UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TIAGO BARBOSA PEREIRA

DERIVADOS SEMISSINTÉTICOS A PARTIR DOS LIMONOIDES ISOLADOS DAS SEMENTES DA ANDIROBA (*Carapa guianensis* –Meliaceae) E SUA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA CONTRA *Plasmodium* spp

Manaus-AM
2018

TIAGO BARBOSA PEREIRA

DERIVADOS SEMISSINTÉTICOS A PARTIR DOS LIMONOIDES ISOLADOS DAS SEMENTES DA ANDIROBA (*Carapa guianensis* –Meliaceae) E SUA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA CONTRA *Plasmodium* spp

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Doutor em Química, área de concentração Química Orgânica e Síntese de Biomoléculas.

Orientador: Dr. Adrian Martin Pohlit

Manaus-AM

2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo autor

Pereira, Tiago Barbosa Pereira
P436d Derivados semissintéticos a partir dos limonoides isolados das sementes da Andiroba (Carapa guianensis- Meliaceae) e sua atividade antimalárica contra Plasmodium spp / Tiago Barbosa Pereira Pereira. 2018
250 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Adrian Martin Pohlit
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Malária . 2. Limonoides . 3. Gedunina. 4. Semissíntese . 5. Andiroba . I. Pohlit, Adrian Martin II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

TIAGO BARBOSA PEREIRA

DERIVADOS SEMISSINTÉTICOS A PARTIR DOS LIMONOIDES ISOLADOS DAS SEMENTES DA ANDIROBA (*Carapa guianensis* –Meliaceae) E SUA ATIVIDADE ANTIMALÁRICA CONTRA *Plasmodium* spp

Tese de Doutorado submetido ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor em Química.

Aprovado, em 23 de Agosto de 2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Adrian Martin Pohlit
Universidade Federal do Amazonas
Orientador

Prof.ª Dr.ª Rita de Cássia Saraiva Nunomura
Membro UFAM

Prof.ª Dr.ª Marcia Rúbia de Silva Melo
Membro Externo - UEA

Prof.ª Dr.ª Cecília Verônica Nunez
Membro INPA

Prof. Dr. Emmanoel Vilaça Costa
Membro UFAM

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 23 de Agosto de 2018

Dedico este trabalho a minha querida esposa, Josy Pereira; pelo apoio incondicional e por estimular um sorriso no meu rosto nos dias mais desesperadores do desenvolvimento deste trabalho.

Sem ela nenhuma conquista valeria a pena.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me dar força e fé nos momentos mais difíceis.

Ao professor Dr. Adrian Martin Pohlit, pela amizade, orientação que tanto influenciaram em minha formação acadêmica.

A todos os integrantes do Central Analítica e Temática de Química e Produtos Naturais (CALTQPN), Dra. Zelina E. Torres, Dra. Sabrina Kelly Morais, em especial meu grande amigo M. Ciên. Magno Perea, por todas as análises realizadas com máxima competência.

A Dr. Zelina E. Torres por todo o apoio técnico necessário para o bom funcionamento do nosso grupo de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Andrey Grafov e Profa. Dra. Iryna Grafova, da Universidade de Helsinki, em parceria com o projeto Vaikutus - INPA/Brazil-University Helsinki/ Finlândia, pelo apoio acadêmico e amigo durante estadia em seu laboratório.

Às alunas M. Ciên. Jakeline Siqueira, M. Ciên. Marcia Alves de Souza, M. Ciên. Karla Lagos Nogueira e Suellen Monteiro sob a coordenação do Dr. Luiz Francisco Rocha e Silva, pelas análises *in vitro* realizadas.

Ao Prof. Dr. Emerson Silva Lima, Profa. Dr. Marne C. Vasconcelos (BIOPHAR/UFAM) e colaboradores pelas análises e testes citotóxicos realizados.

Aos meus amigos de laboratórios que estiveram comigo em todas as fases deste trabalho: Edizon Veiga Lopez, Abraão Alexandre, Rita Cynara, Yara Lins, Paula Suellen, Berna Almeida, Diana, Laís, Bruna Oliveira, Gustavo Santos, Daniel Soares e Rodrigo.

Aos meus pais Djalma e Sonia Pereira e tios Lafayette Maduro e Mirian Maduro por todo apoio financeiro e psicológico no decorrer desse trabalho acadêmico.

Ao Pesquisador Roberto Figliuolo por disponibilizar as frações ricas em limonoides.

Ao órgão de fomento FAPEAM do qual fui bolsista durante o doutorado.

PENSAMENTO

O cientista é o homem que transforma lixo em luxo (autor desconhecido).

RESUMO

Com a resistência do protozoário do gênero *Plasmodium falciparaum e vivax* ao tratamento a base dos derivados da artemisinina e cloroquina, respectivamente, vem a necessidade da implementação de novos fármacos antimaláricos. Segundo trabalhos realizados pelo LAPAAM/INPA revelam atividade antimalárica promissora de limonoides isolados das sementes da Andiroba (*Carapa* spp) a partir da torta residual ou do óleo. Este trabalho tem como finalidade isolar limonoides das sementes da Andiroba e realizar modificações semissintéticas com o intuito de averiguar suas atividades antimalárica *in vitro* contra *P. falciparum* e *P. vivax*. A obtenção dos limonoides iniciou com a coleta das sementes e tortas residuais da *C. guianensis*, seguido pela implementação das técnicas cromatográficas, como extração, partição líquido-líquido, partição cromatográfica e partição por CLAE. Os produtos semissintéticos purificados das reações de benzoilação, butirilação, pentionilação, heptanoilação e redução com $NaBH_4$ dos limonoides de esqueleto geduníneo foram caracterizados estruturalmente por *Ultra Fast Liquid Cromatography* e *High Resolution mass spectromety* com *Eletrospray ionization* (UFLC/HRMS-ESI) e Ressonância Magnética Nuclear de uni e/ou bidimensional. O presente trabalho isolou quatro limonoides: 6α-hidroxigedunina (**34**), 7-desacetil-7-oxigedunina (**9**), 6α-acetoxigedunina (**10**) e 6α-acetilazaradiona (**33**), e obteve treze substâncias semissintéticas. As substâncias 6α-acetoxigedunina e seu derivado semissintético 6α-hidroxidesacetilgedunina apresentaram atividade promissora contra cepa de *P. vivax*. Dentre as trezes substâncias semissintéticas testadas nos ensaios antimaláricos *in vitro* contra cepa K1 de *Plasmodium falciparum*, os derivados 6-epi-gedunia (**9.1.1**, CI_{50} 1,76 μM) e a gedunina (**9.2.1**, CI_{50} 2,49) foram considerados os mais ativos e, todas a substâncias utilizadas nesta tese apresentaram baixa toxidade em células normais com viabilidade maior que 50% na concentração de 50 μg/mL.

Palavras-chaves: Malária, Limonoides, gedunina e semissíntese.

ABSTRACT

With the resistance of the protozoan of the genus *Plasmodium falciparaum* and *Plasmodium vivax* to the base treatment of the derivatives of artemisinin and chloroquine, respectively, arises the need for the implementation of new anti-malarial drugs. According to works carried out by LAPAAM/INPA, they reveal potential anti-malarial activity of limonoids isolated from residual seed biomass and oil from Andiroba (*Carapa spp*). This work aims to isolate limonoids from Andiroba seeds and to perform semi - synthetic modifications in order to investigate their anti-malarial activities *in vitro* against *P. vivax* and *P. falciparum*. The extraction of limonoids started with the collection of *C. guianensis* seeds and residual biomass, followed by the implementation of chromatographic techniques, such as extraction, liquid-liquid partition, chromatographic partition and HPLC partition. The semi-synthetic products purified from the benzoylation, butyrylating, penethionylation, heptanoylation and $NaBH_4$ reduction reactions of the gedunin type of limonoids were characterized structurally by Ultra-Fast Fluid Chromatograph High Resolution spectroscopy (UFLC / HRMS-ESI) and uni and / or two-dimensional Nuclear Magnetic Resonance. The present work isolated four limonoids: 6α-hydroxyigedunine (**34**), 7-deacetyl-7-oxygedunin (**9**), 6α-acetoxyglycine (**10**) and 6α-acetylazaradione (**33**) and obtained thirteen semi-synthetic substances. The substances 6α-acetoxygedunin and its semi-synthetic derivative 6α-hydroxydesacetylgedunin (**10.1**) showed potential activity against *P. vivax* strain. Among the three semisynthetic substances tested in the *in vitro* antimalarial assays against *Plasmodium falciparum* K1 strain, 6-epi-gedunin derivatives (**9.1.1**, IC_{50} 1.76 μM) and gedunin (9.2.1, IC_{50} 2.49) were considered the most active and all substances used in this thesis presented low toxicity in normal cells with viability greater than 50% in the concentration of 50 μg/mL.

Key-words: Malaria, Limonoids, gedunin and semi synthesis

LISTA DE ABREVIAÇÕES

AcOH	Ácido acético
AcOEt	Acetato de Etila
AC_2O	Anidrido acético
Aubl.	Aublet
CC	Cromatografia em Coluna
CCD	Cromatografia de camada delgada
CCDP	Cromatografia de camada delgada preparativa
CCD-RP	Cromatografia de camada delgada de fase reversa
$CDCl_3$	Clorofórmio deuterado
C_5D_5N	Piridina deuterada
CE_{50}	Concentração efetiva de 50%
$CHCl_3$	Clorofórmio
CI_{50}	Concentração inibitória de 50%
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
D6	Cepa do *Plasmodium falciparum* sensível à cloroquina
DCM	Diclorometano
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMF	Dimetilformamida
EM	Espectrofotômetro de massa
ESI	*Electrospray ionization* (ionização por *electrospray*)
FCR-3	Cepa do *Plasmodium falciparum* sensível à cloroquina
HPLC	High Performance Liquid Chomatography (Cromatografia líquida de alta eficiência)
HRMS	*High resolution mass spectrometry* (espectrometria de massas de alta resolução)
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
K1	Cepa do *Plasmodium falciparum* resistente à cloroquina
K_2CO_3	Carbonato de potássio
KOH	Hidróxido de Potássio
MeOH	Metanol
m/z	Relação massa/carga
Na_2SO_4	Sulfato de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization)*
P. berghei	*Plasmodium berghei*
P. falci-parum	*Plasmodium falciparum*
P. vivax	*Plasmodium vivax*
RMN	Ressonância magnética nuclear
Sp.	Espécie
TOF	*Time of flight* (Tempo de voo)
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
W2	Cepa do *Plasmodium falciparum* resistente à cloroquina
UFLC	*Ultra Fast Liquid Cromatography*
δ	Deslocamento químico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Drogras usadas no tratamento da malária; cloroquina (**1**); primaquina (**2**); artemeter (**3**); lumefantrina (**4**); artemesinina (**5a**), artesunato de sódio (**5b**), diidroartemisinina (**5c**), arteméter (**5d**),artéter (**5e**); mefloquina (**6**); quinina (**7**); doxiciclina (**8**). 46
Figura 2. Formação do tetranorterpenoide (limonoide)..... 49
Figura 3 Limonoide isolados na Andiroba: 7-desacetil-7-oxigedunina (**9**); 6α-acetoxigedunina (**10**); 6α-hidroxigedunina (**11**); 6α-acetoxi-7α-deacetoxi-7α-hidroxigedunina (**12**); gedunina (**13**); 7-desacetil-7-hidroxigedunina (**14**); adirolida I (**15**), andirolida J (**16**), andirolida A (**17**), mexicanolida: andirolida K (**18**), andirobina (**19**); 6-hidroxi-angolensato de metila (**20**); angolesato de metila (**21**)..... 50
Figura 4 Limonoide isolados da *Carapa* spp: andirolida L (**22**); andirolida M (**23**); andirolida N (**24**), andirolida B (**25**), andirolida C (**26**), andirolida D (**27**), : andirolida O (**28**), andirolida P (**29**), anidrolida E (30), andirolida F (**31**), andirolida G (**32**) e 6α-acetoxiazadiradiona (**33**). 51
Figura 5 Cromatograma da fração TC17E 62
Figura 6**.** Esquema reacional para a obtenção do 6α-hidroxidesacetilgedunina (**10.1**) a partir do da 6α-acetoxigedunina (**10**). [Procedimento adaptado RODRIGUES, 2003) 67
Figura 7. Condições reacionais para a obtenção dos derivados (**10.1.1; 10.1.2; 10.1.3**) a partido do **10.1**. [Procedimento adaptado NKAMBULE et al., 2011) 68
Figura 8. Condições reacionais para a obtenção dos derivados **9.1**, **9.2** e **9.3** a partido do **TH62B** [Procedimento adaptado TANAKA et al., 2012) 69
Figura 9. Condições reacionais para a obtenção dos derivados **9.1.1; 9.1.2; 9.1.3** e **9.1.4** a partido do **9.1**. [Procedimento adaptado NKAMBULE et al., 2011) 70
Figura 10 Condições reacionais para a obtenção dos derivados **9.2.1** e **9.2.2** a partido do **9.2**. [Procedimento adaptado NKAMBULE et al., 2011) 71
Figura 11.Correlações importantes de HMBC e COSY do 6α-hidroxigedunina 79
Figura 12. Resumo dos dados dos espectros de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do 7α-heptanoiloxidesacetilgedunina (10.1.1). 83
Figura 13. Resumo dos dados dos espectros de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do 7α-benzoiloxidesacetilgedunina (**10.1.2**). 84

Figura 14. Resumo das correlações do espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do **10.1.3**, denominada 6α-butanoiloxidesacetilgedunina. 85
Figura 15. Mecanismos da reação de adição nucleofílica do grupo cetona mais reativo do 7-desacetil-7-oxogedunina com $NaBH_4$. 87
Figura 16. Resumo das correlações de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produtos semissintéticos 7-epi-desacetilgedunina(**9.1**) e 7α-desacetilgededunina (**9.2**)..... 88
Figura 17. Resumo das correlações dos espectros deCOSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produto semissintético 1,2-dihidro-3α,7β-gedundiol (**9.3**). 89
Figura 18. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (300 MHz) em $CDCl_3$ entre δ_H 2,08 e 2,22 ppm, δ_H 4,90 e 5,10 ppm do produto **9.1.1**. 90
Figura 19. Resumo das correlações dos espectros de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do produto semissintético 7-epi-gedunina (**9.1.1**). 91
Figura 20. Ampliação do espectro de DEPT 135º (75 MHz) em $CDCl_3$ entre 10 e 60 ppm do produto **9.1.2.** 92
Figura 21. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (300 MHz) em $CDCl_3$ entre 0,90 e 1,25 ppm do produto 9.1.2. 93
Figura 22. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (300 MHz) em $CDCl_3$ entre 4,90 e 5,20 ppm do produto 9.1.2. 93
Figura 23. Resumo das correlações dos espectros de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produto semissintético 7β-butanoiloxigedunina(9.1.2). 94
Figura 24. Ampliação do espectro de DEPT 135º (75 MHz) em $CDCl_3$ entre 10 e 60 ppm do produto 9.1.3. 95
Figura 25. Resumo das correlações do espectro deCOSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produtos semissintéticos 7β-pentanoiloxigedunina(9.1.3). 96
Figura 26. Ampliação do sinal do hidrogênio H_7 do espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.1. 97
Figura 27. Ampliação do sinal do Hidrogênio H_7 do espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.2. 97
Figura 28. Ampliação do sinal do Hidrogênio H_7 do espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.3. 98
Figura 29. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (300 MHz) em $CDCl_3$ entre δ_H 2,08 e 2,22 do produto 9.2.1. 99

Figura 30. Resumo das correlações do espectro de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do produto semissintético (**9.2.1**). 99
Figura 31. Ampliação do espectro de DEPT 135º (75 MHz) (ANEXO 104) em $CDCl_3$ entre 0 e 50 ppm do produto **9.2.2.** 100
Figura 32. Resumo das correlações do espectro de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do produto semissintético 7α-butanoiloxigedunina (9.2.2). 101
Figura 33. Ampliação do espectro de DEPT 135º (75 MHz, ANEXO 112) em $CDCl_3$ entre 12 e 36 ppm do produto 9.2.3. 102
Figura 34. Resumo das orrelações do espectro de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produtos semissintéticos 7α-pentanoilgedunina (9.2.3). 103
Figura 35. Limonoides isolados das sementes da *Carapa guianensis*. ([a] Teste antimalárico contra cepas de *P. falciparum*; [b] Resultados publicado em Pereira et al., 2014; [c] Testes antimaláricos contra cepas clínicas de *P. vivax*)..... 104
Figura 36. Semissintéticos a partir do 6α-acetoxigedunina (**10**) e CI_{50} contra *P. falciparum*. 105
Figura 37. Semissintéticos obtidos na reação com $NaBH_4$ e 7-desacetil-7-oxogedunina e atividade antimalárica contra cepas de *P. falciparum*. 106
Figura 38. Resumo dos produtos de acilação do semissintético 7-epi-desacetilgedunina e atividade antimalárica *in vitro* contra cepa de *P. falciparum.* . 108
Figura 39. Resumo dos produtos de acilação do semissintético 7α-desacetilgedunina e atividade antimalárica *in vitro* contra cepa de *P. falciparum.* 109

LISTA DE QUADRO DE TABELAS

Tabela 1 Rendimento do extrato hexânico das sementes da *C.guianensis* 60
Tabela 2. Substâncias isoladas da fração TC17E por CLAE 62
Tabela 3 Rendimento do extrato acetônico da torta residual 63
Tabela 4 Rendimento dos cristais da recristalização com metanol 64
Tabela 5. Origem dos materiais vegetais e percentual de rendimento 75
Tabela 6. Correlação dos sinais dos espectros uni e bidimensionais da substância **34** 79
Tabela 7. CI_{50} das substâncias para cepa de *P. vivax*. frente a quatro substâncias naturais e doze semissintéticas. 109
Tabela 8. Valores de CI_{50} de substâncias naturais e semissintéticas contra *P. falciparaum* e fibroblasto humano MCR5. 110

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Dados de RMN ^{1}H e ^{13}C(apenas **34**) dos limonides isolados da *Carapa ssp* e comparação com os dados da literatua 122
ANEXO 2. UFLC/HRMS-ESI do **34** 125
ANEXO 3. Espectro de RMN de ^{1}H do **34**. 126
ANEXO 4. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **34**. 127
ANEXO 5. DEPT 135º da substância **34** 128
ANEXO 6. DEPT 90º do da substância **34**. 129
ANEXO 7. Espectro COSY ^{1}H-^{1}H da substância **34**. 130
ANEXO 8. Espectro de HSQC da substância **34**. 131
ANEXO 9. Espectro de HMBC da substância **34** 132
ANEXO 10. UFLC/HRMS-ESI do 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**) 133
ANEXO 11. Espectro de RMN de ^{1}H 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**) 134
ANEXO 12. UFLC/HRMS-ESI da 6α-acetoxigedunina (**10**). 135
ANEXO 13. Espectro de RMN de ^{1}H da 6α-acetoxigedunina (**10**) 136
ANEXO 14. UFLC/HRMS-ESI da 6α-acetoxiazaradiona (**33**) 137
ANEXO 15. Espectro de RMN de ^{1}H da 6α-acetoxiazaradiona (**33**) 138
ANEXO 16. Tabela dos sinais de RMN de ^{1}H e ^{13}C das substâncias 6α-hidroxidesacetilgedunina, 10.1.1 e 10.1.2 139
ANEXO 17. UFLC/HRMS-ESI da 6α-hidroxidesacetilgedunina. 143
ANEXO 18. Espectro de RMN de ^{1}H da 6α-hidroxidesacetilgedunina 144
ANEXO 19. Espectro de RMN de ^{13}C da 6α-hidroxidesacetilgedunina. 145
ANEXO 20. DEPT 135º da 6α-hidroxidesacetilgedunina. 146
ANEXO 21. DEPT 90º da 6α-hidroxidesacetilgedunina. 147
ANEXO 22. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H da 6α-hidroxidesacetilgedunina. 148
ANEXO 23. Espectro de HSQC da 6α-hidroxidesacetilgedunina. 149
ANEXO 24. Espectro de HMBC da 6α-hidroxidesacetilgedunina. 150
ANEXO 25. UFLC/HRMS-ESI do 10.1.1. 151
ANEXO 26. Espectro de RMN de ^{1}H 10.1.1 152
ANEXO 27. Espectro de RMN de ^{13}C do 10.1.1 153
ANEXO 28. DEPT 135º do 10.1.1. 154
ANEXO 29. DEPET 90º do 10.1.1. 155
ANEXO 30. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 10.1.1. 156

ANEXO 31. Espectro de HSQC do 10.1.1 157
ANEXO 32. Espectro HMBC do 10.1.1. 158
ANEXO 33. UFLC/HRMS-ESI do 10.1.2. 159
ANEXO 34. Espectro de RMN de ^{1}H do 10.1.2. 160
ANEXO 35. Espectro de RMN de ^{13}C do 10.1.2. 161
ANEXO 36. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 10.1.2. 162
ANEXO 37. Espectro de HSQC do 10.1.2 163
ANEXO 38. Espectro de HMBC do 10.1.2. 164
ANEXO 39. UFLC/HRMS-ESI do 10.1.3. 165
ANEXO 40. Espectro de RMN de ^{1}H do 10.1.3. 166
ANEXO 41. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 10.1.3. 167
ANEXO 42. Tabela dos sinais de RMN de ^{1}H e ^{13}C das substâncias 9.1, 9.2 e 9.3 168
ANEXO 43. UFLC/HRMS do 9.1. 171
ANEXO 44. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.1. 172
ANEXO 45. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.1. 173
ANEXO 46. Espectro de DEPT 135º do 9.1. 174
ANEXO 47. Espectro de DEPT 90º do 9.1. 175
ANEXO 48. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.1. 176
ANEXO 49. Espectro de HSQC do 9.1. 177
ANEXO 50. Espectro de HMBC do 9.1 178
ANEXO 51. UFLC/HRMS-ESI do 9.2. 179
ANEXO 52. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.2. 180
ANEXO 53. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.2. 181
ANEXO 54. Espectro de DEPT 135º do 9.2. 182
ANEXO 55. Espectro de DEPT 90º do 9.2. 183
ANEXO 56. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.2. 184
ANEXO 57. Espectro de HSQC do 9.2. 185
ANEXO 58. Espectro de HMBC do 9.2. 186
ANEXO 59. UFLC/HRMS-ESI do 9.3. 187
ANEXO 60. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.3. 188
ANEXO 61. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.3. 189
ANEXO 62. Espectro de DEPT 135º do 9.3. 190
ANEXO 63. Espectro de DEPT 90º do 9.3. 191

ANEXO 64. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.3. 192
ANEXO 65. Espectro de HSQC do 9.3. 193
ANEXO 66. Espectro de HMBC do 9.3. 194
ANEXO 67. Tabela dos sinais de RMN de ^{1}H e ^{13}C das substâncias 9.1.1, 9.1.2, 9.1.3 195
ANEXO 68. UFLC/HRMS-ESI do 9.1.1. 199
ANEXO 69. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.1.1. 200
ANEXO 70. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.1.1. 201
ANEXO 71. Espectro de DEPT 135º do 9.1.1. 202
ANEXO 72. Espectro de DEPT 90º do 9.1.1. 203
ANEXO 73. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.1.1. 204
ANEXO 74. Espectro de HSQC do 9.1.1. 205
ANEXO 75. Espectro de HMBC do 9.1.1. 206
ANEXO 76. UFLC/HRMS-ESI do 9.1.2 207
ANEXO 77. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.1.2. 208
ANEXO 78. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.1.2. 209
ANEXO 79. Espectro de DEPT 135º do 9.1.2. 210
ANEXO 80. Espectro de DEPT 90º do 9.1.2. 211
ANEXO 81. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.1.2. 212
ANEXO 82. Espectro de HSQC do 9.1.2. 213
ANEXO 83. Espectro de HMBC do 9.1.2. 214
ANEXO 84. UFLC/HRMS-ESI do 9.1.3 215
ANEXO 85. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.1.3. 216
ANEXO 86. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.1.3. 217
ANEXO 87. Espectro de DEPT 135º do 9.1.3. 218
ANEXO 88. Espectro de DEPT 90º do 9.1.3. 219
ANEXO 89. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.1.3. 220
ANEXO 90. Espectro de HSQC do 9.1.3. 221
ANEXO 91. Espectro de HMBC do 9.1.3. 222
ANEXO 92. Tabela dos sinais de RMN de ^{1}H e ^{13}C das substâncias 9.2.1, 9.2.2, 9.2.3. 223
ANEXO 93. UFLC/HRMS-ESI do 9.2.1. 227
ANEXO 94. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.1. 228

ANEXO 95. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.2.1. 229
ANEXO 96. Espectro de DEPT 135º do 9.2.1. 230
ANEXO 97. Espectro de DEPT 90º do 9.2.1. 231
ANEXO 98. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.2.1. 232
ANEXO 99. Espectro de HSQC do 9.2.1. 233
ANEXO 100. Espectro de HMBC do 9.2.1. 234
ANEXO 101. UFLC/HRMS-ESI do 9.2.2. 235
ANEXO 102. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.2. 236
ANEXO 103. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.2.2. 237
ANEXO 104. Espectro de DEPET 135º do 9.2.2. 238
ANEXO 105. Espectro de DEPT 90º do 9.2.2. 239
ANEXO 106. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.2.2. 240
ANEXO 107. Espectro de HSQC do 9.2.2. 241
ANEXO 108.Espectro de HMQC do 9.2.2. 242
ANEXO 109. UFLC/HRMS-ESI do 9.2.3. 243
ANEXO 110. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.3. 244
ANEXO 111. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.2.3. 245
ANEXO 112. Espectro de DEPT 135º do 9.2.3. 246
ANEXO 113. Espectro de DEPT 90º do 9.2.3. 247
ANEXO 114. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.2.3. 248
ANEXO 115. Espectro de HSQC do 9.2.3. 249
ANEXO 116. Espectro de HMBC do 9.2.3. 250

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 42
2 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO 44
2.1 MALÁRIA 44
2.2 IMPORTÂNCIA DOS PRODUTOS NATURAIS NO DESENVOLVIMENTO DE DROGAS 46
2.3 FAMÍLIA MELIACEAE 47
2.3.1 Carapa guianensis Aubl 48
2.3.2 Limonoides e suas atividades biológicas 49
FIGURA 2. FORMAÇÃO DO TETRANORTERPENOIDE (LIMONOIDE) 49
3 OBJETIVOS 55
3.1 GERAL 55
3.2 ESPECÍFICOS 55
4 EXPERIMENTAL 56
4.1 MATERIAIS UTILIZADOS 56
4.2 SOLVENTES E REAGENTES 56
4.3 EQUIPAMENTO 57
4.4 PARTE EXPERIMENTAL 58
4.4.1 Isolamento dos limonoides das sementes da Carapa guianensis coletadas na Reserva Ducke 59
4.4.1.1 Extrato das sementes trituradas 59
TABELA 1 RENDIMENTO DO EXTRATO HEXÂNICO DAS SEMENTES DA *C.GUIANENSIS* 60
4.4.1.2 Fracionamento cromatográfico do precipitado TP1 60
ESQUEMA 1 FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO DO PRECIPITADO TP1 .. 61
4.4.1.3 Fracionamento da fração TC17E por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) 61
FIGURA 5 CROMATOGRAMA DA FRAÇÃO TC17E 62
TABELA 2. SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DA FRAÇÃO TC17E POR CLAE 62
4.4.1.4 Torta residual da Carapa guianensis de Parintins-AM 63
4.4.1.5 Extrato da torta residual de Parintins-AM 63
4.4.1.6 Recristalização do extrato TR41A 63
4.4.1.7 Fracionamento cromatográfico dos cristais TC31B 64

4.4.1.8 Material vegetal- Carauari-AM *65*
4.4.2 REAÇÕES DE SEMISSÍNTESE 66
4.4.2.1 Reação de desacetilação *66*
4.4.2.2 Reação de heptanoilação, benzoilação e butirilação *67*
4.4.2.3 Redução da carbonila do 7-desacetil-7-oxogedunina (TH62B) *68*
4.4.2.4 Reação de acetilação, butirilação, pentanoilação do 9.1 ..... *69*
4.4.2.5 Reação de Acetilação, BUTIRILAÇÃO e pentanoilação do 9.2 ..... *70*
4.4.3 Teste antimalárico *in vitro* contra *Plasmodium vivax* 71
4.4.3.1 Preparação da suspensão de hemácisa parasitados *71*
4.4.3.2 Análise microscópica *72*
4.4.3.3 Análise dos dados *72*
4.4.4 Teste antimalárico *in vitro* contra *P. falciparum* 73
4.4.5 Ensaio de viabilidade celular (citotóxico) 74
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 75
5.1 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS SEMENTES DA ANDIROBA 75
5.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBTÂNCIA **34** 76
5.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 10.1.1 82
5.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 10.1.2. 83
5.5 DETERMINAÇAO ESTRUTURAL DO 10.1.3 84
5.6 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO **9.1** E **9.2**. 85
5.7 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 9.3. 88
5.8 ACETILAÇÃO, BUTIRILAÇÃO E PENTANOILAÇÃO DO 7-EPI-DESACETILGEDUNINA (9.1) 89
5.8.1 Determinação estrutural do produto de acetilação(9.1.1) 89
5.8.2 Determinação estrutural do produto de butirilação (9.1.2) 91
5.8.3 Determinação estrutural do produto de pentanoilação (9.1.3) 94
5.9 ACETILAÇÃO, BUTIRILAÇÃO E HEPTANOILAÇÃO DO 7α-desacetilgedunina (9.2) 96
5.9.1 Determinação estrutural do produto de acetilação (9.2.1) 98
5.9.2 Determinação estrutural do produto de acetilação(9.2.2) 100
5.9.3 Determinação estrutural do produto de pentanoilação (9.2.3). 101
5.10 ATIVIDADE ANTIMALÁRICA *IN VITRO* CONTRA *Plamosdium falciparum e Plasmoudium vivax.* 103

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 111
REFERENCIA BIBLIOGRAFICA 113
. ANEXOS 121

INTRODUÇÃO

Em regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre vivem 3,2 bilhões de pessoas com risco de serem infectadas pelo protozoário da malária, doença transmitida pela picada do mosquito (*Anopholes*) fêmeas infectadas por protozoários do gênero *Plasmodium*. O continente Africano em 2016 concentrou 90% dos casos mundiais e 92% das mortes, na sua maioria, crianças de 5 anos de idade (OMS, 2016), sendo a malária provocada por *Plasmodium falciparum* a responsável pela maioria das mortes e o *Plasmodium vivax* pelo maior número de registros de casos nas regiões de risco, como na Amazônia Legal.

A região geográfica que demarca Amazônia Legal brasileira compreende os estados do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins. De acordo com o Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância, em 2015 foram registrados 142.829 casos positivos no país e quase todos nesta região, especialmente os estados do Amazonas e Acre, que juntos totalizaram 75% do número total. Em 2016 observam-se dados similares, dos 17.591 casos confirmados, 12.704 foram nesses mesmos dois estados (BRASIL, 2016).

No âmbito mundial tem-se observado uma significativa redução no número de casos, atingindo 41% do número de infecções e 62% de mortandade (OMS, 2016). Infelizmente os aspectos positivos do combate contra malária é contrabalanceado pelo aumento dos registros de resistência do *P.falciparum* e *P. vivax* aos medicamentos atuais, terapias combinadas à base de artemisinina (TCAs) e cloroquina, respectivamente. Esses registros têm causado preocupação na comunidade médica e científica de todo o mundo, tornado uma necessidade a busca de novas estruturas com atividade antiplasmódica que possam servir como base para novos medicamentos.

Muitas das drogas antimaláricas são ou foram inspiradas em substâncias dos metabolitos secundários de espécies vegetais. Dentre as espécies vegetais usadas para tais fins, a *Carapa guianensis* vem sendo pesquisada com o intuito de encontrar novos meios de tratamento antiplasmódicos.

O gênero Carapa é constituído por duas espécies na região Amazônica, *C. guianensis* e *C. procera*. As espécies são distinguidas no tamanho dos frutos, altura e folhagem. Das suas sementes é extraído óleo com grande concentração de limonoides, ao qual é atribuída uma gama de atividade biológica.

O óleo é extraído por diferentes métodos: Método tradicional, industrial e com tipiti seguido de centrifugação. O último método tem excelente eficiência na extração

do óleo. Após extração do óleo, o resíduo das sementes, denominado de torta residual é coletado e submetido a técnicas cromatográficas com objetivo de isolar limonoides para testes antimalárico contra *P. falciparum* e *P. vivax in vitro*.

Dos limonoides isolados da torta residual da *C. guianensis,* especialmente aqueles contendo esqueleto gedunínico apresentam atividade antimalárica e seus derivados acetilados, benzoilados, butirilados e pentionilados podem nos informar a influência do aumento da cadeia carbônica dos ésteres no esqueleto gedunínico na atividade biológica.

Este trabalho tem o intuito de contribuir para ciências com as respostas dos testes *in vitro* dos compostos isolados e semissintéticos contra *P. falciparum* e *P. vivax*. A influência dos substituintes do esqueleto gedunínico na estrutura/atividade são classificados como ponto relevante neste trabalho.

2 **LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO**

2.1 MALÁRIA

A malária humana é ocasionada pela inoculação do protozoário do gênero *Plasmodium* na corrente sanguínea do hospedeiro mediante a picado do mosquito fêmea do gênero *Anopheles* (ESCALANTE, 1994), levando a tremores, cefaleias, dores musculares, anemia, falta de apetite e distúrbios gastrointestinais (REIS et. al., 2018).

Das cento e cinquenta e seis espécies de *Plasmodium* apenas o *P. falciparum, P. vivax, P. ovale e P. malariae* infectam o homem através do ciclo homem-mosquito-homem (REIS et al., 2018), no entanto, registros apontam a infecção por *P.knowles* e *P. cynomolgi* no Homem mediante transmissão zoonótica, macaco-mosquito-homem (WHITE, 2008, KHO et al. 2018).

Os *P. falciparum* e *P. vivax* são os principais responsáveis agentes etiológicos da malária em regiões endêmicas (RATCLIFF et al, 2007), tanto de forma individual como mista, *P. falciuparum-P. vivax* (COLBORN et al, 2018).

A infecção mista, *P. falciparum- P. vivax*, ocasiona grande impactos a saúde populacional de áreas endêmicas (MCKENZIE e BOSSERT, 1997). Este tipo de infecção acontece por duas vias; as duas espécies são inoculadas simultaneamente pelo vetor ou de formas separadas (GENTON et al, 2008). Estudos entomológicos apontam a última como a mais predominante (BRUCE et al, 2008). Os sintomas dessa forma mista são mais debilitantes do que a infecção com espécies separadas, por exemplo, *P. falciparum* (LORENZETTI et al, 2008; IMWONG et al., 2011). Esses dois protozoários, individualmente, registraram aproximadamente 213 milhões de casos em 2010 e 217 milhões em 2016 (OMS, 2017).

A diminuição dos números de casos no intervalo de 2010-2016 é vinculada ao investimento de 2,7 bilhões da Organização Mundial da Saúde-OMS e países endêmicos no controle e eliminação da infecção (OMS, 2017) através da utilização de terapias combinadas com drogas antimaláricas com derivados da artemisinina (tratamento combinado à base de artemisinina-TCA) (OMS, 2018) e pesquisas relativas a vacina (OMS, 2017).

Os tratamentos com drogas antimaláricas são combinados com duas ou mais drogas e, as combinações de drogas dependem da espécie de *Plasmodium* e gravidade da infecção. Nos casos da infecção por *P. ovale* ou *P.vivax* o tratamento acontece através da prescrição da cloroquina (**1**) e primaquina (**2**) (Figura 1) no período de

3 e 7 dias, respectivamente. Em caso mais grave, os dias de tratamento com primaquina (**2**) passa para 14 dias. Nas infecções por *P. falciparum* o tratamento ocorre com primaquina (**2**) e pela combinação de lumefantrina (**4**) e artemeter (**5d**) (Figura 1) ou artesunato de sódio (**5b**) e mefloquina (**6**). Para o *P. falciparum,* há uma segunda escolha de tratamento, consistindo na ingestão de quinina (**7**) e doxiclina (**8**) nos três primeiros dias, nos dois dias seguintes com Doxiciclina (**8**) e finaliza com uma dose de primaquina (**2**) no sexto dia. Na malária mista com *P. falciparum* e *P.vivax* é ministrado artesunato de sódio (**5b**)-mefloquina (**6**) nos três primeiros dias e nos sete dias posteriores o paciente é tratado com primaquina (**2**). Os casos de malária na gravidez, crianças menores de 6 anos e malária grave ocasionada por *P. falciparum* ou *P. vivax* são classificadas em estado clínico de risco, sendo necessário acompanhamento hospitalar mais específico (BRASIL, 2010).

O investimento colocou 21 países com potencial de eliminação da malária em 2020 (OMS, 2017) e subsidiou os resultados promissores da vacina RTS,S/AS01 contra *Plasmoidum falciparum* em crianças de 5 a 17 meses no decorrer de 4 anos de acompanhamento, tendo expectativa de iniciar programas pilotos em 2018 (OMS 2016b).

Infelizmente, o grande investimento no ano de 2016 não diminuiu o índice de mortes, permanecendo quase constante, estimando 446.000 em 2010 contra 445.000 em 2016 (OMS, 2017) e, em regiões endêmicas como Camboja, Vietnã, Laos e Tailândia existem registros de *P. falciparum* resistente a artemisinina da linhagem *Pfkelch13 C580Y* (Colebunders, et a., 2017) e estudos realizados por Imwong (2017) concluem que a mutação do *P. falciparum* tenha chegado a linhagem *Pfkelch13 C580Y*, linhagem resistente a artemisinina com tendência de adquirir resistência as drogas combinadas no tratamento com TCA, como a primaquina (**2**) e mefloquina (**6**) (Figura 1).

Apesar do avanço no tratamento e controle da malária serem promissores, os focos de resistência aos medicamentos levantam a necessidade de novos fármacos. Muitos dos fármacos utilizados são derivados de compostos isolados de espécies vegetais ou seu esqueleto foi precursor de drogas sintéticas (VALE *et al.*, 2005; MOHD *et al.*, 2014; MISCHLINGER *et al.*, 2016).

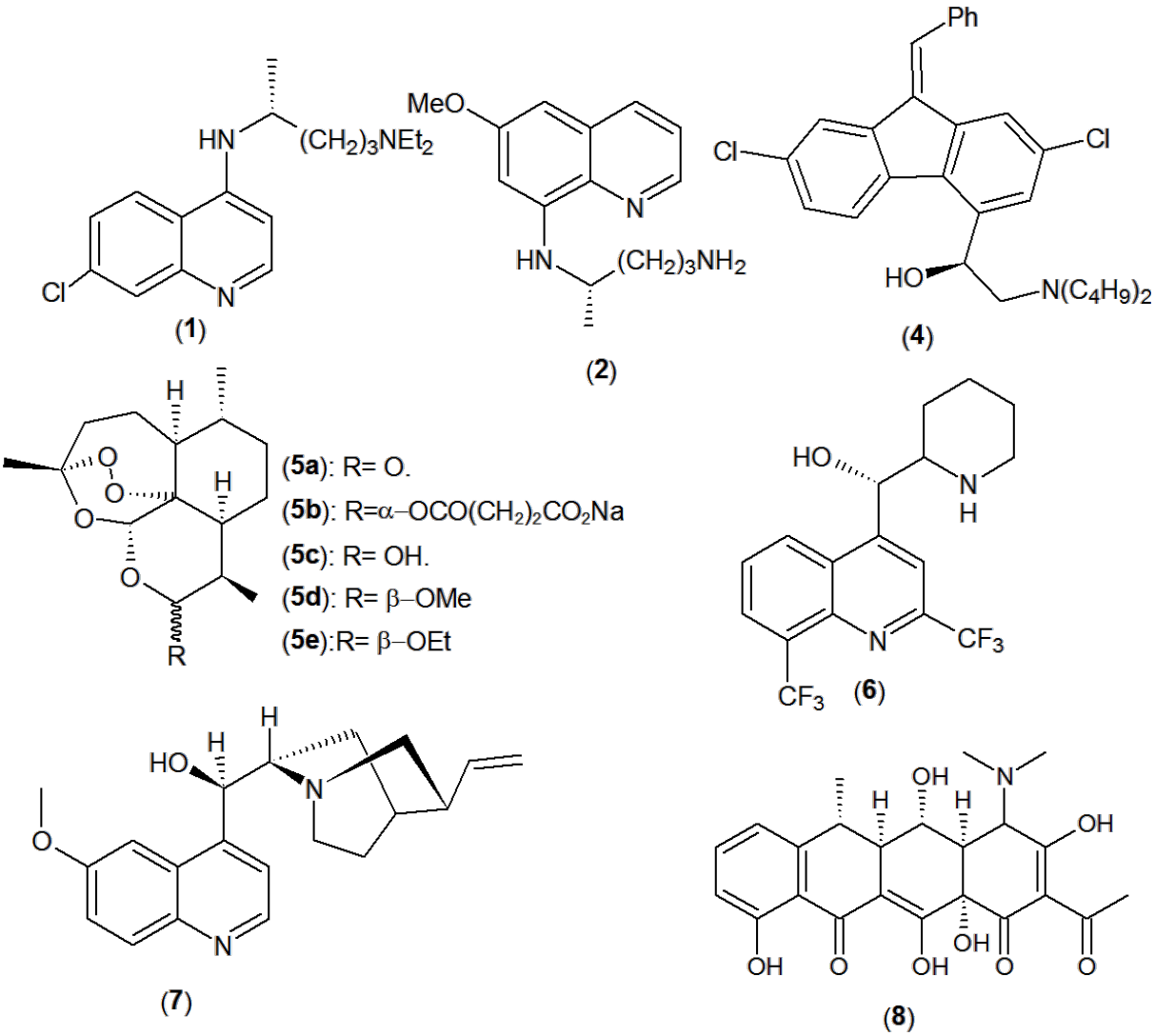


Figura 1 Drogras usadas no tratamento da malária; cloroquina (**1**); primaquina (**2**); artemeter (**3**); lumefantrina (**4**); artemesinina (**5a**), artesunato de sódio (**5b**), diidroartemisinina (**5c**), arteméter (**5d**),artéter (**5e**); mefloquina (**6**); quinina (**7**); doxiciclina (**8**).

2.2 IMPORTÂNCIA DOS PRODUTOS NATURAIS NO DESENVOLVIMENTO DE DROGAS

Os produtos naturais são usados desde os primórdios das civilizações para o tratamento de diversas doenças (DIAS et al, 2012), a exemplo Theophrastus, pai da botânica, que exaltava a importância dos estudos das plantas na cura das enfermidades (PHILLIPSON, 2001) e os índios da América do Sul que utilizavam a casca da quina (gênero *Chinchona*) para diminuir a febre (GREENWOOD, 1992).

Os pesquisadores Caventou e Pelletier partindo das informações etnofarmacológico da quina realizaram trabalho fitoquímico da casca da árvore e isolaram a quinina (**7**), o alcaloide mais importante na medicina do século XIX (DAVID e JACOBY

et. al., 2005). O alcaloide quinina (**7**) foi empregado para o tratamento da malária, no entanto com o surgimento de cepas de *P. falciparum* resistente levou a necessidade de novos antimaláricos no final do século XIX (MESHNICK, 2001). Com a ajuda da química orgânica sintética a quinina (**7**) se tornou a base estrutural para os derivados sintéticos cloroquina (**1**), primaquina (**2**), mefloquina (**6**) (TAGBOTO e TOWNSON, 2001).

A sequência metodológica multidisciplinar na descoberta de novas drogas antimaláricas utilizadas nos no século XIX ainda são validas nos dias atuais (NEWMAN et al.,2016). A sequência multidisciplinar iniciada com a investigação do conhecimento etnofarmacológico, seguida das técnicas de fitoquímica e síntese orgânica são empregadas na espécie *Artemisia annua* (PADDON e KEASLING, 2014).

Da *Artemisia annua* é isolada a lactona sequiterpênica com ligação endoperóxido, a artemisinina (**5a**) (figura 1). A artemisinina (**5a**) é submetida a reações de semissínteses para obter os compostos artesunato de sódio (**5b**), diidroartemisinina (**5c**), arteméter (**5d**) e artéter (**5e**) (BALINT, 2001, LI et al., 2017). Os análogos da artemsinina têm o objetivo de aumentar o efeito farmocinético e com isso diminuir o tempo de tratamento, a reincidência e resistência do parasito ao tratamento (AYALEW, 2017).

Trabalhos das espécies vegetais da família Meliaceae tem observado atividade antimalárica dos seus extratos (ISAH, IBRAHIM E IWALEWA, 2003), compostos secundários (LEE et al., 2008) e análogos semissintéticos dos limonoides, principal compostos secundário da família (MACKINNON et al., 1997; TANAKA et al., 2012; PEREIRA et al., 2014).

2.3 FAMÍLIA MELIACEAE

As plantas da família Meliaceae são divididas em 51 gêneros e se destacam pela ampla atividade biológica ocasionada pelos seus constituintes secundários. Os principais constituintes das espécies dessa família são os tetranortriterpenóides, denominados limonoides, cuja atividade vão de anti-TMV (vírus do mosaioco do tabaco) (GE *et al.*, 2012) o efeito antifágico nos insetos (PENIDO *et al.*, 2006; AMBROZIN *et. al.,* 2006).

Dos gêneros da família, encontra-se a Carapa, encontrada na Amazônia brasileira em duas espécies, *Carapa guianensis* Aubl. e *Carapa procera*. Elas são distin-

guidas com base nas diferenças da organização floral, entre outras diferenças fenotípicas. A *C. procera* tem os folíolos largos, ablongos e ablongo-ovalados, com um ápice largo e arredondado, enquanto as de *C. guianensis* Aubl. são pequenas, elípticas a elíptico- oblongas, estreitando a partir da metade até um ápice agudo ou obtuso. As comunidades ribeirinhas do Estado do Amazonas diferenciam as espécies pelo tamanho das sementes, onde a maior pertence a *C. guianensis* (MENDONÇA e FERRAZ, 2007).

2.3.1 Carapa guianensis Aubl.

A espécie *Carapa guianensis* é encontrada no Oeste da Índia, Sul da África e América do Sul e no Brasil é conhecida popularmente como andiroba, nome de origem indígena que significa óleo amargo (*nhandi*- óleo e *rob*-amargo) (MENDONÇA e FERRAZ, 2007; SCOTTI-SAINTAGNE *et al.*, 2013).

As *C. guianensis* são árvores de grande porte. Elas chegam a atingir 30 m de altura e 1,20 m de largura. Os folíolos medem de 80 a 110 mm de comprimento. As *C. guianensis* são hermafroditas, apresentam uma copa de tamanho médio, densa e composta por ramos eretos ou com uma leve curvatura. Possuem uma casca de coloração avermelhada ou acinzentada de gosto amargo. Os seus frutos têm a forma de um ouriço redondo, formado por 4 valvas, de 3-4 mm de espessura, duras, de cor parda, que se abrem quando estão maduras deixando cair no chão de 7 a 9 sementes por fruto. As sementes pesam em média 20 a 30 g, são poligonais, chata na parte interna e convexa na parte externa, apresentam uma casca lisa esponjosa de coloração marrom que recobre uma massa branca levemente rosada e oleosa que é responsável por 75% da massa das sementes (FERRAZ *et al.*, 2002; MENDONÇA e FERRAZ, 2007).

O óleo da andiroba é extraído por dois métodos: Método tradicional ou industrial. O método tradicional consiste no cozimento das sementes por um período de 2 a 3 h e o seu descanso na sombra por algumas semanas. Após o descanso, as cascas das sementes são separadas da massa, sendo essas amassadas com as mãos e colocadas ao sol em uma calha inclinada ou utiliza-se do "*tipiti*", obtendo o óleo gradativamente ou por prensagem manual, respectivamente (MENDONÇA e FERRAZ, 2007) e em alguns locais após o processo gravimétrico ou prensagem a torta é cen-

trifugada (ELEUTERIO et al., 2015). No processo industrial as sementes são trituradas, assadas em uma placa aquecida a 90ºC e prensada por prensa mecânica para a obtenção do óleo (CASTRO et al., 2007;).

O óleo é constituído por 28,29% de ácido palmítico, 49,74% de oleico, 7,57% de linoleico, 1,49% de linolênico (FARIAS *et al.*, 2012), os quais são classificados como compostos saponificados (SILVA *et al.*, 2012). Das substâncias insaponificadas, os limonoides apresentam maior concentração nas diferentes partes da espécie, como óleo (MIRANDA JÚNIOR *et al.*, 2012), pericarpo, amêndoas (SILVA *et al.*, 2012), torta residual (PEREIRA *et al.*, 2014) e nas flores da *C. guianensis* (TANAKA *et al.*, 2012).

2.3.2 Limonoides e suas atividades biológicas

Os limonoides apresentam polaridade mediana, sendo solúvel em clorados, ésteres e cetonas e, baixa polaridade em água e hexano (JACOB et al., 2000). Eles são triterpenoides modificados e oxigenados, denominado tetranorterpenoides (ROY e SARAF, 2006). A modificação do triterpenos (C_{30}) referisse a clivagem de quatro átomos de carbonos da cadeia lateral seguido da formação do anel furano (Figura 2) (DAWICK, 2002).

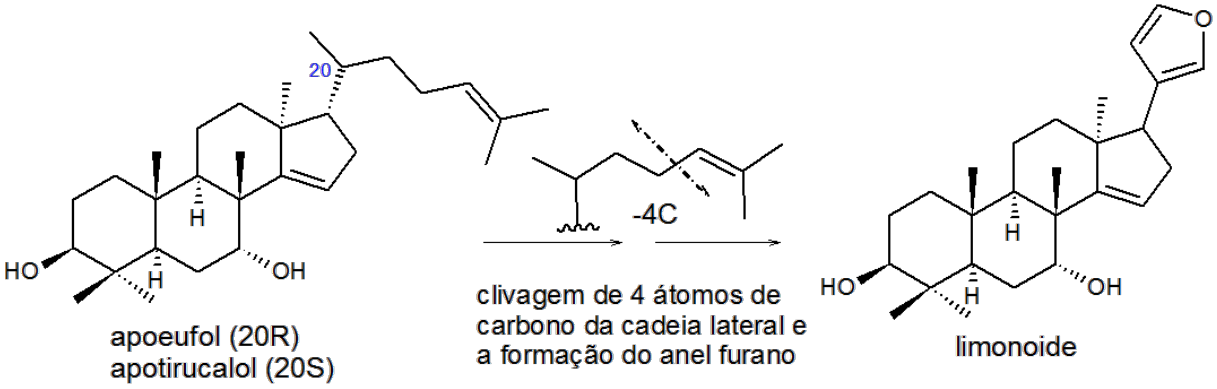
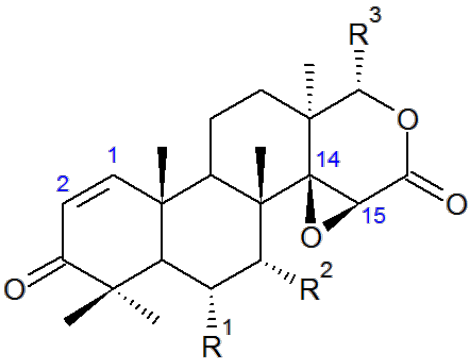
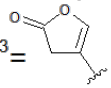


Figura 2. Formação do tetranorterpenoide (limonoide)

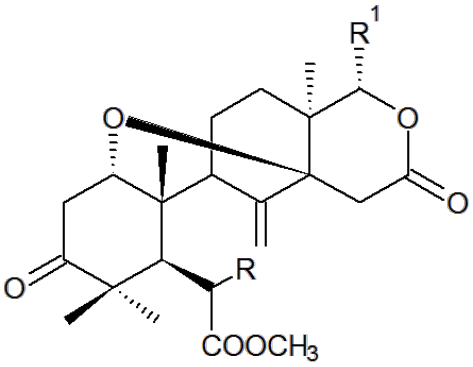
A espécie do gênero *Carapa* apresentam 5 tipos de limonoides: geduníncos (Figura 3, limonoides **9**-**17**), andirobina (Figura 3, limonoides **18**-**21**), mexiconolida (Figura 4, limonoides **22**-**27**), phargmalina (Figura 4, limonoides **28**-**32**), e azadiradiona (Figura 4, limonoide **33**) e apresentam uma gama de atividade biológica significantes (HOFER *et al.*, 2009; TANAKA *et al.*, 2011; MIRANDA JÚNIOR *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2012; TANAKA *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2014).



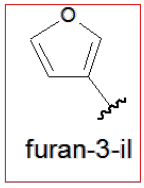
(**9**): R^1 = H; R^2 = O; R^3= 3-furan-3-il.
(**10**): R^1 = OAc; R^2 = OAc; R^3= furan-3-il..
(**11**): R^1 = OH; R^2 = OAc; R^3= furan-3-il.
(**12**): R^1 = OAc; R^2 = OH; R^3= furan-3-il.
(**13**): R^1 = H; R^2 = OAc; R^3= furan-3-il.
(**14**): R^1 = H; R^2 = OH; R^3= furan-3-il.
(**15**): R^1 = H; R^2 = O; 1, 2α-epóxido; R^3= furan3-il.

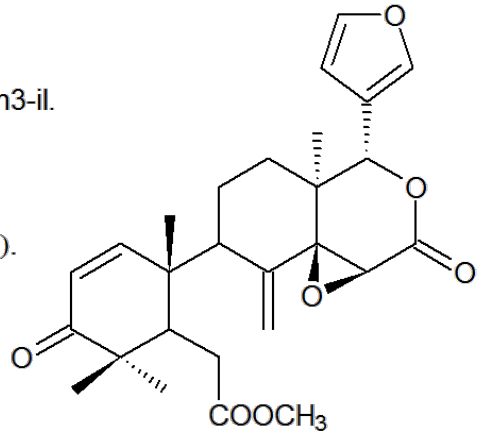
(**16**): R^1 = OAc, R^2 = OAc; R^3= 

(**17**): ^{1} = OAc; R^2 = OAc; R^3= furano; Δ 14 (15).



(**18**): R= H; R^1 = $COCH_3$.
(**19**): R= H; R^1 = furan-3-il.
(**20**): R = OH; R^1 = furan-3-il.





(**21**)

Figura 3 Limonoide isolados na Andiroba: 7-desacetil-7-oxigedunina (**9**); 6α-acetoxi-gedunina (**10**); 6α-hidroxigedunina (**11**); 6α-acetoxi-7α-deacetoxi-7α-hidroxigedunina (**12**); gedunina (**13**); 7-desacetil-7-hidroxigedunina (**14**); adirolida I (**15**), andirolida J (**16**), andirolida A (**17**), mexicanolida: andirolida K (**18**), andirobina (**19**); 6-hidroxi-angolensato de metila (**20**); angolesato de metila (**21**)

Espécies vegetais da família Meliaceae são frequentemente usados no tratamento de inflamações na medicina popular (AMBROZI et al., 2006), atividade relacionada particularmente aos limonoides (PENIDO et al., 2006). Partindo desse conhecimento farmacológico, pesquisadores isolaram o limonoide gedunínico 7-desacetilgedunina (Quadro 1) das sementes da *Xylorpus* sp e testaram sua atividade anti-inflamatória. O limonoide apresentou CI_{50} de 4,9 μM, atividade maior que o anti-inflamatório indometacina (CI_{50} 28,8 μM) (SARIGAPUTI et al., 2015).

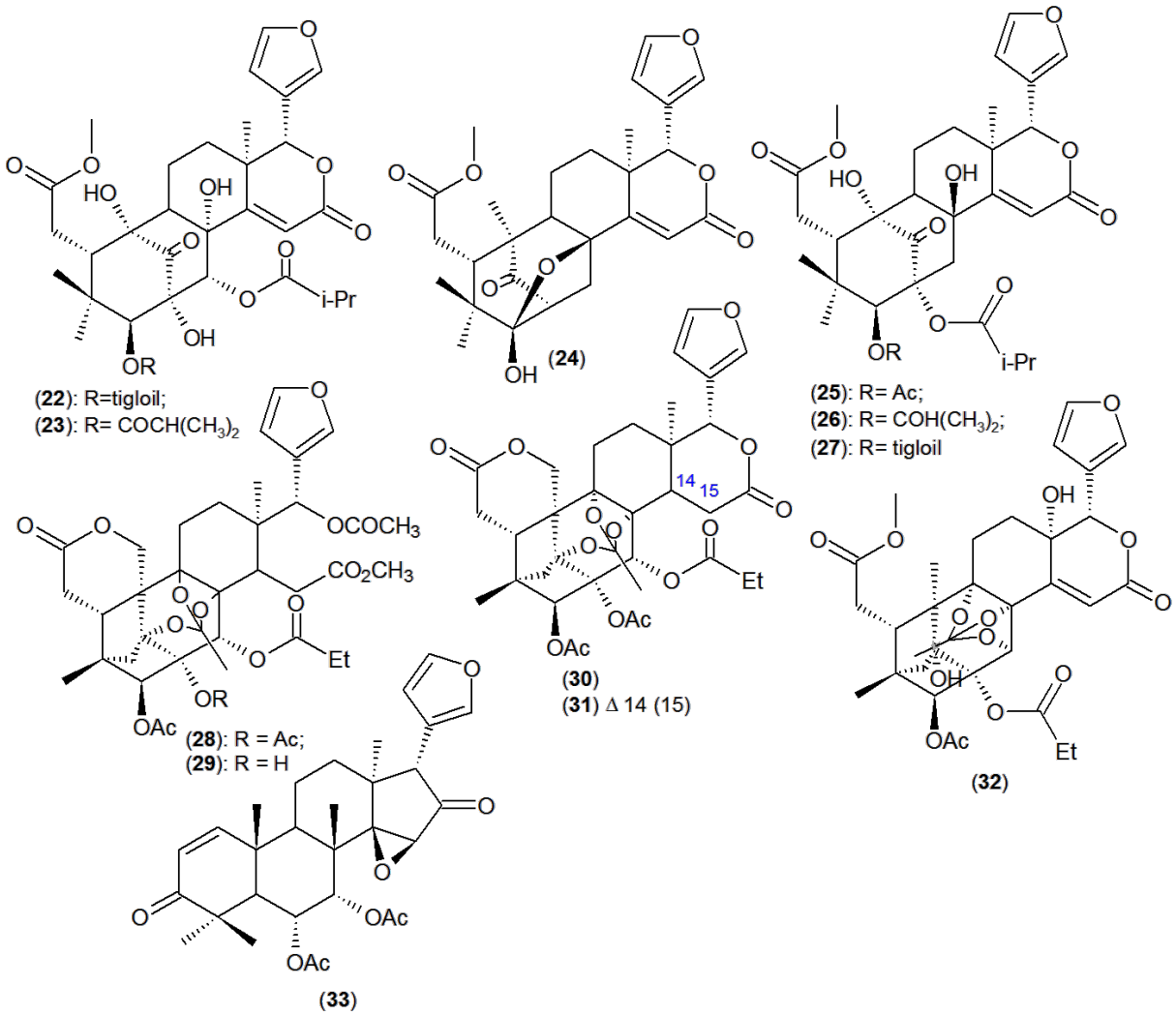


Figura 4 Limonoide isolados da *Carapa* spp: andirolida L (**22**); andirolida M (**23**); andirolida N (**24**), andirolida B (**25**), andirolida C (**26**), andirolida D (**27**), : andirolida O (**28**), andirolida P (**29**), anidrolida E (30), andirolida F (**31**), andirolida G (**32**) e 6α-acetoxiazadiradiona (**33**).

Estudos apontam a relação direta entre atividade anti-inflamatória de determinada substância ou classe de substâncias com atividade anticarcinogênica (RAJPUT e WILBER, 2010). A relação atividade anti-inflamatória/anticarcinogênica é confirmada com o estudo da inibição melanogenesis do limonoide geduninico 7-desacetil-17-epimolicinol (Quadro 1). O limonoide isolado das sementes da *Azadirachta indica* apresenta atividade inibitória contra melanogenesis em células melanoma B16 com 41,5 % de redução de melanina (AKIHISA et al., 2016). O limonoide cedrelona (Quadro 1) também evidencia atividade frente as células cancerígenas MCF-7(endenocarcinoma de mama), NCI-H460 (câncer de pulmão) e A375-C5 (melanoma) com inibição

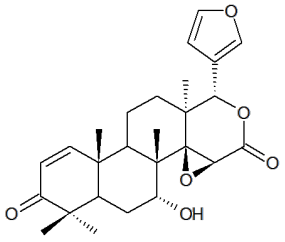
celular de 50%(IC_{50}) de 8,0 μM para os três tipos de células cancerígenas (CAZAL et al., 2010).

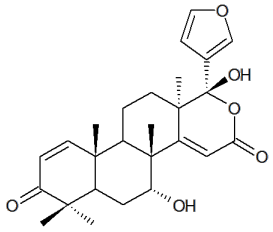
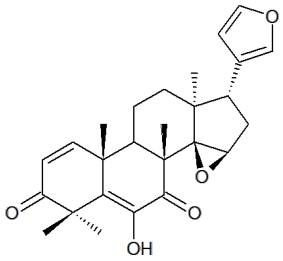
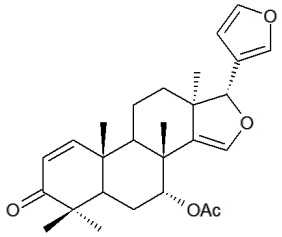
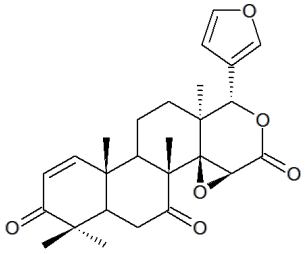
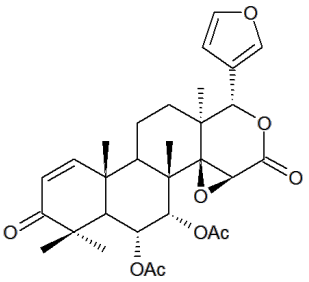
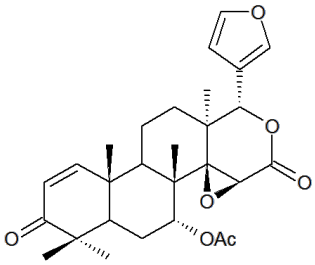
Atividades antitumorais e anti-inflamatórias não são as únicas atividades biológicas relacionadas com os limonoides. Estudos com alvo anti-diabético α-amilase pancreática combinados com o limonoides azadiradiona (Quadro 1) comprovou potencial hipoglicêmico do limonoide (PONNUSAMY et al., 2015).

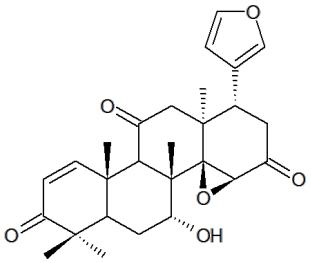
Em Substâncias com esqueleto gedunínico observa-se atividade biológicas importantes, a exemplo os limonoides 7-desacetil-7-oxogedunina 6α-acetoxigedunina e gedunina (Quadro 1) isolados do óleo das sementes e flores da *Carapa guianensis* que apresentam atividade hepatoprotetora com efeito na dosagem de 25 mg/Kg (NINOMIA et al., 2016)

Estudo etnofarmacológico mostra a população utilizando de forma artesanal o óleo rico em limonoides como repelente de mosquitos hematófagos (BUENO et al., 2010). Estudo realizado por pesquisadores da Coreia do Sul e India mostram atividade promissora do limonodie desacetilgedunina (Quadro 1) contra *Anopheles stephensi* nos estagio I e II larval e adulto (NATHAN et al., 2005).

Atividade dos limonoides não se restringem apenas aos insetos. Trabalho com Kstchienona B (Quadro 1), limonoide isolada *Pseudocedrela kostchyi* mostra-se um promissor agente antimalárico por apresentar CI_{50} de 1,66 μM contra cepas de *Plasmodium falciparum* tipo 3D7 e baixa toxidade em células normais tipo HEK239T (SIDJUL et al, 2018).

Nome	Estrutura	Atividade biológica	Ref.
7-desacetilgedunina		Anti-inflamatória [1] Larvicida [2] Adulticida [2]	[1] Sarigaputi et al., 2015 [2] Nathan et al., 2005

7-desacetil-17-epinmolicinol		anticarcinogênico	AKIHISA et al., 2016
Cedrelona		anticarcinogênico	Cazal et al., 2010
Azadiradiona		Anti-diabet	Ponnusamy et al., 2015
7-desacetil-7-oxogedunina		hepatoprotetora	Ninomiya et al., 2016
6α-acetoxigedunina		hepatoprotetora	Ninomiya et al., 2016
gedunina		Hepatoprotetora [1] Antimalárica [2]	[1]Ninomiya et al., 2016 [2] Mackinnon et al., 1997

kostchienona B		antimalárica	Sidjul et al., 2018

Quadro 1. Substâncias da classe dos limonoides e suas atividades biológicas listadas na literatura.

Dentro da classe dos limonoides os de esqueleto geduninco se destacam por apresentar promissora atividade antimalárica, a exemplo a o limonoide gedunina (**13**) (Quadro 1) que segundo Bickii et al (2000) e Machinnon et al. (1997) é o limonoide com maior efeito antimalárico em cepas de *Plasmodium falciparum*.

Trabalho realizado por Omar *et al* (2003a) mostra o limonoide gedunina (**13**) com uma atividade moderada *in vivo* em ratos infectados com *Plasmodium berghei* tipo CD-1. Essa moderada atividade pode ser explicada pela baixa solubilidade, ocasionando a diminuição da absorção da droga; ou a interferência metabólica gerada pela enzima P450; ou a hidrólise na posição C_7 (Figura 2) no processo metabólico.(MACKINNON *et al.*, 1997; REN *et al.*, 2015).

Com o intuito de melhorar a atividade antimalárica *in vitro* dos limonoides e diminuir a interferência metabólica no esqueleto gedunínico no teste *in vivo*; reações de semissínteses vêm sendo realizadas e seus resultados apontam as posições C_6, C_7 (Figura 2), a epoxidação no C_1-C_2, redução da dupla da cetona α,β-insaturada e carboníla exercem influência significativa na atividade, sendo importantes sítios ativos do esqueleto gedunínico. Outro ponto levantado é a influência do sinergismo do limonoide gedunínico com óleo essencial de dilapiol para o aumento da atividade *in vivo* (OMAR *et al.*, 2003a; TANAKA *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2014).

3 **OBJETIVOS**

3.1 GERAL

Descobrir novos derivados semissintéticos de limonoides com potencial anti-malárico.

3.2 ESPECÍFICOS

- Isolar em escala de gramas o limonoide 6α-acetoxigedunina, 7-desacetil-7-oxo-gedunina e eventuais outros limonoides das sementes da *Carapa* spp;
- Realizar semissínteses dos limonoides e derivados com esqueleto gedunínico com as reações de redução, desacetilação, acetilação, butirilação, pentanoilação e benzoilação.
- Testar atividade *in vitro* contra *P. falciparum* e *P. vivax* de todos os semissintéticos e limonoides isolados;

4 **EXPERIMENTAL**

4.1 MATERIAIS UTILIZADOS

No acompanhamento das etapas cromatográficas e reações semissintética realizadas na tese foram utilizados os materiais listados abaixo:

- ❖ Placa de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de alumínio com sílica gel 60 (Merck), com indicador de fluorescência F_{254}, e sílica gel C18 (Merck), quando análise em fase reversa.
- ❖ Revelador para CCD: Anisaldeído e radiação ultravioleta (254 nm);
- ❖ Cromatografia em Coluna (CC): Coluna de vidro de diversos tamanhos e sílica gel 60 (0,040- 0,063 e 0,063-0,200 mm *mesh*);

4.2 SOLVENTES E REAGENTES

Os solventes grau comercial listados foram comprados na empresa *Labsynth* e submetidos a purificação no Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia-LAPAAM situado no Campus I do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA conforme a literatura (MORITA E ASSUPÇÃO, 1998) e os solventes grau HPLC da lista abaixo, marca Tedia, comprados na empresa TEDIA BRAZIL. Nas análises espectroscópicas de Ressonância Magnética Núclear-RMN foram usados solventes deuterados da Sigma-Aldrich.

Todos os reagentes líquidos foram purificados e secos seguindo o protocolo descrito na literatura (PERRIN e ARMAREGO, 1988). Os reagentes sólidos foram comprados na *Labsynth* e apenas o sulfato de sódio ($NaSO_4$) sofreu lavagem com aumento de polaridade, acetona e etanol, enquanto os outros foram usados sem purificação prévia.

- Solventes:
  - ❖ Acetato de Etila (AcOEt), destilado;
  - ❖ Acetona, destilado;
  - ❖ Acetonitrila (ACN), grau HPLC;
  - ❖ Clorofórmio ($CDCl_3$), deuterado.
  - ❖ Clorofórmio ($CHCl_3$), destilado;
  - ❖ Clorofórmio ($CHCl_3$), grau HPLC;
  - ❖ Diclorometano (DCM), destilado;
  - ❖ Diclorometano (DCM), grau HPLC;

- ❖ Dimetilsulfóxido (DMSO), grau HPLC;
- ❖ Etanol (EtOH), destilado;
- ❖ Éter etílico, destilado;
- ❖ Hexano, destilado.
- ❖ Metanol (MeOH), destilado;
- ❖ Metanol (MeOH), grau HPLC;
- ❖ Tetrameilsilano (TMS), Isótopo de ^{13}C.

- Reagentes:
  - ❖ Anidrido acético (líquido, marca *Synth*) ;
  - ❖ Anidrido propanoico (líquido, marca *Agro organics*);
  - ❖ Anidrido valérico, (líquido, marca *Agro organics*);
  - ❖ Carbonato de Potássio (K_2CO_3) anidro (sólido, marca *VWR chemical*);
  - ❖ Cloreto de Amônio (NH_4Cl), (sólido, marca *Synth*);
  - ❖ Cloreto de benzoila, (líquido, marca *Agro organics*);
  - ❖ Cloreto de butanoila, (líquido, marca *Agro organics*);
  - ❖ Cloreto de heptanoila, (líquido, marca *Agro organics*);
  - ❖ Dimetilaminopiridina (DMAP) (sólido, marca *Agro organics*).
  - ❖ Hidróxido de potássio (KOH) (sólido, marca *Synth*);
  - ❖ Hidróxido de sódio (NaOH) (sólido, marca *Synth*);
  - ❖ Piridina (líquido; marca *Merck*)
  - ❖ Sulfato de sódio (Na_2SO_4) (sólido, marca *Synth*)
  - ❖ Trietilamina (Et_3N) (líquido, marca *Merck*).

4.3 EQUIPAMENTO

Na etapa de purificação, análise analítica dos procedimentoss fitoquímicos e no acompanhamento das reações de semissínteses foram usados os seguintes equipamentos:

- ❖ Balança analítica: marca Ohaus, modelo Adventure, carga máxima: 210 g com precisão de 0,0001 g;
- ❖ Balança Semianalítica: marca Ohaus, modelo Adventure, carga máxima: 3,1 kg com precisão de 0,01g;
- ❖ Banho de ultrassom: Marcas Unique e Eco-sonics, modelos USC 1400 e Q9.5/25A;

❖ Coluna analítica fase reversa C-18 (Shim-pack, dimensão $250 \times 4{,}6$ mm, partícula de 5μ.

❖ Coluna semipreparativa fase reversa C-18 (Shim-pack, dimensão 250×20 mm, partícula de 5 µm

❖ Compressor: marca Chiaperini, modelo Ar DiretaG3;

❖ Espectrofotômetro de massa (EM) da marca Bruker Daltonics, modelo MicrOTOF-QII com analisador *Time- of- flight* de alta resolução e fonte de ionização *eletrospray*- ESI;

❖ Filtro Milipore Millex-HV $5\mu m$;

❖ HPLC Shimadzu, 2 bombas LC- 6AD binária com divisor de fluxo, detector de PDA e RID, lâmpada de Deutério e Tungstênio e CBM-20;

❖ Lâmpada de UV 254/365: modelo UVGL-58;

❖ Liofilizador: marca Christ, modelo 5804R;

❖ Liquidificador: marca Oster, modelo 4655;

❖ Manta aquecedora: marca Fisatom, modelo 752a.

❖ Ressonância magnética nuclear (RMN) da marca Bruker Biospin, modelo Fourier 300 MHz de 7,0 Tesla, operando em 300 MHz para núcleo de ^{1}H e 75 MHz para ^{13}C;

❖ Rotaevaporador: Marca Fisatom 802;

❖ Seringa Hamilton, nº 3 – *Blunt*;

❖ Software Bruker TopSpin 3.5, versão gratuita.

❖ Software *Microcal Origin*.

❖ Triturador: marca Nogueira, modelo DPM-1;

❖ Triturados de forragem: marca Trapp, modelo Trf 300;

❖ *Ultra fast liquid chromatography*-UFLC da marca Shimadzu;

4.4 PARTE EXPERIMENTAL

O trabalho parte de três fontes de material primário para o desenvolvimento do projeto: Sementes da *Carapa guianensis* coletadas na Reserva Ducke, torta residual da extração do óleo coletadas nas cidades de Carauari-AM e Parintins-AM.

O perfil cromatográfico em CCD das frações rica em limonoides originário das três fontes de material primário foram comparados com os padrões 7-desacetil-7-oxo-gedunina(**9**), 6α-acetoxigedunina (**10**) (Figura 3) e 6α-acetoxiazaradiona (**33**) (Figura 4) para direcionar a escolha das melhores frações para as etapas de purificações. A

pureza e identificação estrutural dos padrões foram publicadas em Pereira et al. (2014).

Os limonodies e derivados foram purificados por cromatográfica em coluna e/ou por cromatografia líquida de alta eficiência-CLAE. As identificações estruturais foram realizadas na Central Analítica do Laboratório Temático de Produtos Naturais-CALTQPN/INPA, usando a ressonância magnética nuclear-RMN unidimensional de ^{1}H e ^{13}C e/ou bidimensionais COSY ^{1}H-^{1}H, DEPT 90 e 135, HMBC e HSQC, além de todos serem submetidos a espectrometria de massa acoplado a *ultra fast liquid chromatography*-UFLC no sistema de solvente, bomba A (H_2O + 0,1% HCOOH) e bomba B (ACN + 0,1% HCOOH), e como calibrante o HCOONa (10 mM) em 70% de B.

Os testes antimaláricos *in vitro* foram realizados no Laboratório de Cultivo de *Plasmodium falciparum* locado do prédio do laboratório de Malária e Dengue do INPA e supervisionado pela Msc. Jaqueline Siqueira Costa.

O teste de citotoxicidade ocorreu no Laboratório BIOPHAR da Universidade Federal do Amazonas-UFAM, sob supervisão do Professor Dr. Emerson Silva Lima e Professora Dra. Marce C. Vasconcelos.

4.4.1 Isolamento dos limonoides das sementes da Carapa guianensis coletadas na Reserva Ducke

As sementes da *Carapa guianensis* foram coletadas no dia 29 de abril de 2015 a 30 m da estação meteorológica da Reserva Florestal Ducke com latitude -2,883333 e longitude -59,96667 e com identificação de catálogo INPA 203918.

No Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia-LAPAAM descartou as sementes com raízes, furos e fungos. As sementes classificadas como apropriadas para pesquisa foram lavadas e secadas na estufa de circulação de ar por 14 dias, obtendo 18 Kg de sementes secas.

A massa de 18 Kg de sementes secas foi triturada no triturado de forragem (marca Trapp, modelo Trf 300), transferida para sacos plásticos de 5 L, codificadas e armazenadas no freezer.

4.4.1.1 Extrato das sementes trituradas

A massa de 10 Kg das sementes secas e trituradas foram submetidas a duas extrações com duração de 6h cada. As extrações ocorreram com 20 L de hexano e soxhlet semi-industrial instalado nas dependências do laboratório do pesquisador do

INPA Msc. Roberto Figliuolo situado no prédio da Coordenação de Tecnologia e Inovação- COTI. No final de cada extração, o extrato foi filtrado e em seguida concentrado no rotaevaporador, codificado e armazenado em garrafas de vidro.

Os extratos hexânicos (Tabela 1) armazenados a temperatura ambiente após 24 h em repouso apresentou precipitados que foram separados da fase oleosa por filtração a vácuo, seguido de lavagem com MeOH gelado e clorofórmio, a solução clorofórmica rica nos precipitados foi rotaevaporado, codificada (**TP1**) e pesada (3,48 g). Realizou comparação dos perfis cromatográficos em CCD do **TP1** com os padrões 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**), 6α-acetoxigedunina (**10**) e 6α-acetoxiazaradiona (**33**). A comparação mostrou a presença dos limonoides 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**) e 6α-acetoxigedunina(**10**) fração **TP1**.

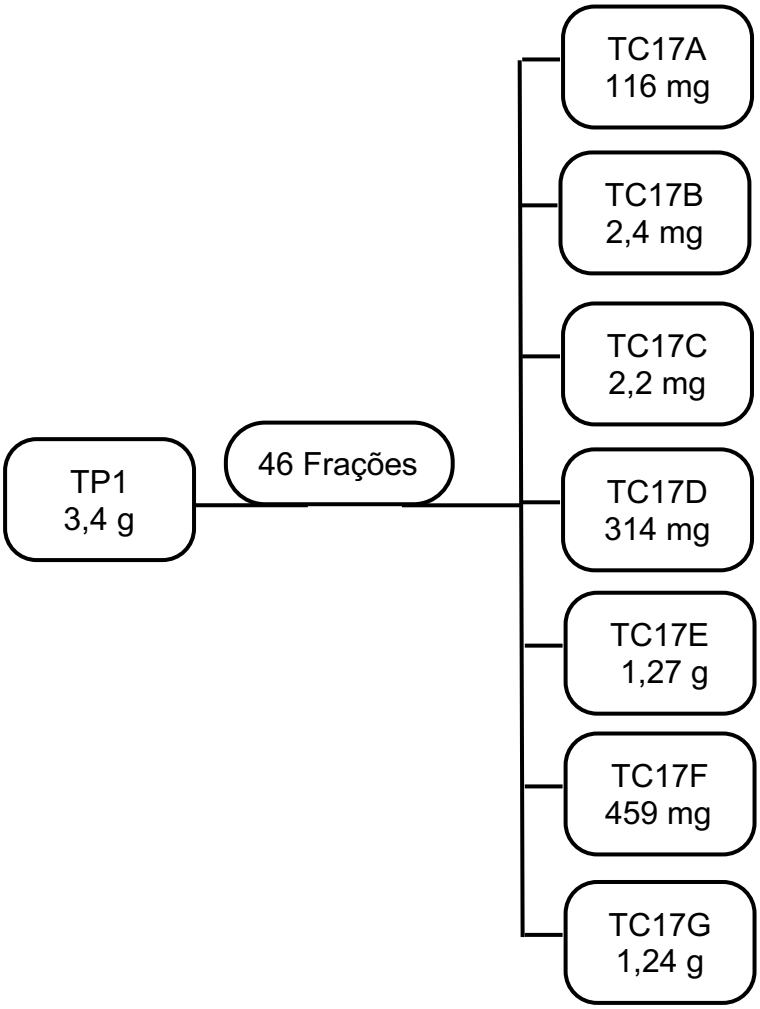
Tabela 1 Rendimento do extrato hexânico das sementes da *C.guianensis*

Código	Massa da Amostra	Teor extrativo (%)
1ª extração (E42C)	2,025 Kg	20,3 %
2ª extração (E42D)	1,821 Kg	18,2 %

4.4.1.2 Fracionamento cromatográfico do precipitado TP1

O precipitado **TP1** (3,4 g) foi particionado em coluna cromatográfica (ø×h de 4 × 27 cm) de sílica gel 60 (0,063-0,200 mm) no sistema de solvente com aumento de polaridade, Hexano:AcOEt (9:1; 8:2; 7:3; 6:4) de acordo com o Esquema 1. A coluna foi lavada com MeOH e a reunião das frações se deu pela análise do perfil cromatográfico em CCD. A coluna cromatográfica (CC) gerou 7 frações com perfis cromatográficos distintos.

A fração **TC17E** foi comparada com os padrões de limonoides e comprovou a presença do mesmo e uma terceira substância.



Esquema 1 Fracionamento cromatográfico do precipitado TP1

4.4.1.3 Fracionamento da fração TC17E por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Dissolveu-se a massa de 280 mg da fração **TC17E** em 4 mL de ACN grau HPLC, filtrou-se em microfiltro Milipore Millex-HV 0,45 µm e com ajuda da seringa Hamilton n^0 3 – *Blunt* injetou a amostra no loop de 1 mL, sendo fracionada na coluna semipreparativa de fase reversa C-18 (Shim-pack, dimensão 250 × 20 mm, partícula de 5 µm). A corrida cromatográfica ocorreu de forma isocrática com a fase móvel ACN:H_2O (60:40), fluxo de 16 mL/min e comprimento de onda de 219, 225 e 254 nm. O cromatograma mostrou três picos nos tempos 6,24, 6,91 e 8,5 min (Figura 5).

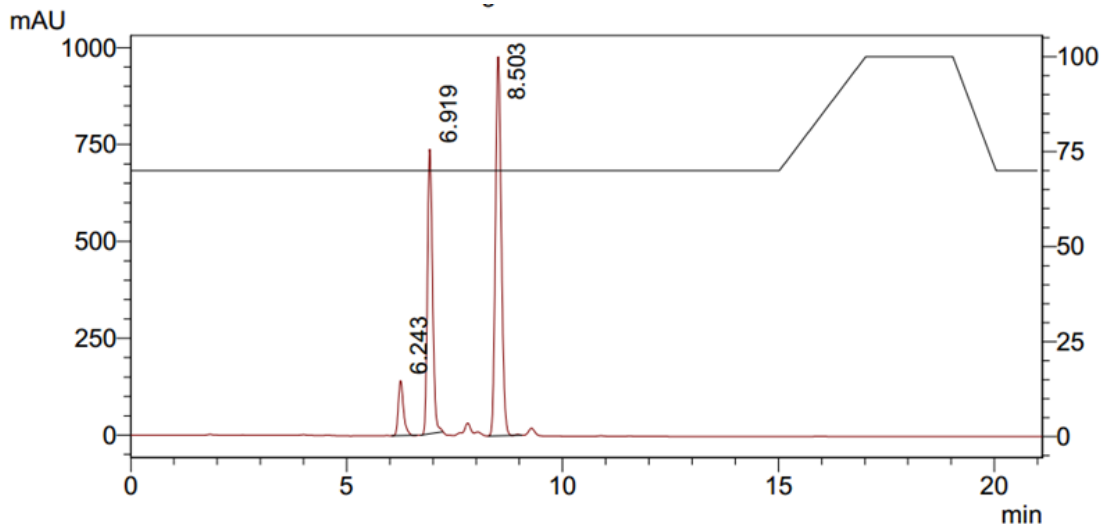


Figura 5 Cromatograma da fração TC17E

As substâncias correspondentes aos picos com tempo de retenção foram coletadas em balões de 500 mL, rotaevaporados e codificados (Tabela 2). As substâncias isoladas foram enviadas para análise de UFLC/HRMS-ESI e RMN de ^{1}H.

Os dados de UFLC/HRMS-ESI e RMN de ^{1}H das frações e padrões foram comparados e identificou os picos com tempo de retenção 6,9 min e 8,5 min sendo dos padrões 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**) e 6α-acetoxigedunina (**10**), respectivamente. Os dados espectros de RMN de ^{1}H (ANEXO 11 e ANEXO 13, respectivamente) das substâncias isoladas foram tabelados (ANEXO 1) e o espectro de UFLC/HRMS-ESI plotados (ANEXO 10 e ANEXO 12, respectivamente).

A substância com tempo de retenção de 6,2 min não apresenta semelhança com nenhum dos padrões, sendo elucidada dos resultados e discursão e codificada de substância **34**.

Tabela 2. Substâncias isoladas da fração TC17E por CLAE

Código	Tempo de retenção (s)	Massa (mg)
34	6,24	11,5
7-desacetil-7-oxogedunina	6,92	61,6
6α-acetoxigedunina	8,50	146,9

4.4.1.4 Torta residual da Carapa guianensis de Parintins-AM

As sementes da *Carapa spp* coletadas no dia 12 de março de 2015 no Município de Parintins-AM foram cozidas seguida da preparação do "pão" com a massa das amêndoas e extração do óleo por gravidade com auxílio do tipiti, obtendo no final o óleo e a torta residual. A torta residual foi armazenada em sacos de algodão e centrifugada na máquina de lavar da marca *Brastemp*, modelo *clean*, extraindo 3 L de óleo a partir de 15 Kg de torta residual. Esse processo foi realizado pela acadêmicos do curso de Licenciatura em Química do Centro de Estudos Superiores de Parintins-CESP da Universidade do Estado do Amazonas-UEA. A massa de 15 Kg da torta residual foi doada para realização dessa tese.

A torta residual centrifugada foi triturada no liquidificador, peneirada na peneira de 0,25 mm e guardada a temperatura ambiente.

4.4.1.5 Extrato da torta residual de Parintins-AM

A massa de 400 g de torta residual foi submetida a extração com acetona no soxhlet (3 × 6 h) no LAPAAM/INPA. Cada extrato foi filtrado, rotaevaporado e codificado (Tabela 3)

Tabela 3 Rendimento do extrato acetônico da torta residual

Código	Massa	Teor extrativo (%)
TR41A	128 g	32
TR41B	9,17 g	2,3
TR41C	654,1 mg	0,16

4.4.1.6 Recristalização do extrato TR41A

A massa de 128 g do extrato TR41A foi colocada em balão de fundo redondo de 500 mL e aquecido a 70^{o}C com MeOH sob agitação em refluxo por 1 h. Em seguida, a solução alcoólica foi filtrada com papel de filtro e deixada em repouso à temperatura ambiente por 7 dias. Na solução alcoólica teve a formação de cristais tipo agulha que foram filtrados a vácuo e lavados com MeOH gelado. Os cristais foram analisados em CCD no sistema de solvente hexano:AcOEt (6:4) e comparados com os padrões de

limonoides. Segundo comparação dos perfis cromatográficos foi possível inferir a presença dos limonoides 6α-acetoxigedunina (**10**) e 6α-acetoxiazaradiona (**33**) como constituintes principais dos cristais.

A fase alcoólica foi concentrada no rotaevaporador e repetiu processo de extração seguido de recristalização até obtenção dos rendimentos de cristais resumido na

Tabela 4.

Tabela 4 Rendimento dos cristais da recristalização com metanol

Código	Massa	Rendimento *
TC31B	8,0 g	20 %
TC31C	1,2 g	0,3 %
TC31D	0,3 g	0,08%

* O rendimento está em relação à torta residual

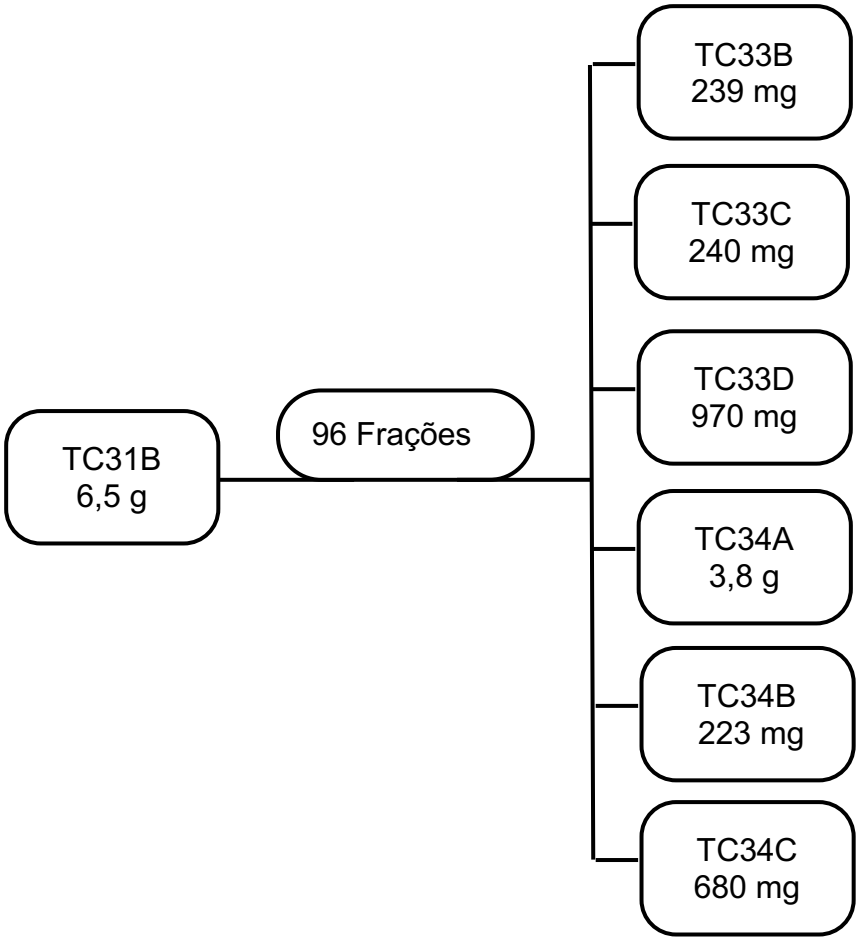
4.4.1.7 Fracionamento cromatográfico dos cristais TC31B

A massa de 6,5 g dos cristais TC31B foi submetida à cromatografia em coluna com sílica gel 60 (0,063-0,200 mm) no sistema de solvente hexano:AcOEt (9:1; 8:2; 7:3; 6:4) de acordo com o Esquema 2. A coluna foi lavada com AcOEt (100%) seguida de MeOH (100%). As frações foram reunidas conforme o perfil cromatográfico no CCD.

As frações **TC33C** e **TC34A** apresentaram-se puras em CCD no sistema hexano:ACOEt (6:4), as mesmas foram levadas para análise no UFLC/HRMS-ESI e RMN.

A comparação dos dados de UFLC/HRMS-ESI com os padrões identificaram a frações **TC33C** e **TC34A** sendo os limonoides 6α-acetoxigedunina (**10**) e 6α-acetoxiazaradiona (**33**). A comparação dos dados de RMN ^{1}H corroboraram com a identificação realizada por UFLC/HRMS-ESI.

Os dados espectros de RMN de ^{1}H (ANEXO 13 e ANEXO 15, respectivamente) das substâncias isoladas foram tabelados (ANEXO 1) e o espectro de UFLC/HRMS-ESI plotados (ANEXO 12 e ANEXO 14, respectivamente).



Esquema 2 Coluna cromatográfica dos cristais TC31B

4.4.1.8 Material vegetal- Carauari-AM

As sementes da *Carapa* spp foram coletadas no período de novembro de 2013 a fevereiro de 2014 por moradores da comunidade do Roque localizada a 140 Km da Cidade de Carauari -AM. Os moradores levaram as sementes a Agroextratora do Município de Carauari-AM para realizar o processo de extração do óleo da *Carapa* spp.

A torta residual foi doada para o pesquisador Msc. Roberto Frigliulo do Instituto de Pesquisa do Amazonas –INPA. O pesquisador Msc Roberto Frigliulo triturou a torta residual com as mãos para aumentar a área de superfície e submeteu 20 Kg a extração no soxhlet semi-industrial com etanol por 6 h. O extrato etanólico foi retirado do soxhlet sem filtragem e deixado em repouso a temperatura ambiente por 7 dias, sendo observado sólido amórfico no fundo do frasco o separando por filtração seguido de

lavagem com MeOH gelado. O processo de extração ocorreu com mais 20 Kg de torta residual, totalizando 18,5 g de cristais.

Os cristais foram disponibilizados para subsidiar o desenvolvimento desta tese que objetiva obter os limonoides 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**) e 6α-acetoxigedunina (**10**) em escala de grama para obter análogos semissintéticos.

No laboratório de pesquisa de produtos naturais amazônico-LAPAAM o perfil cromatográfico dos cristais foi comparado com os padrões. A comparação cromatográfica identificou os limonoides 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**) e 6α-acetoxigedunina(**10**) sendo os principais constituintes químicos dos cristais.

A massa de 7,4 g do sólido foi submetida à recristalização de metanol e 800 mg cristais foram separados por CLAE conforme na seção 4.4.1.3 (página 61), obtendo-se duas substâncias com massas de 534 mg e 113 g com tempo de retenção de 7 min e 9 min. Os cristais foram enviados para análise de UFLC/HRMS-ESI e RMN.

Os dados de UFLC/HRMS-ESI e RMN de ^{1}H das frações e padrões foram comparados e identificou os picos com tempo de retenção 7 min e 9 min sendo dos padrões 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**) e 6α-acetoxigedunina (**10**), respectivamente. Os dados espectros de RMN de ^{1}H (ANEXO 11 e ANEXO 13, respectivamente) das substâncias isoladas foram tabelados (ANEXO 1) e o espectro de UFLC/HRMS-ESI plotados (ANEXO 10 e ANEXO 12, respectivamente).

O processo de purificação dos cristais foi repetido até obter as massas de 6,5 g da 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**) e 1,35 g da 6α-acetilgedunina (**10**).

4.4.2 REAÇÕES DE SEMISSÍNTESE

4.4.2.1 Reação de desacetilação

A 6α-acetoxigedunina (**10**, 1,0 g) foi suspensa em metanol (70 mL) e foi adicionado uma solução de KOH à 10% (10 mL). A solução reacional foi mantida sob agitação e refluxo por 40 min em banho de areia a temperatura na faixa de 60-70 ºC. A reação foi interrompida com 20 mL de $H_2O_{destilada}$ e neutralizada com HCl 0,1 N. A fase orgânica foi extraída exaustivamente com DCM e as frações de DCM foram secas com Na_2SO_4, depois rotaevaporada em rotaevaporador. Em seguida, a fração de DCM foi submetida a CC (ø×h de 2,6 × 17 cm) em sílica gel 60 *flash* (0,004- 0,063 mm *mesh*) sob pressão com vazão de 5 cm/min com sistema de solvente Hex:AcOEt (7:3) isolando a substância **10.1**.

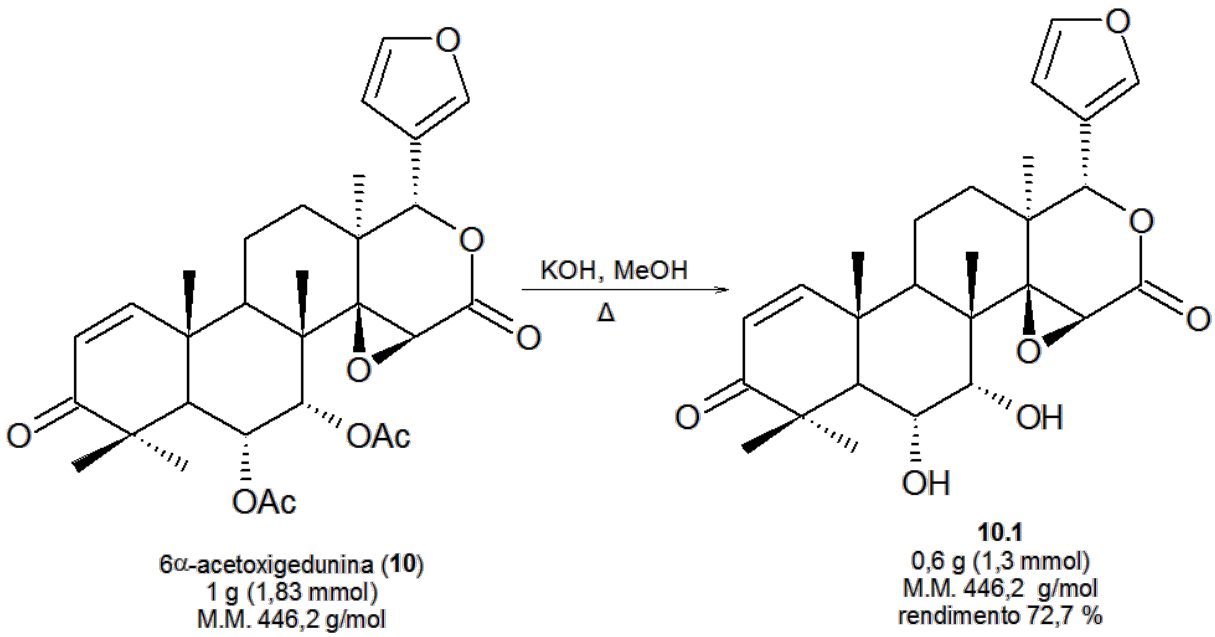


Figura 6**.** Esquema reacional para a obtenção do 6α-hidroxidesacetilgedunina (**10.1**) a partir do da 6α-acetoxigedunina (**10**). [Procedimento adaptado RODRIGUES, 2003)

O produto desacetilado **10.1** foi submetido a comparação por CCD e dados de UPLC/HRMS-ESI e RMN de ^{1}H e ^{13}C do padrão 6α-hidroxidesacetilgedunina, confirmando a estrutura desenhada na Figura 6. O padrão 6α-desacetilgedunina foi semissintetizado em trabalhos anteriores e publicado por Pereira at al.(2014).

Os dados de UFLC/HRMS-ESI e RMN uni e bidimensionais estão plotados (ANEXO 17 - ANEXO 24). Os deslocamentos químicos e *J* de acoplamentos dos espectros de RMN de ^{1}H da substância desacetilado foram tabelados (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

4.4.2.2 Reação de heptanoilação, benzoilação e butirilação

Foi preparado a solução de **10.1** (50 mg, 0,109 mmol, 1 eq-g) em 5,0 mL DCM grau HPLC. Em seguida adicionou-se o respectivo reagente (cloreto de heptanoila, cloreto de benzoíla e anidrido butírico; 2 eq-g) e os catalizadores trietilamina (Et_3N, 17 µL, 0,124 mmol) e dimetilaminopiridina (DMAP). A reação iniciou em banho de gelo sob agitação em atmosfera de Ar por 1 h, prosseguindo a temperatura ambiente por 23 h. A reação foi interrompida com a adição de DCM (50 mL), seguida de partição com solução saturada de NH_4Cl. Secou a fase orgânica com Na_2SO_4.

A purificação foi realizada por CC (ø×h de 1,2 × 16 cm) em sílica gel 60 *flash* (0,004-0,063 mm *mesh*) sob pressão com vazão de 5 cm/min com sistema de solvente

Hex:AcOEt (1:1). A fração mais rica dos produtos foi submetida à CLAE semipreparativa de fase reversa no sistema isocrático ACN:H_2O (75:25; fluxo 17 mL/min; injeção 1 mL)

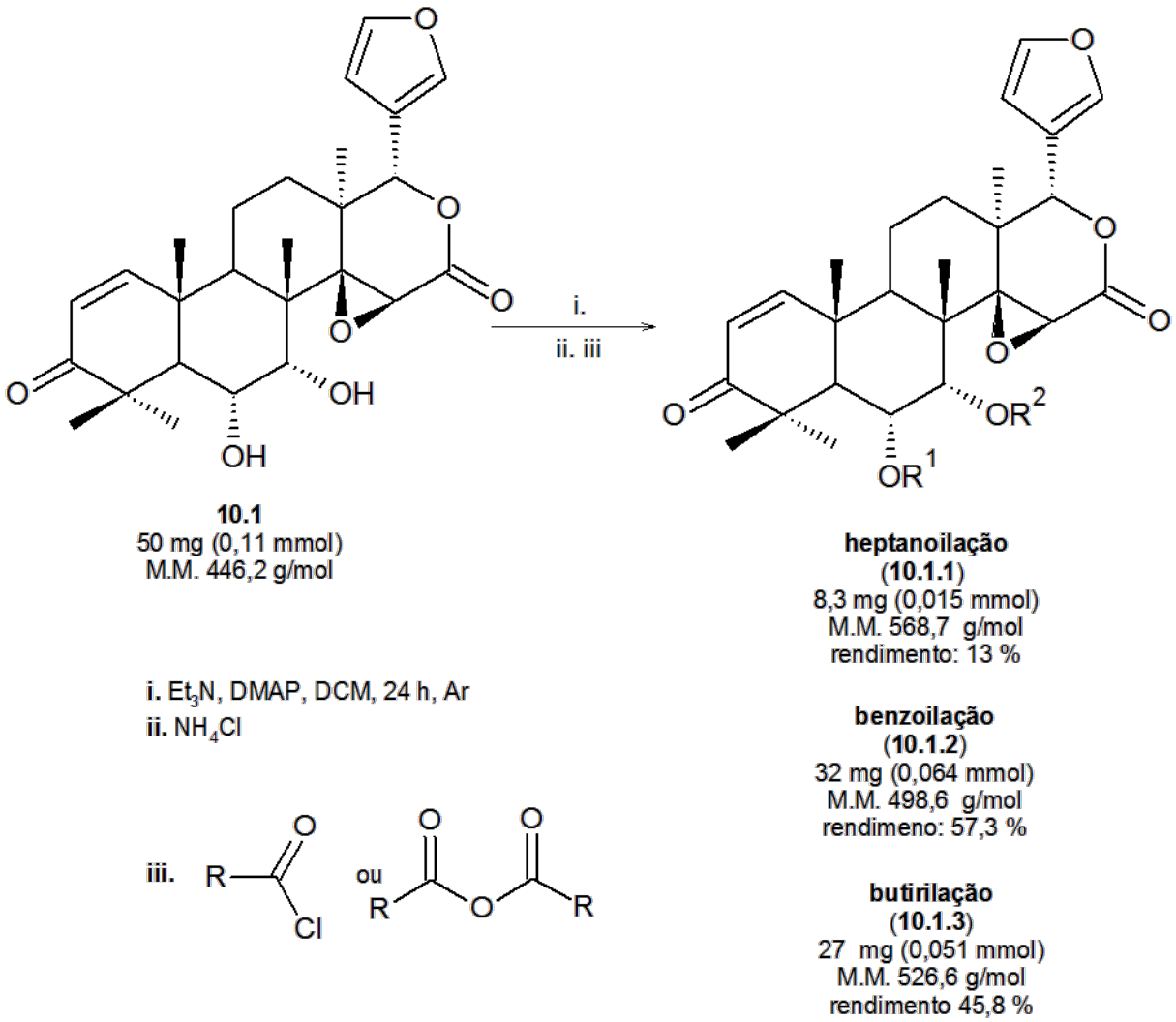


Figura 7. Condições reacionais para a obtenção dos derivados (**10.1.1; 10.1.2; 10.1.3**) a partido do **10.1**. [Procedimento adaptado NKAMBULE et al., 2011)

4.4.2.3 Redução da carbonila do 7-desacetil-7-oxogedunina (TH62B)

Suspendeu-se a 7-desacetil-7-oxogedunina (1,0 g, 4,6 mmol, 4 eq-g) em 7 mL de MeOH, adicionou $NaBH_4$ (43,5 g, 1,15 mmol, 1 eq-g) e agitou por 30 min sob banho de gelo, seguido de 1 h a temperatura ambiente.

A reação interrompida 13 mL de H_2O e extraído com 14 mL de DCM. A fase orgânica foi secada com $NaSO_4$. Os produtos foram separados por CLAE semipreparativo no sistema isocrático ACN:H_2O (60:40; fluxo 17 mL/min; injeção 1 mL).

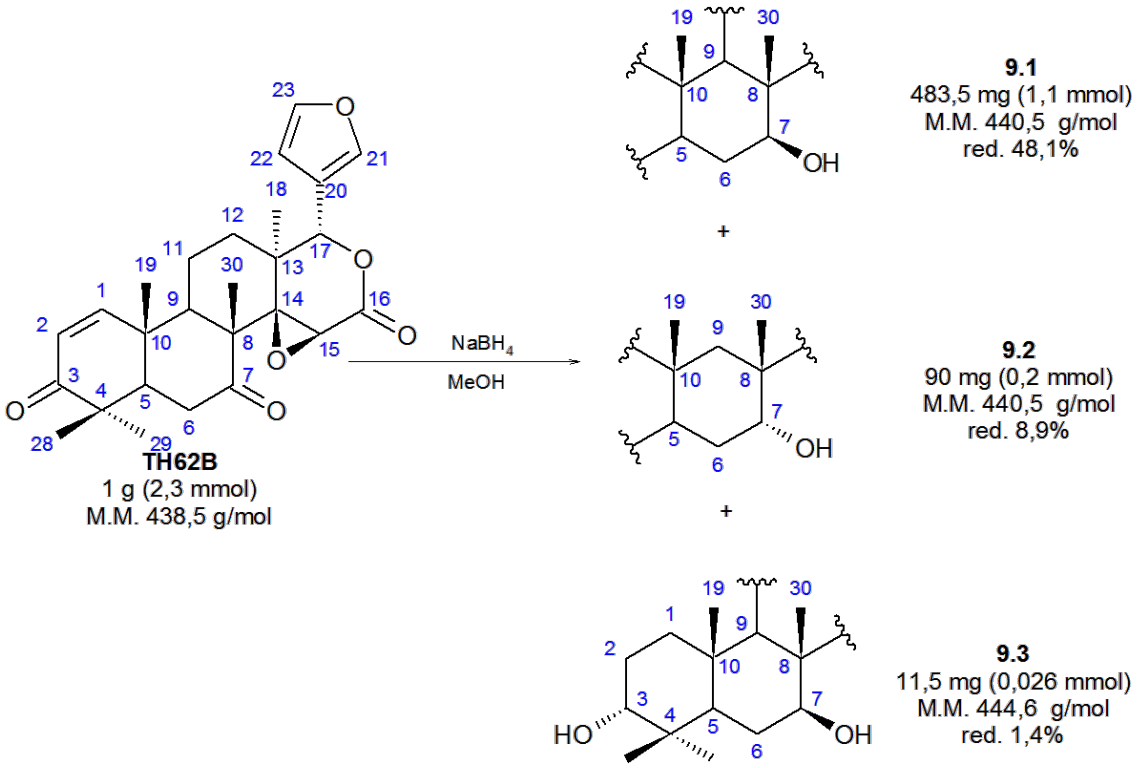


Figura 8. Condições reacionais para a obtenção dos derivados **9.1**, **9.2** e **9.3** a partido do **TH62B** [Procedimento adaptado TANAKA et al., 2012)

4.4.2.4 Reação de acetilação, butirilação, pentanoilação do 9.1

Suspendeu-se a substância **9.1** em 5 mL de Et_3N e, sob agitação e banho de gelo adicionou AC_2O, anidrido butírico ou cloreto de penatoila, seguido da adição de DMAP. Após 1 h de reação em banho de gelo a reação prosseguiu a temperatura ambiente por 23 h, sendo interrompida com água destilada e particionada com clorofórmio (CH_3Cl). Secou-se a fase orgânica com Na_2SO_4 e a submeteu a purificação cromatográfica.

A purificação foi realizada por CC (ø×h de 1,2 × 10 cm) em sílica gel 60 *flash* (0,004-0,063 mm *mesh*) sob pressão com vazão de 5 cm/min com sistema de solvente Hex:AcOEt (4:6). A fração mais rica dos produtos foram submetidos a CLAE semipreparativo no sistema isocrático ACN:H_2O (80:20; fluxo 17 mL/min; injeção 1 mL). O esquema reacional está sendo resumido na Figura 9

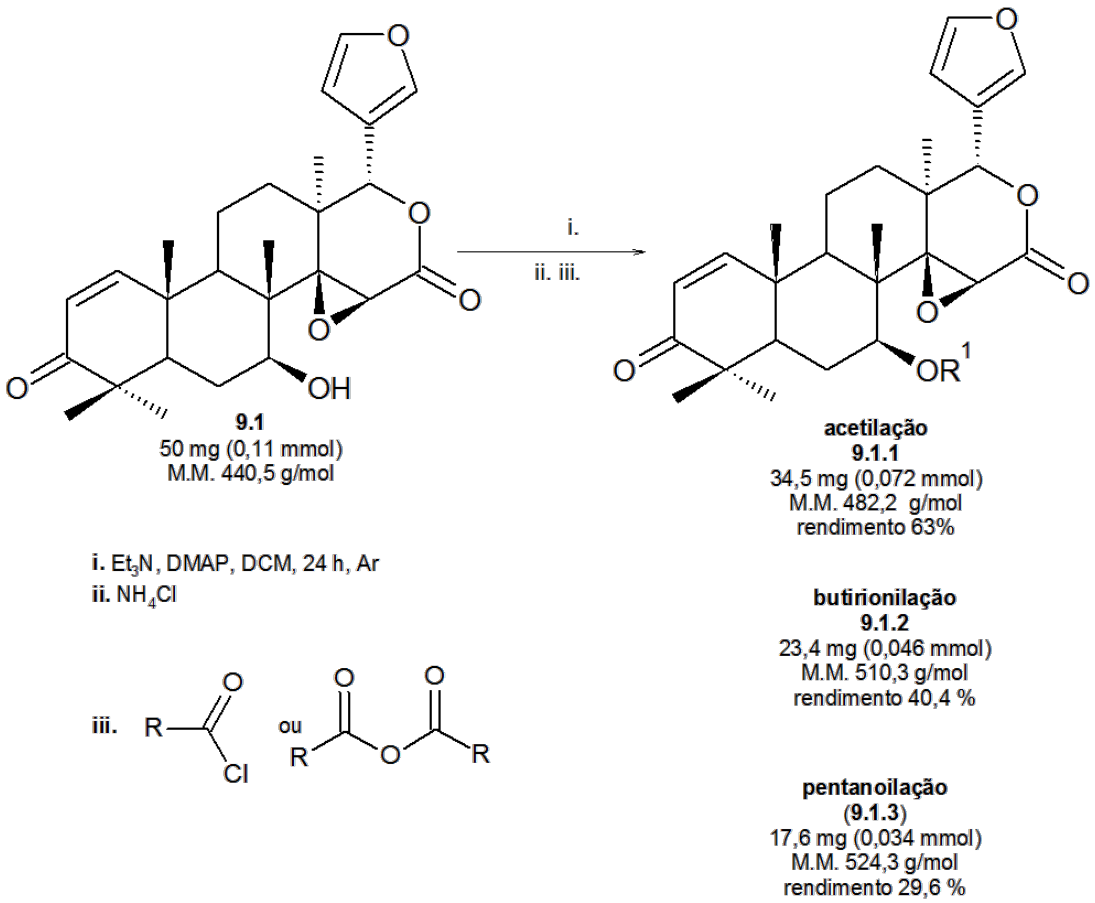


Figura 9. Condições reacionais para a obtenção dos derivados **9.1.1; 9.1.2; 9.1.3** e **9.1.4** a partido do **9.1**. [Procedimento adaptado NKAMBULE et al., 2011)

4.4.2.5 Reação de Acetilação, BUTIRILAÇÃO e pentanoilação do 9.2

As reações procederam conforme descrito nas reações de acilação com **9.1**. A diferença se encontra na massa do substância de partida, sendo nessa etapa de 20 mg.

A purificação foi realizada por CC (ø×h de 1,2 × 8 cm) em sílica gel 60 *flash* (0,004- 0,063 mm *mesh*) sob pressão com vazão de 5 cm/min com sistema de solvente Hex:AcOEt (3:7). A fração mais rica dos produtos foram submetidos a CLAE semipreparativa no sistema isocrático ACN:H_2O (85:25; fluxo 17 mL/min; injeção 1 mL). O procedimento reacional está sendo resumido na Figura 10.

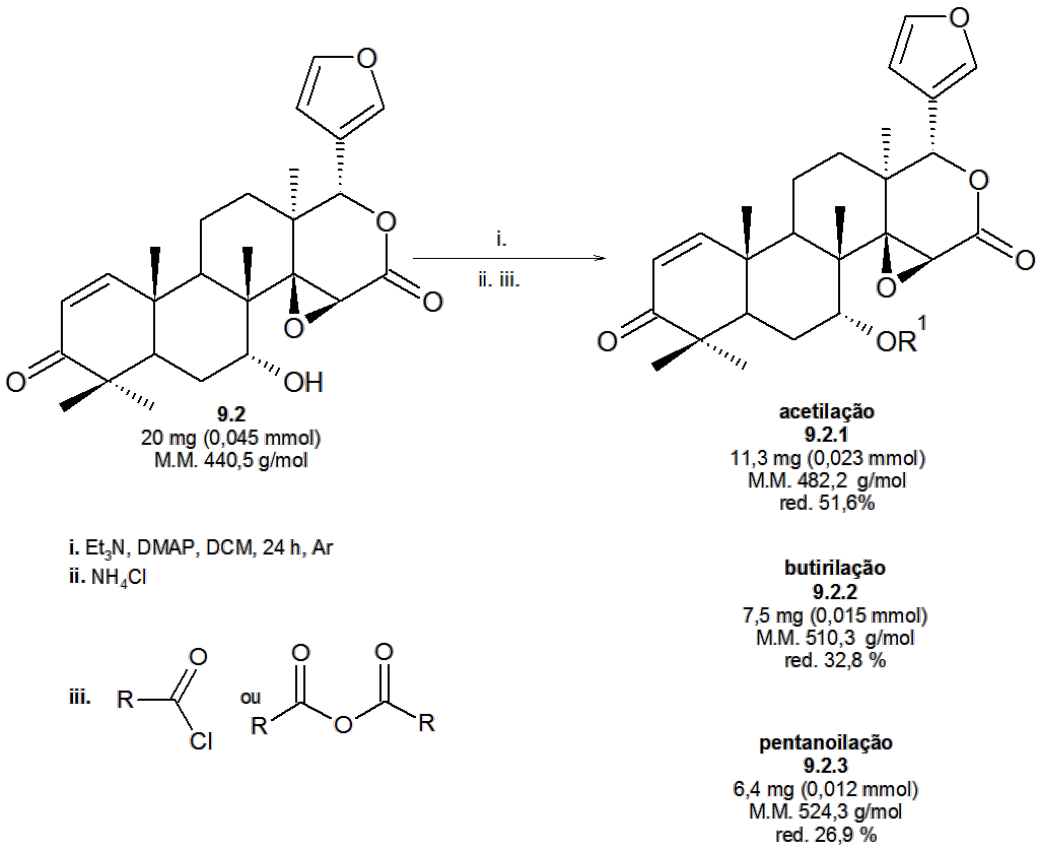


Figura 10 Condições reacionais para a obtenção dos derivados **9.2.1** e **9.2.2** a partido do **9.2**. [Procedimento adaptado NKAMBULE et al., 2011)

4.4.3 Teste antimalárico *in vitro* contra *Plasmodium vivax*

O teste *in vitro* da 6α-acetoxigedunina (**10**) e seu derivados semissintético 6α-hidroxidesacetilgedunina (**10.1**) foram realizados pela Msc. Jaqueline Siqueira com a supervisão do Dr. Luiz Francisco Rocha e Silva e Heitor Vieira Dourado na Fundação de Medicina Tropical. O teste seguiu três etapas: Preparação da suspensão de hemácia parasitados, análise microscópica e análise dos dados.

4.4.3.1 Preparação da suspensão de hemácisa parasitados

As amostras de sangue foram ressuspensas em meio de cultura completo para obter um hematócrito a 2%. O meio completo específico para *P. vivax* constituído de meio Waymouth (Sigma-Aldrich®) suplementado com 30% de soro humano do tipo AB+ inativado. Foram preparados da seguinte forma: 625 µL de hemácias parasitados foram adicionadas a 30 mL do meio completo de *P. vivax*, suficientes para a preparação de 2 placas de testes por paciente. A esta suspensão foi adicionada uma mistura

padrão de gases (5% de O_2, 5% de CO_2 e N_2 balanceado) para aguardar até o momento do teste.

A partir da preparação da suspensão de hemácias parasitadas procedeu-se com os testes de suscetibilidade *in vitro* de *P. vivax.*

4.4.3.2 Análise microscópica

O microteste foi realizado segundo metodologia descrita por Rieckmann *et al* (1978), com modificações descritas por Andrade-Neto *et al* (2007).

A partir das soluções-filha, 20 µL de sete diluições das amostras foram aplicadas em uma microplaca em duplicata. Posteriormente foram aplicadas 180 µL de suspensão de hemácias parasitadas obtendo-se o volume final de 20µL por poço. Poços contendo somente hemácias parasitadas suspensas em meio de cultura completo representaram o controle de crescimento, além dos poços contendo DMSO a 1%, a placa foi incubada por 48 ho em estufa de CO_2 a 37°C.

Ao fim do período de incubação, foram confeccionados esfregaços sanguíneos a partir do sedimento de hemácias retiradas de cada poço. Os esfregaços foram corados pelo Panótico® e examinados no microscópio óptico, onde se contou a quantidade de parasitos presentes num total de 2.000 hemácias.

A parasitemia foi expressa em porcentagem, calculada a partir do número de hemácias parasitadas no total de hemácias contadas, segundo a fórmula abaixo:

$$\text{Parasitemia em \%} = \frac{\text{Nº hemácias parasitadas} \times 100}{\text{Nº total de hemácias}}$$

4.4.3.3 Análise dos dados

As parasitemias resultantes das análises microscópicas do conteúdo dos poços testes foram comparadas com as parasitemias dos poços controles para se avaliar a viabilidade de crescimento do parasito frente a cada concentração de amostra, calculada a partir da razão entre a parasitemia dos poços testes e a parasitemia dos poços controle. A concentração inibitória 50% (CI_{50}) das drogas, substâncias e extratos para cepas e isolados de campo de *P. vivax* foi calculada com auxílio do software Microcal Origin 8.1® (OriginLab).

4.4.4 Teste antimalárico *in vitro* contra *P. falciparum*

Os testes *in vitro* foram realizados no Laboratório de Cultivo de *Plasmodium falciparum*/Laboratório de Malária e Dengue, localizado no INPA. Os semissintéticos **9.1**, **9.2**, **9.3**, **10.1, 9.1.1**, **9.1.2**, **9.1.3**, **9.1.4**, **9.2.1**, **9.2.2**, **10.1.1**, **10.1.2**, **10.1.3** e a substância **34** foram testados pela Msc. Jaqueline Siqueira.

Os dados do teste *in vitro* dos limonoides isolados 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**), 6α-acetoxigedunina (**10**) e 6α-acetoxiazaradiona (**33**) e semissintético 6α-hidroxi-desacetilgedunina (**10.1**) foram testados pelo Dr. Luiz Francisco Rocha e Silva e publicado por Pereira et al. (2014).

As substâncias testadas pela Msc. Jaqueline Siqueira foram analisadas frente à cepa K1 multi-resistente K1 (MRA-159, MR4, ATCC Manassas Virginia-EUA) de *P. falciparum.* A cepa foi mantida em cultivo contínuo de acordo com a método de Trager e Jensen (1976). O período de incubação do parasita com os derivados foi de 24 horas a temperatura de 37oC. Os controles positivos utilizados foram os padrões comerciais cloroquina e quinina. Para o microteste foi utilizada uma parasitemia inicial de 1 – 2% e hematócrito de 3%. As substâncias foram diluídas em DMSO na concentração estoque de 5 mg/mL, e posteriormente, diluídas em meio completo para obtenção das sete concentrações de teste que variaram entre 50 e 3,2 × 10^{-3}µg/mL. O teste foi realizado como descrito por Andrade-Neto *et al.,* (2007). As diluições das amostras foram aplicadas em poços de micro-placa contendo hemácias parasitadas. Cada concentração foi testada em triplicata. Após a incubação, o conteúdo dos poços foi avaliado através de microscopia óptica e o efeito parasitário avaliado pela porcentagem de inibição do crescimento do protozoário. A inibição do crescimento dos parasitos foi determinada pela comparação com os controles de crescimento sem amostra, segundo a fórmula:

$$\%\text{inibição} = \frac{(\text{parasitemia do controle} - \text{parasitemia com amostra})}{\text{parasitemia do controle}} \times 100$$

Para os testes *in vitro*, o software *Microcal Origin* foi utilizado na interpolação dos dados para determinação da concentração inibitória mediana (CI_{50}). E cada experimento foi realizado em duplicata. Dois experimentos independentes foram realizados. O software usado nas análises estatísticas dos dados de testes foi o Biostat 1,0 MCT-CNPq usando Anova e t-Student.

As substâncias passam por uma triagem inicial através do *screening* em duas concentrações 5 e 50 µg/mL, seguindo as condições descritas acima e recebem uma classificação em relação a porcentagem de inibição do crescimento do parasito, como ativas (A) parcialmente ativas (PA) e inativas (I), esta classificação segue os critérios detrminados por Rocha e Silva e colaboradores (2012). A partir deste teste todas as substâncias foram determinar o CI_{50} (concentração inibitória matar 50% dos parasitas).

4.4.5 Ensaio de viabilidade celular (citotóxico)

O teste citotóxico foi realizado no laboratório BIOPHAR na Universidade Federal do Amazonas, sob supervisão do profo. Dr. Emerson Silva Lima e profa. Dra. Marne C. Vasconcelos. O teste foi avaliado pelo método de alamar blue segundo NAKYAMA et al.(1997). Neste ensaio foram utilizados fibroblastos humanos MRC-5. Os fibroblastos foram cultivados na concentração de 5×10^3 células por poço em placas de 96 poços. Após 24 horas de incubação e aderência das células, as mesmas são tratadas com os compostos nas concentrações de 5, 10, 25 e 50 µg/mL. As células são tratadas em quadruplicatas para cada período de tratamento (24, 48 e 72 h). Como controle positivo, foi avaliada a citotoxicidade da doxorrubicina (5 µg/mL) e como controle negativo foi avaliado o branco contendo somente meio de cultura. Para avaliar a influência do diluente DMSO, foi realizado um controle contendo somente DMSO. Após o período de tratamento (24, 48 e 72 horas) foram adicionados 10 µL de resazurina 0,4% (diluída 1:20). Após o tempo de metabolização da resazurina padronizado, que compreende 2 h, foi realizada a leitura da fluorescência. A viabilidade é calculada conforme a fórmula abaixo, onde:

$$\% \text{ viabilidade} = \frac{\text{Ft} \times 100}{\Delta}$$

Ft=(fluorescência de célula + meio+ substância + resazurina) e

ΔFb= (fluorescência da célula+ meio+ resazurina)

5 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Todas as substâncias, naturais e semissintéticas, foram submetidas à análise de UFLC/HRMS-ESI, ressonância magnética nuclear de unidimensional ^{1}H, ^{13}C e/ou DEPT 135º e 90º, bidimensional de COSY ^{1}H-^{1}H, HSQC e HMBC. Os dados foram tabelados em anexo.

Nesse trabalho os ensaios *in vitro P.falciparum* e citotóxico (fibroblasto) foram realizados com a substância natural substância natural e os semissintéticas **9.1**, **9.2**, **9.3**, **10.1, 9.1.1**, **9.1.2**, **9.1.3**, **9.1.4**, **9.2.1**, **9.2.2**, **10.1.1**, **10.1.2**, **10.1.3**. Teste antimalárico contra *P. vivax in vitro* foram realizados apenas com a substância 6α-acetoxigedunina (**10**) e 6α-hidroxidesacetilgedunina (**10.1**).

5.1 SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS SEMENTES DA ANDIROBA

Nesse trabalho utilizou material vegetal de localidades distintas e formas de extrações do óleo diferenciadas, descritas na parte experimental e resumidas na Tabela 5. Os precipitados dos extratos das três localidades apresentaram diferença na concentração dos limonoides. A parte vegetal procedente de Parintins-AM, conteve o maior percentual de precipitados ricos em limonoides em relação à massa de partida e menor quantidade de óleo devido à eficiência do método de extração do óleo das sementes, detalhado na parte experimental descrita em tópicos anteriores. Trabalho anterior descreve a presença de grande quantidade de óleo no extrato acetônico da torta residual proveniente da extração por prensagem mecânica (Pereira *et al.,* 2014), aspecto que interfere no trabalho fitoquímico.

Tabela 5. Origem dos materiais vegetais e percentual de rendimento

Origem	**Parte vegetal**	**Extração do óleo**	**Rend. precipitados ricos em limonoides (%)***	**Substâncias isoladas**
Res. Ducke	Sementes	Sohlext	0,032	**34**; **9**; **10**
Parintins-AM	Torta residual	Tipiti/centrifugação	20	**33** e **10**
Carauari-AM	Torta residual	Prensa mecânica	0,035	**9** e **10**

*Rendimento está em relação a massa de partida.

5.2 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DA SUBTÂNCIA **34**

A substância **34** foi isolada como sólido branco e submeteu-se a análises espectrométricas. Análise por UFLC/HRMS-ESI revelou espectro de massa com pico do íon aduto $[M+H]^+$ *m/z* 499,2333 e tempo de retenção t_r= 1,3 min (ANEXO 2) consistindo com a fórmula íon $C_{28}H_{35}O_8^+$ (valor teórico $[M+H]^+$ *m/z* 499,2326, Δ=-1,4).

Para determinar a estrutura da substância **34** foi utilizado as principais informações dos espectros de RMN de ^1H (ANEXO 3),^{13}C (ANEXO 4), DEPT 135/90 (ANEXO 5, ANEXO 6), COSY (ANEXO 7), HSQC (ANEXO 8) e HMQC (ANEXO 9) os quais foram previamente tabelados (Tabela 6)

A espécie a qual a substância foi isolada frequentemente biossintetizar limonoides de esqueleto gedunínico conforme demonstrado na literatura (TANAKA et al., 2011; TANAKA et al., 2012 e MIRANDA JÚNIOR et al., 2012). Por comparação dos espectro de RMN de ^{13}C, DEPT135º e DEPT 90º evidenciaram-se cinco sinais de metila [δ_c 31,8, 21,5, 20,0, 18,9 e 17,9] os quais aparecem no RMN de ^1H como singletos [δ_H 1,40; 1,32, 1,28, 1,22, 1,10], sinais presentes nesta classe de limonoides (Pereira et al., 2014). Mediante estas informações torna-se plausível iniciarmos a determinação estrutural da substância **34** a partir do esqueleto gedunínico.

O esqueleto gedunínico apresenta anel furano, δ-lactona, epóxido e cetona α,β-insaturada. No espectro de RMN de ^1H observa-se três sianis de vinílico aromáticos, dois multipletos [δ_H 7,44 e 7,43] e um singleto largo [δ 6,36]. O multipleto δ 7,44 correlaciona no COSY com o singleto largo δ_H 6,36 e observa-se o acoplamento dele no experimento de HMQC a ^2J e ^3J com os sinais de δ_C 143,2, 141,2 e 120,1, sinais característicos de carbono aromático. A interação nos espectros de COSY e HMQC dos sinais de aromáticos comprovam fazerem parte do mesmo sistema aromático, ou seja, o anel furano.

O sinal δ_C 120,1 do carbono quaternário do anel furano correlaciona no mapa de contorno HMBC com o singleto de δ-lactona em δ_H 5,1 e este sinal de ^1H acopla a ^3J com o carbono quaternário δ_C 69,8. O sinal δ_C 69,8 correlaciona a ^2J no HMBC com o singleto característico de Hα de epóxido δ_H 3,65. Esse conjunto de dados mostra a proximidade do anel δ-lactônico, epóxido e anel furano, reforçando a hipótese inicial da estrutura da substância **34** ser limonoides gedunínico.

O espectro de RMN de ^1H apresenta dois dupletos δ_H 7,05 (*d*, *J*=10 Hz) e δ_H 5,94 (*d*, *J*=10 Hz) os quais correlacionam-se no COSY. O sinal δ_H 7,05 acopla-se no HMBC a ^3J com o sinal de deslocamento químico característica de cetona [δ_C 205,4].

Os dados expostos evidencia a presença cetona α,β-insaturada, característica de limonoides gedunínico isolados na *Carapa* spp.

Em resumo, evidenciaram-se até o momento a presença do anel furano, δ-lactona, epóxido e cetona α,β-insaturada. Os grupos oxigenados citados correspondem a cinco oxigênios da fórmula íon $C_{28}H_{35}O_8^+$ propostas pelo espectro de massa. No espectro de RMN de ^{13}C observa-se os sinais δ 68,9 e 77,1 característicos de carbono sp^3 oxigenado. No HSQC observa-se as correlações entre o carbono δ_C 68,9 e o sinal δ_H 4,30, e δ_C 77,1 com o sinal de hidrogênio δ_H 4,78 e este, no experimento de HMBC, com o sinal de carbono δ_c 172,4 típico de carboníla de éster. A carboníla de éster no HMBC correlaciona com o singleto integrado para três δ_H 2,20, característico de metila de grupo acetila. Estes dados comprovam que o carbono [δ_C 77,1] está ligado ao grupo acetila.

Por comparação dos espectros de RMN de ^{13}C, DEPT 135º e 90º, evidenciaram-se onze metinos, dois metilenos, seis sinais de metila e oito sinais de carbono quaternário, totalizando vinte e oito sinais de carbono e trinta e três hidrogênios. Estes dados ao serem comparados com a fórmula do ion aduto $[M+H]^+$ $C_{28}H_{35}O_8$ proveniente de UFLC/HRMS-ESI identifica a ausência de um hidrogênio, o qual não aparece no espectro de RMN de ^1H. Em limonoides contendo hidrogênio carbinólico de esqueleto gedunínico é comum o hidrogênio da hidroxila não aparecer no espectro de RMN de ^1H em $CDCl_3$ (OHOCHUKU e TAYLOR, 1970; SILVA et al., 2012; PEREIRA et al., 2014). Através dos pontos levantados neste paragrafo sugerimos a presença do grupo álcool ligado ao carbono carbinólico com δ_C 68,9.

As correlações observadas no COSY entre o sinal de duplo dupleto em δ_H 4,30 (*dd*, *J*= 12 e 2 Hz) com os sinais de dupleto δ_H 4,78 (*d*,*J*=2 Hz) e δ_H 2,23 (*d*,*J*=12 Hz) estão de acordo os acoplamentos axial-axial (*J*=12 Hz) e axial-equatorial (*J*= 2 Hz). A literatura evidencia a conformação α para o δ_H 2,23 do H metínico por cristalografia de raio-X (HOFFER et al., 2009) e diversos autores (CAZAL et al, 2010; FERRARIS et al., 2011, MIRANDA et al., 2012; TANAKA et al., 2012; MIYAKET et al., 2015) o identifica na posição-5 do esqueleto gedunínico (HOFER et al., 2009; MIYAKET et al., 2015). Mediante os apontamentos relativos aos acoplamentos δ_H 4,30 (dd, J=12 e 2 Hz) vicinais calculados e de acordo, respectivamente, aos ângulos diedro 180º e 90º, aproximados, das comparações da constante de acomplamentos medidas no ciclo-hexano na conformação cadeira é possível inferir as conformações $H_{6\beta\text{-axial}}$ [δ_H 4,30] e $H_{7\beta\text{-equatorial}}$ [δ_H 2,23].

Levando em consideração todos os dados observados e os sinais comparados permitiram a identificação da substância **34** e sendo o limonoides 6α-hidroxigedunina (Figura 11).

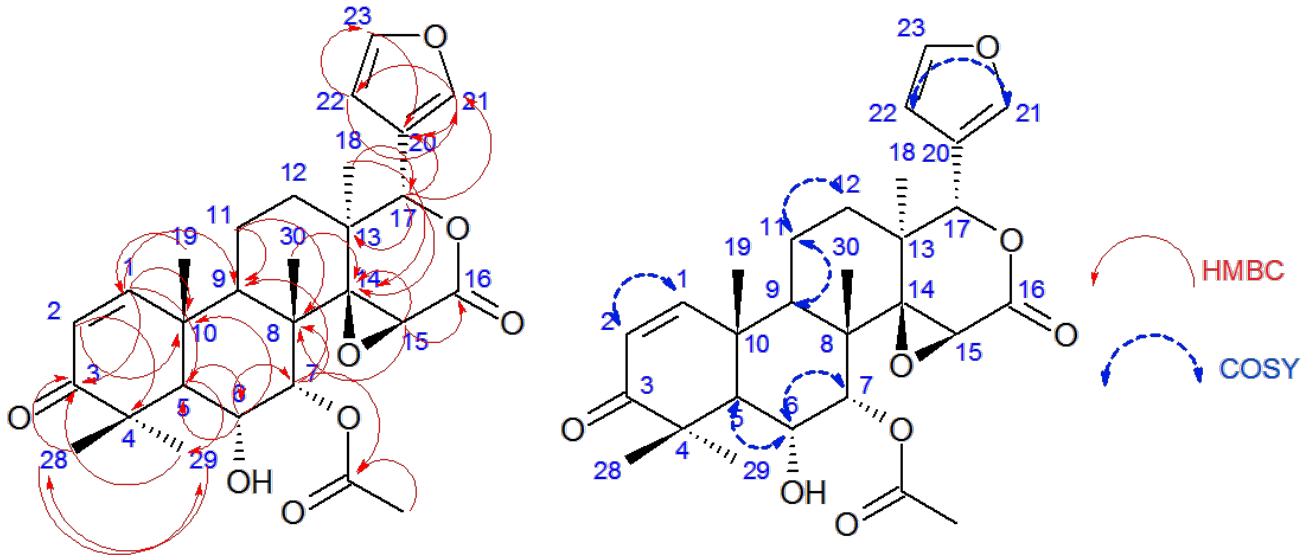


Figura 11.Correlações importantes de HMBC e COSY do 6α-hidroxigedunina

Tabela 6. Correlação dos sinais dos espectros uni e bidimensionais da substância **34**

H/C[a]	HSQC		DEPT[d]	COSY ^{1}H-^{1}H	HMQC
	δ $^{1}H^{b}$ (*J*,Hz)	δ $^{13}C^{c}$			
1	7,05 d(10)	156,2	CH	5,94 (H_2)	204,9(C_3); 49,5 (C_5); 40,3 (C_{10}); 38,3 (C_9)
2	5,94 d(10)	126,6	CH	-	45,5 (C_4); 40,3 (C_{10})
3	-	205,4	C	-	-

4		-	45,5	C	-	-
5		2,23 d(12)	49,5	CH	-	156,2 (C_1); 77,1 (C_7); 68,6 (C_6); 45,5 (C_4); 40,3 (C_{10}); 31,8 (C_{28}); 21,5 (C_{29})
6	α	-	68,9	CH	-	-
	β	4,30 dd (12;2)			2,23 (H_5); 4,78 (H_7)	77,1(C_7); 49,(C_5); 40,3 (C_{10});
7	α	-	77,1	CH	-	-
	β	4,78 d(2)			4,30 (H_6)	172,4 ($C_7{}^1$); 68,6 (C_6); 49,5 (C_5); 43,1 (C_8); 38,3 (C_9)
8		-	43,1	C	-	-
9		2,52 dd(12;6)	38,3	CH	-	-
10		-	40,3	CH	-	-
11	α	2,0 m	15,0	CH_2	-	43,1 (C_8); 38,3 (C_9)
	β	1,85 m			2,52 ($H_{9\alpha}$);	-
12	α	1,62 m	25,9	CH_2	-	-
	β	1,74 m			-	-
13		-	38,8	C	-	-
14		-	69,8	C	-	-

15	3,65 s	56,4	CH	-	167,3 (C_{16}); 69,8 (C_{14}); 43,1 (C_8)
16	-	167,3	C	-	-
17	5,64 s	78,2	CH	-	141,2 (C_{21}); 120,3 (C_{20}); 109,8 (C_{22}); 69,8 (C_{14}); 38,8 (C_{13})
18	1,28 s	17,9	CH_3	-	38,8 (C_{13}); 25,9 (C_{12}); 78,2 (C_{17}); 69,8 (C_{14})
19	1,18 s	20,0	CH_3	-	156,2 (C_1); 49,5 (C_5); 40,3 (C_{10}); 38,3 (C_9)
20	-	120,2	C	-	-
21	7,44 m	141,2	CH	-	-
22	6,36 sl	109,8	CH	7,44 (H_{21})	143,2 (C_{23}); 141,2 (C_{21})
23	7,43 m	143,2	CH	-	120,1 (C_{20})
28	1,32 s	31,8	CH_3	-	205,4 (C_3); 49,5 (C_5); 45,5 (C_4); 21,5 (C_{29})
29	1,40 s	21,5	CH_3	-	205,4 (C_3); 49,5 (C_5); 31,8 (C_{28})
30	1,22 s	18,9	CH_3	-	77,1 (C_7); 69,8 (C_{14}); 43,8 (C_8); 38,3 (C_9)
7^1	-	172,4	C	-	-
7^2	2,20 s	21,1	CH_3	-	172,4 ($C_7{}^1$)

[a] Posição dos Carbonos e Hidrogênios da cadeia lateral.
[b] RMN de ^1H de 300 MHz, $CDCl_3$.
[c] RMN de ^{13}C de 75 MHz, $CDCl_3$.
[d] DEPT 135º e 90º.

5.3 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 10.1.1

O composto semissintético 6α-hidroxidesacetilgedunina(10.1, Figura 6) foi submetido a reação com cloreto de heptanoíla, conforme descrito na metodologia para obtenção do produto 10.1.1. O 10.1.1 tem fórmula do íon aduto $C_{33}H_{45}O_8$ ($[M+H]^+$; *m/z* 569,3116 (valor teórico $[M+H]^+$ 569,3109 Da, Δ = -1,2) por UFLC/HRMS-ESI (ANEXO 25).

Os sinais do espectro de RMN de ^1H (ANEXO 26) são característicos da 6α-hidroxidesacetilge, composto de partida. No espectro de DEPT 135º (ANEXO 28) observa-se sete metilenos [δ_C 34,8; 31,4; 28,8; 26,6; 24,7; 22,5; 15,02 ppm], dois metilenos são C_{11} e C_{12} do esqueleto gedunínico e os cincos sinais do substituinte heptanoila confirmando a adição do grupo heptanoila no esqueleto gedunínico. Os dados de RMN de ^1H, ^{13}C e HSQC (ANEXO 31) foram tabelados (ANEXO 16), comparando com composto de partida.

No espectro de COSY (ANEXO 30) observa-se o sinal de hidrogênio δ_H 5,32 [dd, *J*= 12 e 2 Hz] acoplando com os sinais δ_H 2,73 [d, *J*= 12 Hz] e δ_H 3,45 [d, 2 Hz]. Este acoplamento é característico do $H_{6\beta\text{-axial}}$ com os $H_{5\alpha\text{-axial}}$ e $H_{7\beta\text{-equatoria}}$, respectivamente. O mesmo sinal do RMN de ^1H [δ_H 5,32 ppm, H_6] correlaciona a ^2J no HMBC com a carbonila do éster da heptanoila [δ_C 172,6 ppm], permitido definir que ocorreu monoacilação do hidroxila equatorial. A confirmação da regioquímica dos demais hidrogênios e carbonos foram confirmadas com espectro de COSY (ANEXO 30) e HMBC (ANEXO 32) chegando à estrutura representada na Figura 12, denominada 7α-heptanoildesacetilgedunina.

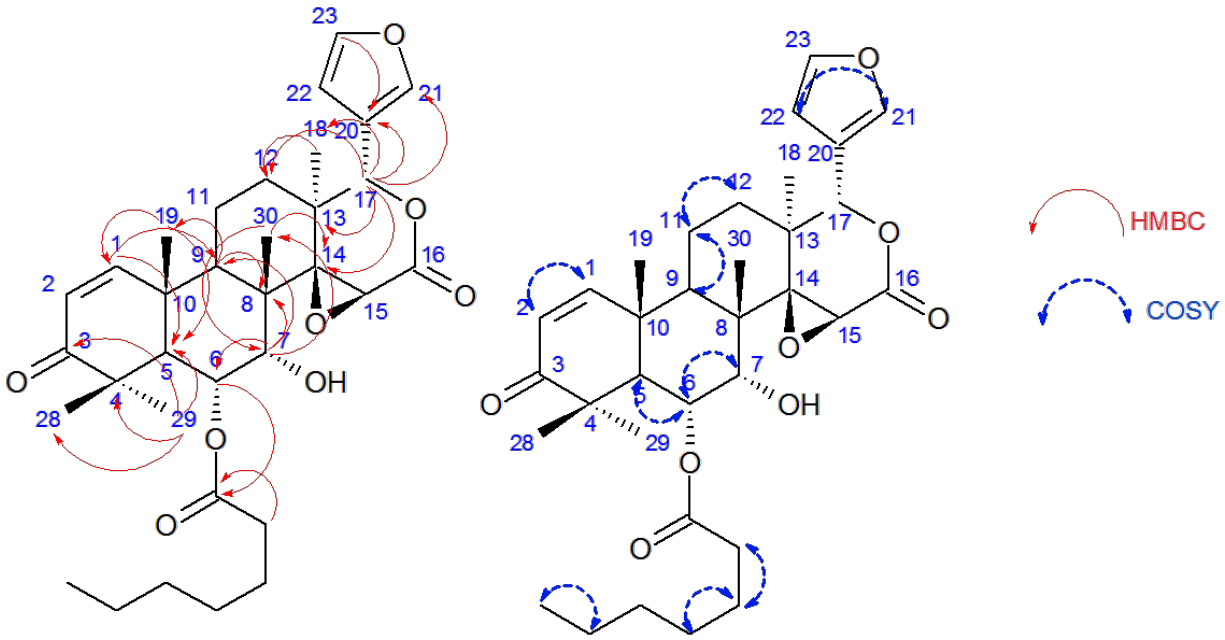


Figura 12. Resumo dos dados dos espectros de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do 7α-heptanoiloxidesacetilgedunina (10.1.1).

5.4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 10.1.2.

O composto semissintético 6α-hidroxidesacetilgedunina(10.1, Figura 6) foi submetido à reação com cloreto de benzoila, conforme descrito na metodologia para obtenção do produto 10.1.2. O 10.1.2 tem fórmula do íon aduto com formula $C_{33}H_{37}O_8$ $[M+H]^+$; *m/z* 561,2500 (valor teórico $[M+H]^+$ 561,2483, Δ = -3) por UFLC/HRMS-ESI (ANEXO 33), consistente com a formação de produto monobenzoilado, também, no espectro de RMN de ^{13}C (ANEXO 35) observa-se o deslocamento químico característicos de carbonos aromáticos [δ_C 133,9; 129,7 e 128,9 ppm], corroborando a formação do produto de benzoilação.

O sinal de RMN de ^{1}H do δ_H 5,66 [*dd*, *J* = 12 e. 2 Hz, H_6], com deslocamento químico característico de H_α do álcool de éster, apresenta correlação com os sinais de δ_H 2,93 [*dd*, *J*=12 Hz, H_5)] e δ_H 3,56 [*d*, 2 Hz, H_7] no COSY (ANEXO 36) e no HMBC com a carbonila do éster [δ_C 168,3].

Os sinais do espectro de RMN de ^{1}H (ANEXO 34), ^{13}C (ANEXO 35) e HSQC (ANEXO 37) foram tabelados (ANEXO 16), determinando as posições dos hidrogênios e carbonos com as correlações no espectro de COSY (ANEXO 36) e HMBC (ANEXO 38)

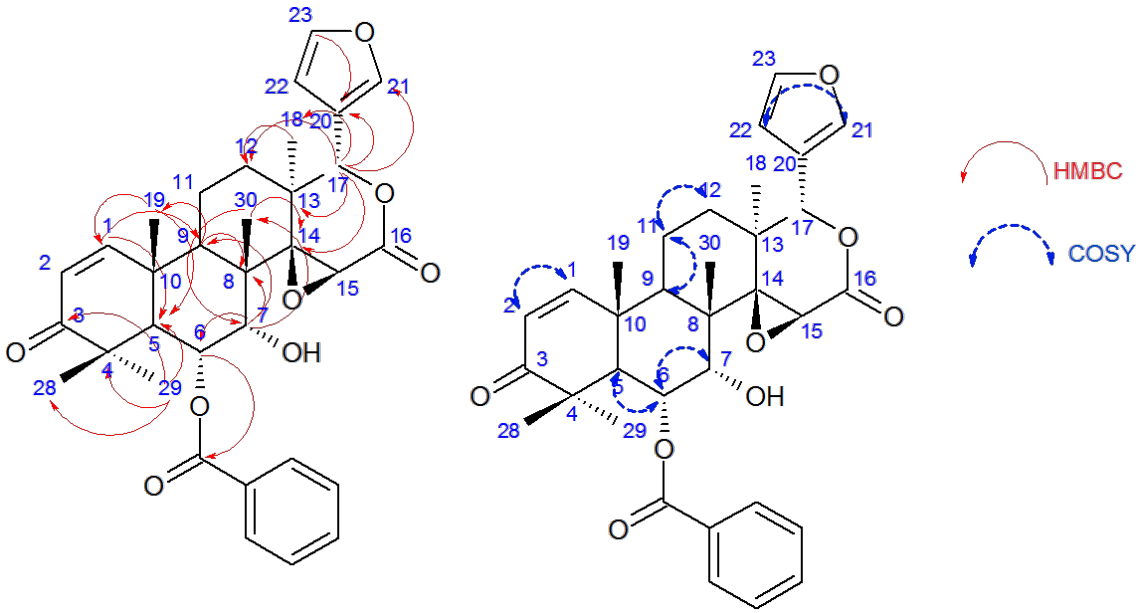


Figura 13. Resumo dos dados dos espectros de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do 7α-benzoiloxidesacetilgedunina (**10.1.2**).

5.5 DETERMINAÇAO ESTRUTURAL DO 10.1.3

O compostos semissintético 6α-hidroxidesacetilgedunina (10.1, Figura 6) foi submetido à reação com cloreto de butanoila conforme descrito na metodologia para obtenção do produto 10.1.3. O 10.1.3 tem fórmula de íon aduto de $C_{30}H_{39}O_8$ $[M+H]^+$; *m/z* 527,2641 (valor teórico $[M+H]^+$ 561,2639, Δ = 00) por UFLC/HRMS-ESI (ANEXO 39), condizendo com o produto monobutanoilado.

O espectro de RMN de ^{1}H (ANEXO 40) foi tabelada (ANEXO 16) e comparados com a substância de partida e mostrou os mesmos sinais de hidrogênio do esqueleto gedunínico, com a diferença do sinal característico do Hα hidrogênio do éster δ_H 5,33 [*dd*, *J*=12,2 Hz, $H_{6\beta}$]. Observou a correlação do sinal δ_H 5,33 no espectro de COSY (ANEXO 41) com os sinais δ_H 2,74 [*d*, *J*=12 Hz, H_5] e δ_H 3,47 [sl, H_7]. As demais correlações do espectro de COSY foram resumidos na Figura 14. Mediante o dado obtido no UFLC/HRMS-ESI, RMN de ^{1}H e COSY foi possível determinar a estrutura 10.1.3 conforme demonstrada na Figura 14 e denominada 6α-butanoiloxildesacetilgedunina.

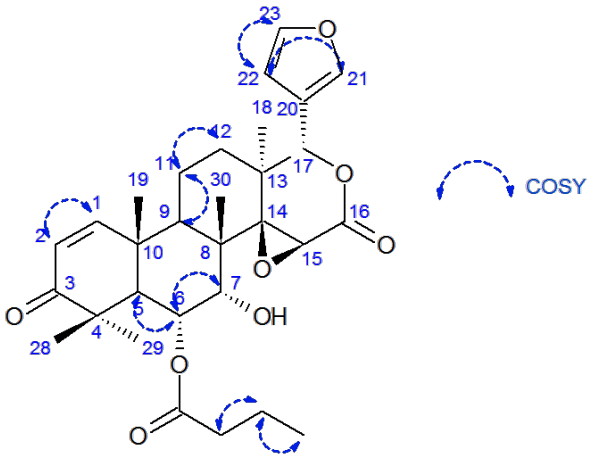


Figura 14. Resumo das correlações do espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do **10.1.3**, denominada 6α-butanoiloxidesacetilgedunina.

5.6 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO **9.1** E **9.2**.

O limonoide 7-desacetil-7-oxogedunina (Figura 15) foi submetido à reação de redução com $NaBH_4$ de conforme descrito na metodologia, obtendo os produtos **9.1**, **9.2** e **9.3**. A estrutura de **9.3** será determinada no próximo tópico. Os **9.1** e **9.2** têm fórmulas de íon adutos $C_{23}H_{33}O_6$ ($[M+H]^+$; *m/z* 441,2275 (valor teórico $[M+H]^+$ 569,441,2272 Da, Δ = -0,7) por UFLC/HRMS-ESI (ANEXO 43, ANEXO 51), condizendo com o par de diastereoisômeros de redução da carbonila diastereotópica.

O limonoide 7-desacetil-7-oxogedunina tem duas carbonilas de cetonas, cetona α,β-insaturada (C-3) e outra sem α,β-insaturação (C-7). A carbonila da cetona α-β-insaturada é estabilizada por efeito mesomérico, tornando a outra cetona mais reativa.

No espectro de RMN de ^{13}C dos semissintéticos **9.1** e **9.2** (ANEXO 45 e ANEXO 53) observam-se o sinal [δ_C 204,6 ppm], característico da cetona α-β-insaturada. No entanto, não é observado o sinal característico da cetona sem α,β-insaturaçao, consistindo com a reatividade dessa última e o sucesso da redução por adição nucleofílica de hidreto.

O espectro de COSY do 9.1 (ANEXO 48) observa-se a correlação do sinal de H_α do grupo álcool [δ_H 3,81, H_7] com os sinais de metileno [δ_H 1,78 e 1,76, H_α e H_β], correlação idêntica foi observada no COSY do **9.2** (ANEXO 56). Os espectros de RMN de ^{1}H (ANEXO 44 e ANEXO 52) do **9.1** e **9.2** apresentam constantes de acoplamentos em δ_H 3,81 [dd, *J*=11 e 5 Hz] consistente com acoplamento diaxial do $H_{7\alpha}$ com o hidrogênio $H_{6\beta}$ e axial-equatorial com o $H_{6\alpha}$ para o produto **9.1** e δ_H 3,58 [dd, *J*=3 e 2 Hz] com os acoplamentos equatorial-axial e equatorial-equatorial para o produto 9.2.

As constantes de acoplamentos indicam o 9.1 como produto semissintético da adição de hidretopela face Re, enquanto, o 9.2 pela face Si (Figura 15).

Todos os outros sinais de RMN de ^{1}H, ^{13}C e HSQC (ANEXO 49 e ANEXO 56) foram tabelados(ANEXO 42), comparados com o limonoides de partida e utilizando os espectros de COSY (ANEXO 48 e ANEXO 56) e HMBC (ANEXO 50 e ANEXO 58) foi possível confirmar a estrutura dos produtos semissintéticos **9.1** e **9.2**, sendo resumidos da Figura 16. Os produtos foram denominados de 7-epi-desacetilgedunina (**9.1**) e 7α-desacetilgedunina (**9.2**) (Figura 16).

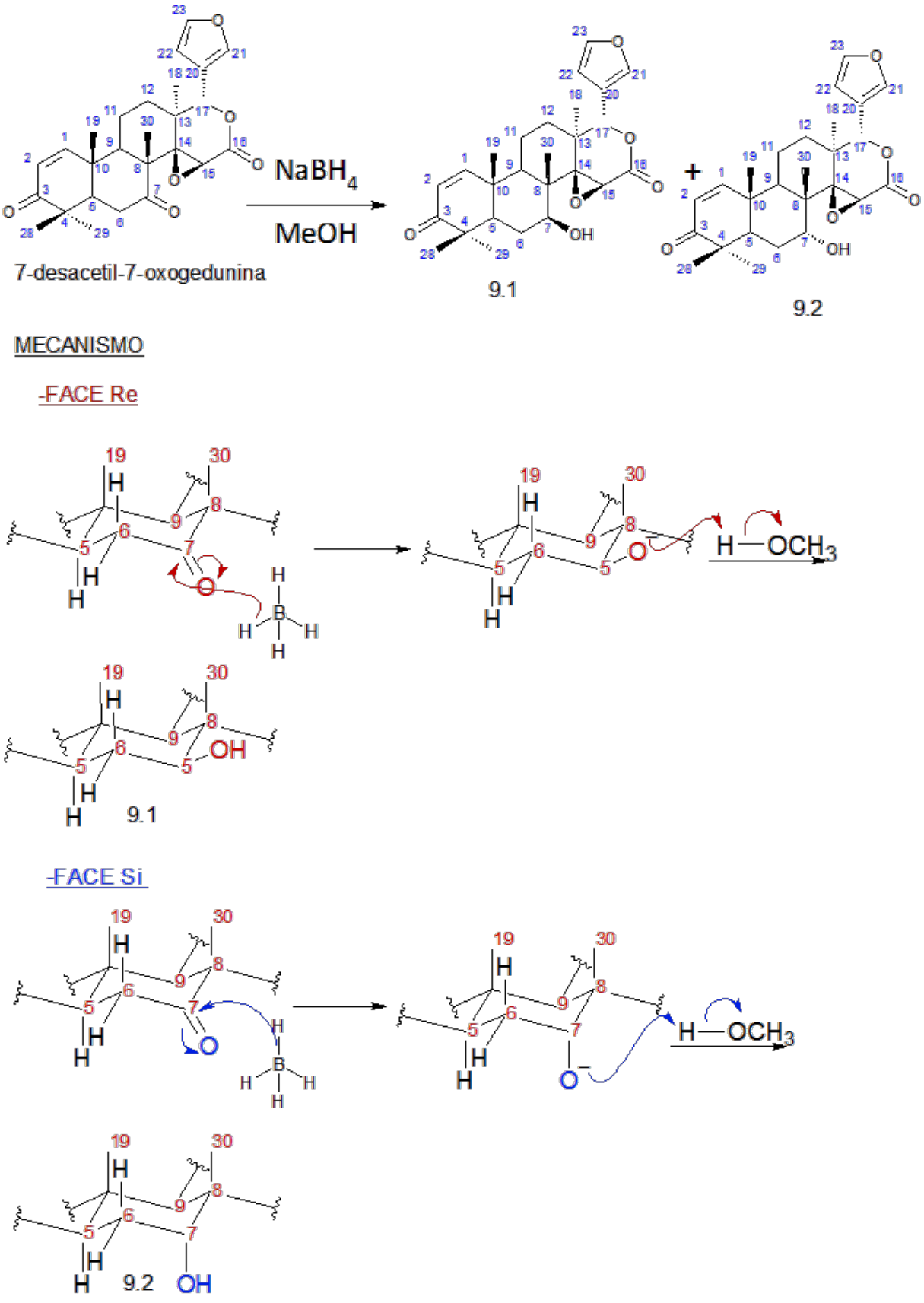


Figura 15. Mecanismos da reação de adição nucleofílica do grupo cetona mais reativo do 7-desacetil-7-oxogedunina com $NaBH_4$.

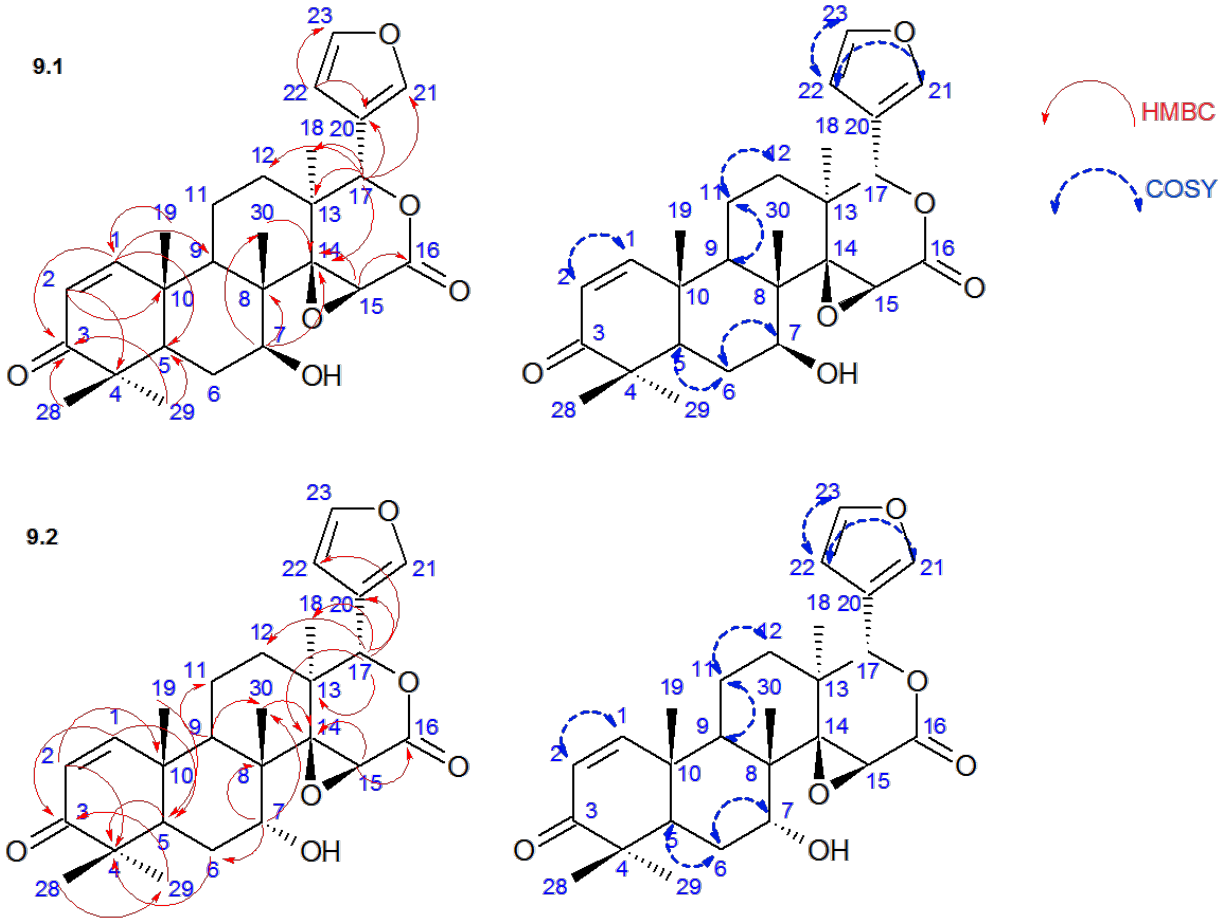


Figura 16. Resumo das correlações de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produtos semissintéticos 7-epi-desacetilgedunina(**9.1**) e 7α-desacetilgededunina (**9.2**)

5.7 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DO 9.3.

O limonoide 7-desacetil-7-oxogedunina (Figura 15) foi submetido a reação de adição nucleofílica com $NaBH_4$ conforme descrito na metodologia, e além dos produtos **9.1** e **9.2** formou o produto **9.3**. As análises espectroscópicas do **9.3** foram realizadas em piridina-D_5 por causa da sua baixa solubilidade em clorofórmio.

O **9.3** é um sólido branco com fórmula de íon aduto $C_{26}H_{37}O_6$ ($[M+H]^+$; m/z 445,2613 (valor teórico $[M+H]^+$ 445,2585, Δ = -6,5) por UFLC/HRMS-ESI (ANEXO 59), evidenciando a redução das cetonas e de olefinas do limonoide de partida, o que pode ser comprovando no espectro de RMN de ^{1}H (ANEXO 60). Ele não apresenta os sinais característicos dos hidrogênios α,β-insaturados de cetona e no RMN de ^{13}C (ANEXO 61) não indica o sinal de cetona α,β-insaturada, corroborando a proposta da fórmula molecular.

Os dados de RMN de ^{1}H, ^{13}C e HSQC (ANEXO 65) foram tabelados (ANEXO 42) e as posições dos hidrogênio foram determinados pelas correlações nos espectros bidimensionais de COSY^{1}H-^{1}H (ANEXO 64) e HMBC (ANEXO 66), resumidos na Figura 17.

O espectro de RMN de ^{1}H (ANEXO 60) são observados os sinais δ_H 3,94 [*dd*, *J*=11 Hz ($H_{6\beta}$) e 4 Hz ($H_{6\alpha}$), $H_{7\alpha}$] e δ_H 3,49 [*t*, *J*= 8 Hz ($H_{2\alpha}$ e $H_{2\beta}$), $H_{3\beta}$] sugerindo a estereoquímica relativa para os C_3 e C_7 e a fórmula estrutural do **9.3** conforme representados na (Figura 17) e denominado de 1,2-dihidro-3α,7β-gedundiol.

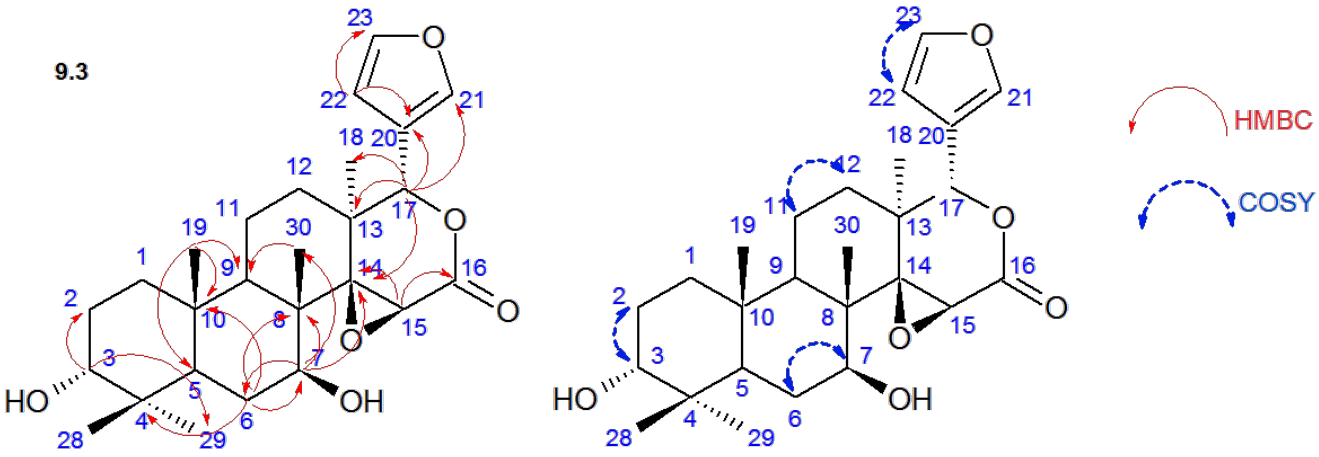


Figura 17. Resumo das correlações dos espectros deCOSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produto semissintético 1,2-dihidro-3α,7β-gedundiol (**9.3**).

5.8 ACETILAÇÃO, BUTIRILAÇÃO E PENTANOILAÇÃO DO 7-EPI-DESACETILGEDUNINA (9.1)

Para obtenção dos produtos de acilação da 7-epi-desacetilgeduninacom anidrido acético, anidrido butírico ou cloreto de pentanoila seguiu a metodologia descrita nos métodos. As estruturas dos produtos de acetilação (9.1.1), butirilação (9.1.2) e pentanoilação (**9.1.3**) foram determinados por dados espectrométricos.

5.8.1 Determinação estrutural do produto de acetilação (9.1.1).

O produto 9.1.1 foi analisado por UFLC/HRMS-ESI e seu espectro de massa apresentou um pico do íon aduto $[M+H]^+$ *m/z* 483,2406 e tempo de retenção t_r= 3,2 min (ANEXO 68), condizendo com o produto acetilado (valor teórico calculado para $C_{28}H_{34}O_7$ $[M+H]^+$ *m/z* 483,2377 Da, Δ=-6,0 ppm).

A confirmação da estrutura do produto foi realizada através dos espectros de ressonância magnética nuclear uni e bidimensionais (ANEXO 69 -ANEXO 75). Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (Figura 18) observa-se o singleto em δ_H 2,11 ppm característico de metila de grupo acetila, confirmando a acetilação da substância do 7-epi-desacetilgedunina (**9.3**)

Em δ_H 4,96 (*dd*, *J*= 10 e 4 Hz) (Figura 18) observa-se um duplo dupleto referente ao H_7. As constantes observadas foram de consistente com acoplamento trans diaxial de ângulo diedro 180º dos vicinais H_6 e H_7. Esse dado dá base para inferir a conformação relativa α-axial do H_7 e confirma que a reação não alterou a estereoquímica do esqueleto gedunínico.

Os dados de RMN de ^{1}H (ANEXO 69), ^{13}C (ANEXO 70) e HSQC (ANEXO 74) foram tabelados (ANEXO 67) e comparados com os dados da substância de partida. As correlações no espectro de COSY ^{1}H-^{1}H (ANEXO 73) e HMBC (ANEXO 75) foram resumidas na Figura 19 consistindo com a estrutura proposta na Figura 19 sendo denominado 7-epi-gedunina.

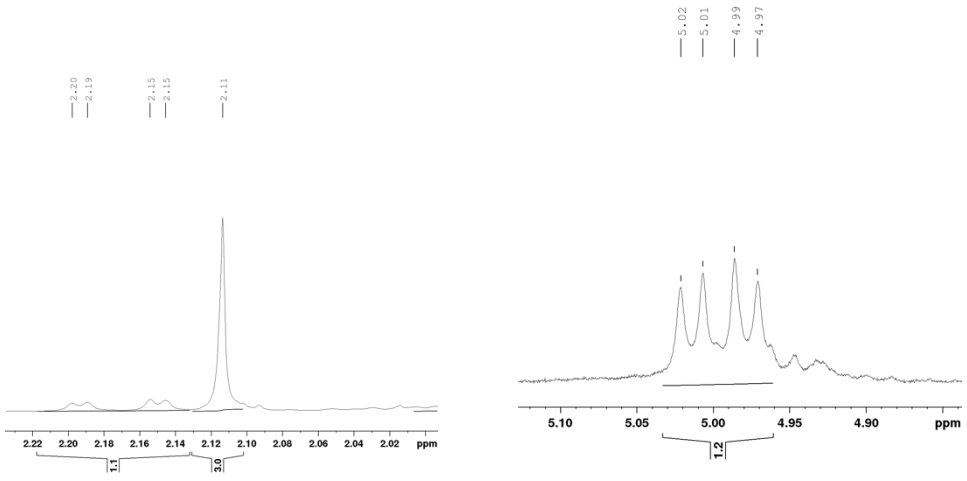


Figura 18. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (300 MHz) em $CDCl_3$ entre δ_H 2,08 e 2,22 ppm, δ_H 4,90 e 5,10 ppm do produto **9.1.1**.

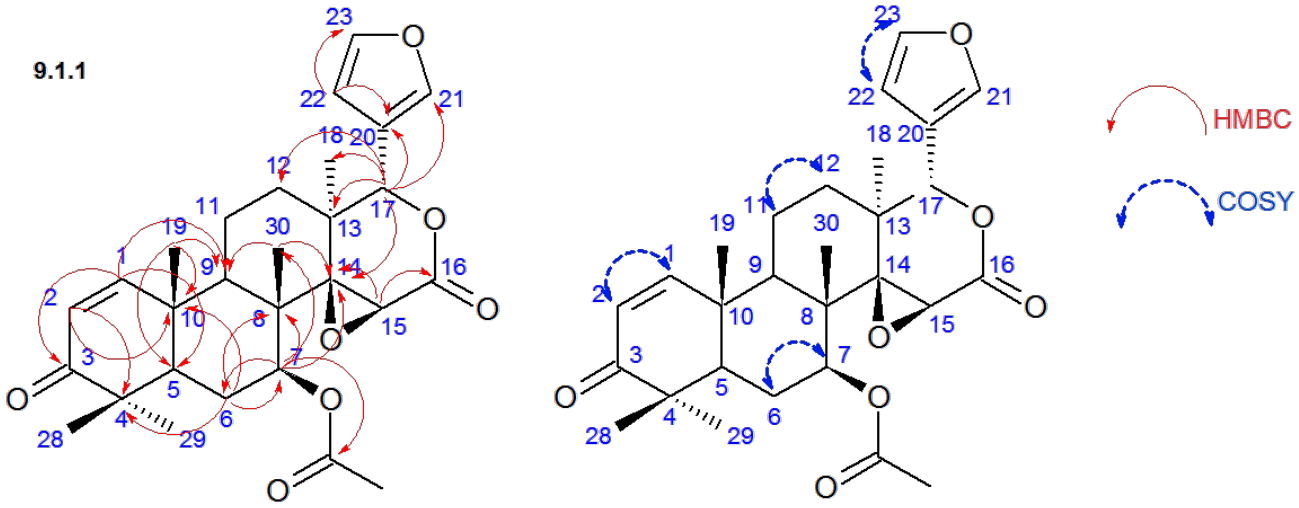


Figura 19. Resumo das correlações dos espectros de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do produto semissintético 7-epi-gedunina (**9.1.1**).

5.8.2 Determinação estrutural do produto de butirilação (9.1.2)

O produto **9.1.2** foi analisado por UFLC/HRMS-ESI e observou-se no espectro de massa o pico de íon aduto $[M+H]^+$ *m/z* 511,2704 e tempo de retenção t_r= 6,5 min (ANEXO 76), condizendo com o produto butirilado(valor teórico calculado para $C_{30}H_{39}O_7$ $[M+H]^+$ *m/z* 511,2690 Da, Δ=-2,7 ppm).

A confirmação da estrutura do produto foi realizada através dos espectros de ressonância magnética nuclear uni e bidimensionais (ANEXO 77-ANEXO 83). A ampliação do espectro de DEPT 135º (Figura 20) observa-se cinco sinais de metilenos [δ_C 36,6; 28,9; 25,5; 18,2 e 16,6], dois a mais que a substância de partida **9.1** e a ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (Figura 21) observa-se um tripleto de metila [δ_H 1,0 ppm] característico de metila terminal de cadeia alifática. Os dados de DEPT 135º e RMN de ^{1}H observados comprovam a adição do grupo butirila na substância de partida.

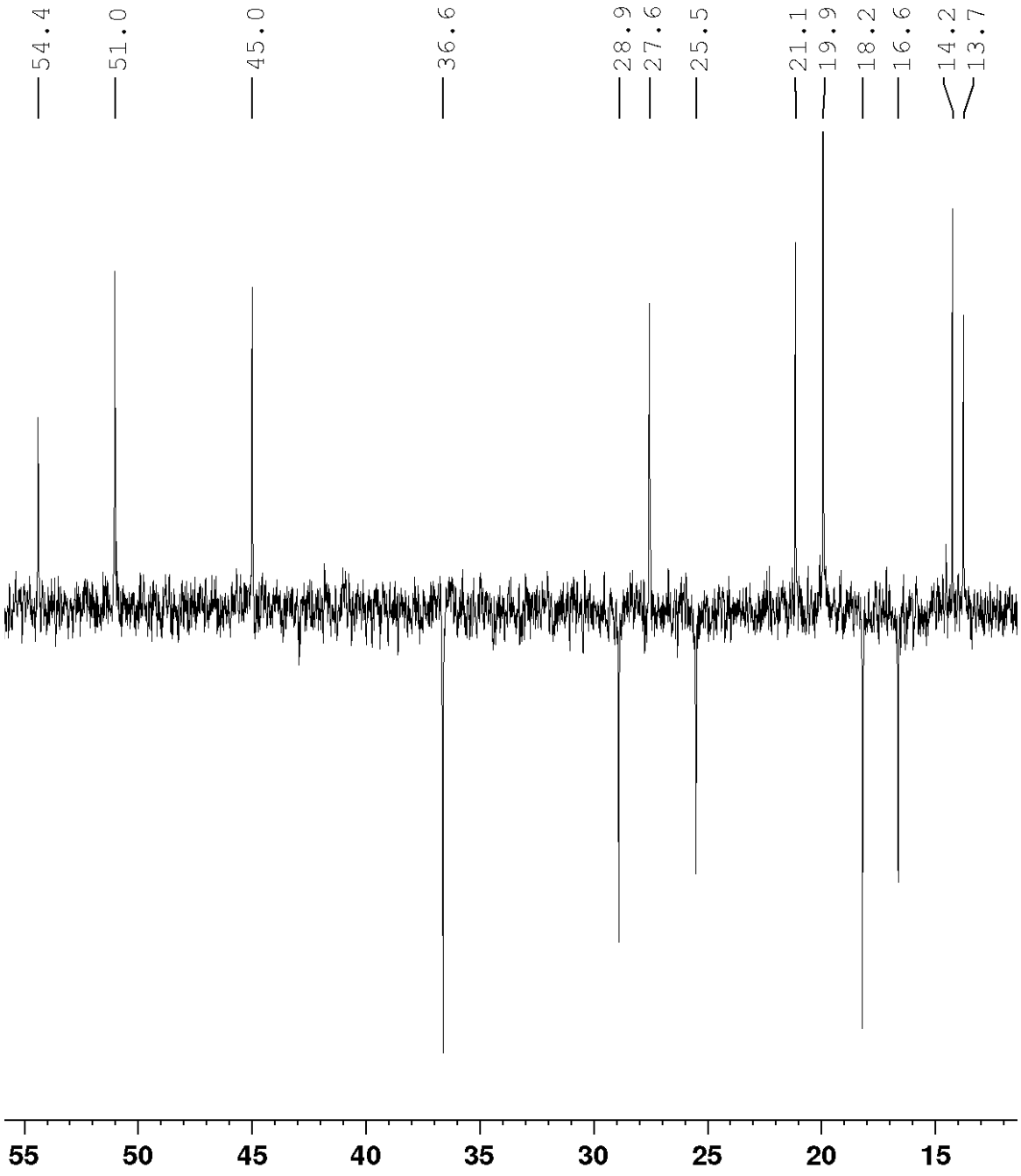


Figura 20. Ampliação do espectro de DEPT 135º (75 MHz) em $CDCl_3$ entre 10 e 60 ppm do produto **9.1.2.**

No espectro de RMN de ^1H (Figura 22), sinal do H_7 tem as mesmas características do hidrogênio H_7 (axial) observadas na substância de partida **9.1**, a ssim confirmando a estereoquímica relativa do produto **9.1.2**.

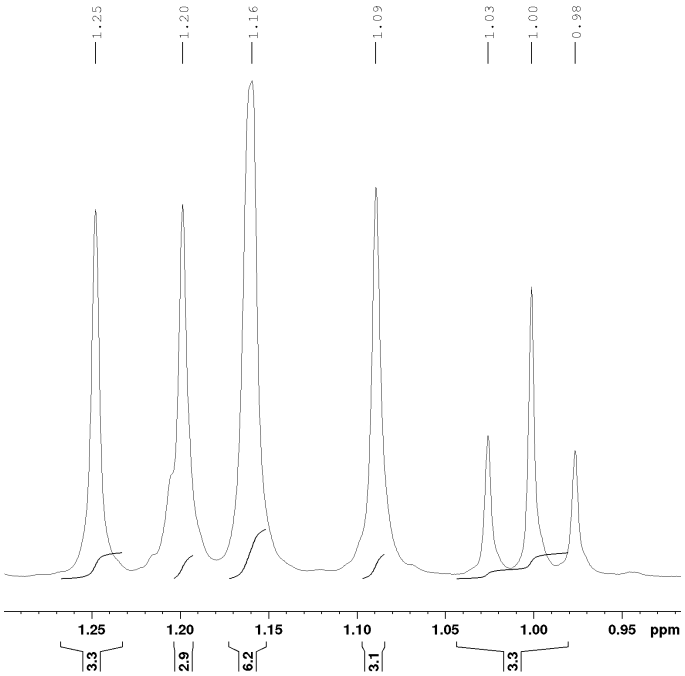


Figura 21. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (300 MHz) em $CDCl_3$ entre 0,90 e 1,25 ppm do produto 9.1.2.

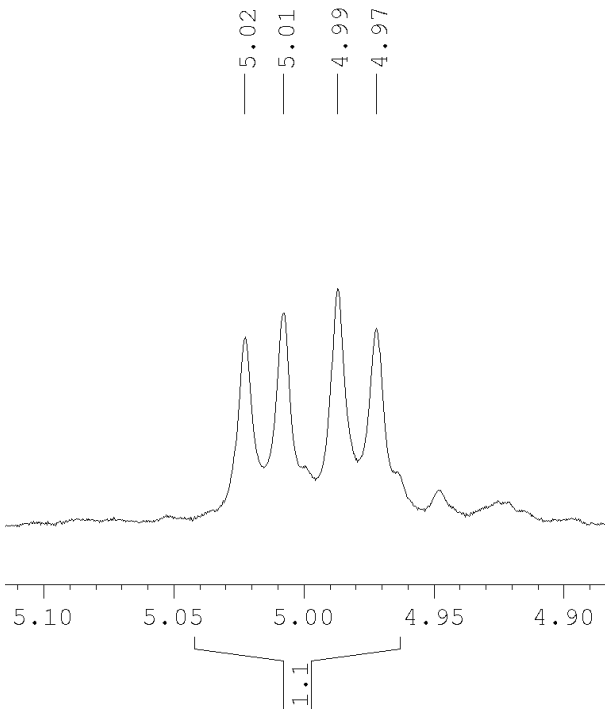


Figura 22. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (300 MHz) em $CDCl_3$ entre 4,90 e 5,20 ppm do produto 9.1.2.

Os dados de RMN de ^{1}H (ANEXO 77), ^{13}C (ANEXO 78) e HSQC (ANEXO 82) foram tabelados (ANEXO 67) e comparados com os dados do material de partida. As correlações no espectro de COSY ^{1}H-^{1}H (ANEXO 81) e HMBC (ANEXO 83) foram usadas para confirmar a estrutura do 7β-butanoiloxigeduninae seus dados foram resumidos na Figura 23 .

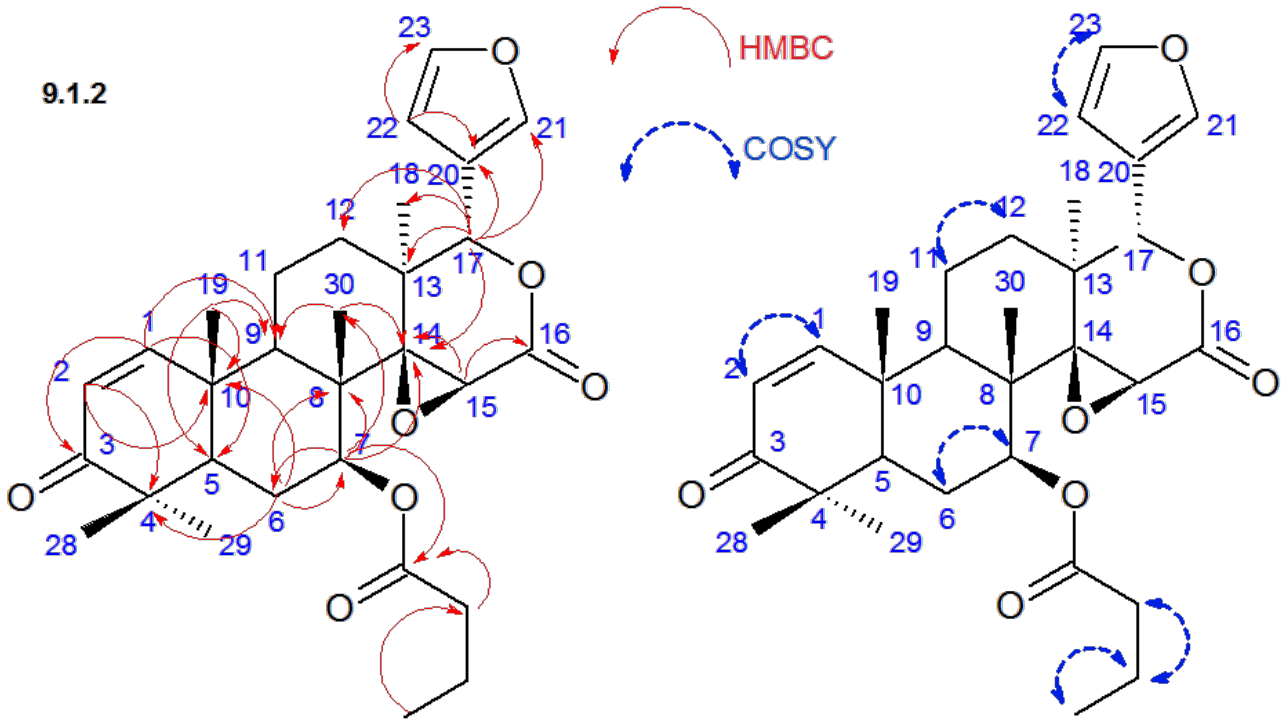


Figura 23. Resumo das correlações dos espectros de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produto semissintético 7β-butanoiloxigedunina(9.1.2).

5.8.3 Determinação estrutural do produto de pentanoilação (9.1.3)

O produto **9.1.3** apresentou por UFLC/HRMS-ESI um espectro de massa com pico do íon aduto $[M+H]^{+}$ de *m/z* 525,2842 e tempo de retenção t_r= 7,3 min (ANEXO 84), condizendo com o produto pentanoilado (valor teórico calculado para $C_{31}H_{41}O_7$ $[M+H]^{+}$ *m/z* 525,2847 Da, Δ= 0,9 ppm).

A confirmação da estrutura do produto foi realizada através dos espectros de ressonância magnética nuclear uni e bidimensionais (ANEXO 85-ANEXO 91). A ampliação do espectro de DEPT 135º (Figura 24) observa-se seis sinais de metilenos [δ_C 34,4; 28,9; 27,7; 26,7; 25,5 e 16,6 pmm], três a mais que a substância de partida **9.1.**

Os dados de DEPT 135º corroboram com a adição do grupo pentanoila na substância de partida.

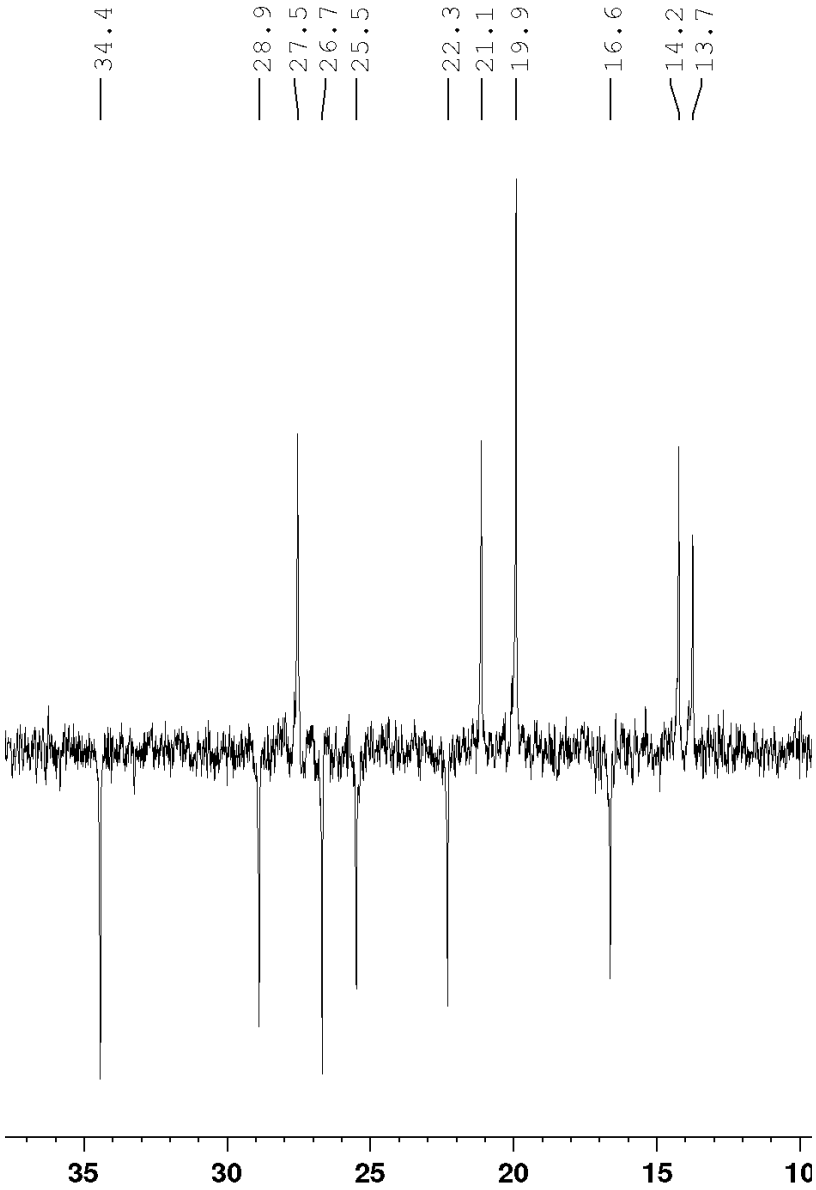


Figura 24. Ampliação do espectro de DEPT 135º (75 MHz) em $CDCl_3$ entre 10 e 60 ppm do produto 9.1.3.

Os dados de RMN de ^{1}H (ANEXO 85), ^{13}C (ANEXO 86) e HSQC (ANEXO 90) foram tabelados (ANEXO 67) e comparados com os dados da substância de partida. As correlações no espectro de COSY ^{1}H-^{1}H (ANEXO 81) e HMBC (ANEXO 83) foram usadas para confirmar a estrutura do 7β-pentanoiloxigeduninae seus dados foram resumidos na Figura 25.

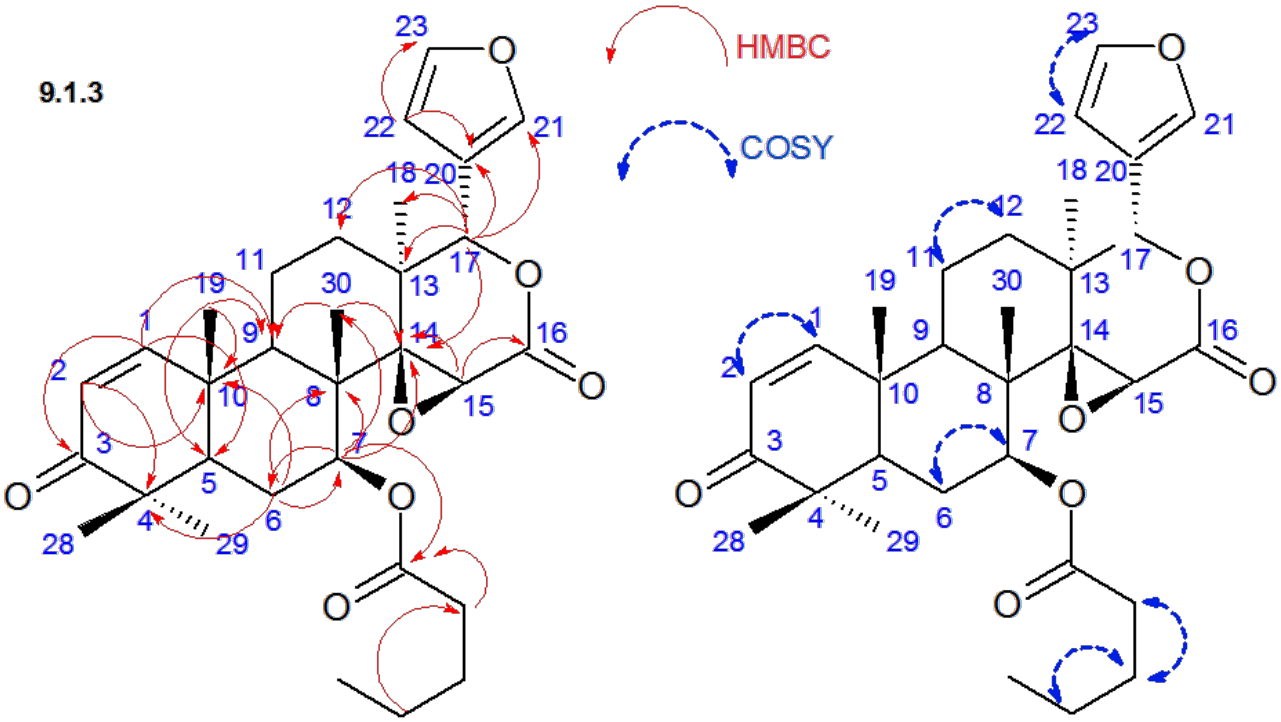


Figura 25. Resumo das correlações do espectro deCOSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produtos semissintéticos 7β-pentanoiloxigedunina(9.1.3).

5.9 ACETILAÇÃO, BUTIRILAÇÃO E HEPTANOILAÇÃO DO 7α-desacetilgedunina (9.2)

Para obtenção dos produtos da acilação da 7α-desacetilgedunina com anidrido acético, anidrido butírico ou cloreto de heptanoila seguiu a metodologia descrita nos métodos. As estruturas dos produtos de acetilação (**9.2.1**), butirilação (**9.2.2**) e heptanoilação (**9.2.3**) foram determinados por dados espectrométricos.

O sinal de hidrogênio H_7 dos espectros de RMN de ^{1}H do **9.2.1**, **9.2.2** e **9.2.3** apresentam as mesmas multiplicidades da substância de partida, **9.2**, conforme mostrado nas Figura 26, Figura 27 e Figura 28, respectivamente. Os *J* de acoplamentos pequenos são característicos de interações vicinais de hidrogênio equatorial-axial e equatorial-equatorial. Dessa forma as substituições não mudaram a estereoquímica da substância de partida, mantendo os substituintes na configuração relativa α e conformação axial.

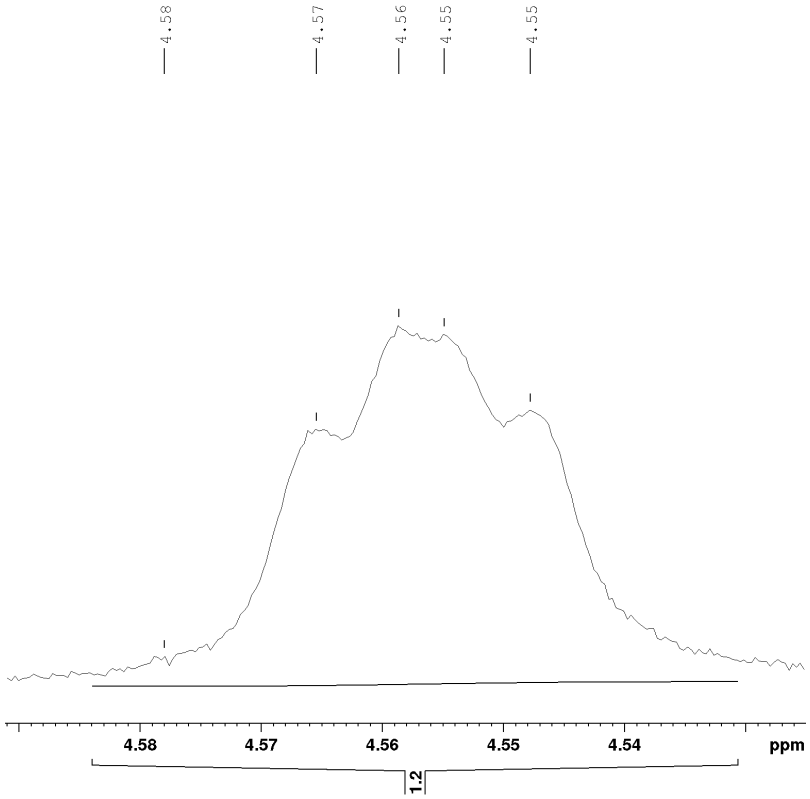


Figura 26. Ampliação do sinal do hidrogênio H_7 do espectro de RMN de ^1H do 9.2.1.

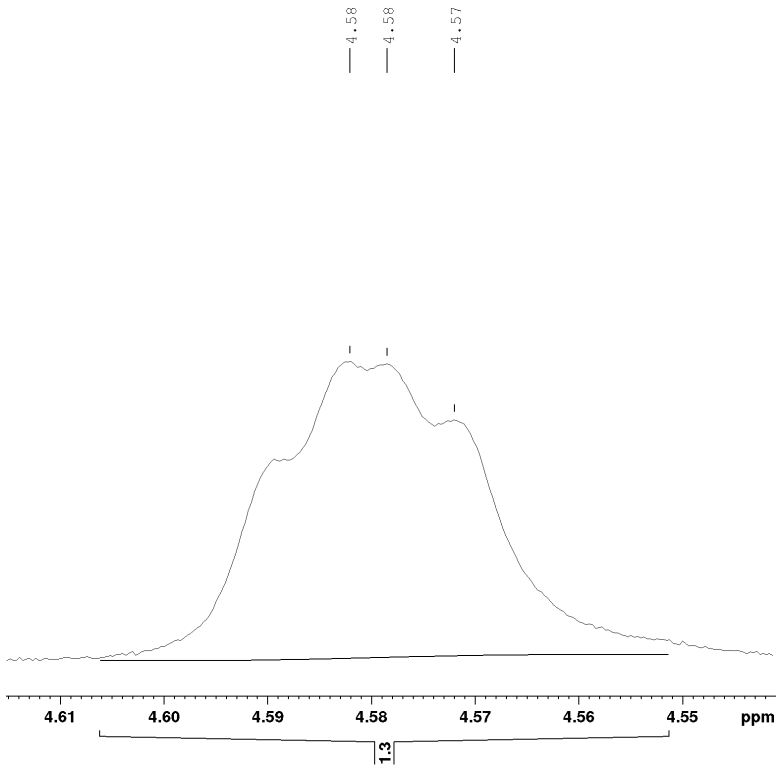


Figura 27. Ampliação do sinal do Hidrogênio H_7 do espectro de RMN de ^1H do 9.2.2.

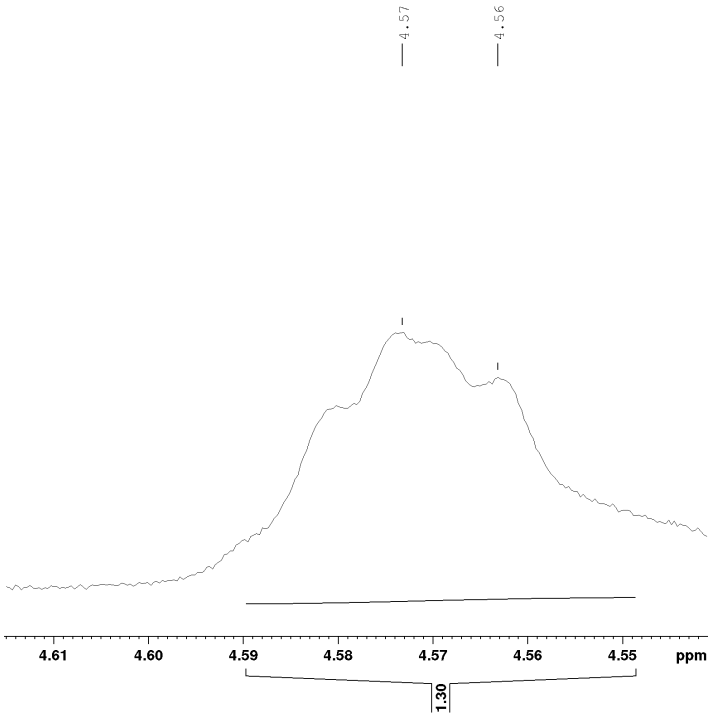


Figura 28. Ampliação do sinal do Hidrogênio H_7 do espectro de RMN de ^1H do 9.2.3.

5.9.1 Determinação estrutural do produto de acetilação (9.2.1).

O produto **9.2.1** apresentou por UFLC/HRMS-ESI espectro de massa com pico de íon aduto $[M+H]^+$ *m/z* 483,2391 Da e tempo de retenção t_r= 3,2 min (ANEXO 93), condizendo com o produto acetilado (valor teórico calculado para $C_{28}H_{34}O_7$ $[M+H]^+$ *m/z* 483,2377 Da, Δ=-6 ppm).

A confirmação da estrutura do produto foi realizada através dos espectros de ressonância magnética nuclear uni e bidimensionais (ANEXO 94-ANEXO 100). A ampliação do espectro de RMN de ^1H (Figura 29), observa-se um singleto em δ_H 2,11 característico de metila de grupo acetila, confirmando a acetilação da substância de partida.

Os dados de RMN de ^1H (ANEXO 94), ^{13}C (ANEXO 95) e HSQC (ANEXO 99) foram tabelados (ANEXO 92) e comparados com os dados da substância de partida. As correlações no espectro de COSY ^1H-^1H (ANEXO 73) e HMBC (ANEXO 75) foram resumidos na Figura 30, consistindo com a substância 7α-desacetilgedunina (9.2) acilada, denominada de gedunina.

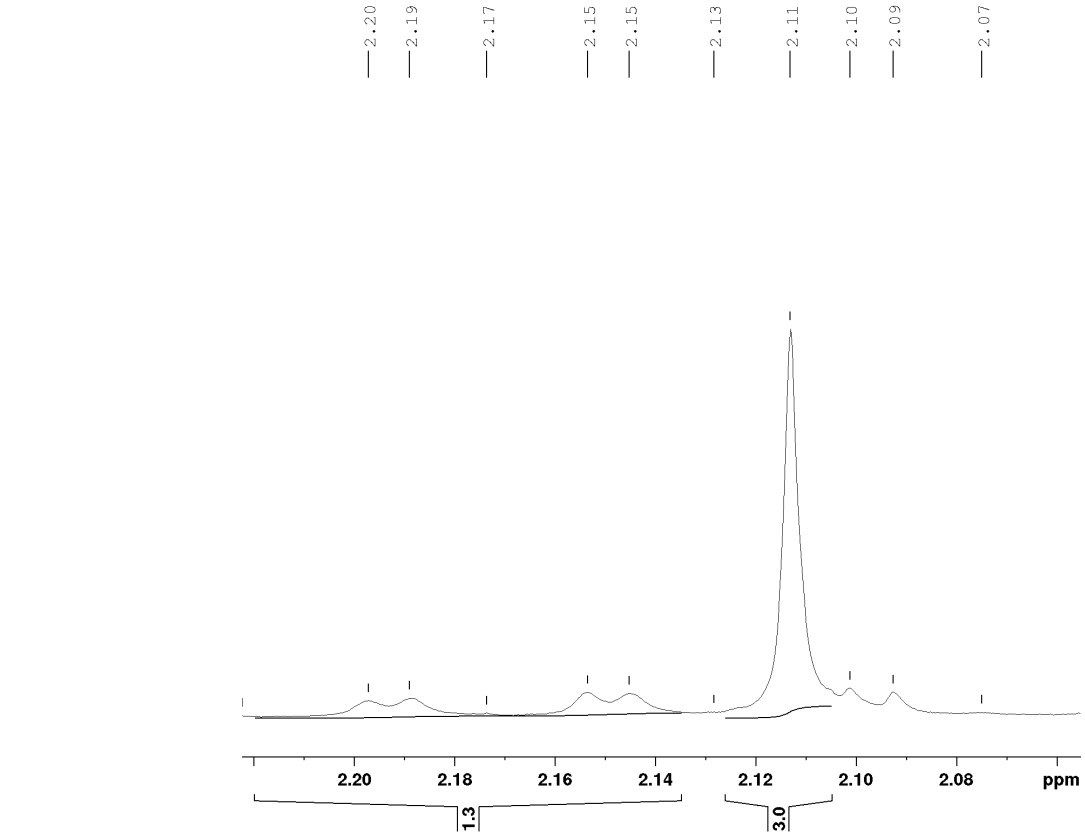


Figura 29. Ampliação do espectro de RMN de ^{1}H (300 MHz) em $CDCl_3$ entre δ_H 2,08 e 2,22 do produto 9.2.1.

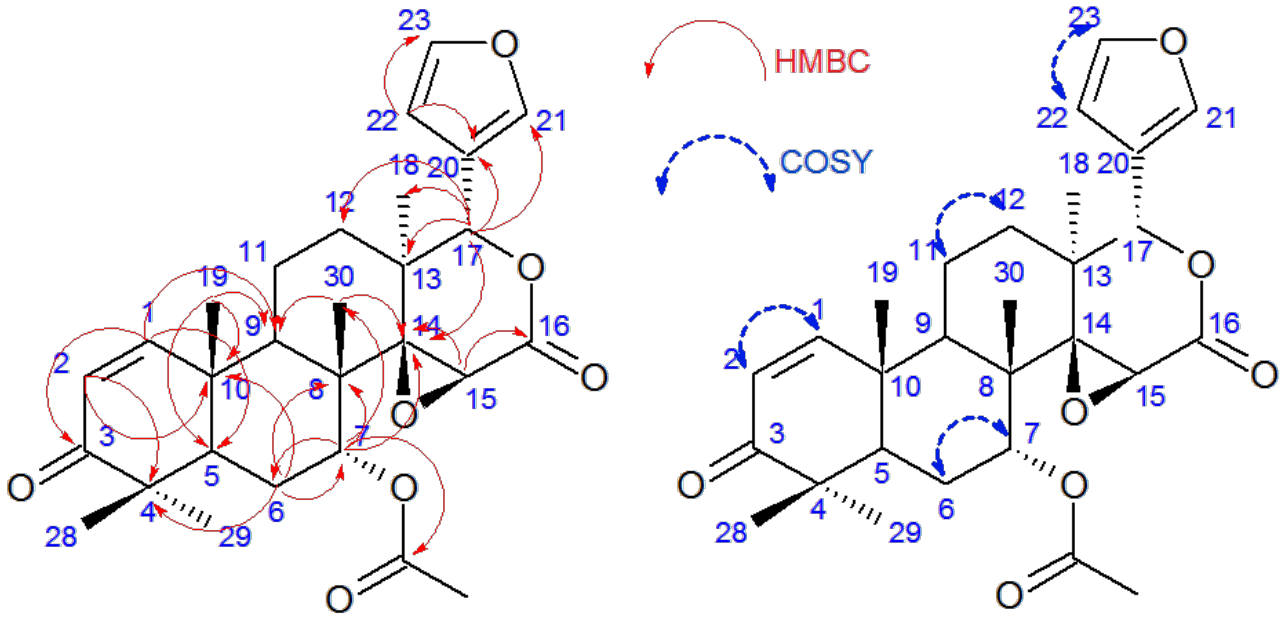


Figura 30. Resumo das correlações do espectro de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do produto semissintético (**9.2.1**).

5.9.2 Determinação estrutural do produto de acetilação(9.2.2)

O produto 9.2.2 foi analisado por UFLC/HRMS-ESI e no espectro de massa observou-se um pico de íon aduto $[M+H]^+$ *m/z* 511,2684 e tempo de retenção t_r= 6,0 min (ANEXO 101), condizendo com o produto butirilado (valor teórico calculado para $C_{30}H_{39}O_7$ $[M+H]^+$ *m/z* 511,2690 Da, Δ=1,2 ppm).

A confirmação da estrutura do produto foi realizada através dos espectros de ressonância magnética nuclear uni e bidimensionais (ANEXO 102-ANEXO 108). Na ampliação do espectro de DEPT 135º (Figura 31) observam-se cinco sinais de metileno [δ_C 36,4; 25,9; 23,3 e 15,0], dois a mais que a substância de partida, corroborando com o espectro de massa na adição de agrupamentos butirila no material de partida.

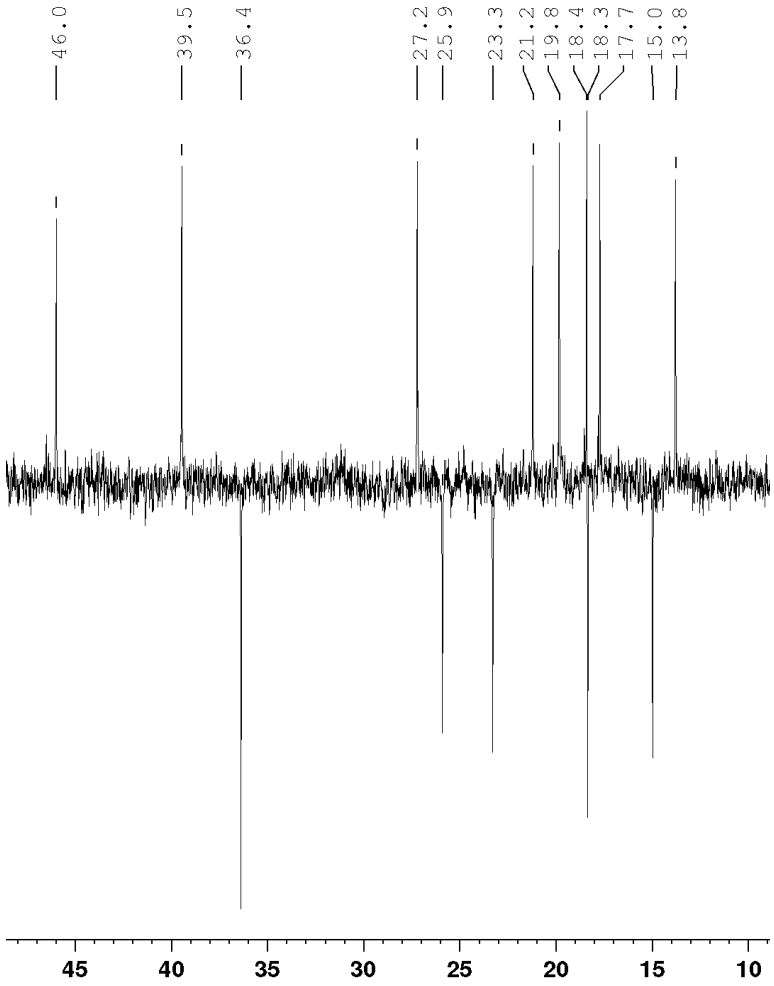


Figura 31. Ampliação do espectro de DEPT 135º (75 MHz) (ANEXO 104) em $CDCl_3$ entre 0 e 50 ppm do produto **9.2.2.**

Os dados de RMN de ^{1}H (ANEXO 102), ^{13}C (ANEXO 103) e HSQC (ANEXO 107) foram tabelados (ANEXO 92) e comparados com os dados da substância de partida. As correlações no espectro de COSY ^{1}H-^{1}H (ANEXO 106) e HMBC (ANEXO 108) foram usados para confirmar a estrutura do 7α-butanoiloxigedunina e seus dados foram resumidos na

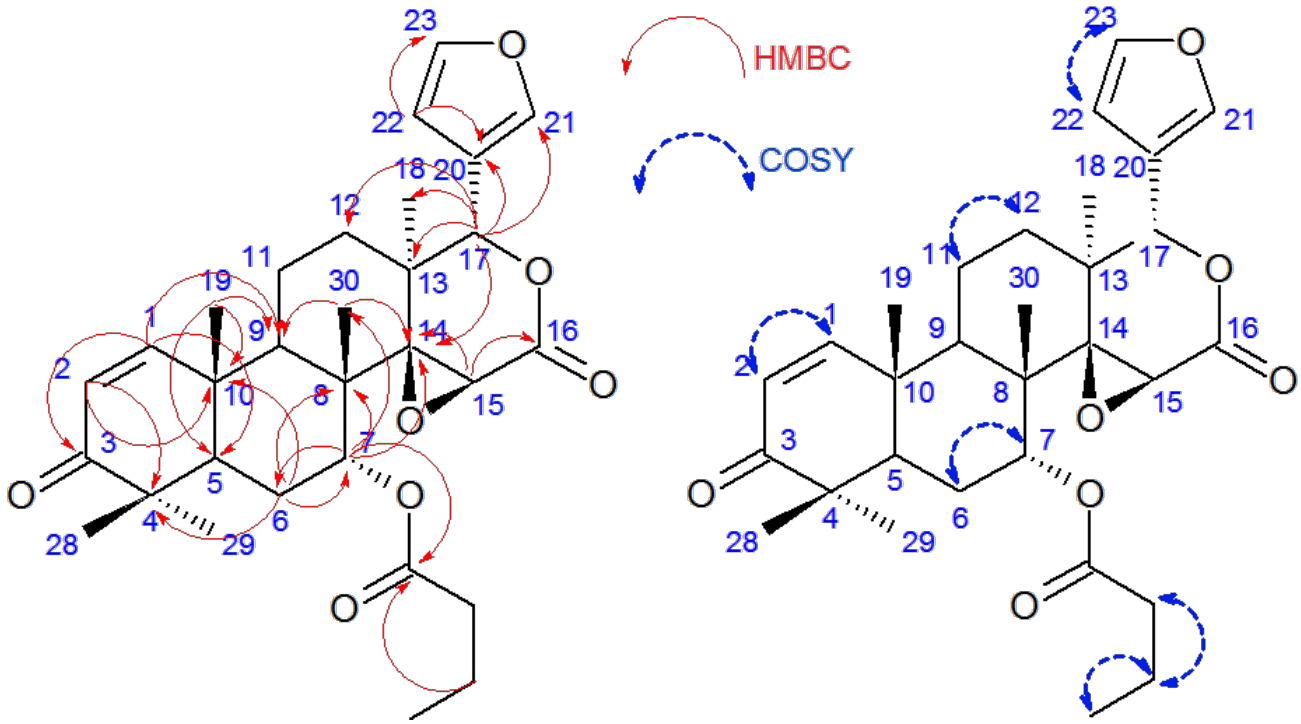


Figura 32. Resumo das correlações do espectro de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC do produto semissintético 7α-butanoiloxigedunina (9.2.2).

5.9.3 Determinação estrutural do produto de pentanoilação (9.2.3).

O produto 9.2.1 apresentou por UFLC/HRMS-ESI espectro de massa com pico de íon aduto $[M+H]^{+}$ *m/z* 525,2874 Da e tempo de retenção t_r= 6,7 min (ANEXO 109), condizendo com o produto heptanoilado (valor teórico calculado para $C_{31}H_{41}O_7$ $[M+H]^{+}$ *m/z* 525,2847 Da, Δ=- 5,2 ppm).

A confirmação da estrutura do produto foi realizada através dos espectros de ressonância magnética nuclear uni e bidimensionais (ANEXO 110-ANEXO 116). A ampliação do espectro de DEPT 135º (Figura 33) observa-se seis sinais de metilenos [δ_C 34,2; 26,9; 25,9; 23,3, 22,3 e 15,0 pmm], três a mais que a substância de partida 9.2. Os dados de DEPT 135º corroboram com a adição do grupo pentanoila na substância de partida.

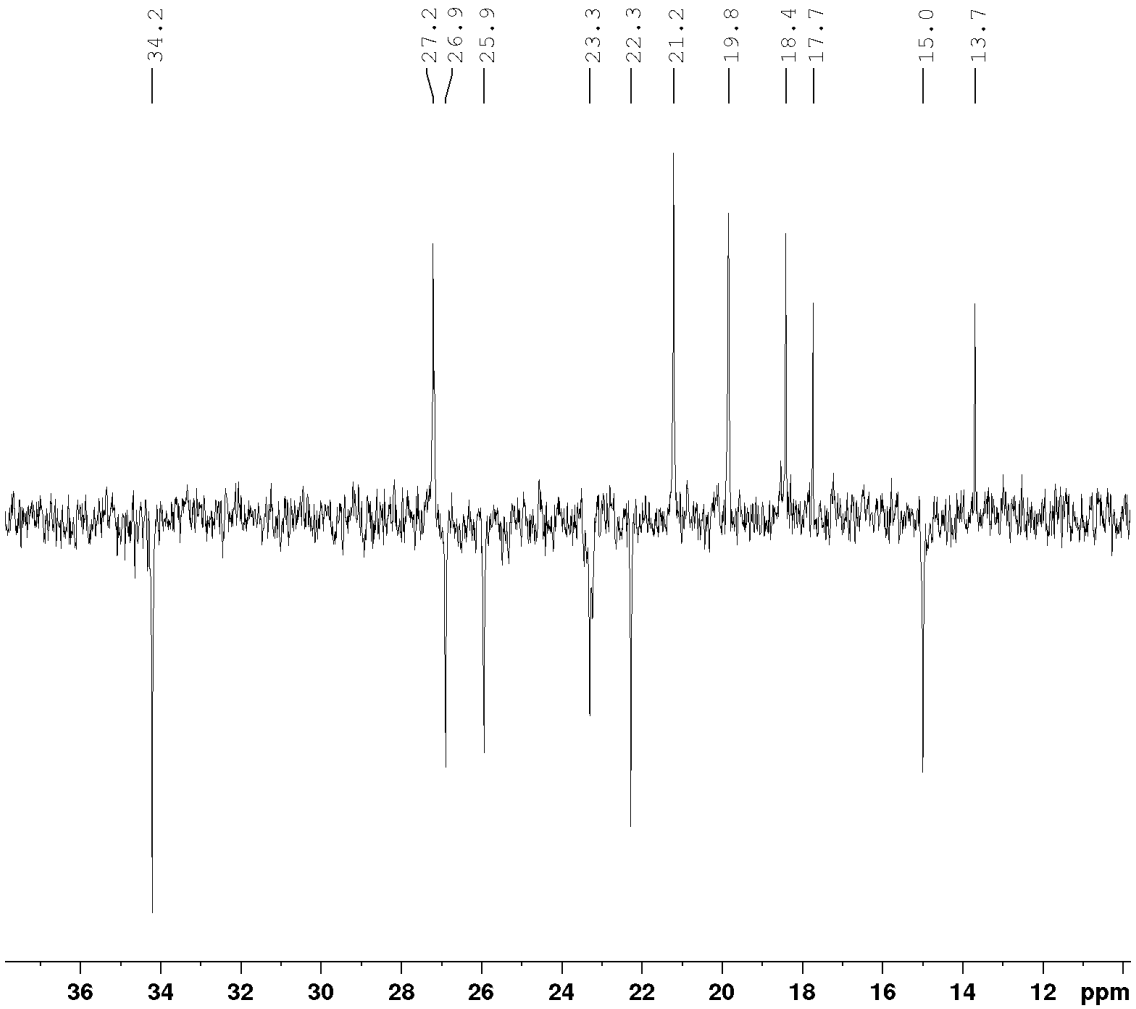


Figura 33. Ampliação do espectro de DEPT 135º (75 MHz, ANEXO 112) em $CDCl_3$ entre 12 e 36 ppm do produto 9.2.3.

Os dados de RMN de ^{1}H (ANEXO 110), ^{13}C (ANEXO 111) e HSQC (ANEXO 115) foram tabelados (ANEXO 92) e comparados com os dados da substância de partida. As correlações no espectro de COSY ^{1}H-^{1}H (ANEXO 114) e HMBC (ANEXO 116) foram usados para confirmar a estrutura do 7α-pentanoilgedunina e seus dados foram resumidos na Figura 34.

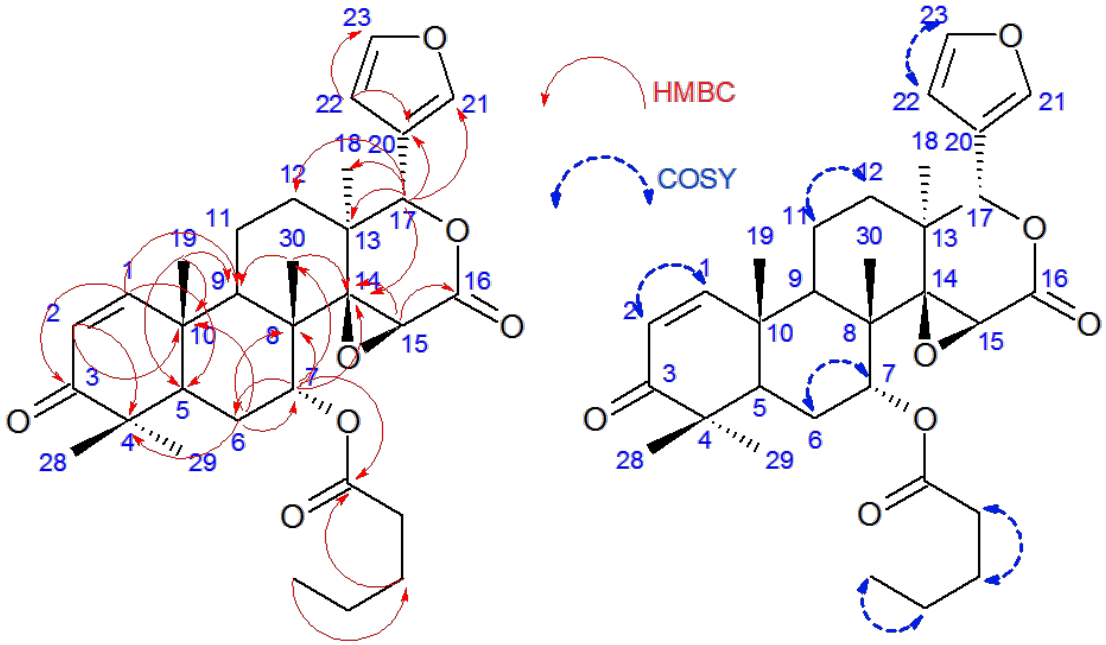
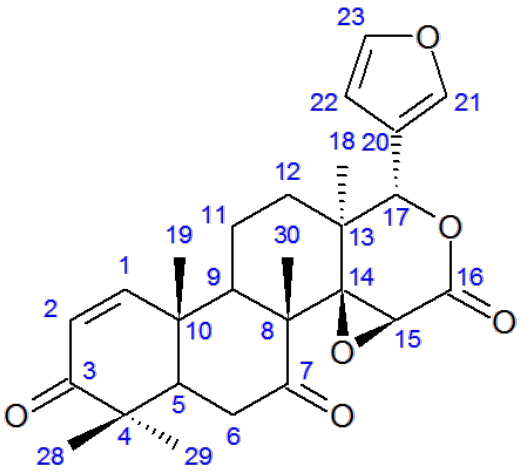


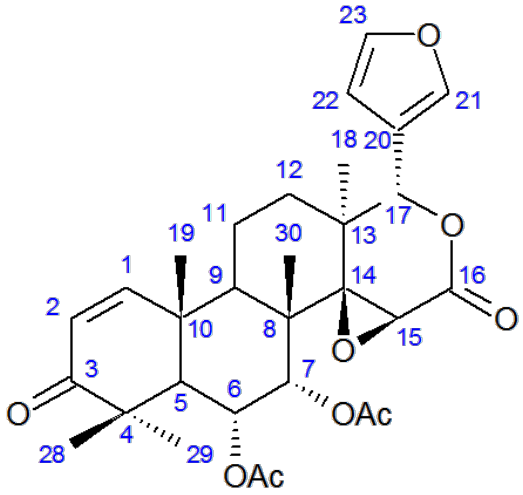
Figura 34. Resumo das orrelações do espectro de COSY ^{1}H-^{1}H e HMBC dos produtos semissintéticos 7α-pentanoilgedunina (9.2.3).

5.10 ATIVIDADE ANTIMALÁRICA *IN VITRO* CONTRA *Plamosdium falciparum e Plasmoudium vivax.*

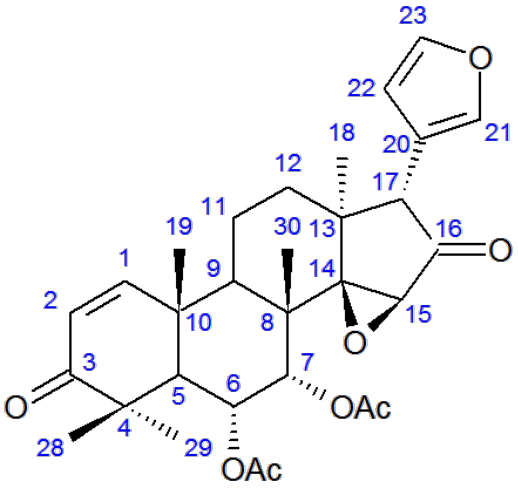
Das substâncias isoladas e semissintéticas apenas os limonoides 6α-acetoxigedunina (**10**) e seu derivada 6α-hidroxidesacetilgedunina (**10.1**) foram testados contra cepas clinicas de *P. vivax* (Tabela 7). As quatro substâncias naturais (Figura 35) e as treze semissintéticas (Figura 36, Figura 37 e Figura 38) foram testadas contra cepa *K1* multi-resistente de *P.falciparum* e citotoxidade em fibroblasto humano não-tumorais (MCR-5) conforme descrito na metodologia. O teste antimalárico foi realizado em duplicata/experimento, sendo dois experimentos para cada substância, tendo as drogas cloroquina difosfato e quinina sulfato como controles positivos. O teste de citotoxidade aconteceu em triplicata com a doxorrubicina e DMSO como controles positivos de morte celular e negativo, respectivamente. Os resultados antimaláricos e citotoxidade foram tabelados (Tabela 8**Erro! Fonte de referência não encontrada.**).



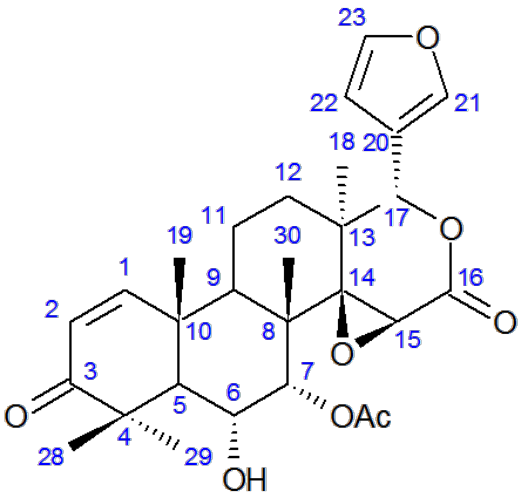
7-desacetil-7-oxogedunina (**9**)
rendimento: 7,20 g
[a,b]CI_{50} = 20,7 µM



6α–acetilgedunina(**10**)
rendimento: 5,21 g
[a,b]CI_{50} = 7,0 µM
[c]CI=4,48 µM



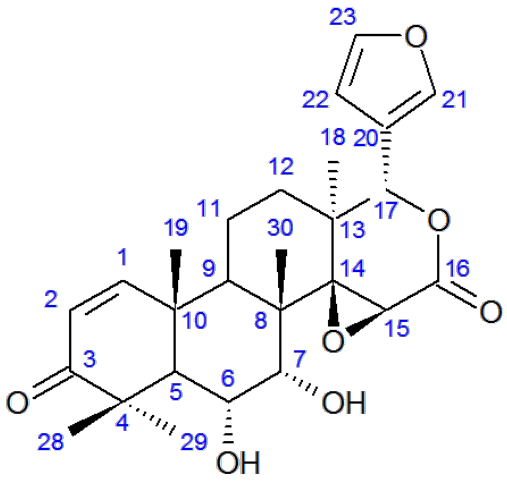
6α-acetoxiazaradiona (**33**)
rendimento: 240 mg
[a,b]CI_{50} = 15,4 µM



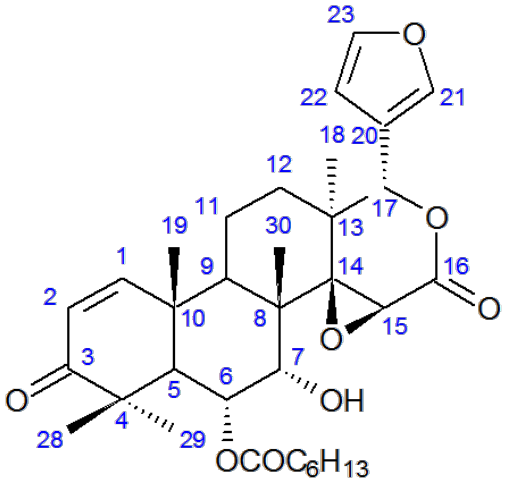
6α-hidroxigedunina (**34**)
rendimento: 11,5 mg
[a]CI_{50} = 4,69 µM

Figura 35. Limonoides isolados das sementes da *Carapa guianensis*. ([a] Teste antimalárico contra cepas de *P. falciparum*; [b] Resultados publicado em Pereira et al., 2014; [c] Testes antimaláricos contra cepas clínicas de *P. vivax*)

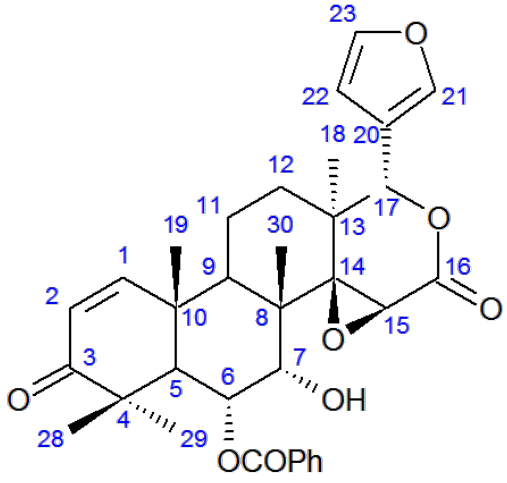
Os critérios adotados para atividade em *P. falciparum* foram baseados na literatura de Alves (2016), no qual assume-se que CI_{50} abaixo ou igual a 0,1 µM são muito ativas, substâncias com valores entre 0,1-0,5 µ são ativas, entre 5-20 µM são moderadamente ativas e acima de 20 µM são consideradas inativas.



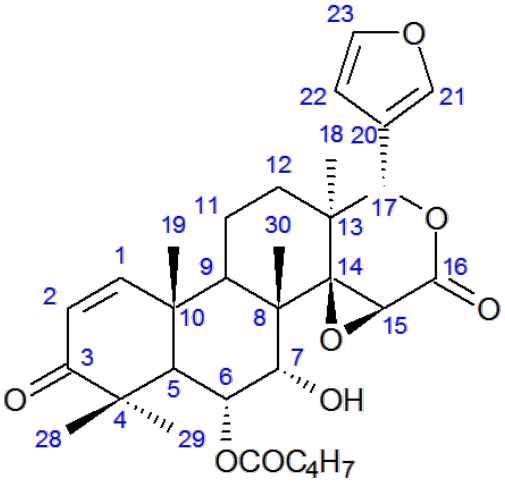
6α-hidroxidesacetilgedunina (**10.1**)
rendimento: 72,7 %
CI_{50} = 6,31 mM



6α-heptanoiloxidesacetilgedunina (**10.1.1**)
rendimento: 13 %
CI_{50} = 8,79 mM



7α-benzoiloxidesacetilgedunina (**10.1.2**)
rendimento: 57,3 %
CI_{50} = 9,03 mM



6α-butanoiloxidesacetilgedunina (**10.1.3**)
rendimento: 45,8%
CI_{50} = 3,68 mM

Figura 36. Semissintéticos a partir do 6α-acetoxigedunina (**10**) e CI_{50} contra *P. falciparum*.

Analisando e comparando as atividades dos derivados com as substâncias naturais de partida, podemos observar que alguns tiveram sua atividade antimalárica potencializada em relação a seu respectivos precursores naturais, como no caso da 6α-butanoiloxigedunina (10.1.3, Figura 36) que apresentou CI_{50} de 3,68 μM (Tabela 8), valor menor do que seu precursor natural 6α-acetoxigedunina (TH62C, Figura 36) e semissintético 6α-hidroxidesacetilgedunina (10.1, Figura 36), cujo os valores de CI_{50} foram de 7,0 μM e 6,31 μM, respectivamente. O aumento da atividade com maior

significado ocorreu em todos os derivados semissintéticos da substância natural 7-desacetil-7-oxogedunina (TC62B, Figura 37, CI_{50} 20,7), excerto o 1,2-dihidro-3α,7β-gendiol (9.3, Figura 37) que mostrou CI_{50} de 30,36 µM, enquanto os demais apresentaram atividade variando entre 1,76 µM e 11,6 µM.

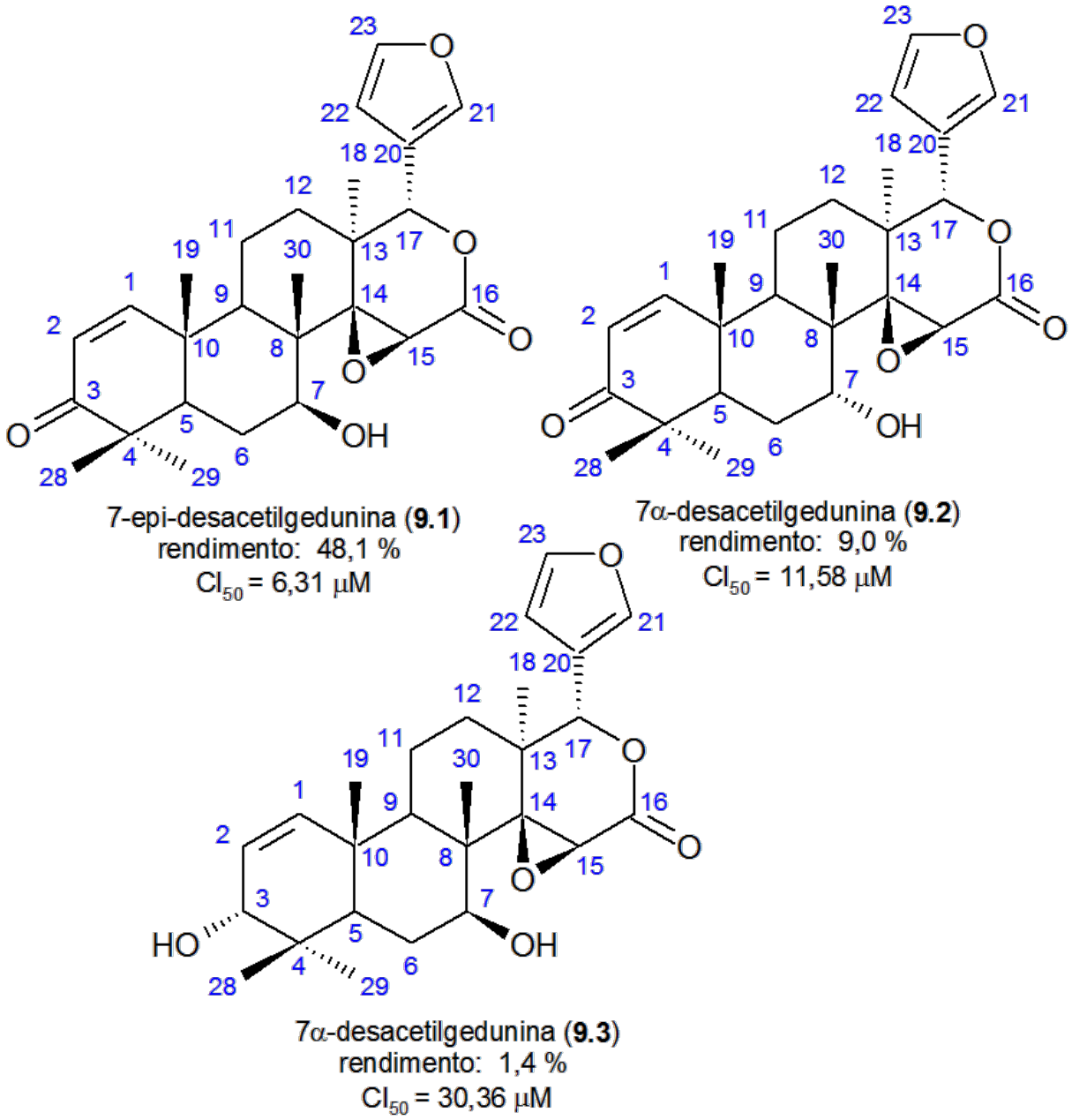


Figura 37. Semissintéticos obtidos na reação com $NaBH_4$ e 7-desacetil-7-oxogedunina e atividade antimalárica contra cepas de *P. falciparum*.

Dos derivados do 7-desacetil-7-oxogedunina foi possível afirmar que a posição-7 do esqueleto geduníneo é relevante na atividade antimalárica. Tanaka e colaboradores (2012) afirmam que a posição-7 é crucial para atividade antimalárica. Omar

et al. (2003b) enfatiza que o grupo hidroxila na posição-7 diminui atividade do esqueleto gedunínico. No entanto, ao comparar a atividade antimalárica dos limonoides gedunínicos com grupo funcionais na posições-6 e posição-7 é possível encontrar indício para inferir que a presença de grupos ácidos de ésteres pequenos na posição-6 diminui a influência da hidroxila na posição-7 sobre a diminuição da atividade antimalárica.

A diminuição da atividade pode ser observada quando o éster na posição-7 do esqueleto gedunínico influenciam no decréscimo da atividade com o aumento da sua cadeia lateral. Essa observação pode ser vista no caso do 7-epi-gedunina (**9.1.1**, Figura 38) que apresentou CI_{50} de 1,76 μM (Tabela 8), enquanto o 7β-butanoiloxigedunina(9.1.2, Figura 38) e 7β-pentanoiloxigedunina(9.1.3, Figura 38) tiveram CI_{50} de 4,80 μM e 6,43 μM (Tabela 8), respectivamente.

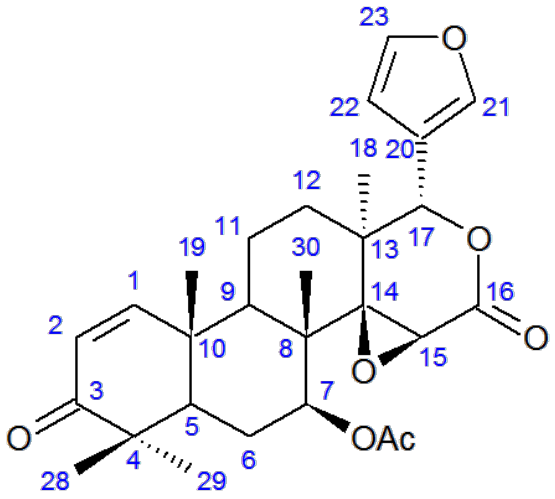
O aumento da cadeia lateral dos ésteres não foi o único fator influente na atividade antimalárica, a estereoquímica se mostrou importante. Todos os derivados do 7-epi-desacetilgedunina (9.1, Figura 38) foram mais ativos que os do 7α-desacetilgedunina (9.2, Figura 38), como no caso da 7epi-gedunina, cujo o valor do CI_{50} foi de 1,76 μM, valor menor que seu diastereoisômero, gedunina (9.2.1, Figura 38), o qual apresentou CI_{50} de 2,49 μM.

A substância 1,2-dihidro-3α,7β-bendiol (**9.3**) apresentou a menor atividade de todas as substâncias testadas. Segundo Omar e colaboradores (2003b) a diminuição da atividade é explicada pela ausência da cetona α,β-insaturada e a presença do grupo hidroxila na posição crucia da atividade antimalárica do esqueleto gedunínico, posição-7.

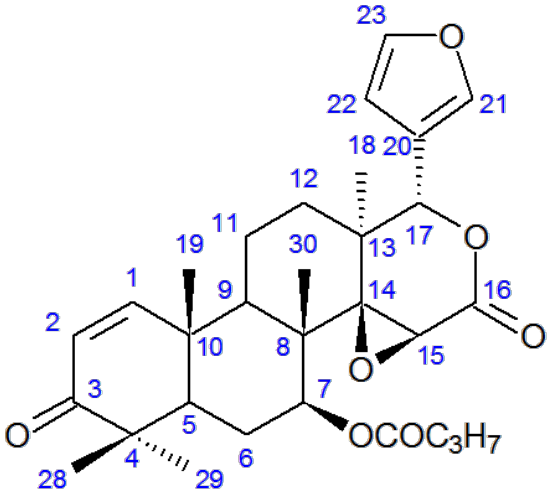
Além do conhecimento da relação da estrutura atividade das substâncias de esqueleto gedunínico, outro ponto positivo é ressaltado sobre as substâncias isoladas e semissintéticas. Todas apresentam incapacidade de promover a morte de 50 % das células na concentração testada (50 μg/mL). Os valores encontrados de CI_{50} de todas as substâncias são superiores ao controle positivo de morte utilizando Doxorrubicina, a qual apresentou CI_{50} de 0,43 μM, ou seja, as substâncias utilizadas nesta tese não apresentam toxidade em células normais.

Os testes *in vitro* contra *P. vivax* realizado com o 6α-acetoxigedunina (**10**) e 6α-hidroxidesacetilgedunina (**10.1**) demonstram que a presença do grupo acetila na posição-6 e posição-7 não influenciam drasticamente na atividade biológico. A mesma resposta estrutura-atividade é observada quando as substâncias são comparadas no

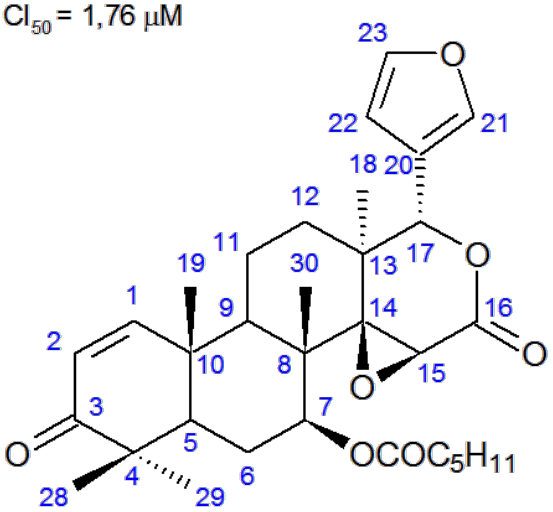
teste *in vitro* contra *P. falciparum*, levando a supor que as substâncias testadas contra *P.vivax* apresentam mecanismo de ação relativamente similar ao do *P. falciparum*.



7-epi-gedunina (**9.1.1**)
rendimento: 63%
CI_{50} = 1,76 μM

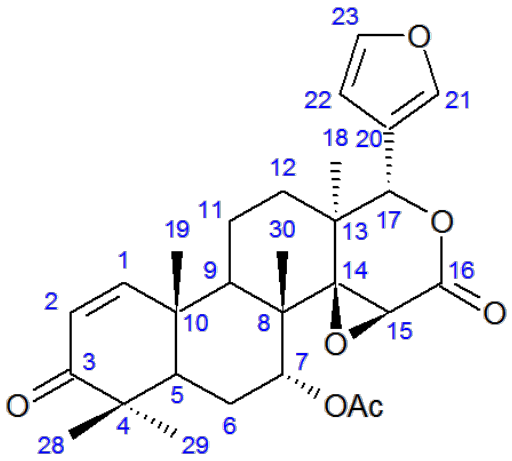


7β-butanoiloxigedunina (**9.1.2**)
rendimento: 40,4%
CI_{50} = 4,80 μM

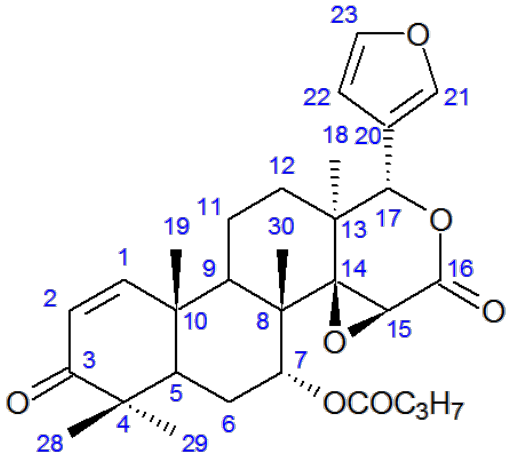


7β-pentanoiloxigedunina (**9.1.3**)
rendimento: 29,6%
CI_{50} = 6,43 μM

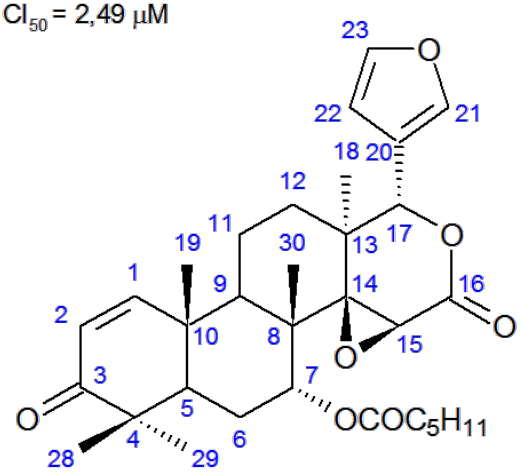
Figura 38. Resumo dos produtos de acilação do semissintético 7-epi-desacetilgedunina e atividade antimalárica *in vitro* contra cepa de *P. falciparum.*



gedunina (**9.2.1**)
rendimento: 51,6%
CI_{50} = 2,49 µM



7α-butanoiloxigedunina (**9.1.2**)
rendimento: 32,8%
CI_{50} = 5,10 µM



7α-pentanoiloxigedunina (**9.2.3**)
rendimento: 26,9%
CI_{50} = 7,82 µM

Figura 39. Resumo dos produtos de acilação do semissintético 7α-desacetilgedunina e atividade antimalárica *in vitro* contra cepa de *P. falciparum.*

Tabela 7. CI_{50} das substâncias para cepa de *P. vivax*. frente a quatro substâncias naturais e doze semissintéticas.

Substância	Microteste (µM)
10	4,48 ± 0,92
10.1	6,80 ± 0,83

Tabela 8. Valores de CI_{50} de substâncias naturais e semissintéticas contra *P. falciparaum* e fibroblasto humano MCR5.

Substância	*P. falciparum* K1		Fibroblasto humano MCR-5	
	IC_{50} (µM)	**Resultado**	**IC_{50} (µM)**	**I.S.[b]**
9.1.1	1,76	A	>103,7	>58,9
9.2.1	2,49	A	>103,7	>41,6
10.1.3	3,68	A	>103,7	>28,2
34	4,69	A	>113,6	>24,2
9.1.2	4,80	AM	>98,0	>19,2
9.2.2	5,10	A	>98,0	>20,4
10.1	6,31	AM	>100,4	>15,9
9.1.3	6,43	AM	>95,4	>14,8
10	7,0	AM	>185,0	>26,4
9.1	7,26	AM	>113,4	>15,6
9.2.3	7,82	AM	>95,4	>12,2
10.1.1	8,79	AM	>88,1	>10,0
10.1.2	9,03	AM	>113,6	>12,6
9.2	11,58	AM	>113,6	>9,8
33	15,40	AM	>191,0	>12,4
9	20,7	I	108,0	5,2
9.3	30,36	I	>112,5	>3,7
Cloroquina difosfato	0,33	A	-	-
Quinina sulfato	0,30	A	-	
Doxorrubicina	-	-	0,43	-

[a] Rendimento dos produtos semissintéticos.

[b] Índice de Seletividade (I.S.)= CI_{50} (fibroblasto humano) / CI_{50}(*P. falciparum*)

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho gerou o isolamento dos limonoides 6α-hidroxigedunina, 7-desacetil-7-oxogedunina, 6α-acetoxigedunina e 6α-acetoxiazaradiona das sementes da *Carapa* spp. A partir do limonoide 6α-acetoxigedunina, foram sintetizados o 6α-hidroxidesacetilgedunina (rendimento 72,7%), 6α-heptanoiloxidesacetilgedunina (rendimento 13 %), 6α-benzoiloxidesacetilgedunina (rendimento 57,3 %) e 6α-butanoiloxidesacetilgedunina (rendimento 45,8 %). O limonoides natural 7-desacetil-7-oxogedunina origina 7β-desacetilgeunina (rendimento 48,1%), 7α-desacetilgedunina (rendimento 9%), 1,2-dihidro-3α,7β-gendiol (rendimento 1,4%), 7-epi-gedunina (rendimento 63%), 7β-butanoiloxigedunina(rendimento 40,4 %), 7β-pentanoiloxigedunina(rendimento 29,6%), gedunina (rendimento 51,6%), 7α-butanoiloxigedunina (rendimento 32,8%) e 7α-pentanoilgedunina (rendimento 26,9%). Todas as quatros substâncias naturais e trezes semissinteticas foram caracterizados por UFLC/HRMS-ESI e RMN uni e/ou bidimensional.

As reações de acilação no esqueleto gedunínico são regiosseletiva, onde o aumento da cadeia lateral dos reagentes acilantes e impedimento estérico formados na posição diminui o rendimento das reações.

O limonoide 6α-acetoxigedunina e seu derivado semissintético apresentaram atividade contra *P. vivax*, principal protozoário da malária na região Amazônico e toda as substâncias desse trabalho, tanto natural quanto semissintética, foram testadas contra *P*. *falciparum*, protozoário com maior índice de mortalidade no mundo. A análise dos testes antimaláricos contra *P.falciparum* mostrou que atividade do esqueleto gedunínico diminui com o aumento da cadeia do ácido de éster na posição-7 e sua atividade é influenciada pela estereoquímica relativa dos ésteres, onde a configuração β apresenta maior atividade frente à α, como o caso da gedunia frente a seu epímero 7-epi-gedunina.

As substâncias 6α-heptanoiloxidesacetilgedunina, 6α-benzoiloxidesacetilgedunina, 6α-butanoiloxidesacetilgedunina, 7-epi-gedunina, 7-epi-butanoiloxigedunina, 7α-butanoiloxigedunina, 7β-pentanoiloxigeduninae 7α-pentanoilgedunina são inéditas na literatura.

Todas as substâncias naturais e semissintéticas desse trabalho não apresentam mortalidade em células normais e no futuro devererão ser realizados os testes *in vivo* contra cepas de *P. berghei* NK65 com os semissintéticos 7-epi-gedunina, gedunina, 7β-butanoiloxigedunina. e 6α-butanoiloxidesacetilgedunina. Para os testes *in*

vivo é necessário em média 300 mg de cada derivado, para realização do teste completo. Os produtos naturais precursores desses semissintéticos já foram isolados em escala de grama.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

AKIHISA, T. et al. Melanogenesis-Inhibitory Activities of Isomeric C-seco Limonoids and Deesterified Limonoids. **Chemistry & biodiversity**, v. 13, n. 10, p. 1410-1421, 2016.

ALVES, H. G.; Avaliação antiplasmódica *in vitro* e *in vivo* de alacaloides indólicos e seus derivados. 2016

AMBROZIN, A. et al. Limonoids from andiroba oil and Cedrela fissilis and their insecticidal activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society,** v. 17, n. 3, p. 542-547, 2006.

ANDRADE-NETO, et al.. In vitro inhibition of Plasmodium falciparum by substances isolated from Amazonian antimalarial plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,** v. 102, p. 359-366, 2007.

ASSIS, T. M. et al. QSAR Models Guided by Molecular Dynamics Applied to Human Glucokinase Activators. **Chemical biology & drug design,** v. 87, n. 3, p. 455-466, 2016.

AYALEW, M. B.. Therapeutic efficacy of artemether-lumefantrine in the treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. **Infectious diseases of poverty**, v. 6, n. 1, p. 157, 2017.

BALINT, G. A. Artemisinin and its derivatives: an important new class of antimalarial agents. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, n. 2-3, p. 261-265, 2001.

BARRON, L. D. Biochirality: Origins, Evolution and Molecular Recognition. Edited by Pedro Cintas. **Origins of Life and Evolution of Biospheres,** v. 44, n. 1, p. 61, 2014.

BICKII, J. et al. In vitro antimalarial activity of limonoids from Khaya grandifoliola CDC (Meliaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, n. 1, p. 27-33, 2000.

BOSIRE, C. M. et al. Larvicidal activities of the stem bark extract and rotenoids of Millettia usaramensis subspecies usaramensis on Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology,** v. 17, n. 3, p. 531-535, 2014.

BRASIL. Guia Prático de Tratamento da malária no Brasil-série A. Normas e Manuais Técnicos. **Ministério da Saúde**, 2010.

_____. Boletim Epidemiológico-Malária, Monitoramento dos casos no Brasil em 2014. **Ministério da Saúde,** v. 46, n. 25, 2015a.

_____. Boletim Epidemiologico, Situação epidemiológica da malária no Brasil, 2012-2013. **Ministério da Saúde,** v. 46, n. 43, 2015b.

_____. Sistema de Vigilância Epidemiológica. Malaria. 2016. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=10933&It emid=646 >. Acesso em: 02/03/2016.

BRUCE-CHWATT, L. J.; HORN, D. W. Antimalarial drugs in Nigeria: results of a new survey. **Br Med J,** v. 2, n. 5101, p. 869-76, Oct 11 1958.

BRUCE, M. C. et al. Effect of transmission setting and mixed species infections on clinical measures of malaria in Malawi. **PloS one**, v. 3, n. 7, p. e2775, 2008.

BUENO, V. S. et al. Avaliação preliminar de óleos essenciais de plantas como repelentes para Aedes albopictus (Skuse, 1894)(Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 2010.

CASTRO, L. H. et al. Extração E Estudo De Óleos Essenciais Da Semente Da Andiroba. 2007.

CAZAL, C. et al. Evaluation of Effect of Triterpenes and Limonoids on Cell Growth, Cell Cycle and Apoptosis in Human Tumor Cell Lines. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 10, n. 10, p. 769-776, 2010.

COLEBUNDERS, R., et al.. Spread of a single multidrug resestant malaria parasite lineage (*PfPailin*) to Vietnam. **Correspondence**, v. 17, n 10, p. 1022-1023, 2017.

COLBORN, K. L.; MUELLER, I.; SPEED, T. P. Joint Modeling of Mixed Plasmodium Species Infections Using a Bivariate Poisson Lognormal Model. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 98, n. 1, p. 71-76, 2018.

CROSSLEY, R. The relevance of chirality to the study of biological activity. **Tetrahedron,** v. 48, n. 38, p. 8155-8178, 1992.

DAVID, B.; JACOBY, R. M. Y. Encyclopedia of Family Health. **Marshall Cavendish, New York,**, 2005.

DE ANDRADE-NETO, V. F. et al. In vitro inhibition of Plasmodium falciparum by substances isolated from Amazonian antimalarial plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,** v. 102, n. 3, p. 359-366, 2007.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons, 2002.

DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.

ESCALANTE, A. A.; AYALA, F. J. Phylogeny of the malarial genus Plasmodium, derived from rRNA gene sequences. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 24, p. 11373-11377, 1994.

FARIAS, E. S. et al. Perfil dos ácidos graxos do óleo da semente de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet) de Roraima por cromatografia gasosa (CG). In: Congresso Brasileiro de Química, 52 - Recife. 2012.

FERRARIS, F. K. et al. Modulation of T lymphocyte and eosinophil functions in vitro by natural tetranortriterpenoids isolated from Carapa guianensis Aublet. **International immunopharmacology,** v. 11, n. 1, p. 1-11, 2011.

FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C.; SAMPAIO, P. T. B. Sementes e plântulas de andiroba (Carapa guianensis AUBL. e Carapa procera DC): aspectos botânicos, ecológicos e tecnológicos. **Acta Amazonica,** v. 32, n. 4, p. 647-661, 2002.

GE, Y.-H. et al. The limonoids and their antitobacco mosaic virus (TMV) activities from Munronia unifoliolata Oliv. **Journal of agricultural and food chemistry,** v. 60, n. 17, p. 4289-4295, 2012.

GENTON, B. et al. Plasmodium vivax and mixed infections are associated with severe malaria in children: a prospective cohort study from Papua New Guinea. **PLoS medicine**, v. 5, n. 6, p. e127, 2008.

GIACOPPO, J. D. O. et al. Towards the understanding of tetrahydroquinolines action in Aedes aegypti: larvicide or adulticide? **Molecular Simulation**, p. 1-13, 2016.

GREENWOOD, D. The quinine connection. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 30, n. 4, p. 417-427, 1992.

GURULINGAPPA, H. et al. Susceptibility of Aedes aegypti and Culex quinquefasciatus Larvae to Gedunin-Related Limonoids. **Chemistry & biodiversity,** v. 6, n. 6, p. 897-902, 2009.

HOFER, M.; GREGER, H.; MEREITER, K. 6α-Acetoxygedunin. **Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online,** v. 65, n. 8, p. o1942-o1943, 2009.

IMWONG, M. et al. A review of mixed malaria species infections in anopheline mosquitoes. **Malar J,** v. 10, p. 253, 2011.

IMWONG, M. et al. The spread of artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* in Greater Mekong Subregion: a molecula epidemeology observational study. **The Lancet Infectious Diseases**. v. 17, n 5, p. 491-497, 2017.

ISAH, A. B.; IBRAHIM, Y. K. E.; IWALEWA, E. O. Evaluation of the antimalarial properties and standardization of tablets of Azadirachta indica (Meliaceae) in mice. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 7, p. 807-810, 2003.

JACOB, R.; HASEGAWA, S.; MANNERS, G. The potential of citrus limonoids as anticancer agents. **Perishables Handling Quarterly**, v. 102, p. 6-8, 2000.

KHO, S. et al. Platelets kill circulating parasites of all major Plasmodium species in human malaria. **Blood**, p. blood-2018-05-849307, 2018.

LEE, Sung-Eun et al. Antimalarial activity of anthothecol derived from Khaya anthotheca (Meliaceae). **Phytomedicine**, v. 15, n. 6-7, p. 533-535, 2008.

LI, G. et al. **Artemisinin-Based and Other Antimalarials: Detailed Account of Studies by Chinese Scientists Who Discovered and Developed Them**. Academic Press, 2017.

LORENZETTI, A. et al. Mixed Plasmodium falciparum infections and its clinical implications in four areas of the Brazilian Amazon region. **Acta Trop,** v. 107, n. 1, p. 8-12, Jul 2008.

MACKINNON, S. et al. Antimalarial activity of tropical Meliaceae extracts and gedunin derivatives. **J Nat Prod,** v. 60, n. 4, p. 336-41, Apr 1997.

MCKENZIE, F. E.; BOSSERT, W. H. Mixed-species Plasmodium infections of humans. **J Parasitol,** v. 83, n. 4, p. 593-600, Aug 1997.

MENDONÇA, A. P.; FERRAZ, I. D. K. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspecto sociais no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica,** v. 37, n. 3, p. 353-364, 2007.

MESHNICK, S. R.; DOBSON, M. J. The history of antimalarial drugs. In: **Antimalarial chemotherapy**. Humana Press, Totowa, NJ, 2001. p. 15-25.

MIYAKE, T. et al. Carapanolides T–X from Carapa guianensis (Andiroba) Seeds. **Molecules**, v. 20, n. 11, p. 20955-20966, 2015.

MIRANDA JÚNIOR, R. N. C. M. et al. Antiplasmodial activity of the andiroba (Carapa guianensis Aubl., Meliaceae) oil and its limonoid-rich fraction. **Journal of ethnopharmacology,** v. 142, n. 3, p. 679-683, 2012.

MISCHLINGER, J.; AGNANDJI, S. T.; RAMHARTER, M. Single dose treatment of malaria - current status and perspectives. **Expert Rev Anti Infect Ther,** v. 14, n. 7, p. 669-78, Jul 2016.

MOHD A.B.D et al. Effect of selected local medicinal plants on the asexual blood stage of chloroquine resistant Plasmodium falciparum. **BMC Complement Altern Med,** v. 14, p. 492, 2014.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R.M.V. Manaual de Soluções, Reagentes e Solventes. 2 ed. São Paulo: **Edgard Blucher**, 1998.

MULLA, M. S. et al. Procedures for the evaluation of field efficacy of slow-release formulations of larvicides against Aedes aegypti in water-storage containers. **Journal of the American Mosquito Control Association,** v. 20, n. 1, p. 64-73, 2004.

NAING, C. et al. Efficacy and safety of dihydroartemisinin-piperaquine for treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in endemic countries: meta-analysis

of randomised controlled studies. **Trans R Soc Trop Med Hyg,** v. 107, n. 2, p. 65-73, Feb 2013.

NAKANISHI, K. et al. Phytochemical survey of Malaysian plants preliminary chemical and pharmacological screening. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin,** v. 13, n. 7, p. 882-890, 1965.

NAKAYAMA, G.R; et al.. Assessment of the Alamar blue assay for cellular growth and viability *in vitro.* **Journal Immunol Methods**, n. 204, p. 205–208, 1997.

NATHAN, S. S.; KALAIVANI, K.; MURUGAN, K.. Effects of neem limonoids on the malaria vector Anopheles stephensi Liston (Diptera: Culicidae). **Acta tropica**, v. 96, n. 1, p. 47-55, 2005.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of natural products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

NINOMIYA, K. et al. Hepatoprotective Limonoids from Andiroba (Carapa guianensis). **International journal of molecular sciences,** v. 17, n. 4, p. 591, 2016.

NKAMBULE, C. et al. Efficient regioselective protection of *myo*-inositol via facile protecting group migration. **Tetrahedron**, v. 67, p. 618-623, 2011.

OHOCHUKU, N. S.; TAYLOR, D. A. H. 6β-Hydroxygedunin. **Journal of the Chemical Society C: Organic**, n. 3, p. 421-423, 1970.

OMAR, S. et al. Antimalarial activities of gedunin and 7-methoxygedunin and synergistic activity with dillapiol. **Annals of applied biology,** v. 143, n. 2, p. 135-141, 2003a.

OMAR, S. et al. Traditionally-used antimalarials from the Meliaceae. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 3, n. 2, p. 133-139, 2003b .

OMS 2016a. World Malaria Report 2016. Disponível em <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/252038/1/9789241511711-eng.pdf?ua=1>.Acessado em 19/08/2017.

OMS 2016b. Weekly epidemiological recorr-Malaria vaccine. Disponível em < http://www.who.int/wer/2016/WER9104.pdf?ua=1 >.Acessado em 23/04/2018.

OMS 2017. World Malaria Report 2017. Disponível em<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259492/9789241565523-eng.pdf;jsessionid=1E859BB7EC71D3CE61AF5941B36BB4B0?sequence=1>.Acessado em 20/04/2018.

OMS 2018. Q e A on Artemisinin resistence. Disponível em < http://www.who.int/malaria/media/artemisinin_resistance_qa/en/ >.Acessado em 23/04/2018.

PADDON, C. J.; KEASLING, J. D. Semi-synthetic artemisinin: a model for the use of synthetic biology in pharmaceutical development. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 5, p. 355, 2014.

PENIDO, C. et al. Antiinflammatory effects of natural tetranortriterpenoids isolated from Carapa guianensis Aublet on zymosan-induced arthritis in mice. **Inflammation Research,** v. 55, n. 11, p. 457-464, 2006.

PENIDO, C. et al. Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from Carapa guianensis Aublet on allergen-induced vascular permeability and hyperalgesia. **Inflammation research,** v. 54, n. 7, p. 295-303, 2005.

PEREIRA, T. B. et al. In vitro and in vivo anti-malarial activity of limonoids isolated from the residual seed biomass from Carapa guianensis (andiroba) oil production. **Malar J,** v. 13, p. 317, 2014.

PERRIN, D.D.Ç; ARMAREGO W.L.F. Purification of Laboratory Chemicals. 3 ed., **Pergamon Press**, 1988.

PHILLIPSON, J. D. Phytochemistry and medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 56, n. 3, p. 237-243, 2001.

PONNUSAMY, S. et al. Gedunin and Azadiradione: human pancreatic alpha-amylase inhibiting limonoids from neem (Azadirachta indica) as anti-diabetic agents. **PloS one**, v. 10, n. 10, p. e0140113, 2015.

RAJPUT, S.; WILBER, A. Roles of inflammation in cancer initiation, progression, and metastasis. **Front Biosci (Schol Ed)**, v. 2, p. 176-183, 2010.

RAMASAMY, R. Zoonotic malaria - global overview and research and policy needs. **Front Public Health,** v. 2, p. 123, 2014.

RATCLIFF, A. et al. Therapeutic response of multidrug-resistant Plasmodium falciparum and P. vivax to chloroquine and sulfadoxine–pyrimethamine in southern Papua, Indonesia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 4, p. 351-359, 2007.

REIS, T. et al. Malária: confirmação laboratorial de casos clínicos suspeitos de infeção por Plasmodium sp entre 2010-2017. **Boletim Epidemiológico Observações**, v. 7, n. 22, p. 52-57, 2018.

REN, W. et al. Comparative metabolism of four limonoids in human liver microsomes using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with high-resolution LTQ-Orbitrap mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry,** v. 29, n. 21, p. 2045-2056, 2015.

RIECKMANN, K. et al. Drug sensitivity of Plasmodium falciparum: an in-vitro microtechnique. **The Lancet,** v. 311, n. 8054, p. 22-23, 1978.

ROCHA E SILVA, L.F.; et al. Comparative in vitro and in vivo antimalarial activity of the indole alkaloids ellipticine, olivacine, cryptolepine and a synthetic cryptolepine analog. **Phytomedicine,** v. 20, n. 1, p. 71-76, 2012.

RODRIGUES, B. Spectral Assinnments and Reference Data. **Magnetic Resonance in Chemistry**. n. 41, p. 206-212, 2003.

ROY, A.; SARAF, S.. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 2, p. 191-201, 2006.

SARIGAPUTI, C. et al. Suppression of inducible nitric oxide synthase pathway by 7-deacetylgedunin, a limonoid from Xylocarpus sp. **Planta medica**, v. 81, n. 04, p. 312-319, 2015.

SCHEDEL, H. et al. Asymmetric desymmetrization of meso-diols by C2-symmetric chiral 4-pyrrolidinopyridines. **Beilstein journal of organic chemistry,** v. 8, n. 1, p. 1778-1787, 2012.

SCOTTI-SAINTAGNE, C. et al. Phylogeography of a species complex of lowland Neotropical rain forest trees (Carapa, Meliaceae). **Journal of Biogeography,** v. 40, n. 4, p. 676-692, 2013.

SIDJUI, L. S. et al. Kostchyienones A and B, new antiplasmodial and cytotoxicity of limonoids from the roots of Pseudocedrela kotschyi (Schweinf.) Harms. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 73, n. 3-4, p. 153-160, 2018.

SILVA, S. G.; NUNOMURA, R. C. S.; NUNOMURA, S. M. Limonoides isolados dos frutos de Carapa guianensis Aublet (Meliaceae). **Quim. Nova,** v. 35, n. 10, p. 1936-1939, 2012.

TAGBOTO, S; TOWNSON, S. Antiparasitic properties of medicinal plants and other naturally occurring products. **Advances in Parasitology**, v. 50, p. 199-295, 2001.

TANAKA, Y. et al. Andirolides H–P from the flower of andiroba (Carapa guianensis, Meliaceae). **Tetrahedron,** v. 68, n. 18, p. 3669-3677, 2012.

TANAKA, Y. et al. Absolute stereostructure of Andirolides A–G from the flower of Carapa guianensis (Meliaceae). **Tetrahedron,** v. 67, n. 4, p. 782-792, 2011.

TEPONNO, R. B. et al. Bafoudiosbulbin H, a new clerodane diterpene from the flowers of Dioscorea bulbifera L. var sativa. **Phytochemistry Letters,** v. 6, n. 2, p. 310-314, 2013.

TRAGER, W. e JENSEN, J.B. Human malaria parasite in continuous culture. **Science**, v. 193, p. 673-675, 1976.

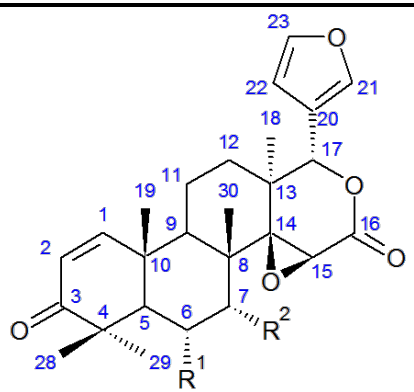
VALE, N.; MOREIRA, R.; GOMES, P. Quimioterapia da malária-um século no desenvolvimento de antimalárico. **Química,** v. 99, p. 61-73, 2005.

WATERMAN, A. M. The effect of water soluble extractives from the heartwood of tropical American woods on the growth of two wood decay fungi. **Tropical Woods,** v. 88, p. 1-11, 1946.

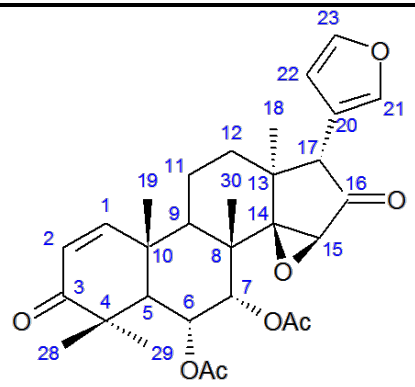
WHITE, N. J. Plasmodium knowlesi: the fifth human malaria parasite. 2008.

. **ANEXOS**

ANEXO 1. Dados de RMN ^{1}H e ^{13}C(apenas **34**) dos limonides isolados da *Carapa* ssp .



34: R^1= OH; R^2=OAc.
7-desacetoxi-7-oxogedunina: R^1= H; R^2=O.
6α-acetoxigedunina: R^1= OAc; R^2=OAc.



6α-acetoxiazaradionan

H/C[a]	**34**		7-desacetil-7-oxogedunina	6α-acetoxigedunina	6α-acetoxiazaradiona
	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{d}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)
1	7,05 d(10)	156,2	7,12 (10)	7,1 d (10)	7,16 d(10)
2	5,94 d(10)	126,6	5,94 d(10)	5,98 d (10)	5,99 d(10)
3	-	205,4	-	-	-
4	-	45,5	-	-	-
5	2,23 d(12)	49,5	2,18 dd(15; 3)	2,56 d (12)	2,54 d(12)

6	α	-	68,6	2,42 dd(15; 3)	-	-
	β	4,30 dd(12;2)		2,94 t(15)	5,31 dd(12; 2)	5,40 dd(12;3)
7	α	-	77,1	-	-	-
	β	4,78 d(2)		-	4,93 d (2)	5,06 d(12)
8		-	43,1	-	-	-
9		2,52 dd(12; 6)	38,3	2,18 m	2,57 dd(12; 5)	2,71 dd(12;4)
10		-	40,3	-	-	-
11	α	2,0 m	15,0	2,01 m	2,01 m	2,19 m
	β	1,85 m		1,85 m	1,87 m	1,88 m
12	α	1,62 m	25,9	1,62 m	1,63 m	1,95 m
	β	1,74 m		1,74 m	1,77 m	2,03 m
13		-	38,8	-	-	-
14		-	69,8	-	-	-
15		3,65 s	56,4	3,88 s	3,65 s	3,46 s
16		-	167,3	-	-	-

17	5,64 s	78,2	5,48 s	5,64 s	3,92 s
18	1,28 s	17,9	1,17 s	1,28 s	1,07 s
19	1,18 s	20,0	1,15 s	1,25 s	1,24 s
20	-	120,2	-	-	-
21	7,44 m	141,2	7,43 m	7,5 dl(1,32)	7,43 m
22	6,36 sl	109,8	6,38 sl	6,36 t (1,32)	6,26 m
23	7,43 m	143,2	7,41 m	7,4 dl (1,32)	7,41 t(2)
28	1,32 s	31,8	1,24 s	1,29 s	1,29 s
29	1,40 s	21,5	1,37 s	1,20 s	1,20 s
30	1,22 s	18,9	1,16 s	1,30 s	1,36 s
6^1	-	-	-	-	-
6^2	-	-	-	2,07 s	2,11 s
7^1	-	172,4	-	-	-
7^2	2,20 s	21,1	-	2,18 s	2,05 s

[a] Posição dos hidrogênios e carbonos dos ésteres.

[b]. RMN ^1H 300 MHz, $CDCl_3$

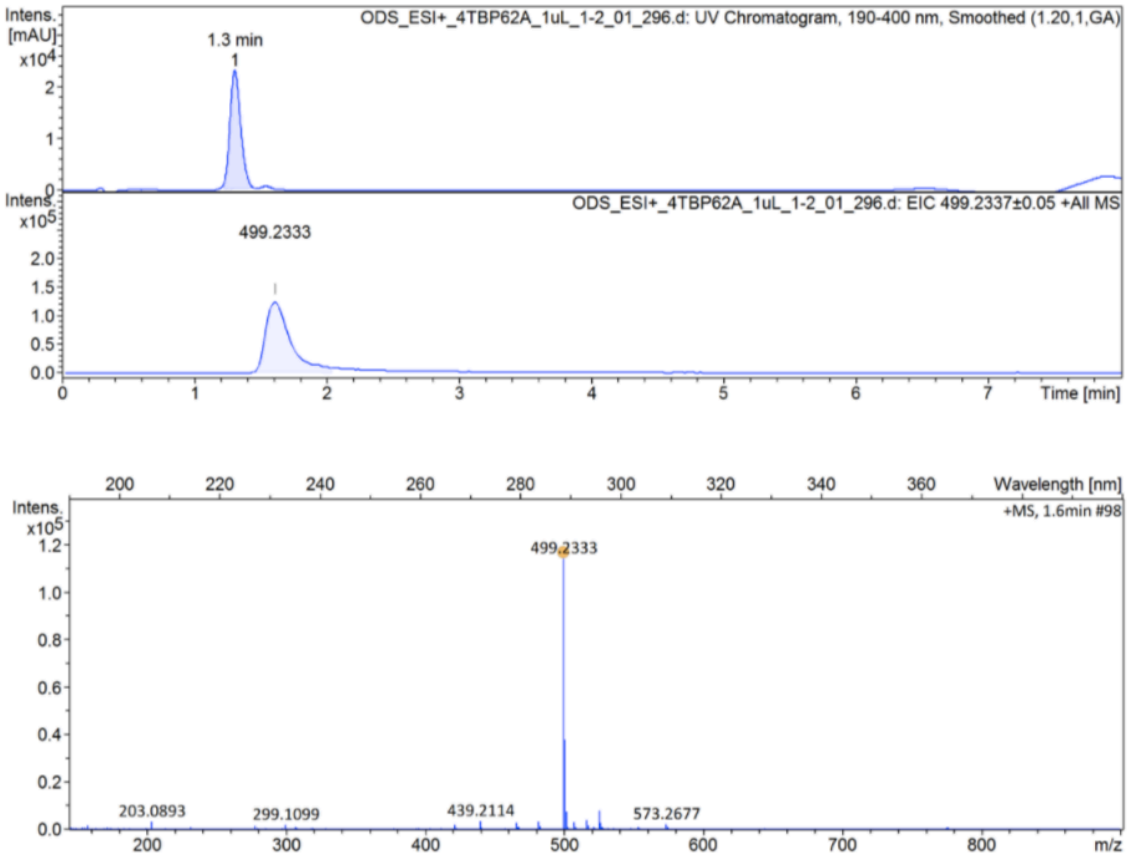
[c] RMN ^{13}C 75 MHz, $CDCl_{331}$

Analysis Info Acquisition Date 9/21/2015 10:54:21 AM

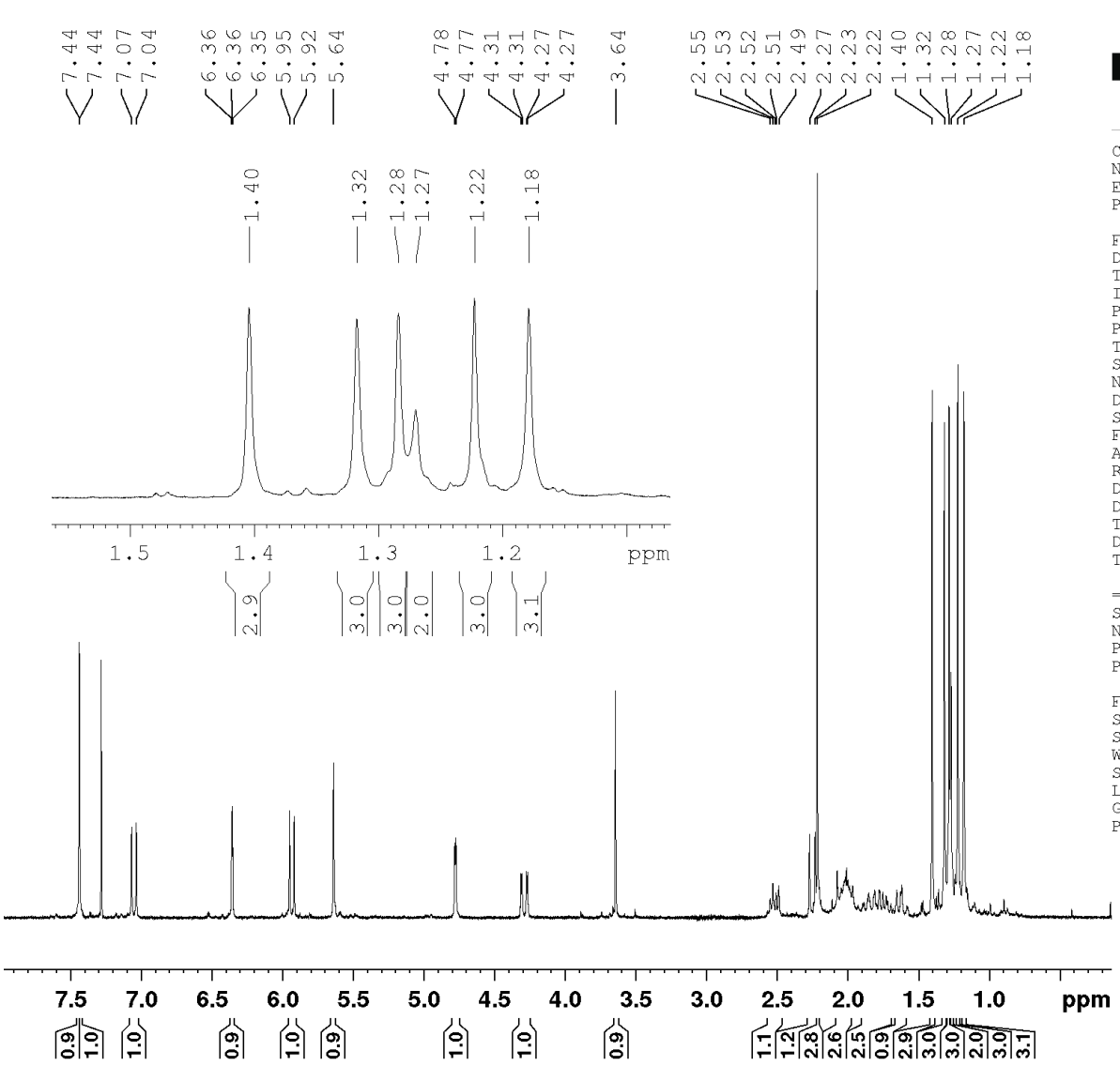
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2015\Adrian\Tiago B\Data\LC-MS\ODS_ESI+_4TBP62A_1uL_1-2_01_296.d		
Method	Tune-Low_Luiz_COMFocus_50-900_Daniel_10min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP62A_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	21/09/15_4TBP62A_1uL-1 (C= 1 mg;mL)		

ODS(50x2,0);Flx= 0,4;Inj 1.0uL-split de0,06 mL (MS)/0,34mL (desc);P:2552psi
A(H2O 0,1%AForm)/B(ACN)_ 0,1%AForm-LC-MS
0-5m-55%
5-6m-55-100%
6-7m-100%
7-8m-100-55%
8-10m-55%
injetor: ACN HPLC

Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
499.2333	1	M+H	C28H35O8	499.2326	-1.4	9.8



ANEXO 2. UFLC/HRMS-ESI do **34**



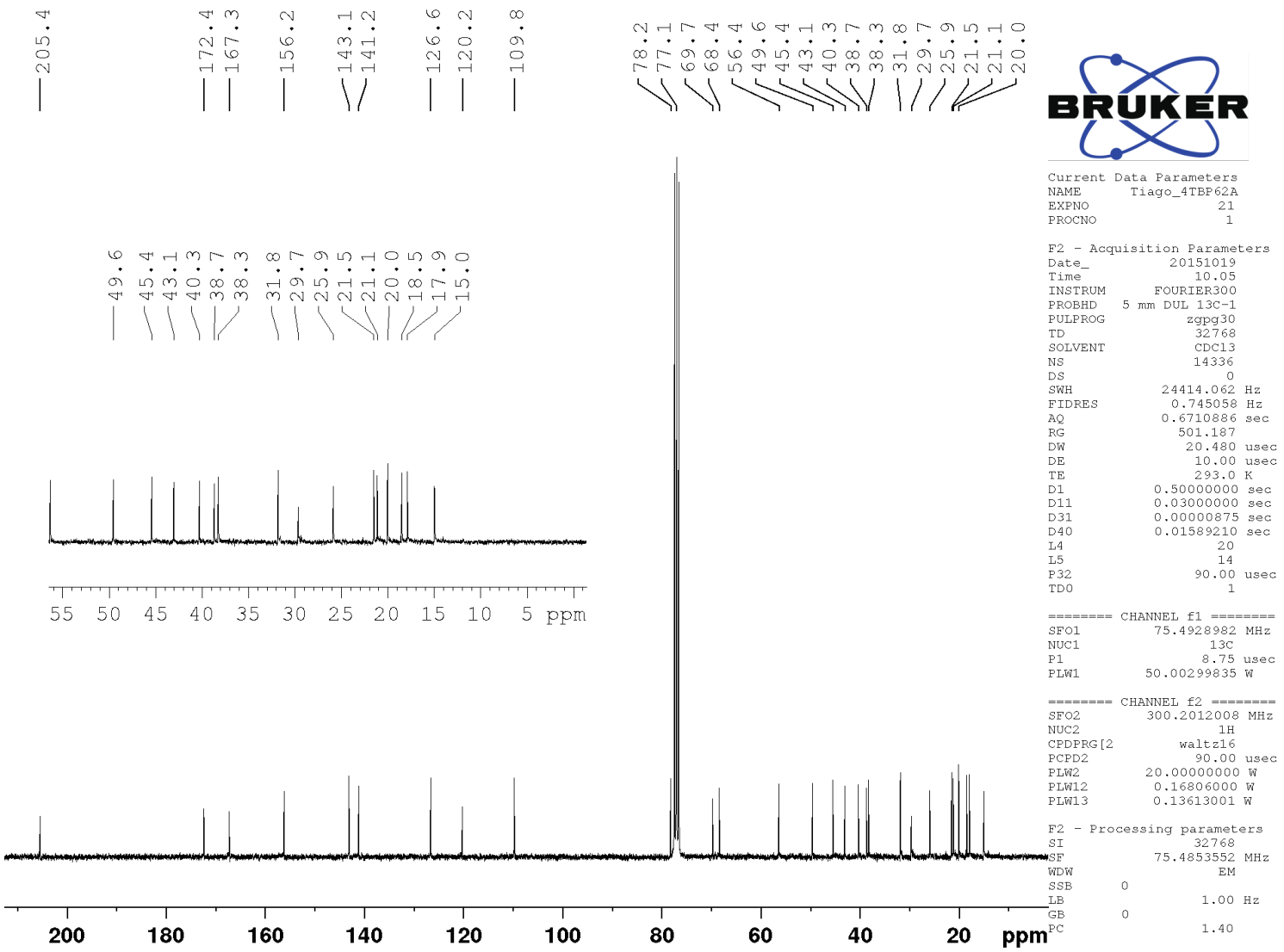

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago_4TBP62A
EXPNO                12
PROCNO                1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20151015
Time              17.50
INSTRUM      FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG               zg
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                    1
DS                    0
SWH            6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ             5.3687091 sec
RG               14.1894
DW               81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                296.9 K
D1            1.00000000 sec
TD0                   1

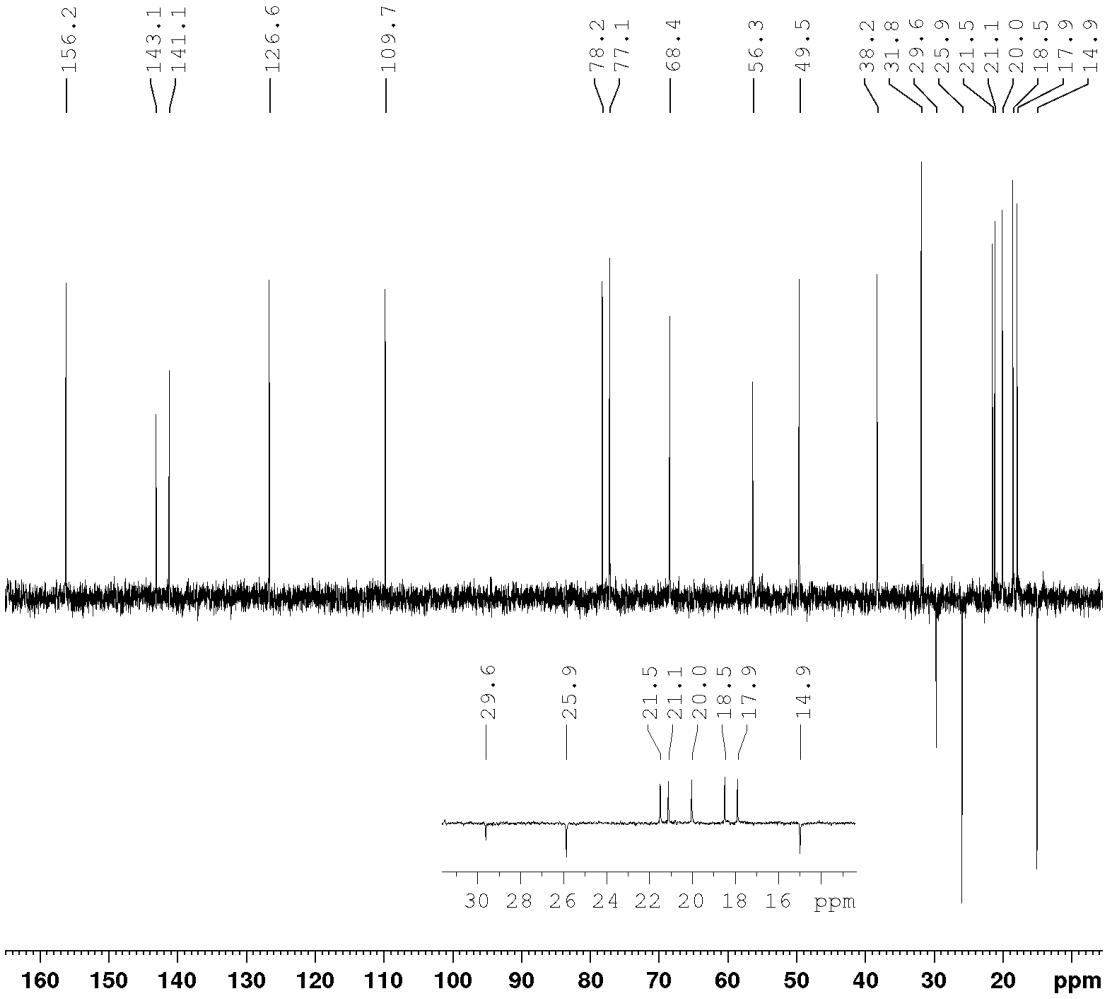
======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                 1H
P1                7.64 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                65536
SF           300.2000000 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.00
```

ANEXO 3. Espectro de RMN de ^{1}H do **34**.



ANEXO 4. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **34**.




```
Current Data Parameters
NAME       Tiago_4TBP62A
EXPNO                  4
PROCNO                 1

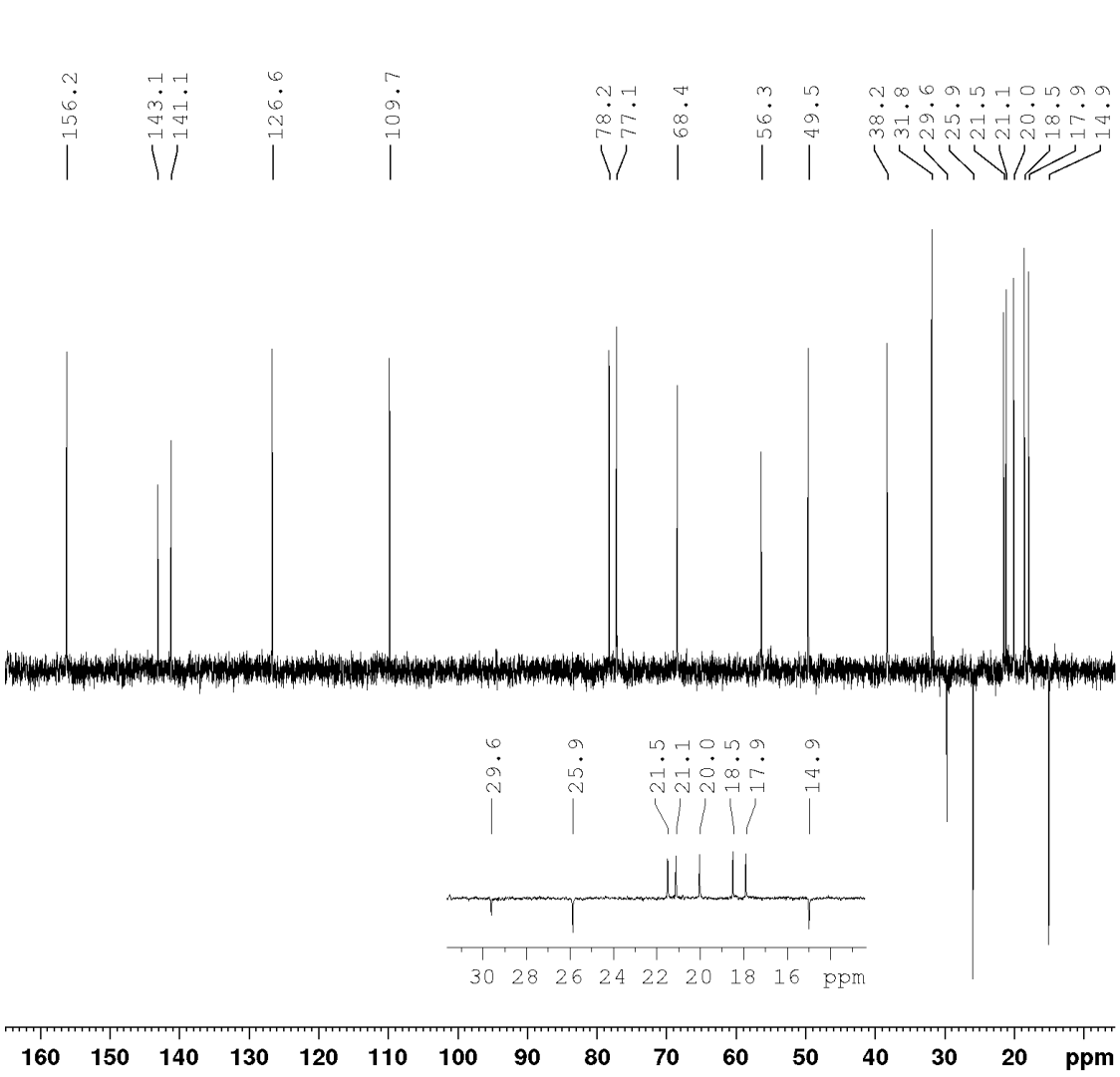
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20151016
Time               12.05
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                 1600
DS                    8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                295.8 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345340 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2         waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853573 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 5. DEPT 135º da substância **34**




```
Current Data Parameters
NAME       Tiago_4TBP62A
EXPNO                  4
PROCNO                 1

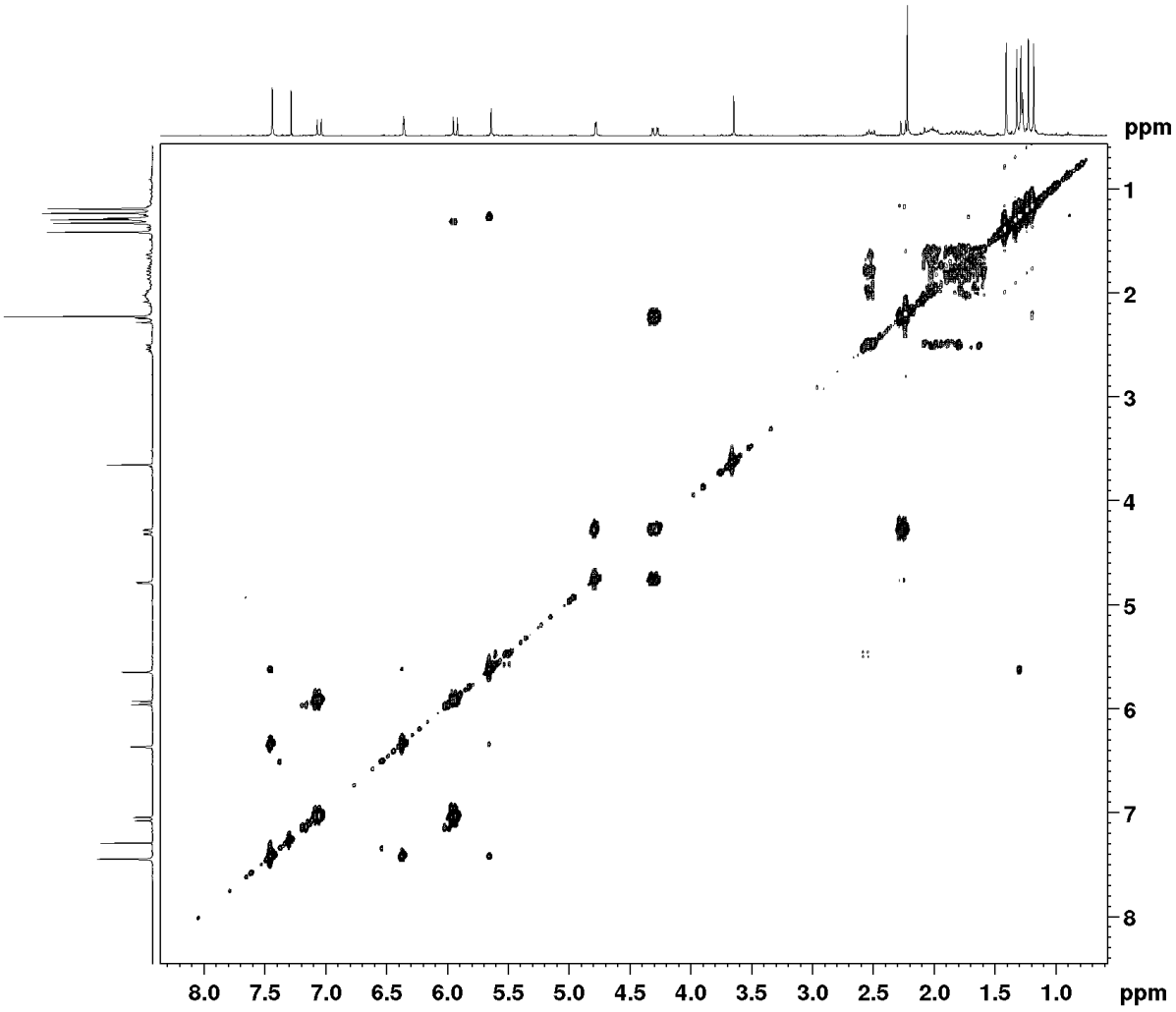
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20151016
Time              12.05
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                65536
SOLVENT           CDC13
NS                 1600
DS                    8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               295.8 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345340 sec
L4                    40
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
P2               17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                8.25 usec
P4               16.50 usec
PCPD2            90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853573 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 6. DEPT 90º do da substância **34**.






```
Current Data Parameters
NAME       Tiago_4TBP62A
EXPNO                100
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20151014
Time              17.26
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG         cosygpqf
TD                 2048
SOLVENT            CDCl3
NS                   16
DS                   16
SWH            3051.758 Hz
FIDRES         1.490116 Hz
AQ             0.3355443 sec
RG                31.623
DW               163.840 usec
DE                10.00 usec
TE                1028.3 K
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D13           0.00000400 sec
D16           0.00020000 sec
IN0           0.00032760 sec

-------- CHANNEL f1 --------
SFO1         300.2013509 MHz
NUC1                   1H
P0                   7.75 usec
P1                   7.75 usec
PLW1         20.00000000 W

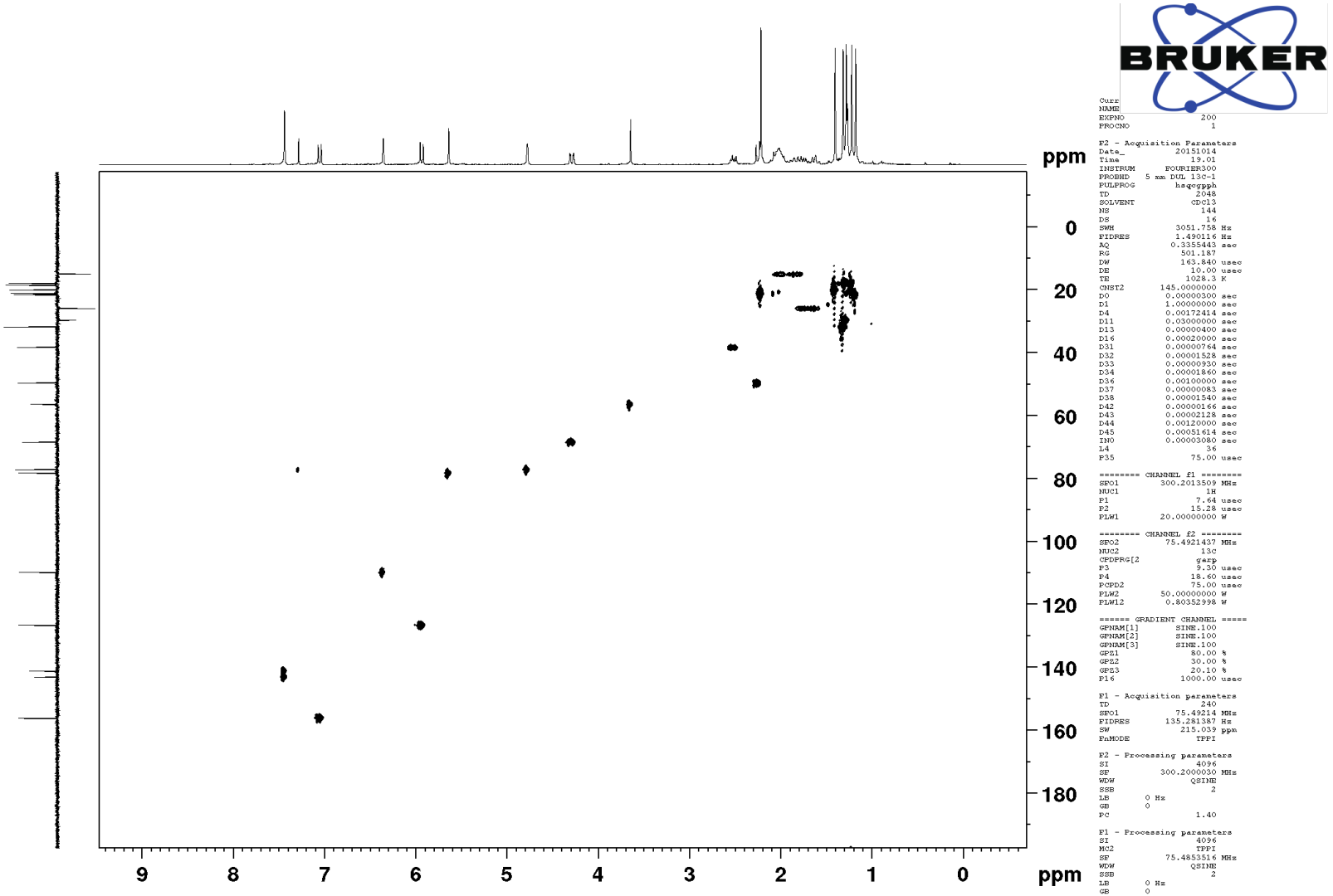
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]         SINE.100
GPZ1                10.00 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                    256
SFO1            300.2014 MHz
FIDRES         23.847681 Hz
SW                10.168 ppm
FnMODE                QF

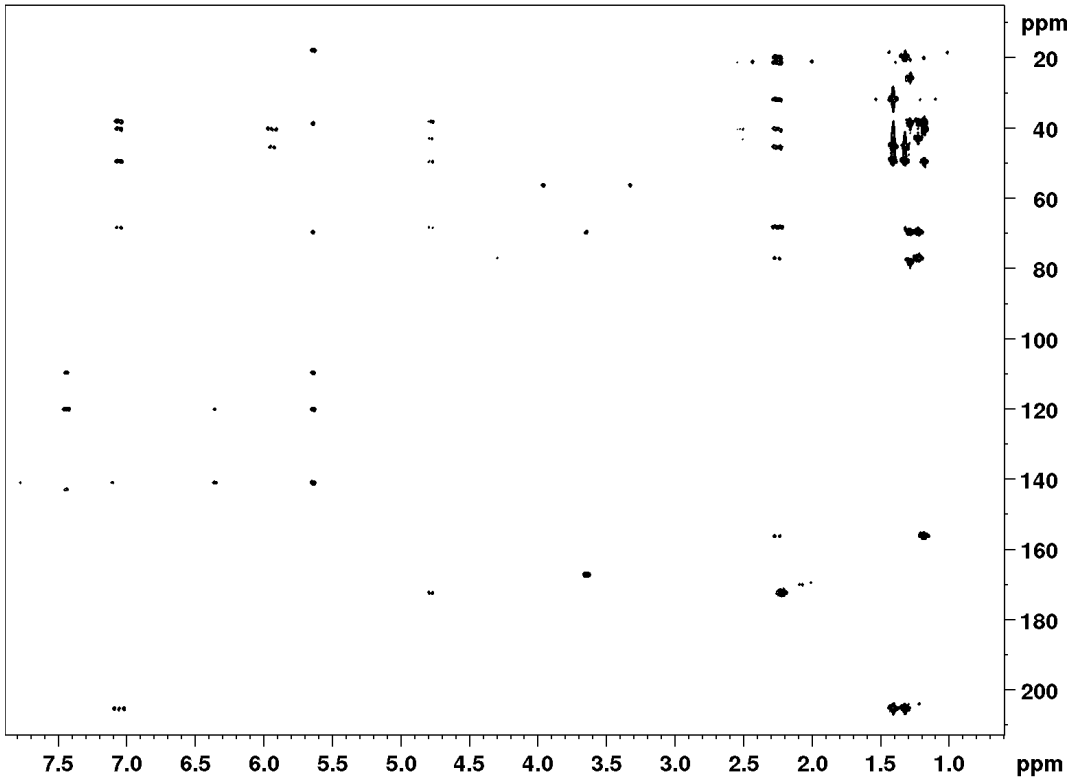
F2 - Processing parameters
SI                   4096
SF            300.2000028 MHz
WDW                 QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                    1.40

F1 - Processing parameters
SI                   2048
MC2                    QF
SF            300.2000089 MHz
WDW                 QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 7. Espectro COSY ^{1}H-^{1}H da substância **34**.



ANEXO 8. Espectro de HSQC da substância **34**.




```
Current Data Parameters
NAME       Tiago_4TBP62A
EXPNO               300
PROCNO                1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20151015
Time              17.54
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13c-1
PULPROG    hmbcgplpndqf
TD                2048
SOLVENT           CDCl3
NS                 148
DS                  16
SWH           3051.758 Hz
FIDRES        1.490116 Hz
AQ            0.3355443 sec
RG              501.187
DW              163.840 usec
DE                10.00 usec
TE                297.0 K
CNST2       145.0000000
CNST13        7.0000000
D0          0.00000300 sec
D1          1.00000000 sec
D2          0.00344828 sec
D6          0.07142857 sec
D16         0.00020000 sec
D31         0.00000764 sec
D32         0.00001528 sec
D33         0.00000930 sec
D36         0.00100000 sec
D38         0.00003010 sec
IN0         0.00003010 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1        300.2013509 MHz
NUC1               1H
P1                7.64 usec
P2               15.28 usec
PLW1        20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         75.4932760 MHz
NUC2               13C
P3                9.30 usec
PLW2        50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]       SINE.100
GPNAM[2]       SINE.100
GPNAM[3]       SINE.100
GPZ1             50.00 %
GPZ2             30.00 %
GPZ3             40.10 %
P16            1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                 256
SFO1         75.49328 MHz
FIDRES       129.775742 Hz
SW             220.037 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                2048
SF          300.2000047 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.40

F1 - Processing parameters
SI                4096
MC2                QF
SF          75.4853580 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

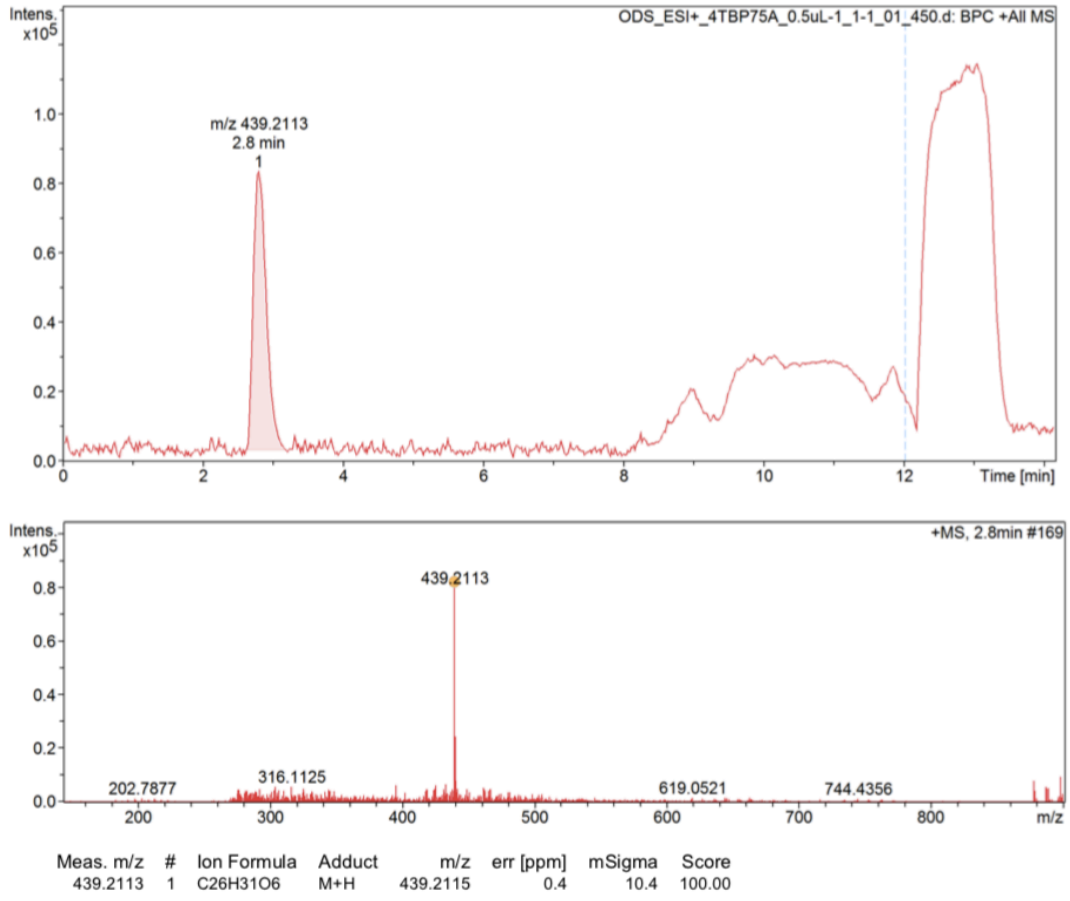
ANEXO 9. Espectro de HMBC da substância **34**

Analysis Info

Acquisition Date	1/22/2016 8:33:50 AM		
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2016\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\ODS_ESI+_4TBP75A_0.5uL-1_1-1_01_450.d		
Method	Tune-Low_Tiago_noFocus_50-900_.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP75A_0.5uL-1	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm 21_1_2016 Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2920psi;C=1mg/mL (ACN);Inj=0.5uL; A(H2O+0.1%HCOOH)/B(ACN+0,1%HCOOH) 0-6m-50% 6-8m-50-100% 8-10m - 100% 10-12m - 100-50% 12-14m - 50% injetor: ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

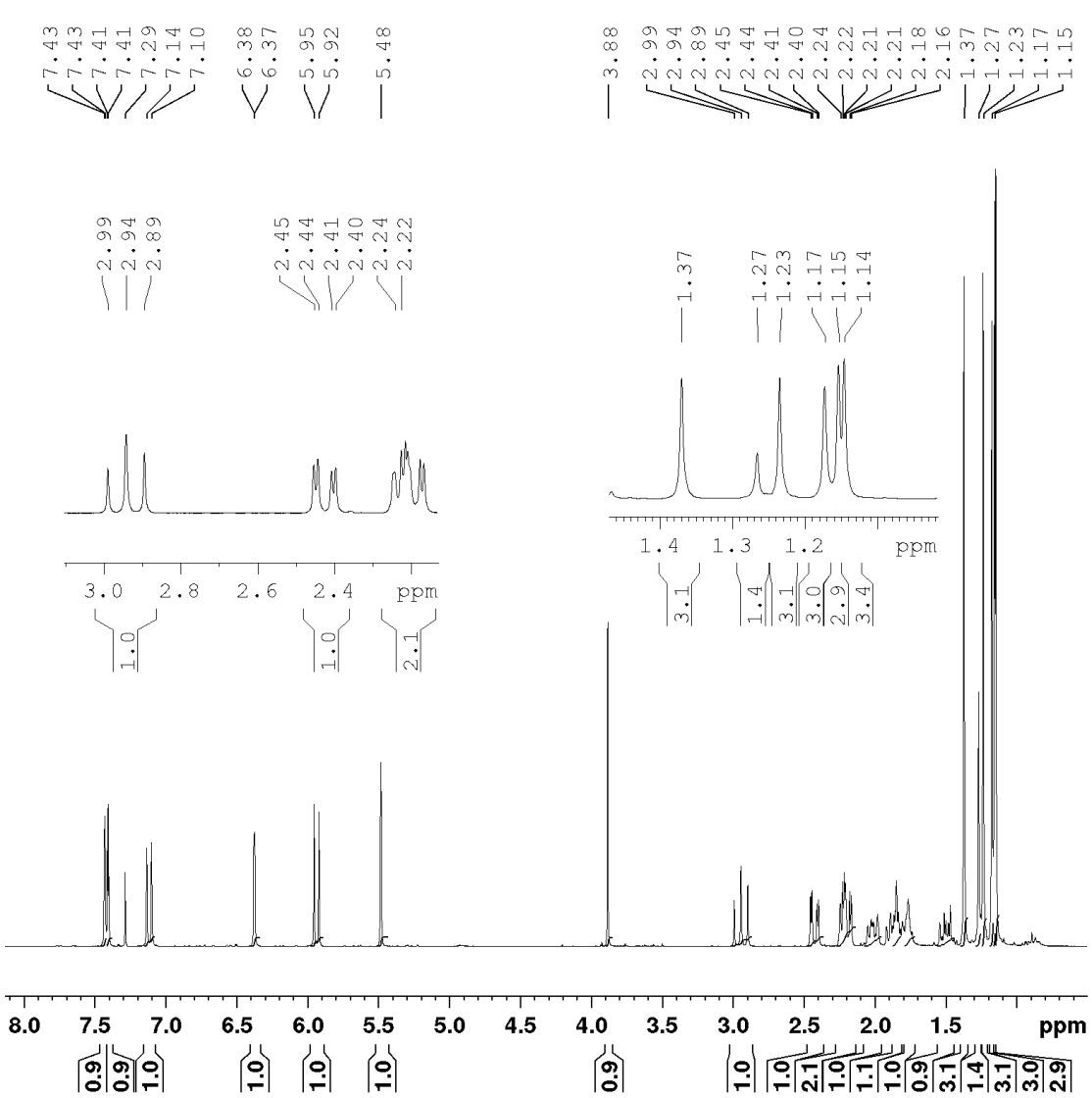
Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	5.0 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	145 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	10.0 l/min
Scan End	900 m/z	Set Collision Cell RF	100.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste



Meas. m/z	#	Ion Formula	Adduct	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
439.2113	1	C26H31O6	M+H	439.2115	0.4	10.4	100.00

ANEXO 10. UFLC/HRMS-ESI do 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**)




```
Current Data Parameters
NAME        Tiago_1GS23D
EXPNO                 11
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20160120
Time               16.27
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG               zg
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                    16
DS                     0
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ              5.3687091 sec
RG                 11.22
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                296.0 K
D1             1.00000000 sec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P1                  7.64 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                 65536
SF           300.2000000 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.00
```

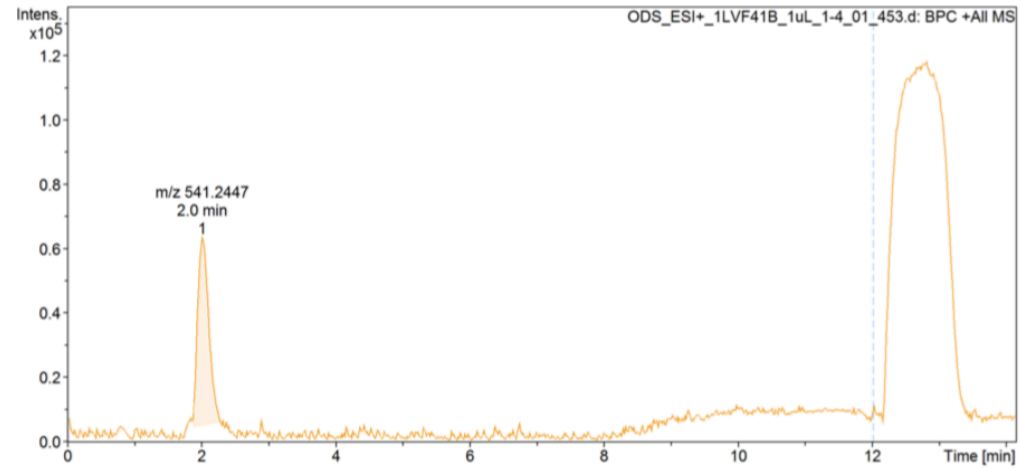
ANEXO 11. Espectro de RMN de ^{1}H 7-desacetil-7-oxogedunina (**9**)

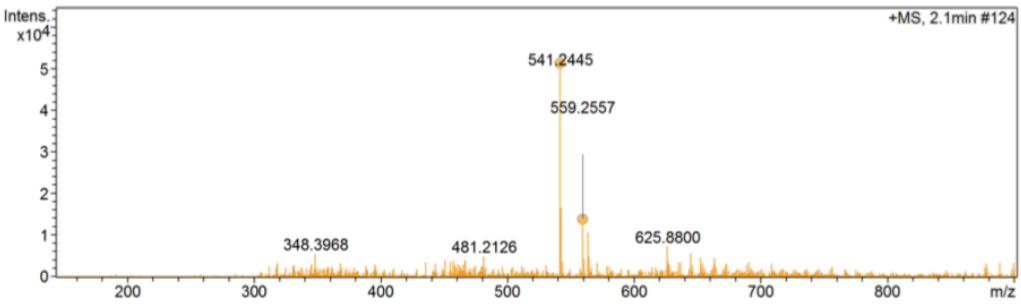
Analysis Info

Acquisition Date	1/22/2016 9:47:59 AM		
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2016\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\ODS_ESI+_1LVF41B_1uL_1-4_01_453.d		
Method	Tune-Low_Tiago_noFocus_50-900_.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_1LVF41B_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm 22_1_2016 Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2920psi;C=1mg/mL (ACN);Inj=0.5uL; A(H2O+0.1%HCOOH)/B(ACN+0,1%HCOOH) 0-6m-50% 6-8m-50-100% 8-10m - 100% 10-12m - 100-50% 12-14m - 50% injetor: ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

Acquisition Parameter

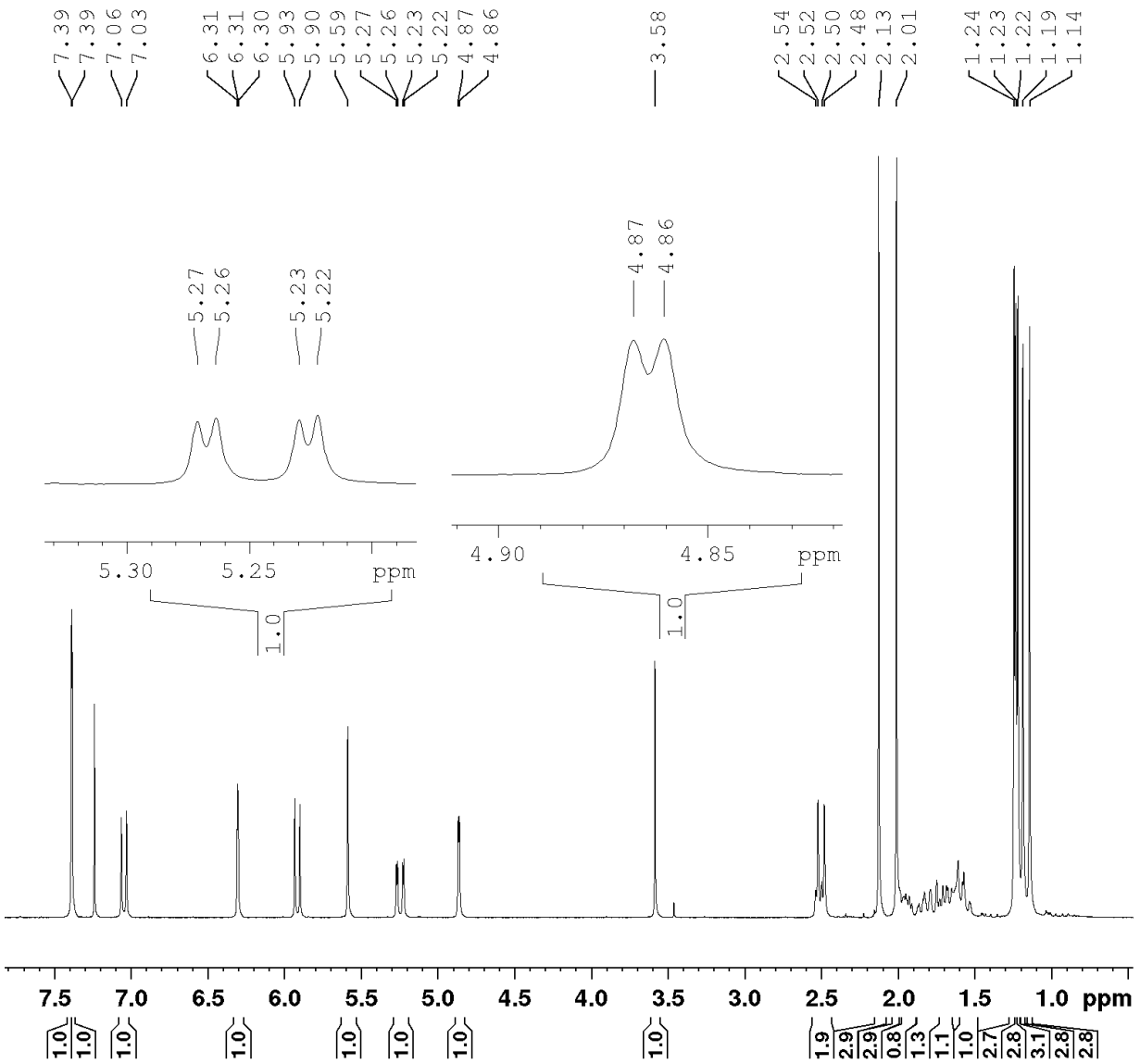
Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	5.0 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	145 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	10.0 l/min
Scan End	900 m/z	Set Collision Cell RF	100.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste





Meas. m/z	#	Ion Formula	Adduct	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
541.2445	1	C30H37O9	M+H	541.2432	-2.3	2.3	64.67

ANEXO 12. UFLC/HRMS-ESI da 6α-acetoxigedunina (**10**).




```
Current Data Parameters
NAME       Tiago_4TBP21A
EXPNO                  1
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20140403
Time               12.08
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG             zg30
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                    16
DS                     2
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ              5.3687091 sec
RG                 31.623
DW                 81.920 usec
DE                 10.00 usec
TE                 294.2 K
D1             1.00000000 sec
TD0                    1

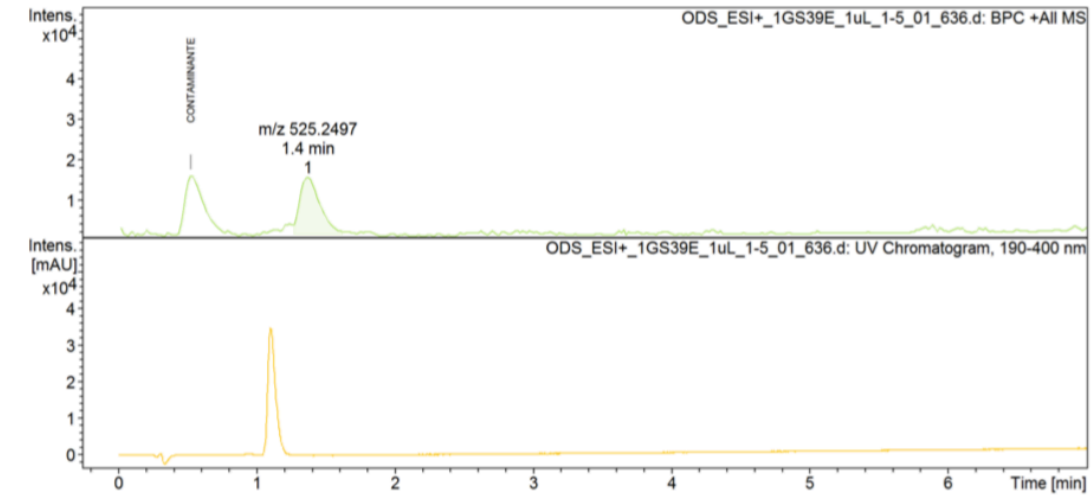
======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.1818537 MHz
NUC1                   1H
P1                  8.25 usec
PLW1        20.00000000 W

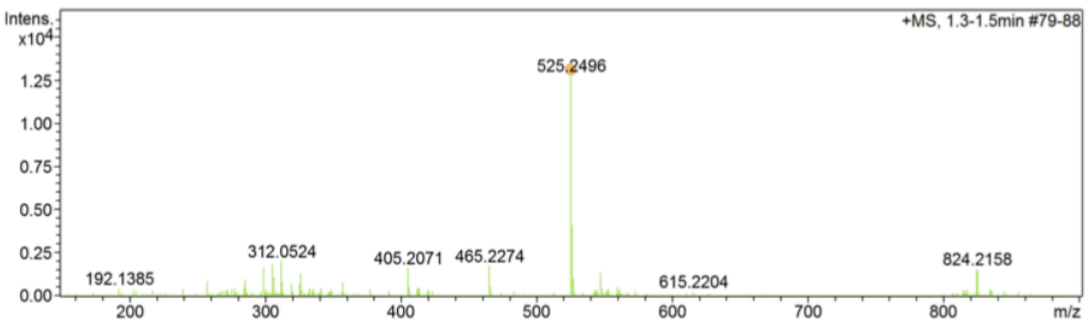
F2 - Processing parameters
SI                 65536
SF           300.1800109 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                 0.30 Hz
GB        0
PC                 1.00
```

ANEXO 13. Espectro de RMN de ^{1}H da 6α-acetoxigedunina (**10**).

Analysis Info			
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2016\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\ODS_ESI+_1GS39E_1uL_1-5_01_636.d	Acquisition Date	5/27/2016 9:38:55 AM
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_150-900_16min_modif.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_1GS39E_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Flx=0,25 mL/min[Split de 0,0375 mL(MS)/0,2125mL(desc)]; P:2200psi;C=1mg/mL (ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN_0.1%AF) 0-10m_70-100% 10-12m_100% 12-14m_100-% 14-15m_100-70% 15-16m_70% injetor: ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

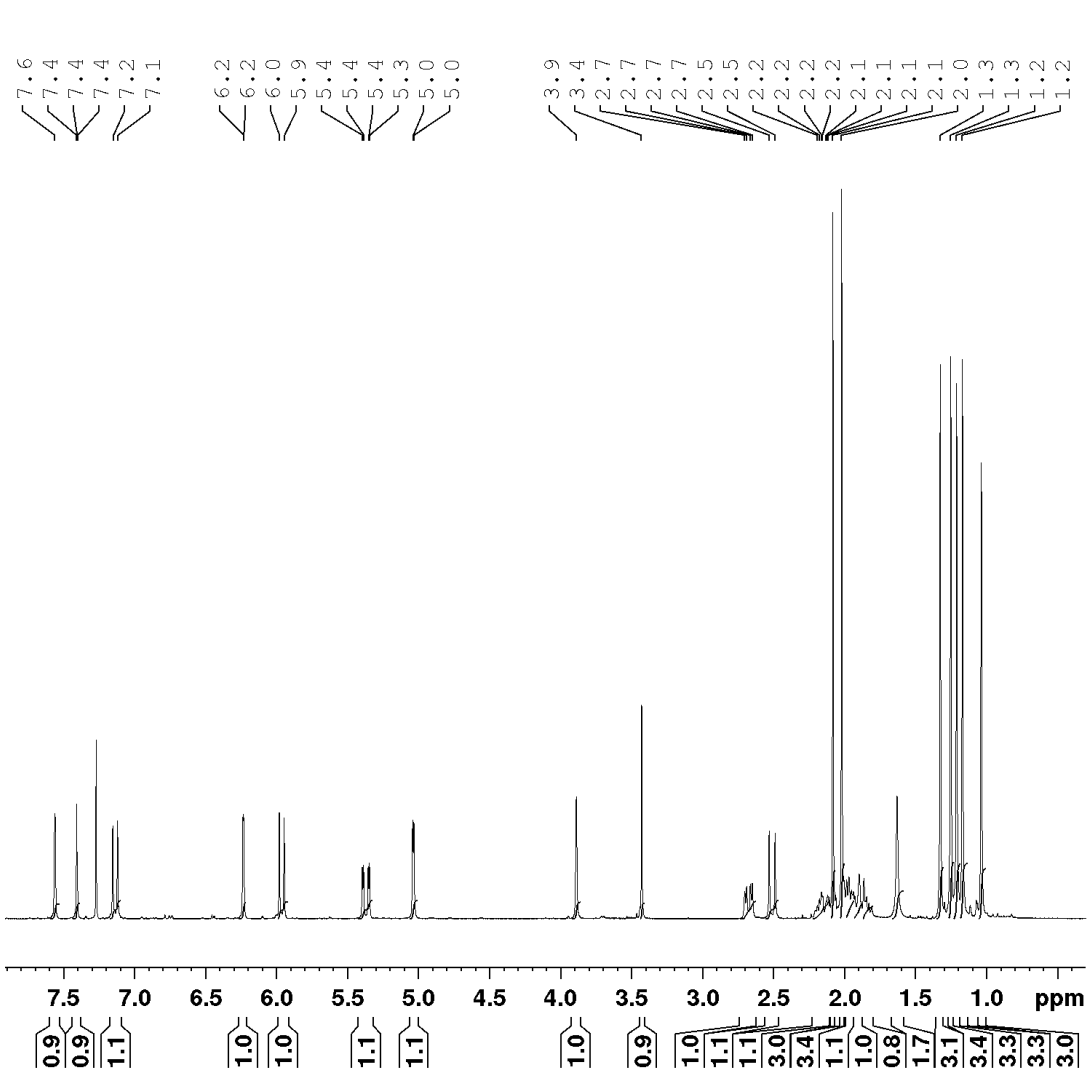
Acquisition Parameter					
Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	4.0 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	150 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	9.5 l/min
Scan End	900 m/z	Set Collision Cell RF	100.0 Vpp	Set Divert Valve	Waste





Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
525.2496	1	M+H	C30H37O8	525.2483	-2.4	6.4	66.28

ANEXO 14. UFLC/HRMS-ESI da 6α-acetoxiazaradiona (**33**)






```
Current Data Parameters
NAME      Gustavo_IC_1GS39E
EXPNO                    1
PROCNO                   1

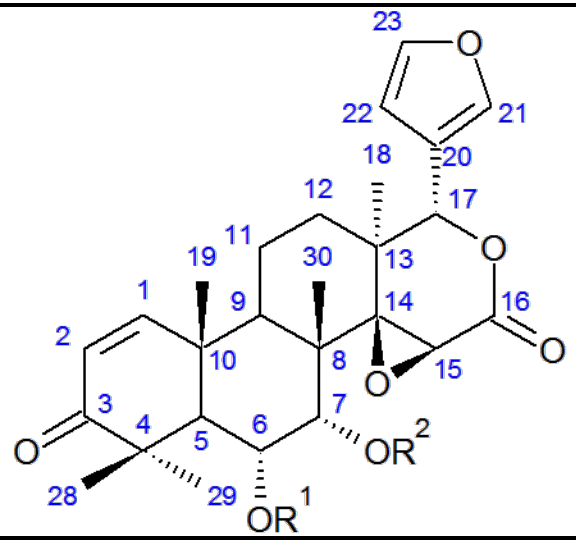
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20160615
Time                9.43
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                 zg
TD                  65536
SOLVENT             CDCl3
NS                     32
DS                      0
SWH              6103.516 Hz
FIDRES           0.093132 Hz
AQ               5.3687091 sec
RG                 16.3404
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                961.2 K
D1             1.00000000 sec
TD0                     1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P1                   7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                  65536
SF           300.2000000 MHz
WDW                    EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.00
```

ANEXO 15. Espectro de RMN de ^{1}H da 6α-acetoxiazaradiona (**33**)

ANEXO 16. Tabela dos sinais de RMN de ^{1}H e ^{13}C das substâncias 6α-hidroxidesacetilgedunina, 10.1.1 e 10.1.2



10.1: R^1= OH; R^2= H.
10.1.1: R^1= $CO(CH_2)_5CH_3$; R^2= H.
10.1.1: R^1= COC_6H_5; R^2= H.
10.1.1: R^1= $CO(CH_2)_2CH_3$; R^2= H.

H/C[a]	6α-hidroxidesacetilge-dunina (**10.1**)		**10.1.1**		**10.1.2**		**10.1.3**
	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$(*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{e}$ (*J*, Hz)
1	7,26 d(10)	158,5	7,06 d(10)	156,8	7,1 d (10)	156,8	7,06 d(10)
2	6,08 d(10)	126,2	5,91 d(10)	126,3	5,95 d (10)	126,4	5,91 d(10)
3	-	206,0	-	204,5	-	204,2	-
4	-	46,1	-	40,7	-	45	-

5		2,92 d(12)	48,8	2,73 d(12)	46,6	2,93 d (13)	46,9	2,74 d(12)
6	α	-	68,6	-	71,9	-	72,7	-
	β	4,39 dd(12;2)		5,32 *dd* (12; 2)		5,66 dd(13; 2)		5,33 dd(12,2)
7	α	-	75,1	-	72,0	-	72,1	-
	β	3,78 sl		3,45 *d* (2)		3,56 d(2)		3,47 sl
8		-	44,0	-	43,4	-	43,6	-
9		2,80 dd(12;6)	37,4	2,58 dd(12; 6)	36,7	2,66 dd(12;6)	36,7	2,59 dd(12;6)
10		-	40,9	-	44,9	-	40,8	-
11	α	1,94 m	15,3	1,96 m	15,0	2,0 m	13,8	1,95 m
	β	1,75 m		1,86 m		1,85 m		1,69 m
12	α	1,52 m	26,7	1,56 m	26,1	1,62 m	24,6	1,53 m
	β	1,62 m		1,75 m		1,74 m		1,83 m
13		-	38,6	-	38,3	-	38,4	-
14		-	71,0	-	69,7	-	69,8	-
15		4,45 s	58,6	3,87 s	58,0	3,82 s	57,9	3,89 s

16	-	168,8	-	168,0	-	165,4	-
17	5,89 s	78,9	5,61 s	78,4	5,61 s	78,5	5,61 s
18	1,20 s	18,4	1,25 s	17,9	1,28s	17,9	1,20 s
19	1,16 s	21,8	1,19 s	21,5	1,18 s	21,6	1,16 s
20	-	121,8	-	120,5	-	120,5	-
21	7,79 sl	142,0	7,42 sl	141,2	7,42 m	143,0	7,42 m
22	6,59 sl	110,8	6,34 m	109,9	6,35 t (1)	109,8	6,34 m
23	7,71 t(2)	143,7	7,41 sl	143,0	7,43 m	141,0	7,07 m
28	1,72 s	32,5	1,27 s	31,7	1,38 s	31,9	1,28 s
29	1,77 s	21,0	1,16 s	20,9	1,19 s	20,7	1,24 s
30	1,51 s	18,2	1,18 s	17,8	1,18 s	17,8	1,51 s
6^1	-	-	-	172,6	-	168,1	-
6^2	-	-	2,39 m	34,8	8,1 m (Ar-H_o)	129,8	2,33 m
6^3	-	-	1,65 m	24,7	7,6 m (Ar-H_p)	133,9	1,68 m
6^4	-	-	1,31 m	31,4	7,5 m (Ar-H_m)	128,5	1,0 t(7)

6^5	-	-	1,31 m	28,8	-	-	-
6^6	-	-	1,31 m	22,5	-	-	-
6^7	-	-	0,90 m	14	-	-	-

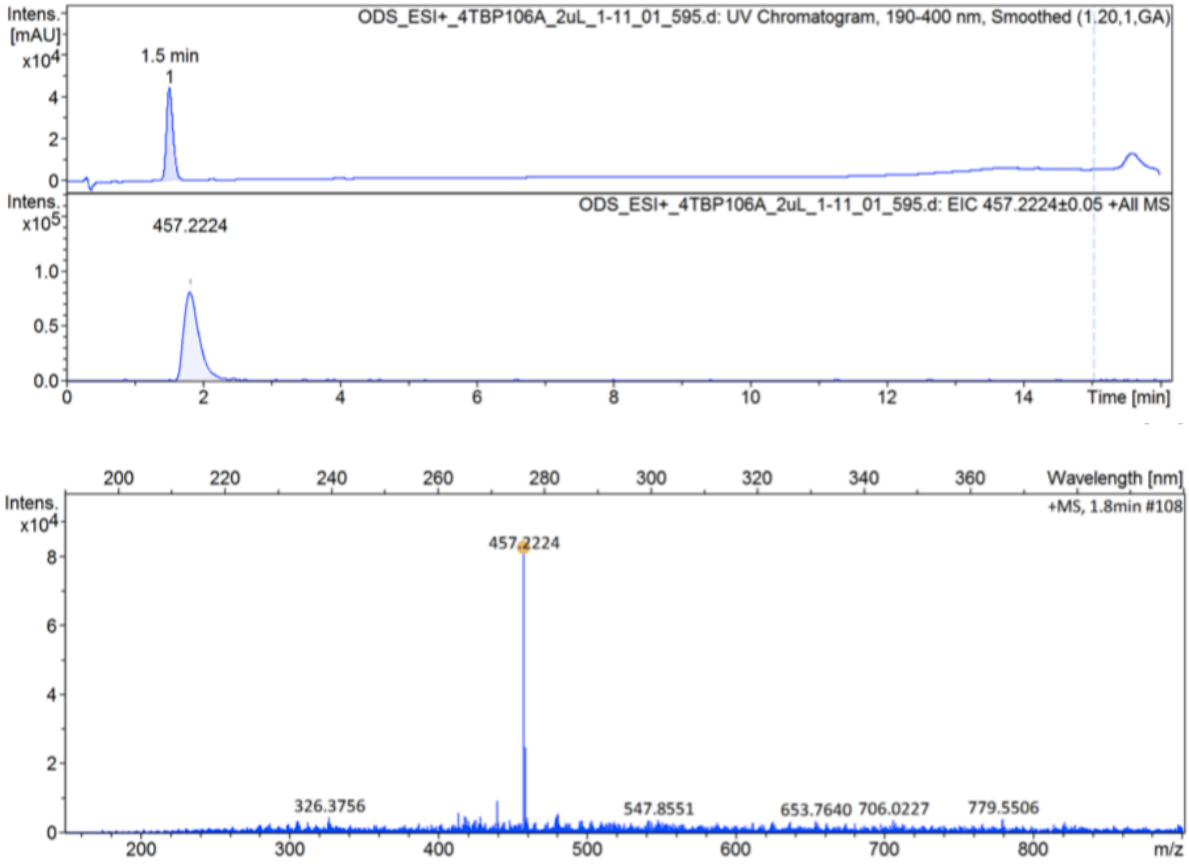
[a] Posição dos hidrogênios e carbonos dos ésteres.
[b] RMN ^1H 300 MHz, $CDCl_3$
[c] RMN ^{13}C 75 MHz, $CDCl_3$

Analysis Info Acquisition Date 4/26/2016 4:33:52 PM

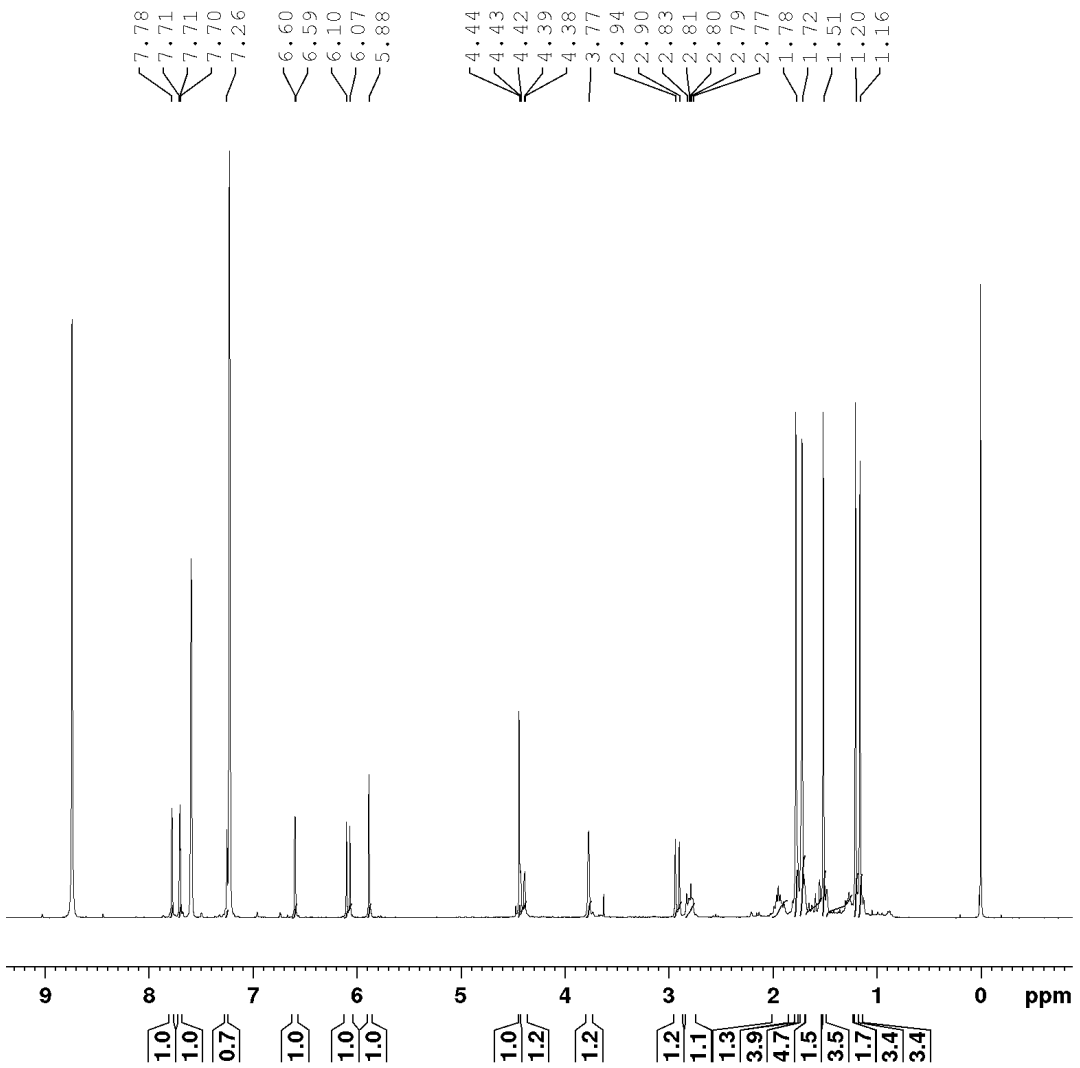
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2016\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\ODS_ESI+_4TBP106A_2uL_1-11_01_595.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_150-900_15-16.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP106A_2uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm		

Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2779psi;C=1mg/mL (ACN);Inj=2uL;
A(H2O+0.1%HCOOH)/B(ACN+0,1%HCOOH)
0-10m-50%
10-12m-50-100%
12-14m - 100%
14-15m - 100-50%
15-16m - 50%
injetor: ACN
Calib.:HCOONa 10mM_end

Meas. m/z	#	Ion Formula	Adduct	m/z	err [ppm]	mSigma
457.2224	1	C26H33O7	M+H	457.2221	-0.6	9.5



ANEXO 17. UFLC/HRMS-ESI da 6α-hidroxidesacetilgedunina.





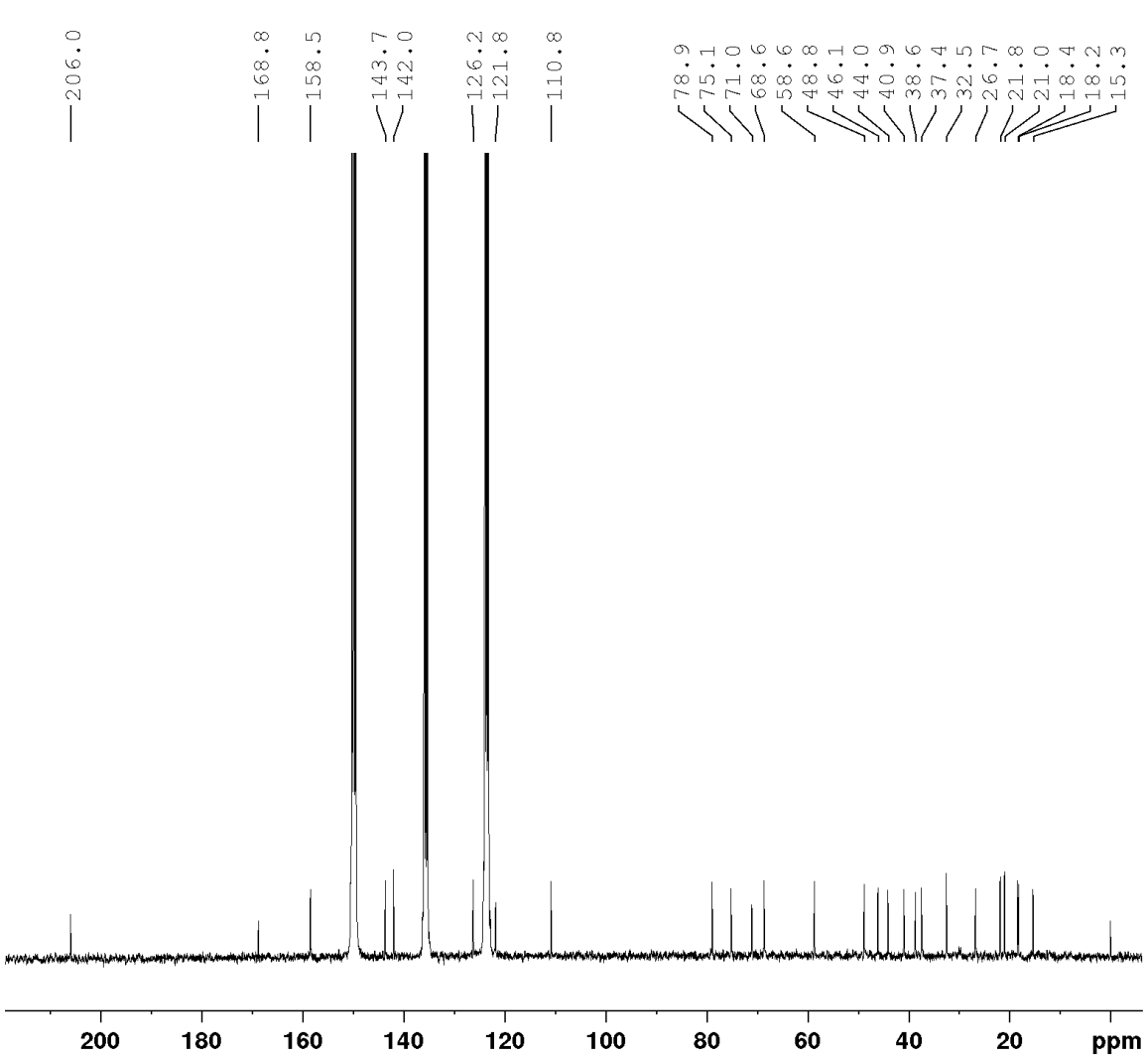

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_1GS35I
EXPNO                 11
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180424
Time              16.24
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgcppr
TD                65536
SOLVENT         Pyridine
NS                   28
DS                    4
SWH            6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ             5.3687091 sec
RG              31.3469
DW               81.920 usec
DE               10.00 usec
TE               292.7 K
D1            2.00000000 sec
D12           0.00002000 sec
P41        2000000.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2018931 MHz
NUC1                 1H
P1                 7.64 usec
PLW1        20.00000000 W
PLW9         0.00004670 W

F2 - Processing parameters
SI                65536
SF           300.2003235 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                0.30 Hz
GB        0
PC                1.00
```

ANEXO 18. Espectro de RMN de ^{1}H da 6α-hidroxidesacetilgedunina




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_1GS35I
EXPNO                  2
PROCNO                 1

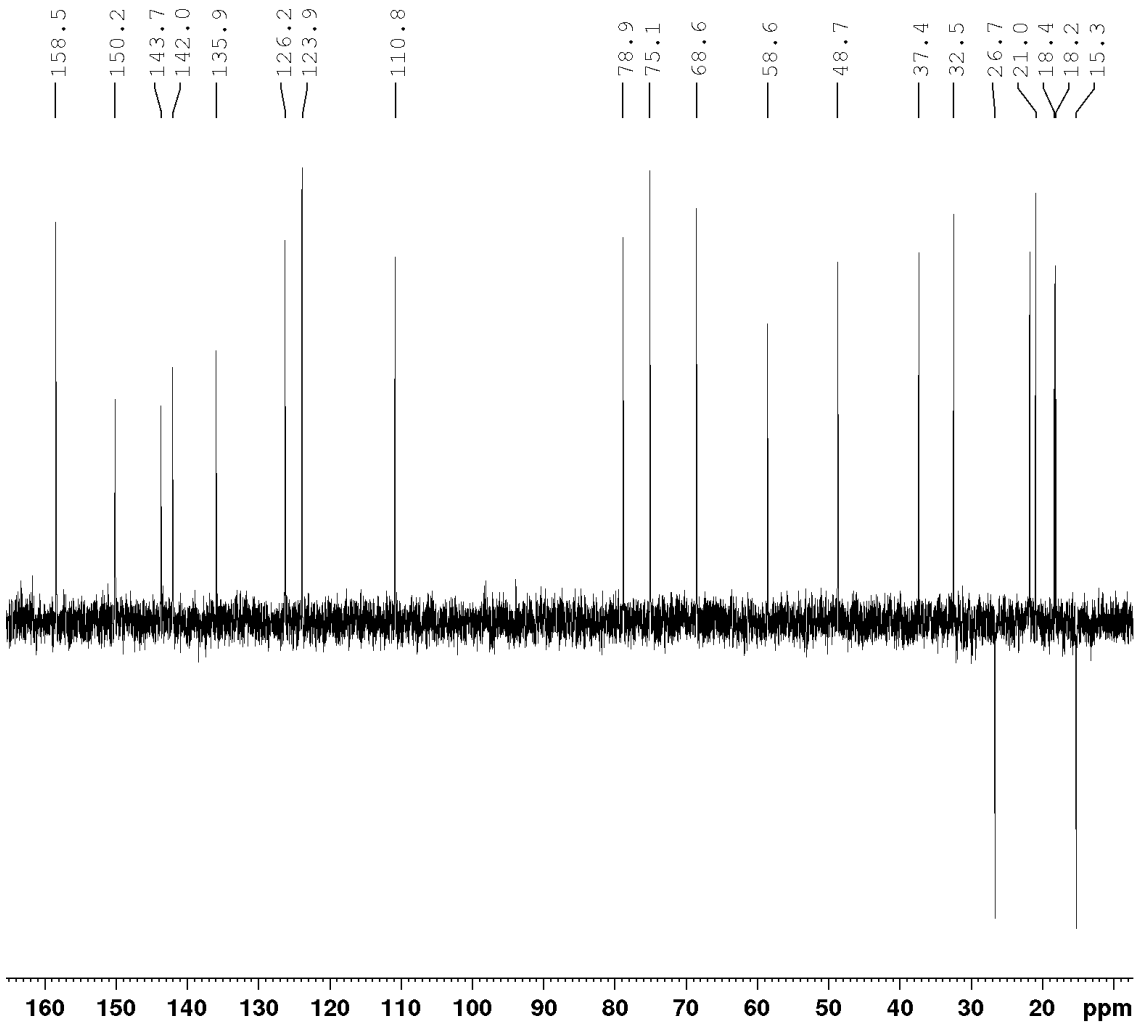
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180424
Time               22.37
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          zgpg30
TD                32768
SOLVENT         Pyridine
NS                22528
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE                294.7 K
D1           0.10000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.03084430 sec
L4                   20
L5                    2
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928982 MHz
NUC1                13C
P1                 8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.16806000 W
PLW13        0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4854154 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                3.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 19. Espectro de RMN de ^{13}C da 6α-hidroxidesacetilgedunina.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_1GS35I
EXPNO                  4
PROCNO                 1

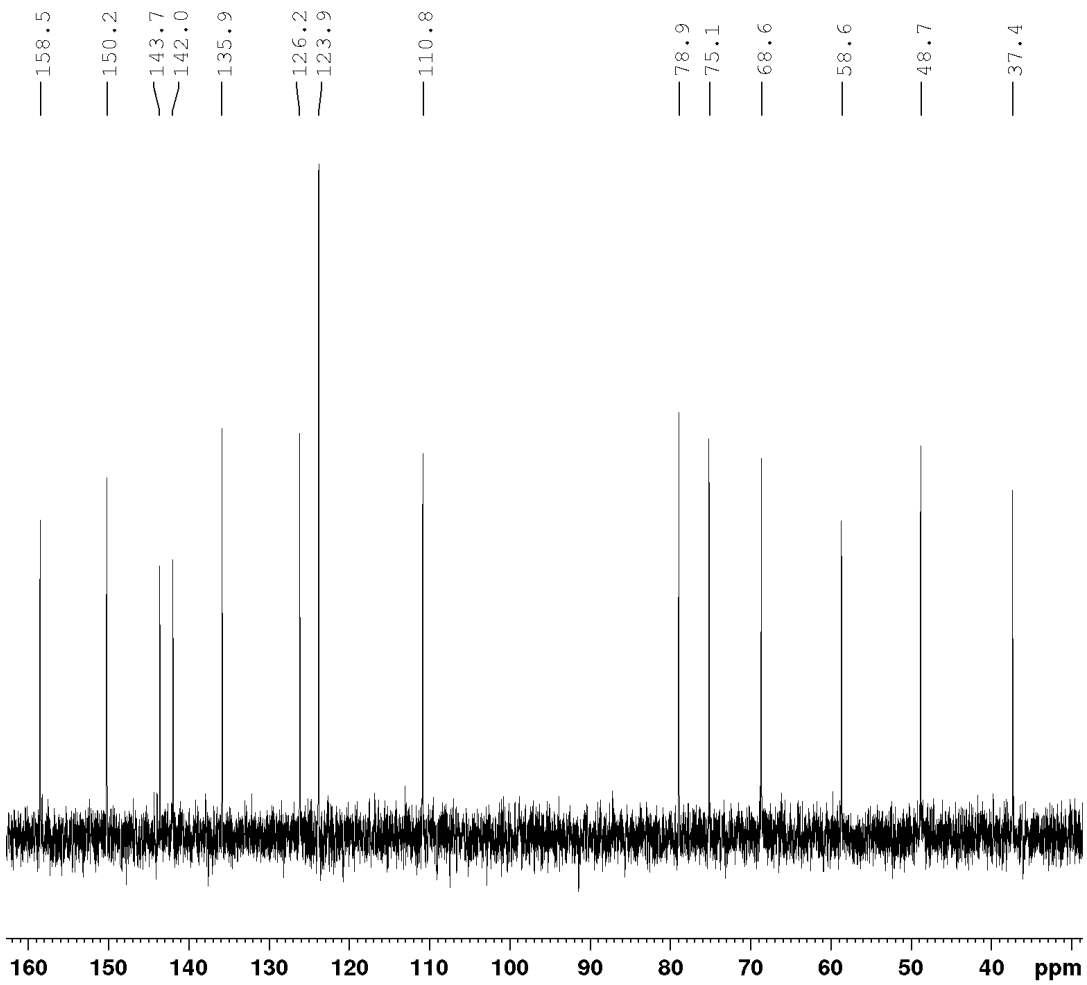
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180424
Time               20.34
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                 65536
SOLVENT         Pyridine
NS                 3072
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                294.5 K
CNST2        145.0000000
D1             1.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D14            0.00001114 sec
D33            0.00000825 sec
D34            0.00344053 sec
D35            0.00345340 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928978 MHz
NUC1                 13C
P1                  8.75 usec
P2                 17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                  8.25 usec
P4                 16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4854158 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                  1.00 Hz
GB        0
PC                  1.40
```

ANEXO 20. DEPT 135º da 6α-hidroxidesacetilgedunina.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_1GS35I
EXPNO                  3
PROCNO                 1

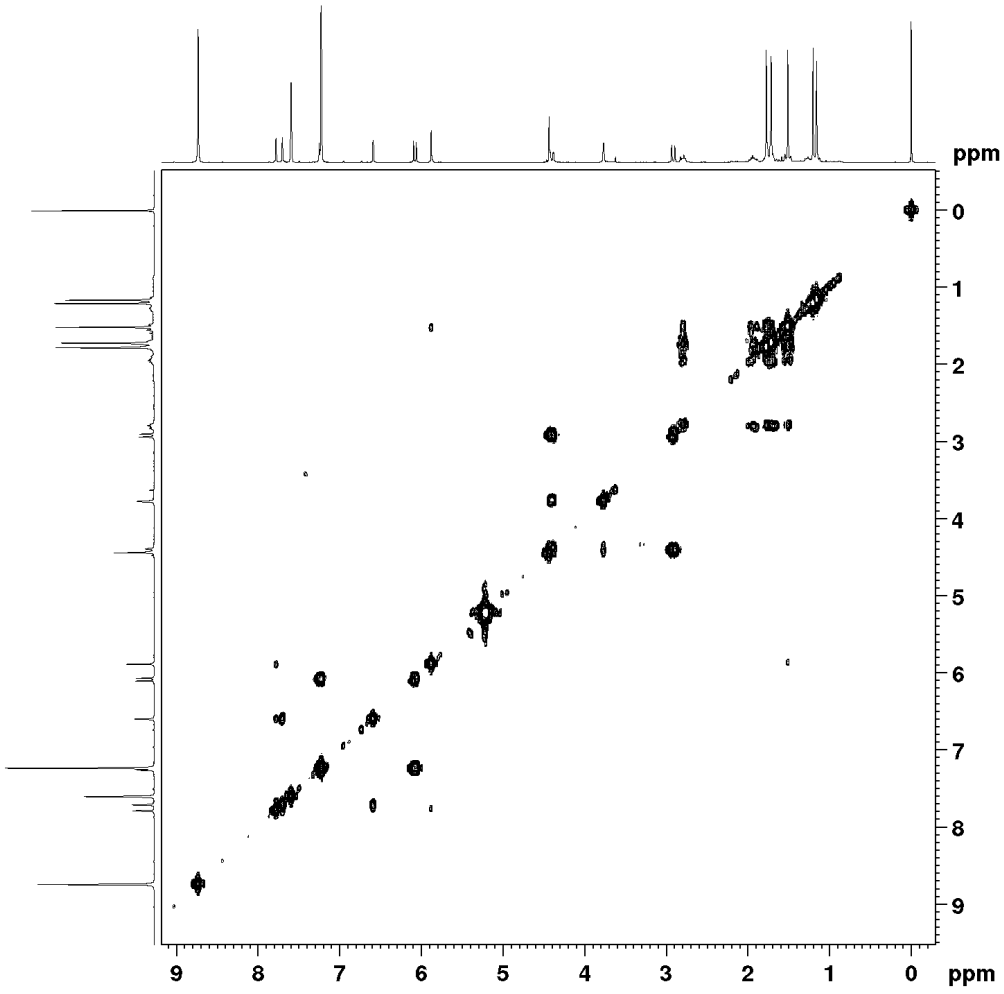
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180424
Time              19.33
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept90
TD                65536
SOLVENT         Pyridine
NS                 1064
DS                    4
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               199.526
DW              20.480 usec
DE              10.00 usec
TE                293.9 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345753 sec
L4                    40
P32             90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928978 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
P2               17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2         waltz16
P3                8.25 usec
P4               16.50 usec
PCPD2            90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4854158 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 21. DEPT 90º da 6α-hidroxidesacetilgedunina.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_1GS35I
EXPNO               100
PROCNO                1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20180424
Time             16.29
INSTRUM      FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG         cosygpqf
TD                2048
SOLVENT        Pyridine
NS                  36
DS                  16
SWH           6103.516 Hz
FIDRES        2.980232 Hz
AQ           0.1677722 sec
RG              24.9249
DW               81.920 usec
DE                10.00 usec
TE               292.8 K
D0           0.00000300 sec
D1           1.00000000 sec
D13          0.00000400 sec
D16          0.00020000 sec
IN0          0.00016380 sec

-------- CHANNEL f1 --------
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                1H
P0                 7.64 usec
P1                 7.64 usec
PLW1        20.00000000 W

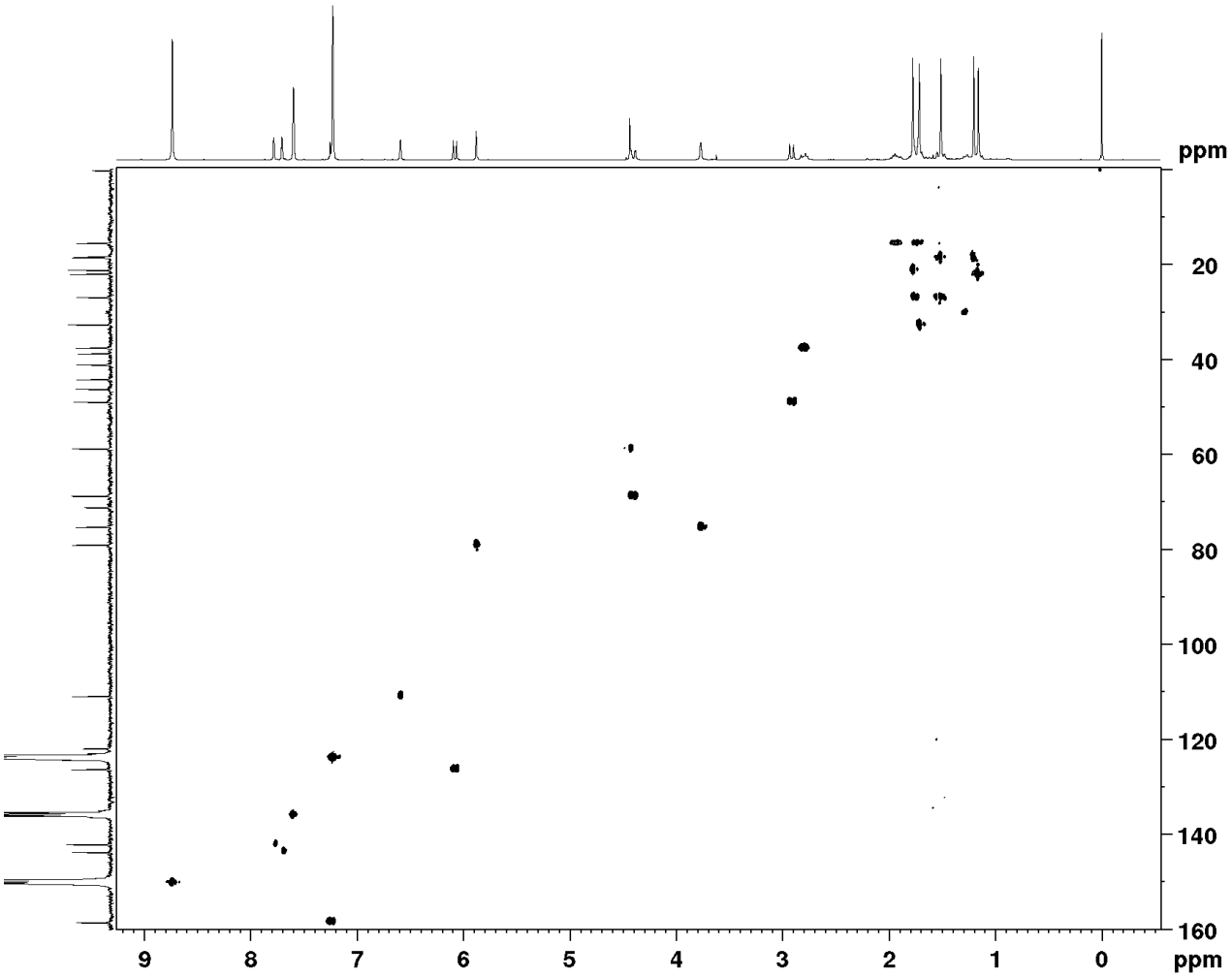
------ GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1]        SINE.100
GPZ1               10.00 %
P16              1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                  256
SFO1            300.202 MHz
FIDRES        47.695362 Hz
SW              20.336 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                 4096
SF           300.2003220 MHz
WDW               QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.40

F1 - Processing parameters
SI                 4096
MC2                QF
SF           300.2003245 MHz
WDW               QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 22. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H da 6α-hidroxidesacetilgedunina.



Current Data Parameters
NAME tiago18_1G8351
EXPNO 200
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180425
Time 3.35
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG hsqcedgpph
TD 2048
SOLVENT Pyridine
NS 60
DS 16
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 2.980232 Hz
AQ 0.1677722 sec
RG 501.187
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 294.9 K
CNST2 145.0000000
D0 0.00000300 sec
D1 1.00000000 sec
D4 0.00172414 sec
D11 0.03000000 sec
D13 0.00000400 sec
D16 0.00020000 sec
D21 0.00344828 sec
D31 0.00000764 sec
D32 0.00001528 sec
D33 0.00000930 sec
D34 0.00001860 sec
D36 0.00100000 sec
D38 0.00001745 sec
D41 0.00000166 sec
D42 0.00000332 sec
D43 0.00002128 sec
D44 0.00224428 sec
D45 0.00051614 sec
IN0 0.00003490 sec
L4 19
P35 75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P1 7.64 usec
P2 15.28 usec
PLW1 20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2 75.4921437 MHz
NUC2 13c
CPDPRG[2 garp
P3 9.30 usec
P4 18.60 usec
PCPD2 75.00 usec
PLW2 50.00000000 W
PLW12 0.80352998 W

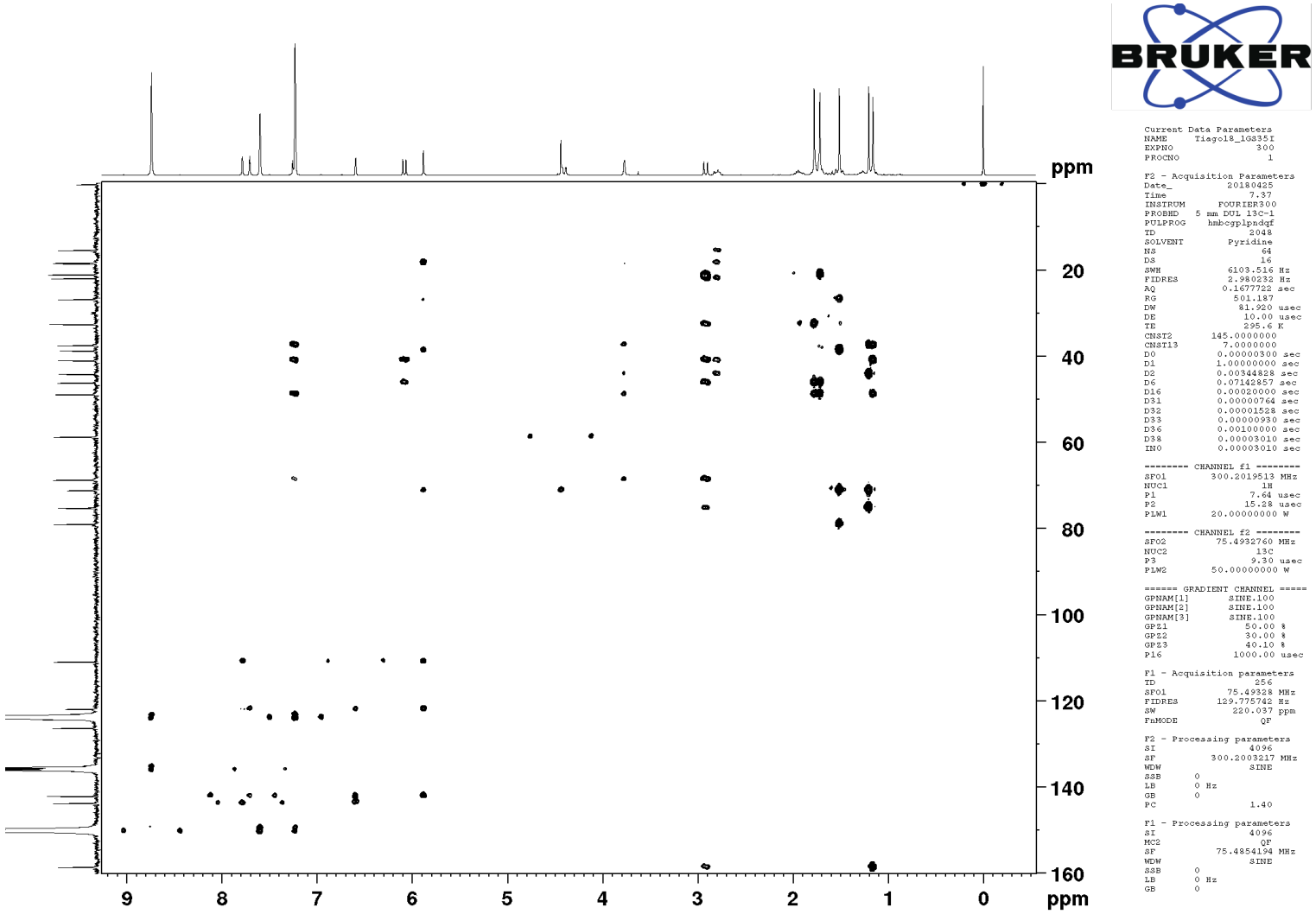
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] RECT.1
GPNAM[2] RECT.1
GPNAM[3] RECT.1
GPZ1 30.00 %
GPZ2 80.00 %
GPZ3 20.10 %
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD 202
SFO1 75.49214 MHz
FIDRES 141.847992 Hz
SW 189.777 ppm
FnMODE TPPI

F2 - Processing parameters
SI 2048
SF 300.2003226 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing parameters
SI 2048
MC2 TPPI
SF 75.4854139 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0

ANEXO 23. Espectro de HSQC da 6α-hidroxidesacetilgedunina.



Current Data Parameters
NAME Tiago18_1G335I
EXPNO 300
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180425
Time 7.37
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG hmbcgplpndqf
TD 2048
SOLVENT Pyridine
NS 64
DS 16
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 2.980232 Hz
AQ 0.1677722 sec
RG 501.187
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 295.6 K
CNST2 145.0000000
CNST13 7.0000000
D0 0.00000300 sec
D1 1.00000000 sec
D2 0.00344828 sec
D6 0.07142857 sec
D16 0.00020000 sec
D31 0.00000764 sec
D32 0.00001528 sec
D33 0.00000930 sec
D36 0.00100000 sec
D38 0.00003010 sec
IN0 0.00003010 sec

-------- CHANNEL f1 --------
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P1 7.64 usec
P2 15.28 usec
PLW1 20.00000000 W

-------- CHANNEL f2 --------
SFO2 75.4932760 MHz
NUC2 13C
P3 9.30 usec
PLW2 50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] SINE.100
GPNAM[2] SINE.100
GPNAM[3] SINE.100
GPZ1 50.00 %
GPZ2 30.00 %
GPZ3 40.10 %
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD 256
SFO1 75.49328 MHz
FIDRES 129.775742 Hz
SW 220.037 ppm
FnMODE QF

F2 - Processing parameters
SI 4096
SF 300.2003217 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

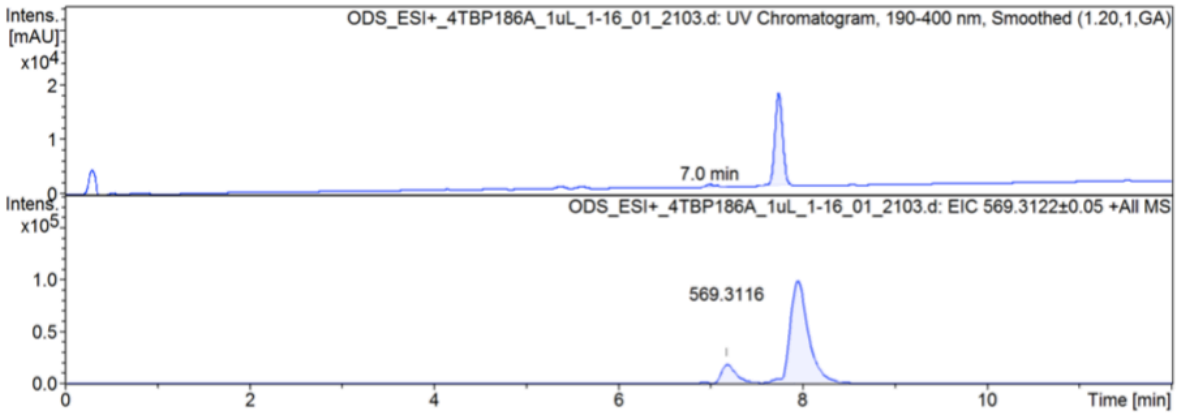
F1 - Processing parameters
SI 4096
MC2 QF
SF 75.4854194 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0 Hz
GB 0

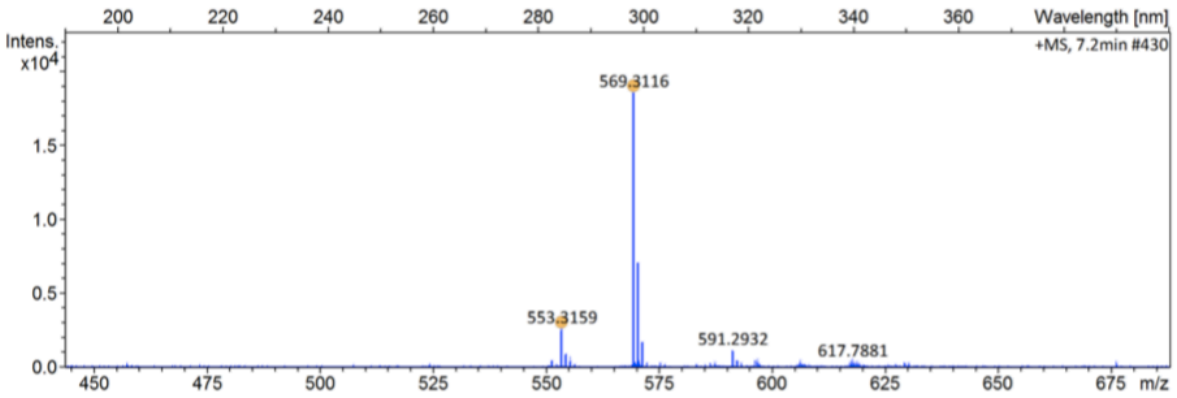
ANEXO 24. Espectro de HMBC da 6α-hidroxidesacetilgedunina.

Analysis Info Acquisition Date 2/1/2018 3:22:07 PM

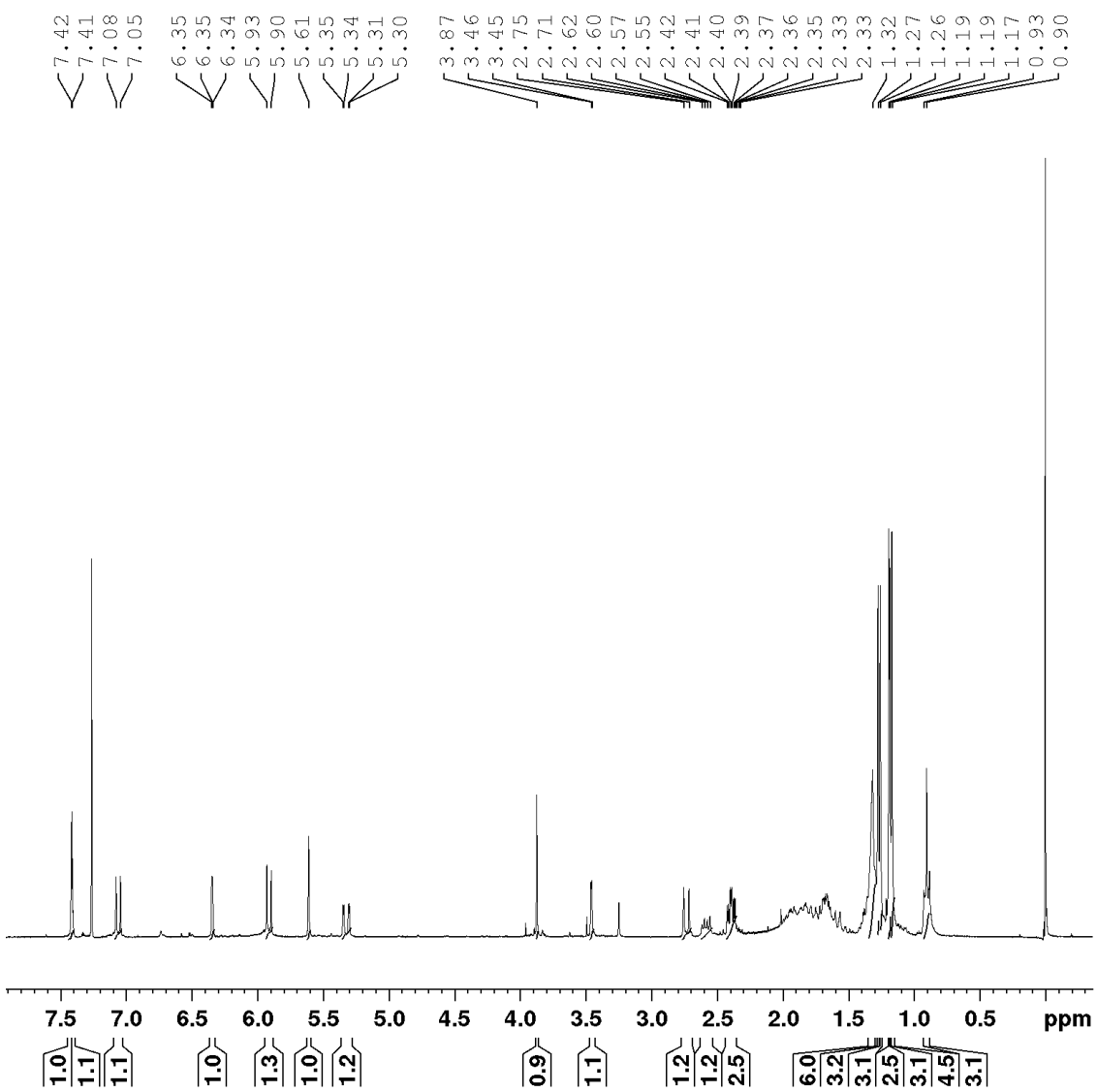
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP186A_1uL_1-16_01_2103.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP186A_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
553.3159	1	M+H	C33H45O7	553.3160	0.2	40.3
569.3116	1	M+H	C33H45O8	569.3109	-1.2	8.5





ANEXO 25. UFLC/HRMS-ESI do 10.1.1.



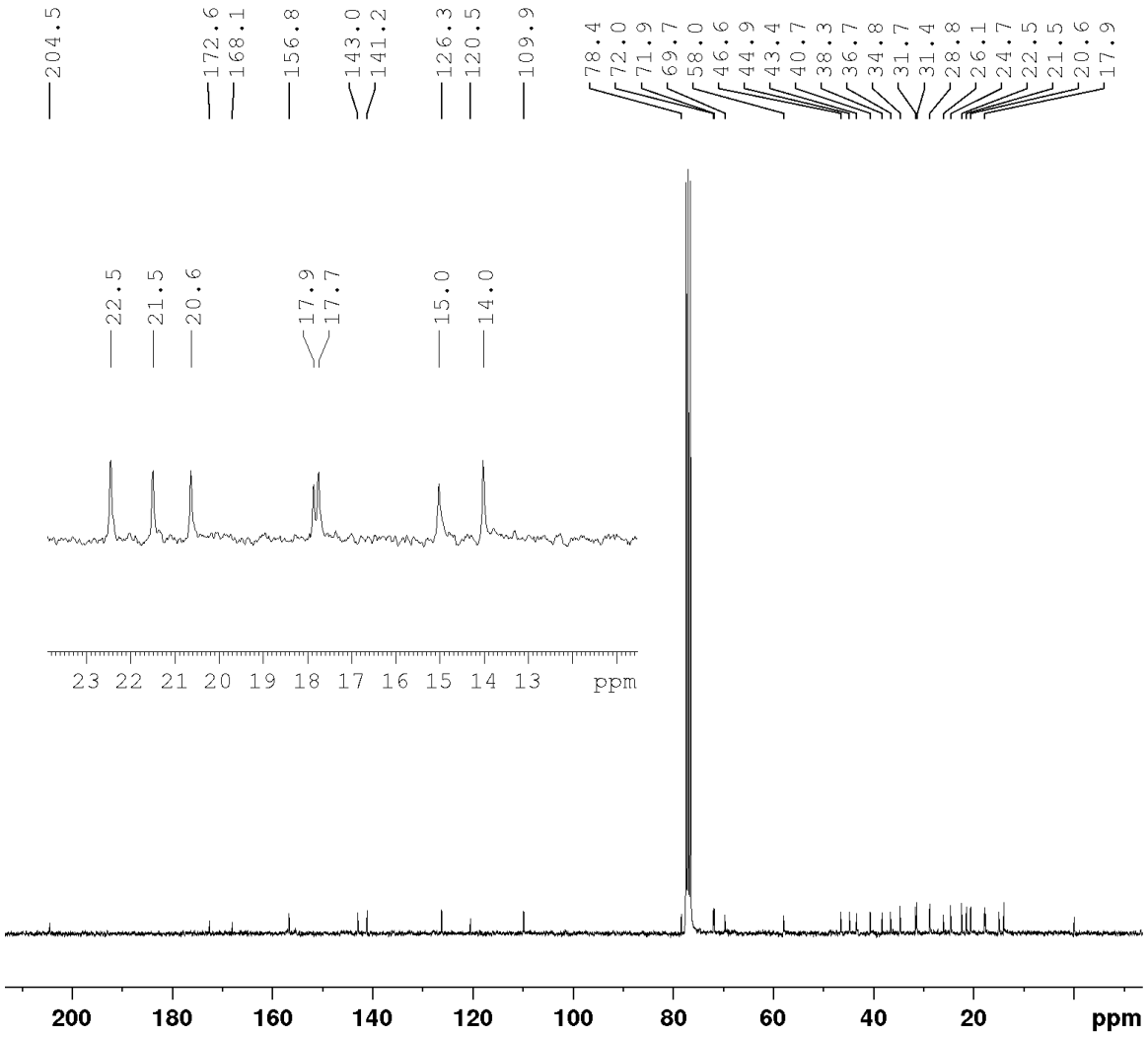

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP186A
EXPNO                    1
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180228
Time               11.32
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG               zg
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                    64
DS                     1
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ              5.3687091 sec
RG                22.1405
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                294.5 K
D1             1.00000000 sec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P1                  7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                 65536
SF            300.2000015 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                 1.00
```

ANEXO 26. Espectro de RMN de ^{1}H 10.1.1




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP186A
EXPNO                    2
PROCNO                   1

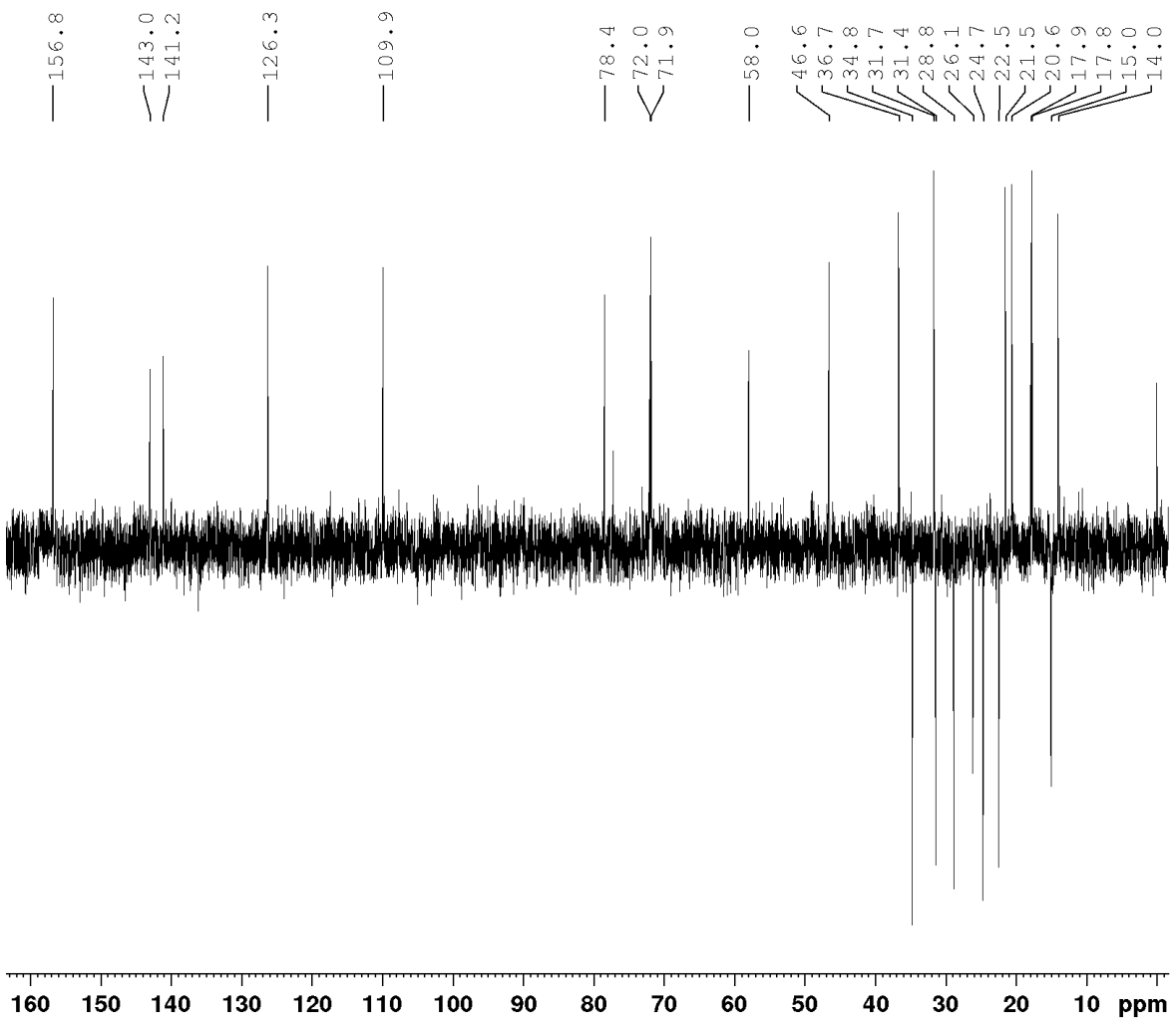
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180301
Time                3.28
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS                20104
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               296.3 K
D1            0.50000000 sec
D11           0.03000000 sec
D31           0.00000875 sec
D40           0.01589210 sec
L4                   20
L5                   14
P32               90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928982 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W
PLW13         0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                3.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 27. Espectro de RMN de ^{13}C do 10.1.1




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP186A
EXPNO                    4
PROCNO                   1

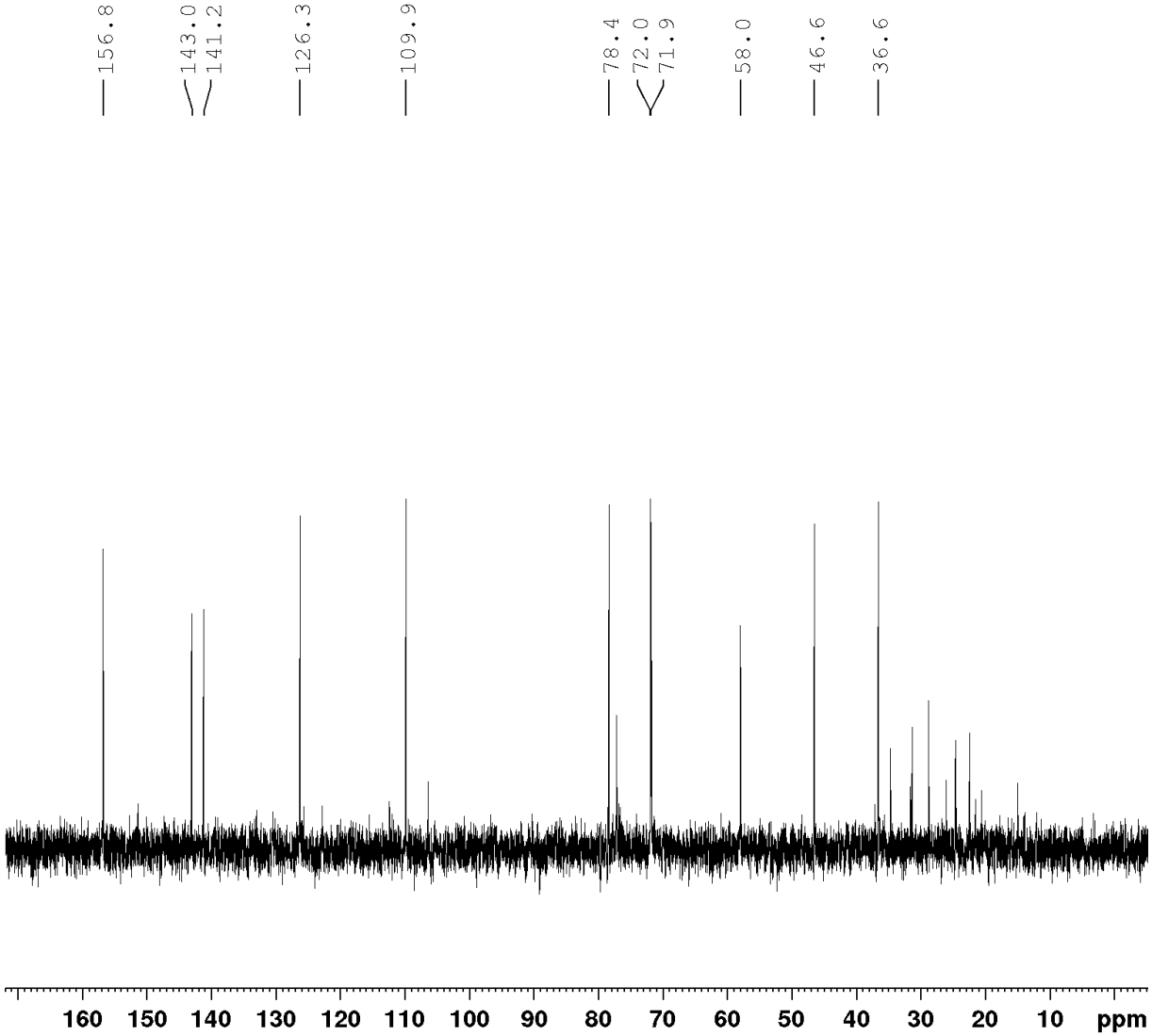
F2 - Acquisition Parameters
Date_            20180228
Time                11.40
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept135
TD                  65536
SOLVENT             CDCl3
NS                   2048
DS                      8
SWH            24414.062 Hz
FIDRES          0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                294.7 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345340 sec
L4                     40
P32                 90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2         waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                  1.00 Hz
GB        0
PC                  1.40
```

ANEXO 28. DEPT 135º do 10.1.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP186A
EXPNO                    3
PROCNO                   1

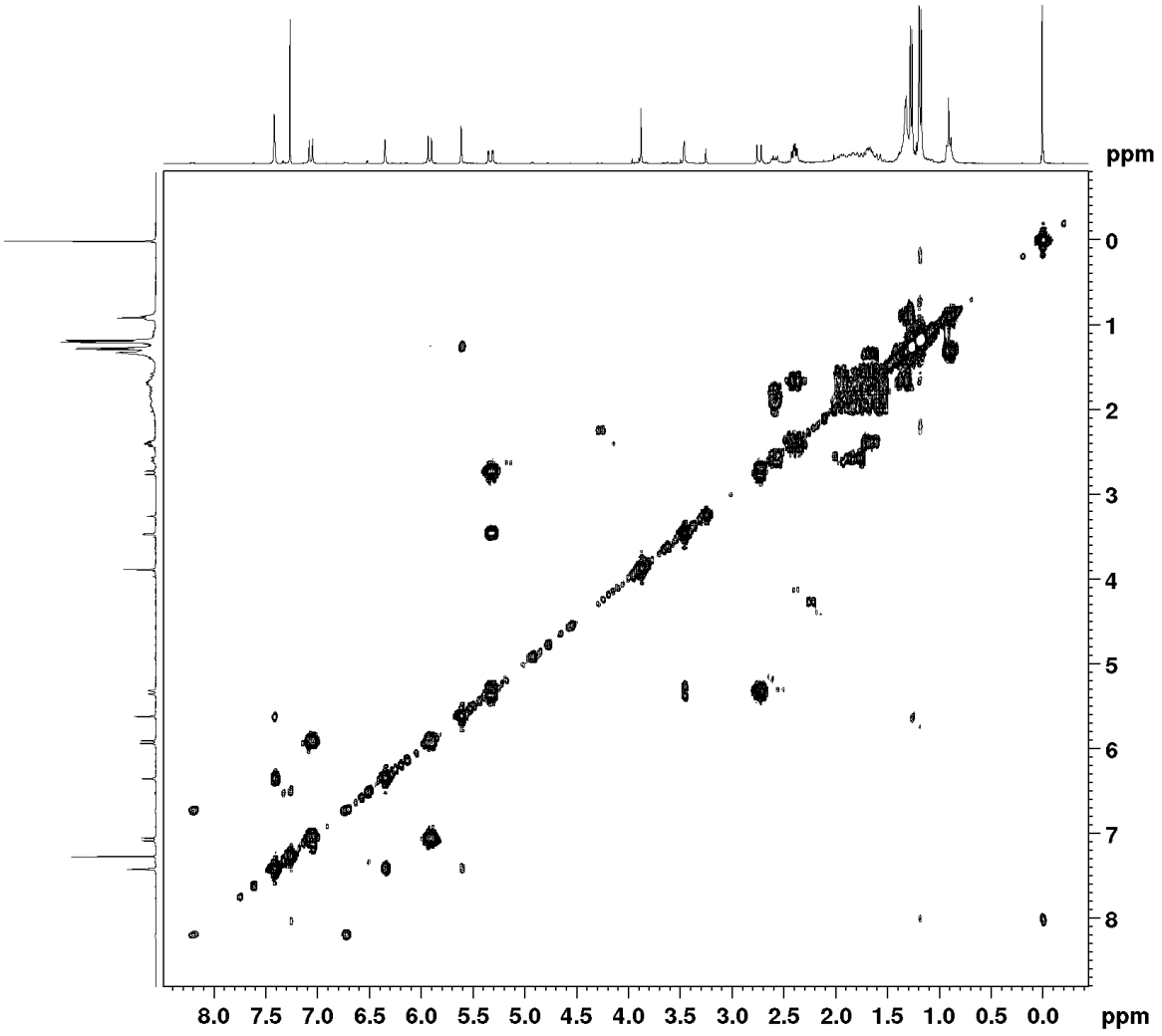
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180312
Time                9.33
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept90
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                  3072
DS                     4
SWH            24414.062 Hz
FIDRES          0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                293.1 K
CNST2         145.0000000
D1             2.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D12            0.00002000 sec
D14            0.00001114 sec
D33            0.00000825 sec
D34            0.00344053 sec
D35            0.00345753 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928986 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                 1.00 Hz
GB        0
PC                 1.40
```

ANEXO 29. DEPET 90º do 10.1.1.






```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP186A
EXPNO                  100
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20180228
Time                13.36
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          cosygpqf
TD                   2048
SOLVENT              CDCl3
NS                     32
DS                     16
SWH              6103.516 Hz
FIDRES           2.980232 Hz
AQ               0.1677722 sec
RG                  62.084
DW                  81.920 usec
DE                  10.00 usec
TE                  295.7 K
D0               0.00000300 sec
D1               1.00000000 sec
D13              0.00000400 sec
D16              0.00020000 sec
IN0              0.00016380 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                     1H
P0                    7.88 usec
P1                    7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

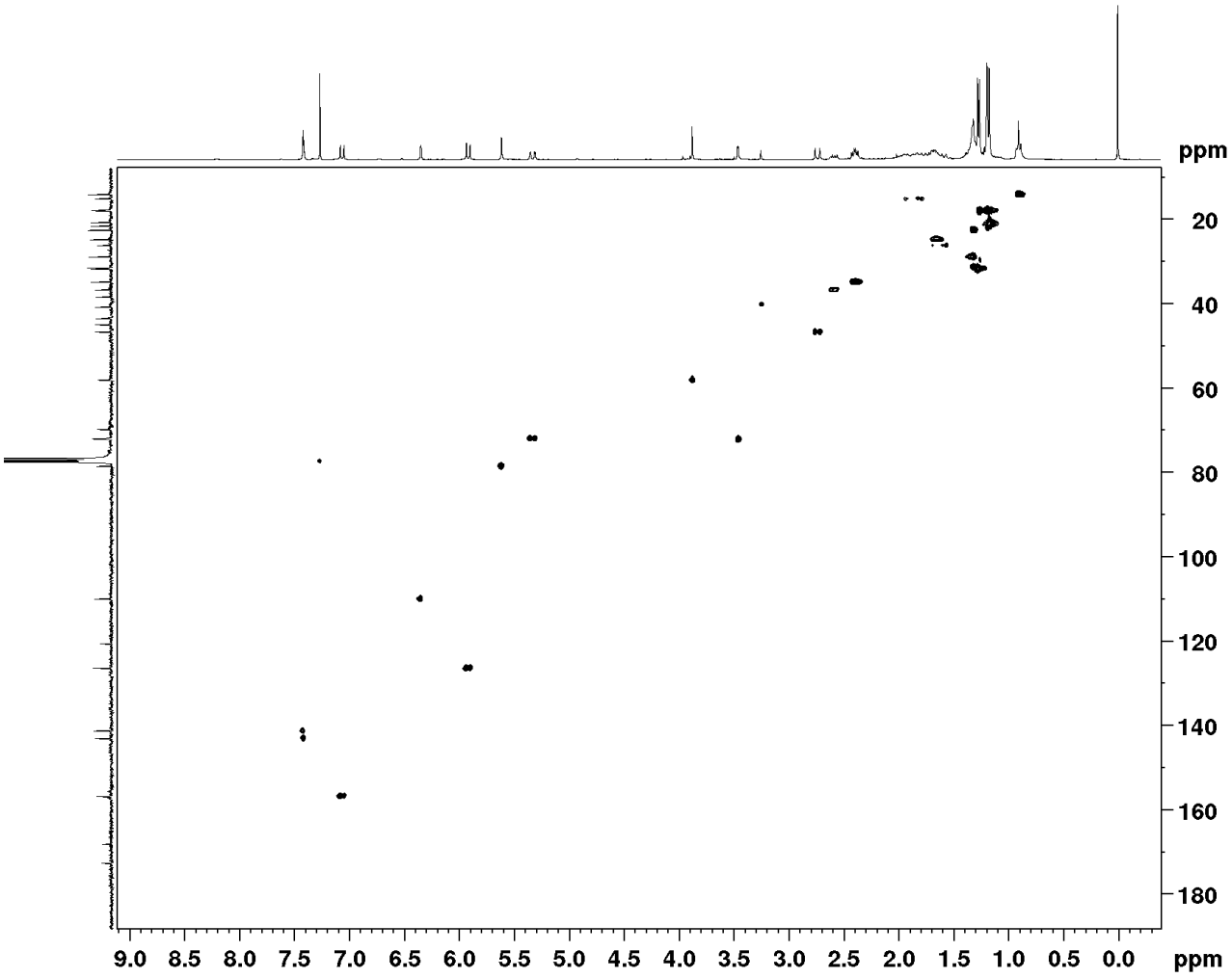
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]         SINE.100
GPZ1                10.00 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                     256
SFO1              300.202 MHz
FIDRES          47.695362 Hz
SW                 20.336 ppm
FnMODE                  QF

F2 - Processing parameters
SI                     4096
SF            300.2000000 MHz
WDW                  QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                     1.40

F1 - Processing parameters
SI                     2048
MC2                    QF
SF            300.2000000 MHz
WDW                  QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 30. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 10.1.1.






```
NAME       Tiago18_4TBP186A
EXPNO                   200
PROCNO                    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_               20180228
Time                   16.34
INSTRUM            FOURIER300
PROBHD     5 mm DUL 13C-1
PULPROG            hsqcgpph
TD                      2048
SOLVENT                CDCl3
NS                       128
DS                        16
SWH                 6103.516 Hz
FIDRES              2.980232 Hz
AQ                  0.1677722 sec
RG                     501.187
DW                    81.920 usec
DE                    10.00 usec
TE                    293.7 K
CNST2              145.00000000
D0                  0.00000300 sec
D1                  1.00000000 sec
D4                  0.00172414 sec
D11                 0.03000000 sec
D13                 0.00000400 sec
D16                 0.00020000 sec
D31                 0.00000788 sec
D32                 0.00001576 sec
D33                 0.00000930 sec
D34                 0.00001860 sec
D36                 0.00100000 sec
D37                 0.00000071 sec
D38                 0.00001520 sec
D42                 0.00000142 sec
D43                 0.00002176 sec
D44                 0.00120000 sec
D45                 0.00051614 sec
IN0                 0.00003040 sec
L4                          19
P35                   75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1               300.2019513 MHz
NUC1                       1H
P1                     7.88 usec
P2                    15.76 usec
PLW1               20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2                75.4932760 MHz
NUC2                       13C
CPDPRG[2                  garp
P3                     9.30 usec
P4                    18.60 usec
PCPD2                 75.00 usec
PLW2               50.00000000 W
PLW12               0.80352998 W

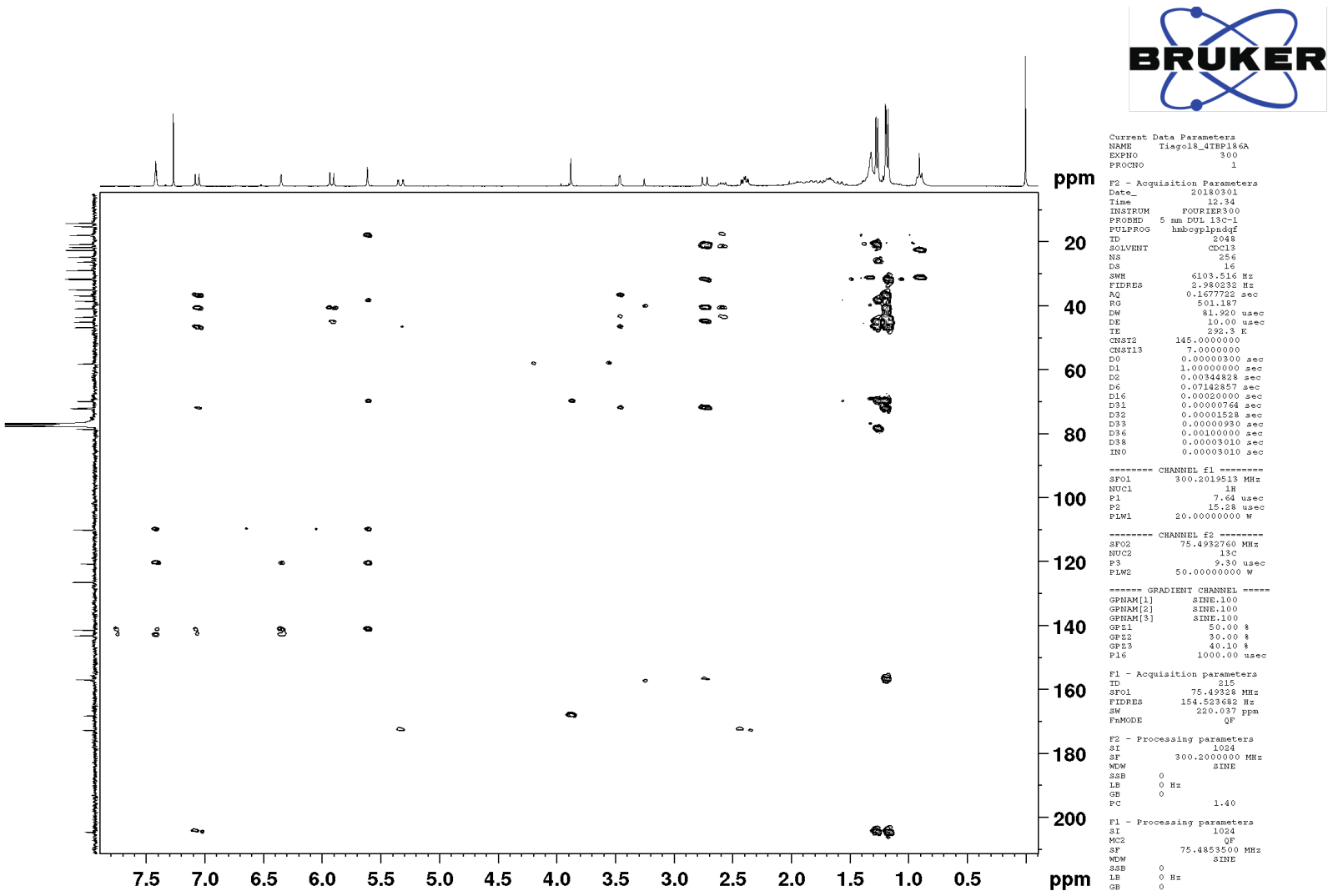
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]            SINE.100
GPNAM[2]            SINE.100
GPNAM[3]            SINE.100
GPZ1                  80.00 %
GPZ2                  30.00 %
GPZ3                  20.10 %
P16                 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                       256
SFO1                75.49328 MHz
FIDRES             128.495071 Hz
SW                  217.865 ppm
FnMODE                   TPPI

F2 - Processing parameters
SI                       4096
SF                300.2000000 MHz
WDW                     QSINE
SSB                         2
LB          0 Hz
GB          0
PC                      1.40

F1 - Processing parameters
SI                       2048
MC2                      TPPI
SF                75.4853500 MHz
WDW                     QSINE
SSB                         2
LB          0 Hz
GB          0
```

ANEXO 31. Espectro de HSQC do 10.1.1



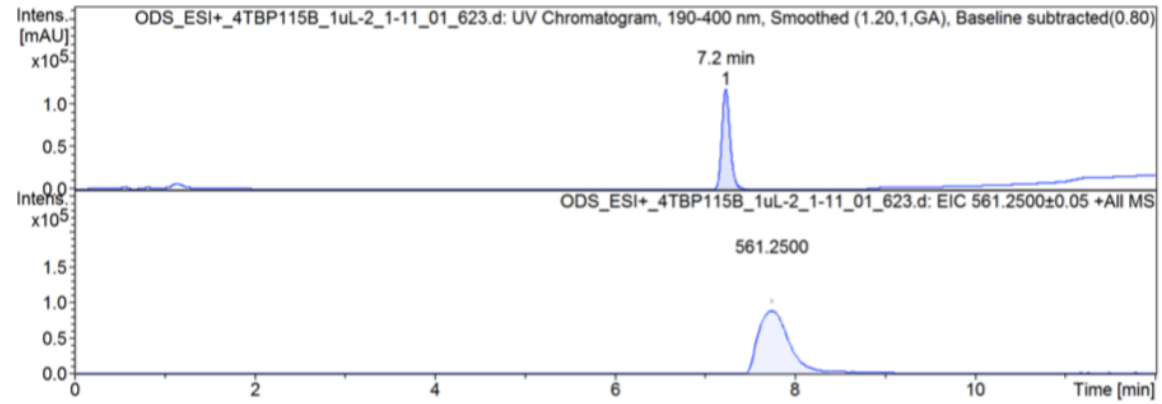
ANEXO 32. Espectro HMBC do 10.1.1.

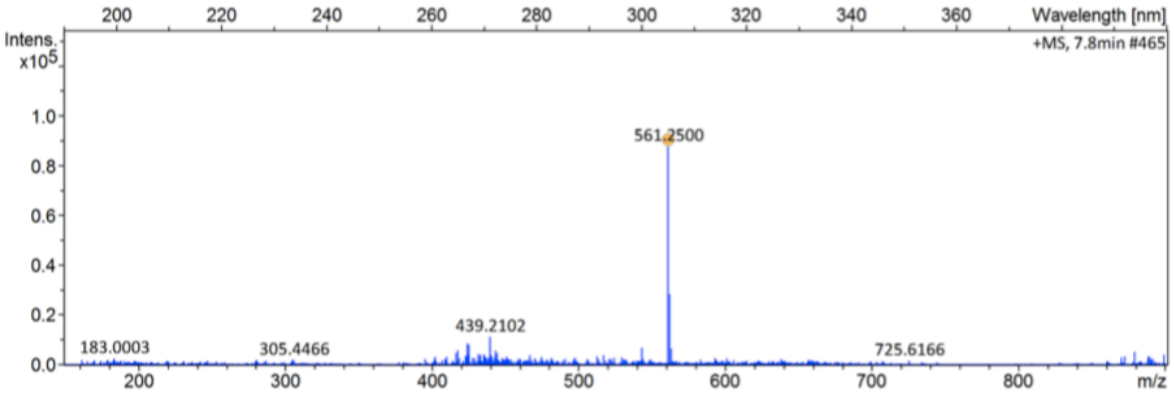
Analysis Info Acquisition Date 5/19/2016 10:58:07 AM

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2016\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\ODS_ESI+_4TBP115B_1uL-2_1-11_01_623.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_150-900_15-16.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP115B_1uL-2	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm		

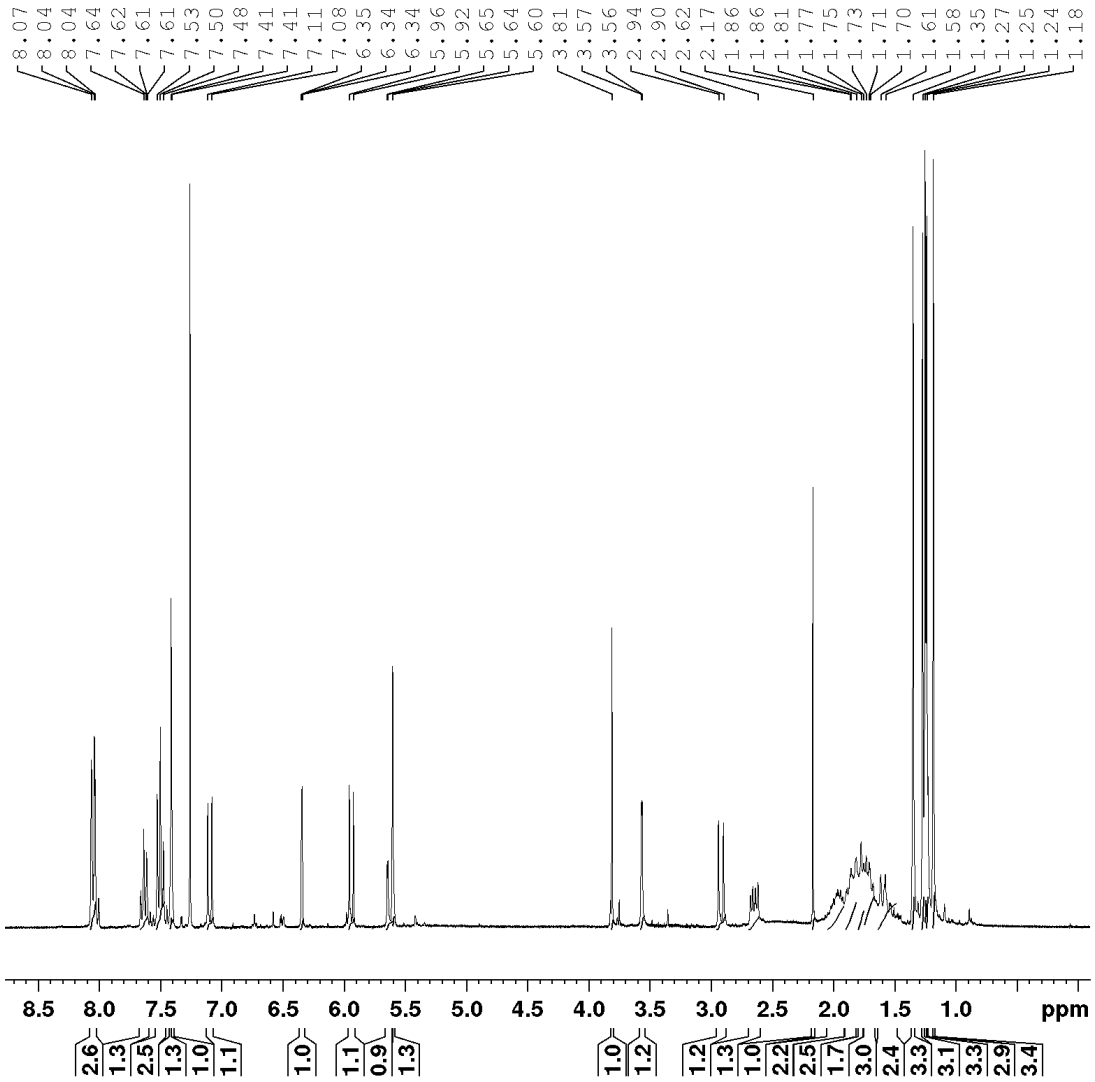
Flx=0,25 mL/min[Split de 0,0375 mL(MS)/0,2125mL(desc)]; P:3269psi;C=1mg/mL (MeOH);Inj=1uL;
A(H2O_0.1%AF)/B(MeOH_0.1%AF)
0-10m_60-100%
10-12m_100%
12-14m_100-%
14-15m_100-60%
15-16m_60%
injetor: MeOH
Calib.:HCOONa 10mM_end

#	Ion Formula	Meas. m/z	Adduct	m/z	err [ppm]	mSigma
1	C33H37O8	561.2500	M+H	561.2483	-3.0	21.5





ANEXO 33. UFLC/HRMS-ESI do 10.1.2.



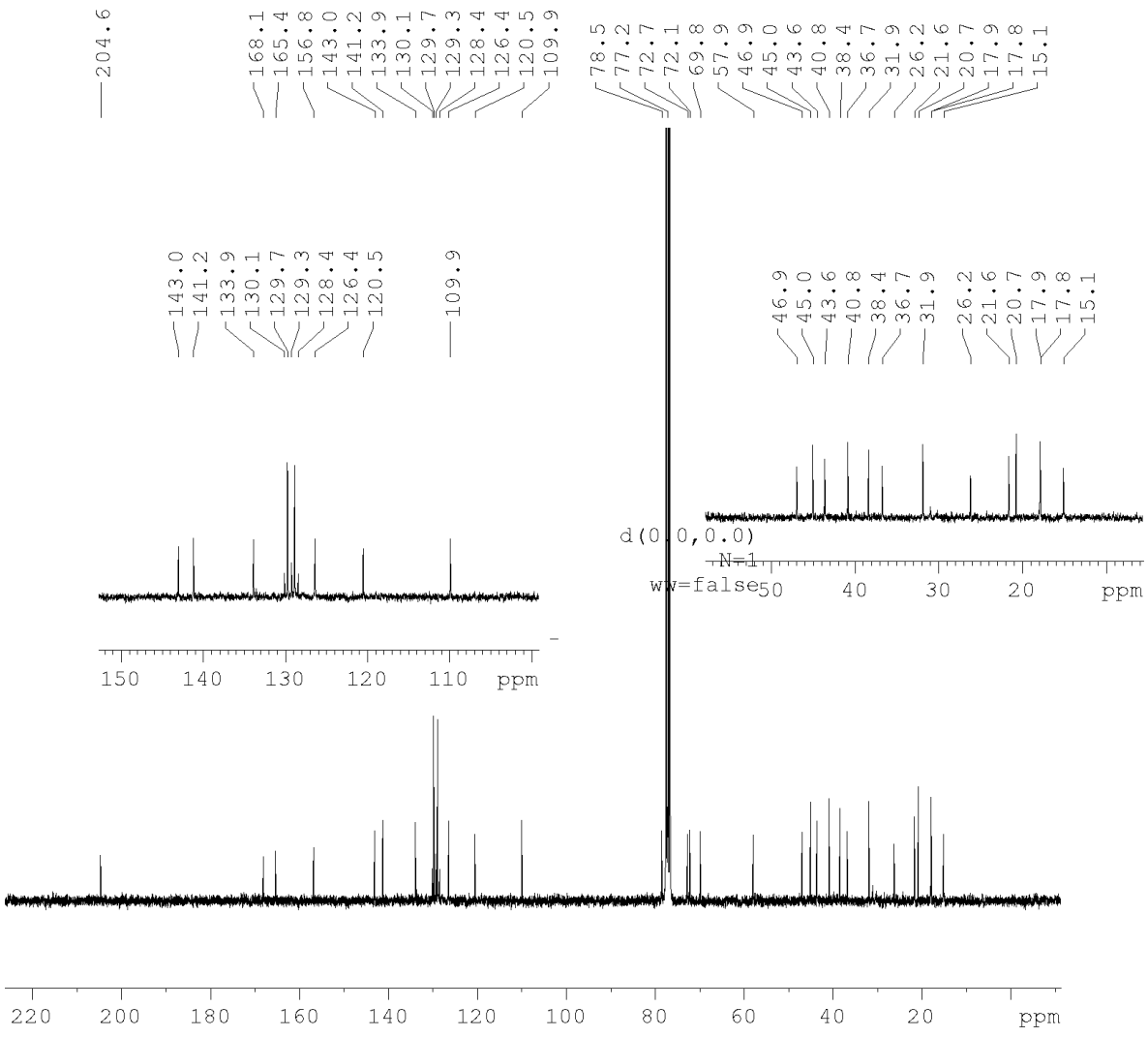

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago_4TBP_115-B
EXPNO                    1
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20160519
Time              15.16
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG              zg
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                   32
DS                    0
SWH            6103.516 Hz
FIDRES         0.093132 Hz
AQ             5.3687091 sec
RG                28.184
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                1025.7 K
D1           1.00000000 sec
TD0                  1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                 1H
P1                 7.64 usec
PLW1        20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                65536
SF           300.2000028 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.00
```

ANEXO 34. Espectro de RMN de ^{1}H do 10.1.2.






```
Current Data Parameters
NAME      Tiago_4TBP_115-B
EXPNO                    2
PROCNO                   1

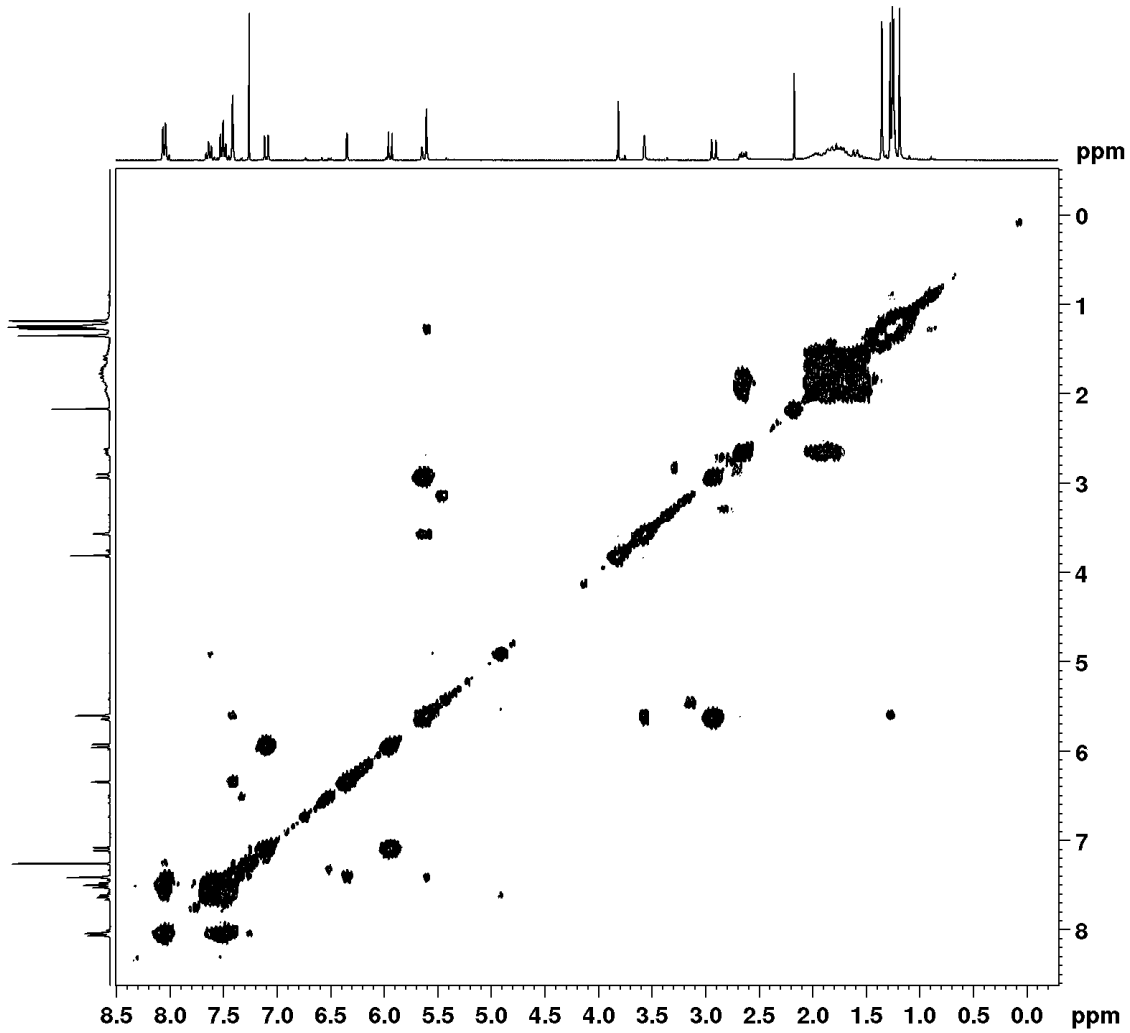
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20160519
Time              18.33
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS                40960
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE              1025.7 K
D1            0.50000000 sec
D11           0.03000000 sec
D31           0.00000875 sec
D40           0.01589210 sec
L4                   20
L5                   14
P32               90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4932760 MHz
NUC1                13C
P1                 8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.16806000 W
PLW13        0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 35. Espectro de RMN de ^{13}C do 10.1.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago_4TBP_115-B
EXPNO                  100
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20160524
Time              17.31
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          cosygpqf
TD                  2048
SOLVENT             CDCl3
NS                    40
DS                    16
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          2.980232 Hz
AQ             0.1677722 sec
RG                85.1037
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                1025.7 K
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D13           0.00000400 sec
D16           0.00020000 sec
IN0           0.00016380 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                  1H
P0                  7.64 usec
P1                  7.64 usec
PLW1         20.00000000 W

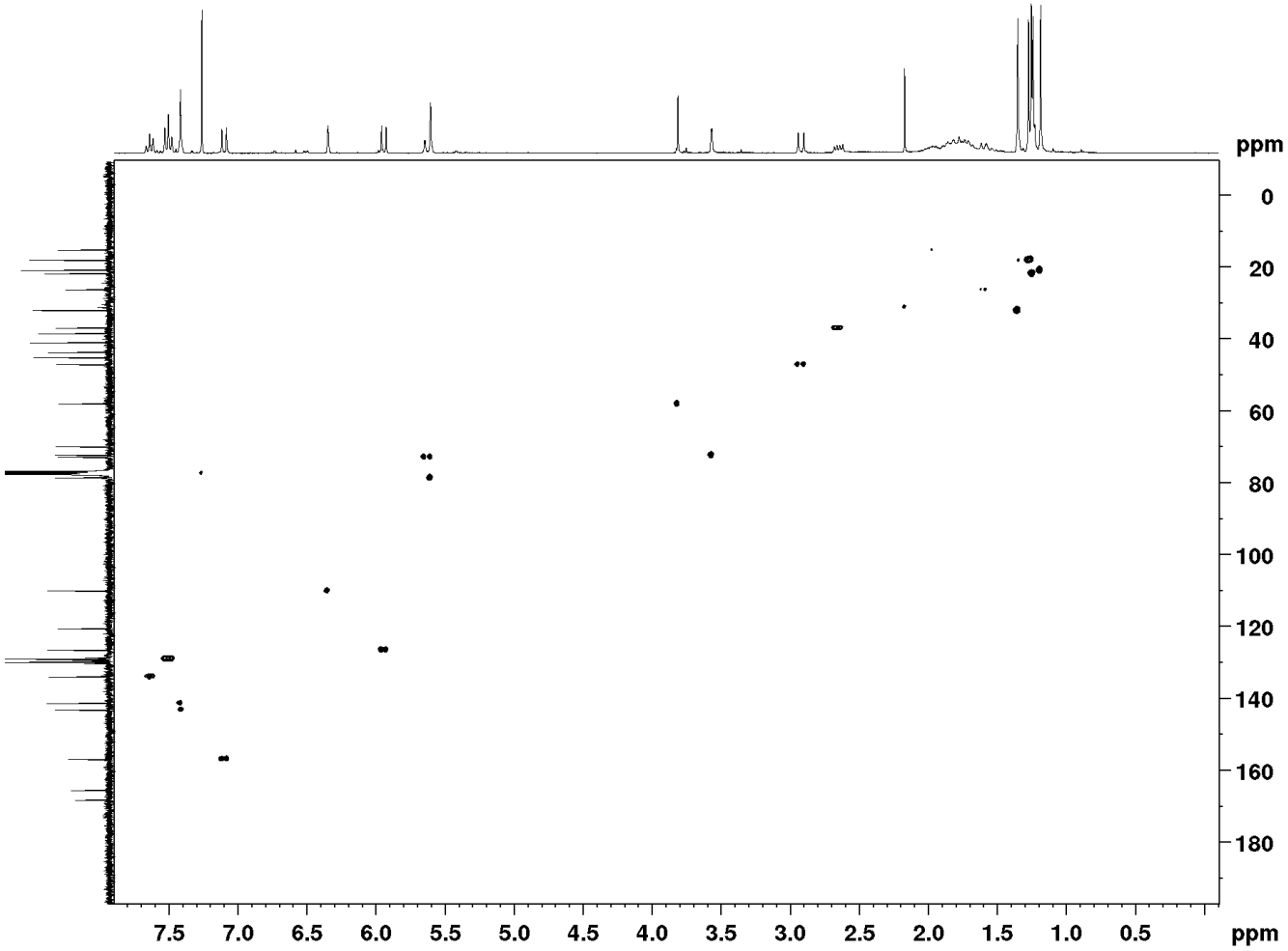
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]         SINE.100
GPZ1                10.00 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                   256
SFO1              300.202 MHz
FIDRES         47.695362 Hz
SW                20.336 ppm
FnMODE                QF

F2 - Processing parameters
SI                   2048
SF           300.2000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.40

F1 - Processing parameters
SI                    512
MC2                    QF
SF           300.2000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 36. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 10.1.2.






```
Current Data Parameters
NAME      Tiago_4TBF_115-B
EXPNO                  200
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20160525
Time              11.01
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG         hsqcetgph
TD                 2048
SOLVENT             CDCl3
NS                    78
DS                    16
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          2.980232 Hz
AQ              0.1677722 sec
RG                501.187
DW                 81.920 usec
DE                 10.00 usec
TE                1025.7 K
CNST2          146.0000000
D0              0.00000300 sec
D1              1.00000000 sec
D4              0.00171233 sec
D11             0.03000000 sec
D13             0.00000400 sec
D16             0.00020000 sec
D31             0.00000764 sec
D32             0.00001528 sec
D33             0.00000930 sec
D34             0.00001860 sec
D36             0.00100000 sec
D37             0.00000083 sec
D38             0.00001445 sec
D42             0.00000166 sec
D43             0.00002128 sec
D44             0.00120000 sec
D45             0.00050433 sec
IN0             0.00002890 sec
L4                     19
P35                75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P1                   7.64 usec
P2                  15.28 usec
PLW1           20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2            75.4932760 MHz
NUC2                   13C
CPDPRG[2              garp
P3                   9.30 usec
P4                  18.60 usec
PCPD2                75.00 usec
PLW2           50.00000000 W
PLW12           0.80352998 W

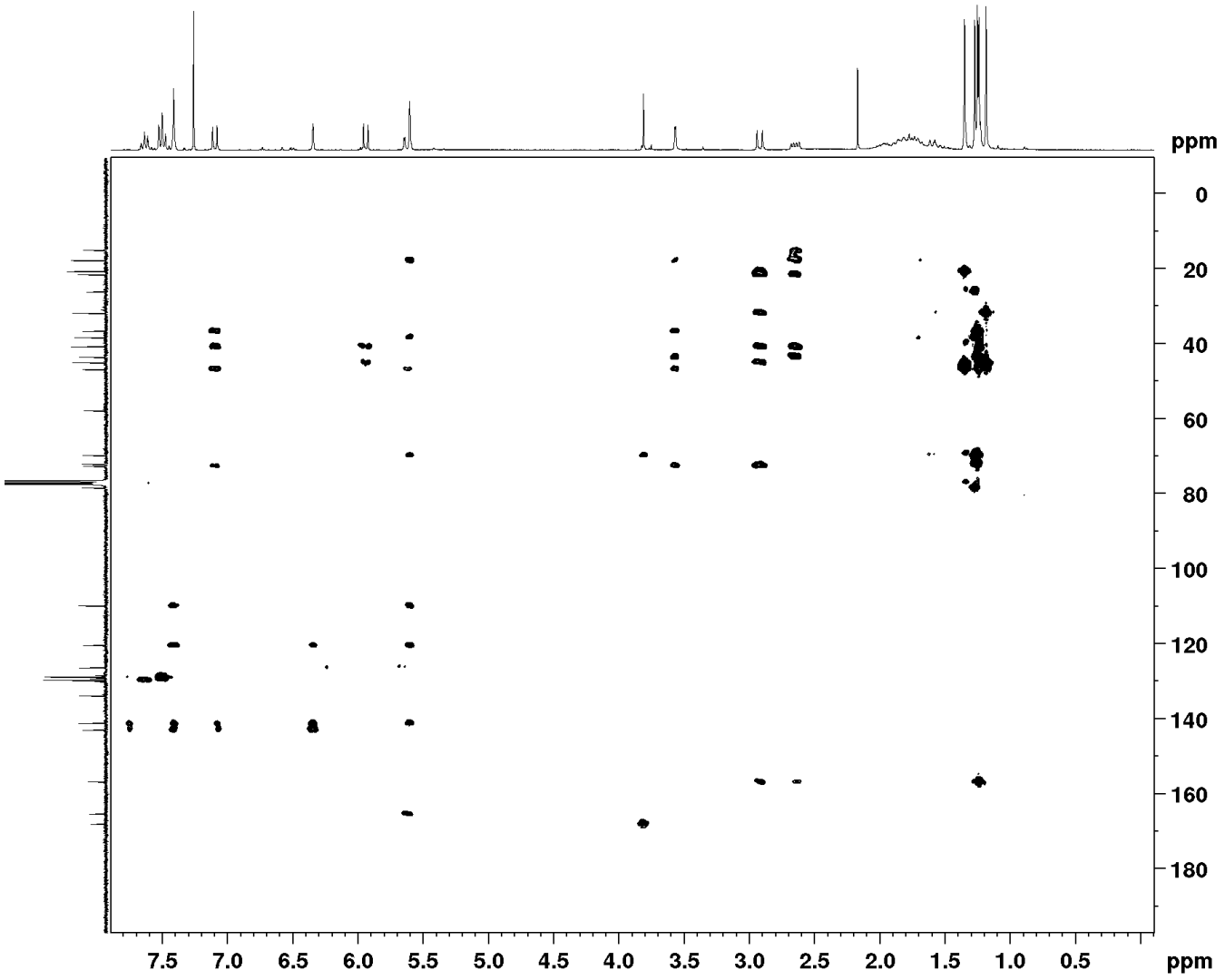
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]          SINE.100
GPNAM[2]          SINE.100
GPNAM[3]          SINE.100
GPZ1                80.00 %
GPZ2                30.00 %
GPZ3                20.10 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                    256
SFO1            75.49328 MHz
FIDRES         135.164352 Hz
SW                229.173 ppm
FnMODE               TPPI

F2 - Processing parameters
SI                   4096
SF             300.2000000 MHz
WDW                  QSINE
SSB                     2
LB          0 Hz
GB          0
PC                   1.40

F1 - Processing parameters
SI                   4096
MC2                  TPPI
SF             75.4853500 MHz
WDW                  QSINE
SSB                     2
LB          0 Hz
GB          0
```

ANEXO 37. Espectro de HSQC do 10.1.2




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago_4TBP_115-B
EXPNO               300
PROCNO                1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20160524
Time             20.55
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG    hmbcgplpndqf
TD               2048
SOLVENT          CDCl3
NS                128
DS                 16
SWH           6103.516 Hz
FIDRES        2.980232 Hz
AQ            0.1677722 sec
RG              501.187
DW             81.920 usec
DE             10.00 usec
TE             1025.7 K
CNST2       147.0000000
CNST13        8.0000000
D0          0.00000300 sec
D1          1.00000000 sec
D2          0.00340136 sec
D6          0.06250000 sec
D16         0.00020000 sec
D31         0.00000764 sec
D32         0.00001528 sec
D33         0.00000930 sec
D36         0.00100000 sec
D38         0.00002880 sec
IN0         0.00002880 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1        300.2019513 MHz
NUC1              1H
P1              7.64 usec
P2             15.28 usec
PLW1       20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        75.4932760 MHz
NUC2              13C
P3              9.30 usec
PLW2       50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]       SINE.100
GPNAM[2]       SINE.100
GPNAM[3]       SINE.100
GPZ1             50.00 %
GPZ2             30.00 %
GPZ3             40.10 %
P16            1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                237
SFO1          75.49328 MHz
FIDRES       146.507263 Hz
SW            229.969 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                4096
SF          300.2000000 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC              1.40

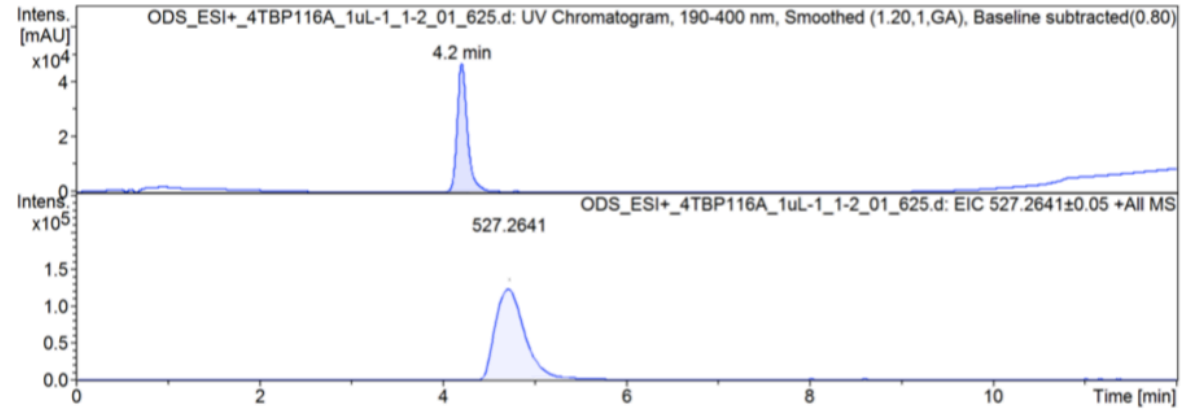
F1 - Processing parameters
SI                1024
MC2                QF
SF          75.4853500 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

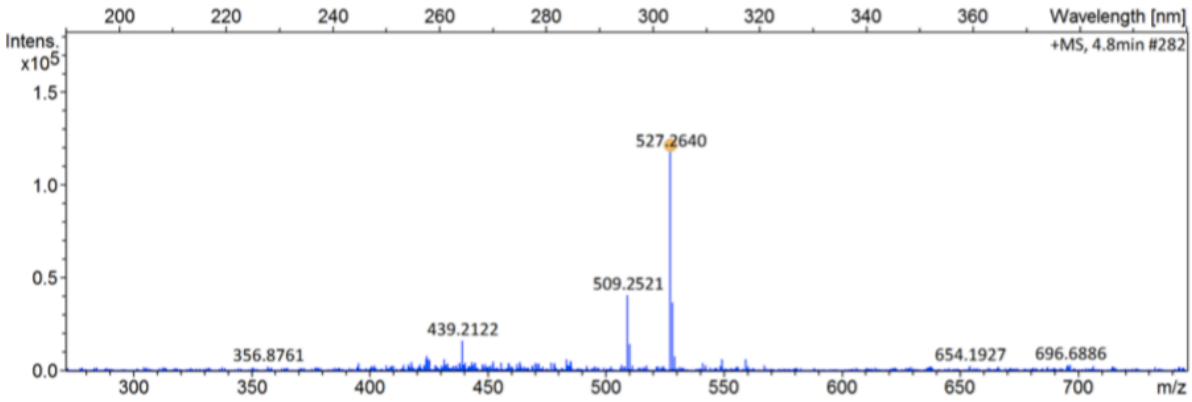
ANEXO 38. Espectro de HMBC do 10.1.2.

Analysis Info

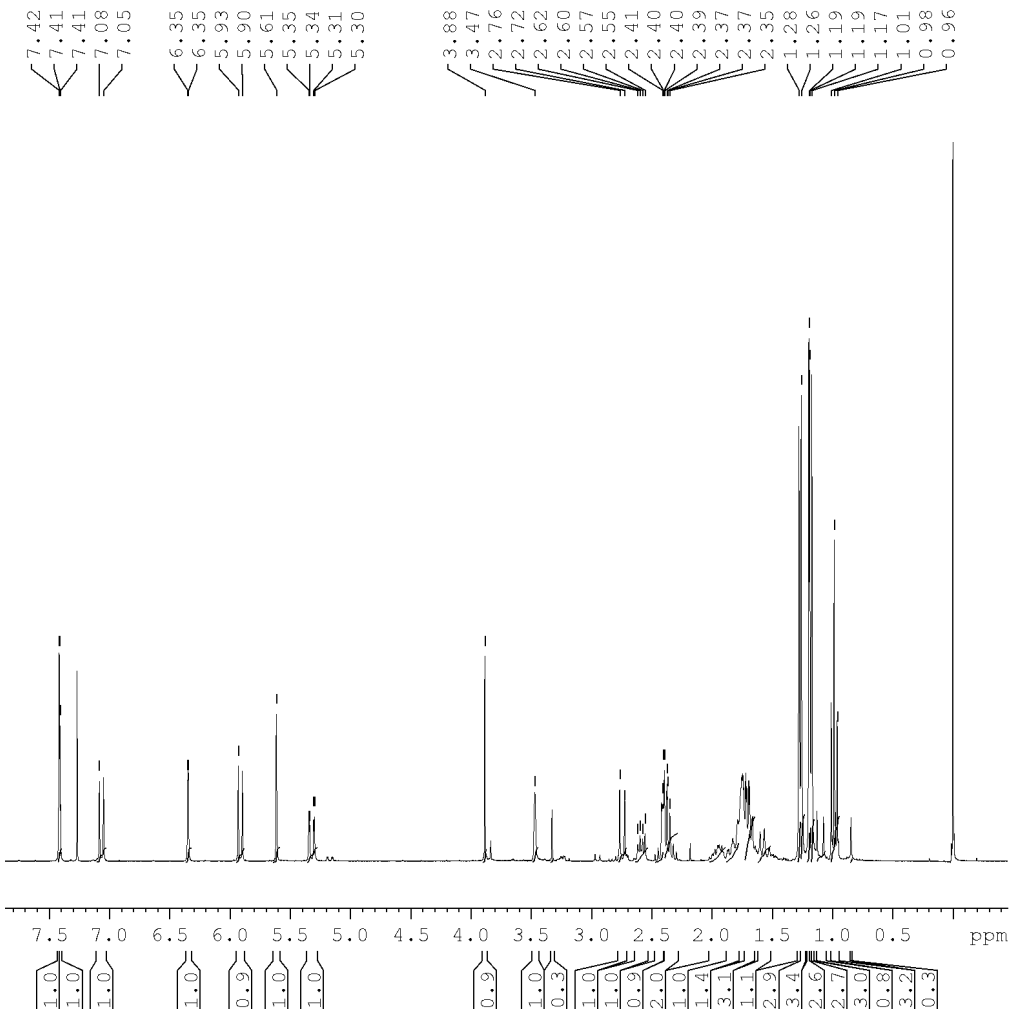
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2016\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\ODS_ESI+_4TBP116A_1uL-1_1-2_01_625.d	Acquisition Date	5/20/2016 10:19:28 AM
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_150-900_15-16.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP116A_1uL-1	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Flx=0,25 mL/min[Split de 0,0375 mL(MS)/0,2125mL(desc)]; P:3005psi;C=1mg/mL (MeOH);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(MeOH_0.1%AF) 0-10m_70-100% 10-12m_100% 12-14m_100-% 14-15m_100-70% 15-16m_70% injetor: MeOH Calib.:HCOONa 10mM_end		

Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
527.2640	1	M+H	C30H39O8	527.2639	-0.0	10.7





ANEXO 39. UFLC/HRMS-ESI do 10.1.3.





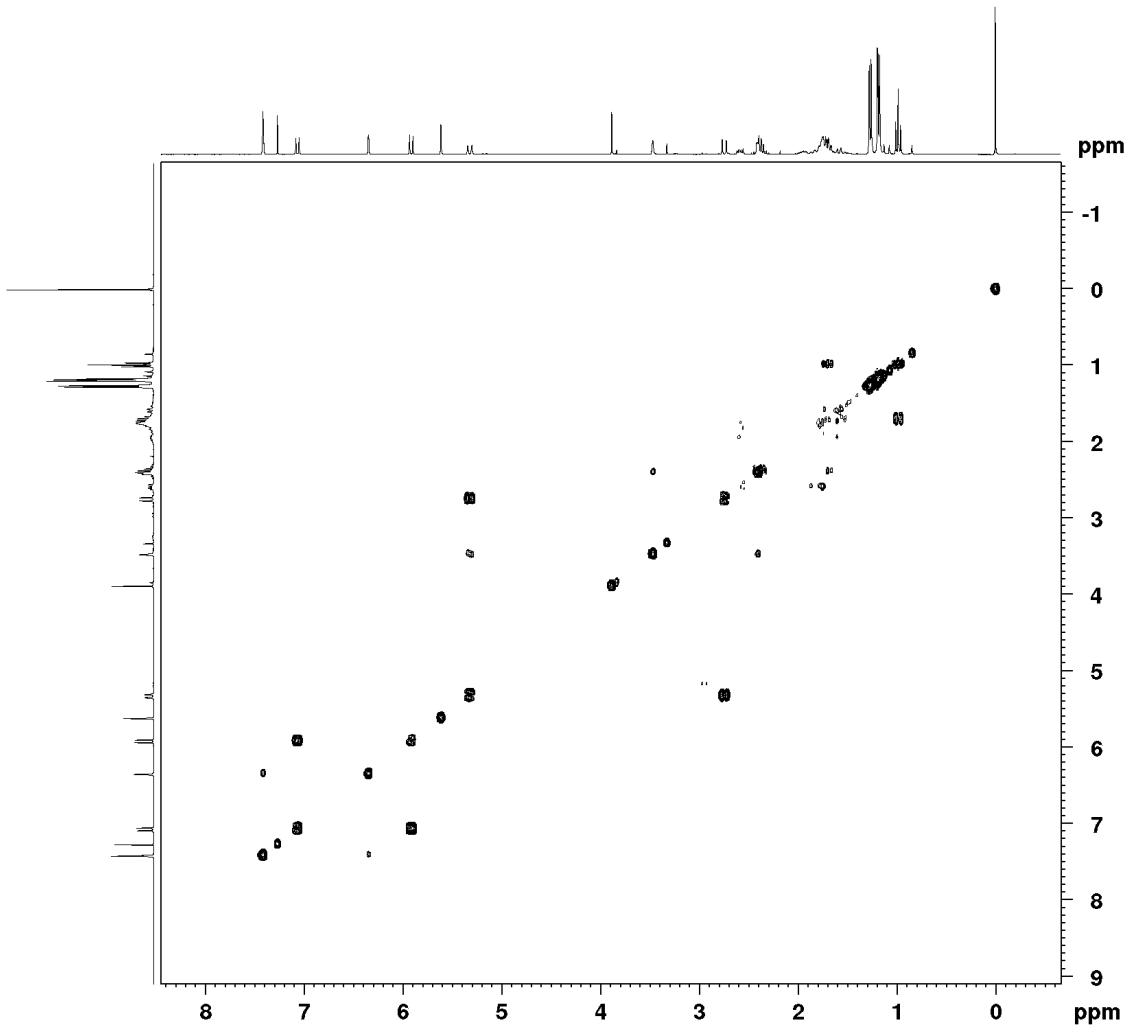

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago_4TBP 116_A
EXPNO                    1
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20161118
Time               10.12
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG               zg
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                    32
DS                     0
SWH             6103.516 Hz
FIDRES           0.093132 Hz
AQ              5.3687091 sec
RG                12.962
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                1033.1 K
D1             1.00000000 sec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P1                  7.64 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                 65536
SF            300.2000000 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                 1.00
```

ANEXO 40. Espectro de RMN de ^{1}H do 10.1.3.






```
Current Data Parameters
NAME      Tiago_4TBP 116_A
EXPNO                 100
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20161118
Time             10.19
INSTRUM      FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG         cosygpqf
TD                 2048
SOLVENT            CDCl3
NS                   32
DS                   16
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          2.980232 Hz
AQ              0.1677722 sec
RG                31.623
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                1033.1 K
D0              0.00000300 sec
D1              1.00000000 sec
D13             0.00000400 sec
D16             0.00020000 sec
IN0             0.00016380 sec

-------- CHANNEL f1 --------
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P0                  7.64 usec
P1                  7.64 usec
PLW1         20.00000000 W

------ GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1]        SINE.100
GPZ1               10.00 %
P16              1000.00 usec

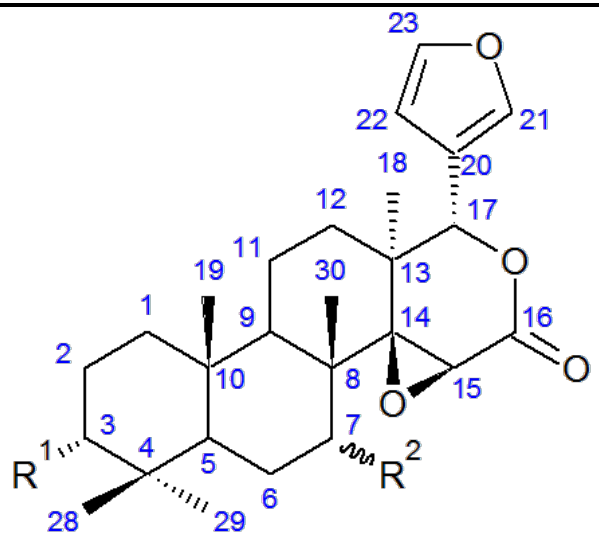
F1 - Acquisition parameters
TD                   256
SFO1              300.202 MHz
FIDRES          47.695362 Hz
SW                20.336 ppm
FnMODE                 QF

F2 - Processing parameters
SI                  4096
SF           300.1999967 MHz
WDW                 QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.40

F1 - Processing parameters
SI                  4096
MC2                    QF
SF           300.1999993 MHz
WDW                 QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 41. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 10.1.3.

ANEXO 42. Tabela dos sinais de RMN de ^{1}H e ^{13}C das substâncias 9.1, 9.2 e 9.3



9.1: R^1= O; R^2= β–OH; Δ 1(2)-eno
9.2: R^1= O; R^2= α-OH; Δ 1(2)-eno
9.3: R^1= OH; R^2=β-OH

H/C[a]	7-desacetoxo-7-oxoge-dunina	9.1		9.2		9.3	
	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{d}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{e}$
1	7,12 (10)	7,04 d(10)	156,5	7,11 d(10)	157,8	1,60 m	38,6
2	5,94 d(10)	5,87 d(10)	126,2	5,86 d(10)	125,8	1,90 m	28,1
3	-	-	204,0	-	204,6	3,50 t(8)	77,8
4	-	-	44,1	-	44,2	-	39,6

5		2,18 dd(15; 3)	1,78 m	50,9	2,45 m	44,6	1,77 m	49,2
6	α	2,42 dd(15; 3)	1,76 m	26,2	1,90 m	26,4	2,06 m	29,6
	β	2,94 t(15)	1,52 m		1,66 m		1,78 m	
7	α	-	3,81 dd (11;5)	77,1	-	69,7	3,94 dd(11;4)	77,9
	β	-	-		3,58 dd(3;2)		-	
8		-	-	44,1	-	43,6	-	44,4
9		2,18 m	1,99 m	43,5	2,51 m	37,9	1,10 dd(12,1)	53,6
10		-	-	40,0	-	40,2	-	38,0
11	α	2,01 m	1,94 m	16,0	194 m	15,0	1,60 m	16,2
	β	1,85 m	1,76 m		1,80 m		1,11 m	
12	α	1,62 m	1,75 m	26,1	1,60 m	27,3	1,36 m	26,7
	β	1,74 m	1,52 m		1,70 m		1,70 m	
13		-	-	39,3	-	38,3	-	39,3
14		-	-	73,7	-	70,0	-	74,3
15		3,88 s	4,55 s	56,9	3,91 s	57,8	5,26 s	56,8

16	-	-	168,2	-	168,6	-	169,4
17	5,48 s	5,65 s	77,9	5,61 s	78,5	6,58 s	78,6
18	1,17 s	1,20 s	19,03	1,24 s	17,8	1,32 s	18,9
19	1,15 s	1,22 s	19,6	1,11 s	21,5	0,97 s	16,5
20	-	-	120,4	-	120,6	-	121,8
21	7,43 m	7,43 m	141,2	7,40 m	143,0	7,70 t(1)	143,0
22	6,38 sl	6,34 m	109,9	6,36 m	109,9	6,58 d(1)	110,9
23	7,41 m	7,43 m	141,2	7,41 m	141,2	7,77 m	142,0
28	1,24 s	1,17 s	27,5	1,15 s	27,3	1,27 s	28,6
29	1,37 s	1,10 s	21,4	1,21 s	19,9	1,05 s	16,4
30	1,16 s	1,19 s	13,6	1,09 s	18,7	1,37 s	14,1

[a]. Posição dos hidrogênios e carbonos dos ésteres.

[b] RMN ^{1}H 300 MHz, $CDCl_3$.

[c] RMN ^{13}C 100 MHz, $CDCl_3$

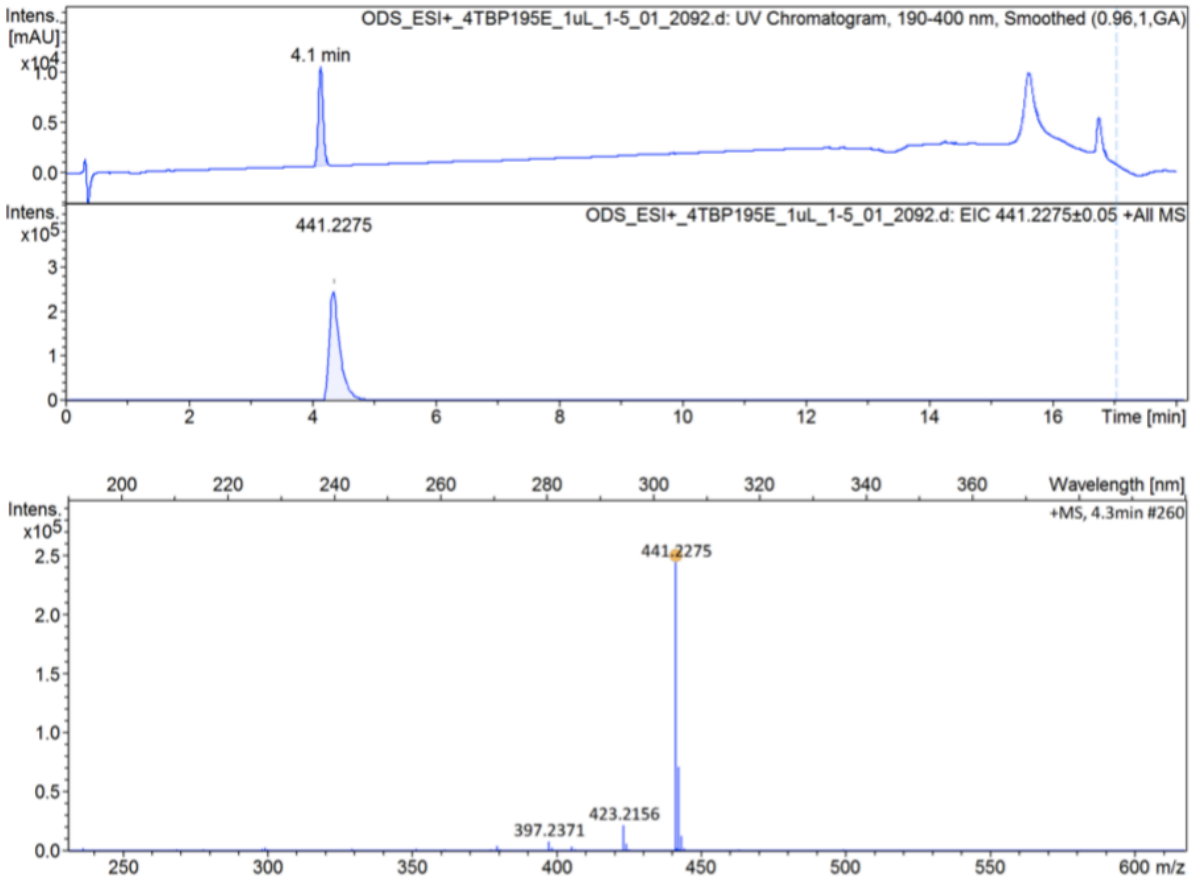
[d]. RMN ^{1}H 300 MHz, C_5D_5N

[e] RMN ^{13}C 75 MHz, C_5D_5N

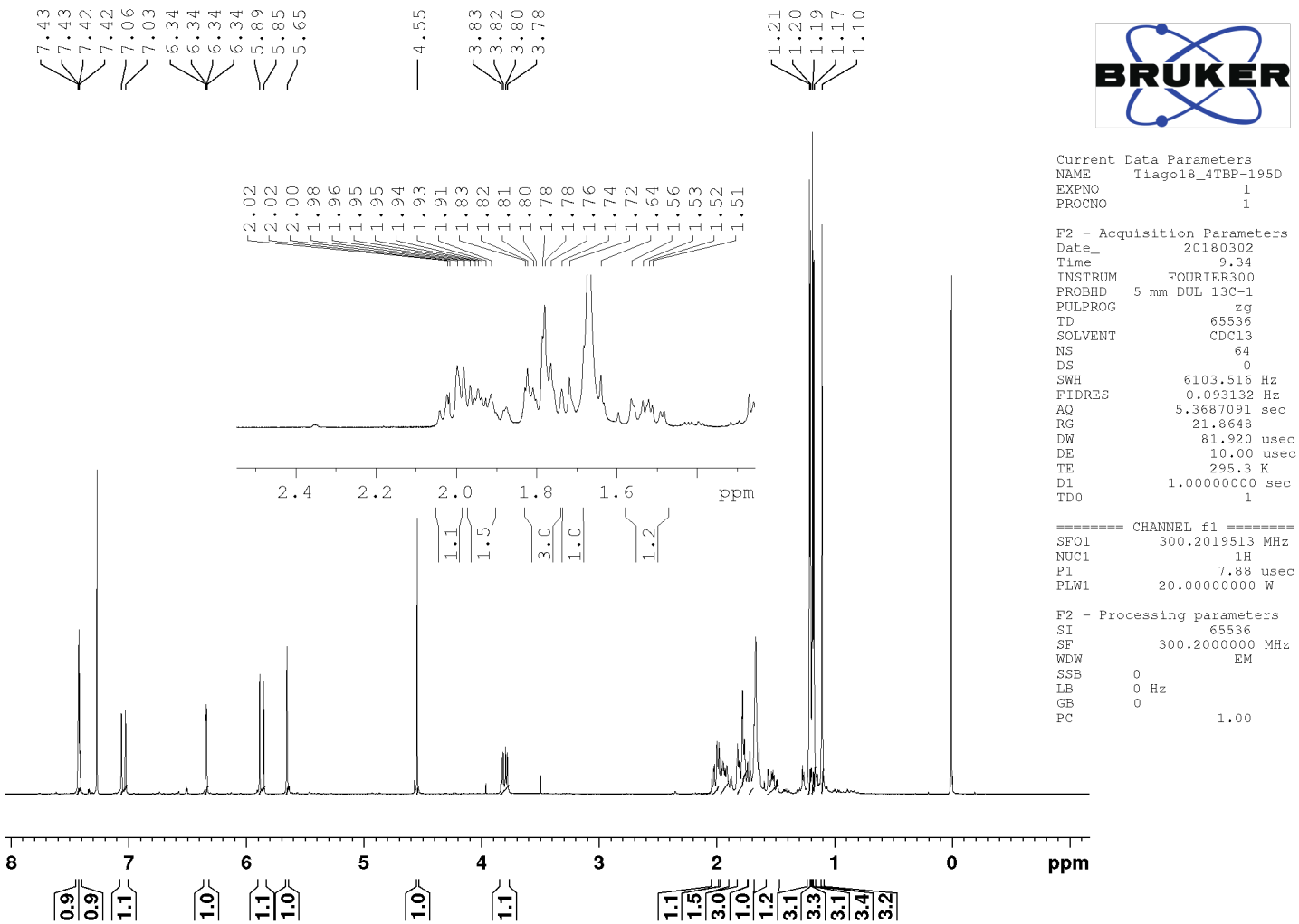
Analysis Info

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP195E_1uL_1-5_01_2092.d	Acquisition Date	2/1/2018 11:44:52 AM
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP195E_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
441.2275	1	M+H	C26H33O6	441.2272	-0.7	1.4



ANEXO 43. UFLC/HRMS do 9.1.



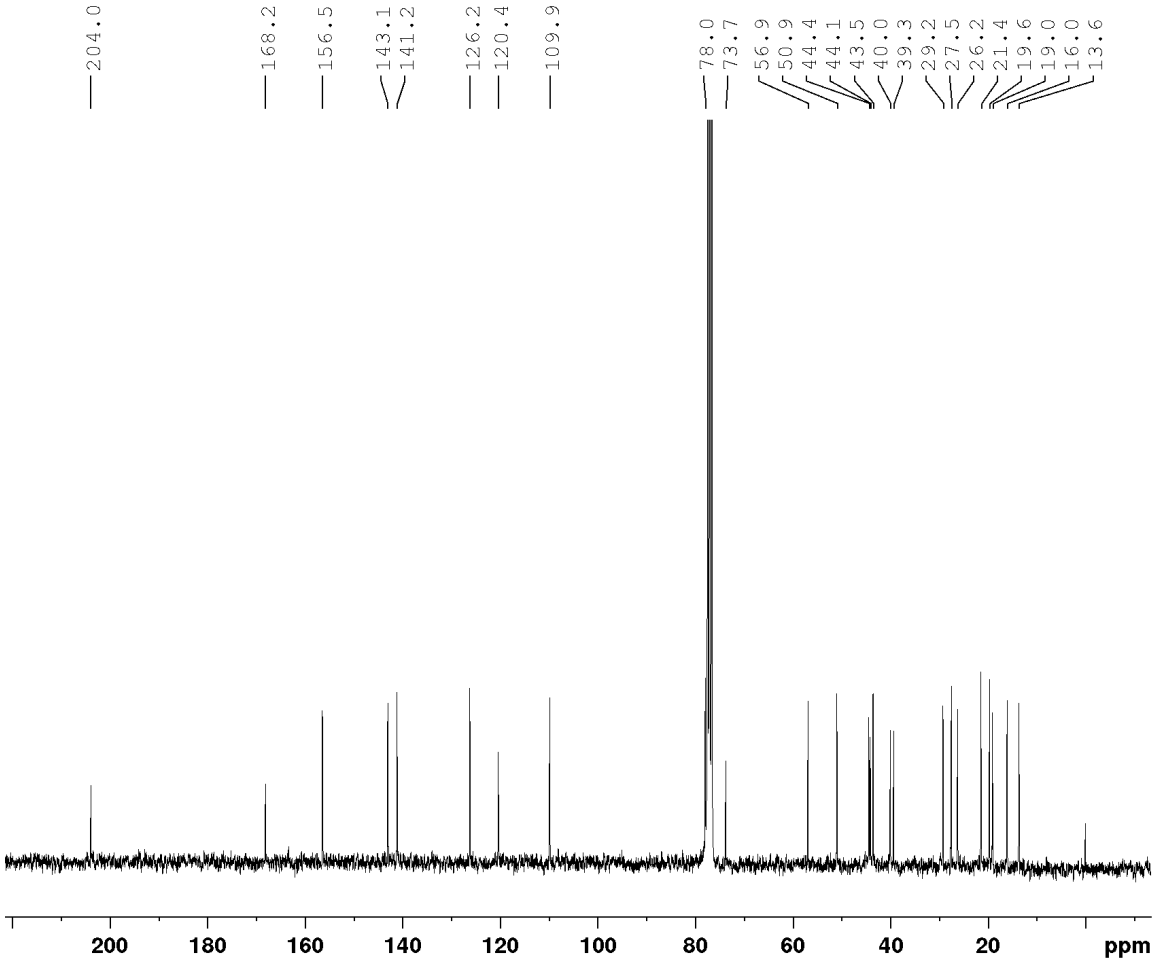

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195D
EXPNO                    1
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180302
Time                9.34
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG              zg
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                   64
DS                    0
SWH            6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ             5.3687091 sec
RG               21.8648
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                295.3 K
D1            1.00000000 sec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P1                  7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                65536
SF           300.2000000 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.00
```

ANEXO 44. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195D
EXPNO                    2
PROCNO                   1

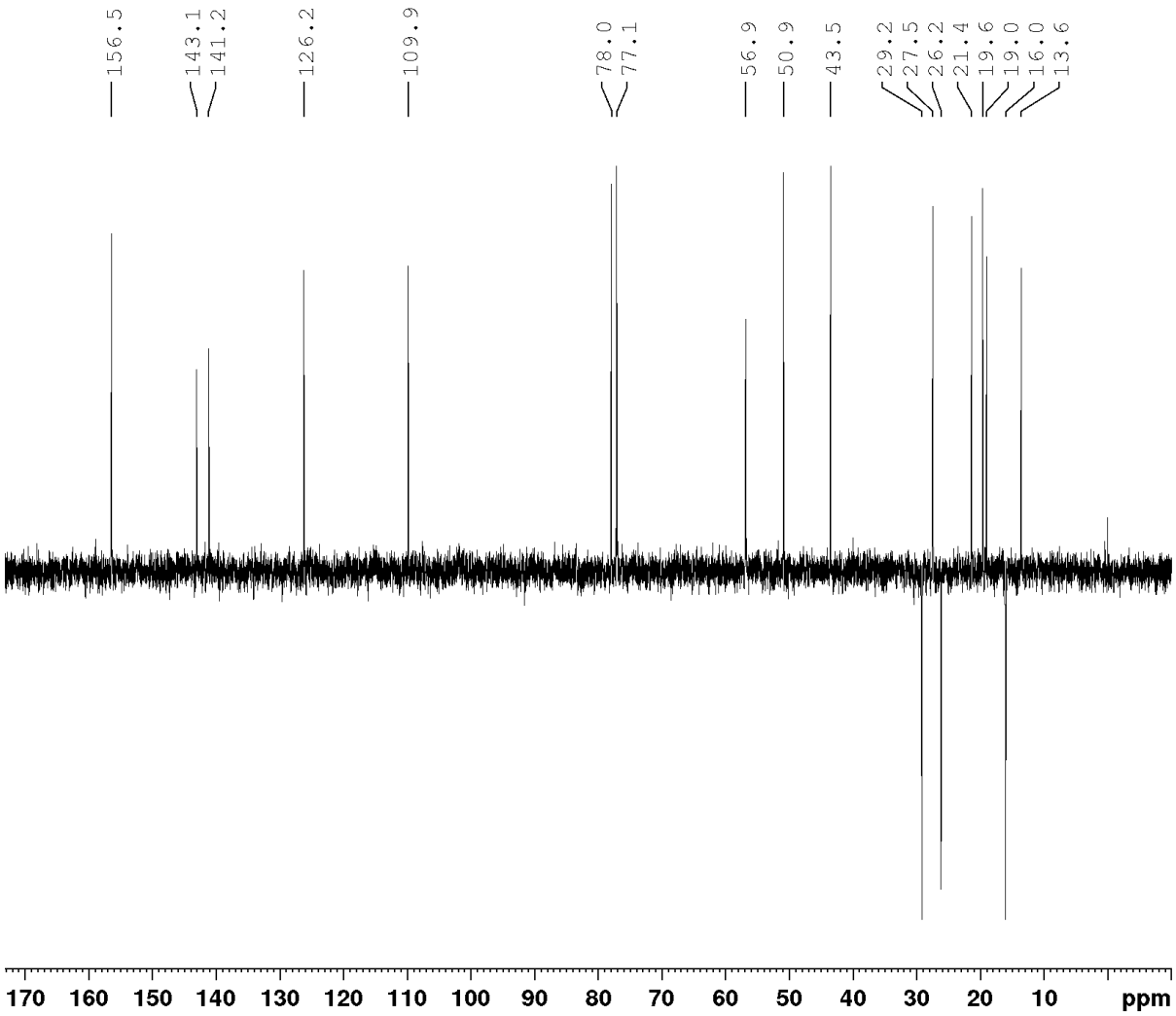
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180307
Time              12.36
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS                13767
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               294.8 K
D1           0.50000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.01589210 sec
L4                   20
L5                   14
P32               90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928982 MHz
NUC1                13C
P1                 8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.16806000 W
PLW13        0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                3.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 45. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.1.




```
NAME        Tiago18_4TBP-195D
EXPNO                       4
PROCNO                      1

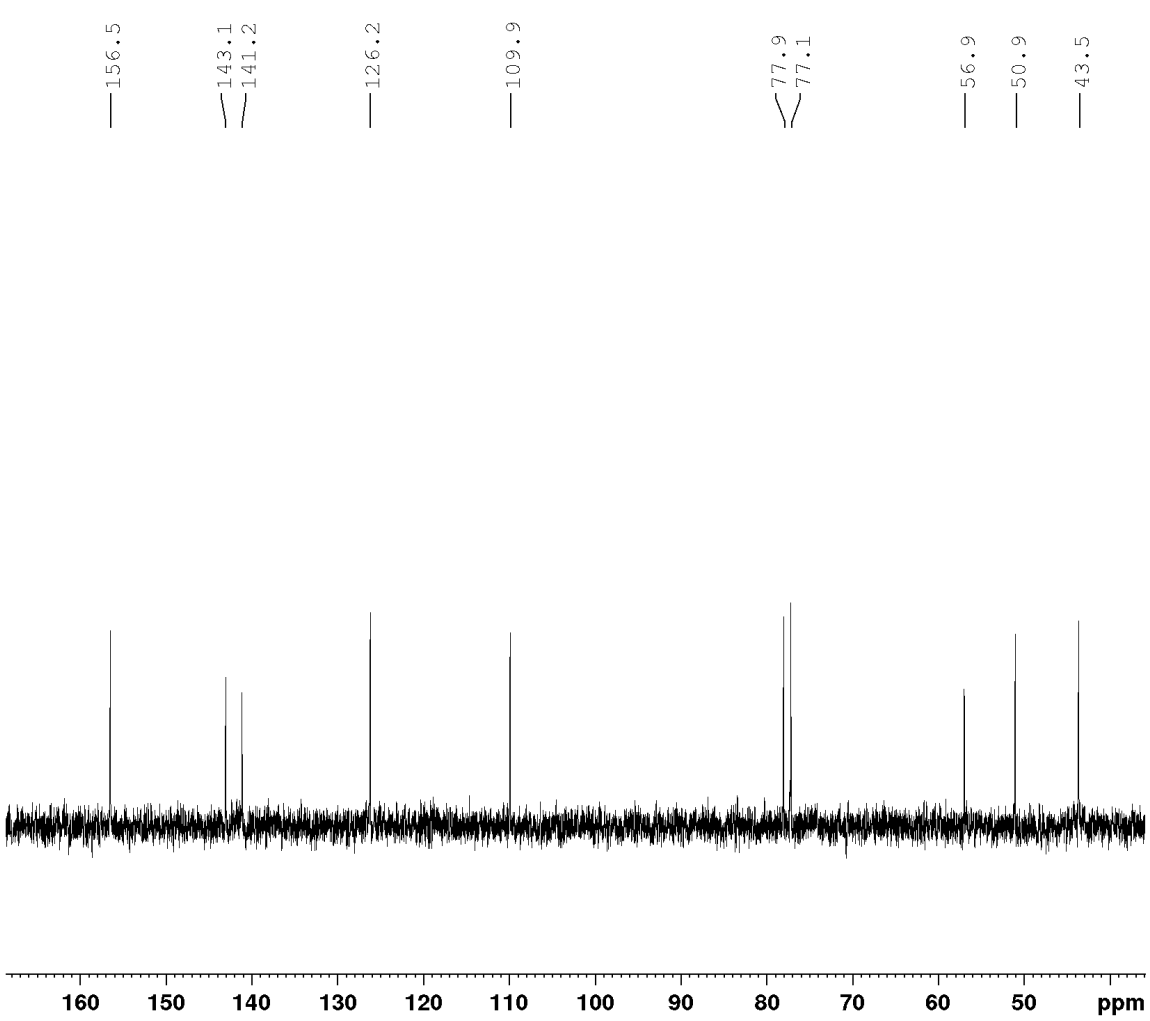
F2 - Acquisition Parameters
Date_              20180302
Time                   9.41
INSTRUM         FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG             dept135
TD                    65536
SOLVENT               CDCl3
NS                     3072
DS                        0
SWH              24414.062 Hz
FIDRES            0.372529 Hz
AQ                1.3421773 sec
RG                  501.187
DW                   20.480 usec
DE                   10.00 usec
TE                   295.4 K
CNST2           145.0000000
D1               1.00000000 sec
D2               0.00344828 sec
D14              0.00001114 sec
D33              0.00000825 sec
D34              0.00344053 sec
D35              0.00345340 sec
L4                        40
P32                   90.00 usec
TD0                       1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1            75.4928230 MHz
NUC1                    13C
P1                    8.75 usec
P2                   17.50 usec
PLW1           50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2           300.2012008 MHz
NUC2                    1H
CPDPRG[2           waltz16
P3                    8.25 usec
P4                   16.50 usec
PCPD2                90.00 usec
PLW2           20.00000000 W
PLW12           0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                    32768
SF              75.4853500 MHz
WDW                     EM
SSB       0
LB                    1.00 Hz
GB        0
PC                    1.40
```

ANEXO 46. Espectro de DEPT 135º do 9.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195D
EXPNO                     3
PROCNO                    1

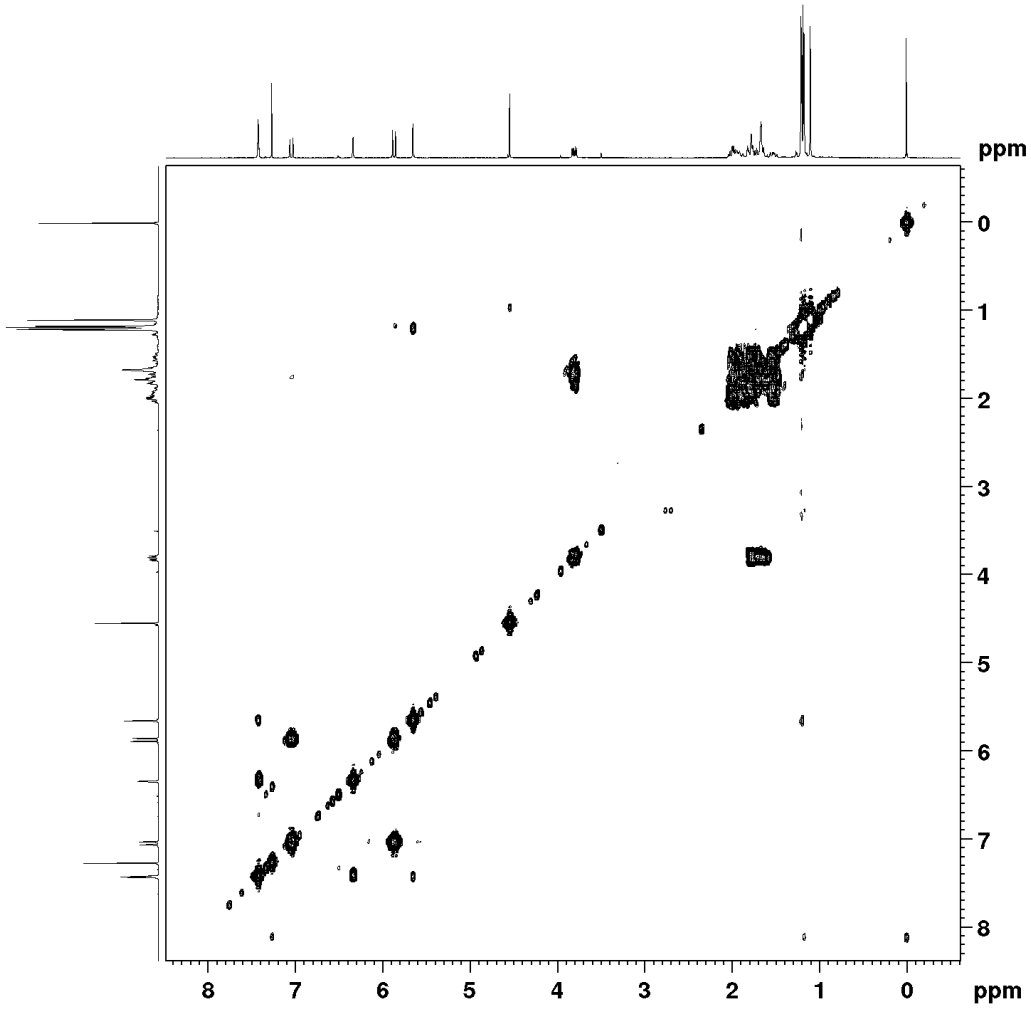
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180307
Time                9.35
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept90
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                  581
DS                    8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                294.4 K
CNST2        145.0000000
D1             2.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D12            0.00002000 sec
D14            0.00001114 sec
D33            0.00000825 sec
D34            0.00344053 sec
D35            0.00345753 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928986 MHz
NUC1                 13C
P1                  8.75 usec
P2                 17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                  8.25 usec
P4                 16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                 1.00 Hz
GB        0
PC                 1.40
```

ANEXO 47. Espectro de DEPT 90º do 9.1.






```
Current Data Parameters
NAME      T1ago18_4TBP-195D
EXPNO                  100
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20180302
Time                 12.05
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          cosygpqf
TD                   2048
SOLVENT             CDCl3
NS                     36
DS                     16
SWH               6103.516 Hz
FIDRES            2.980232 Hz
AQ               0.1677722 sec
RG                 52.4475
DW                 81.920 usec
DE                 10.00 usec
TE                 293.5 K
D0              0.00000300 sec
D1              1.00000000 sec
D13             0.00000400 sec
D16             0.00020000 sec
IN0             0.00016380 sec

-------- CHANNEL f1 --------
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P0                   7.64 usec
P1                   7.64 usec
PLW1         20.00000000 W

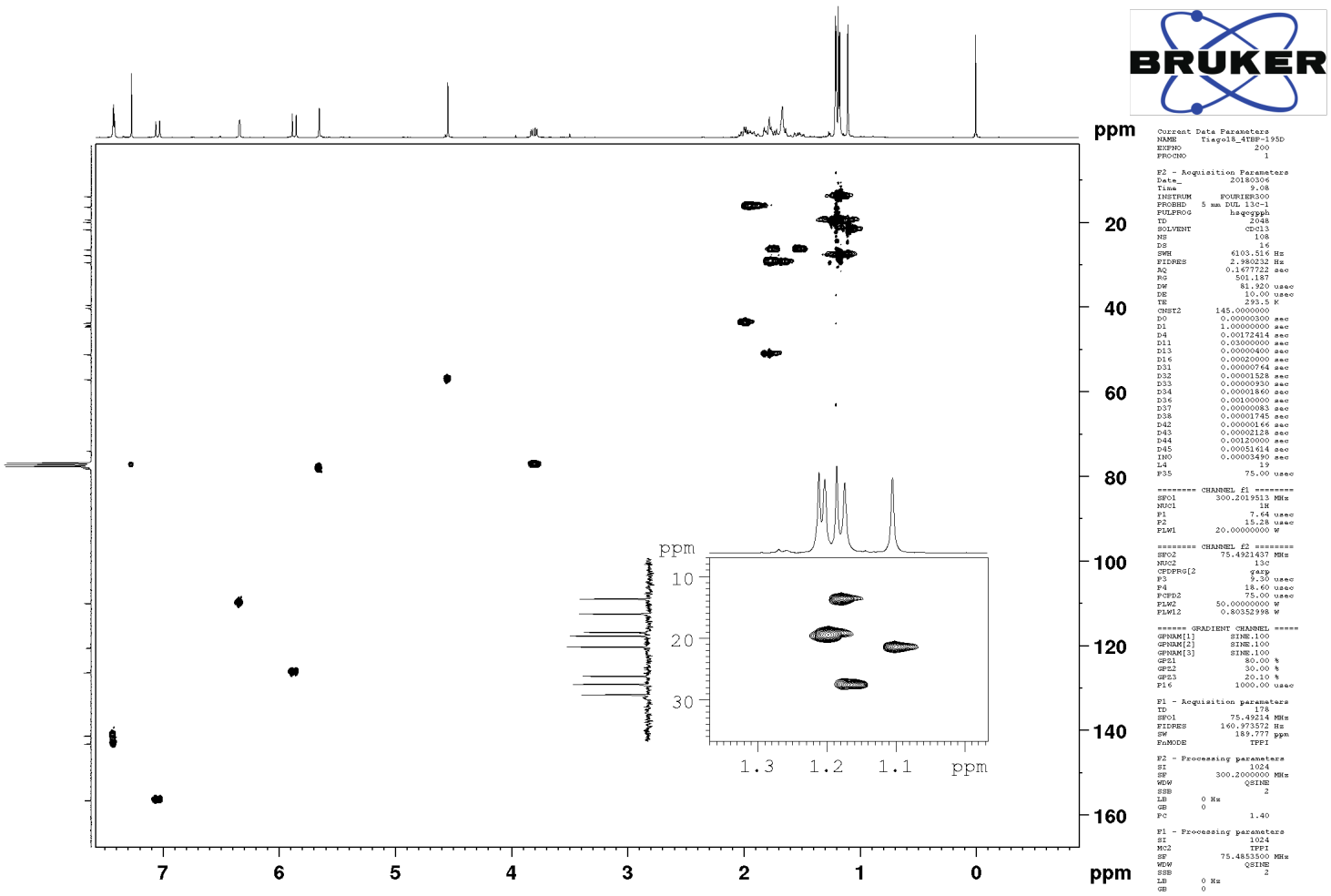
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]         SINE.100
GPZ1                10.00 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                     256
SFO1              300.202 MHz
FIDRES          47.695362 Hz
SW                20.336 ppm
FnMODE                 QF

F2 - Processing parameters
SI                    4096
SF            300.2000000 MHz
WDW                  QSINE
SSB         0
LB          0 Hz
GB          0
PC                    1.40

F1 - Processing parameters
SI                    2048
MC2                    QF
SF            300.2000000 MHz
WDW                  QSINE
SSB         0
LB          0 Hz
GB          0
```

ANEXO 48. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.1.



Current Data Parameters
NAME tiagol8_4TBP-195D
EXPNO 200
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180306
Time 9.08
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG hsqcgpph
TD 2048
SOLVENT CDCl3
NS 108
DS 16
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 2.980232 Hz
AQ 0.1677722 sec
RG 501.187
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 293.5 K
CNST2 145.0000000
D0 0.00000300 sec
D1 1.00000000 sec
D4 0.00172414 sec
D11 0.03000000 sec
D13 0.00000400 sec
D16 0.00020000 sec
D31 0.00000764 sec
D32 0.00001528 sec
D33 0.00000930 sec
D34 0.00001860 sec
D36 0.00100000 sec
D37 0.00000083 sec
D38 0.00001745 sec
D42 0.00000166 sec
D43 0.00002128 sec
D44 0.00120000 sec
D45 0.00051614 sec
IN0 0.00003490 sec
L4 19
P35 75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P1 7.64 usec
P2 15.28 usec
PLW1 20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2 75.4921437 MHz
NUC2 13C
CPDPRG[2 garp
P3 9.30 usec
P4 18.60 usec
PCPD2 75.00 usec
PLW2 50.00000000 W
PLW12 0.80352998 W

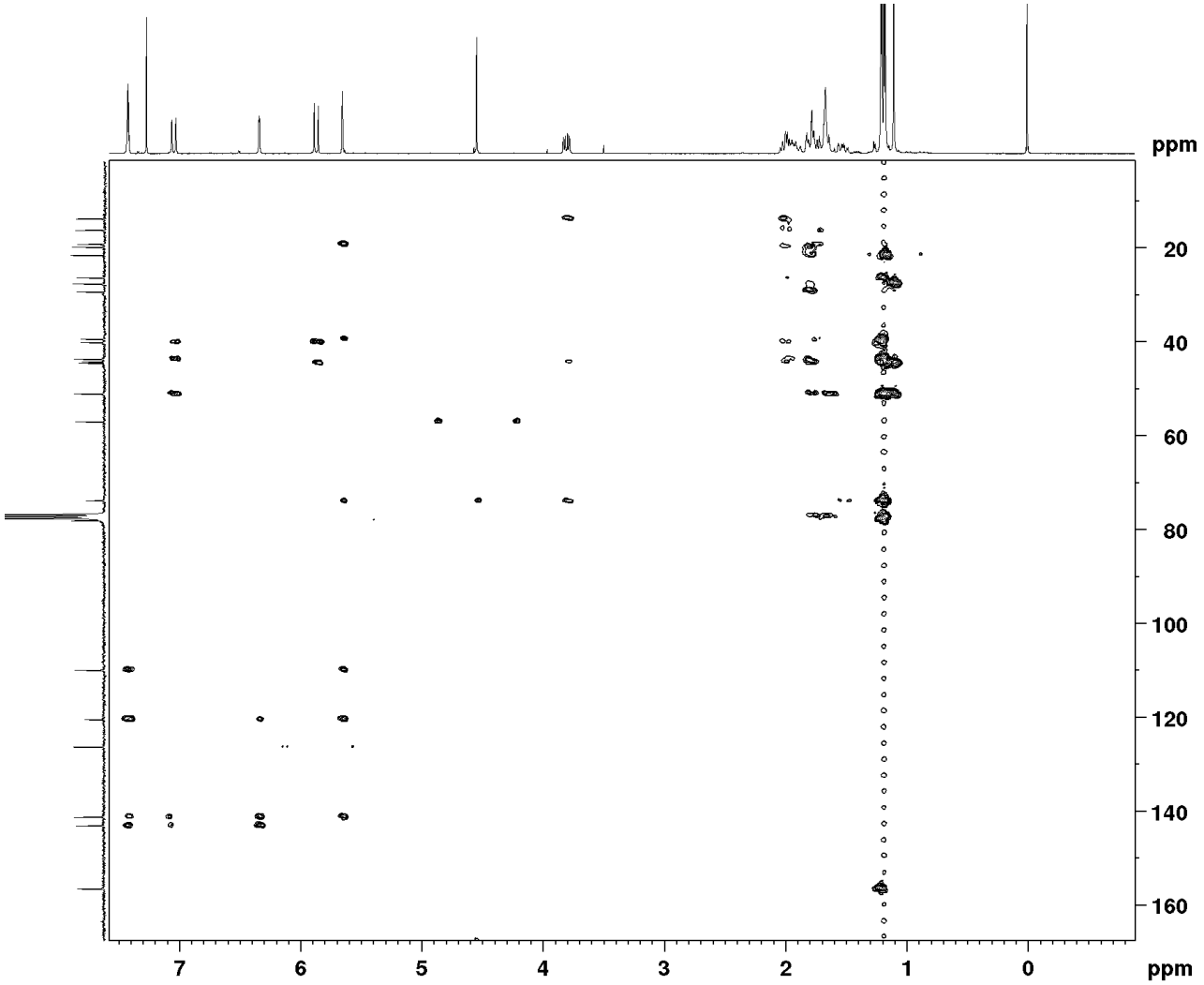
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] SINE.100
GPNAM[2] SINE.100
GPNAM[3] SINE.100
GPZ1 80.00 %
GPZ2 30.00 %
GPZ3 20.10 %
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD 178
SFO1 75.49214 MHz
FIDRES 160.973572 Hz
SW 189.777 ppm
FnMODE TPPI

F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 300.2000000 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 TPPI
SF 75.4853500 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0

ANEXO 49. Espectro de HSQC do 9.1.






```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195D
EXPNO                  300
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180306
Time              17.05
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG    hmbcgplpndqf
TD                 2048
SOLVENT           CDCl3
NS                  186
DS                   16
SWH            6103.516 Hz
FIDRES         2.980232 Hz
AQ             0.1677722 sec
RG               501.187
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE               291.9 K
CNST2        145.0000000
CNST13         8.0000000
D0             0.00000300 sec
D1             1.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D6             0.06250000 sec
D16            0.00020000 sec
D31            0.00000788 sec
D32            0.00001576 sec
D33            0.00000930 sec
D36            0.00100000 sec
D38            0.00003010 sec
IN0            0.00003010 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1               1H
P1                7.88 usec
P2               15.76 usec
PLW1         20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          75.4932760 MHz
NUC2               13C
P3                9.30 usec
PLW2         50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]        SINE.100
GPNAM[2]        SINE.100
GPNAM[3]        SINE.100
GPZ1              50.00 %
GPZ2              30.00 %
GPZ3              40.10 %
P16             1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                 256
SFO1          75.49328 MHz
FIDRES       129.775742 Hz
SW             220.037 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                1024
SF          300.2000000 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.40

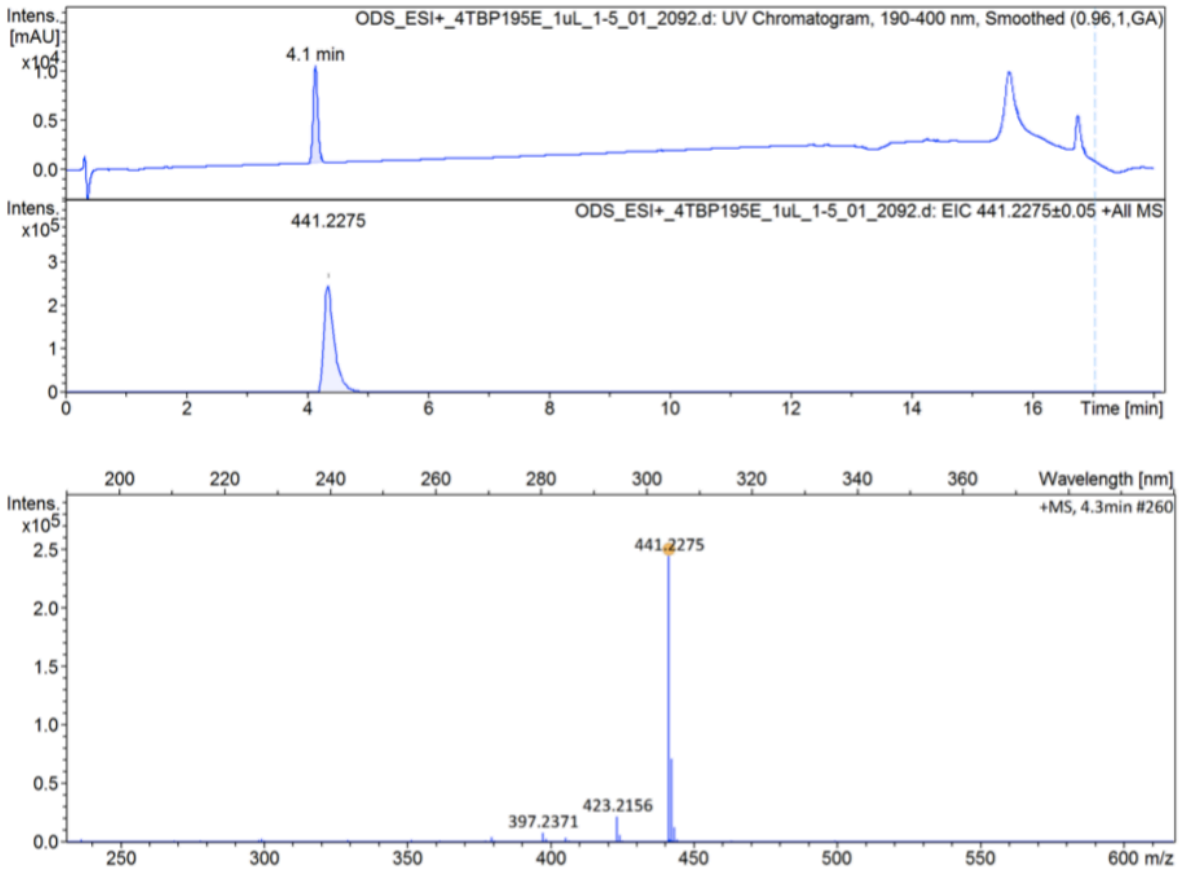
F1 - Processing parameters
SI                1024
MC2                 QF
SF          75.4853500 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 50. Espectro de HMBC do 9.1

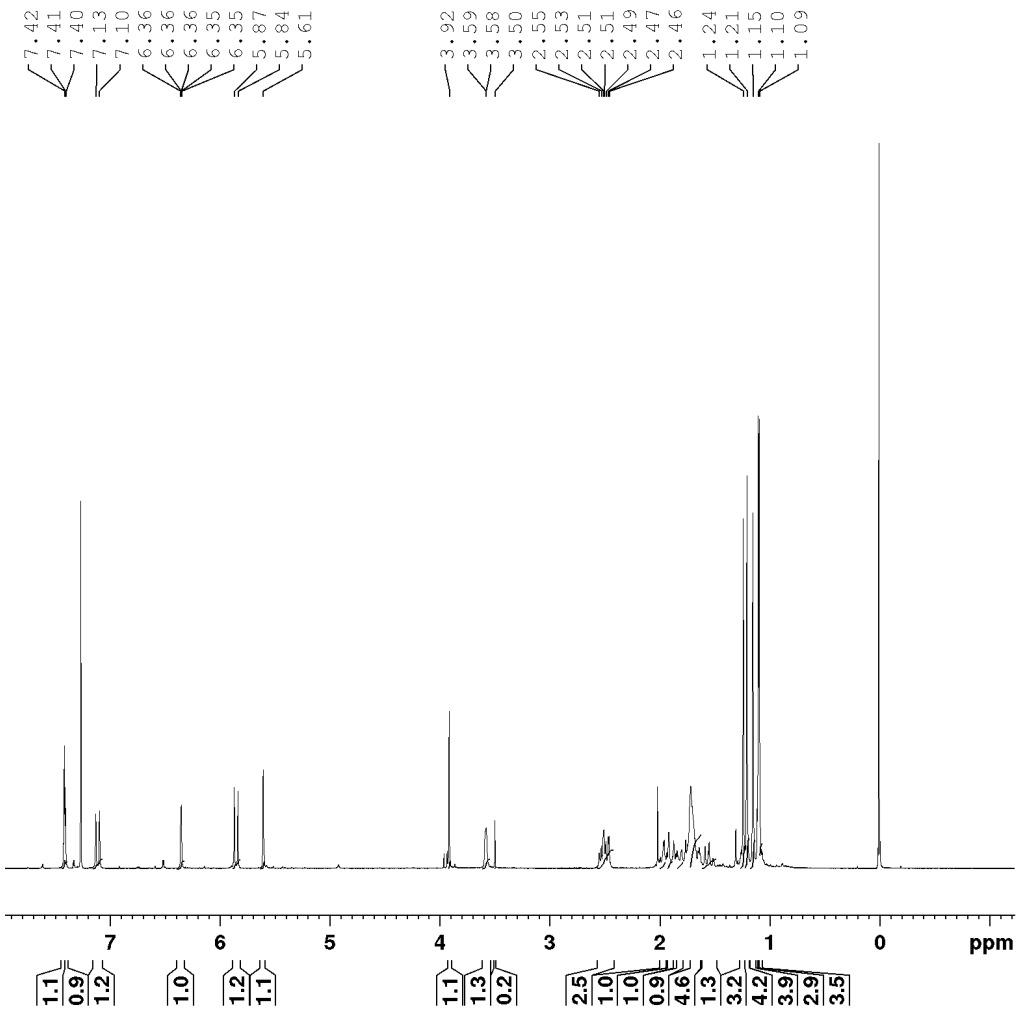
Analysis Info Acquisition Date 2/1/2018 11:44:52 AM

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP195E_1uL_1-5_01_2092.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP195E_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
441.2275	1	M+H	C26H33O6	441.2272	-0.7	1.4



ANEXO 51. UFLC/HRMS-ESI do 9.2.





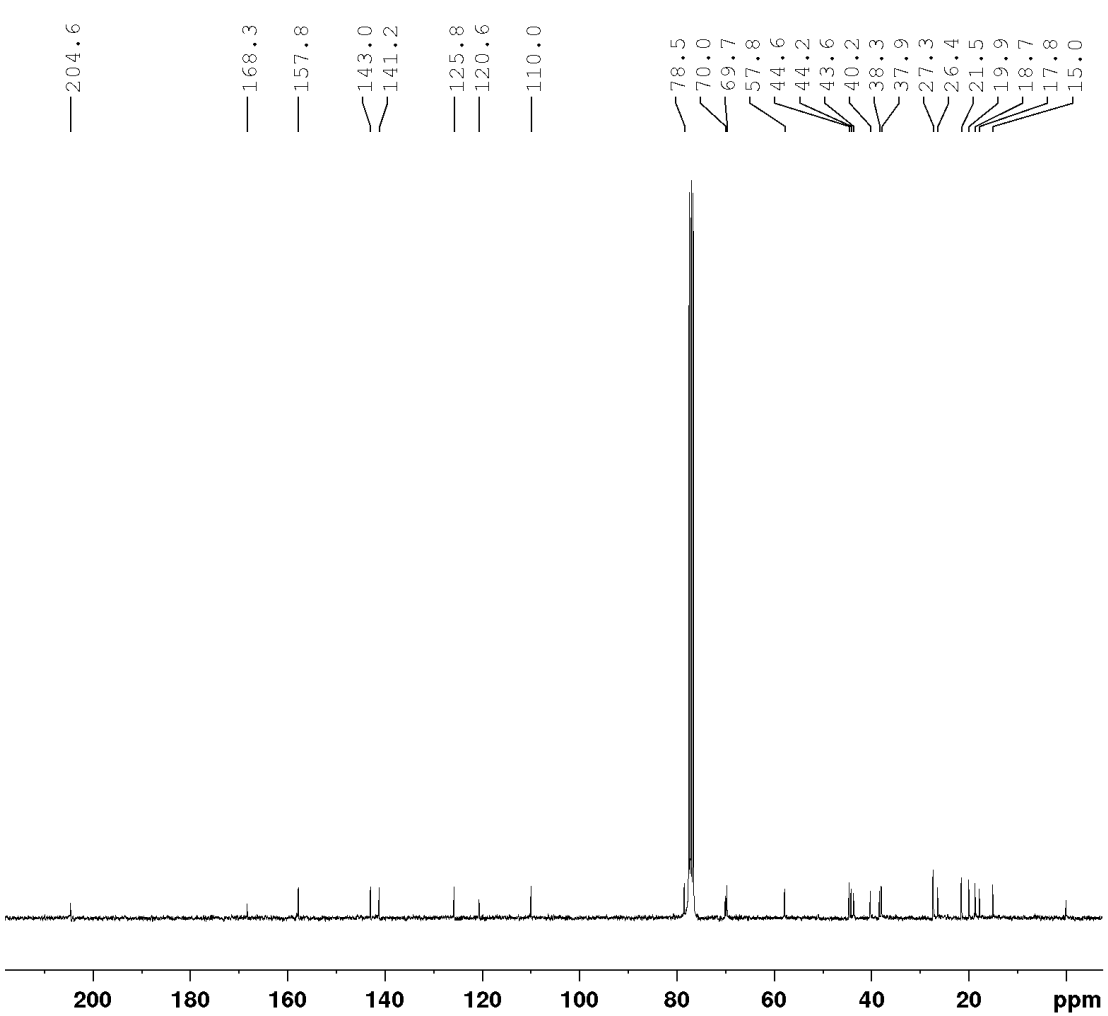

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195E
EXPNO                    11
PROCNO                    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180313
Time                17.19
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                zg
TD                  65536
SOLVENT             CDCl3
NS                     64
DS                      1
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ              5.3687091 sec
RG                 31.623
DW                 81.920 usec
DE                 10.00 usec
TE                 293.8 K
D1             1.00000000 sec
TD0                     1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P1                   7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                  65536
SF            300.2000000 MHz
WDW                    EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.00
```

ANEXO 52. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195E
EXPNO                    2
PROCNO                   1

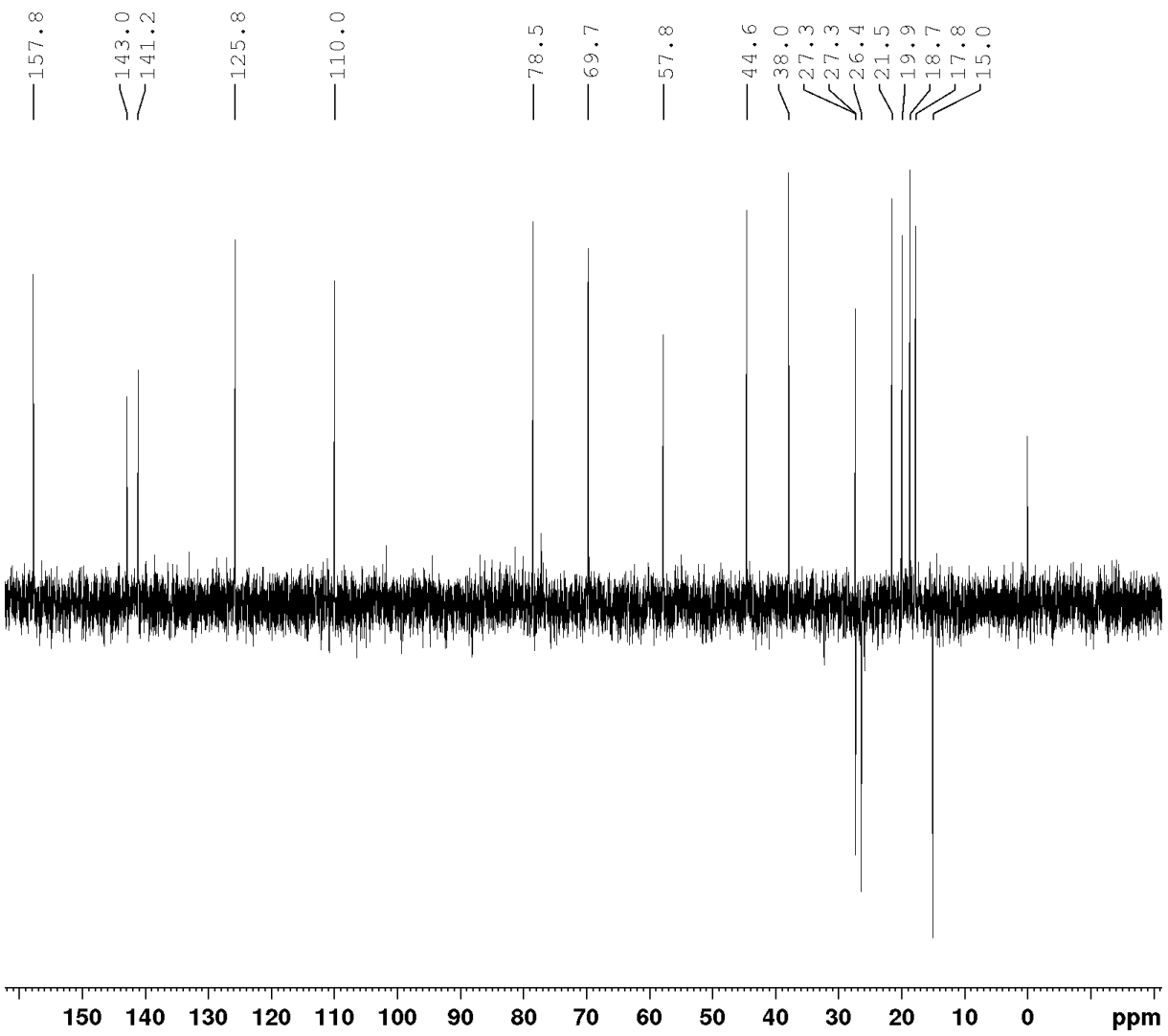
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180314
Time              11.26
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS                22528
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               293.9 K
D1           0.50000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.01589210 sec
L4                   20
L5                   14
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928982 MHz
NUC1                13C
P1                8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.16806000 W
PLW13        0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                3.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 53. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195E
EXPNO                    4
PROCNO                   1

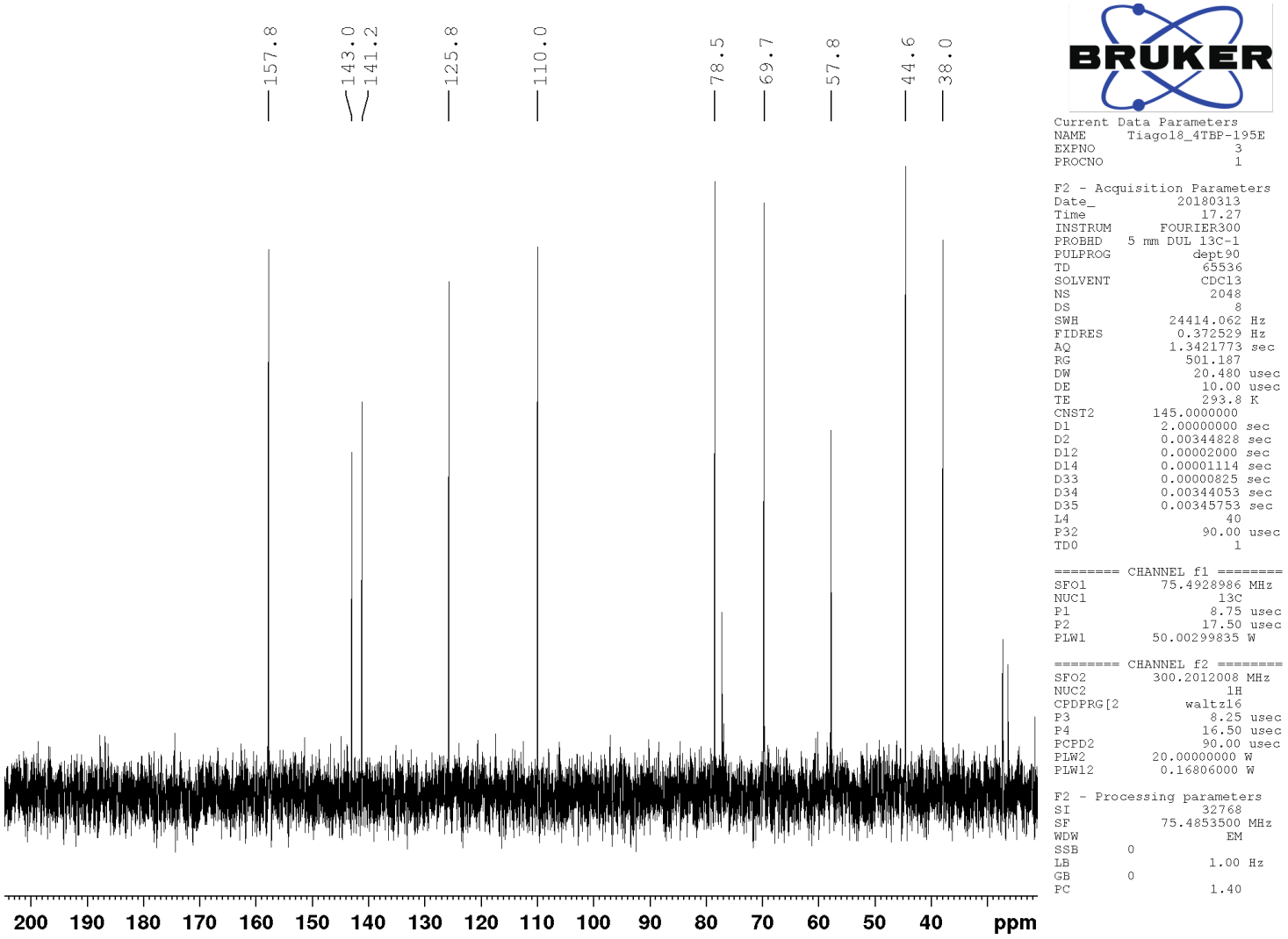
F2 - Acquisition Parameters
Date_             20180313
Time                 11.27
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept135
TD                 65536
SOLVENT             CDC13
NS                  2048
DS                     8
SWH            24414.062 Hz
FIDRES          0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                295.3 K
CNST2         145.0000000
D1             2.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D14            0.00001114 sec
D33            0.00000825 sec
D34            0.00344053 sec
D35            0.00345340 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                 1.00 Hz
GB        0
PC                 1.40
```

ANEXO 54. Espectro de DEPT 135º do 9.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195E
EXPNO                    3
PROCNO                   1

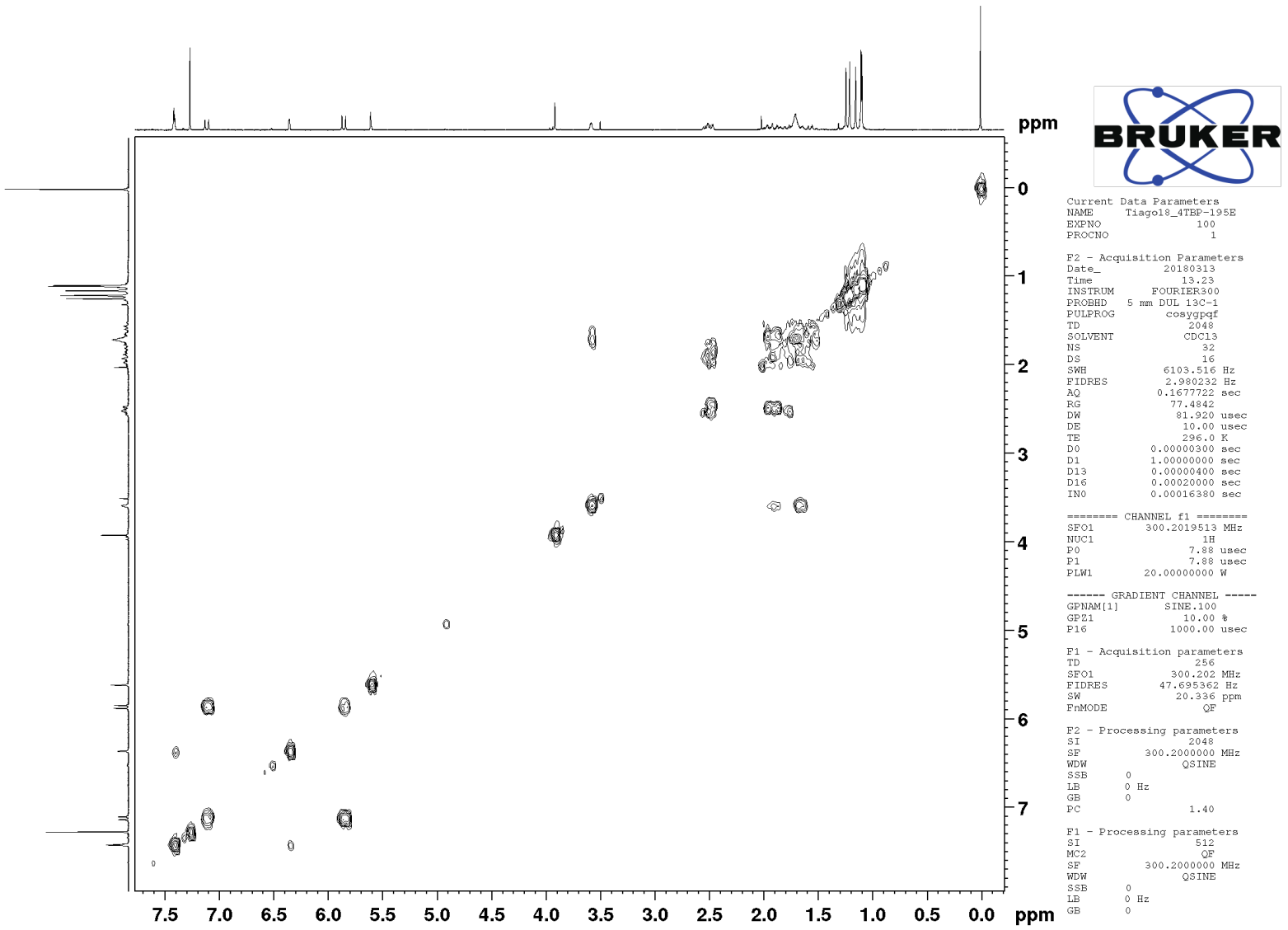
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180313
Time              17.27
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept90
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                 2048
DS                    8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                293.8 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345753 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928986 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

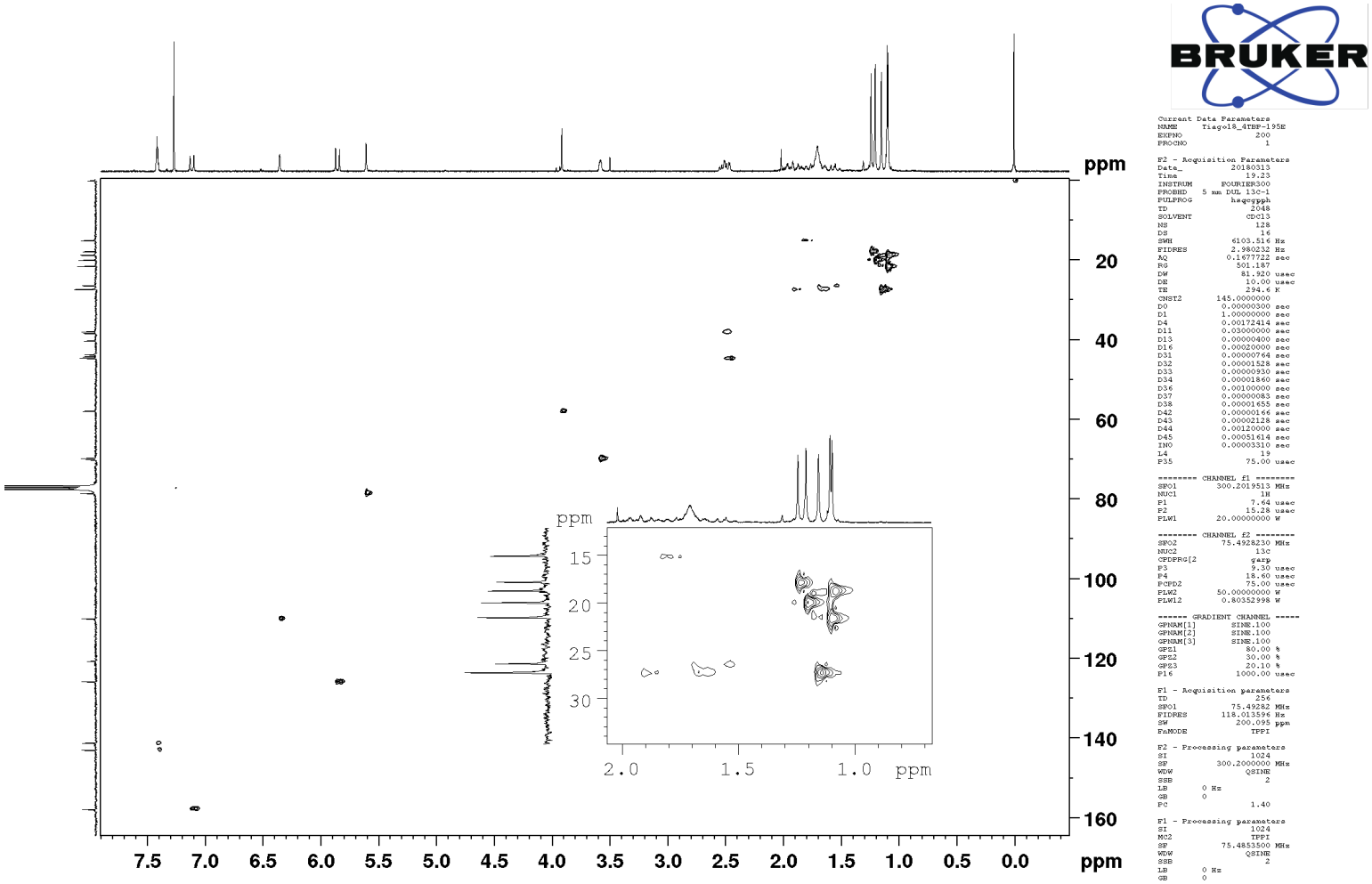
======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 55. Espectro de DEPT 90º do 9.2.



ANEXO 56. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TEP-195E
EXPNO              200
PROCNO               1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20180313
Time              19.23
INSTRUM       spect
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG         hsqcgpph
TD                2048
SOLVENT           CDCl3
NS                 128
DS                  16
SWH           6103.516 Hz
FIDRES        2.980232 Hz
AQ            0.1677722 sec
RG              501.187
DW             81.920 usec
DE             10.00 usec
TE             294.6 K
CNST2       145.00000000
D0           0.00000300 sec
D1           1.00000000 sec
D4           0.00172414 sec
D11          0.03000000 sec
D13          0.00000400 sec
D16          0.00020000 sec
D31          0.00000764 sec
D32          0.00001528 sec
D33          0.00000930 sec
D34          0.00001860 sec
D36          0.00100000 sec
D37          0.00000083 sec
D38          0.00001655 sec
D42          0.00000166 sec
D43          0.00002128 sec
D44          0.00120000 sec
D45          0.00051614 sec
IN0          0.00003310 sec
L4                  19
P35             75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1        300.2019513 MHz
NUC1              1H
P1               7.64 usec
P2              15.28 usec
PLW1        20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         75.4928230 MHz
NUC2              13c
CPDPRG[2          garp
P3               9.30 usec
P4              18.60 usec
PCPD2           75.00 usec
PLW2        50.00000000 W
PLW12        0.80352998 W

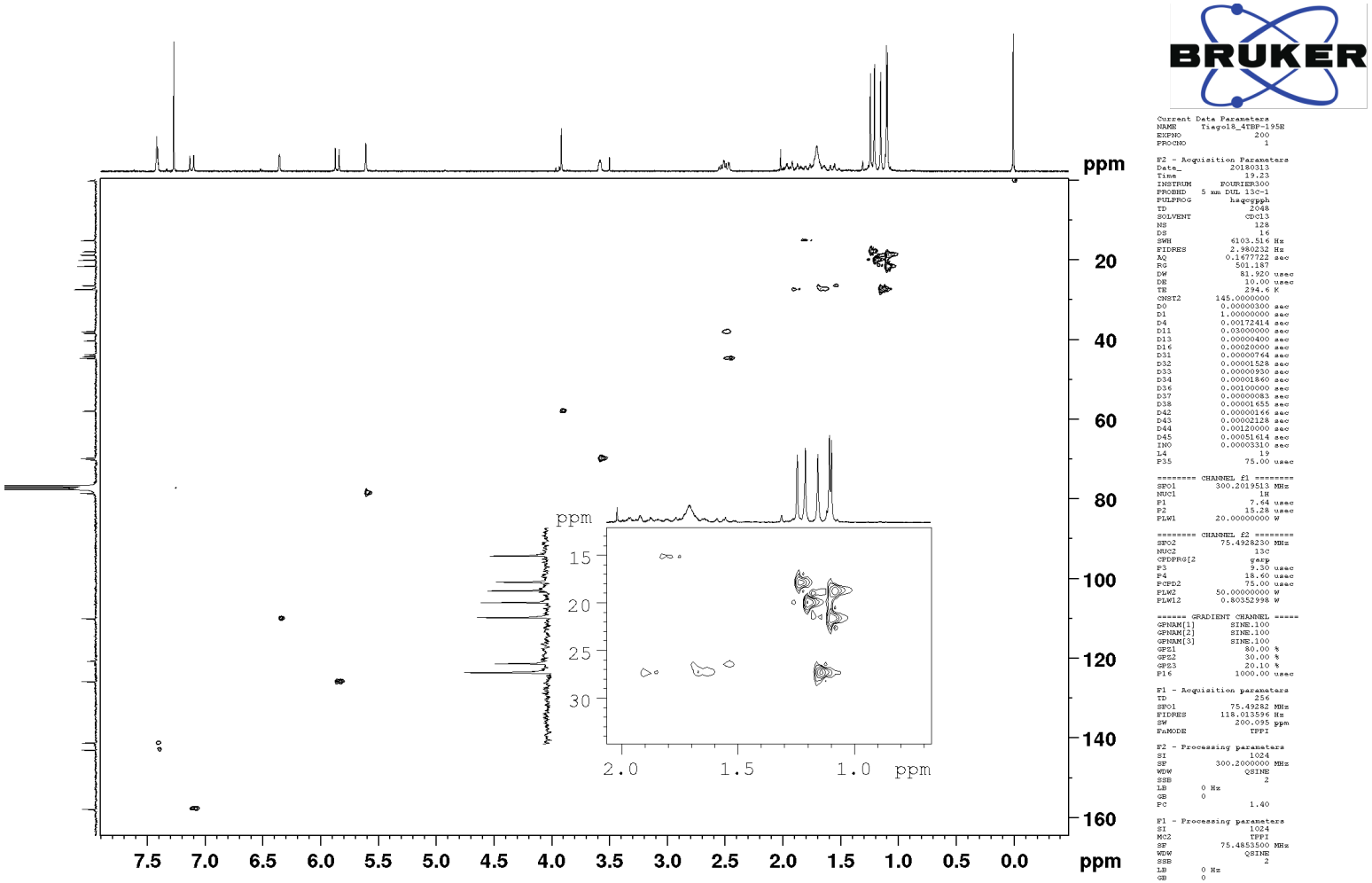
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]        SINE.100
GPNAM[2]        SINE.100
GPNAM[3]        SINE.100
GPZ1             80.00 %
GPZ2             30.00 %
GPZ3             20.10 %
P16            1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                256
SFO1         75.49282 MHz
FIDRES       118.013396 Hz
SW            200.095 ppm
FnMODE            TPPI

F2 - Processing parameters
SI                1024
SF           300.2000000 MHz
WDW               QSINE
SSB                  2
LB          0 Hz
GB          0
PC               1.40

F1 - Processing parameters
SI                1024
MC2               TPPI
SF           75.4853500 MHz
WDW               QSINE
SSB                  2
LB          0 Hz
GB          0
```

ANEXO 57. Espectro de HSQC do 9.2.



Current Data Parameters
NAME Tiago18_4TBP-195E
EXPNO 200
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180313
Time 19.23
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG hsqcgpph
TD 2048
SOLVENT CDCl3
NS 128
DS 16
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 2.980232 Hz
AQ 0.1677722 sec
RG 501.187
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 294.6 K
CNST2 145.0000000
D0 0.00000300 sec
D1 1.00000000 sec
D4 0.00172414 sec
D11 0.03000000 sec
D13 0.00000400 sec
D16 0.00020000 sec
D31 0.00000764 sec
D32 0.00001528 sec
D33 0.00000930 sec
D34 0.00001860 sec
D36 0.00100000 sec
D37 0.00000083 sec
D38 0.00001655 sec
D42 0.00000166 sec
D43 0.00002128 sec
D44 0.00120000 sec
D45 0.00051414 sec
IN0 0.00003310 sec
L4 19
P35 75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P1 7.64 usec
P2 15.28 usec
PLW1 20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2 75.4928230 MHz
NUC2 13C
CPDPRG[2 garp
P3 9.30 usec
P4 18.60 usec
PCPD2 75.00 usec
PLW2 50.00000000 W
PLW12 0.80352998 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] SINE.100
GPNAM[2] SINE.100
GPNAM[3] SINE.100
GPZ1 80.00 %
GPZ2 30.00 %
GPZ3 20.10 %
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD 256
SFO1 75.4928230 MHz
FIDRES 118.013596 Hz
SW 200.095 ppm
FnMODE TPPI

F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 300.2000000 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

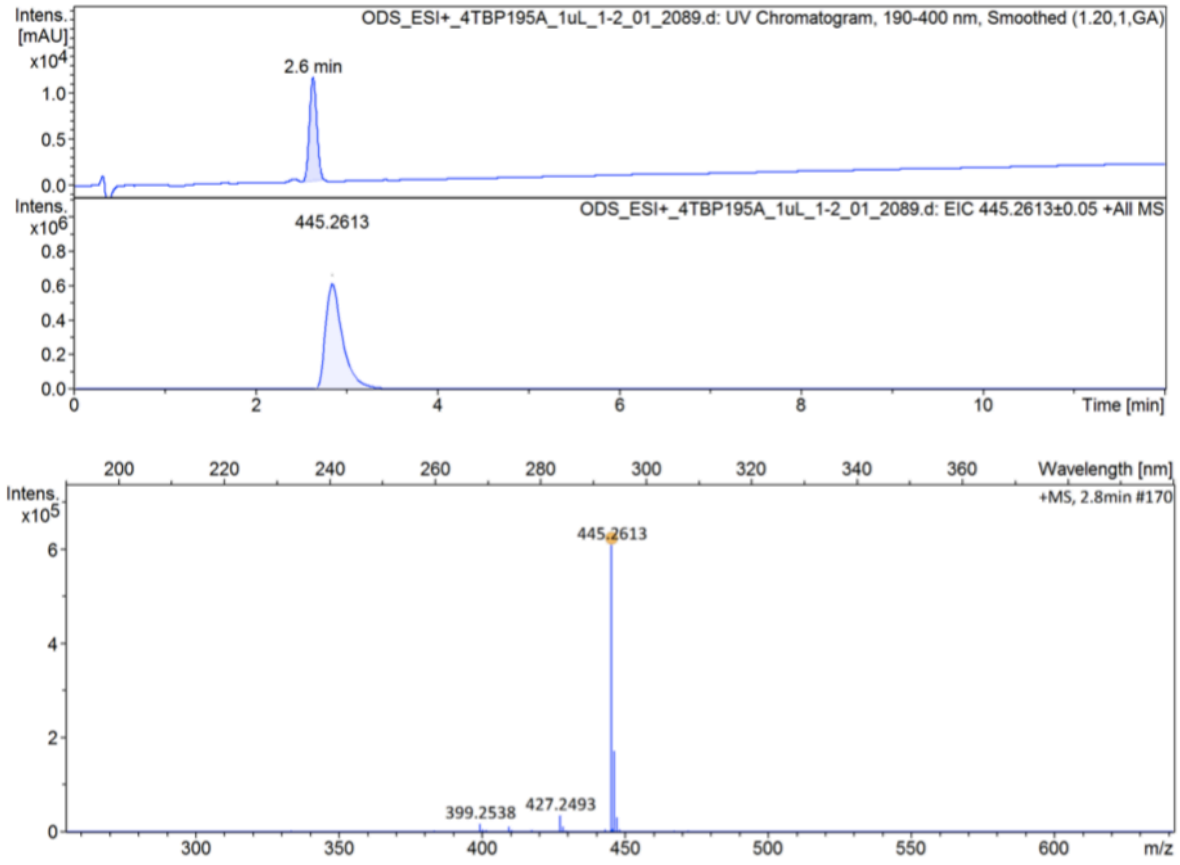
F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 TPPI
SF 75.4853500 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0

ANEXO 58. Espectro de HMBC do 9.2.

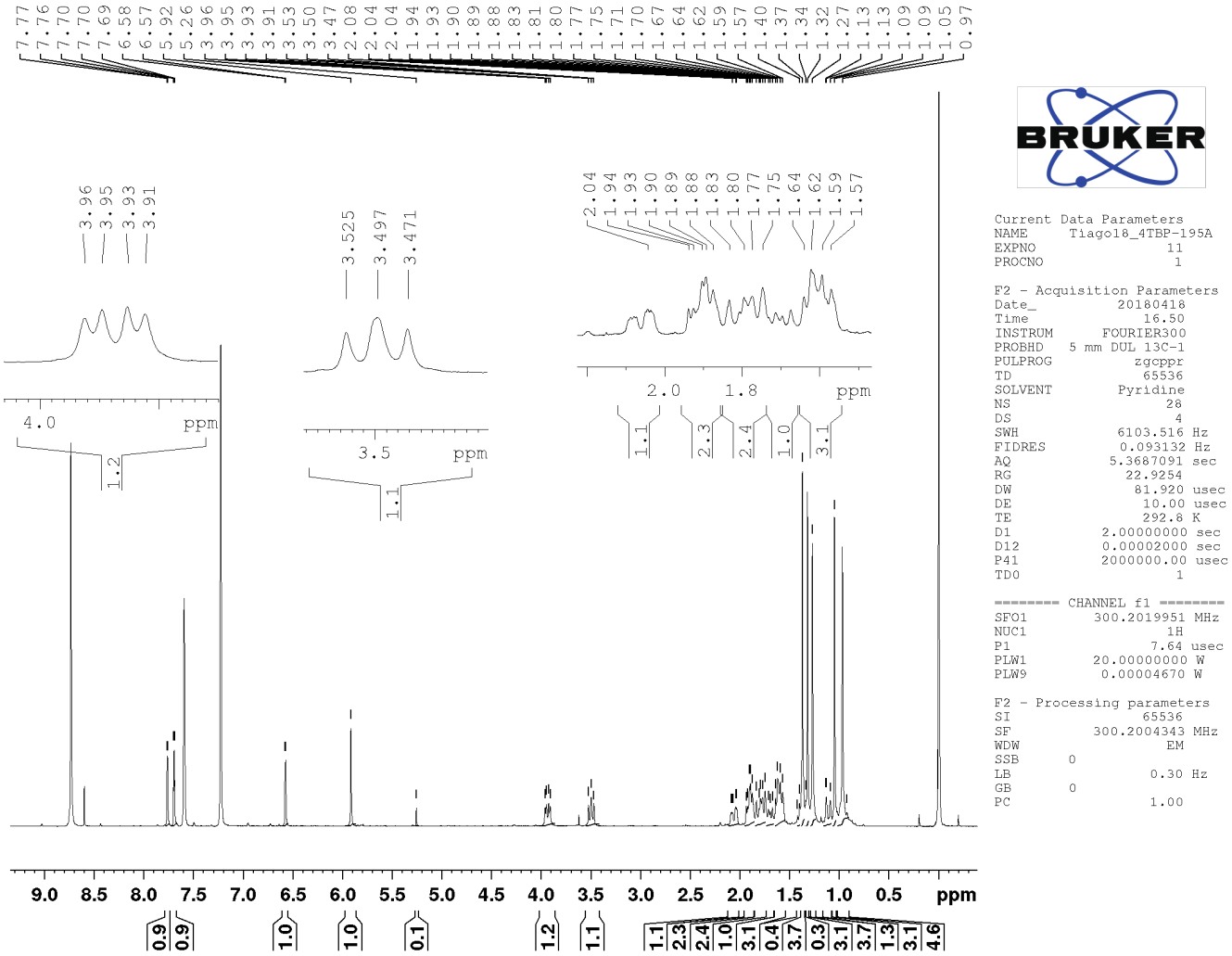
Analysis Info Acquisition Date 2/1/2018 10:45:41 AM

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP195A_1uL_1-2_01_2089.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP195A_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
445.2613	1	M+H	C26H37O6	445.2585	-6.5	3.6



ANEXO 59. UFLC/HRMS-ESI do 9.3.



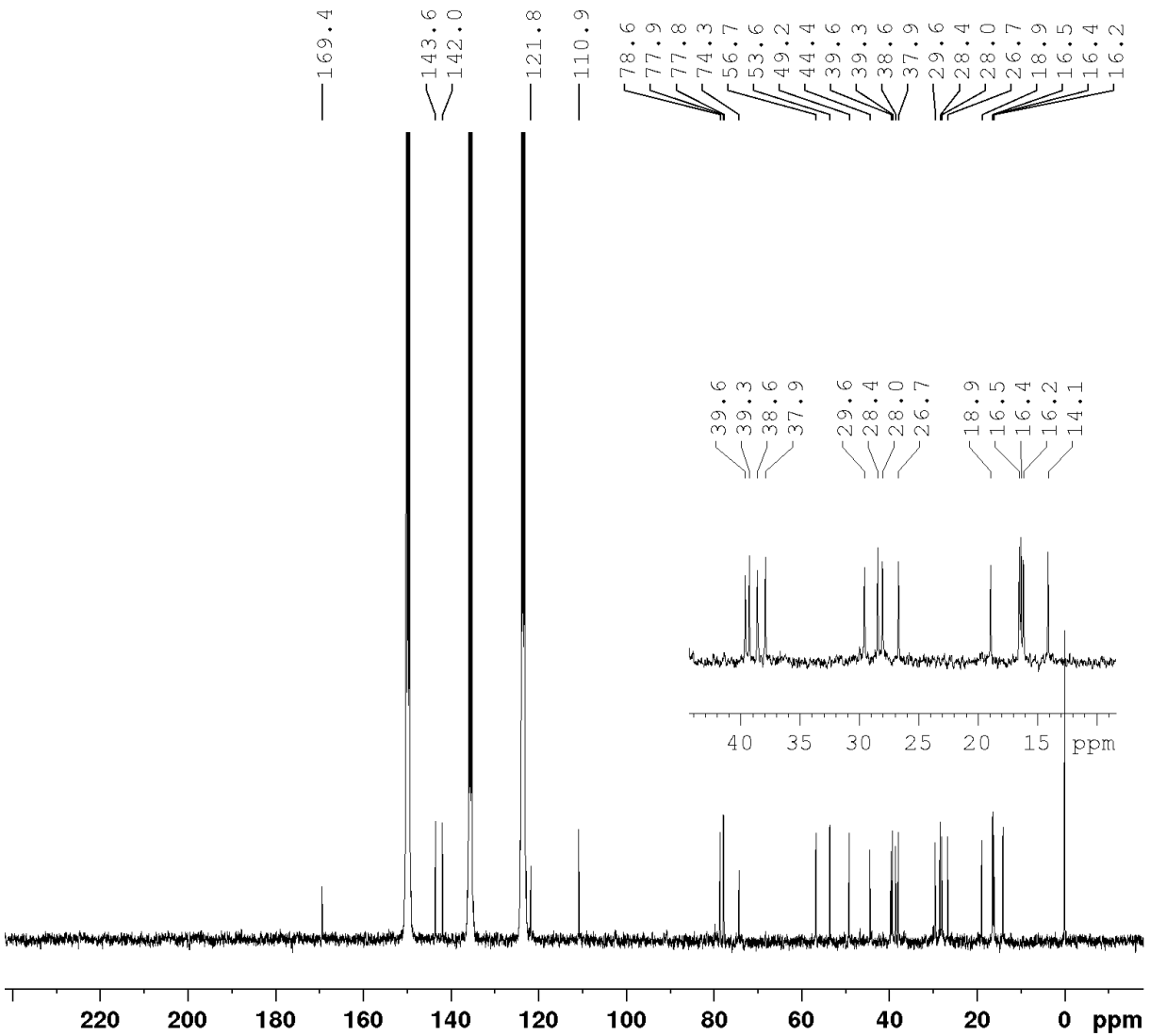

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195A
EXPNO                   11
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180418
Time              16.50
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgcppr
TD                65536
SOLVENT         Pyridine
NS                   28
DS                    4
SWH            6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ             5.3687091 sec
RG               22.9254
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                292.8 K
D1            2.00000000 sec
D12           0.00002000 sec
P41           2000000.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019951 MHz
NUC1                 1H
P1                 7.64 usec
PLW1        20.00000000 W
PLW9         0.00004670 W

F2 - Processing parameters
SI                65536
SF           300.2004343 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                0.30 Hz
GB        0
PC                1.00
```

ANEXO 60. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195A
EXPNO                     2
PROCNO                    1

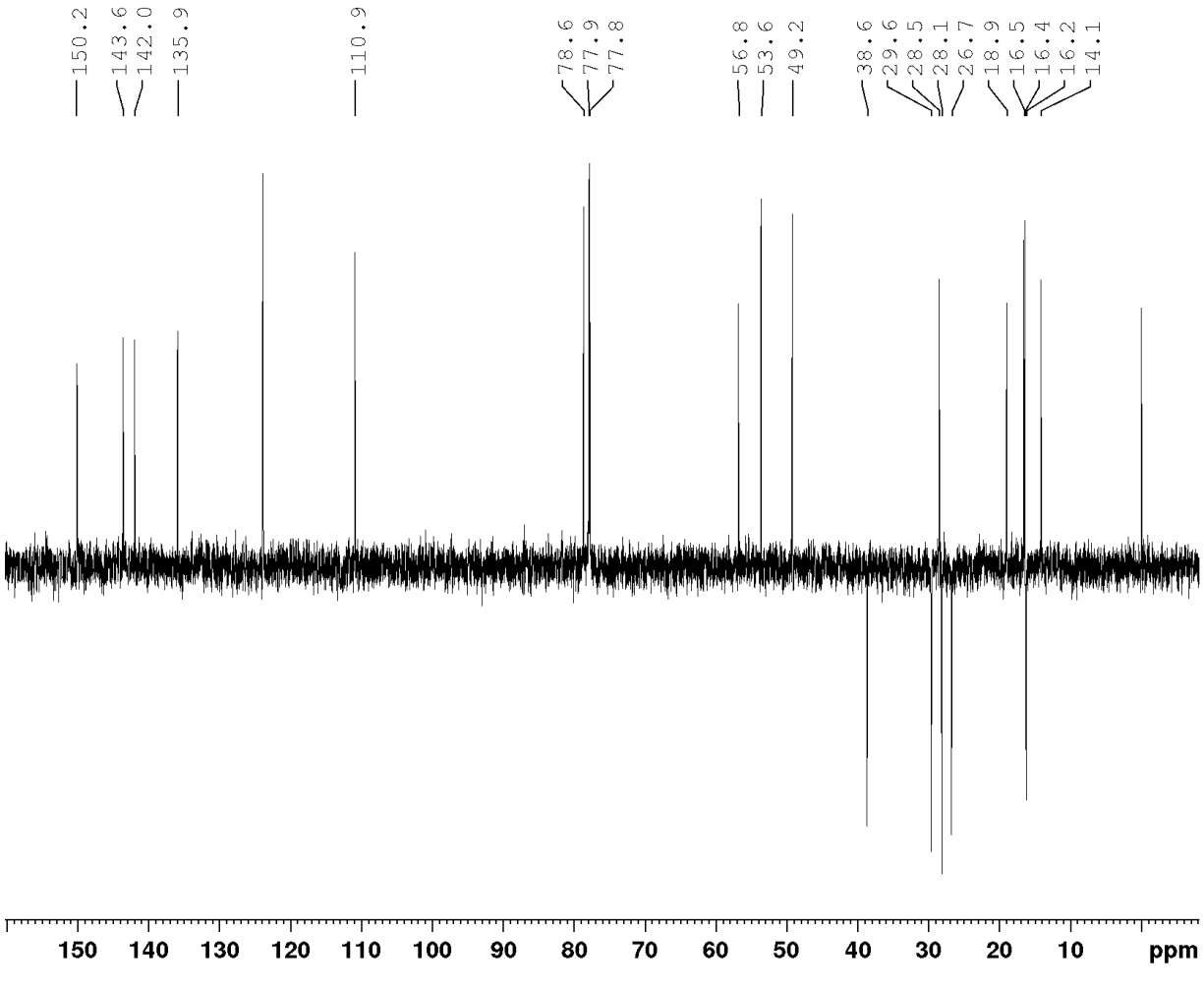
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180418
Time              20.55
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgpg30
TD                32768
SOLVENT         Pyridine
NS                24576
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               295.8 K
D1           0.10000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.03084430 sec
L4                   20
L5                    2
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928982 MHz
NUC1                13C
P1                8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.16806000 W
PLW13        0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4854442 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                3.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 61. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195A
EXPNO                    4
PROCNO                   1

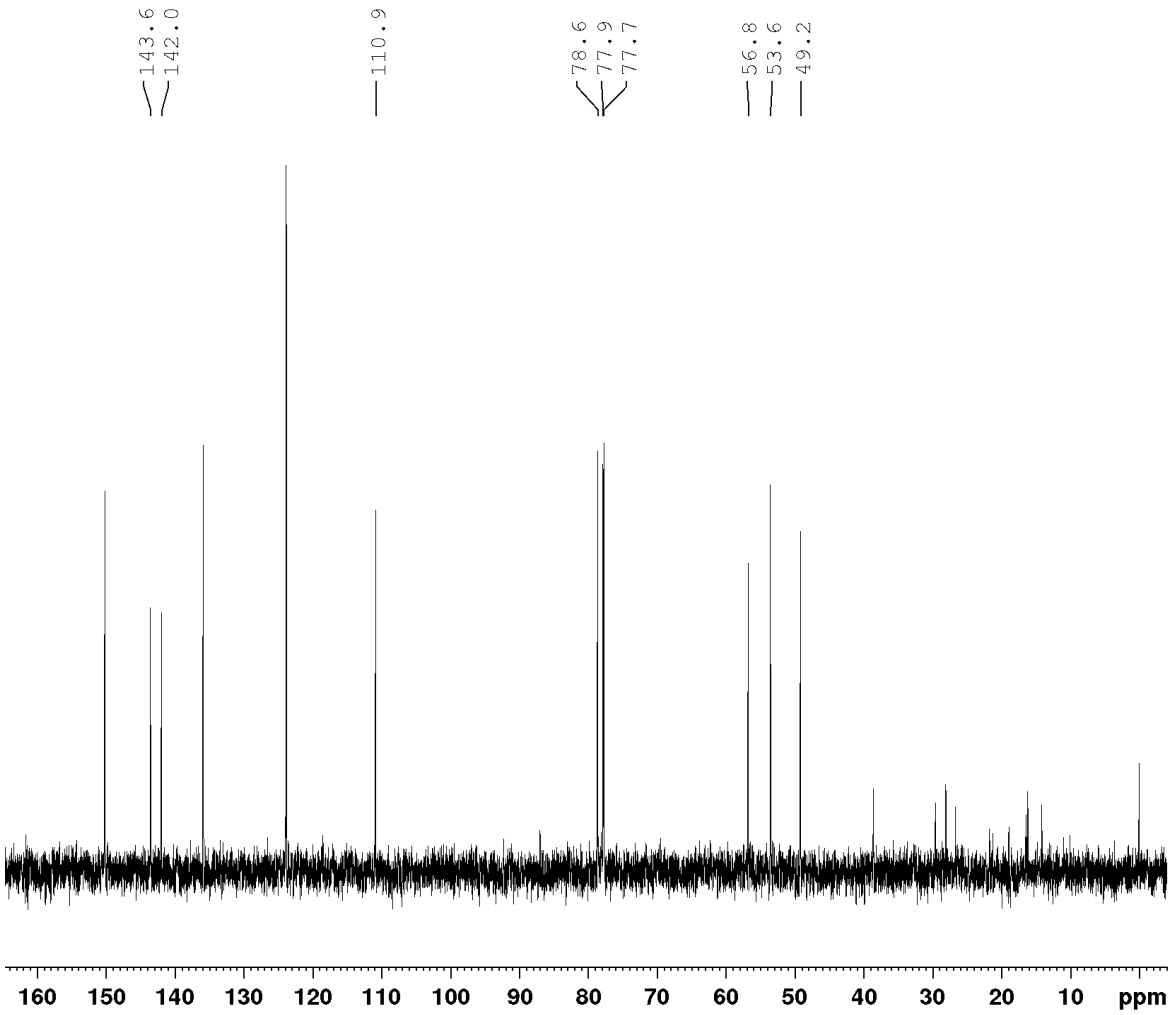
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180418
Time              18.52
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                65536
SOLVENT         Pyridine
NS                 3072
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               294.8 K
CNST2        145.0000000
D1            1.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345340 sec
L4                   40
P32               90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928978 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
P2               17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                8.25 usec
P4               16.50 usec
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4854436 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 62. Espectro de DEPT 135º do 9.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195A
EXPNO                     3
PROCNO                    1

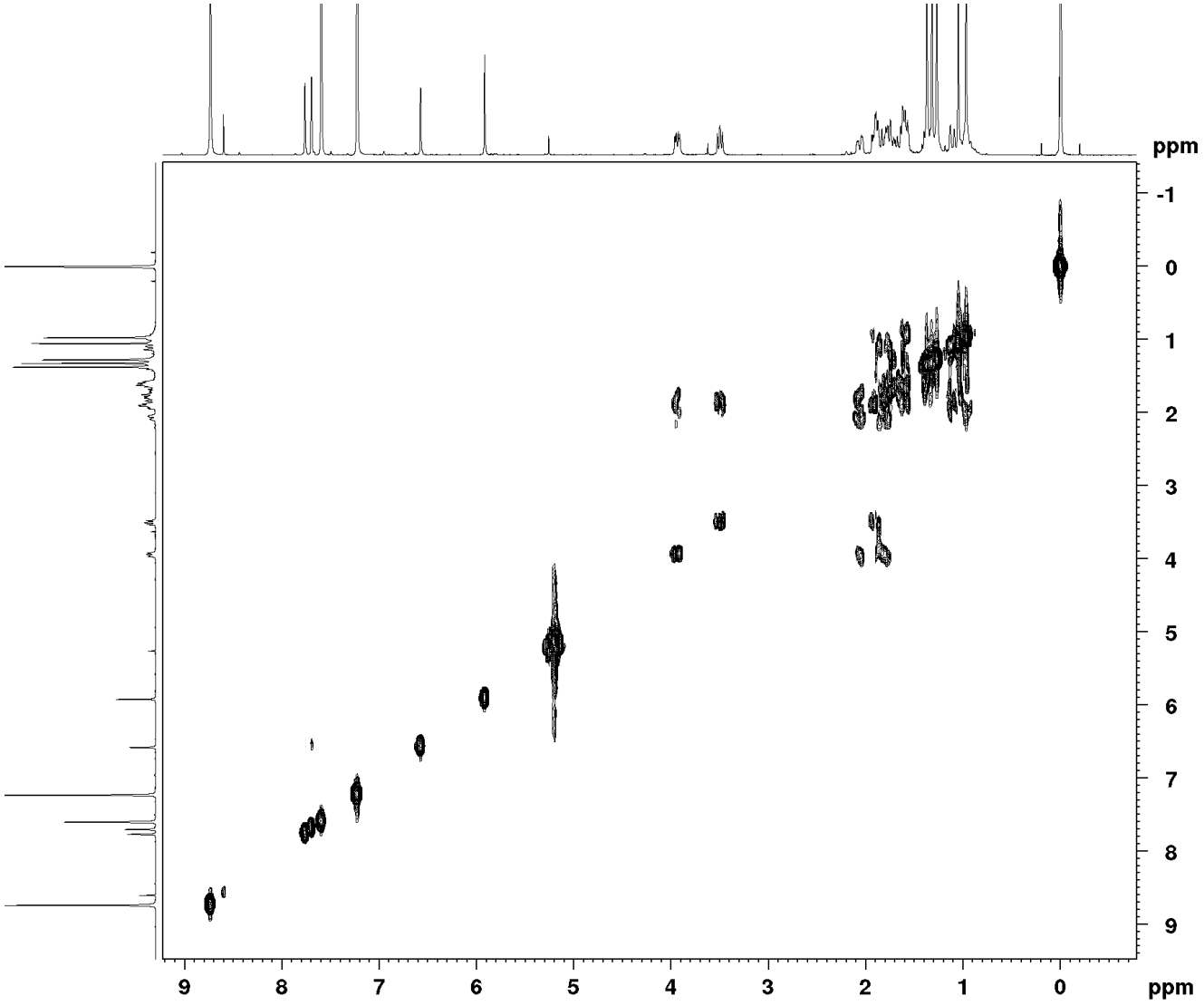
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180418
Time                16.55
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept90
TD                 65536
SOLVENT          Pyridine
NS                 2048
DS                    4
SWH            24414.062 Hz
FIDRES          0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               199.526
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                292.8 K
CNST2         145.0000000
D1             2.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D12            0.00002000 sec
D14            0.00001114 sec
D33            0.00000825 sec
D34            0.00344053 sec
D35            0.00345753 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928978 MHz
NUC1                 13C
P1                  8.75 usec
P2                 17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                  8.25 usec
P4                 16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF           75.4854434 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                 1.00 Hz
GB        0
PC                 1.40
```

ANEXO 63. Espectro de DEPT 90º do 9.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195A
EXPNO              100
PROCNO               1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20180419
Time              7.50
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG         cosygpqf
TD                2048
SOLVENT         Pyridine
NS                  32
DS                  16
SWH            6103.516 Hz
FIDRES         2.980232 Hz
AQ            0.1677722 sec
RG              25.7071
DW               81.920 usec
DE               10.00 usec
TE               294.7 K
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D13           0.00000400 sec
D16           0.00020000 sec
IN0           0.00016380 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1               1H
P0                7.64 usec
P1                7.64 usec
PLW1        20.00000000 W

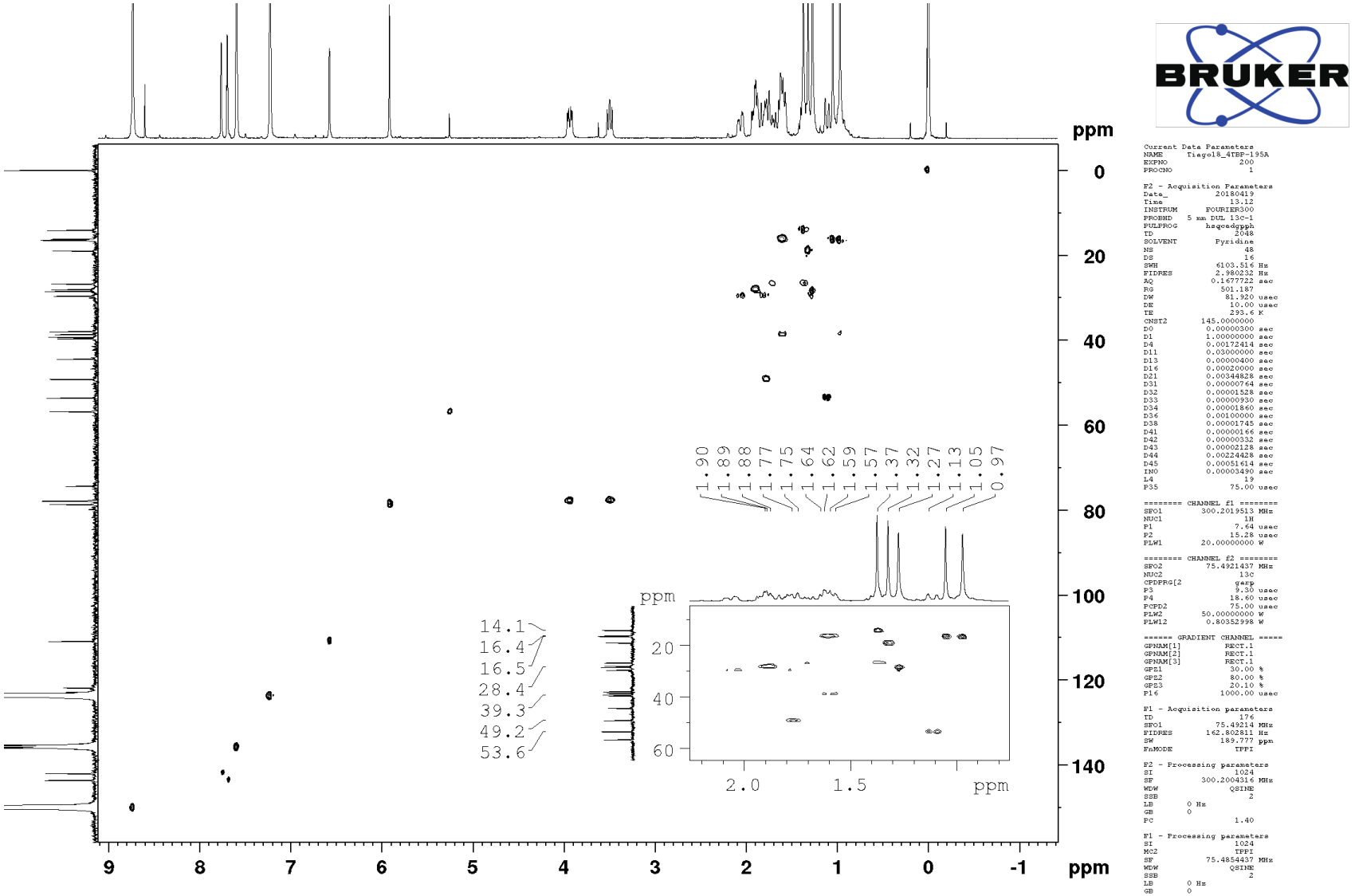
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]        SINE.100
GPZ1              10.00 %
P16             1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                 125
SFO1            300.202 MHz
FIDRES         97.680099 Hz
SW               20.336 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                4096
SF           300.2004290 MHz
WDW               QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.40

F1 - Processing parameters
SI                2048
MC2                 QF
SF           300.2004379 MHz
WDW               QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 64. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.3.



Current Data Parameters
NAME Tiago18_4TBP-195A
EXPNO 200
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180419
Time 13.12
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13c-1
PULPROG hsqcedqpph
TD 2048
SOLVENT Pyridine
NS 48
DS 16
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 2.980232 Hz
AQ 0.1677722 sec
RG 501.187
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 293.6 K
CNST2 145.0000000
D0 0.00000300 sec
D1 1.00000000 sec
D4 0.00172414 sec
D11 0.03000000 sec
D13 0.00000400 sec
D16 0.00020000 sec
D21 0.00344828 sec
D31 0.00000764 sec
D32 0.00001528 sec
D33 0.00000930 sec
D34 0.00001860 sec
D36 0.00100000 sec
D38 0.00001745 sec
D41 0.00000166 sec
D42 0.00000332 sec
D43 0.00002128 sec
D44 0.00224428 sec
D45 0.00051614 sec
IN0 0.00003490 sec
L4 19
P35 75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P1 7.64 usec
P2 15.28 usec
PLW1 20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2 75.4921437 MHz
NUC2 13c
CPDPRG[2 garp
P3 9.30 usec
P4 18.60 usec
PCPD2 75.00 usec
PLW2 50.00000000 W
PLW12 0.80352998 W

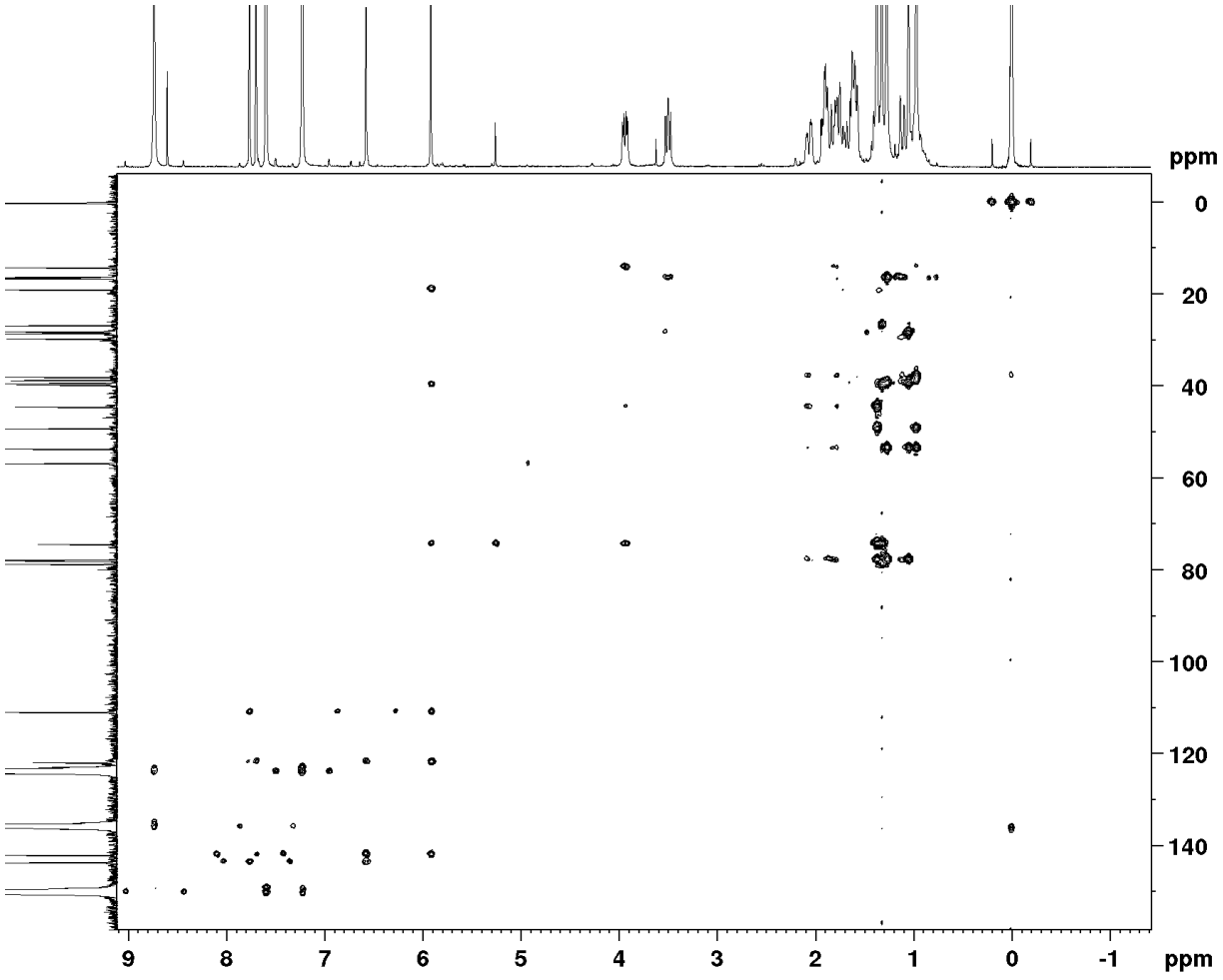
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] RECT.1
GPNAM[2] RECT.1
GPNAM[3] RECT.1
GPZ1 30.00 %
GPZ2 80.00 %
GPZ3 20.10 %
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD 176
SFO1 75.49214 MHz
FIDRES 162.802811 Hz
SW 189.777 ppm
FnMODE TPPI

F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 300.2004316 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 TPPI
SF 75.4854437 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0

ANEXO 65. Espectro de HSQC do 9.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-195A
EXPNO                   300
PROCNO                    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180419
Time              2.20
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG    hmbcgplpndqf
TD                2048
SOLVENT          Pyridine
NS                  72
DS                  16
SWH            6103.516 Hz
FIDRES         2.980232 Hz
AQ            0.1677722 sec
RG              501.187
DW               81.920 usec
DE               10.00 usec
TE              296.1 K
CNST2       145.0000000
CNST13        7.0000000
D0           0.00000300 sec
D1           1.00000000 sec
D2           0.00344828 sec
D6           0.07142857 sec
D16          0.00020000 sec
D31          0.00000764 sec
D32          0.00001528 sec
D33          0.00000930 sec
D36          0.00100000 sec
D38          0.00003010 sec
IN0          0.00003010 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                1H
P1                 7.64 usec
P2                15.28 usec
PLW1        20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         75.4932760 MHz
NUC2                13C
P3                 9.30 usec
PLW2        50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]        SINE.100
GPNAM[2]        SINE.100
GPNAM[3]        SINE.100
GPZ1              50.00 %
GPZ2              30.00 %
GPZ3              40.10 %
P16             1000.00 usec

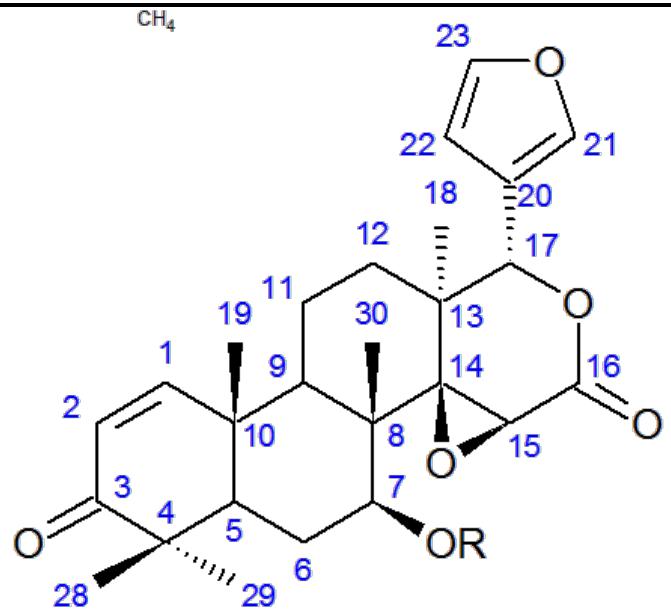
F1 - Acquisition parameters
TD                 213
SFO1            75.49328 MHz
FIDRES        155.974609 Hz
SW              220.037 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                1024
SF           300.2004295 MHz
WDW                SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.40

F1 - Processing parameters
SI                1024
MC2                QF
SF           75.4854526 MHz
WDW                SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 66. Espectro de HMBC do 9.3.

ANEXO 67. Tabela dos sinais de RMN de ^{1}H e ^{13}C das substâncias 9.1.1, 9.1.2, 9.1.3



9.1.1: R^1= Ac.
9.1.2: R^1= $CO(CH_2)_2CH_3$.
9.1.3: R^1= $CO(CH_2)_3CH_3$.

H/C[a]	7-epi-desacetilgedunina(9.1)		9.1.1		9.1.2		9.1.3	
	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$
1	7,04 d(10)	156,5	7,11 d(10)	157,0	7,07 d(10)	156,5	7,06 d(10)	156,5
2	5,87 d(10)	126,2	5,87 d(10)	126,0	5,88 d(10)	126,4	5,88 d(10)	126,4
3	-	204,0	-	204,0	-	200,4	-	204,0
4	-	44,1	-	44,0	-	44,6	-	44,6

5		1,78 m	50,9	2,18 dd(13; 3)	46,0	1,87 m	51,0	2 dd(10;4)	45,0
6	α	1,76 m	26,2	1,93 t(3)	23,2	1,96 m	25,5	1,94 dd(10;3)	25,5
	β	1,52 m		1,80 m		1,66 m		1,65 m	
7	α	3,81 dd (11;5)	77,1	4,96 dd(10;4)	73,2	5,0 dd(10,4)	77,7	5,01 dd(10;4)	77,5
	β	-		-		-		-	
8		-	44,1	-	42,6	-	43,9	-	43,9
9		1,99 m	43,5	2,49, dd(12;6)	39,5	2,0 m	45,0	1,88 dd(13;2)	51,0
10		-	40,0	-	40,0	-	39,7	-	40,0
11	α	1,94 m	16,0	1,98 m	15,0	1,97 m	16,6	1,94 m	16,6
	β	1,76 m		1,85 ddd(12; 6; 3)		1,84 m		1,86 t (13)	
12	α	1,52 m	26,1	1,54 dd (12; 3)	25,9	1,51 m	28,9	1,50 m	28,9
	β	1,75 m		1,74 dd(12; 3)		1,80 m		1,80 m	
13		-	39,3	-	38,7	-	39,0	-	39,0
14		-	73,7	-	69,8	-	70,8	-	70,8
15		4,55 s	56,9	3,53 s	56,9	3,65 s	54,4	3,69 s	54,4

16	-	168,2	-	167,5	-	167,2	-	167,2
17	5,65 s	77,9	5,63 s	78,2	5,56 s	78,1	5,56 s	78,0
18	1,20 s	19,03	1,26 s	17,7	1,26 s	19,9	1,25 s	19,7
19	1,22 s	19,6	1,22 s	19,8	1,20 s	19,9	1,20 s	19,7
20	-	120,4	-	120,4	-	120,3	-	120,3
21	7,43 m	141,2	7,41 m	141,2	7,40 m	141,1	7,41 m	143,1
22	6,34 m	109,9	6,35 t (1)	109,9	6,35 t(1,5)	109,8	6,34 t (1)	109,8
23	7,43 m	141,2	7,43 m	143,1	7,39 m	143,1	7,43 m	141,2
28	1,17 s	27,5	1,09 s	27,2	1,17 s	27,5	1,16 s	27,5
29	1,10 s	21,4	1,06 s	21,2	1,09 s	21,1	1,09 s	21,1
30	1,19 s	13,6	1,16s	18,3	1,17 s	14,2	1,16	14,2
7^1	-		-	169,9	-	172,9	-	173,1
7^2	-	-	2,12 s	21,1	2,36 m	36,6	2,38 t(7)	34,4
7^3	-	-	-	-	1,71 m	18,2	1,65 m	26,7
7^4	-	-	-	-	1,0 t(7)	13,7	1,5 sext.(7)	22,3

7^5	-	-	-	-	-	1,0 t(7)	13,7

a Posição dos hidrogênios e carbonos dos ésteres.

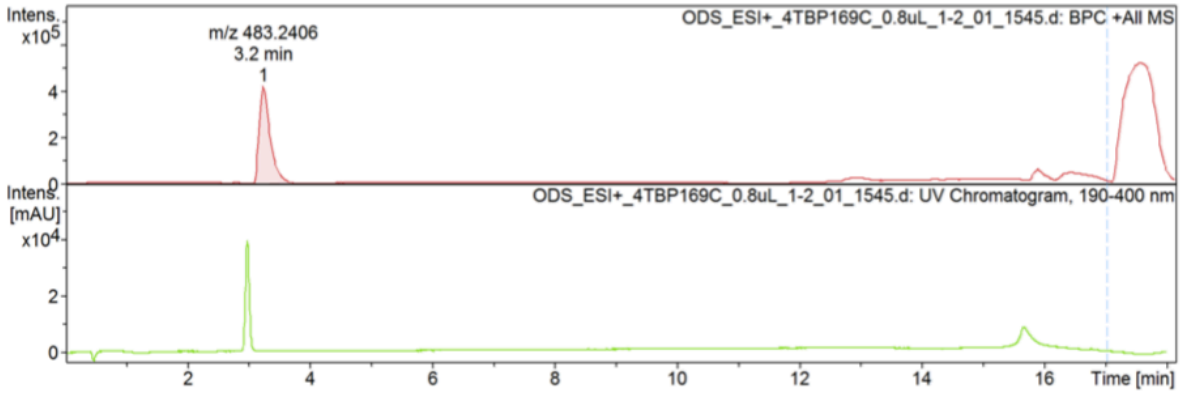
b RMN de 1H 300 MHz, CDCl3.

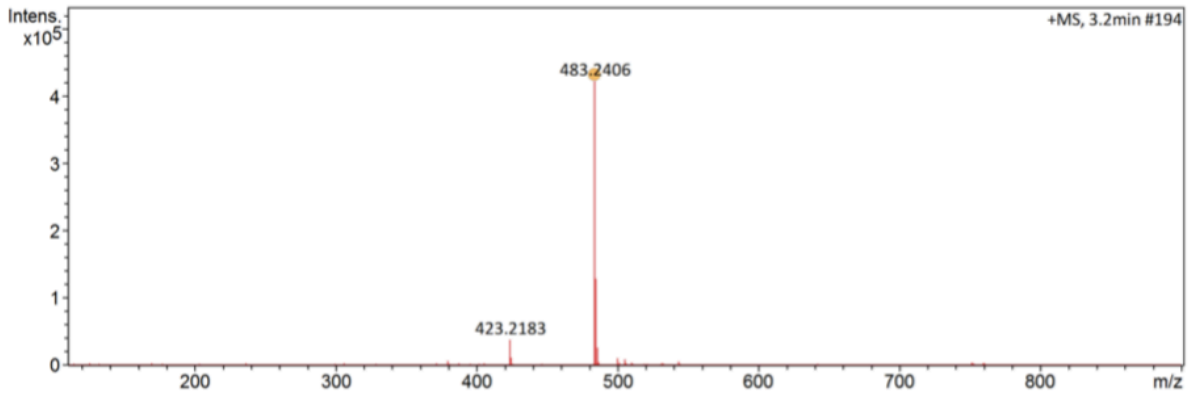
c RMN de 1H 75 MHz, CDCl3.

Analysis Info

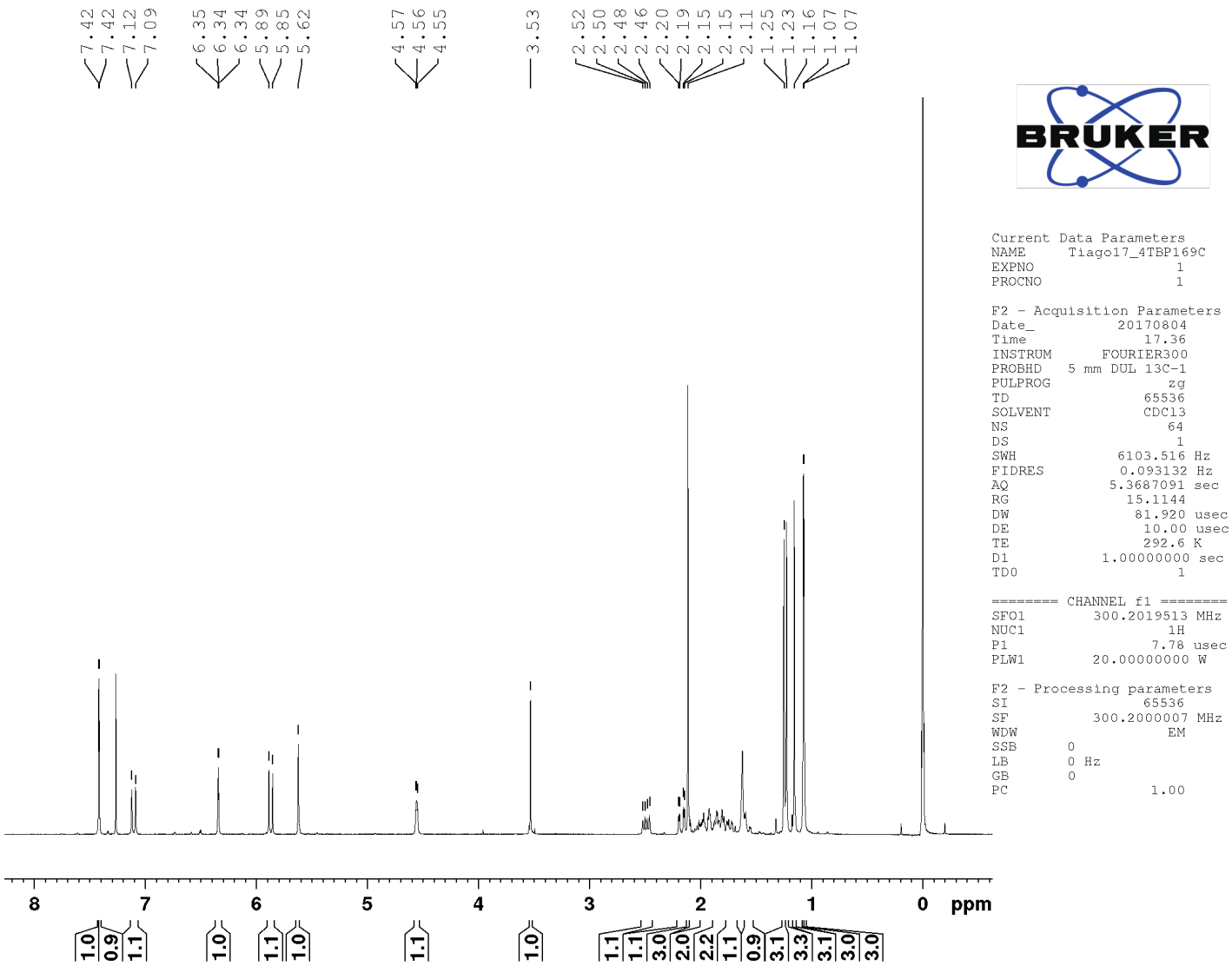
Acquisition Date	7/25/2017 8:21:10 AM		
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2017\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\25-07-2017\ODS_ESI+_4TBP169C_0.8uL_1-2_01_1545.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP169C_0.8uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	OODS 50x2,0mm 24/04/2017 VBranco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2757psi;F=30;C=1mg/mL(ACN);Inj=0.8uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-13m_40-100% 13-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# mSigma	Score	rdb	e⁻ Conf	N-Rule
483.2406	1	C28H35O7	483.2377	-6.0	3.1	1	41.78	11.5	even	ok
	2	C29H31N4O3	483.2391	-3.3	14.8	2	100.00	16.5	even	ok
	3	C21H39O12	483.2436	6.1	33.9	3	21.00	2.5	even	ok
	4	C34H31N2O	483.2431	5.1	38.3	4	29.82	20.5	even	ok





ANEXO 68. UFLC/HRMS-ESI do 9.1.1.



BRUKER

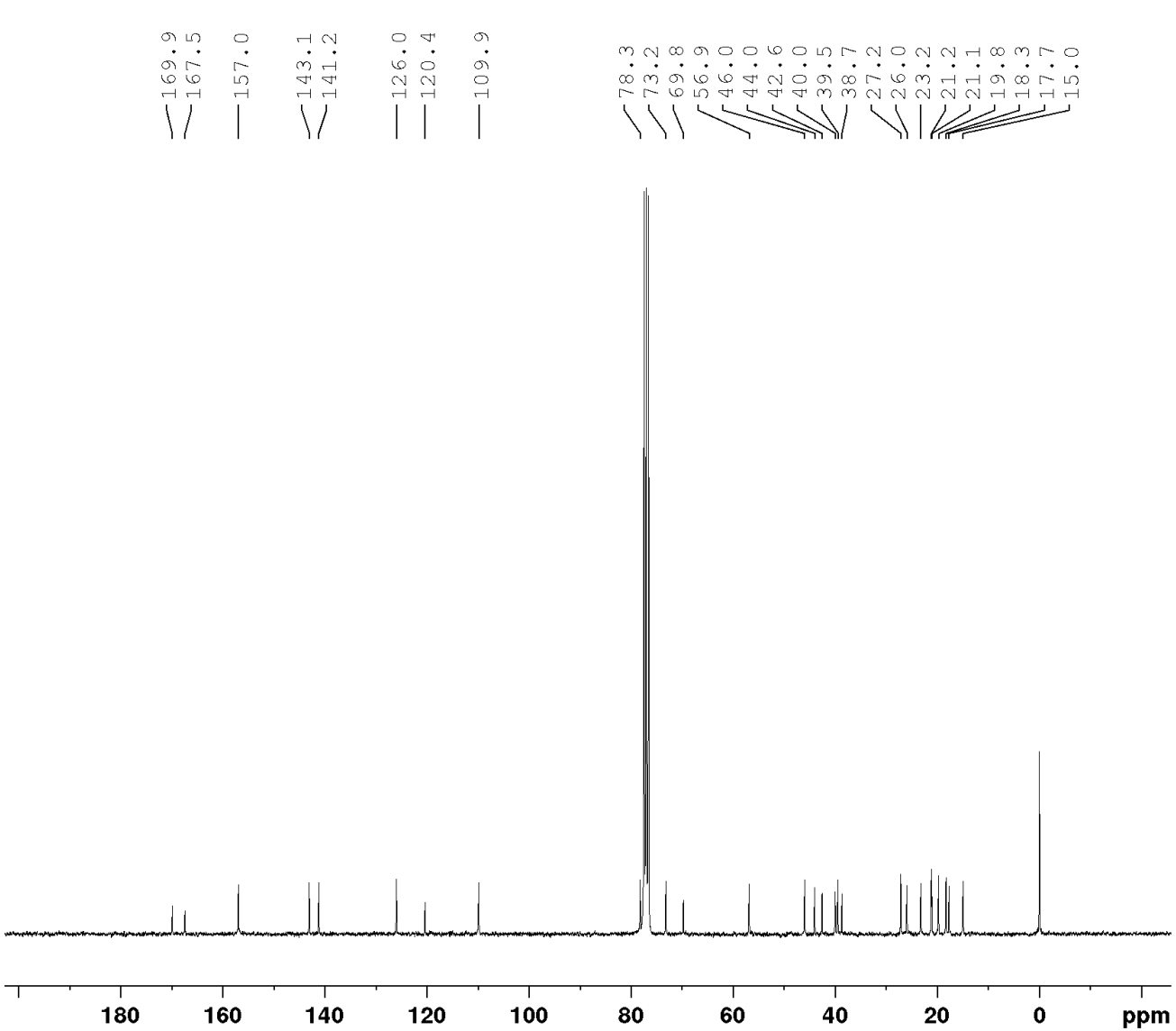
```
Current Data Parameters
NAME      Tiago17_4TBP169C
EXPNO                    1
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20170804
Time              17.36
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG               zg
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                    64
DS                     1
SWH             6103.516 Hz
FIDRES           0.093132 Hz
AQ              5.3687091 sec
RG                15.1144
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                292.6 K
D1             1.00000000 sec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P1                  7.78 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                 65536
SF            300.2000007 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.00
```

ANEXO 69. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.1.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago17_4TBP169C
EXPNO                    2
PROCNO                   1

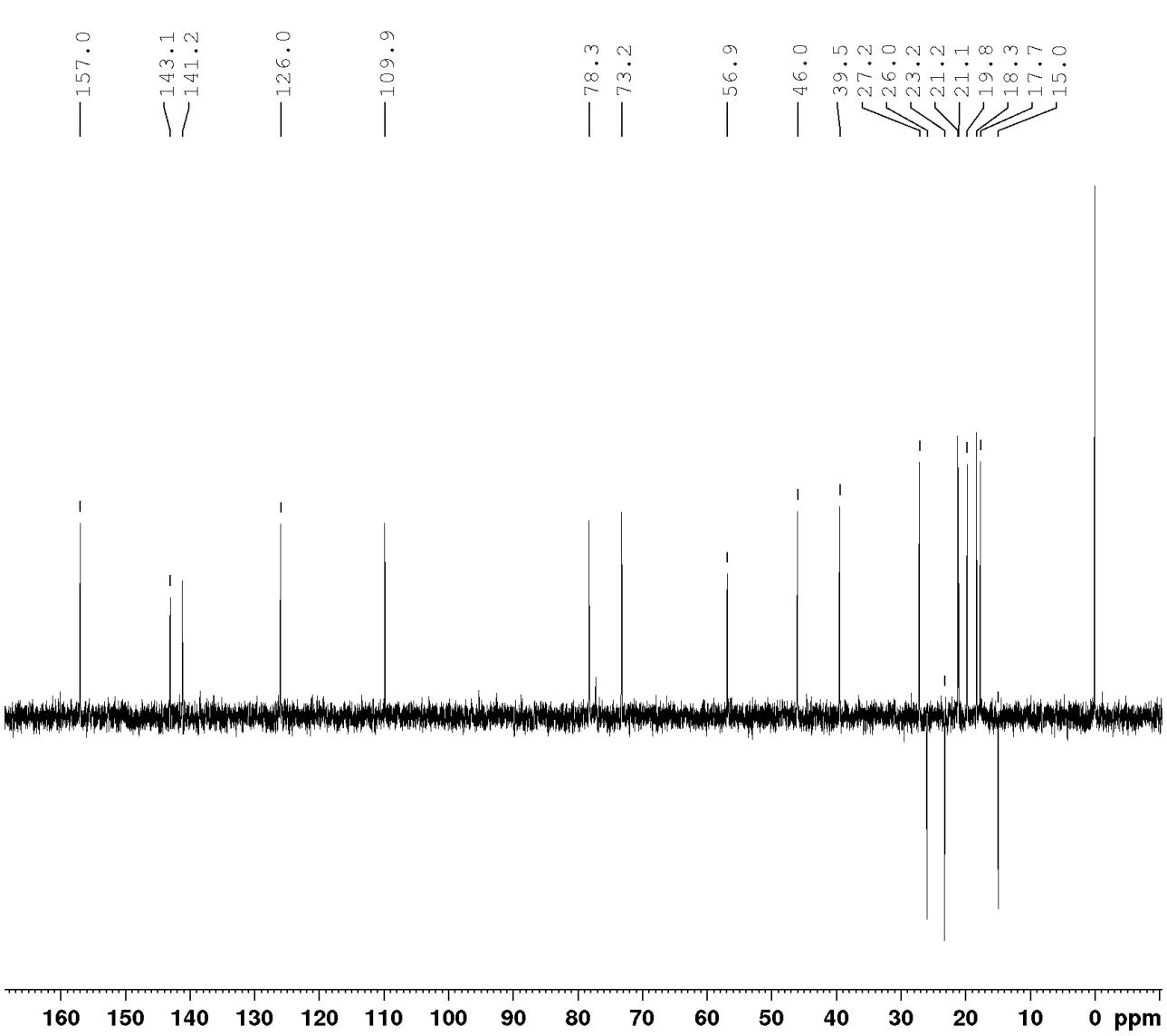
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20170805
Time               11.15
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS                41984
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               292.8 K
D1           0.50000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.01589210 sec
L4                   20
L5                   14
P32               90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928982 MHz
NUC1                13C
P1                 8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.16806000 W
PLW13        0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                3.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 70. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.1.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago17_4TBP169C
EXPNO                    4
PROCNO                   1

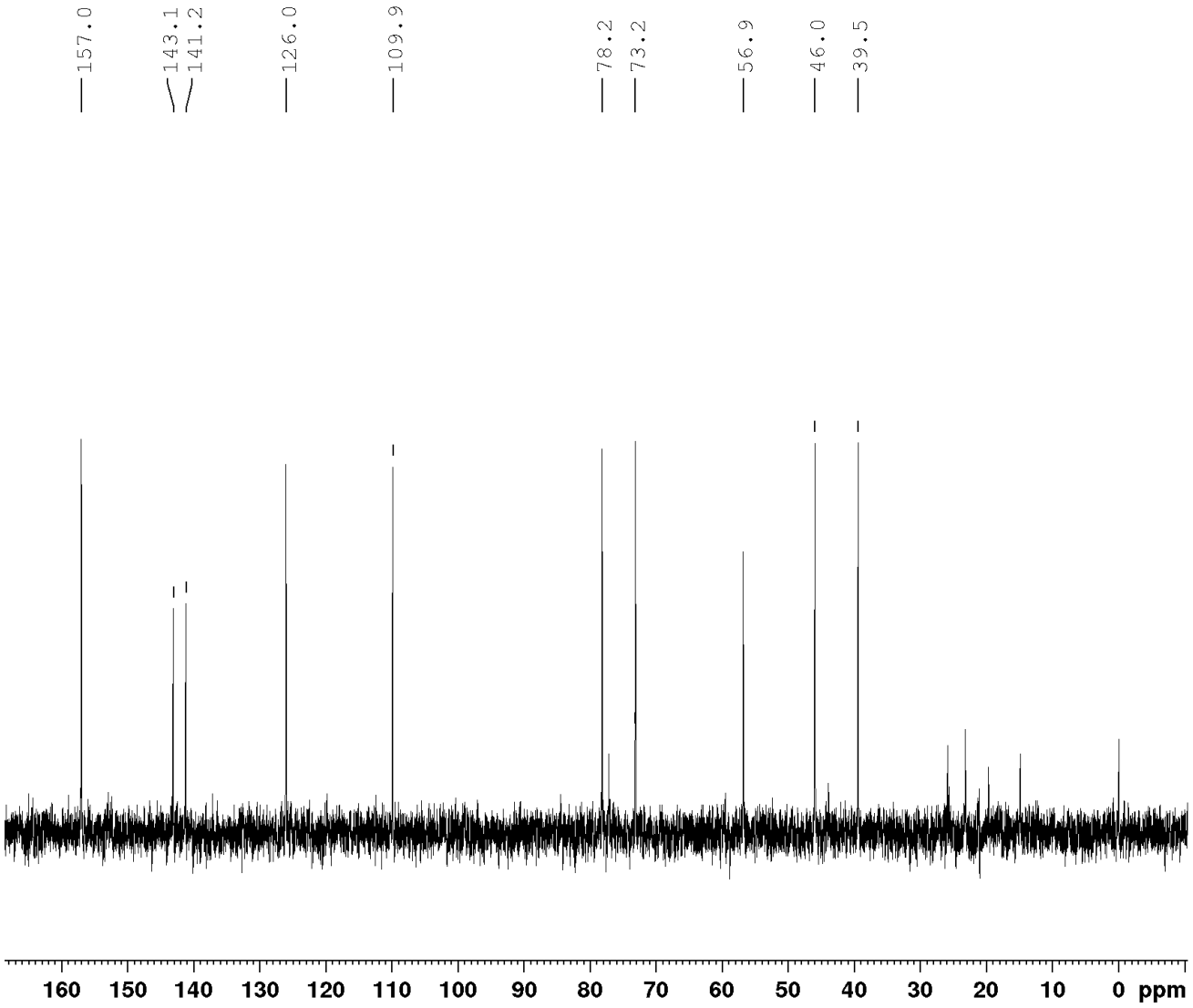
F2 - Acquisition Parameters
Date_             20170805
Time                  9.19
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                  2048
DS                     8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               292.6 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345340 sec
L4                    40
P32               90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                 1.00 Hz
GB        0
PC                 1.40
```

ANEXO 71. Espectro de DEPT 135º do 9.1.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago17_4TBP169C
EXPNO                    3
PROCNO                   1

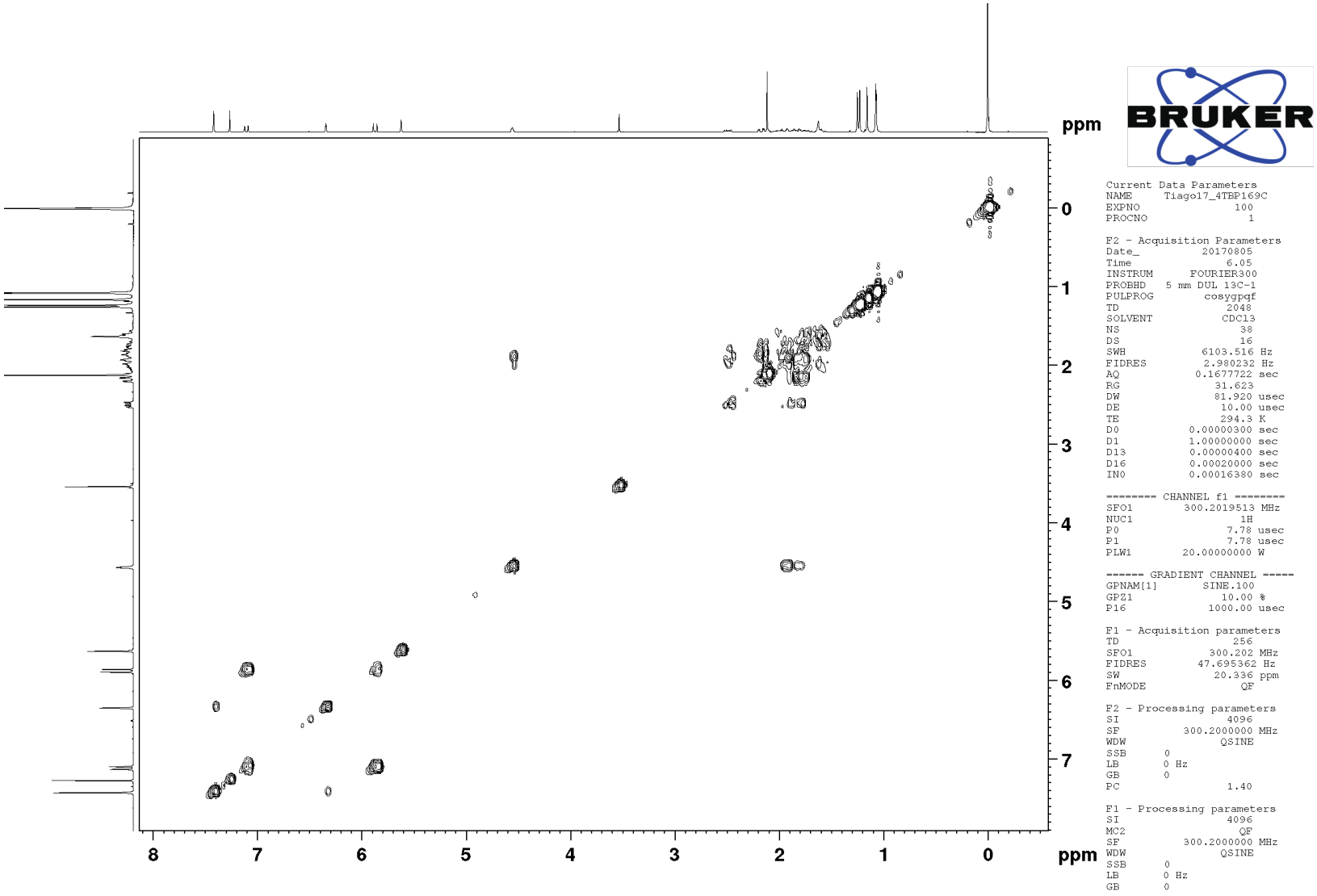
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20170806
Time                1.10
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept90
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                 2048
DS                    8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               293.3 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345753 sec
L4                    40
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928986 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
P2               17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                  1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                8.25 usec
P4               16.50 usec
PCPD2            90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 72. Espectro de DEPT 90º do 9.1.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago17_4TBP169C
EXPNO                  100
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20170805
Time               6.05
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG         cosygpqf
TD                 2048
SOLVENT            CDCl3
NS                   38
DS                   16
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          2.980232 Hz
AQ             0.1677722 sec
RG                31.623
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                294.3 K
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D13           0.00000400 sec
D16           0.00020000 sec
IN0           0.00016380 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1               1H
P0                7.78 usec
P1                7.78 usec
PLW1         20.00000000 W

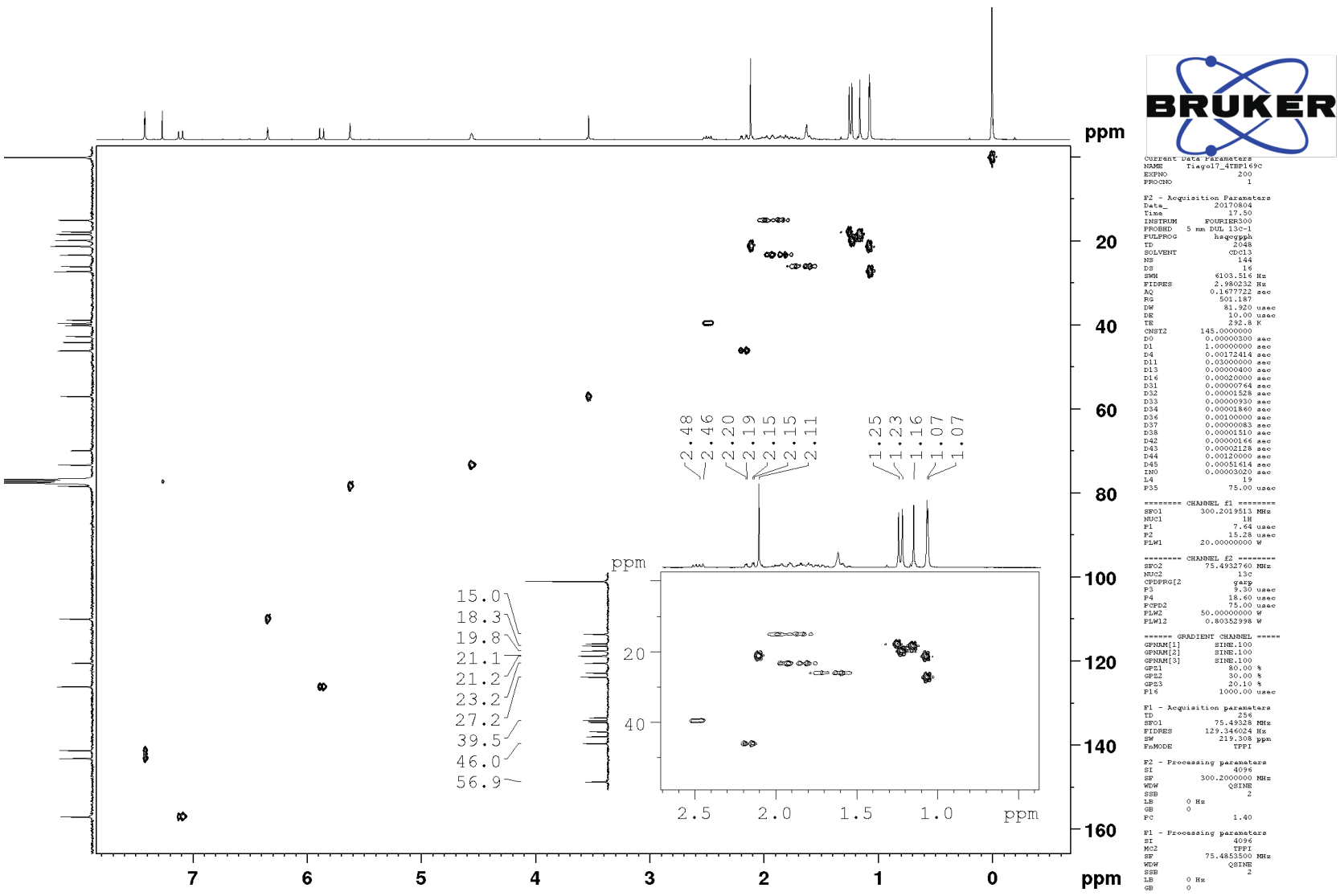
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]        SINE.100
GPZ1              10.00 %
P16             1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                  256
SFO1             300.202 MHz
FIDRES         47.695362 Hz
SW               20.336 ppm
FnMODE              QF

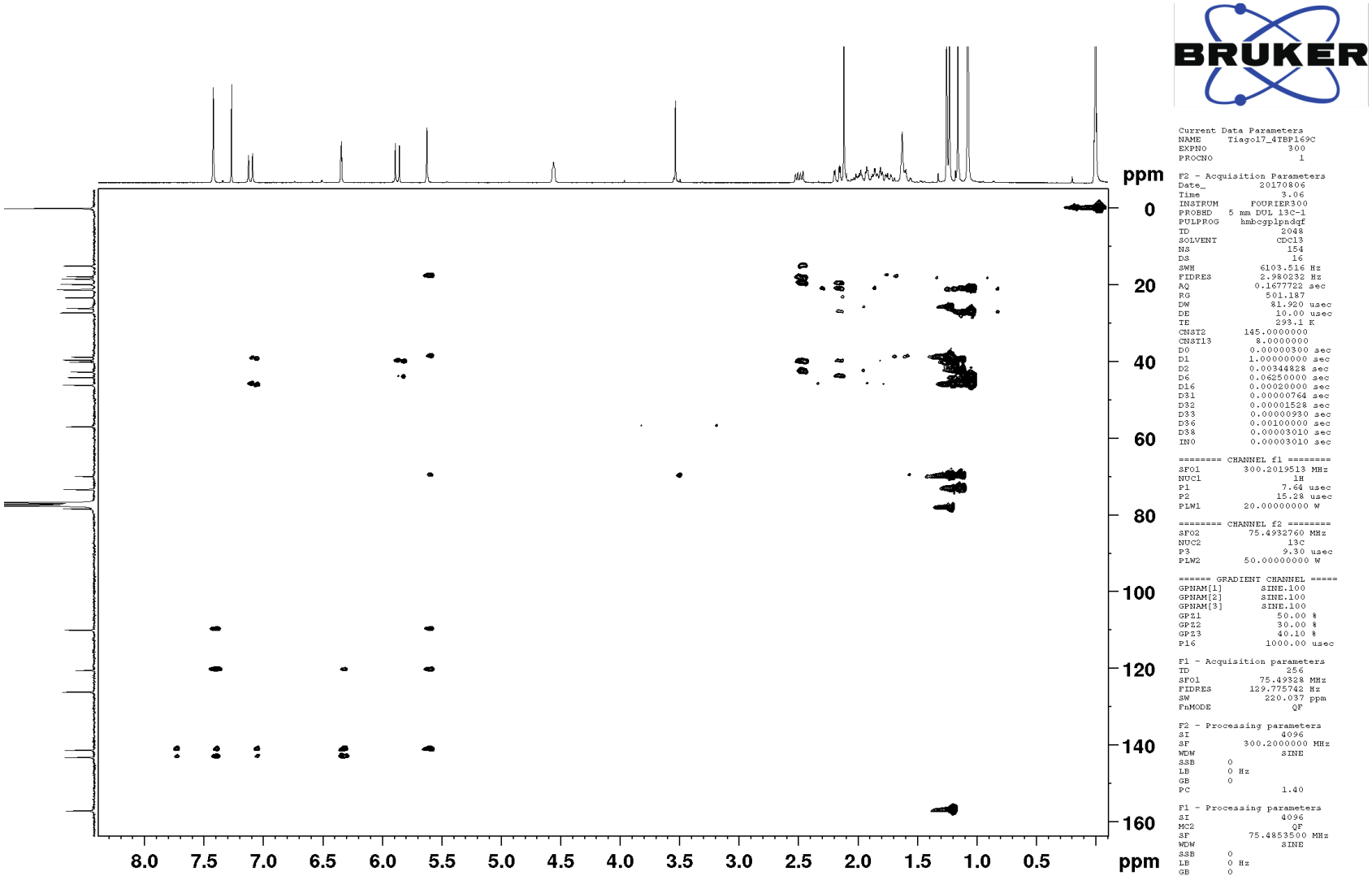
F2 - Processing parameters
SI                 4096
SF           300.2000000 MHz
WDW                QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                 1.40

F1 - Processing parameters
SI                 4096
MC2                 QF
SF           300.2000000 MHz
WDW                QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 73. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.1.1.



ANEXO 74. Espectro de HSQC do 9.1.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago17_4TBP169C
EXPNO                  300
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20170806
Time               3.06
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG     hmbcgplpndqf
TD                 2048
SOLVENT           CDCl3
NS                  154
DS                   16
SWH           6103.516 Hz
FIDRES        2.980232 Hz
AQ            0.1677722 sec
RG              501.187
DW               81.920 usec
DE               10.00 usec
TE              293.1 K
CNST2        145.0000000
CNST13         8.0000000
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D6            0.06250000 sec
D16           0.00020000 sec
D31           0.00000764 sec
D32           0.00001528 sec
D33           0.00000930 sec
D36           0.00100000 sec
D38           0.00003010 sec
IN0           0.00003010 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1               1H
P1                7.64 usec
P2               15.28 usec
PLW1         20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          75.4932760 MHz
NUC2               13C
P3                9.30 usec
PLW2         50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]        SINE.100
GPNAM[2]        SINE.100
GPNAM[3]        SINE.100
GPZ1              50.00 %
GPZ2              30.00 %
GPZ3              40.10 %
P16             1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                  256
SFO1           75.49328 MHz
FIDRES        129.775742 Hz
SW              220.037 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                 4096
SF           300.2000000 MHz
WDW                SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                 1.40

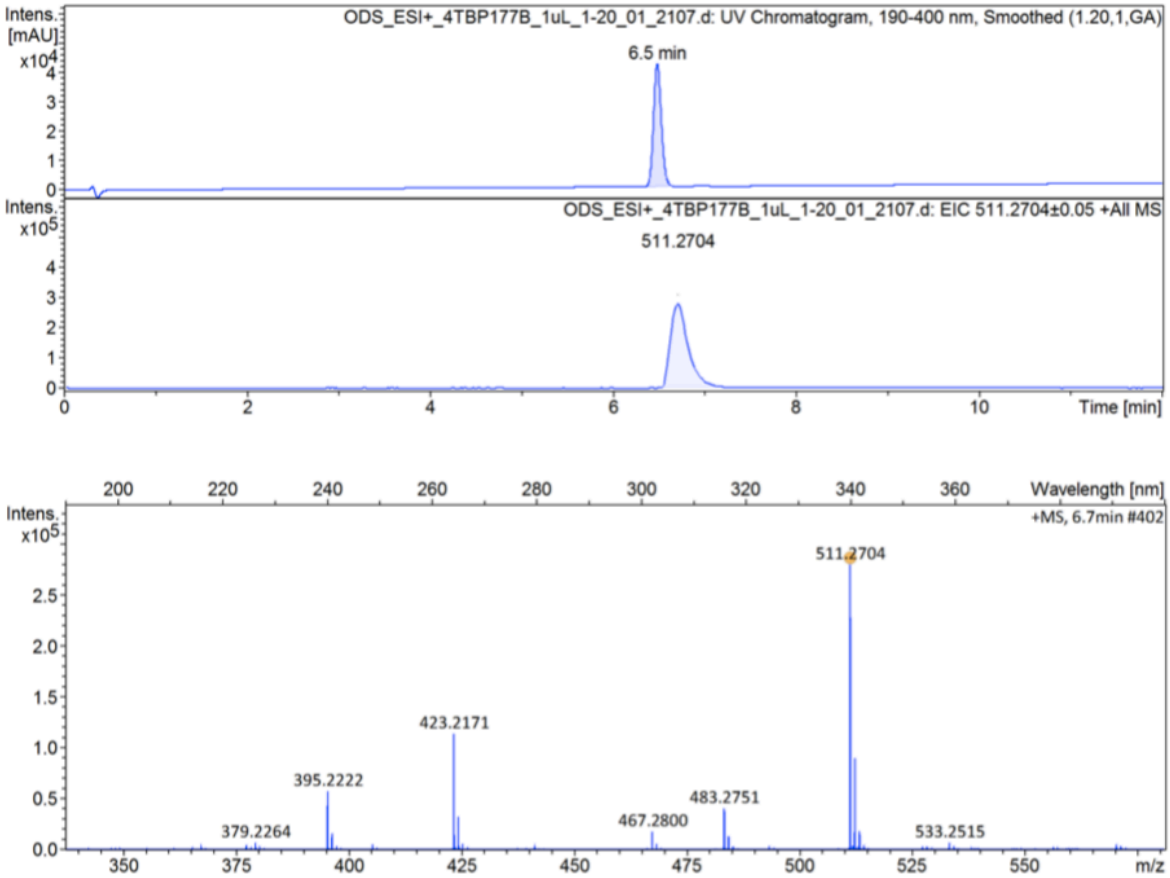
F1 - Processing parameters
SI                 4096
MC2                QF
SF            75.4853500 MHz
WDW                SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 75. Espectro de HMBC do 9.1.1.

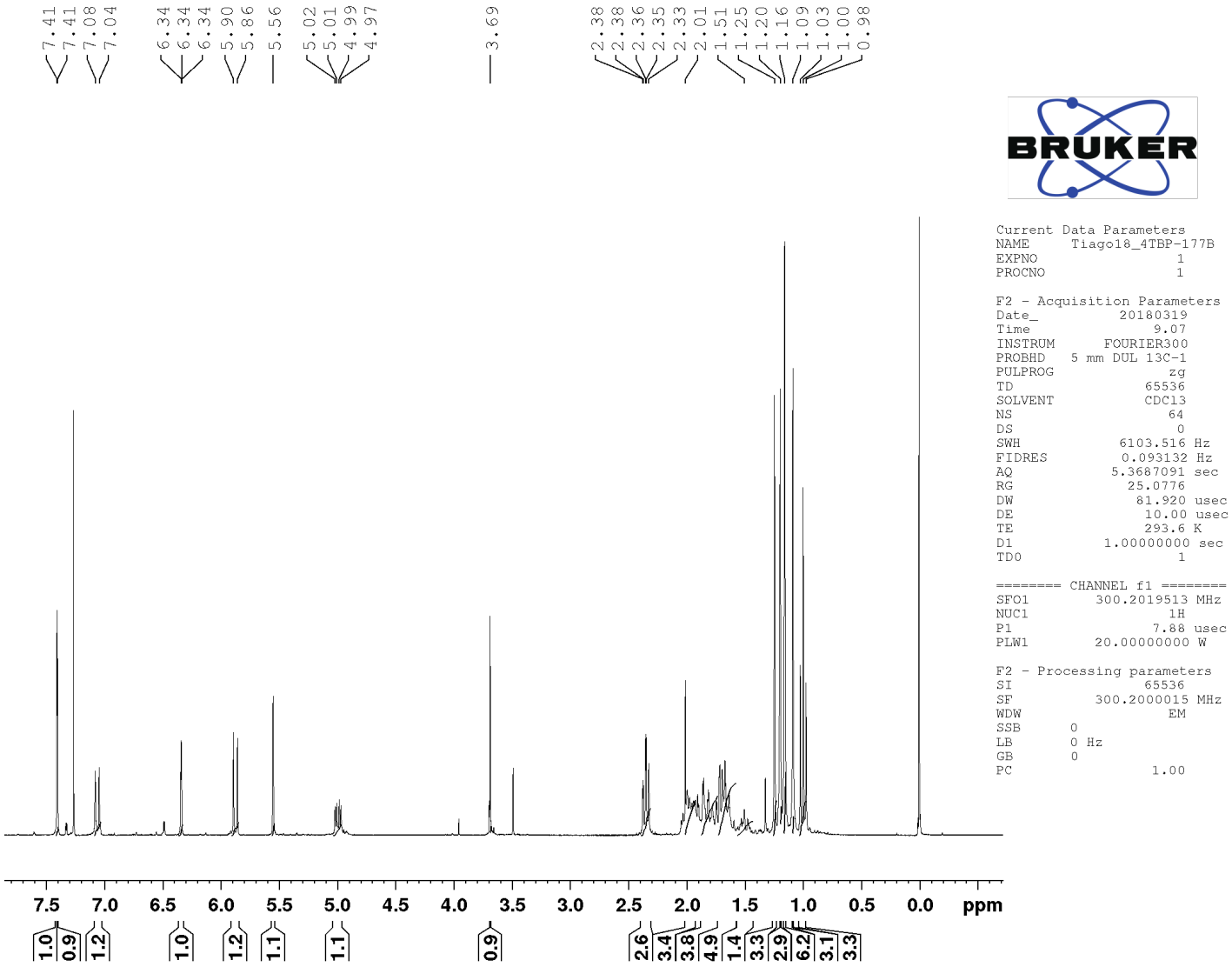
Analysis Info Acquisition Date 2/1/2018 5:10:24 PM

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP177B_1uL_1-20_01_2107.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP177B_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

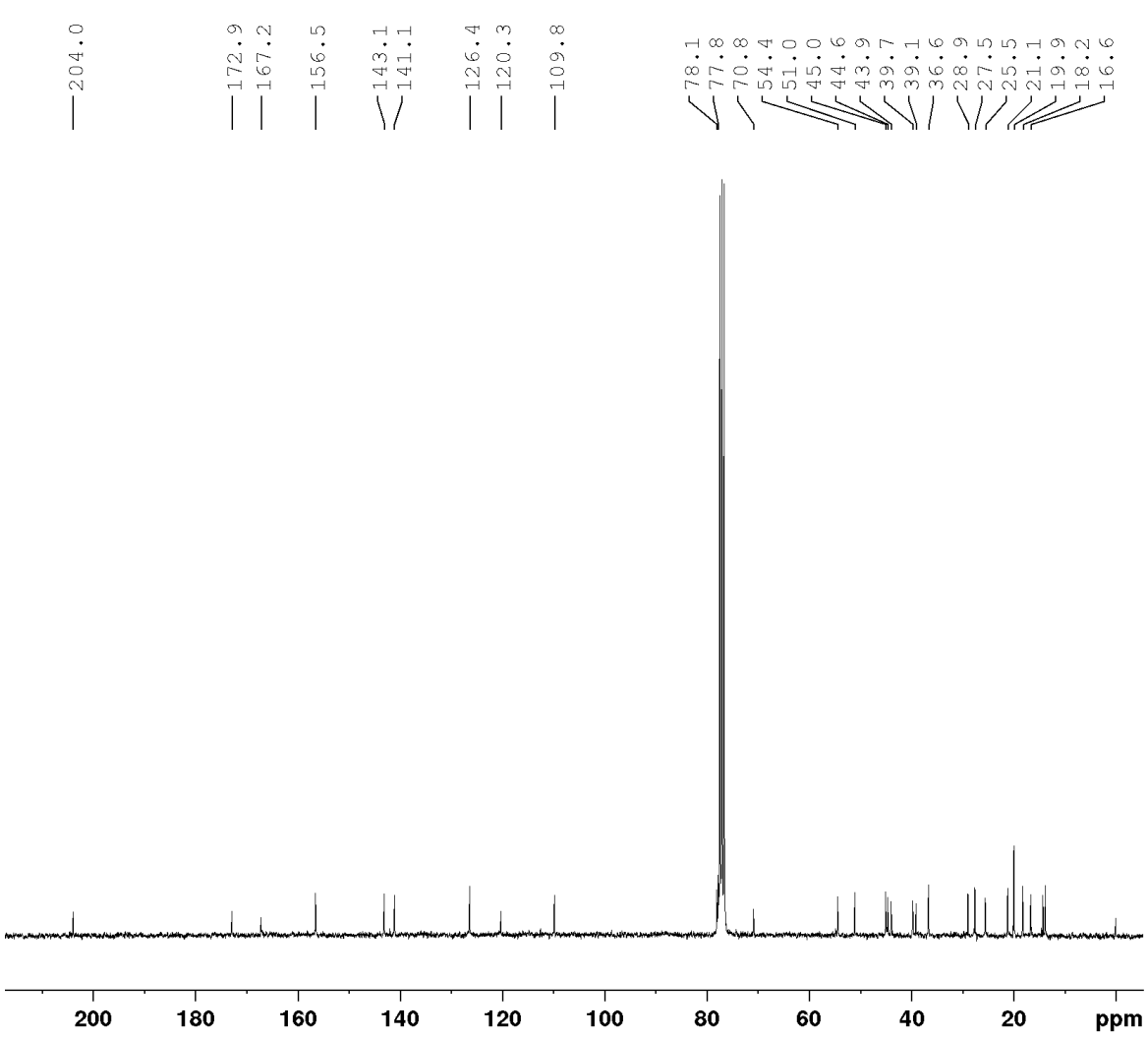
Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
511.2704	1	M+H	C30H39O7	511.2690	-2.7	6.2



ANEXO 76. UFLC/HRMS-ESI do 9.1.2



ANEXO 77. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.1.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-177B
EXPNO                    2
PROCNO                   1

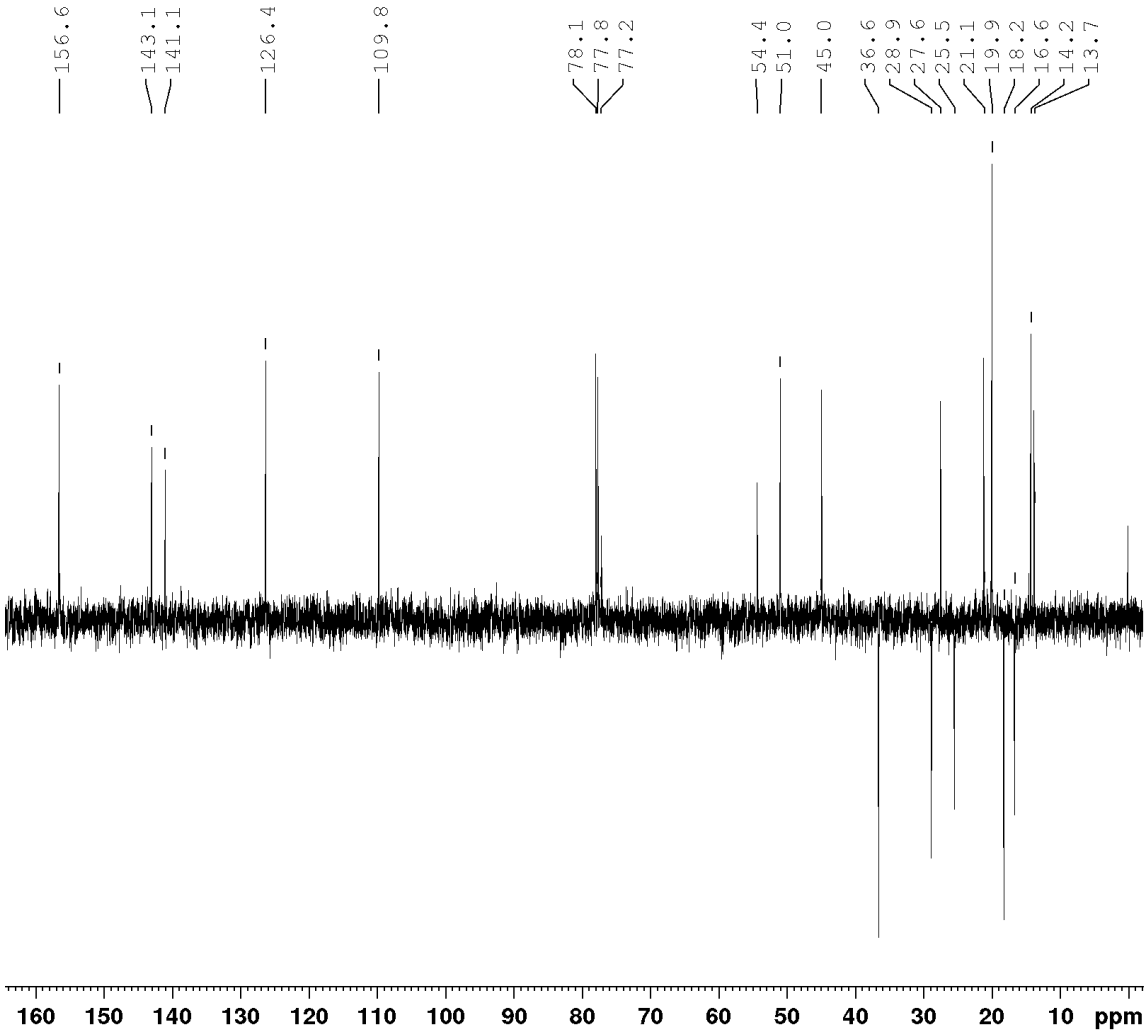
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180321
Time                1.06
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS                32768
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               294.9 K
D1           0.10000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.03084430 sec
L4                   20
L5                    2
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928982 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W
PLW13         0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                3.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 78. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.1.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-177B
EXPNO                    4
PROCNO                   1

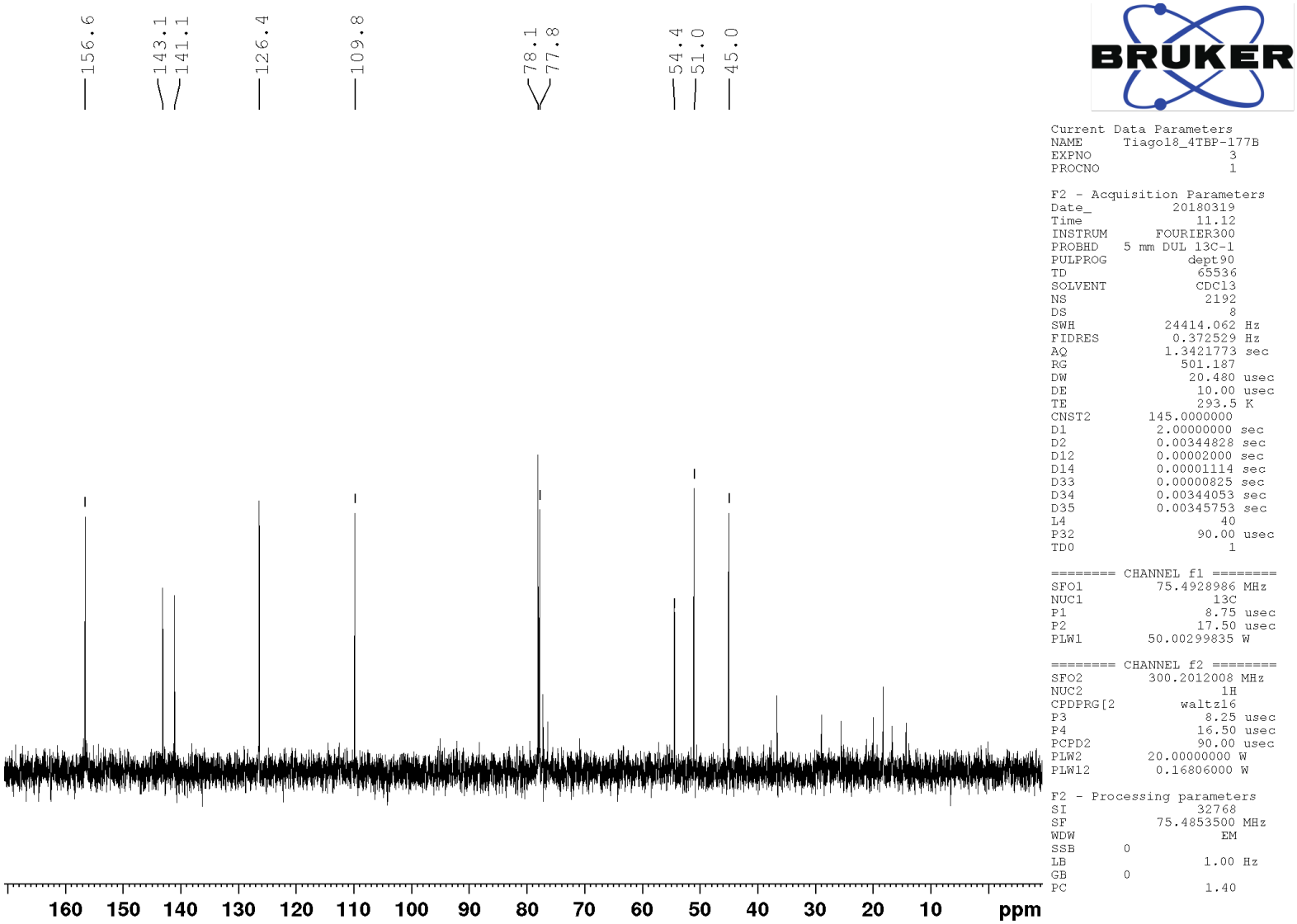
F2 - Acquisition Parameters
Date_             20180319
Time                 9.15
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                  2048
DS                     8
SWH            24414.062 Hz
FIDRES          0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                293.6 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345340 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                  8.75 usec
P2                 17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                  8.25 usec
P4                 16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                  1.00 Hz
GB        0
PC                  1.40
```

ANEXO 79. Espectro de DEPT 135º do 9.1.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-177B
EXPNO                    3
PROCNO                   1

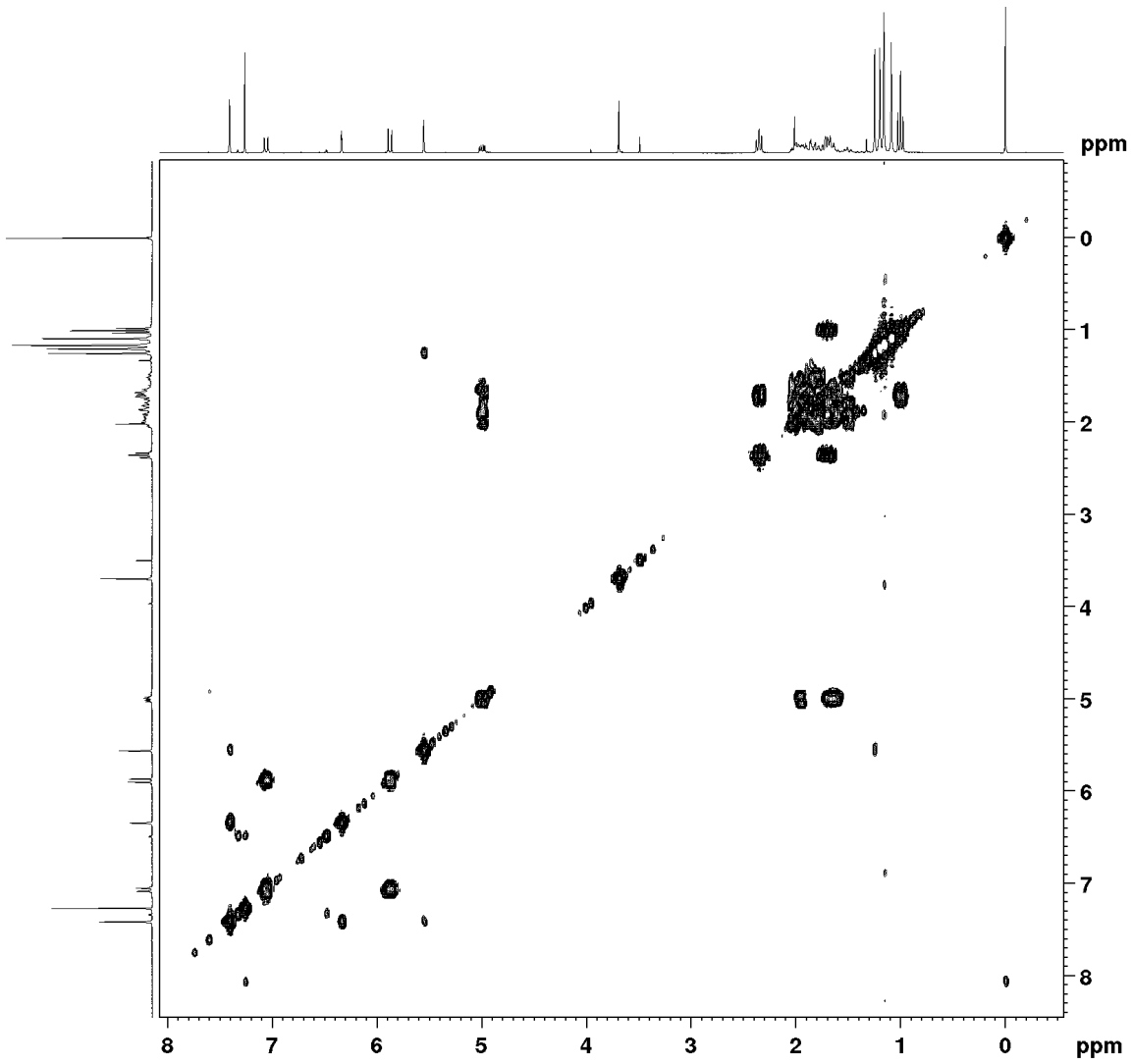
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180319
Time              11.12
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept90
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                 2192
DS                    8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               293.5 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345753 sec
L4                   40
P32               90.00 usec
TD0                   1

========= CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928986 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
P2               17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

========= CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                8.25 usec
P4               16.50 usec
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 80. Espectro de DEPT 90º do 9.1.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-177B
EXPNO              100
PROCNO               1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20180319
Time             13.16
INSTRUM      FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG         cosygpqf
TD                2048
SOLVENT           CDCl3
NS                  32
DS                  16
SWH            6103.516 Hz
FIDRES         2.980232 Hz
AQ             0.1677722 sec
RG               65.7835
DW               81.920 usec
DE               10.00 usec
TE               293.2 K
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D13           0.00000400 sec
D16           0.00020000 sec
IN0           0.00016380 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1        300.2019513 MHz
NUC1               1H
P0                7.88 usec
P1                7.88 usec
PLW1        20.00000000 W

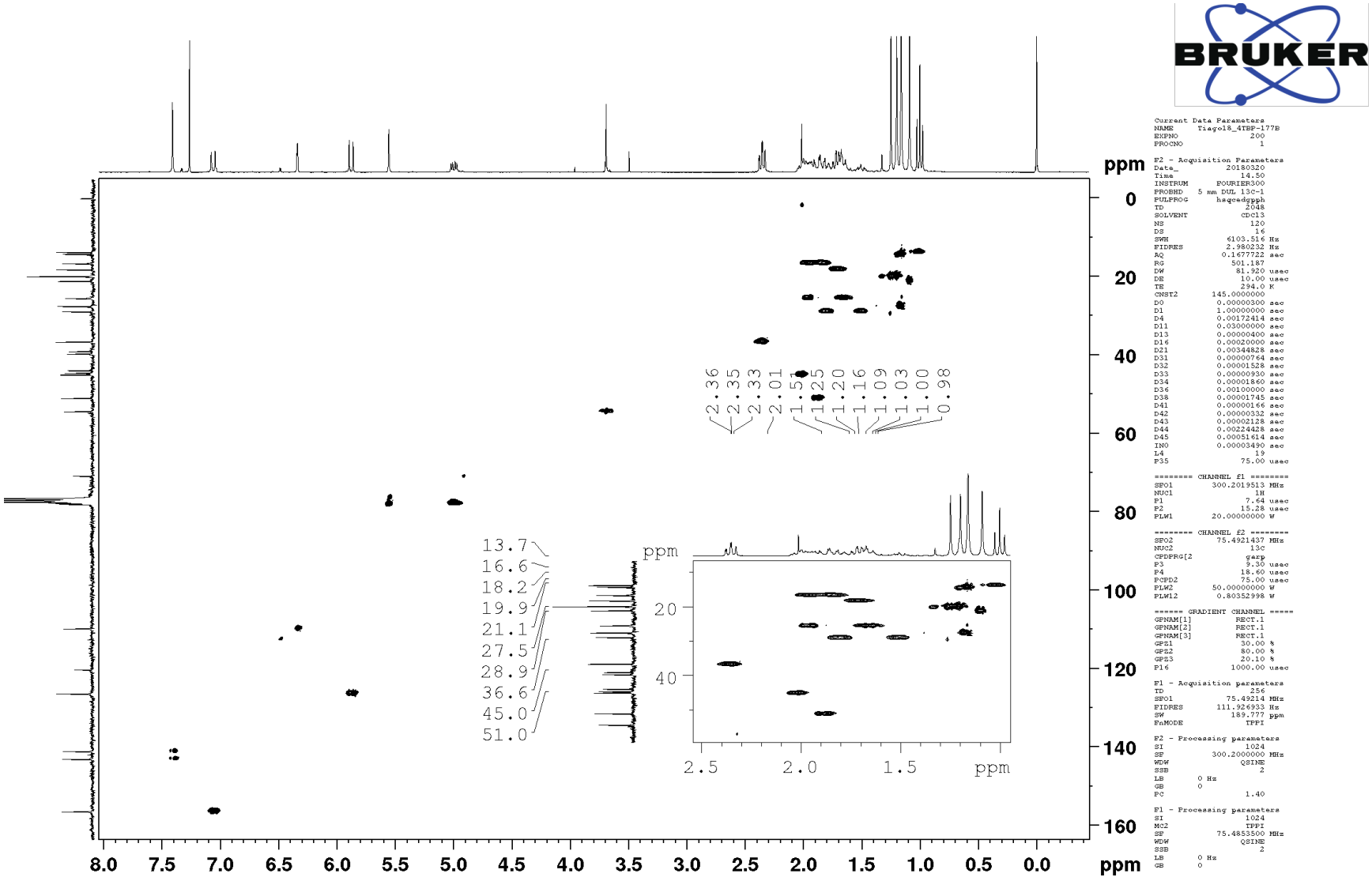
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]        SINE.100
GPZ1              10.00 %
P16             1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                 256
SFO1            300.202 MHz
FIDRES         47.695362 Hz
SW               20.336 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                2048
SF          300.2000000 MHz
WDW               QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.40

F1 - Processing parameters
SI                2048
MC2                QF
SF          300.2000000 MHz
WDW               QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 81. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.1.2.




```
Current Data Parameters
NAME       Tiago18_4TBP-177B
EXPNO                   200
PROCNO                    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20180320
Time                14.50
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD     5 mm DUL 13C-1
PULPROG       hsqcedetgpsp
TD                  2048
SOLVENT             CDCl3
NS                   120
DS                    16
SWH              6103.516 Hz
FIDRES           2.980232 Hz
AQ               0.1677722 sec
RG                501.187
DW                 81.920 usec
DE                 10.00 usec
TE                294.0 K
CNST2         145.0000000
D0             0.00000300 sec
D1             1.00000000 sec
D4             0.00172414 sec
D11            0.03000000 sec
D13            0.00000400 sec
D16            0.00020000 sec
D21            0.00344828 sec
D31            0.00000764 sec
D32            0.00001528 sec
D33            0.00000930 sec
D34            0.00001860 sec
D36            0.00100000 sec
D38            0.00001745 sec
D41            0.00000166 sec
D42            0.00000332 sec
D43            0.00002128 sec
D44            0.00224428 sec
D45            0.00051614 sec
IN0            0.00003490 sec
L4                    19
P35                75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                  1H
P1                  7.64 usec
P2                 15.28 usec
PLW1          20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2           75.4921437 MHz
NUC2                 13C
CPDPRG[2             garp
P3                  9.30 usec
P4                 18.60 usec
PCPD2              75.00 usec
PLW2          50.00000000 W
PLW12          0.80352998 W

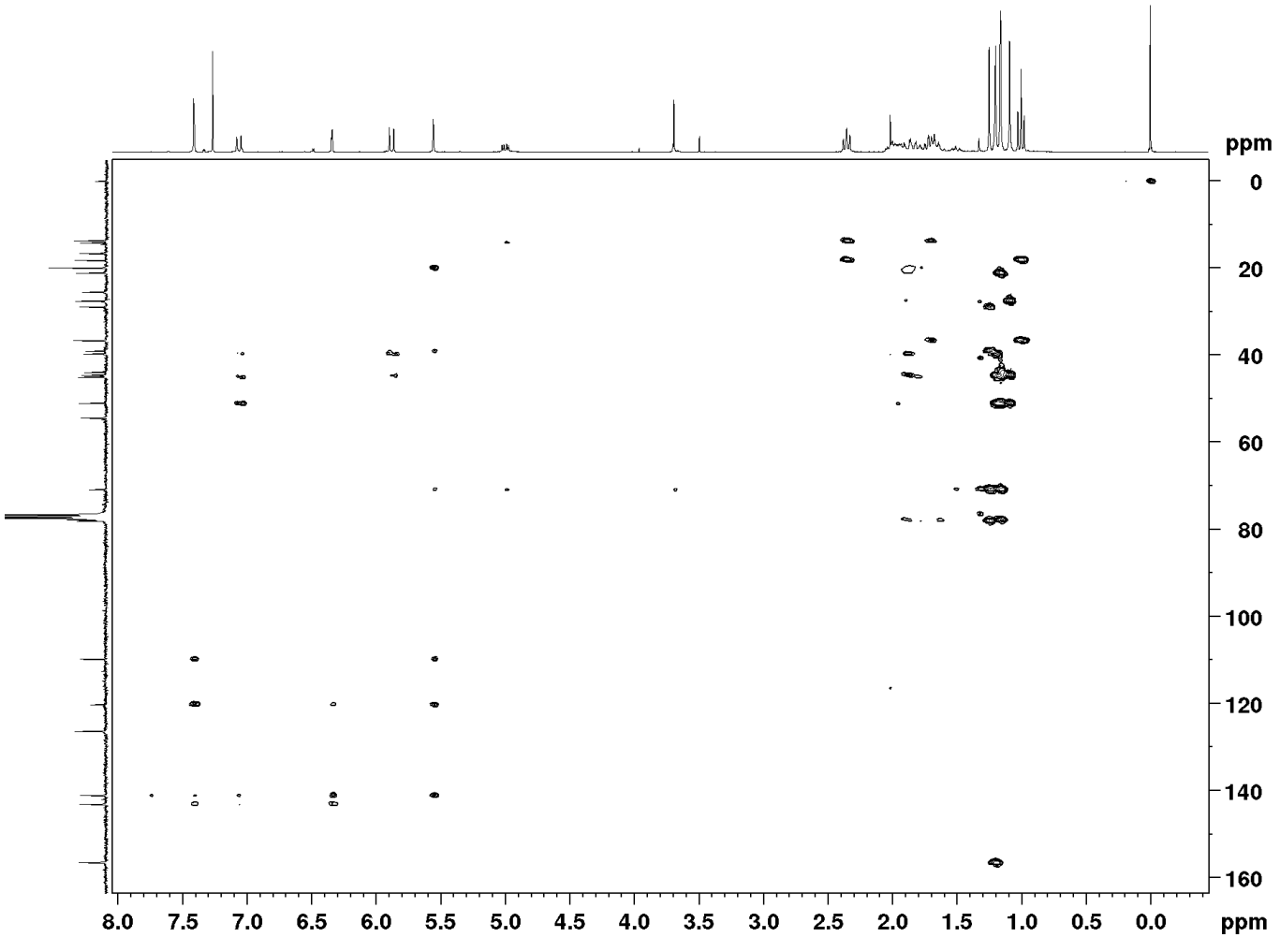
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]            RECT.1
GPNAM[2]            RECT.1
GPNAM[3]            RECT.1
GPZ1                30.00 %
GPZ2                80.00 %
GPZ3                20.10 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                   256
SFO1           75.49214 MHz
FIDRES        111.926933 Hz
SW                189.777 ppm
FnMODE               TPPI

F2 - Processing parameters
SI                  1024
SF            300.20000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB                     2
LB          0 Hz
GB          0
PC                  1.40

F1 - Processing parameters
SI                  1024
MC2                 TPPI
SF             75.4853500 MHz
WDW                 QSINE
SSB                     2
LB          0 Hz
GB          0
```

ANEXO 82. Espectro de HSQC do 9.1.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiagol8_4TBP-177B
EXPNO                  300
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180319
Time              16.09
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG     hmbcgplpndqf
TD                2048
SOLVENT           CDCl3
NS                 200
DS                  16
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          2.980232 Hz
AQ              0.1677722 sec
RG               501.187
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                292.1 K
CNST2         145.00000000
CNST13          8.00000000
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D6            0.06250000 sec
D16           0.00020000 sec
D31           0.00000764 sec
D32           0.00001528 sec
D33           0.00000930 sec
D36           0.00100000 sec
D38           0.00003010 sec
IN0           0.00003010 sec

======== CHANNEL f1 ========
SF01          300.2019513 MHz
NUC1                  1H
P1                  7.64 usec
P2                 15.28 usec
PLW1         20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SF02          75.4932760 MHz
NUC2                 13C
P3                  9.30 usec
PLW2         50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]         SINE.100
GPNAM[2]         SINE.100
GPNAM[3]         SINE.100
GPZ1                50.00 %
GPZ2                30.00 %
GPZ3                40.10 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                   238
SF01           75.49328 MHz
FIDRES        139.590714 Hz
SW             220.037 ppm
FnMODE               QF

F2 - Processing parameters
SI                  1024
SF           300.2000000 MHz
WDW                  SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.40

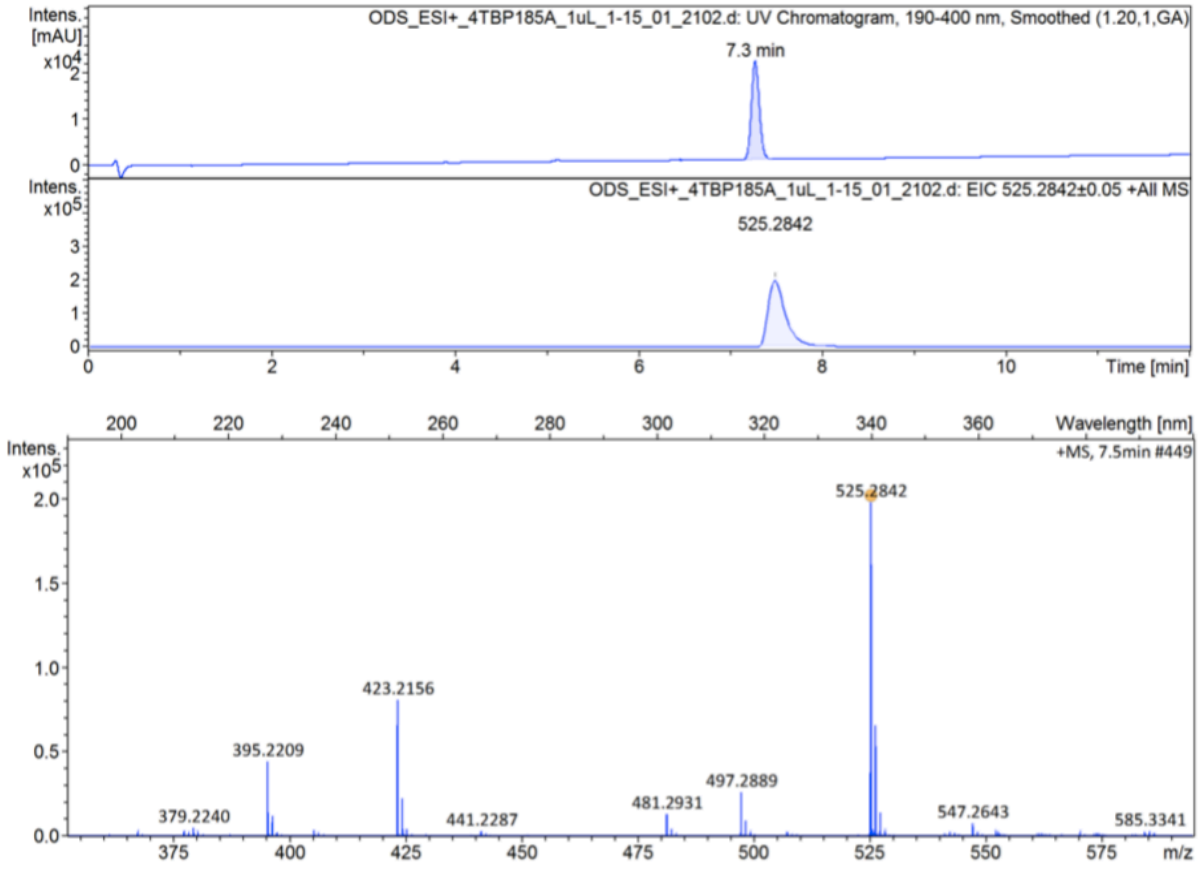
F1 - Processing parameters
SI                  1024
MC2                  QF
SF           75.4853500 MHz
WDW                  SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 83. Espectro de HMBC do 9.1.2.

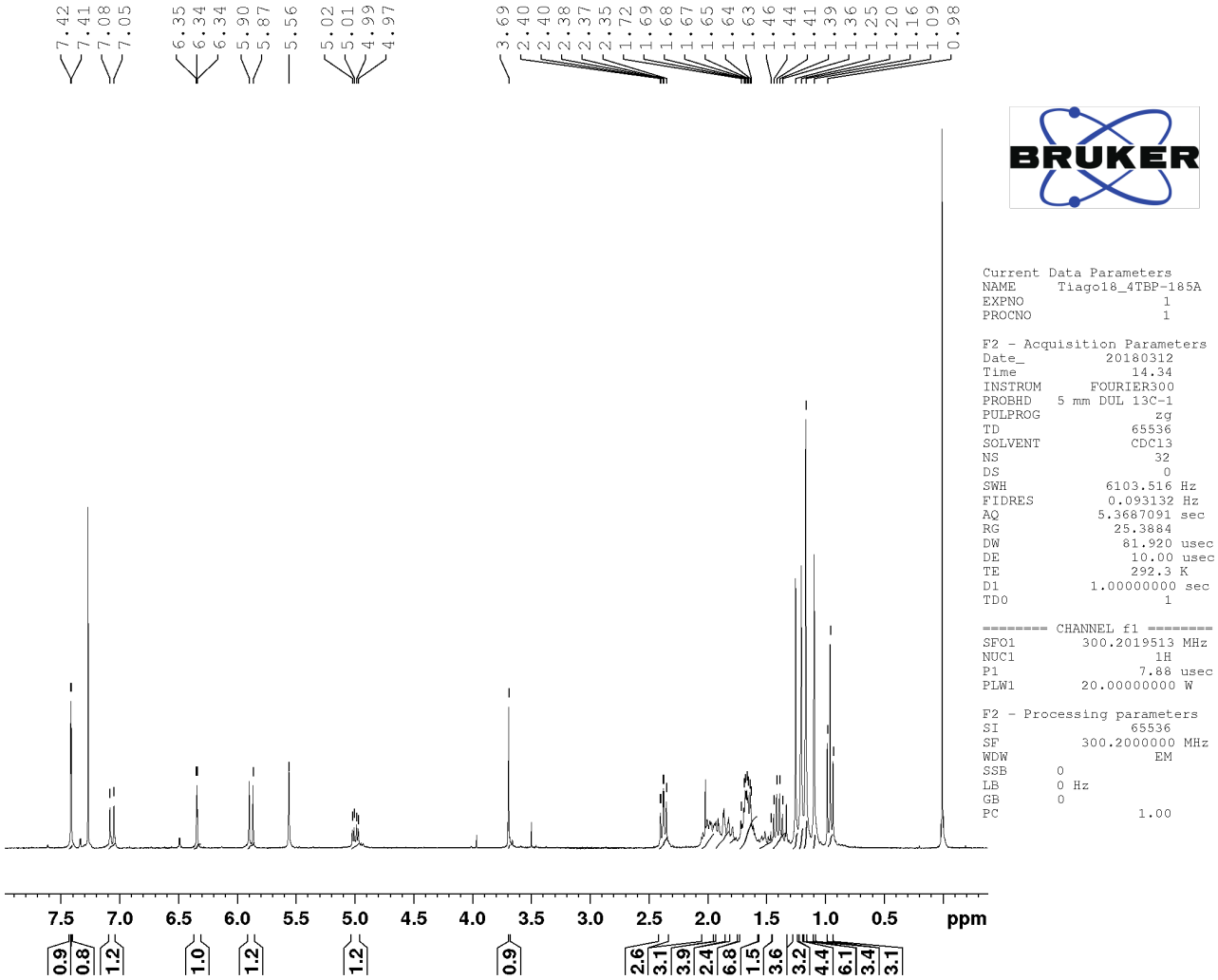
Analysis Info

		Acquisition Date	2/1/2018 3:02:23 PM
Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP185A_1uL_1-15_01_2102.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP185A_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

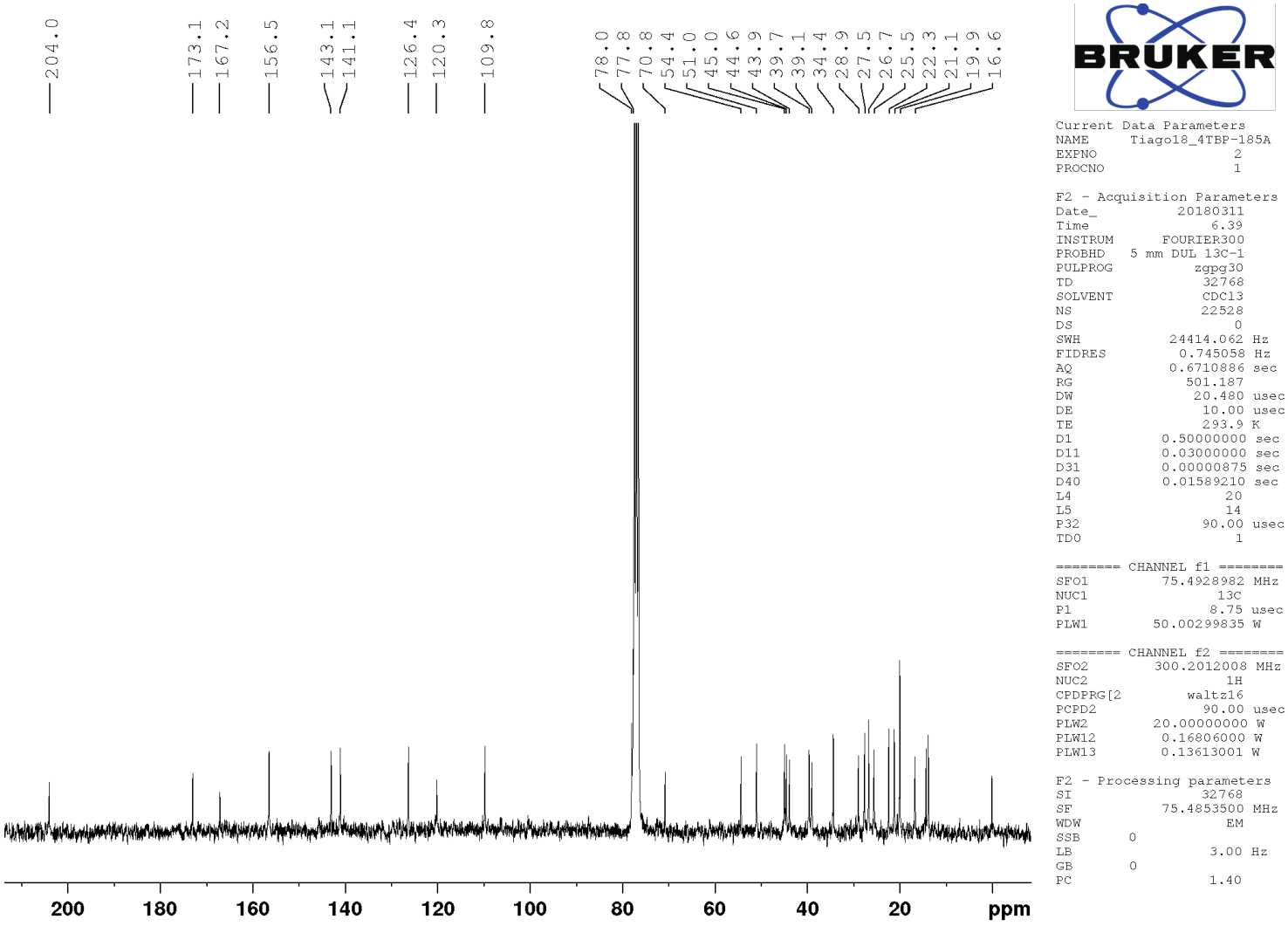
Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
525.2842	1	M+H	C31H41O7	525.2847	0.9	6.3



ANEXO 84. UFLC/HRMS-ESI do 9.1.3



ANEXO 85. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.1.3.



Current Data Parameters
NAME Tiago18_4TBP-185A
EXPNO 2
PROCNO 1

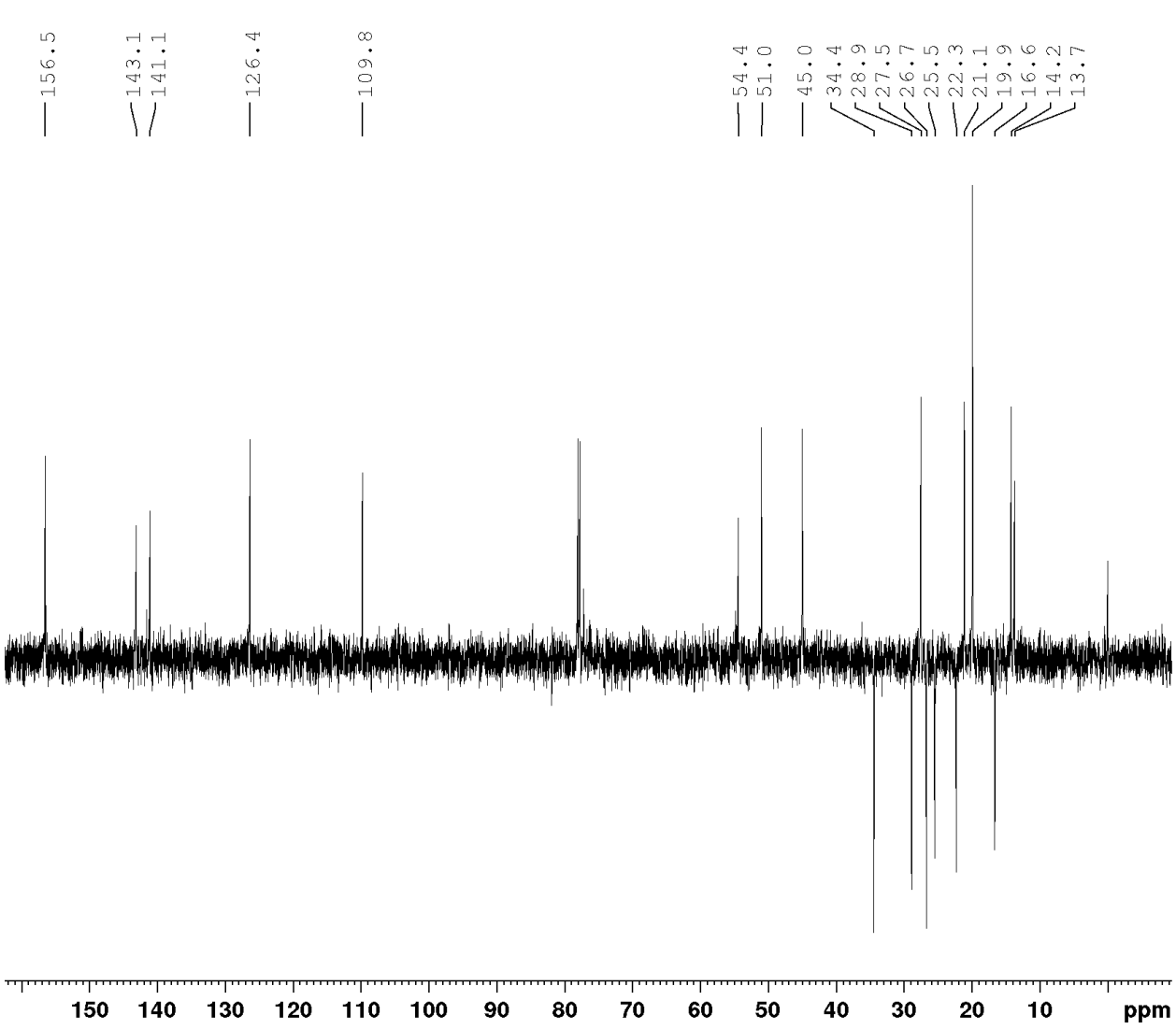
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180311
Time 6.39
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG zgpg30
TD 32768
SOLVENT CDCl3
NS 22528
DS 0
SWH 24414.062 Hz
FIDRES 0.745058 Hz
AQ 0.6710886 sec
RG 501.187
DW 20.480 usec
DE 10.00 usec
TE 293.9 K
D1 0.50000000 sec
D11 0.03000000 sec
D31 0.00000875 sec
D40 0.01589210 sec
L4 20
L5 14
P32 90.00 usec
TD0 1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1 75.4928982 MHz
NUC1 13C
P1 8.75 usec
PLW1 50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2 300.2012008 MHz
NUC2 1H
CPDPRG[2 waltz16
PCPD2 90.00 usec
PLW2 20.00000000 W
PLW12 0.16806000 W
PLW13 0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 75.4853500 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 3.00 Hz
GB 0
PC 1.40

ANEXO 86. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.1.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-185A
EXPNO                     4
PROCNO                    1

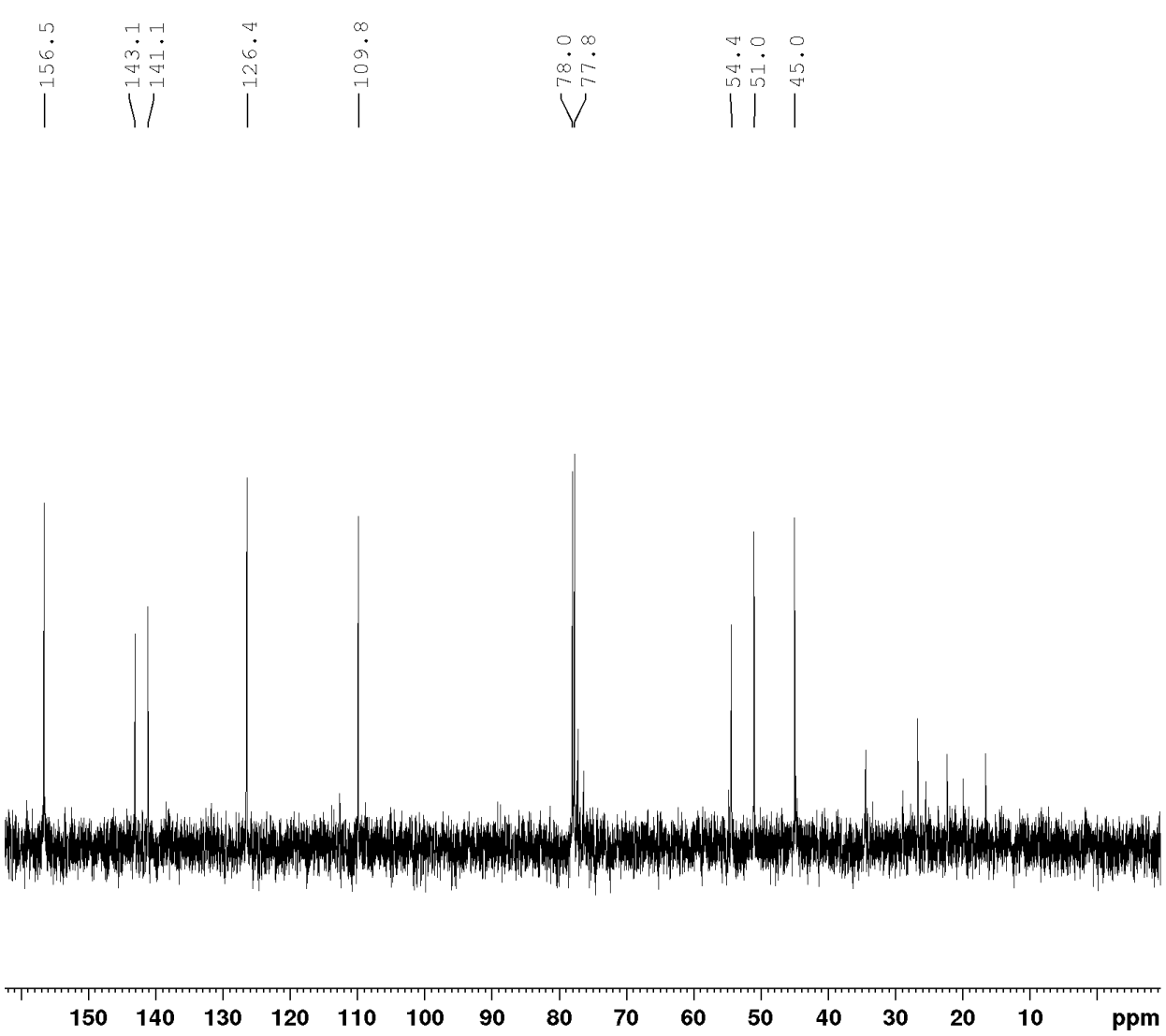
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180311
Time              14.07
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                 4000
DS                    8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                295.2 K
CNST2        145.0000000
D1             2.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D14            0.00001114 sec
D33            0.00000825 sec
D34            0.00344053 sec
D35            0.00345340 sec
L4                    40
P32               90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                  1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 87. Espectro de DEPT 135º do 9.1.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-185A
EXPNO                     3
PROCNO                    1

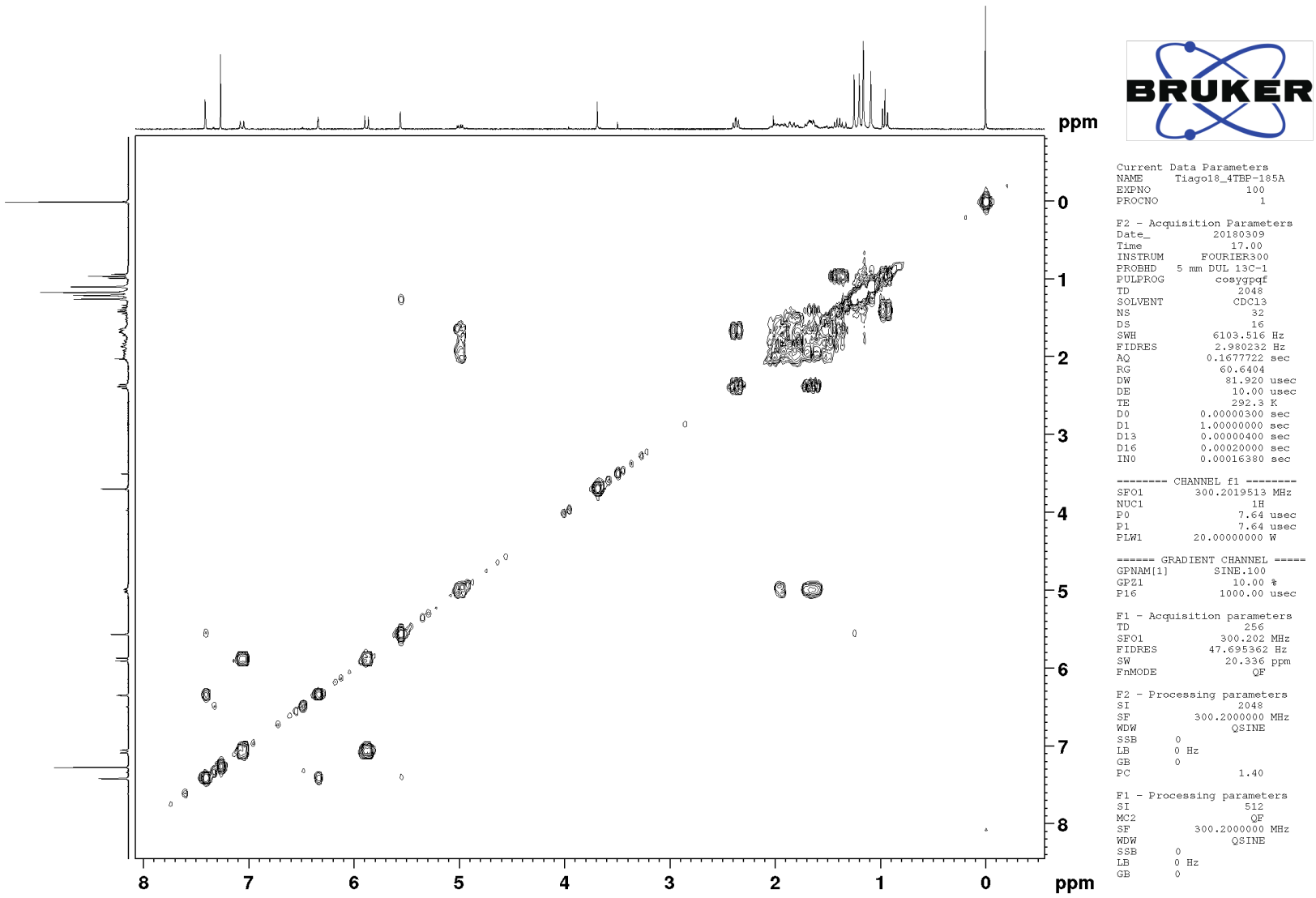
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180311
Time                17.55
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept90
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                  4000
DS                     8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                295.3 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345753 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928986 MHz
NUC1                  13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                  1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                 1.00 Hz
GB        0
PC                 1.40
```

ANEXO 88. Espectro de DEPT 90º do 9.1.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-185A
EXPNO                  100
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_               20180309
Time                   17.00
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          cosygpqf
TD                     2048
SOLVENT             CDCl3
NS                       32
DS                       16
SWH                6103.516 Hz
FIDRES             2.980232 Hz
AQ                0.1677722 sec
RG                   60.6404
DW                    81.920 usec
DE                    10.00 usec
TE                    292.3 K
D0                0.00000300 sec
D1                1.00000000 sec
D13               0.00000400 sec
D16               0.00020000 sec
IN0               0.00016380 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           300.2019513 MHz
NUC1                      1H
P0                     7.64 usec
P1                     7.64 usec
PLW1           20.00000000 W

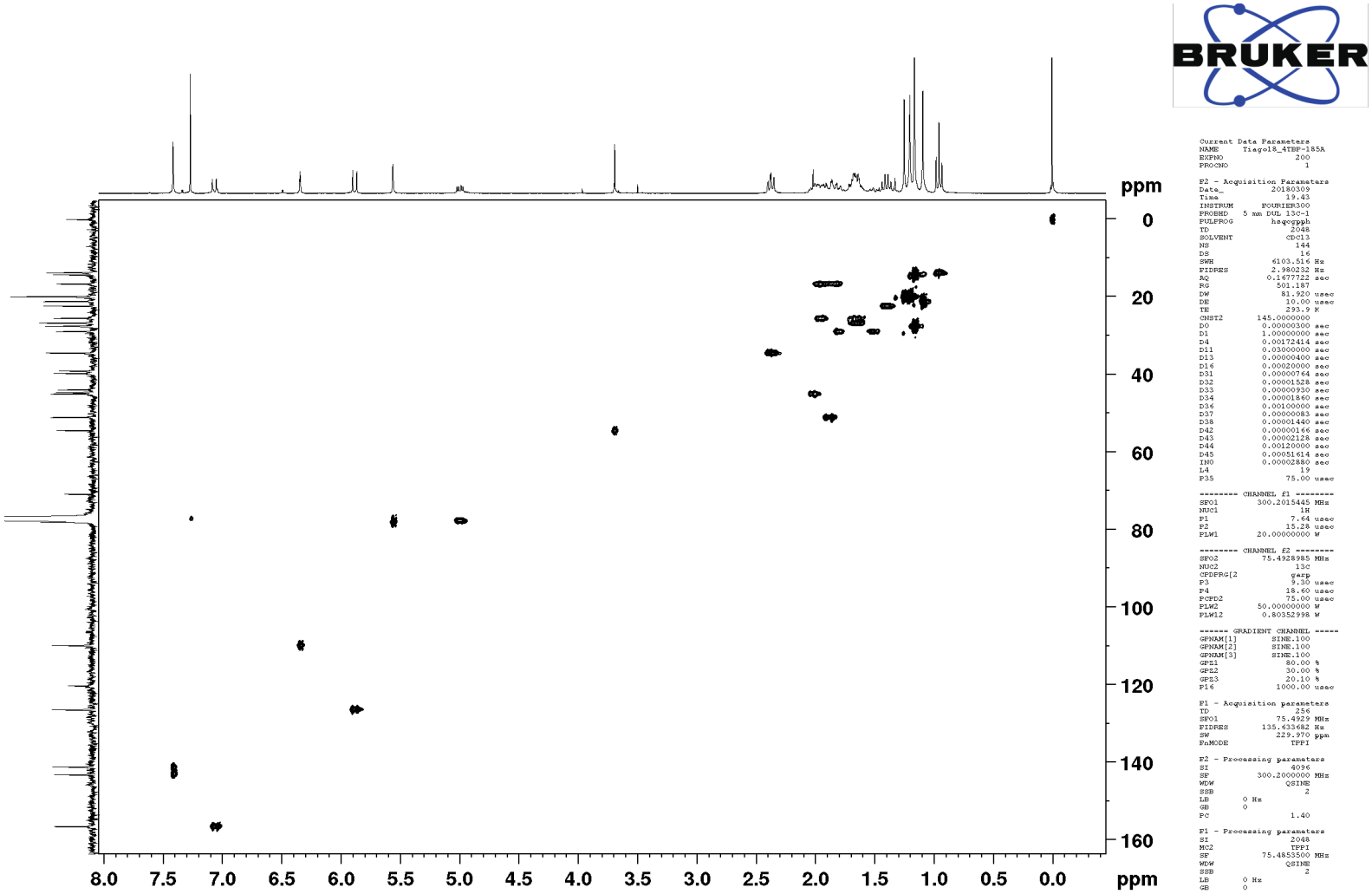
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]          SINE.100
GPZ1                 10.00 %
P16                1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                      256
SFO1                300.202 MHz
FIDRES            47.695362 Hz
SW                   20.336 ppm
FnMODE                   QF

F2 - Processing parameters
SI                     2048
SF              300.2000000 MHz
WDW                    QSINE
SSB          0
LB           0 Hz
GB           0
PC                     1.40

F1 - Processing parameters
SI                      512
MC2                      QF
SF              300.2000000 MHz
WDW                    QSINE
SSB          0
LB           0 Hz
GB           0
```

ANEXO 89. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.1.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBF-185A
EXPNO                  200
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180309
Time              19.43
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG         heqcpgph
TD                 2048
SOLVENT            CDCl3
NS                  144
DS                   16
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          2.980232 Hz
AQ             0.1677722 sec
RG              501.187
DW               81.920 usec
DE               10.00 usec
TE               293.9 K
CNST2         145.0000000
D0             0.00000300 sec
D1             1.00000000 sec
D4             0.00172414 sec
D11            0.03000000 sec
D13            0.00000400 sec
D16            0.00020000 sec
D31            0.00000764 sec
D32            0.00001528 sec
D33            0.00000930 sec
D34            0.00001860 sec
D36            0.00100000 sec
D37            0.00000083 sec
D38            0.00001440 sec
D42            0.00000166 sec
D43            0.00002128 sec
D44            0.00120000 sec
D45            0.00051614 sec
IN0            0.00002880 sec
L4                   19
P35               75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2015445 MHz
NUC1                  1H
P1                 7.64 usec
P2                15.28 usec
PLW1         20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          75.4928985 MHz
NUC2                 13c
CPDPRG[2             garp
P3                 9.30 usec
P4                18.60 usec
PCPD2             75.00 usec
PLW2         50.00000000 W
PLW12         0.80352998 W

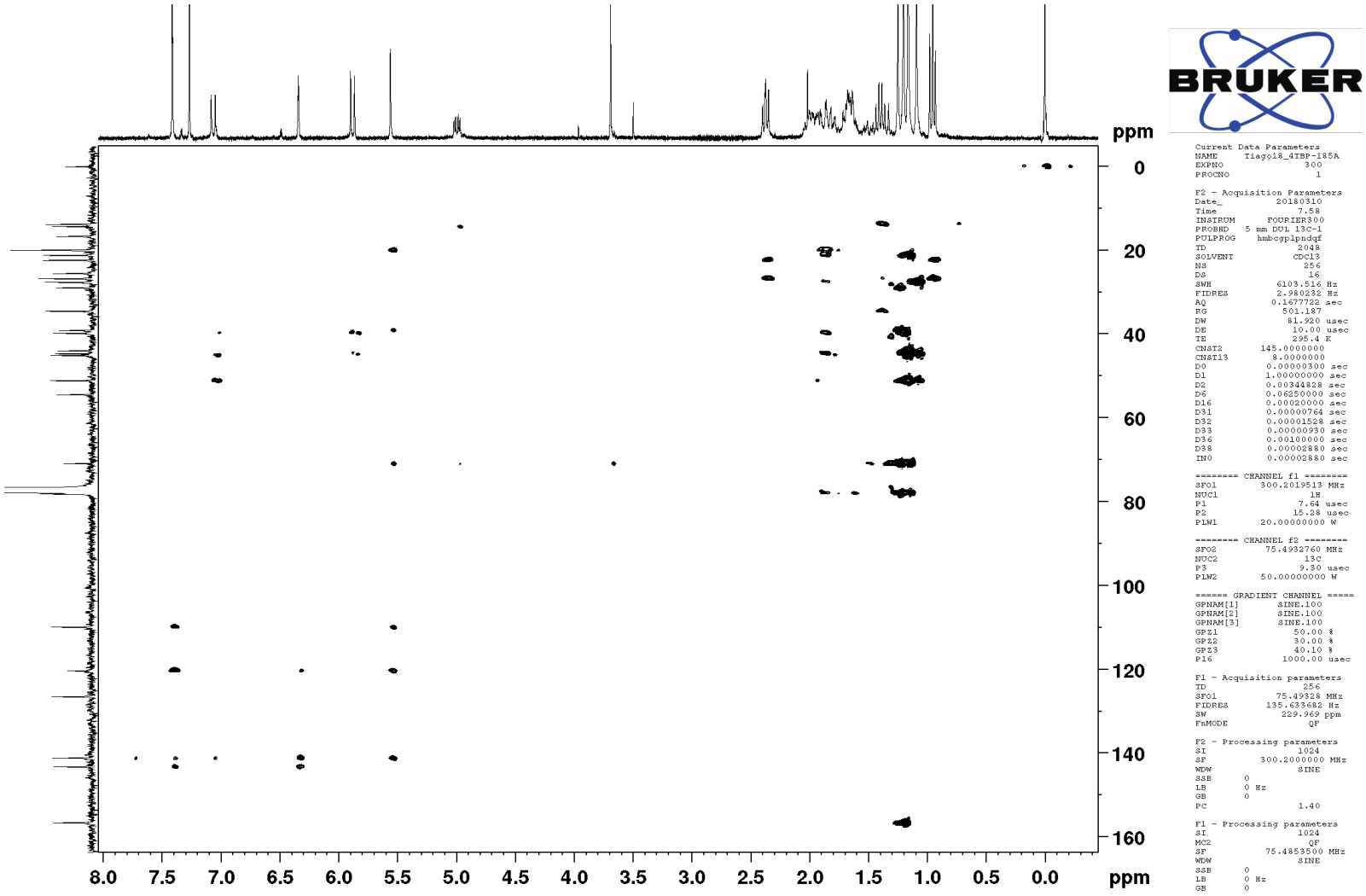
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]         SINE.100
GPNAM[2]         SINE.100
GPNAM[3]         SINE.100
GPZ1                80.00 %
GPZ2                30.00 %
GPZ3                20.10 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                   256
SFO1            75.4929 MHz
FIDRES        135.633682 Hz
SW              229.970 ppm
FnMODE              TPPI

F2 - Processing parameters
SI                  4096
SF            300.2000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB                    2
LB        0 Hz
GB        0
PC                  1.40

F1 - Processing parameters
SI                  2048
MC2                 TPPI
SF            75.4853500 MHz
WDW                 QSINE
SSB                    2
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 90. Espectro de HSQC do 9.1.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-185A
EXPNO              300
PROCNO               1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20180310
Time              7.58
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG    hmbcgplpndqf
TD                2048
SOLVENT           CDCl3
NS                 256
DS                  16
SWH           6103.516 Hz
FIDRES        2.980232 Hz
AQ            0.1677722 sec
RG              501.187
DW               81.920 usec
DE               10.00 usec
TE               295.4 K
CNST2        145.0000000
CNST13         8.0000000
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D6            0.06250000 sec
D16           0.00020000 sec
D31           0.00000764 sec
D32           0.00001528 sec
D33           0.00000930 sec
D36           0.00100000 sec
D38           0.00002880 sec
IN0           0.00002880 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1               1H
P1                7.64 usec
P2               15.28 usec
PLW1         20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         75.4932760 MHz
NUC2               13C
P3                9.30 usec
PLW2         50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]        SINE.100
GPNAM[2]        SINE.100
GPNAM[3]        SINE.100
GPZ1             50.00 %
GPZ2             30.00 %
GPZ3             40.10 %
P16            1000.00 usec

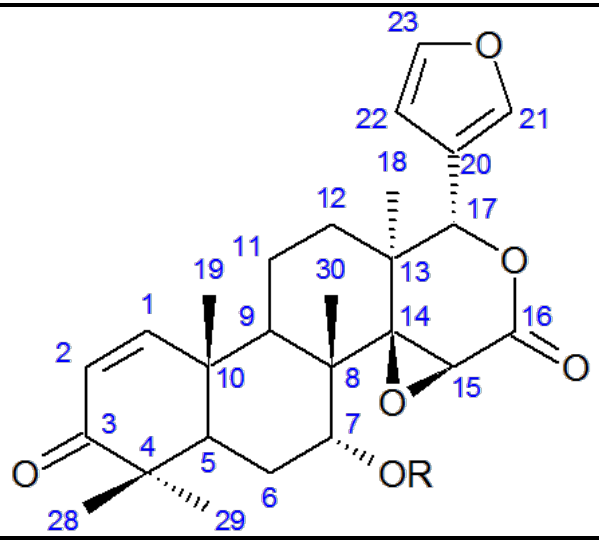
F1 - Acquisition parameters
TD                 256
SFO1          75.49328 MHz
FIDRES       135.633682 Hz
SW             229.969 ppm
FnMODE              QF

F2 - Processing parameters
SI                1024
SF          300.2000000 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                1.40

F1 - Processing parameters
SI                1024
MC2                QF
SF          75.4853500 MHz
WDW               SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 91. Espectro de HMBC do 9.1.3.

ANEXO 92. Tabela dos sinais de RMN de ^{1}H e ^{13}C das substâncias 9.2.1, 9.2.2, 9.2.3.



9.2.1: R^1= Ac.
9.2.2: R^1= $CO(CH_2)_2CH_3$.
9.2.3: R^1= $CO(CH_2)_3CH_3$.

H/C[a]	7α-desacetilgedunina (9.2)		9.2.1		9.2.2		9.2.3	
	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$	δ $^{1}H^{b}$ (*J*, Hz)	δ $^{13}C^{c}$
1	7,11 d(10)	157,8	7,1 d(10)	157,0	7,11 d(10)	157,1	7,11 d(10)	157,1
2	5,86 d(10)	125,8	5,88 d(10)	126,0	5,87 d(10)	126,0	5,87 d(10)	126,0
3	-	204,6	-	204,0	-	204,0	-	204,1

4		-	44,2	-	44,0	-	44,1	-	44,0
5		2,45 m	44,6	2,16 dd(13;2)	46,0	2,17 dd(13;3)	46,0	2,16 dd(13;3)	46,0
6	α	1,90 m	26,4	1,92 t(3)	23,2	194 m	23,3	1,99 sl	23,3
	β	1,66 m		1,81 t(6)		1,83 dd(13;4)		1,88 m	
7	α	-	69,7	-	73,2	-	72,8	-	72,8
	β	3,58 dd(3;2)		4,56 dd (3;2)		4,58 dd(3;2)		4,56 d (3)	
8		-	43,6	-	42,6	-	42,6	-	42,6
9		2,51 m	37,9	2,50 dd(12;6)	39,5	2,50 dd(12;6)	39,5	2,49 dd(12;6)	39,4
10		-	40,2	-	40,0	-	40,1	-	40,0
11	α	194 m	15,0	2,0 m	14,9	1,98 m	15,0	2,10 m	15,0
	β	1,80 m		1,87 dd(7;2)		1,86 m		1,84 m	
12	α	1,60 m	27,3	1,60 d(2)	25,9	1,78 dd(11;2)	25,9	1,50 m	25,9
	β	1,70 m		1,73 dd(13;2)		1,61 m		1,71 m	
13		-	38,3	-	38,1	-	38,7	-	38,7
14		-	70,0	-	69,8	-	69,7	-	69,7

15	3,91 s	57,8	3,53 s	56,9	3,53 s	57,0	3,51 s	57,0
16	-	168,6	-	167,5	-	167,3	-	167,4
17	5,61 s	78,5	5,62 s	78,2	5,62 s	78,2	5,61 s	78,2
18	1,24 s	17,8	1,26 s	17,7	1,25 s	17,7	1,24 s	17,7
19	1,11 s	21,5	1,23 s	19,8	1,08 s	21,2	1,22 s	19,8
20	-	120,6	-	120,4	-	120,4	-	120,4
21	7,40 m	143,0	7,42 m	143,1	7,43 m	141,2	7,40 m	143,1
22	6,36 m	109,9	6,35 t(1)	109,9	6,35 t (1,0)	109,9	6,34 m	109,9
23	7,41 m	141,2	7,43 m	141,2	7,41 m	143,1	7,41 m	141,2
28	1,15 s	27,3	1,07 s	27,2	1,05 s	27,2	1,05 s	27,2
29	1,21 s	19,9	1,09 s	21,1	1,23 s	19,8	1,07 s	21,2
30	1,09 s	18,7	1,16 s	18,3	1,17 s	18,4	1,16 s	18,4
6^1	-	-	-	-	-	-	-	-
6^2	-	-	-	-	-	-	-	-
6^3	-	-	-	-	-	-	-	-

6^4	-	-	-	-	-	-	-	-
6^5	-	-	-	-	-	-	-	-
6^6	-	-	-	-	-	-	-	-
6^7	-	-	-	-	-	-	-	-
7^1	-		-	169,9	-	172,6	-	172,7
7^2			2,12 s	21,2	2,33 m	36,4	2,32 m	34,2
7^3	-	-	-	-	1,62 sext(7)	18,	1,61 m	26,9
7^4	-	-	-	-	1,0 t(7)	13,8	1,31 m	22,27
7^5	-	-	-	-	-	-	0,9 t(7)	13,7
7^6	-	-	-	-	-	-	-	-
7^7					-	-	-	-

[a] Posição dos hidrogênios e carbonos dos ésteres.

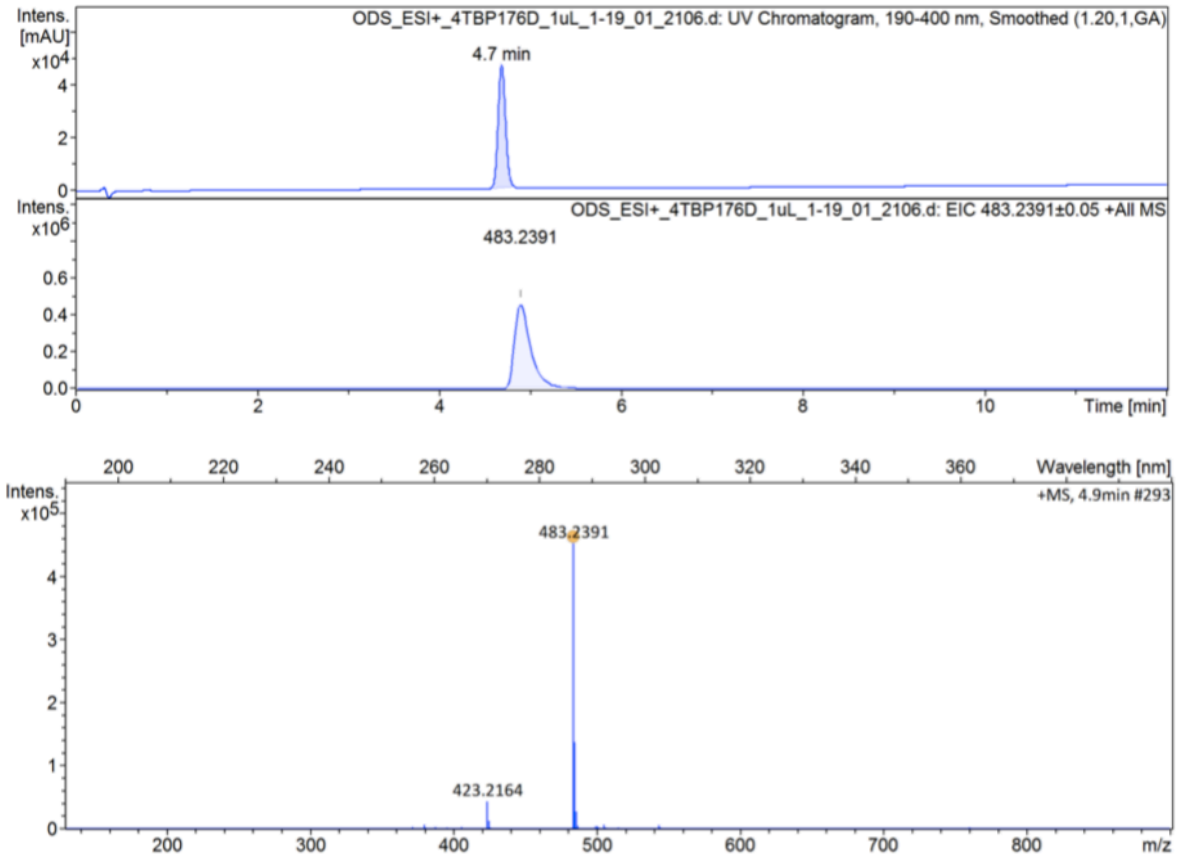
[b] RMN ^1H 300 MHz, $CDCl_3$

[c] RMN ^{13}C 75 MHz, $CDCl_3$

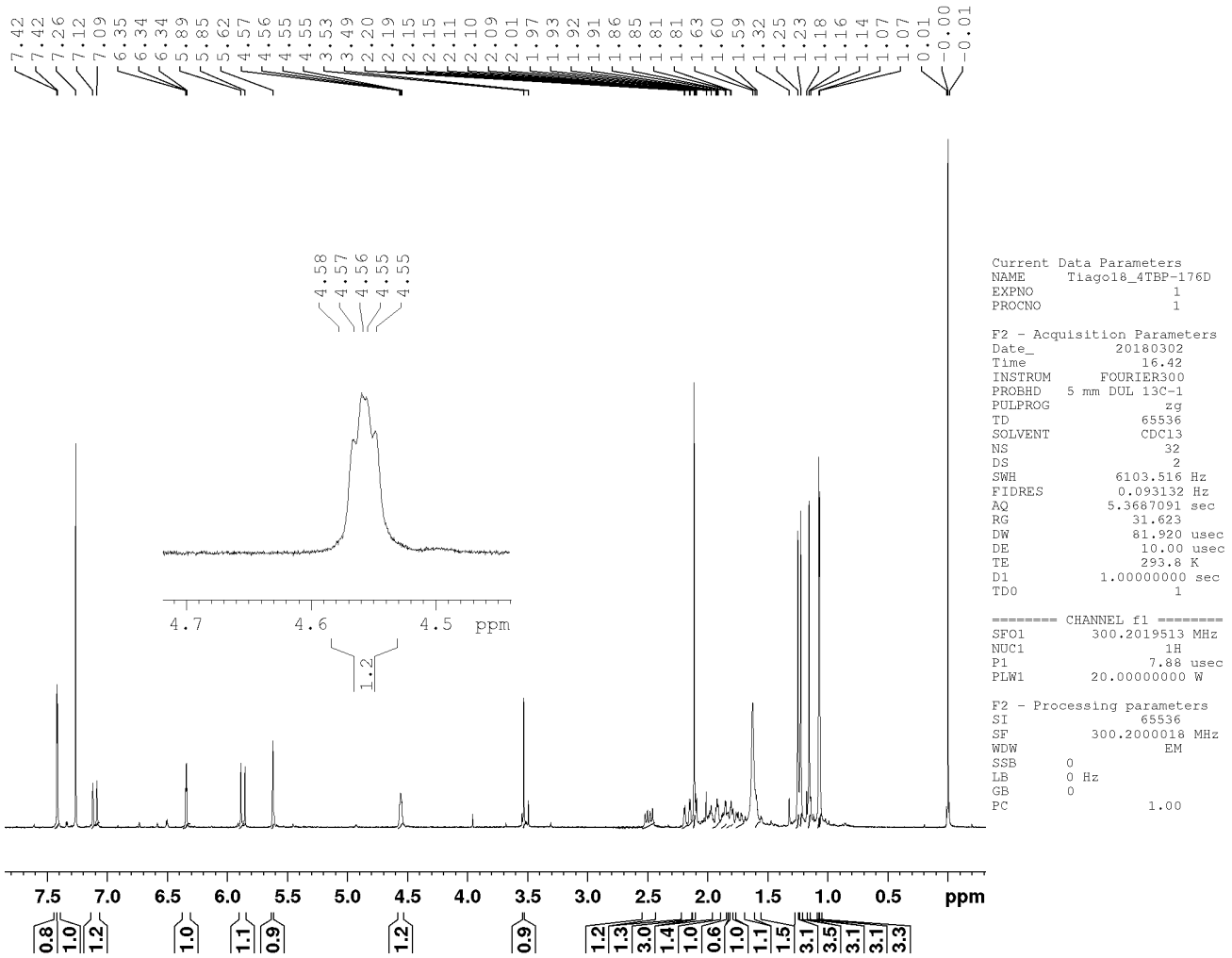
Analysis Info

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP176D_1uL_1-19_01_2106.d	Acquisition Date	2/1/2018 4:50:37 PM
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP176D_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

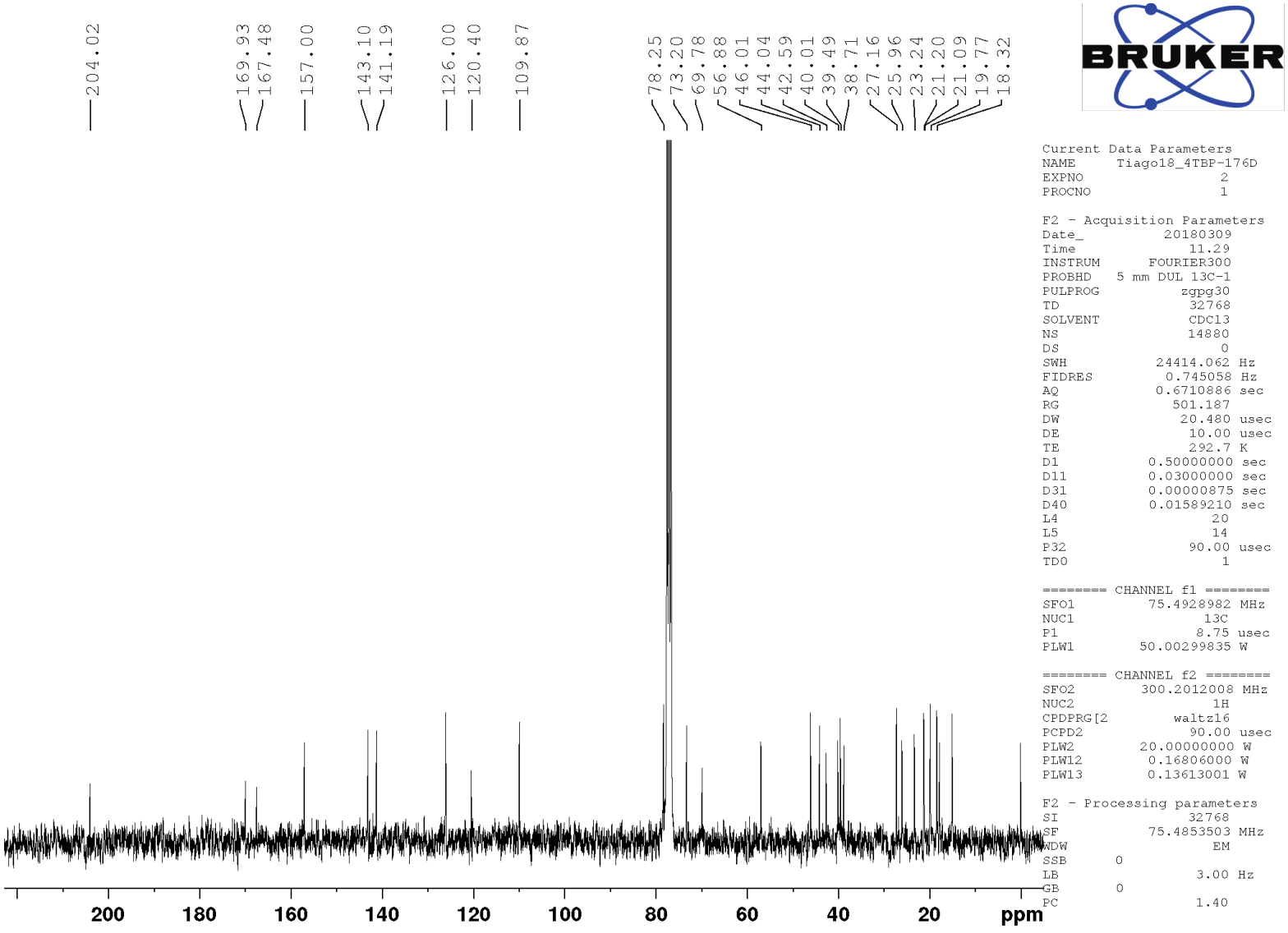
Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
483.2391	1	M+H	C28H35O7	483.2377	-2.9	2.9



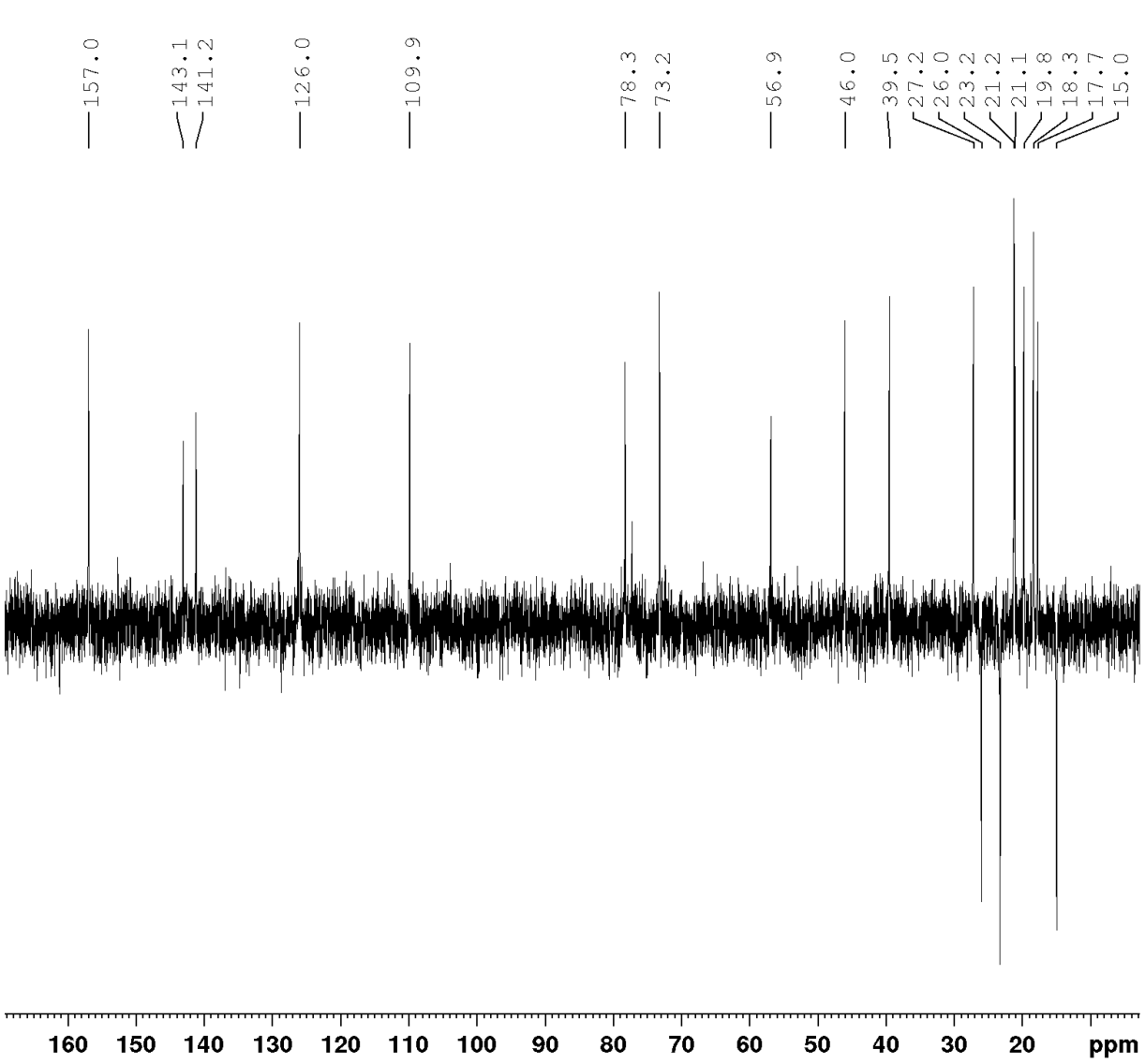
ANEXO 93. UFLC/HRMS-ESI do 9.2.1.



ANEXO 94. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.1.



ANEXO 95. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.2.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-176D
EXPNO                    4
PROCNO                   1

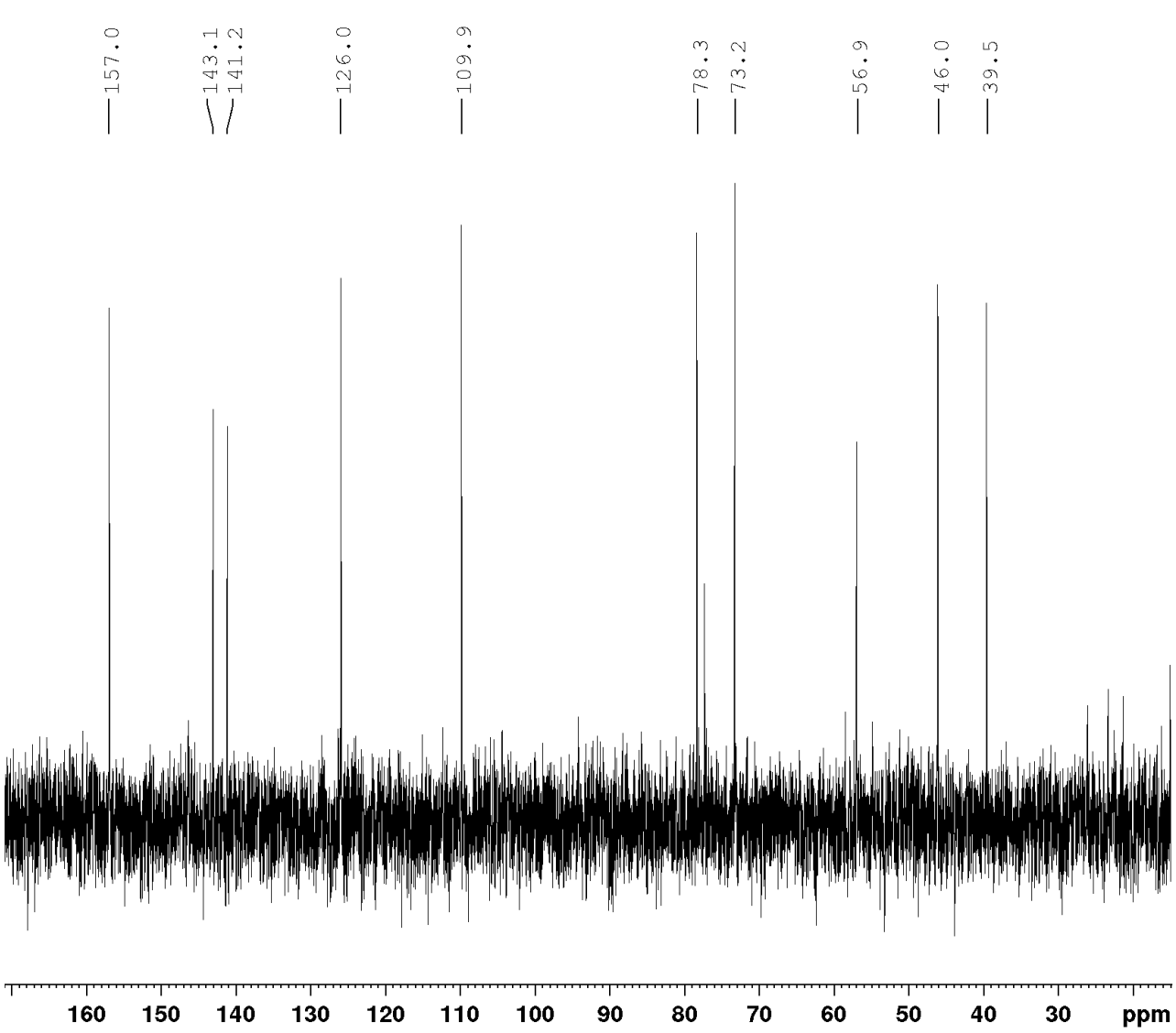
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180305
Time                2.06
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                  7237
DS                     8
SWH            24414.062 Hz
FIDRES          0.372529 Hz
AQ              1.3421773 sec
RG                501.187
DW                 20.480 usec
DE                 10.00 usec
TE                 294.8 K
CNST2         145.0000000
D1             2.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D14            0.00001114 sec
D33            0.00000825 sec
D34            0.00344053 sec
D35            0.00345340 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                  8.75 usec
P2                 17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                  8.25 usec
P4                 16.50 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4853477 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                  1.00 Hz
GB        0
PC                  1.40
```

ANEXO 96. Espectro de DEPT 135º do 9.2.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-176D
EXPNO                    3
PROCNO                   1

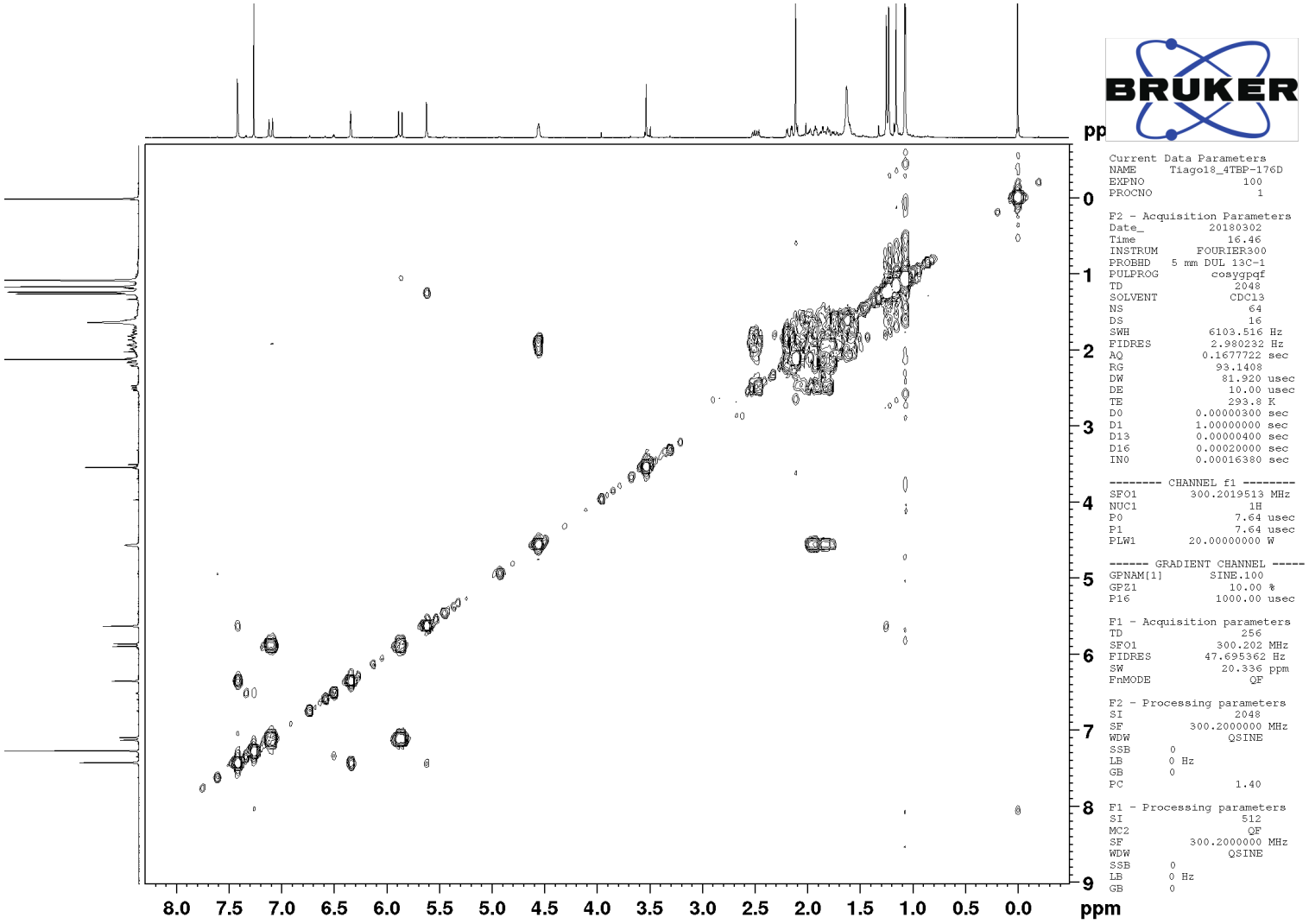
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180309
Time                9.35
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept90
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                  2007
DS                     8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               293.7 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345753 sec
L4                    40
P32              90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928986 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
P2               17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                8.25 usec
P4               16.50 usec
PCPD2            90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 97. Espectro de DEPT 90º do 9.2.1.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-176D
EXPNO                  100
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20180302
Time                 16.46
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          cosygpqf
TD                   2048
SOLVENT             CDCl3
NS                     64
DS                     16
SWH               6103.516 Hz
FIDRES            2.980232 Hz
AQ               0.1677722 sec
RG                  93.1408
DW                  81.920 usec
DE                  10.00 usec
TE                  293.8 K
D0               0.00000300 sec
D1               1.00000000 sec
D13              0.00000400 sec
D16              0.00020000 sec
IN0              0.00016380 sec

-------- CHANNEL f1 --------
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                  1H
P0                   7.64 usec
P1                   7.64 usec
PLW1         20.00000000 W

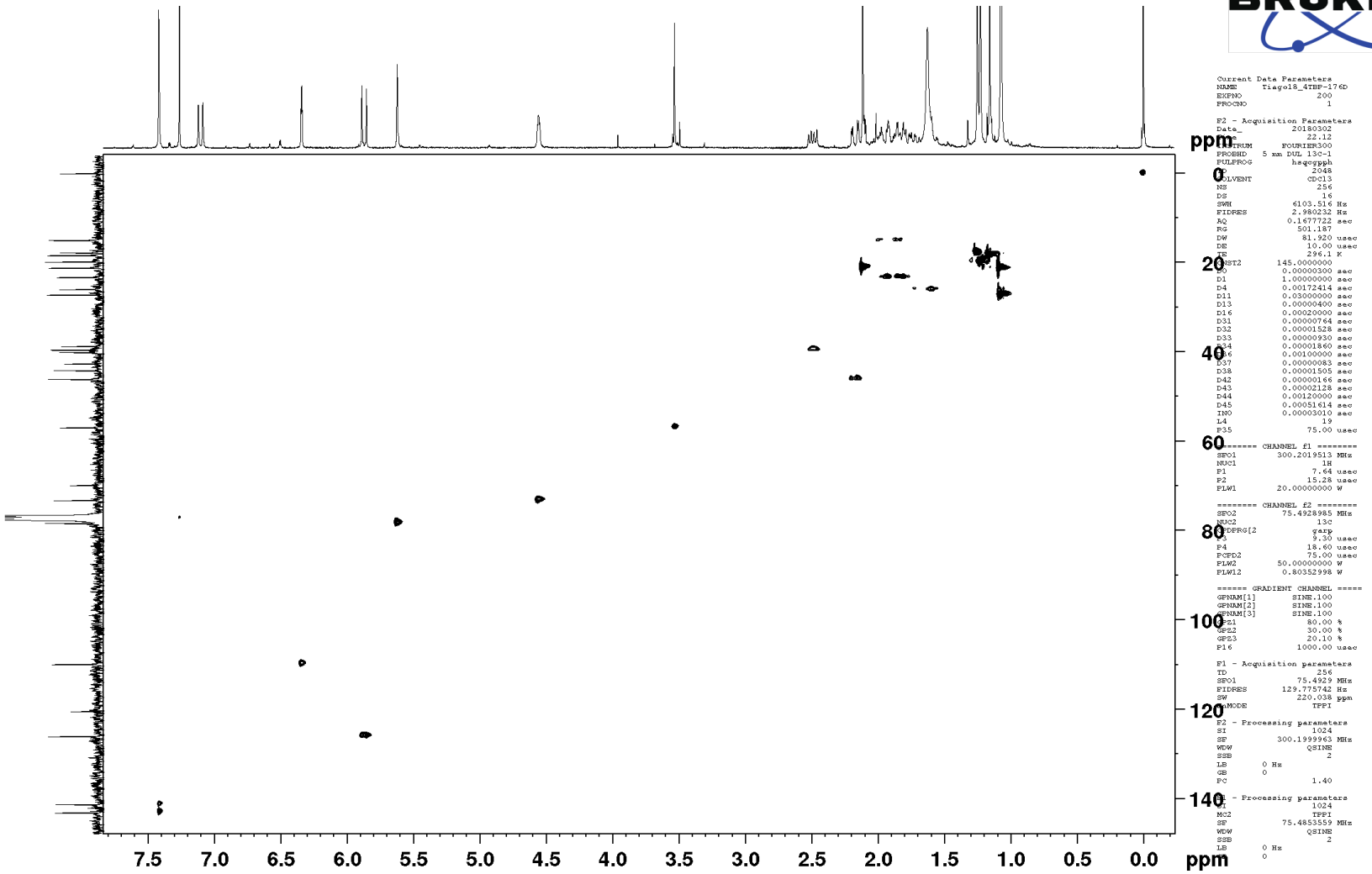
------ GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1]         SINE.100
GPZ1                10.00 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                     256
SFO1              300.202 MHz
FIDRES          47.695362 Hz
SW                 20.336 ppm
FnMODE                  QF

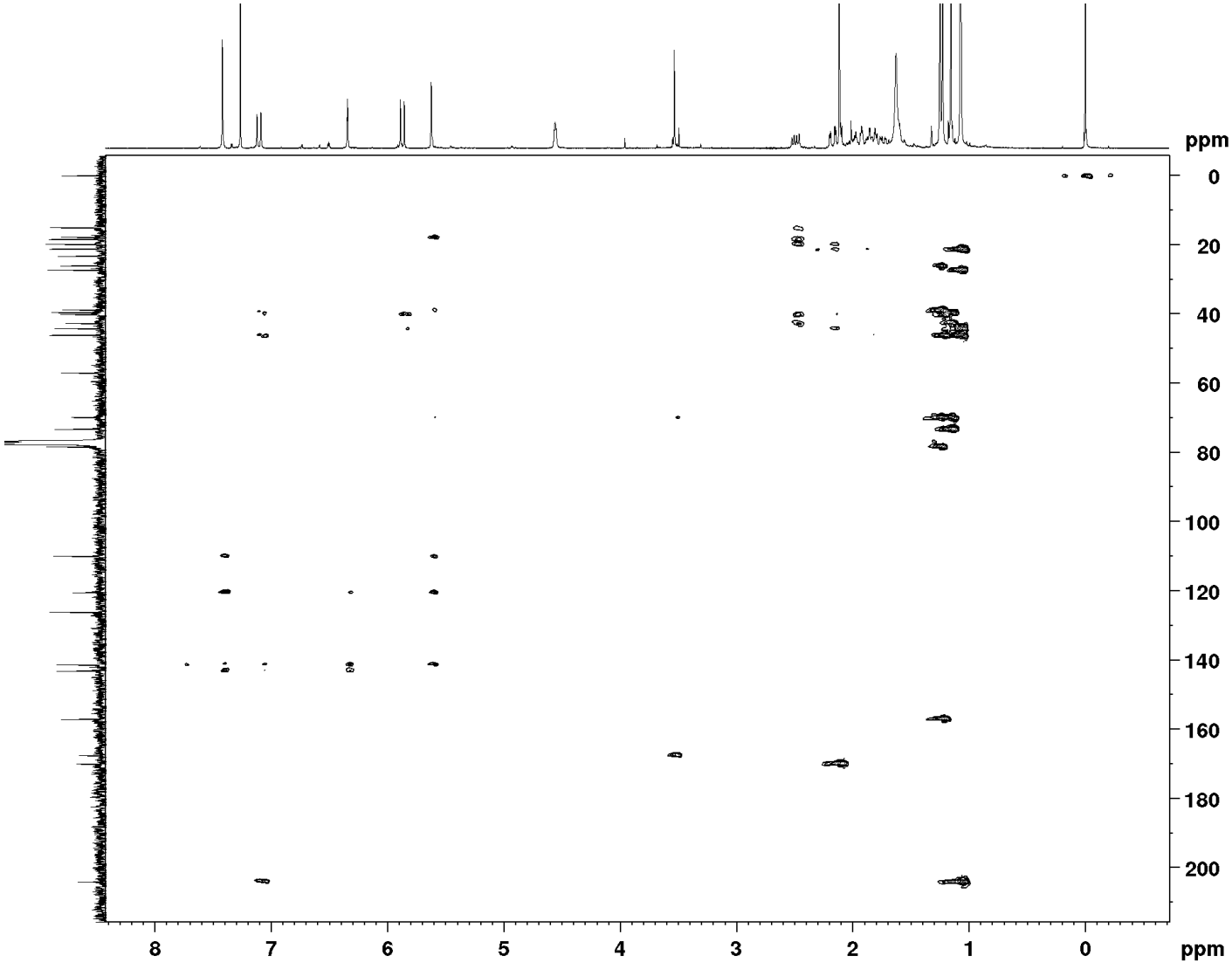
F2 - Processing parameters
SI                    2048
SF            300.2000000 MHz
WDW                  QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                    1.40

F1 - Processing parameters
SI                     512
MC2                     QF
SF            300.2000000 MHz
WDW                  QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 98. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.2.1.



ANEXO 99. Espectro de HSQC do 9.2.1.






```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-176D
EXPNO                  300
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20180303
Time                 19.59
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG    hmbcgplpndqf
TD                    2048
SOLVENT               CDCl3
NS                     340
DS                      16
SWH               6103.516 Hz
FIDRES            2.980232 Hz
AQ               0.1677722 sec
RG                 501.187
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                297.4 K
CNST2         145.0000000
CNST13          8.0000000
D0            0.00000300 sec
D1            1.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D6            0.06250000 sec
D16           0.00020000 sec
D31           0.00000764 sec
D32           0.00001528 sec
D33           0.00000993 sec
D36           0.00100000 sec
D38           0.00002880 sec
IN0           0.00002880 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                     1H
P1                    7.64 usec
P2                   15.28 usec
PLW1         20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          75.4932760 MHz
NUC2                    13C
P3                    9.30 usec
PLW2         50.00000000 W

====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]         SINE.100
GPNAM[2]         SINE.100
GPNAM[3]         SINE.100
GPZ1                50.00 %
GPZ2                30.00 %
GPZ3                40.10 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                     256
SFO1           75.49328 MHz
FIDRES        135.633682 Hz
SW               229.969 ppm
FnMODE                 QF

F2 - Processing parameters
SI                    1024
SF           300.2000000 MHz
WDW                   SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                    1.40

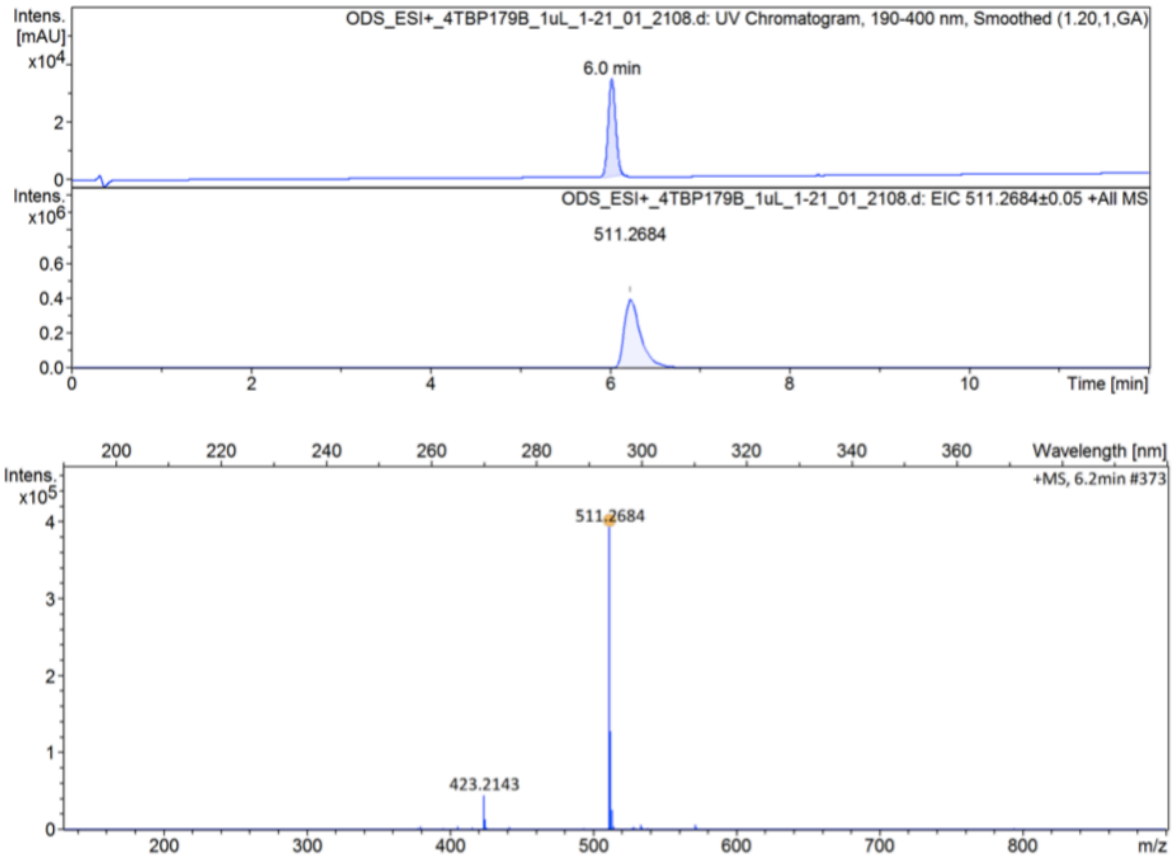
F1 - Processing parameters
SI                    1024
MC2                     QF
SF           75.48535500 MHz
WDW                   SINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 100. Espectro de HMBC do 9.2.1.

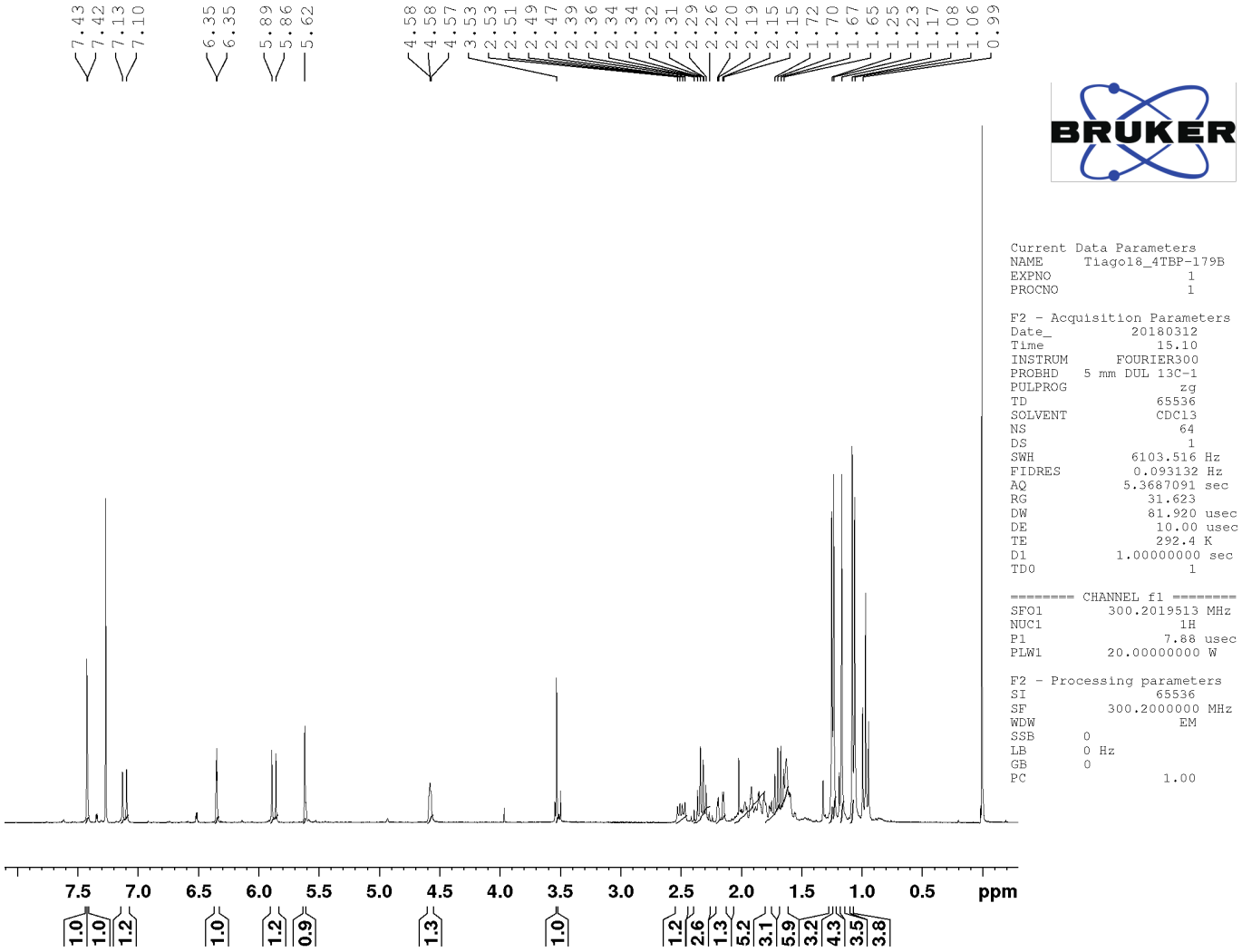
Analysis Info Acquisition Date 2/1/2018 5:35:42 PM

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP179B_1uL_1-21_01_2108.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP179B_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

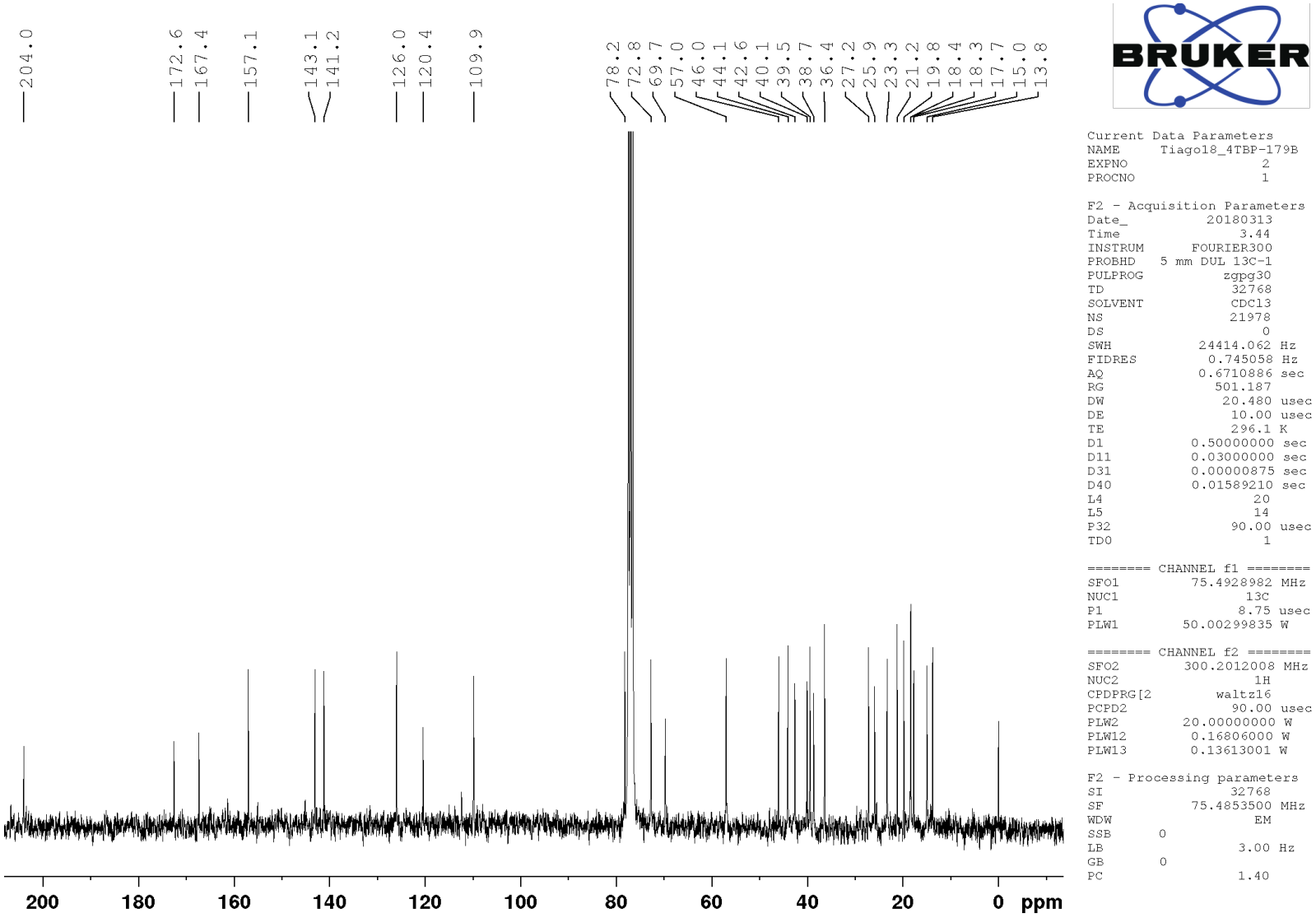
Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
511.2684	1	M+H	C30H39O7	511.2690	1.2	3.9



ANEXO 101. UFLC/HRMS-ESI do 9.2.2.



ANEXO 102. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-179B
EXPNO                    2
PROCNO                   1

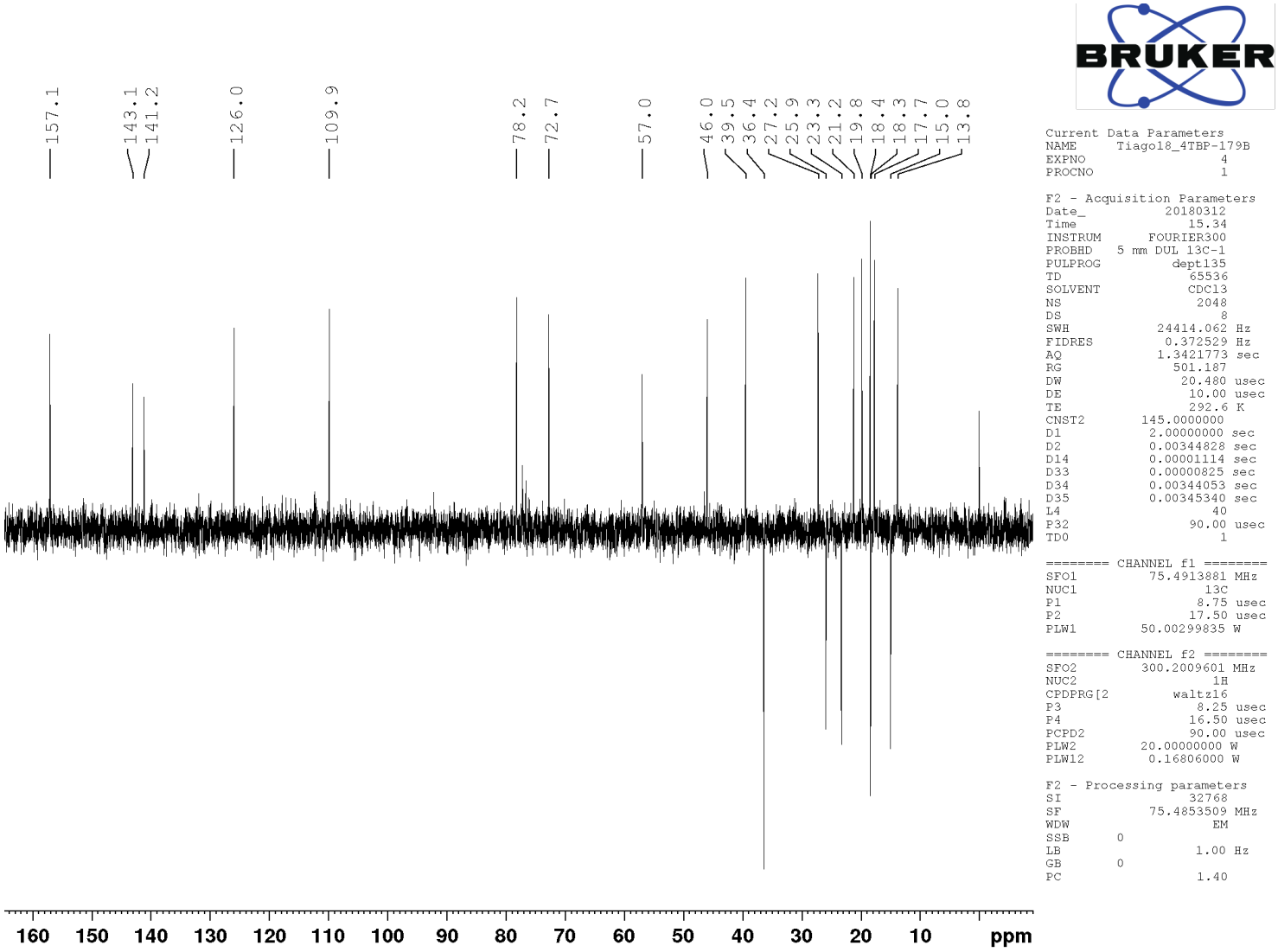
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180313
Time                3.44
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS                21978
DS                    0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               296.1 K
D1           0.50000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.01589210 sec
L4                   20
L5                   14
P32               90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928982 MHz
NUC1                13C
P1                 8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.16806000 W
PLW13        0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                3.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 103. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.2.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-179B
EXPNO                    4
PROCNO                   1

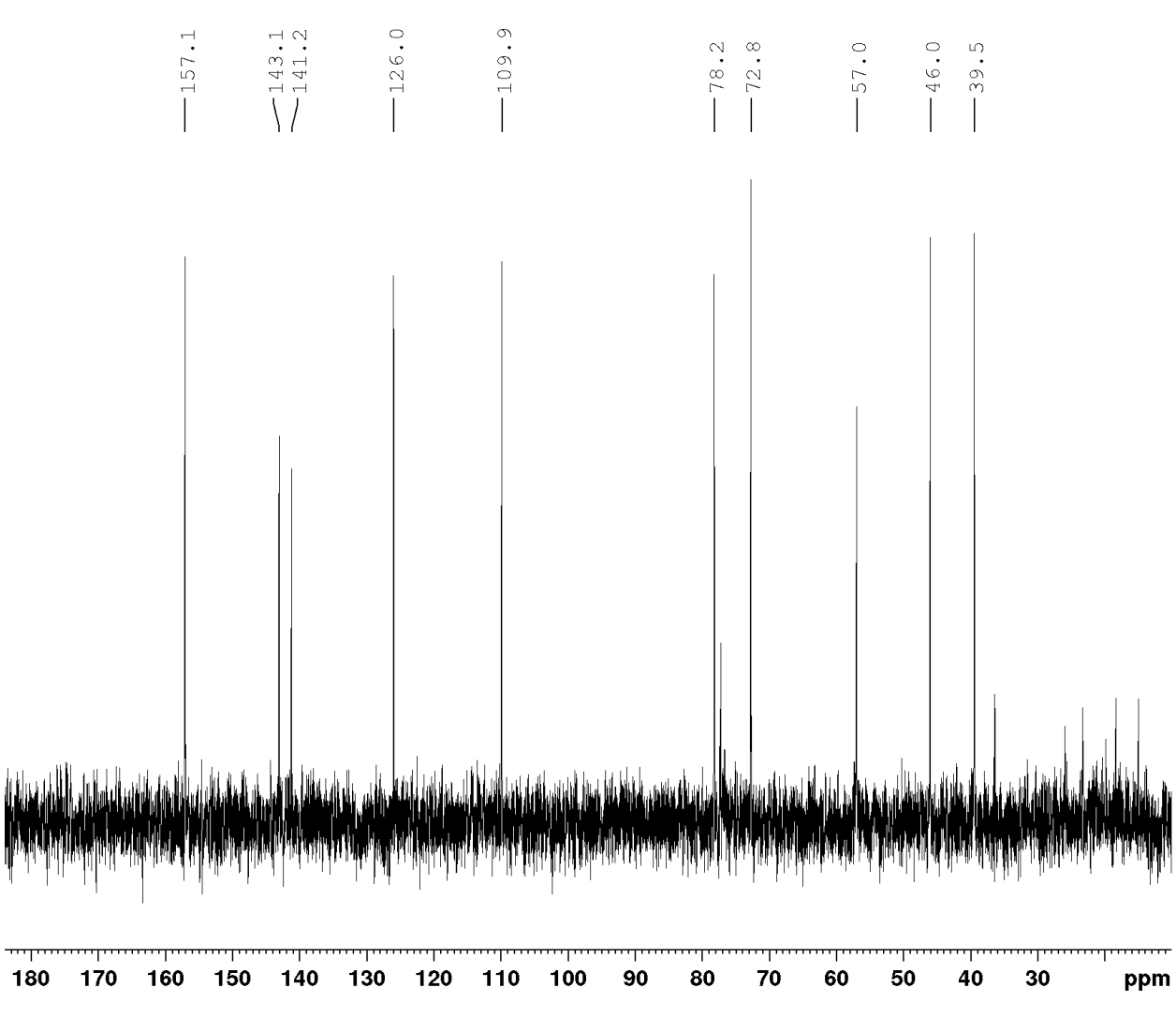
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180312
Time              15.34
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                 2048
DS                    8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                292.6 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345340 sec
L4                    40
P32               90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4913881 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2009601 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF            75.4853509 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 104. Espectro de DEPET 135º do 9.2.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-179B
EXPNO                    3
PROCNO                   1

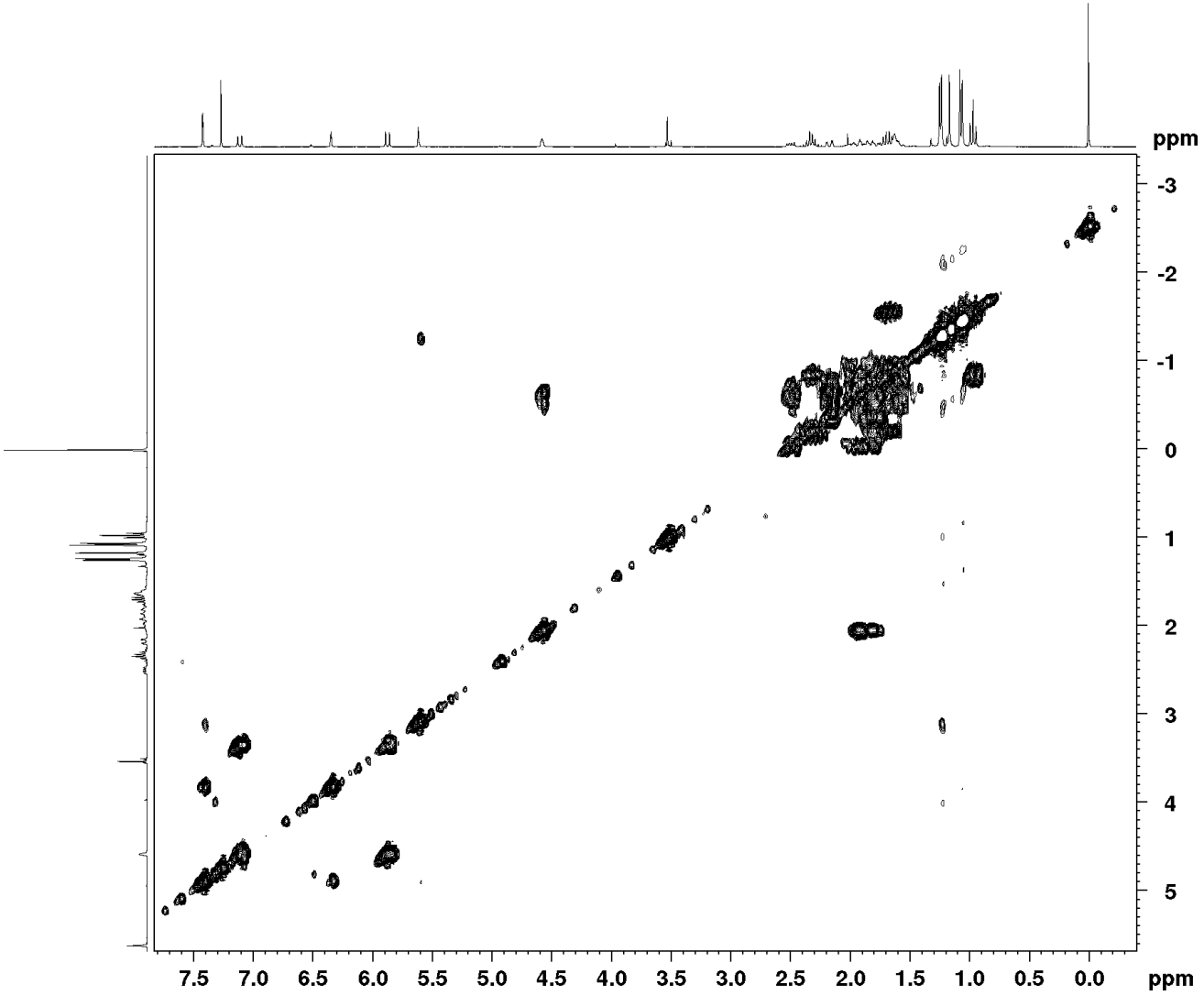
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180308
Time                7.38
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept90
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                  3072
DS                     8
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                293.3 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345753 sec
L4                    40
P32               90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928986 MHz
NUC1                 13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.25 usec
P4                16.50 usec
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 105. Espectro de DEPT 90º do 9.2.2.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-179B
EXPNO                  100
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180308
Time              10.32
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG         cosygpqf
TD                 2048
SOLVENT            CDCl3
NS                   38
DS                   16
SWH             6103.516 Hz
FIDRES           2.980232 Hz
AQ              0.1677722 sec
RG                53.8947
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                293.7 K
D0             0.00000300 sec
D1             1.00000000 sec
D13            0.00000400 sec
D16            0.00020000 sec
IN0            0.00016380 sec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P0                  7.88 usec
P1                  7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

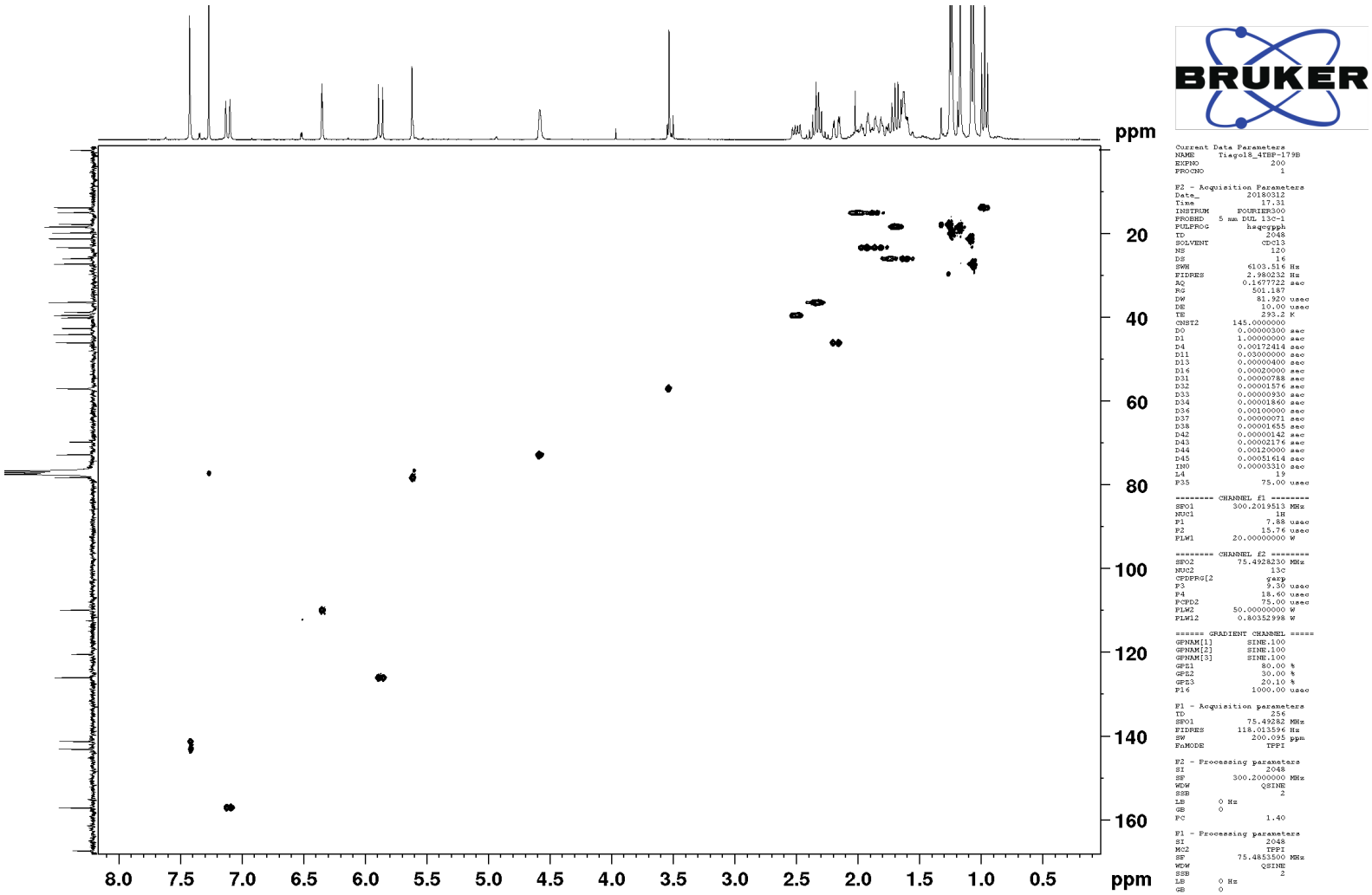
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]         SINE.100
GPZ1               10.00 %
P16              1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                   256
SFO1            300.2012 MHz
FIDRES          47.695362 Hz
SW                20.336 ppm
FnMODE                QF

F2 - Processing parameters
SI                   2048
SF            300.2000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB         0
LB          0 Hz
GB          0
PC                   1.40

F1 - Processing parameters
SI                   1024
MC2                   QF
SF            300.2000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB         0
LB          0 Hz
GB          0
```

ANEXO 106. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.2.2.



Current Data Parameters
NAME Tiago18_4TBP-179B
EXPNO 200
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20180312
Time 17.31
INSTRUM FOURIER300
PROBHD 5 mm DUL 13C-1
PULPROG hsqcetgpph
TD 2048
SOLVENT CDCl3
NS 120
DS 16
SWH 6103.516 Hz
FIDRES 2.980232 Hz
AQ 0.1677722 sec
RG 501.187
DW 81.920 usec
DE 10.00 usec
TE 293.2 K
CNST2 145.0000000
D0 0.00000300 sec
D1 1.00000000 sec
D4 0.00172414 sec
D11 0.03000000 sec
D13 0.00000400 sec
D16 0.00020000 sec
D31 0.00000788 sec
D32 0.00001576 sec
D33 0.00000930 sec
D34 0.00001860 sec
D36 0.00100000 sec
D37 0.00000071 sec
D38 0.00001655 sec
D42 0.00000142 sec
D43 0.00002176 sec
D44 0.00120000 sec
D45 0.00051614 sec
IN0 0.00003310 sec
L4 19
P35 75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1 300.2019513 MHz
NUC1 1H
P1 7.88 usec
P2 15.76 usec
PLW1 20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2 75.4928230 MHz
NUC2 13c
CPDPRG[2 garp
P3 9.30 usec
P4 18.60 usec
PCPD2 75.00 usec
PLW2 50.00000000 W
PLW12 0.80352998 W

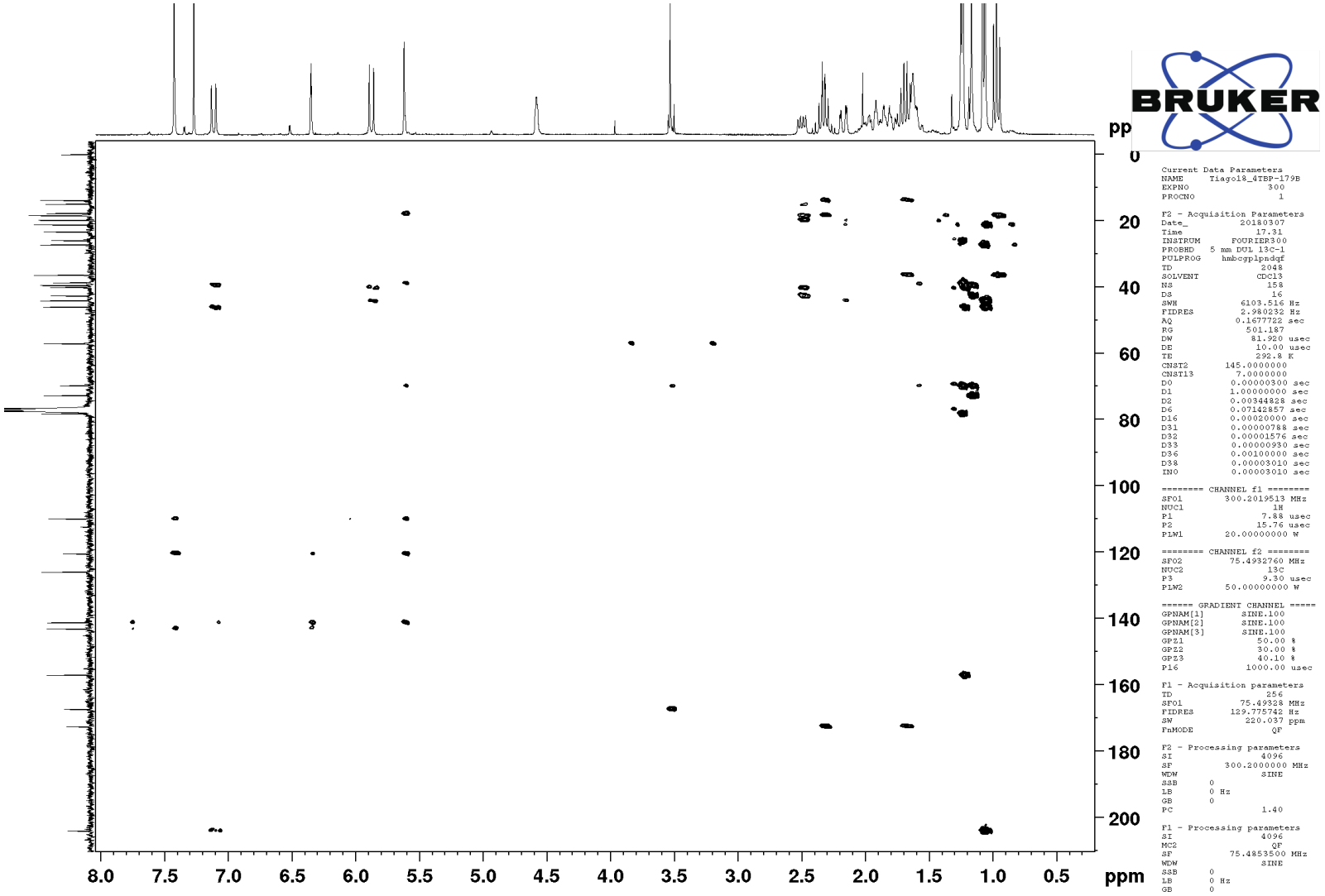
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1] SINE.100
GPNAM[2] SINE.100
GPNAM[3] SINE.100
GPZ1 80.00 %
GPZ2 30.00 %
GPZ3 20.10 %
P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD 256
SFO1 75.49282 MHz
FIDRES 118.013596 Hz
SW 200.095 ppm
FnMODE TPPI

F2 - Processing parameters
SI 2048
SF 300.2000000 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0
PC 1.40

F1 - Processing parameters
SI 2048
MC2 TPPI
SF 75.4853500 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0 Hz
GB 0

ANEXO 107. Espectro de HSQC do 9.2.2.

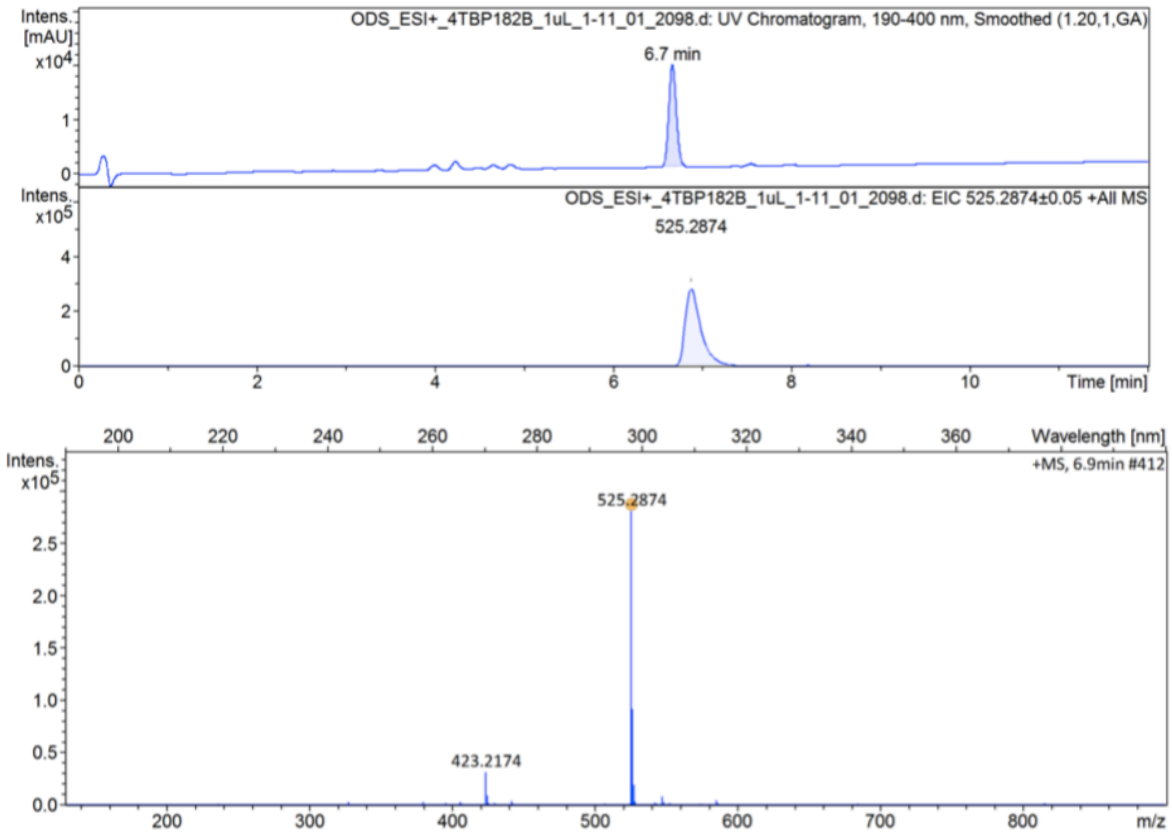


ANEXO 108.Espectro de HMQC do 9.2.2.

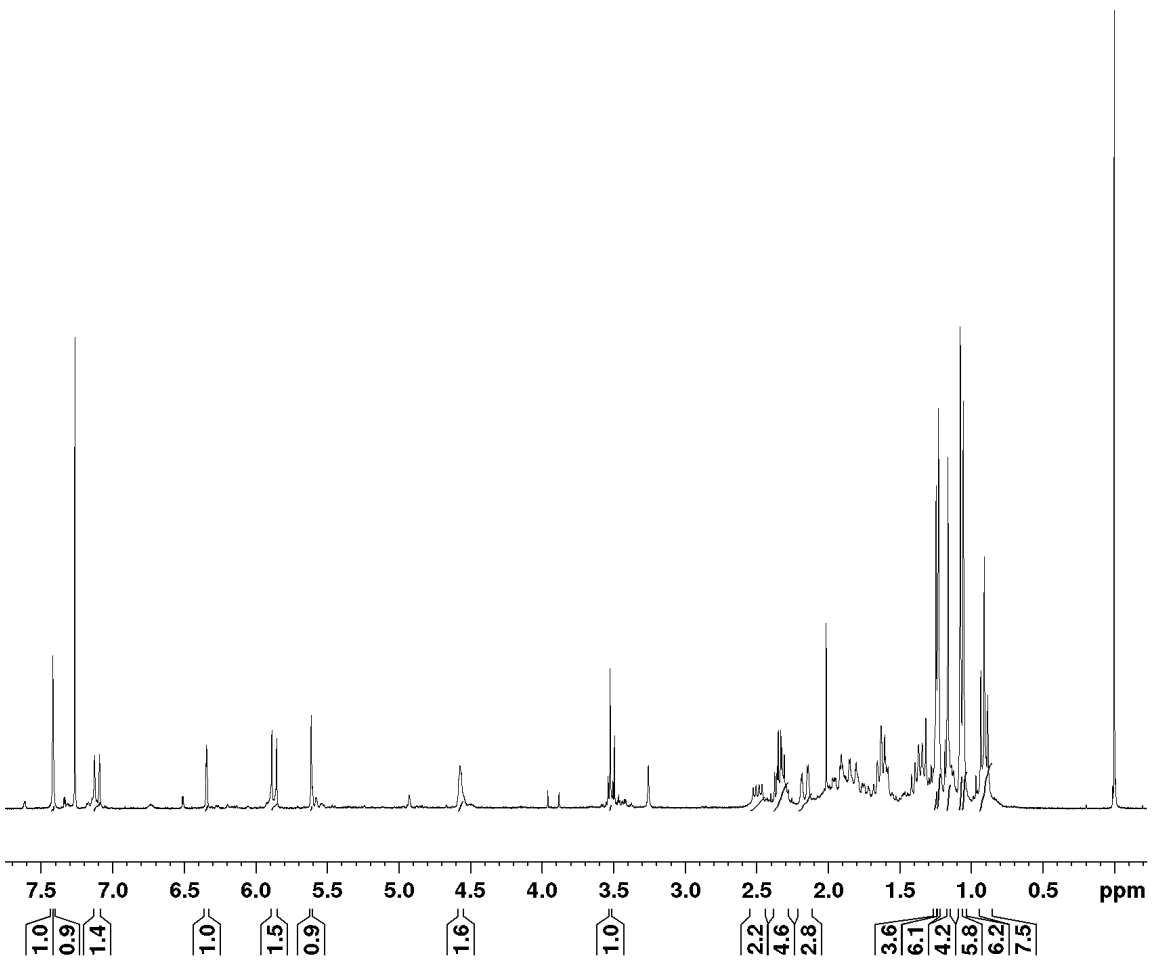
Analysis Info Acquisition Date 2/1/2018 1:43:27 PM

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2018\Adrian\Tiago\Data\LC-MS\01-02-2018\ODS_ESI+_4TBP182B_1uL_1-11_01_2098.d		
Method	Tune-Low_ESI+_Tiago_noFocus_100-900_18min.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ODS_ESI+_4TBP182B_1uL	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	ODS 50x2,0mm Branco ACN Flx=0,4 mL/min[Split de 0,06 mL(MS)/0,34mL(desc)]; P:2476psi;C=1mg/mL(ACN);Inj=1uL; A(H2O_0.1%AF)/B(ACN)_0.1%AF) 0-12m_40-100% 12-14m_100% 14-16m_100-40% 16-18m_40% injetor:ACN Calib.:HCOONa 10mM_end		

Meas. m/z	#	Adduct	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma
525.2874	1	M+H	C31H41O7	525.2847	-5.2	8.5



ANEXO 109. UFLC/HRMS-ESI do 9.2.3.



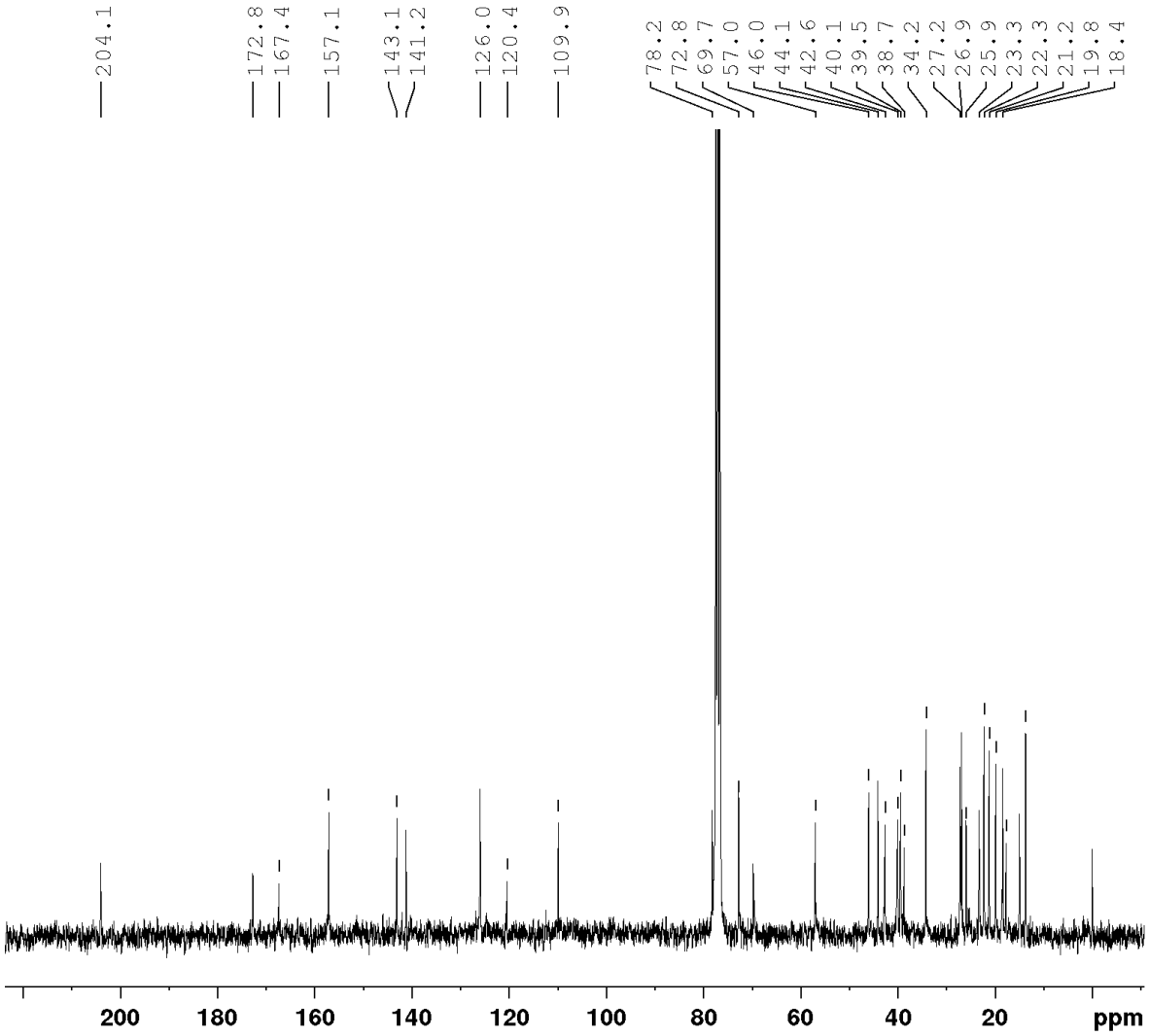

```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-182B
EXPNO                    1
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180321
Time                13.20
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                 zg
TD                   65536
SOLVENT              CDCl3
NS                      32
DS                       0
SWH              6103.516 Hz
FIDRES           0.093132 Hz
AQ               5.3687091 sec
RG                  22.061
DW                  81.920 usec
DE                  10.00 usec
TE                  294.6 K
D1              1.00000000 sec
TD0                      1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P1                   7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                   65536
SF           300.2000016 MHz
WDW                     EM
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                   1.00
```

ANEXO 110. Espectro de RMN de ^{1}H do 9.2.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-182B
EXPNO                    2
PROCNO                   1

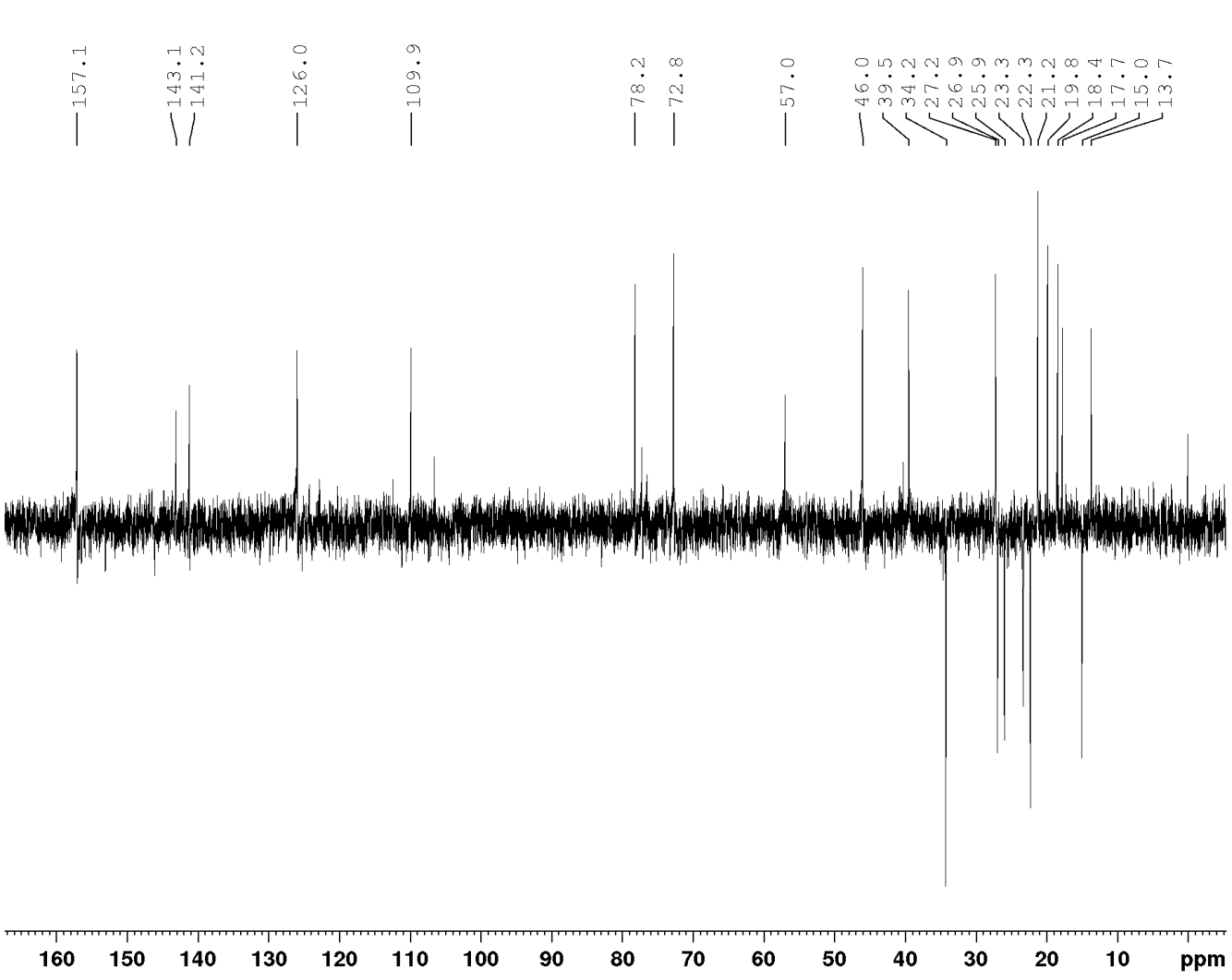
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180323
Time                1.20
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgpg30
TD                 32768
SOLVENT            CDCl3
NS                 31744
DS                     0
SWH            24414.062 Hz
FIDRES          0.745058 Hz
AQ             0.6710886 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                292.8 K
D1           0.10000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.03084430 sec
L4                    20
L5                     2
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928982 MHz
NUC1                 13C
P1                  8.75 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                  1H
CPDPRG[2          waltz16
PCPD2              90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W
PLW13         0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                   EM
SSB       0
LB                 3.00 Hz
GB        0
PC                 1.40
```

ANEXO 111. Espectro de RMN de ^{13}C do 9.2.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-182B
EXPNO                     4
PROCNO                    1

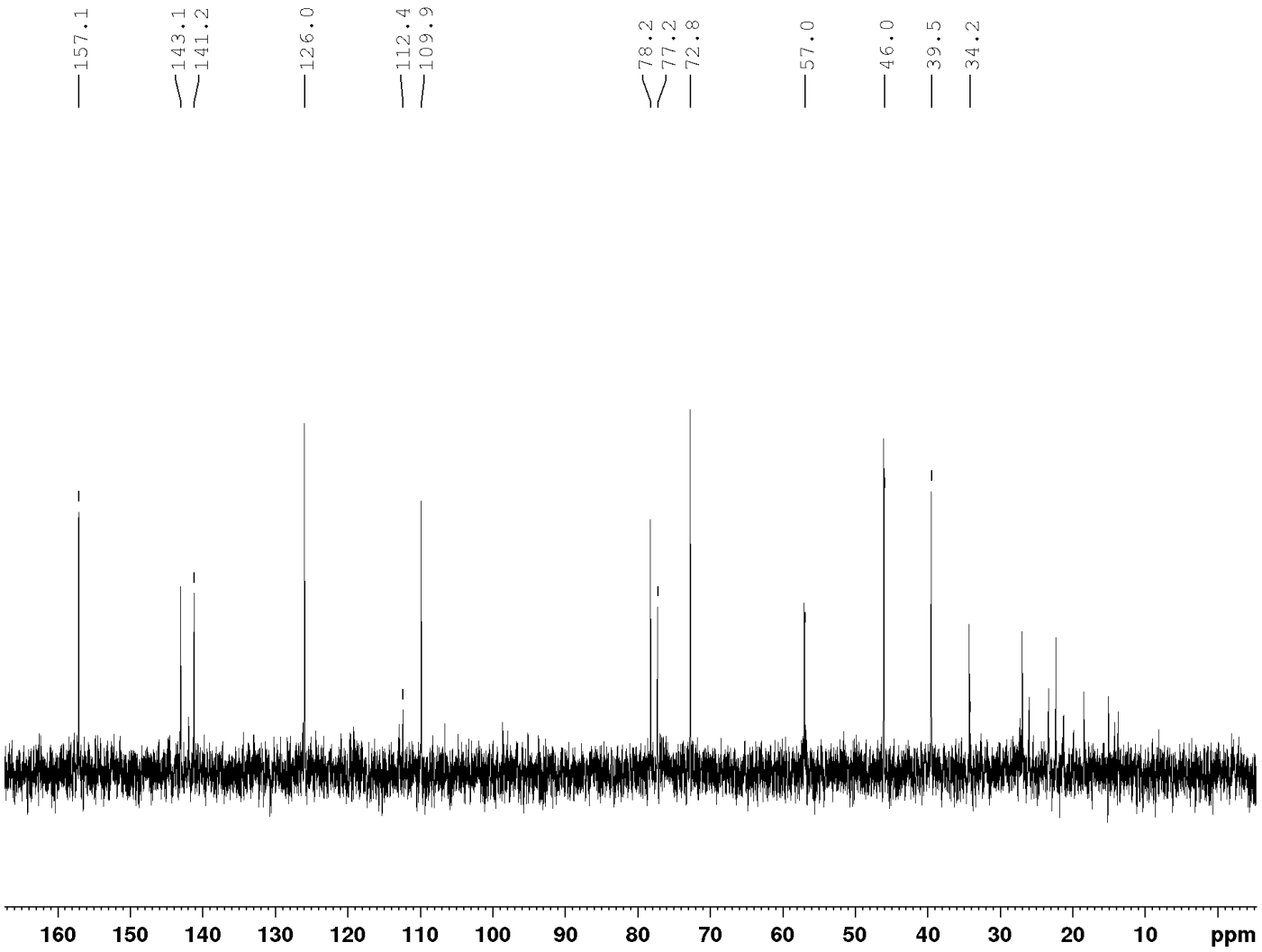
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180321
Time                13.27
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                 65536
SOLVENT             CDCl3
NS                   4576
DS                      0
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               294.7 K
CNST2        145.0000000
D1            1.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345340 sec
L4                    40
P32              90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928978 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
P2               17.50 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                8.25 usec
P4               16.50 usec
PCPD2            90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 112. Espectro de DEPT 135º do 9.2.3.




```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-182B
EXPNO                     3
PROCNO                    1

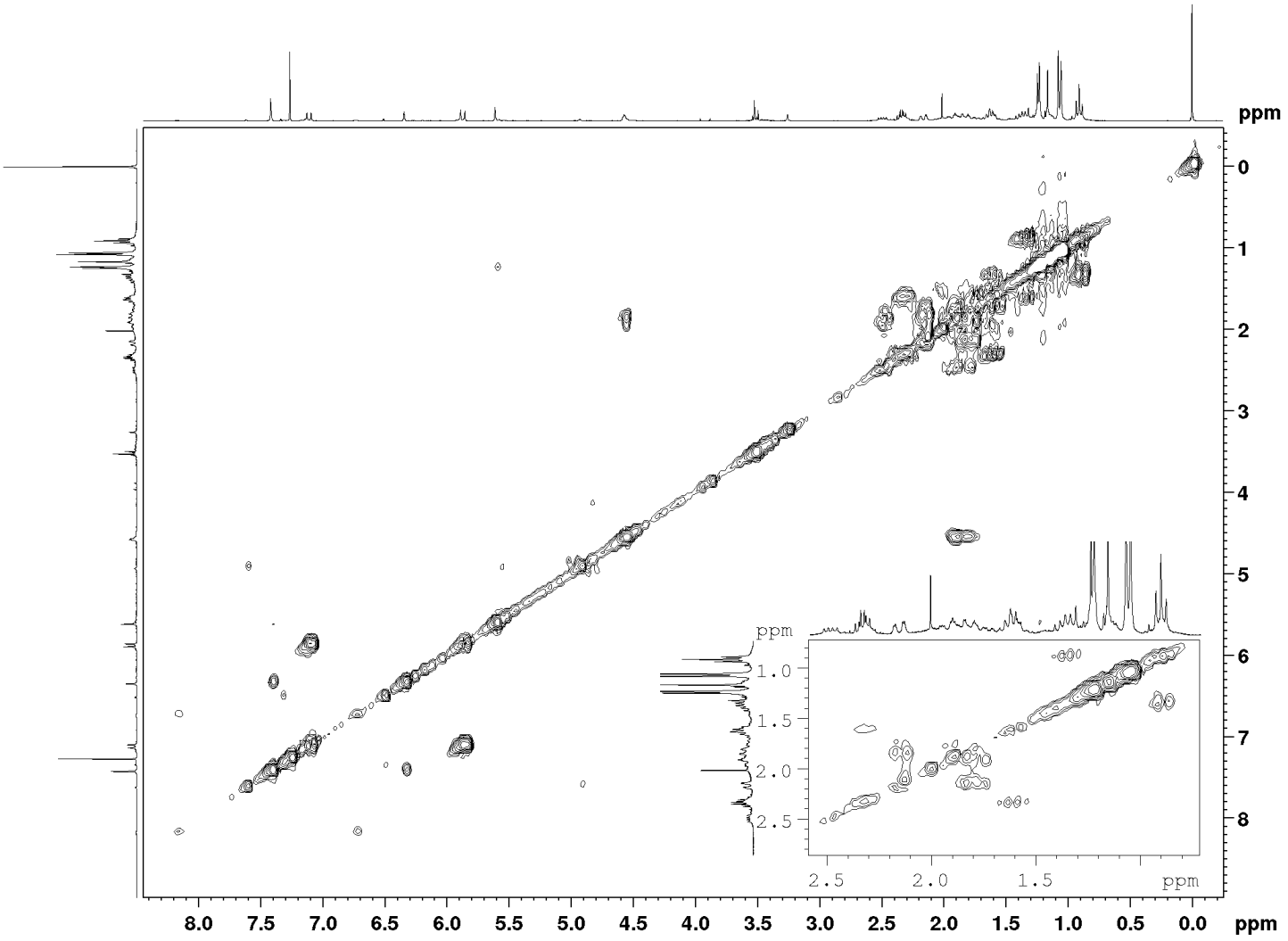
F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180321
Time              16.31
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept90
TD                65536
SOLVENT           CDCl3
NS                 3328
DS                    4
SWH           24414.062 Hz
FIDRES         0.372529 Hz
AQ            1.3421773 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               294.9 K
CNST2        145.0000000
D1            2.00000000 sec
D2            0.00344828 sec
D12           0.00002000 sec
D14           0.00001114 sec
D33           0.00000825 sec
D34           0.00344053 sec
D35           0.00345753 sec
L4                   40
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928978 MHz
NUC1              13C
P1                8.75 usec
P2               17.50 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2              1H
CPDPRG[2        waltz16
P3                8.25 usec
P4               16.50 usec
PCPD2            90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.16806000 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                EM
SSB       0
LB                1.00 Hz
GB        0
PC                1.40
```

ANEXO 113. Espectro de DEPT 90º do 9.2.3.






```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBP-182B
EXPNO                  100
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180322
Time                8.08
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG         cosygpqf
TD                  2048
SOLVENT             CDCl3
NS                    64
DS                    16
SWH              6103.516 Hz
FIDRES           2.980232 Hz
AQ               0.1677722 sec
RG                58.8139
DW                 81.920 usec
DE                 10.00 usec
TE                 295.8 K
D0               0.00000300 sec
D1               1.00000000 sec
D13              0.00000400 sec
D16              0.00020000 sec
IN0              0.00016380 sec

-------- CHANNEL f1 --------
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P0                   7.64 usec
P1                   7.64 usec
PLW1         20.00000000 W

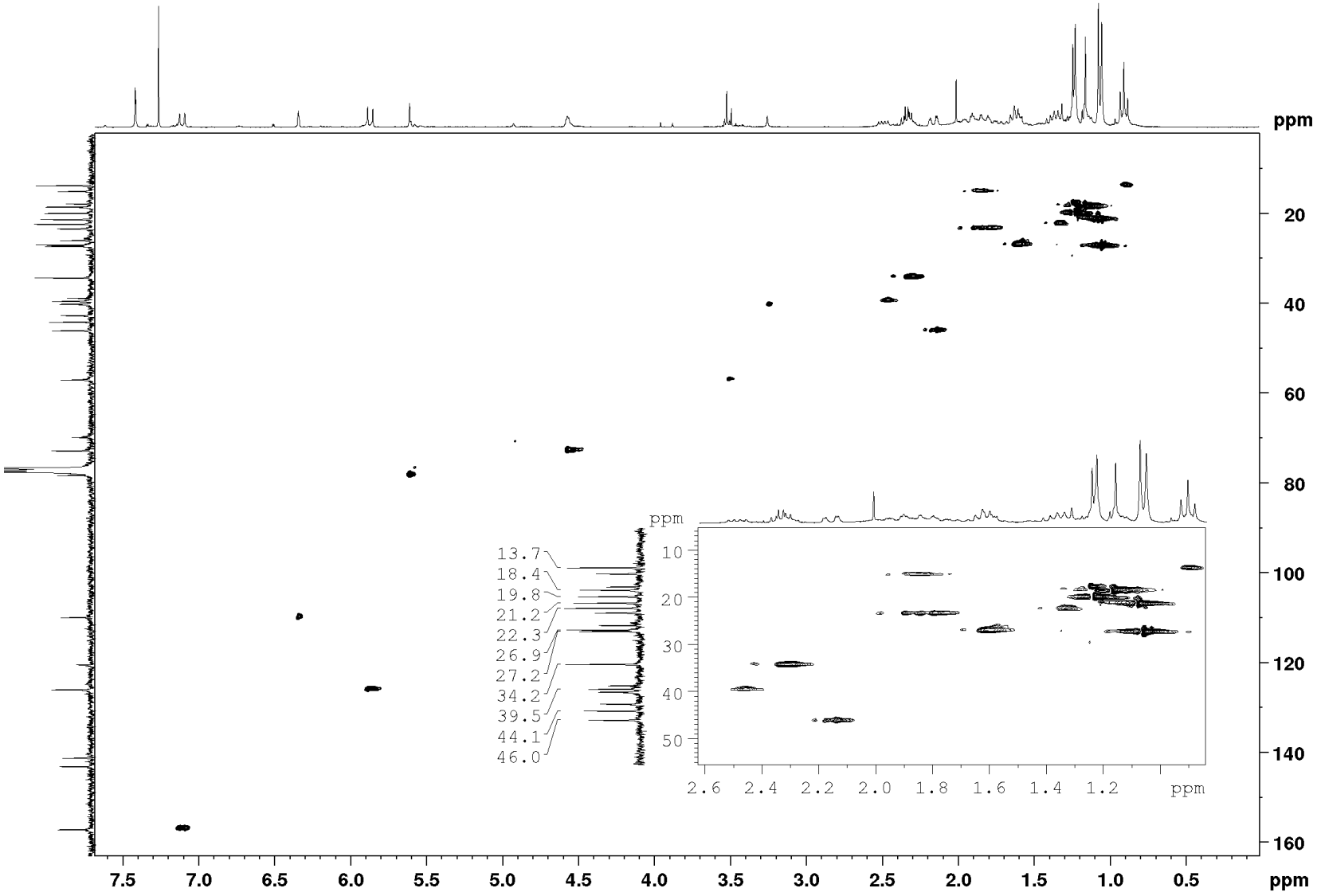
------ GRADIENT CHANNEL -----
GPNAM[1]         SINE.100
GPZ1                10.00 %
P16               1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                    256
SFO1              300.202 MHz
FIDRES          47.695362 Hz
SW                20.336 ppm
FnMODE                  QF

F2 - Processing parameters
SI                    2048
SF            300.2000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
PC                    1.40

F1 - Processing parameters
SI                     512
MC2                     QF
SF            300.2000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB       0
LB        0 Hz
GB        0
```

ANEXO 114. Espectro de COSY ^{1}H-^{1}H do 9.2.3.






```
Current Data Parameters
NAME      Tiago18_4TBF-182B
EXPNO                  200
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20180321
Time                19.40
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG       hsqcedpph
TD                  2048
SOLVENT             CDCl3
NS                   146
DS                    16
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          2.980232 Hz
AQ              0.1677722 sec
RG                501.187
DW                 81.920 usec
DE                 10.00 usec
TE                296.0 K
CNST2          145.0000000
D0             0.00000300 sec
D1             1.00000000 sec
D4             0.00172414 sec
D11            0.03000000 sec
D13            0.00000400 sec
D16            0.00020000 sec
D21            0.00344828 sec
D31            0.00000764 sec
D32            0.00001528 sec
D33            0.00000930 sec
D34            0.00001860 sec
D36            0.00100000 sec
D38            0.00001745 sec
D41            0.00000166 sec
D42            0.00000332 sec
D43            0.00002128 sec
D44            0.00224428 sec
D45            0.00051614 sec
IN0            0.00003490 sec
L4                     19
P35                75.00 usec

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                  1H
P1                 7.64 usec
P2                15.28 usec
PLW1          20.00000000 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          75.4921437 MHz
NUC2                 13c
CPDPRG[2             garp
P3                 9.50 usec
P4                18.60 usec
PCPD2             75.00 usec
PLW2          50.00000000 W
PLW12          0.80352998 W

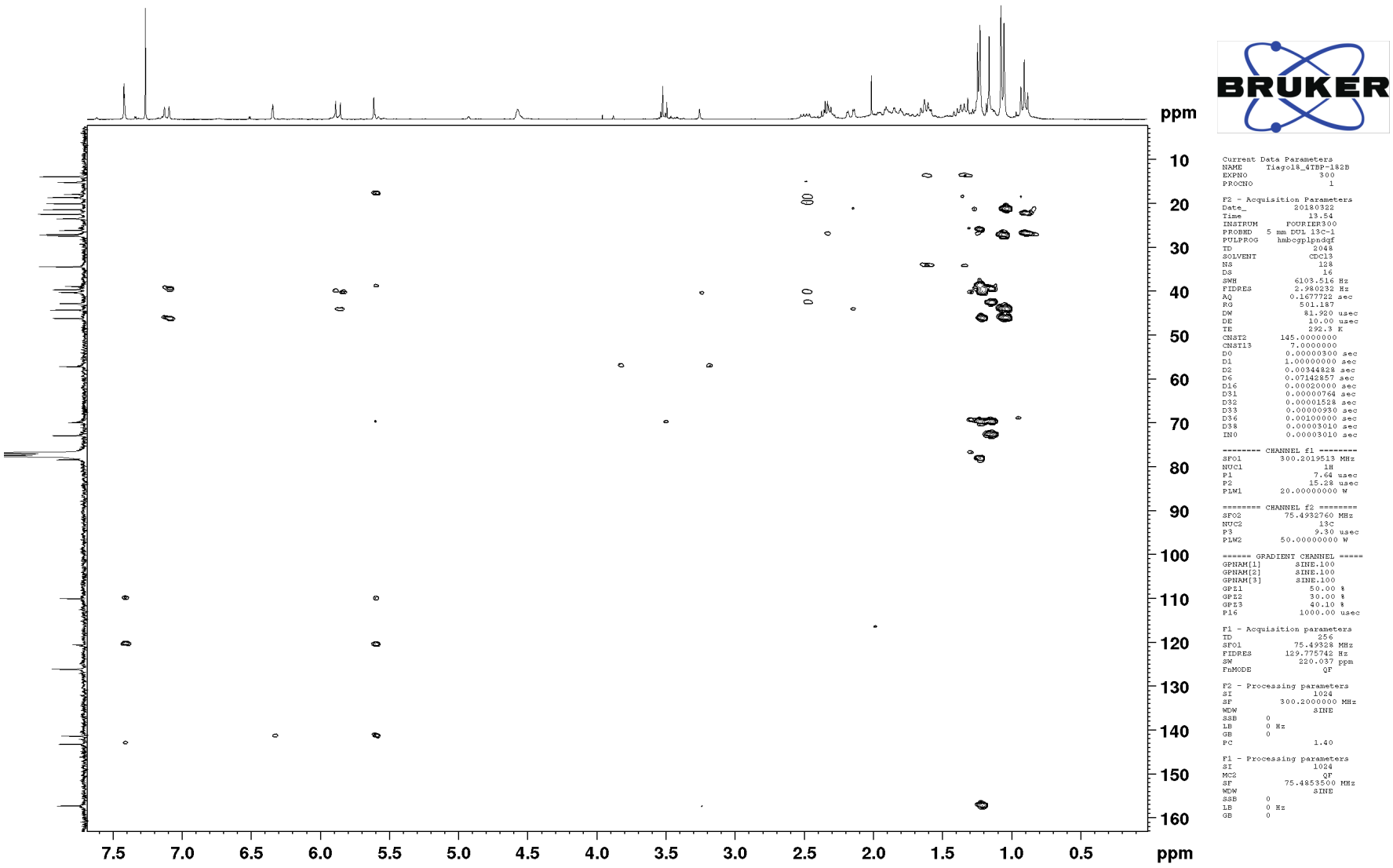
====== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM[1]           RECT.1
GPNAM[2]           RECT.1
GPNAM[3]           RECT.1
GPZ1               30.00 %
GPZ2               80.00 %
GPZ3               20.10 %
P16              1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
TD                    256
SFO1          75.49214 MHz
FIDRES        111.926933 Hz
SW               189.777 ppm
FnMODE              TPPI

F2 - Processing parameters
SI                   2048
SF            300.2000000 MHz
WDW                 QSINE
SSB                     2
LB          0 Hz
GB          0
PC                   1.40

F1 - Processing parameters
SI                   2048
MC2                 TPPI
SF            75.4853500 MHz
WDW                 QSINE
SSB                     2
LB          0 Hz
GB          0
```

ANEXO 115. Espectro de HSQC do 9.2.3.



ANEXO 116. Espectro de HMBC do 9.2.3.