

**Combinação de Fatores de Escalonamentos de Deslocamentos Químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  (baseados em Regressões Lineares) e de Redes Neurais para Auxiliar a Determinação Estrutural da Savinina**

**Combination of Scaling Factors of  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR Chemical Shifts (based on Linear Regressions) and Neural Networks to Aid the Structural Determination of Savinin**

DOI:10.34117/bjdv7n3-147

Recebimento dos originais: 08/02/2021

Aceitação para publicação: 01/03/2021

**Evani Ferreira Cardoso**

Licenciada em Química

Instituição: Universidade Federal de Jataí - UFJ

Endereço: Av São Paulo, Q.22 L.13. Jaupaci-Go

E-mail: evaniferreiracardoso@gmail.com

**Geomar Souza Alves**

Especialista em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia

Instituição: Universidade Federal de Jataí - UFJ

Endereço: Rua D, 510. Q. 13, Lt. 8. Vila Padre Cícero. CEP: 76.200-000. Iporá-GO.

E-mail: geomarsgsa7@gmail.com

**Sara Sâmitha Souza**

Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde

Instituição: Unifimes - Centro Universitário de Mineiros.

Endereço: Unifimes - Centro Universitário de Mineiros, Rua 22 Setor Aeroporto CEP: 75833-130 Mineiros/GO.

E-mail: sarasamitha@unifimes.edu.br

**Ana Carolina Ferreira de Albuquerque**

Doutorado

Instituição: Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense

Endereço: Rua São João Batista, 2-188 - Centro - Niterói - CEP 24020-007

E-mail: anacarol\_albuquerque@hotmail.com

**Roberto Carlos Campos Martins**

Doutorado

Instituição: Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais Walter Mors / Universidade Federal do Rio de Janeiro

Endereço: Avenida Carlos Chagas Filho, 373 Bloco H, Lab HSS-18 Cidade Universitária Rio de Janeiro-RJ CEP 20241-150

E-mail: roberto@ippn.ufrj.br

**Rodrigo de Souza Miranda**

Mestrado

Instituição: Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais Walter Mors / Universidade Federal do Rio de Janeiro

Endereço: Avenida Carlos Chagas Filho, 373 Bloco H, Lab HSS-18 Cidade  
Universitária Rio de Janeiro-RJ CEP 20241-150  
E-mail: rodrigomiranda001@hotmail.com

**Fernanda Barbosa da Silva**

Mestrado

Instituição: Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais Walter Mors / Universidade  
Federal do Rio de Janeiro

Endereço: Avenida Carlos Chagas Filho, 373 Bloco H, Lab HSS-18 Cidade  
Universitária Rio de Janeiro-RJ CEP 20241-150  
E-mail: silvanandab@gmail.com

**Marcelo Ricardo Souza Siqueira**

Doutorado em Física de Materiais

Instituição: Grupo Amazônico de Materiais e Energias Renováveis (GAMER),  
Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIFAP, Campus Marco Zero do  
Equador

Endereço: Departamento de Ciências Exatas e Tecnológicas, UNIFAP, Campus Marco  
Zero do Equador, Macapá-AP, CEP: 68903-419.  
E-mail: marcelo.siqueira@unifap.br

**Fernando Martins dos Santos Junior**

Doutorado

Instituição: Universidade Federal Fluminense. Departamento de Química Orgânica,  
Instituto de Química.

Endereço: Rua outeiro de são João Batista, s/n, 24020-141, Niterói - RJ, Brasil.  
E-mail: fernando\_martins@id.uff.br

**Gunar Vingre da Silva Mota**

Doutor em Físico-Química

Instituição: Universidade Federal do Pará

Instituto de Ciências Exatas e Naturais ICEN UFPA

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 1 - Universitário, Belém – PA  
E-mail: gunarmota@yahoo.com

**Antonio Maia de Jesus Chaves Neto**

Doutor em Física

Instituição: Universidade Federal do Pará

Departamento de Física UFPA

Endereço: Rua Augusto Corrêa, 1 - Universitário, Belém – PA  
E-mail: amchaves@ufpa.br

**Fabio Luiz Paranhos Costa**

Doutor em Química de Produtos Naturais

Instituição: Universidade Federal de Goiás-REJ Jataí-GO

Endereço: Cidade Universitária José Cruciano de Araújo (Unidade Jatobá) Rod BR 364  
KM 192 - Setor Parque Industrial nº 3800 Caixa Postal 03 - CEP 75801-615 Jataí –  
Goiás  
E-mail: fabbioquimica@gmail.com

## RESUMO

Este é um trabalho teórico-experimental, onde a molécula de foco do estudo é a savinina, um lignano do tipo dibenzilbutyrolactónico, substâncias que podem ser encontradas em vários gêneros, um dos quais com maior ocorrência é o gênero *Acanthopanax* (Araliaceae) que é tradicionalmente utilizado como analgésico e estimulante do sistema imunitário, para além de exibir uma potente actividade insecticida e citotóxica para células do carcinoma do cólon humano HCT116. Foi isolado e aqui apresentamos a sua caracterização experimental e teórica através de dados  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  NMR e a possível confirmação da estrutura utilizando a ferramenta de rede neural (ANN-PRA). O objectivo deste trabalho é utilizar cálculos teóricos de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  NMR e dados experimentais para a resolução da estrutura da savana, e a utilização da ferramenta de rede neural (ANN-PRA) para confirmar a estrutura da molécula.

**Palavras-chave:** ANN-PRA, Savinina, GIAO

## ABSTRACT

This is a theoretical-experimental work, where the focus molecule of the study is savinine, a lignan of the dibenzylbutyrolactonic type, substances that can be found in several genera, one of which has a greater occurrence is the genus *Acanthopanax* (Araliaceae) which is traditionally used as an analgesic and immune system stimulant, in addition to exhibiting a potent insecticidal and cytotoxic activity for human colon carcinoma HCT116 cells. It was isolated and here we present its experimental and theoretical characterization by means of  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR data and the possible confirmation of the structure using the neural network tool (ANN-PRA). The objective of this work is to use theoretical calculations of  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR and experimental data for the resolution of the savinine structure, and the use of the neural network tool (ANN-PRA) to confirm the structure of the molecule.

**Keywords:** ANN-PRA, Savinina, GIAO

## 1 INTRODUÇÃO

Lignanas são produtos naturais que se destacam pela grande diversidade estrutural que apresentam e, também, por possuírem diversas atividades biológicas. Estudos já demonstraram que diversas lignanas possuem atividade antiviral [1], antitumoral e antiparasitária [2]. Na determinação estrutural de moléculas orgânicas utiliza-se em grande escala a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) [3]. Sendo o deslocamento químico ( $\delta$ ) o parâmetro mais importante. A tarefa computacional concerne em calcular uma das propriedades da resposta magnética de segunda ordem, no qual o cálculo do tensor de blindagem magnética nuclear ( $\sigma$ ) tem papel muito importante [4-25]. Este é um trabalho teórico-experimental, onde a molécula foco do estudo é a savinina, uma lignana do tipo dibenzilbutirolactônica, substâncias que pode ser encontrada em diversos gêneros, um dos quais possui maior ocorrência é o gênero *Acanthopanax* (Araliaceae) que é

tradicionalmente usado como analgésico e estimulante do sistema imunológico, além de exibir um potente atividade inseticida e citotóxica para células HCT116 de carcinoma do cólon humano [26]. Ela foi isolada e aqui apresentamos a sua caracterização experimental e teórica por meio de dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  e a possível confirmação da estrutura utilizando a ferramenta rede neural (ANN-PRA) [27].

## 2 OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho é combinar pela primeira vez de cálculos teóricos de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  (baseados em regressões lineares), a ferramenta rede neural (ANN-PRA) e dados experimentais para a resolução da estrutura da savinina.

## 3 METODOLOGIA

Utilizamos a savinina, substância isolada da planta *Eryngium glaziovianum* (Apiaceae). Os dados experimentais foram obtidos em clorofórmio deuterado. Todos os cálculos teórico foram realizados em nível mPW1PW91/6-31G\* sem levar em consideração os efeitos do solvente, exceto dos realizados utilizando a ferramenta de rede neural ANN-PRA. Todos os cálculos quânticos foram realizados usando o programa Gaussian09 [28]. Cálculos de frequência vibracional confirmaram a natureza dos pontos estacionários como verdadeiros pontos de mínimo. Para a realização dos cálculos dos tensores isotrópicos de blindagem nuclear ( $\sigma$ ) usou-se como referência o tetrametilsilano (TMS). Utilizou-se o método GIAO. Os deslocamentos químicos calculados ( $\delta_{\text{calc}}$ ) são calculados como as diferenças entre os  $\sigma$  dos núcleos e os átomos correspondentes de tetrametilsilano (TMS,  $\sigma_{\text{TMS}}$ ), que geralmente é usado como um composto de referência padrão para  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN. Para validar a correlação linear entre os deslocamentos químicos calculados e experimentais, foram realizadas análises estatísticas dos resultados obtidos. Assim, para observar a exatidão e precisão das correlações, foram calculados os seguintes descritores a partir dos dados  $\delta_{\text{calc}}$ ,  $\delta_{\text{scal}}$  e experimental: desvio médio absoluto (MAD) e quadrado médio da raiz (RMS). Foi utilizada outra ferramenta chamada rede neural (ANN-PRA), onde se utilizou os dados previamente gerados, o que indicaria ser ou não a estrutura esperada. Todos os dados experimentais de RMN foram obtidos com clorofórmio deuterado.

## 4 RESULTADOS

A figura 1 representa a estrutura bidimensional da molécula de savinina. Nas tabelas 1 e 2 são apresentados os dados experimentais e os resultados dos cálculos de  $\delta_{calc}$ ,  $\delta_{scal}$  (em ppm) para  $^1H$  e  $^{13}C$ , respectivamente. Outrossim, são mostrados os valores de MAD e RMS (em ppm).

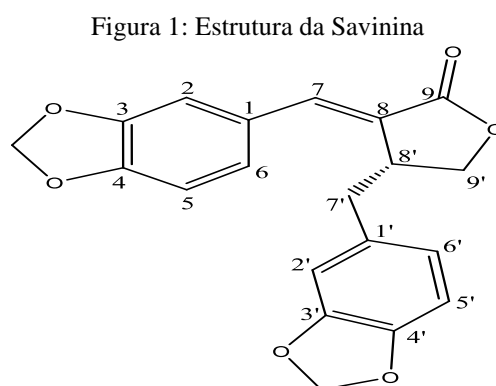


Tabela 1: Dados de RMN de  $^1H$

Hidrogênio	$\delta_{calc}$	$\delta_{scal}$	$\delta_{exp}$
2	6,81500	6,77	7,01
5	6,91920	6,87	6,85
6	7,63180	7,57	7,06
7	7,36600	7,31	7,50
2'	6,75170	6,71	6,64
5'	6,68510	6,64	6,71
6'	6,81000	6,76	6,61
7' a/b	2,32740	2,37	2,57
7' a/b	3,18320	3,21	2,97
8'	3,38680	3,41	3,75
9'a/b	4,26280	4,27	4,12
9'a/b	3,93570	3,95	4,23
OCH <sub>2</sub> O	6,26395	6,23	6,02
OCH <sub>2</sub> O	6,16155	6,13	5,90
MAD	0,21	0,21	
RMS	0,26	0,24	

Tabela 2: Dados de RMN de  $^{13}C$

Carbono	$\delta_{calc}$	$\delta_{scal}$	$\delta_{exp}$
1	124,9	129,9	128,3
2	111,3	115,6	108,8
3	142,9	148,8	148,5
4	143,5	149,8	149,3
5	105,2	109,2	109,0
6	119,0	123,7	126,0
7	133,8	139,3	137,5
8	123,1	128,0	126,3
9	164,0	170,9	172,7
1'	127,8	133,0	131,6
2'	104,6	108,6	109,3

3'	143,1	149,0	148,1
4'	141,5	147,3	146,7
5'	104,8	108,8	108,7
6'	119,7	124,4	122,2
7'	37,9	38,5	37,4
8'	44,1	45,1	40,1
9'	65,9	68,0	69,7
OCH <sub>2</sub> O	101,7	105,6	101,9
	100,9	104,7	101,2
MAD	4,06	1,80	
RMS	4,50	2,44	

A tabela 3 foi gerada com base nos dados fornecidos pela abordagem AN-PRA.

Tabela 3: Dados experimental e teórico da Rede Neural AN-PRA para <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e HSQC

<sup>1</sup> H & <sup>13</sup> C			HSQC		
	TMS	MSTD	TMS	MSTD	
MAE	4,05	1,34	M-h	2,70	1,48
σ	2,32	1,57	M-α	1,33	1,10
MaxErr	9,28	6,60	σ-h	2,11	1,82
R2	1,00	1,00	Max-h	6,88	6,60
m	0,93	0,99	CM-h	1,94	1,71
b	4,90	2,37	CM- α	1,38	1,52
CMAE	1,30	1,26	C σ-h	1,01	1,29
C σ	1,18	1,22	CMax-h	4,86	5,56
CMaxErr	4,86	5,56	Q1	0,57	0,07
MAE	0,18	0,16	Q2	0,29	0,29
σ	0,14	0,12	Q3	0,07	0,29
MaxErr	0,31	0,42	Q4	0,07	0,36
R2	0,99	0,99	MQ	1,00	4,00
m	1,05	1,04	Q1_sc	0,43	0,36
b	-0,40	-0,22	Q2_sc	0,14	0,29
CMAE	0,13	0,15	Q3-sc	0,29	0,07
C σ	0,10	0,10	Q4_sc	0,14	0,29
CMaxErr	0,30	0,32	MQ-sc	1,00	1,00

## 5 DISCUSSÃO

Com base nas análises dos dados percebe-se que há boa reprodução dos dados experimentais, os erros são muito pequenos. Isto indica que de fato que a molécula isolada é a savinina (figura 1). O fator de correção para o <sup>13</sup>C diminui de forma mais notável os erros do que aquele utilizado para <sup>1</sup>H. No que se refere à análise da ANN-PRA, os resultados continham 72 parâmetros de saída, que foram calculados em dois padrões de

referência o TMS e o MSTD (multireferências), levando à conclusão de que a molécula isolada corresponde a estrutura da savinina .

## **6 CONCLUSÕES**

De acordo com os resultados dos cálculos teóricos e dados experimentais isolou-se a molécula da savinina. A combinação dos protocolos de escalonamento de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ , juntamente com a rede neural, pode ser uma ferramenta, de baixo custo computacional e de grande valia para a confirmação de estruturas de produtos naturais.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

## REFERÊNCIAS

- [1]. Charlton, J.L. **1998**. Antiviral activity of lignans. *Journal Natural Products*, 61(11), p.1447-1451
- [2]. Moss, G.P. **2000**. Nomenclature of lignanas and neolignans. *Pure and Applied Chemistry*, 72(8), p.1493-1523.
- [3]. Jain, R., Bally, T. and Rablen, P.R. **2009**. Calculating Accurate Proton Chemical Shifts of Organic Molecules with Density Functional Methods and Modest Basis Sets. *The Journal of Organic Chemistry*, 74(11), p.4017–4023.
- [4] de Albuquerque, A.C.F., Ribeiro, D.J. and de Amorim, M.B. **2016**. Structural determination of complex natural products by quantum mechanical calculations of  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts: development of a parameterized protocol for terpenes. *Journal of Molecular Modeling*, 22(8), pp.183-189.
- [5] Costa, F.L.P, Fernandes, S.B.deO., Fingolo, C.E., Boylan, F., de Jesus Chaves Neto, A.M., Mota, G.V.daS., Soares, B.A., Siqueira, M.R.S and Giacomello, T.F., **2020**. Experimental and Theoretical Nuclear Magnetic Resonance Data from Tryptanthrin, an Alkaloid with Potential Activity Against Human Coronavirus. *Advance Science, Engineering and Medicine*, 12 (7), pp.963-969.
- [6] Jalowitzki, S.A, Giacomello, T.F., Mota, G.V.daS., de Jesus Chaves Neto, A.M. and Costa, F.L.P., **2020**. An Application of the PCM Model for Obtaining Chalcones Magnetic Properties. *Advance Science, Engineering and Medicine*, 12 (7), pp.939-950.
- [7] Cardoso, E.F., de Albuquerque, A.C.F., de Jesus Chaves Neto, A.M., Mota, G.V.daS. and Costa, F.L.P., **2020**. Gauge-Including-Atomic-Orbitals-mPW1PW91/6-31G(d) Scaling Factor as a Satisfactory Cost-Effectiveness Ratio for H-1 Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shift Calculations. *Advance Science, Engineering and Medicine*, 12 (8), pp. 1095-1101.
- [8] Rocha, R. A. deM., Giacomello, T.F., de Jesus Chaves Neto, A.M., Mota, G.V.daS. and Costa, F.L.P., **2020**. Diferenciação de Triterpenos Regiosoméricos por Meio de Cálculos de Deslocamento Químico de RMN de  $^{13}\text{C}$ . *Revista Virtual de Química*, 12(4), pp. 969-980.
- [9] Giacomello, T.F., Mota, G.V.daS., de Jesus Chaves Neto, A.M. and Costa, F.L.P., **2020**. Use of Replaced Chalcones to Generate a  $^{13}\text{C}$  Chemical Shift Staging Factor for Chalcone and Its Derivate. *Advance Science, Engineering and Medicine*, 12(4), pp.464-472.
- [10] Souza, S.S., Martins, M.A.deS., Neto, A.M.deJ.C.; Mota, G.V.daS. And Costa, F.L.P., **2020**. Systematic Gauge-Including Atomic Orbital-Hybrid Density Functional Theory Linear Regressions for  $^{13}\text{C}$  NMR Chemical Shifts Calculation. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 12(3), pp.364-370.
- [11] Prado, G.daS., Giacomello, T.F., Wulff, L.B., Siqueira, M.R.S., Mota, G.V.daS., Neto, A.M. deJ.C., Moraes, E.dosS. and Costa, F.L.P., **2019**. Chemical discharge of  $^{13}\text{C}$  calculated for efavirenz. *Brazilian Journal of Development*, 5(11), pp.25698-25703.



[12] Wulff, L.B., Prado, G.daS., Giacomello, T.F., Siqueira, M.R.S., Mota, G.V.daS., Neto, A.M. deJ.C., Moraes, E.dosS. and Costa, F.L.P., **2019**. Oseltamivir, a  $^{13}\text{C}$  chemical displacement correlation. *Brazilian Journal of Development*, 5(12), pp. 32129-32135.

[13] Costa, F.L.P., Fernandes, S.B.deO.; Fingolo, C.E., Boylan, F. and Mota G.V.daS., 2017. Tryptanthrin (indolo [2,1-b] quinazoline-6,12-dione) Isolation from Leaves of *Couroupita guianensis* and Its Characterization by NMR Experimental and GIAO-DFT Data. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 14(5), pp.2383-2388.

[14] Costa, F.L.P., Giacomello, T.F., de Morais Rocha, R.A., de Jesus Chaves Neto, A.M. and Mota, G.V.D.S., **2017**. Very Fast and Surprisingly Accurate GIAO-mPW1PW91/3-21G//PM7 Scaling Factor for  $^{13}\text{C}$  NMR Chemical Shifts Calculation. *Advance Science, Engineering and Medicine*, 9(3), pp.254–61.

[15] Giacomello, T.F., de Morais Rocha, R.A., de Jesus Chaves Neto, A.M., Mota, G.V.daS. and Costa, F.L.P., **2017**. Protocol for Calculating  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shifts of Flexible Organic Molecules. *Advance Science, Engineering and Medicine*, 9(8), pp. 640–647.

[16] Costa, F.L.P., de Fernandes, S.B.O., Fingolo, C.E., Boylan, F., de Albuquerque, A.C.F., dos Santos Junior, F.M., de Amorim, M.B., 2016. Isolation, Identification, Relative Configuration and Conformational Analysis of Lolilide by GIAO-HDFT  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR Chemical Shifts Calculations, *Quantum Matter*, 5(5), pp.675-679.

[17] Costa, F.L.P., de Albuquerque, A.C.F., Borges, R.M., dos Santos Junior, F.M. and de Amorim, M.B., **2014**. High Cost-Effectiveness Ratio: GIAO-MPW1PW91/6-31G(d)//MPW1PW91/6-31G(d) Scaling Factor for  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance Chemical Shifts Calculation. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 11(1), pp.219–225.

[18] Costa, F.L.P. and de Amorim, M.B., **2011**. GIAO-B3LYP low computational cost scaling factor for  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts calculation. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 8(7), pp.1166-1172.

[19] Costa, F.L.P., De Albuquerque, A.C.F., Dos Santos, F.M. and de Amorim, M.B., **2010**. GIAO-HDFT scaling factor for  $^{13}\text{C}$  NMR chemical shifts calculation. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 23(10), pp.972–977.

[20] Dos s., F., Velozo, L., De Carvalho, E., M., A., Borges, R., Trindade, A., Dos Santos, M., de Albuquerque, A., Costa, F., Kaplan, M., De Amorim, M., **2013**. 3-Ishwarone, a Rare Ishwarane Sesquiterpene from *Peperomia scandens* Ruiz. *Molecules (Basel. Online)*, 18 (11), pp. 13520-13529.

[21] Mota, E.A.V., Neto, A.F.G., Marques, F.C., Mota, G.V.S., Martins, M.G., Costa, F.L.P., Borges, R.S. and Neto, A.M.J.C. **2018**. Time-Dependent Density Functional Theory Analysis of Triphenylamine-Functionalized Graphene Doped with Transition Metals for Photocatalytic Hydrogen Production. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 18(7) pp.4987-4991.

- [22] Costa, F., **2006**. Electronic structure study of the reaction  $C_2H_4^+ \rightarrow C_2H_2^+ + H_2$ . *International Journal of Quantum Chemistry*, 106(13), pp.2763–2771.
- [23] Mota, G.V. daS., Oliveira, C. X., Neto, A.M.J.C. and Costa, F.L.P. Inclusion Complexation of Praziquantel and  $\alpha$ -Cyclodextrin, Combined Molecular Mechanic and Monte Carlo Simulation, **2012**. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 9(8), pp.1090-1095.
- [24] Costa, F.L. P. and de Amorim, M.B. Theoretical Study on Styrenes Planarity: Styrene and p-Hydroxi-Styrene, **2010**. *Advanced Science Letters*, 3(4) pp.507-511.
- [25] Costa, F.L.P, Gomes, P.F., Silva, A.K. and L. M. Lião, L. M. Conformational Analysis, Experimental and GIAO-DFT  $^{13}C$  NMR Chemical Shift Calculation on 2'-Hydroxy-3,4,5-trimethoxy-chalcone, **2017**. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(11) pp.2130-2135.
- [26]. Mansoor, T.A., Borralho, P.M., Luo, X., Mulhovo, S., Rodrigues, M.P. and Ferreira, M.U. **2013**. Apoptosis inducing activity of benzophenanthridine-type alkaloids and 2 arylbenzofuran neolignans in HCT116 colon carcinoma cells. *Phytomedicine*, 20(10), p.923–929.
- [27]. Zanardi, M. M. and Sarotti, A. M.; J. **2015**. GIAO C–H COSY simulations merged with artificial neural networks pattern recognition analysis. *The Journal of organic chemistry*, 80(19), p.9371-9378.
- [28] Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery, J.A., Peralta, J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, K.N., Straroverov, V.N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox, J.E., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cioslowski, J. and Fox, D.J., **2009**. Gaussian 09, revision b.01.