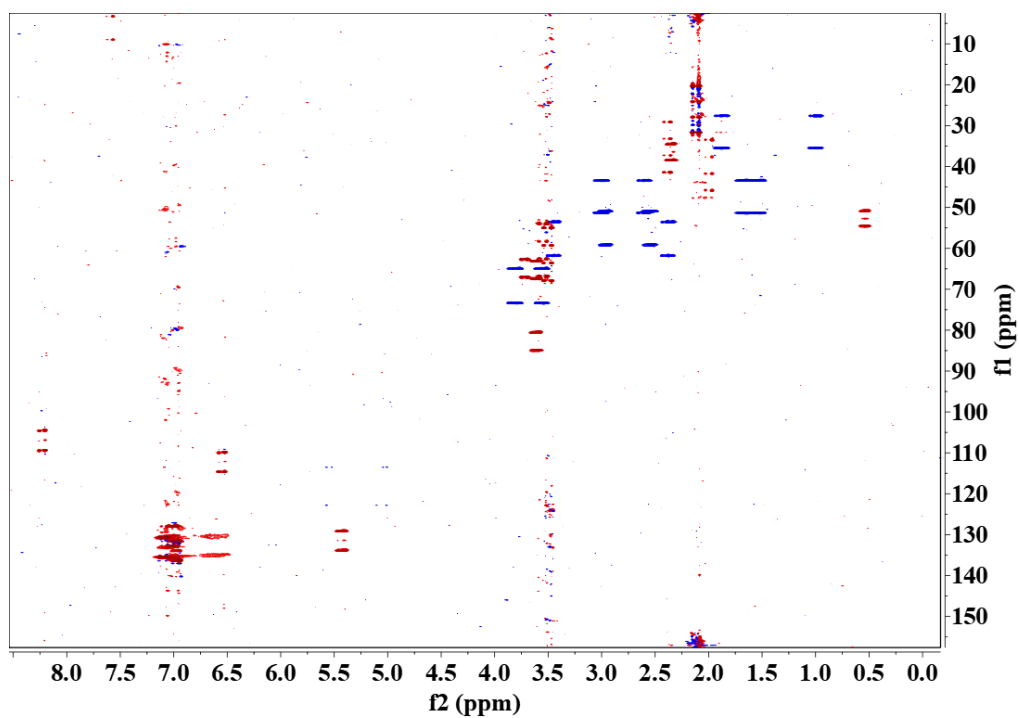
A 11 - Espectro de HSQC-F1 do AZT no gel de AN/AMPS/D₂O comprimido.



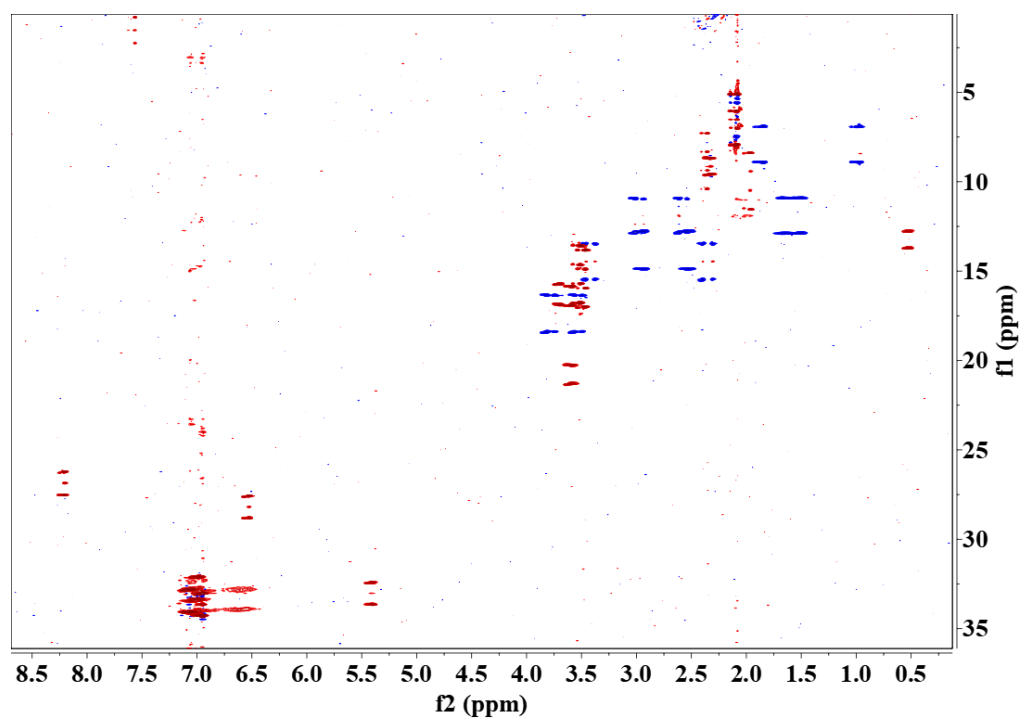
A 12 - Espectro de HSQC-F1 de cefuroxima no gel de AN/AMPS/D₂O relaxado.



A 13 - Espectro de HSQC-F1 de cefuroxima no gel de AN/AMPS/D₂O comprimido.

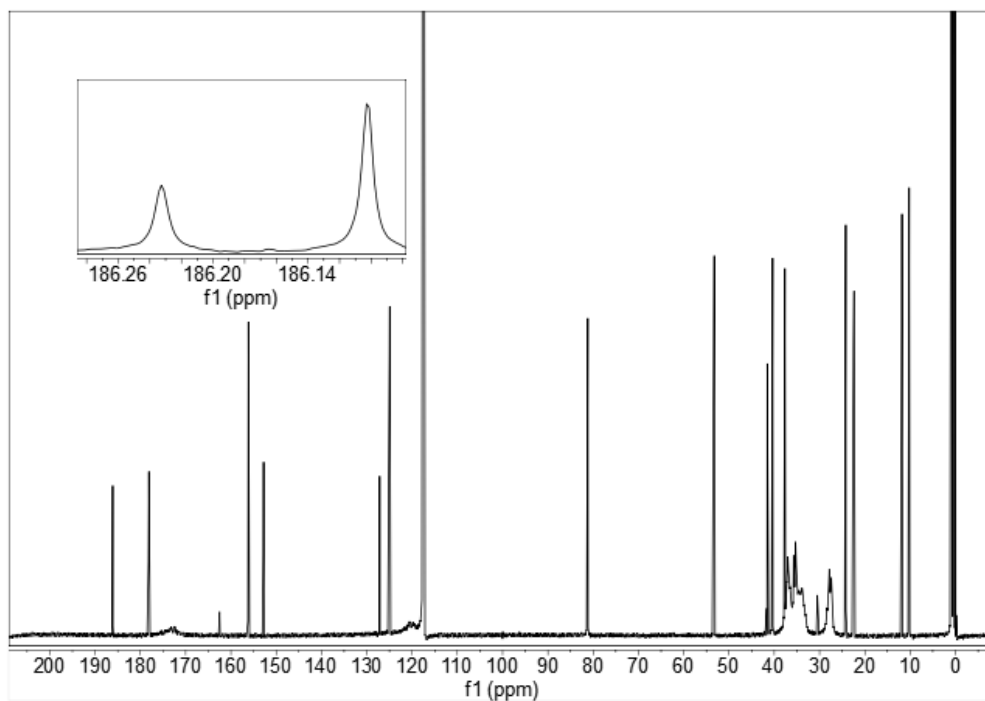


A 14- Espectro de HSQC-F1 da brucina no gel de poliestireno/tolueno- d_8 relaxado.

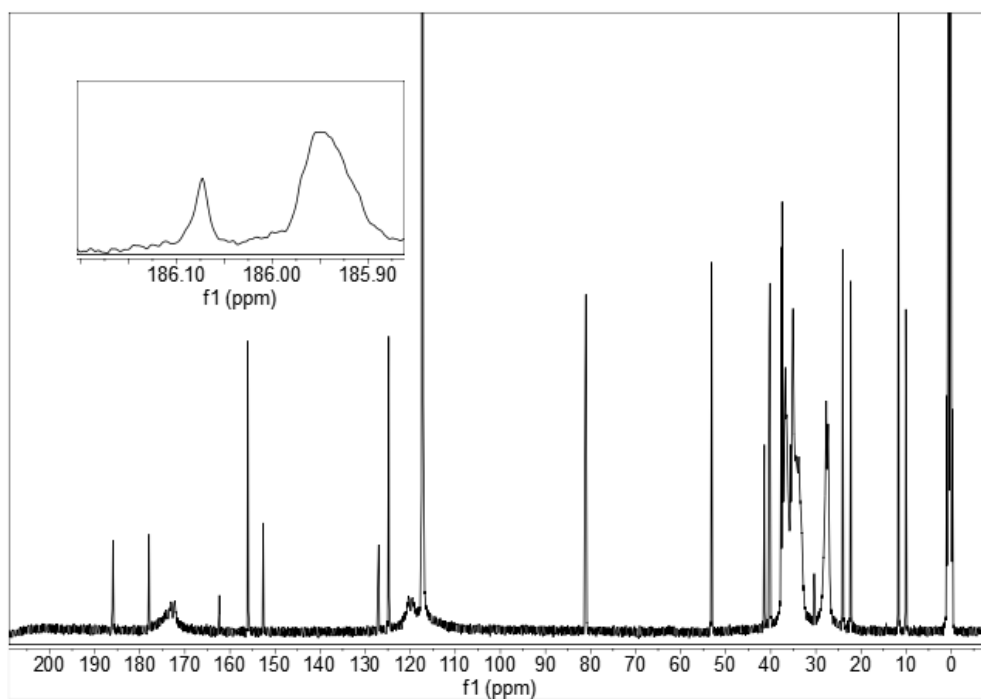


A 15 - Espectro de HSQC-F1 da brucina no gel de poliestireno/tolueno- d_8 comprimido

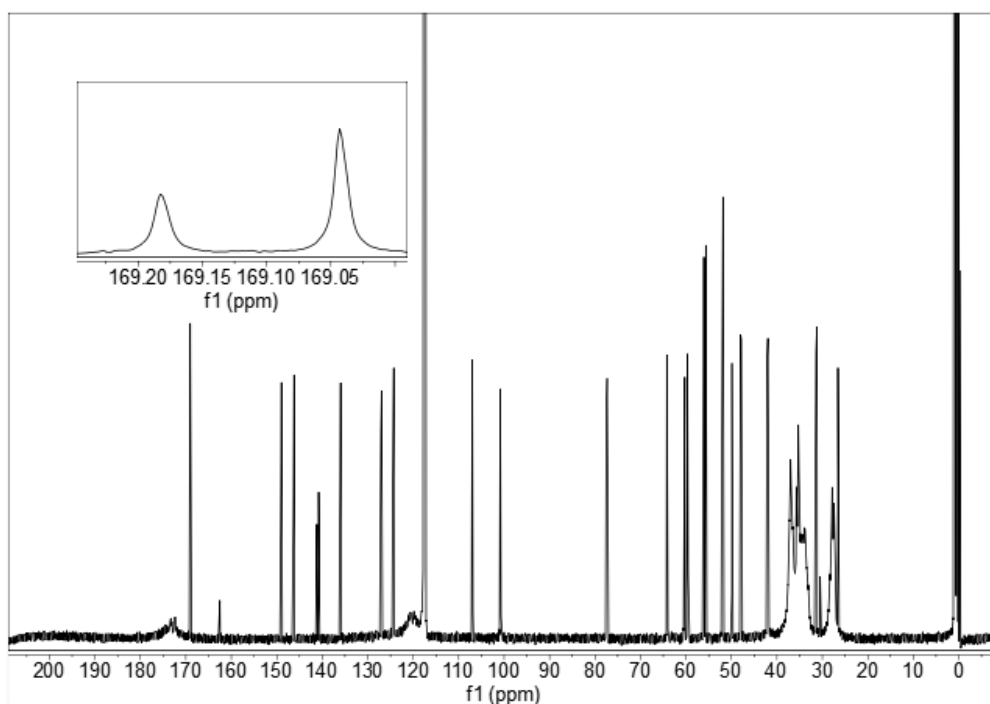
**APÊNDICE B – ESPECTROS DE ^{13}C DE BRUCINA, α -SANTONINA, NOS GÉIS
DE DMA/AN E POLIESTIRENO**



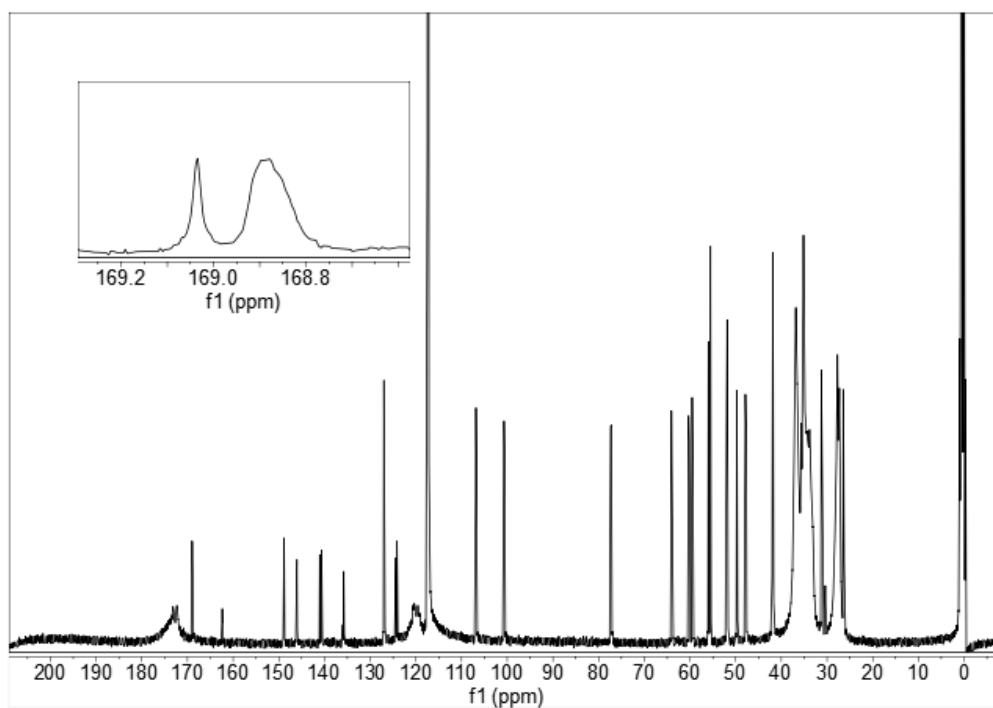
B 1 - Espectro de ^{13}C da α -santonina no gel de DMA/AN/acetonitrila- d_3 relaxado.



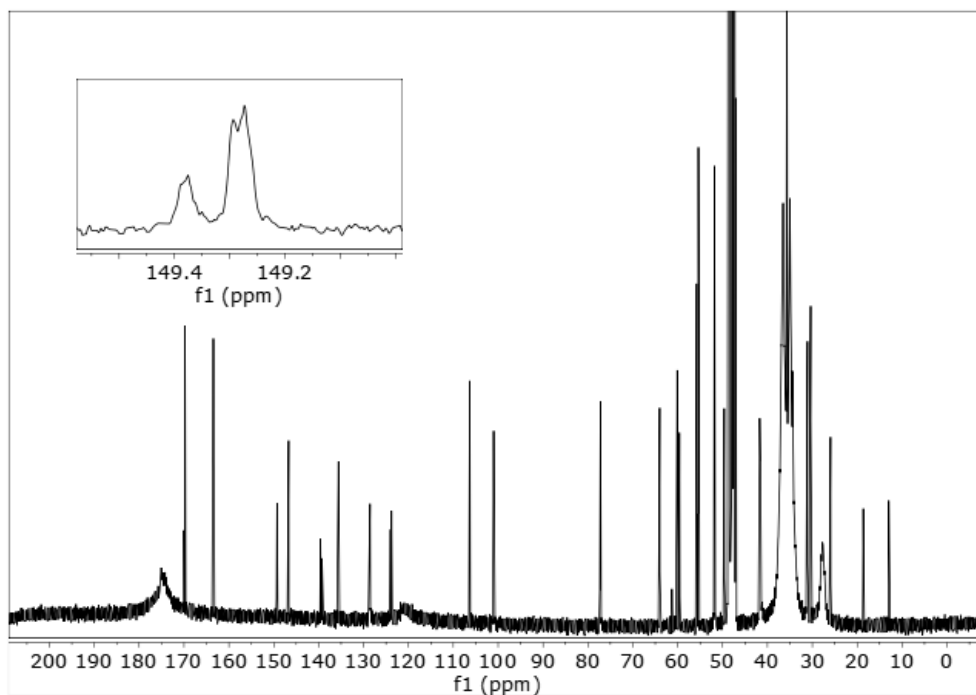
B 2 - Espectro de ^{13}C da α -santonina no gel de DMA/AN/acetonitrila- d_3 comprimido.



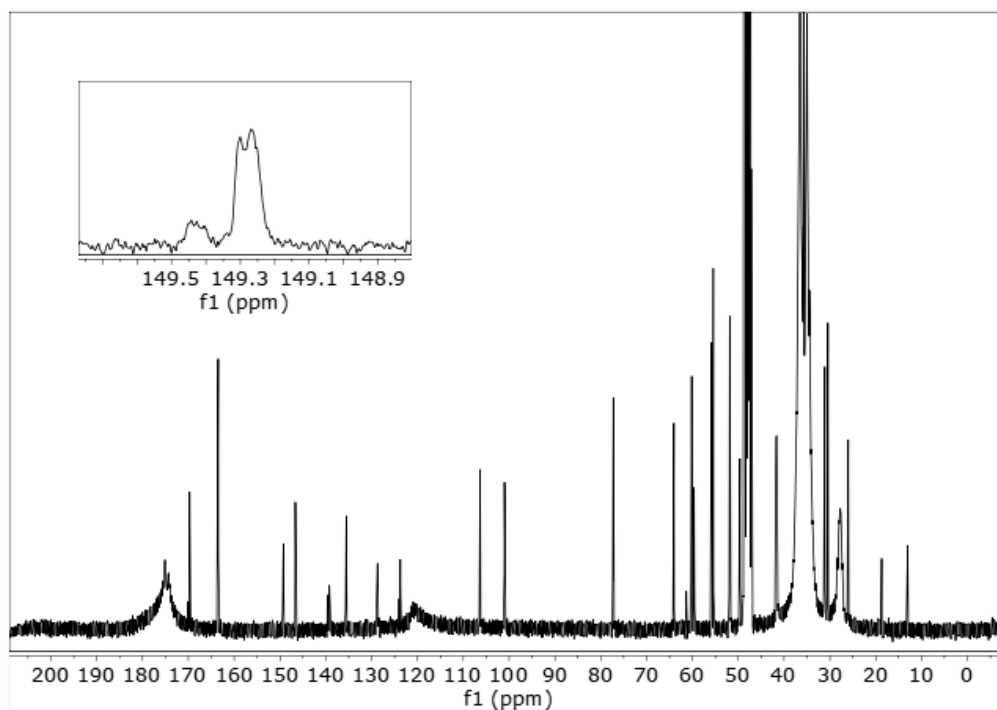
B 3 - Espectro de ^{13}C da brucina no gel de DMA/AN/acetonitrila- d_3 relaxado.



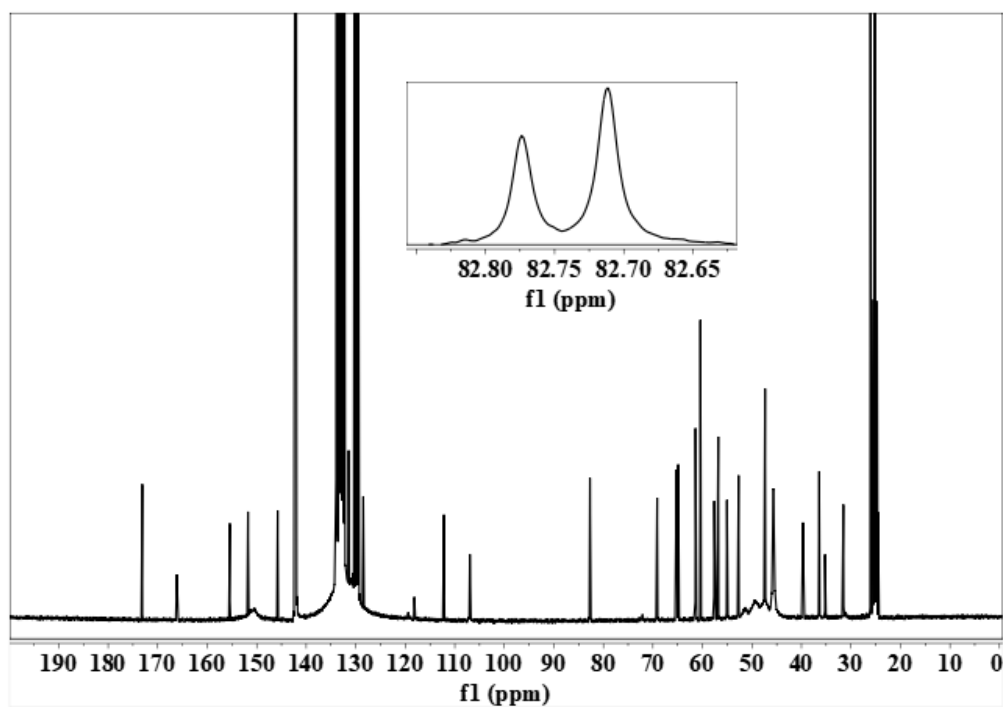
B 4 - Espectro de ^{13}C da brucina no gel de DMA/AN/acetonitrila- d_3 comprimido.



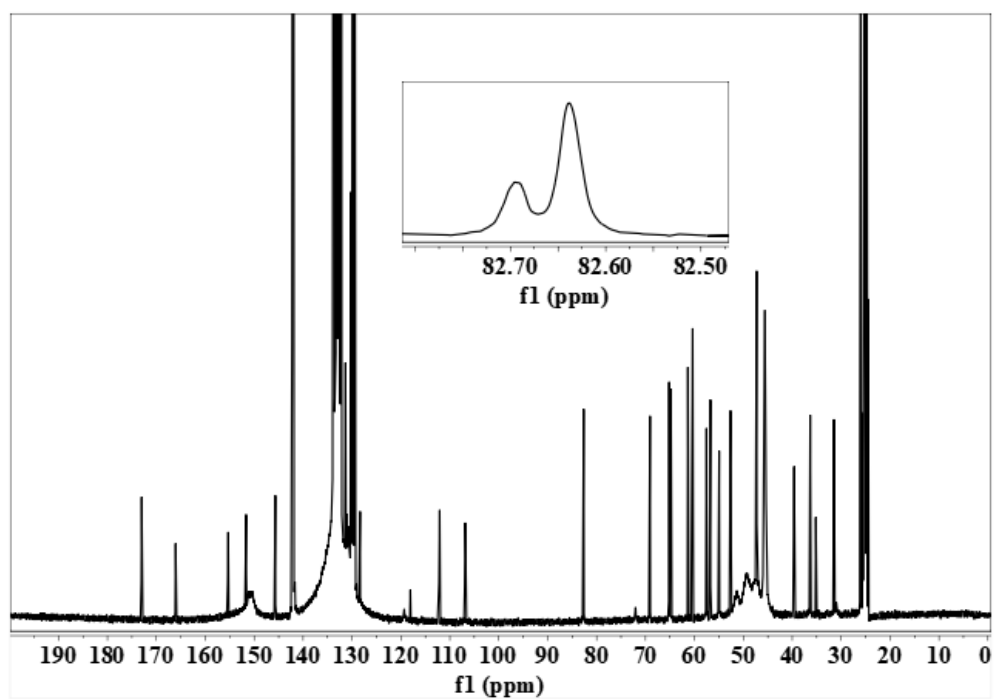
B 5 - Espectro de ^{13}C da brucina no gel de DMA/AN/metanol- d_4 relaxado.



B 6 - Espectro de ^{13}C da brucina no gel de DMA/AN/metanol- d_4 comprimido.



B 7 - Espectro de ^{13}C da brucina no gel de poliestireno/tolueno- d_8 relaxado.



B 8 - Espectro de ^{13}C da brucina no gel de poliestireno/tolueno- d_8 comprimido.

APÊNDICE C – INPUT DA α -SANTONINA E BRUCINA NO GEL DE DMA/AN
C 1– INPUT DA α -SANTONINA COM OS DADOS DE RDCS OBTIDOS NO GEL
DE DMA/AN/ACETONITRILA- D_3 E IMPLEMENTADO NO MSPIN.

```
rdc_data {
#3a
8 22 -14.4
#9b
7 21 -12.6
#7
1 19 5.4
#Ch3-c9
(16,31) (16,32) (16,33) -0.6
#Ch3-c3
(18,34) (18,35) (18,36) -3.6
#ch3-5a
(14,28) (14,29) (14,30) 3.0
#3
13 27 -14.4
#6
6 20 3.6
#5
(10,26) (10,25) -5.4
#4
(9,23) (9,24) -6.3

}

superimpose {
true
}

superimpose_atoms {
heavy
}

compute_populations {
true
}

field {
400
}
```

**C 2– INPUT DA α -SANTONINA COM OS DADOS DE RCSAS OBTIDOS NO GEL
DE DMA/AN/ACETONITRILA- D_3 E IMPLEMENTADO NO MSPIN**

```

rcsa_data {
#3a
8      -0.012 gel_shift=0.016
#9b
7      -0.010 gel_shift=0.142
#7
1      -0.025 gel_shift=0.108
#Ch3-c9
16     -0.002 gel_shift=0.000
#ch3-5a
14     -0.012 gel_shift=0.072
#6
6      -0.019 gel_shift=0.069
#5
10     -0.011 gel_shift=0.129
#4
9      -0.015 gel_shift=0.014
#8
2      -0.023 gel_shift=0.130
#2
12     -0.022 gel_shift=0.097
#9a
4      -0.024 gel_shift=0.073
#5a
5      -0.006 gel_shift=0.110
#9
3      -0.027 gel_shift=0.175
#3
13     -0.014 gel_shift=0.143
}

average_methylene_groups {
true
}

rcsa_reference {
18
}

single_tensor {
true
}

superimpose {
true
}

superimpose_atoms {
heavy
}

superimpose_mode {
massweighted
}

```



```
include_csa_gel_shift {  
  true  
}  
  
optimize_csa_gel_shift_scale {  
  true  
}  
estimate_csa_gel_shift_scale {  
  false  
}  
  
compute_populations {  
  false  
}  
  
field {  
  400  
}
```

C 3– INPUT DA BRUCINA COM OS DADOS DE RDCS OBTIDOS NO GEL DE DMA/AN/ACETONITRILA- D_3 E IMPLEMENTADO NO MSPIN

```

rdc_data {
#4
25 49 -8.8
#1
22 45 -9.6
#22
23 46 -5.2
#12
16 40 -0.6
#23
(24,47) (24,48) 7.7
#OMe-C3
(29,53) (29,54) (29,55) 4.0
#OMe-C2
(28,50) (28,51) (28,52) 1.6
#18
(15,38) (15,39) 8.3
#20
(18,41) (18,42) -6.0
#11
(20,43) (20,44) 0.6
#14
11 33 -0.4
#13
10 32 0.2
#17
(13,36) (13,37) 6.0
#16
9 31 23.0
#15
(12,34) (12,35) -9.9

}

superimpose {
true
}

superimpose_atoms {
heavy
}

compute_populations {
false
}

field {
400
}

```

C 4– INPUT DA BRUCINA COM OS DADOS DE RCSAS OBTIDOS NO GEL DE DMA/AN/ACETONITRILA- D_3 E IMPLEMENTADO NO MSPIN

```

rcsa_data {
#10
  21    -0.034 gel_shift=0.140
#3
  27    -0.003 gel_shift=0.172
#2
  26    -0.030 gel_shift=0.167
#21
  17    -0.027 gel_shift=0.405
#22
  23    -0.019 gel_shift=0.152
#16
  9     -0.008 gel_shift=0.147
#18
  15    -0.014 gel_shift=0.107
#13
  10    -0.010 gel_shift=0.189
#6
  14    -0.015 gel_shift=0.247
#1
  22    -0.005 gel_shift=0.103
#4
  25    -0.004 gel_shift=0.131
#12
  16     0.000 gel_shift=0.183
#23
  24    -0.017 gel_shift=0.146
#5
  19    -0.053 gel_shift=0.193
#14
  11    -0.011 gel_shift=0.194
#8
  8     -0.008 gel_shift=0.182

}

average_methylene_groups {
true
}

rcsa_reference {
12
}

single_tensor {
true
}

superimpose {
true
}

superimpose_atoms {
heavy
}

```

```
superimpose_mode {  
  massweighted  
}  
  
include_csa_gel_shift {  
  true  
}  
  
optimize_csa_gel_shift_scale {  
  true  
}  
estimate_csa_gel_shift_scale {  
  false  
}  
  
compute_populations {  
  false  
}  
  
field {  
  400  
}
```

**C 5- INPUT DA BRUCINA COM OS DADOS DE RDCS OBTIDO NO GEL DE
DMA/AN/METANOL- D_4 E IMPLEMENTADO NO MSPIN.**

```

rdc_data {
#4
25 49 6.3
#1
22 45 6.3
#22
23 46 -5.1
#12
16 40 -15.1
#23
(24,47) (24,48) -0.7
#OMe-C3
(29,53) (29,54) (29,55) 0.5
#OMe-C2
(28,50) (28,51) (28,52) -1.2
#18
(15,38) (15,39) 15.8
#20
(18,41) (18,42) -15.1
#11
(20,43) (20,44) -2.7
#14
11 33 -15.2
#13
10 32 -3.2
#17
(13,36) (13,37) 7.6
#15
(12,34) (12,35) -10.8
#8
8 30 -2.5
}
superimpose {
true
}
superimpose_atoms {
heavy
}
compute_populations {
false
}
field {
400
}

```

APÊNDICE D– INPUT DA SACAROSE E 5-NORBORNEN-2-OL NO GEL DE AN/AMPS
D1– INPUT DA SACAROSE COM OS DADOS DE RDCS OBTIDOS NO GEL DE
AN/AMPS/D₂O E IMPLEMENTADO NO MSPIN.

```

rdc_data {
#1g
12 13 -8.0
#2g
10 11 -4.3
#3g
8 9 -2.9
#4g
6 7 -3.0
#5g
1 2 -3.0
#6g
(3,4) (3,5) -1.6
#1f
(24,25) (24,26) 0.7
#3f
19 20 7.4
#4f
17 18 3.5
#5f
15 16 10.7
#6f
(21,22) (21,23) -0.2
}

superimpose {
true
}

superimpose_atoms {
12,10,27,36,13
}

max_conformations {
2
}

least_squares_method {
nnls
}

```

**D 2– INPUT DA 5-NORBORNEN-2-OL COM OS DADOS DE RDCS OBTIDOS NO
GEL DE AN/AMPS/D₂O E IMPLEMENTADO NO MSPIN.**

```
rdc_data {  
#C1  
2 10 19.5  
#C2  
3 11 17.2  
#C3  
(4,12) (4,13) 3.5  
#C4  
5 14 30.9  
#C5  
6 15 26.3  
#C6  
1 9 20.1  
#C7  
(7,16) (7,17) -14.7  
}  
  
superimpose {  
true  
}  
  
superimpose_atoms {  
heavy  
}  
  
single_tensor {  
true
```

**APÊNDICE E – INPUT DA BRUCINA NO GEL DE POLIESTIRENO
E 1– INPUT DA BRUCINA COM OS DADOS DE RDOS OBTIDOS NO GEL DE
POLIESTIRENO/TOLUENO-D8 E IMPLEMENTADO NO MSPIN.**

```

rdc_data {
#4
25 49 6.8
#1
22 45 7.7
#22
23 46 3.4
#12
16 40 -13.1
#23
(24,47) (24,48) -6.3
#OMe-C3
(29,53) (29,54) (29,55) -2.3
#OMe-C2
(28,50) (28,51) (28,52) -2.1
#18
(15,38) (15,39) 2.9
#20
(18,41) (18,42) -7.0
#11
(20,43) (20,44) -5.0
#14
11 33 -10.9
#13
10 32 0.0
#17
(13,36) (13,37) -1.1
#16
9 31 7.8
#15
(12,34) (12,35) 2.7
#8
8 30 -7.1
}

single_tensor {
false
}

superimpose {
true
}

superimpose_atoms {
heavy
}

compute_populations {
false
}

field {
400
}

```


E 2- INPUT DA BRUCINA COM OS DADOS DE RCSAS OBTIDOS NO GEL DE POLIESTIRENO/TOLUENO-D8 E IMPLEMENTADO NO MSPIN.

```

rcsa_data {
#10
21      -0.053 gel_shift=0.078
#3
27      -0.061 gel_shift=0.102
#2
26      -0.054 gel_shift=0.090
#21
17      -0.043 gel_shift=0.094
#5
19      -0.067 gel_shift=0.077
#22
23      -0.032 gel_shift=0.057
#6
14      -0.068 gel_shift=0.094
#1
22      -0.068 gel_shift=0.120
#12
16      -0.013 gel_shift=0.096
#16
9        -0.011 gel_shift=0.073
#8
8        -0.015 gel_shift=0.071
#7
7        -0.013 gel_shift=0.078
#20
18      -0.022 gel_shift=0.062
#11
20      -0.010 gel_shift=0.066
#15
12      -0.018 gel_shift=0.085

}

average_methylene_groups {
true
}

single_tensor {
false
}

superimpose {
true
}

superimpose_atoms {
heavy
}

superimpose_mode {
massweighted
}

include_csa_gel_shift {

```

```
true
}

optimize_csa_gel_shift_scale {
true
}
estimate_csa_gel_shift_scale {
false
}

compute_populations {
false
}

field {
400
}
```