

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR PALOTINA

DIHEINY CAMILA KEMPER

SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE ESPECTROS DE RESSONÂNCIA
MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H E ^{13}C DE ESTEROIDES

PALOTINA

2019

DIHEINY CAMILA KEMPER

SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE ESPECTROS DE RESSONÂNCIA
MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H E ^{13}C DE ESTEROIDES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências Exatas – Habilitação em Química da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Ciências Exatas - Química.

Orientador Prof. Dr. Isac George Rosset
Co-orientador Prof. Dr. Rodrigo Sequinel

PALOTINA

2019

TERMO DE APROVAÇÃO

Diheiny Camila Kemper

SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H E ^{13}C

Monografia apresentada como requisito parcial à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, Licenciatura em Ciências Exatas, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Prof Dr Isac Rosset

Orientador (a)



Me. Cíntia Façanha Wendel

Membro da banca escrita



Profª Drª Adriana Ferla de

Oliveira

Membro da Banca escrita

Palotina, 26 de Novembro de 2019.

TERMO DE APROVAÇÃO

Diheiny Camila Kemper

SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DE ESPECTROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H E ^{13}C

Monografia apresentada como requisito parcial à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, Licenciatura em Ciências Exatas, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:



Prof Dr Isac Rosset

Orientador (a)



Prof^a Dr^a Letycia Lopes Ricardo

Fiorucci

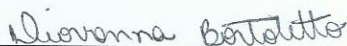
Membro da Banca oral



Prof Dr Robson Simplicio de

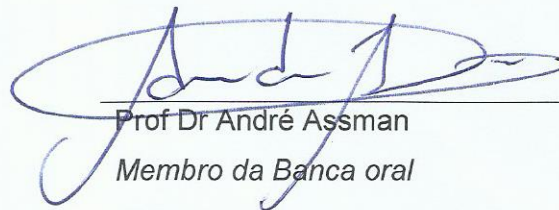
Sousa

Membro da Banca oral



Prof. Giovanna Bortoletto

Membro da Banca oral



Prof Dr André Assman

Membro da Banca oral

Palotina, 16 de Novembro de 2019.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser tão bom para mim. Pela vida, pela sabedoria e pelas oportunidades que tens me dado.

Ao meu caro professor e orientador Dr. Isac George Rosset, por todo o apoio, incentivo, paciência, compreensão, dedicação, pelos conselhos e amizade, principalmente por todos os ensinamentos.

Ao professor Dr. Rodrigo Sequinel pelo apoio, dedicação, incentivo, pelos conhecimentos e ensinamentos.

Ao grupo de pesquisa em Química Orgânica e Biológica, pelas trocas de conhecimentos e amizades.

A minha mãe Eliane, por todo o amor, carinho, apoio, compreensão, incentivo e todas as palavras de conforto, ao meu padastro Luiz, minha avó Santana, meu irmão Davi, meu tio Salesio, e toda a minha família, sem todo o apoio e incentivo não conseguiria chegar até aqui.

Aos meus colegas de curso. As minhas amigas Lohana e Louise que sempre estiveram presentes desde o início, tudo fica mais fácil quando temos bons amigos. A minha amiga Gabriela, por todo o apoio e companheirismo, sozinhas não chegaríamos a lugar nenhum.

Quanto mais as ciências físicas progridem, mais elas tendem a entrar no domínio da Matemática, que é um tipo de centro para onde elas convergem. Nós podemos julgar o grau de perfeição que a ciência tem alcançado, pela facilidade com que ela pode ser submetida a cálculo.

Adolphe Quetelet (1828)

RESUMO

Com os avanços científicos e tecnológicos, a Química Computacional tem se expandido, tornando-se uma área interdisciplinar e de extrema importância para diversas áreas da ciência, principalmente à química. Os softwares utilizados na química computacional, são baseados em métodos matemáticos, para verificar e calcular diversas propriedades, sendo que a maioria dos cálculos utilizam a equação de Schrödinger, que é o principal modelo da mecânica quântica. Neste contexto, o trabalho apresentado tem como objetivo a simulação computacional de espectros de ressonância magnética nuclear aplicados a esteroides. Considerando que os parâmetros estruturais são fundamentais para a determinação das atividades biológicas, e a química computacional pode prever esses parâmetros. Os esteroides têm sido estudados nas últimas décadas devido as suas atividades biológicas, possuem diversas funções que variam de acordo com sua estrutura, podem ser extraídos de plantas ou sintetizados em laboratórios, principalmente para uso farmacêutico, como a produção de pílulas anticoncepcionais ou de anabolizantes, em humanos, os esteroides normalmente agem como hormônios. Os *inputs* foram selecionados por meio do programa GaussView 4.1™ e executados no Gaussian 09W™, além disso, usou-se como padrão interno o tetrametilsilano (TMS) e o dioxano+TMS, também calculou-se o MAD e o RMSE, e os resultados foram comparados, a fim de determinar qual nível de teoria e qual padrão interno apresenta os melhores resultados para cálculos de RMN em esteroides. Os resultados mostraram que o melhor método foi DFT/B3LYP-6-311+G(2d,p) no vácuo, em relação aos deslocamentos químicos do ^{13}C e ^1H , usando o dioxano acoplado ao TMS como padrão interno de referência.

Palavras-chave: RMN; Deslocamento Químico; DFT; Esteroides.

ABSTRACT

Chemistry has expanded because of scientific and technological advances. It has become extremely important for several areas of science, especially chemistry. The software used in computational chemistry is based on mathematical methods to verify and calculate various properties. Most calculations use the Schrödinger equation, which is the main model of quantum mechanics. In this context, the present work has as objective the computational simulation of nuclear magnetic resonance spectra applied to steroids. Structural parameters are fundamental for determining biological activities, computational chemistry can predict these parameters. Steroids have been studied in recent decades because of their biological activities. They have various functions that vary according to their structure, can be extracted from plants or synthesized in laboratories, mainly for pharmaceutical use, such as the production of contraceptive or anabolic pills, In humans, steroids usually act as hormones. The inputs were selected using the GaussView 4.1™ program and executed on the Gaussian 09W™ program. In addition, tetramethylsilane (TMS) and dioxane + TMS were used as internal standards. The MAD and RMSE were calculated, and the results were compared in order to determine which level of theory and which internal standard presented the best results for steroid NMR calculations. The results showed that the best method was DFT/B3LYP-6-311+G (2d,p) in vacuum, relative to the chemical shifts of ^{13}C and ^1H , using TMS-coupled dioxane as the internal reference standard.

Keywords: NMR; Chemical Shift; DFT; Steroids.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 – ESPECTRÔMETRO DE RMN..... | 18 |
| FIGURA 2 – ESTRUTURA BÁSICA DE UM ESTEROIDE..... | 20 |
| FIGURA 3 – PRINCIPAIS HORMÔNIOS SEXUAIS HUMANOS..... | 20 |
| FIGURA 4 – ESTRUTURA DO COLESTEROL PROPOSTA INICIALMENTE E A ESTRUTURA CORRETA DO COLESTEROL..... | 21 |
| FIGURA 5 – ESTEROIDE 1, 16- β -HIDROXIPROGESTERONA..... | 23 |
| FIGURA 6 – ESTRUTURA DO DIOXANO+TMS E DO TETRAMETILSILANO USADOS COMO PADRÃO INTERNO DE REFERÊNCIA..... | 24 |
| FIGURA 7 – ESTEROIDES..... | 24 |
| FIGURA 8 – ESTRUTURA 3D DO ESTEROIDE 1, 16- β - HIDROXIPROGESTERONA..... | 28 |
| FIGURA 9 – ESTRUTURA EM 3D DO DIOXANO..... | 36 |
| FIGURA 10 – ESTRUTURA EM 3D DOS ESTEROIDES..... | 39 |
| FIGURA 11 – ESTEROIDE 3-OXO HEMIACETAL..... | 43 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| GRÁFICO 1 – VALORES DE MAD E RMSE PARA DESLOCAMENTO QUÍMICO DO ¹ H USANDO TMS..... | 30 |
| GRÁFICO 2 – VALORES DE MAD E RMSE PARA DESLOCAMENTO QUÍMICO DO ¹³ C USANDO TMS..... | 31 |
| GRÁFICO 3 – VALORES DE MAD E RMSE PARA DESLOCAMENTO QUÍMICO DO ¹ H USANDO DIOXANO+TMS..... | 32 |
| GRÁFICO 4 – VALORES DE MAD E RMSE PARA DESLOCAMENTO QUÍMICO DO ¹³ C USANDO DIOXANO+TMS..... | 33 |
| GRÁFICO 5 – VALORES DE MAD PARA ¹ H USANDO TMS E DIOXANO+TMS..... | 34 |
| GRÁFICO 6 – VALORES DE MAD PARA ¹³ C USANDO TMS E DIOXANO+TMS...34 | |
| GRÁFICO 7 – VALORES DE RMSE PARA ¹ H USANDO TMS E DIOXANO+TMS..... | 35 |
| GRÁFICO 8 – VALORES DE RMSE PARA ¹³ C USANDO TMS E DIOXANO+TMS..... | 35 |
| GRÁFICO 9 – CUSTOS COMPUTACIONAIS DOS CÁLCULOS DE RMN PARA AS BASES..... | 37 |
| GRÁFICO 10 – RESULTADOS DE MAD E RMSE DE ¹ H PARA TODOS OS ESTEROIDES..... | 40 |
| GRÁFICO 11 – RESULTADOS DE MAD E RMSE DE ¹³ C PARA TODOS OS ESTEROIDES..... | 41 |
| GRÁFICO 12 – CUSTOS COMPUTACIONAIS DOS ESTEROIDES..... | 42 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 – NÍVEIS DE TEORIA USADOS PARA CÁLCULOS DE RMN..... | 23 |
| TABELA 2 – NÍVEIS DE TEORIA USADOS PARA OS CÁLCULOS DE RMN EM ESTEROIDES..... | 25 |
| TABELA 3 – VALORES EXPERIMENTAIS DE ¹³ C E ¹ H PARA O DIOXANO..... | 27 |
| TABELA 4 – VALORES DE DESLOCAMENTO QUÍMICO DO TMS E DO DIOXANO..... | 28 |
| TABELA 5 – VALORES DE MAD E RMSE USANDO O TMS COMO PADRÃO INTERNO..... | 29 |
| TABELA 6 – VALORES DE MAD E RMSE USANDO O DIOXANO+TMS COMO PADRÃO INTERNO..... | 29 |
| TABELA 7 – RESULTADOS DE MAD E RMSE PARA OS ESTEROIDES UTILIZANDO O DIOXANO+TMS COMO REFERÊNCIA..... | 38 |

LISTA DE SIGLAS

| | |
|--------|--|
| DFT | – Density Functional Theory |
| HETCOR | – Heteronuclear Correlation Spectroscopy |
| IEFPCM | – Integral Equation Formalism of the Polarizable Continuum Model |
| MAD | – Mean Absolute Deviation |
| PCM | – Polarizable Continuum Model |
| RMN | – Ressonância Magnética Nuclear |
| RMSE | – Root Mean Squared Error |
| TMS | – Tetrametilsilano |
| UV | – Ultravioleta |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 11 |
| 1.1 | OBJETIVO | 12 |
| 1.2 | HIPÓTESE..... | 12 |
| 1.3 | JUSTIFICATIVA..... | 12 |
| 2 | REVISÃO DA LITERATURA | 13 |
| 2.1 | CONTEXTO HISTÓRICO DA MECÂNICA QUÂNTICA..... | 13 |
| 2.2 | A QUÍMICA QUÂNTICA E A QUÍMICA COMPUTACIONAL | 14 |
| 2.2.1 | Métodos e técnicas computacionais | 15 |
| 2.2.2 | Teoria funcional de densidade..... | 16 |
| 2.3 | ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR | 17 |
| 2.4 | ESTEROIDES..... | 19 |
| 3 | METODOLOGIA | 23 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES | 28 |
| 5 | CONCLUSÃO | 45 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 46 |
| | APÊNDICE – DESLOMENTOS QUÍMICOS TEÓRICOS PARA ¹³C E ¹H ... | 49 |

1 INTRODUÇÃO

Com os avanços tecnológicos e científicos nas últimas décadas, a química quântica computacional teve um grande salto no seu desenvolvimento, esse crescimento se deve aos avanços da área da informática e da ciência da computação, tornando a química computacional uma área interdisciplinar que fornece resultados confiáveis, capaz de executar inúmeros cálculos com um elevado nível de acurácia em pouco tempo (LEAL, R. C., *et al.*, 2010; ARROIO, A., *et al.*, 2010).

A Química Quântica Computacional, é a área da química que utiliza softwares e programação, com métodos matemáticos da mecânica quântica, para estudar o comportamento e as propriedades físico-químicas da matéria. Esta vertente vem crescendo substancialmente, conforme a ciência da computação avança, atingindo sistemas cada vez maiores (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009).

Diante disso a química computacional tem sido muito usada para cálculos de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), pois é uma das principais técnicas de caracterização molecular, a qual se baseia no estudo da interação da radiação eletromagnética da matéria, onde alguns núcleos atômicos, como o ^{13}C , quando sujeito a um campo magnético intenso, são capazes de absorver a energia (NASCIMENTO. C., 2016). Além disso, o emprego de solventes influencia de diversas maneiras no campo magnético que atua sobre os núcleos, sendo este um fator determinante para a interpretação dos espectros de RMN (ATKINS, P.; PAULA, J. de., 2015).

Diversas moléculas podem ser estudadas por espectroscopia de RMN, como os esteroides, que têm sido sintetizados nas últimas décadas, e são usados para tratamentos medicinais, como reposição hormonal, métodos contraceptivos e tratamento de câncer. Nesses estudos também são empregados métodos da química computacional para determinar parâmetros físico-químicos, analisar a geometria molecular, conformações e estereoquímica de moléculas orgânicas e organometálicas. A maioria dos esteroides funcionam como hormônios, são secretados pelas glândulas endócrinas a partir do colesterol e levados pela corrente sanguínea por meio das proteínas carregadoras, até o tecido alvo (MCMURRY, J., 2013; PEREIRA, E. L.; MIGUEL, A. L. R., 2017).

1.1 OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo a simulação computacional de espectros de RMN ^1H e ^{13}C de esteroides, com o intuito de determinar qual o melhor método teórico e o padrão interno que possa prever com maior precisão o parâmetro de deslocamentos químicos de RMN.

1.2 HIPÓTESE

Considerando que os esteroides têm sido alvo de várias pesquisas devido as suas atividades biológicas, estudos computacionais que tratam de suas conformações e estereoquímica são pouco descritos. Sabe-se que os parâmetros estruturais e eletrônicos são fundamentais para a atividade biológica e esses parâmetros podem ser previstos empregando a química computacional, onde é possível prever várias propriedades destes compostos.

1.3 JUSTIFICATIVA

Diante dos avanços e do desenvolvimento da modelagem molecular, tem-se mostrado cada vez mais necessário para o estudo e aperfeiçoamento de técnicas e métodos de determinação estrutural. A RMN é uma das técnicas mais importantes e mais utilizadas para caracterização estrutural de matérias em solução ou no estado sólido, por meio do deslocamento químico e das constantes de acoplamento, essa técnica emprega conceitos da mecânica quântica, já que o comportamento físico de sistema microscópicos é descrito corretamente por essa teoria.

O progresso da química computacional tem contribuído para o desenvolvimento de diversas áreas da química. Muitos estudos da química moderna são resultados da combinação entre cálculos teóricos e técnicas experimentais, tendo se tornado uma técnica de interesse multidisciplinar para muitas áreas da ciência. Apesar dos grandes avanços recentemente alcançados, ainda há pouco estudo na área da química quântica computacional, principalmente em relação a aplicação em esteroides, que também estão sendo muito estudados nas últimas décadas devido as suas atividades biológicas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

O desenvolvimento da química computacional, assim como em outras áreas do conhecimento humano, tem se expandido de acordo com seus fatores históricos, científicos, tecnológicos e culturais. Essa área, baseada na mecânica quântica, tem se mostrado muito promissora para o século XXI, devido a sua aplicabilidade em várias áreas, não só da química, mas de toda a ciência (LEAL, R. C., *et al.*, 2010; ARROIO, A., *et al.*, 2010; TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009).

2.1 CONTEXTO HISTÓRICO DA MECÂNICA QUÂNTICA

A Mecânica Quântica teve seu início precisamente em 1900, com a proposta de quantização de energia e a radiação de corpos negros de Max Planck, que em seguida foi discutida, em 1905, por Albert Einstein em relação ao efeito fotoelétrico. Desde então, diversos cientistas tem contribuídos para o desenvolvimento da Mecânica Quântica, chegando atualmente a cálculos de níveis atômicos e subatômicos (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009).

Ainda no início do século XX, Max Born postulou o que hoje é chamado de interpretação probabilística de Born, onde ele considera os estados estacionários para sistema atômicos quantizados, ou seja, ele leva em conta qual é a probabilidade de encontrar uma partícula em um determinado tempo t em certo espaço, denominada distribuição de probabilidade, este ficou conhecido como o primeiro postulado da Mecânica Quântica (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009, p. 10-11).

O segundo postulado nos mostra que não é possível determinar o tempo, o momento e a posição de uma partícula simultaneamente, ou seja, se for denominado o tempo e o momento da partícula, não é possível determinar a posição da mesma. Diante disso, Heisenberg em 1927, formulou o princípio da incerteza de Heisenberg. Através das propostas de de Broglie e dos resultados de Schrödinger, os postulados três e quatro, tem como base a equação de Schrödinger (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009).

Einstein explicou o fenômeno da emissão de elétrons por superfícies metálicas ao serem iluminadas, que considerou a luz como um conjunto de partículas e não como ondas. Como as ondas poderiam agir como partículas, de Broglie percebeu que o elétron que era considerado uma partícula, também poderia ter um

comportamento ondulatório (MORGON, N. H.; COUTINHO, K., 2007). Erwin Schrödinger, formulou a equação em termos de função de onda, a qual foi proposta na década de 1920, juntamente com as ideias de Planck e Born e o princípio do comportamento onda-partícula da matéria, ao mesmo tempo em que Heisenberg e Dirac, independentemente, tiveram as suas contribuições para a Mecânica Quântica (TRASIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009).

2.2 A QUÍMICA QUÂNTICA E A QUÍMICA COMPUTACIONAL

Com os avanços na ciência da computação e o crescente progresso dos algoritmos, os cálculos químicos-quânticos também têm se mostrado cada vez mais eficientes, podendo expressar propriedades estruturais e eletrônicas de estruturas complexas (ARROIO *et al*, 2010, p. 695). Para realizar os cálculos, é necessário inicialmente preparar um *input*, um arquivo de entrada, ou seja, construir a molécula desejada para o estudo, em seguida, a molécula pode ser submetida a cálculo. Para isso, existem diversos *softwares* capazes de verificar e esquematizar moléculas e configurar diversos tipos de cálculos que se deseja, gerando o *output*, arquivo de saída, onde é possível examinar os resultados obtidos (SILVA, F. I., SOUZA, J. A., 2019; WILLOUGHBY, P. H. *et al.*, 2014).

A Química Quântica tem como objetivo obter soluções para a equação de Schrödinger, para determinar precisamente propriedades de sistemas atômicos e moleculares, independentemente do tempo (MORGON, N. H.; COUTINHO, K., 2007, p. 1). Considerando que a equação de Schrödinger é muito complexa para sistemas multieletrônicos, é necessário fazer a aproximação de Born-Oppenheimer, desprezando os efeitos relativísticos (SILVA, F. I., SOUZA, J. A., 2019). “A aproximação de Born-Oppenheimer, é uma divisão do sistema que separa o movimento nuclear do movimento eletrônico” (TRZESNIAK, D. R. F., 2002). Desta forma, primeiramente, resolve-se a parte dos elétrons para cada posição fixa dos núcleos e, depois calcula-se a parte do movimento do núcleo, isso ocorre devido ao fato de que os núcleos são mais massivos do que os elétrons, por isso é possível considerar que o núcleo está “fixo” em relação ao movimento dos elétrons (SHERRILL, C. D., 2005; TRZESNIAK, D. R. F., 2002). Essa aproximação pode ser denominada Energia do Ponto Único, a qual é um tipo de cálculo que obtém

informações básicas sobre uma posição específica do núcleo em uma molécula (SILVA, F. I., SOUZA, J. A., 2019).

De acordo com a mecânica quântica, com a equação de Schrödinger é possível determinar a energia e outras propriedades de qualquer molécula, porém, devido a sua complexidade, para sistemas muito grandes, a exata resolução para essa equação é muito difícil de ocorrer devido a interação química e as possibilidades conformacionais. Diante disso, o princípio variacional busca a conformação de menor energia da função de onda, pois quanto menor a energia, melhor é a função de onda e tende a reduzir os custos computacionais, ou seja, a execução dos cálculos deve ser mais rápida (SILVA, F. I., SOUZA, J. A., 2019).

Os primeiros cientistas a efetuar cálculos via química computacional foram W. Heitler e F. London em 1927. Com a evolução da informática, na década de 1940 já era possível fazer cálculos para equações de onda em sistemas atômicos. No início da década de 1950 foram efetuados os primeiros cálculos semi-empíricos de orbitais atômicos (SANT'ANNA, C. M. R., 2009).

2.2.1 Métodos e técnicas computacionais

Os programas utilizados na química computacional são baseados em diferentes métodos de química quântica, os métodos empíricos e semi-empíricos tem como base o Hartree-Fock, que “é um método aproximado para determinar a função de onda e a energia de inúmeros corpos em um estado estacionário”, e que o movimento de um elétron não depende dos outros (SANT'ANNA, C. M. R., 2009).

Hartree em 1930, derivou equações para funções que consideravam um elétron por vez, ou seja, a partir da aproximação de Born-Oppenheimer. No ano seguinte, Vladimir A. Fock, adicionou o spin nas equações de Hartree, desta maneira, consolidou as equações Hartree-Fock (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009; MORGON, N. H.; COUTINHO, K., 2007).

Há várias técnicas de cálculos computacionais, os quais possuem diversos métodos e níveis de teoria, como o método semi-empírico, o qual emprega parâmetros experimentais através da aproximação e da simplificação das equações, limitando o tamanho do sistema para poder chegar a alguma solução e o método *ab initio*, que simplifica significativamente a equação de Schrödinger, porque não considera que possa ocorrer deslocamento dos núcleos atômicos, convertendo para uma solução

exata das equações fundamentais de acordo com o número de aproximações reduzidos. A qualidade do método semi-empírico, depende dos níveis de teorias e de suas aproximações, que dá origem a amplitude das informações (SANT'ANNA, C. M. R., 2009).

Os métodos *ab initio* e semi-empírico fornecem inúmeros parâmetros em um curto período, ainda com “descrição mais detalhada e acurada dos efeitos eletrônicos, quando se compara com os métodos empíricos” (ARROIO, A., *et al.*, 2010). Para Rothaan, os orbitais de Hartree-Fock, podem ser obtidos a partir de uma combinação de funções de bases, desta forma, surgiu a Teoria dos Orbitais Moleculares, esta teoria considera que o orbital molecular pode ser obtido através de orbitais atômicos, para um sistema com n funções de base monoelétrônicas. As funções de bases, são conjuntos de funções matemáticas que descrevem as funções de onda moleculares e atômicas (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009, p. 104-105).

Segundo Kaupp *et al.*, (2004), geralmente os cálculos computacionais são realizados para moléculas ou conjuntos isolados, sem considerar o meio e os seus efeitos, como o efeito do solvente. Para Damasceno (2009), o solvente pode influenciar nas propriedades de um composto, de diferentes maneiras, afetando a conformação da molécula, além disso, os espectros de absorção podem apresentar mudanças de acordo com as diferenças de polaridade dos solventes.

Nos últimos anos, tem se introduzido solventes com interação direta com o soluto, mas o uso de modelos que não envolvam a interação soluto-solvente, ainda é muito utilizada, pois demanda menos custo computacional. Um dos métodos de solvatação mais utilizado, é o PCM (polarizable continuum model - modelo contínuo polarizável), determinado por Tomasi (DAMASCENO, M. V. A., 2009). A escolha de solvente para os esteroides possui alguns critérios, como ser transparente à radiação UV, dissolver a amostra a uma concentração suficiente para realizar a medição e não reagir quimicamente com o composto (KASAL, A. *et al.*, 2010).

2.2.2 Teoria funcional de densidade

Para tratar de sistemas muito grandes, uma maneira de reduzir o custo computacional é utilizando o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT), proposta por Hohenberg e Kohn, em 1964. A DFT é usada para estudar a estrutura eletrônica de sistemas com muitos corpos, principalmente átomos, moléculas e

sólidos, por meio das coordenadas x, y e z, com isso, as propriedades podem ser determinadas a partir de funcionais, nesse caso, a densidade eletrônica. Eles demonstram que, em princípio, a densidade eletrônica contém toda a informação que pode ser obtida da função de onda de muitos elétrons (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009, p. 90-93).

Kohn, junto com Sham, aperfeiçoaram a teoria, utilizando um sistema de referência para a descrição, tinham a intenção de encontrar a equação do hamiltoniano para esse sistema, onde os elétrons não interagissem entre si (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009; MORGON, N. H.; COUTINHO, K., 2007). A DFT, é uma ferramenta alternativa utilizada para calcular propriedades moleculares. A densidade eletrônica, fornece conceitos químicos e definições precisas que são muito utilizadas, como, potencial químico, dureza, moleza, eletronegatividade e muitos outros. Portanto, tem sido possível o desenvolvimento de técnicas computacionais para a realização de cálculos DFT, tornando-se uma ferramenta que, estabelece uma ligação entre cálculos quânticos e as propriedades e conceitos químicos (MORGON, N. H.; COUTINHO, K., 2007, p. 84-85).

2.3 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Alguns núcleos atômicos, possuem um comportamento como se estivessem girando ao redor do seu próprio eixo, como no caso do ^{13}C e do ^1H . Quando os núcleos estão em rotação, eles agem como barras magnéticas e interagem com o campo magnético externo, quando não há um campo magnético externo, os núcleos agem de forma aleatória. Ao adicionar esses núcleos em contato com os polos de um ímã, o núcleo passará ter orientação de acordo com os polos. Se uma radiação eletromagnética for irradiada aos núcleos orientados, estes absorvem energia, e o estado de menor energia, passa o spin para o estado de maior energia, isso ocorre quando os núcleos magnéticos estão em ressonância com a radiação, este fenômeno é chamado de Ressonância Magnética Nuclear (MCMURRY. J., 2011, vol. 1, p. 416).

Quando um campo externo é aplicado, induz uma circulação dos elétrons na nuvem eletrônica, gerando campos magnéticos em diferentes partes do núcleo atômico, isso é chamado de deslocamento químico. Além disso, a técnica de Ressonância Magnética Nuclear, pode ser usada para determinar a conformação de uma molécula em solução ou em estado sólido e identificar componentes

desconhecidos dentro de uma amostra, utilizando um espectrômetro de RMN como ilustrado na Figura 1 (NASCIMENTO, C., 2016; MCMURRY. J., 2011).

FIGURA 1 – ESPECTRÔMETRO DE RMN



FONTE: REISCHI, M. S. (2015).

Os espectros de RMN, são expressos em espectros que mostram a força aplicada, a esquerda do espectro está o campo baixo e a direita o campo alto, quanto mais baixo o campo, menor é a força para que ocorra a ressonância, indicando que há pouca blindagem, desta forma, quanto maior o campo, maior é a força necessária e maior é a blindagem. A blindagem está relacionada com o movimento dos elétrons, que atuam no sentido oposto ao campo aplicado, gerando um pequeno campo magnético local, desta forma, o campo aplicado chega ao núcleo um pouco mais fraco, quanto menor a blindagem, maior é o deslocamento químico, desta forma, os núcleos com forte deslocamento químico, são considerados fortemente desblindados (MCMURRY. J., 2013; SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J., 2015).

As posições indicadas nos espectros, representam as frequências das absorções realizadas pelos núcleos, o deslocamento químico. Para determinar o deslocamento químico, é utilizado uma referência, essa não pode se sobrepor aos sinais da amostra estudada. Na Química Orgânica, o tetrametilsilano, mais conhecido como TMS, é a referência mais utilizada (MCMURRY. J., 2011).

Para escolher uma referência para espectros de RMN, é necessário que o composto seja quimicamente inerte, ou seja, que não reaja com a amostra, que seja volátil e solúvel em compostos orgânicos, que mostre um sinal intenso no espectro e que o ambiente químico do hidrogênio seja bastante blindado, dentre todas essas

características necessárias, o TMS se encaixa em todas elas (NASCIMENTO, C., 2016, p. 29-30). Entretanto, além de escolher um bom ponto de referência, deve-se determinar um solvente adequado para a amostra, que para ser o mais próximo do ideal, não deve conter hidrogênios (H), por isso se utiliza solventes deuterados (D), inertes e voláteis, além de apresentar baixo custo (SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J., 2015).

A RMN também emprega medidas quantitativas, geração de imagens tomográficas e análises físico-químicas de sistemas heterogêneos, é bastante utilizada na química orgânica para confirmar as estruturas de compostos obtidos por processos sintéticos, além de produtos naturais e a aplicação na área farmacêutica e medicinal (NASCIMENTO, C., 2016).

A elucidação da estrutura da molécula é um processo que combina métodos espectroscópicos para provar a estrutura que foi proposta. Um desses casos, é a combinação da espectroscopia de RMN junto com a espectroscopia de massa, normalmente encontrado nas indústrias farmacêuticas, onde o uso sintético e espectroscópio são necessários para derivar estruturas desconhecidas e transformá-las em produtos seguros e eficientes (XIN. D., *et al.*, 2017).

Podemos observar os estudos de Dongyue Xin *et al.* (2017), sobre a espectroscopia de massa e raio-X monocristalino, acompanhado da espectroscopia de RMN, são poderosas ferramentas usadas para determinar estruturas, sendo que a RMN superou a espectroscopia de massa na capacidade de determinar conectividade atômica, além disso, também possui vantagem sobre a cristalografia de raios-X quando os compostos não são cristalinos, pois são instáveis e podem conter impurezas. Com os avanços da RMN, expandiu-se os limites da elucidação da estrutura, sendo muito frequente em pesquisas e nas indústrias farmacêuticas, podendo diminuir custos, tempo e materiais, acelerando o processo de desenvolvimento do composto.

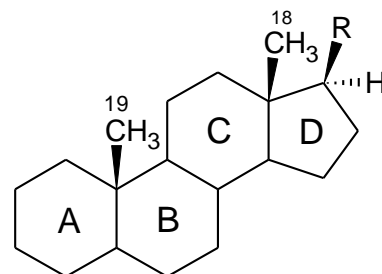
2.4 ESTEROIDES

Os esteroides são compostos derivados do triterpeno lanosterol, podem ser extraídos de vegetais e animais. Sua estrutura é formada por quatro anéis, designados A, B, C e D, sendo os três primeiros anéis de seis membros com conformação em cadeira, mas devido a sua geometria rígida, são impedidos de sofrer a inversão do

anel. Os anéis A e B podem se juntar de maneira *cis* ou *trans*, enquanto os demais geralmente são *trans* (MCMURRY. J., 2013).

Os esteroides são moléculas longas, que possuem grupos metila no C18 e no C19, que se sobressaem acima do sistema. Os esteroides *cis* A-B normalmente estão presentes no fígado e na bile. Cada esteroides possui uma função específica de acordo com suas características químicas e biológicas, que variam de acordo com os substituintes R, na Figura 2 está representado a estrutura básica de um esteroides (MCMURRY. J., 2013).

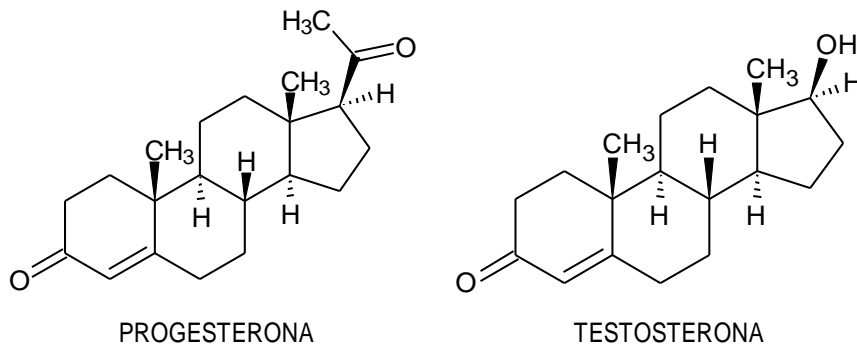
FIGURA 2 – ESTRUTURA BÁSICA DE UM ESTEROIDE



FONTE: A Autora (2019).

Em humanos, os esteroides normalmente funcionam como hormônios, que são classificados em hormônios sexuais e hormônios adrenais. Os hormônios sexuais são responsáveis pelas características sexuais masculinas e femininas, sendo a testosterona e a androsterona os principais hormônios masculinos e, a estrona e a progesterona são os principais hormônios femininos, representado na Figura 3 (MCMURRY. J., 2013).

FIGURA 3 – PRINCIPAIS HORMÔNIOS SEXUAIS HUMANOS



PROGESTERONA

TESTOSTERONA

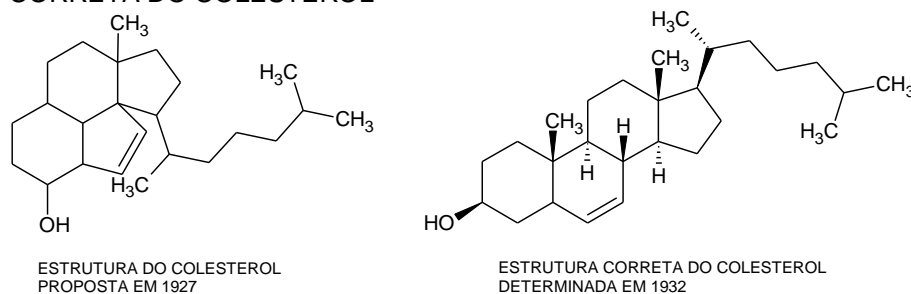
FONTE: A Autora (2019).

Os hormônios adrenais são secretados pelas glândulas adrenais, e existem dois tipos, os mineralocorticoides, que controla o inchaço dos tecidos e controla o sal

celular entre sódio e potássio, e o glucocorticoides, que regula o metabolismo da glicose e as inflamações. Os esteroides além de serem extraídos de plantas, também podem ser sintetizados para usos farmacêuticos, como por exemplo, as pílulas anticoncepcionais e os anabolizantes (MCMURRY. J., 2013).

A elucidação de uma estrutura é tão importante quanto sintetizá-la, diante disso, técnicas espectroscópicas modernas tem sido cada vez mais utilizadas. A determinação da estrutura do colesterol é um exemplo de dificuldade na determinação estrutural, Wieland e Windaus, em 1927 e 1928, receberam o Prêmio Nobel, pela proposta da estrutura do colesterol, através de dados obtidos por meio de decomposições químicas. Mais tarde, apesar de conhecerem a função do colesterol no organismo, observou-se que sua estrutura estava errada, a qual foi comprovado através de Raio-X em 1932, como ilustrado na Figura 4 (NICOLAOU, K. C.; SNYDER, S. A., 2005).

FIGURA 4 – ESTRUTURA DO COLESTEROL PROPOSTA INICIALMENTE E A ESTRUTURA CORRETA DO COLESTEROL



FONTE: A Autora (2019).

De acordo com Luo *et al.* (1993), a tenacigenina é um composto presente em uma erva medicinal distribuída em uma região da China, esta é usada para o tratamento de câncer. Para esse estudo, foram aplicados uma variedade de RMN 2D, para permitir a completa atribuição de deslocamentos químicos de prótons e carbonos para elucidar a estrutura deste esteroide. A técnica de HETCOR (Heteronuclear Correlation Spectroscopy – Espectroscopia de correlação heteronuclear) foi usada para obter as conectividades dos átomos de carbono, também fornece a configuração esteroquímica do composto. O uso da modelagem computacional contribui para a precisão e eficiência do trabalho fornecendo distâncias interatômicas e ângulos diédricos resultantes de simulações dinâmicas moleculares.

Nas últimas décadas, vários esteroides com atividade progesteronal foram descobertos, sintetizados e usados como contraceptivos e repositores hormonais,

com isso, estudos computacionais voltados a estes esteroides têm sido desenvolvidos a fim de conhecer mais este grupo de moléculas, como por exemplo, o trabalho de Colombo *et al.* (2007), a ausência de grupo metila ou de grupos funcionais altera a atividade dos esteroides. Cálculos teóricos foram realizados utilizando nível de teoria B3LYP/6-31G, além disso, dados experimentais de RMN foram utilizados para apoiar os resultados dos cálculos.

Nos estudos de Ijare *et al.* (2005), propuseram um método simples para detectar e quantificar a classe conjugada da glicina e taurina de ácidos biliares da vesícula biliar humana, usando a espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C . Os métodos comumente usados para a detecção e quantificação de ácidos biliares em fluidos corporais envolvem etapas como extração, hidrólise e purificação antes da análise de RMN.

A progesterona é um agente progestacional natural. Os agentes progestacionais, sintéticos ou naturais, são compostos capazes de transformar endométrio preparado por estrogênios em um estado secretor e são denominados progestogênios, que constituem uma das principais classes de esteroides. A medrogestona é uma progestina sintética usada no tratamento hormonal, além disso, é muito estudada na biossíntese e metabolismo do estrogênio e em células mamárias cancerígenas (PASQUALINI, J. R., 1996). Diante disso, Ferraboschi *et al.* (2015), por meio de estudos usando as técnicas de RMN e cristalografia de raio-X em estado sólido conseguiu designar a estereoquímica dos carbonos assimétricos, juntamente com suas características geométricas, relacionando-as com propriedades farmacológicas, o que é muito relevante para ajudar na definição da conformação bioativa destes compostos.

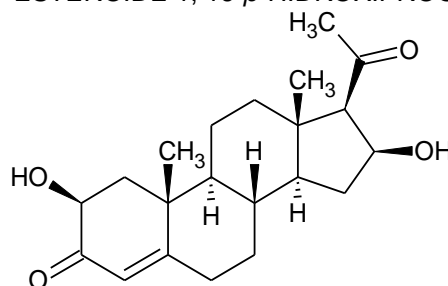
Desde o desenvolvimento da espectroscopia de RMN em 1945, tornou-se uma das principais ferramentas para a elucidação estrutural, principalmente para os compostos orgânicos, entretanto, apesar da evolução da técnica, o espectro de RMN para algumas moléculas pode não ser adequado, pois ambientes químicos semelhantes podem dificultar a identificação do deslocamento químico, como os esteroides. Diante disso, os cálculos quânticos computacionais são essenciais para a elucidação estrutural, pois através dos cálculos teóricos é possível determinar com precisão cada ambiente químico (LINDGREN, E. B.; LEAL, K. Z., 2013, In. LODEWYK, 2012).

3 METODOLOGIA

Os cálculos foram efetuados por meio de um computador Intel i7, 3.4 GHz, com sistema operacional Linux Ubuntu 16.0 LTS. Para desenho molecular, utilizou-se o programa ChemSketch™ e a seleção das bases e dos solventes foram realizadas pelo programa GaussView 4.1™. Os cálculos foram executados pelo programa Gaussian 09W™.

Inicialmente, realizou-se o cálculo de otimização da molécula, usando como nível de teoria, DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) no vácuo, em seguida, executou-se os cálculos de RMN de acordo com a Tabela 1. Para a realização dos cálculos, usou-se a 16- β -hidroxiprogesterona, Figura 5, por ser um esteroide de estrutura conhecida e por conter diversas ligações C-O, comum na maioria dos esteroides, que foi obtido a partir da hidroxilação da progesterona e a descrição dos dados de RMN se encontravam na literatura (KILLE, S. *et al.*, 2011).

FIGURA 5 – ESTEROIDE 1, 16- β -HIDROXIPROGESTERONA



FONTE: A Autora (2019).

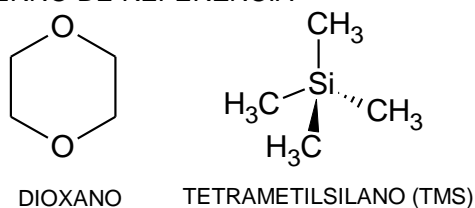
TABELA1 - NÍVEIS DE TEORIA USADOS PARA CÁLCULOS DE RMN DA 16- β -HIDROXIPROGESTERONA

| | Níveis de Teoria | | Solvatação |
|----|------------------|---------------|------------------|
| 1 | DFT/B3LYP | 6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| 2 | DFT/B3LYP | 6-311+G(2d,p) | IEFPCM (Metanol) |
| 3 | DFT/B3PW91 | 6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| 4 | DFT/B3PW91 | 6-311+G(2d,p) | IEFPCM (Metanol) |
| 5 | DFT/MPW1PW91 | 6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| 6 | DFT/MPW1PW91 | 6-311+G(2d,p) | IEFPCM (Metanol) |
| 7 | DFT/PBEPBE | 6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| 8 | DFT/PBEPBE | 6-311+G(2d,p) | IEFPCM (Metanol) |
| 9 | DFT/B3LYP | aug- cc-Pvdz | Vácuo |
| 10 | DFT/B3LYP | aug- cc-Pvdz | IEFPCM (Metanol) |
| 11 | DFT/WB97XD | 6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| 12 | DFT/WB97XD | 6-311+G(2d,p) | IEFPCM (Metanol) |
| 13 | DFT/CAM-B3LYP | 6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| 14 | DFT/CAM-B3LYP | 6-311+G(2d,p) | IEFPCM (Metanol) |

FONTE: A Autora (2019).

Como padrão interno dos cálculos teóricos de referência para a calibração dos deslocamentos químicos na espectroscopia de RMN ^{13}C e ^1H , utilizou-se o tetrametilsilano (TMS) e o dioxano+TMS, representados na Figura 6, a fim de comparar os resultados e determinar qual dos padrões é melhor para cálculos de RMN em esteroides, sendo que esse último foi usado para atenuar os efeitos relativísticos do oxigênio.

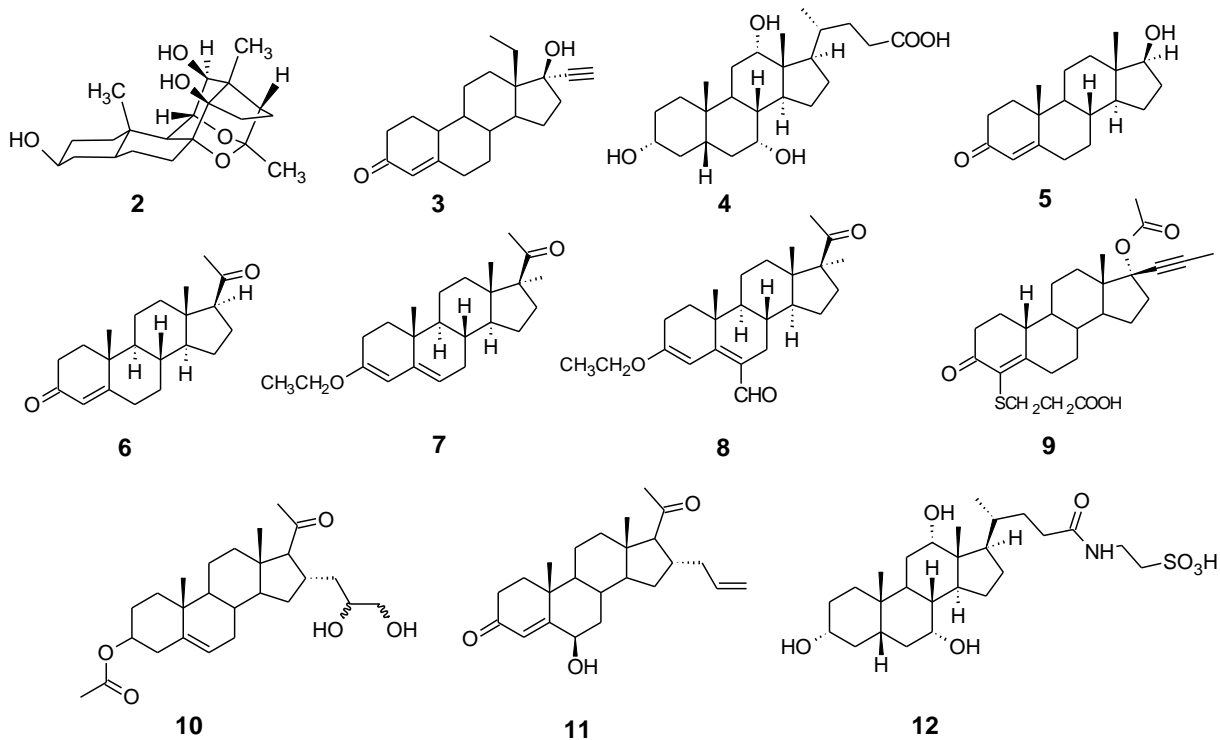
FIGURA 6 – ESTRUTURA DO DIOXANO+TMS E DO TETRAMETILSIANO USADOS COMO PADRÃO INTERNO DE REFERÊNCIA



FONTE: A Autora (2019).

Em seguida, aumentou-se o escopo de esteroides (Figura 7), para se avaliar como o método selecionado na etapa anterior se comportava num maior número de moléculas.

FIGURA 7 – ESTEROIDES



FONTE: A Autora (2019).

Realizou-se os cálculos para os esteroides de acordo com a Tabela 2. Nesta, está disposto o nível de teoria utilizado para os cálculos de otimização e posteriormente de RMN, onde os cálculos foram realizados no vácuo e com diferentes métodos de solvatação, de acordo com os métodos utilizados nos valores experimentais de cada esteroide.

TABELA 2 - NÍVEIS DE TEORIA USADOS PARA OS CÁLCULOS DE RMN EM ESTERÓIDES

| | Nível de Teoria | Solvatação |
|---------------------|-------------------------|-------------|
| Esteróide 2 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Clorofórmio |
| Esteróide 3 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Clorofórmio |
| Esteróide 4 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Água |
| Esteróide 5 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Clorofórmio |
| Esteróide 6 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Clorofórmio |
| Esteróide 7 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Piridina |
| Esteróide 8 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Clorofórmio |
| Esteróide 9 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Clorofórmio |
| Esteróide 10 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Clorofórmio |
| Esteróide 11 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Clorofórmio |
| Esteróide 12 | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Vácuo |
| | DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) | Água |

FONTE: A Autora (2019).

O esteroide 2, conhecido como tenacigenina, foi previamente isolada por Zhou e Luo, a estrutura foi analisada por cromatografia de raio-X como sendo um esteroide C₂₁ com 5 α , 17 α -pregnano-3 β , 8 α , 11 α , 12 β , 14 β -pentanol-20-ona-8, 11-cetal, possui propriedades medicinais e é usado no tratamento de câncer. Possui a estrutura básica de um esteroide, entretanto, os ciclos B e C estão ligados de maneira *cis*, enquanto os ciclos C e D formam uma “gaiola rígida” com dois anéis cetais, e possui diversas hidroxilas (LUO, Si-Qi *et al.*, 1993).

O esteroide 3, também chamado de levonorgestrel, é um tipo de progesterona sintética, usado como contraceptivo hormonal, seu nome de acordo com a IUPAC é (8*R*, 9*S*, 10*R*, 13*S*, 14*S*, 17*R*)-13-etil-17-etinil-17-hidroxi-1,2,6,7,8,9,10,11,12,14,15,16-dodeca-hidrociclopenta [a] fenantreno-3-ona. Sua estrutura é composta por

quatro ciclos, um grupamento cetona e outro álcool, ligados aos carbonos 13 e 17 há um etano e um etino respectivamente (COLOMBO, D. *et al.*, 2007).

Os esteroides 4 e 12, ácido cólico e o ácido taurocólico respectivamente, são ácidos biliares conjugados da glicina e da taurina na bÍlis humana. O esteroide 4 possui hidroxilas nos C2, C8 e C13, e um ácido carboxÍlico no C17. O esteroide 12, é conjugado com a taurina no C17, possui hidroxilas nos C2, C8 e C13 (IJARE, O. B. *et al.*, 2005).

O esteroide 5, é a 17β -hidróxi-4-androsten-3-ona, também chamada de testosterona, é o principal hormônio masculino, com uma dupla ligação no C3, grupamento cetona no C2, uma hidroxila no C23, é sintetizado nos testÍculos a partir do colesterol, e conhecido como um dos hormônios androgênicos, que são responsáveis pelo desenvolvimento das características masculinas (HAYAMIZU, K. *et al.*, 1990).

Os esteroides 6, 7 e 8 são, progesterona, 17α -metil-3-etoxi-pregna-3,5-dien-20-ona e 3-etoxi-6-formil- 17α -metil-3,5-pregnadien-20-ona, respectivamente, a progesterona é um hormônio feminino produzido nos ovários e é essencial para a preparação e a implementação de um óvulo fertilizado. Possui um grupamento cetona no C2, uma dupla ligação no C3 e no C17 uma acetila. Enquanto os esteroides 7 e 8 são agentes progestacionais sintéticos usados como repositores hormonais, o esteroide 7 possui um etóxi e uma dupla ligação no C2, e uma dupla ligação no C4, no C17 uma metila e acetila que se sobressaem ao plano, e o esteroide 8 se diferencia do 7 apenas pela presença de um grupamento aldeído no C7 (FERRABOSCHI, P. *et al.*, 2015).

Os esteroides 9, 10 e 11, são esteroides progestacionais e a pregnenolona, que é produzida a partir do colesterol através das glândulas suprarrenais, mas também pode ser sintetizada em outros órgãos como os ovários. O esteroide 9 é um agente progestacional sintéticos, que possui como função, inibir a ação do estrogênio, ou seja, é usado como contraceptivo. Possui um grupamento cetona no C2, uma dupla ligação e ácido sulfanilpropanóico no C3, um grupamento éster e um propino ligados ao C17. O esteroide 10 é um composto sintético derivado da progesterona, com um grupamento éster no C2, uma dupla ligação no C4, um propil-diol no C15 e uma grupo acetil no C17. O esteroide 11 também é um composto derivado da progesterona, possui grupamento cetona no C2, uma dupla ligação no C3, uma hidroxila no C7, um propeno ligado ao C16 e no C17 um grupo acetil (KORDE, S. S. *et al.*, 1999).

Para auxiliar na análise, foram calculados o MAD (Mean Absolute Deviation – Desvio Médio Absoluto), que corresponde a média dos desvios de cada deslocamento químico calculado em relação ao deslocamento químico experimental, equação 1, e o RMSE (Root Mean Squared Error – Erro Médio Quadrático da Raiz) que fornece informações sobre o quanto os pontos estão próximos da linha de tendência em cada regressão linear, equação 2:

$$MAD = \frac{\sum_{i=0}^n |\delta_{exp} - \delta_{cal}|}{n} \quad (1)$$

$$RMSE = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(\delta_{exp} - \delta_{calc})^2}{n}} \quad (2)$$

Para determinar os valores teóricos para o ^{13}C e ^1H , usando o TMS, basta fazer a subtração do valor do deslocamento químico, de acordo com a equação 3, usando o dioxano+TMS, também é necessário incluir os valores experimentais, de acordo com a equação 4:

$$\delta = \sigma_{cal} - \sigma_{cal. TMS} \quad (3)$$

$$\delta = \sigma_{dioxano} - \sigma_{cal} + \delta_{dioxano exp.} \quad (4)$$

Os valores experimentais usados para o cálculo de RMN ^{13}C e ^1H do dioxano estão dispostos na Tabela 3.

TABELA 3 - VALORES DE DESLOCAMENTO QUÍMICO EXPERIMENTAIS DE ^{13}C E ^1H DO DIOXANO

| Solvente | ^{13}C (ppm) | ^1H (ppm) |
|-----------------|---|--------------------------------------|
| Metanol | 68,1 | 3,66 |
| Clorofórmio | 67,1 | 3,71 |
| Água | 67,2 | 3,75 |
| Piridina | 67,7 | 3,61 |

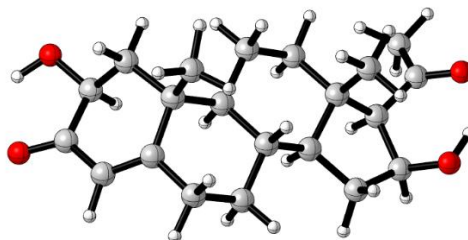
FONTE: Adaptado de FULMER, Gregory R. et al, 2010.

Após a obtenção desses dados, foi analisado qual seria o melhor método em potencial. Para isso foram verificados os seguintes fatores: 1) menores valores de MAD e RMSE; 2) menor custo computacional.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na primeira etapa, obteve-se os valores calculados para cada carbono e para cada o hidrogênio, através dos cálculos computacionais, e os valores calculados foram obtidos através das equações 3 e 4. Os cálculos foram executados para a 16- β -hidroxiprogesterona (esteroide 1), representado na Figura 8, os mesmos, foram executados para o tetrametilsilano (TMS) e para o dioxano acoplado ao TMS, ambos utilizados como padrão interno, sendo o segundo, utilizado para amenizar os efeitos relativísticos do oxigênio. Na Tabela 4 estão descritos os valores de deslocamentos químicos para o TMS e o dioxano calculados.

FIGURA 8 – ESTRUTURA 3D DO ESTEROIDE 1, 16- β -HIDROXIPROGESTERONA



FONTE: A Autora (2019).

TABELA 4 - VALORES DE DESLOCAMENTO QUÍMICO DO TMS E DO DIOXANO UTILIZANDO DIFERENTES NÍVEIS DE TEORIA

| | TMS ¹³ C (ppm) | TMS ¹ H (ppm) | Dioxano ¹³ C (ppm) | Dioxano ¹ H (ppm) |
|----|---------------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 1 | 183,4 | 31,95 | 112,1 | 28,29 |
| 2 | 184,1 | 31,95 | 112,2 | 28,19 |
| 3 | 186,4 | 31,84 | 116,8 | 28,94 |
| 4 | 186,9 | 31,83 | 116,8 | 28,13 |
| 5 | 187,4 | 31,82 | 118,2 | 28,24 |
| 6 | 187,9 | 31,82 | 118,2 | 28,13 |
| 7 | 184,3 | 31,72 | 112,4 | 27,99 |
| 8 | 184,9 | 31,71 | 112,5 | 27,89 |
| 9 | 192,6 | 31,80 | 124,6 | 28,06 |
| 10 | 193,2 | 31,81 | 124,7 | 27,96 |
| 11 | 188,2 | 31,99 | 119,2 | 28,34 |
| 12 | 188,9 | 31,90 | 119,2 | 28,43 |
| 13 | 186,5 | 31,90 | 115,8 | 28,25 |
| 14 | 187,1 | 31,90 | 115,8 | 28,14 |

1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 2 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 4 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 6 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 7 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 8 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 9 - DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-Vácuo; 10 - DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol); 11 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 12 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 13 - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 14 - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

Após realizados todos os cálculos e determinar os valores teóricos, calculou-se o MAD e o RMSE. Além disso, utilizou-se o TMS e o dioxano para comparar os resultados e determinar qual padrão é o mais adequado para a calibração dos deslocamentos químicos na espectroscopia de RMN ^{13}C e ^1H . Na Tabela 5 estão os resultados de MAD e RMSE usando o TMS como padrão, e na Tabela 6, estão os resultados de MAD e RMSE utilizando o dioxano+TMS como padrão.

TABELA 5 - VALORES DE MAD E RMSE USANDO O TMS COMO PADRÃO INTERNO

| | MAD (ppm) | | RMSE (ppm) | |
|----|-----------------|--------------|-----------------|--------------|
| | ^{13}C | ^1H | ^{13}C | ^1H |
| 1 | 5,001 | 0,177 | 22,661 | 0,002 |
| 2 | 6,258 | 0,222 | 28,523 | 0,315 |
| 3 | 3,711 | 0,185 | 15,973 | 0,044 |
| 4 | 5,227 | 0,224 | 23,201 | 0,401 |
| 5 | 3,553 | 0,309 | 15,068 | 0,539 |
| 6 | 4,784 | 0,211 | 20,914 | 0,309 |
| 7 | 5,191 | 0,253 | 23,786 | 0,571 |
| 8 | 6,504 | 0,305 | 29,804 | 0,899 |
| 9 | 3,232 | 0,194 | 13,174 | 0,232 |
| 10 | 4,402 | 0,262 | 18,734 | 0,671 |
| 11 | 3,438 | 0,194 | 14,524 | 0,175 |
| 12 | 4,635 | 0,203 | 20,192 | 0,162 |
| 13 | 4,506 | 0,193 | 20,149 | 0,224 |
| 14 | 5,763 | 0,194 | 26,001 | 0,181 |

1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 2 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
 3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 4 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
 5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 6 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM
 (Metanol); 7 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 8 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM
 (Metanol); 9 - DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-Vácuo; 10 - DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol);
 11 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 12 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 13
 - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 14 - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

TABELA 6 - VALORES DE MAD E RMSE USANDO O DIOXANO+TMS COMO PADRÃO INTERNO (continua)

| | MAD (ppm) | | RMSE (ppm) | |
|----|-----------------|--------------|-----------------|--------------|
| | ^{13}C | ^1H | ^{13}C | ^1H |
| 1 | 2,679 | 0,177 | 8,148 | 0,018 |
| 2 | 3,420 | 0,201 | 11,292 | 0,153 |
| 3 | 2,922 | 0,203 | 10,703 | 0,326 |
| 4 | 3,648 | 0,208 | 13,806 | 0,213 |
| 5 | 2,833 | 0,328 | 10,348 | 0,914 |
| 6 | 3,549 | 0,201 | 13,353 | 0,168 |
| 7 | 2,712 | 0,224 | 6,647 | 0,243 |
| 8 | 3,389 | 0,230 | 9,916 | 0,149 |
| 9 | 3,353 | 0,183 | 13,953 | 0,143 |
| 10 | 4,070 | 0,199 | 16,855 | 0,219 |
| 11 | 2,813 | 0,195 | 10,583 | 0,222 |
| 12 | 3,479 | 0,323 | 13,18 | 1,053 |
| 13 | 2,866 | 0,189 | 8,602 | 0,177 |
| 14 | 3,628 | 0,195 | 11,519 | 0,288 |

TABELA 6 - VALORES DE MAD E RMSE USANDO O DIOXANO+TMS COMO PADRÃO INTERNO
(conclusão)

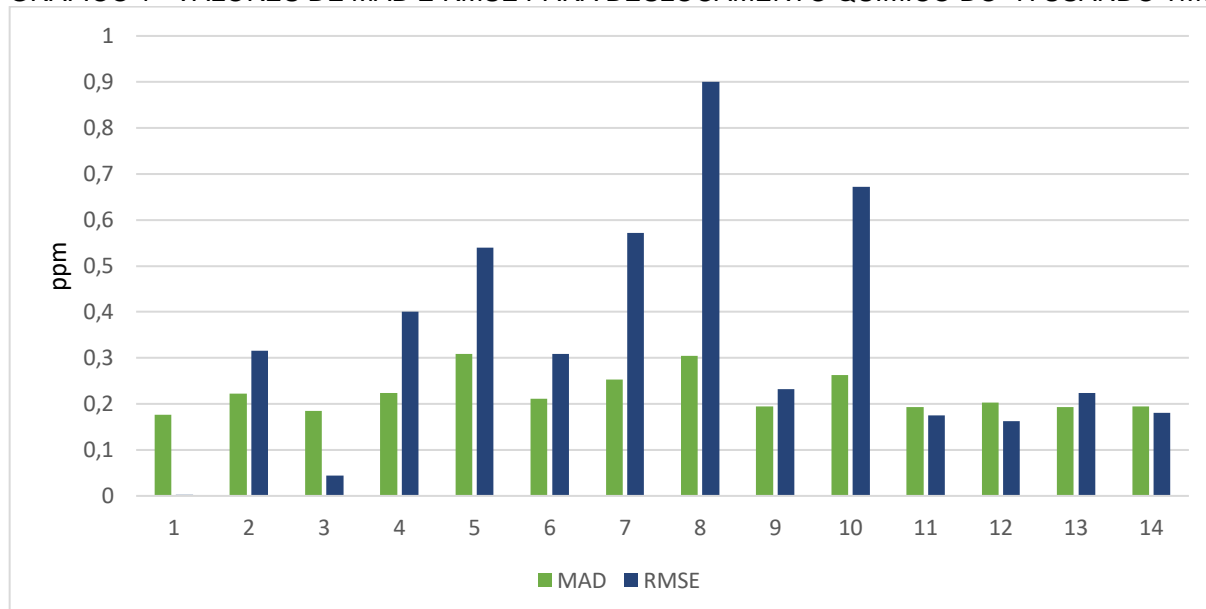
1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM
(Metanol); **7** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM
(Metanol); **9** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol);
11 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13**
- DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

Diante dos resultados obtidos e descritos nas Tabelas 5 e 6, construiu-se gráficos para analisar e comparar os resultados em diferentes aspectos. No gráfico 1, é possível observar os valores de MAD e RMSE, para o deslocamento de ^1H , utilizando o TMS como referência dos cálculos de RMN.

Analisando o Gráfico 1, observa-se que há vários níveis de teoria com percentual de erro abaixo de 0,2 ppm, porém, os métodos que mais se destacam são o 1 e o 3, DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-vácuo e DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-vácuo, respectivamente, com resultados de RMSE bem próximos de zero, que demonstra que os valores experimentais e teóricos estão próximos da linha de tendência, ou seja, os valores previstos estão próximos dos valores reais.

GRÁFICO 1 - VALORES DE MAD E RMSE PARA DESLOCAMENTO QUÍMICO DO ^1H USANDO TMS



1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM
(Metanol); **7** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM
(Metanol); **9** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol);
11 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13**
- DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

No Gráfico 2, observa-se os valores de MAD e RMSE para o deslocamento químico para o ^{13}C , utilizando o TMS como padrão interno de referência. Pode-se observar que os métodos que obtiveram os valores mais satisfatórios foram o 5, 9 e 11, DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo, DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-Vácuo e DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo, respectivamente, com resultados de MAD abaixo de 5 ppm e de RMSE abaixo de 15 ppm.

GRÁFICO 2 - VALORES DE MAD E RMSE PARA DESLOCAMENTO QUÍMICO DO ^{13}C USANDO TMS

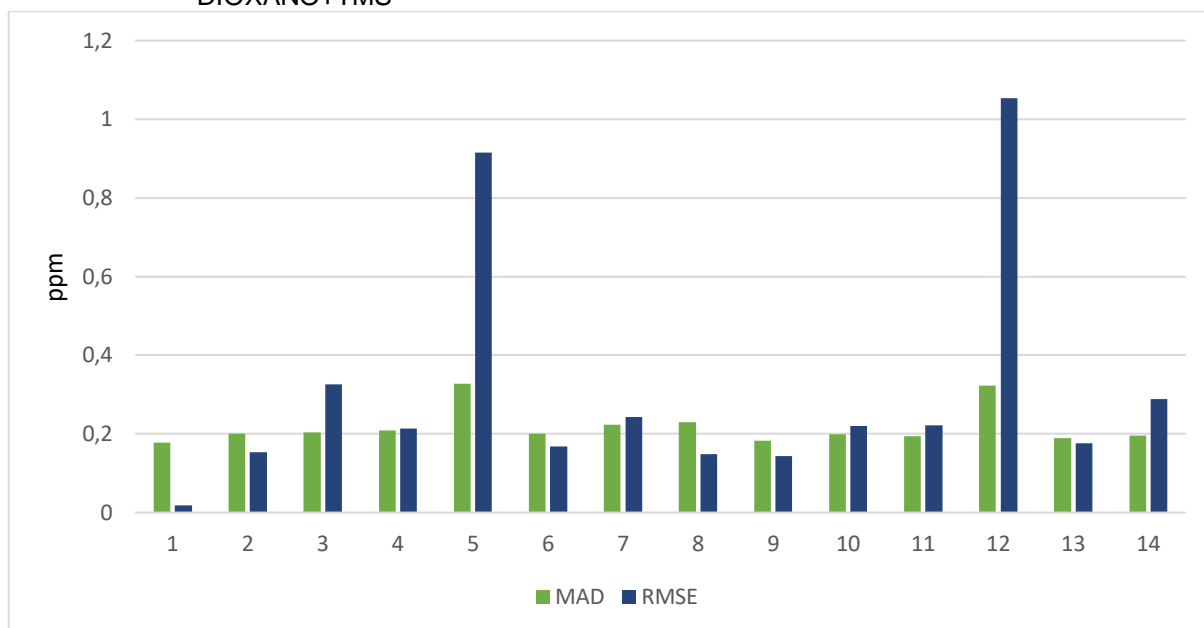


1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **7** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **9** - DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol); **11** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

No Gráfico 3, observamos os valores de MAD e RMSE dos deslocamentos químicos do ^1H , usando como padrão interno de referência, dioxano+TMS, podemos ver que os valores de MAD e RMSE ficaram bem próximos, exceto os métodos 5 e 12, DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-vácuo e DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM(metanol), respectivamente, que apresentaram valores bem elevados de RMSE, além disso, o método que apresentou os melhores resultados foi o 1, DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-vácuo, onde apresentou resultados de MAD abaixo de 0,2 ppm e de RMSE próximo de zero.

GRÁFICO 3 - VALORES DE MAD E RMSE PARA DESLOCAMENTO QUÍMICO DO ¹H USANDO DIOXANO+TMS



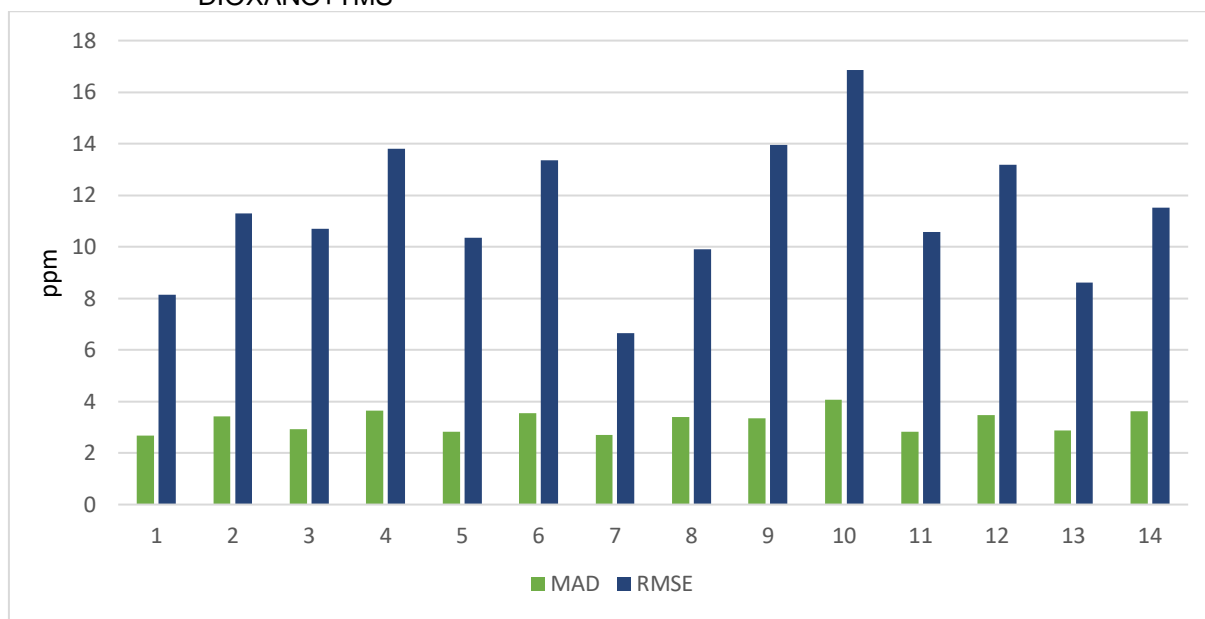
1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **7** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **9** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol); **11** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

Observa-se que ao analisar os resultados, os cálculos usando o dioxano+TMS como padrão interno de referência, obtiveram resultados melhores em relação aos resultados obtidos usando o TMS, podemos observar isso ao comparar o Gráfico 3 com o Gráfico 1, onde ambos apresentam os resultados de MAD e RMSE para o deslocamento químico de ¹H. Enquanto no Gráfico 3, quase todos os resultados estão próximos ou abaixo de 0,2 ppm, e no Gráfico 1 há vários com resultados acima de 0,2 ppm, diante disso, pode-se determinar que o erro percentual da acurácia é menor utilizando o dioxano+TMS para calibração dos deslocamentos químicos de RMN de esteroides, devido o efeito dos átomos de oxigênio.

No Gráfico 4, observamos os valores de MAD e RMSE para os deslocamentos químicos do ¹³C, usando como padrão interno de referência o dioxano+TMS, podemos ver que os valores de MAD ¹³C são menores em relação aos valores de RMSE, como já visto também no Gráfico 2.

GRÁFICO 4 - VALORES DE MAD E RMSE PARA DESLOCAMENTO QUÍMICO DO ^{13}C USANDO DIOXANO+TMS



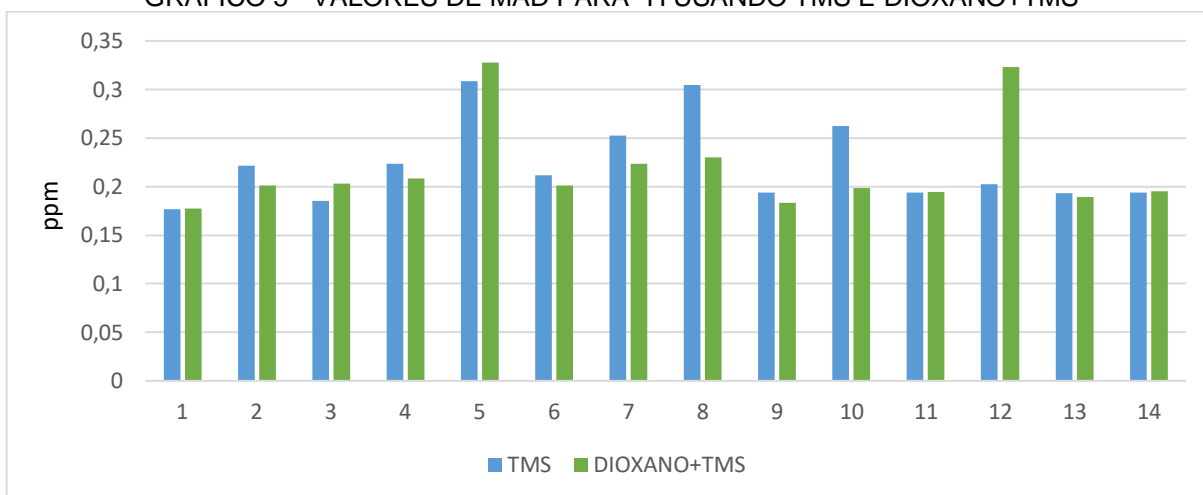
1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 2 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 4 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 6 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 7 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 8 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 9 - DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-Vácuo; 10 - DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol); 11 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 12 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); 13 - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; 14 - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

Ao analisarmos o gráfico, é possível observar que os métodos que apresentaram os melhores resultados foram 1 e 7, DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-vácuo e DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-vácuo, respectivamente. Novamente, observamos que os resultados que empregam dioxano+TMS como padrão interno de referência, tem sido melhores em relação ao uso do TMS apenas, portanto, após analisar os níveis de teoria, determina-se que o uso de dioxano+TMS é o melhor para calibração de deslocamento químico de RMN de ^1H e ^{13}C de esteroides.

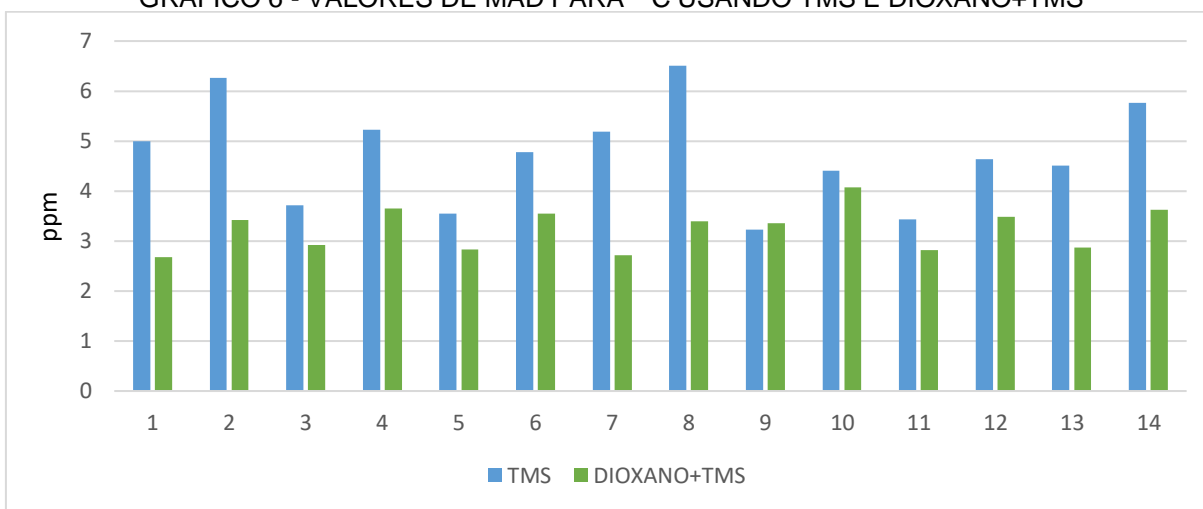
No Gráfico 5, podemos comparar os resultados de MAD para o ^1H , obtidos através do TMS e do dioxano+TMS. No gráfico, observa-se que os valores estão quase todos bem próximos, e somente por meio deste gráfico, não é possível dizer qual padrão de referência é melhor para cálculos em esteroides.

No Gráfico 6, pode-se comparar os valores de MAD para o ^{13}C , usando o TMS e o dioxano+TMS, sendo que agora é possível observar que os valores de MAD calculados usando o dioxano+TMS foram menores do que os resultados calculados usando o TMS em todos os níveis de teoria.

GRÁFICO 5 - VALORES DE MAD PARA ^1H USANDO TMS E DIOXANO+TMS

1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **7** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **9** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol); **11** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

GRÁFICO 6 - VALORES DE MAD PARA ^{13}C USANDO TMS E DIOXANO+TMS

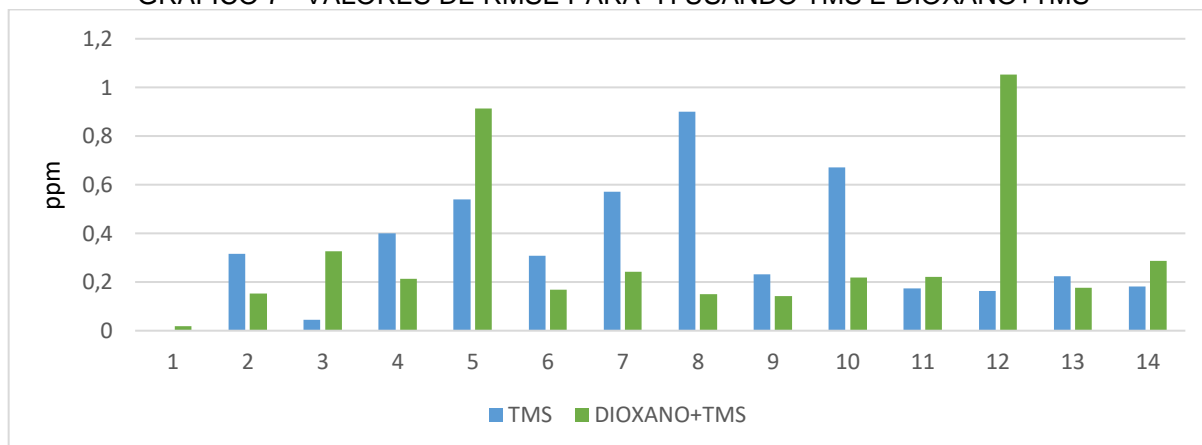
1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **7** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **9** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol); **11** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

No Gráfico 7, comparamos os valores de RMSE para ^1H calculados usando tanto o TMS quanto o dioxano+TMS, podemos verificar que para alguns métodos, o TMS mostrou-se ser o melhor padrão interno, e para outros, o dioxano+TMS apresentou melhores resultados.

No Gráfico 8, é possível visualizar que os resultados para os valores de RMSE ^{13}C usando o dioxano+TMS como referência, foram melhores em relação aos resultados obtidos com o TMS.

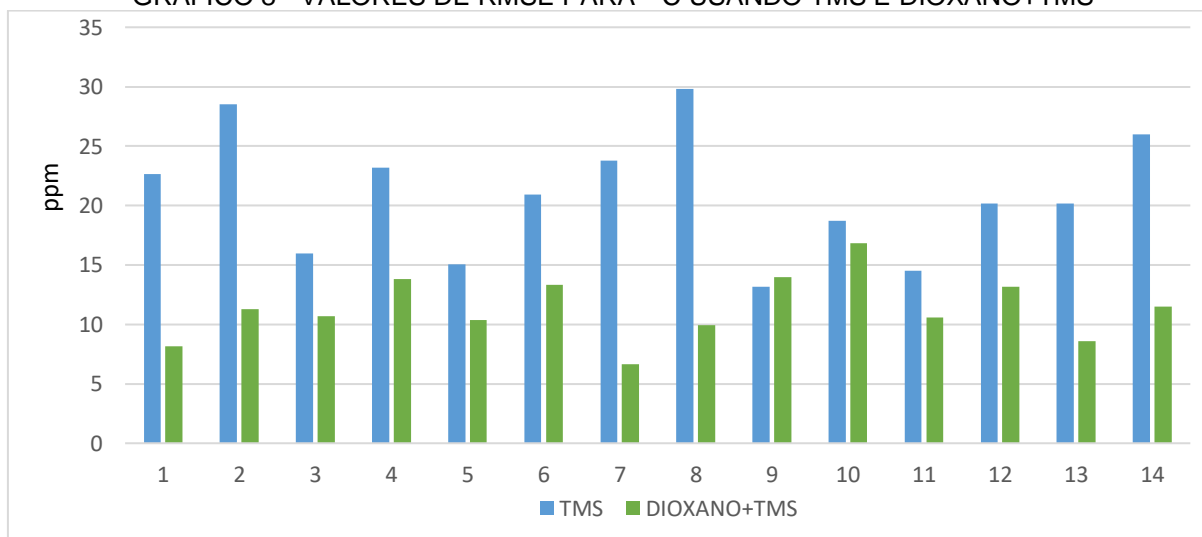
GRÁFICO 7 - VALORES DE RMSE PARA ^1H USANDO TMS E DIOXANO+TMS



1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
7 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
9 - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol);
11 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

GRÁFICO 8 - VALORES DE RMSE PARA ^{13}C USANDO TMS E DIOXANO+TMS



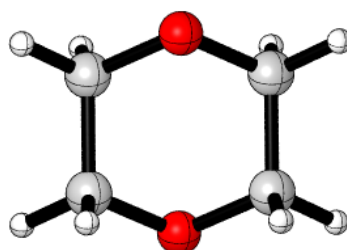
1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
7 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
9 - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol);
11 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

Através dos Gráficos 5, 6, 7 e 8, determinou-se que o uso do dioxano+TMS é melhor como padrão interno de referência para calibração dos deslocamentos químicos na espectroscopia de RMN para ^{13}C e ^1H em esteroides, pois apresentou menores valores de MAD e RMSE.

Os esteroides são moléculas orgânicas que possuem diversos átomos de oxigênio, por isso, o dioxano apresentou os melhores resultados de calibração. O dioxano é um composto heterocíclico que possui dois átomos de oxigênio, sendo eles na posição 1 e 4, como demonstrado na Figura 9.

FIGURA 9 - ESTRUTURA EM 3D DO DIOXANO

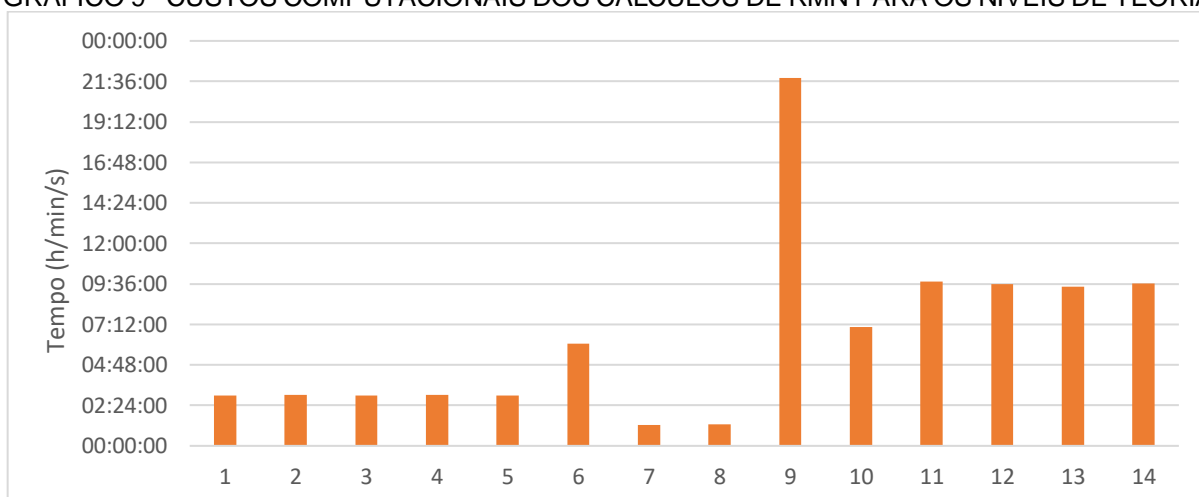


FONTE: A Autora (2019).

Em relação aos níveis de teoria, vários apresentaram bons resultados para cálculos em esteroides, porém, o que melhor apresentou foi o DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-vácuo, além disso, avaliou-se os custos computacionais para todas as bases, ou seja, quanto tempo os cálculos demoraram para serem executados, como demonstrado no Gráfico 9.

O nível de teoria DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-vácuo (1), além de apresentar bons resultados para o MAD e o RMSE, também não consumiu muito tempo computacional, 02h:58min:34s. Os níveis 7 e 8 tiveram um custo computacional menor, de 01h:14min:39s e 01h16min:23s, respectivamente, mas em relação ao percentual de erro e as aproximações dos valores não mostrou bons resultados. O nível 9 teve um grande custo computacional, pois a base utilizada requer bastante tempo e espaço para a execução do cálculo, o que torna este um método desfavorável.

GRÁFICO 9 - CUSTOS COMPUTACIONAIS DOS CÁLCULOS DE RMN PARA OS NÍVEIS DE TEORIA



Utilizou-se 1GB de memória e 3 núcleos de processamento para os cálculos.

1 - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **2** - DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
3 - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **4** - DFT/B3PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
5 - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **6** - DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
7 - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **8** - DFT/PBEPBE/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol);
9 - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-Vácuo; **10** - DFT/B3LYP/aug- cc-pVDZ-IEFPCM (Metanol);
11 - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **12** - DFT/WB97XD/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol); **13** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-Vácuo; **14** - DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p)-IEFPCM (Metanol)

FONTE: A Autora (2019).

A Teoria Funcional de Densidade (DFT), demonstra que a energia do sistema pode ser determinada através da densidade eletrônica no seu estado fundamental. O B3LYP, é um funcional híbrido, um dos métodos mais rápidos e que normalmente traz resultados satisfatórios. Empregado a isso, temos o conjunto de bases 6-311+G(2d,p), onde abrange 6 funções gaussianas, o (2d,p) são as funções de polarização no conjunto de bases de um elevado número quântico. Para cálculos que envolvem cargas ou moléculas no estado excitado, adiciona-se as funções difusas "+", desta maneira, podemos representar melhor os átomos pesados e melhor descrever a camada de valência para determinar a energia do sistema (TRSIC, M.; PINTO, M. F. S., 2009). Além disso, segundo Lindgren e Leal (2013), esse método é muito utilizado para cálculos dos tensores de blindagem magnética nuclear.

Quanto aos outros métodos teóricos utilizados, "o MPW1PW9, é característico por apresentar funcionais alternativos e ser semelhante ao B3LYP para cálculos de blindagem magnética nuclear". O B3PW91 pode ser utilizado "tanto para a otimização da geometria, quanto para os cálculos de tensores de blindagem", além de empregar bases de valência polarizada, enquanto as outras utilizam separadamente (LINDGREN, E. B.; LEAL, K. Z., 2013, In. LODEWYK, M. W.; *et al.*, 2012).

Após determinar qual o melhor método teórico para os esteroides, utilizou-se a mesma para os cálculos de RMN nos demais esteroides, que estão representados na Figura 10. Para essa etapa, utilizou-se o nível de teoria DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) para os cálculos de RMN. Como solvente, utilizou-se metanol, piridina, água e clorofórmio, de acordo com os dados experimentais obtidos na literatura, além dos cálculos no vácuo.

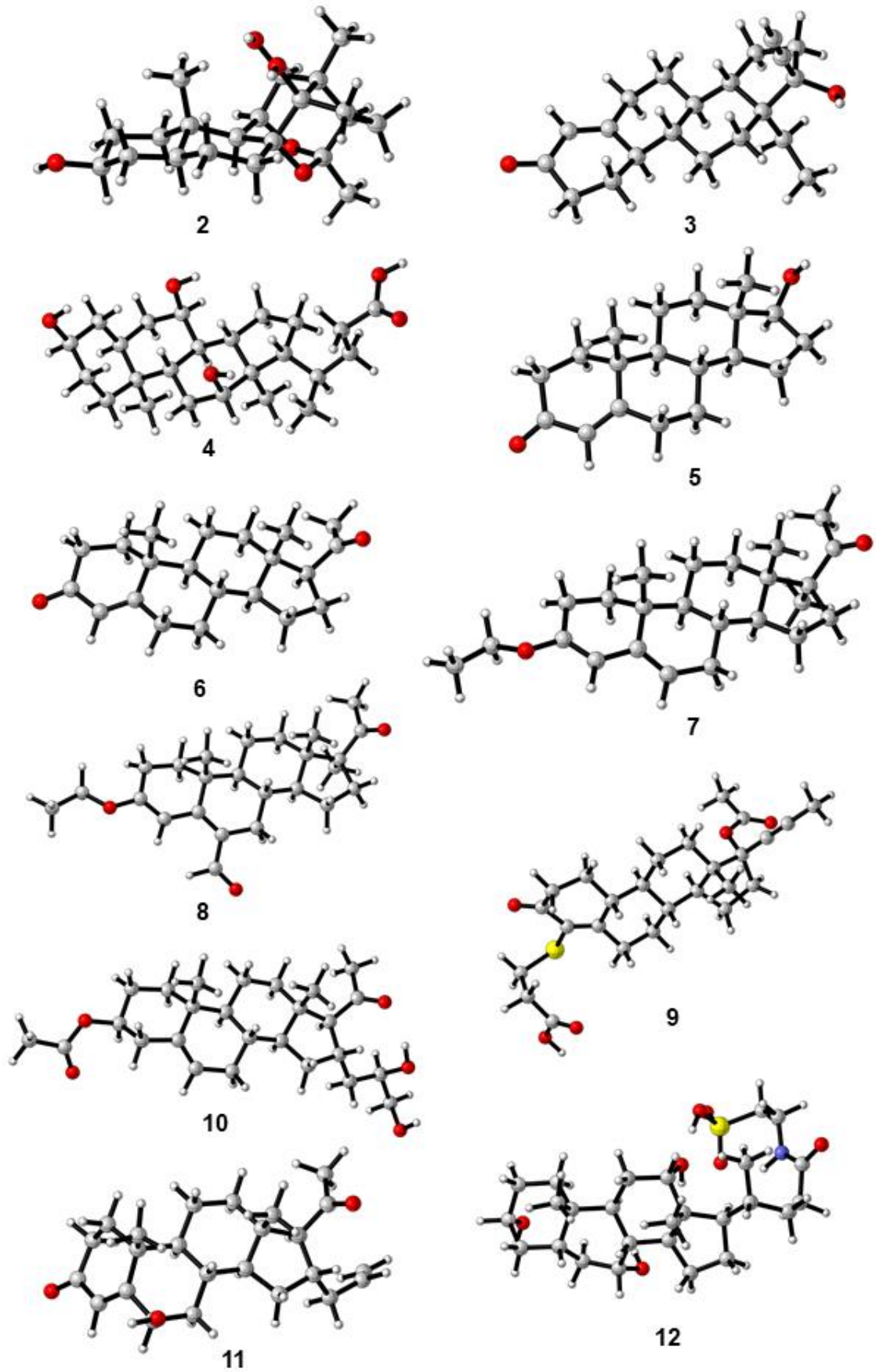
Inicialmente realizou-se o cálculo de otimização para todas moléculas, a otimização busca a estrutura de menor energia e deixar o sistema mais estável, sendo possível, obter resultados mais precisos (SILVA, F. I., SOUZA, J. A., 2019). Em seguida, executou-se os cálculos de RMN com a melhor base determinada na etapa anterior, de acordo com a Tabela 2. Diante dos resultados obtidos, determinou-se o deslocamento químico teórico de ^{13}C e ^1H e calculou-se o MAD e o RMSE para verificar o erro percentual e o quão próximos os valores teóricos estão dos valores experimentais, que estão descritos na Tabela 7 e plotados nos gráficos 10 e 11.

TABELA 7 – RESULTADOS DE MAD E RMSE PARA OS ESTEROIDES UTILIZANDO O DIOXANO+TMS COMO REFERÊNCIA E O NÍVEL DE TEORIA DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-VÁCUO

| | MAD (ppm) | | RMSE (ppm) | |
|--------------------------|-----------------|--------------|-----------------|--------------|
| | ^{13}C | ^1H | ^{13}C | ^1H |
| E1 – Vácuo | 2,68 | 0,17 | 8,15 | 0,018 |
| E1 – IEFPCM/Metanol | 3,42 | 0,20 | 11,29 | 0,15 |
| E2 – Vácuo | 2,16 | 0,11 | 3,44 | 0,32 |
| E2 – IEFPCM/Clorofórmio | 2,11 | 0,10 | 2,99 | 0,17 |
| E3 – Vácuo | 1,42 | 0,09 | 3,67 | 0,08 |
| E3 – IEFPCM/Clorofórmio | 1,72 | 0,09 | 5,68 | 0,15 |
| E4 – Vácuo | 2,74 | 0,12 | 12,56 | 0,05 |
| E4 – IEFPCM/Água | 2,41 | 0,09 | 11,24 | 0,23 |
| E5 – Vácuo | 1,74 | 0,15 | 2,72 | 0,32 |
| E5 – IEFPCM/Clorofórmio | 2,01 | 0,13 | 4,50 | 0,13 |
| E6 – Vácuo | 2,18 | 0,33 | 5,46 | 0,20 |
| E6 – IEFPCM/Clorofórmio | 2,68 | 0,33 | 2,47 | 0,08 |
| E7 – Vácuo | 3,72 | 0,19 | 11,03 | 0,51 |
| E7 – IEFPCM/Piridina | 4,05 | 0,15 | 12,29 | 0,39 |
| E8 – Vácuo | 2,53 | 0,19 | 4,35 | 0,03 |
| E8 – IEFPCM/Clorofórmio | 2,88 | 0,21 | 6,86 | 0,25 |
| E9 – Vácuo | 2,94 | 0,24 | 6,17 | 0,46 |
| E9 – IEFPCM/Clorofórmio | 3,11 | 0,19 | 8,34 | 0,21 |
| E10 – Vácuo | 2,10 | 0,23 | 4,29 | 0,03 |
| E10 – IEFPCM/Clorofórmio | 2,29 | 0,20 | 5,23 | 0,18 |
| E11 – Vácuo | 2,95 | 0,23 | 7,92 | 0,02 |
| E11 – IEFPCM/Clorofórmio | 3,42 | 0,23 | 10,42 | 0,24 |
| E12 – Vácuo | 3,74 | 0,23 | 11,12 | 0,16 |
| E12 – IEFPCM/Água | 3,71 | 0,21 | 10,90 | 0,35 |

FONTE: A Autora (2019).

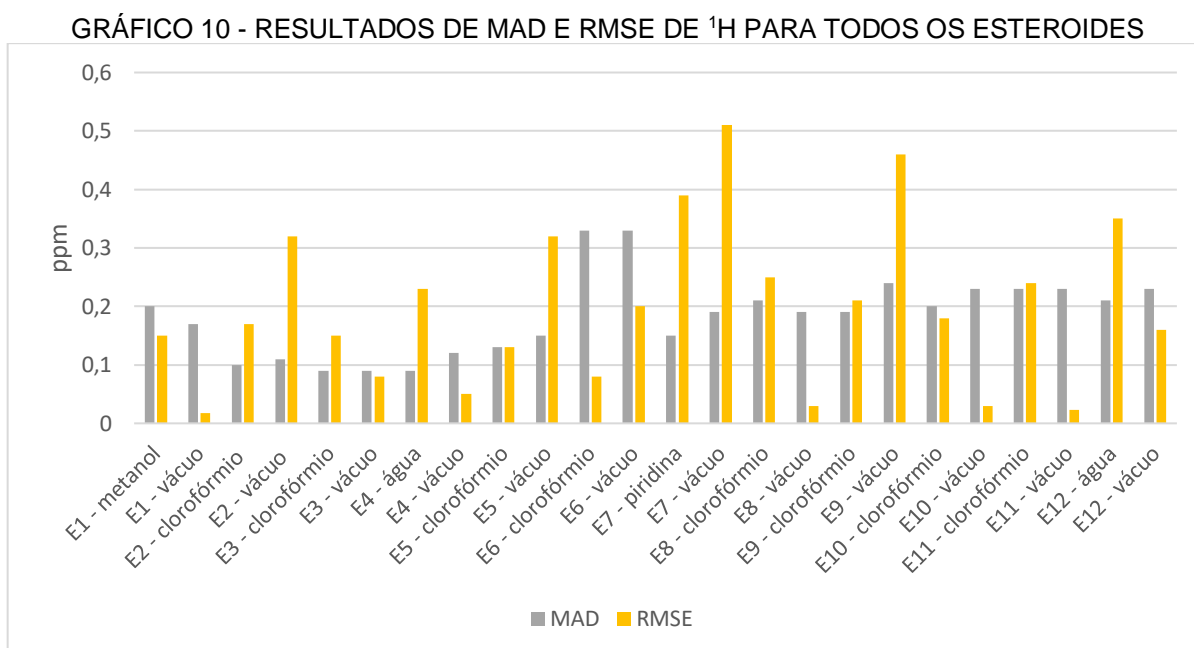
FIGURA 10 – ESTRUTURA EM 3D DOS ESTEROIDES



FONTE: A Autora (2019).

No Gráfico 10, observa-se os resultados de MAD e RMSE do ^1H , para todos os esteroides. Os valores de MAD foram abaixo ou bem próximos de 0,2 ppm e de RMSE estão abaixo ou bem próximos de 0,3 ppm. Para os esteroides 1, 3, 4, 8, 10 e 11, no vácuo apresentaram valores abaixo de 0,1 ppm, isso representa que o percentual de erro foi bem baixo e que os valores teóricos estão bem próximos dos valores experimentais.

O esteroide 7, apresentou resultados de RMSE bem elevados, tanto para o cálculo no vácuo, quanto com o solvente piridina e também o esteroide 9 no vácuo, os resultados teóricos não foram tão próximos dos resultados experimentais, o nível de teoria proposto ou o método de solvatação escolhido, pode não ser adequado para o composto.



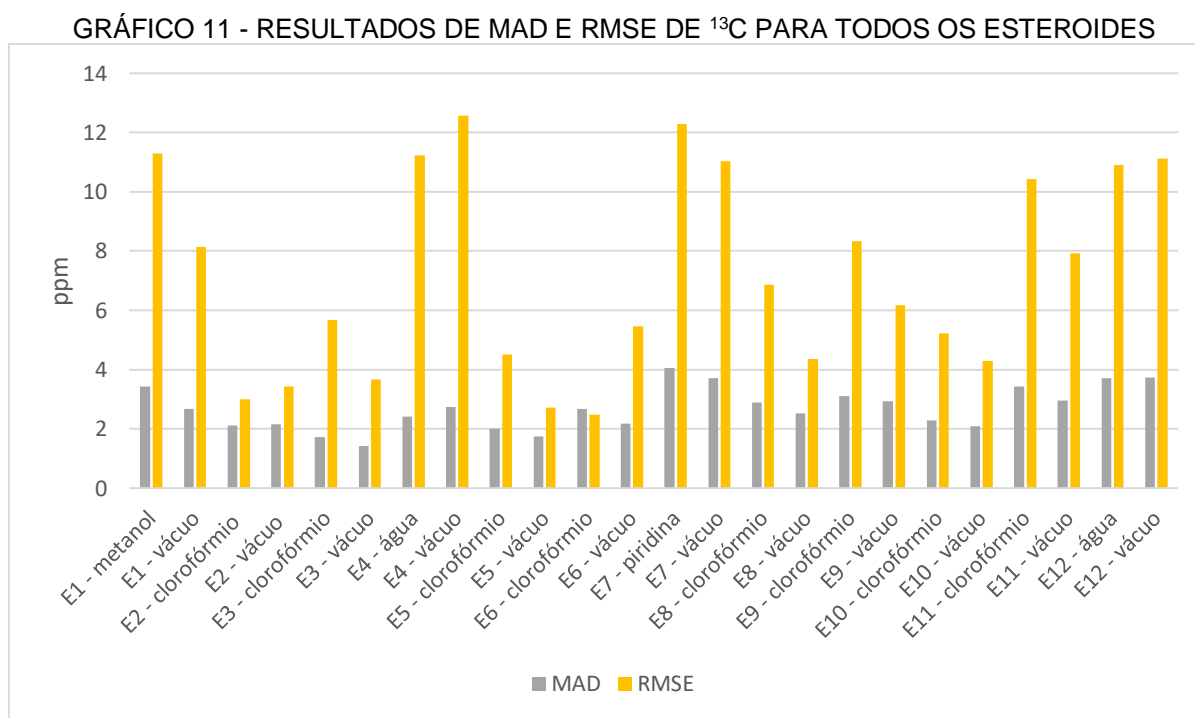
FONTE: A Autora (2019).

No Gráfico 11, estão os resultados de MAD e RMSE para o ^{13}C , novamente nota-se que os resultados foram satisfatórios para o método escolhido, porém, observa-se que para os esteroides 1, 4, 7, 11 e 12, os resultados de RMSE foram acima de 10 ppm, indicando um elevado erro percentual nos cálculos e nos resultados obtidos. Todavia, os demais esteroides apresentaram um erro percentual menor.

Para os resultados de MAD, todos os esteroides apresentaram valores abaixo ou bem próximos de 4 ppm, indicando que os deslocamentos químicos dos dados teóricos estão bem próximos dos experimentais.

Nos esteroides 4, 7 e 12, nota-se que os resultados de RMSE foram bem elevados, tanto para os cálculos no vácuo, quanto com solvente, representando um erro percentual alto em relação ao método aplicado, podendo o solvente utilizado nos dados experimentais, para os esteroides 4 e 12 a água, e para o esteroide 7 a piridina, não ser adequado ao nível de teoria utilizado, considerando que os demais esteroides utilizando clorofórmio e metanol, apresentaram melhores resultados.

Entretanto, os resultados foram bem satisfatórios para o deslocamento químico de ^1H e ^{13}C , indicando que o método escolhido foi adequado para os cálculos computacionais de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear em esteroides, fornecendo resultados teóricos bem próximos dos resultados experimentais.



FONTE: A Autora (2019).

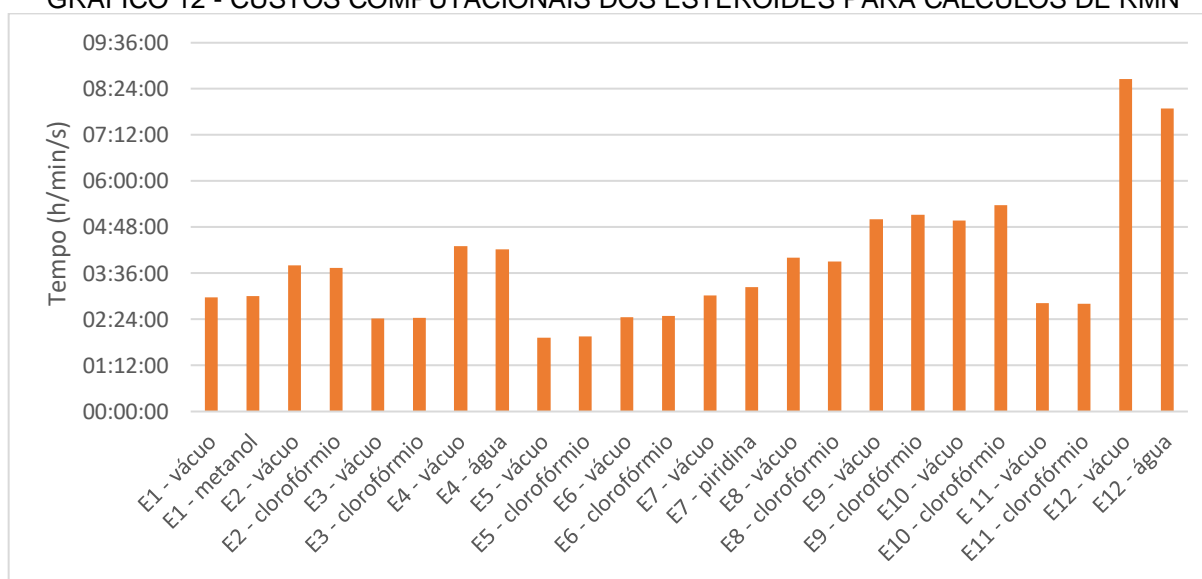
Com a avaliação dos custos computacionais para as bases utilizadas, avaliou-se os custos computacionais para os cálculos de RMN aplicado aos esteroides. Quanto maior o composto, maior será a função de onda de acordo com o número de elétrons, portanto, um dos fatores que influencia no custo computacional, é o tamanho da molécula utilizada para a os cálculos, além dos métodos e bases escolhidos.

Analisando o Gráfico 12, observa-se que o esteroide que apresentou o menor custo computacional, 01h:55min:26s para o vácuo e 01h:57min:35s para o solvente, foi o esteroide 5, chamado de testosterona, em comparação com os outros esteroides,

o qual é formado por quatro anéis, um grupo funcional cetona e outro álcool, a função de onda para esse sistema não é tão complexa, facilitando o desenvolvimento do cálculo.

Por outro lado, o esteroide 12 foi o que mais necessitou de custo computacional para a execução dos cálculos, 08h:38min:59s para o vácuo e 07h:53min:42s para o solvente, este é o ácido taurocólico, possui quatro anéis, três hidroxilas, além de uma grande cadeia carbônica ligada ao carbono 17 com um grupamento amida e outro ácido sulfônico, conjugado da taurina. O composto é mais complexo, logo a função de onda e o tamanho do sistema é maior, desta forma, o cálculo necessita de maior tempo para ser realizado. Sendo assim, o custo computacional depende não somente dos níveis de teoria utilizados, mas também do tamanho e da complexidade dos compostos estudados.

GRÁFICO 12 - CUSTOS COMPUTACIONAIS DOS ESTEROIDES PARA CÁLCULOS DE RMN



Para os cálculos utilizou-se 1 GB de memória e 3 núcleos de processamento, exceto o esteroide 11 que foi utilizado 4 núcleos

FONTE: A Autora (2019).

O método de solvatação utilizado também influencia no custo computacional, pois considera os efeitos do solvente utilizado, o método IEFPCM (formalismo de equação integral do modelo contínuo polarizável) é utilizado para análises de propriedades que não dependem tanto da interação solução-solvente. Além disso, os cálculos que não utilizam métodos de solvatação, demandam menos custo computacional, pois não leva em consideração as interações soluto-solvente e os efeitos do meio (KAUPP, M. et al., 2004).

No método de solvatação PCM, o solvente é descrito como contínuo, dentre esse contínuo é criada a cavidade do soluto através de esferas sobrepostas (LINDGREN, E. B.; LEAL, K. Z., 2013, In. TOMASI, 2005). Através dos valores de MAD é possível notar que a inclusão do método de solvatação melhorava os resultados para algumas bases e para alguns esteroides, enquanto para outros piorava.

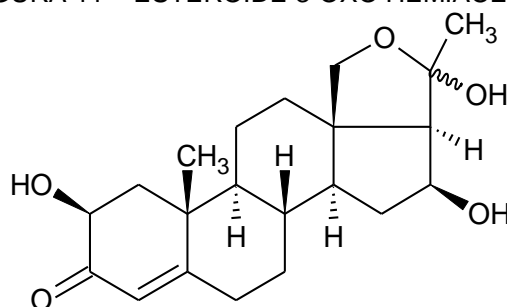
“Vale destacar que os cálculos teóricos foram realizados para moléculas isoladas usando um modelo de solvente, enquanto que as medições experimentais são realizadas com compostos cercado de solvente com interações intermoleculares”. Para tanto, há uma limitação no uso de modelos para calcular desvios químicos e também para interpretar os resultados (PIERENS, G. K. et al., p. 5605, 2017, tradução do autor).

De maneira geral, os deslocamentos químicos teóricos estão de acordo com os desvios experimentais. No entanto, alguns esteroides apresentaram um percentual de erro bem elevado, como o caso do esteroide 7 que utilizou a piridina como solvente. A piridina é um composto cíclico derivada do benzeno, o qual substitui um CH por um N, o que pode interferir nas interações soluto-solvente. A piridina pode agir com um substrato contendo um grupo polar e induzir mudanças nas características químicas dos esteroides (KASAL, A. et al., 2010).

Nos esteroides 4 e 12 utilizou-se água como solvente e observou-se que o erro foi menor utilizando o solvente do que no vácuo. O uso de solvente polar como a água, pode ocorrer a formação de ligação de hidrogênio. De acordo com Pierens, G. K., *et al.* (2017), a água como solvente, resulta em uma mudança na maioria dos prótons afetados nos anéis A, B e C, entretanto, a água normalmente não é muito utilizada como solvente em esteroides.

Para o esteroide 1, utilizou-se o metanol como solvente, também notou-se que o erro foi maior em relação aos outros esteroides, isso pode ter ocorrido pois ao adicionar metanol em esteroides, este “pode formar esteroide 3-oxo hemiacetal, Figura 11, reduzindo a sua absorção, também pode levar a esterificação de ácidos esteroides, porém, não afetaria os resultados” (KASAL, A. et al., p. 32, 2010, tradução do autor).

FIGURA 11 – ESTEROIDE 3-OXO HEMIACETAL



FONTE: A Autora (2019).

O metanol é um solvente polar e tem característica anfótera, pode agir como base e como ácido, desta forma ocorre a formação do hemiacetal através de uma adição nucleofílica ao grupo carboníla, que provem de um aldeído ou de uma cetona (MCMURRY, J., 2011).

Para os demais esteroides, utilizou-se clorofórmio como solvente, o clorofórmio é um dos solventes mais utilizados para espectros de RMN em esteroides, porém o esteroide 11 apresentou um erro maior, apesar dos esteroides possuírem estrutura semelhante, uma pequena mudança na estrutura pode influenciar significativamente no espectro (KASAL, A. et al., 2010).

Apesar dos avanços da química computacional, estudos que relatam as conformações e auxiliam na determinação estrutural, são pouco descritos, por isso, o uso de métodos teóricos para espectroscopia de RMN pode auxiliar na elucidação estrutural, para os esteroides.

5 CONCLUSÃO

Através dos cálculos, determinou-se que o melhor método teórico computacional e nível de teoria, foi o DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p)-vácuo. A DFT tem sido empregada em diversos cálculos computacionais, devido os resultados apresentados se mostrarem adequados e não necessita de muito custo computacional.

Além dos resultados teóricos de deslocamento químico foram satisfatórios, e o percentual de erro foi baixo. O custo computacional não foi elevado, desta maneira, este método mostrou-se adequado para cálculos químicos-quânticos computacionais em esteroides.

Como padrão interno de referência, o dioxano acoplado ao TMS, mostrou-se mais adequado para a calibração dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C de esteroides, com o dioxano é possível atenuar os efeitos relativísticos do oxigênio.

Em relação ao método de solvatação, o IEFPCM apresentou melhores resultados utilizando o clorofórmio como solvente, a piridina, a água e o metanol não apresentaram bons resultados para os esteroides, pois estes podem provocar transformações nas características químicas dos esteroides, além disso, uma pequena alteração na estrutura pode provocar mudanças significativas nos espectros de RMN.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F.; Propriedades Químico-Quânticas Empregadas em Estudos das Relações Estrutura-Atividade. **Quim. Nova**. v. 33, n. 3, p. 694-699, mai./fev. 2010.
- ATKINS, P.; PAULA, J. de; **Físico-Química**. 9. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2015. Vol. 1, p. 212-269.
- ATKINS, P.; PAULA, J. de; **Físico-Química**. 9. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2015. Vol. 2, cap. 14, p. 103.
- COLOMBO, D et al. A full conformational characterization of 13-ethylprogestogens through theoretical calculations and nuclear magnetic resonance spectroscopy. **The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**. v. 103, n. 2, p. 163–169, 2007.
- DAMASCENO, M. V. A. **Estudos Teóricos dos Efeitos de Solvente no Espectro Eletrônico de Absorção da Molécula Óxido Mesitil**. 2009. 174 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciência). Instituto de Física - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- FERRABOSCHI, Patrizia et al. Crystallographic and spectroscopic study on a known orally active Progestin. **Steroids**. v. 104, p. 137-144, 2015.
- FULMER, Gregory R. et al. NMR chemical shifts of trace impurities: common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist. **Organometallics**. v. 29, n. 9, p. 2176-2179, 2010.
- HAYAMIZU, Kikuko et al. Complete Assignments of the ¹H and ¹³C NMR Spectra of Testosterone and 17 α -Methyltestosterone and the ¹H Parameters Obtained from 600 MHz Spectra. **Magnetic resonance in chemistry**. v. 28, n. 3, pag. 250-256, 1990.
- IJARE, Omkar B et al. ¹H and ¹³C NMR Characterization and Stereochemical Assignments of Bile Acids in Aqueous Media. **Lipids**. v. 40, n. 10, p. 1031, 2005.
- PASQUALINI, J. R. Progestins: present and future, **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.** 59 (1996) 357–363.
- KASAL, A.; BUDESINSKY, M.; GRIFFITHS, W. J. Spectroscopic Methods of Steroid Analysis. In: **Steroid Analysis**. Springer, Dordrecht, 2010. p. 27-161.
- KAUPP, M.; HÜHL, M.; MALKIN, V. G. (Ed.) **Calculation of NMR and EPR Parameters: Theory and Applications**. Wiley-VCH, 2004.
- KILLE, S. ZILLY, F. E. ACEVEDO, J. P. REETZ, M. T. Regio-and stereoselectivity of P450-catalysed hydroxylation of steroids controlled by laboratory evolution. **Nature Chemistry**. v. 3, n. 9, p. 738-743, 2011.

KORDE, Shilpa S. et al. Total assignment of ^1H and ^{13}C NMR spectra of pregnenolone and progesterone haptens using 2D NMR spectroscopy. **Magnetic resonance in chemistry**. v. 37, n. 8, p. 594–597, 1999.

LEAL, R. C.; NETO, J. M. M.; LIMA, F. C. A.; FEITOSA, C. M. A Química Quântica na Compreensão de Teorias de Química Orgânica. **Quim. Nova**. v. 33, n. 5, p. 1211-1215, nov./abr. 2010.

LINDGREN, E. B.; LEAL, K. Z. Aplicação da Química Computacional no Cálculo dos Deslocamentos Químicos de RMN de ^{13}C de Moléculas Orgânicas. **Revista Virtual de Química**. v. 5, n. 2, p. 235-242, mar./abr. 2013.

LODEWYK, M. W.; SIEBERT, M. R.; TANTILLO, Dean J. Predição computacional de trocas químicas de ^1H e ^{13}C : uma ferramenta útil para produtos naturais, mecânica e química orgânica sintética. **Chemical Reviews**. v. 112, n. 3, p. 1839-1862, 2012.

LUO, Si-Qi et al. Assignment of the ^1H and ^{13}C NMR Spectra of the C_{21} Steroids 12- β -O-Acetyltenacigenin A and Tenacigenin A by Two-Dimensional NMR Techniques and Computer Modeling. **Magnetic resonance in chemistry**. v. 31, n. 3, p. 215-221, 1993.

MCMURRY, J. **Química Orgânica**. 7. ed. São Paulo: Editora Cengage Learning, 2011. Vol. 1, p. 415-445.

MCMURRY, J. **Química Orgânica**. 7. ed. São Paulo: Editora Cengage Learning, 2011. Vol. 2, p. 1007-1017.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular**. 1. ed. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2007.

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

NICOLAOU, 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**. v. 44, n. 7, p. 1012–1044, fev. 2005.

PEREIRA, E. L.; MIGUEL, A. L. R.; Produção Industrial de Hormônios Esteroides. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. v. 15, n. 2, p. 411-435, 2017.

PIERENS, G. K., VENKATACHALAM, T. K., & REUTENS, D. C. NMR and DFT investigations of structure of colchicine in various solvents including density functional theory calculations. **Scientific reports**. v. 7, n. 1, p. 5605, jul. 2017.

REISCH, M. S. NMR Instrument Price Hikes Spook Users. **Chemical & Engineering News**. v. 93, ed. 26, p. 16, Junho de 2015. Disponível em: <<https://cen.acs.org/articles/93/i26/NMR-Instrument-Price-Hikes-Spook.html>>. Acesso em: 22 out. 2019.

SANT'ANNA, C. M. R. Métodos de Modelagem Molecular para Estudo e Planejamento de Compostos Bioativos: Uma Introdução. **Revista Virtual de Química**. v. 1, n. 1, p. 49-57, 2009.

SHERRILL, C. D. **The Born-Oppenheimer Approximation**. Georgia Institute of Technology - School of Chemistry and Biochemistry. mar. 2005.

SILVA, F. I. da.; SOUSA, J. A. de. **Explorando a Química Computacional**. 1. ed. Porto Alegre: Simplíssimo, 2019. E-book.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2015.

TRSIC, M.; PINTO, M. F. S. **Química Quântica: Fundamentos e Aplicações**. 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2009.

TRZESNIAK, D. R. F. **Modelagem quântica de inibidores enzimáticos**. 2002. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

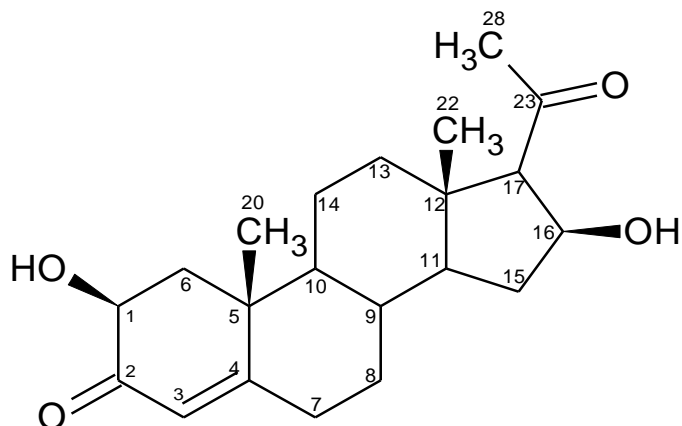
TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Modelos quânticos de solvatação em contínuo. **Chemical reviews**. v. 105, n. 8, p. 2999-3094, 2005.

WILLOUGHBY, P. H.; JANSMA, M. J., HOYE, T. R. A guide to small-molecule structure assignment through computation of (¹H and ¹³C) NMR chemical shifts. **Nature Protocols**. v. 9, n. 3, p. 643, fev. 2014.

XIN, Dongyue et al. Development of a ¹³C NMR Chemical Shift prediction procedure using B3LYP/cc-pVDZ and empirically derived systematic error correction terms: A Computational Small Molecule Structure Elucidation Method. **The Journal of Organic Chemistry**. v. 82, n. 10, p. 5135-5145, abr. 2017.

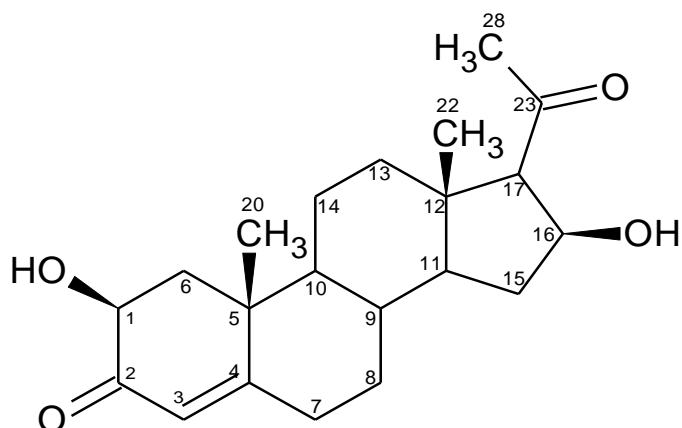
APÊNDICE – DESLOCAMENTOS QUÍMICOS TEÓRICOS PARA ^{13}C E ^1H

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteróide 1 – 16- β -hidroxiprogesterona



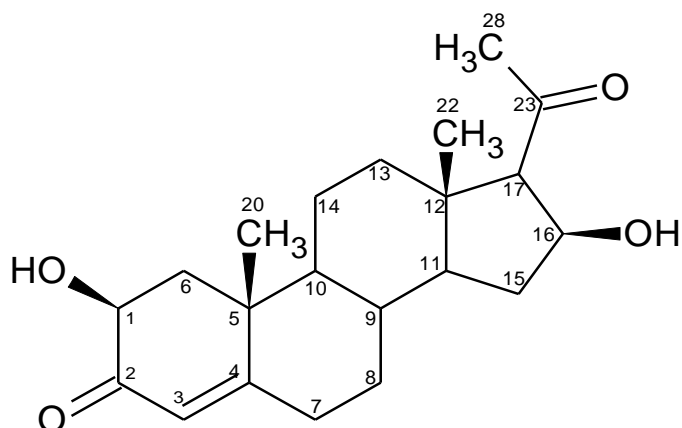
| ^{13}C | ^{13}C (ppm) | | ^1H | ^1H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|------------------|--------------------|-------|
| | METANOL | VÁCUO | | METANOL | VÁCUO |
| 1 | 70,29 | 70,11 | 1 α | 4,41 | 4,29 |
| 2 | 205,9 | 203,47 | 3 | 5,96 | 6,04 |
| 3 | 120,46 | 121,92 | 6 α | 2,36 | 2,40 |
| 4 | 189,85 | 182,79 | 6 β | 1,26 | 1,37 |
| 5 | 45,84 | 44,82 | 7 α | 2,14 | 2,14 |
| 6 | 39,77 | 39,92 | 7 β | 2,68 | 2,64 |
| 7 | 34,99 | 34,63 | 8 α | 1,00 | 1,01 |
| 8 | 37,51 | 37,38 | 8 β | 1,97 | 1,99 |
| 9 | 38,34 | 38,53 | 9 β | 1,80 | 1,84 |
| 10 | 52,63 | 52,93 | 10 α | 1,10 | 1,52 |
| 11 | 55,62 | 56,42 | 11 α | 1,09 | 1,01 |
| 12 | 51,5 | 51,05 | 13 α | 1,44 | 1,37 |
| 13 | 39,84 | 40,83 | 13 β | 1,77 | 1,84 |
| 14 | 24,42 | 24,34 | 14 α | 1,75 | 1,84 |
| 15 | 38,41 | 38,19 | 14 β | 1,60 | 1,64 |
| 16 | 76,8 | 76,35 | 15 α | 1,96 | 1,99 |
| 17 | 65,37 | 65,73 | 15 β | 1,29 | 1,52 |
| 20 | 21,18 | 21,25 | 16 α | 4,63 | 4,69 |
| 22 | 12,95 | 13,10 | 17 α | 2,47 | 2,26 |
| 23 | 226,49 | 221,14 | 20 CH_3 | 1,10 | 1,11 |
| 28 | 33,19 | 32,04 | 22 CH_3 | 0,95 | 1,08 |
| | | | 28 CH_3 | 2,21 | 2,17 |

DFT/ B3PW91/6-311+G(2d,p) – Esteroid 1 – 16-β-hidroxiprogesterona



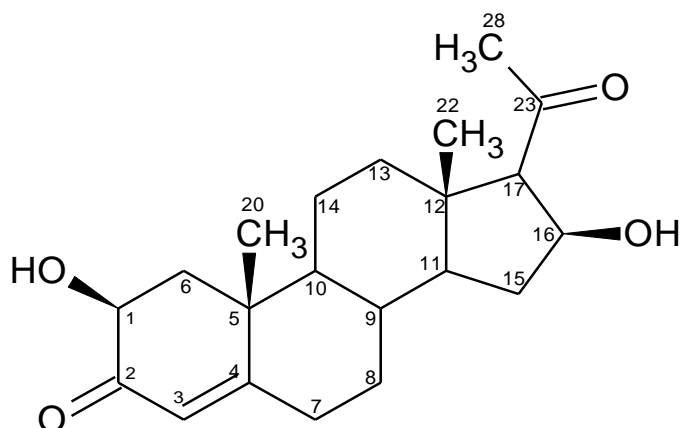
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | METANOL | VÁCUO | | METANOL | VÁCUO |
| 1 | 71,15 | 70,96 | 1 α | 4,45 | 4,35 |
| 2 | 206,14 | 203,83 | 3 | 6,07 | 6,15 |
| 3 | 122,13 | 123,60 | 6 α | 2,41 | 2,45 |
| 4 | 189,14 | 182,12 | 6 β | 1,35 | 1,46 |
| 5 | 46,60 | 45,59 | 7 α | 2,21 | 2,21 |
| 6 | 40,02 | 40,18 | 7 β | 2,72 | 2,69 |
| 7 | 35,83 | 35,46 | 8 α | 1,07 | 1,09 |
| 8 | 37,96 | 37,77 | 8 β | 2,00 | 2,06 |
| 9 | 38,59 | 38,78 | 9 β | 1,87 | 1,89 |
| 10 | 52,64 | 52,88 | 10 α | 1,62 | 1,62 |
| 11 | 55,80 | 56,58 | 11 α | 1,18 | 1,09 |
| 12 | 52,34 | 51,89 | 13 α | 1,49 | 1,45 |
| 13 | 40,00 | 40,97 | 13 β | 1,83 | 1,87 |
| 14 | 24,98 | 24,92 | 14 α | 1,79 | 1,90 |
| 15 | 38,87 | 38,67 | 14 β | 1,64 | 1,68 |
| 16 | 77,10 | 76,69 | 15 α | 1,99 | 1,99 |
| 17 | 65,71 | 66,06 | 15 β | 1,36 | 1,60 |
| 20 | 22,18 | 22,23 | 16 α | 4,66 | 4,72 |
| 22 | 14,20 | 14,35 | 17 α | 2,56 | 2,35 |
| 23 | 226,54 | 221,30 | 20CH ₃ | 1,14 | 1,18 |
| 28 | 34,95 | 33,82 | 22CH ₃ | 0,98 | 1,14 |
| | | | 28CH ₃ | 2,27 | 2,25 |

DFT/MPW1PW91/6-311+G(2d,p) – Esteroide 1 – 16-β-hidroxiprogesterona

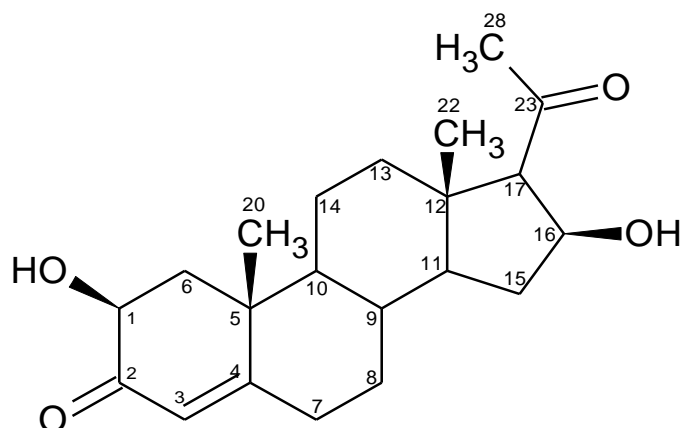


| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | METANOL | VÁCUO | | METANOL | VÁCUO |
| 1 | 70,84 | 70,64 | 1 α | 4,42 | 4,32 |
| 2 | 206,80 | 204,40 | 3 | 6,09 | 6,17 |
| 3 | 122,21 | 123,78 | 6 α | 2,41 | 2,45 |
| 4 | 189,40 | 182,39 | 6 β | 1,35 | 1,46 |
| 5 | 46,13 | 45,15 | 7 α | 2,21 | 5,21 |
| 6 | 39,98 | 40,17 | 7 β | 2,71 | 2,68 |
| 7 | 35,73 | 35,40 | 8 α | 1,06 | 1,08 |
| 8 | 37,76 | 37,63 | 8 β | 1,99 | 2,05 |
| 9 | 38,29 | 38,50 | 9 β | 1,85 | 1,87 |
| 10 | 52,19 | 52,47 | 10 α | 1,58 | 1,58 |
| 11 | 55,38 | 56,18 | 11 α | 1,15 | 1,06 |
| 12 | 51,62 | 51,22 | 13 α | 1,48 | 1,44 |
| 13 | 39,96 | 40,95 | 13 β | 1,82 | 1,86 |
| 14 | 24,83 | 24,80 | 14 α | 1,78 | 1,89 |
| 15 | 38,85 | 38,67 | 14 β | 1,62 | 1,67 |
| 16 | 76,59 | 76,17 | 15 α | 2,01 | 2,00 |
| 17 | 65,52 | 65,89 | 15 β | 1,35 | 1,60 |
| 20 | 22,29 | 22,38 | 16 α | 4,63 | 4,69 |
| 22 | 14,34 | 14,50 | 17 α | 2,54 | 2,31 |
| 23 | 226,94 | 221,68 | 20CH ₃ | 1,14 | 1,18 |
| 28 | 35,14 | 34,05 | 22CH ₃ | 0,98 | 1,12 |
| | | | 28CH ₃ | 2,28 | 2,26 |

DFT/ PBE/PBE/6-311+G(2d,p) – Esteroides 1 – 16-β-hidroxiprogesterona

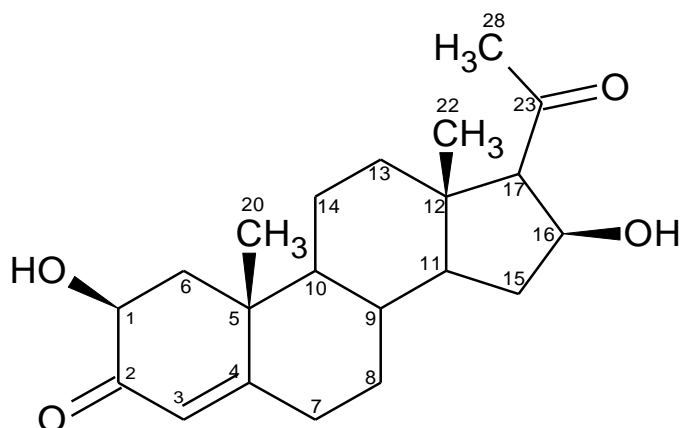


| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | METANOL | VÁCUO | | METANOL | VÁCUO |
| 1 | 70,72 | 70,66 | 1 α | 4,53 | 4,46 |
| 2 | 200,64 | 198,91 | 3 | 5,97 | 6,03 |
| 3 | 119,37 | 120,46 | 6 α | 2,38 | 2,42 |
| 4 | 185,69 | 178,76 | 6 β | 1,24 | 1,35 |
| 5 | 46,72 | 45,60 | 7 α | 2,11 | 2,11 |
| 6 | 39,96 | 40,03 | 7 β | 2,76 | 2,72 |
| 7 | 35,60 | 35,12 | 8 α | 1,07 | 1,08 |
| 8 | 39,12 | 38,65 | 8 β | 2,06 | 2,10 |
| 9 | 39,17 | 39,28 | 9 β | 1,88 | 1,89 |
| 10 | 53,93 | 53,98 | 10 α | 1,68 | 1,67 |
| 11 | 56,50 | 57,21 | 11 α | 1,20 | 1,11 |
| 12 | 53,38 | 52,77 | 13 α | 1,45 | 1,41 |
| 13 | 40,22 | 41,18 | 13 β | 1,81 | 1,86 |
| 14 | 24,62 | 24,41 | 14 α | 1,79 | 1,90 |
| 15 | 38,34 | 38,11 | 14 β | 1,67 | 1,70 |
| 16 | 78,29 | 77,94 | 15 α | 1,94 | 1,94 |
| 17 | 65,66 | 65,98 | 15 β | 1,26 | 1,49 |
| 20 | 20,74 | 20,67 | 16 α | 4,82 | 4,90 |
| 22 | 12,15 | 12,32 | 17 α | 2,59 | 2,38 |
| 23 | 221,28 | 216,32 | 20CH ₃ | 1,08 | 1,10 |
| 28 | 32,94 | 31,70 | 22CH ₃ | 0,92 | 1,06 |
| | | | 28CH ₃ | 2,15 | 2,12 |

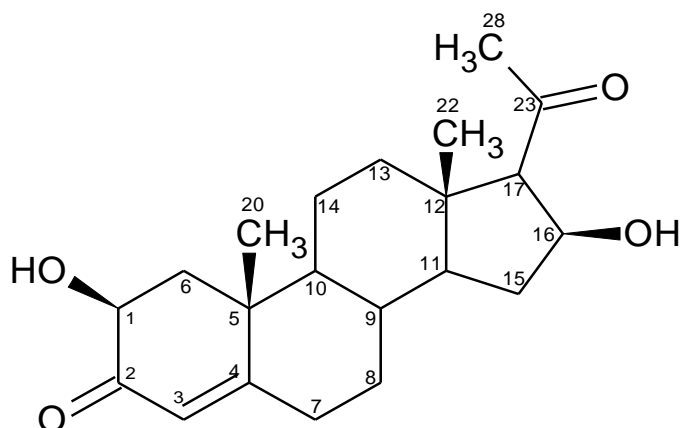
DFT/B3LYP/ aug- cc-pVDZ – Esteroides 1 – 16- β -hidroxiprogesterona

| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | METANOL | VÁCUO | | METANOL | VÁCUO |
| 1 | 70,74 | 70,54 | 1 α | 4,30 | 4,18 |
| 2 | 202,72 | 200,54 | 3 | 5,98 | 6,06 |
| 3 | 117,86 | 119,34 | 6 α | 2,32 | 2,36 |
| 4 | 186,00 | 179,30 | 6 β | 1,15 | 1,25 |
| 5 | 51,03 | 50,04 | 7 α | 2,21 | 2,22 |
| 6 | 43,06 | 43,18 | 7 β | 2,68 | 2,65 |
| 7 | 35,86 | 35,54 | 8 α | 0,93 | 0,94 |
| 8 | 41,61 | 41,50 | 8 β | 1,94 | 2,00 |
| 9 | 38,37 | 38,54 | 9 β | 1,61 | 1,61 |
| 10 | 56,39 | 56,69 | 10 α | 1,39 | 1,38 |
| 11 | 55,22 | 56,01 | 11 α | 1,07 | 0,97 |
| 12 | 56,48 | 56,04 | 13 α | 1,48 | 1,42 |
| 13 | 40,95 | 41,93 | 13 β | 1,88 | 1,92 |
| 14 | 26,88 | 26,79 | 14 α | 1,69 | 1,80 |
| 15 | 41,75 | 41,59 | 14 β | 1,52 | 1,55 |
| 16 | 75,98 | 75,50 | 15 α | 2,16 | 2,16 |
| 17 | 68,03 | 68,44 | 15 β | 1,15 | 1,40 |
| 20 | 24,83 | 24,91 | 16 α | 4,59 | 4,61 |
| 22 | 16,11 | 16,21 | 17 α | 2,48 | 2,25 |
| 23 | 223,48 | 218,45 | 20CH ₃ | 1,06 | 1,09 |
| 28 | 33,49 | 32,46 | 22CH ₃ | 0,84 | 0,99 |
| | | | 28CH ₃ | 2,20 | 2,18 |

DFT/ WB97XD/6-311+G(2d,p) – Esteroides 1 – 16-β-hidroxiprogesterona

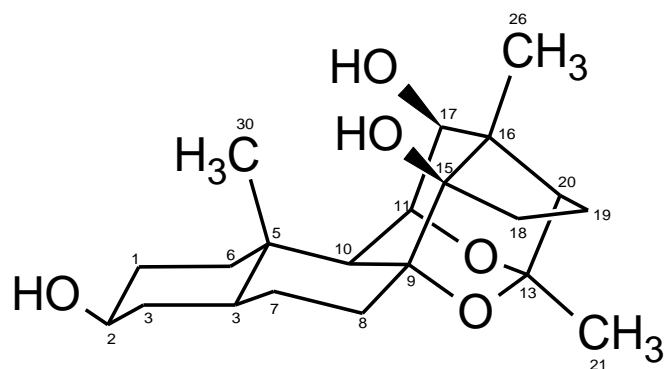


| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | METANOL | VÁCUO | | METANOL | VÁCUO |
| 1 | 72,00 | 71,79 | 1 α | 4,72 | 4,40 |
| 2 | 209,20 | 206,49 | 3 | 6,21 | 6,10 |
| 3 | 121,55 | 123,33 | 6 α | 2,64 | 2,47 |
| 4 | 190,16 | 183,25 | 6 β | 1,45 | 1,36 |
| 5 | 45,55 | 44,69 | 7 α | 2,35 | 2,16 |
| 6 | 40,11 | 40,35 | 7 β | 2,85 | 2,62 |
| 7 | 34,74 | 34,54 | 8 α | 1,22 | 1,05 |
| 8 | 36,25 | 36,37 | 8 β | 2,11 | 1,98 |
| 9 | 38,01 | 38,30 | 9 β | 2,03 | 1,85 |
| 10 | 51,73 | 52,18 | 10 α | 1,75 | 1,55 |
| 11 | 55,07 | 55,96 | 11 α | 1,33 | 1,04 |
| 12 | 50,82 | 50,58 | 13 α | 1,70 | 1,46 |
| 13 | 39,47 | 40,54 | 13 β | 2,05 | 1,89 |
| 14 | 23,99 | 24,08 | 14 α | 1,97 | 1,88 |
| 15 | 38,89 | 38,78 | 14 β | 1,74 | 1,59 |
| 16 | 75,74 | 75,36 | 15 α | 2,28 | 2,08 |
| 17 | 65,55 | 66,01 | 15 β | 1,54 | 1,60 |
| 20 | 22,46 | 22,65 | 16 α | 4,82 | 4,68 |
| 22 | 14,45 | 14,97 | 17 α | 2,68 | 2,25 |
| 23 | 228,53 | 223,18 | 20CH ₃ | 1,36 | 1,19 |
| 28 | 35,73 | 34,70 | 22CH ₃ | 1,26 | 1,18 |
| | | | 28CH ₃ | 2,54 | 2,32 |

DFT/CAM-B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 1 – 16- β -hidroxiprogesterona

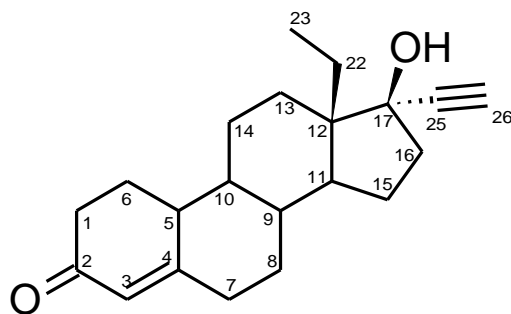
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | METANOL | VÁCUO | | METANOL | VÁCUO |
| 1 | 70,44 | 70,20 | 1 α | 4,34 | 4,22 |
| 2 | 211,30 | 208,40 | 3 | 5,97 | 6,06 |
| 3 | 122,31 | 124,13 | 6 α | 2,34 | 2,39 |
| 4 | 192,44 | 185,36 | 6 β | 1,27 | 1,38 |
| 5 | 44,53 | 43,61 | 7 α | 2,13 | 2,14 |
| 6 | 39,59 | 39,83 | 7 β | 2,60 | 2,56 |
| 7 | 33,91 | 33,68 | 8 α | 0,92 | 0,95 |
| 8 | 35,61 | 35,71 | 8 β | 1,87 | 1,94 |
| 9 | 37,02 | 37,29 | 9 β | 1,70 | 1,72 |
| 10 | 50,96 | 51,41 | 10 α | 1,38 | 1,37 |
| 11 | 54,42 | 55,29 | 11 α | 1,00 | 0,91 |
| 12 | 49,49 | 49,20 | 13 α | 1,41 | 1,36 |
| 13 | 38,95 | 39,99 | 13 β | 1,73 | 1,78 |
| 14 | 23,28 | 23,32 | 14 α | 1,70 | 1,81 |
| 15 | 38,16 | 37,99 | 14 β | 1,52 | 1,57 |
| 16 | 75,41 | 74,94 | 15 α | 1,99 | 1,99 |
| 17 | 65,38 | 65,81 | 15 β | 1,26 | 1,52 |
| 20 | 21,05 | 21,24 | 16 α | 4,55 | 4,61 |
| 22 | 12,99 | 13,18 | 17 α | 2,43 | 2,18 |
| 23 | 231,05 | 225,44 | 20CH ₃ | 1,06 | 1,10 |
| 28 | 34,01 | 33,00 | 22CH ₃ | 0,91 | 1,06 |
| | | | 28CH ₃ | 2,23 | 2,21 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 2



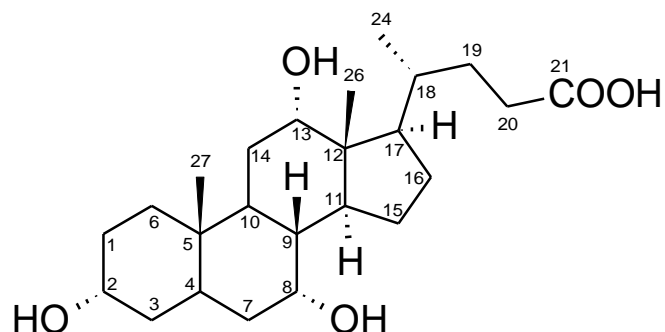
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------------|----------------------|-------|
| | CLOROFÓRMIO | VÁCUO | | CLOROFÓRMIO | VÁCUO |
| 1 | 32,11 | 32,67 | 1 α | 1,61 | 1,47 |
| 2 | 73,52 | 73,61 | 1 β | 1,40 | 1,46 |
| 3 | 34,36 | 34,35 | 2 α | 3,78 | 3,71 |
| 4 | 47,15 | 47,48 | 3 α | 1,59 | 1,61 |
| 5 | 38,83 | 38,85 | 3 β | 1,23 | 1,28 |
| 6 | 38,16 | 38,29 | 4 α | 1,28 | 1,21 |
| 7 | 28,15 | 28,54 | 6 α | 1,20 | 1,15 |
| 8 | 34,06 | 34,09 | 6 β | 1,86 | 1,87 |
| 9 | 81,33 | 81,13 | 7 α | 1,36 | 1,33 |
| 10 | 56,05 | 56,00 | 7 β | 1,24 | 1,17 |
| 11 | 73,83 | 73,78 | 8 α | 1,40 | 1,47 |
| 13 | 102,30 | 102,17 | 8 β | 2,26 | 2,13 |
| 15 | 85,73 | 85,80 | 10 α | 2,16 | 2,17 |
| 16 | 48,58 | 48,72 | 11 β | 4,26 | 4,22 |
| 17 | 7,20 | 73,05 | 17 α | 3,86 | 3,83 |
| 18 | 32,87 | 33,03 | 18 α | 2,22 | 2,16 |
| 19 | 22,71 | 22,79 | 18 β | 1,69 | 1,63 |
| 20 | 55,79 | 56,09 | 19 α | 1,42 | 1,41 |
| 21 | 20,62 | 20,57 | 19 β | 1,87 | 1,81 |
| 26 | 14,81 | 15,32 | 20 β | 1,88 | 1,80 |
| 30 | 12,38 | 12,28 | 21CH₃ | 1,02 | 1,00 |
| | | | 26CH₃ | 1,29 | 1,29 |
| | | | 30CH₃ | 1,09 | 1,10 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 3



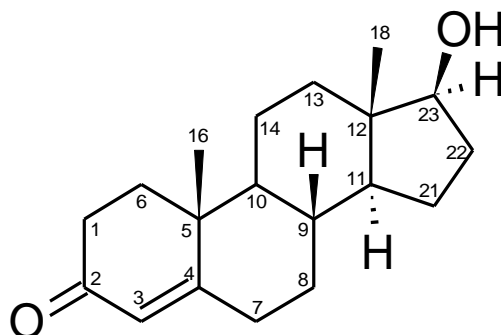
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | CLOROFÓRMIO | VÁCUO | | CLOROFÓRMIO | VÁCUO |
| 1 | 37,72 | 37,19 | 1 α | 2,23 | 2,28 |
| 2 | 202,66 | 198,71 | 1 β | 2,36 | 2,23 |
| 3 | 125,91 | 127,32 | 3 | 6,00 | 6,02 |
| 4 | 175,47 | 169,24 | 5 β | 2,24 | 2,09 |
| 5 | 43,83 | 43,78 | 6 α | 1,40 | 1,36 |
| 6 | 27,15 | 27,52 | 6 β | 2,29 | 2,22 |
| 7 | 36,53 | 36,46 | 7 α | 2,51 | 2,46 |
| 8 | 30,78 | 30,88 | 7 β | 2,39 | 2,30 |
| 9 | 42,00 | 42,36 | 8 α | 1,00 | 0,95 |
| 10 | 51,54 | 51,66 | 8 β | 1,80 | 1,74 |
| 11 | 52,17 | 52,11 | 9 α | 1,49 | 1,39 |
| 12 | 52,30 | 52,11 | 10 α | 0,78 | 0,71 |
| 13 | 28,34 | 28,33 | 11 α | 1,61 | 1,61 |
| 14 | 25,91 | 26,15 | 13 α | 1,59 | 1,63 |
| 15 | 21,66 | 21,78 | 13 β | 2,00 | 1,96 |
| 16 | 39,18 | 38,76 | 14 α | 1,86 | 1,85 |
| 17 | 84,01 | 83,92 | 14 β | 1,10 | 1,05 |
| 22 | 19,61 | 19,74 | 15 α | 1,61 | 1,57 |
| 23 | 7,23 | 7,45 | 15 β | 1,38 | 1,32 |
| 25 | 88,87 | 88,58 | 16 α | 2,37 | 2,38 |
| 26 | 73,08 | 72,69 | 16 β | 2,37 | 2,40 |
| | | | 22 α | 1,59 | 1,50 |
| | | | 22 β | 1,58 | 1,60 |
| | | | 23CH ₃ | 1,01 | 1,02 |
| | | | 26CH | 2,38 | 2,18 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 4



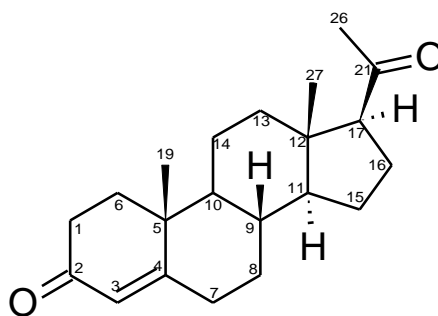
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | ÁGUA | VÁCUO | | ÁGUA | VÁCUO |
| 1 | 31,89 | 32,17 | 1 α | 1,26 | 1,18 |
| 2 | 74,48 | 74,13 | 1 β | 1,66 | 1,74 |
| 3 | 41,04 | 41,32 | 2 β | 3,26 | 3,19 |
| 4 | 44,43 | 44,87 | 3 α | 2,06 | 2,03 |
| 5 | 37,58 | 37,48 | 3 β | 1,66 | 1,79 |
| 6 | 35,95 | 36,57 | 4 β | 1,42 | 1,33 |
| 7 | 32,71 | 32,54 | 6 α | 1,85 | 1,79 |
| 8 | 71,02 | 70,90 | 6 β | 1,05 | 1,01 |
| 9 | 39,62 | 40,08 | 7 α | 1,55 | 1,70 |
| 10 | 29,15 | 29,09 | 7 β | 2,01 | 1,85 |
| 11 | 42,35 | 42,31 | 8 β | 3,96 | 3,88 |
| 12 | 49,41 | 49,44 | 9 β | 1,53 | 1,38 |
| 13 | 75,12 | 75,33 | 10 α | 2,14 | 2,31 |
| 14 | 28,27 | 28,16 | 11 α | 2,07 | 2,15 |
| 15 | 22,66 | 23,13 | 13 β | 4,12 | 4,01 |
| 16 | 28,27 | 28,52 | 14 α | 1,67 | 1,79 |
| 17 | 45,80 | 45,99 | 14 β | 1,64 | 1,49 |
| 18 | 36,91 | 36,99 | 15 α | 1,53 | 1,44 |
| 19 | 33,97 | 33,76 | 15 β | 1,26 | 1,22 |
| 20 | 27,81 | 26,79 | 16 α | 1,92 | 1,94 |
| 21 | 181,54 | 177,45 | 16 β | 1,65 | 1,59 |
| 24 | 14,55 | 15,09 | 17 α | 1,66 | 1,59 |
| 26 | 8,76 | 15,09 | 18 β | 1,67 | 1,58 |
| 27 | 19,54 | 9,16 | 19 α | 1,45 | 1,50 |
| | | | 19 β | 1,95 | 1,94 |
| | | | 20 α | 2,43 | 2,26 |
| | | | 20 β | 2,07 | 2,00 |
| | | | 24CH ₃ | 1,00 | 0,97 |
| | | | 26CH ₃ | 0,69 | 0,65 |
| | | | 27CH ₃ | 0,92 | 0,88 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 5



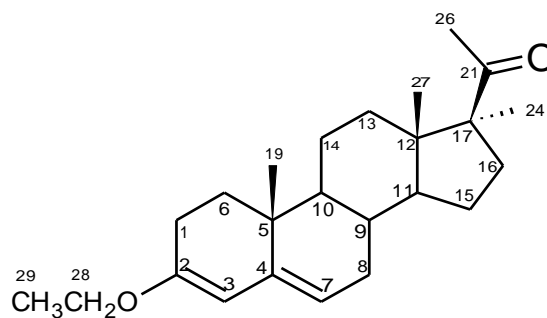
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------------|----------------------|-------|
| | CLOROFÓRMIO | VÁCUO | | CLOROFÓRMIO | VÁCUO |
| 1 | 33,84 | 33,21 | 1 α | 2,14 | 2,20 |
| 2 | 202,09 | 198,21 | 1 β | 2,49 | 2,36 |
| 3 | 125,22 | 126,59 | 3 | 5,87 | 5,89 |
| 4 | 180,49 | 174,12 | 6 α | 1,64 | 1,59 |
| 5 | 42,11 | 41,50 | 6 β | 2,06 | 1,98 |
| 6 | 36,72 | 37,14 | 7 α | 2,25 | 2,20 |
| 7 | 33,68 | 33,48 | 7 β | 2,54 | 2,45 |
| 8 | 32,00 | 32,10 | 8 α | 0,97 | 0,93 |
| 9 | 36,15 | 36,44 | 8 β | 1,84 | 1,78 |
| 10 | 56,34 | 56,52 | 9 β | 1,60 | 1,50 |
| 11 | 51,93 | 52,24 | 10 α | 0,88 | 0,82 |
| 12 | 44,43 | 44,37 | 11 α | 1,01 | 0,95 |
| 13 | 36,15 | 36,31 | 13 α | 1,04 | 1,01 |
| 14 | 20,84 | 21,03 | 13 β | 1,79 | 1,87 |
| 16 | 14,01 | 14,28 | 14 α | 1,53 | 1,53 |
| 18 | 6,21 | 6,38 | 14 β | 1,42 | 1,36 |
| 21 | 22,66 | 22,83 | 16CH₃ | 1,20 | 1,15 |
| 22 | 31,72 | 32,24 | 18CH₃ | 0,67 | 0,64 |
| 23 | 84,31 | 84,13 | 21 α | 1,57 | 1,55 |
| | | | 21 β | 1,26 | 1,20 |
| | | | 22 α | 2,18 | 2,21 |
| | | | 22 β | 1,26 | 1,16 |
| | | | 23 α | 3,52 | 3,51 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 6



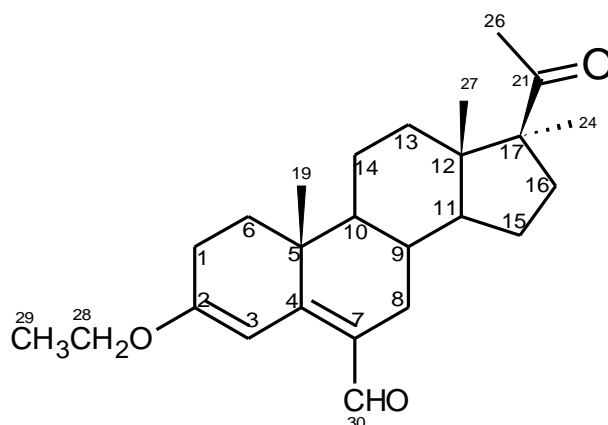
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------------|----------------------|-------|
| | CLOROFÓRMIO | VÁCUO | | CLOROFÓRMIO | VÁCUO |
| 1 | 34,00 | 33,37 | 1 α | 2,18 | 2,23 |
| 2 | 202,21 | 198,30 | 1 β | 2,51 | 2,38 |
| 3 | 125,16 | 126,48 | 3 | 5,94 | 5,95 |
| 4 | 181,09 | 174,77 | 6 α | 1,62 | 1,56 |
| 5 | 42,15 | 41,54 | 6 β | 2,05 | 1,98 |
| 6 | 36,95 | 37,39 | 7 α | 2,23 | 2,18 |
| 7 | 34,19 | 33,99 | 7 β | 2,56 | 2,47 |
| 8 | 32,31 | 32,40 | 8 α | 1,01 | 0,96 |
| 9 | 36,04 | 36,20 | 8 β | 1,85 | 1,80 |
| 10 | 56,11 | 56,33 | 9 β | 1,61 | 1,54 |
| 11 | 57,86 | 58,19 | 10 α | 0,90 | 0,83 |
| 12 | 48,58 | 48,23 | 11 α | 1,56 | 1,18 |
| 13 | 39,46 | 39,95 | 13 α | 1,47 | 1,41 |
| 14 | 21,43 | 21,58 | 13 β | 1,90 | 1,87 |
| 15 | 24,26 | 24,44 | 14 α | 1,58 | 1,57 |
| 16 | 23,98 | 23,98 | 14 β | 1,46 | 1,42 |
| 17 | 63,62 | 63,54 | 15 α | 1,57 | 1,55 |
| 19 | 14,22 | 14,49 | 15 β | 1,28 | 1,25 |
| 21 | 216,29 | 211,54 | 16 α | 1,52 | 1,48 |
| 26 | 30,77 | 30,03 | 16 β | 2,35 | 2,51 |
| 27 | 10,41 | 10,62 | 17 α | 2,75 | 2,57 |
| | | | 19CH₃ | 1,19 | 1,15 |
| | | | 26CH₃ | 2,14 | 2,05 |
| | | | 27CH₃ | 0,58 | 0,59 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 7



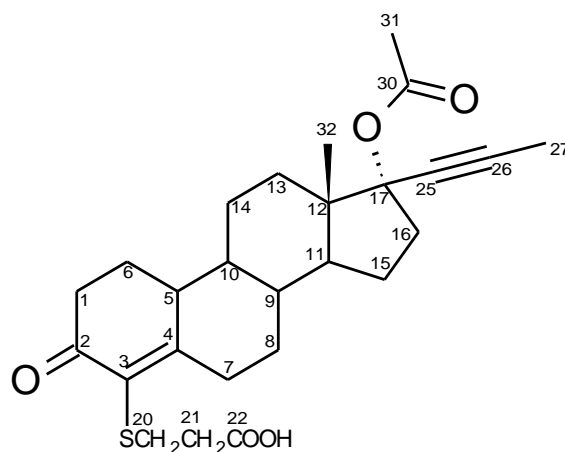
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | PIRIDINA | VÁCUO | | PIRIDINA | VÁCUO |
| 1 | 22,26 | 22,25 | 1 α | 2,42 | 2,28 |
| 2 | 159,86 | 157,66 | 1 β | 2,10 | 2,04 |
| 3 | 109,23 | 111,24 | 3 | 5,54 | 5,60 |
| 4 | 145,88 | 145,12 | 6 α | 1,09 | 1,09 |
| 5 | 38,61 | 38,45 | 6 β | 1,80 | 1,68 |
| 6 | 34,22 | 34,45 | 7 | 5,45 | 5,41 |
| 7 | 122,63 | 122,68 | 8 α | 1,66 | 1,63 |
| 8 | 32,95 | 33,19 | 8 β | 2,09 | 2,09 |
| 9 | 33,56 | 33,68 | 9 β | 1,52 | 1,49 |
| 10 | 49,80 | 50,07 | 10 α | 0,86 | 0,81 |
| 11 | 53,89 | 54,34 | 11 α | 1,46 | 1,35 |
| 12 | 48,82 | 48,43 | 13 α | 1,50 | 1,43 |
| 13 | 33,49 | 34,05 | 13 β | 1,72 | 1,66 |
| 14 | 22,06 | 22,25 | 14 α | 1,59 | 1,53 |
| 15 | 23,79 | 24,06 | 14 β | 1,37 | 1,36 |
| 16 | 30,48 | 30,78 | 15 α | 1,37 | 1,35 |
| 17 | 65,76 | 64,96 | 15 β | 1,03 | 1,02 |
| 19 | 16,19 | 16,34 | 16 α | 0,84 | 0,78 |
| 21 | 221,31 | 215,33 | 16 β | 3,04 | 3,27 |
| 24 | 19,78 | 20,03 | 19CH ₃ | 0,77 | 0,76 |
| 26 | 27,07 | 25,82 | 24CH ₃ | 1,06 | 0,99 |
| 27 | 14,12 | 14,44 | 26CH ₃ | 2,01 | 1,90 |
| 28 | 64,20 | 64,01 | 27CH ₃ | 0,52 | 0,52 |
| 29 | 13,43 | 13,56 | 28CH ₂ | 3,77 | 3,66 |
| | | | 29CH ₃ | 1,12 | 1,41 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 8



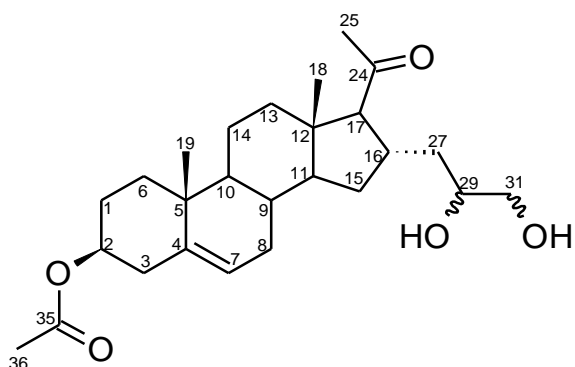
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | CLOROFÓRMIO | VÁCUO | | CLOROFÓRMIO | VÁCUO |
| 1 | 22,77 | 22,66 | 1 α | 2,54 | 2,40 |
| 2 | 168,11 | 163,90 | 1 β | 2,51 | 2,41 |
| 3 | 98,56 | 100,19 | 3 | 7,01 | 7,08 |
| 4 | 165,19 | 160,41 | 6 α | 1,36 | 1,31 |
| 5 | 39,85 | 39,32 | 6 β | 1,98 | 1,89 |
| 6 | 32,42 | 32,62 | 8 α | 1,62 | 1,65 |
| 7 | 128,03 | 129,11 | 8 β | 2,54 | 2,65 |
| 8 | 29,54 | 29,87 | 9 β | 1,65 | 1,58 |
| 9 | 31,75 | 31,99 | 10 α | 0,95 | 0,89 |
| 10 | 48,11 | 48,49 | 11 α | 1,59 | 1,50 |
| 11 | 53,07 | 53,37 | 13 α | 1,73 | 1,68 |
| 12 | 49,47 | 49,12 | 13 β | 1,81 | 1,76 |
| 13 | 33,71 | 34,14 | 14 α | 1,71 | 1,63 |
| 14 | 21,23 | 21,42 | 14 β | 1,52 | 1,49 |
| 15 | 23,78 | 23,94 | 15 α | 1,72 | 1,76 |
| 16 | 29,54 | 29,72 | 15 β | 1,27 | 1,26 |
| 17 | 65,98 | 65,39 | 16 α | 1,01 | 0,96 |
| 19 | 15,55 | 15,56 | 16 β | 1,27 | 3,27 |
| 21 | 218,36 | 213,72 | 19CH ₃ | 1,03 | 0,99 |
| 24 | 18,07 | 18,24 | 24CH ₃ | 1,02 | 0,96 |
| 26 | 26,25 | 25,30 | 26CH ₃ | 2,13 | 2,04 |
| 27 | 13,25 | 13,48 | 27CH ₃ | 0,57 | 0,57 |
| 28 | 63,25 | 62,99 | 28CH ₂ | 4,05 | 3,95 |
| 29 | 12,34 | 12,47 | 29CH ₃ | 1,32 | 1,31 |
| 30 | 189,70 | 187,89 | | | |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 9



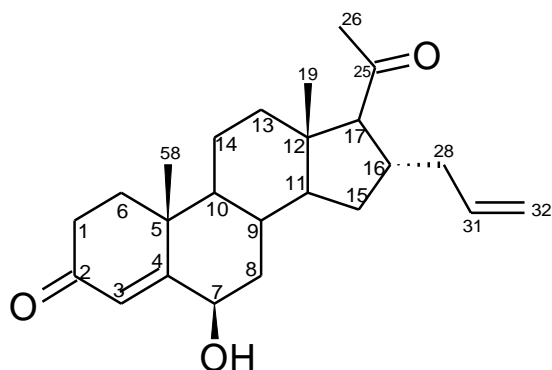
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | CLOROFÓRMIO | VÁCUO | | CLOROFÓRMIO | VÁCUO |
| 1 | 38,12 | 37,57 | 1 α | 2,43 | 2,46 |
| 2 | 198,33 | 195,44 | 1 β | 2,46 | 2,30 |
| 3 | 131,37 | 133,54 | 5 β | 2,34 | 2,19 |
| 4 | 179,70 | 175,34 | 6 α | 1,32 | 1,27 |
| 5 | 46,37 | 46,24 | 6 β | 2,22 | 2,15 |
| 6 | 25,22 | 25,68 | 7 α | 3,85 | 3,95 |
| 7 | 35,44 | 35,18 | 7 β | 2,13 | 2,09 |
| 8 | 31,49 | 31,64 | 8 α | 1,01 | 0,95 |
| 9 | 42,18 | 42,57 | 8 β | 1,89 | 1,85 |
| 10 | 54,16 | 54,34 | 9 β | 1,41 | 1,31 |
| 11 | 49,68 | 49,82 | 10 α | 0,79 | 0,71 |
| 12 | 53,80 | 53,55 | 11 α | 1,61 | 1,61 |
| 13 | 29,44 | 29,57 | 13 α | 1,79 | 1,82 |
| 14 | 26,24 | 26,59 | 13 β | 1,63 | 1,64 |
| 15 | 23,31 | 23,46 | 14 α | 1,84 | 1,80 |
| 16 | 35,75 | 35,49 | 14 β | 1,35 | 1,28 |
| 17 | 86,63 | 86,39 | 15 α | 1,61 | 1,57 |
| 20 | 32,75 | 32,69 | 15 β | 1,33 | 1,26 |
| 21 | 34,55 | 34,51 | 16 α | 2,72 | 2,82 |
| 22 | 176,79 | 174,68 | 16 β | 2,20 | 2,17 |
| 25 | 78,56 | 78,81 | 20CH ₂ | 2,34 | 2,22 |
| 26 | 85,63 | 84,67 | 21CH ₂ | 3,55 | 3,53 |
| 30 | 173,39 | 170,70 | 27CH ₃ | 1,89 | 1,84 |
| 31 | 19,51 | 18,98 | 31CH ₃ | 1,98 | 1,68 |
| 32 | 12,78 | 12,91 | 32CH ₃ | 1,02 | 1,00 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 10



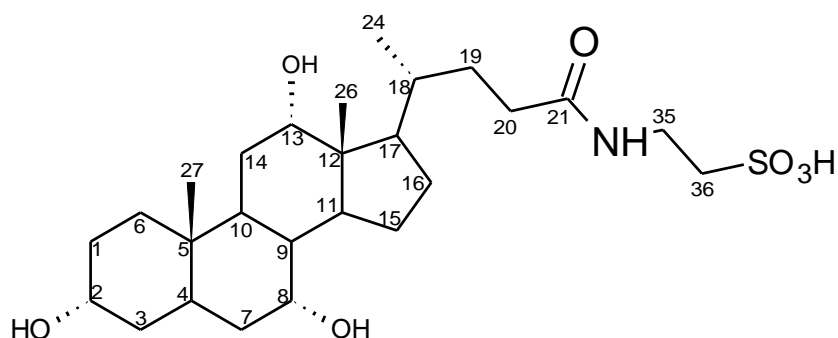
| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | CLOROFÓRMIO | VÁCUO | | CLOROFÓRMIO | VÁCUO |
| 1 | 27,39 | 27,60 | 1 α | 1,68 | 1,65 |
| 2 | 74,72 | 74,11 | 1 β | 1,77 | 1,74 |
| 3 | 38,32 | 38,45 | 2 α | 4,70 | 4,74 |
| 4 | 144,87 | 144,31 | 3 α | 2,37 | 2,45 |
| 5 | 39,41 | 39,27 | 3 β | 2,27 | 2,19 |
| 6 | 37,49 | 37,79 | 6 α | 1,15 | 1,12 |
| 7 | 126,52 | 126,59 | 6 β | 2,03 | 1,96 |
| 8 | 31,22 | 31,33 | 7 α | 5,79 | 5,77 |
| 9 | 32,48 | 32,59 | 8 α | 1,63 | 1,61 |
| 10 | 52,08 | 52,29 | 8 β | 2,02 | 2,01 |
| 11 | 57,02 | 57,32 | 9 β | 1,39 | 1,34 |
| 12 | 48,72 | 48,26 | 10 α | 0,93 | 0,90 |
| 13 | 39,63 | 40,18 | 11 α | 1,44 | 1,35 |
| 14 | 21,87 | 21,98 | 13 α | 1,50 | 1,43 |
| 15 | 32,29 | 32,46 | 13 β | 2,18 | 2,12 |
| 16 | 32,29 | 32,52 | 14 α | 1,62 | 1,60 |
| 17 | 72,48 | 72,95 | 14 β | 1,59 | 1,57 |
| 18 | 9,35 | 9,67 | 15 α | 1,26 | 1,27 |
| 19 | 16,48 | 16,71 | 15 β | 1,68 | 1,64 |
| 24 | 221,24 | 217,61 | 16 β | 2,80 | 2,87 |
| 25 | 28,92 | 28,26 | 17 α | 2,26 | 2,07 |
| 27 | 40,82 | 41,44 | 18CH ₃ | 0,50 | 0,48 |
| 29 | 69,66 | 69,78 | 19CH ₃ | 1,07 | 1,06 |
| 31 | 66,83 | 66,83 | 25CH ₃ | 2,23 | 2,15 |
| 35 | 174,92 | 172,44 | 27 α | 0,96 | 0,82 |
| 36 | 18,63 | 18,12 | 27 β | 2,31 | 2,45 |
| | | | 29 α | 3,23 | 3,07 |
| | | | 31 α | 3,29 | 3,18 |
| | | | 31 β | 4,07 | 4,07 |
| | | | 36CH ₃ | 2,02 | 1,93 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 11



| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------|----------------------|-------|
| | CLOROFÓRMIO | VÁCUO | | CLOROFÓRMIO | VÁCUO |
| 1 | 33,58 | 32,96 | 1 α | 2,08 | 2,11 |
| 2 | 203,82 | 199,90 | 1 β | 2,38 | 2,23 |
| 3 | 125,74 | 126,39 | 3 | 5,96 | 5,95 |
| 4 | 180,97 | 176,68 | 6 α | 2,13 | 2,05 |
| 5 | 42,85 | 42,30 | 6 β | 1,61 | 1,57 |
| 6 | 32,01 | 32,41 | 7 α | 4,43 | 4,35 |
| 7 | 79,12 | 79,33 | 8 α | 2,09 | 2,12 |
| 8 | 41,29 | 41,19 | 8 β | 1,19 | 1,10 |
| 9 | 31,95 | 31,97 | 9 β | 2,09 | 2,10 |
| 10 | 50,03 | 50,26 | 10 α | 1,51 | 1,42 |
| 11 | 56,02 | 56,40 | 11 α | 1,33 | 1,22 |
| 12 | 49,84 | 49,42 | 13 α | 1,53 | 1,46 |
| 13 | 39,48 | 39,96 | 13 β | 1,91 | 1,89 |
| 14 | 23,07 | 23,07 | 14 α | 1,66 | 1,61 |
| 15 | 31,79 | 31,92 | 14 β | 1,57 | 1,54 |
| 16 | 39,49 | 39,18 | 15 α | 1,67 | 1,68 |
| 17 | 70,03 | 70,02 | 15 β | 1,07 | 1,02 |
| 19 | 12,02 | 12,24 | 16 β | 2,90 | 2,99 |
| 25 | 217,43 | 213,17 | 17 α | 2,35 | 2,20 |
| 26 | 30,61 | 29,82 | 19CH ₃ | 0,72 | 0,72 |
| 28 | 43,74 | 44,15 | 26CH ₃ | 2,14 | 2,07 |
| 31 | 145,12 | 144,68 | 28 α | 1,69 | 1,60 |
| 32 | 114,21 | 114,13 | 28 β | 2,46 | 2,45 |
| 58 | 22,13 | 22,53 | 31 β | 5,88 | 5,87 |
| | | | 32CH ₂ | 5,15 | 5,10 |
| | | | 58CH ₃ | 1,34 | 1,32 |

DFT/B3LYP/6-311+G(2d,p) – Esteroide 12



| ¹³ C | ¹³ C (ppm) | | ¹ H | ¹ H (ppm) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------------|----------------------|-------|
| | ÁGUA | VÁCUO | | ÁGUA | VÁCUO |
| 1 | 27,66 | 27,30 | 1 α | 1,65 | 1,83 |
| 2 | 69,61 | 69,39 | 1 β | 1,73 | 1,58 |
| 3 | 35,62 | 36,90 | 2 β | 4,22 | 4,16 |
| 4 | 34,42 | 34,88 | 3 α | 1,25 | 1,38 |
| 5 | 38,08 | 38,06 | 3 β | 2,00 | 1,98 |
| 6 | 27,77 | 27,92 | 4 β | 1,32 | 1,22 |
| 7 | 40,36 | 41,05 | 6 α | 1,82 | 1,93 |
| 8 | 72,66 | 72,31 | 6 β | 1,45 | 1,42 |
| 9 | 39,68 | 40,07 | 7 α | 1,79 | 1,80 |
| 10 | 39,14 | 39,39 | 7 β | 2,02 | 1,96 |
| 11 | 42,42 | 42,52 | 8 β | 3,77 | 3,73 |
| 12 | 49,25 | 49,17 | 9 β | 1,46 | 1,32 |
| 13 | 77,04 | 76,93 | 10 α | 1,43 | 1,36 |
| 14 | 28,36 | 28,29 | 11 α | 1,82 | 1,82 |
| 15 | 24,25 | 24,17 | 13 β | 4,09 | 4,02 |
| 16 | 27,25 | 27,04 | 14 α | 1,63 | 1,64 |
| 17 | 45,06 | 45,35 | 14 β | 1,60 | 1,50 |
| 18 | 37,38 | 37,78 | 15 α | 1,87 | 2,09 |
| 19 | 32,29 | 31,91 | 15 β | 1,43 | 1,31 |
| 20 | 31,97 | 31,38 | 16 α | 1,82 | 1,83 |
| 21 | 177,84 | 174,61 | 16 β | 1,27 | 1,20 |
| 24 | 16,50 | 16,58 | 17 α | 1,84 | 1,83 |
| 26 | 9,82 | 10,24 | 18 β | 1,64 | 1,54 |
| 27 | 17,31 | 17,93 | 19 | 1,89 | 2,09 |
| 35 | 35,96 | 35,94 | 19' | 1,79 | 1,63 |
| 36 | 55,53 | 54,99 | 20 | 2,11 | 2,09 |
| | | | 20' | 2,21 | 1,97 |
| | | | 24CH₃ | 0,88 | 0,90 |
| | | | 26CH₃ | 0,84 | 0,79 |
| | | | 27CH₃ | 0,78 | 0,75 |
| | | | 35CH₂ | 3,67 | 3,63 |
| | | | 36CH₂ | 3,46 | 3,20 |