

Fernando Passareli

**Estudo de estirilpironas de *Cryptocarya mandioccana* por
espectrometria de massas e análise configuracional por
ressonância magnética nuclear e dicroísmo circular**

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos necessários para obtenção do
título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro

**Araraquara
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA

P286e Passareli, Fernando
Estudo de estirilpironas de *Cryptocarya mandioccana*
por espectrometria de massas e análise configuracional por
ressonância magnética nuclear e dicroísmo circular /
Fernando Passareli. – Araraquara : [s.n], 2014
238 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Alberto José Cavalheiro


1. Produtos naturais. 2. Espectrometria de massa.
3. Ressonância magnética nuclear. 4. Esterificação.
5. Dicroísmo circular. I. Título.

FERNANDO PASSARELI

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 24 de outubro de 2014.

BANCA EXAMINADORA




Prof. Dr. Alberto José Cavaleiro (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Profª Drª Angela Regina Araujo
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Profª Drª Isabele Rodrigues Nascimento
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Daniel Rinaldo
Faculdade de Ciências – UNESP, Bauru



Prof. Dr. Edson Rodrigues Filho
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – UFSCar, São Carlos

CURRÍCULO

FERNANDO PASSARELI

Dados Pessoais

Filiação: Nelson Passareli e Izaura Aparecida Alamino Passareli

Nascimento: 18/10/1983 - Ribeirão Bonito - SP - Brasil

Endereço profissional Universidade Federal de São Carlos
Depto de Eng. de Materiais - DEMa
Rodovia Washington Luís, km 235 - SP-310 - São Carlos.
CEP: 13565-905, SP - Brasil
Telefone: 16 33518791

Endereço eletrônico

e-mail para contato: ferpassareli@yahoo.com.br

e-mail alternativo: fpassareli@ufscar.br

Formação Acadêmica/Titulação

Doutor em Química, área de concentração Química Orgânica (Produtos Naturais).

Instituto de Química de Araraquara UNESP

Título: Estudo de estirilpironas de *Cryptocarya mandioccana* por espectrometria de massas e análise configuracional por ressonância magnética nuclear e dicroísmo circular.

Orientador: Alberto José Cavalheiro

Início: março de 2010; conclusão: outubro 2014.

Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica (Produtos Naturais).

Instituto de Química de Araraquara UNESP

Título: Preparação e caracterização de casearinas de *Casearia sylvestris* como padrões fitoquímicos

Orientador: Alberto José Cavalheiro

Bolsista da: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

Início: março de 2008; conclusão: março 2010.

Graduação em Licenciatura em Química.

Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista

Início: 2009; término: 2012

Graduação em Química (Bacharelado em Química Tecnológica),

Instituto de Química de Araraquara UNESP, Brasil.

Título: Relatório De Estágio Supervisionado Realizado Na Empresa Anidro Do Brasil Extrações Ltda. - Centroflora

Orientadora: Maria Lucia Gonsales da Costa Araujo

Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Início: 2003; término: 2006

Formação complementar

- 2014 - 2014** Extensão universitária em Curso de Formação em Tutoria Virtual.
Universidade Federal de São Carlos, UFSCAR, São Carlos, Brasil.
- 2011 - 2011** Extensão universitária em Aperfeiçoamento em Tecnologia de Plásticos.
Universidade Federal de São Carlos, UFSCAR, São Carlos, Brasil.
- 2010 - 2010** A. I. da Q. em L. s. Norma NBR ISO/IEC 17025:2005.
Rede Metrológica do Estado de São Paulo, REMESP, São Paulo, Brasil.
- 2010 - 2010** Interpretação da Norma NBR ISO/IEC 17025:2005.
Rede Metrológica do Estado de São Paulo, REMESP, São Paulo, Brasil.
- 2007 - 2007** Extensão universitária em Implantação de Sistemas de Gestão da Qualidade.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil.
- 2007 - 2007** Extensão universitária em Sistema de Gestão da Qualidade.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil.
- 2007 - 2007** Extensão universitária em Ferramentas para a Melhoria da Qualidade.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil.
- 2007 - 2007** Extensão universitária em Estatística Básica Aplicada.
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil.

Experiência Profissional

1. Anidro do Brasil Extrações Ltda. - CENTROFLORA - 2006/2007

Estagiário no controle de qualidade
Analista do controle de qualidade júnior

2. RLC Indústria e Comércio de Produtos Químicos Ltda. - RLC QUÍMICA

Analista no controle de qualidade

3. Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR - 2010 - Atual

Químico

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. PASSARELI, Fernando, ARAUJO, M. L. G. C.
Comparação Do Desempenho Dos Processos Em Batelada E Batelada Alimentada De Produção de Ácido Clavulânico Por *Streptomyces clavuligerus* ATCC 27064 em Meio Semi-Sintético In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA
VI COBEQ IC. 2005, Campinas.

2. ARAUJO, M. L. G. C., PASSARELI, Fernando, REIS, F. N. D., HERNANDEZ, I. L. C. Melhoria do processo em batelada alimentada de produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus* ATCC 27064 utilizando meio suplementar sintético In: XV SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, SINAFERM - XV SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS. 2005, Recife

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. PASSARELI, Fernando, BATISTA, A. N. L., CAVALHEIRO, A. J.
Assignment of the absolute configuration of two styrylpyrones from *Cryptocarya mandioccana* by ¹H NMR, 2013. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)
III International Symposium on Drug Discovery, 2013, Araraquara
2. PASSARELI, Fernando, BATISTA, A. N. L., VESSECCHI, R., CAVALHEIRO, A. J.
Estudo do mecanismo de fragmentação de estirilpironas de *Cryptocarya mandioccana* por IES-EM/EM.
35 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2012, Águas de Lindóia
3. PASSARELI, Fernando, BATISTA, A. N. L., CAVALHEIRO, A. J.
Desenvolvimento de método para purificação de casearina U e J de *Casearia silvestres* em CLAE preparativo C-18.
17 Encontro da SBQ-Regional Interior Paulista Waldemar Saffioti, 2009, Araraquara.
4. PASSARELI, Fernando, BATISTA, A. N. L., CAVALHEIRO, A. J.
Otimização de condições preparativas em CLAE-C18 para purificação de casearinas de *Casearia sylvestris*,
32 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza.
5. PASSARELI, Fernando, BATISTA, A. N. L., BOLZANI, V. S., CAVALHEIRO, A. J.
Purification of casearins U and J by preparative HPLC in recycle mode,
2nd Brazilian Conference on Natural Products (BCNP) and XXVII RESEM, 2009, São Pedro
6. PASSARELI, Fernando, ARAUJO, M. L. G. C.
Processos de produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus* ATCC 27064
In: XVIII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA,
XVIII CIC - UNESP. 2006, Bauru.
7. PASSARELI, Fernando, ARAUJO, M. L. G. C.
Produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus* ATCC 27064 em meios contendo precursores In: XVII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA,
XVII CIC - Congresso de Iniciação Científica - UNESP. 2005, Araraquara.
8. REIS, F. N. D., ARAUJO, M. L. G. C., PASSARELI, Fernando, HOKKA, C. O., HERNANDEZ, I. L. C.
Melhoria do processo em batelada alimentada de produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus* ATCC 27064 utilizando meio suplementar sintético, 2005.
9. PASSARELI, Fernando, ARAUJO, M. L. G. C.
Produção de ácido clavulânico por *Streptomyces clavuligerus* ATCC 27064 em meios contendo precursores, 2005.

Eventos

Participação em eventos

1. VI Simpósio e VI Reunião de Avaliação do Programa Biota/FAPESP, 2008. (Simpósio)
2. III Workshop do NuBBE - Conservação e Uso Sustentável da Diversidade de Plantas Do Cerrado e Mata Atlântica: Diversidade Química e Prospecção de Bioprodutos, 2008. (Outra)

Organização de evento

38 Semana da Química do Instituto de Química da UNESP, 2008.

Aos meus pais, Nelson (*in memoriam*) e Izaura
pelos ensinamentos, companheirismo e apoio
em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Alberto José Cavalheiro pela orientação incondicional e amizade.

Aos professores e funcionários do Instituto de Química que sempre estiveram à disposição para tirar dúvidas, esclarecimentos.

Aos professores, funcionários, alunos do Departamento de Química Orgânica, pelos ensinamentos, convivência e amizade.

Ao Dr. Nivaldo Borale pelos experimentos de ressonância magnética nuclear e aos momentos de sofrimento no Estádio da Fonte Luminosa vendo a Ferrinha jogar.

À Dra Silvia Helena Santagneli e Dra. Lucinéia Vizzotto Marconcini do laboratório de RMN.

Ao Químico João Luiz Bronzel Junior e à Dra. Juliana Rodrigues pelo apoio nos laboratórios do NuBBE.

Ao prof. Dr. Norberto Peporine Lopes, prof. Dr. Ricardo Vessecchi Lourenço, ao Químico José Carlos Tomaz da USP Ribeirão Preto pelos experimentos de massas e auxílio nas interpretações dos resultados, cálculos computacionais.

Ao laboratório de espectrometria de massas do IQ-UNESP também pelos experimentos de massas.

Aos colegas de laboratório do Depto de Química Orgânica e do NuBBE

À CAPES pelo primeiro ano de bolsa de doutorado. Ao CNPq, CAPES e FAPESP pelo apoio financeiro ao grupo de pesquisa.

Ao Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, NuBBE, do Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química de Araraquara- UNESP.

Tudo que é novo é apenas possível através de uma renúncia.

Bert Hellinger

O que nos faz seguir na direção certa é nossa alma, que no fundo sabe o que é importante e o que nos faz bem.

RESUMO

Levando em consideração a diversidade química das estirilpironas isoladas de *Cryptocarya mandioccana*, este trabalho teve por objetivo estudar o mecanismo de fragmentação de 6 dessas substâncias por ESI-MS/MS e por GC-EI-MS e também determinar a configuração absoluta dos centros metínicos hidroxilados e do centro C6 do anel pirônico. Foram isoladas seis estirilpironas polihidroxiladas: desacetilcriptocarialactona (**1**), criptomoscatoa D1 (**2**), criptomoscatoa E2 (**3**), criptomoscatoa E1 (**4**), criptomoscatoa E3 (**5**) e criptomoscatoa F1 (**6**). As análises por ESI-MS/MS e os cálculos teóricos indicaram que em fase gasosa os sítios de protonação e cationização das estirilpironas ocorrem no oxigênio carbonílico, similarmente aos anéis lactônicos descritos na literatura. O mecanismo de fragmentação proposto para as estirilpironas cationizadas com Na^+ é comum a todas, apresentando perda neutra de $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$ $[\text{M}+\text{Na}-148]^+$ e as substâncias tri-hidroxiladas sofreram uma segunda fragmentação com perda neutra de acetaldeído $[\text{M}+\text{Na}-148-44]^+$. Nos espectros de massas de íons totais não é observado o íon referente às moléculas protonadas $[\text{M}+\text{H}]^+$, mas sim o íon $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ referente à perda de água, portanto uma dissociação na fonte. Assim como para a espécie cationizada, este íon foi submetido à CID e no espectro MS/MS é observado novas eliminações de água referentes as perdas das demais hidroxilas, íons $[\text{M}+\text{H}-n\text{H}_2\text{O}]^+$, e posteriormente abertura do anel pirônico e eliminação de mais uma molécula de água, seguida de CO $[\text{M}+\text{H}-n\text{H}_2\text{O}-\text{CO}]^+$. A derivação das estirilpironas com MSTFA permitiu analisá-las por CG-MS, porém em quase todos os casos não foi possível detectar o íon molecular. O pico base sempre é referente ao cátion de TMS (m/z 73), comum para substâncias derivadas com este reagente, enquanto que os outros íons fragmentos são resultantes da clivagem homolítica β em relação ao(s) oxigênio(s) ligado(s) ao(s) TMS (m/z 205 e 213). Nas estirilpironas sem ligação dupla entre C1' e C2' observa-se também o íon fragmento m/z 97 resultante da quebra da ligação C6-C1', que também pode ser interpretada como uma clivagem homolítica β em relação heteroátomo. Em relação às análises configuracionais, foi determinada a configuração absoluta de todos os centros metínicos hidroxilados das seis estirilpironas por RMN com o auxílio do agente de derivação quiral MPA. O centro C6 do anel pirônico foi assinalado após abertura do anel pirônico por hidrólise básica seguida da reação de derivação com os MPAs e também por dicroísmo circular eletrônico. A configuração foi assinalada como: (6*S*,1'*R*)-desacetilcriptocarialactona (**1**), (6*S*,2'*S*,4'*R*)-criptomoscatoa D1 (**2**), (6*R*,4'*S*,6'*R*)-criptomoscatoa E2 (**3**), (6*R*,4'*R*,6'*R*)-criptomoscatoa E1 (**4**), (6*R*,2'*R*,4'*R*,6'*R*)-criptomoscatoa E3 (**5**) e (6*R*,4'*S*,6'*R*,8'*R*)-criptomoscatoa F1 (**6**). Diferentemente dos dados descritos na literatura, que indicam configuração *R* em C6, neste estudo verificou-se a ocorrência de estirilpironas com configuração *R* e *S* em C6, indicando ausência de estereosseletividade no fechamento do anel pirônico durante a biossíntese dessas substâncias. Desta forma, neste trabalho foi desenvolvida uma nova metodologia para análise de estirilpironas de *C. mandioccana* por ESI-MS/MS visando a identificação rápida destes compostos em extratos brutos, além da possibilidade de analisá-las, após derivação com MSTFA, por GC-MS. A configuração absoluta dessas substâncias foi determinada por RMN.

Palavras-chave: *Cryptocarya mandioccana*. estirilpirona. ionização por eletrospray. CID. análise configuracional. MPA. RMN.

ABSTRACT

Taking into account the chemical diversity of styrylpyrones isolated from *Cryptocarya mandioccana*, this work aimed to study the mechanism of fragmentation of six compounds belonging to this class by means of ESI-MS/MS and GC-EI-MS analysis and also to assign the absolute configuration of hydroxylated methinic centers and that at C6 in the pyrone ring. Six styrylpyrones poli-hydroxylated: desacetylcriptocaryalactone (**1**), cryptomoscatone D1 (**2**), cryptomoscatone E2 (**3**), cryptomoscatone E1 (**4**), cryptomoscatone E3 (**5**), e cryptomoscatone F1 (**6**) were isolated. Analysis by ESI-MS/MS and data from theoretical calculations in gas phase suggest the carbonyl oxygen as protonation and cationization site of the styrylpyrones, which is in accordance to data reported for the lactone rings. The fragmentation mechanism proposed for cationized styrylpyrones with Na⁺ is common to compounds **1-6**, with loss of neutral C₁₀H₁₂O [M+Na-148]⁺. Tri-hydroxylated substances showed a second fragmentation with loss of an acetaldehyde unit [M+Na-148-44]⁺. Although it was not possible to observe the protonated molecule ions [M+H]⁺ in the MS total ion spectrum, the ion [M+H-H₂O]⁺ referring to water loss was observed, which indicates in-source dissociation. As for the cationized species, this ion was subjected to CID process and the MS/MS spectrum showed an additional water loss related to a second hydroxyl group, ions [M+H-nH₂O]⁺. It was then followed by pyrone ring-opening and eliminations of a water molecule and CO [M+H-nH₂O-CO]⁺. Derivatization of the styrylpyrones with MSTFA was conducted to allow the analysis by GC-MS. On the mass spectra, in almost all cases, it was not possible to detect the molecular ion, and the base peak was always related to cation TMS (*m/z* 73). This ion is common for substances derived with this reagent, while the others ions are fragments resulting from the homolytic β cleavage with respect to oxygen bonded to TMS (*m/z* 205 and 213). In the styrylpyrones without the double bond 1'-2' it was also observed the fragment ion *m/z* 97 resulting from the breakdown of C6-C1' bond that can be interpreted as a homolytic β cleavage in relation to the heteroatom. The absolute configuration of all hydroxylated methinic stereocenters of the six styrylpyrones was determined by NMR with the assistance of the chiral derivatization agent MPA. The absolute configuration at C6 was assigned after opening of the pyrone ring under basic conditions followed by reaction with MPAs as well as by electronic circular dichroism. The absolute configurations were assignment as follows: (6*S*,1'*R*)-desacetylcriptocaryalactone (**1**), (6*S*,2'*S*,4'*R*)-cryptomoscatone D1 (**2**), (6*R*,4'*S*,6'*R*)-cryptomoscatone E2 (**3**), (6*R*,4'*R*,6'*R*)-cryptomoscatone E1 (**4**), (6*R*,2'*R*,4'*R*,6'*R*)-cryptomoscatone E3 (**5**) e (6*R*,4'*S*,6'*R*,8'*R*)-cryptomoscatone F1 (**6**). In contrast to previously reported data, which indicated *R* configuration at C6, this study demonstrated the occurrence of styrylpyrones with both *R* and *S* configuration at C6, indicating absence of stereo-selectivity in the pyrone ring closure step during the biosynthesis of these substances. Thereby, in this work we developed a new methodology for analysis of styrylpyrones from the *C. mandioccana* by ESI-MS/MS for the rapid identification of these compounds in crude extracts, and the possibility of analyze them after derivatization with MSTFA by GC-MS. The absolute configuration of these compounds was assigned by NMR.

Key-words: *Cryptocarya mandioccana*. styrylpyrone. electrospray ionization. CID. configurational analysis. MPA. NMR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estirilpironas isoladas de <i>C. mandioccana</i>	21
Figura 2 - Estirilpironas e pironas isoladas de <i>C. moschata</i>	21
Figura 3 - Estirilpirona isolada de <i>C. kurzii</i>	22
Figura 4 - Estirilpironas isoladas de <i>C. strictifolia</i>	22
Figura 5 - Estirilpirona isolada de <i>C. obovata</i>	22
Figura 6 - Estirilpirona isolada de <i>C. maclurei</i>	23
Figura 7 - Estirilpirona Isolada de <i>C. rugulosa</i>	23
Figura 8 - Proposta biossintética da psilotina a partir da fenilalanina. representa ¹³ C.....	24
Figura 9 - Biogênese de estirilpironas obtidas de espécies de <i>Cryptocarya</i> . [] indica suposta cadeia policetídica inicial. Em preto, identificada de <i>C. moschata</i> . Em vermelho e azul de <i>C. mandioccana</i> . 4.1 de <i>C. maclurei</i> e <i>C. rugulosa</i> . Em rosa obtida de <i>C. moschata</i> e <i>C. mandioccana</i> . Em verde: 6 e 5.1 de <i>C. kurzii</i> , 6.1 de <i>C. concinna</i> , <i>C. rubra</i> , <i>C. rugulosa</i> 6.2 de <i>C. rugulosa</i> , 12.3 de <i>C. strictifolia</i> e <i>C. mandioccana</i> . 12.4 de <i>C. libertiana</i> 14.1 e 14.2 de <i>C. Obovata</i> . 7.1, 12.1 e 12.2 foram obtidas do extrato N29449 de espécie não relada. 2.1 e 2.2 são artefatos formados a partir da dimerização de 2. Não estão consideradas as estirilpironas diastereoisoméricas. ...	26
Figura 10 - Estrutura de alguns dos principais agentes de derivação quiral.	30
Figura 11 - Modelo para demonstrar a posição dos ligantes.	30
Figura 12 - Estados conformacionais de menor energia do esteres de MTPA e MPA.	31
Figura 13 - Modelo para determinação da configuração de álcool secundário monohidroxilado.	32
Figura 14 - Modelo para determinação da configuração absoluta de alcoóis secundários dihidroxilados através de ésteres bis MPA.	33
Figura 15 - Substância Goniotalamina.	34
Figura 16 - Estirilpironas selecionadas para estudos de fragmentação por ESI-MS/MS e de configuração absoluta. Nas estruturas abaixo, está indicada a configuração relativa para os carbonos hidroxilados e a absoluta, determinada por CD, para o C6 do anel pirônico.	36
Figura 17 - Fluxograma da metodologia experimental de isolamento das estirilpironas.....	40
Figura 18 - Planejamento para análise configuracional da estirilpirona desacetilcriptocarialactona (1).	44
Figura 19 - Planejamento para análise configuracional da estirilpirona criptomoscatoa D1 (2).	45
Figura 20 - Planejamento para análise configuracional das estirilpironas criptomoscatoa E2 (3) e criptomoscatoa E1 (4).	45
Figura 21 - Planejamento para análise configuracional da estirilpirona criptomoscatoa E3 (5).	46
Figura 22 - Planejamento para análise configuracional da estirilpirona criptomoscatoa F1 (6)	46
Figura 23 - Cromatogramas em CLAE-DAD analítico, modo reverso (C-18), registrados em 254 nm, das frações do extrato etanólico obtidas por ELL.....	48
Figura 24 - Cromatogramas das frações da CC da fração F8, obtidos em CLAE-DAD fase reversa C-18 e registrados em 254 nm. Flavonóides, Estirilpironas.....	51
Figura 25 - Cromatogramas da fração F6 no modo analítico isocrático e preparativo para isolamento das substâncias 1, 2, 3 e 4 e cromatogramas analíticos após purificação no modo gradiente, registrado em 254 nm.....	52
Figura 26 - Cromatograma preparativo para isolamento das estirilpironas 5 e 6 e cromatogramas analítico após purificação no modo gradiente, registrado em 254 nm.	53

Figura 27 - Espectro de massas em alta resolução da estirilpirona 2 obtido no equipamento microTOF QII.	55
Figura 28 - Espectro MS/MS da espécie $[M+H-H_2O]$ da estirilpirona desacetilcriptocarialactona (1) obtido no equipamento <i>Ion Trap</i>	55
Figura 29 - Proposta do mecanismo de fragmentação das estirilpironas após eliminação de H_2O	56
Figura 30 - Mapa do potencial eletrostático molecular (MEP) para as cinco estirilpironas 1 , 2 , 3 , 5 e 6 . Regiões vermelhas são mais nucleofílicas.	57
Figura 31 - Confôrmeros mais estáveis para a interação entre Na^+ e 1 obtidos pelo modelo B3LYP/6-31+G (d,p). Todos os valores são energias de Gibbs relativas, em $kcal.mol^{-1}$	57
Figura 32 - Intensidade relativa das espécies iônicas em função da energia de colisão aplicada sobre as estirilpironas cationizada com sódio: $[3+Na]^+$, $[6+Na]^+$, $[5+Na]^+$ e $[2+Na]^+$	58
Figura 33 - Proposta do mecanismo de fragmentação das estirilpironas cationizadas com sódio $[M+Na]^+$	59
Figura 34 - Análise das estirilpironas derivadas por GC-MS.	61
Figura 35 - Proposta do mecanismo de fragmentação das estirilpironas após reação de silição analisadas por CG-MS com ionização por EI.	62
Figura 36 - Espectros de RMN de 1H da estirilpirona 1 após esterificação com <i>-(R)</i> MPA (acima) e <i>(S)</i> MPA (abaixo), obtido em 600 MHz, em $CDCl_3$	63
Figura 37 - Conformação dos acetônídeos com configuração <i>syn</i> e <i>anti</i>	64
Figura 38 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona 2 após reação de formação de acetônídeo obtido em 75 MHz, em $CDCl_3$	65
Figura 39 - Espectros de RMN de ^{13}C da estirilpirona 3 e 4 após reação de formação de acetônídeo, obtido em 75 MHz, em $CDCl_3$, respectivamente.	65
Figura 40 - Espectros de RMN de 1H da estirilpirona 2 após esterificação com <i>(R)</i> e <i>(S)</i> MPA, obtidos em 600 MHz, em $CDCl_3$	66
Figura 41 - Ampliação dos espectros de RMN de 1H da estirilpirona 3 após esterificação com <i>(R)</i> e <i>(S)</i> MPA, obtidos em 600 MHz, em $CDCl_3$	67
Figura 42 - Espectros de RMN de 1H da estirilpirona 4 após esterificação com <i>(R)</i> e <i>(S)</i> MPA, obtidos em 600 MHz, em $CDCl_3$	68
Figura 43 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona 5 com proteção das hidroxilas 4' e 6', obtidos em 75 MHz, em $CDCl_3$	69
Figura 44 - Espectros de RMN de 1H da estirilpirona 5 com proteção das hidroxilas 4' e 6' - <i>(R)</i> e <i>(S)</i> MPA, obtidos em 600 MHz, em $CDCl_3$	69
Figura 45 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona 5 com proteção das hidroxilas 2' e 4', obtido em 75 MHz, em $CDCl_3$	70
Figura 46 - Espectros de RMN de 1H da estirilpirona 5 com proteção das hidroxilas 2', 4' e derivação com <i>(R)</i> e <i>(S)</i> MPA, obtidos em 600 MHz, em $CDCl_3$	71
Figura 47 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona 6 com proteção das hidroxilas 6' e 8', obtido em 75 MHz, em $CDCl_3$	72
Figura 48 - Espectros de RMN de 1H da estirilpirona 6 com proteção das hidroxilas 6' e 8' e derivada com <i>(R)</i> e <i>(S)</i> MPA, obtidos em 600 MHz, em $CDCl_3$	72
Figura 49 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona 6 com proteção das hidroxilas 4' e 6', obtido em 75 MHz, em $CDCl_3$	73
Figura 50 - Espectros de RMN de 1H da estirilpirona 6 acetônídeo entre 4', 6' e derivada - <i>(R)</i> e <i>(S)</i> MPA, obtidos em 600 MHz, em $CDCl_3$	73
Figura 51 - Espectro de ^{13}C da estirilpirona 1 após reação de hidrólise e de formação do acetônídeo, obtidos em 75 MHz em $CDCl_3$	74

Figura 52 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona 1 após reação de hidrólise e esterificação com (<i>R</i>) e (<i>S</i>) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3	75
Figura 53 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona 2 após formação do acetonídeo seguida da reação de hidrólise e derivação com - (<i>R</i>) e (<i>S</i>) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3	78
Figura 54 - Espectros de RMN de ^1H da substância 4 após formação do acetonídeo seguida da reação de hidrólise e derivação com - (<i>R</i>) e (<i>S</i>) MPA, obtidos em 600 MHz CDCl_3	
Figura 55 - Espectros de RMN de ^1H da substância 3 após formação do acetonídeo seguida da reação de hidrólise e derivação com - (<i>R</i>) e (<i>S</i>) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3	79
Figura 56 - Espectros de dicroísmo circular eletrônica da substância criptomoscatoana E3 e após reação de formação dos acetonídeos, obtidos em metanol, concentração de $0,3 \text{ mg.mL}^{-1}$	80
Figura 57 - Espectro de dicroísmo circular eletrônica da substância criptomoscatoana F1 e após reação de formação dos acetonídeos, obtidos em metanol, concentração de $0,3 \text{ mg.mL}^{-1}$	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos solventes utilizados no fracionamento por EFS em sílica	41
Tabela 2 - Balanço de massa da EFS-Si e rendimento em porcentagem de cada fração.	49
Tabela 3 - Balanço de massa da cromatografia em coluna da fração F8 e rendimento em porcentagem de cada fração obtida.	50
Tabela 4 - Espécies cationizadas observadas nos espectros de ESI-MS das estirilpironas cationizadas.	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1-NMA - ácido α -1-naftil- α -metoxi acético
2,2-DMP - 2,2-dimetoxipropano
2-AMA - ácido α -2-antranil- α -metoxi acético
2-NMA - ácido α -2-naftil- α -metoxi acético
9-AMA - ácido α -9-antranil- α -metoxi acético
ACT - acetnídeo
AHA - α -(9-antranil)- α -hidroxíacetato de etila
CC - cromatografía em coluna de vidro
CCDC - cromatografía em camada delgada comparativa
CCDP - cromatografía em camada delgada preparativa
CD - dicroísmo circular eletrônico
CDA - agente de derivação quiral
CG - Cromatografía gasosa
CHS - chalcona sintase
CID - dissociação induzida na colisão
CLAE (HPLC) - cromatografía líquida de alta eficiência
COSY - *correlation spectroscopy*
d - dubleto
DAD - detetor de arranjo de diodos
DMAP - 4-dimetilaminopiridina
EDC - 1-etil-3-[3-(dimetilamino)propil] carbodiimida
EFS - extração em fase sólida
EI - ionização por impacto e elétrons
EP - estirilpirona
ESI - ionização por eletrospray
EtOH - etanol
FE - fase estacionária
FID - detetor de ionização de chamas
FM - fase móvel
HEX - hexano
HID - hidrólise
HMBC - *heteronuclear multiple bond coherence*
HSQC - *Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy*
LC-MS - cromatografía líquida acoplada à espectrometria de massas
MeOH - metanol
MEP - mapa eletrostático molecular
MPA - ácido α -metoxi- α -fenil acético
MS - espectrometria de massas
MSTFA - N-metil-N-(trimetilsil)-trifluoracetamida
MTPA - ácido α -metoxi- α -trifluorometil fenil acético
PKS - policetídeo sintase
PTBA - ácido α -terc-butoxi-fenil acético
q - quadrupletto
RMN - ressonância magnética nuclear
s- singleto
SPS - estirilpironas sintase
t - tripleto
TOCY - *totaly correlated spectroscopy*
trans-2-PCH - *trans*-2-fenil-ciclohexanol
UV - ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

$[\alpha]_D$ - rotação ótica específica

δ - deslocamento químico em ppm

$\Delta\epsilon$ - absortividade molar

$\Delta\delta$ - variação de deslocamento químico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	Estirilpironas de <i>Cryptocarya</i>	20
1.2	Biossíntese das estirilpironas	23
1.3	Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray (ESI-MS)	27
1.4	Análise configuracional por RMN	28
1.5	Análise configuracional de estirilpironas	33
2	OBJETIVOS	36
3	MATERIAIS	37
4	MÉTODOS	40
4.1	Preparação do extrato etanólico das folhas e extração líquido/líquido (ELL)	41
4.2	Extração em fase sólida (EFS) em sílica	41
4.3	Cromatografia em camada delgada comparativa e preparativa (CCDC, CCDP)	41
4.4	Cromatografia em coluna de baixa performance (CC)	42
4.5	Pré-tratamento das amostras para análise em CLAE-DAD	42
4.6	CLAE-DAD analítico	42
4.7	CLAE preparativo	42
4.8	Ionização por eletrospray e dissociação induzida por colisão	43
4.9	Derivação das estirilpironas com MSTFA para análise por CG-MS	43
4.10	Análise por cromatografia gasosa com detecção por FID e MS	44
4.11	Determinação da configuração absoluta das estirilpironas	44
4.11.1	Preparação dos ésteres de MPA de estirilpironas	46
4.11.2	Preparação do acetnídeo	47
4.11.3	Hidrólise do anel pirônico	47
4.11.4	Análise por dicroísmo circular eletrônico (CD)	47
5	RESULTADOS e DISCUSSÃO	48
5.1	Fracionamento do extrato etanólico e purificação das estirilpironas	48
5.2	Purificação das estirilpironas por CLAE preparativo	49
5.3	Estudo do Mecanismo de Fragmentação das Estirilpironas por Eletrospray (ESI)	54
5.3.1	Fragmentação das Estirilpironas Protonadas	54
5.3.2	Fragmentação das Estirilpironas Cationizadas com Sódio	56
5.4	Estudo do mecanismo de fragmentação das estirilpironas derivadas com MSTFA com ionização por elétrons (EI)	60
5.5	Análise configuracional das estirilpironas	63
5.5.1	Substância mono-hidroxilada - Estirilpirona 1	63
5.5.2	Substâncias di-hidroxiladas - Estirilpironas 2, 3 e 4	64
5.5.3	Substâncias tri-hidroxiladas - Estirilpironas 5 e 6	68

5.5.4	Análise Configuracional do Centro C6 do anel pirônico	74
6	CONCLUSÃO.....	81
	REFERÊNCIAS	83
	Anexos.....	90

1 INTRODUÇÃO

1.1 Estirilpironas de *Cryptocarya*

Estirilpironas é uma denominação dada às 5,6-diidro-2-pironas 6-substituídas, que são encontradas em diferentes espécies da família Lauraceae (*Cryptocarya*, *Aniba*), Annonaceae (*Goniothalamus*) e Piperaceae (*Piper*), para citar alguns exemplos (CAVALHEIRO; YOSHIDA, 2000).

As estirilpironas são uma importante classe de produtos naturais biologicamente ativos. Elas estão diretamente relacionadas às atividades antifúngica (RICARDO et al., 2004; JULIAWATY et al., 2000; TELASCREA, 2006), antiparasitária (FATIMA et al., 2006; SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 2000), tripanocida (SCHMEDA-HIRSCHMAN et al., 2000; DAVIS et al., 2010), inibidora do fator nuclear- κ B (NF- κ B) (MERAGELMAN et al., 2009) e citotóxica para várias linhagens de células tumorais (FU et al., 1993a e 1993b; DUMONTET et al., 2004; FÁTIMA et al., 2005; TELASCREA, 2006; STURGEON et al., 2008; GIOCONDO et al., 2009; GRKOVIC et al., 2011; FENG et al., 2013).

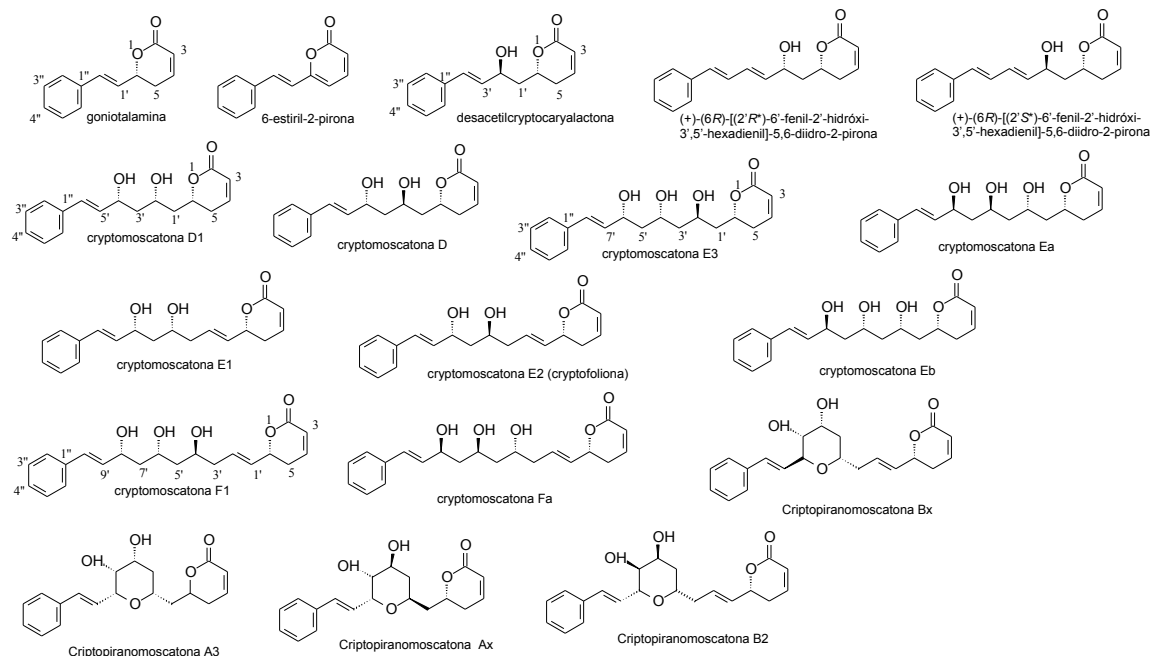
A característica estrutural mais marcante dessas 5,6-diidro-2-pironas 6-substituídas encontradas em *Cryptocarya* é a presença de um grupo estiril no final da cadeia lateral em C6, formados pela condensação de uma unidade cinamoila iniciadora (C6.C3) e várias unidades acetato (C2), resultando em diversos policetídeos homólogos (Figura 1) (CAVALHEIRO; YOSHIDA, 2000).

Além disso, a diversidade química dessa classe de metabólitos secundários se dá também pelo fato de muitas delas possuírem vários centros estereogênicos metínicos hidroxilados na cadeia lateral (1,3 dióis ou 1, 3, 5 trióis), com diferentes configurações absolutas, além do C6 do anel pirônico (Figura 1). Levando em consideração toda essa diversidade química e estrutural das estirilpironas, neste tópico é apresentada uma revisão sobre essa classe de metabólitos secundário encontrado em diferentes espécies de *Cryptocarya* e também algumas atividades biológicas relacionadas a essas substâncias.

Diferentes órgãos de *C. mandioccana* (ex *C. moschata*) foram estudados fitoquimicamente e apresentaram diversas estirilpironas (Figura 1) (CAVALHEIRO; YOSHIDA, 2000; TELASCREA, 2006). Algumas das substâncias foram submetidas ao bioensaio específico com linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*. A estirilpirona (+)-(6R)-[(2'S*)-6'-fenil-2'-hidroxi-3',5'-hexadienil]-5,6-diidro-2-pirona mostrou atividade

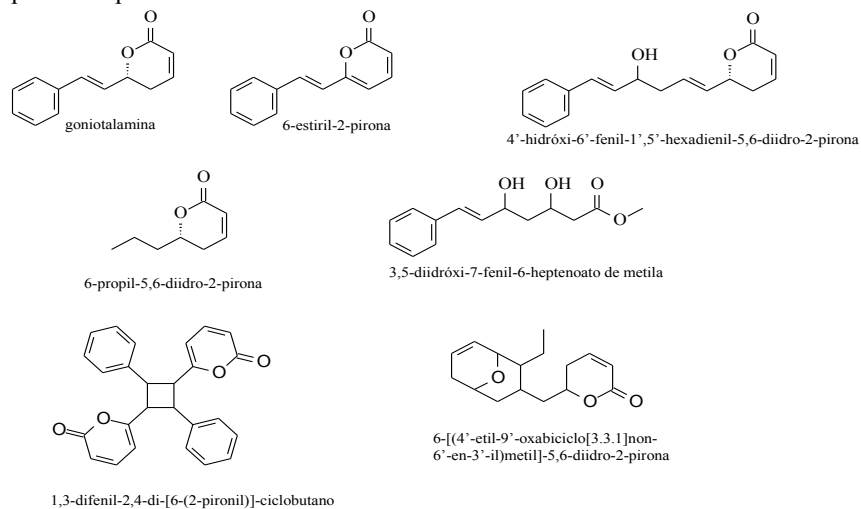
fraca, porém seletiva, inibindo o crescimento das linhagens Rad 6, Rad 52Y e RS 321N de *Saccharomyces cerevisiae* (PASCOLI, 2001).

Figura 1 - Estirilpironas isoladas de *C. mandioccana*.



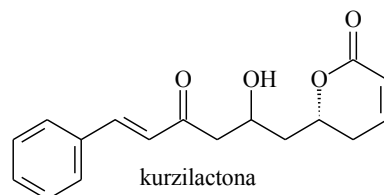
Do extrato etanólico das folhas de *C. moschata* foram isoladas 7 estirilpironas (Figura 2) que apresentaram atividades contra os fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum*. A goniotalamina apresentou ainda, significativa atividade contra as linhagens celulares UACC 62 (melanoma), MCF-7 (mama), 786-0 (renal), PC3 (próstata) e HT-29 (côlon) (TELASCREA, 2006).

Figura 2 - Estirilpironas e pironas isoladas de *C. moschata*.



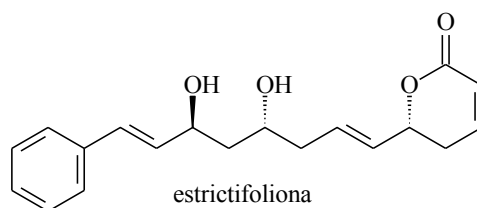
O fracionamento biomonitorado de extratos etanólicos das folhas de *C. kurzii* levou ao isolamento de uma δ -lactona- α,β -insaturada, a kurzilactona (Figura 3) (FU et al., 1993b).

Figura 3 - Estirilpirona isolada de *C. kurzii*.



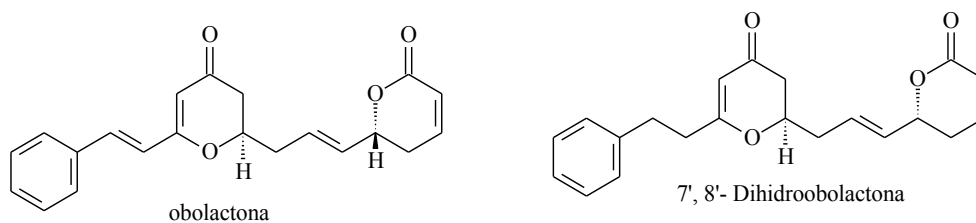
A estrictifoliona (Figura 4) foi isolada das cascas do tronco de *C. strictifolia* e de *C. mandioccana* (ex. *C. moschata*) (JULIAWATY et al., 2000; CAVALHEIRO; YOSHIDA, 2000).

Figura 4 - Estirilpironas isoladas de *C. strictifolia*.



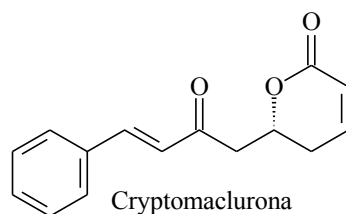
Dois δ -lactona- α,β -insaturada (Figura 5), a obolactona e a 7',8'-dihidroobolactona, foram isoladas do extrato etanólico das cascas do tronco de *C. obovata* (DUMONTET et al., 2004; DAVIS et al., 2010; CAMP, 2012).

Figura 5 - Estirilpirona isolada de *C. obovata*.



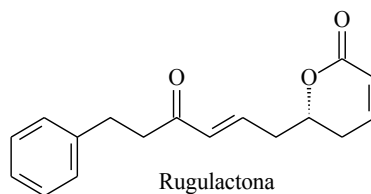
A partir dos estudos fitoquímicos com *C. maclurei*, foi isolada do extrato etanólico dos troncos a substância cryptomaclurona (Figura 6), a qual exibiu moderada citotoxicidade contra várias linhagens de células cancerígenas (FENG et al., 2013).

Figura 6 - Estirilpirona isolada de *C. maclurei*.



A rugulactona (Figura 7), foi isolada das folhas e galhos de *Cryptocarya rugulosa*, a qual apresentou atividade inibidora constitutiva do fator NF- κ B em células de linfoma humano (MERAGELMAN et al., 2009).

Figura 7 - Estirilpirona Isolada de *C. rugulosa*.



1.2 Biossíntese das estilipironas

Pode-se notar que as estilipironas encontradas em diferentes espécies de *Cryptocarya* apresentaram configuração absoluta *R* para o centro C6 do anel pirônico e os centros estereogênicos metínicos hidroxilados apresentaram diferentes configurações. Assim, uma compreensão da biossíntese dessas substâncias poderia auxiliar no entendimento da diversidade estrutural observada nessa classe de metabólitos secundários.

Conforme citado acima, a biossíntese dessa classe de substâncias pode ser formada pela condensação de uma unidade cinamoila iniciadora (C6.C3) e várias unidades acetato (C2), resultando em diversos policetídeos de biogênese mista (DEWICK, 1997).

Os policetídeos são uma classe extraordinária de metabólitos secundários, pois exibem uma enorme diversidade estrutural e funcional e constituem um grupo significativo de substâncias com importantes atividades biológicas. Os estudos com os policetídeos têm avançado enormemente, não somente nas pesquisas de elucidação estrutural dessas moléculas, mas também na clonagem, isolamento e caracterização das enzimas responsáveis por sua biossíntese (STAUNTON; WEISSMAN, 2001; CHAN et al., 2009).

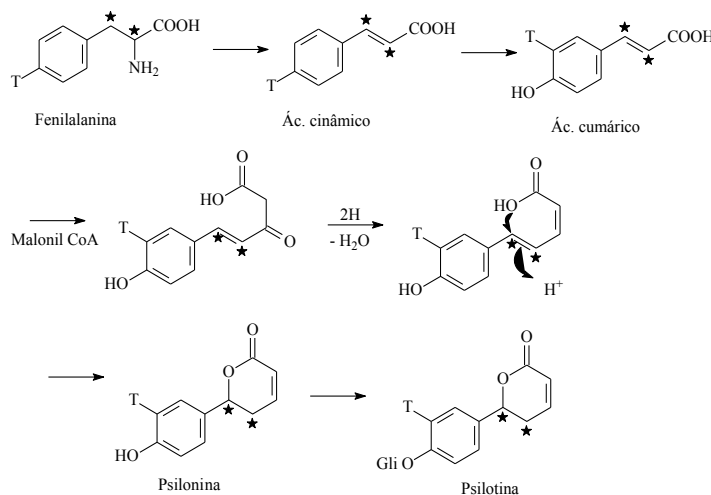
Essa classe de metabólitos é biossintetizada por um grupo de enzimas denominadas policetídeos sintases (PKS) que são classificadas em três tipos:

- Tipo I (multifuncional): uma única enzima com vários sítios ativos;
- Tipo II (multienzimas): várias enzimas e cada uma com um sítio ativo;
- Tipo III (“sítio ativo multifuncional”): uma única enzima e um único sítio ativo.

As PKS dos tipos I e II, presentes em bactérias e fungos, usam a proteína acil carregadora (ACP) para ativar os substratos acil SCoA. Já as PKS do Tipo III, exclusivas de plantas, são independentes da ACP e agem diretamente nos tioésteres de CoA dos ácidos carboxílicos. Diferentemente das PKS dos tipos I e II, as PKS do Tipo III usam um único sítio ativo para realizar uma série de reações de descarboxilação, condensação, ciclização e aromatização (STAUNTON; WEISSMAN, 2001; SHEN, 2003).

Em relação às estilipironas, um estudo biossintético foi relatado para a psilotina, uma 6-aryl-5,6-diidro-2-pirona mais simples isolada dos brotos de *Psilotum nudum* (Psilotaceae). A estratégia adotada pelos autores foi estudar a incorporação de uma mistura isotópica de *R* e *S* -[2',3',-¹³C] e *S* -[1',-¹⁴C]-fenilalanina e de *R* e *S* [4-³H]-fenilalanina (Figura 8). A primeira etapa foi a desaminação de fenilalanina para ácido cinâmico. Fenilalanina tritiada foi usada para monitorar o deslocamento “NIH” que ocorre na conversão do ácido cinâmico a ácido cumárico. A extensão da cadeia ocorre pela incorporação de uma unidade acetato como malonil-CoA (Figura 8) (LEETE; MUIR; TOWERS, 1982).

Figura 8 - Proposta biossintética da psilotina a partir da fenilalanina. ★ representa ¹³C



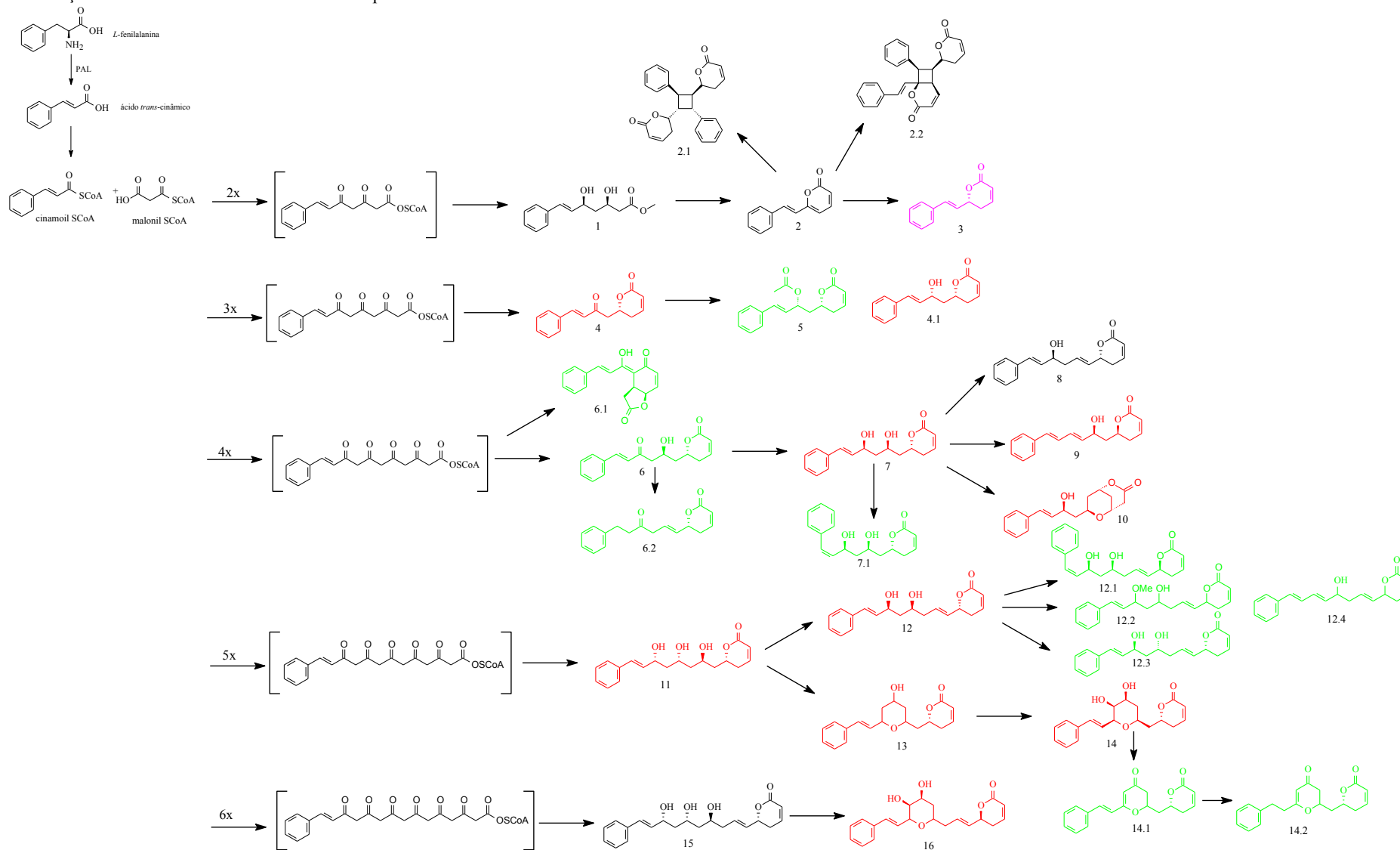
Fonte. LEETE; MUIR; TOWERS (1982, p. 2635).

Equisetum arvense, da família Equisetaceae, foi utilizada por Beckert e colaboradores (1997) para avaliar a ocorrência de estirilpirona sintase (SPS) sem interferência da chalcona sintase CHS, já que essa pteridófita acumula estirilpironas e flavonóides em órgãos distintos (VEIT et al., 1995). Segundo os autores, as estirilpironas são acumuladas nos gametófitos e em rizomas do esporófito sem a presença de flavonóides, já os brotos verdes do esporófito contêm vários flavonóides, mas nenhuma estirilpirona. Duas estirilpironas, bisnoriangonina e hispidina, foram observadas como produtos liberados *in vitro*, a partir dos ensaios realizados com SPS na presença de malonil SCoA e substratos *p*-cumaroil SCoA e cafeoil SCoA, respectivamente (BECKERT et al., 1997; HERDERICH; BECKERT; VEIT, 1997).

Diferente de outros organismos que biossintetizam policetídeos, em *C. mandioccana* foram descritas estirilpironas resultantes de cadeias policetílicas de vários comprimentos, incluindo desde tricetídeos até hexacetídeos (Figura 9). Essas estirilpironas poderiam ser resultantes de SPS pouco seletivas no controle e na extensão da cadeia policetílica, ou policetídeos com diferentes comprimentos de cadeias poderiam estar relacionados à isoenzimas específicas com diferenças no sítio de alongamento da cadeia carbônica (CAMARGO, 2008).

A biogênese das estirilpironas é iniciada com a *trans*-desaminação da *L*-fenilalanina, catalisada pela PAL gerando o ácido *trans*-cinâmico. Essa reação é fundamental, uma vez que, o ácido *trans*-cinâmico é responsável pela formação de uma gama de metabólitos secundários. Esse precursor está diretamente envolvido na biossíntese de muitas substâncias acumuladas em plantas, dentre elas, as estirilpironas (DEWICK, 1997). A partir da biossíntese dos precursores fenilpropanoídicos, estes são esterificados a tioésteres de CoA, pelas SCoA ligases, que por meio de condensações com unidades de malonil SCoA, catalisadas por SPS, seriam responsáveis pela formação dos diversos esqueletos carbônicos de estirilpironas encontrados em espécies de *Cryptocarya* (Figura 9).

Figura 9 - Biogênese de estilipironas obtidas de espécies de *Cryptocarya*. [] indica suposta cadeia policetílica inicial. Em preto, identificada de *C. moschata*. Em **vermelho** *C. mandioccana*. 4.1 de *C. maclurei* e *C. rugulosa*. Em **rosa** obtida de *C. moschata* e *C. mandioccana*. Em **verde**: 6 e 5.1 de *C. kurzii*, 6.1 de *C. concinna*, *C. rubra*, *C. rugulosa* 6.2 de *C. rugulosa*, 12.3 de *C. strictifolia* e *C. mandioccana*. 12.4 de *C. libertiana* 14.1 e 14.2 de *C. Obovata*. 7.1, 12.1 e 12.2 foram obtidas do extrato N29449 de espécie não relacionada. 2.1 e 2.2 são artefatos formados a partir da dimerização de 2. Não estão consideradas as estilipironas diastereoisoméricas.



Fonte: CAVALHEIRO, A. J. (2010).

1.3 Espectrometria de Massas com Ionização por Eletrospray (ESI-MS)

Atualmente, análises qualitativas em misturas complexas incluem a utilização rotineira de técnicas hífenadas que constituem poderosas ferramentas para a análise preliminar de extratos brutos. Aquelas que utilizam a cromatografia líquida ou cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas são as mais comumente utilizadas (HOLCAPEK; JIRÁSKO; LÍSA, 2012).

Estas técnicas estão muito bem estabelecidas no âmbito da pesquisa com produtos naturais, devido à sua versatilidade, rapidez, confiabilidade e reprodutibilidade na análise de extratos brutos. Elas visam uma rápida priorização de extratos, frações e substâncias a serem isoladas, evitando-se o re-isolamento de substâncias já conhecidas e sem interesse farmacológico ou analítico. Uma das técnicas mais utilizadas para este propósito é a ESI-MS (BRADSHAW et al., 2001; HOLCAPEK; JIRÁSKO; LÍSA, 2012; LEBEL et al., 2014).

O início do desenvolvimento da ESI foi proposto por Dole et al. (1968) visando a análise de matrizes poliméricas de poliestireno em solução. Mas, foi somente a partir dos trabalhos desenvolvidos por Yamashita e Fenn (1984) que a técnica sofreu um grande avanço, possibilitando a ionização de macromoléculas, a determinação da massa molecular dos analitos e a possibilidade de acoplamento com a cromatografia líquida (WHITEHOUSE et al., 1985; FENN et al., 1989).

A formação de íon por eletrospray pode ocorrer de três modos: íons moleculares, moléculas protonadas ou desprotonadas e moléculas cationizadas ou anionizadas (CROTTI et al., 2006; VESSECCHI et al., 2008; BANERJEE; MAZUMDAR, 2012).

O modo pelo qual ocorre a fragmentação destes íons, seja induzido por colisão ou por dissociação na fonte de ionização, pode ser elucidado com certa precisão, pois para determinados grupos substituintes a sequência de sucessivos passos de fragmentação irá originar íons-filhos semelhantes (MORAES; LAGO, 2003; CROTTI; LOPES; LOPES, 2006; CROTTI; SERAGLIA; TRALDI, 2011).

Dos métodos de ativação de íons, a dissociação induzida por colisão é um dos mais empregados. Essa técnica baseia-se na ativação de um íon por colisão com gás inerte (gases nobres ou N₂). Os íons gasosos da amostra que apresentam energia interna suficiente fragmentam-se em íons de m/z menor. Assim, conhecendo-se a estrutura de uma substância ou os íons formados é possível propor o mecanismo pelos qual as moléculas se fragmentam (FURTADO et al., 2007; VESSECCHI et al., 2008).

Em alguns casos é necessário o uso de marcadores isotópicos (^{13}C , D etc.) para propor o modo pelo qual ocorre a fragmentação, pois esses agregam informações adicionais às propostas (VESSECCHI et al., 2008; HOLCAPEK; JIRÁSKO; LÍSA, 2012).

No contexto da geração de íons por ESI, a química quântica computacional tem auxiliado no entendimento da formação desses íons e o modo pela qual ocorre a fragmentação. Isto foi possível principalmente pelos avanços ocorridos na área computacional nas últimas décadas. Sem o auxílio dessa ferramenta as interpretações seriam, em muitos casos, apenas especulativas (VESSECCHI et al., 2008; VESECCHI et al. 2011).

Desta forma, a química quântica computacional pode ser aplicada neste trabalho para determinar os possíveis sítios pelos quais as estirilpironas ionizam-se por ESI, pois essas substâncias possuem diversos grupos que poderiam sofrer a ionização. Na literatura já foram descritos estudos com ésteres cíclicos e anéis pirônicos demonstrando que o oxigênio carbonílico do grupamento éster é o sítio mais básico (BOUCHOUX; LEBLANC, 1997; ESSEFFAR; MÓ; YÁNEZ, 2003; CROTTI et al., 2004). Assim, essas informações são importantes para auxiliar na interpretação dos espectros de massas e no estudo de fragmentação das estirilpironas.

1.4 Análise configuracional por RMN

Nos últimos tempos houve um aumento no desenvolvimento de métodos sensíveis e confiáveis para determinação da configuração absoluta de uma substância. Esse fato pode ser atribuído principalmente ao isolamento de grande número de produtos naturais opticamente ativos, ao aumento de compostos obtidos por síntese assimétrica, e também, de que a estereoquímica de um composto determina importantes propriedades químicas, físicas e biológicas (BARREIROS et al., 2005; SECO I ; RIGUERA, 2004, 2012).

Entre as técnicas utilizadas para a determinação da configuração absoluta dos compostos orgânicos estão: a RMN, a Cristalografia de Raios-X, o Dicroísmo Circular (eletrônico e vibracional), a Dispersão Ótica Rotatória, a Rotação Ótica Específica e a Atividade Ótica Vibracional Raman (BARREIROS et al., 2005; SECO I ; RIGUERA, 2004, 2012; BATISTA JUNIOR, 2013).

A cristalografia de raios X foi uma das primeiras técnicas a ser utilizada para a determinação da configuração absoluta dos compostos. Ela ainda é considerada uma das técnicas mais confiáveis para esse propósito, entretanto, são necessários cristais de boa

qualidade, além da utilização de um padrão interno quirál como referência para assinalar a configuração absoluta (FLACK; BERNARDINELLI, 2008).

Os métodos quiróticos são não destrutivos, sensíveis à quiralidade ou às características conformacionais das moléculas e as medidas podem ser feitas em solução. Mas em alguns casos é necessária a presença de grupos cromóforos que tenham transições eletrônicas na região do UV/Vis, como no caso do dicroísmo circular eletrônico, além de um profundo conhecimento da química quântica computacional para a realização de cálculos e simulação de espectros para os pares de enantiômeros (BATISTA JUNIOR, 2013; BEROVA; BARI; PESCIPELLI; 2007)

A aplicação mais geral para assinalar a configuração absoluta de compostos orgânicos por espectroscopia de RMN está baseada na comparação dos espectros de RMN de ^1H de dois derivados de um substrato, que são obtidos a partir da reação com os dois enantiômeros de um reagente de derivação quirál (CDA) apropriado (Figura 10). Assim, os dois derivados, que possuem uma relação diastereoisomérica, apresentam diferentes deslocamentos químicos para hidrogênios que estão ao redor do carbono assimétrico (L_1/L_2) (Figura 11). Essa diferença é expressa como a diferença de deslocamento químico do derivado *R* menos a do derivado *S* ($\Delta\delta^{RS} = \delta^R - \delta^S$, e para o CDA MTPA $\Delta\delta^{SR} = \delta^S - \delta^R$). Dessa forma, pode-se aplicar os diferentes modelos para localizar a posição espacial dos ligantes vizinhos ao carbono assimétrico L_1/L_2 , possibilitando a definição da configuração absoluta (SECO I ; RIGUERA, 2004, 2012).

Existe na literatura uma grande quantidade de CDAs descritos para assinalar a configuração absoluta de centros assimétricos de: álcool secundário, amins, aminoálcool, cianohidrina, tiol, ácido carboxílico (SECO I ; RIGUERA, 2004, 2012; PORTO et al., 2007; PAZOS et al., 2004; WENZEL; CHISHOLM, 2011).

Os CDAs mais estudados e comumente utilizados estão ilustrados na Figura 10: ácido α -metóxi- α -trifluorometil fenil acético (**MTPA**), ácido α -metóxi- α -fenil acético (**MPA**), ácido α -1-naftil- α -metóxi acético (**1-NMA**), ácido α -2-naftil- α -metóxi acético (**2-NMA**), ácido α -9-antranil- α -metóxi acético (**9-AMA**), ácido α -2-antranil- α -metóxi acético (**2-AMA**), boc-fenilglicina, *trans*-2-fenil-ciclohexanol (**trans-2-PCH**), α -(9-antranil)- α -hidroxiacetato de etila (**AHA**), ácido α -*terc*-butóxi-fenil acético (**PTBA**).

As principais características estruturais desses CDAs são: um centro estereogênico com configuração absoluta conhecida, um grupo polar ou volumoso para manter a molécula em uma conformação mais estável, um grupo funcional que seja passível de sofrer um ataque do substrato e um grupo com forte efeito anisotrópico (anel aromático) que afete

seletivamente os ligantes L_1 e L_2 vizinhos ao centro estereogênico (SECO I ; RIGUERA, 2004, 2012).

Figura 10 - Estrutura de alguns dos principais agentes de derivação quiral.

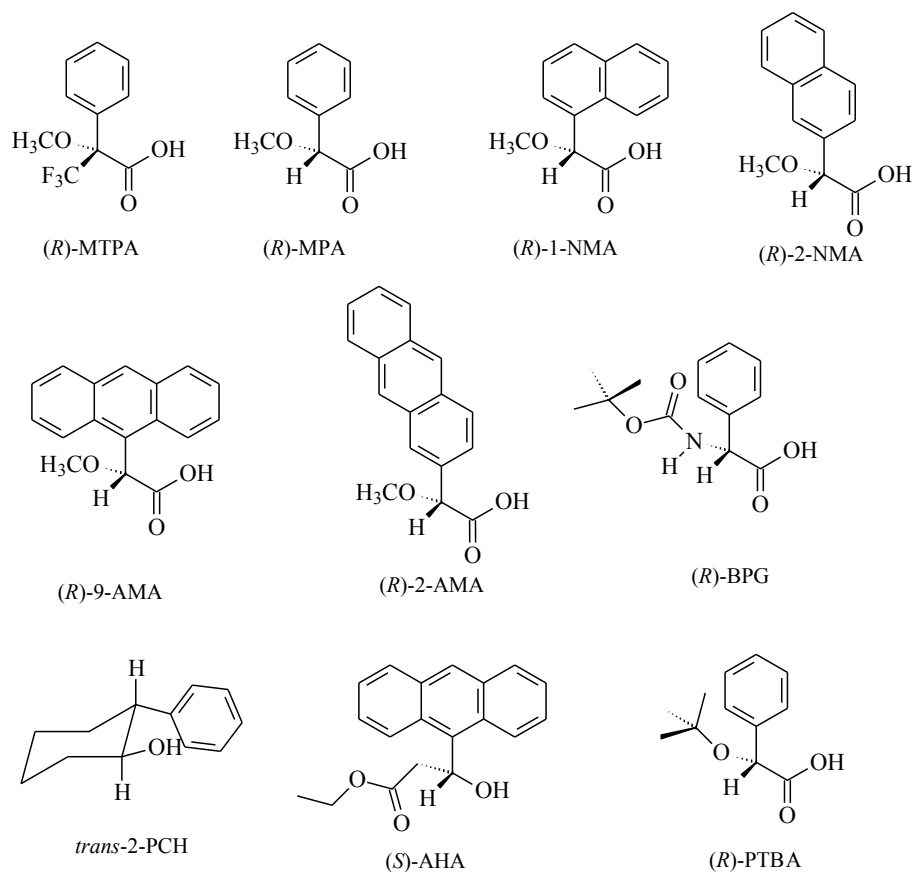
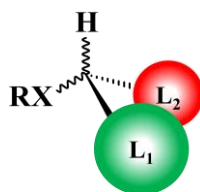


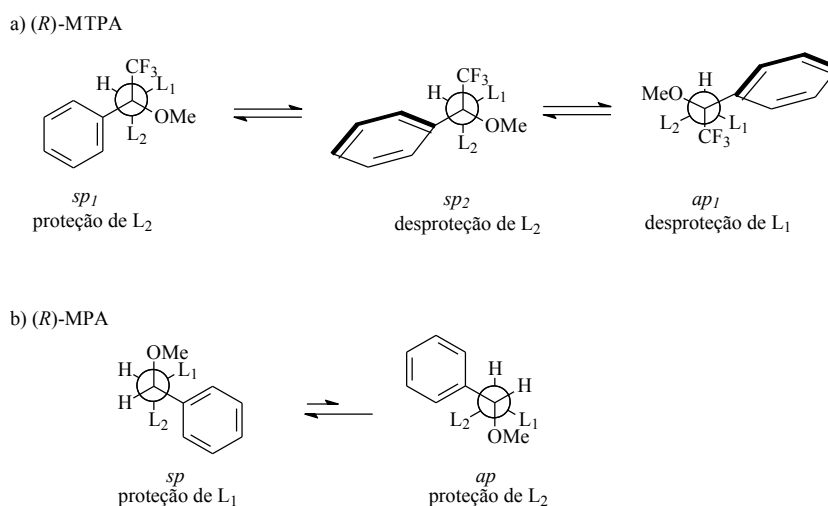
Figura 11 - Modelo para demonstrar a posição dos ligantes.



Historicamente, Mosher e colaboradores iniciaram os trabalhos para determinação da configuração absoluta de compostos orgânicos por RMN. O CDA escolhido por eles foi o MTPA e os substratos eram alcoóis secundários e amins primárias (DALE; MOSHER, 1968). O MPA também foi muito estudado e comparado ao MTPA. Os resultados obtidos demonstraram que o éster de MPA apresenta $\Delta\delta$ maior do que a $\Delta\delta$ resultante do éster de MTPA. Isso ocorre, principalmente devido ao menor número de confôrmeros encontrados no éster de MPA (Figura 12).

É necessário um certo cuidado ao se utilizar o MTPA como CDA, pois trabalhos antigos utilizavam um modelo diferente dos atuais para analisar os resultados da $\Delta\delta$ entre os ésteres de MTPA. Naquela época, não havia um conhecimento profundo dos estados conformacionais dos derivados, pois as conformações eram impostas empiricamente. Esse fato foi contornado com o auxílio da química quântica computacional que possibilitou entender as principais conformações e quais delas afetavam os ligantes (Figura 12). Assim, o modelo sofreu alteração no modo de interpretar a $\Delta\delta$ e ficou conhecido como Modelo Revisado de MTPA (SECO I ; RIGUERA, 2004).

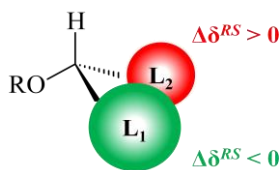
Figura 12 - Estados conformacionais de menor energia do esteres de MTPA e MPA.



Fonte: LATPOV et al. (1996, p.8571)

A Figura 13 apresenta o modelo desenvolvido ao longo dos tempos e muito bem descrito por Seco, ui oá e Riguera (2004) para deteminação da configuração de álcoois secundários utilizando MPA como CDA. O princípio desse modelo baseia-se no cálculo da diferença de deslocamento químico entre os hidrogênios dos ligantes (L_1 e L_2) vizinhos ao centro estereogênico da substância derivada com o reagente R menos a derivada com o reagente S ($\Delta\delta^{RS} = \delta^R - \delta^S$). Se a diferença de deslocamento químico for menor que zero ($\Delta\delta^{RS} < 0$) para o L_1 e maior que zero ($\Delta\delta^{RS} > 0$) para o L_2 então aplica-se o modelo (Figura 13). Esse modelo pode ser perfeitamente aplicado para assinalar a configuração absoluta da substância desacetilcriptocarialactona (Figura 1).

Figura 13 - Modelo para determinação da configuração de álcool secundário mono-hidroxilado.



Fonte: SECO I ; RIGUERA (2004, p. 33).

A abordagem citada acima é conhecida por dupla derivação, pois utiliza o par enantiomérico do CDA. Uma alternativa seria a utilização de apenas um dos enantiômeros do CDA, *R* ou *S*, para preparar o derivado e obter os espectros de RMN à temperatura ambiente (T_1) e subambiente (T_2) (-70°C) e calcular a variação de deslocamento químico ($\Delta\delta^{T1T2} = \delta^{T1} - \delta^{T2}$). Vale lembrar que os derivados devem ser solubilizados em CDCl_3 ou em uma mistura de $\text{CS}_2/\text{CD}_2\text{Cl}_2$ (4:1) para evitar o congelamento do solvente e da amostra (SECO et al., 1995; LATYPOV et al., 1998; SECO I ; RIGUERA, 2004).

A segunda abordagem da simples derivação é a adição de íons Ba^{2+} , perclorato de bário, como agente quelante do CDA para controlar o equilíbrio conformacional do derivado estabilizando em uma conformação mais estável. Calcula-se a diferença de deslocamento químico entre o derivado antes e depois da adição do íon Ba^{2+} $\Delta\delta^{\text{Ba}} = \delta(\text{MPA}) - \delta(\text{MPA} + \text{Ba}^{2+})$. Nesse caso, o derivado deve ser solubilizado em acetonitrila deuterada (MeACN-d_3) (GARCIA et al., 2006; SECO I ; RIGUERA, 2004).

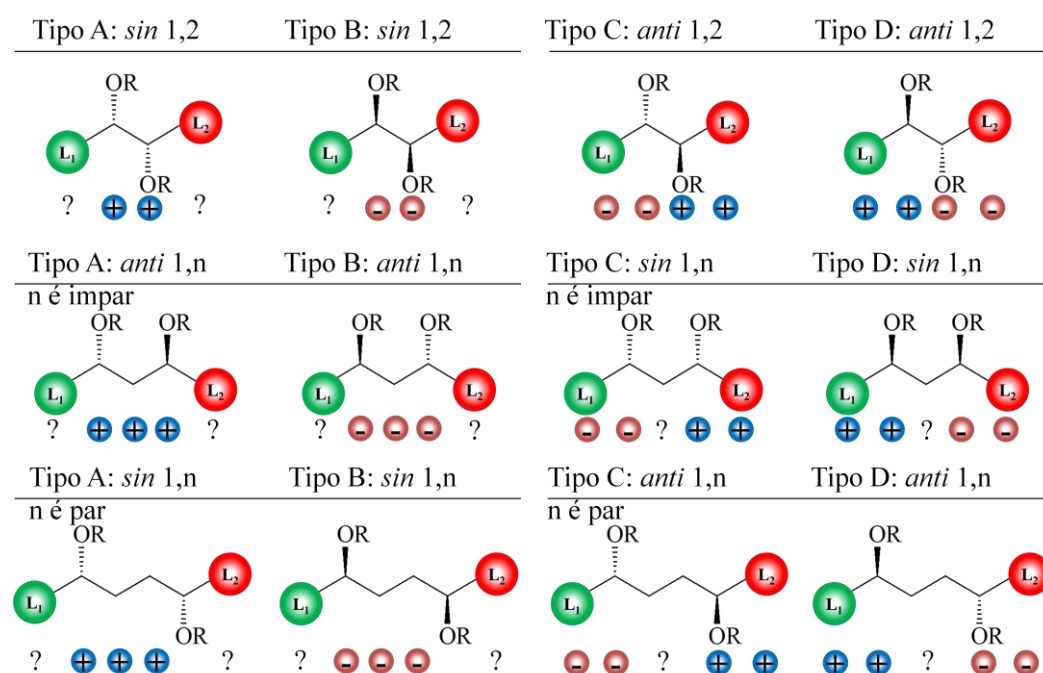
A terceira metodologia é conhecida como “MIX and SHAKE”, em que o CDA é suportado por uma matriz polimérica composta de carboxipoliestireno, ligados através de um grupo anidrido. A reação é feita no próprio tubo de RMN, em CDCl_3 , durante algumas horas para álcool secundário e alguns minutos para amina primária. Após a reação, a matriz polimérica fica na superfície do solvente e, assim, não afeta a análise por RMN. O espectro de RMN e a interpretação pode ser seguida de acordo com um dos modelos propostos acima (PORTO et al., 2003, 2008).

A Figura 14 apresenta os modelos para determinação da configuração absoluta de substâncias di-hidroxiladas com configuração *syn* 1,2, *anti* 1,2, *syn* 1,n, *anti* 1,n, onde n pode ser um número ímpar ou par. Os cálculos de $\Delta\delta^{\text{RS}}$ são iguais aos do álcool secundário mono-hidroxilado (FREIRE et al., 2005a, 2005b, 2005c, 2010; SECO I ; RIGUERA, 2012). Esses modelos podem ser perfeitamente aplicados às estirilpironas di-hidroxiladas.

Como já explicitado, existem modelos para assinalar a configuração absoluta apenas para as substâncias mono e di-hidroxiladas, e para álcoois secundários tri-hidroxilados ainda

não há uma metodologia para determinação direta da configuração absoluta. Para esses tipos de substâncias é possível apenas analisar um centro estereogênico por vez, ou seja, protege-se duas hidroxilas através da reação de formação de acetonídeo, reage-se a hidroxila livre com o CDA e aplica-se o modelo para substâncias mono-hidroxilada (Figura 13); então repete-se o procedimento para determinar a configuração dos outros centros.

Figura 14 - Modelo para determinação da configuração absoluta de alcoóis secundários di-hidroxilados através de ésteres bis MPA.



Fonte: SECO I ; RIGUERA (2012, p. 4613).

1.5 Análise configuracional de estirilpironas

Das espécies brasileiras de *Cryptocarya*, já foram descritas diversas estirilpironas poli-hidroxiladas, para as quais, em muitos casos, foram propostas apenas configurações relativas para os centros estereogênicos hidroxilados, baseadas principalmente em dados de RMN de ^1H e ^{13}C e o centro C6 quando determinada assinalada configuração absoluta foi por dicroísmo circular eletrônico (CAVALHEIRO; YOSHIDA, 2000; TELASCREA, 2006).

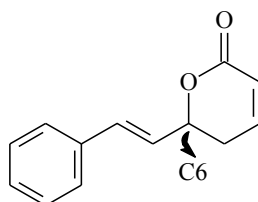
Nesse contexto, Davies-Coleman e Rivett (1989) publicaram uma revisão sobre 5,6-diidro- α -pironas 6-substituídas, indicando a possibilidade de determinação da configuração absoluta em C6 (anel pirônico) por meio de curvas de dicroísmo circular eletrônico, através do efeito Cotton positivo para C6 *R* e efeito Cotton negativo para C6 *S* (250-280 nm). Da mesma forma, Cavalheiro e Yoshida (2000) determinaram a configuração absoluta do C6 do

anel pirônico, aplicando a regra da helicidade (regra de Snatzke), na qual assume-se que o substituinte no C6 está na conformação *pseudo-equatorial* e um efeito Cotton positivo é observado na curva CD em 250-280 nm, que corresponde a uma transição $n \rightarrow \pi^*$.

Atualmente, esta metodologia está sendo aplicada na determinação da configuração absoluta do centro C6 da maioria das pironas e estilipironas descritas na literatura. Uma alternativa para determinar a configuração absoluta desse centro estereogênico seria comparar os dados de dicroísmo circular eletrônico com os obtidos por outras metodologias como, por exemplo, fazer a hidrólise do anel pirônico e reagir a hidroxila do C6 com o CDA e aplicar a metodologia já descrita para determinar a configuração por RMN.

A goniotalamina (Figura 15) teve sua configuração absoluta conclusivamente proposta por Meyer após síntese do par de enantiômeros a partir de precursores com configuração absoluta definida (MEYER, 1979). Estabeleceu-se assim que (+)-(*R*)-goniotalamina apresenta $[\alpha]_D^{25} = +135^\circ$ ($c = 0,7$, em MeOH) e efeito Cotton positivo em CD ($\Delta\epsilon_{253} = +6,5$), enquanto o enantiômero (-)-(*S*)-goniotalamina apresenta $[\alpha]_D^{25} = -137^\circ$ ($c = 0,8$, em MeOH) e efeito Cotton negativo em CD ($\Delta\epsilon_{253} = -7,44$).

Figura 15 - Substância Goniotalamina.



A configuração absoluta de outras estilipironas, quando determinada, foi realizada a partir de dados de cristalografia de Raio-X e/ou ésteres de Mosher com derivação por MTPA. Em alguns casos, a síntese enantioselectiva foi bem sucedida, possibilitando a confirmação das propostas configuracionais feitas a partir de dados espectrométricos, como aconteceu com as estilipironas goniotalamina, já citadas acima, e também com a criptocarialactona (DREWES et al., 1998; MORI; FURUKAWA, 1994), desacetilcriptocarialactona (DREWES et al., 1998), kurzilactona (JIANG; CHEN, 2001; KIM; TAE, 2006) e estrictofoliona (JULIAWATY et al., 2002; BOUZBOUZ; COSSY, 2003; DAS et al., 2011), criptomoscatoana E1 (YADAV et al., 2013).

Drewes et al. (1998) comparou os dados espectroscópicos de RMN, $[\alpha]_D$, dicroísmo circular eletrônico e raios X de quatro diastereoisômeros da criptocarialactona e da desacetilcriptocarialactona obtidas de fontes naturais e sintética. Foi observado um efeito

Cotton positivo (271 nm) para os diastereoisômeros com configuração *R* do C6 e negativo (271 nm) para o *S*.

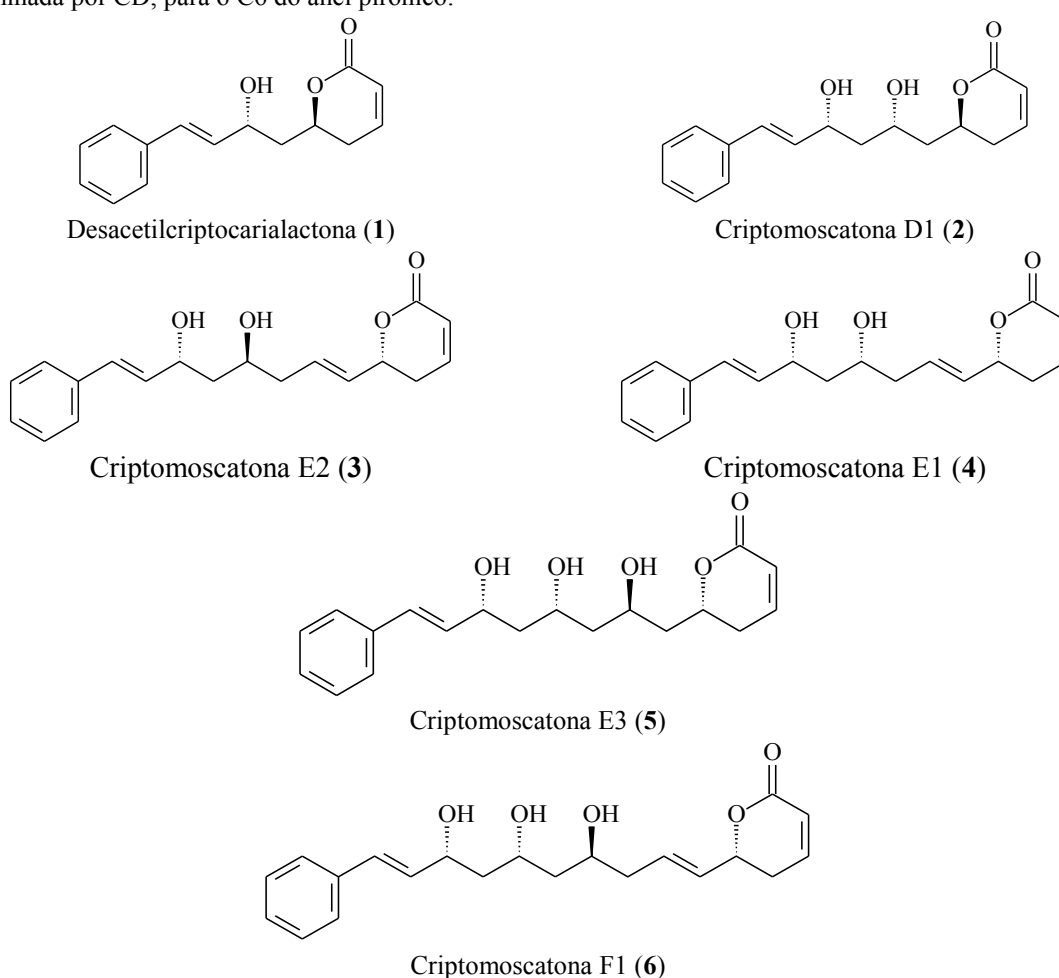
Novaes et al. (2014) sintetizaram os quatro diastereoisômeros das criptomoscatoonas. A configuração absoluta do centro C6 referente ao anel pirônico foi determinada como *R* através dos ésteres de Mosher antes da etapa de fechamento do anel, assim a criptomoscatoona D1 apresentou a configuração absoluta assinalada como *6R,2'R,4'S*, a criptomoscatoona D2 como *6R,2'R,4'R*, enquanto os outros dois diastereoisômeros tem a configuração *6R,2'S,4'S* e *6R,2'S,4'R*. Dessas estirilpironas, um efeito Cotton positivo foi observado nos espectros de dicroísmo circular eletrônico na região de comprimento de onda de 254-272 nm.

2 OBJETIVOS

Uma vez que as estilpironas são uma importante classe de produtos naturais biologicamente ativos e estudos visando a identificação rápida desses compostos ainda não estabelecidos e a configuração absoluta desses compostos nem sempre determinada, este trabalho tem por objetivo:

- Estudar os mecanismos de fragmentação de cinco estilpironas por espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS/MS) e por CG-MS com ionização por elétrons (EI-MS);
- Determinar a configuração absoluta dos centros estereogênicos hidroxilados e do C6 do anel pirônico de estilpironas isoladas de *Cryptocarya mandiocanna* por RMN de ^1H (Figura 16), utilizando os agentes de derivação quiral.

Figura 16 - Estilpironas selecionadas para estudos de fragmentação por ESI-MS/MS e de configuração absoluta. Nas estruturas abaixo, está indicada a configuração relativa para os carbonos hidroxilados e a absoluta, determinada por CD, para o C6 do anel pirônico.



3 MATERIAIS

Segue abaixo as especificações dos equipamentos e demais materiais utilizados neste estudo.

Balança Analítica: Mettler Toledo modelo AG245 (máx. 210 g; d=0,1 mg).

Colunas cromatográficas CLAE:

- Phenomenex[®] Luna C-18. 250 x 4,6 mm, 5 µm.
- Phenomenex[®] Luna C-18. 250 x 21,2 mm, 10 µm.

Colunas cromatográficas para CG:

- Supelco SPB-5 (5% fenil polimetilsiloxano). 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm CG-FID
- Phenomenex ZB-5MS. 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, CG-MS

Pré-tratamento das amostras: Agilent Technologies cartucho de C18 (Accu BondII SPE ODS-18 Cartridges). 1,0 x 1,0 cm; 500 mg.

Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu[®], modo analítico): bomba LC-20AT, com sistema de controle CBM-20A, detector de arranjo de diodos SPD-M20A, injetor automático SIL-20A, forno para coluna CTO-20A, degaseificador DGU-20A-5, programa gerenciador do cromatógrafo e dados LC-solution versão 1,21.

Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu[®], modos analítico e preparativo): bomba LC-18 A, com sistema de controle SCL-10Avp, detector UV/Vis (2 comprimentos de onda simultâneos) SPD-M10Avp, programa gerenciador do cromatógrafo e de dados Class-VP versão 6.1.

Cromatógrafo a gás: GC-FID - Cromatógrafo a gás Varian CP - 3800, equipado com injetor automático Varian 8200 e detector de ionização em chama (FID), N₂ gás de arraste; no detector ar sintético e H₂. Software Galaxie Chromaography Data System - Version 1.9.302.530.

Cromatógrafo a gás: GC-MS - cromatógrafo a gás Shimadzu QP-2010 equipado com *injetor automático AOC-5000 Shimadzu* e interface com um espectrômetro de massa. Analisador –

quadrupolo, gás de arraste He. Condições MS: temperatura da fonte de íons e interface de 250 °C, modo de impacto de elétrons (EI) a 70 eV, faixa das massas de aquisição de m/z 40-650 Daltons.

Espectrômetro de Massas: Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA. micrOTOF Q II- ESI-TOF Mass Spectrometer. Detecção no modo positivo, calibração interna NA-TFA a 10 mg.mL⁻¹, bomba de Infusão (COLE PARMER, vazão 5 µL.min⁻¹). Amostras solubilizadas em MeOH/H₂O. Capilar: 3,5 kV; Gás: nitrogênio, gás de colisão: nitrogênio.

Espectrômetro de massas: LCQ Fleet LC/MS - Thermo Analítica. Amostras solubilizadas em MeOH/H₂O. Capilar: 3,5 kV; Gás: nitrogênio, gás de colisão: hélio.

Espectrômetro de Dicroísmo Circular Eletrônico: JASCO J-850, operando de 200 a 400 nm, cubeta de 1,0 mm.

Espectrômetros de ressonância magnética nuclear:

- Espectrômetro Bruker Avance III 600 HD 14,1 T, operando a 600 MHz para ¹H e a 150 MHz para ¹³C.
- Espectrômetro Bruker Fourier 300, 7,0 T, operando a 300 MHz para ¹H e a 75 MHz para ¹³C.

Programa Gaussian 03: As energias de Gibbs foram obtidas utilizando o modelo B3LYP/6-31+G(d,p).

Programa Molekel 4.3: O MEP foi obtido à partir das cargas derivadas do potencial eletrostático usando o programa.

Rota Evaporador: Büchi[®] modelo R-114 RE, com banho termostaticado (aquecimento) Büchi[®] modelo B-480, banho ultra-termostaticado (refrigeração) Marconi[®] modelo MA184 e sistema de “vácuo” Büchi[®] modelo V-500 com condensador secundário.

Solventes:

- a) **Extração, CCDC, CCDP, CC, EFS:** solvente grau técnico (acetato de etila, hexano, metanol), adquiridos no mercado local e purificados por destilação fracionada, no Instituto de Química da UNESP, em destiladores de vidro;

- b) **Análise por CLAE e reações:** solvente grau cromatográfico (metanol e diclorometano) J.T. Baker SOLUSORB[®] (Xalostoc, México);
- c) **Água ultra pura (18 MΩ):** obtida por tratamento sequencial por osmose reversa e ultra purificador Milli-Q, Millipore Milli-Q[®] Direct system (Direct 8).

Material Vegetal: Folhas do indivíduo CB 353 do quimiotipo FS de *Cryptocarya mandioccana*, foi coletada no P.E. Carlos Botelho, município de São Miguel Arcanjo-SP. O material foi identificado pelo prof. Dr. Pedro L. R. de Moraes do Depto de Botânica da UNICAMP. A exsicata foi depositada no herbário do Instituto de Botânica de São Paulo com o número de referência CAVALHEIRO CB353.

Placa para CCDC: SORBENT Technologies Sílica G TLC plates w/UV 254, suporte de alumínio (20 x 20 cm x 0,2 mm).

Câmara de UV de bancada: CAMAG operando em dois comprimentos de onda (254 e 366 nm).

Fase estacionária para cromatografia em coluna:

- a) **sílica:** 0,060-0,200 mm; diâmetro do poro: 6 nm; marca: Sigma - Aldrich;
- b) **sílica:** 0,04-0,063 mm; diâmetro do poro: 6 nm; marca: Sigma - Aldrich.
- c) **sílica C-18:** 0,040-0,060 mm; marca: LiChroprep[®] RP-18 (Merck[®])

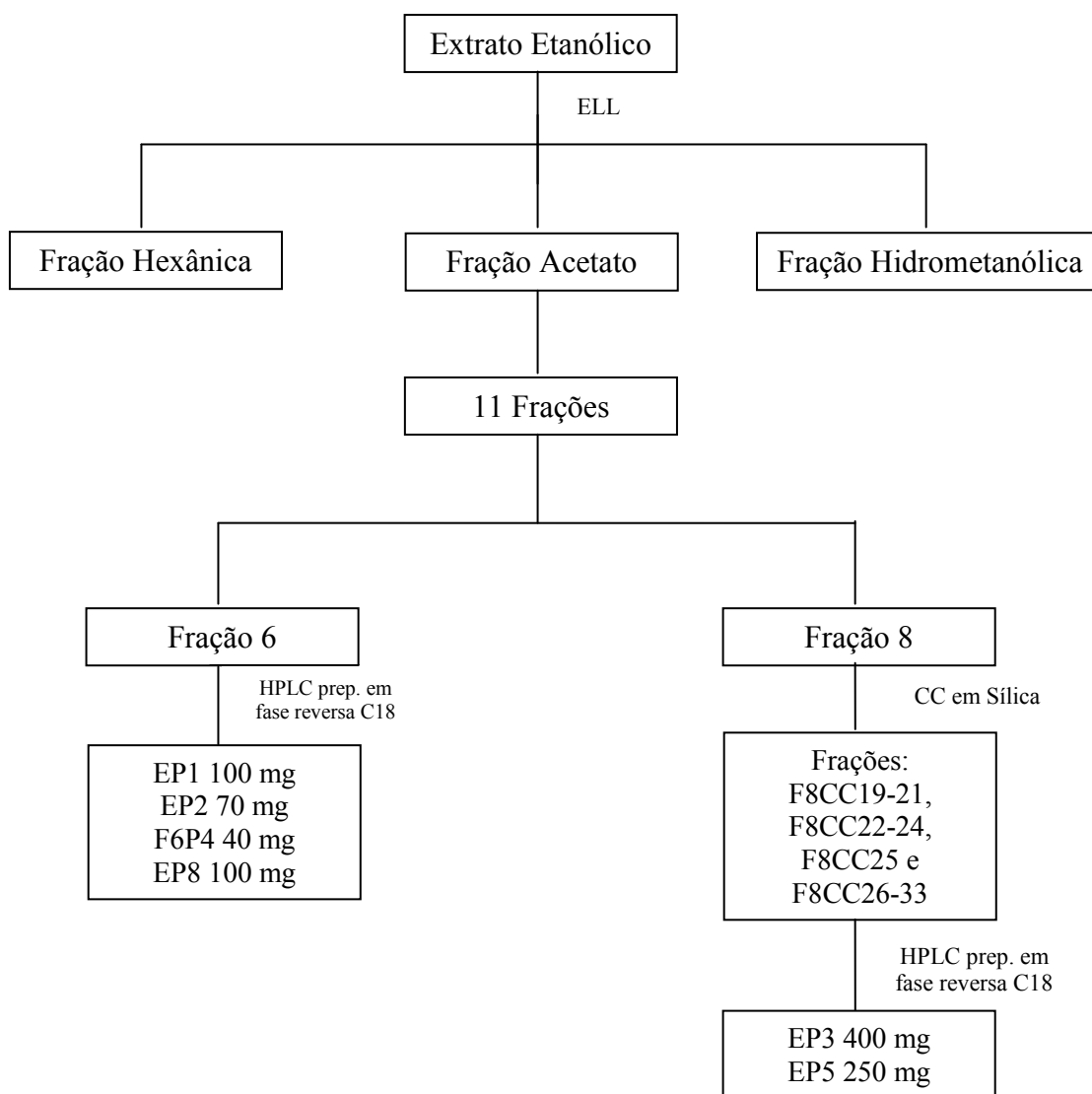
Reagentes:

- cido α -metoxi- α -fenilacético (*R* e *S* MPA), marca: TCI
- 1-etil-3-[3-(dimetilamino) propil] carbodiimida (EDC), marca: Sigma-Aldrich
- 4-dimetilaminopiridina (DMAP), marca: Sigma-Aldrich
- 2,2-dimetoxipropano (2,2-DMP), marca: Sigma-Aldrich
- Ácido *p*-toluenosulfônico, marca: Sigma-Aldrich
- Ácido sulfúrico 98%, marca: Synth
- Anisaldeído
- N-metil-N-(trimetilsil)-trifluoracetamida (MSTFA), marca: Sigma-Aldrich

4 MÉTODOS

As estirilpironas selecionadas para este estudo foram isoladas a partir do extrato etanólico de folhas de *Cryptocarya mandioccana*, segundo procedimento descrito por Telascrea (2006) e brevemente relatado. A seguir, as substâncias purificadas por CLAE foram utilizadas para os estudos de fragmentação por eletrospray e derivadas para análise por GC-MS. Para as análises configuracionais por RMN, foram preparados os seguintes derivados de cada estirilpirona: ésteres de MPA, acetonídeos e hidróxi-ácidos obtidos por hidrólise do anel pirônico. Para as análises configuracionais também foram obtidos dados de dicroísmo circular. Os procedimentos utilizados em cada uma dessas etapas estão descritos a seguir. Um resumo dessa etapa é apresentado no fluxograma abaixo (Figura 17).

Figura 17 - Fluxograma da metodologia experimental de isolamento das estirilpironas.



ELL: extração líquido/líquido; CC: cromatografia em coluna

4.1 Preparação do extrato etanólico das folhas e extração líquido/líquido (ELL)

A extração foi realizada por ultrassom, com etanol na proporção 1:3 (m/v) por 1 hora, seguido de maceração simples por 24 horas e filtração em papel de filtro, sendo esse procedimento realizado três vezes. O filtrado foi concentrado em rota evaporador até eliminação total do solvente.

O extrato etanólico foi dissolvido em MeOH/H₂O (9:1) na proporção de 1:10 (m/v) e a ELL foi feita com Hex por três vezes. Em seguida, foi adicionada água até proporção de 40% e a extração foi feita com AcOEt por 3 vezes.

4.2 Extração em fase sólida (EFS) em sílica

A fase AcOEt, obtida do extrato EtOH como indicado no item anterior, foi submetida à EFS em Sílica gel-60 (63-200 µm), eluída com misturas de Hex/AcOEt/MeOH (Tabela 1). A quantidade de amostra adsorvente foi de 1:10 (m/m) sendo cada fração eluída com 3 volumes mortos de fase móvel.

Tabela 1 - Composição dos solventes utilizados no fracionamento por EFS em sílica

Fração	Composição da FM
F1	Hexano
F2	Hex/AcOEt (95:5)
F3	Hex/AcOEt (90:10)
F4	Hex/AcOEt (80:20)
F5	Hex/AcOEt (60:40)
F6	AcOEt
F7	AcOEt/MeOH (95:5)
F8	AcOEt/MeOH (80:20)
F9	AcOEt/MeOH (60:40)
F10	MeOH
F11	MeOH/H ₂ O (50:50)

4.3 Cromatografia em camada delgada comparativa e preparativa (CCDC, CCDP)

As análises por CCDC CCDP foram realizadas no modo normal, utilizando sílica como FE, e Hex/AcOEt/MeOH (60:32:08, v/v) como fase móvel (FM). As placas preparativas foram reveladas em câmara de UV (254 nm) e as comparativas em câmara de UV (254 nm) ou anisaldeído sulfúrico.

4.4 Cromatografia em coluna de baixa performance (CC)

Foram utilizadas 180,0 g de sílica gel 40-63 μ m, coluna de vidro com diâmetro de 4,4 cm e altura da fase estacionária de 25,0 cm, volume morto de 190,0 mL. O volume coletado foi de 75,0 mL e um total de 70 frações e FM foi Hex/AcOEt/MeOH (60:32:08, 1,5L), Hex/AcOEt/MeOH (50:40:10, 1,5L), AcOEt/MeOH (80:20, 1L), MeOH (1L).

4.5 Pré-tratamento das amostras para análise em CLAE-DAD

Cerca de 5 mg de amostra foi solubilizada em 1,5 mL de MeOH/H₂O (95:5, v/v) e aplicada em cartucho de EFS-C18, previamente ativado com MeOH e condicionado com MeOH/H₂O 95:5 (v/v). Em seguida, foi feita a extração com mais 3,0 mL de MeOH/H₂O 95:5 (v/v), obtendo-se a subfração 1 e, por fim, mais 4,5 mL de MeOH para limpeza do cartucho para reutilização. Cada cartucho foi reutilizado 3 vezes. Após esse procedimento, todas as subfrações eluídas com MeOH/H₂O 95:5 foram concentradas até eliminação total dos solventes e a seguir dissolvidas em 5 mL MeOH, obtendo-se uma concentração final de aproximadamente 1,0 mg.mL⁻¹.

4.6 CLAE-DAD analítico

As análises dos extratos, frações e subfrações foram realizadas em CLAE-DAD, modo analítico, utilizando coluna de fase reversa C-18, eluição no modo gradiente linear iniciando com MeOH/H₂O 05:95 e finalizando com 100:00 em 50 minutos, mais 10 minutos isocrático na condição final, volume de injeção de 10 μ L, vazão de 1,0 mL.min⁻¹ e detecção no UV (200-400 nm). Os cromatogramas foram registrados utilizando a leitura em 254 nm.

4.7 CLAE preparativo

A purificação das estirilpironas **1**, **2**, **3** e **4** foi feita em CLAE-C18 preparativo, a partir da fração F6. Primeiramente a fração F6 foi submetida a EFS-C18 eluída com MeOH/H₂O (80:20), para remoção de interferentes menos polares. Após eliminação do solvente do eluato, o resíduo foi dissolvido em 10,0 mL MeOH e então mais 10 mL de H₂O, resultando numa solução MeOH/H₂O (50:50) contendo cerca de 50 mg.mL⁻¹ da amostra. Em cada análise foram injetados cerca de 1,0 mL dessa solução. O modo de eluição foi isocrático com vazão de 12,0 mL.min⁻¹ e composição da fase móvel de MeOH/H₂O (46:54).

A purificação das substâncias **5** e **6** foi feita a partir das sub-frações F8CC19-21, F8CC22-24, F8CC25 e F8CC26-33. Primeiramente, as sub-frações foram submetidas à por EFS-C18, como descrito acima e posteriormente dissolvidas em MeOH/H₂O 1:1 (50 mg.mL⁻¹) e injetadas em CLAE-C18 preparativo, FM MeOH/H₂O (43:57) e vazão de 10,0 mL.min⁻¹

4.8 Ionização por eletrospray e dissociação induzida por colisão

As estirilpironas foram dissolvidas em MeOH/H₂O (9:1) na concentração de 10 ppm. Essa solução foram inseridas através de bomba de infusão com vazão de 10 µL.min⁻¹. Os espectros ESI-MS foram obtidos operando o espectrômetro em modo positivo, para obtenção dos íons [M+Na]⁺, [M+K]⁺ e [M+H-H₂O]⁺.

A dissociação induzida por colisão (CID) foi realizada através da colisão com N_{2(g)} para o equipamento micrOTOF-QII Bruker-Daltonics e com gás He_(g) para o LCQ Fleet LC-MS Thermo Analítica, variando-se a energia de colisão de 0 a 40 eV, sendo os íons resultantes analisados em alta resolução pelo tempo de vôo (TOF) e em baixa no *ion trap*. A partir desses resultados, foram propostas as possíveis vias de fragmentação para as moléculas cationizadas e protonadas.

4.9 Derivação das estirilpironas com MSTFA para análise por CG-MS

A reação de sililação das estirilpironas seguiu as etapas listadas abaixo:

1. 0,3 mg de estirilpirona foi dissolvida em 200 µL de piridina, em frascos de 4 mL.
2. Foi adicionado 200 µL de MSTFA [N-metil-N-(trimetilsil)-trifluoracetamida].
3. A amostra foi homogeneizada para dissolver completamente.
4. O meio reacional foi mantido em banho de água à 37 °C por 30 minutos.
5. A amostra foi filtrada com microfiltro de 0,22 µm e transferida para frasco de 2 mL com *insert* de 350 µL.
6. As amostras foram mantidas em repouso por 24 hr a 5 °C (geladeira).
7. As estirilpironas foram injetadas no cromatógrafo gasoso.

4.10 Análise por cromatografia gasosa com detecção por FID e MS

As análises por GC-FID e GC-MS foram realizadas com as estirilpironas após derivação com MSTFA. O injetor estava no modo *split* 1/25, a temperatura do detector foi mantida a 310°C.

Foi realizada uma rampa de aquecimento com uma taxa de 5,0 °C.min⁻¹. No início da corrida a temperatura foi mantida a 200 °C por 3 min, após esse tempo inicia-se o aquecimento terminando em 310 °C e esta temperatura é mantida por mais 6 min.

4.11 Determinação da configuração absoluta das estirilpironas

A determinação da configuração absoluta dos centros estereogênicos hidroxilados das estirilpironas seguiu as etapas listadas abaixo e esquematizadas nas Figuras 18 - 22:

1. Preparação dos ésteres de MPA;
2. Preparação de acetonídeos para determinar a configuração relativa;
3. Purificação das substâncias após reações;
4. Obtenção dos espectros de RMN e dicroísmo circular eletrônico;
5. Análise dos dados de RMN aplicando a metodologia adequada para propor a configuração absoluta a partir das estirilpironas derivadas (Figura 13 e Figura 14).
6. Hidrólise do anel lactônico e repetição do item 1 para determinar a configuração do centro estereogênico em C6.

Figura 18 - Planejamento para análise configuracional da estirilpirona desacetilcriptocarialactona (1).

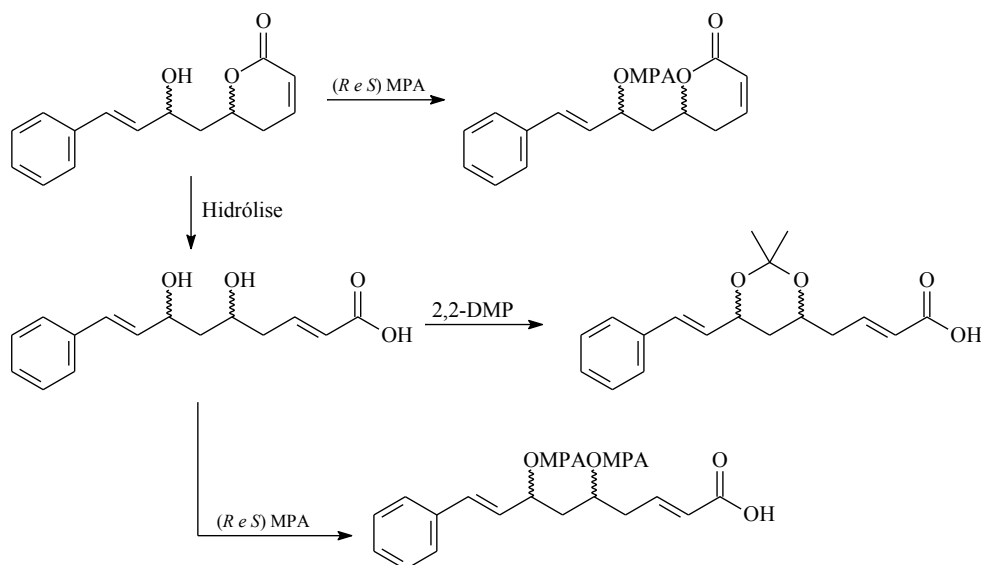


Figura 19 - Planejamento para análise configuracional da estirilpirona criptomoscatoa D1 (2).

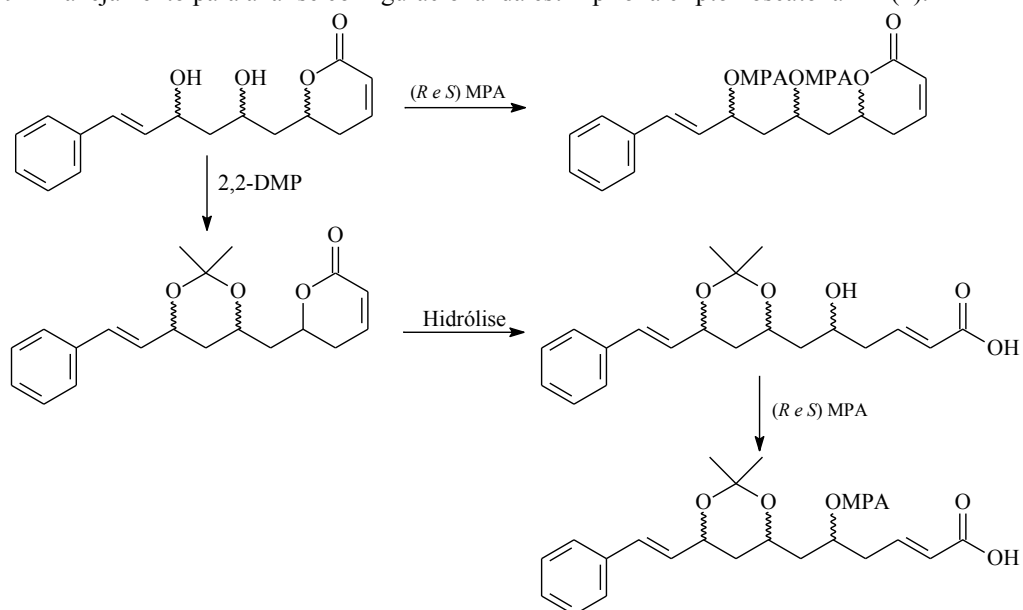


Figura 20 - Planejamento para análise configuracional das estirilpironas criptomoscatoa E2 (3) e criptomoscatoa E1 (4).

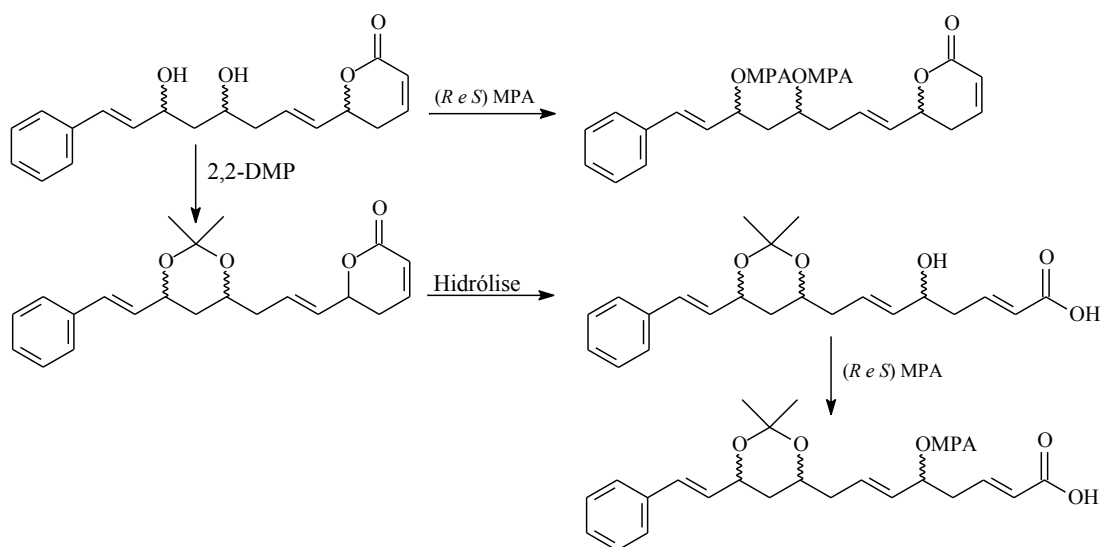


Figura 21 - Planejamento para análise configuracional da estirilpirona criptomoscatoana E3 (**5**).

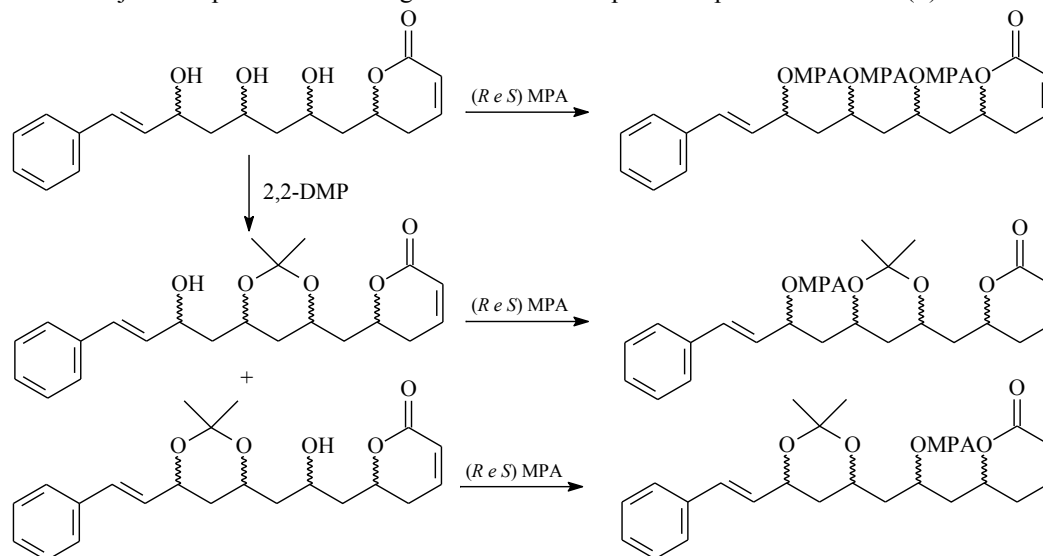
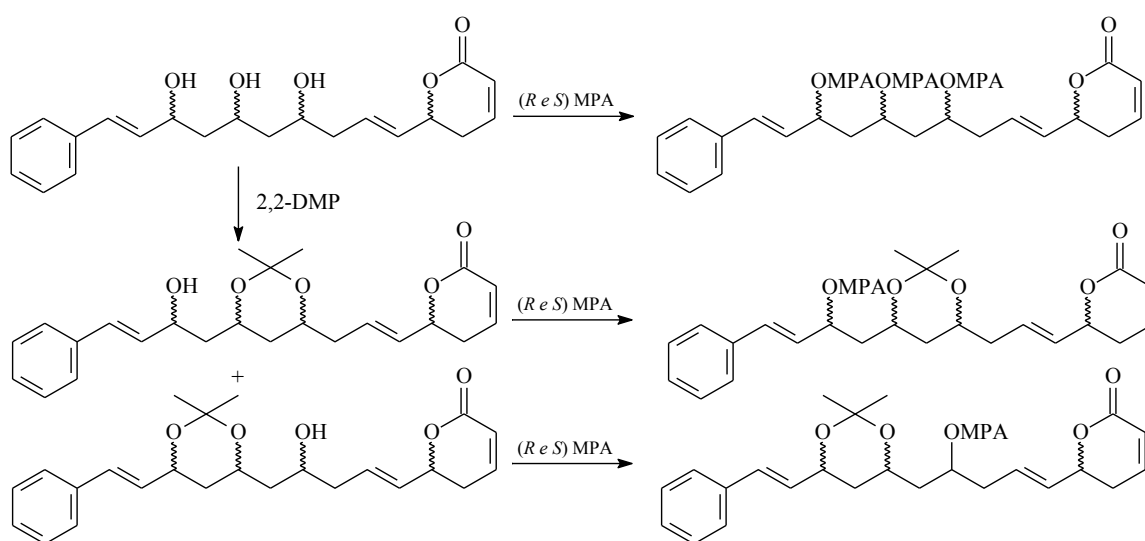


Figura 22 - Planejamento para análise configuracional da estirilpirona criptomoscatoana F1 (**6**)



4.11.1 Preparação dos ésteres de MPA de estirilpironas

As estirilpironas foram esterificadas com ácido (*R*)- e (*S*)-MPA. Resumidamente, a solução de estirilpirona (1 equiv) em diclorometano seco, na presença de cloridrato de EDC (2,2 equiv para cada hidroxila) e DMAP catalítico, sob atmosfera de $N_{2(g)}$, foi adicionada a uma solução de MPA (2,2 equiv para cada hidroxila), também em diclorometano seco. A mistura foi mantida sob agitação por 3-8 horas. A seguir, a fase orgânica foi lavada sequencialmente com água, HCl (1 M), água, $NaHCO_3$ (sat) e água novamente, então seca com Na_2SO_4 e concentrada a vácuo em rota evaporador (FREIRE et al., 2007a). As

estirilpironas esterificadas foram purificadas por CLAE preparativo ou CCD preparativo. Todos os compostos foram analisados por RMN (1D e 2D) e dicroísmo circular eletrônico.

4.11.2 Preparação do acetnídeo

Aproximadamente 10 mg das estirilpironas foram dissolvidas em 2,2-DMP e a elas foi adicionada quantidade catalítica de ácido *p*-toluenosulfônico. A reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente durante 2-4 horas. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO₃, seguida de água. A fase orgânica foi concentrada até evaporação total do solvente e o acetnídeo obtido, após dissolução em solvente deuterado (CDCl₃), submetido a análise por RMN de ¹H e ¹³C e dicroísmo circular (SABITHA; GOPAL; YADAV, 2008)

4.11.3 Hidrólise do anel pirônico

A etapa de hidrólise é utilizada para abrir o anel pirônico, obtendo-se os δ-hidróxi ácidos correspondentes, e subsequente avaliação da configuração absoluta em C6, através da preparação dos ésteres de MPA. Os resultados obtidos foram confrontados com as análises de dicroísmo circular eletrônico.

À solução de estirilpirona em MeOH adicionou-se uma solução 0,2 M de NaOH, gota a gota com pipeta Pasteur. A mistura foi mantida sob agitação, a reação foi acompanhada por CCDC e, quando necessário, mais solução de NaOH foi adicionada. Após o término da reação, foi adicionado HCl 1M para neutralizar o meio e em seguida realizou-se uma extração líq/líq do meio reacional aquoso com diclorometano, para extração do produto da hidrólise. (COLLETT et al., 1997; KHURANA; CHAUHAN; BANSAL, 2004).

4.11.4 Análise por dicroísmo circular eletrônico (CD)

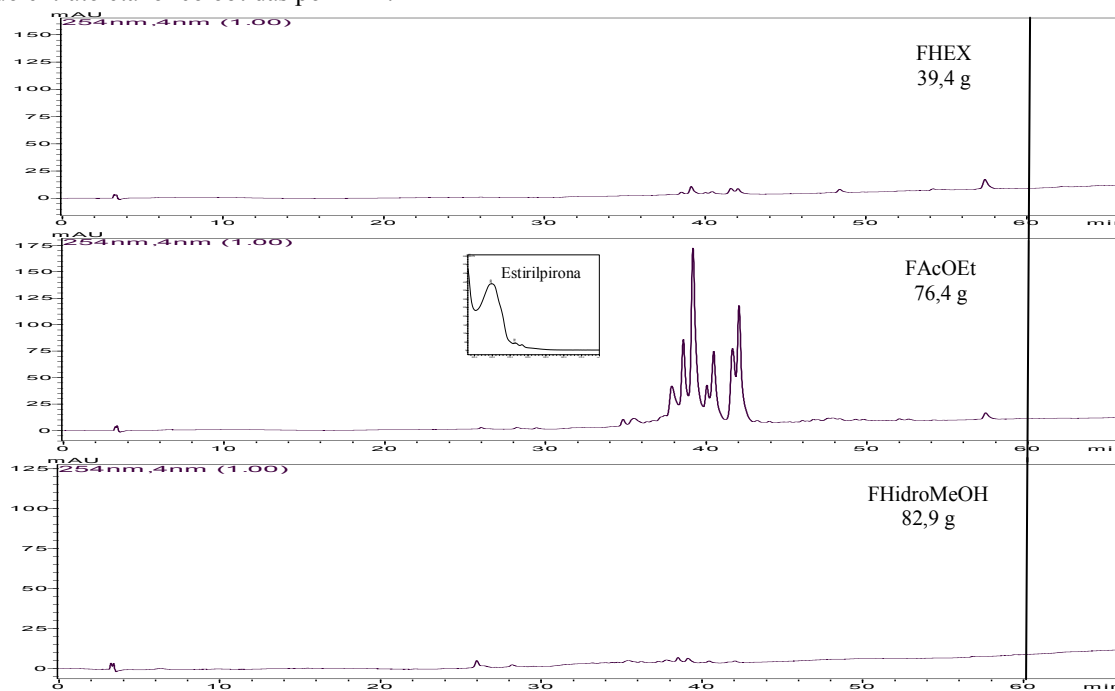
Todas estirilpironas foram solubilizadas em metanol na concentração de 0,2-0,3 mg.mL⁻¹ e analisadas por CD.

5 RESULTADOS e DISCUSSÃO

5.1 Fracionamento do extrato etanólico e purificação das estirilpironas

O processo de preparação do extrato EtOH, a partir de 1,0 kg de folhas secas de *C. mandioccana*, rendeu 197,0 g (19,7 %) de extrato, que foi inicialmente fracionado por ELL, fornecendo 39,4 g (19,9%) da fração hexânica (FHex), 76,4 g (38,7%) da fração acetato de etila (FACoEt) e 82,9 g (42,0%) da fração hidrometanólica (FHidroMeOH). Na análise dessas frações por CLAE-DAD verificou-se que as estirilpironas ficaram concentradas na FACoEt (Figura 23). Essa fração foi então submetida à EFS em sílica.

Figura 23 - Cromatogramas em CLAE-DAD analítico, modo reverso (C-18), registrados em 254 nm, das frações do extrato etanólico obtidas por ELL.



O fracionamento da FACoET foi realizado por EFS em sílica gel segundo gradiente de eluição descrito na Tabela 1. A Tabela 2 apresenta os valores de massa de cada fração obtida e o rendimento do processo. As frações de F6 até F9 são as que apresentaram maior rendimento e também nelas ficaram concentradas as estirilpironas, novamente localizadas devido a seus espectros no UV característicos (Anexo 1). Na fração 6 ficaram concentradas as estirilpironas mono e di-hidroxiladas, purificadas subsequentemente por CLAE preparativo.

Tabela 2 - Balanço de massa da EFS-Si e rendimento em porcentagem de cada fração.

Fração/ Solvente/Proporção	Massa (mg)	Rendimento (%)
F1: Hexano	15,7	0,02
F2: Hex/AcOEt (95:5)	11,0	0,01
F3: Hex/AcOEt (90:10)	90,8	0,12
F4: Hex/AcOEt (80:20)	560,2	0,73
F5: Hex/AcOEt (60:40)	1046,7	1,37
F6: AcOEt	8937,4	11,7
F7: AcOEt/MeOH (95:5)	13834	18,1
F8: AcOEt/MeOH (80:20)	37611	49,2
F9: AcOEt/MeOH (60:40)	14477	18,9
F10: MeOH	2780	3,64
F11: MeOH/H ₂ O	1570	2,05
SOMA	80933,8	105,8

A seguir a F8 foi submetida a CC de sílica. Após CC, nas subfrações 9 a 20 foi observado a presença de precipitados quando essas eram solubilizadas em metanol. Telascrêa (2006) identificou esse precipitado como sendo os flavonóides (5-hidróxi- 3,7,4-trimetóxi-flavona e 5-hidróxi-7,4'-dimetóxi-flavanona). A Figura 24 apresenta os cromatogramas das frações após serem reunidas por comparação por CCDC. As estirilpironas tri-hidroxiladas foram detectadas nas frações de 16 a 44, a partir da comparação do tempo de retenção com padrões disponíveis no laboratório. A Tabela 3 apresenta o balanço de massa das subfrações após reuni-las de acordo com o perfil cromatográfico obtido por CCDC.

5.2 Purificação das estirilpironas por CLAE preparativo

As estirilpirona **1** (100 mg), **2** (100 mg), **3** (100 mg) e **4** (40 mg) foram obtidas após 14 injeções em CLAE preparativo da fração F6 após pré-tratamento da fração por EFS-C18. A Figura 25 apresenta os cromatogramas no modo isocrático analítico e preparativo, e os cromatogramas no modo gradiente das substâncias após purificação. As substâncias apresentaram um alto grau de pureza após purificação.

As estirilpironas **5** (400 mg) e **6** (250 mg) foram purificadas a partir das sub-frações F8CC19-21, F8CC22-24, F8CC25 e F8CC26-33 obtidas da CC da fração F8. A Figura 26 apresenta os cromatogramas no modo isocrático preparativo e os cromatogramas no modo gradiente das substâncias após purificação. As substâncias apresentaram um alto grau de pureza após purificação.

Tabela 3 - Balanço de massa da cromatografia em coluna da fração F8 e rendimento em porcentagem de cada fração obtida.

Fração	Massa (mg)	Rendimento (%)	Fração	Massa (mg)	Rendimento (%)
4	9,2	0,049	49	64,6	0,34
5	4,9	0,026	50	102,2	0,54
6	3,6	0,019	51	88,2	0,47
7	3,1	0,016	52	120,5	0,64
8	3,6	0,019	53	96,9	0,52
9	337,4	1,79	54	97,1	0,52
10	251,2	1,34	55	84,9	0,45
11-12,	275,6	1,47	56	78,7	0,42
13-14	134,3	0,71	57	87,4	0,46
15	62,5	0,33	58	77,4	0,41
16-18	237	1,26	59	54,7	0,29
19-21	312,8	1,66	60	53,8	0,29
22-24	562,3	2,99	61	49,4	0,26
25	251,1	1,34	62	1576	8,38
26-29	641,3	3,41	63	398,4	2,12
30-33	399,7	2,13	64	1900,0	10,1
34-38	477,2	2,54	65	858,6	4,57
39-44	979,2	5,21	66	539,5	2,87
45	96,8	0,51	67	279,3	1,49
46	69,9	0,37	68	125,2	0,67
47	81,7	0,43	69	69	0,37
48	66,4	0,35	70	57,8	0,31
Total				12120,40	64,47

Figura 24 - Cromatogramas das frações da CC da fração F8, obtidos em CLAE-DAD fase reversa C-18 e registrados em 254 nm. ● Flavonóides, ★ Estirilpironas

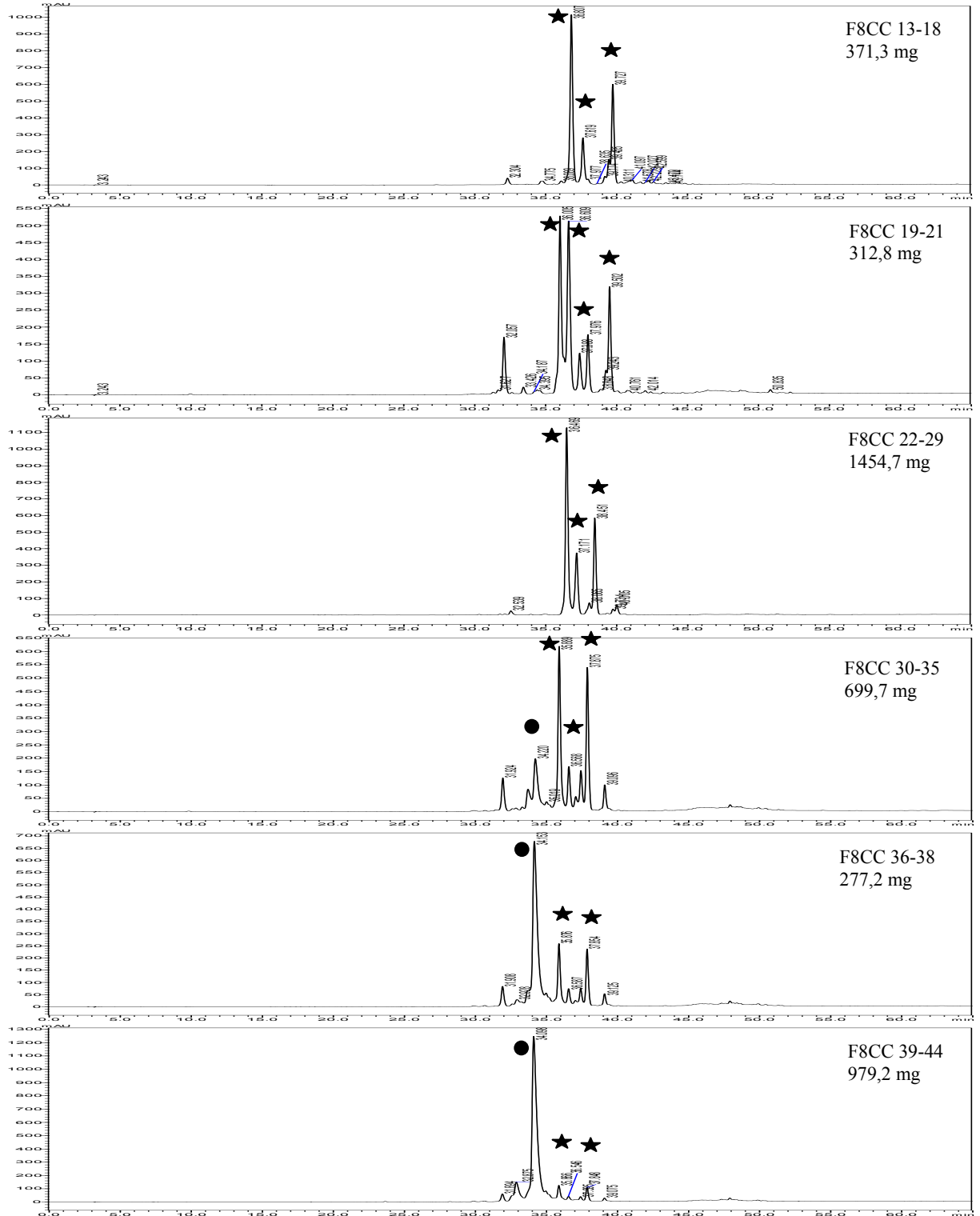


Figura 25 - Cromatogramas da fração F6 no modo analítico isocrático e preparativo para isolamento das substâncias **1**, **2**, **3** e **4** e cromatogramas analíticos após purificação no modo gradiente, registrado em 254 nm.

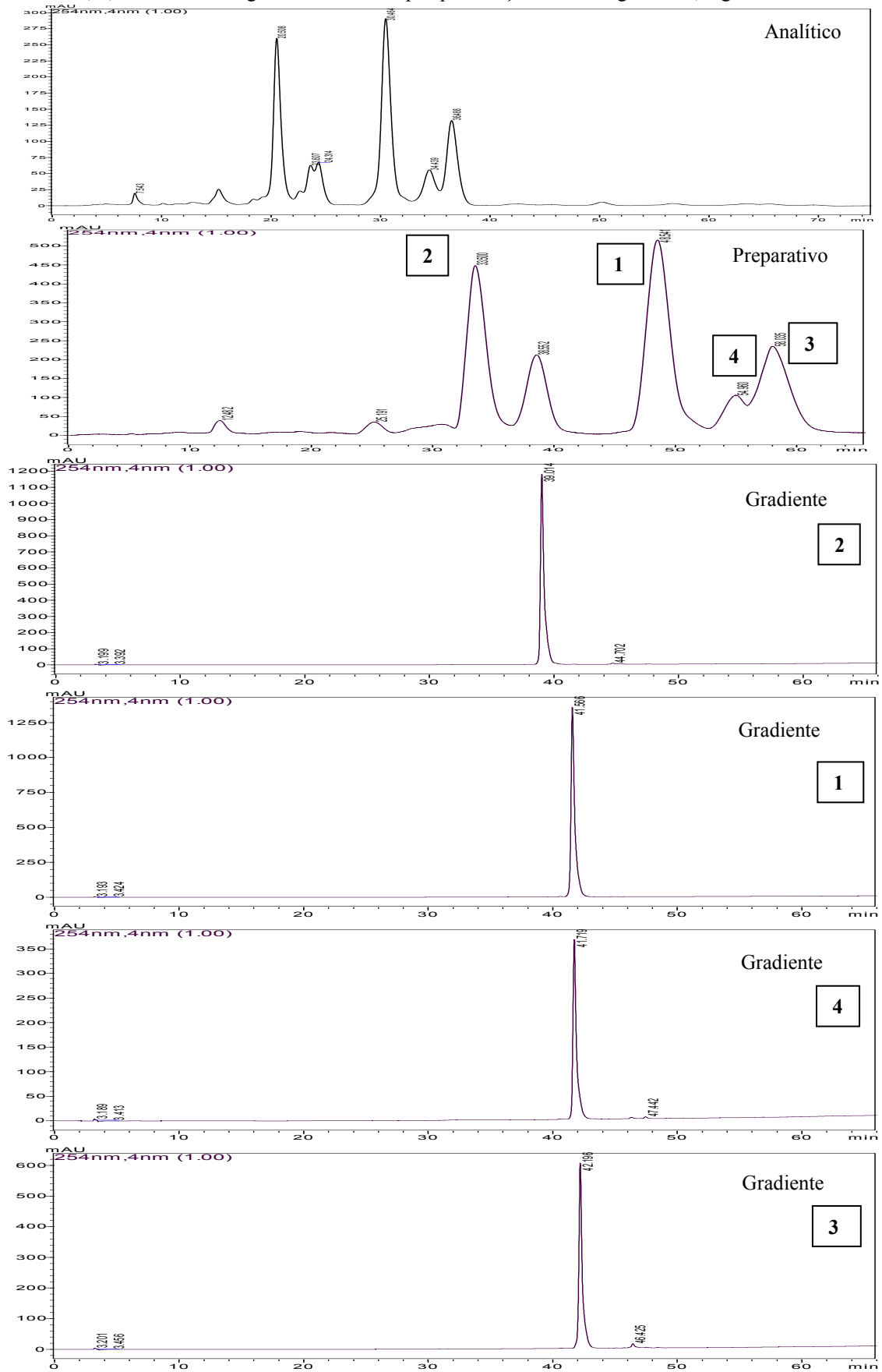
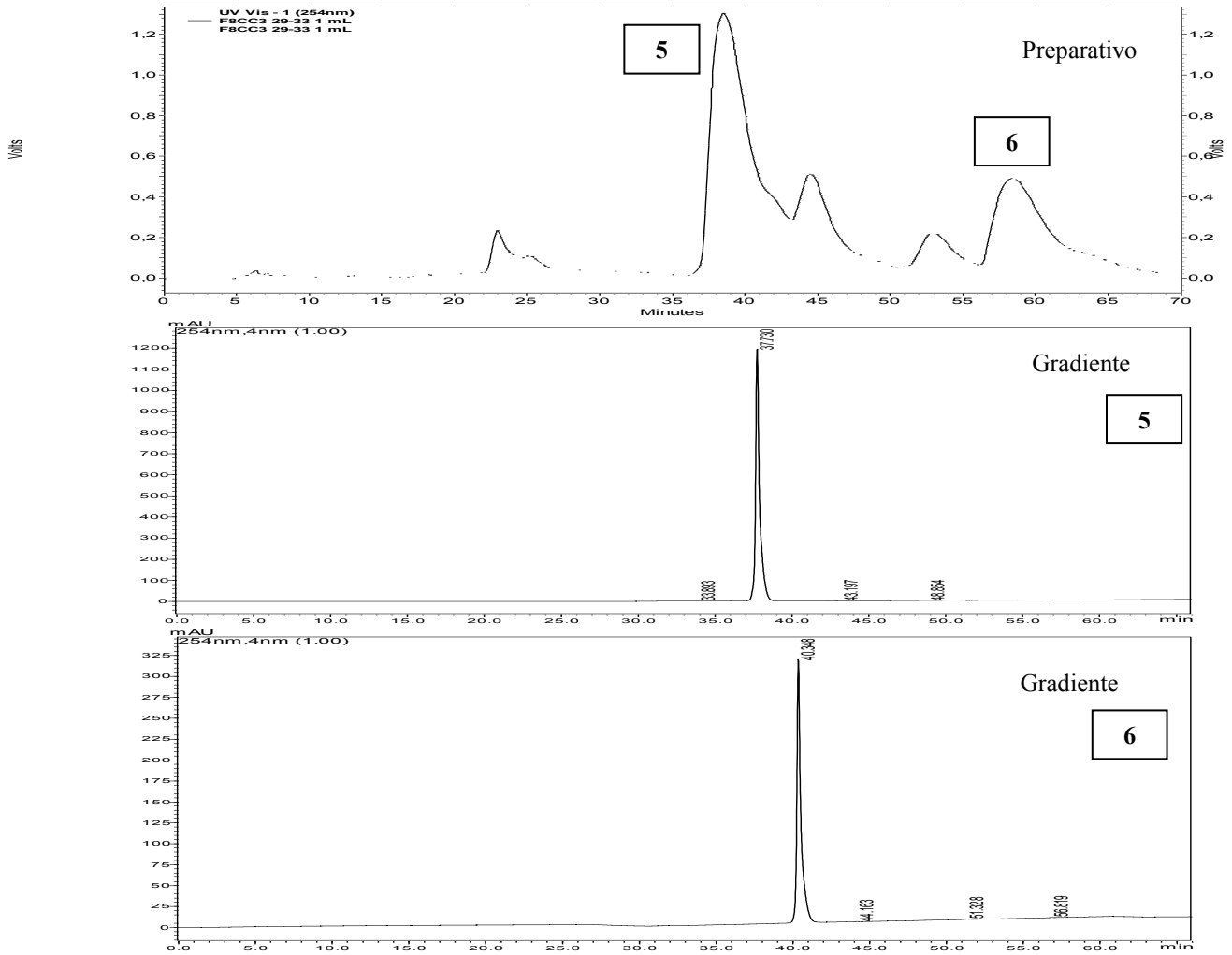


Figura 26 - Cromatograma preparativo para isolamento das estrilpironas **5** e **6** e cromatogramas analítico após purificação no modo gradiente, registrado em 254 nm.



5.3 Estudo do Mecanismo de Fragmentação das Estirilpironas por Eletrospray (ESI)

Ao analisar as estirilpironas por espectrometria de massas utilizando ionização por eletrospray, modo positivo, foram observados íons referentes à molécula cationizada com sódio $[M+Na]^+$ e com potássio $[M+K]^+$, além do íon referente à molécula protonada menos uma molécula de água $[M+H-H_2O]^+$. No entanto, o íon $[M+Na]^+$ aparece sempre mais intenso, enquanto os demais são difíceis de distinguir do ruído em alguns casos. Neste estudo foram avaliadas apenas as estirilpironas **1**, **2**, **3**, **5** e **6** nos equipamentos micrOTOF QII e LCQ Fleet (*íon trap*).

5.3.1 Fragmentação das Estirilpironas Protonadas

Uma característica importante notada nos espectros de massas de íons totais de todas as estirilpironas estudadas é o fato de não apresentarem o íon referente às moléculas protonadas $[M+H]^+$, mas sim das moléculas protonadas menos uma molécula de água $[M+H-H_2O]^+$, ou seja, pode estar ocorrendo uma dissociação na fonte de ionização (Figura 27). E isto pode ser explicado levando em consideração que uma diferença de potencial é aplicado no capilar, assim, o processo de ionização por ESI inicia-se ainda em fase condensada podendo ocorrer reações de dissociação, como neste caso.

O íon resultante da eliminação de H_2O na fonte foi submetido à CID e foram observadas eliminações neutras de moléculas de H_2O em sequência, lembrando que estirilpironas são poli-hidroxiladas. Sugere-se que estas eliminações ocorram de forma a manter um sistema conjugado com o grupo estireno. Por fim, ocorre a abertura do anel pirônico e novamente ocorre eliminação de H_2O formando um íon acílio, seguida de perda neutra de CO , gerando o íon $[M+H-nH_2O-CO]^+$ (Figura 28 e Figura 29). Similarmente, Crotti et al. (2004) estudaram o mecanismo de fragmentação de algumas lactonas saturadas e insaturadas de cinco membros, e observaram que o íon fragmento principal eram derivados de uma perda neutro de H_2O e CO .

Figura 27 - Espectro de massas em alta resolução da estirilpirona **2** obtido no equipamento microTOF QII.

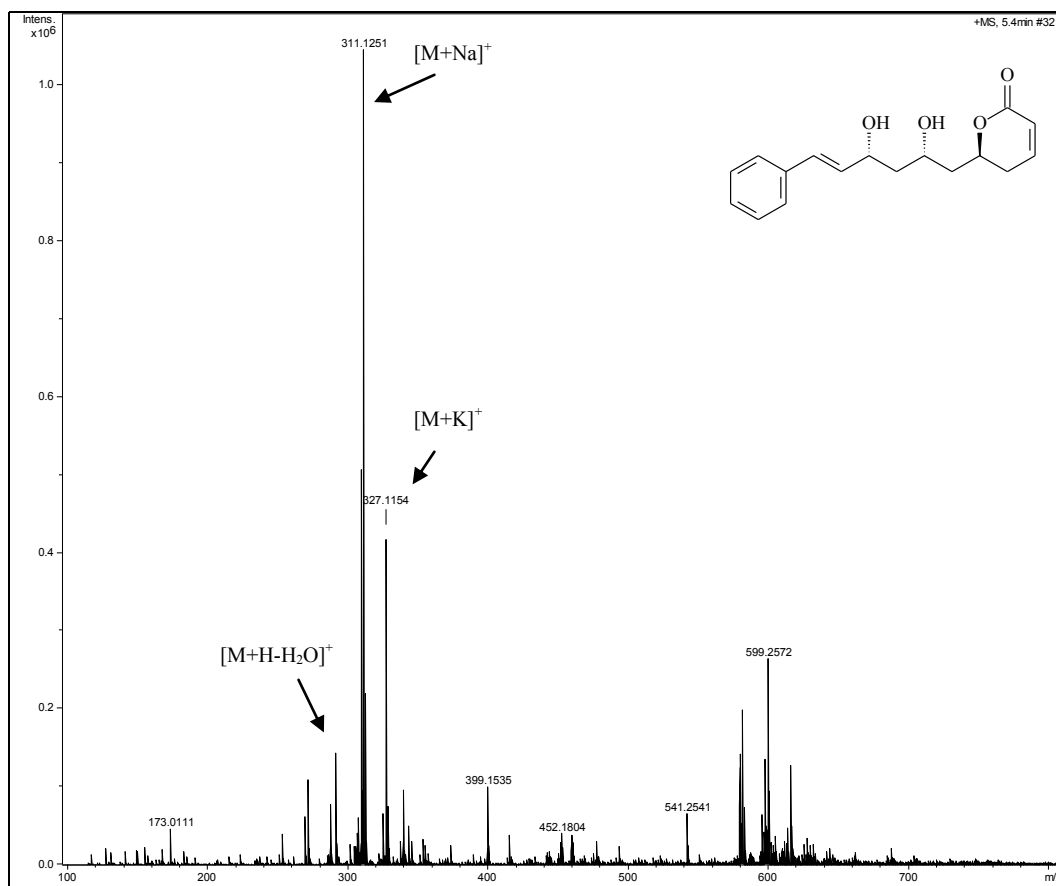


Figura 28 - Espectro MS/MS da espécie [M+H-H₂O] da estirilpirona desacetilriptomarilactona (**1**) obtido no equipamento *Ion Trap*.

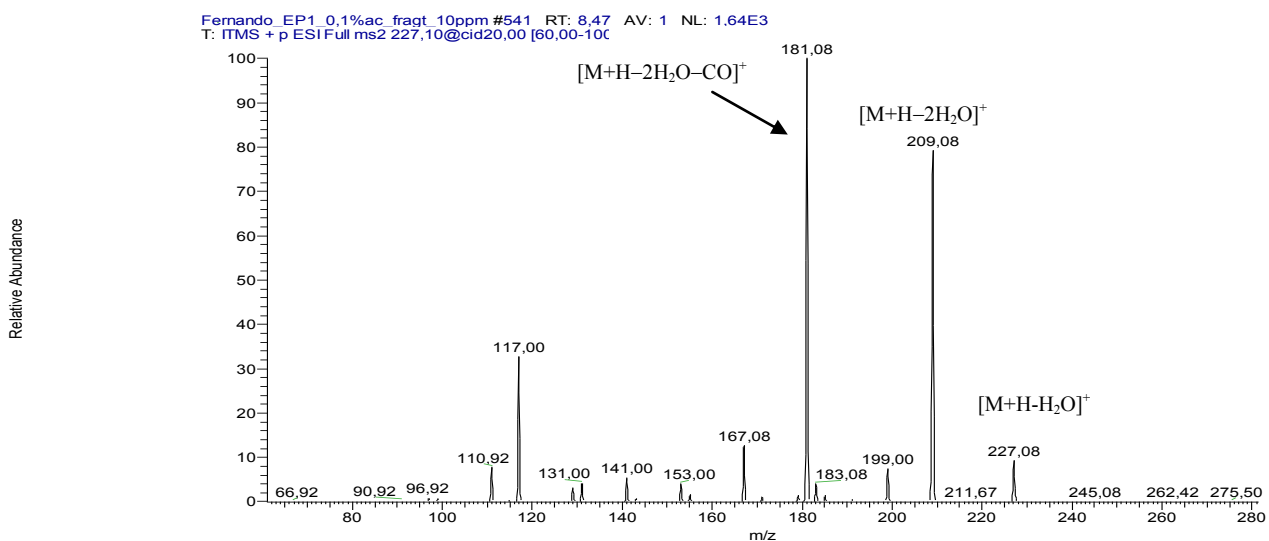
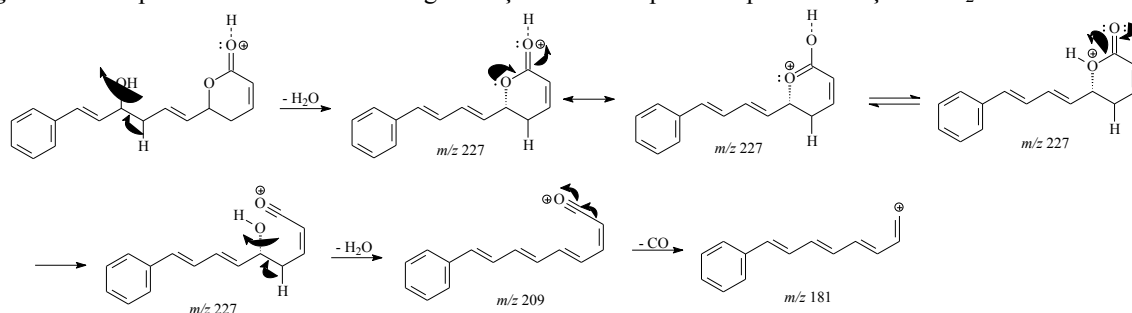


Figura 29 - Proposta do mecanismo de fragmentação das estirilpironas após eliminação de H₂O.



5.3.2 Fragmentação das Estirilpironas Cationizadas com Sódio

Para avaliar os sítios de protonação ou cationização de cada estirilpirona, as cargas atômicas foram traçadas em combinação com o mapa eletrostático molecular (MEP) (Figura 30) para as cinco estirilpironas selecionadas. As análises dos MEPs indicaram que o oxigênio carbonílico presente no anel lactônico é o átomo mais nucleofílico dessas moléculas. Assim, pôde-se sugerir que esse é o sítio de interação para o qual uma carga positiva poderia ser atraída (Figura 30). Esses resultados estão de acordo com os descritos na literatura para lactonas de cinco e seis membros (CROTTI et al, 2004; BOUCHOUX; LEBLANC, 1997; ESSEFFAR; MÓ; YÁNEZ, 2003; HUZINAGA, 1985).

Para entender as interações dessas moléculas com Na⁺, foram realizados os cálculos da estrutura eletrônica molecular com os possíveis sítios de interação. Três possíveis conformêros foram obtidos para as interações das estirilpironas com o cátion Na⁺. Para todas as moléculas, o conformêro mais estável foi aquele no qual o íon sódio interagiu com o oxigênio carbonílico (Figura 31 e Anexo 2). Esses resultados estão de acordo com as propostas de fragmentação dessas substâncias, onde os mecanismos sugeridos foram baseados na interação do íon Na⁺ com o oxigênio carbonílico, o que ocorreu de forma similar com todas as estirilpironas analisadas.

Figura 30 - Mapa do potencial eletrostático molecular (MEP) para as cinco estililpironas **1**, **2**, **3**, **5** e **6**. Regiões vermelhas são mais nucleofílicas.

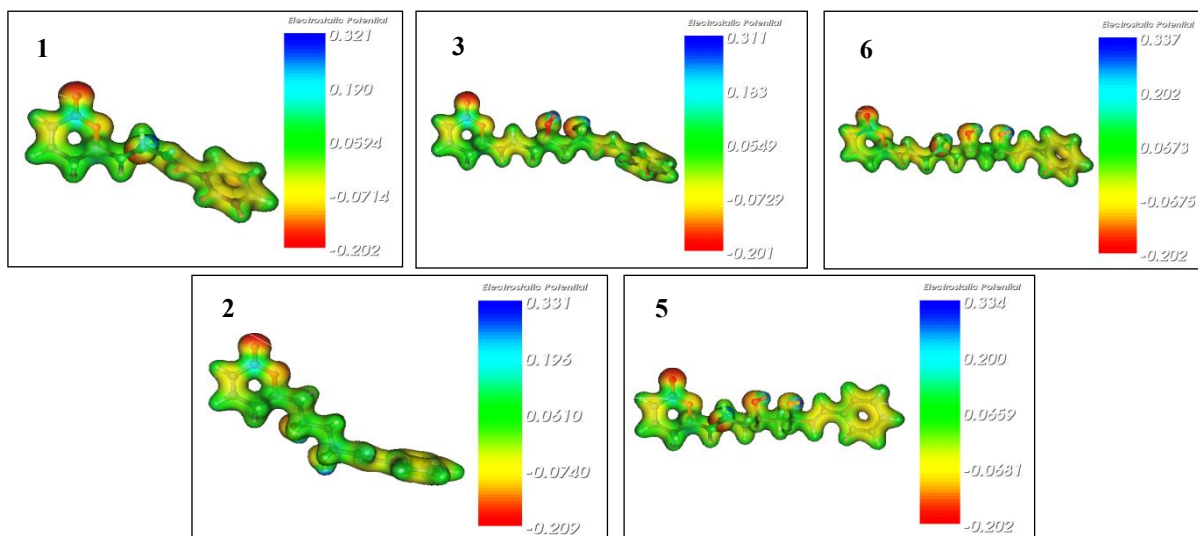
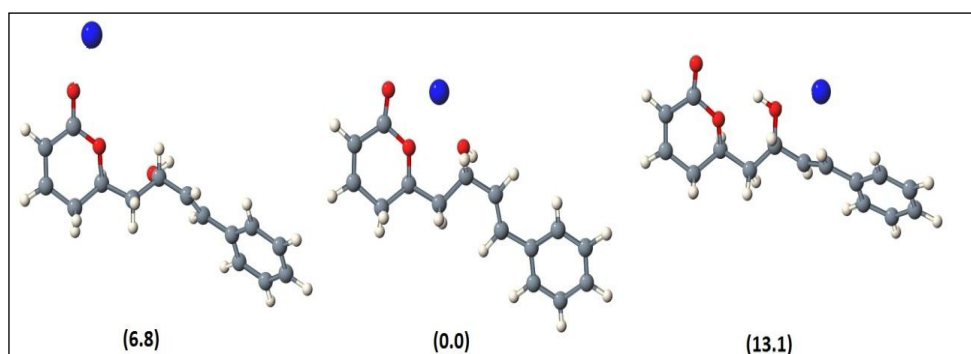


Figura 31 - Conformêros mais estáveis para a interação entre Na^+ e **1** obtidos pelo modelo B3LYP/6-31+G (d,p). Todos os valores são energias de Gibbs relativas, em kcal.mol^{-1} .



Todos os espectros de íons totais exibiram sinais relativos às estililpironas cationizadas com Na^+ e K^+ , sendo que os íons sodiados apresentam-se significativamente mais intensos, muitas vezes como pico base. Os sinais relativos à $[\text{M}+\text{Na}]^+$ foram obtidos em alta resolução, com erros de 2,37 ppm para **1**, 0,20 para **2**, 0,84 para **3**, 0,93 para **5** e 0,91 para **6**. (Tabela 4, Anexo 3-11).

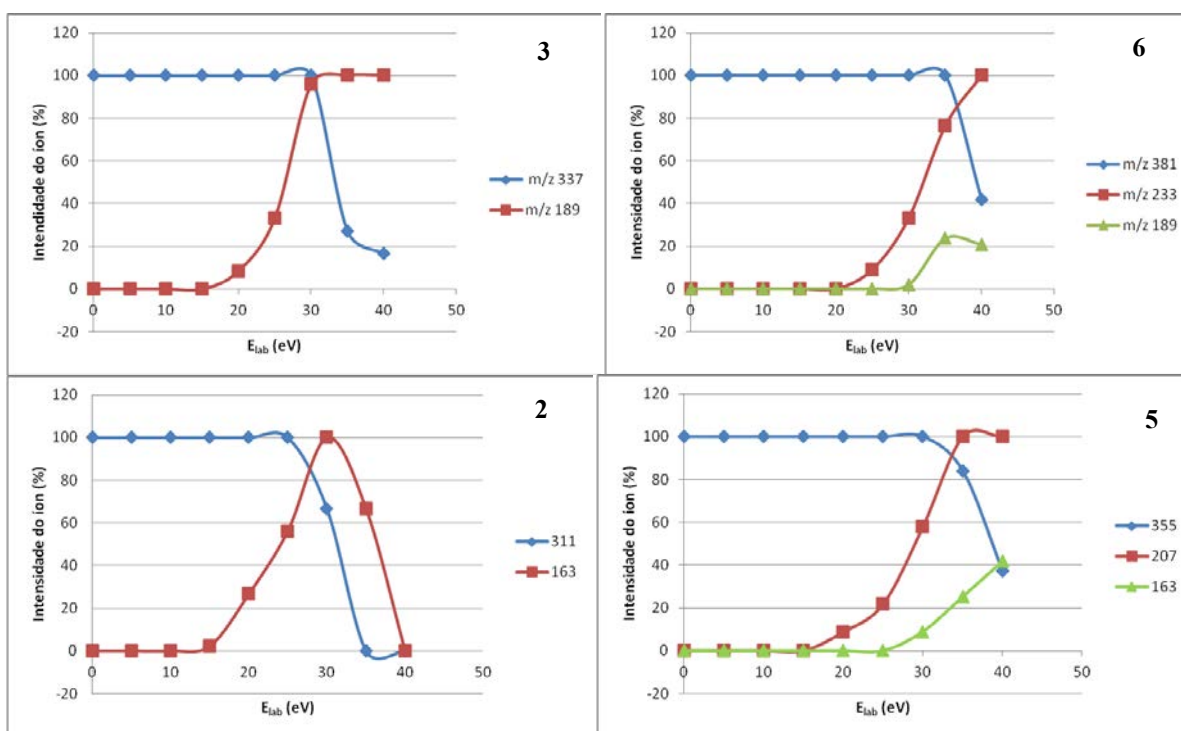
Tabela 4 - Espécies cationizadas observadas nos espectros de ESI-MS das estililpironas cationizadas.

Íon	1		2		3		5		6	
	Massa acurada	Massa exata	Massa acurada	Massa exata	Massa acurada	Massa exata	Massa acurada	Massa exata	Massa acurada	Massa exata
$[\text{M}+\text{Na}]^+$	267,0998	267,0992	311,1251	311,1254	337,1411	337,1410	355,1513	355,1516	381,1676	381,1672
$[\text{M}+\text{K}]^+$	283,1078	283,0731	327,1154	327,0993	353,1299	353,1150	371,1281	371,1255	397,1566	397,1412

O pico base gerado após CID é a espécie $[1+\text{Na}]^+$ independente do potencial aplicado (Anexo 1). Para esta substância não foi possível propor o mecanismo de fragmentação. Entretanto, essa espécie pode ser analisada em alta resolução, ou a partir da espécie $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$.

A variação da intensidade relativa dos íons moleculares cationizados com Na^+ em função da energia de colisão aplicada (E_{lab}) é apresentada na Figura 32. O valor ótimo para energia de colisão que proporciona o máximo de intensidade dos fragmentos MS^2 é de 30 eV para o equipamento micrOTOF QII.

Figura 32 - Intensidade relativa das espécies iônicas em função da energia de colisão aplicada sobre as estirilpironas cationizada com sódio: $[3+\text{Na}]^+$, $[6+\text{Na}]^+$, $[5+\text{Na}]^+$ e $[2+\text{Na}]^+$.

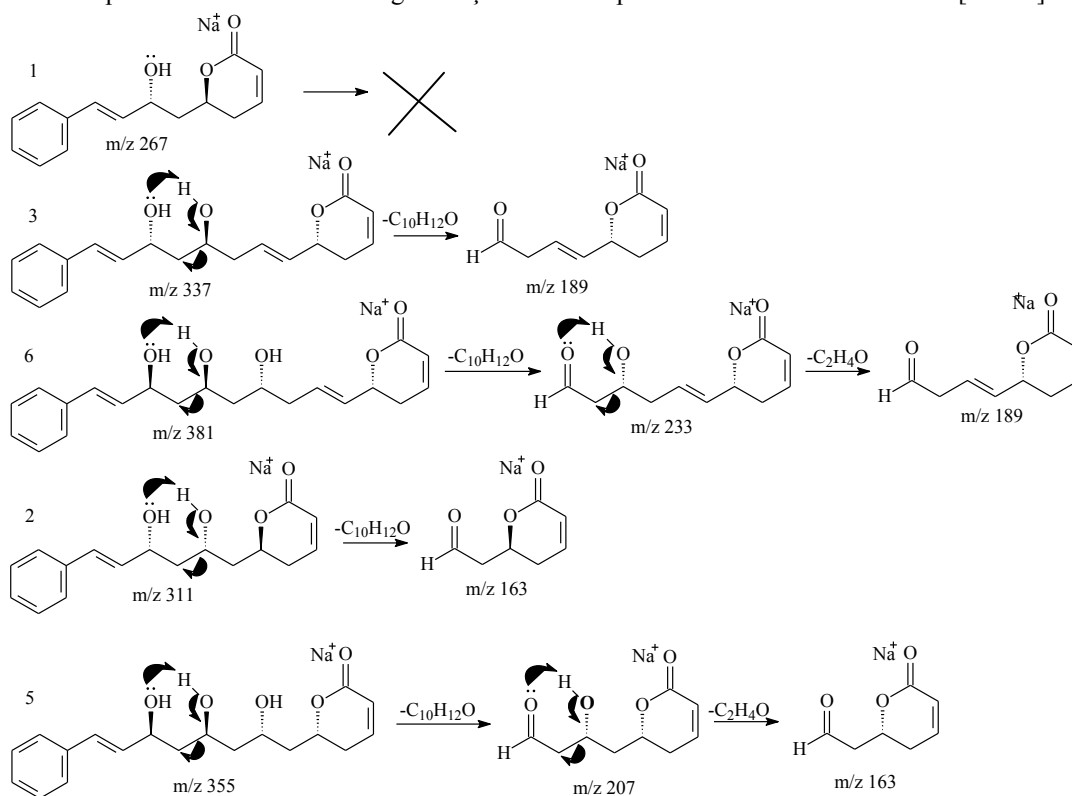


O íon molecular cationizado com Na foi bastante estável até 20 eV, quando o íon $[\text{M}+\text{Na}-148]^+$ começa a ser detectado. Para as estirilpironas **3** e **6**, os íons correspondentes a essa perda de massa têm m/z 189 e 233, respectivamente. Isso sugere uma perda neutra de 148u ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}$) (Figura 33). O potencial de colisão foi aumentado e a partir de 30 eV, foi detectado o íon com m/z 189 para a estirilpirona **6**, $[\text{6}+\text{Na}-148-44]$. Este resultado sugere uma perda neutra de acetaldeído e esse íon pode ser o mesmo daquele detectado da estirilpirona **3** (Anexo 9-11).

Similarmente aos casos acima, os espectros MS² das substâncias **2** e **5** exibem a mesma perda de 148u gerando os íons com *m/z* 163 e 207, respectivamente. O aumento no potencial de colisão resultou na detecção do íon com *m/z* 163 para a estililpirona **5**, [5+Na-148]⁺, referente a perda neutra de uma unidade de acetaldeído (Anexo 5-8). Assim, pôde-se sugerir a formação do mesmo íon para ambas estililpironas.

Consequentemente, foi observado um perfil de fragmentação comum entre as estililpironas homólogas di e tri-hidroxiladas quando cationizadas com sódio, uma vez que todas elas apresentaram perda de 148u após CID. As substâncias **5** e **6** sofreram uma segunda fragmentação com perda de 44u (Figura 33).

Figura 33 - Proposta do mecanismo de fragmentação das estililpironas cationizadas com sódio [M+Na]⁺.



De acordo com as propostas de fragmentação apresentadas acima, pode-se concluir que o espectro de massas de estililpironas homólogas, obtidos por ESI a 3,5 kV, modo positivo, apresentou como íon mais intenso aquele referente à molécula cationizada com sódio [M+Na]⁺ e, como íons diagnósticos secundário o fragmento [M+H-H₂O]⁺ oriundo da molécula protonada [M+H]⁺. A fragmentação subsequente (MS²) do íon [M+Na]⁺, foi obtida a partir de energias superiores a 20 eV, idealmente a 30 eV. Esse resultado fornece informações estruturais adicionais resultantes das perdas neutras da unidade referente ao ácido

cinâmico $[M+Na-148]^+$ e acetaldeído $[M+Na-148-44]^+$, enquanto que a fragmentação da espécie $[M+H-H_2O]^+$ resulta nos íons de eliminações sucessivas de moléculas água $[M+H-nH_2O]^+$ e seguida da perda de CO $[M+H-nH_2O-CO]^+$.

5.4 Estudo do mecanismo de fragmentação das estirilpironas derivadas com MSTFA com ionização por elétrons (EI)

A viabilidade de análise das estirilpironas por GC-FID foi avaliada após derivação das mesmas com MSTFA, obtendo-se os derivados trimetilsililados (TMS). Esta análise exploratória inicial foi bem sucedida (Figura 34), isto é, é possível analisar as estirilpironas homólogas de *Cryptocarya mandioccana* por cromatografia gasosa.

Em relação aos espectros de massas obtidos por EI, de uma maneira geral, o sinal referente ao íon molecular das estirilpironas sililadas são de baixa intensidade (m/z 316 para estirilpirona **1**) ou, na maioria dos casos, não detectados (Figura 34). O pico base para todos os derivados sililados é referente ao cátion trimetilsili (TMS) (m/z 73), enquanto os outros fragmentos podem ser explicados segundo o mecanismo de fragmentação de éteres, através da clivagem homolítica β em relação aos oxigênios ligados ao trimetilsilano. Este resultado é o esperado já que a carga positiva pode ser localizada no fragmento que contém o oxigênio e estabilizada por ressonância (Figura 35). Quando esta quebra ocorre próxima ao sistema estirênico, o íon com m/z 205 foi detectado. Este íon é comum a todas as estirilpironas derivadas estudadas.

Quando a clivagem homolítica ocorre entre os carbonos C2' e C3' das estirilpironas **2** e **5**, é formado o íon com m/z 213, que pode ser usado como indicativo da ausência de ligação dupla entre C1' e C2' das estirilpironas **3** e **6**. O íon com m/z 97 é resultante da clivagem da ligação C6-C1'.

Nos espectros de massas de íons totais obtidos para todas as estirilpironas também foi observado o íon com m/z 230, cuja formação ainda não foi possível explicar.

Desta forma, estes resultados são interessantes, pois contribuirá para o desenvolvimento de novo método de análise dessas estirilpironas visando analisá-las em misturas complexas de substâncias de média e alta polaridade por CG-MS. Além disso, esses podem ser complementares às análises por ESI-MS/MS discutidas anteriormente.

Figura 34 - Análise das estirilpironas derivadas por GC-MS.

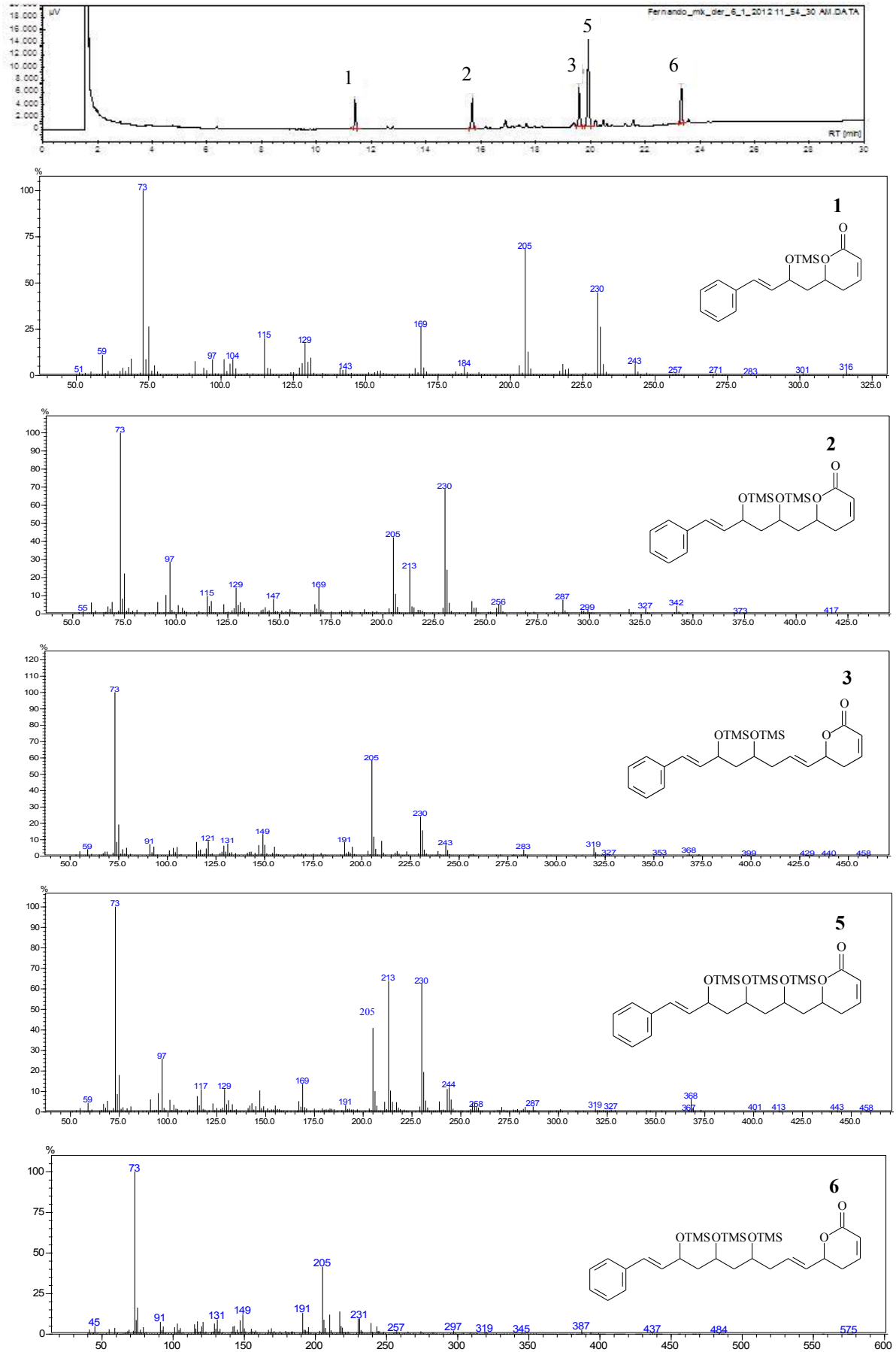
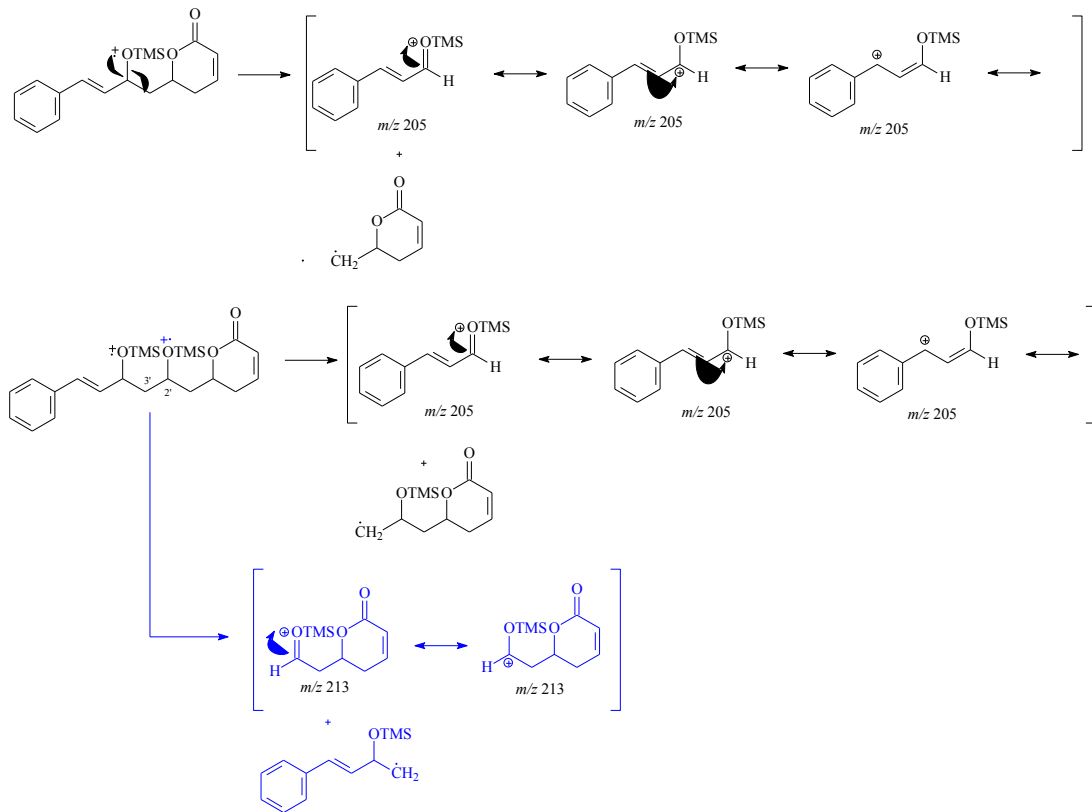


Figura 35 Proposta do mecanismo de fragmentação das estililpironas após reação de sililação analisadas por CG-MS com ionização por EI.



5.5 Análise configuracional das estirilpironas

A determinação da configuração absoluta dos centros estereogênicos hidroxilados das cadeias laterais das estirilpironas foi realizada aplicando os modelos já estabelecidos e muito bem detalhados nos trabalhos de Seco, Qui oá e Riguera (2004) e (2012) (Figura 13, pag. 32 e Figura 14, pag 33).

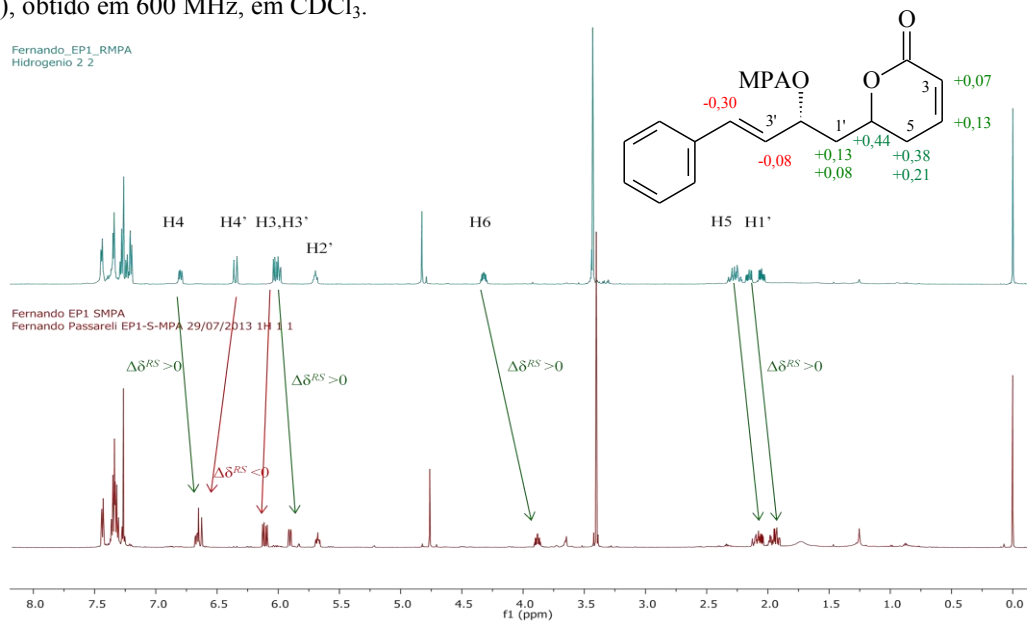
A atribuição dos sinais de RMN de ^1H foi feito com o auxílio dos experimentos de HSQC, HMBC e COSY (Anexo 13-160). A configuração absoluta em C6 do anel pirônico foi determinada por dicroísmo circular eletrônico e confirmada através preparação do derivado acetônio ou MPA após reação de hidrólise.

5.5.1 Substância mono-hidoxilada - Estirilpirona 1

A Figura 36 apresenta os espectros de RMN de ^1H da substância **1** após derivação com *R* e *S*-MPA (Anexos 35-44).

A variação de deslocamento químico para os hidrogênios H3, H4, H5, H6 e H1' é positiva e negativa para os hidrogênios H3' e H4'. Assim, os ligantes são posicionados de acordo e com o modelo (Figura 13, pag. 32) e a regra de ordem de prioridade criada por Cahn-Ingold-Prelog para o sistema *R* e *S* foi aplicada. A estirilpirona **1** tem configuração *R* em C2', sendo esta configuração a mesma da substância isolada de *C. myrtifolia* (DREWES et al.; 1998).

Figura 36 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona **1** após esterificação com *(-R)* MPA (acima) e *(S)* MPA (abaixo), obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .



5.5.2 Substâncias di-hidroxiladas - Estirilpironas 2, 3 e 4

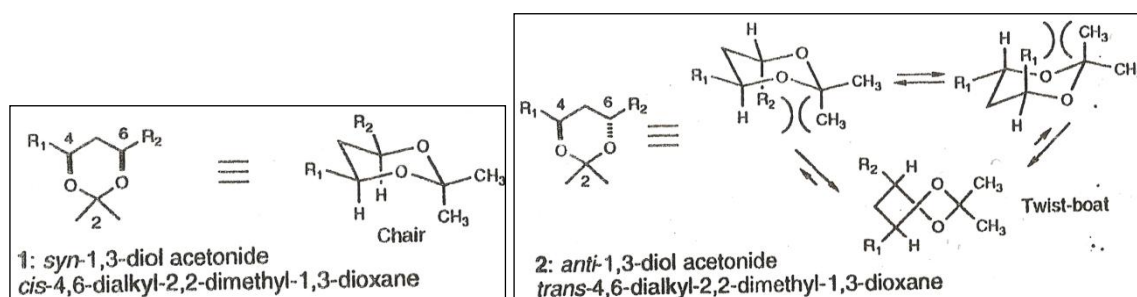
Para as substâncias poli-hidroxiladas, primeiramente foram analisadas as configurações relativas dos centros estereogênicos, a partir da reação de formação de acetonídeo.

As substâncias com configuração *syn* apresentam o deslocamento químico de RMN de ^{13}C de uma das metilas do acetonídeo em torno de 19 ppm, enquanto que a outra esta em torno de 30 ppm, e o carbono do cetel tem o sinal em torno de 99 ppm. Para a configuração *anti* os valores de deslocamentos químicos para as duas metilas são identificados de 24 a 25 ppm e o valor para o carbono cetel ligeiramente acima de 100 ppm (RYCHNOVSKY; AKALITZKY, 1990; EVANS; RIEGER; GAGE, 1990; RYCHNOVSKY; ROGERS; YANG, 1993).

Essa diferença entre uma configuração e outra se deve principalmente a conformação dos acetonídeos formados. Na configuração *syn* a substância permanece em uma conformação tipo cadeira, preferencialmente, em que os ligantes mais volumosos permanecem na posição equatorial. Na configuração *anti*, a conformação adotada é a bote torcido, isto devido aos efeitos estéricos entre as metilas ligadas ao carbono cetel e os substituintes da molécula original (Figura 37).

As Figura 38 e Figura 39 apresentam os espectros de RMN de ^{13}C obtidos para as substâncias 2, 3 e 4 após reação com 2,2-DMP, respectivamente. A análise dos sinais relativos às metilas e ao carbono cetel para a substância 3 sugere a configuração relativa *anti*, enquanto que para a 2 e 4 a configuração é *syn*.

Figura 37 - Conformação dos acetonídeos com configuração *syn* e *anti*.



Fonte: Rychnovsky; Rogers; Yang (1993)

Figura 38 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona **2** após reação de formação de acetoneído obtido em 75 MHz, em CDCl_3 .

fernandoP_EP8acet_c
Fernando Passarelli EP8-Acetonideo 10/09/2012

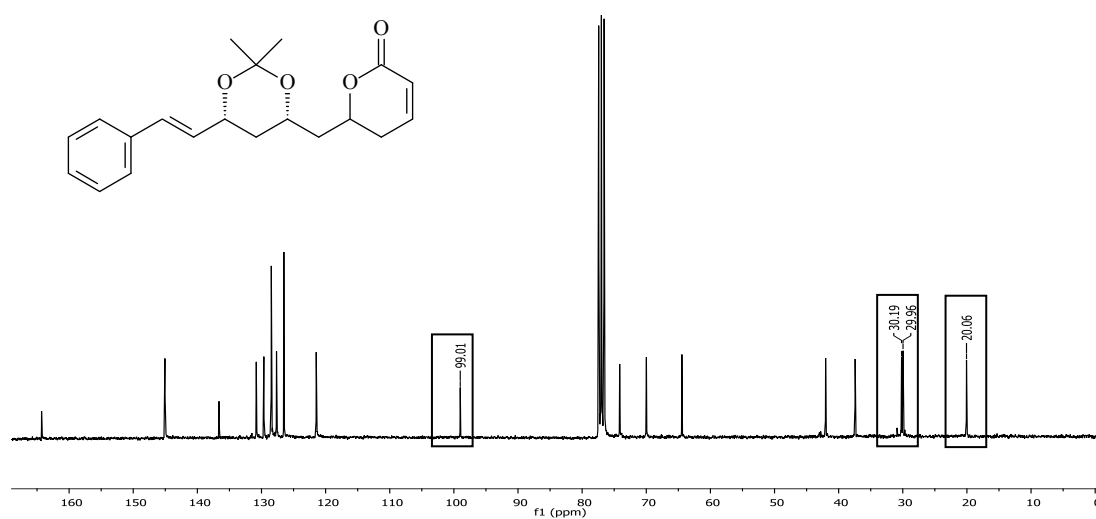
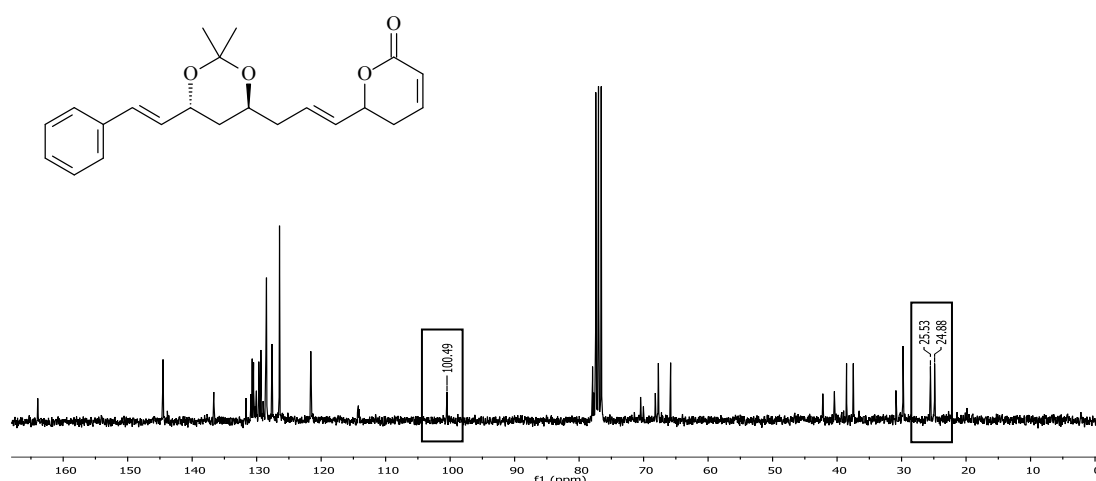
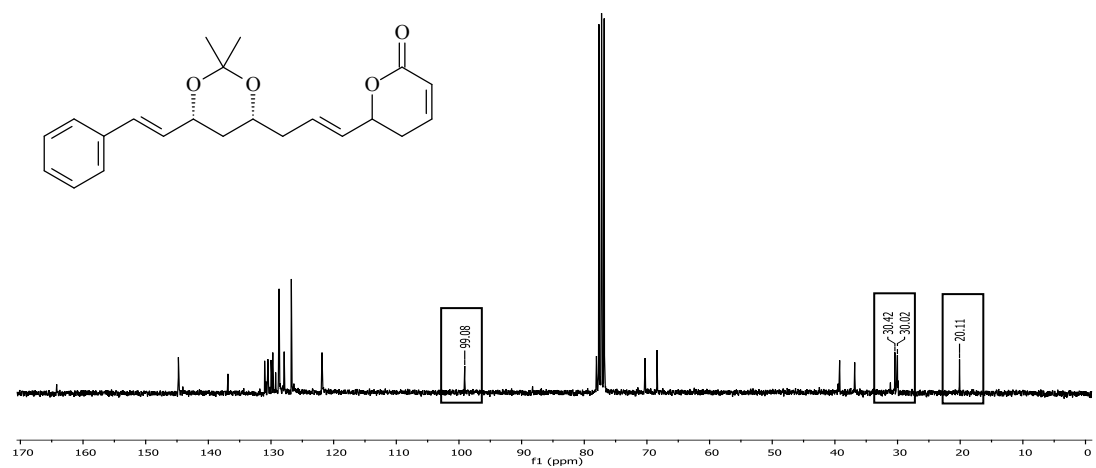


Figura 39 - Espectros de RMN de ^{13}C da estirilpirona **3** e **4** após reação de formação de acetoneído, obtido em 75 MHz, em CDCl_3 , respectivamente.

fernandoP_EP2Acet_c
Fernando Passarelli EP2-Acetonideo 10/09/2012

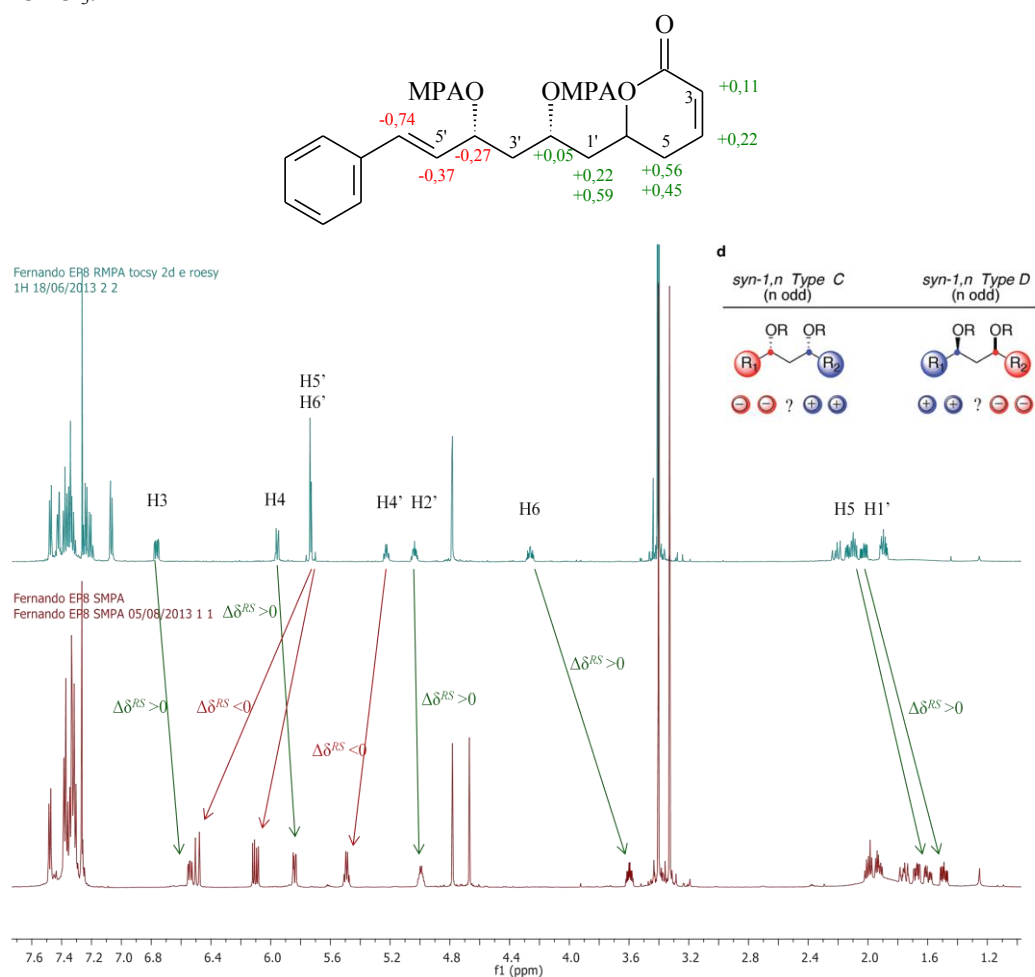


FernandoP_F6P04_Acetonideo_13C
FernandoP_F6P04_Acetonideo_10/10/2012



Os espectros de RMN de ^1H relativos à estirilpirona **2** após derivação com o reagente (*R*) e (*S*)-MPA podem ser vistos na Figura 40 (Anexos 45-54). De acordo com o modelo para substância di-hidroxiladas (Figura 14 pag. 33), avaliam-se apenas os hidrogênios ao redor dos centros estereogênicos hidroxilados. Assim, a $\Delta\delta^{RS}$ foi positiva para os hidrogênios H3, H4, H5, H6, H1' e H2' e negativa para os hidrogênios H4', H5' e H6'. Dessa forma, o modelo “*d*” foi aplicado, e a configuração absoluta foi assinalada como *S* para o centro C2' e *R* para o centro C4'. Esta configuração é a mesma da substância sintetizada por Novaes et al. (2014) e isolada por Cavalheiro e Yoshida (2000), conhecida como criptomoscatoa D1.

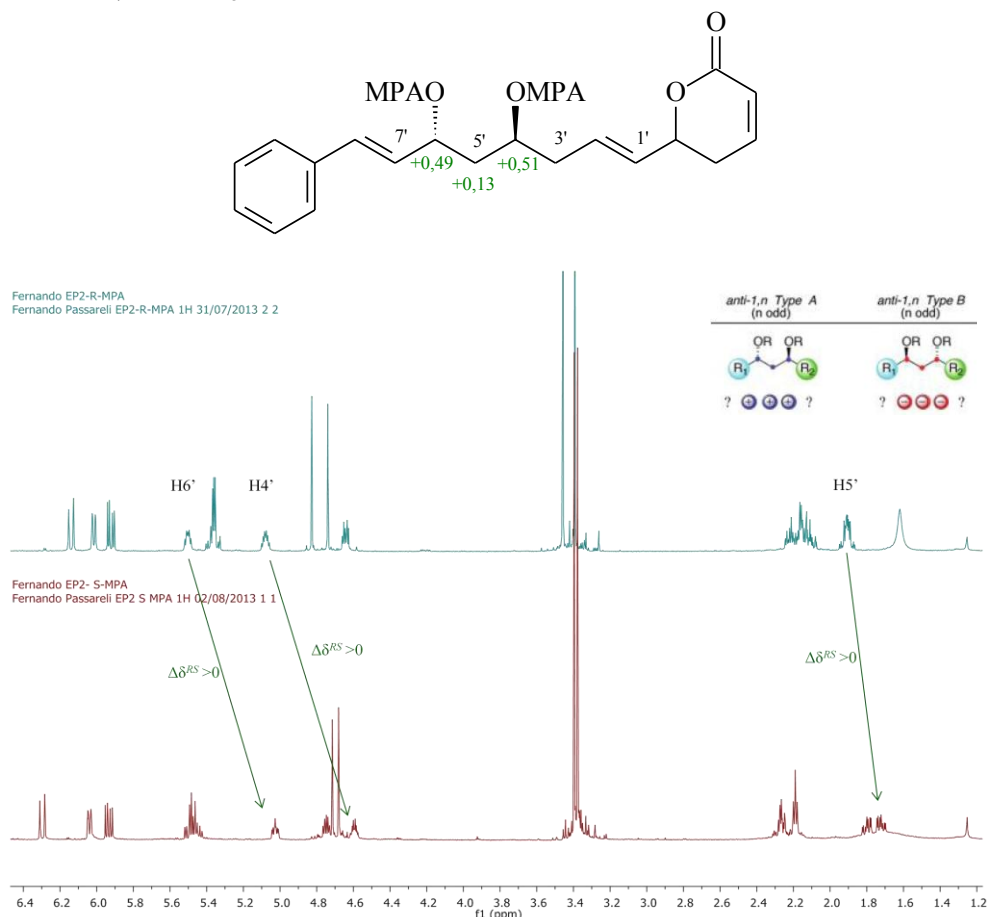
Figura 40 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona **2** após esterificação com (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .



A seguir são apresentados os resultados da análise dos espectros de RMN de ^1H da substância **3** após derivação com *R* e *S*-MPA (Figura 41, Anexos 65-74). No caso dessa substância, que tem a configuração relativa *anti*, foram analisados apenas os hidrogênios H4', H5' e H6' conforme o modelo “*c*” (Figura 14, pag. 33). A variação de deslocamento químico observada para esses hidrogênios foram positivas. Desta forma, foi possível sugerir a

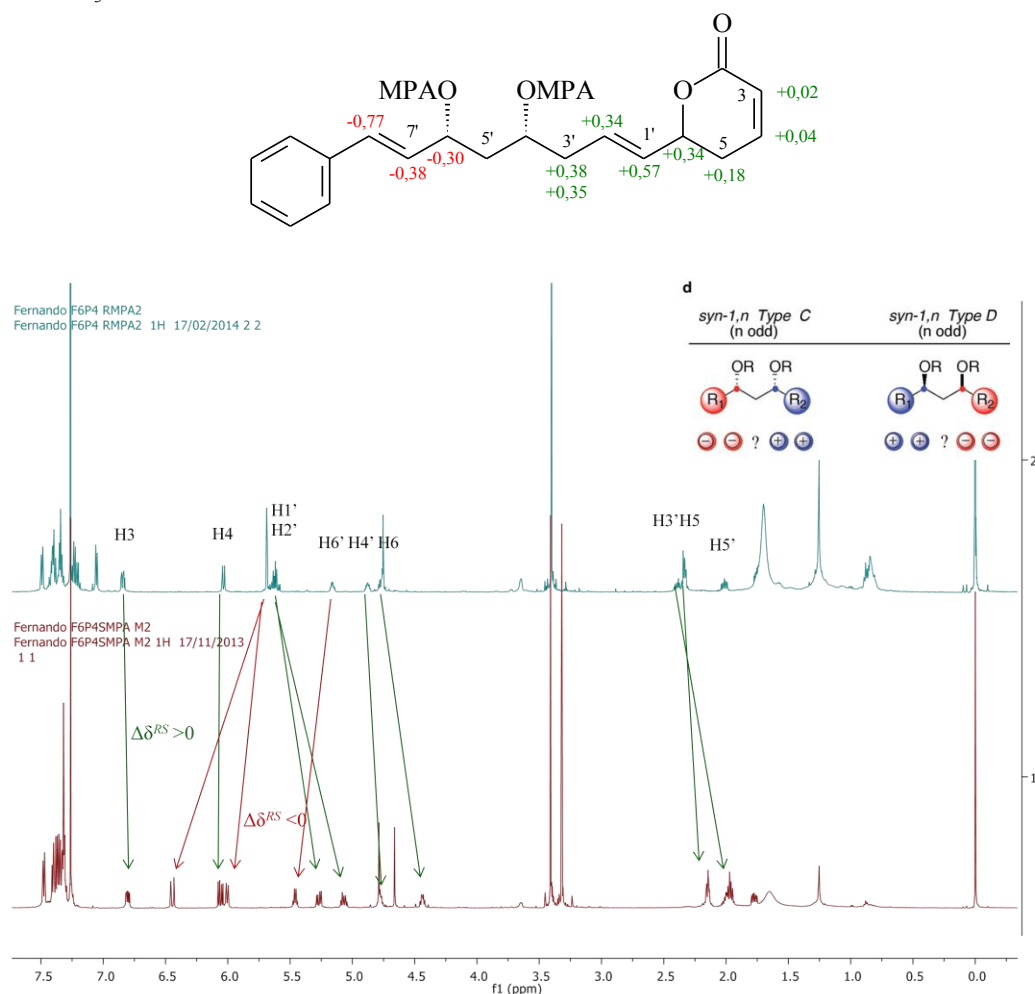
configuração absoluta *S* para C4' e *R* para C6'. Esta configuração é a mesma proposta por Cavalheiro e Yoshida (2000) para a configuração relativa e da obtida por síntese por Das et al. (2011), conhecida como criptomoscatoana E2.

Figura 41 - Ampliação dos espectros de RMN de ^1H da estirilpirona **3** após esterificação com (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .



Os espectros de RMN de ^1H relativos à estirilpirona **4** após derivação com o reagente (*R*) e (*S*)-MPA podem ser vistos na Figura 42 (Anexos 55-64). Diferentemente da estirilpirona **3**, para esta substância deve-se avaliar a variação de deslocamento químico para os hidrogênios ao redor dos centros estereogênicos. Assim as $\Delta\delta^{RS}$ foram positivas para os H3, H4, H5, H6, H1', H2', H3' e H4' e negativas para os hidrogênios H6', H7' e H8'. Desta forma, seguindo o modelo “*d*” (Figura 14 pag. 33), foi possível sugerir a configuração *R* para o centro C4' e *R* para o centro C6'. Esta configuração é igual à substância sintetizada por Yadav et al. (2013) e isolada por Cavalheiro e Yoshida (2000), conhecida como criptomoscatoana E1.

Figura 42 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona **4** após esterificação com (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .

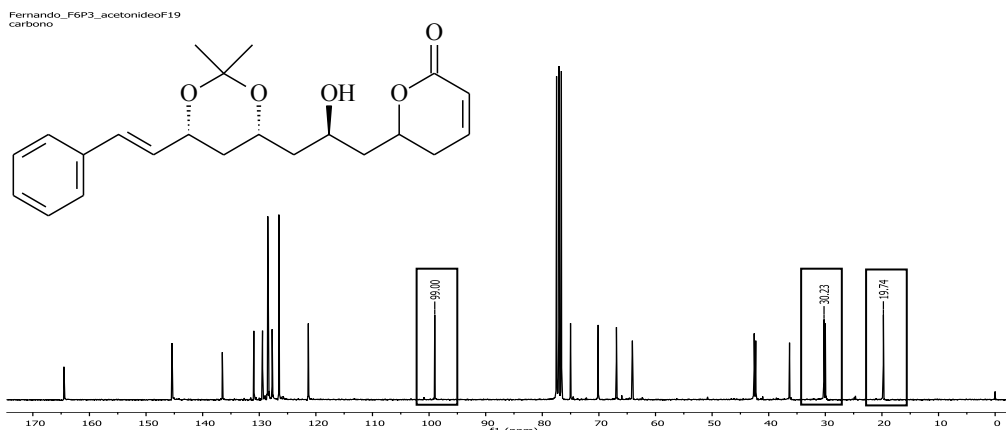


5.5.3 Substâncias tri-hidroxildas - Estirilpironas **5** e **6**

Para a análise da configuração absoluta das substâncias tri-hidroxiladas, primeiramente foram preparados os acetonídeos tanto para proteção das hidroxilas, quanto para a avaliação da configuração relativa desses mesmos centros estereogênicos, conforme metodologia apresentada nas Figura 21 e Figura 22. Os acetonídeos formados foram submetidos à reação com (*R*) e (*S*)-MPA para a determinação da configuração absoluta do centro metínico hidroxilado livre. O modelo para substância mono-hidroxilada, Figura 13 foi aplicado.

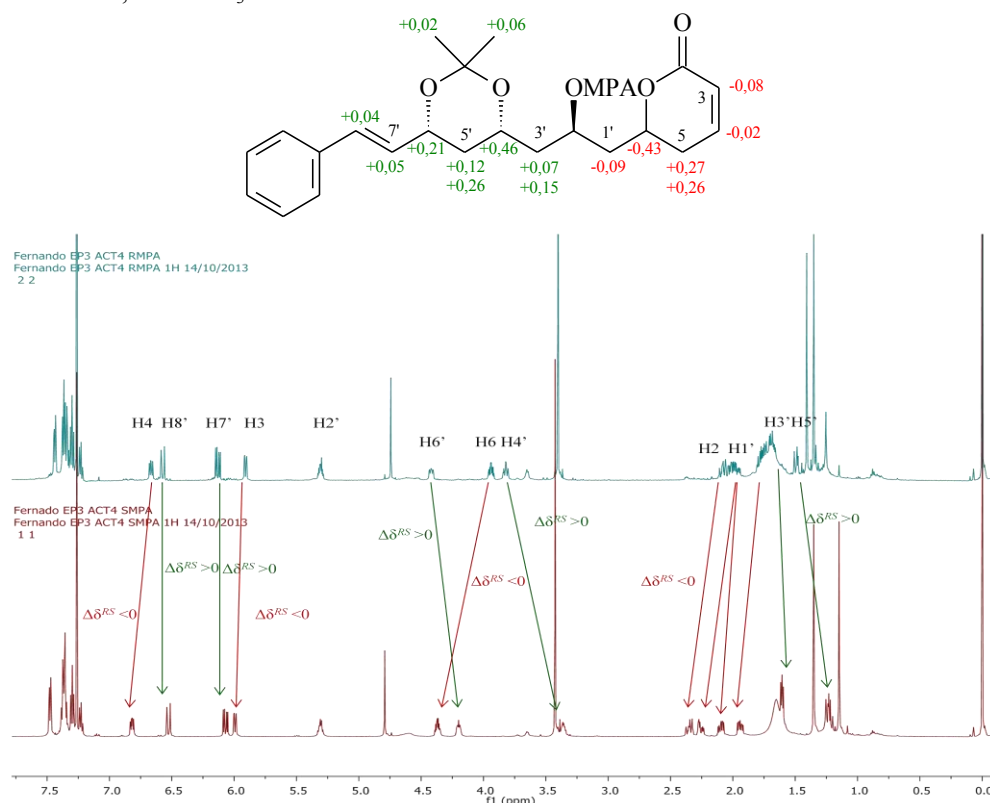
A Figura 43 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C para a estirilpirona **5** após reação com o 2,2-DMP, o acetonídeo foi formado entre carbonos 4' e 6'. O deslocamento químico para as metilas e para o carbono cetar foram de 19,7, 30,2 ppm e 99,0 ppm, com esse resultado foi possível sugerir uma configuração relativa *syn* entre as hidroxilas 4' e 6'.

Figura 43 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona **5** com proteção das hidroxilas 4' e 6', obtidos em 75 MHz, em CDCl_3 .



A Figura 44 (Anexos 75-84) apresenta os espectros de RMN de ^1H dos ésteres de MPA da estirilpirona **5** após formação do acetonídeo. Foi observada uma variação de deslocamento químico negativa para os hidrogênios H3, H4, H5, H6 e H1', e positiva para os hidrogênios H3', H4', H5', H6', H7', H8' e para as duas metilas. Aplicando-se o modelo para substâncias mono-hidroxildas pode-se sugerir uma configuração absoluta *R* para o centro estereogênicos C2'.

Figura 44 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona **5** com proteção das hidroxilas 4' e 6' - (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .



A Figura 45 apresenta o espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona **5** após formação do acetonídeo entre as hidroxilas 2' e 4'. Os deslocamentos químicos para as metilas e para o carbono cetala foram de 24,9, 24,9 e 100,0 ppm, respectivamente, o que sugere uma configuração relativa *anti* para as hidroxilas 2' e 4'.

A Figura 46 (Anexos 85-94) apresenta os espectros de RMN de ^1H dos ésteres de MPA da estirilpirona **5** após formação do acetonídeo. Pode-se observar uma variação de deslocamento químico negativa para os hidrogênios H7' e H8', e positiva para os hidrogênios H3, H4, H5, H6, H1', H2', H3', H4' e para as duas metilas. Aplicando-se o modelo para substâncias mono-hidroxiladas, a configuração absoluta para o centro estereogênico C6' é *R*.

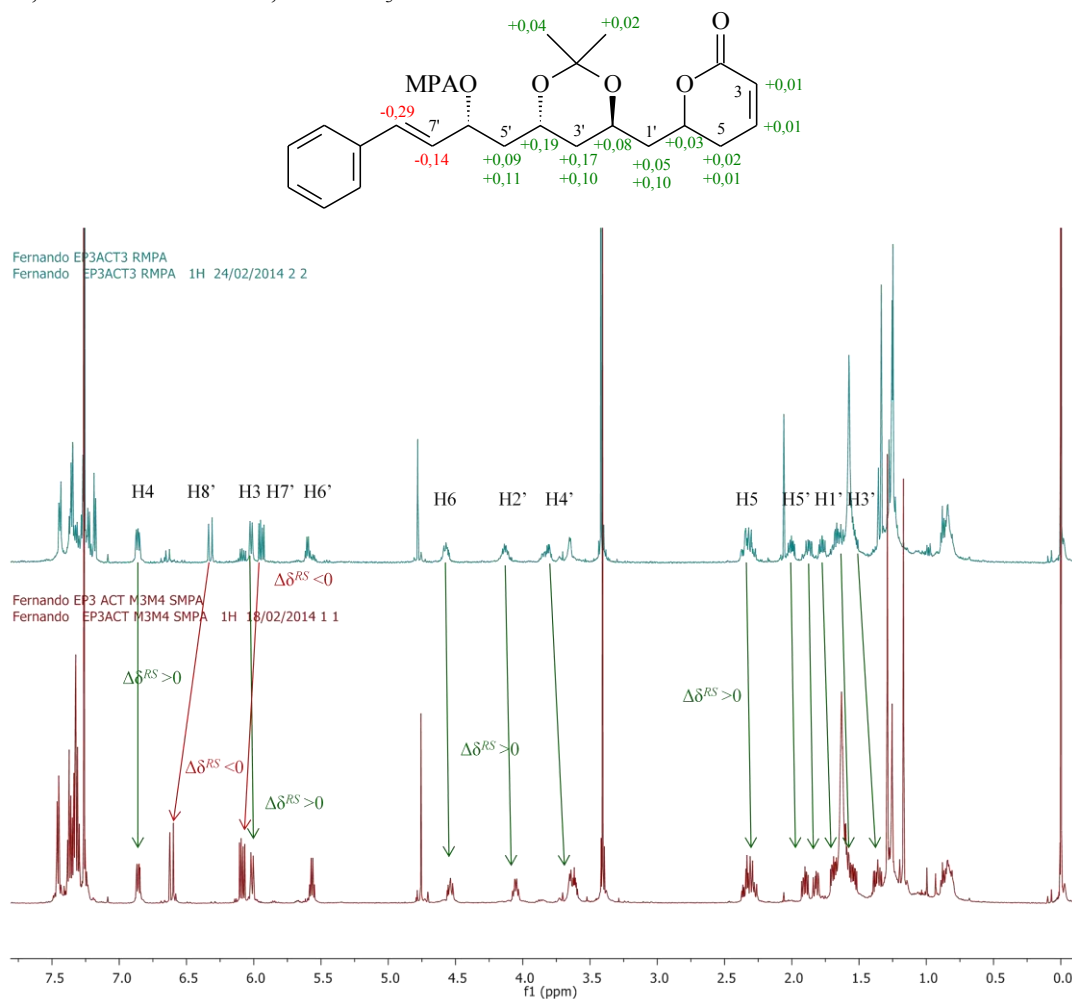
Como o C4' tem uma configuração relativa *anti* em relação ao C2' e *syn* em relação ao C6', pôde-se sugerir uma configuração absoluta *R* para o centro C4'.

Assim, a estirilpirona **5** apresentou configuração absoluta 2'*R*, 4'*R* e 6'*R* para os centros estereogênicos da cadeia lateral.

Figura 45 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona **5** com proteção das hidroxilas 2' e 4', obtido em 75 MHz, em CDCl_3 .



Figura 46 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona **5** com proteção das hidroxilas 2',4' e derivação com (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .



A metodologia empregada para determinar a configuração absoluta dos centros estereogênicos hidroxilados para a estirilpirona **6** foi a mesma da **5**. Assim, foi possível propor uma relação *syn* para as hidroxilas nas posições 6' e 8' (Figura 47) e uma relação anti para as hidroxilas nas posições 4' e 6' (Figura 49).

Da mesma maneira que para a substância **5**, os acetonídeos obtidos foram submetidos às reações com (*R*) e (*S*)-MPA (Anexos 95-104 e 105-114). A análise dos espectros de RMN dos ésteres de MPA (Figura 48 e Figura 50), juntamente com a aplicação do modelo para substâncias monohidroxilas foi possível sugerir uma configuração *S* para C4', *R* para C8' e *R* para o C6.

Assim, a configuração absoluta dos centros hidroxilados C4', C6' e C8' da estirilpirona **6** é *S*, *R* e *R*, respectivamente.

Figura 47 - Espectro de RMN de ^{13}C da estilpirona **6** com proteção das hidroxilas 6' e 8', obtido em 75 MHz, em CDCl_3 .

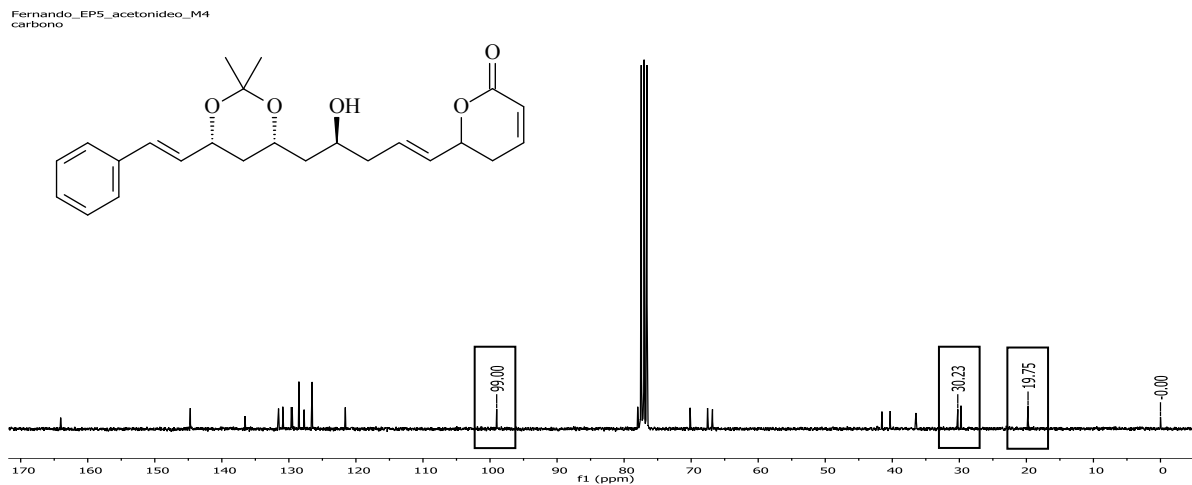


Figura 48 - Espectros de RMN de ^1H da estilpirona **6** com proteção das hidroxilas 6' e 8' e derivada com (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .

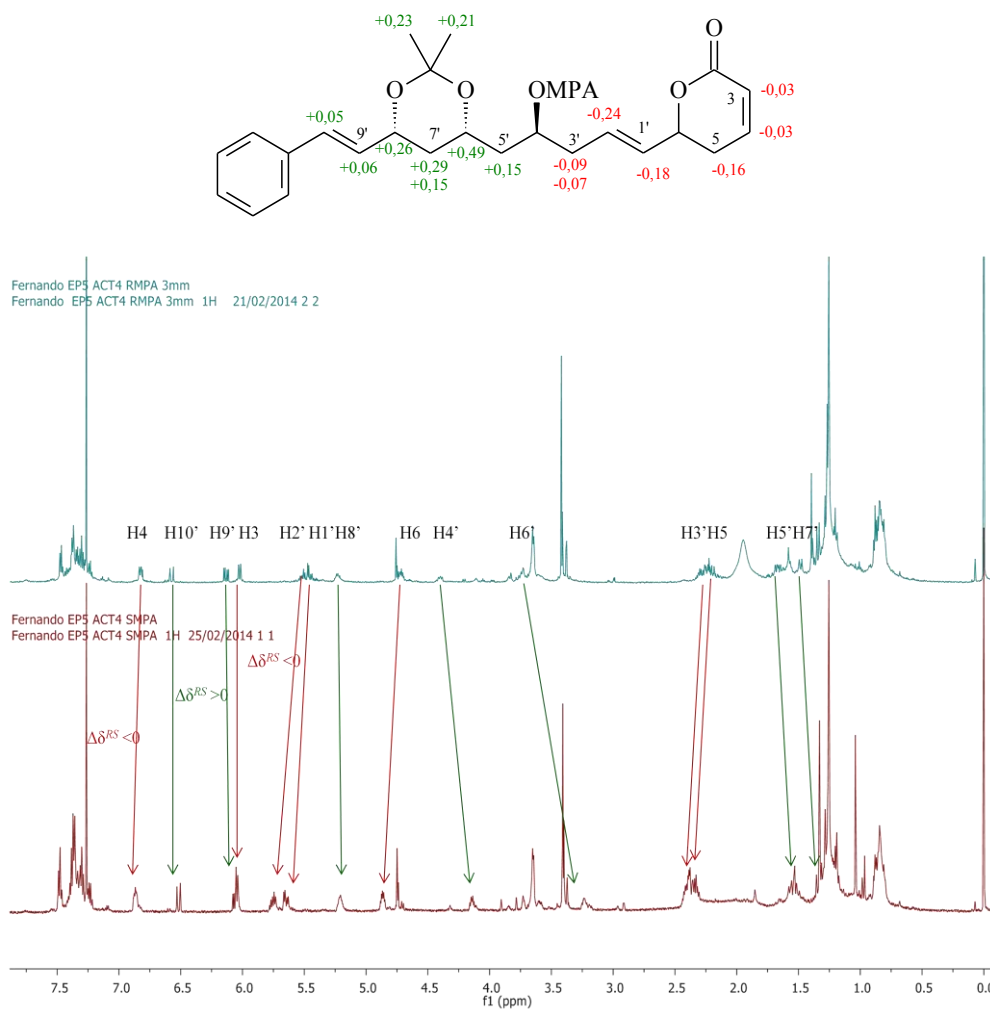


Figura 49 - Espectro de RMN de ^{13}C da estirilpirona **6** com proteção das hidroxilas 4' e 6', obtido em 75 MHz, em CDCl_3 .

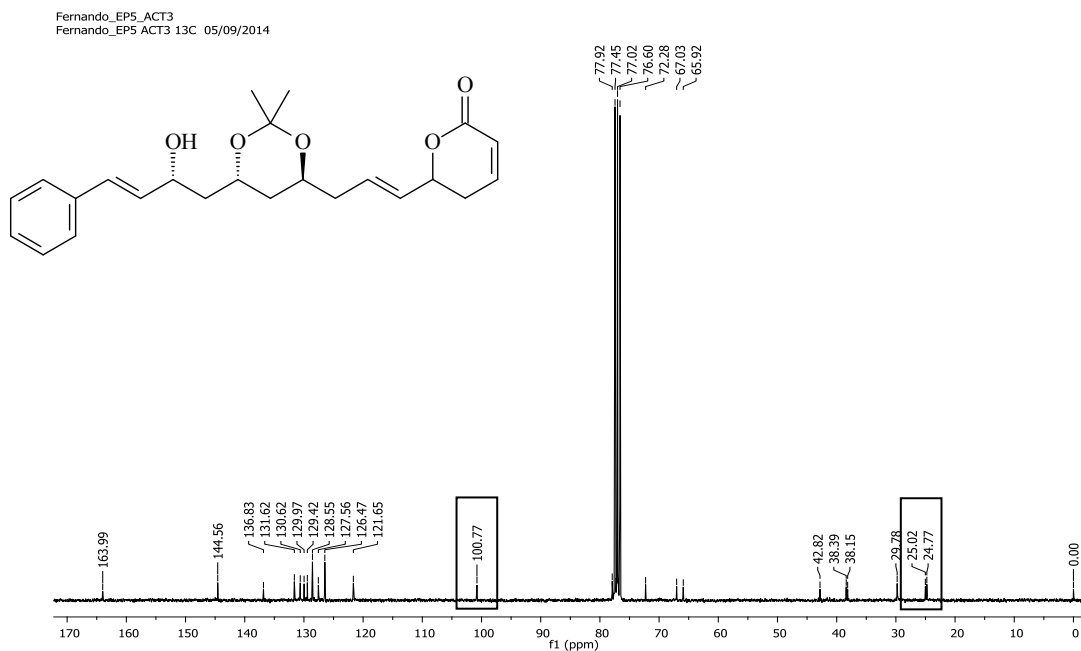
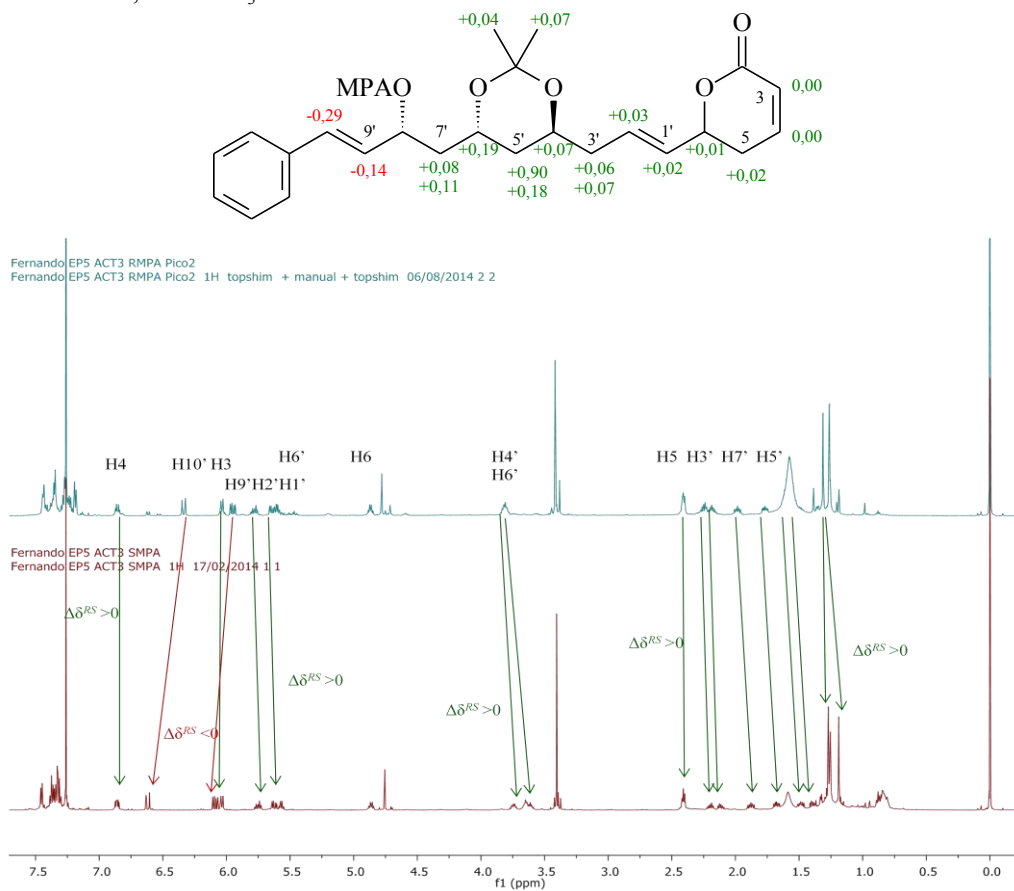


Figura 50 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona **6** acetonídeo entre 4',6' e derivada - (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .



5.5.4 Análise Configuracional do Centro C6 do anel pirônico

A etapa da abertura do anel pirônico teve por objetivo determinar a configuração absoluta do centro C6. Como já citado na introdução (item 1.5, pag. 33), a configuração deste centro estereogênico quando determinada foi realizada por dicroísmo circular eletrônico, observando-se um efeito Cotton positivo em 254-272 nm para a pirona com configuração *R* e negativo para a *S* ou por síntese enantioselectiva (CAVALHEIRO; YOSHIDA, 2000; DAVIES-COLEMAN; RIVETT, 1989).

Os produtos de hidrólise obtidos foram resultados de uma transesterificação, juntamente com adição de uma metoxila na posição C4. Nos espectros de RMN de ^{13}C e ^1H foi possível observar os sinais relativos a duas metoxilas (Figura 51).

Os produtos da hidrólise foram submetidos as reações de esterificação com (*R*) e (*S*)-MPA para a determinação da configuração absoluta do centro C6.

A análise configuracional do centro C6 da substância **1**, mono-hidroxilada, foi feita primeiramente reagindo a substância hidrolisada com 2,2-DMP para a formação do acetonídeo. Desta forma, foi determinada a configuração relativa como sendo *anti* entre os centros C6 e C2', como pode ser observado no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 51, Anexo 115-119). Como já foi determinada a configuração absoluta para o centro C2', pôde-se sugerir uma configuração absoluta de C6 é *S*.

Figura 51 - Espectro de ^{13}C da estilírpirona **1** após reação de hidrólise e de formação do acetonídeo, obtidos em 75 MHz em CDCl_3 .



Para confirmar este resultado, a substância hidrolisada também foi esterificada com os MPAs e foram obtidos os espectros de RMN de ^1H (Figura 52, Anexo 120-130). Como

existem duas hidroxilas livres, foi aplicado um dos modelos para as substâncias di-hidroxiladas, a análise desse resultado corroborou o resultado anterior, ou seja, a configuração do centro C6 é *S*. Além disso, o espectro de dicroísmo circular eletrônico da estilípirona **1** apresentou um efeito Cotton negativo em 254-272 nm (Anexo 161), o que também sugere uma configuração *S* para este centro estereogênico.

A estilípirona **1** é conhecida como desacetilcriptocarialactona tendo sido isoladas das espécies de *C. moschata* e *wyliei* e também por síntese. Com esta mesma configuração foi isolada de *C. myrtifolia* por Drewes et al. (1998).

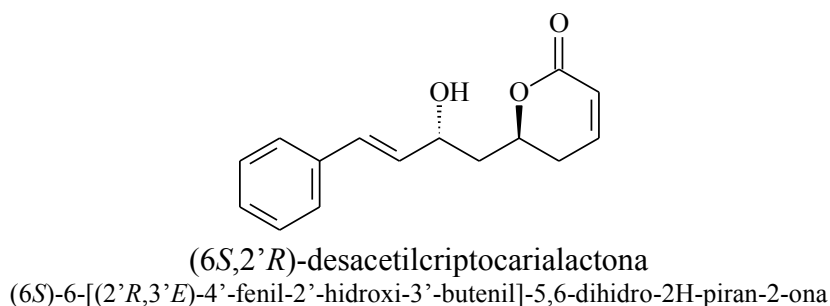
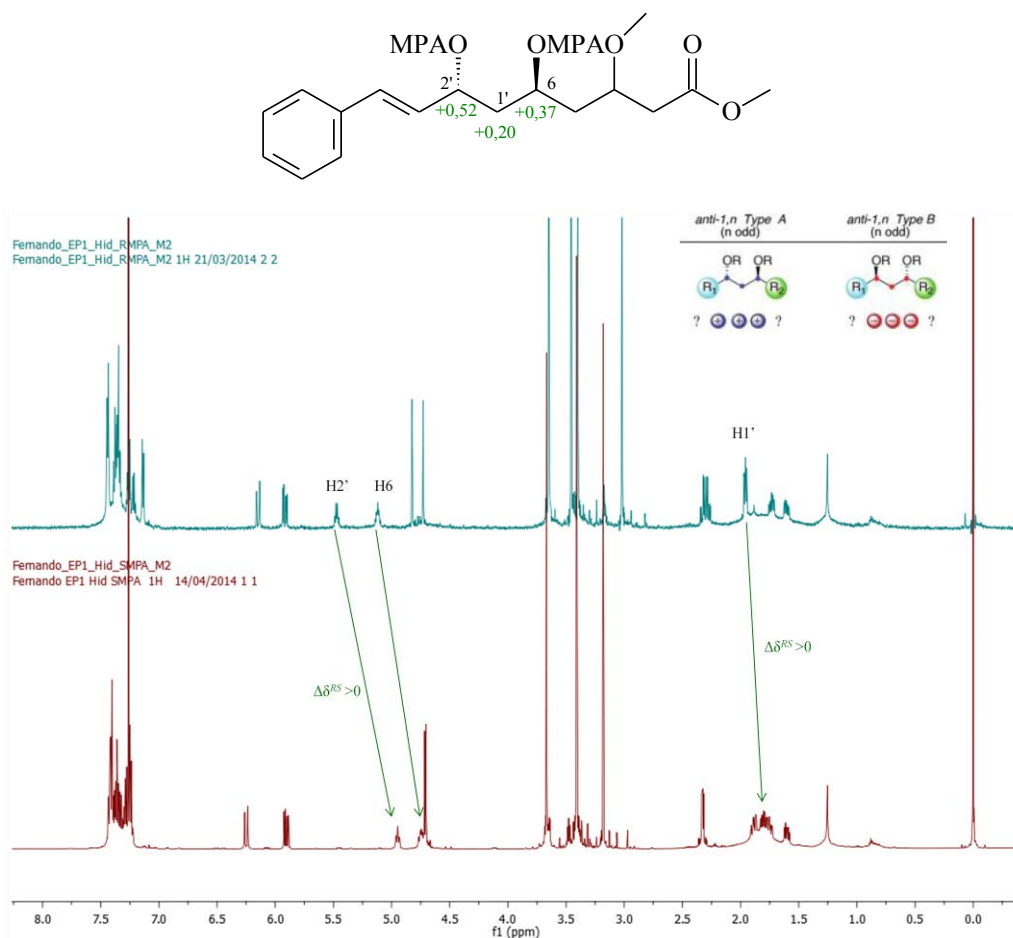


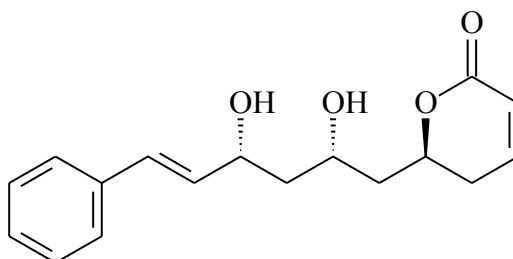
Figura 52 - Espectros de RMN de ^1H da estilípirona **1** após reação de hidrólise e esterificação com (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .



A reação de abertura do anel pirônico foi bem sucedida para estirilpirona **2**. Assim como para a **1**, foi formado um éster e ocorreu adição de uma metoxila à dupla ligação do anel pirônico.

Os espectros de RMN de ^1H para os ésteres de MPA para a estirilpirona **2** hidrolisada pode ser visto na Figura 53 (Anexo 131-134). Os derivados apresentaram uma $\Delta\delta^{RS}$ negativa para os hidrogênios H3, H4, H5, metoxila e metoxila do éster, uma $\Delta\delta^{RS}$ positiva para os hidrogênios H1', H2', H3', H4', H5', H6' e para as metilas do cetel (Figura 53). Aplicando o modelo para determinação da configuração absoluta para substâncias mono-hidroxiladas, foi possível sugerir a configuração *S* para o centro C6.

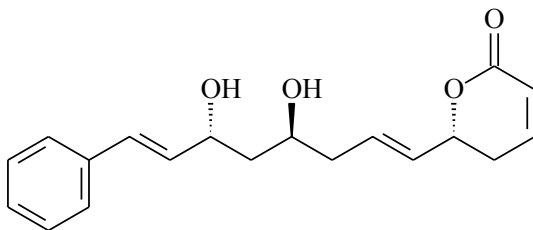
Um efeito Cotton negativo em 250-280 nm (Anexo 164) foi observado no espectro de dicroísmo circular eletrônico da estirilpirona **2**. Este resultado é inverso daquele obtido por Novaes et al. (2014) para os quatro diastereoisômeros sintetizados com configuração *R* para o C6 e da substância natural obtida por Cavaleiro e Yoshida (2000) Estas informações corroboram o resultado anterior para a configuração absoluta do centro C6 como sendo *S*.



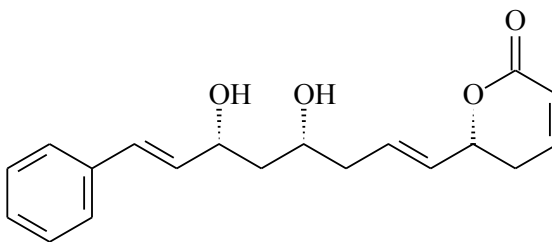
(6*S*,2'*S*,4'*R*)-Criptomoscatoona D1 (**2**)
 (6*S*)-6-[(2'*S*,4'*R*,5'*E*)-6'-fenil-2',4'-dihidroxi-5-hexenil]-5,6-dihidro-2H-piran-2-ona

Da mesma maneira, foi assinalada a configuração absoluta do centro C6 para as estirilpironas **3** e **4**. A análise dos espectros de RMN de ^1H dos derivados de MPA para as duas substâncias apresentaram $\Delta\delta^{RS}$ positiva para os hidrogênios H3, H4, H5, metoxila e metoxila do éster e $\Delta\delta^{RS}$ negativa para os hidrogênios H1', H2', H3', H4', H5', H6', H7', H8' e para as metilas do cetel (Figura 54, Anexo151-160, Figura 55 e Anexo 141-150). Aplicando o modelo para determinação da configuração absoluta para substâncias monohidroxiladas, foi possível sugerir uma configuração absoluta *R* para o centro C6.

Assim, a estirilpirona **3** tem a mesma configuração absoluta da Criptomoscatoona E2 (criptofoliona) e a **4** é a Criptomoscatoona E1, estas são as mesmas substâncias sintetizadas por Das et al. (2011) e Yadav et al. (2013), respectivamente, e isoladas por Cavaleiro e Yoshida (2000).



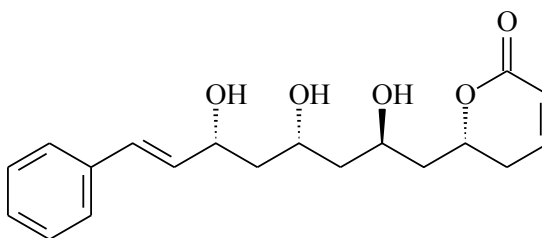
(6*R*,4'*S*,6'*R*)-Criptomoscato E2 (Criptofoliona) (**3**)
 (6*R*)-6-[(1'*E*,4'*S*,6'*R*,7'*E*)-8'-fenil-4',6'-dihidroxi-1',7'-octadienil]-5,6-dihidro-2H-piran-2-ona



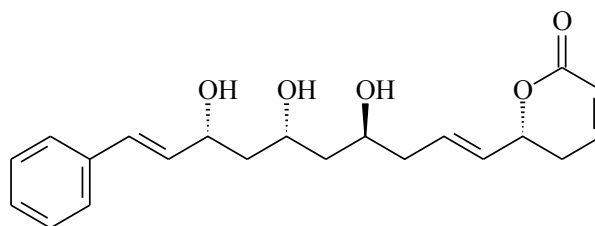
(6*R*,4'*R*,6'*R*)-Criptomoscato E1 (**4**)
 (6*R*)-6-[(1'*E*,4'*R*,6'*R*,7'*E*)-8'-fenil-4',6'-dihidroxi-1',7'-octadienil]-5,6-dihidro-2H-piran-2-ona

Neste trabalho não foi possível obter os produtos da hidrólise das estirilpironas **5** e **6**, pelo fato das reações não terem sido bem sucedidas. Os espectros de CD dessas duas substâncias são interessantes no sentido de não apresentarem um padrão semelhante àquele apresentado pelas outras estirilpironas, ou seja, um efeito Cotton positivo ou negativo em 250-280 nm. Para a estirilpirona **5** o espectro apresenta uma banda positiva em 270 nm e uma negativa 240 nm, assim como seu acetonídeo formado entre as posições 2' e 4'. Já o acetonídeo formado entre as posições 4' e 6' apresenta um efeito Cotton positivo em 260 nm semelhante aquele das outras estirilpironas (Figura 56). O mesmo comportamento foi observado para a estirilpirona **6** (Figura 57).

Desta maneira, foi possível sugerir a configuração *R* para o centro C6 das estirilpironas **5** e **6** considerando o efeito Cotton positivo em 270-280 nm (Figura 56 e Figura 57).



(6*R*,2'*R*,4'*R*,6'*R*)-Criptomoscato E3 (**5**)
 (6*R*)-6-[(2'*R*,4'*R*,6'*R*,7'*E*)-8'-fenil-2',4',6'-trihidroxi-7'-octenil]-5,6-dihidro-2H-piran-2-ona



(6*R*,4'*S*,6'*R*,8'*R*)-Criptomoscato F1 (**6**)

(6*R*)-6-[(1'*E*,4'*S*,6'*R*,8'*R*,9'*E*)-10'-fenil-4',6',8'-trihidroxi-1',9'-decadieni]-5,6-dihidro-2H-piran-2-ona

Figura 53 - Espectros de RMN de ^1H da estirilpirona **2** após formação do acetonídeo seguida da reação de hidrólise e derivação com - (*R*) e (*S*) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .

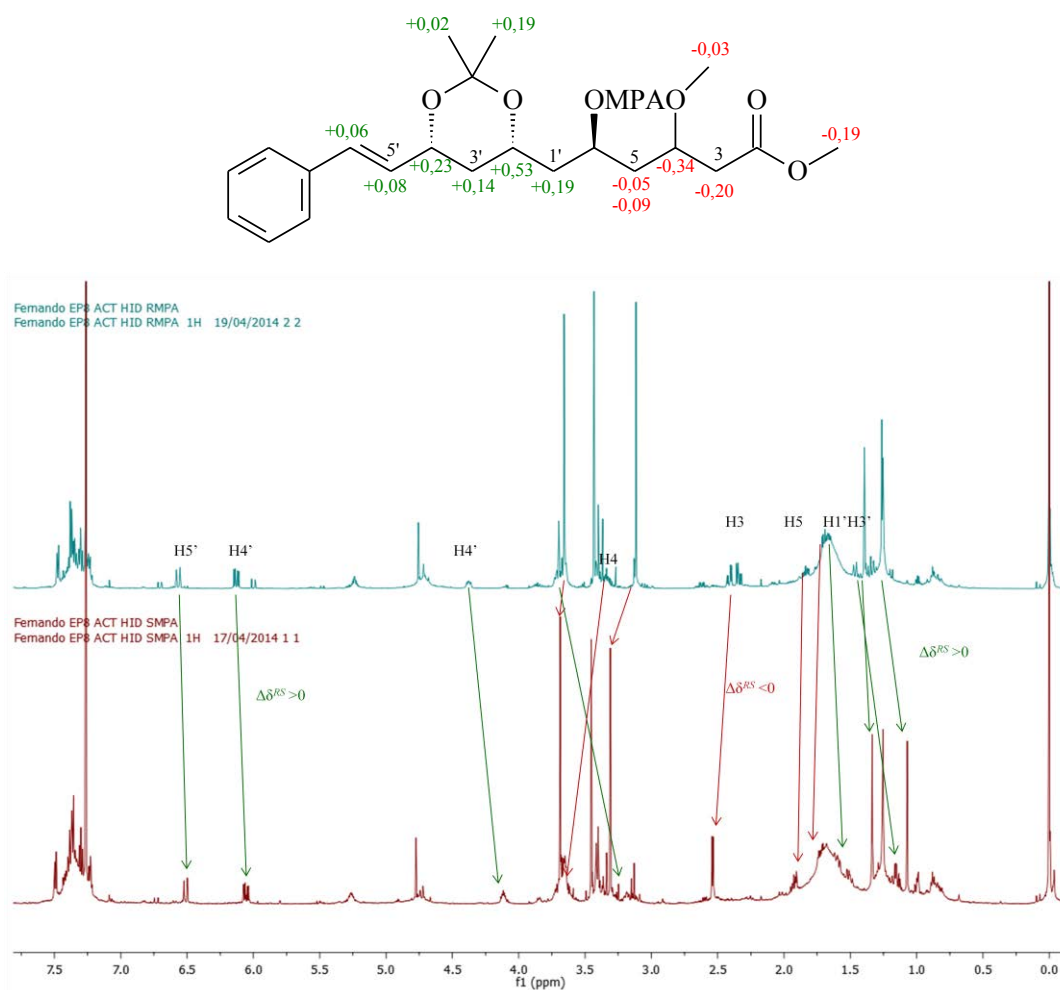


Figura 54 - Espectros de RMN de ^1H da substância **4** após formação do acetonídeo seguida da reação de hidrólise e derivação com (R) e (S) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .

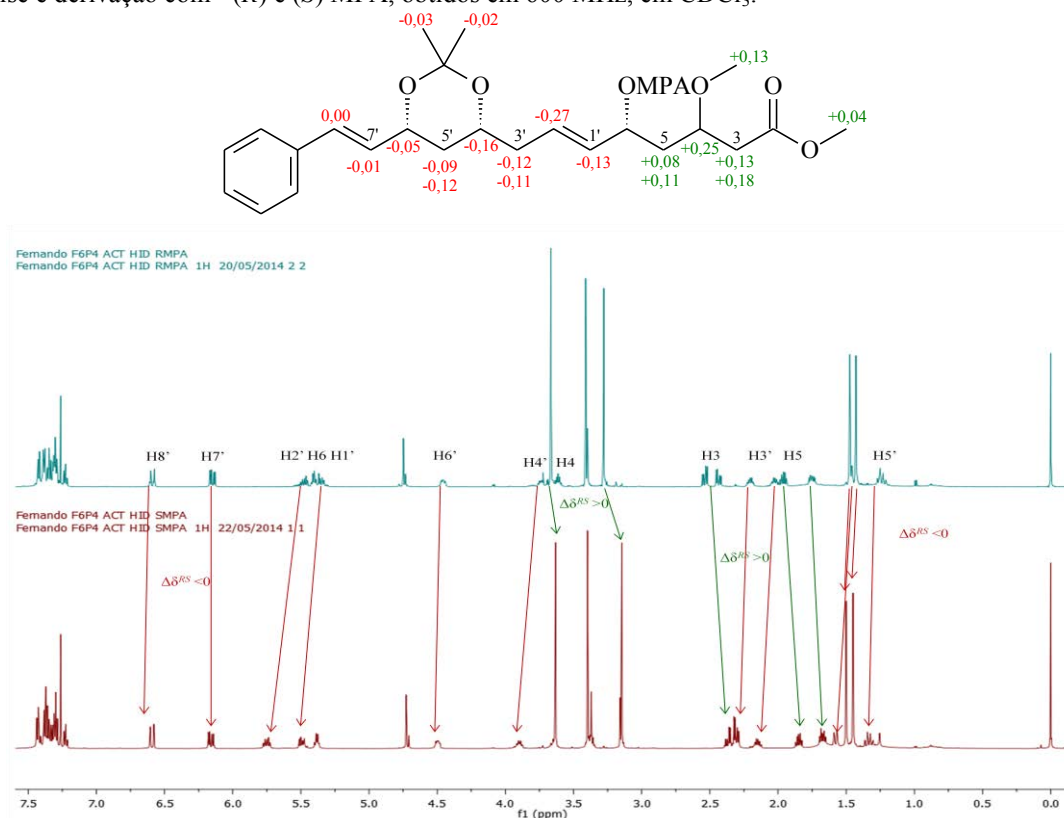


Figura 55 - Espectros de RMN de ^1H da substância **3** após formação do acetonídeo seguida da reação de hidrólise e derivação com (R) e (S) MPA, obtidos em 600 MHz, em CDCl_3 .

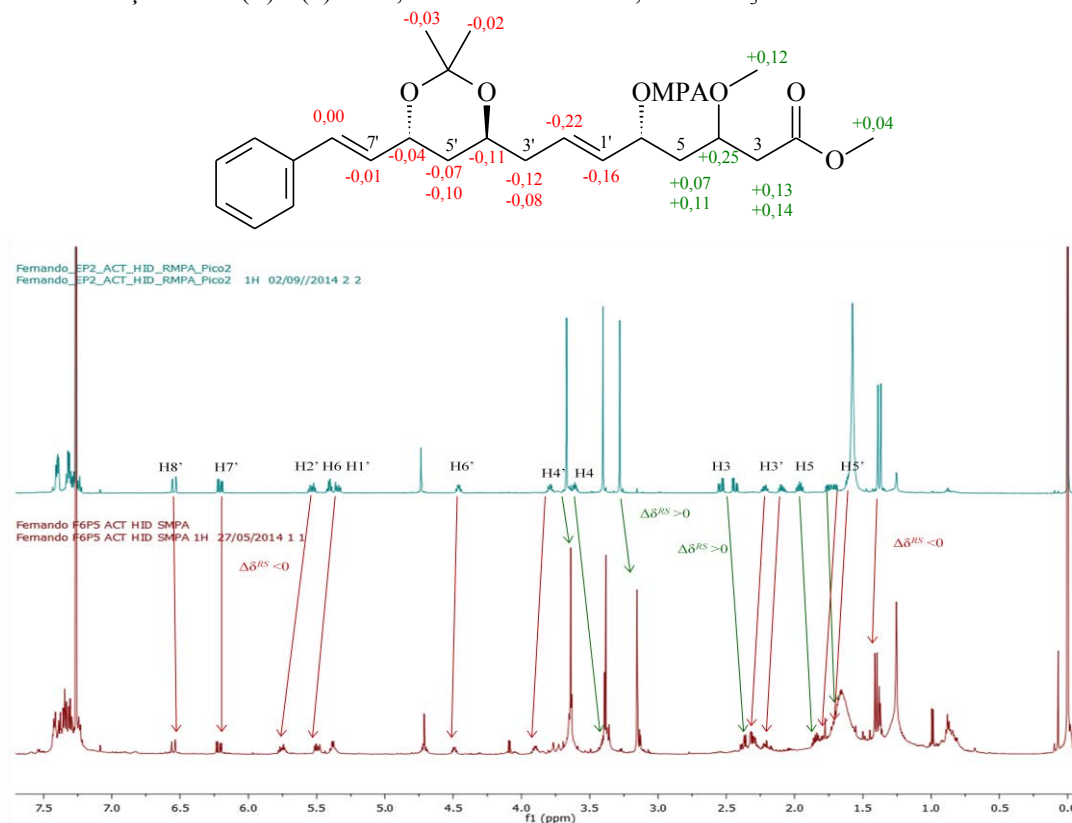


Figura 56 - Espectros de dicroísmo circular eletrônico da substância criptomoscatoa E3 e após reação de formação dos acetonídeos, obtidos em metanol, concentração de $0,3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

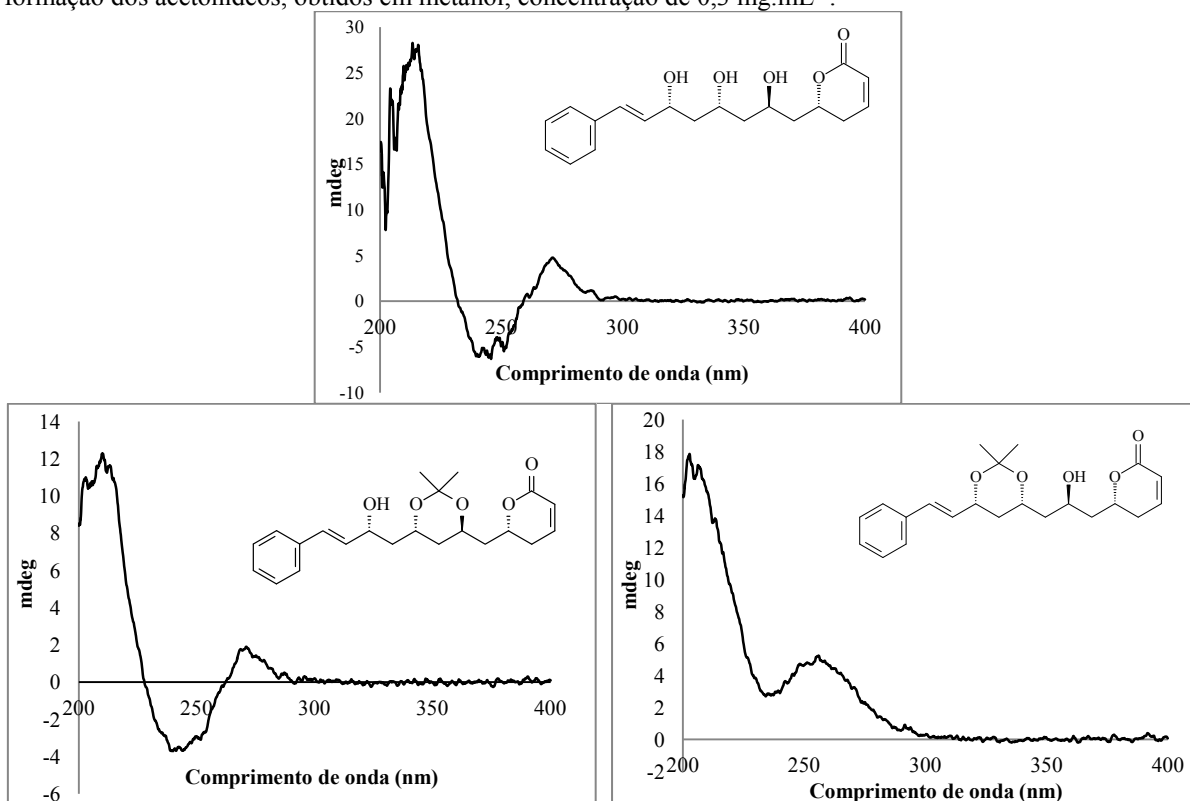
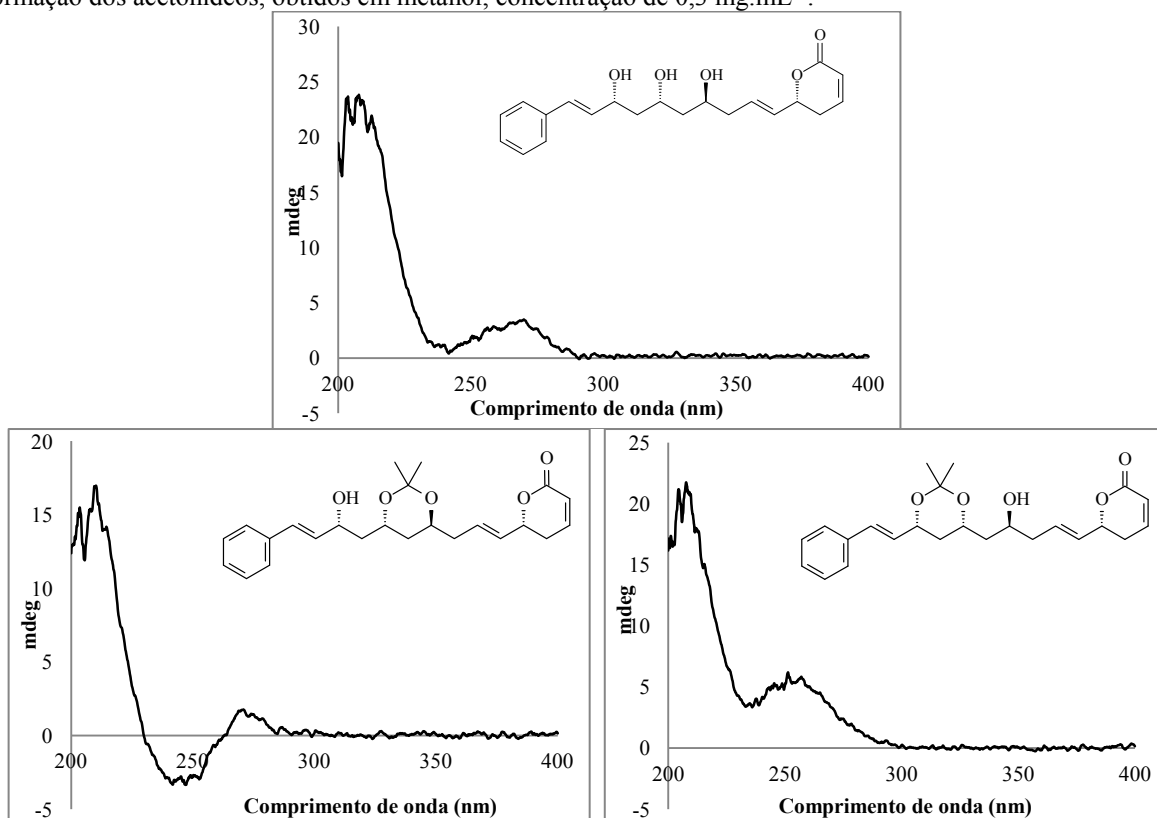


Figura 57 - Espectro de dicroísmo circular eletrônico da substância criptomoscatoa F1 e após reação de formação dos acetonídeos, obtidos em metanol, concentração de $0,3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.



6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram isoladas seis estirilpironas de *C. mandioccana*, com as quais foi possível realizar os estudos de mecanismo de fragmentação por ESI-MS/MS, avaliar a viabilidade de análise desses policetídeos poli-hidroxilados por GC-MS (após silição) e analisar a configuração dos centros metínicos hidroxilados e do C6 do anel pirônico, por RMN e por CD.

Nos espectros de massas de íons totais, destacaram-se os íons das estirilpironas cationizadas com sódio $[M+Na]^+$. Os íons das espécies protonadas $[M+H]^+$ não foram observados, mas o íon referente a perda de uma molécula de água foi detectado $[M+H-H_2O]^+$, e este também pode ser utilizado como íon diagnóstico.

As espécies $[M+H-H_2O]^+$ foram submetidas à CID e como resultado foram observados eliminações sucessivas de moléculas de água referentes as perdas das hidroxilas $[M+H-nH_2O]^+$, com posterior abertura do anel pirônico e eliminação de mais uma molécula de água, seguida de CO $[M+H-nH_2O-CO]^+$. As análises por ESI-MS/MS e os cálculos teóricos permitiram sugerir o oxigênio carbonílico como sítio preferencial de cationização das estirilpironas em fase gasosa. Este resultado é similar àquele apresentado pelas lactonas de cinco e seis membros descritos na literatura.

Os espectros MS/MS das espécies $[M+Na]^+$ apresentaram íons com mesma relação m/z . Consequentemente, os mecanismos de fragmentação são comuns a todas estirilpironas estudadas. Todas elas apresentam perda da unidade referente ao (C6.C3) $[M+Na-148]^+$ e as substâncias tri-hidroxiladas sofrem uma segunda fragmentação com perda que pode ser referente a unidade de acetaldeído $[M+Na-148-44]^+$.

Nas análises configuracionais por RMN dos MPA derivados das estirilpironas, foi possível assinalar a configuração absoluta dos centros estereogênicos hidroxilados das seis estirilpironas e, após hidrólise do anel pirônico, também foi possível determinar a configuração em C6 do anel pirônico para as substâncias desacetilcriptocarialactona, criptomoscatoa D1, criptomoscatoa E1 e E2, bem como por comparação dos espectros de dicroísmo circular eletrônico com os descritos na literatura. A configuração absoluta do centro C6 das substâncias criptomoscatoa E3 e F1 foram sugeridas a partir dos dados de dicroísmo circular eletrônico.

Estas estirilpironas apresentaram diferentes configurações do centro C6 e para os centros metínicos hidroxilados. Concluiu-se que as estirilpironas estudadas possuem a seguinte configuração absoluta: (6*S*,1'*R*)-desacetilcriptocarialactona (**1**), (6*S*,2'*S*,4'*R*)-criptomoscatoa D1 (**2**), (6*R*,4'*S*,6'*R*)-criptomoscatoa E2 (**3**), (6*R*,4'*R*,6'*R*)-criptomoscatoa E1 (**4**), (6*R*,2'*R*,4'*R*,6'*R*)-criptomoscatoa E3 (**5**) e (6*R*,4'*S*,6'*R*,8'*R*)-criptomoscatoa F1 (**6**). Diferentemente dos dados descritos na literatura, que indicam configuração *R* em C6 para as estirilpironas relatadas, neste estudo verificou-se a ocorrência de configuração *R* e *S* em C6,

indicando ausência de estereoespecificidade no fechamento do anel pirônico durante a biossíntese dessas substâncias.

Desta forma, neste trabalho foi apresentada uma proposta de fragmentação inédita de estirilpironas de *C. mandioccana* por ESI-MS/MS que contribuirá para a identificação rápida destes compostos em extratos brutos, além da possibilidade de analisá-las por GC-MS, após derivação com MSTFA. A configuração absoluta dessas substâncias foi determinada por RMN com o auxílio dos reagentes de derivação quiral e dicroísmo circular eletrônico.

REFERÊNCIAS

- BANERJEE, S.; MAZUMDAR, S. Electrospray ionization mass spectrometry: a technique to access the information beyond the molecular weight of the analyte. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2012, p. 1-40, 2012.
- BARREIROS, M. L.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Utilização de RMN de ^1H na determinação da configuração absoluta de alcoóis. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1061-1065, 2005.
- BATISTA JUNIOR, J. M. Determination of absolute configuration using chiroptical methods. In: ANDRUSHKO, V.; ANDRUSHKO, N. **Stereoselective synthesis of drugs and natural products**. New Jersey: Jon Wiley & Sons, 2013. v. 2, chap. 53, p. 1571-1599.
- BECKERT, C.; HORN, C.; SCHNITZLER, J.; LEHNING, A.; HELLER, W.; VEIT, M. Styrylpyrone biosynthesis in *Equisetum arvense*. **Phytochemistry**, v. 44, p. 275-283, 1997.
- BEROVA, N.; BARI, L. D.; PESCIPELLI, G. Application of electronic circular dichroism in configurational and conformational analysis of organic compounds. **Chemical Society Reviews**, v. 36, p. 914-931, 2007.
- BOUCHOUX, G.; LEBLANC, D. Structural effects on the intrinsic basicities of α,β -unsaturated lactones and ketones. **Journal of Organic Chemistry**, v. 62, p. 8439-8448, 1997.
- BOUZBOUZ, S.; COSSY, J. Total synthesis of (+)-strictifolione. **Organic Letters**, v. 5, n. 11, p. 1995-1997, 2003.
- BRADSHAW, J.; BUTINA, D.; DUNN, A. J.; GREEN, R. H.; HAJEK, M.; JONES, M. M.; LINDON, J. C.; SIDEBOTTOM, P. J. A rapid and facile method for the dereplication of purified natural products. **Journal of Natural Products**, v. 64, p. 1541-1544, 2001.
- CAMARGO, K. F. B. **Variabilidade intraespecífica de estirilpironas em quimiotipos de *Cryptocarya mandioccana***: avaliação da produção em diferentes órgãos e em extratos enzimáticos. 2008. 245 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.
- CAMP, D.; DAVIS, R. A.; CAMPITELLI, M.; EBDON, J.; QUINN, R. J. Drug-like properties: guiding principles for the design of natural product libraries. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 72-81, 2012.
- CAVALHEIRO, A. J. ***Cryptocarya e Casearia***: modelos para o desenvolvimento de novos fármacos e para estudos de ecofisiologia de metabólitos secundários. 2010. 135 f. Tese (Livre-Docência) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- CAVALHEIRO, A. J.; YOSHIDA, M. 6-(α -arylalkenyl)-5,6-dihydro- α pyrones from *Cryptocarya moschata* (Lauraceae). **Phytochemistry**, v. 53, n. 7, p. 811-819, 2000.
- CHAN, Y. A.; PODEVELS, A. M.; KEVANY, B. M.; THOMAS, M. G. Biosynthesis of polyketide synthase extender units. **Natural Products Reports**, v. 26, n. 1, p. 90-114, 2009.

COLLETT, L. A.; DAVIES-COLEMAN, M. T.; RIVETT, D. E. A.; DREWES, S; HORN, M. M. Absolute configuration of α -pyrones from *Cryptocarya latifolia* and *syncolostemon densiflorus*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 5, p. 935-938, 1997.

CROTTI, A. E. M.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Triple quadrupole tandem mass spectrometry of sesquiterpene lactones: a study of goyazensolide and its congeners. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 40, p. 1030-1034, 2005.

CROTTI, A. E. M.; FONSECA, T.; HONG, H.; STAUNTON, J.; GALEMBECK, S. E.; LOPES, N. P.; GATES, P. J. The fragmentation mechanism of five-membered lactones by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 232, p. 271-276, 2004.

CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. Espectrometria de massas com ionização por "electrospray": processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 287-292, 2006.

CROTTI, A. E. M.; BRONZE-UHLE, E. S.; NASCIMENTO, P. G. B. D.; DONATE, P. M.; GALEMBECK, S. E.; VESSECCHI, R.; LOPES, N. P. Gas-phase fragmentation of γ -lactone derivatives by electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 44, p. 1733-1741, 2009.

CROTTI, S.; SERAGLIA, R.; TRALDI, P. Some thoughts on electrospray ionization mechanisms. **European Journal of Mass Spectrometry**, v. 17, p. 85-100, 2011.

DALE, J. A.; MOSHER, H. S. Nuclear magnetic resonance nonequivalence of diastereomeric esters of α -substituted phenylacetic acids for the determination of stereochemical purity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 14, p. 3732-3738, 1968.

DAS, B.; NAGENDRA, S.; REDDY, C. R. Stereoselective total synthesis of (+)-cryptofolione and (+)-goniothalamine. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 22, p. 1249-1254, 2011.

DAVIES-COLEMAN, M. T.; RIVETT, D. E. A. Naturally occurring 6-substituted 5,6-dihydro- α -pyrones. **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**, v. 55, p. 1-35, 1989.

DAVIS, R. A.; DEMIRKIRAN, O.; SYKES, M. L.; AVERY, V. M.; SURAWEERA, L.; FECHNER, G. A.; INN, R. J. 7',8'-dihydroobolactone, a trypanocidal α -pyrone from the rainforest tree *Cryptocarya obovata*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 4057-4059, 2010.

DEWICK, P. M. The shikimate pathway: aromatic amino acids and phenylpropanoids. In: _____ . **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. Chichester: John Wiley & Sons, 1997. Chap. 4, p. 109-149.

DOLE, M.; MACK, L. L.; HINES, R. L. Molecular beams of macroions. **Journal of Chemical Physics**, v. 49, n. 5, p. 2240-2249, 1968.

DREWES, S. E.; SEHLAPELO, B. M.; HORN, M. M.; SCOTT-SHAW, R.; SANDOR, P. 5,6-dihydro- α -pyrones and two bicyclic tetrahydro- α -pyrone derivatives from *Cryptocarya latifolia*. **Phytochemistry**, v. 38, p. 1427-1430, 1995.

DREWES, S. E.; HORN, M. M.; WIJEWARDENE, C. S. α -pyrone from *Cryptocarya latifolia* - a structural isomer of umuravumbolide. **Phytochemistry**, v. 41, p. 333-334, 1996.

DREWES, S. E.; HORN, M. M.; RAMESAR, N. S.; FERREIRA, D.; NEL, R. J. J.; HUTCHINGS, A. Absolute configurations of all four stereoisomers of cryptocaryalactone and deacetylcryptocaryalactone. **Phytochemistry**, v. 49, n. 6, p. 1683-1687, 1998.

DUMONTET, V.; HUNG, N. V.; ADELIN, M.; RICHE, C.; CHIARONI, A.; SEVENET, T.; GUERITTE, F. Cytotoxic flavonoids and α -pyrones from *Cryptocarya obovata*. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 858-862, 2004.

ESSEFFAR, M.; MÓ, O.; YÁNEZ, M. Gas-phase reactivity of lactones: structure and stability of their Cu⁺ complexes. **Molecular Physics**, v. 101, n. 9, p. 1249-1258, 2003.

EVANS, D. A.; RIEGER, D. L.; GAGE, J. R. ¹³C chemical shift correlations in 1,3-diol acetonides. Implications for the stereochemical assignment of propionate-derived polyols. **Tetrahedron Letters**, v. 31, n. 49, p. 7099-7100, 1990.

FATIMA, A. de; KOHN, L. K.; ANTONIO, M. A.; CARVALHO, J. E. de; PILLI, R. A. (R)-Goniothalamine: total syntheses and cytotoxic activity against cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 2927-2933, 2005.

FATIMA, A. de; MARQUISSOLO, C.; ALBUQUERQUE, S. de; ABRAHAO, A. A. C.; PILLI, R. A. Trypanocidal activity of 5,6-dihydropyran-2-ones against free trypomastigotes forms of *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 41, n. 10, p. 1210-1213, 2006.

FENG, R.; WANG, T.; WEI, W.; TAN, R. X.; GE, H. M. Cytotoxic constituents from *Cryptocarya maclurei*. **Phytochemistry**, v. 90, p. 147-153, 2013.

FENN, J. B.; MANN, M.; MENG, C. K.; WONG, S. F.; WHITEHOUSE, C. M. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. **Science**, v. 246, p. 64-71, 1989.

FLACK, H. D.; BERNARDINELLI, G. The use of X-ray crystallography to determine absolute configuration. **Chirality**, v. 20, p. 681-690, 2008.

FREIRE, F.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Determining the absolute stereochemistry of secondary/secondary diols by ¹H NMR: basis and applications. **Journal of Organic Chemistry**, v. 70, n. 10, p. 3778-3790, 2005a.

FREIRE, F.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. The assignment of the absolute configuration of 1,2-diols by low-temperature NMR of a single MPA derivative. **Organic Letters**, v. 7, n. 22, p. 4855-4858, 2005b.

FREIRE, F.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. The prediction of the absolute stereochemistry of primary and secondary 1,2-diols by ¹H NMR spectroscopy: principles and applications. **Chemistry - A European Journal**, v. 11, n. 19, p. 5509-5522, 2005c.

- FREIRE, F.; CALDERON, F.; SECO, J. M.; FERNANDEZ-MAYORALAS, A.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Relative and absolute stereochemistry of secondary/secondary diols: low-temperature ^1H NMR of their bis-MPA esters. **Journal of Organic Chemistry**, v. 72, n. 7, p. 2297-2301, 2007a.
- FREIRE, F.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Challenging the absence of observable hydrogens in the assignment of absolute configurations by NMR: application to chiral primary alcohols. **Chemical Communications**, n. 14, p. 1456-1458, 2007b.
- FREIRE, F.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Chiral 1,2-diols: the assignment of their absolute configuration by NMR made easy. **Organic Letters**, v. 12, n. 2, 208-211, 2010.
- FU, X.; SEVENET, T.; REMY, F.; PAIS, M.; HAMID, A.; HADI, A.; ZENG, L. M. Flavanone and chalcone derivatives from *Cryptocarya kurzii*. **Journal of Natural Products**, v. 56, p. 1153-1163, 1993a.
- FU, X.; SEVENET, T.; HAMID, A.; HADI, A.; REMY, F.; PAIS, M. Kurzilactone from *Cryptocarya kurzii*. **Phytochemistry**, v. 33, n. 5, p. 1272-1274, 1993b.
- FURTADO, N. A. J. C.; VESSECCHI, R.; TOMAZ, J. C.; GALEMBECK, S. E.; BASTOS, J. K.; LOPES, N. P.; CROTTI, A. E. M. Fragmentation of diketopiperazines from *Aspergillus fumigatus* by electrospray ionization tandem mass spectrometry (ESI-MS/MS). **Journal of Mass Spectrometry**, v. 42, p. 1279-1286, 2007.
- GARCÍA, R.; SECO, J. M.; VÁZQUEZ, S. A.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Role of barium(II) in the determination of the absolute configuration of chiral amines by ^1H NMR spectroscopy. **Journal of Organic Chemistry**, v. 71, p. 1119-1130, 2006.
- GIOCONDO, M. P.; BASSI, C. L.; TELASCREA, M.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; SILVA, D. H. S.; AGUSTONI, D.; MELLO, E. R.; SOARES, C. P. Cryptomoschatone D2 from *Cryptocarya mandioccana*: cytotoxicity against human cervical carcinoma cell lines. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 30, n. 3, p. 315-322, 2009.
- GRKOVIC, T.; BLEES, J. S.; COLBURN, N. H.; SCHMID, T.; THOMAS, C. L.; HENRICH, C. J.; McMAHON, J. B.; GUSTAFSON, K. R. Cryptocaryols A-H, α -pyrone-containing 1,3-polyols from *Cryptocarya* sp. implicated in stabilizing the tumor suppressor Pcd4. **Journal of Natural Products**, v. 74, p. 1015-1020, 2011.
- HERDERICH, M.; BECKERT, C.; VEIT, M. Establishing styrylpyrone synthase activity in cell free extracts obtained from gametophytes of *Equisetum arvense* L. by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Phytochemical Analysis**, v. 8, p. 194-197, 1997.
- HOLCAPEK, M.; JIRÁSKO, R.; LÍSA, M. Recent developments in liquid chromatography-mass spectrometry and related technique. **Journal of Chromatography A**, v. 1259, p. 3-15, 2012.
- HINTER, T. J.; DEHERT, G. A. An enantioselective synthesis of cryptocarya diacetate. **Organic Letters**, v. 3, n. 17, p. 2777-2780, 2001.
- HUZINAGA, S. Basis sets for molecular calculations. **Computer Physics Reports**, v. 2, n. 6, p. 281-339, 1985.

JIANG, B.; CHEN, Z. Stereoselective synthesis of kurzilactone and determination of its absolute configuration. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 12, n. 20, p. 2835-2843, 2001.

JULIAWATYA, L. D.; KITAJIMA, M.; TAKAYAMA, H.; ACHMAD, S. A.; AIMI, N. A 6-substituted-5,6-dihydro-2-pyrone from *Cryptocarya strictifolia*. **Phytochemistry**, v. 54, p. 989-993, 2000.

JULIAWATYA, L. D.; WATANABE, Y.; KITAJIMA, M.; ACHMAD, S. A.; TAKAYAMA, H.; AIMI, N. First total synthesis and determination of the absolute configuration of strictifolione, a new 6-(ω -phenylalkenyl)-5,6-dihydro- α -pyrone, isolated from *Cryptocarya strictifolia*. **Tetrahedron Letters**, v. 43, p. 8657-8660, 2002.

KHURANA, J. M.; CHAUHAN, S.; BANSAL, G. Facile hydrolysis of esters with KOH-methanol at ambient temperature. **Monatshefte für Chemie**, v. 135, p. 83-87, 2004.

KIM, Y.-J.; TAE, J. Resolution of 2-silyloxy-1-oxiranyl-4-pentenes by HKR: total synthesis of (5*S*,7*R*)-kurzilactone. **Synlett**, v. 1, p. 61-64, 2006.

LATYPOV, S. K.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. MTPA vs MPA in the determination of the absolute configuration of chiral alcohols by ^1H NMR. **Journal of Organic Chemistry**, v. 61, p. 8569-8577, 1996.

LATYPOV, S. K.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA R. Are both the (*R*)- and the (*S*)-MPA esters really needed for the assignment of the absolute configuration of secondary alcohols by NMR? The use of a single derivative. **Journal of American Chemical Society**, v. 120, p. 877-882, 1998.

LEBEL, P.; GAGNON, J.; FURTOS, A.; WALDRON, K. C. A rapid, quantitative liquid chromatography-mass spectrometry screening method for 71 active and 11 natural erectile dysfunction ingredients present in potentially adulterated or counterfeit products. **Journal of Chromatography A**, v. 1343, p. 143-151, 2014.

LEETE, E. M. IR, A. T W ERS, G. H. N. Biosynthesis of psilotin from [2', 3'- $^{13}\text{C}_2$, 1'- ^{14}C , 4- ^3H] phenylalanine studied with ^{13}C -NMR. **Tetrahedron Letters**, v. 23, n. 26, p. 2635-2638, 1982.

MERAGELMAN, T. L.; SCUDIERO, D. A.; DAVIS, R. E.; STAUDT, L. M.; McCLOUD, T. G.; CARDELLINA II, J. H.; SHOEMAKER, R. H. Inhibitors of the NF- κ B activation pathway from *Cryptocarya rugulosa*. **Journal of Natural Products**, v. 72, n. 3, p. 336-339, 2009.

MEYER, H. H. Syntheses of (-)-(*S*)- and (+)-(*R*)-goniothalamine; absolute configuration of the naturally occurring (+)-goniothalamine. **Liebigs Annalen der Chemie**. v. 1979, n. 4, p. 484-491, 1979.

MORAES, M. C. B.; LAGO, C. L. do. Espectrometria de massas com ionização por "electrospray" aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 556-563, 2003.

MORI, Y.; FURUKAWA, H. Synthesis of cryptocaryalactone, a 1,3-polyol-derived unsaturated lactone. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 10, p. 2161-2163, 1994.

NOVAES, L. F. T.; DREKENER, R. L.; AVILA, C. M.; PILLI, R. A. Total synthesis of cryptomoscatones D1 and D2: stereochemical assignment of cryptomoscatone D1. **Tetrahedron**, v. 70, p. 6467-6473, 2014.

PASCOLI, I. C. **Estudo fitoquímico dos frutos de *C. moschata* (Nees et Mart.) Mez. (Lauraceae)**. 2001. 92 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.

PAZOS, Y.; LEIRO, V.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Boc-phenylglycine: a chiral solvating agent for the assignment of the absolute configuration of amino alcohols and their ethers by NMR. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 15, p. 1825-1829, 2004.

PORTO, S.; DURÁN, J.; SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. "Mix and Shake" method for configurational assignment by NMR: application to chiral amines and alcohols. **Organic Letters**, v. 5, v. 17, p. 2979-2982, 2003.

PORTO, S.; SECO, J. M.; ORTIZ, A.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Chiral thiols: the assignment of their absolute configuration by ¹H NMR. **Organic Letters**, v. 9, n. 24, p. 5015-5018, 2007.

PORTO, S.; SECO, J. M.; ESPINOSA, R. F.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Resin-bound chiral derivatizing agents for assignment of configuration by NMR spectroscopy. **Journal of Organic Chemistry**, v. 73, p. 5714-5722, 2008.

RICARDO, M. A. G.; ANDREO, M. A.; CAVALHEIRO, A. J.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V. S.; SILVA, D. H. S. Bioactive pyrones and flavonoids from *Cryptocarya aschersoniana* seedlings. **Arkivoc**, v. 6, p. 127-136, 2004.

RYCHNOVSKY, A. D.; AKALITZKY, D. J. Stereochemistry of alternating polyol chains: ¹³C NMR analysis of 1,3-diol acetonides. **Tetrahedron Letters**, v 31, n. 7, p. 945-948, 1990.

RYCHNOVSKY, S. D.; ROGERS, B.; YANG, G. Analysis of two ¹³C NMR correlation for determining the stereochemistry of 1,3-diol acetonides. **Journal of Organic Chemistry**, v. 58, p. 3511-3515, 1993.

SABITHA, G.; GOPAL, P.; YADAV, J. S. Formal synthesis of natural 1,3-polyol/ α -pyrone diastereoisomers. **Helvetica Chimica Acta**, v. 91, p. 2240-2246, 2008.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; ASTUDILLO, L.; BASTIDA, J.; CODINA, C.; ARIAS, A. R. de; FERREIRA, M. E.; INCHAUSTTI, A.; YALUFF, G. Cryptofolione derivatives from *Cryptocarya alba* fruits. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 53, p. 563-567, 2001.

SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. The assignment of absolute configuration by NMR. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 1, p. 105-114, 2004.

SECO, J. M.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Assignment of the absolute configuration of polyfunctional compounds by NMR using chiral derivatizing agents. **Chemical Review**, v. 112, p. 4603-4641, 2012.

SECO, J. M.; LATYPOV, S. K.; QUIÑOÁ, E.; RIGUERA, R. Determination of the absolute configuration of alcohols by low temperature ¹H NMR of aryl(methoxy)acetates. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 6, n. 1, p. 107-111, 1995.

SHEN, B. Polyketide biosynthesis beyond the type I, II and III polyketide synthase paradigms. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 7, p. 285-295, 2003.

STAUNTON, J.; WEISSMAN, K. J. Polyketide biosynthesis: a millenium review. **Natural Product Reports**, v. 18, p. 380-416, 2001.

STURGEON, C. M.; CINEL, B.; DIAZ-MARRERO, A. R.; McHARDY, L. M.; NGO, M.; ANDERSEN, R. J.; ROBERGE, M. Abrogation of ionizing radiation-induced G2 checkpoint and inhibition of nuclear export by *Cryptocarya pyrones*. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 61, p. 407-413, 2008.

TELASCREA, M. **Busca de substâncias antitumorais e antifúngicas através do estudo fitoquímico biomonitorado em *Cryptocarya mandioccana* e *C. moschata* (Lauraceae)**. 2006. 236 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

VEIT, M.; BECKERT, C.; HOHNE, C.; BAUER, K.; GEIGER, H. Interspecific and intraspecific variation of phenolics the genus *Equisetum* subgenus *Equisetum*. **Phytochemistry**, v. 38, p. 881-891, 1995.

VESSECCHI, R.; NASCIMENTO, P. G. B. D.; LOPES, J. N. C.; LOPES, N. P. Fragmentation studies of synthetic 2-acylamino-1,4-naphthoquinones by electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 41, p. 1219-1225, 2006.

VESSECCHI, R.; GALEMBECK, S. E.; LOPES, N. P.; NASCIMENTO, P. G. B. D.; CROTTI, A. E. M. Aplicação da química quântica computacional no estudo de processos químicos envolvidos em espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 840-853, 2008.

VESSECCHI, R.; LOPES, J. N. C.; LOPES, N. P.; GALEMBECK, S. E. Application of the atoms in molecules theory and computational chemistry in mass spectrometry analysis of 1,4-naphthoquinone derivatives. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 115, p. 12780-12788, 2011.

WENZEL, T.; CHISHOLM, C. D. Assignment of absolute configuration using chiral reagents and NMR spectroscopy. **Chirality**, v. 23, p. 190-214, 2011.

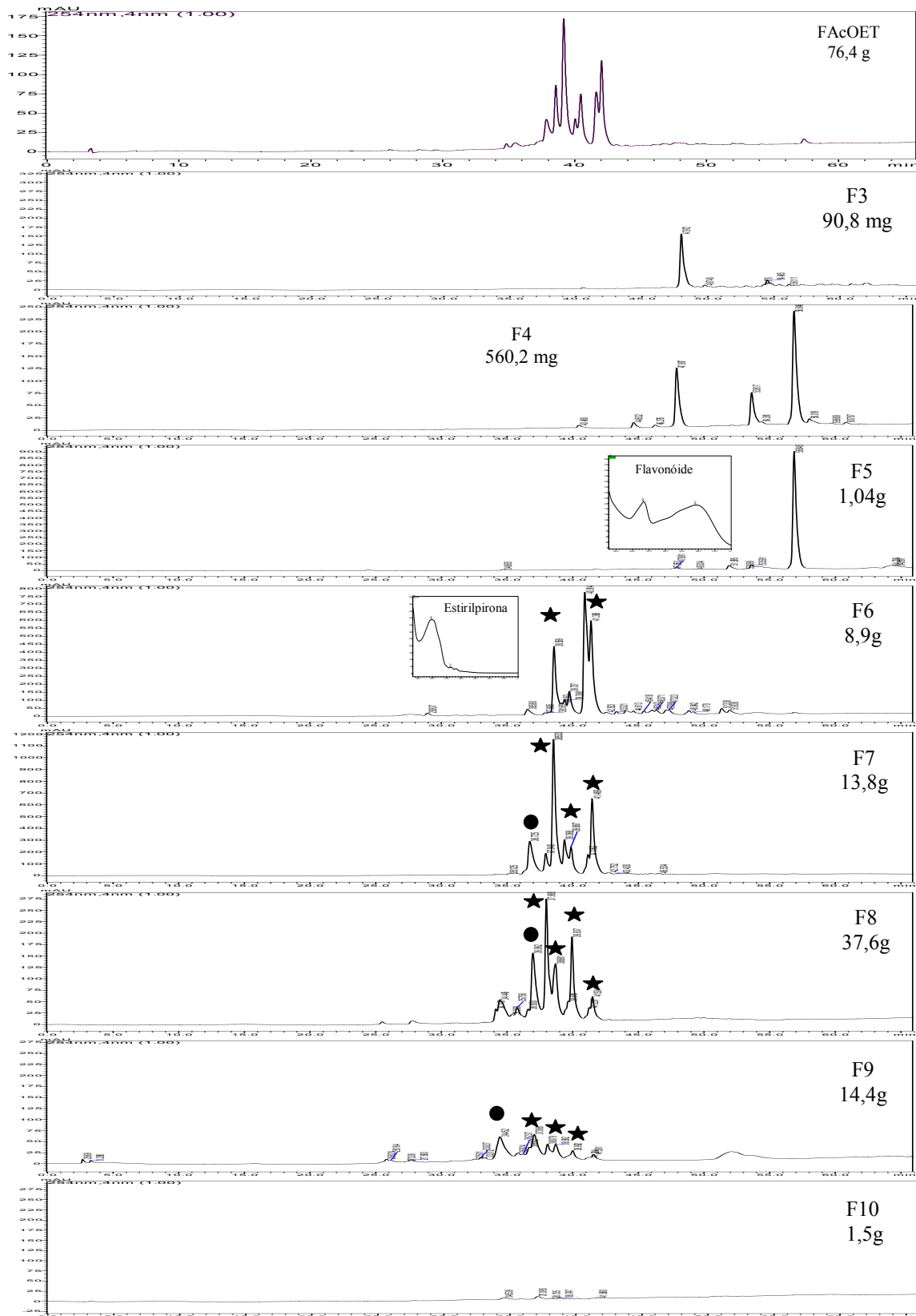
WHITEHOUSE, C. M.; DREYER, R. N.; YAMASHITA, M.; FENN, J. B. Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers. **Analytical Chemistry**, v. 57, p. 675-679, 1985.

YADAV, J. S.; BHUNIA, D. C.; GANGANNA, B.; SINGH, V. K. First stereoselective total synthesis of cryptomoscatone E1 and synthesis of (+)-goniothalamin via an asymmetric acetate aldol reaction. **RSC Advances**, v. 3, p. 5254-5260, 2013.

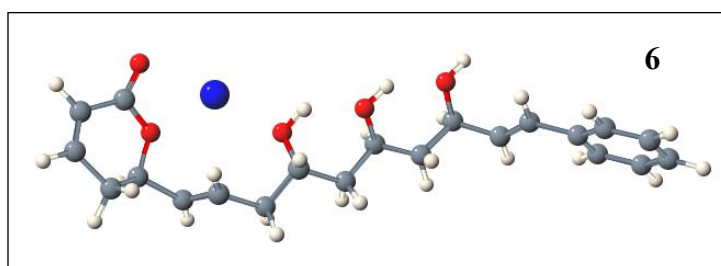
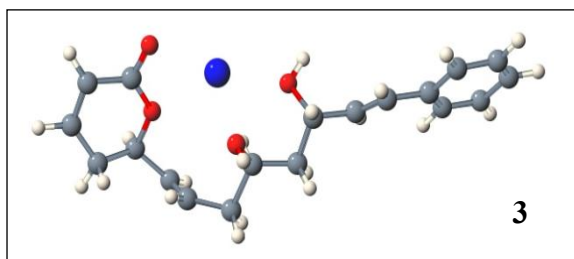
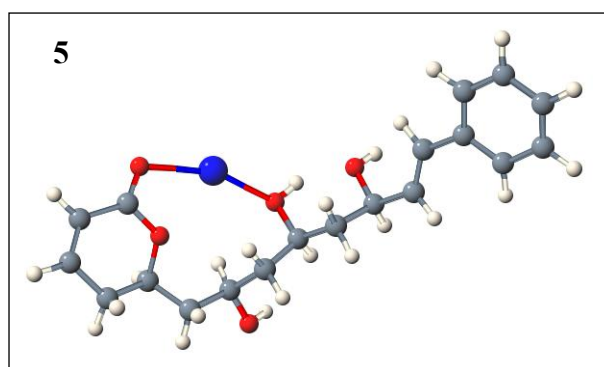
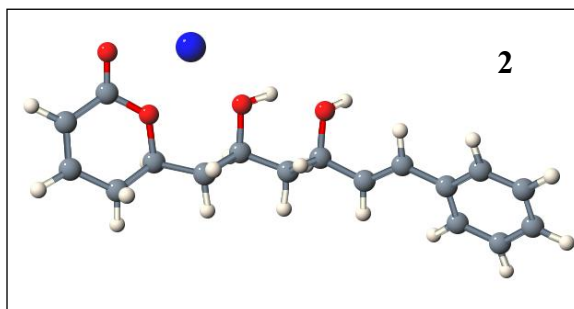
YAMASHITA, M.; FENN, J. B. Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 88, n. 20, p. 4451-4459, 1984.

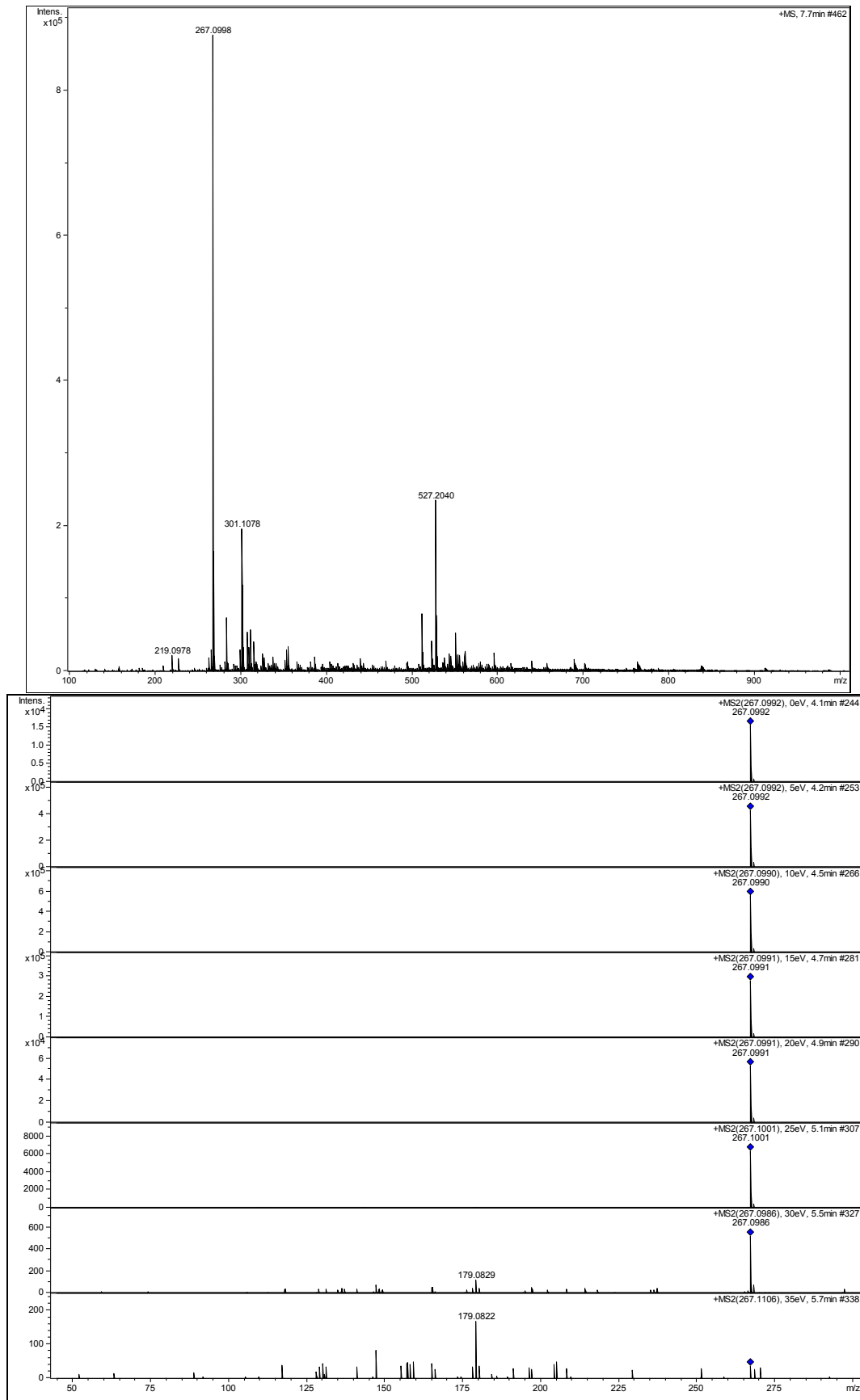
Anexos

Anexo 1 - Cromatogramas das frações EFS em sílica, obtidos em CLAE-DAD fase reversa C-18 e registrados em 254 nm. ● Flavonóides, ★ Estirilpironas.

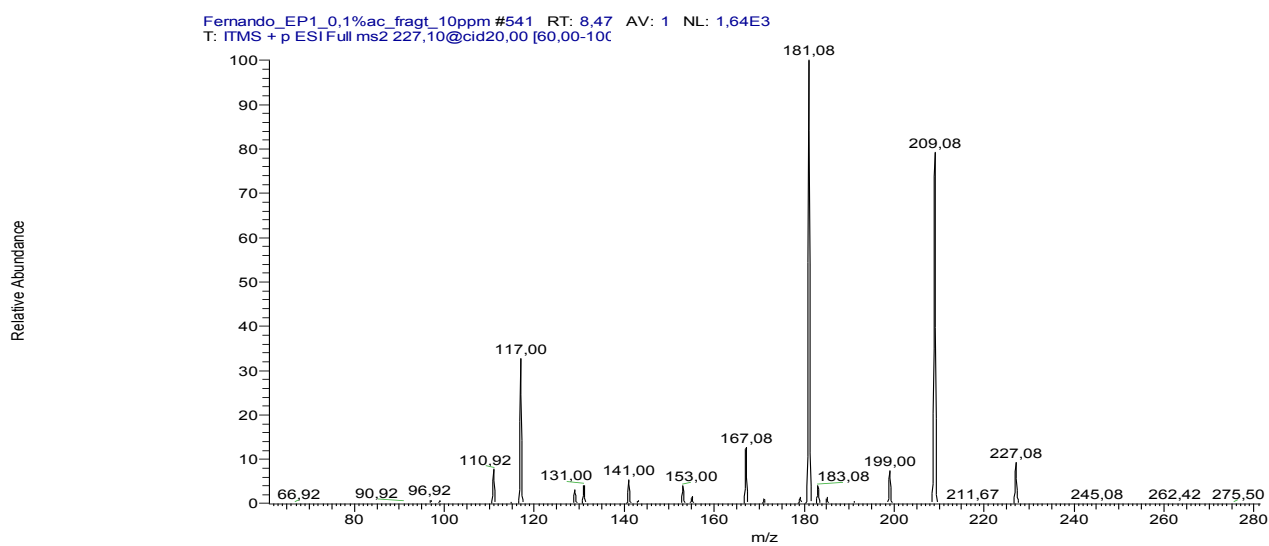
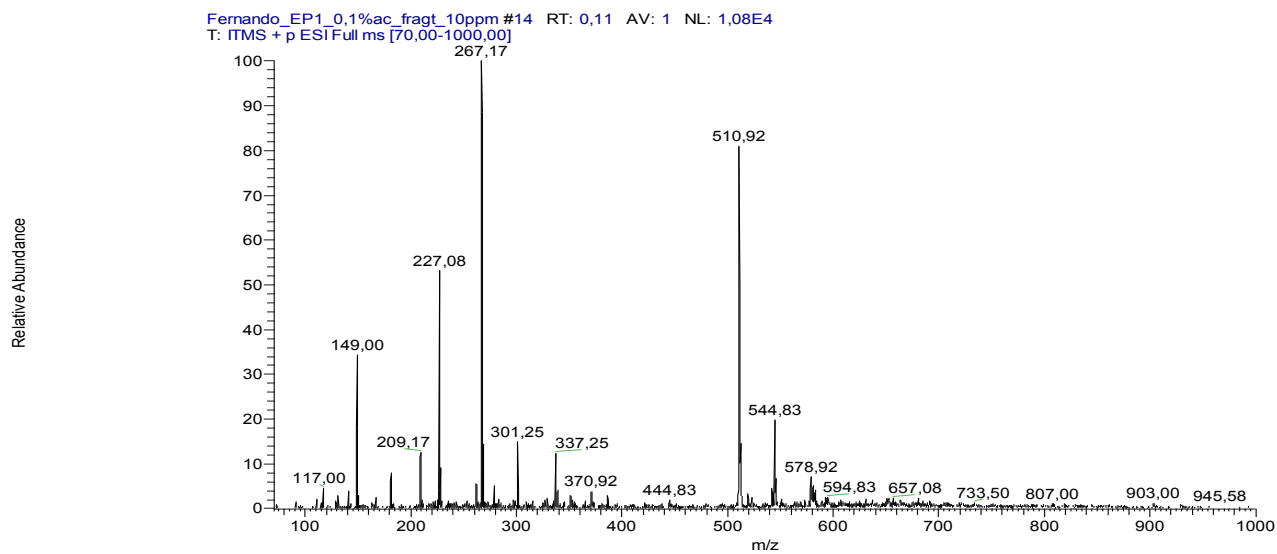


Anexo 2 - Conformêros de menor energia para as estilípironas criptomoscatoa D1 (**2**), criptomoscatoa E3 (**5**), criptomoscatoa E2 (**3**) e criptomoscatoa F1 (**6**), respectivamente.

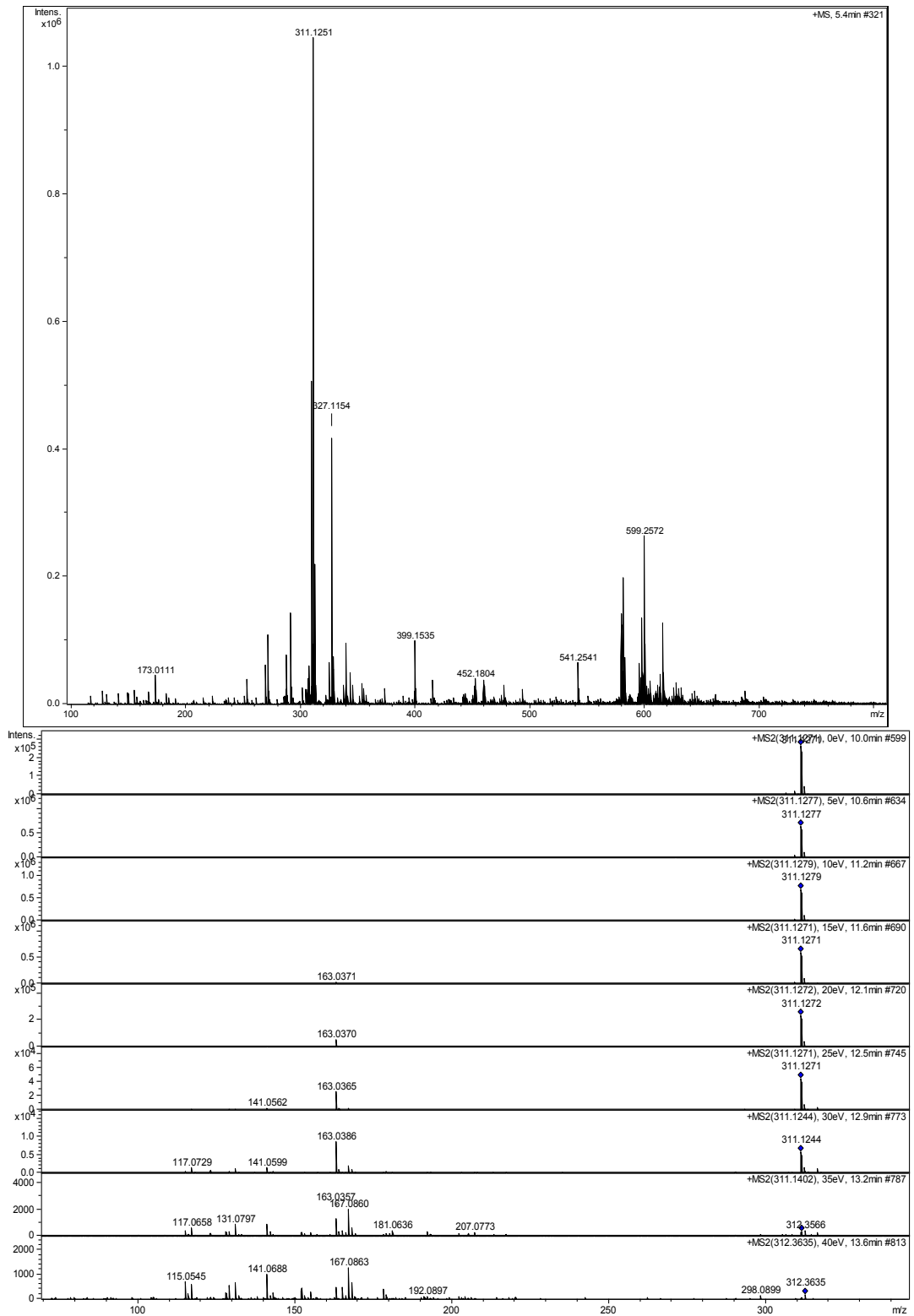


Anexo 3 – Espectro de massas em alta resolução e fragmentograma da substância desacetilripcaralactona (1).

Anexo 4 - Espectro de massas em baixa resolução e espectro MS/MS da espécie $[M+H-H_2O]^+$ da estirilpirona desacetilcriptocarialactona (**1**).

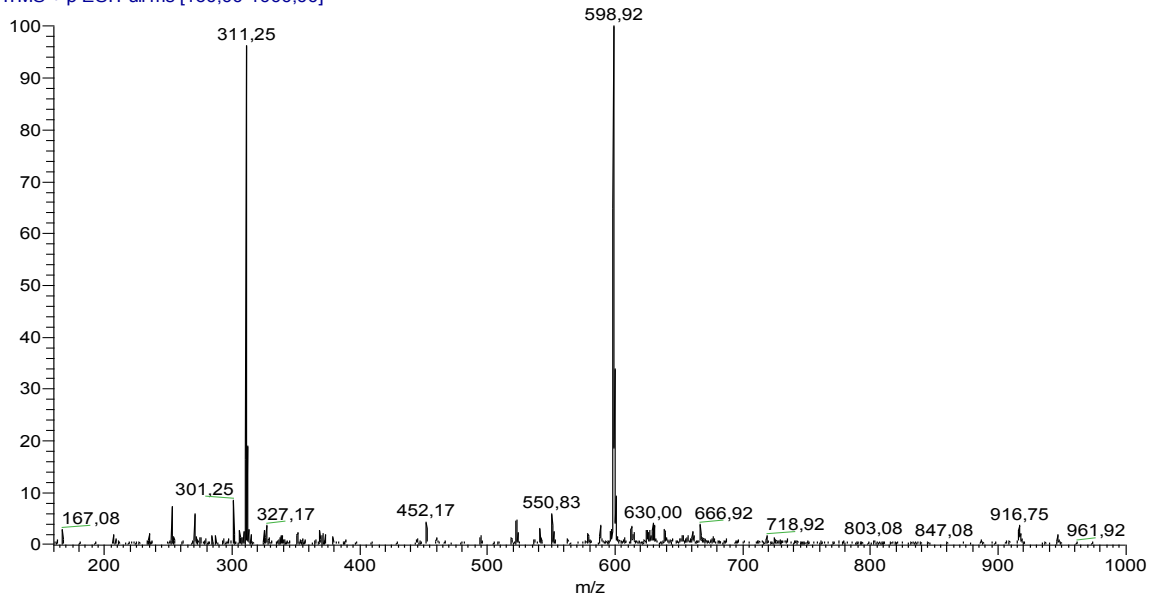


Anexo 5 - Espectro de massas em alta resolução e fragmentograma da substância criptomoscatoa D1 (2).

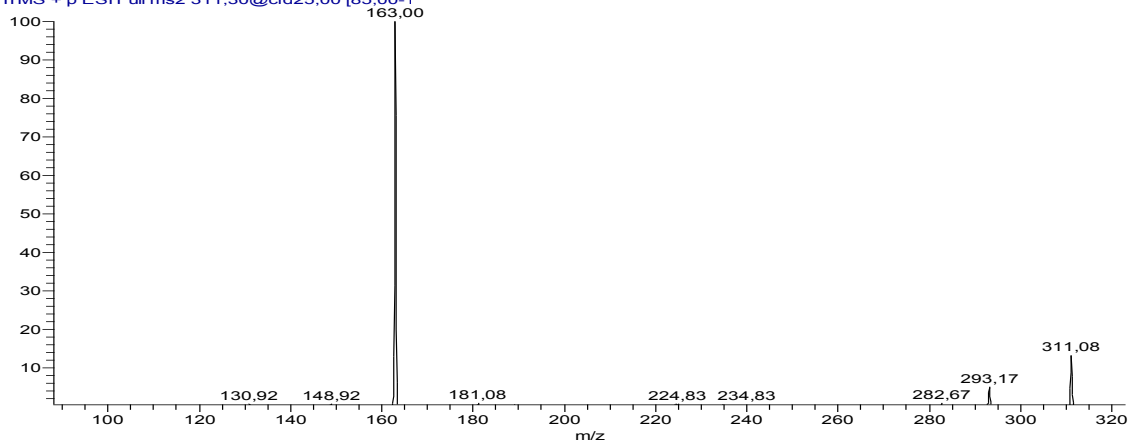


Anexo 6 - Espectro de massas em baixa resolução e espectro MS/MS das espécies $[M+Na]^+$ e $[M+H-H_2O]^+$ da substância criptomoscatoa D1 (2), respectivamente.

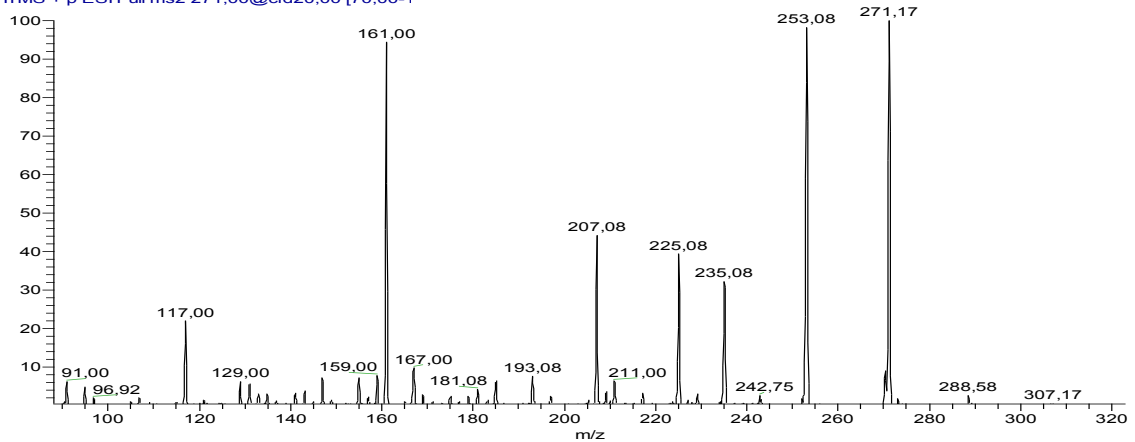
Fernando_EP8_0,1%ac_fragt_10ppm #15 RT: 0,11 AV: 1 NL: 2.12E4
T: ITMS + p ESIFull ms [160,00-1000,00]



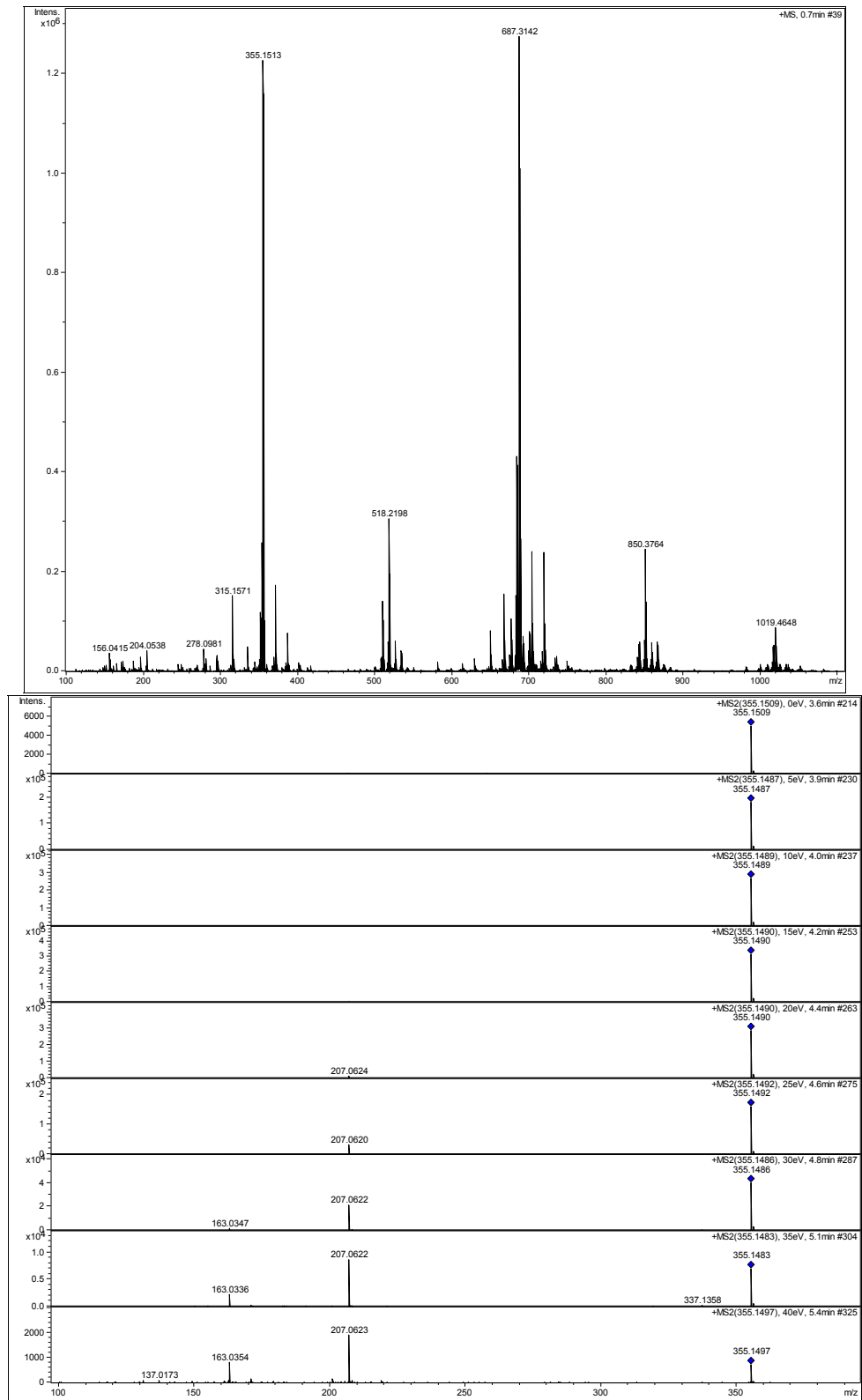
Fernando_EP8_0,1%ac_fragt_10ppm #117 RT: 1,72 AV: 1 NL: 2.75E3
T: ITMS + p ESIFull ms2 311,30@cid25,00 [85,00-1



Fernando_EP8_0,1%ac_fragt_10ppm #439 RT: 7,77 AV: 1 NL: 2.17E1
T: ITMS + p ESIFull ms2 271,00@cid20,00 [70,00-1

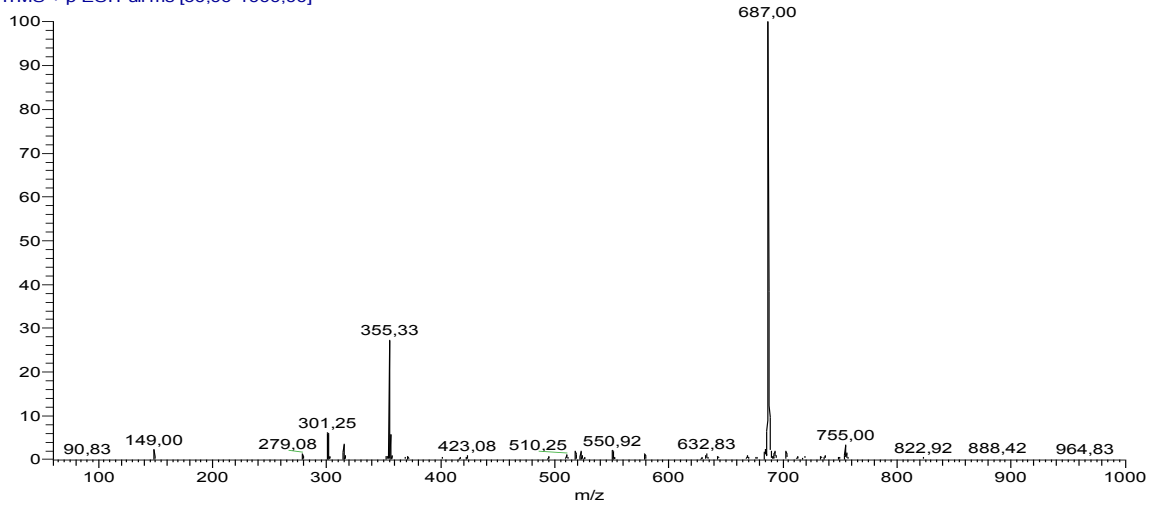


Anexo 7 - Espectro de massas em alta resolução e fragmentograma da substância criptomoscatoa E3 (5).

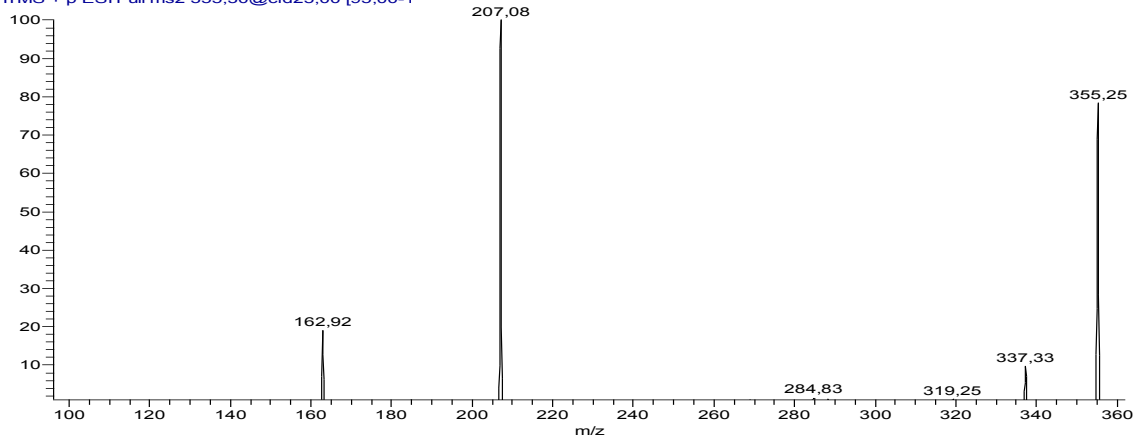


Anexo 8 - Espectro de massas em baixa resolução e espectro MS/MS das espécies $[M+Na]^+$ e $[M+H-H_2O]^+$ da substância criptomoscatoa E3 (**5**), respectivamente.

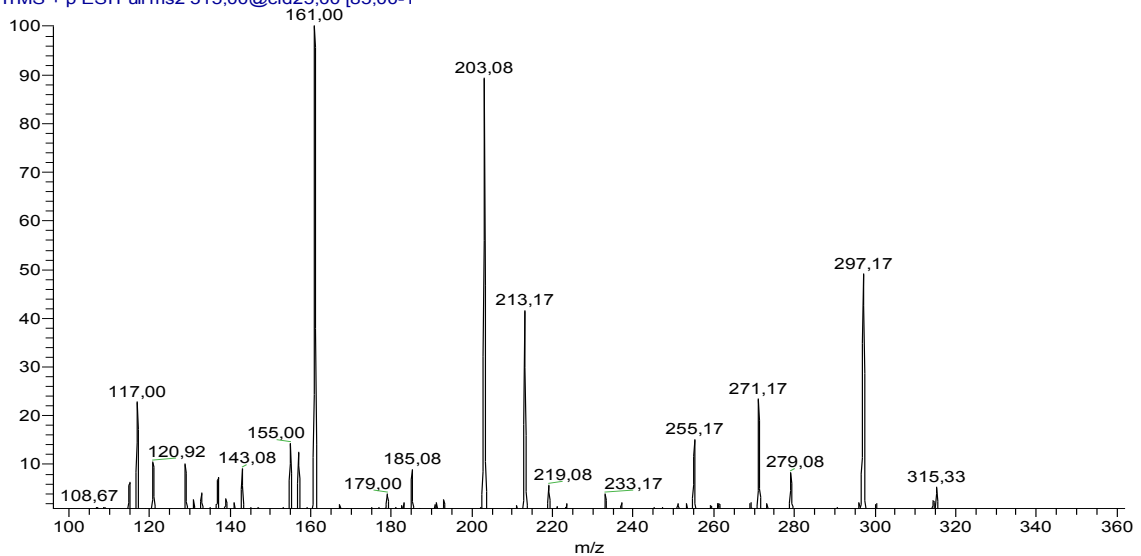
Fernando_EP3_0,1%ac_fragt_10ppm #21 RT: 0,16 AV: 1 NL: 6.07E4
T: ITMS + p ESI Full ms [60,00-1000,00]



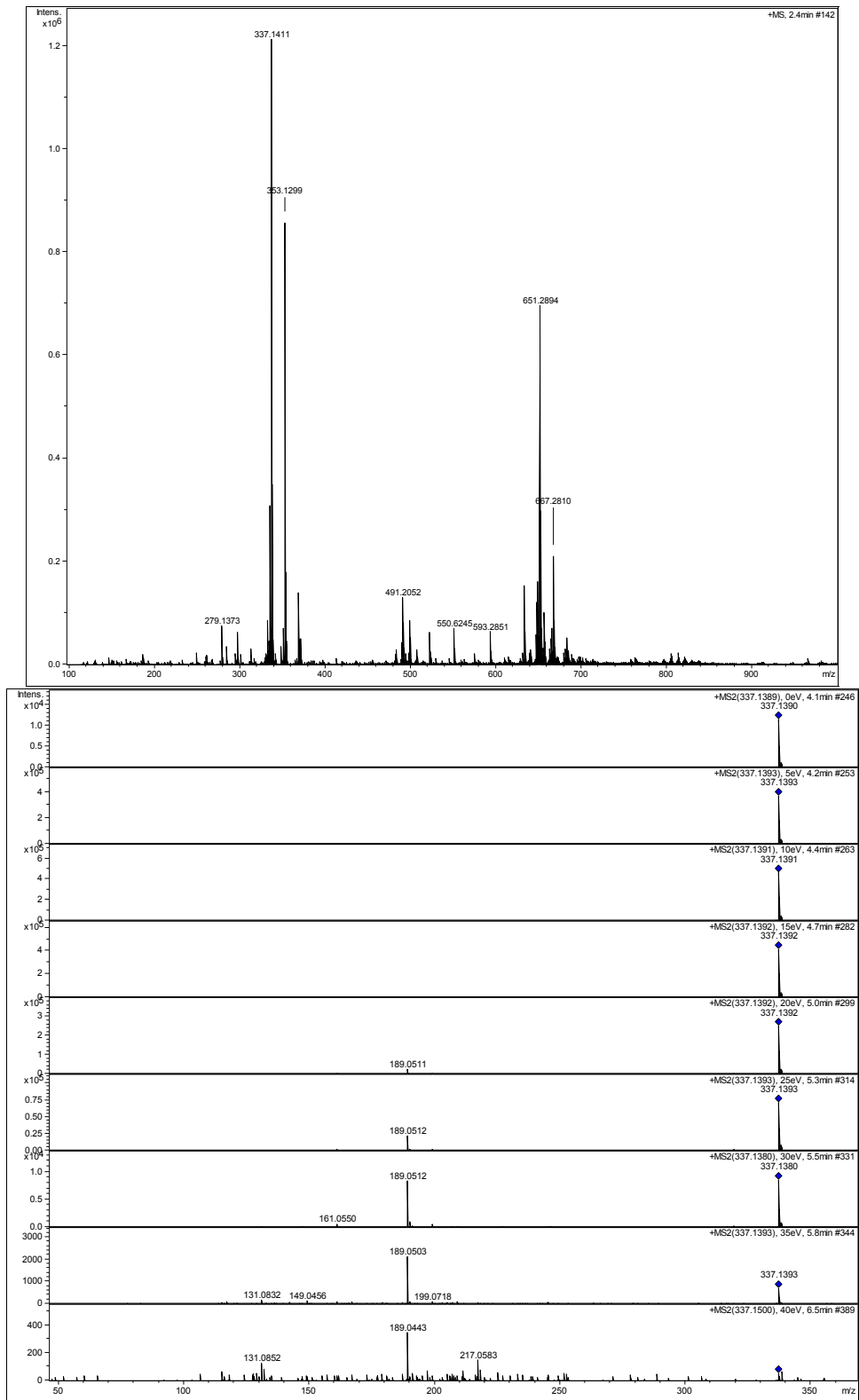
Fernando_EP3_0,1%ac_fragt_10ppm #124 RT: 1,52 AV: 1 NL: 4,33E3
T: ITMS + p ESI Full ms2 355,30@cid25,00 [95,00-1



Fernando_EP3_0,1%ac_fragt_10ppm #484 RT: 8,39 AV: 1 NL: 5,05E1
T: ITMS + p ESI Full ms2 315,00@cid25,00 [85,00-1



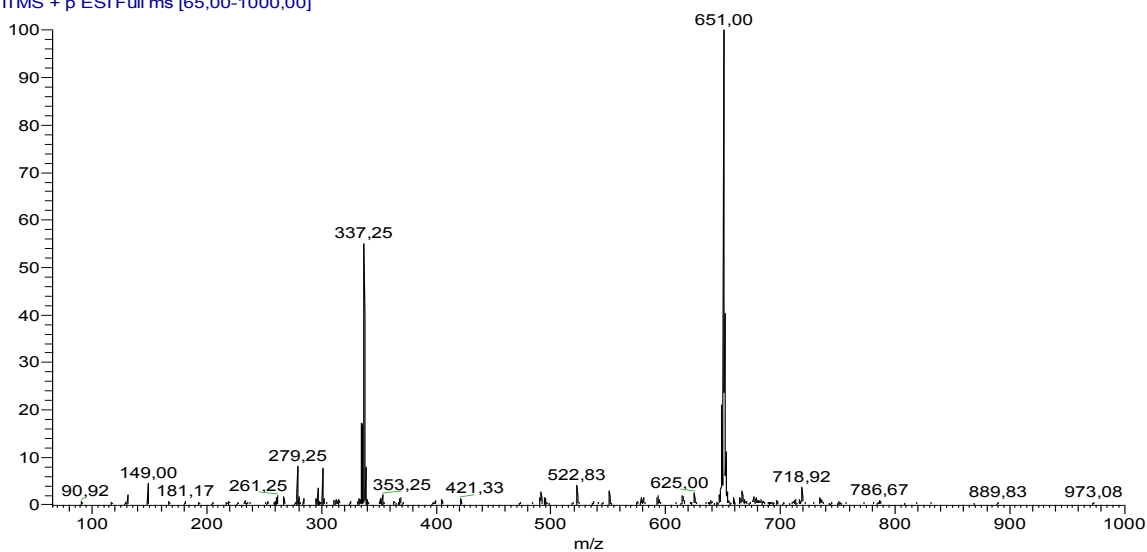
Anexo 9 - Espectro de massas em alta resolução e fragmentograma da substância criptomoscatoa E2 (3).



Anexo 10 - Espectro de massas em baixa resolução e espectro MS/MS das espécies $[M+Na]^+$ e $[M+H-H_2O]^+$ da substância criptomoscatoa E2 (**3**), respectivamente.

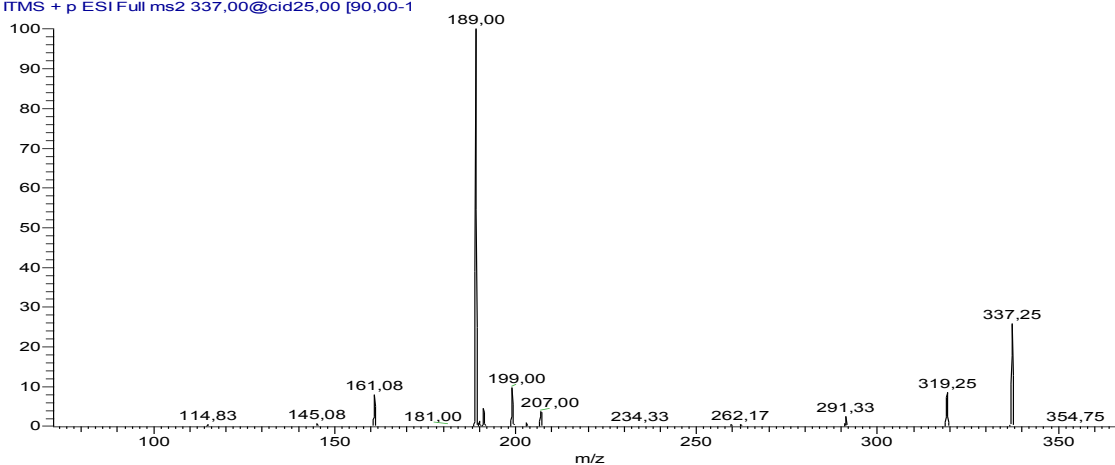
Fernando_EP2_0,1%ac_fragt_10ppm #47 RT: 0,38 AV: 1 NL: 3,69E4
T: ITMS + p ESI Full ms [65,00-1000,00]

Relative Abundance



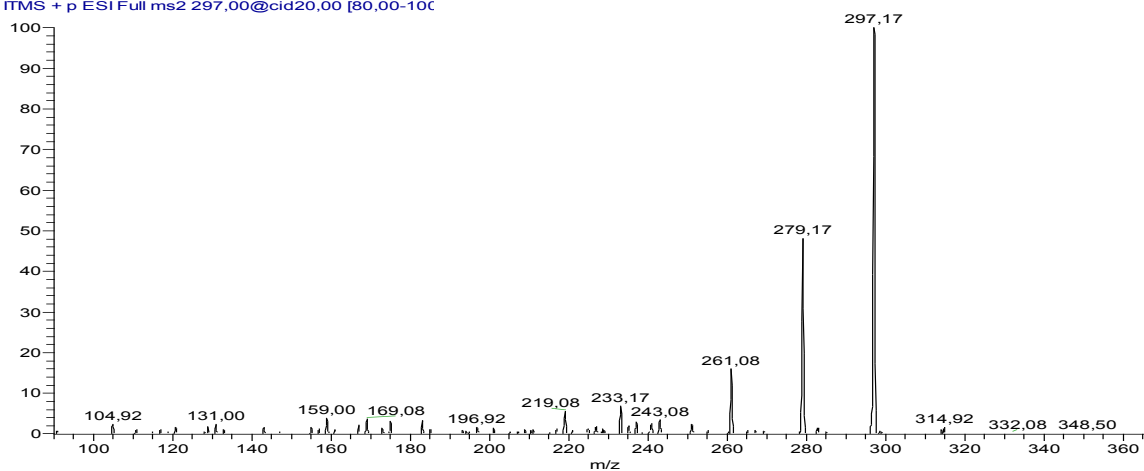
Fernando_EP2_0,1%ac_fragt_10ppm #469 RT: 8,48 AV: 1 NL: 1,35E3
T: ITMS + p ESI Full ms2 337,00@cid25,00 [90,00-1

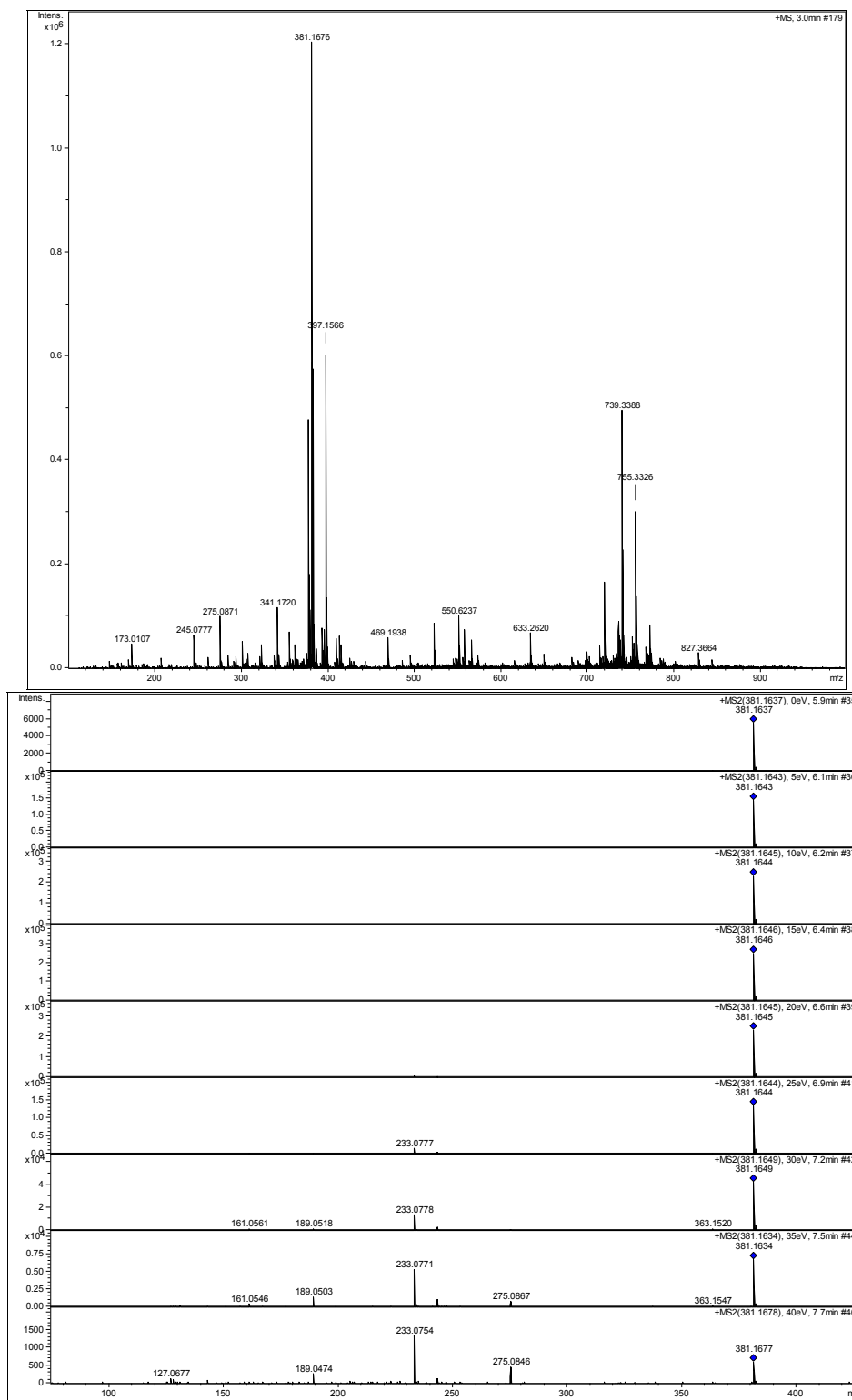
Relative Abundance



Fernando_EP2_0,1%ac_fragt_10ppm #942 RT: 17,34 AV: 1 NL: 5,40E1
T: ITMS + p ESI Full ms2 297,00@cid20,00 [80,00-100

Relative Abundance

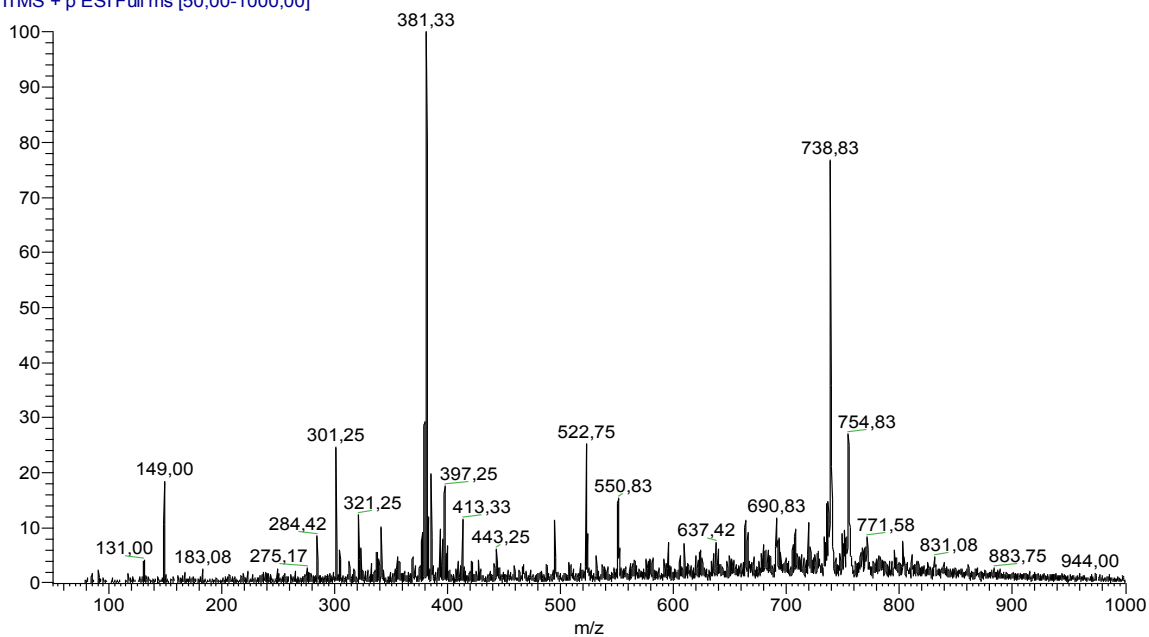


Anexo 11 - Espectro de massas em alta resolução e fragmentograma obtido da substância criptomoscatoa F1 (6).

Anexo 12 - Espectro de massas em baixa resolução e espectro MS/MS das espécies $[M+Na]^+$ e da estilipirona criptomoscatoa F1 (**6**), respectivamente.

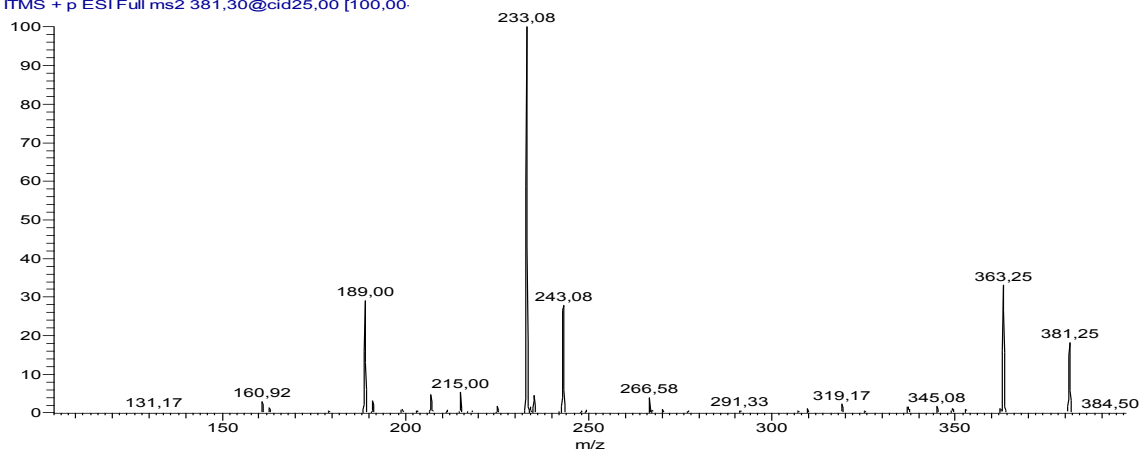
Fernando_EP5_0,1%ac_fragt_10ppm #6 RT: 0,04 AV: 1 NL: 9,54E3
T: ITMS + p ESI Full ms [50,00-1000,00]

Relative Abundance



Fernando_EP5_0,1%ac_fragt_10ppm #72 RT: 0,98 AV: 1 NL: 1,51E3
T: ITMS + p ESI Full ms2 381,30@cid25,00 [100,00]

Relative Abundance

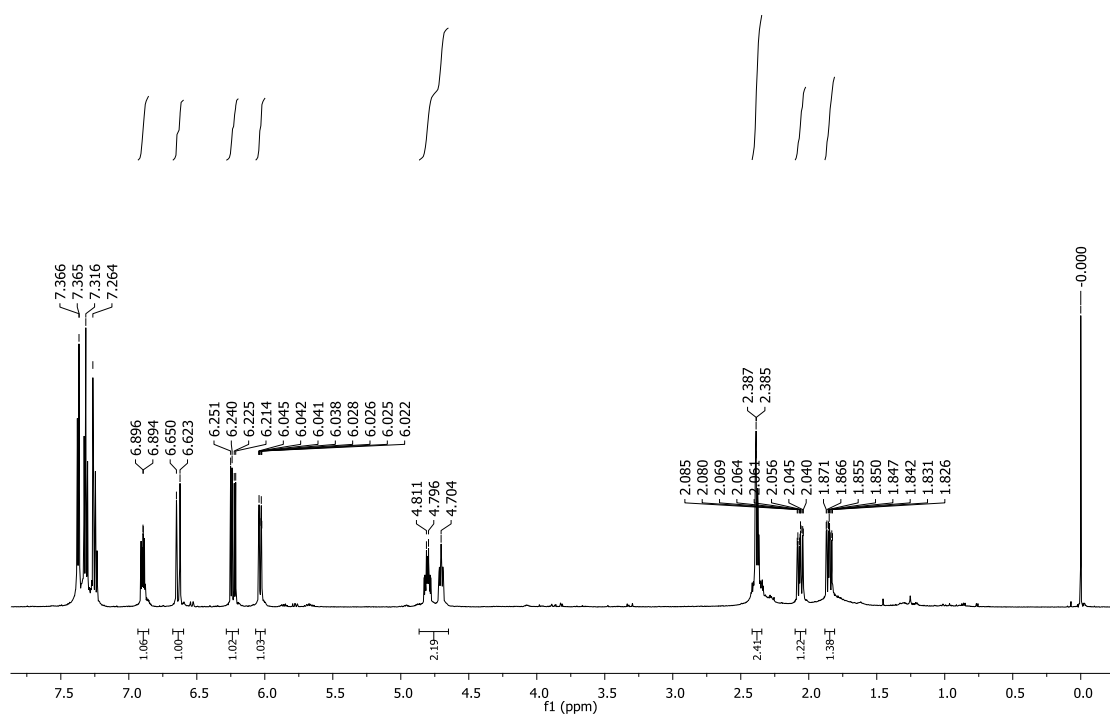


Anexo 13 – Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a desacetilriptocarialactona (**1**).

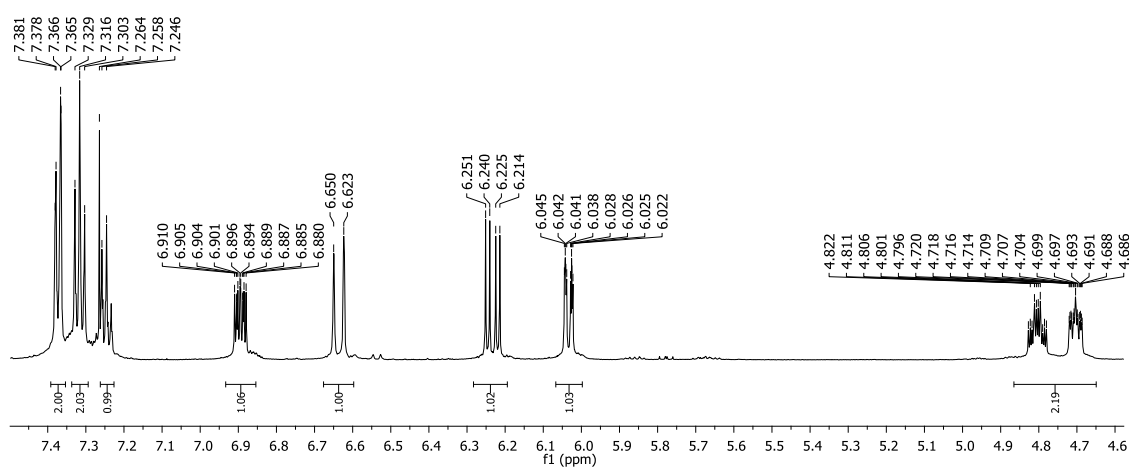
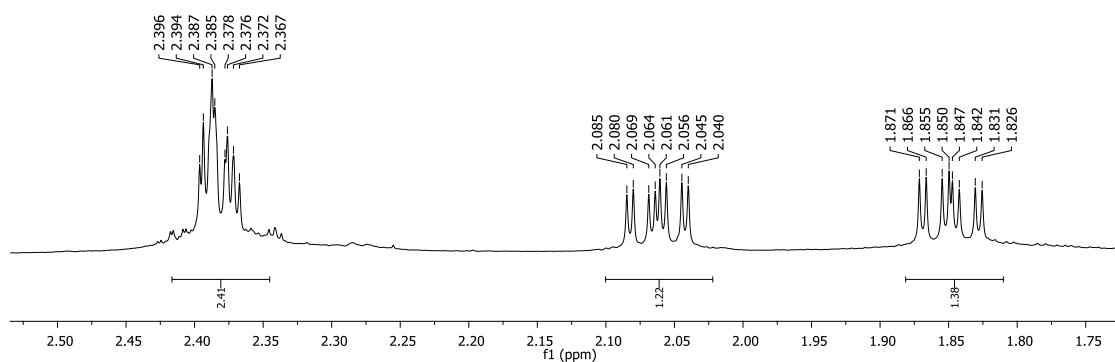
Desacetilriptocarialactona			Drewes et al. (1998)
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm/ J Hz)	^{13}C (ppm)
2	164,4	-	164,7
3	121,3	6,03 ddd (9,6; 2,4; 1,0)	121,1
4	145,4	6,89 ddd (9,6; 5,4; 3,0)	145,4
5	29,8	2,38 m	29,7
6	74,7	4,80 m	74,7
1'	42,2	1,85 ddd (15,0; 10,0; 3,0) 2,06 ddd (15,0; 10,0; 3,0)	42,2
2'	68,2	4,70 m	68,2
3'	131,6	6,23 dd (15,6; 6,6)	131,6
4'	130,3	6,64 d (15,6)	130,2
1''	136,4	-	136,5
2'' e 6''	126,5	7,37 dl (8,0)	126,4
4''	127,8	7,25 tl (8,0)	127,6
3'' e 5''	128,6	7,32 tl (8,0)	128,5

Anexo 14 – Espectro de RMN de ^1H e ampliações para a substância desacetilriptocarialactona (**1**) em CDCl_3 obtido em 600 MHz.

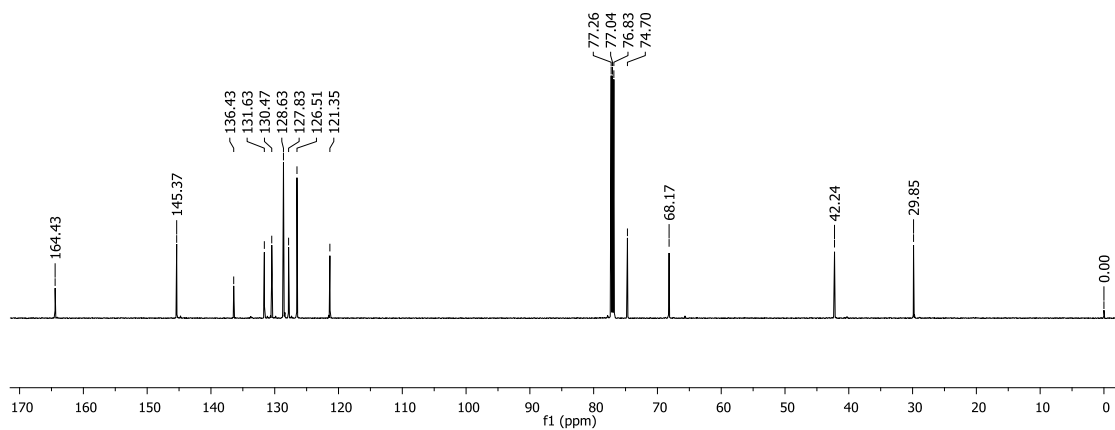
Fernando EP1
Fernando EP1 1H 05/05/2014



Anexo 15 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de RMN de ^{13}C para a substância desacetilcriptocarialactona (1) em CDCl_3 obtido em 600 MHz e 150 MHz.



Fernando EP1
Fernando EP1 13C 05/05/2014

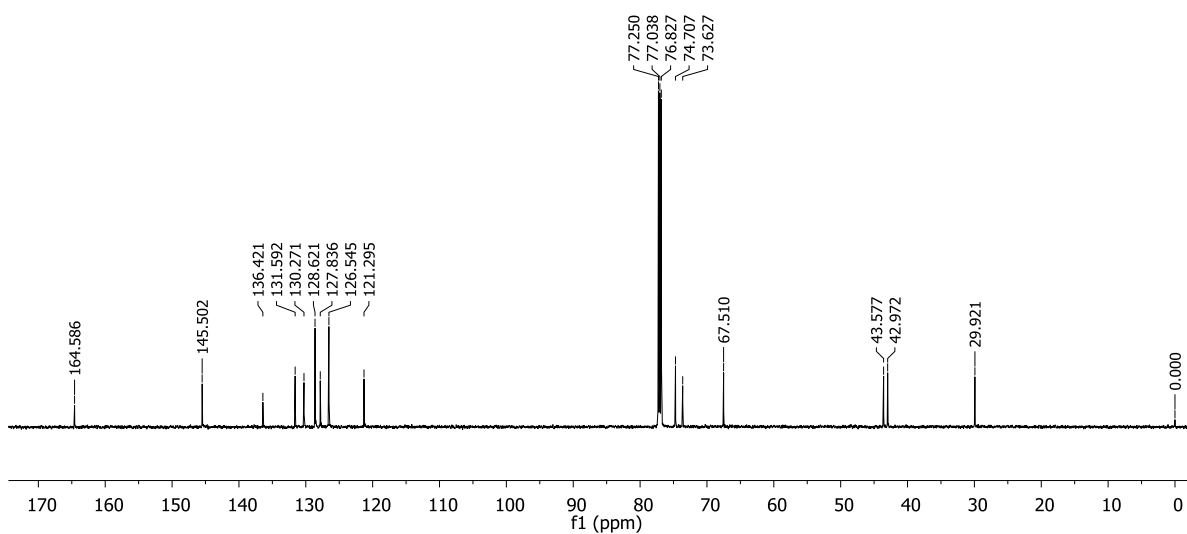


Anexo 16 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona D1 (**2**).

Criptomoscatoona D1		Cavalheiro e Yoshida (2000)	Novaes et al. (2014)
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm/ J Hz)	^{13}C (ppm)
2	164,6	-	164,0
3	121,3	6,02 dd (9,6; 2,3; 1,2)	121,9
4	145,5	6,88 ddd (9,6; 6,0; 3,0)	145,4
5	29,9	2,36 m	29,9
6	74,7	4,76 m	74,7
1'	43,0	1,74 m 1,89 ddd (14,0; 9,5; 2,5)	42,9
2'	67,5	4,33 m	67,5
3'	43,6	1,72 m 1,79 m	43,5
4'	73,6	4,59 m	73,7
5'	131,6	6,22 dd (15,6; 6,3)	131,5
6'	130,3	6,60 d (6,3)	130,3
1''	136,4	-	136,5
2'' e 6''	126,5	7,37 dl (7,2)	126,5
4''	127,8	7,25 tl (7,2)	127,8
3'' e 5''	128,6	7,31 tl (7,2)	128,6

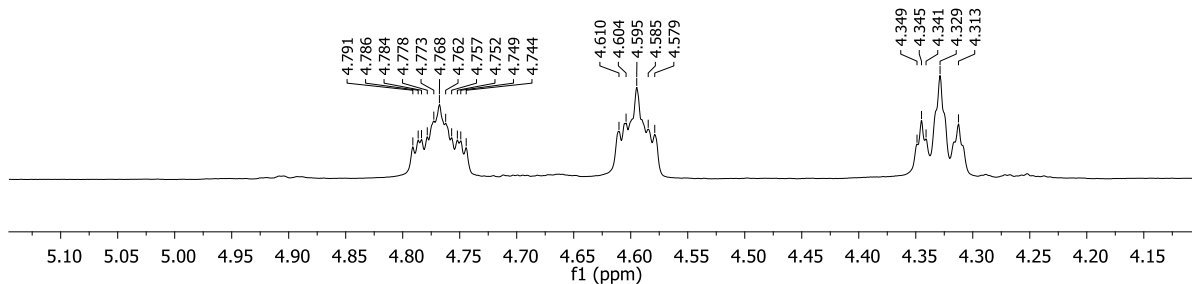
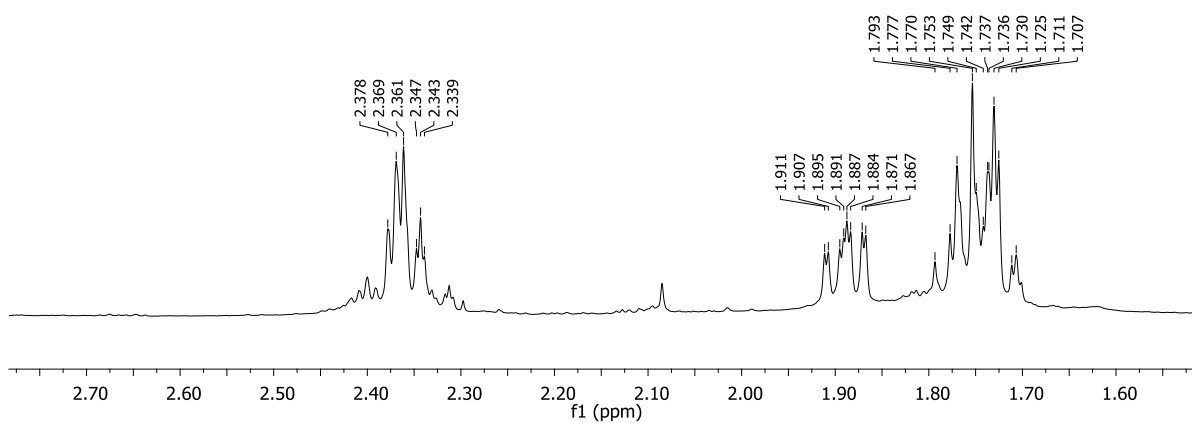
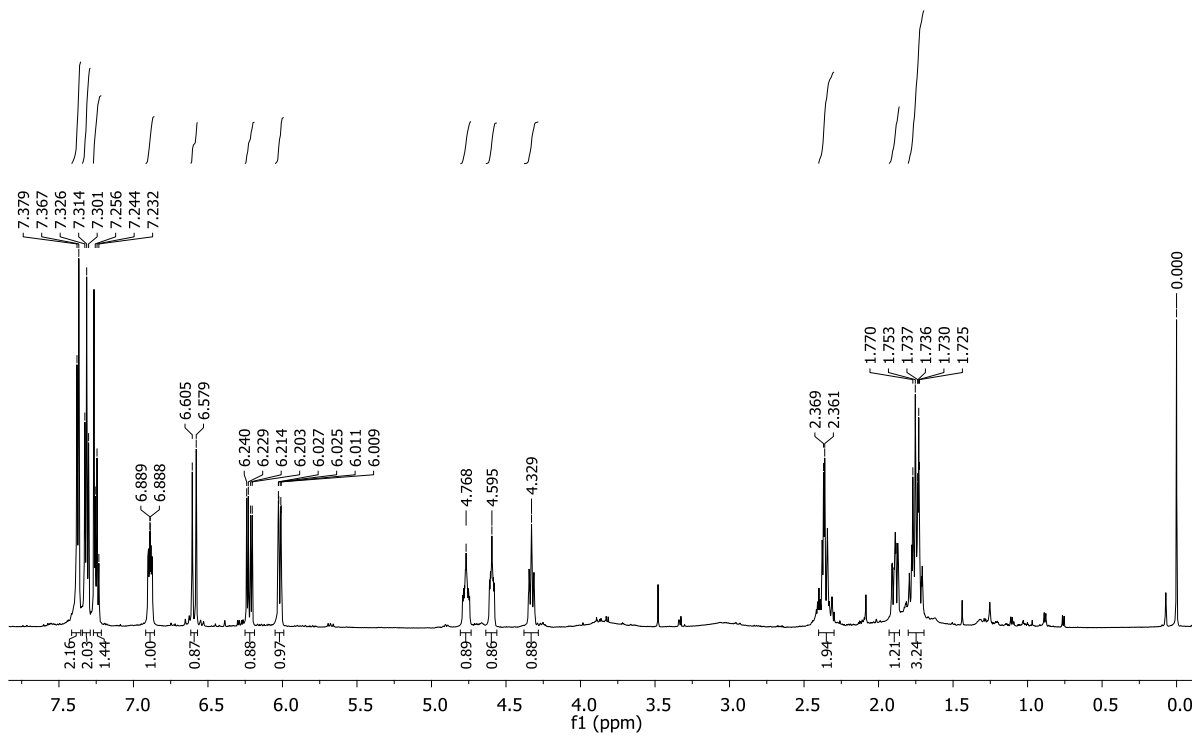
Anexo 17 - Espectro de RMN de ^{13}C da substância criptomoscatoona D1 (**2**) obtido em 150 MHz, em CDCl_3 .

Fernando F6 Pico 1
Fernando EP6 Pico 1 13C 16/05/2014

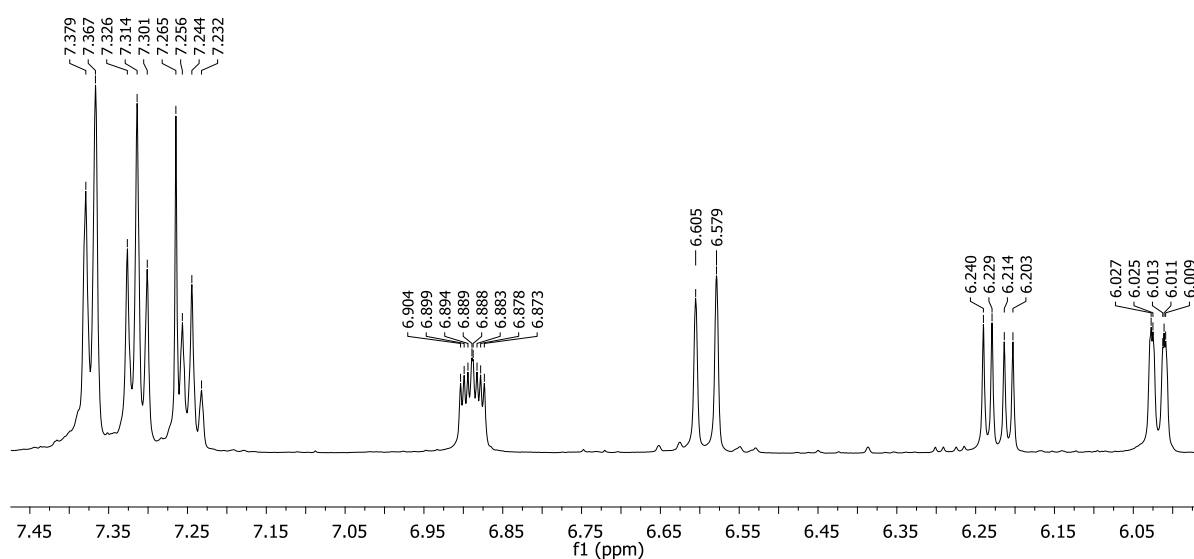


Anexo 18 - Espectro de RMN de ^1H e ampliações para a substância criptomoscatoa D1 (**2**) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

Fernando F6 Pico 1
Fernando EP6 Pico 1 ^1H 16/05/2014



Anexo 19 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa D1 (**2**) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

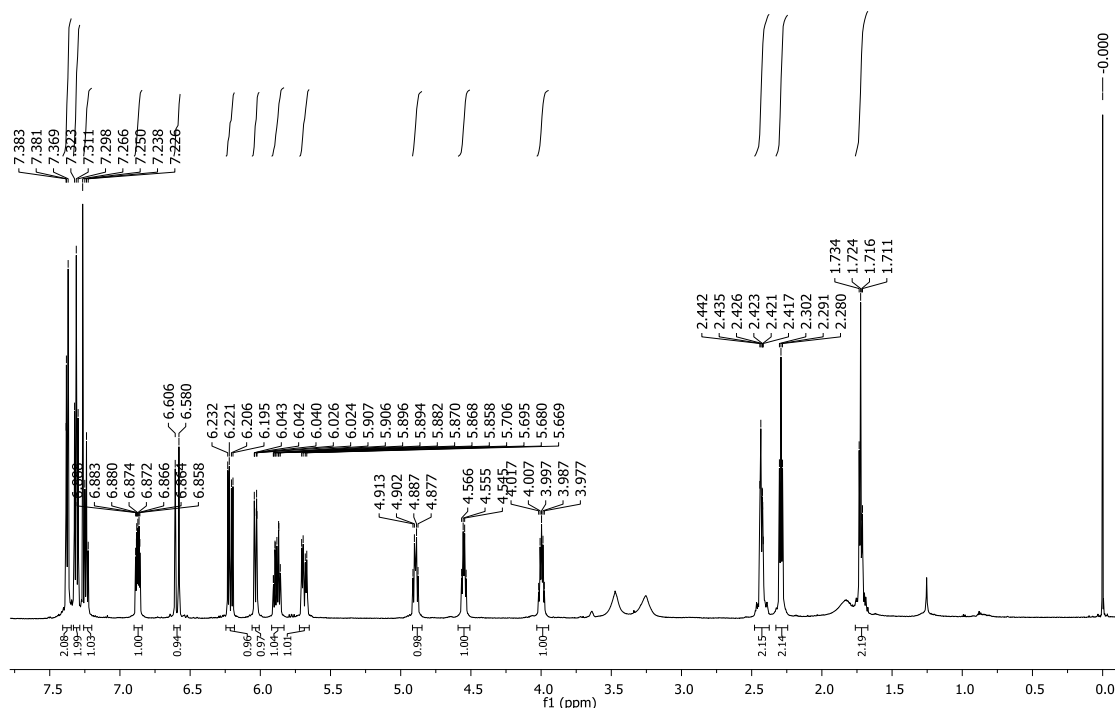


Anexo 20 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoa E1 (**4**).

Criptomoscatoa E1		Cavalheiro e Yoshida (2000)	Yadav et al. (2013)
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm/ J Hz)	^{13}C (ppm)
2	164,1	-	164,0
3	121,5	6,03 dd (9,7; 1,8)	121,6
4	144,9	6,87 ddd (9,7; 5,0; 3,0)	144,7
5	29,7	2,43 m	29,7
6	77,9	4,90 m	77,2
1'	130,0	5,69 dd (15,0; 6,6)	130,2
2'	130,8	5,88 dtd (15,6; 6,6 1,2)	130,8
3'	40,7	2,29 tl (6,6)	40,8
4'	71,2	4,0 q (6,0)	71,2
5'	42,7	1,72 m	42,8
6'	73,4	4,55 q (6,6)	73,5
7'	131,7	6,21 dd (15,6; 6,6)	130,0
8'	130,2	6,59 d (15,6)	131,5
1''	136,5	-	136,4
2'' e 6''	126,5	7,38 dl (7,2)	126,5
4''	127,6	7,24 tl (7,2)	127,8
3'' e 5''	128,6	7,31 tl (7,2)	128,6

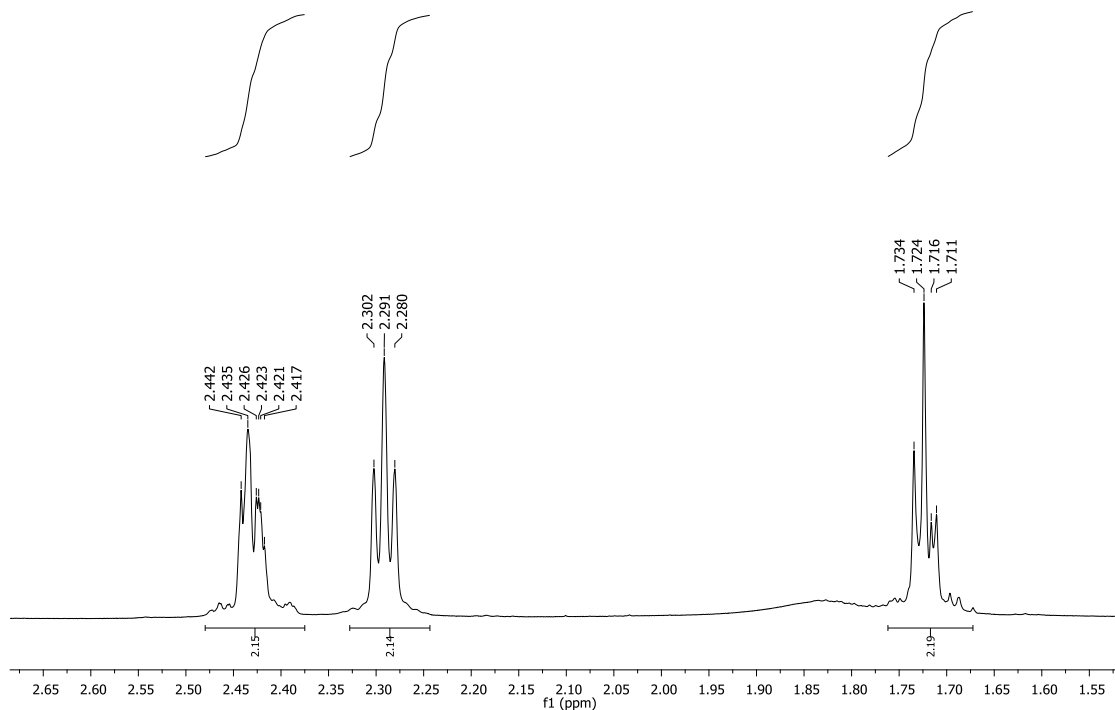
Anexo 21 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E1(4) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

Fernando F6P4
Fernando F6P4 1H 12/05/2014



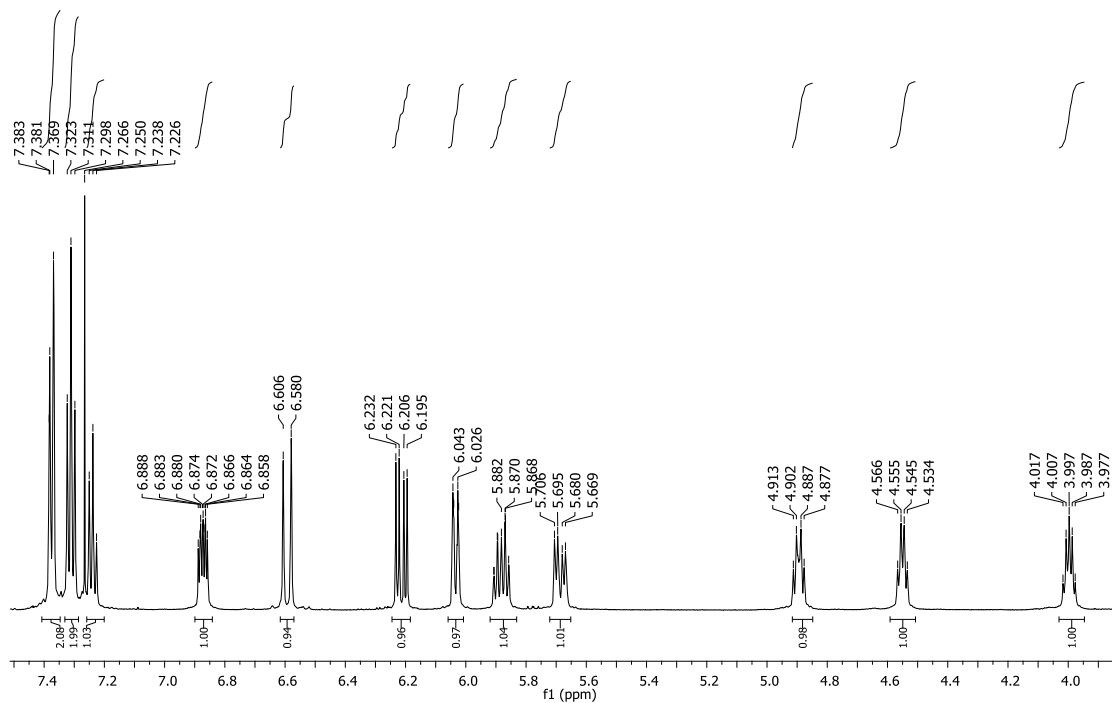
Anexo 22 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E1(4) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

Fernando F6P4
Fernando F6P4 1H 12/05/2014

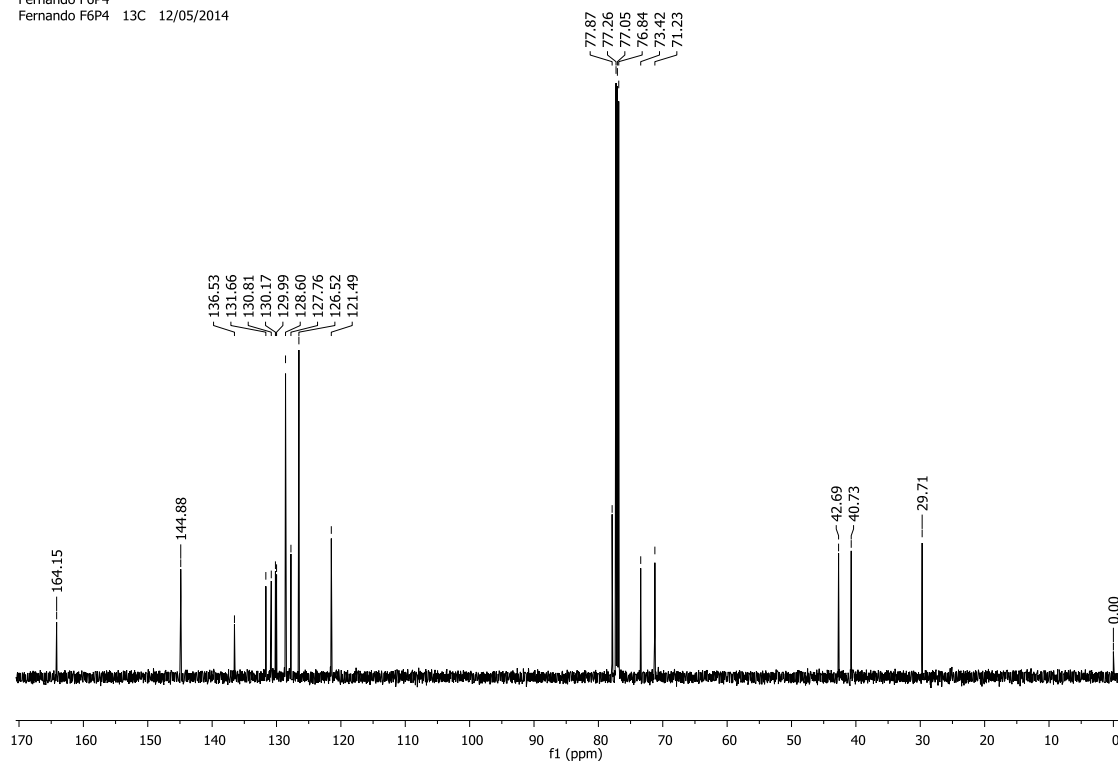


Anexo 23 - Ampliação do espectro de ^1H e espectro de RMN de ^{13}C da substância criptomoscatoa E1(4) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

Fernando F6P4
Fernando F6P4 1H 12/05/2014



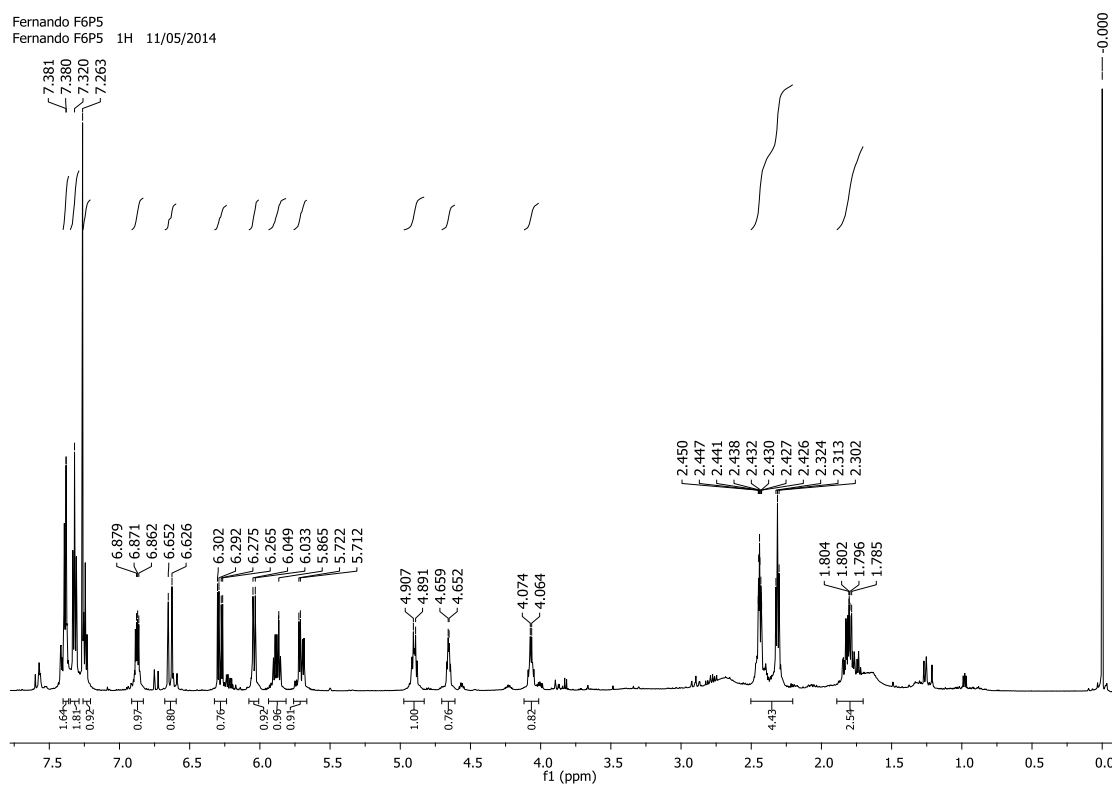
Fernando F6P4
Fernando F6P4 13C 12/05/2014



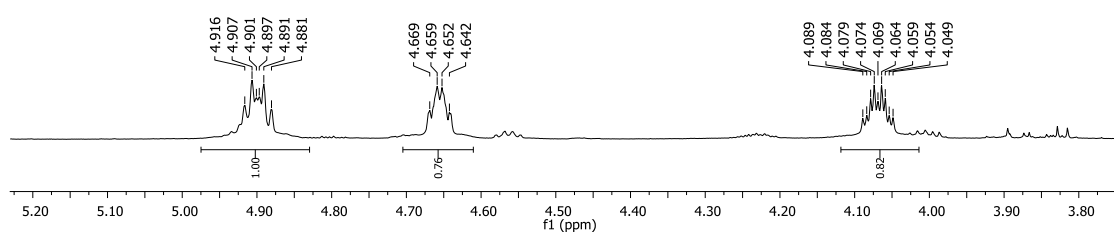
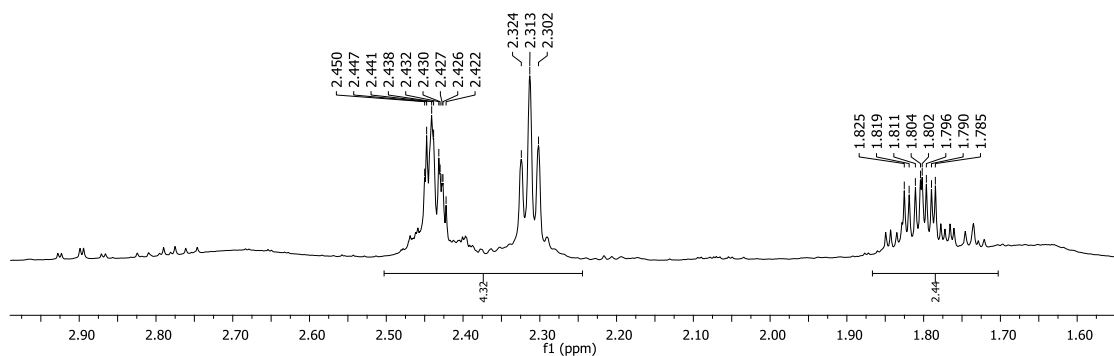
Anexo 24 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E2 (**3**).

(+)-Criptomoscatoona E2			Cavalheiro e Yoshida (2000)	Das et al. (2011)
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm/ J Hz)	^{13}C (ppm)	^{13}C (ppm)
2	164,0	-	164,0	164,2
3	121,6	6,04 ddd (9,7; 2,5; 1,3)	121,5	121,5
4	144,7	6,87 ddd (9,7; 5,2; 3,5)	144,7	145,0
5	29,7	2,44 m	29,7	
6	77,8	4,90 m	77,8	76,5
1'	130,0	5,70 dd (15,6; 6,0)	129,9	130,0
2'	131,1	5,88 dtd (15,6; 7,2; 1,2)	131,1	131,1
3'	40,4	2,31 tl (6,6)	40,4	40,2
4'	68,2	4,66 m	68,1	68,0
5'	42,2	1,79 dd (8,7; 3,6) 1,81 dd (8,7; 3,6)	42,2	42,1
6'	70,5	4,07 m	70,4	70,3
7'	131,6	6,28 dd (15,6; 6,0)	131,7	132,0
8'	130,1	6,64 d (15,6)	130,0	130,1
1''	136,6	-	136,6	136,6
2'' e 6''	126,5	7,39 dl (7,8)	126,5	126,8
4''	127,7	7,24 tl (7,8)	127,7	127,9
3'' e 5''	128,6	7,32 tl (7,8)	128,6	128,9

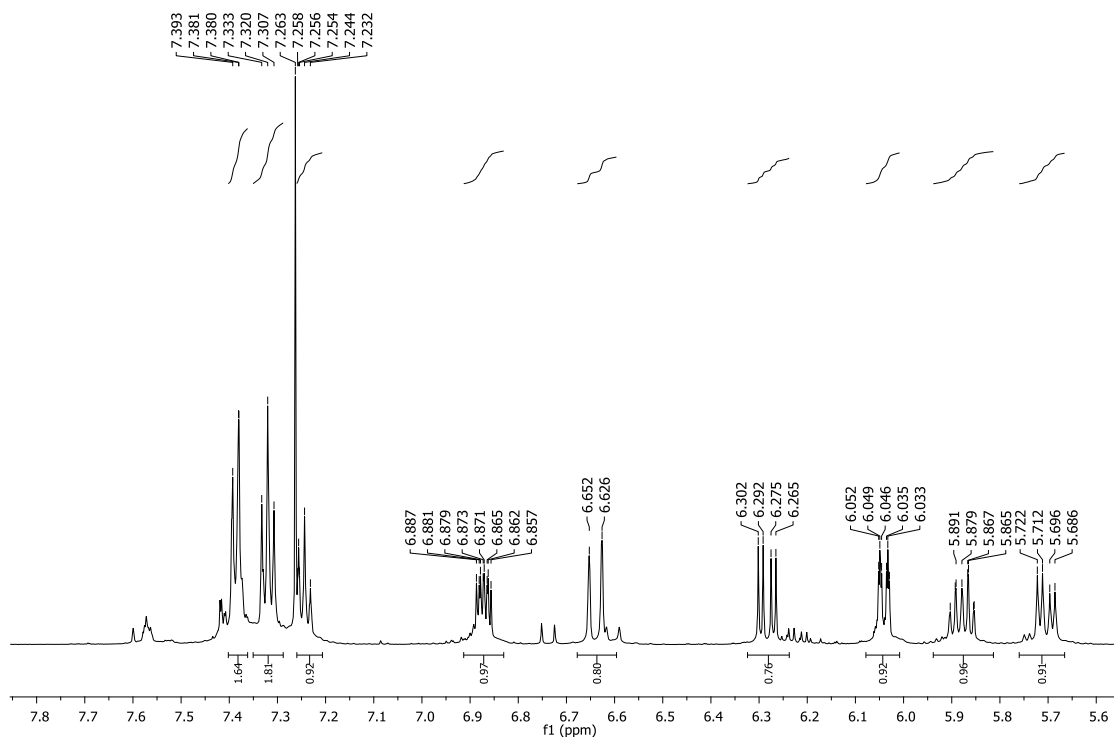
Anexo 25 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoona E2 (**3**) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .



Anexo 26 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E2 (3) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

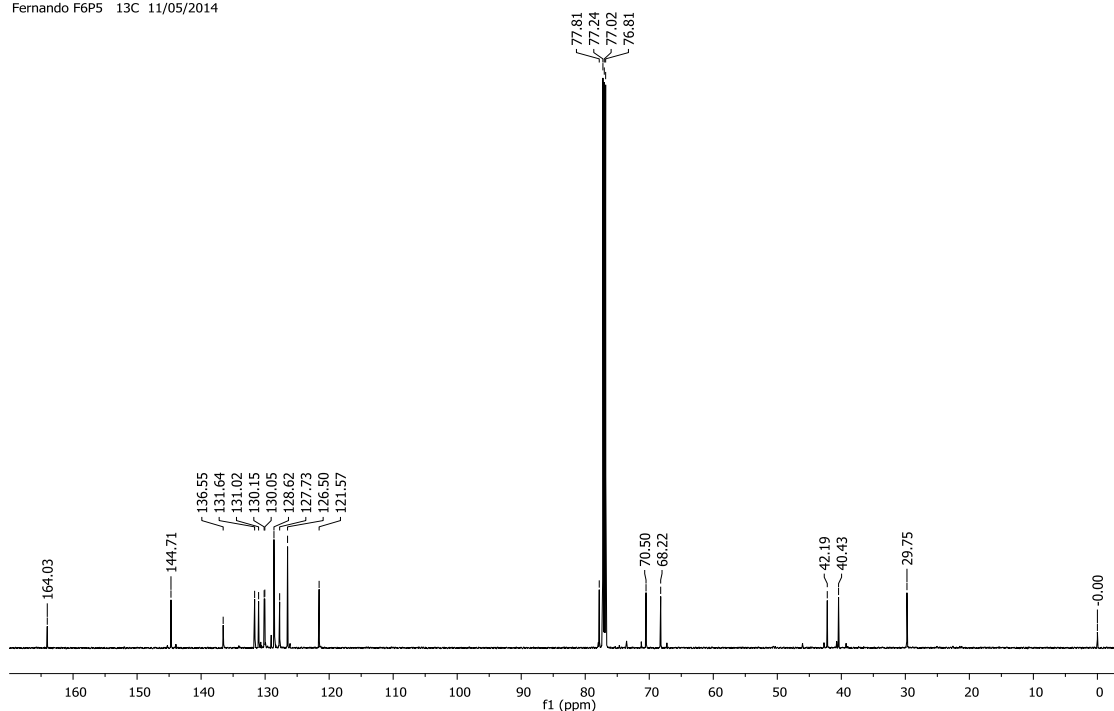


Fernando F6P5
Fernando F6P5 1H 11/05/2014



Anexo 27 - Espectro de RMN de ^{13}C da substância criptomoscatoa E2 (3) obtido em 150 MHz, em CDCl_3 .

Fernando F6PS
Fernando F6PS 13C 11/05/2014

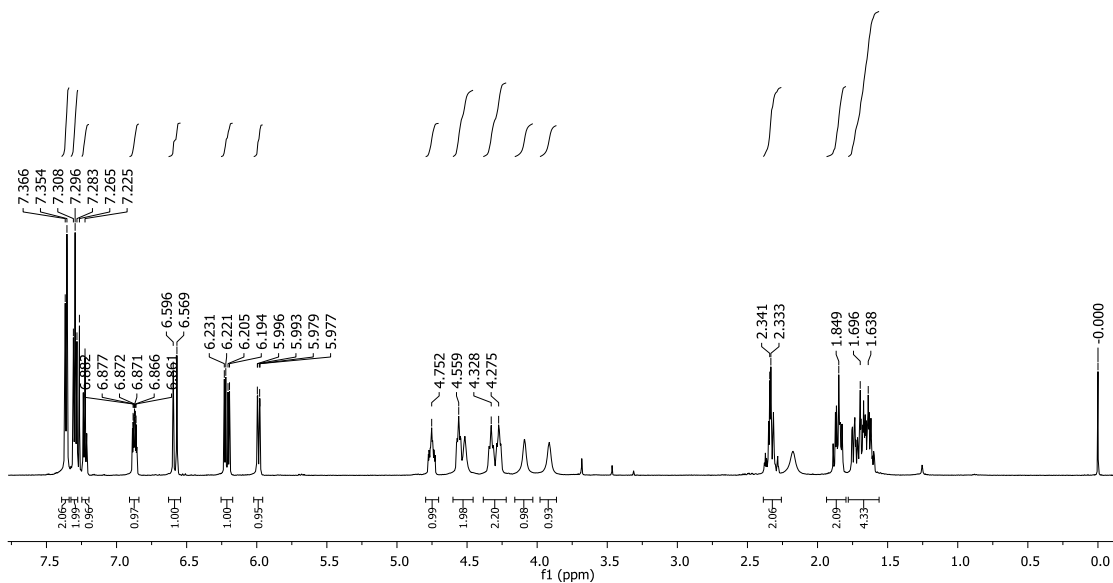


Anexo 28 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoa E3 (5).

Criptomoscatoa E3		Cavalheiro e Yoshida (2000)	
^{13}C (ppm)	^1H (ppm/ J Hz)	^{13}C (ppm)	
2	165,0	-	164,5
3	121,1	5,99 ddd (9,7; 3,0; 1,0)	121,3
4	145,9	6,87 ddd (9,7; 5,6; 3,0)	145,5
5	29,8	2,33 m	29,9
6	75,0	4,75 dddd (12,0; 9,5; 3,0; 3,0)	75,1
1'	43,1	1,68 m 1,86 m	42,9
2'	64,0	4,33 tl (9,0)	64,5
3'	42,5	1,74 ddd (14,4; 3,0) 1,83 m	42,5
4'	69,6	4,27 tl (9,0)	70,2
5'	43,6	1,62 m	43,3
6'	73,2	4,56 tl (6,6)	73,8
7'	131,7	6,21 dd (16,2; 6,6)	131,5
8'	129,9	6,58 d (16,2)	130,3
1''	136,6	-	-
2'' e 6''	126,5	7,36 dl (7,2)	126,6
4''	127,6	7,22 tl (7,2)	127,8
3'' e 5''	128,5	7,30 tl (7,2)	128,7

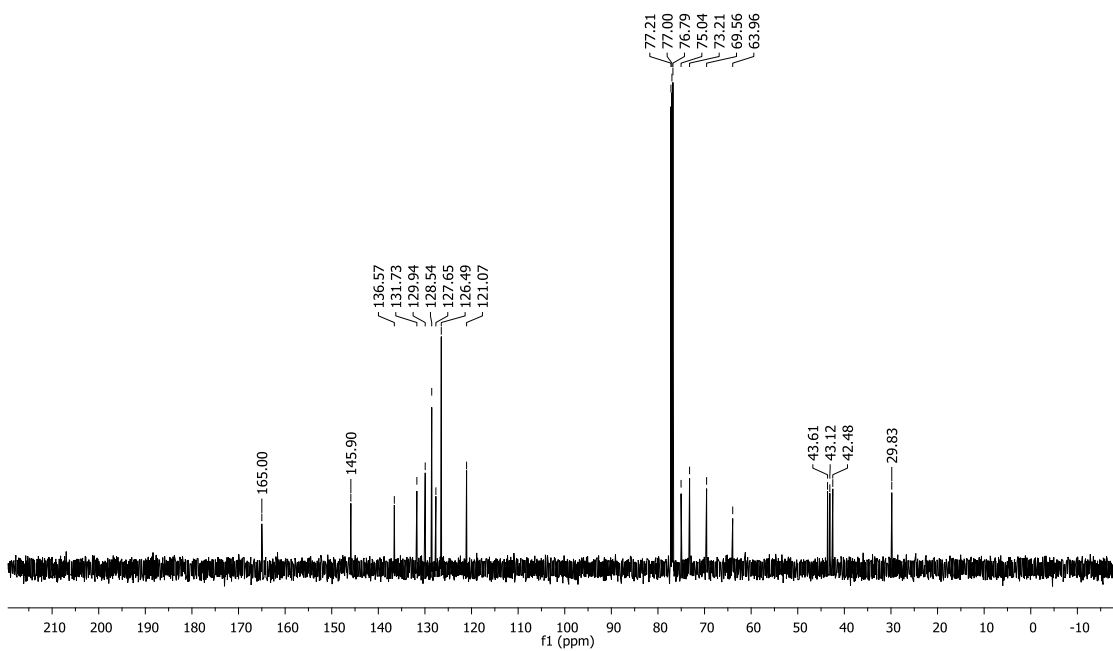
Anexo 29 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E3 (5) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

Fernando F8 CC 1820 Pico 1
Fernando F8 CC 1820 Pico 1 1H 18/05/2014



Anexo 30 - Espectro de RMN de ^{13}C da substância criptomoscatoa E3 (5) obtido em 150 MHz, em CDCl_3 .

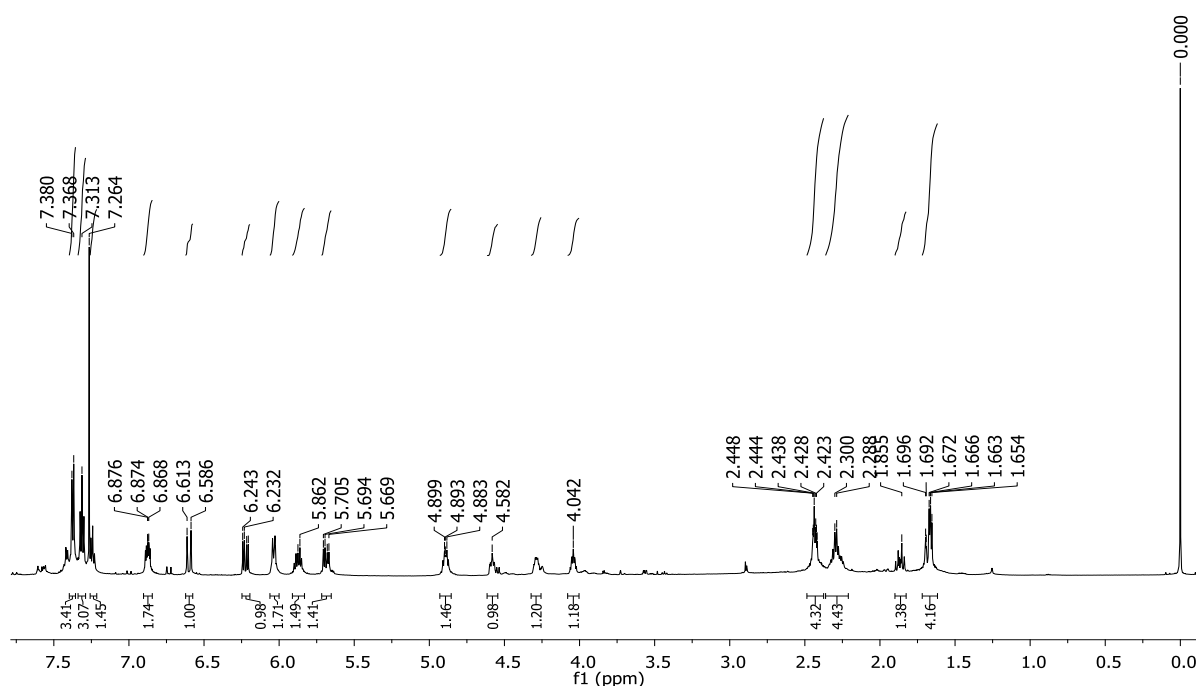
Fernando F8 CC 1820 Pico 1
Fernando F8 CC 1820 Pico 1 13C 19/05/2014



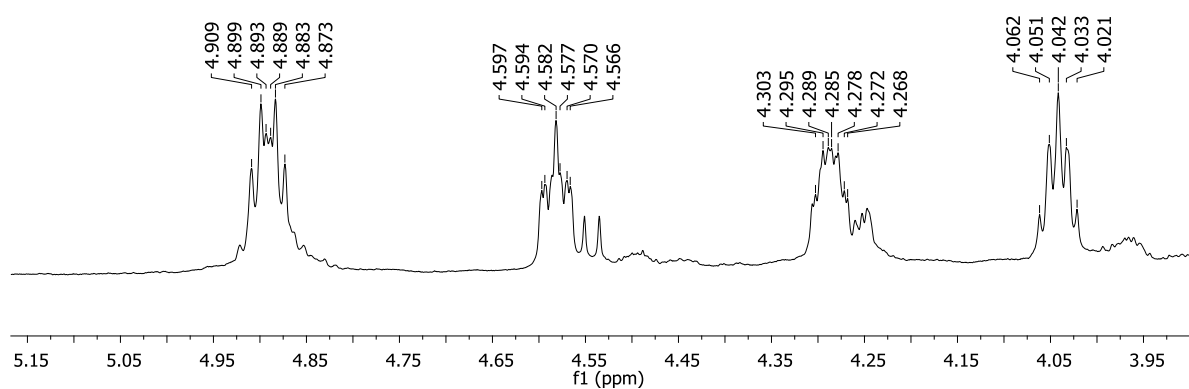
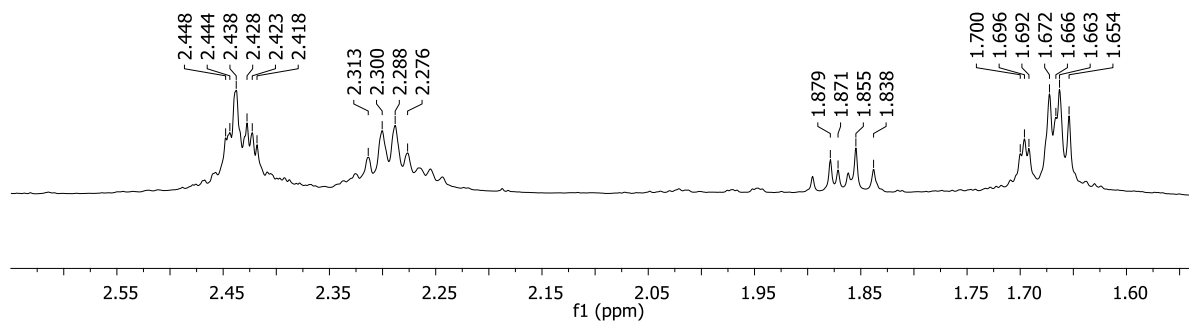
Anexo 31 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoa F1 (6).

Criptomoscatoa F1		Cavalheiro e Yoshida (2000)	
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm/ J Hz)	^{13}C (ppm)
2	164,2	-	164,1
3	121,5	6,03 dtl (9,7; 1,2)	121,4
4	144,9	6,87 ddd (9,7; 5,1; 3,6)	144,8
5	29,7	2,45 m	29,7
6	77,9	4,89 ddd (9,6; 6,6; 5,0)	77,9
1'	129,8	5,69 dd (15,6; 6,6)	129,7
2'	131,4	5,87 dtl (15,6; 7,0)	131,4
3'	40,3	2,29 m	40,3
4'	70,0	4,28 m	70,0
5'	42,3	1,67 m	42,3
6'	68,1	4,04 ddd (11,5; 6,6; 6,6)	68,1
7'	42,9	1,69 m 1,85 ddd (14,4; 10,0; 10,0)	42,9
8'	73,7	4,58; ddd (10,0; 6,6; 2,2)	73,6
9'	131,6	6,22 dd (16,2; 6,6)	131,6
10'	130,2	6,60 d (16,2)	130,2
1''	136,5	-	-
2'' e 6''	126,5	7,37 dl (7,2)	127,8
4''	127,8	7,24 tl (7,2)	126,5
3'' e 5''	128,6	7,21 tl (7,2)	128,6

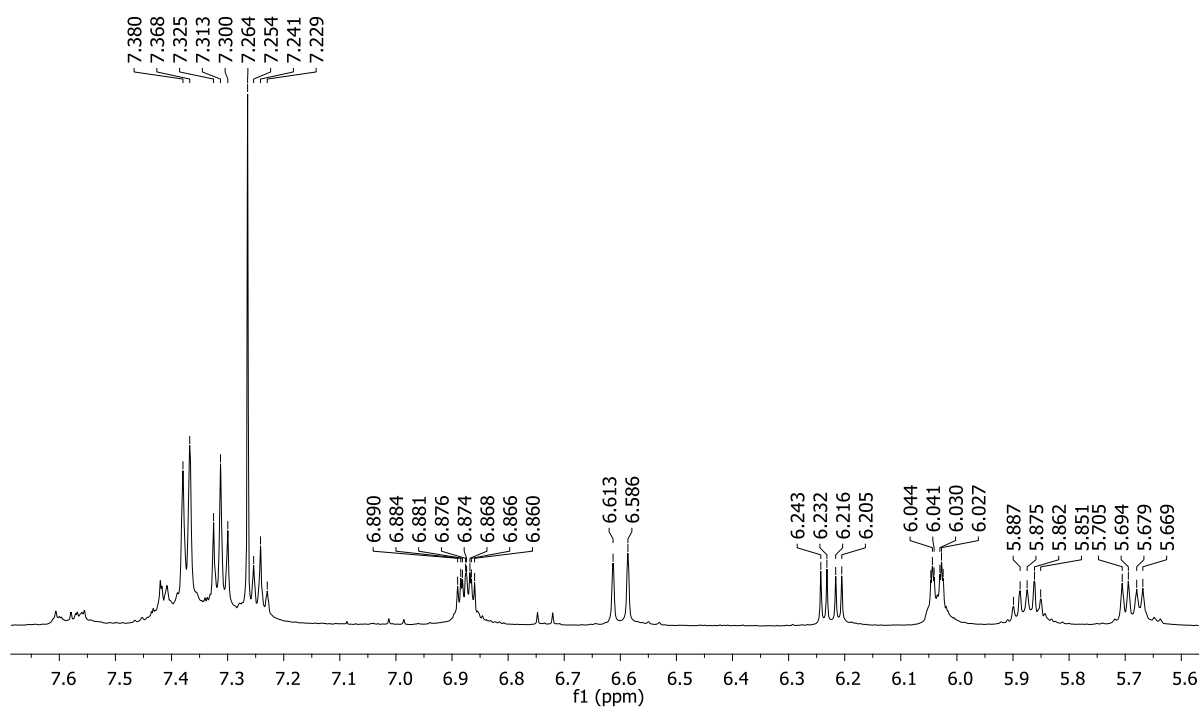
Anexo 32 - Espectro de RMN de ^1H e ampliações da substância criptomoscatoa F1 (6) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .



Anexo 33 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa F1 (6) obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

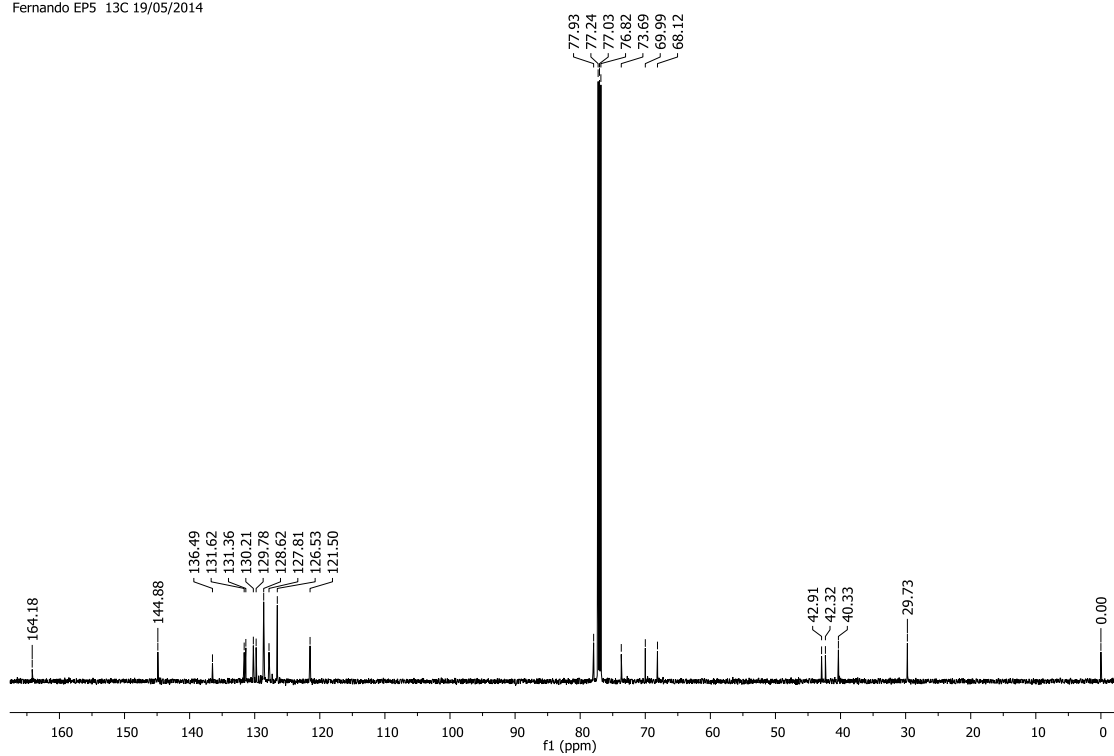


Fernando EP5
Fernando EP5 1H 19/05/2014

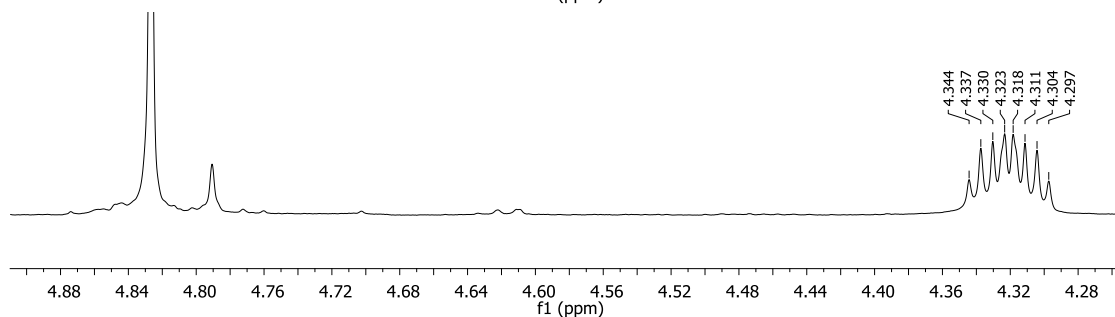
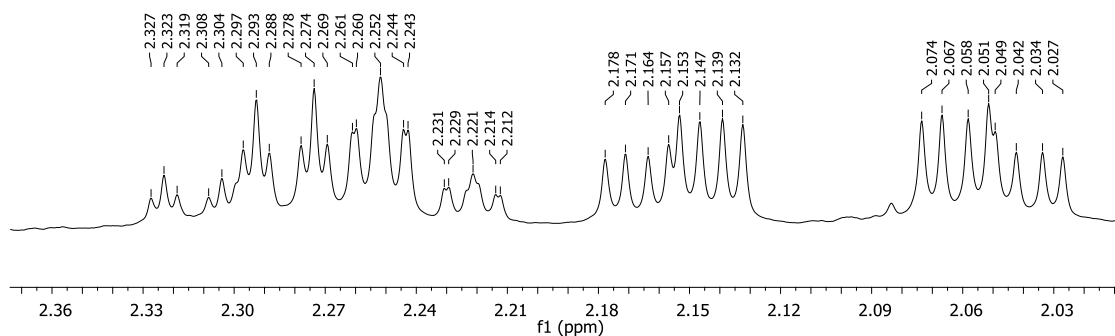


Anexo 34 - Espectro de RMN de ^{13}C da substância criptomoscatoa F1 (6) obtido em 150 MHz, em CDCl_3 .

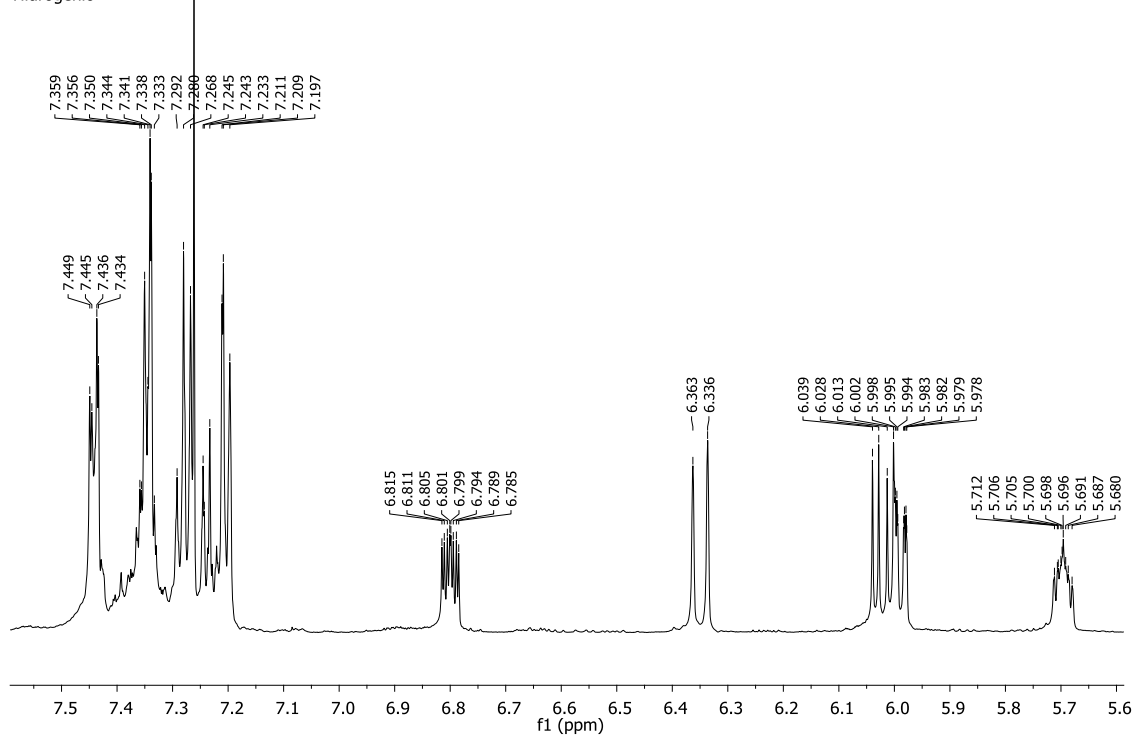
Fernando EP5
Fernando EP5 13C 19/05/2014



Anexo 37 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância desacetilriptocarialactona (1) após reação com *R*-MPA obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

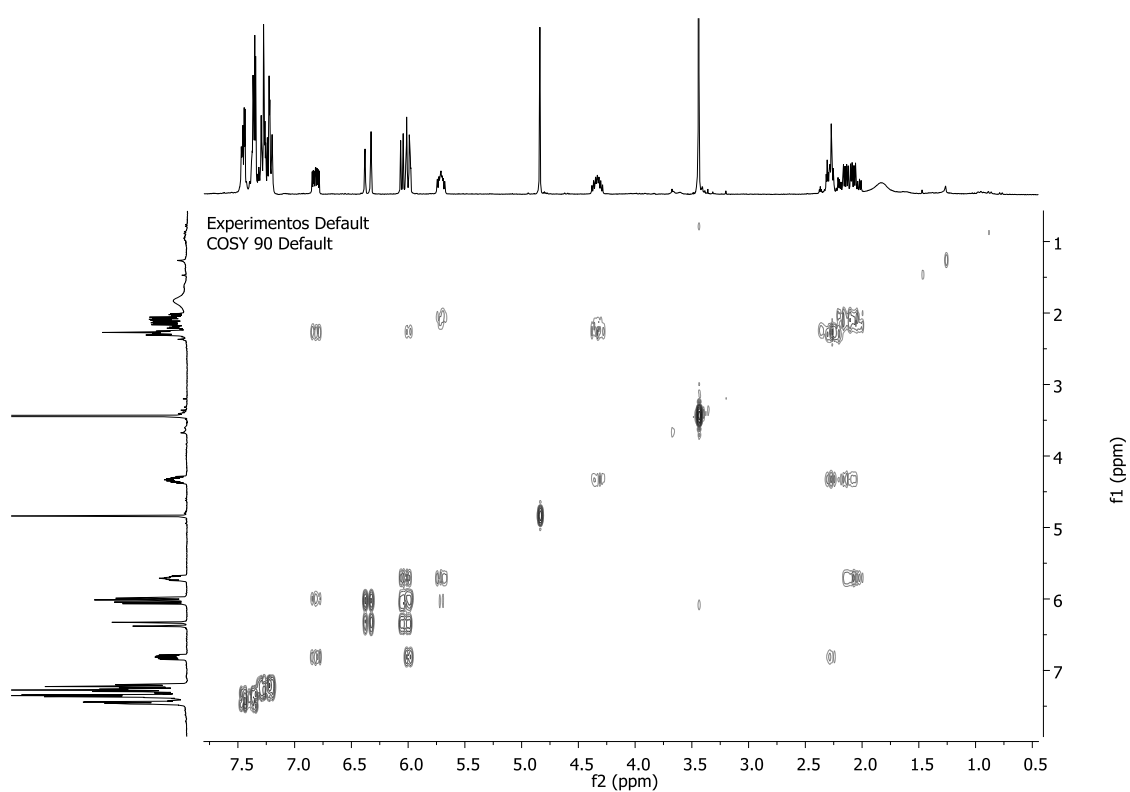
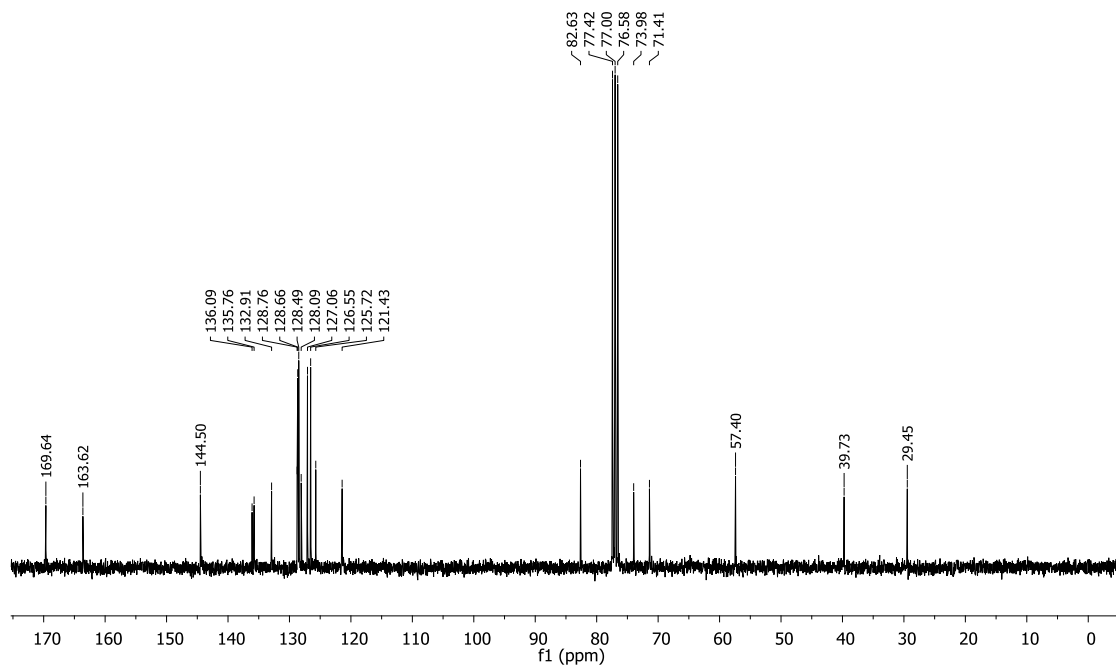


Fernando_EP1_RMPA 600MHz 2
Hidrogenio

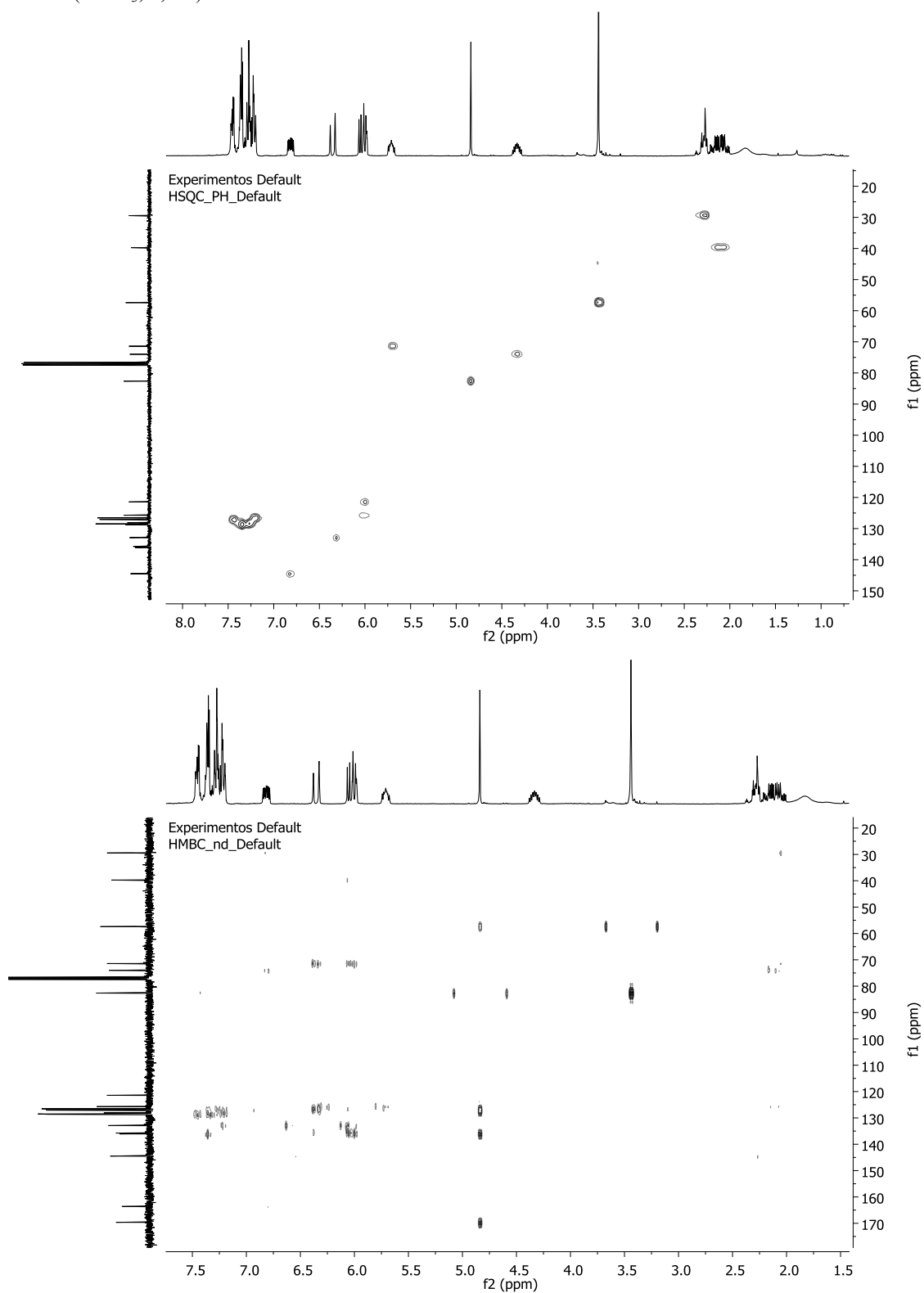


Anexo 38 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 75 MHz e mapa de contorno COSY da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação com *R*-MPA (CDCl_3 , 7,0 T).

Experimentos Default
Carbono 13 Default



Anexo 39 – Mapas de contorno HSQC e HMBC da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação com *R*-MPA (CDCl₃, 7,0 T).

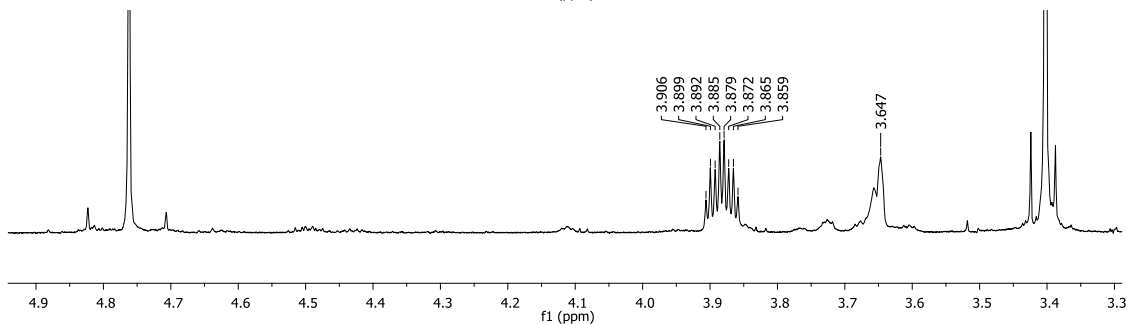
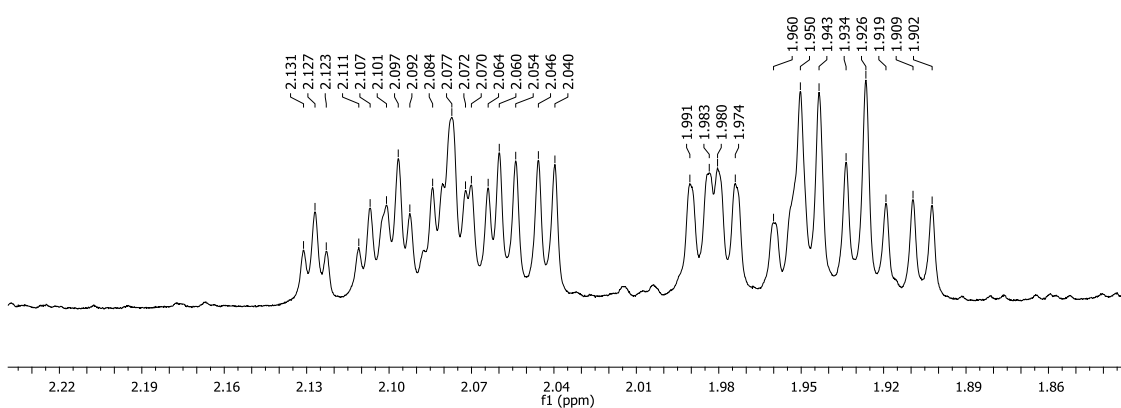
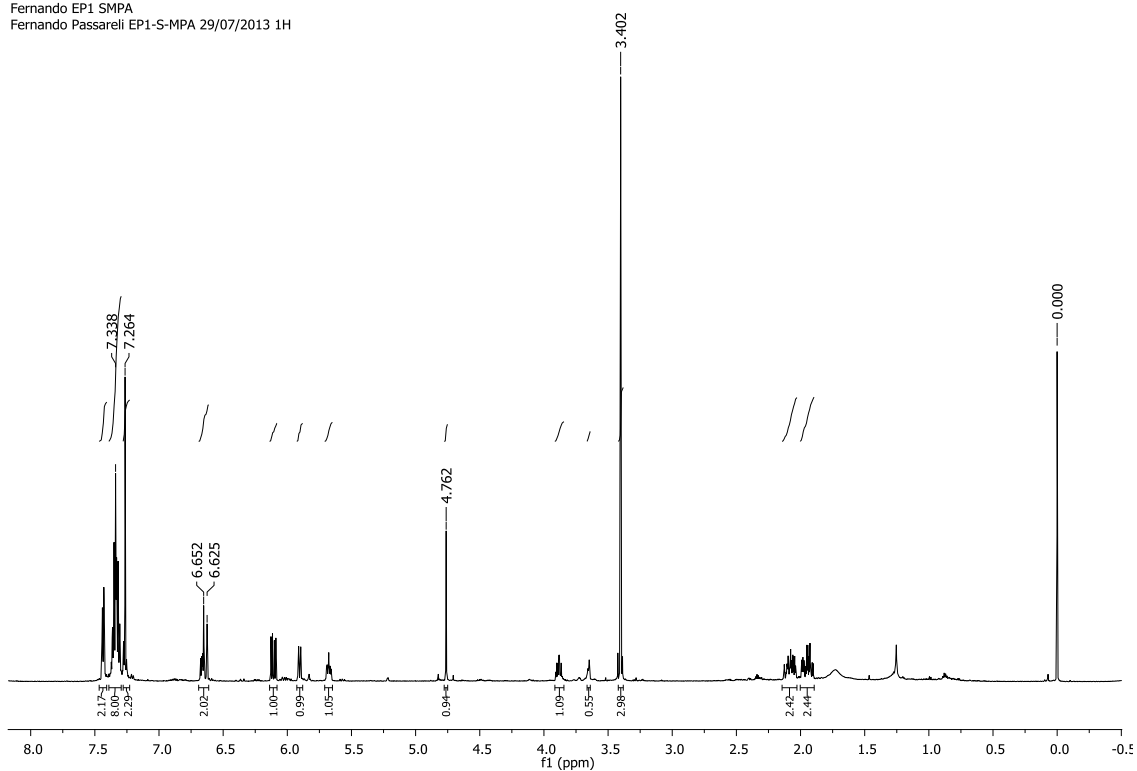


Anexo 40 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 75 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a desacetilcriptocarialactona (1) após esterificação com S-MPA.

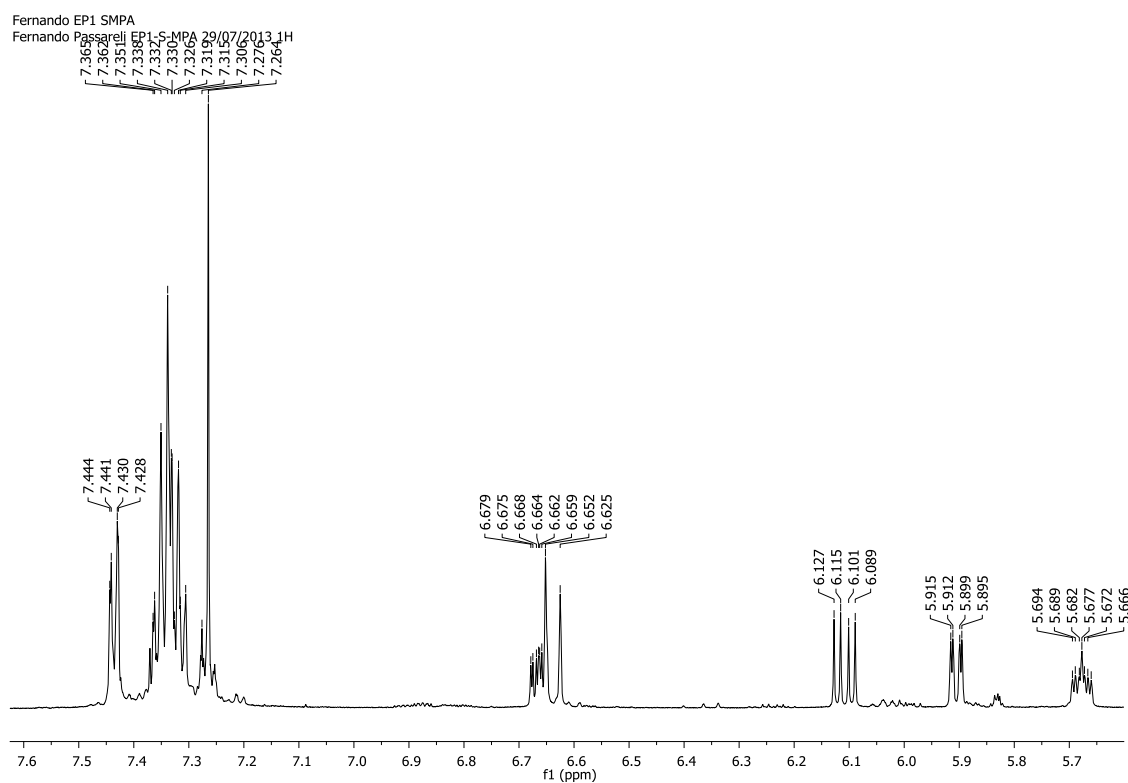
Desacetilcriptocarialactona S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	163,5	-	-	-	-
3	121,3	5,91	<i>ddd</i> (9,6; 2,4; 0,6)	2,11; 6,68	
4	144,4	6,68	<i>ddd</i> (9,6; 6,0; 3,0)	2,11; 5,91	
5	29,4	1,90	<i>dddd</i> (18,0; 5,1; 0,6)	3,89; 6,65; 5,91	
		2,10	<i>qt</i> (18,0; 11,4; 2,4)		
6	73,9	3,89	<i>dddd</i> (4,2; 4,2; 8,0; 8,0)	2,05	
1'	39,8	1,95	<i>ddd</i> (15,0; 9,0; 4,2)	3,89; 6,65; 5,69	71,5 ;29,4; 73,9
		2,05	<i>ddd</i> (15,0; 9,6; 4,2)		
2'	71,5	5,69	<i>dddd</i> (10,0; 7,2; 3,0)	1,90; 6,11	
3'	125,9	6,11	<i>dd</i> (16,2; 6,0)	5,69; 6,65	71,5; 135,8
4'	133,7	6,65	<i>d</i> (16,2)	6,11	71,48; 125,98; 135,8
1''	135,8	--			
2'' e 6''	126,7	7,34	<i>dl</i> (7,8)		
4''	128,6	7,25	<i>tl</i> (7,8)		
3'' e 5''	128,7	7,3	<i>tl</i> (7,8)		133,7; 128,3; 135,8
	169,6	-	-		
	57,3	3,41	<i>s</i>		82,5
	82,5	4,77	<i>s</i>		57,3; 127,4; 136,4; 169,6
	136,4	-	-		
	127,4	7,45	<i>dl</i> (7,8)		82,5; 128,3
	128,9	7,34	<i>tl</i> (7,8)		128,3; 136,5
	128,3	7,34	<i>tl</i> (7,8)		

Anexo 41 - Espectro de RMN de ^1H e ampliações da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação com S-MPA obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

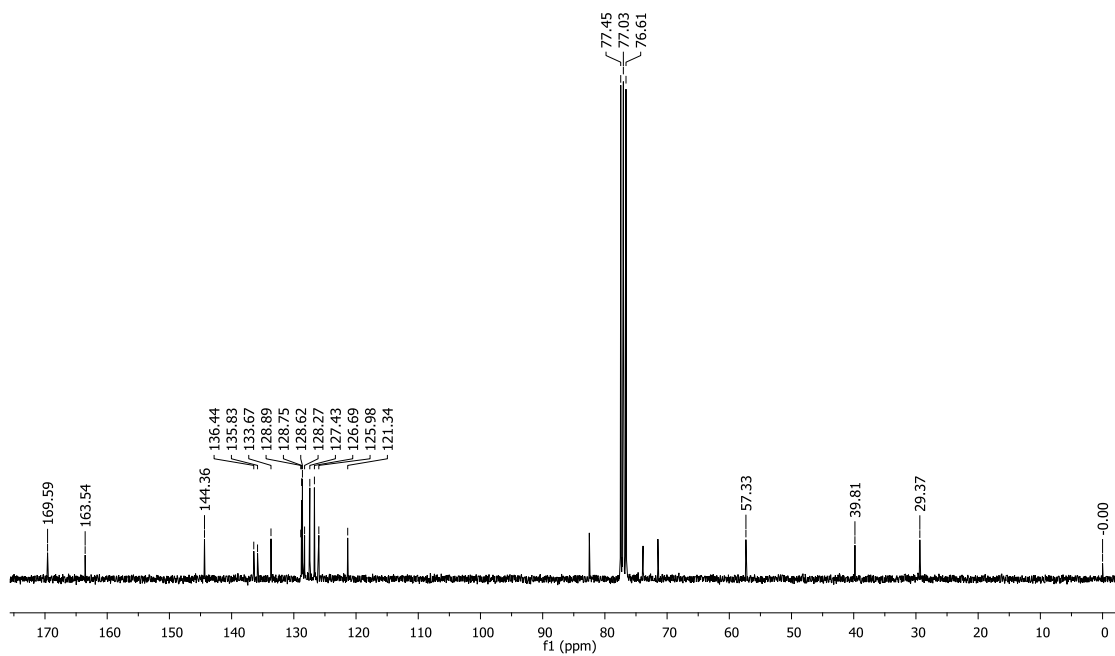
Fernando EP1 SMPA
Fernando Passarelli EP1-S-MPA 29/07/2013 1H



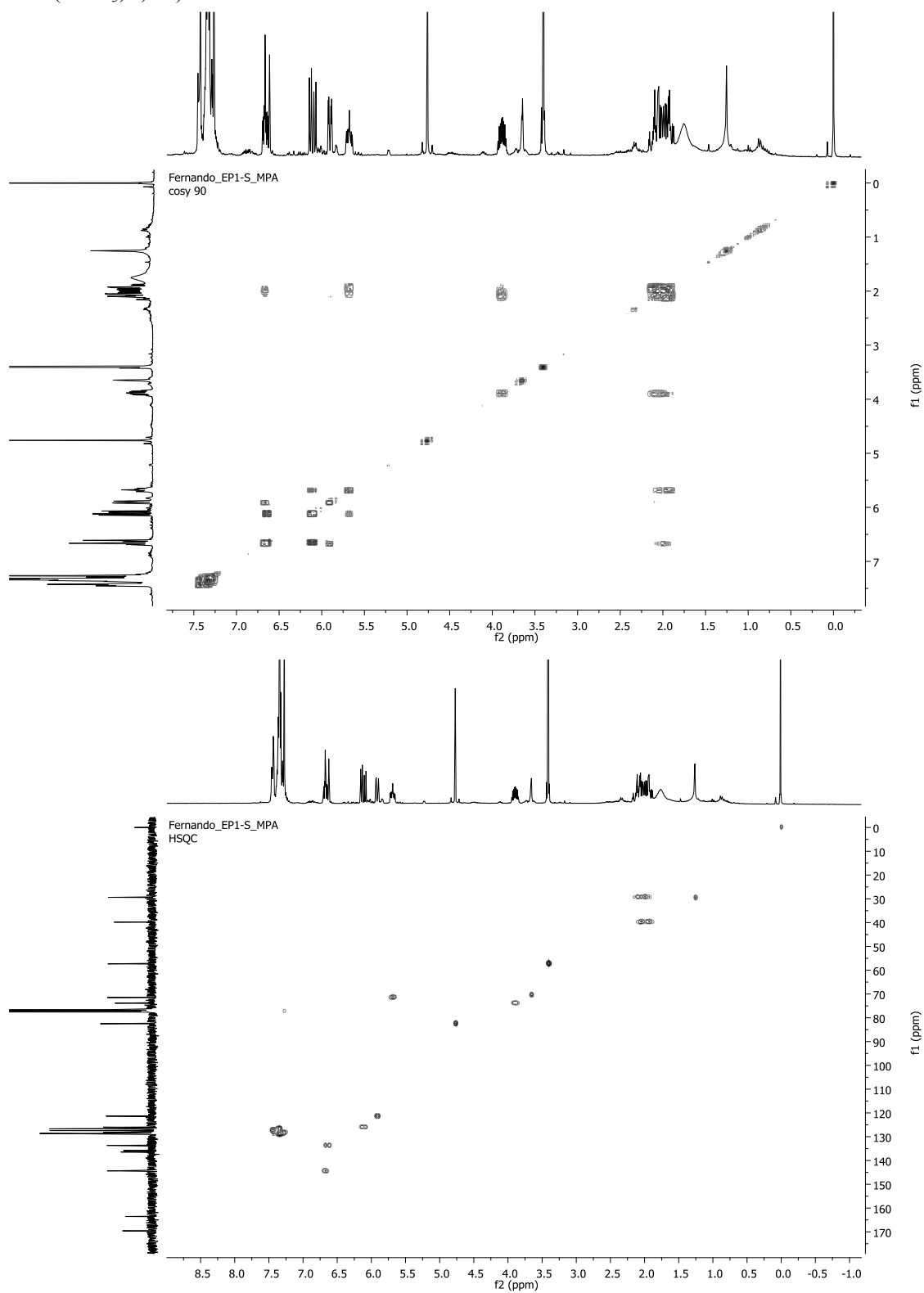
Anexo 42 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância desacetilcriptocarilactona (1) após reação com *S*-MPA obtido em 600 e 75 MHz, respectivamente, em CDCl_3 .



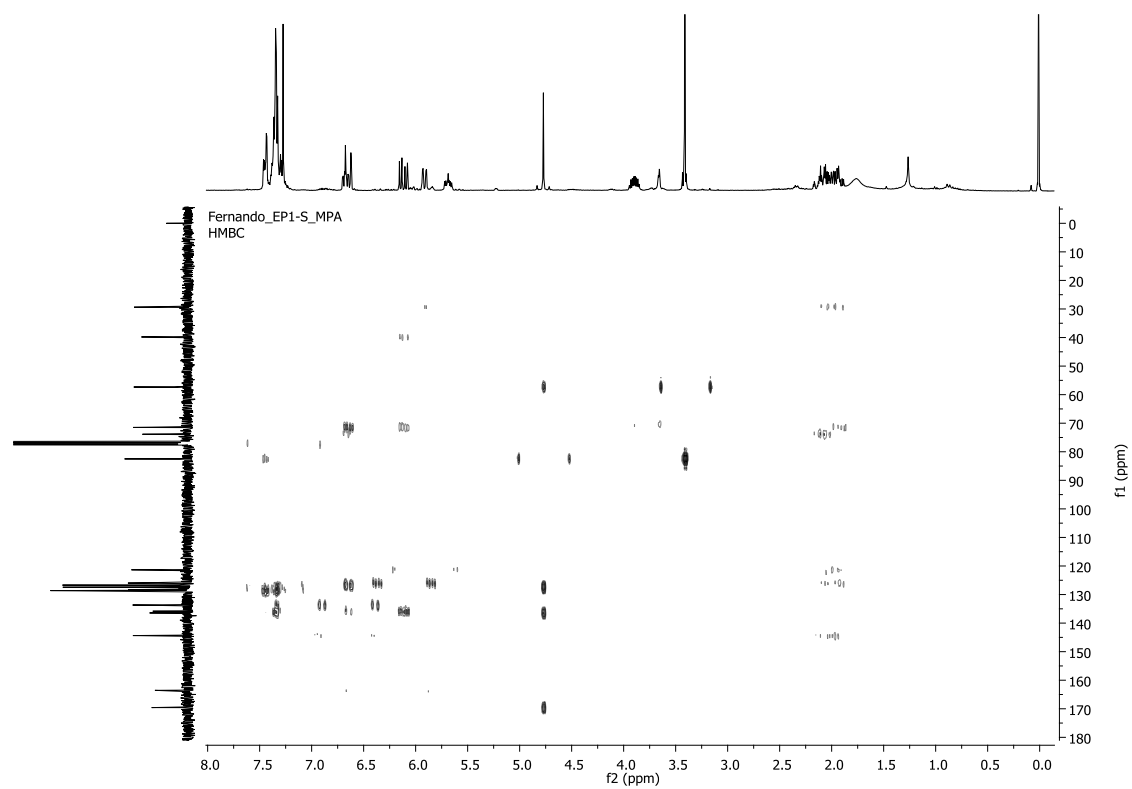
Fernando_EP1-S_MPA
carbono



Anexo 43 – Mapas de contorno COSY e HSQC da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação com *S*-MPA (CDCl_3 , 7,0 T).



Anexo 44 – Mapa de contorno de HMBC da substância desacetilcriptocarialactona (**1**) após reação com S-MPA (CDCl₃, 7,0 T)..

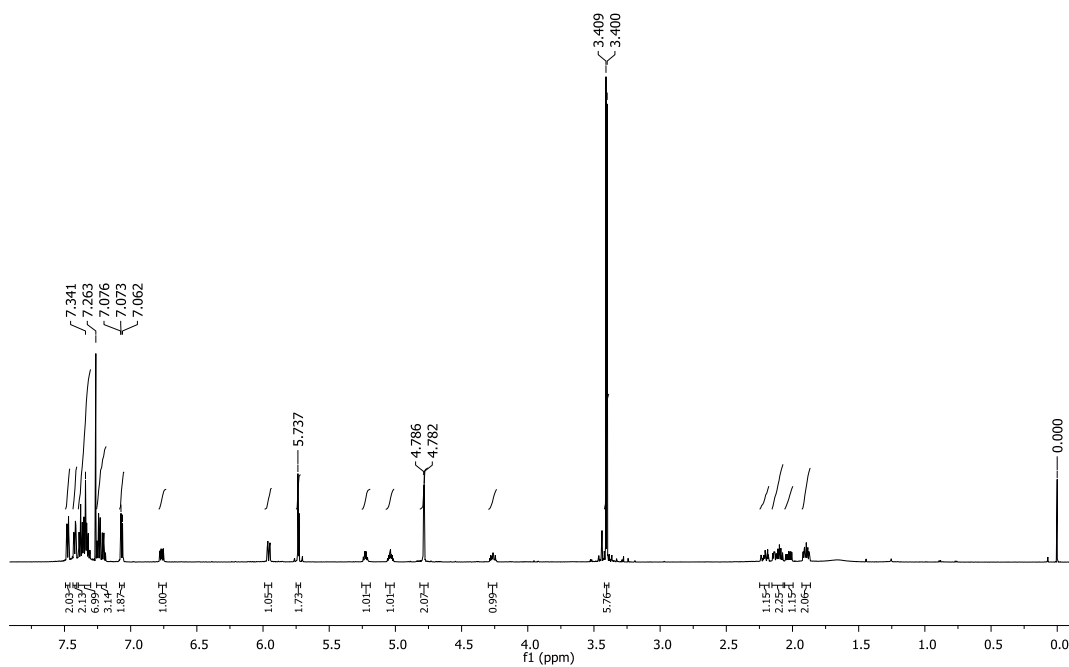


Anexo 45 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona D1 (**2**) após esterificação com *R*-MPA.

Criptomoscatoona D1 <i>R</i>-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	163,6		-	-	
3	121,4	5,97	<i>ddd</i> (9,6; 2,5; 1,0)	2,20; 5,78	29,5; 163,6
4	144,5	6,78	<i>ddd</i> (9,6; 6,0; 3,0)	2,16; 2,22; 5,97	29,5; 74,3
5	29,5	2,16 2,22	<i>dddd</i> (18,0; 6,0; 4,2; 1,2) <i>qt</i> (18,0; 11,4; 3,0)		144,5
6	74,3	4,26	<i>dddd</i> (4,2; 4,2; 7,8; 7,8)	2,21; 2,16; 2,04;	
1'	39,3	1,88 2,04	<i>ddd</i> (15,0; 7,0; 3,0) <i>ddd</i> (15,0; 9,0; 4,2)	5,06	125,1
2'	69,1	5,04	<i>dddd</i> (9,0; 9,0; 4,8; 4,8)	1,90; 2,10	
3'	38,9	1,92 2,10	<i>ddd</i> (9,6; 4,8; 3,0) <i>m</i>	5,24	71,8
4'	71,8	5,24	<i>q</i> (7,2)	1,90; 2,10; 5,75	125,1; 133,2
5'	125,1	5,75	<i>dd</i> (16,2; 6,0)		71,8; 133,3; 135,8
6'	133,2	5,76	<i>d</i> (16,2)		127,4; 133,2
1''	135,8	-	-	-	
2'' e 6''	126,6	7,08	<i>dl</i> (8,0)	7,23	127,4; 133,2
4''	128,0	7,21	<i>tl</i> (8,0)		126,6
3'' e 5''	128,4	7,24	<i>tl</i> (8,0)		
	169,6				
	170,0				
	57,4	3,42	<i>s</i>		82,4
	57,4	4,43	<i>s</i>		82,5
	82,4	4,80	<i>s</i>		57,4; 127,0; 136,0; 170,0
	82,6	481	<i>s</i>		57,4; 136,5; 169,6
	127,0	7,47	<i>dl</i> (8,0)	7,38	82,4
	127,4	7,42	<i>dl</i> (8,0)		82,5
	128,7	7,38	<i>tl</i> (8,0)		
	128,8	7,32	<i>tl</i> (8,0)		
	128,9	7,34	<i>tl</i> (8,0)		
	128,9	7,33	<i>tl</i> (8,0)		
	136,0	-	-	-	
	136,0	-	-	-	

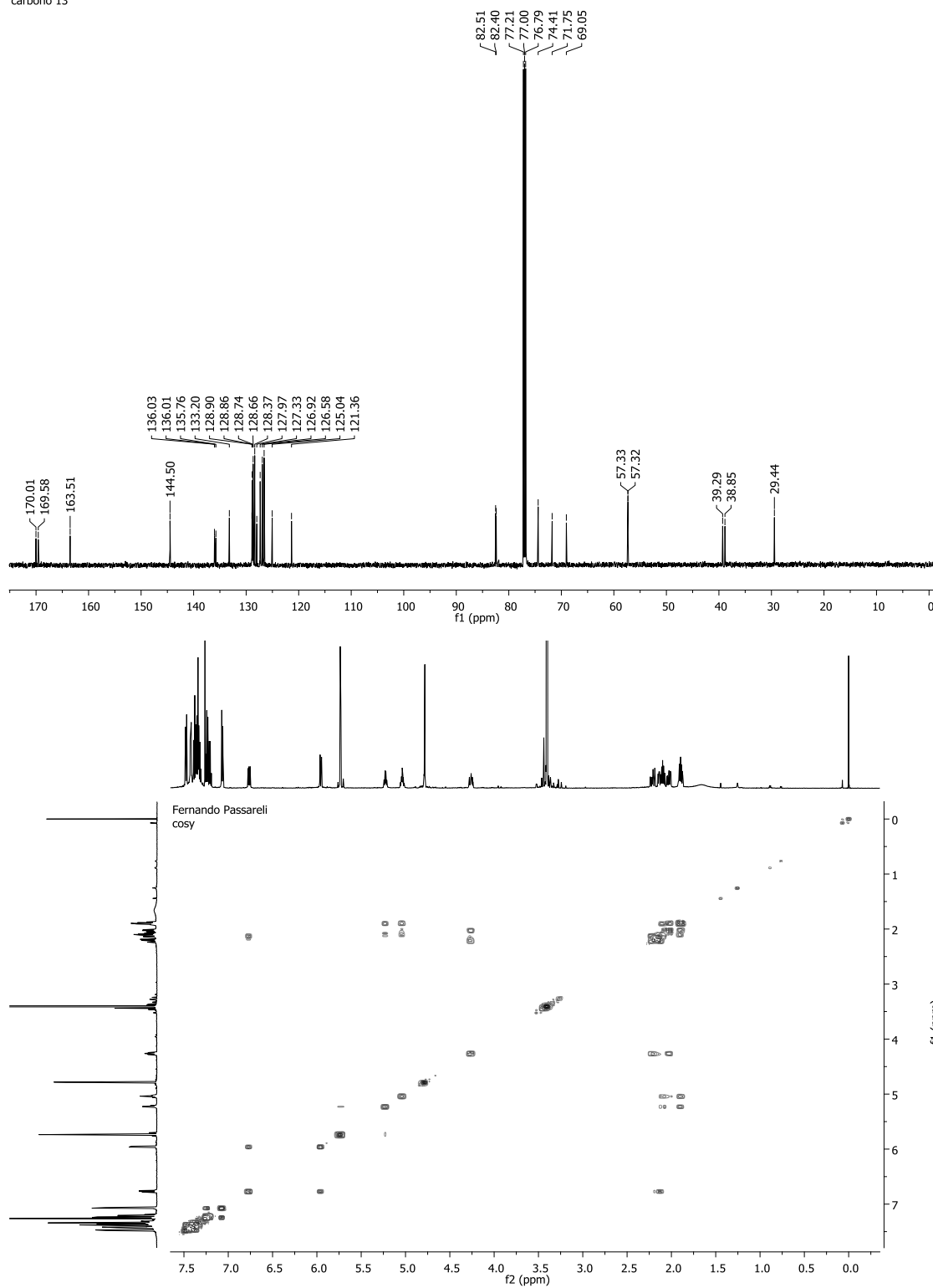
Anexo 46 - Espectro de RMN de ^1H e ampliações da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação com *R*-MPA obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

Fernando Passareli
hidrogenio

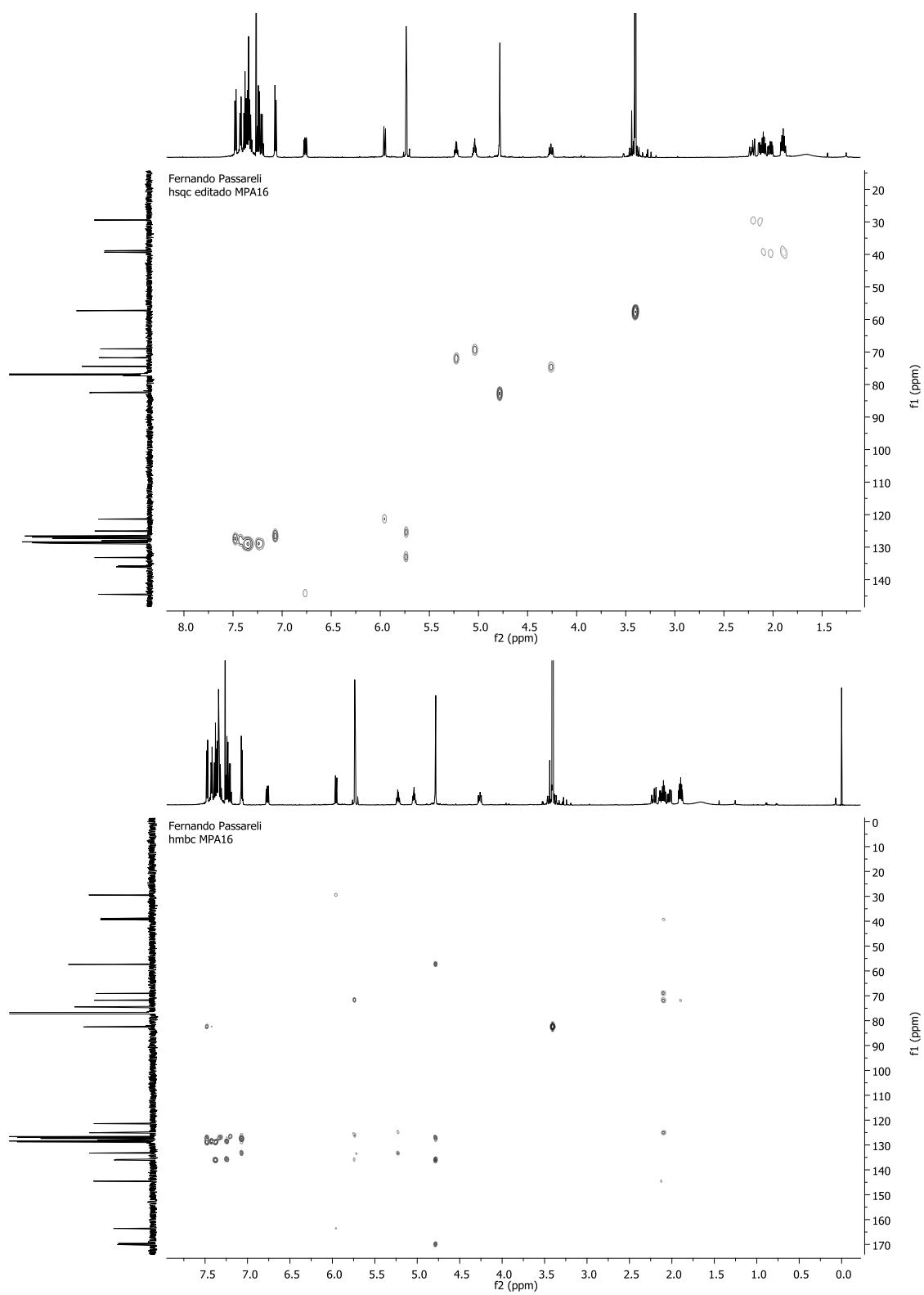


Anexo 48 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 150 MHz e mapa de contorno COSY da substância criptomscatona D1 (**2**) após reação com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T)

Fernando Passareli
carbono 13



Anexo 49 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoona D1 (**2**) após reação com *R*-MPA (CDCl₃, 14,1 T).

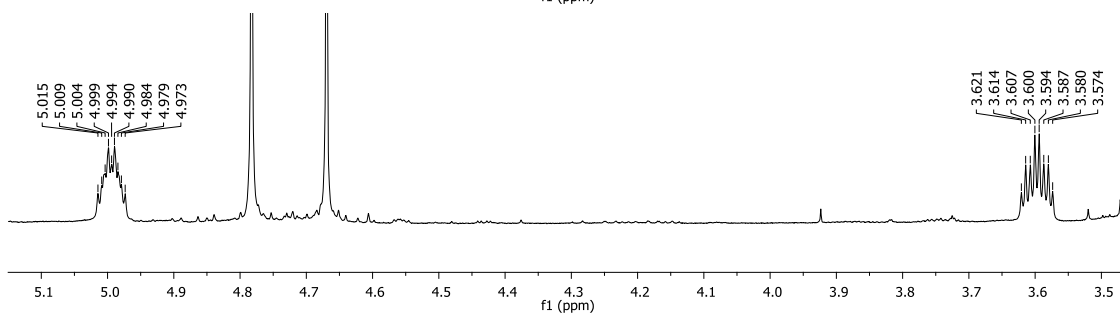
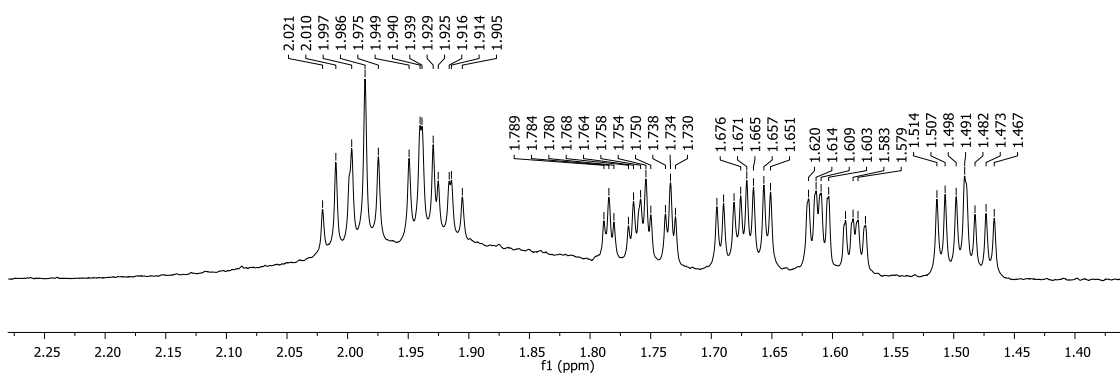
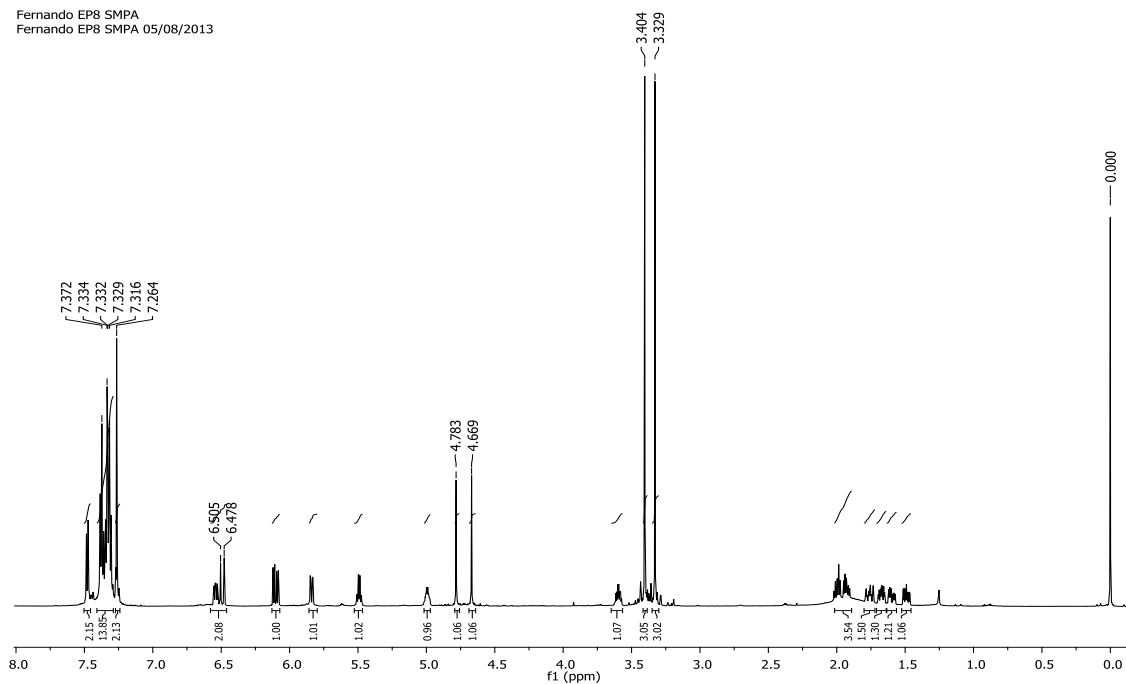


Anexo 50 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona D1 (**2**) após esterificação com S-MPA.

(-)-Criptomoscatoona D1 S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	163,4	-	-	-	
3	121,2	5,86	<i>ddd</i> (9,6; 2,5; 1,0)	6,56	29,2; 163,4
4	144,3	6,56	<i>ddd</i> (9,6; 6,0; 3,0)	1,60; 5,86	29,2; 74,1; 163,4
5	29,2	1,77 1,60	<i>qt</i> (18,0; 11,4; 3,0) <i>dddd</i> (18,0; 6,0; 4,2; 1,0)		
6	74,1	3,61	<i>dddd</i> (4,2; 4,2; 8,0; 8,0)	1,69; 1,77	
1'	39,2	1,51 1,69	<i>ddd</i> (15,0; 7,0; 3,0) <i>ddd</i> (15,0; 9,0; 4,2)	3,61; 5,01	68,4; 74,1
2'	68,4	5,01	<i>m</i>		
3'	38,9	1,94 2,00	<i>dt</i> (15,0; 6,6) <i>dtd</i> (15,0; 6,0; 1,2)	5,01; 5,51	39,2; 68,4; 71,9
4'	71,9	5,51	<i>q</i> (7,2)	2,00; 6,12	38,9; 68,4; 125,7; 133,7; 169,7
5'	125,7	6,12	<i>dd</i> (16,2; 6,0)	5,51; 6,50	38,9; 71,9; 126,7; 135,8
6'	133,7	6,50	<i>d</i> (16,2)	6,12	71,9; 135,8
1''	135,8	-	-	-	
2'' e 6''	126,7	7,35	<i>dl</i> (8,0)		133,7; 128,2
4''	128,2	7,28	<i>tl</i> (8,0)		
3'' e 5''	128,6	7,33	<i>tl</i> (8,0)		
	169,7	-	-	-	
	169,8	-	-	-	
	57,2	3,35	<i>s</i>		82,3
	57,4	3,42	<i>s</i>		82,6
	82,3	4,69	<i>s</i>		57,2; 169,8; 127,45; 136,2
	82,6	4,80	<i>s</i>		57,4; 127,3; 136,1; 169,7
	127,3	7,48	<i>dl</i> (8,0)		82,6
	127,4	7,38	<i>dl</i> (8,0)		82,3
	128,8	7,35	<i>tl</i> (8,0)		
	128,8	7,34	<i>tl</i> (8,0)		
	128,8	7,32	<i>tl</i> (8,0)		
	128,9	7,40	<i>tl</i> (8,0)		
	136,2	-	-	-	
	136,1	-	-	-	

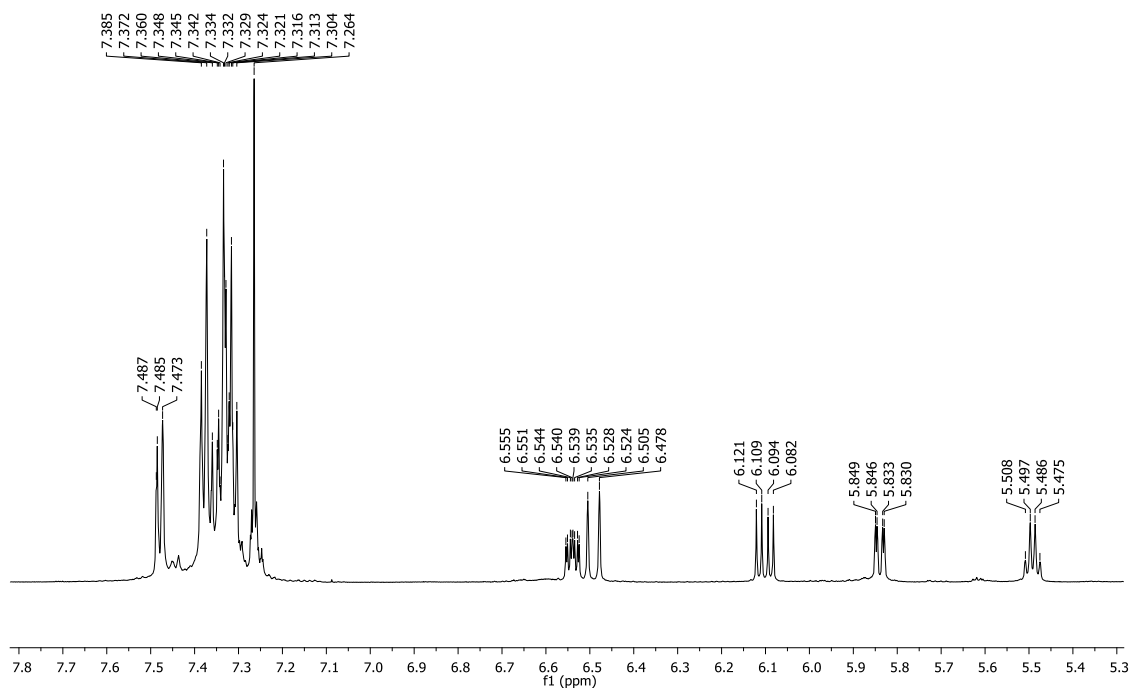
Anexo 51 - Espectro de RMN de ^1H e ampliações da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação com S-MPA obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

Fernando EP8 SMPA
Fernando EP8 SMPA 05/08/2013

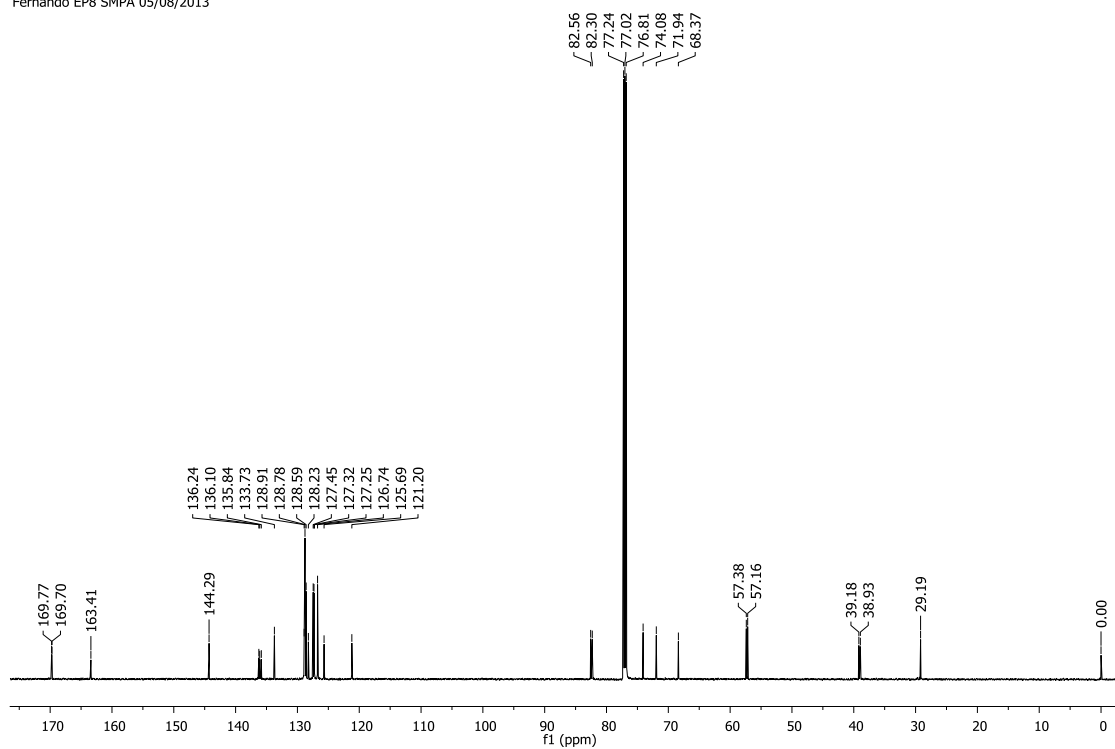


Anexo 52 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação com *S*-MPA obtido em 600 e 150 MHz, respectivamente, em CDCl_3 .

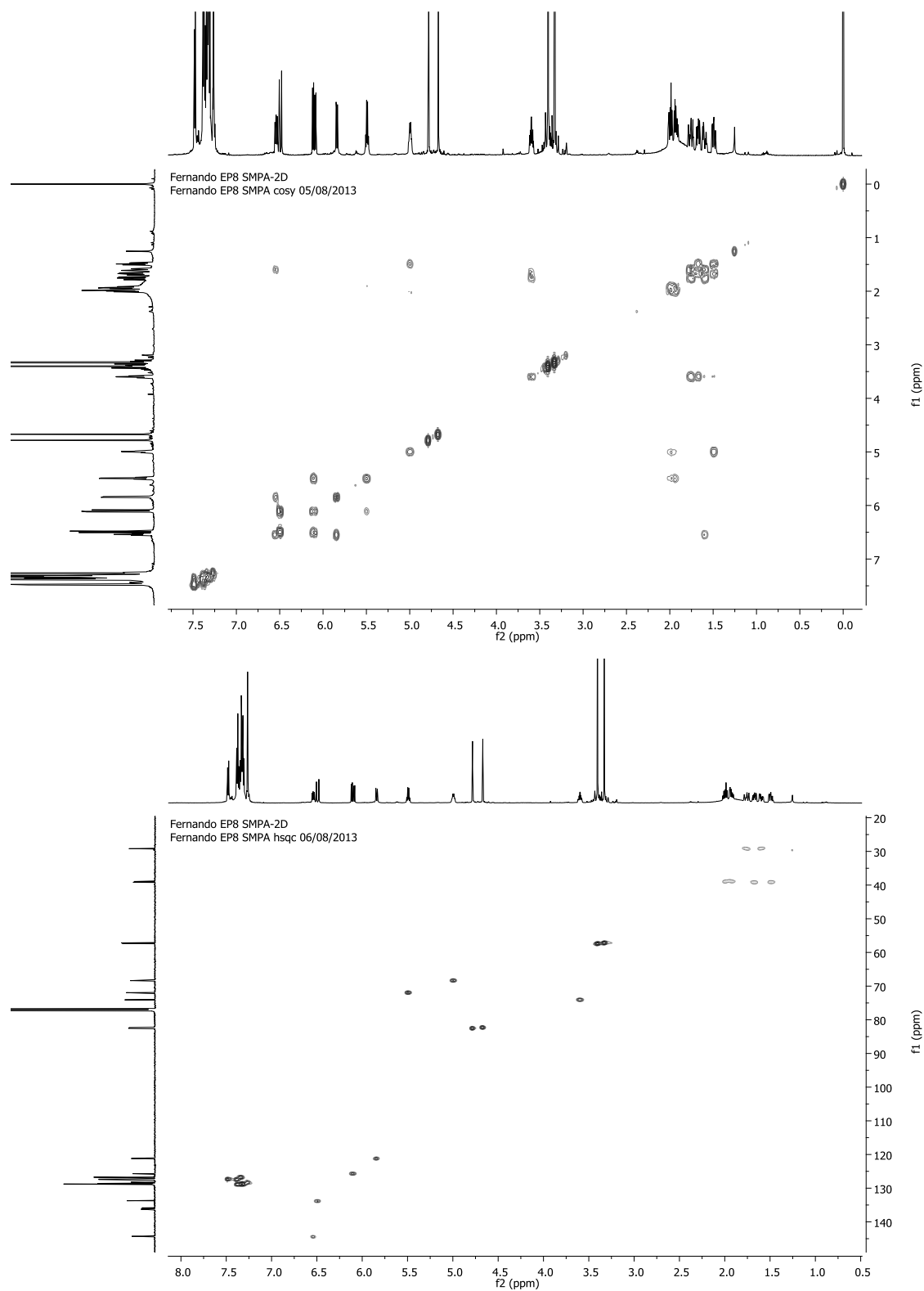
Fernando EP8 SMPA
Fernando EP8 SMPA 05/08/2013



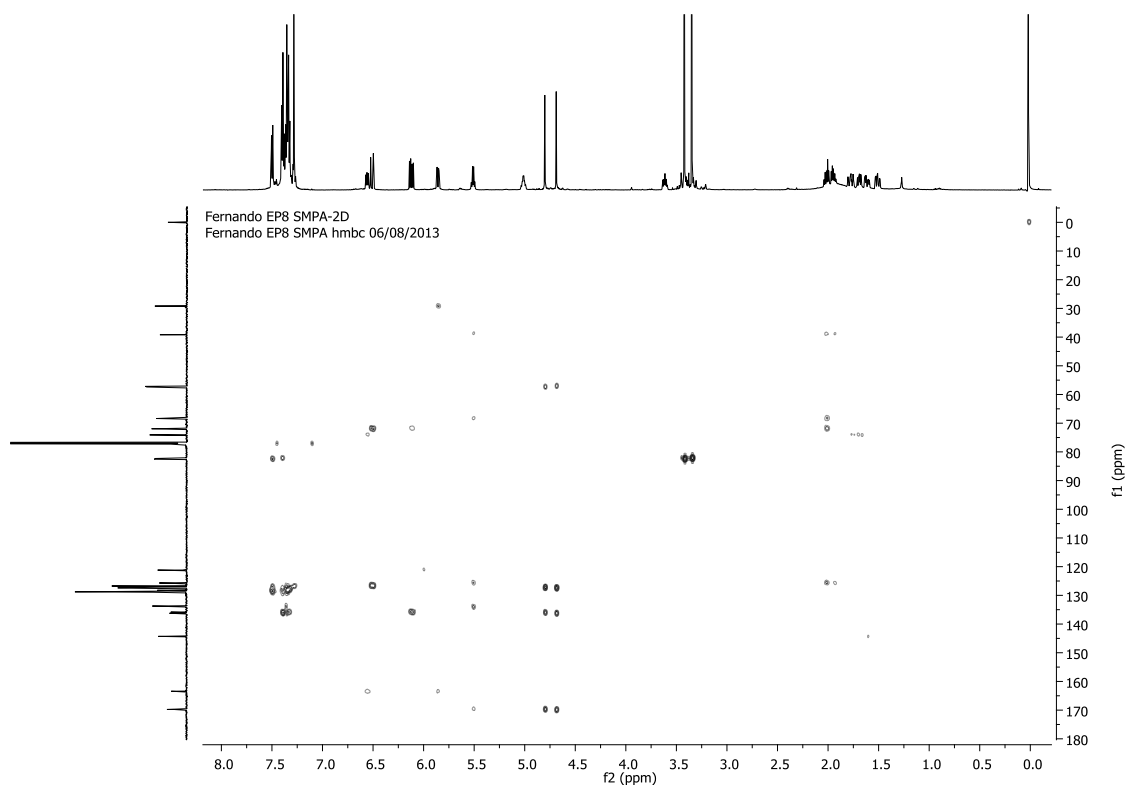
Fernando EP8 SMPA
Fernando EP8 SMPA 05/08/2013



Anexo 53 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoona D1 (**2**) após reação com S-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

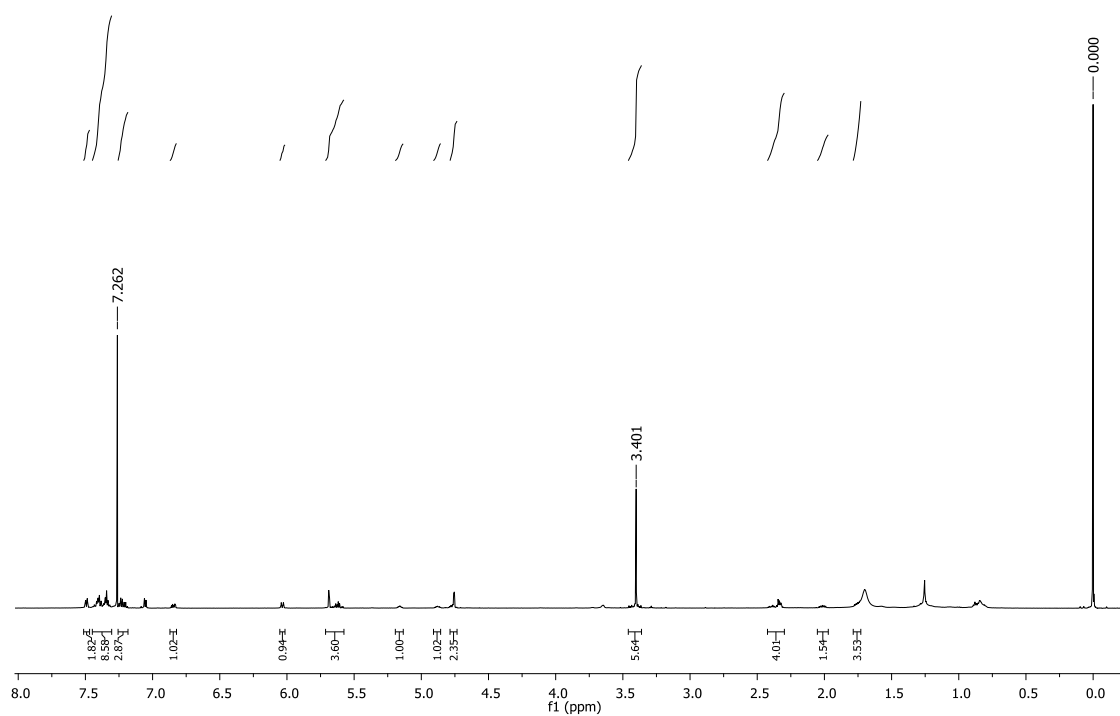


Anexo 54 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoa D1 (**2**) após reação com *S*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.



Anexo 55 - Espectro de RMN de ¹H da substância criptomoscatoa E1 (**4**) após reação com *R*-MPA obtido em 600 MHz, em CDCl₃.

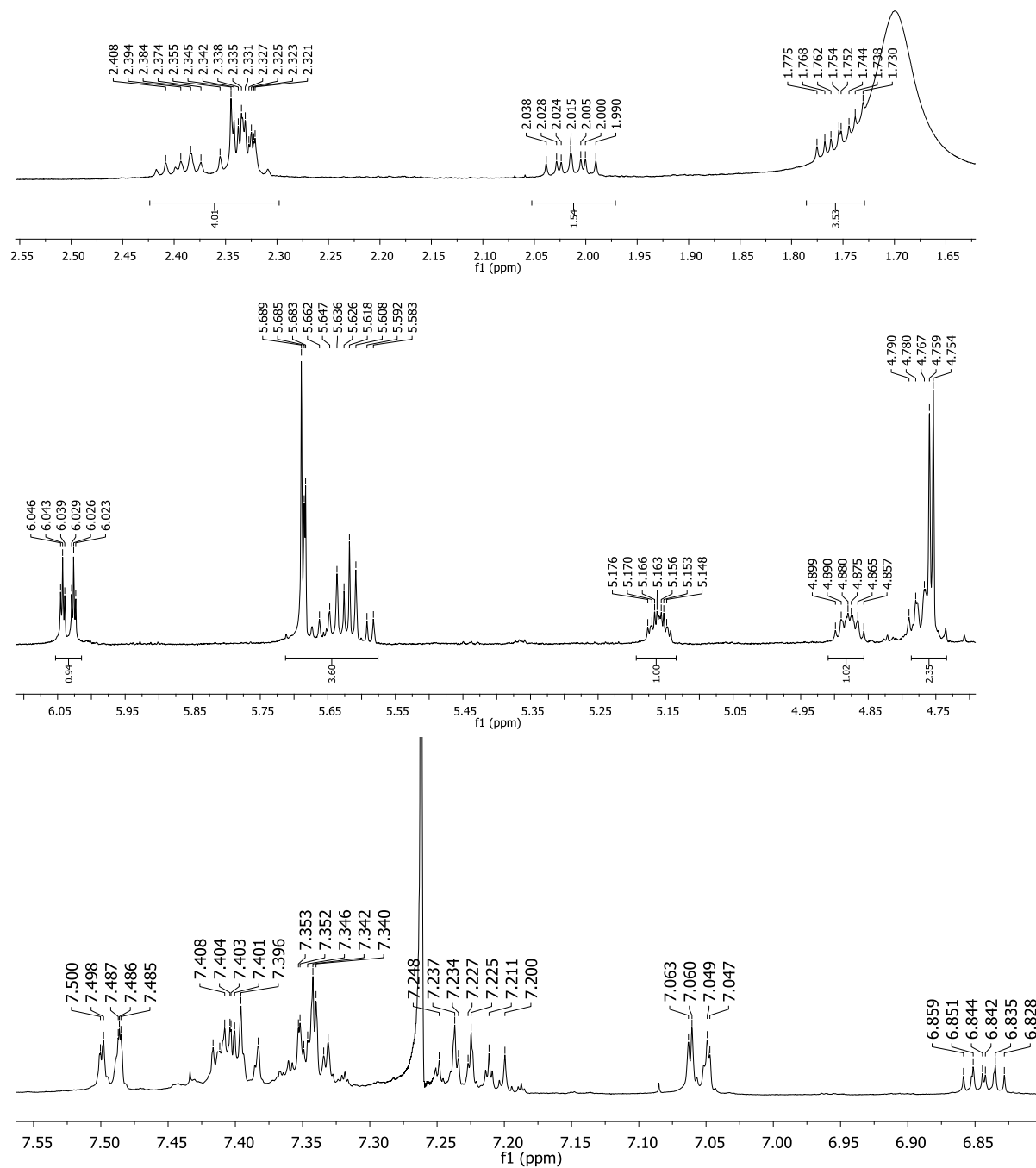
Fernando F6P4 RMPA2
Fernando F6P4 RMPA2 1H 17/02/2014



Anexo 56 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoa E1 (**4**) após esterificação com R-MPA.

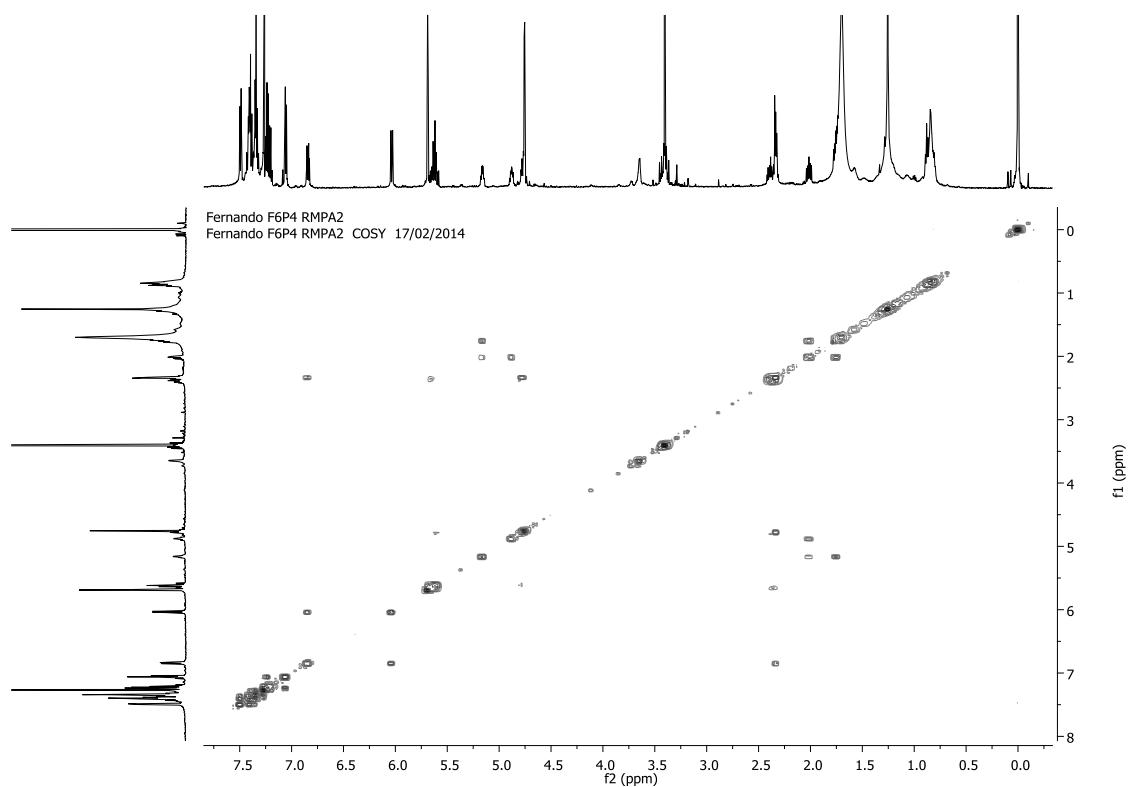
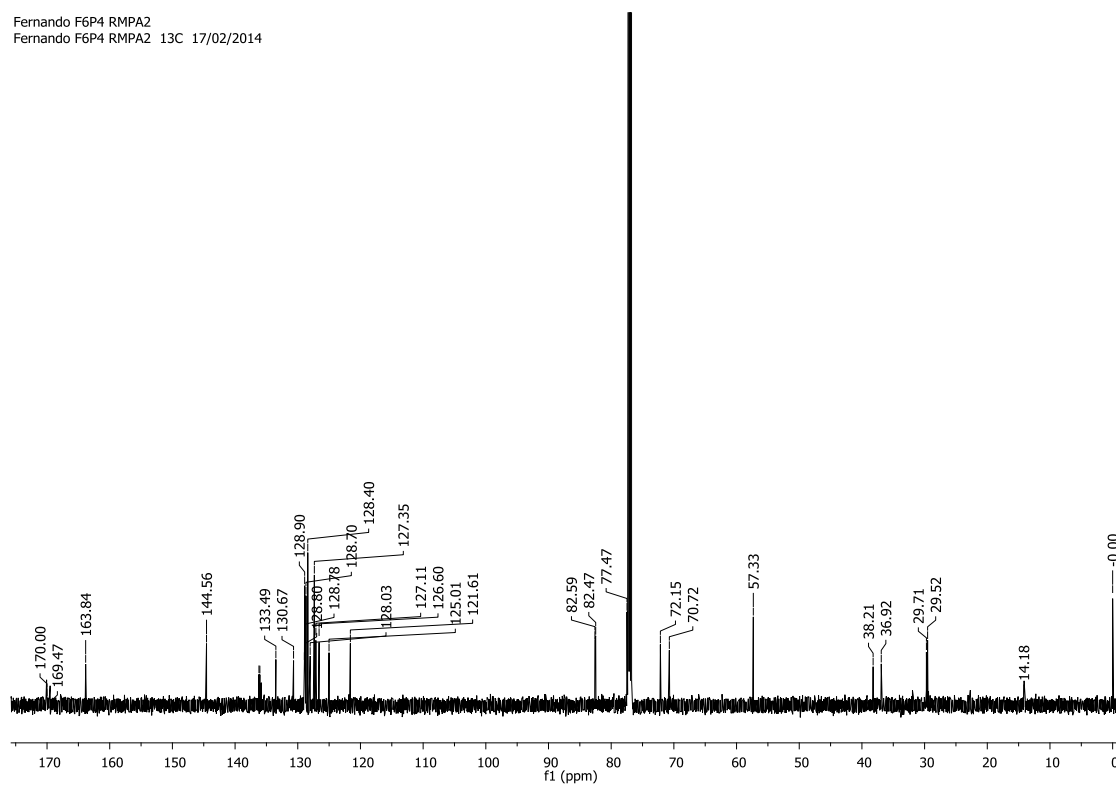
Criptomoscatoa E1 R-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	163,8		-	-	
3	121,6	6,03	<i>ddd</i> (9,6; 2,4; 0,6)	6,84	29,5; 163,8
4	144,6	6,84	<i>ddd</i> (9,6; 6,0; 3,0)	2,32; 6,03	
5	29,5	2,32	<i>m</i>	6,84	121,61; 144,6
6	77,5	4,78	<i>ddd</i> (4,8; 4,5; 10,8)	2,32; 5,61	
1'	128,9	5,64	<i>dd</i> (15,6; 6,0)	4,78	77,5
2'	130,7	5,61	<i>dt</i> (15,6; 7,2)		36,9
3'	36,9	2,39 2,33	<i>m</i> <i>m</i>		38,2; 70,3; 128,9; 130,7
4'	70,7	4,88	<i>m</i>	2,00	
5'	38,2	2,00 1,75	<i>ddd</i> (14,0; 7,8; 6,0) <i>ddd</i> (14,0; 8,0; 4,2)	1,75; 4,88; 5,16	36,9; 70,7; 72,2; 125,0;
6'	72,2	5,16	<i>m</i>	2,00; 1,76	125,0; 133,5
7'	125,0	5,68	<i>dd</i> (16,2; 6,0)	5,16	72,2; 133,5; 135,8
8'	133,5	5,68	<i>d</i> (15,6)		72,2; 125,0; 126,6; 133,5; 135,8
1''	135,8	-	-	-	
2'' e 6''	126,6	7,06	<i>dl</i> (8,0)	7,23	127,4; 133,5
4''	128,0	7,2	<i>tl</i> (8,0)		126,6
3'' e 5''	128,4	7,23	<i>tl</i> (8,0)	7,06	135,8; 128,7
	169,5		-		
	170,0		-		
	57,3	3,4	<i>s</i>		
	57,3	3,4	<i>s</i>		
	82,5	4,75	<i>s</i>		57,3; 169,5
	82,6	4,76	<i>s</i>		57,3; 127,6; 136,2; 170,0
	127,1	7,5	<i>dl</i> (8,0)		82,5; 127,4; 128,9
	127,4	7,41	<i>dl</i> (8,0)		128,7
	128,7	7,33	<i>tl</i> (8,0)		
	128,8	7,34	<i>tl</i> (8,0)		127,35
	128,8	7,34	<i>tl</i> (8,0)		
	128,9	7,39	<i>tl</i> (8,0)		128,80; 136,19
	136,1				
	136,2				

Anexo 57 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E1 (**4**) após reação com *R*-MPA, respectivamente, obtido em 600 MHz, em CDCl_3 .

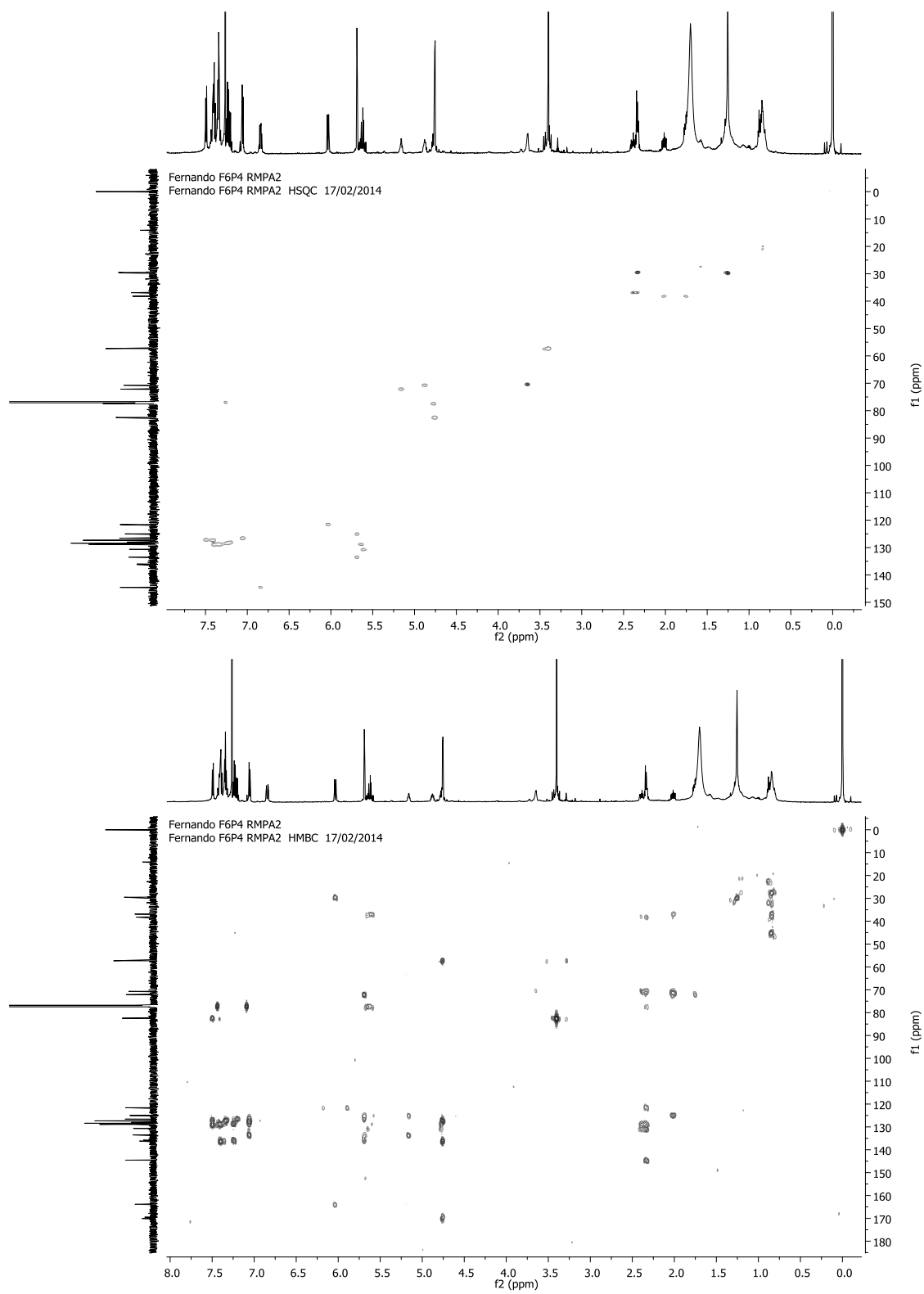


Anexo 58 - Espectro de RMN de ^{13}C e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoa E1 (**4**) após reação com *R*-MPA, respectivamente, (CDCl_3 , 14,1 T).

Fernando F6P4 RMPA2
Fernando F6P4 RMPA2 13C 17/02/2014



Anexo 59 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa E1 (4) após reação com *R*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.

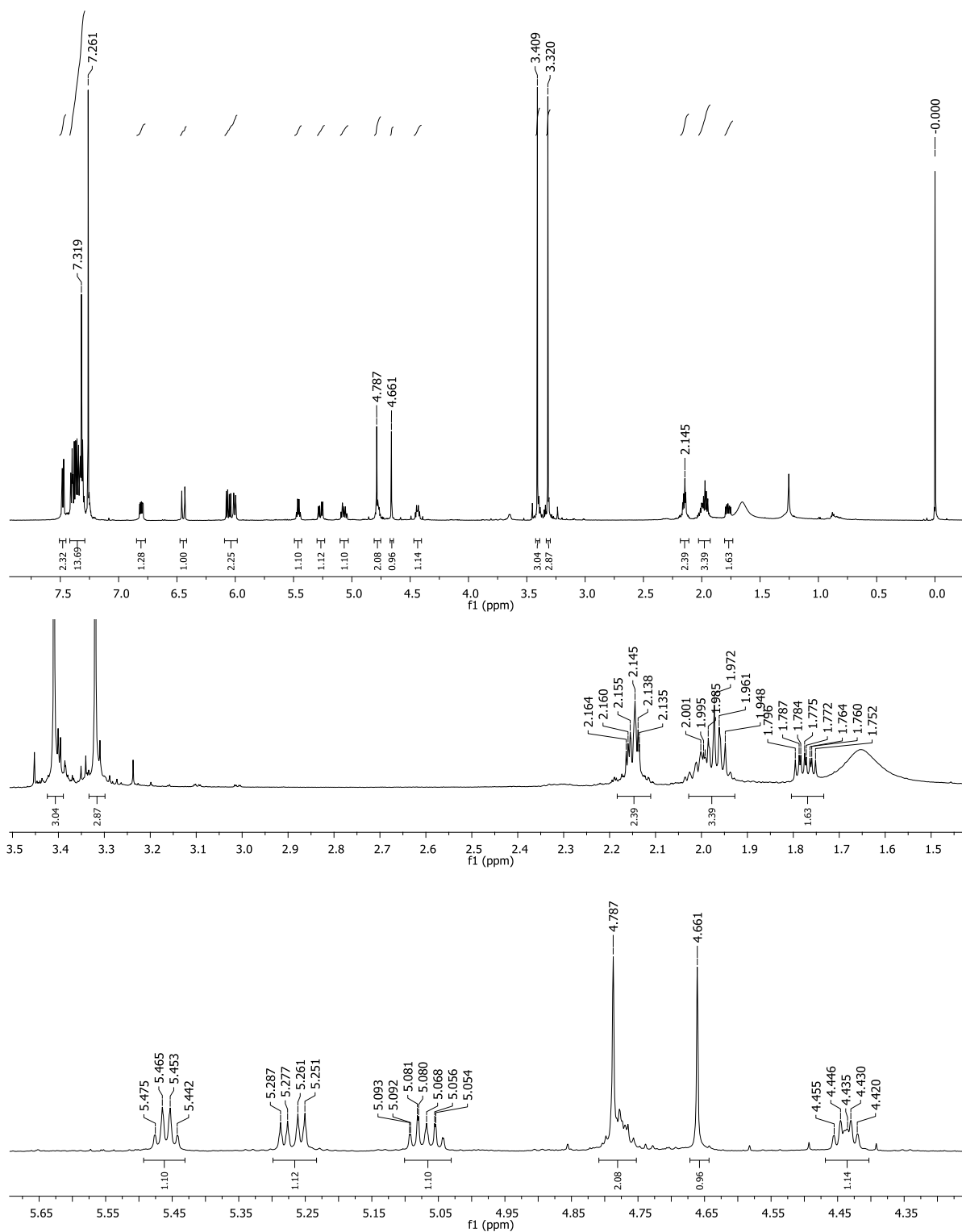


Anexo 60 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoa E1 (**4**) após esterificação com S-MPA.

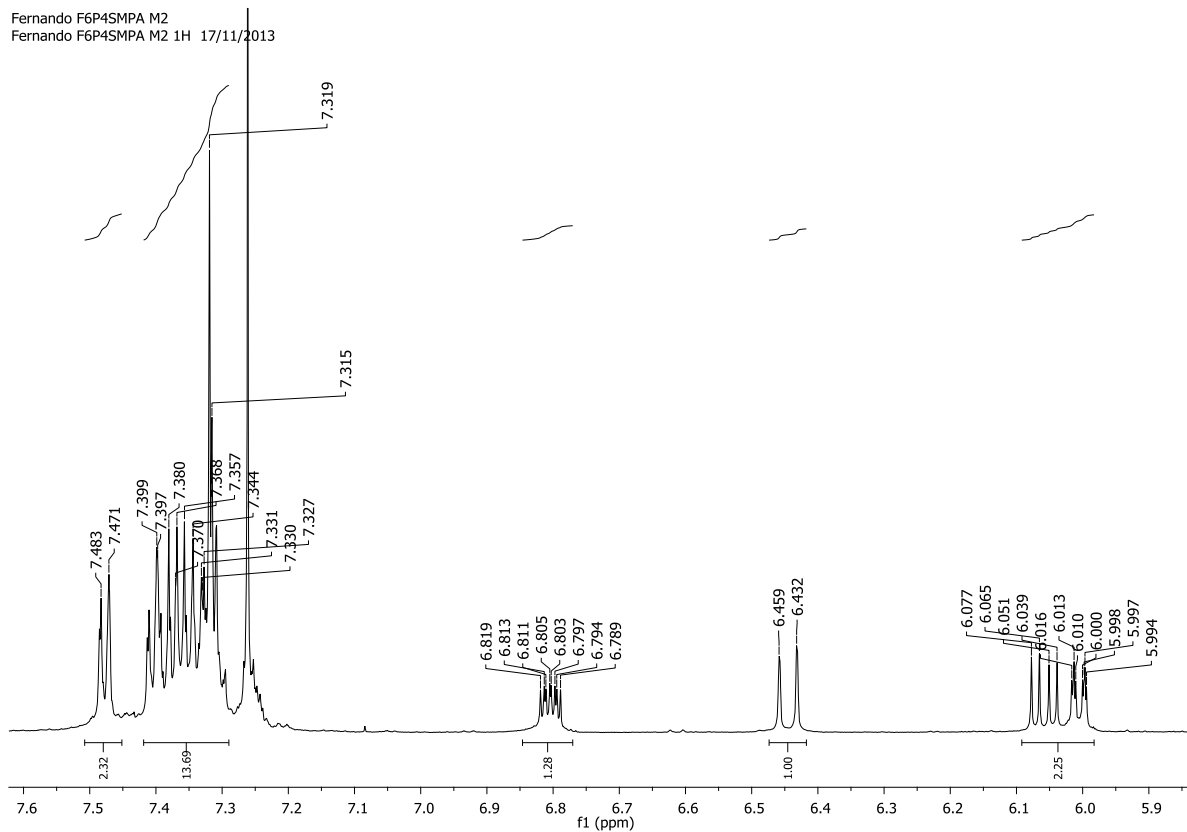
Criptomoscatoa E1 S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	163,7		-	-	
3	121,5	6,01	<i>ddd</i> (10,0; 2,4; 0,6)	6,80; 2,14	29,2
4	144,4	6,8	<i>ddd</i> (10,0; 5,6; 3,6)	2,41; 6,01	
5	29,2	2,14	<i>m</i>	4,44; 6,01	77,3; 121,5; 144,4
6	77,3	4,44	<i>ddd</i> (4,8; 4,5; 10,8)	2,14	128,6; 130,1; 144,4
1'	128,6	5,07	<i>dd</i> (15,6; 6,0)		36,3; 77,3
2'	130,3	5,27	<i>dt</i> (15,6; 6,0)	4,44	36,3; 77,3
3'	36,3	2,01 1,98	4,78; 5,46		38,0; 128,6
4'	70,3	4,78	<i>m</i>	1,77; 1,96	
5'	38,0	1,96 1,77	<i>ddd</i> (14,0; 7,2; 5,4)		36,3; 70,3; 72,2; 125,5; 128,6; 130,2
6'	72,2	5,46	<i>q</i> (6,0)	1,77; 1,96	38,0; 70,3; 125,5; 133,6; 169,8
7'	125,5	6,06	<i>dd</i> (16,2; 7,2)	6,45; 5,46	72,2; 135,8
8'	133,6	6,45	<i>d</i> (15,6)	6,06	72,2; 126,6; 135,8
1''	135,8		-		
2'' e 6''	126,6	7,32	<i>dl</i> (7,2)		
4''	128,2	7,25	<i>tl</i> (7,2)		
3'' e 5''	128,6	7,38	<i>tl</i> (7,2)		136,1
MPA	169,6	-	-	-	-
MPA	169,8	-	-	-	-
MPA	57,2	3,32	<i>s</i>		82,3
MPA	57,3	3,41	<i>s</i>		82,5
MPA	82,5	4,79	<i>s</i>		57,2; 127,2; 136,1; 169,6
MPA	82,3	4,66	<i>s</i>		57,3; 127,2; 136,3; 169,8
MPA	127,2	7,48	<i>dl</i> (7,2)	7,36; 7,38	82,5; 127,2; 128,7
MPA	127,2	7,47	<i>dl</i> (7,2)		82,3; 128,2
MPA	128,3	7,41	<i>tl</i> (7,2)		
MPA	128,4	7,26	<i>tl</i> (7,2)		
MPA	128,7	7,36	<i>tl</i> (7,2)		136,3; 128,7
MPA	128,7	7,32	<i>tl</i> (7,2)		136,1; 127,2
MPA	136,1				
MPA	136,3				

Anexo 61 - Espectro de RMN de ^1H e ampliações da substância criptomoscatoa E1 (**4**) após reação com S-MPA obtido em 600 MHz, em CDCl_3 , respectivamente.

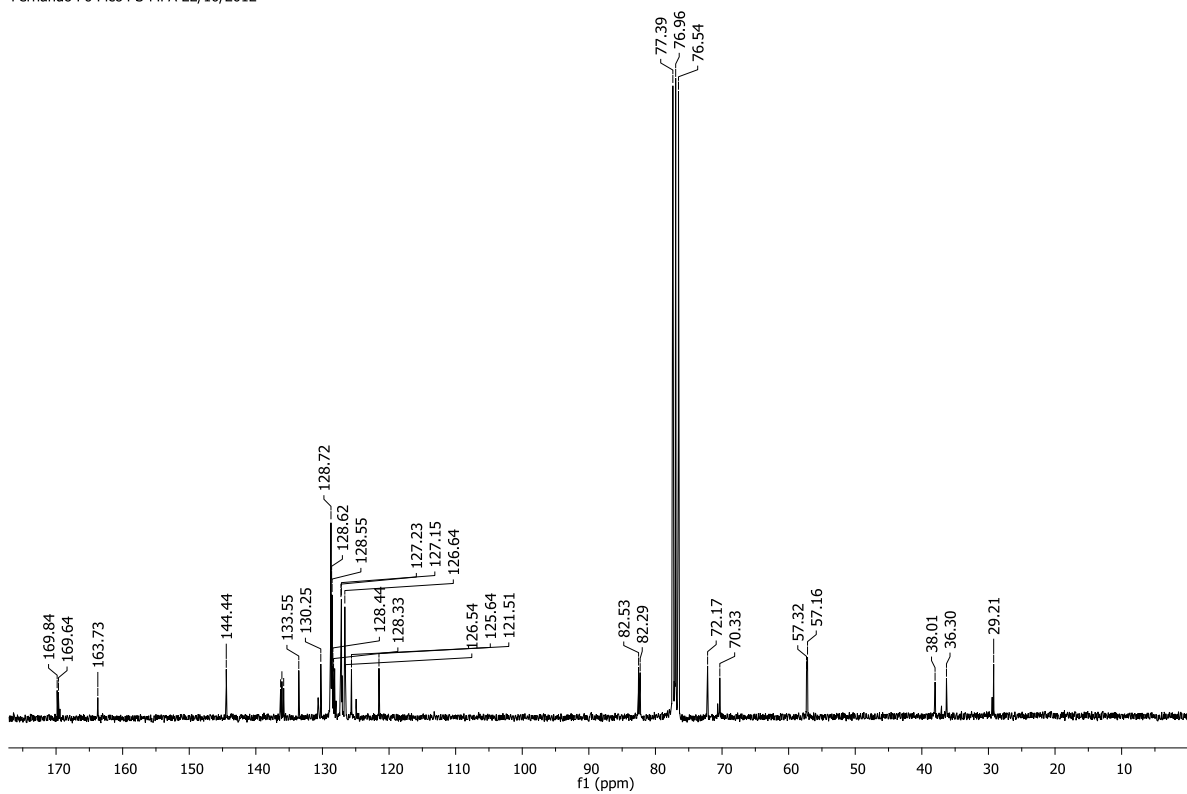
Fernando F6P4SMPA M2
Fernando F6P4SMPA M2 1H 17/11/2013



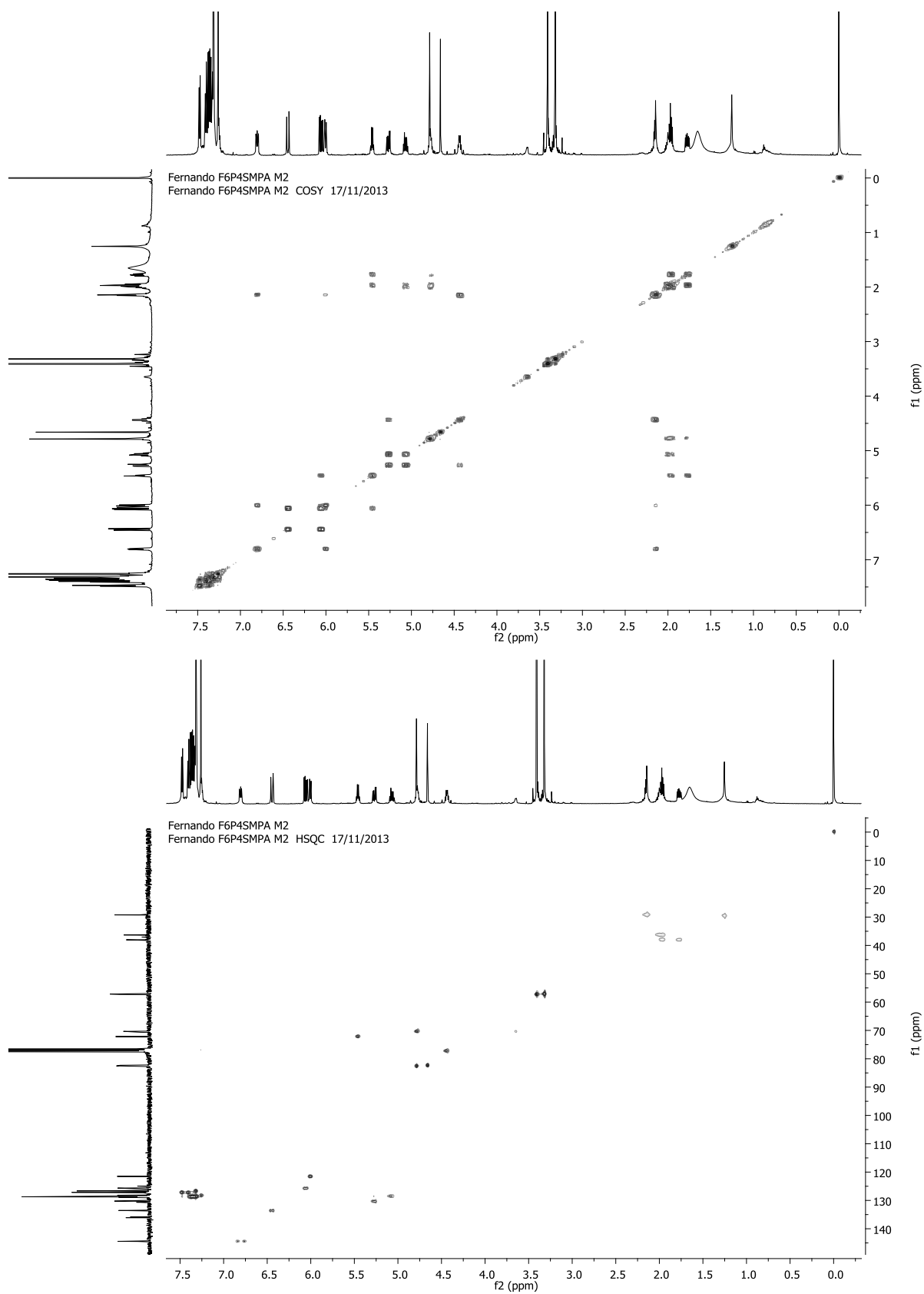
Anexo 62 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância criptomoscatoa E1 (**4**) após reação com *S*-MPA obtido em 600 e 150 MHz, em CDCl_3 , respectivamente.



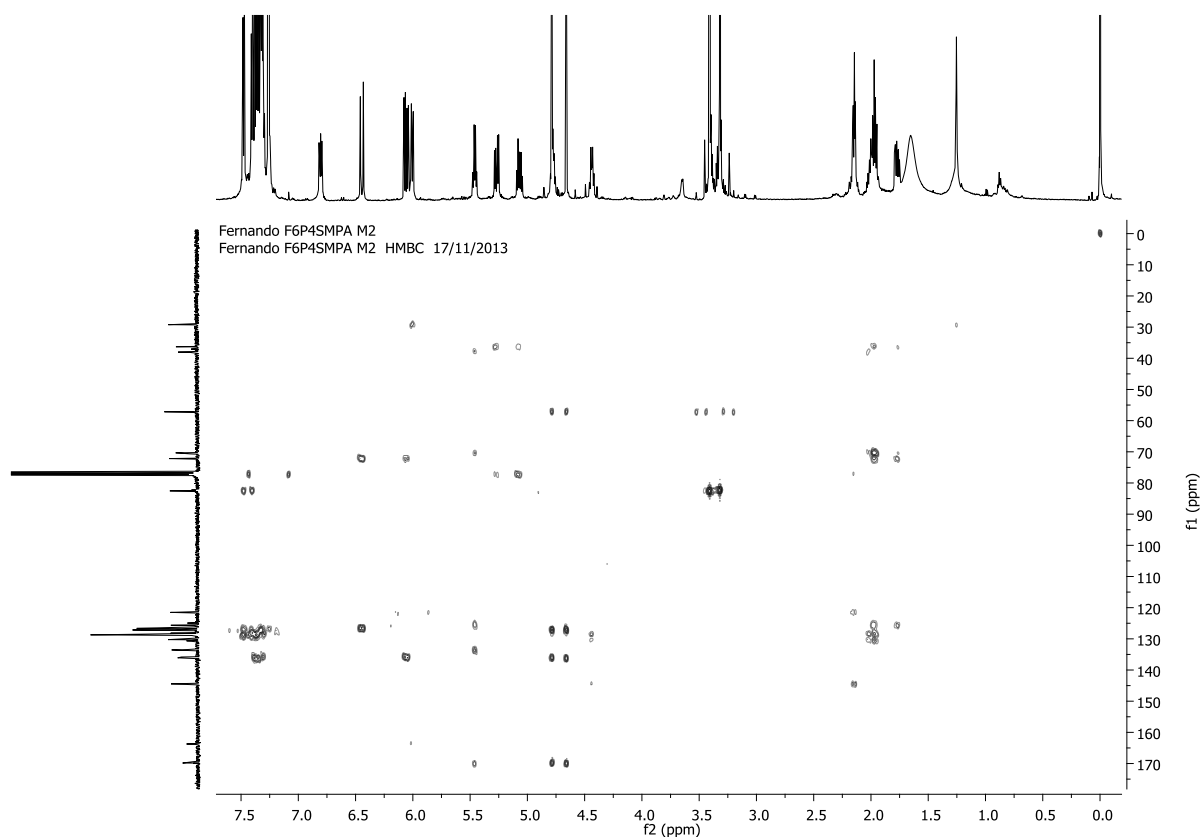
fernandoP_F6Pico4SMPA_c
Fernando F6 Pico4 S-MPA 22/10/2012



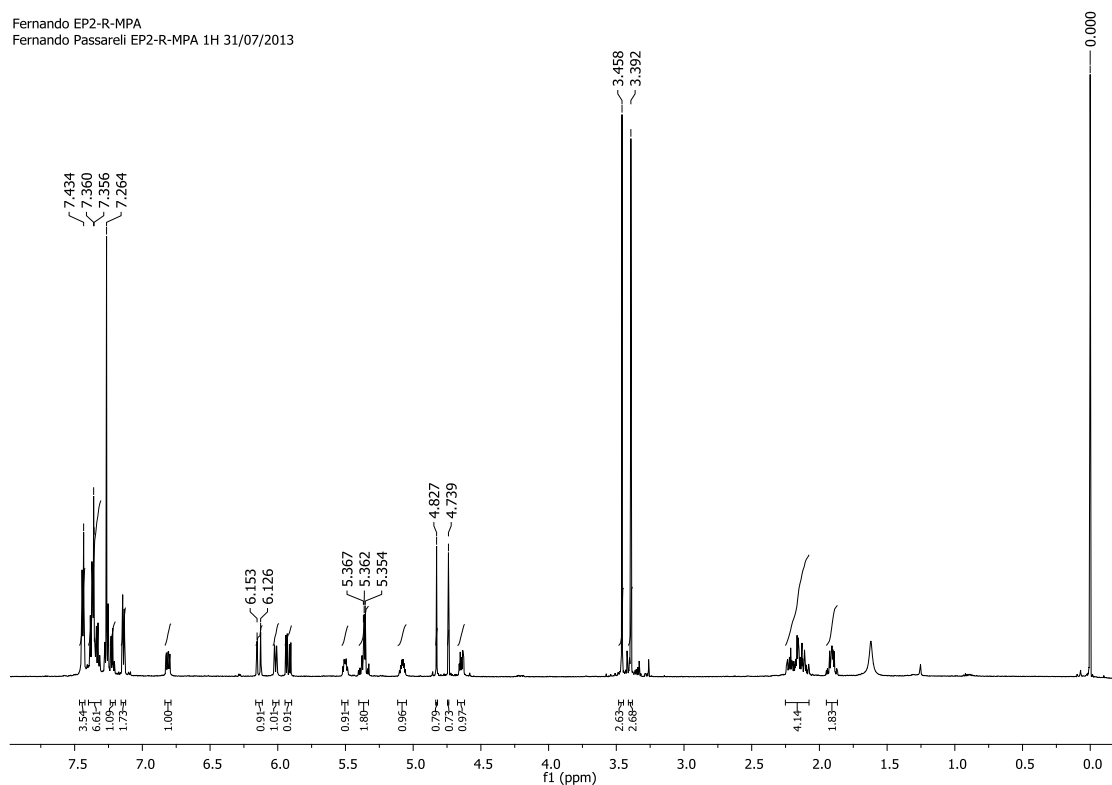
Anexo 63 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoa E1 (**4**) após reação com S-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



Anexo 64 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoa E1 (**4**) após reação com *S*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.



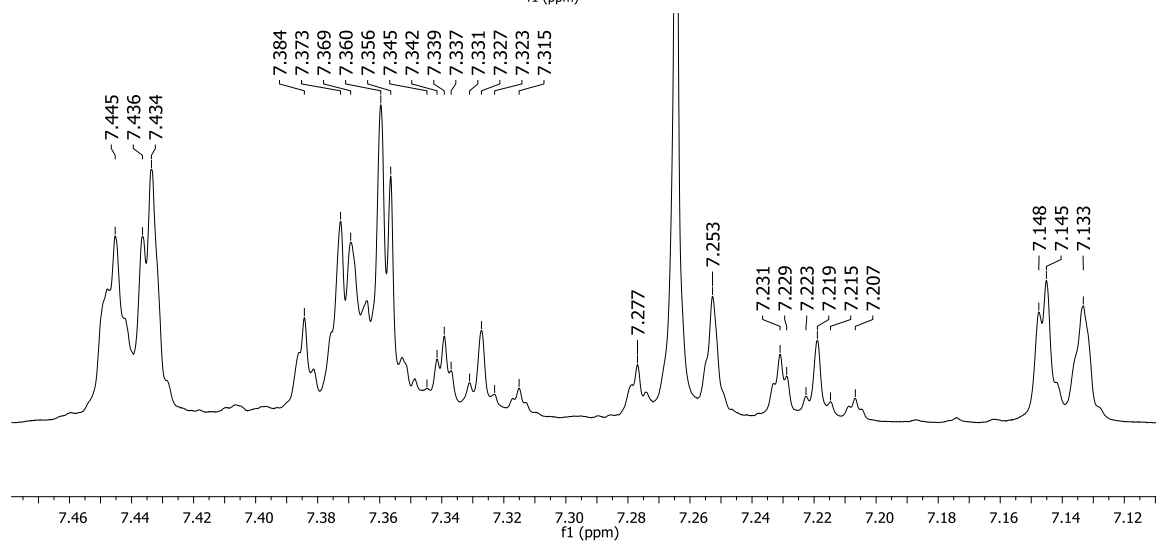
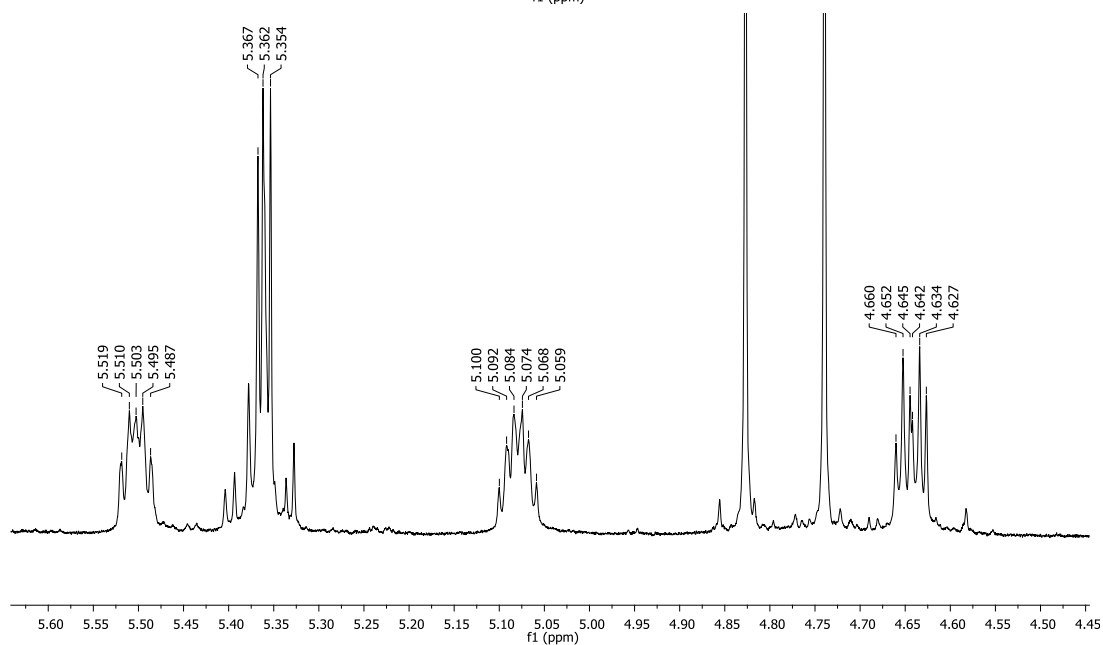
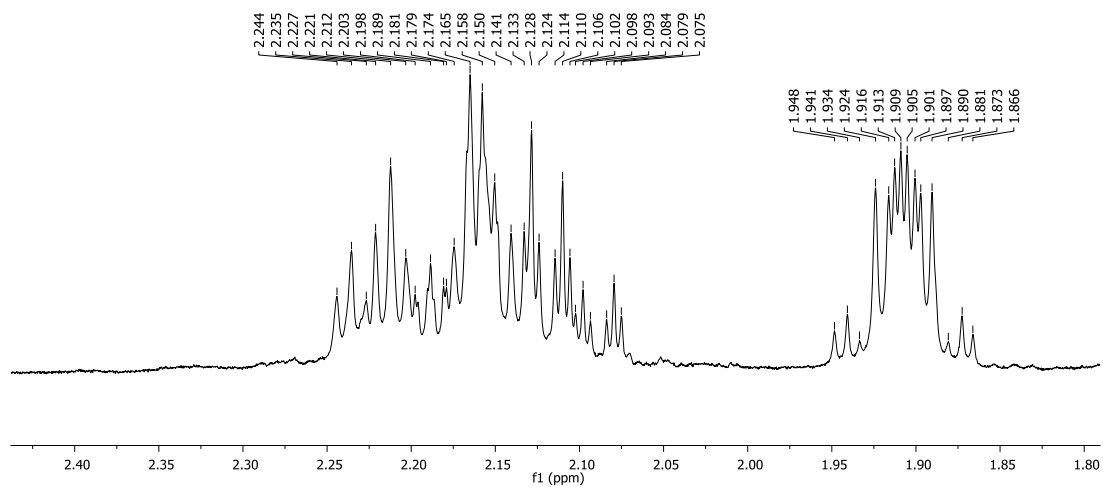
Anexo 65 - Espectro de RMN de ¹H da substância criptomoscatoa E2 (**3**) após reação com *R*-MPA em CDCl₃ obtido em 600 MHz, respectivamente.



Anexo 66 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E2 (3) após esterificação com R-MPA.

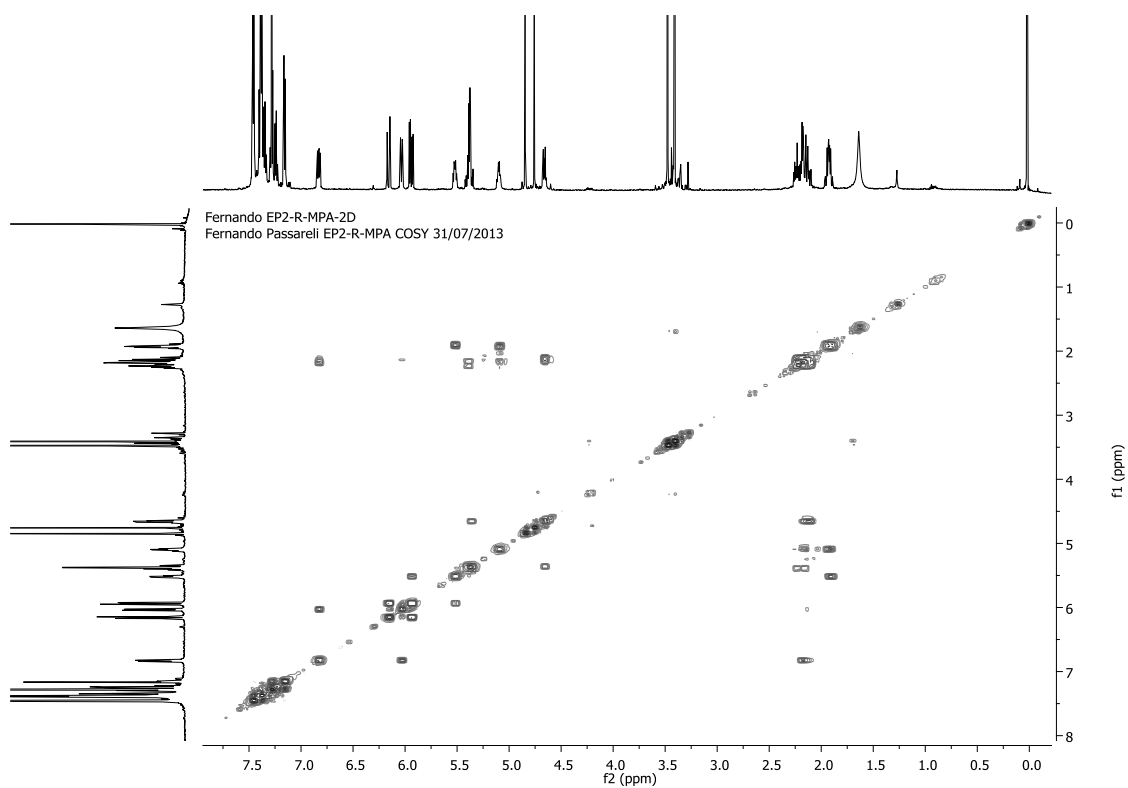
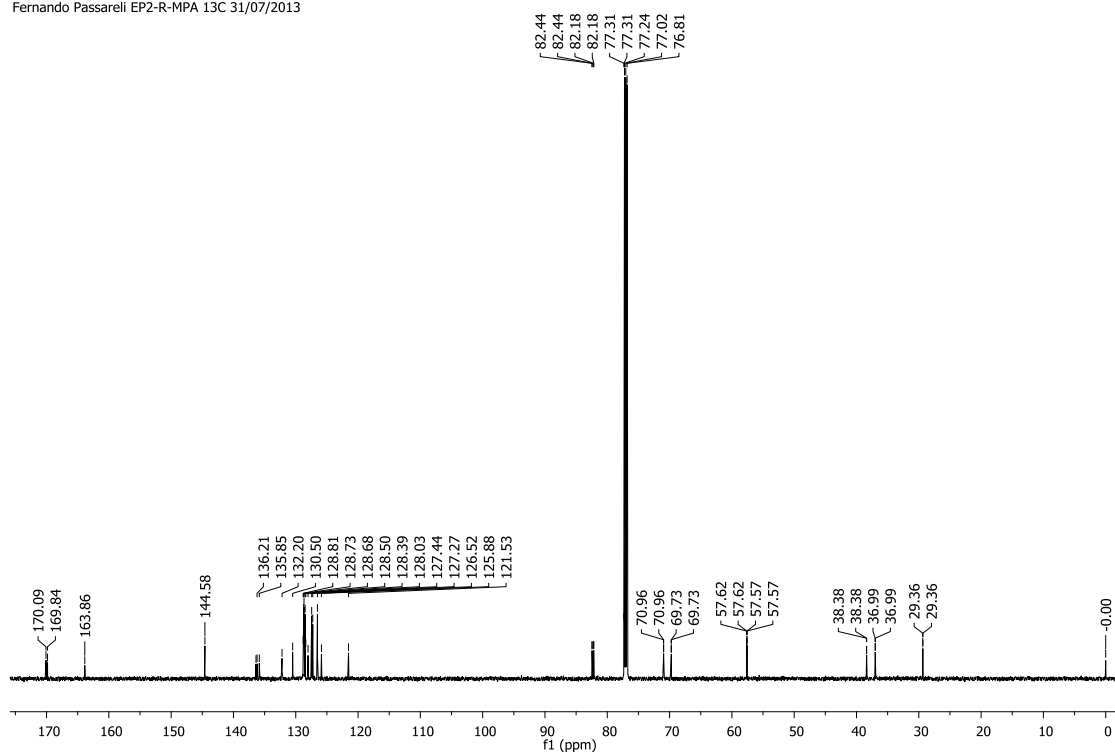
Criptomoscatoona E2 R-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	163,9	-	-	-	
3	121,5	6,03	<i>ddd</i> (9,6; 2,4; 0,6)	6,83	163,9
4	144,6	6,83	<i>ddd</i> (9,6; 6,0; 3,0)		29,4; 163,9; 77,31
5	29,4	2,11 2,18	<i>qt</i> (18,0; 11,4; 3,0) <i>m</i>	4,66; 6,83	77,3; 121,5; 144,6
6	77,3	4,66	<i>ddd</i> (4,8; 4,5; 10,8)		
1'	128,4	5,39	<i>dd</i> (15,6; 6,0)		37,0; 77,3; 130,5
2'	130,5	5,38	<i>dt</i> (15,6; 7,2)		37,0; 77,3; 128,4
3'	37,0	2,18 2,24	<i>m</i> <i>m</i>	5,09	38,4; 69,7; 128,4; 130,5
4'	69,7	5,09	<i>m</i>		71,0; 170,1
5'	38,4	1,93	<i>ddd</i> (16,2; 6,6; 4,8)	5,10; 5,52	37,0; 69,7; 71,0; 125,9
6'	71,0	5,52	<i>m</i>	5,94	38,4; 69,7; 169,8; 125,9; 132,2
7'	125,9	5,94	<i>dd</i> (16,2; 6,0)	5,52; 6,16	38,4; 71,0
8'	312,2	6,16	<i>d</i> (16,2)		71,0; 126,5; 135,8
1''	135,8		-		
2'' e 6''	126,5	7,16	<i>dl</i> (8,0)		125,9; 132,2
4''	128,0	7,24	<i>tl</i> (8,0)		126,5
3'' e 5''	128,5	7,29	<i>tl</i> (8,0)		135,8
	169,84	-	-	-	
	170,1	-	-	-	
	57,6	3,41	<i>s</i>		82,2
	57,6	3,48	<i>s</i>		82,4
	82,2	4,76	<i>s</i>		57,6; 136,2; 169,8; 127,3
	82,4	4,85	<i>s</i>		57,6; 136,4; 170,1; 127,4
	127,3	7,47	<i>dl</i> (8,0)		
	127,4	7,46	<i>dl</i> (8,0)		
	128,7	7,38	<i>tl</i> (8,0)		
	128,7	7,38	<i>tl</i> (8,0)		
	128,7	7,38	<i>tl</i> (8,0)		
	128,8	7,35	<i>tl</i> (8,0)		

Anexo 67 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação com *R*-MPA obtido em 600 MHz, em CDCl_3 , respectivamente.

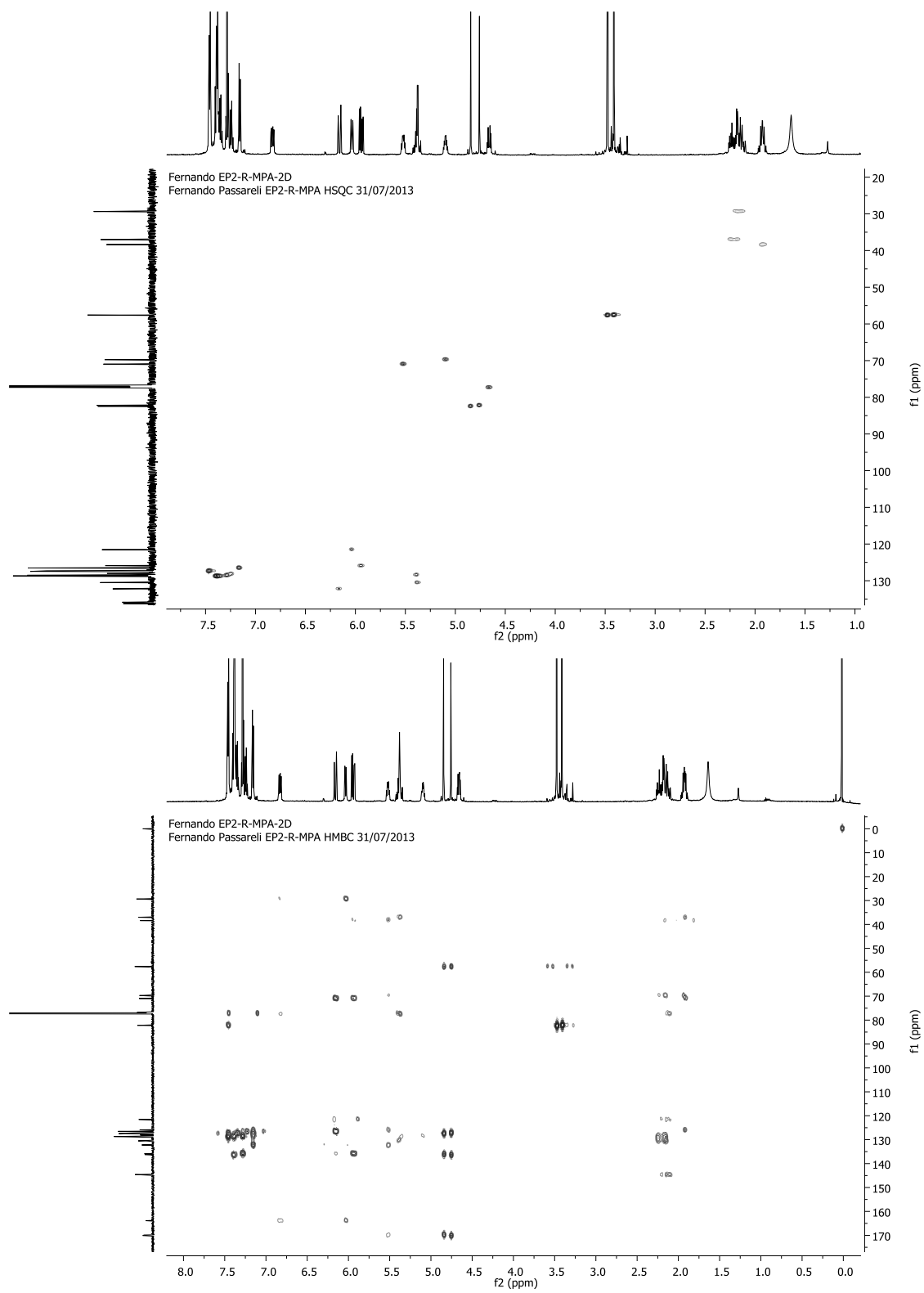


Anexo 68 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 150 MHz e mapa de contorno COSY da substância criptomscatona E2 (3) após reação com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T).

Fernando EP2-R-MPA-2D
Fernando Passareli EP2-R-MPA 13C 31/07/2013



Anexo 69 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação com *R*-MPA em CDCl_3 (14,1 T), respectivamente.

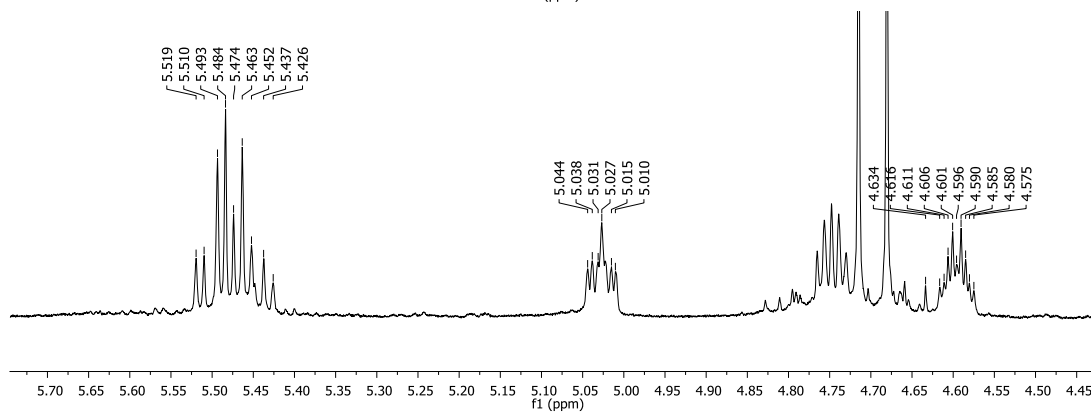
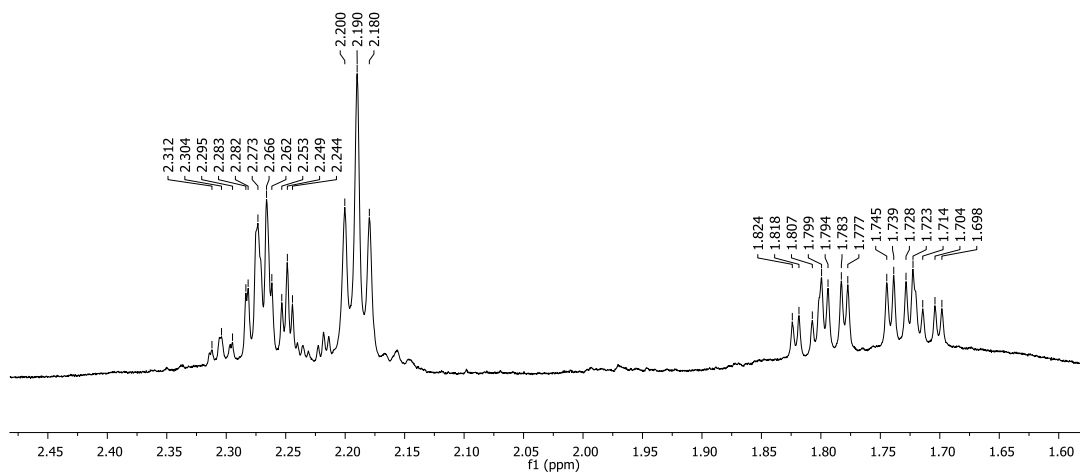
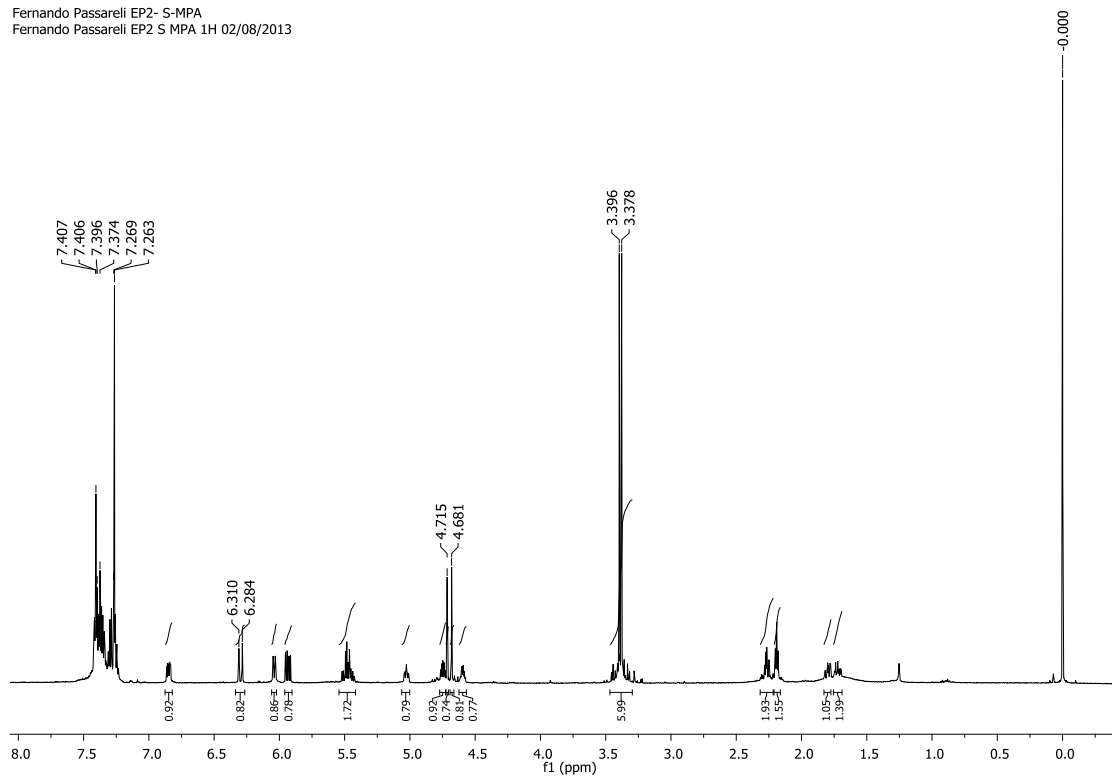


Anexo 70 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoína E2 (3) após esterificação com S-MPA.

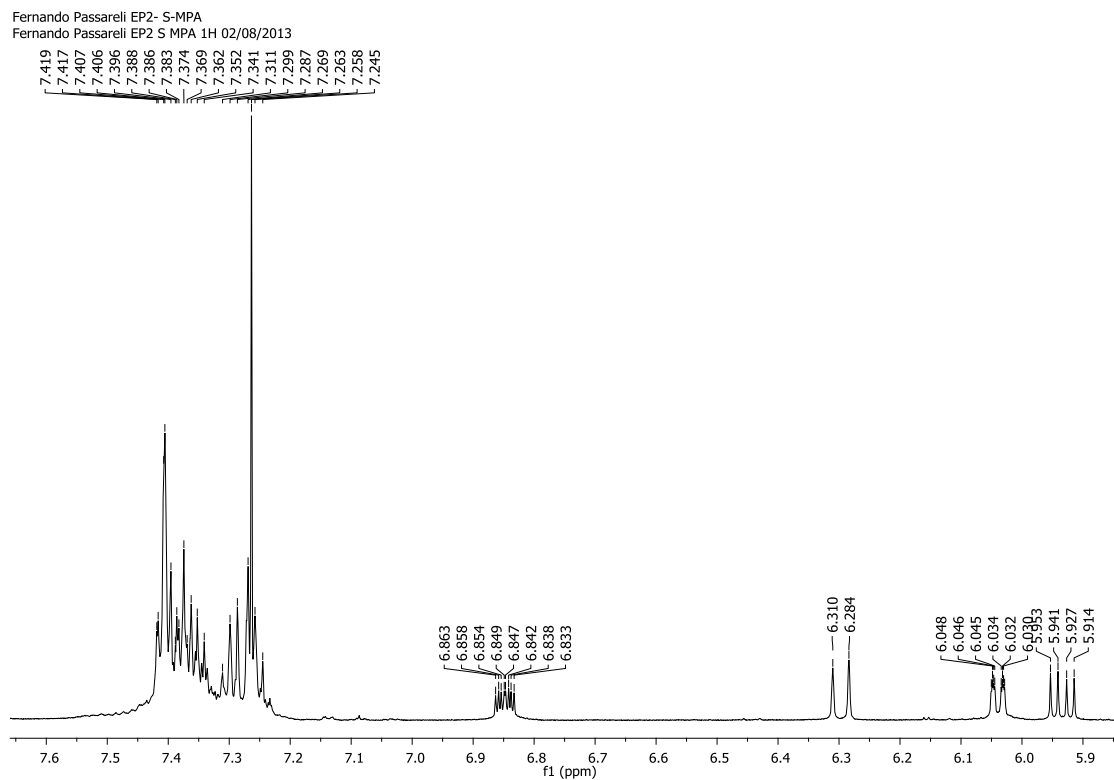
EP2 S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	163,9		-	-	
3	121,6	6,03	<i>ddd</i> (9,6; 2,4; 0,6)	6,85	29,5; 163, 9
4	144,6	6,85	<i>ddd</i> (9,6; 6,0; 3,0)	2,27; 6,03	
5	29,5	2,27	<i>m</i>	4,75	77,51; 121,6; 144,6
6	77,5	4,75	<i>ddd</i> (4,8; 4,5; 10,8)	2,27	
1'	128,9	5,47	<i>dd</i> (15,6; 6,0)	2,19; 4,75	37,1; 77,5; 130,4
2'	130,4	5,49	<i>dt</i> (15,6; 7,2)		37,1; 77,5; 130,4
3'	37,1	2,19	<i>tl</i> (6,0)	4,59	38,6; 70,1; 130,4
4'	70,1	4,59	<i>m</i>	1,80; 1,72; 2,19	
5'	38,6	1,80 1,72	<i>ddd</i> (14,4; 10,2; 3,6) <i>ddd</i> (14,4; 10,2; 3,6)	4,59; 5,03	70,1; 71,7
6'	71,7	5,03	<i>ddd</i> (9,6; 7,8; 3,6)	1,80; 1,72; 5,94	
7'	126,0	5,94	<i>dd</i> (16,2; 6,0)	5,03; 6,30	38,6; 71,7; 135,9
8'	133,4	6,30	<i>d</i> (16,2)	5,94	71,7; 126,7
1''	135,9		-		
2'' e 6''	126,6	7,28	<i>dl</i> (7,8)		133,3
4''	128,2	7,26	<i>tl</i> (7,8)		126,6
3'' e 5''	128,6	7,30	<i>tl</i> (7,8)		135,9
	169,6		-		
	169,9		-		
	57,3	3,38	<i>s</i>		70,1
	57,4	3,40	<i>s</i>		71,7
	82,6	4,68	<i>s</i>		57,3; 127,4; 136,2; 169,9
	82,7	4,71	<i>s</i>		57,4; 127,4; 136,3; 169,6
	127,4	7,41	<i>dl</i> (7,8)		82,6; 82,7; 128,2
	128,7	7,36	<i>dl</i> (7,8)		
	128,7	7,37	<i>tl</i> (7,8)		
	128,8	7,37	<i>tl</i> (7,8)		
	128,8	7,38	<i>tl</i> (7,8)		
	128,9	7,38	<i>tl</i> (7,8)		
	136,2				
	136,2				

Anexo 71 - Espectro de RMN de ^1H e ampliações da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação com S-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

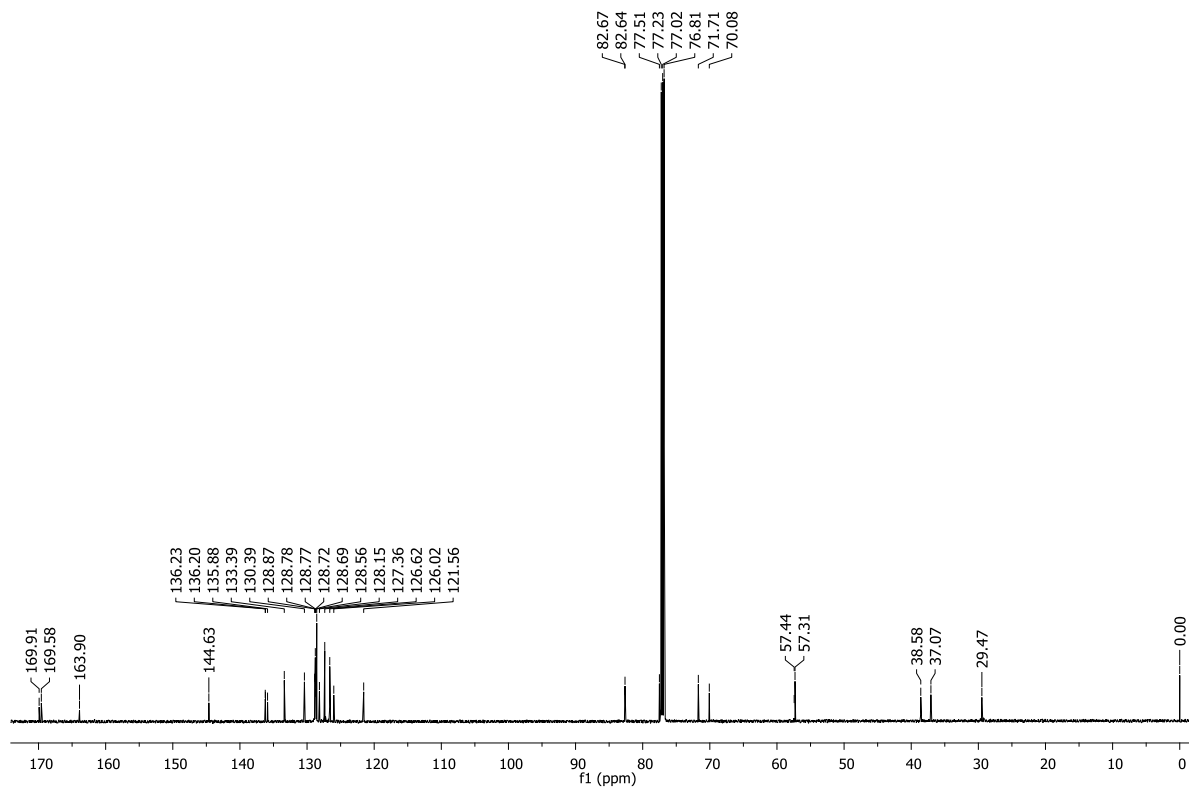
Fernando Passareli EP2- S-MPA
Fernando Passareli EP2 S MPA 1H 02/08/2013



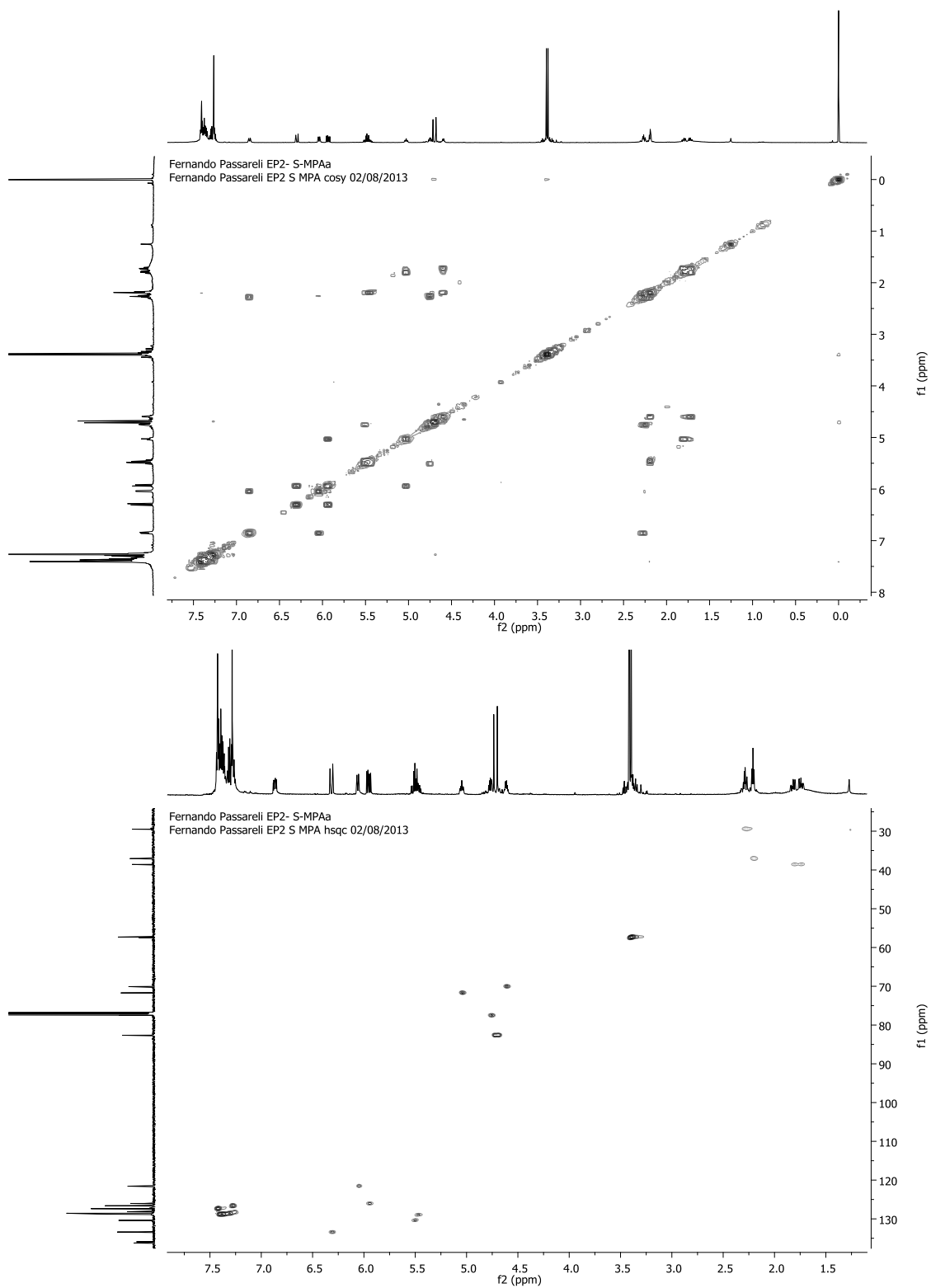
Anexo 72 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 e 150 MHz, respectivamente.



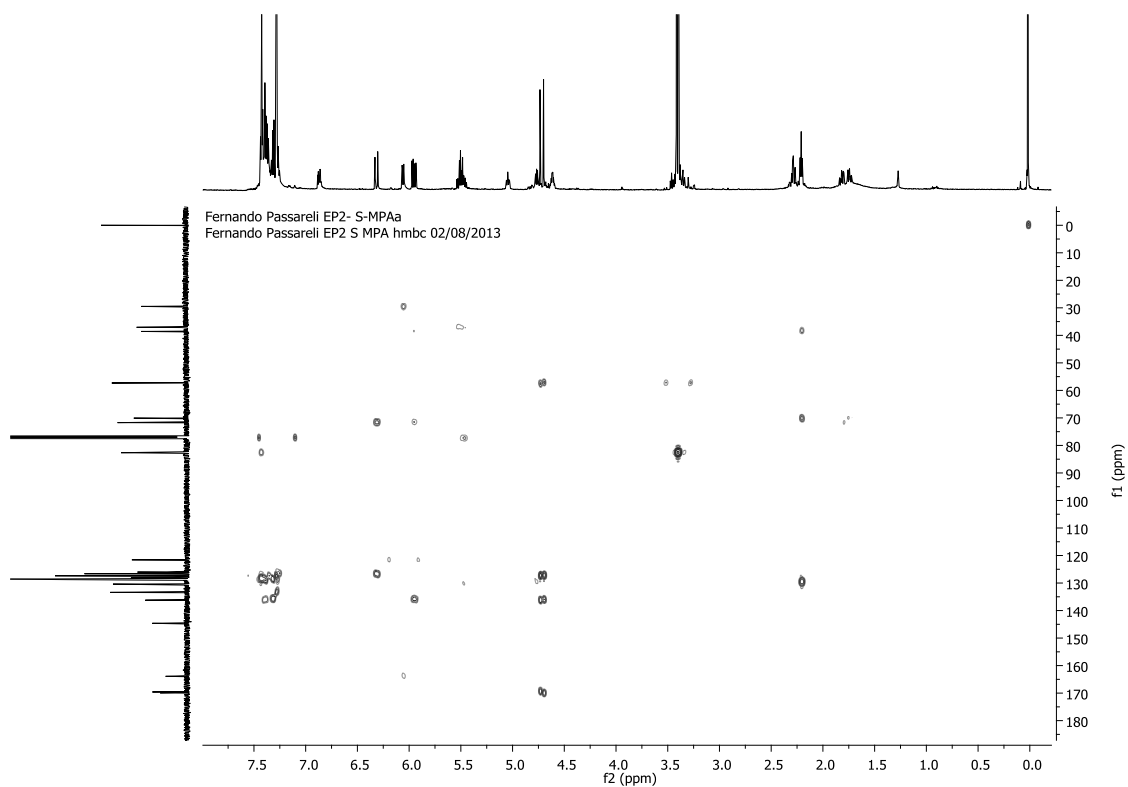
Fernando EP2- S-MPA
Fernando EP2-S-MPA 02/08/2013



Anexo 73 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação com S-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

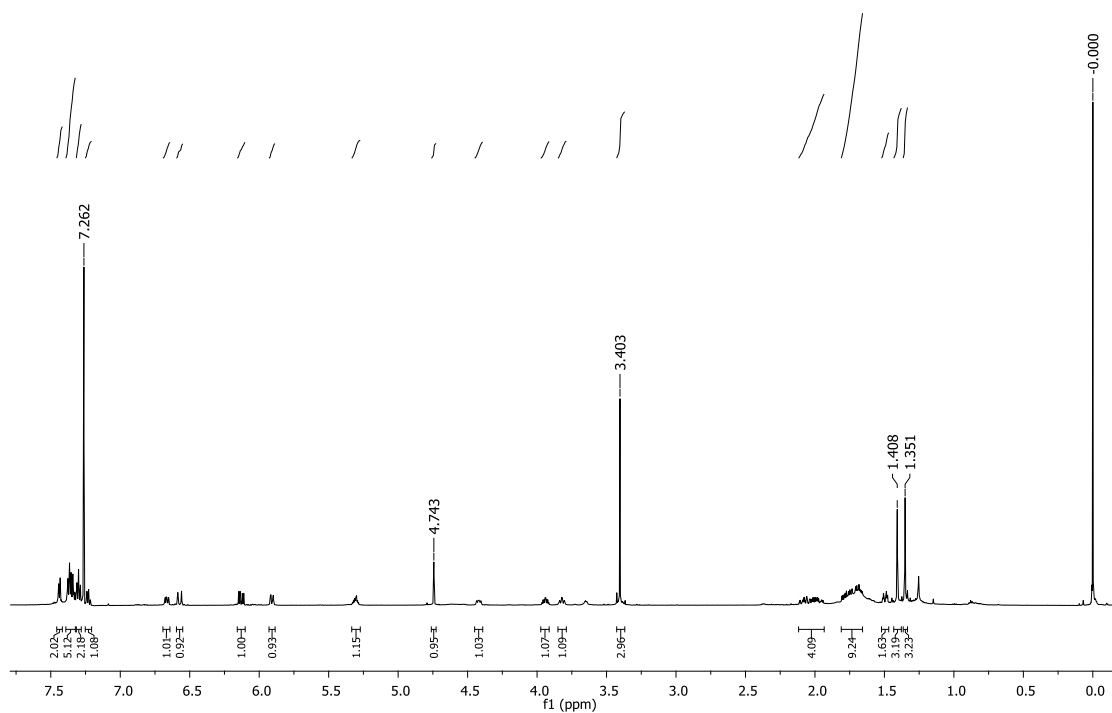


Anexo 74 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



Anexo 75 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação de formação do acetonídeo entre 4' e 6' e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

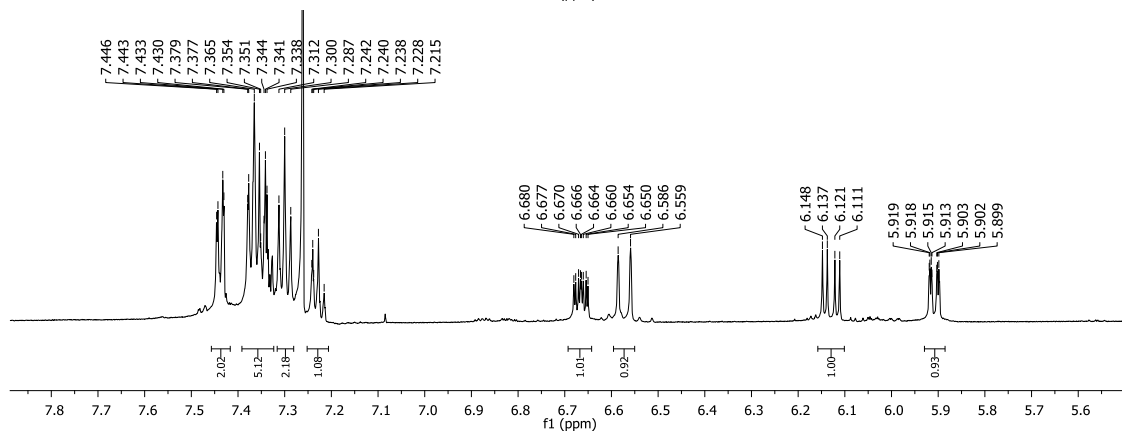
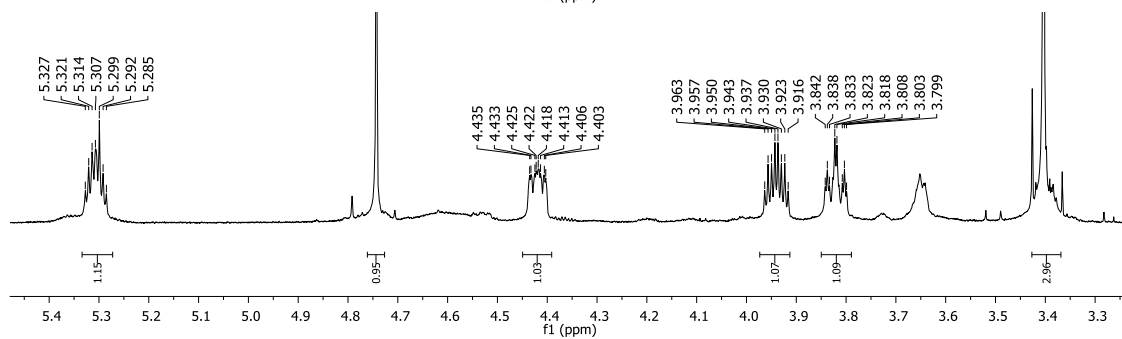
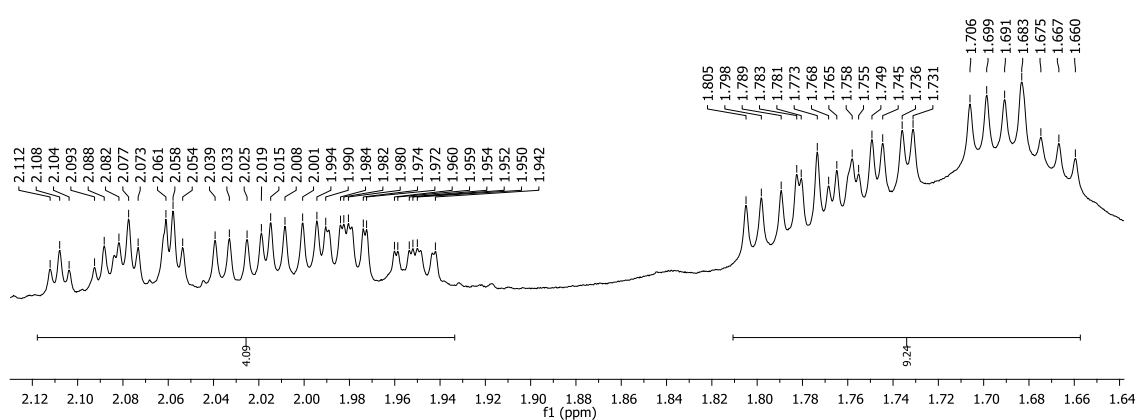
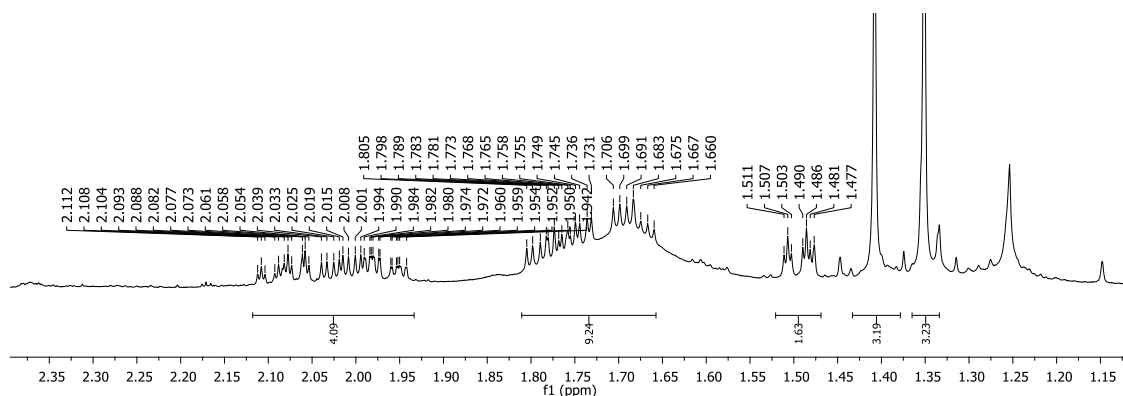
Fernando EP3 ACT4 RMPA
Fernando EP3 ACT4 RMPA 1H 14/10/2013



Anexo 76 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E3 (5) após formação do acetonídeo entre 4' e 6' e após esterificação com R-MPA.

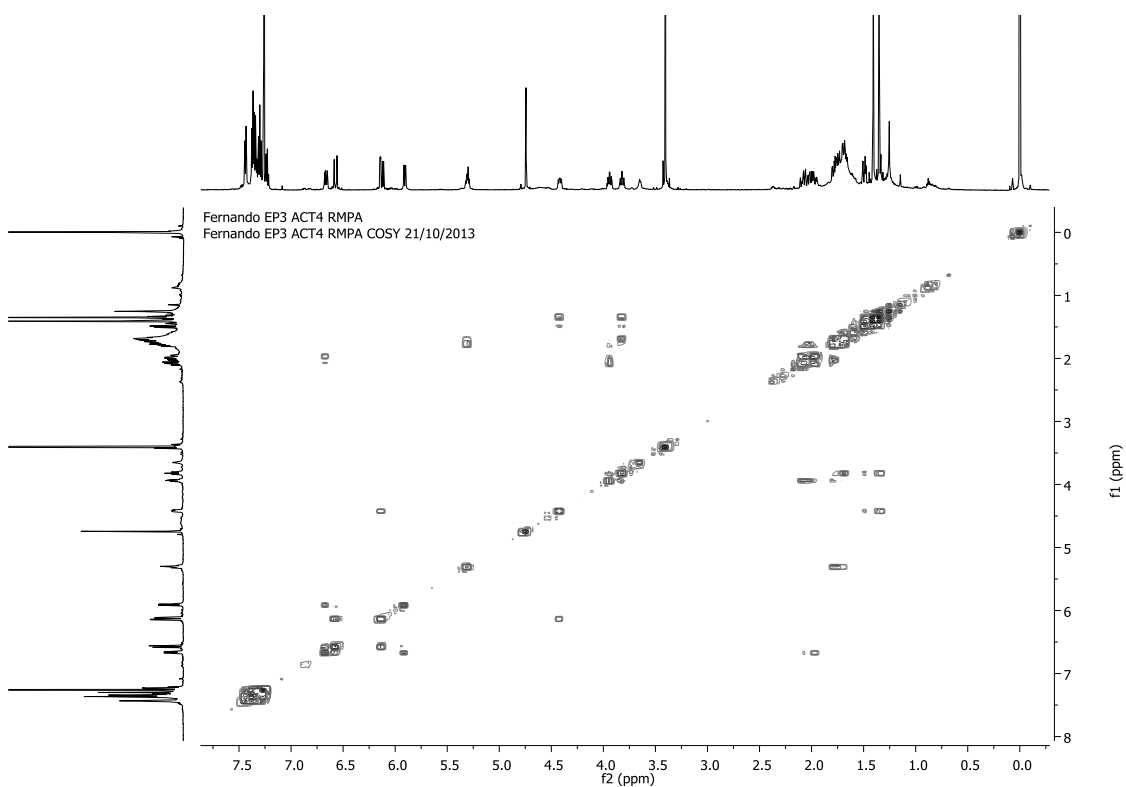
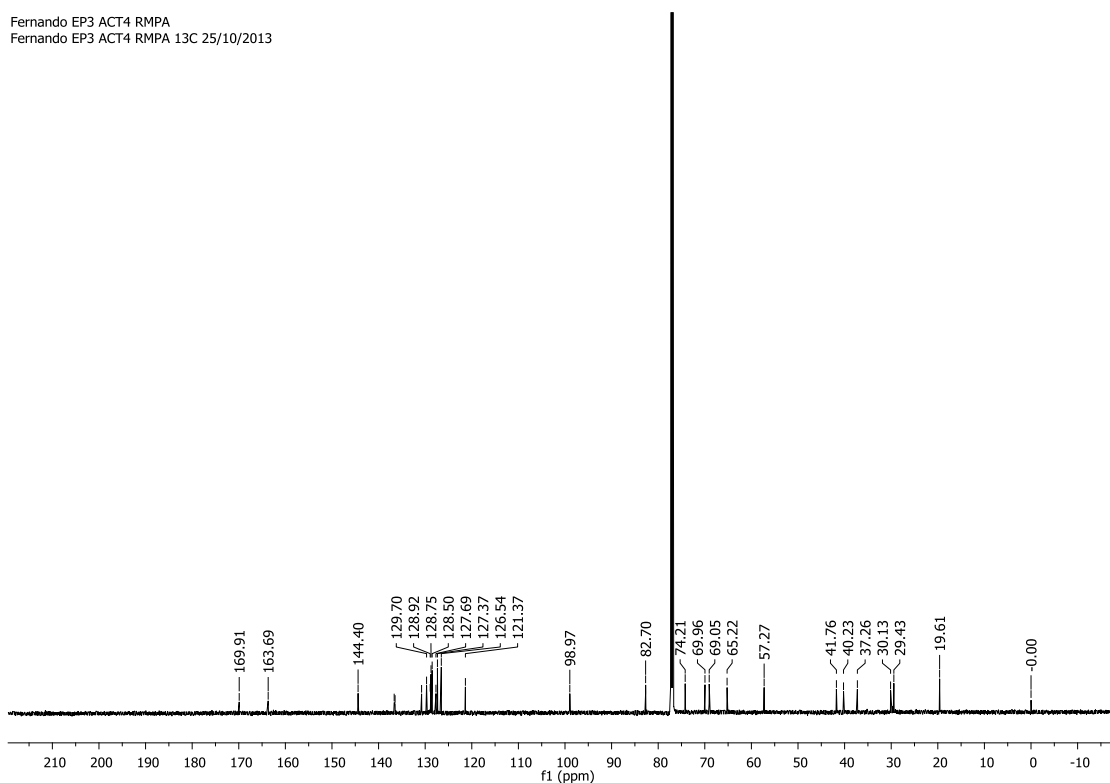
Criptomoscatoona E3 ACT entre 4'e 6' R-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	163,7	-	-	-	
3	121,4	5,91	<i>ddd</i> (10,0; 2,7; 0,6)	6,66	29,4; 163,7
4	144,6	6,66	<i>ddd</i> (10,0; 6,0; 1,8)	1,97; 5,91	29,4; 163,7
5	29,4	2,08 1,97	<i>qt</i> (18,0; 12,0; 2,4) <i>dqd</i> (18,0; 6,0; 3,6; 0,6)		
6	74,2	3,94	<i>dddd</i> (3,6; 3,6; 8,4; 8,4)		29,4; 40,2; 144,6
1'	40,2	2,01 1,77	<i>ddd</i> (15,0; 8,4; 3,6) <i>ddd</i> (15,0; 9,6; 4,2)		
2'	69,1	5,30	<i>dddd</i> (3,6; 3,6; 8,4; 8,4)	1,77; 1,68	40,2
3'	41,8	1,76 1,68	<i>ddd</i> (14,0; 10,8; 3,0) <i>ddd</i> (14,0; 9,0; 4,2)		69,1
4'	65,2	3,82	<i>ddt</i> (2,4; 9,0; 11,6)	1,50; 1,34; 1,36; 1,69	19,6; 37,3; 41,8
5'	37,3	1,50 1,33	<i>dil</i> (12,6; 2,4) ni		129,7
6'	70,0	4,41	<i>ddd</i> (12,6; 6,0; 1,5)	1,34/1,36/1,50/6,13	19,6; 37,3; 129,7; 130,8
7'	129,7	6,13	<i>dd</i> (16,2; 6,6)	4,41/ 6,57	37,3
8'	130,8	6,57	<i>d</i> (16,2)	6,13	126,5
Metila	19,6	1,35	<i>s</i>	-	30,1; 99,0
Metila	30,1	1,41	<i>s</i>	-	19,6; 99,0
Cetal	99,0	-	-	-	
1''	136,7	-	-	-	129,7
2'' e 6''	126,5	7,37	<i>dl</i> (7,8)		130,8; 127,7
4''	127,7	7,23	<i>tl</i> (7,8)		
3'' e 5''	128,5	7,3	<i>tl</i> (7,8)		
	169,9				
	57,3	3,4	<i>s</i>		82,7
	82,7	4,74	<i>s</i>		57,3; 127,5; 136,5; 169,9
	127,4	7,44	<i>dl</i> (7,8)		82,7
	128,9	7,3	<i>tl</i> (7,8)		
	128,8	7,34	<i>tl</i> (7,8)		
	136,5	-	-		

Anexo 77 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação de formação do acetonídeo entre 4' e 6' e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

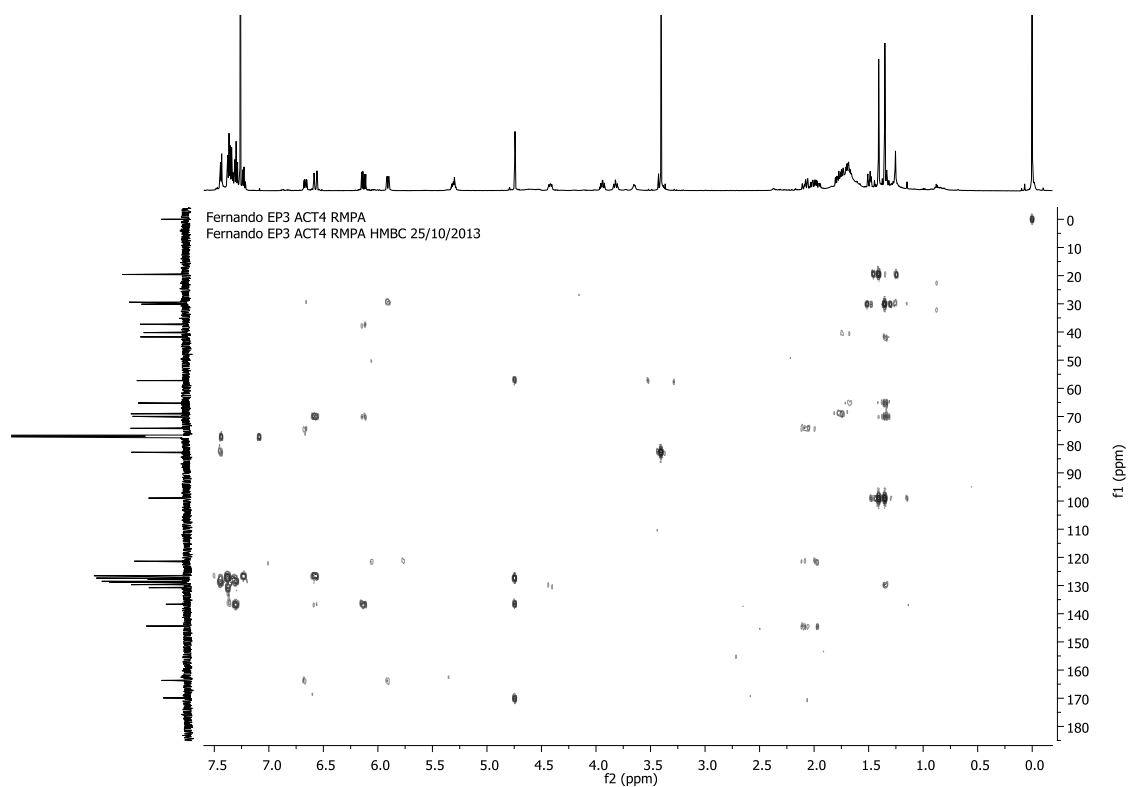
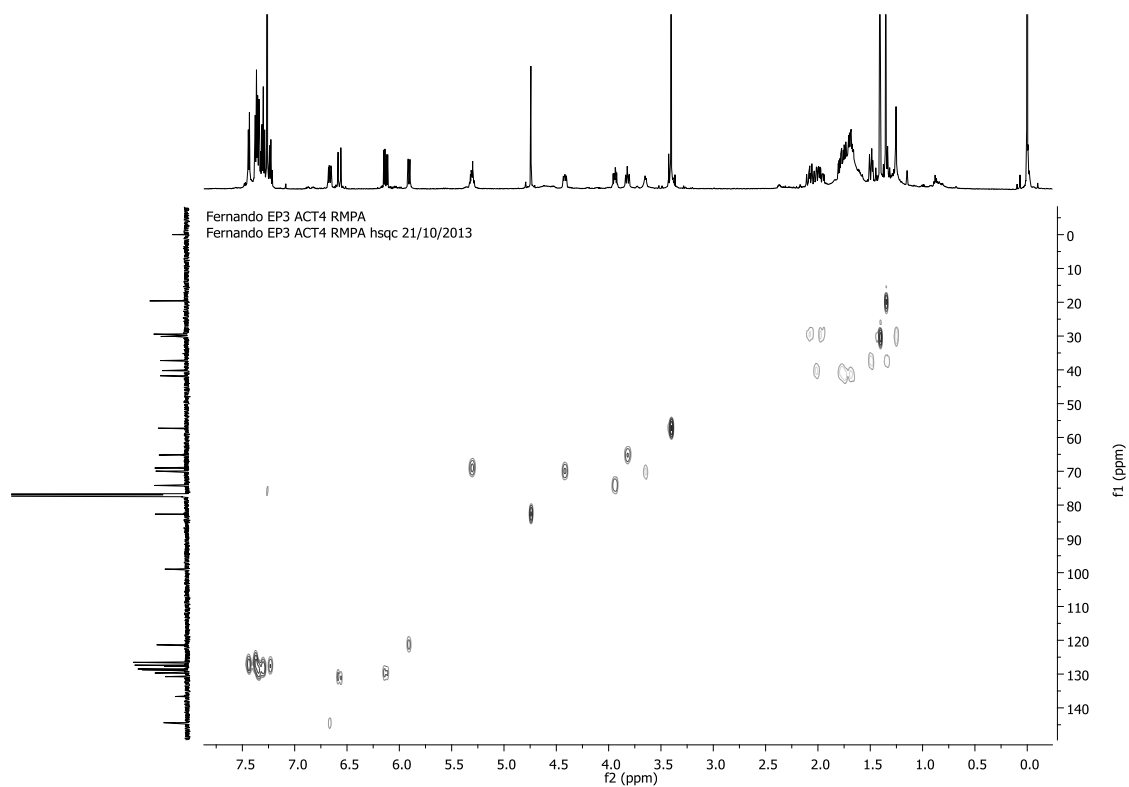


Anexo 78 - Espectro de ^{13}C obtido em 150 MHz e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoana E3 (5) após reação de formação do acetonídeo entre 4' e 6' e *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando EP3 ACT4 RMPA
Fernando EP3 ACT4 RMPA 13C 25/10/2013



Anexo 79 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação de formação do acetonídeo entre 4' e 6' e *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

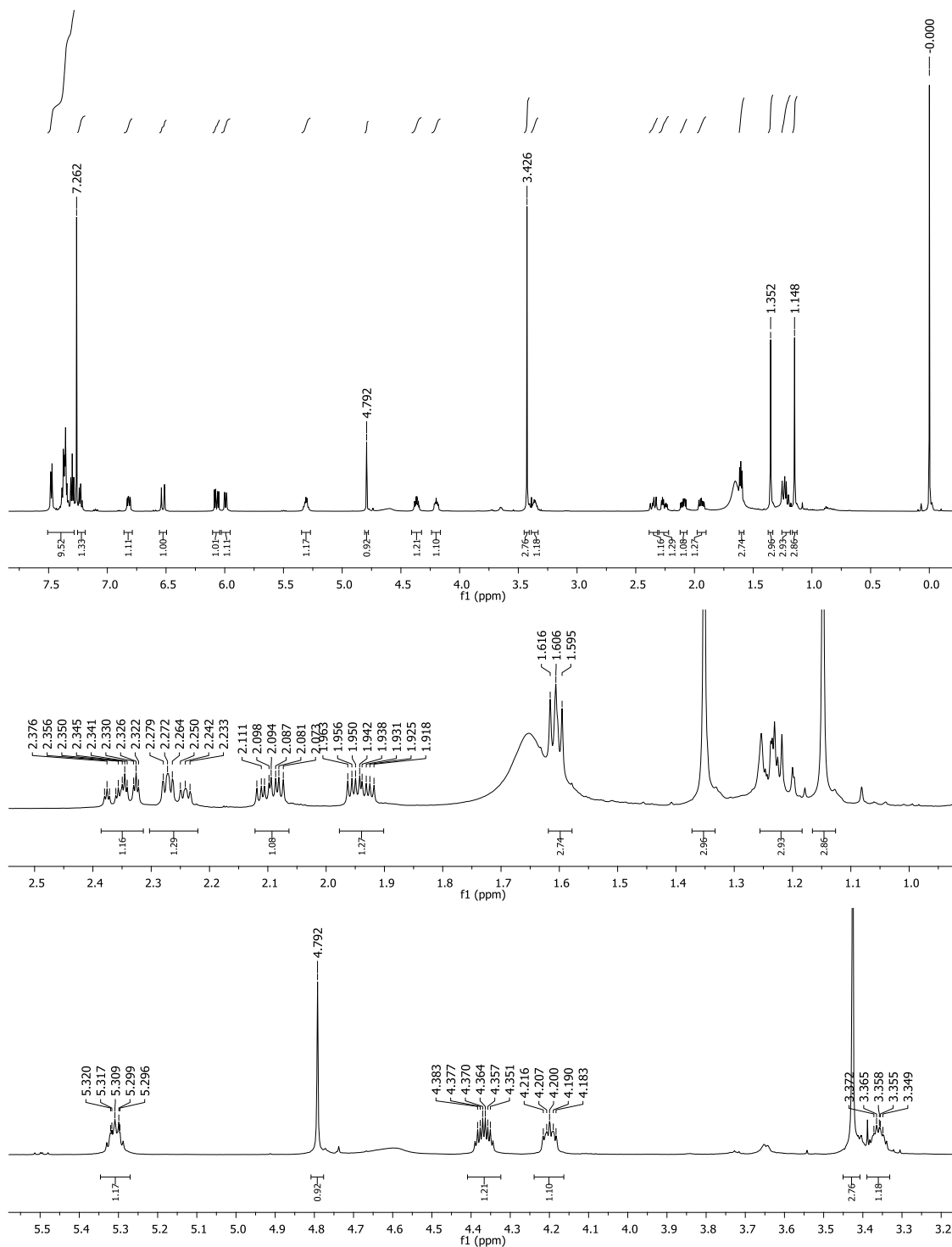


Anexo 80 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E3 (5) após formação do acetonídeo entre 4' e 6' e após esterificação com S-MPA.

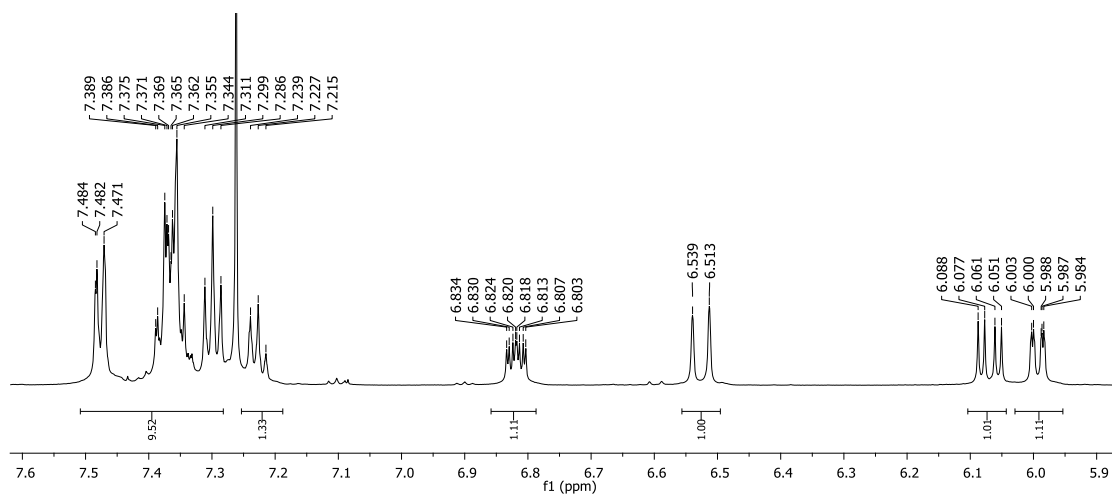
Criptomoscatoona E3 ACT entre 4' e 6' S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	163,8		-	-	
3	121,4	5,99	<i>ddd</i> (10,0; 2,4; 0,6)	2,35; 6,82	29,4; 163,8
4	144,6	6,68	<i>ddd</i> (10,0; 6,0; 2,4)	2,25; 5,99	29,4; 163,8
5	29,4	2,24 2,34	<i>dqd</i> (18,0; 6,0; 3,6; 0,6) <i>qt</i> (18,0; 12,0; 2,4)	4,37	39,9; 121,4; 144,6
6	74,5	4,37	<i>dddd</i> (4,2; 4,2; 8,0; 8,0)	1,94; 2,10; 2,24	39,9; 29,4; 68,6; 144,6
1'	39,9	1,94 2,10	<i>ddd</i> (15,0; 7,8; 4,2) <i>ddd</i> (15,0; 7,8; 4,8)	5,31; 4,37	41,5; 6,08
2'	68,6	5,31	<i>dddd</i> (3,6; 3,6; 8,4; 8,4)	1,61; 1,94	41,5; 39,9; 64,8; 170,0
3'	41,5	1,61	<i>tl</i> (6,0)	5,31; 3,36	37,1; 39,9
4'	64,8	3,36	<i>ddt</i> (2,4; 9,0; 11,6)	1,23; 1,61	37,1; 30,0; 41,5; 68,6
5'	37,1	1,22; 1,24	<i>m</i> <i>m</i>	4,20; 3,36	41,5; 129,7
6'	69,8	4,2	<i>ddd</i> (12,6; 6,6; 0,6)	6,07; 1,21	37,1; 30,0; 129,7; 130,6
7'	129,7	6,08	<i>dd</i> (15,6; 6,6)	4,20; 6,82	37,1; 136,6
8'	130,6	6,53	<i>d</i> (15,6)	6,08	69,8; 126,5; 136,6
Metila	19,5	1,15	<i>s</i>		30,0; 98,9
Metila	30,0	1,35	<i>s</i>		37,1; 19,5; 98,9
Cetal	98,9		-		
1''	136,6		-		
2'' e 6''	126,5	7,36	<i>dl</i> (7,2)		127,7; 130,6
4''	127,7	7,23	<i>tl</i> (7,2)		
3'' e 5''	128,5	7,30	<i>tl</i> (7,2)		136,6
	170,0				
	57,4	3,43	<i>s</i>		82,5
	82,5	4,79	<i>s</i>		57,4; 127,1; 170,0; 136,5
	127,1	7,47	<i>dl</i> (7,2)		82,5; 128,8
	128,7	7,37	<i>tl</i> (7,2)		
	128,8	7,36	<i>tl</i> (7,2)		127,1; 136,5
	136,5		-		

Anexo 81 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação de formação do acetonídeo entre 4' e 6' e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

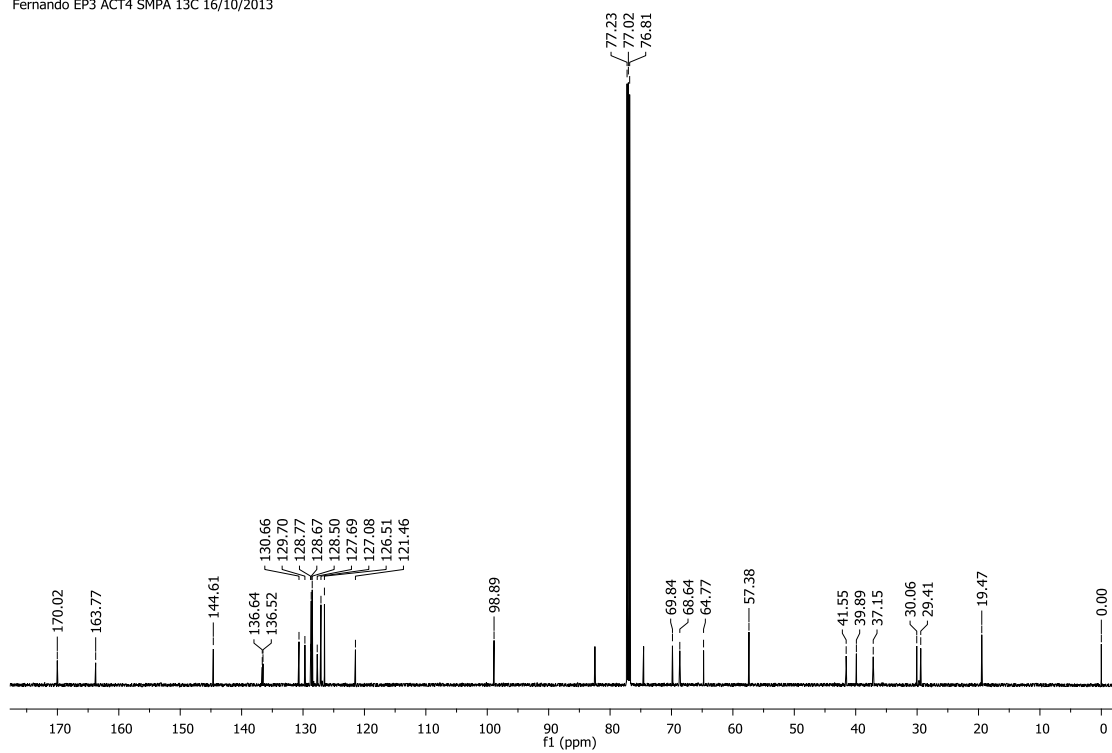
Fernado EP3 ACT4 SMPA
Fernando EP3 ACT4 SMPA 1H 14/10/2013



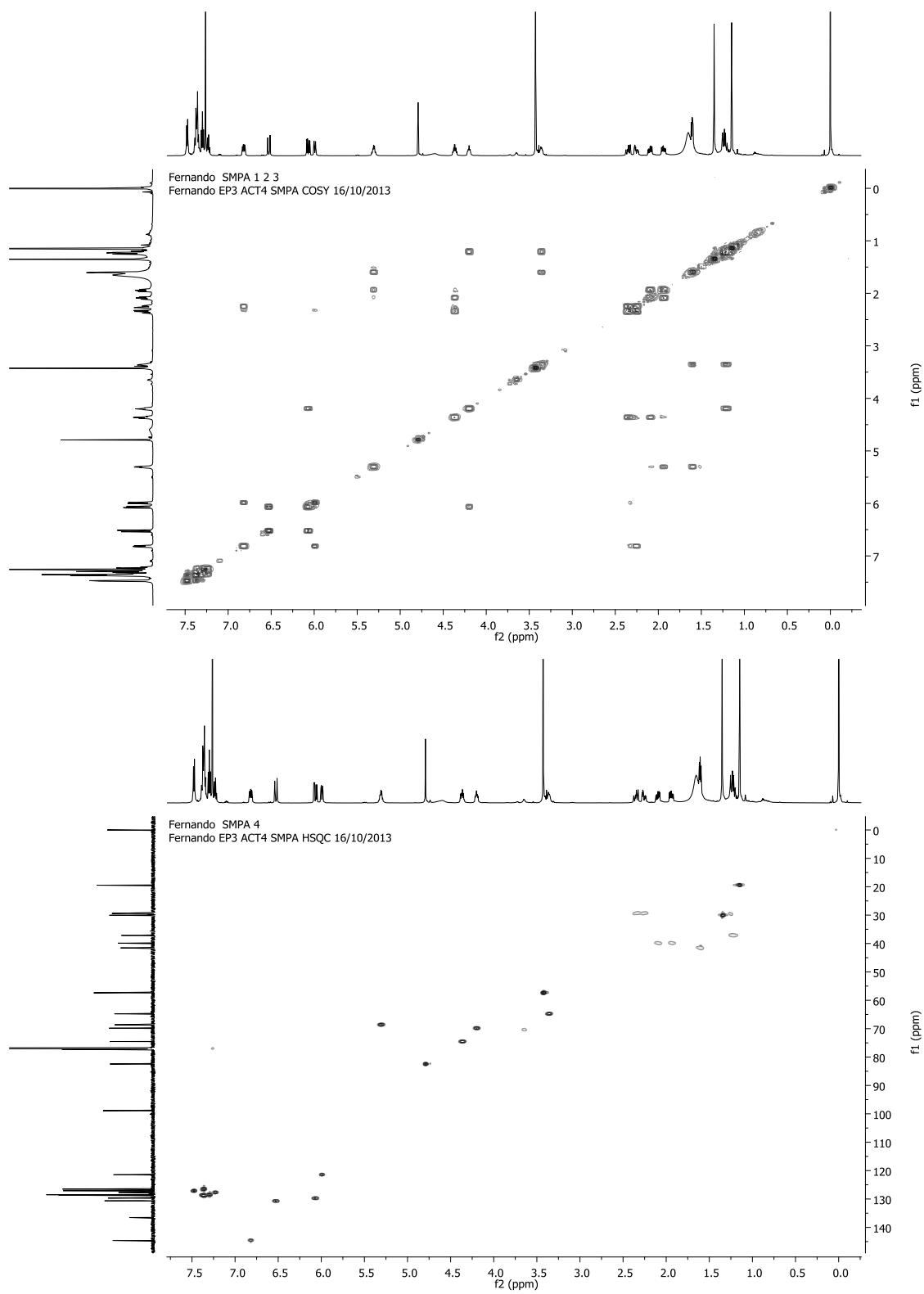
Anexo 82 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação com acetonideo entre 4' e 6' e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 e 150 MHz, respectivamente.



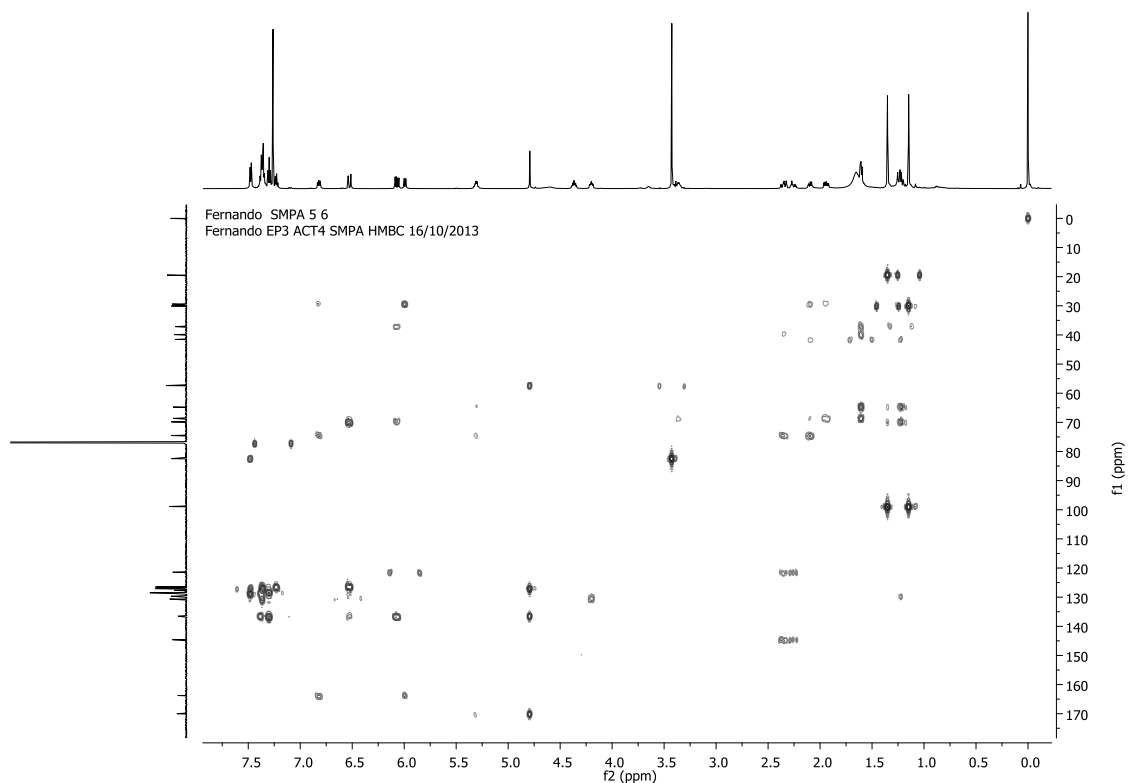
Fernando SMPA 5 6
Fernando EP3 ACT4 SMPA 13C 16/10/2013



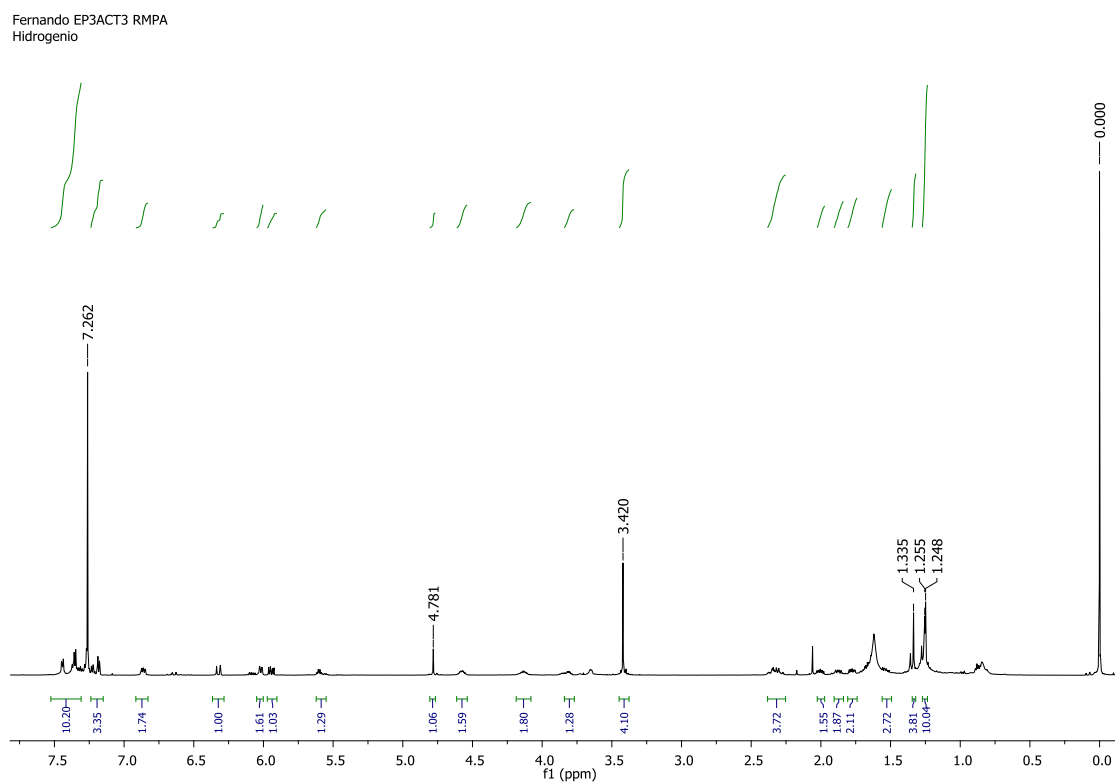
Anexo 83 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoana E3 (5) após reação de formação do acetoneo entre 4' e 6' e *S*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.



Anexo 84 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação de formação do acetônio entre 4' e 6' e *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



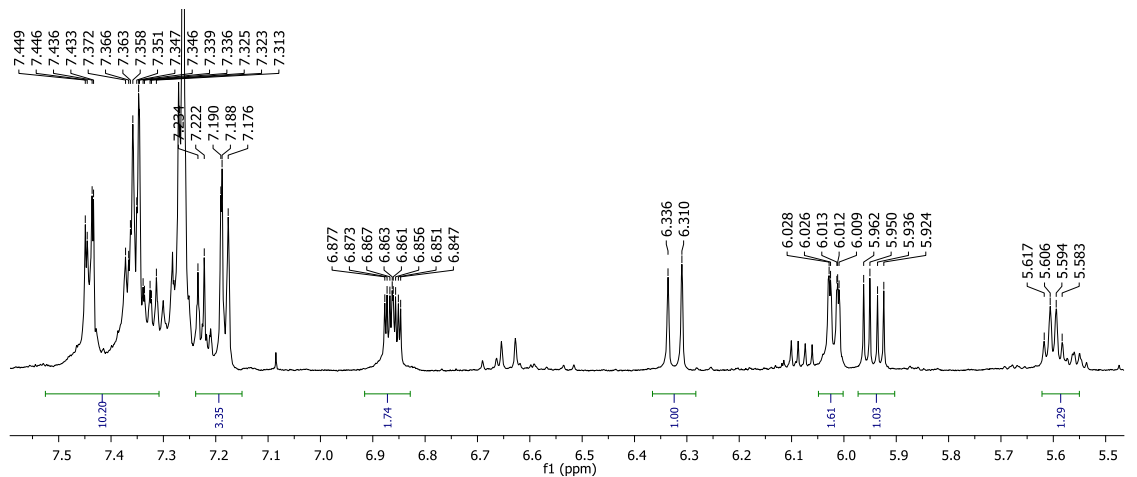
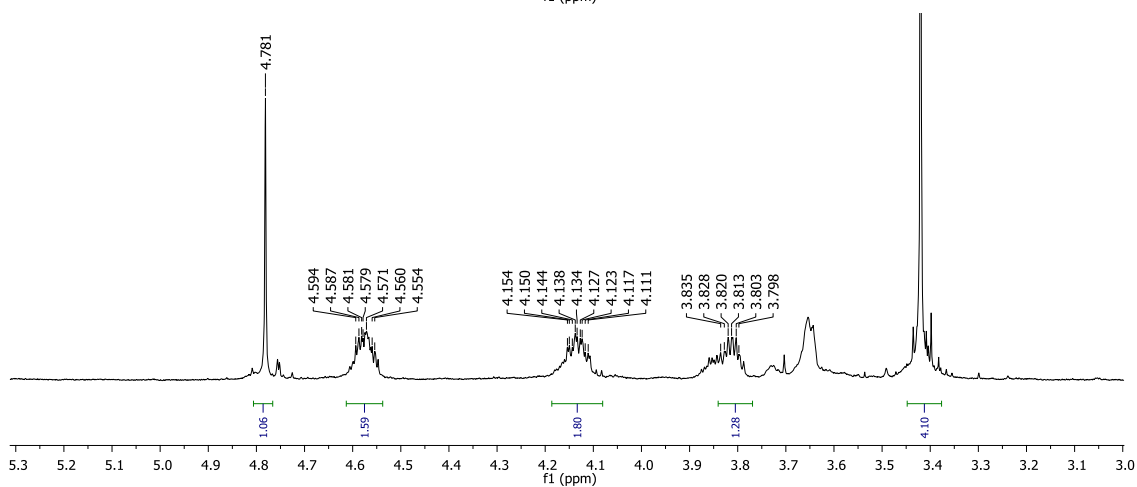
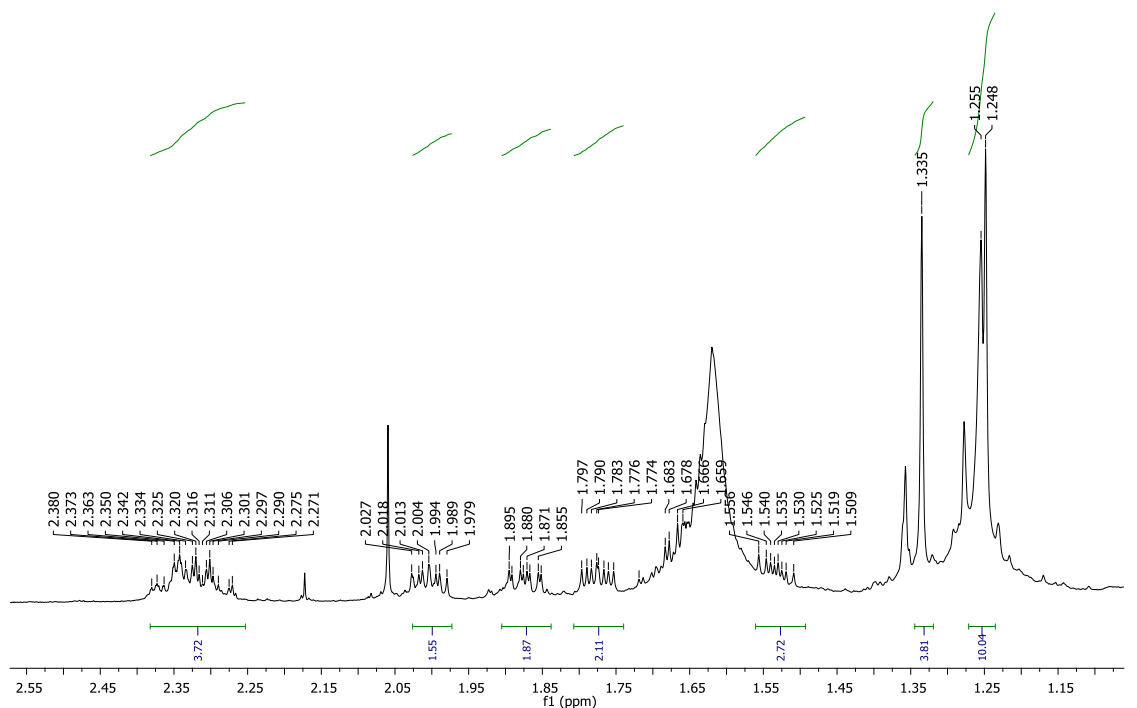
Anexo 85 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação com acetônio entre 2' e 4' e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.



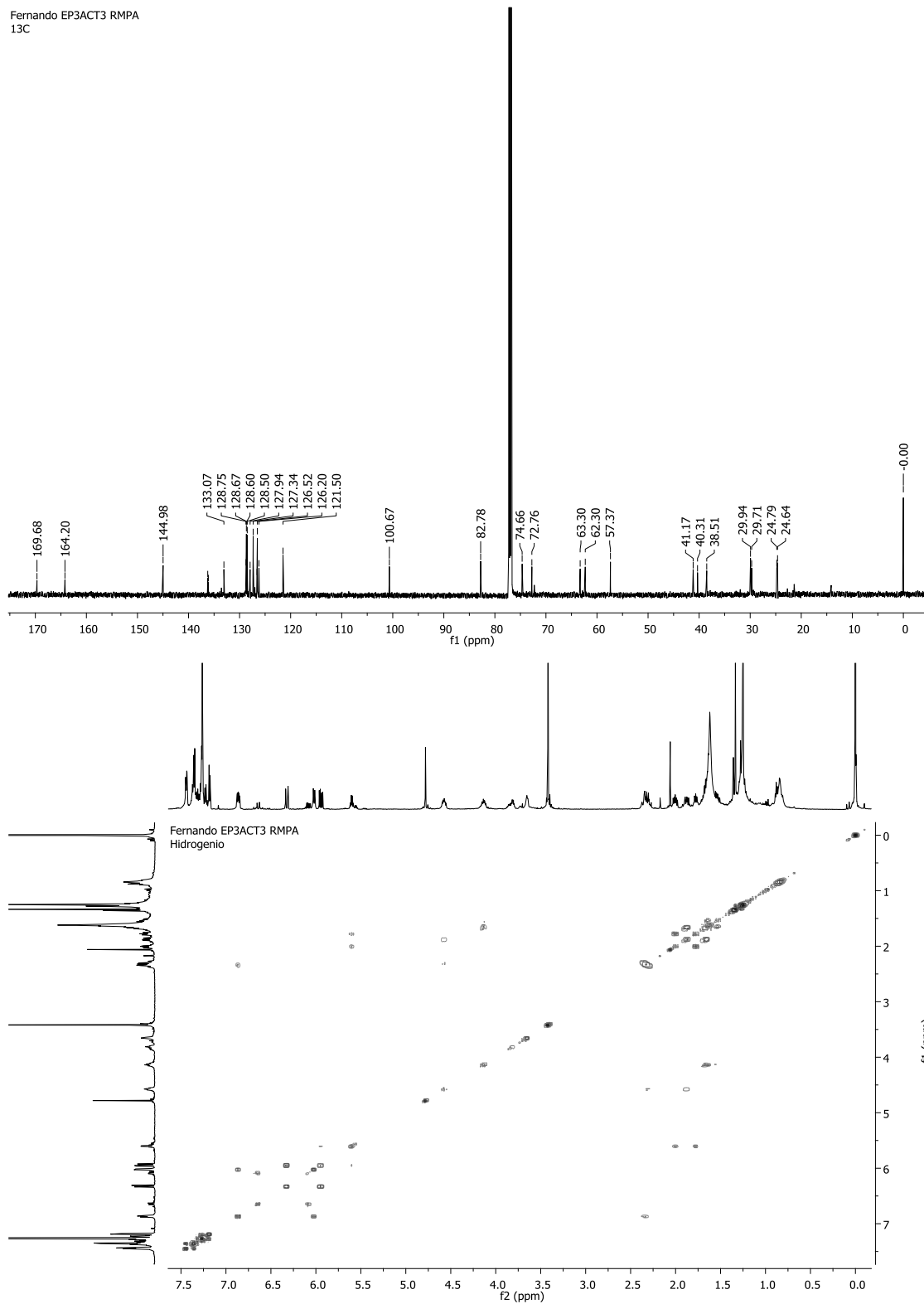
Anexo 86 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E3 (5) após formação do acetonídeo entre 2'e 4' e após esterificação com R-MPA.

Criptomoscatoona E3 ACT 2'e4' R-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	164,2		-		
3	121,5	6,02	<i>ddd</i> (10,2; 2,4; 1,2)	6,86; 2,33	29,9; 164,2
4	145,0	6,86	<i>ddd</i> (10,2; 6,0; 2,4)	6,02; 2,33	74,7; 164,2
5	29,9	2,35 2,29	<i>m</i> <i>qt</i> (18,0; 12,0; 2,4)	6,86; 6,02; 4,57	121,5; 145,0
6	74,7	4,57	<i>dddd</i> (3,6; 3,6; 8,4; 8,4)	1,67; 1,87; 2,32	
1'	41,2	1,67 1,87	<i>ddd</i> (14,4; 8,4; 3,0) <i>ddd</i> (14,4; 9,0; 2,4)	4,57; 1,66	74,7
2'	62,3	4,13	<i>dddd</i> (2,4; 6,0; 9,0; 9,6)	1,53; 1,64	
3'	38,5	1,53 1,64	<i>ddd</i> (12,6; 9,6; 6,0) <i>ddd</i> (12,6; 9,00; 6,0)	4,13; 3,81;	41,2; 40,3; 62,3
4'	63,3	3,81	<i>dddd</i> (10,0; 10,0; 5,0; 4,2)	1,54; 1,64; 1,77; 2,01	
5'	40,3	1,78 2,01	<i>ddd</i> (14,4; 8,4; 4,2) <i>ddd</i> (14,4; 8,4; 6,0)	3,81; 5,61;	72,8; 63,3; 38,5; 126,2
6'	72,8	5,61	<i>ddd</i> (6,6; 6,6; 6,6)	5,94; 1,78; 2,01	40,3; 169,7; 133,1; 126,5
7'	126,2	5,94	<i>dd</i> (15,6; 7,2)	6,32; 5,61	72,8; 136,2
8'	133,1	6,32	<i>d</i> (15,6)	5,94	72,8; 136,2
Metila	24,6	1,33	<i>s</i>		24,8; 100,7
Metila	24,8	1,25	<i>s</i>		24,6; 100,7
Cetal	100,7	-	-		
1''	136,2		-		
2'' e 6''	126,5	7,18	<i>dl</i> (7,8)		133,1; 127,3
4''	127,9	7,23	<i>tl</i> (7,8)		126,5
3'' e 5''	128,5	7,26	<i>tl</i> (7,8)		136,1
	169,68				
	57,37	3,42	<i>s</i>		82,8
	82,8	4,78	<i>s</i>		57,4
	127,3	7,44	<i>dl</i> (7,8)		82,8; 128,6
	128,6	7,36	<i>tl</i> (7,8)	7,44	
	126,6	7,35	<i>tl</i> (7,8)		
	136,1		-		

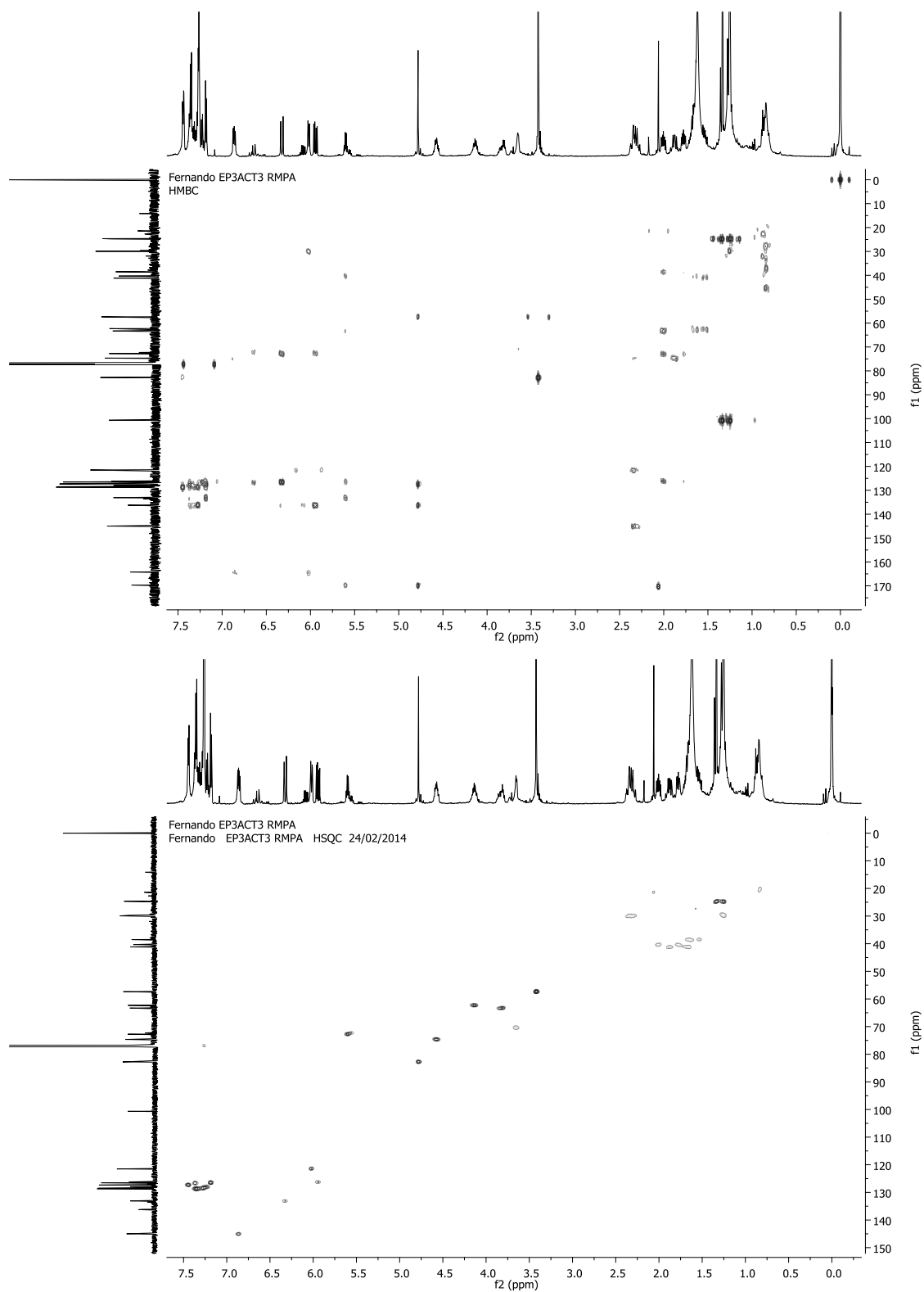
Anexo 87 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação com acetoneo entre 2' e 4' e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.



Anexo 88 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 150 MHz e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação com acetonídeo entre 2' e 4' e com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



Anexo 89 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação de formação do acetonídeo entre 2' e 4' e *R*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.

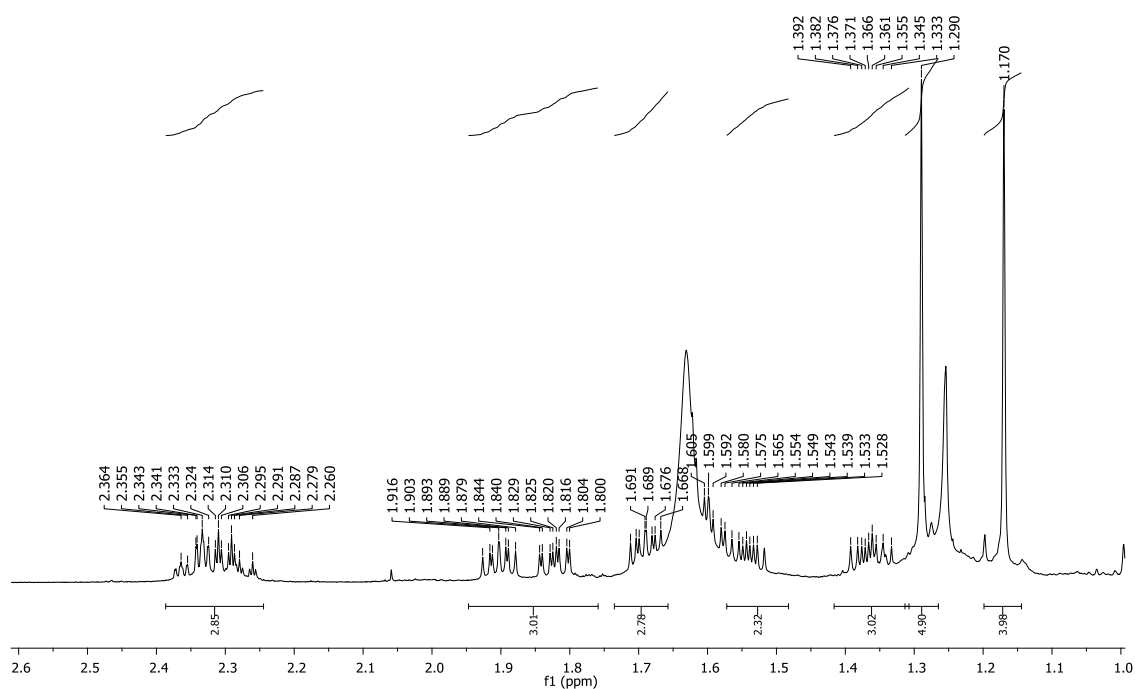
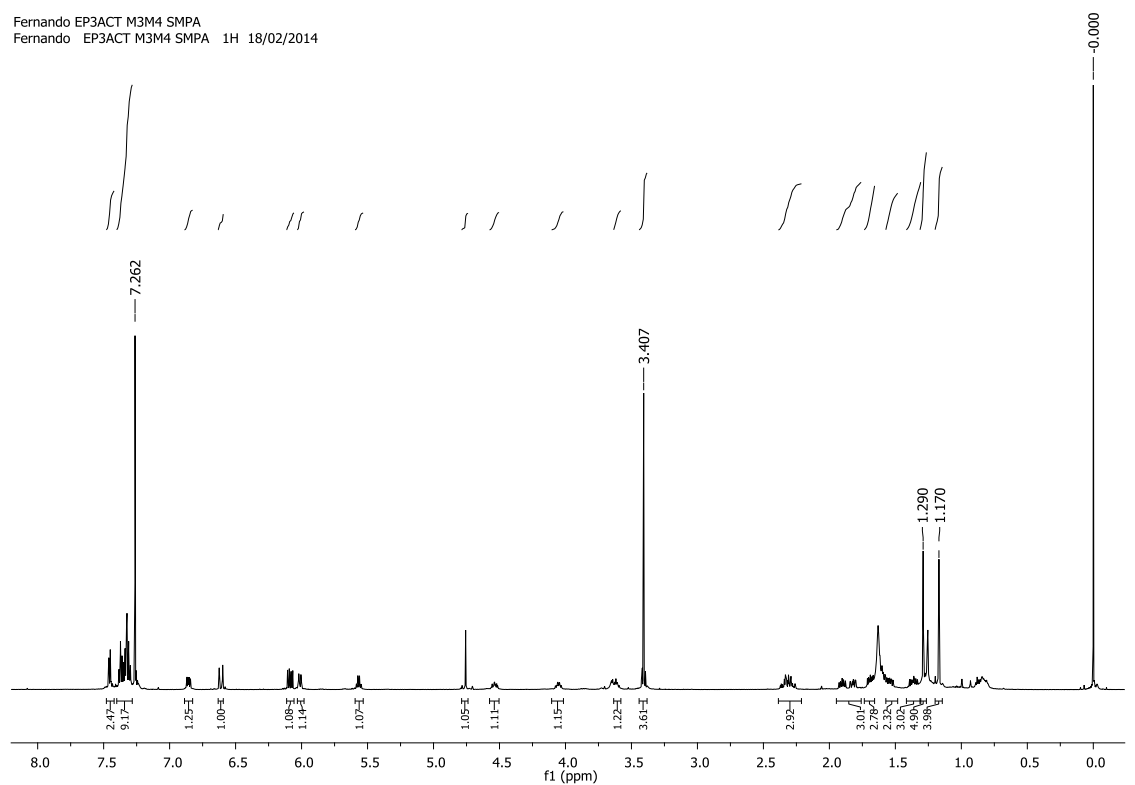


Anexo 90 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E3 (5) após formação do acetonídeo entre 2'e 4' e após esterificação com S-MPA.

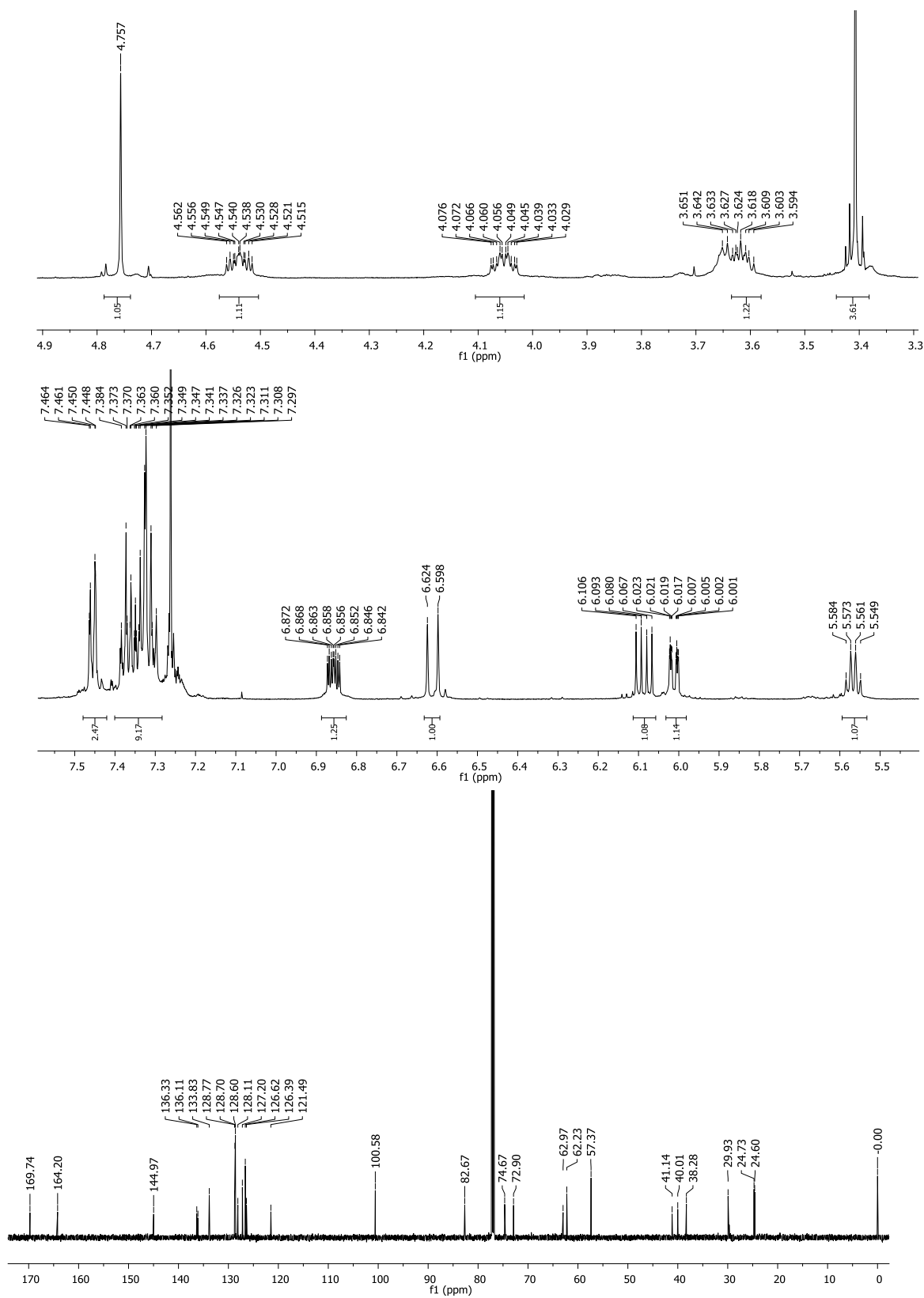
Criptomoscatoona E3 ACT 2'e 4' S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	164,2	-	-	-	
3	121,5	6,01	<i>ddd</i> (9,6; 2,4; 1,2)		29,9; 164,7
4	145,0	6,86	<i>ddd</i> (9,6; 5,4; 2,4)	2,33; 6,01	164,2
5	29,9	2,33 2,29	<i>dddd</i> (18,6; 6,0; 4,2; 0,6) <i>qt</i> (18,0; 11,4; 2,4)	4,54; 6,86	74,7; 121,5; 145,1
6	74,7	4,54	<i>dddd</i> (3,0; 4,5; 7,8; 11,4)	1,82; 2,32	
1'	41,1	1,82 1,57	<i>ddd</i> (14,4; 9,0; 2,4) <i>ddd</i> (14,4; 7,8; 3,6)	4,54	74,7
2'	62,2	4,05	<i>dddd</i> (2,4; 6,0; 9,0; 9,6)	1,36; 1,54	82,7
3'	38,3	1,36 1,54	<i>ddd</i> (12,6; 9,6; 6,0) <i>ddd</i> (12,6; 9,0; 6,0)	4,05	62,0; 40,0; 41,1
4'	63,0	3,62	<i>dddd</i> (10,0; 10,0; 5,0; 4,2)	1,90; 1,69	
5'	40,0	1,90 1,69	<i>ddd</i> (13,8; 8,4; 6,0) <i>ddd</i> (13,8; 7,8; 4,8)	3,62	72,9; 38,3; 63,0; 126,6
6'	72,9	5,56	<i>ddd</i> (6,0; 6,0; 6,0)	1,69; 1,90	40,0; 169,7; 133,8; 126,4; 169,7
7'	126,4	6,08	<i>dd</i> (15,6; 7,8)	5,56	72,9; 136,1; 126,6
8'	133,8	6,61	<i>d</i> (15,6)	6,08	72,9
Metila	24,6	1,29	<i>s</i>		100,58; 24,73
Metila	24,7	1,17	<i>s</i>		100,58; 24,73
Cetal	100,6	-	-	-	
1''	136,1	-	-	-	
2'' e 6''	126,6	7,33	<i>dl</i> (8,0)		133,8
4''	128,1	7,26	<i>tl</i> (8,0)		126,63
3'' e 5''	128,6	7,32	<i>tl</i> (8,0)		
	169,7	-	-	-	
	57,4	3,41	<i>s</i>		
	82,7	4,76	<i>s</i>		57,4; 127,2; 169,7; 136,3
	127,2	7,46	<i>dl</i> (8,0)		82,7; 128,8
	128,7	7,31	<i>tl</i> (8,0)		128,8; 136,3
	128,8	7,36	<i>tl</i> (8,0)		128,7; 136,3
	136,3	-	-	-	

Anexo 91 - Espectro de RMN de ^1H e ampliações da substância criptomoscatoana E3 (5) após reação com acetoneo entre 2' e 4' e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

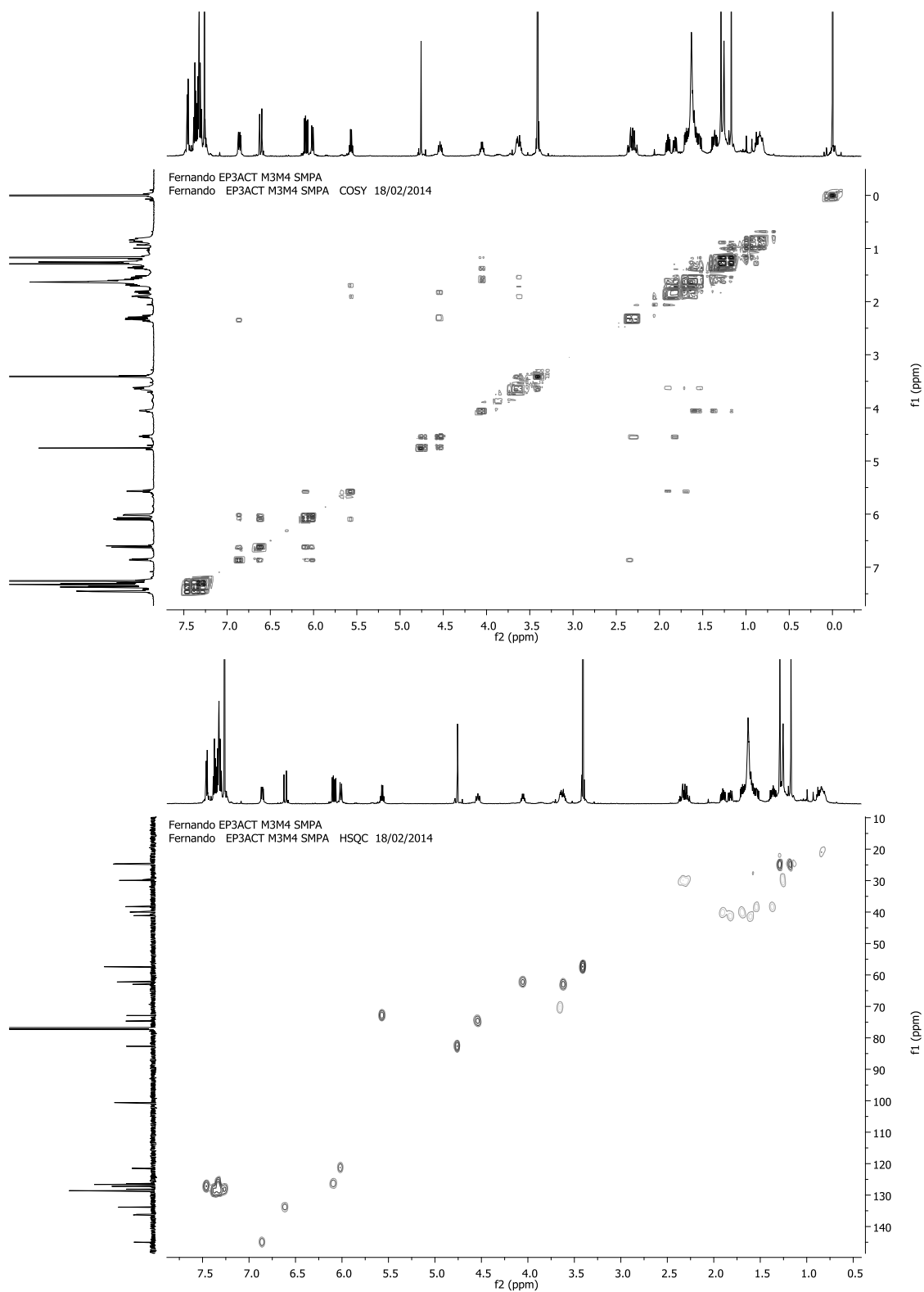
Fernando EP3ACT M3M4 SMPA
Fernando EP3ACT M3M4 SMPA 1H 18/02/2014



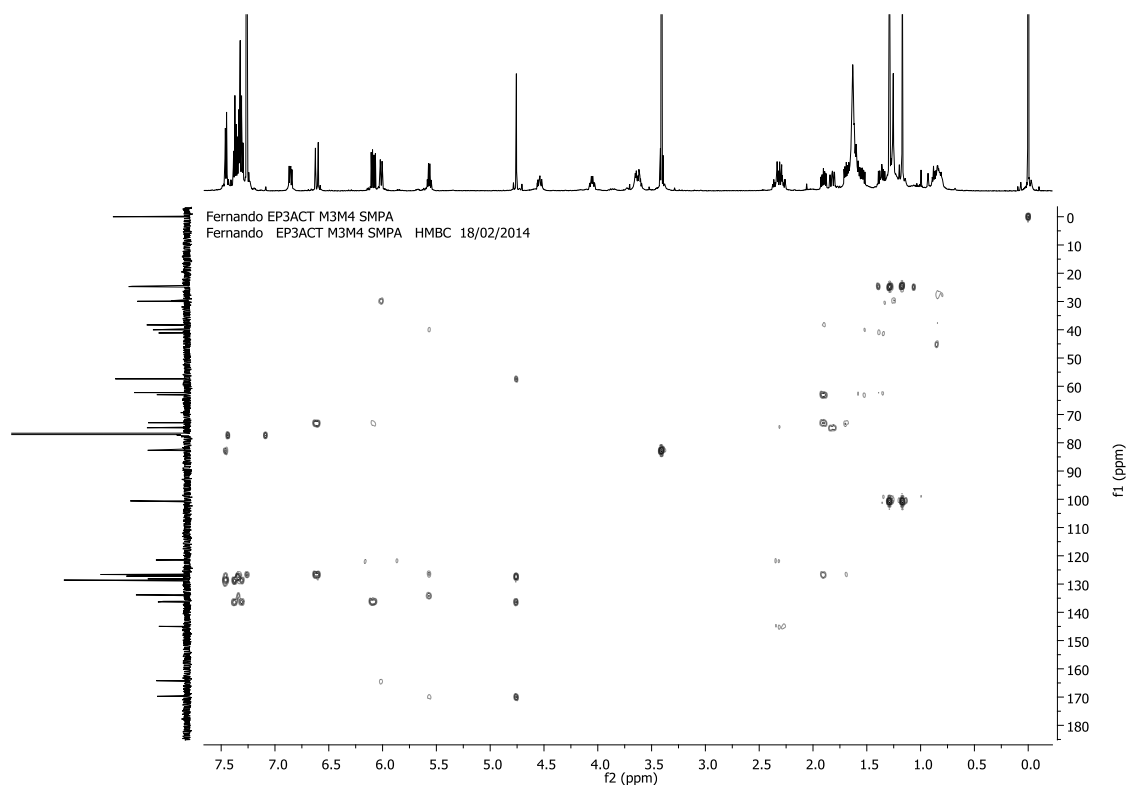
Anexo 92 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância criptomoscatoa E3 (5) após reação com acetonídeo entre 2' e 4' e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 e 150 MHz, respectivamente.



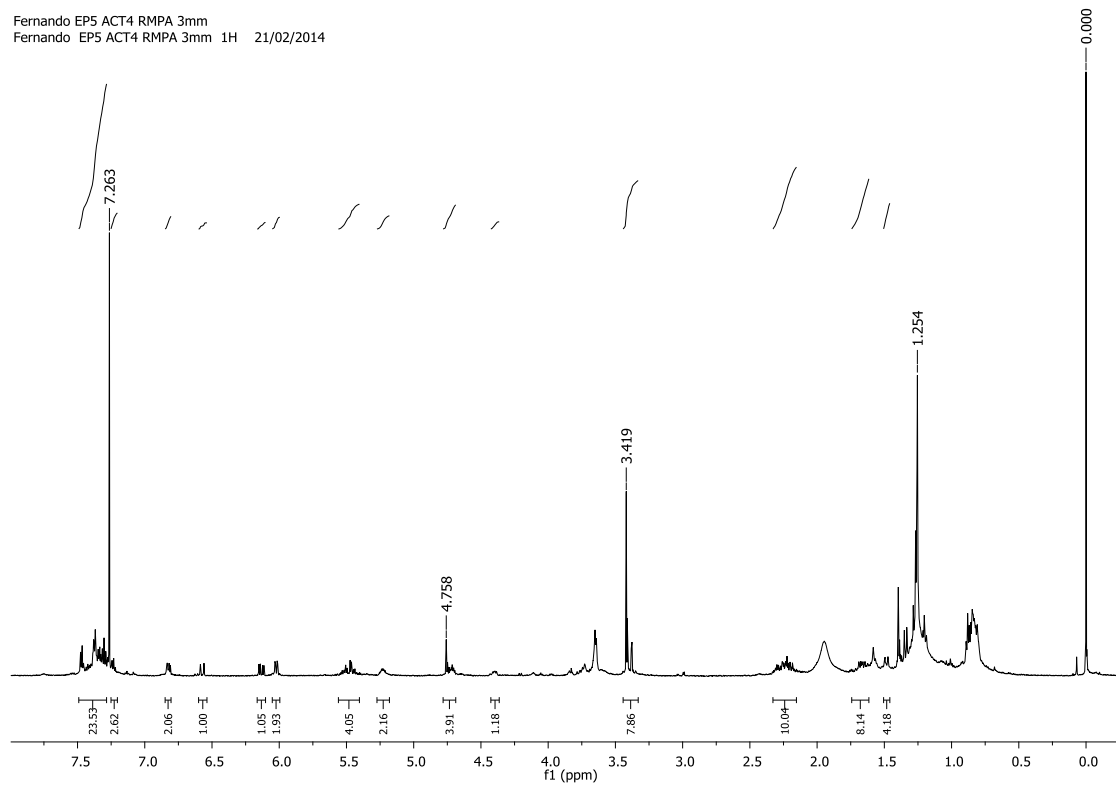
Anexo 93 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoana E3 (5) após reação de formação do acetoneo entre 2' e 4' e *S*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.



Anexo 94 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoana E3 (5) após reação de formação do acetonídeo entre 2' e 4' e com *S*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.



Anexo 95 - Espectro de RMN de ¹H da substância criptomoscatoana F1 (6) (6) após reação com acetonídeo entre 6' e 8' e com *R*-MPA em CDCl₃ (14,1 T), respectivamente.

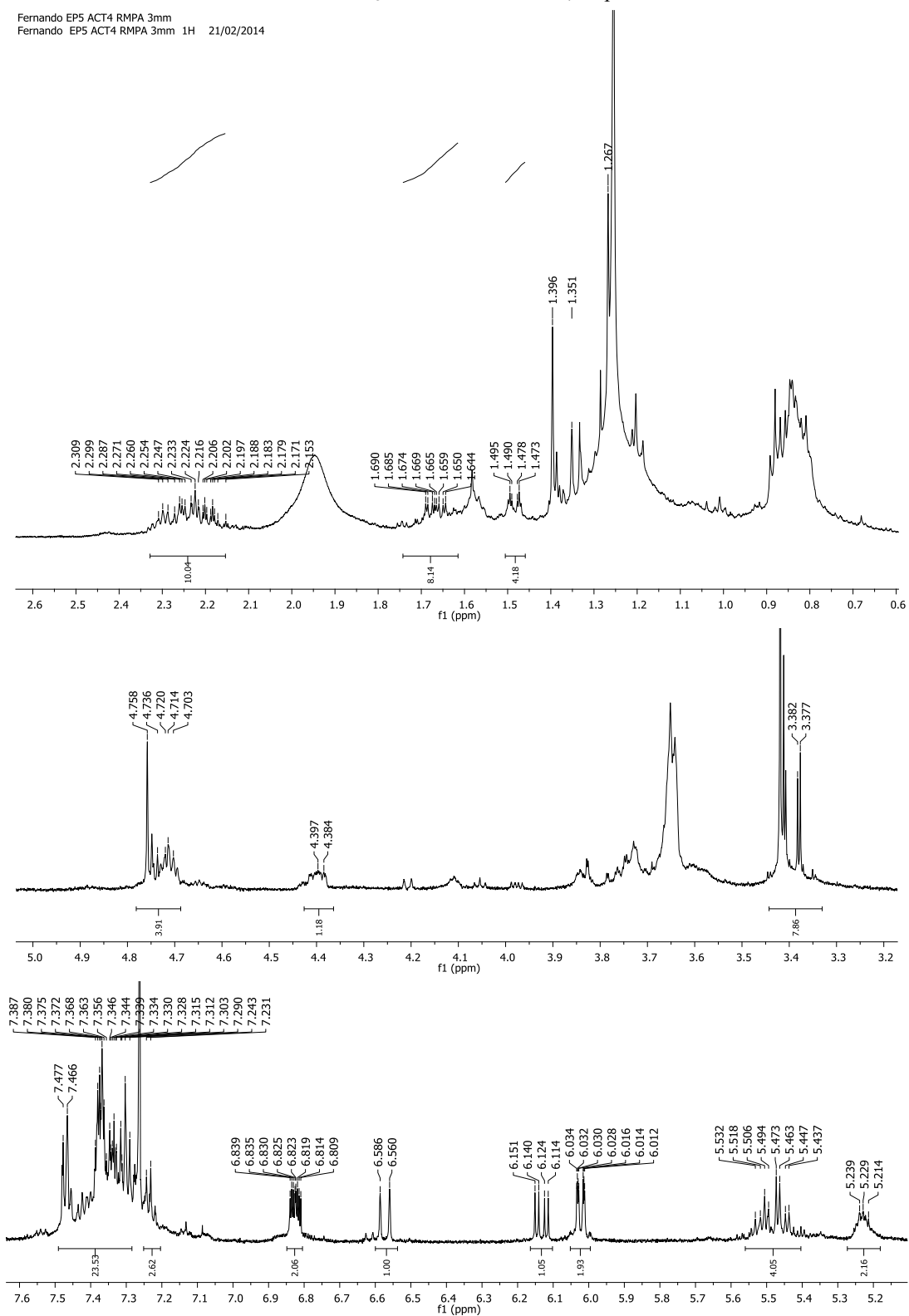


Anexo 96 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoana F1 (6) após formação do acetonídeo entre 6'e 8' e após esterificação com R-MPA.

Criptomoscatoana F1 ACT 6'e 8' R-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	163,9		-		
3	121,6	6,02	<i>ddd</i> (9,6; 2,4; 1,2)	6,83	
4	144,5	6,83	<i>ddd</i> (9,6; 5,4; 2,4)	6,02	
5	29,4	2,25 2,16	<i>m</i> <i>qt</i> (18,0; 11,4; 2,4)		
6	77,5	4,71	<i>ddd</i> (10,5; 5,4; 5,4)	2,20; 5,46	
1'	130,2	5,46	<i>dd</i> (15,6, 6,0)	4,71	
2'	129,2	5,51	<i>dtt</i> (15,6; 7,0)		
3'	37,4	2,25 2,31	<i>m</i> <i>m</i>	4,71	129,7
4'	70,6	5,23	<i>m</i>	1,69	
5'	40,7	1,66 1,70	<i>ddd</i> (14,0; 9,0; 3,6) <i>m</i>		
6'	65,0	3,73	<i>m</i>	1,69	
7'	37,3	1,48; 1,34	<i>dt</i> (13,2; 3,0) <i>m</i>		30,1
8'	70,0	4,4	<i>ddd</i> (12,6; 6,0; 1,5)	1,34; 6,13	
9'	129,7	6,13	<i>dd</i> (15,6; 6,6)	4,40; 6,57	136,6
10'	130,8	6,57	<i>d</i> (15,6)	6,13	126,5
Metila	19,5	1,27	<i>s</i>		30,1; 98,9
Metila	30,1	1,4	<i>s</i>		19,5; 98,9
Cetal	98,9	-	-	-	
1''	136,6		-		
2'' e 6''	126,5	7,38	<i>dl</i> (7,8)		127,2; 136,6
4''	127,7	7,24	<i>tl</i> (7,8)		126,5
3'' e 5''	128,5	7,31	<i>tl</i> (7,8)		
	170,1				
	57,3	3,42	<i>s</i>		82,8
	82,8	4,76	<i>s</i>		127,2; 136,4; 170,1
	127,2	7,47	<i>dl</i> (7,8)	7,38	82,8; 127,5; 128,7
	128,8	7,34	<i>tl</i> (7,8)		
	128,7	7,36	<i>tl</i> (7,8)		
	136,4		-		

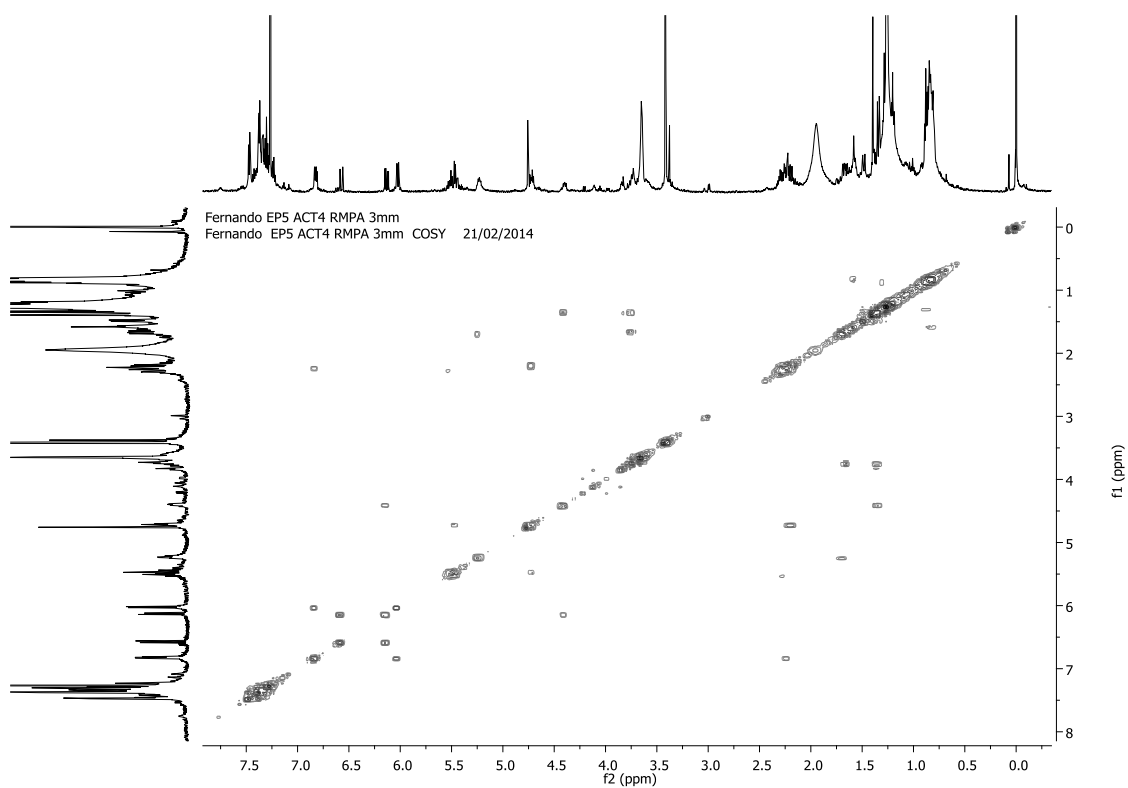
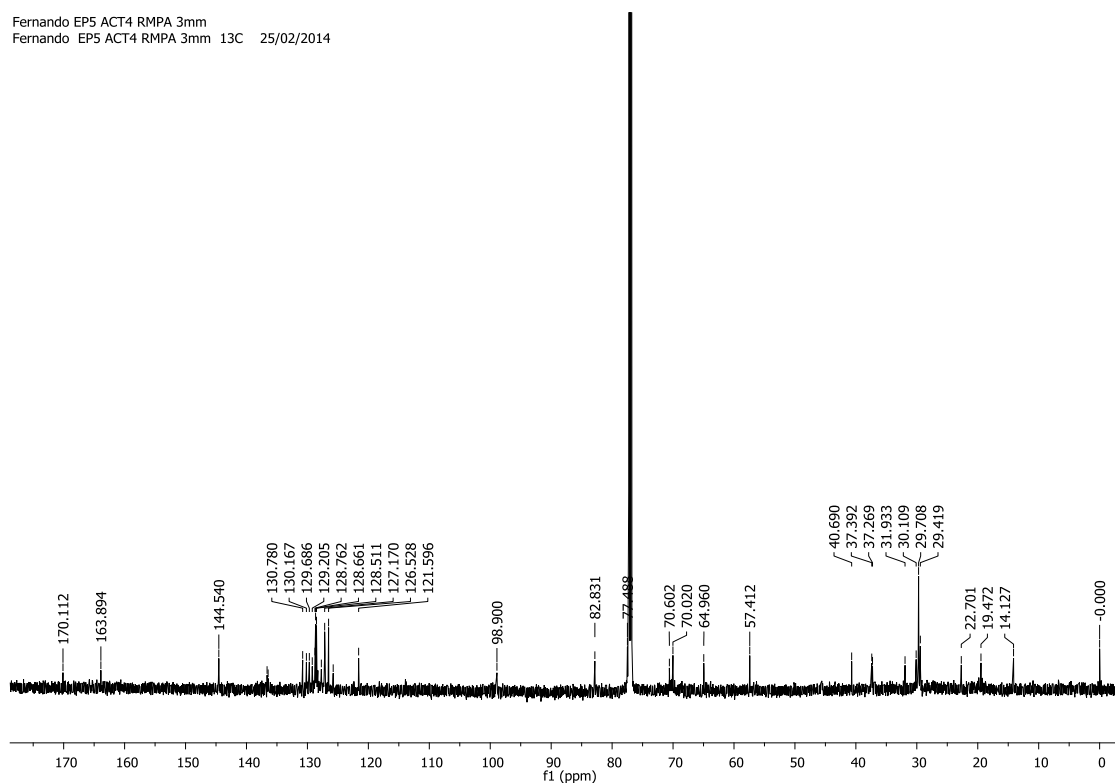
Anexo 97 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetoneído entre 6' e 8' e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

Fernando EPS ACT4 RMPA 3mm
Fernando EPS ACT4 RMPA 3mm 1H 21/02/2014



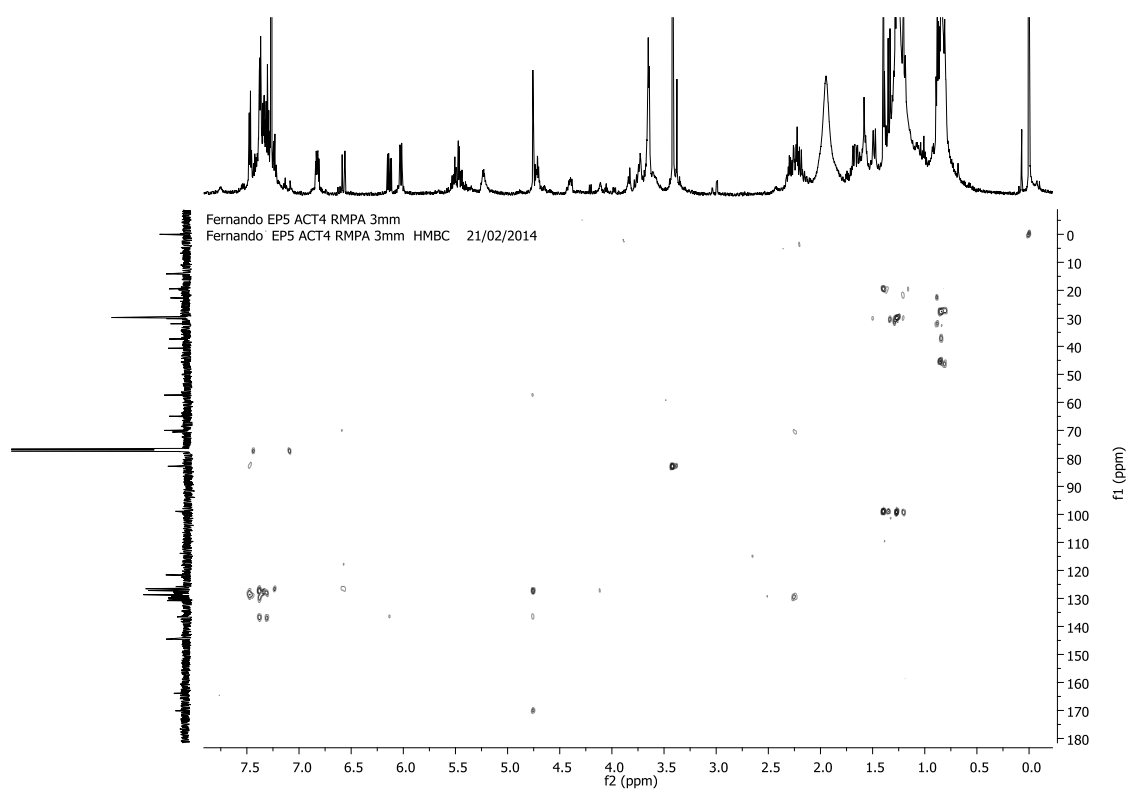
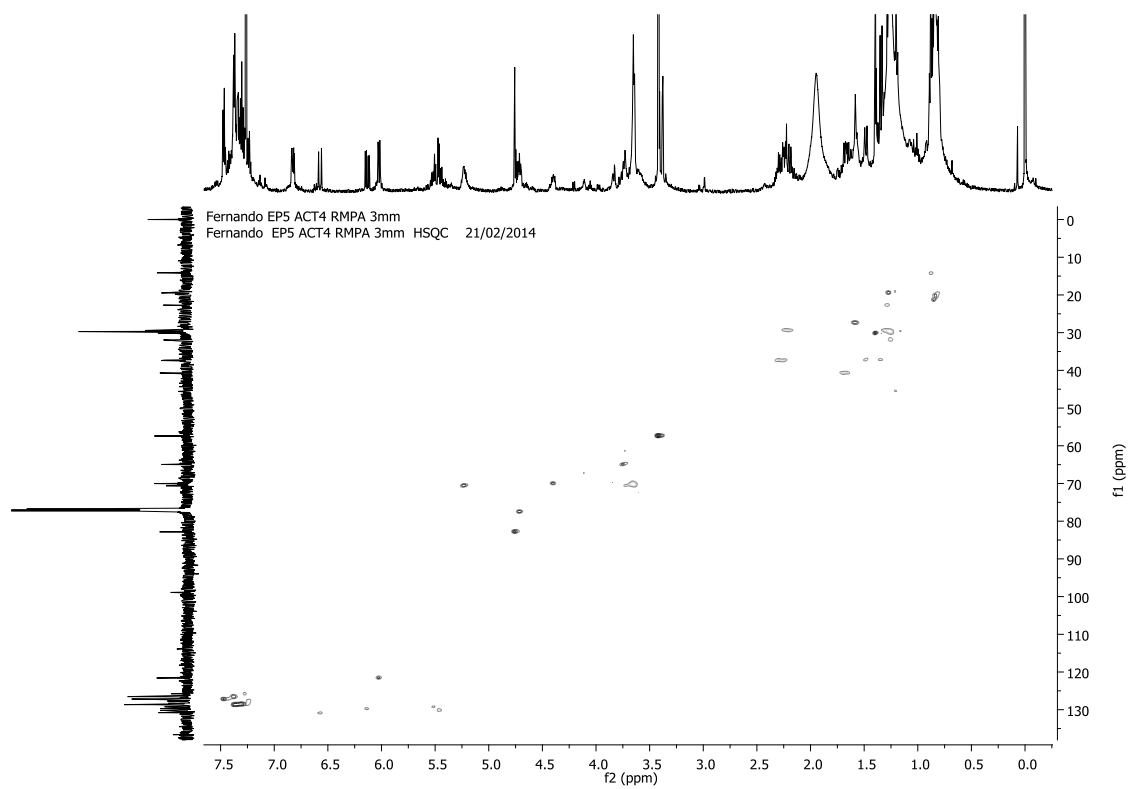
Anexo 98 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 150 MHz e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetonídeo entre 6' e 8' e com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando EP5 ACT4 RMPA 3mm
Fernando EP5 ACT4 RMPA 3mm ^{13}C 25/02/2014



Fernando EP5 ACT4 RMPA 3mm
Fernando EP5 ACT4 RMPA 3mm COSY 21/02/2014

Anexo 99 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa F1 (6) (6) após reação de formação do acetonídeo entre 6' e 8' e com *R*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.

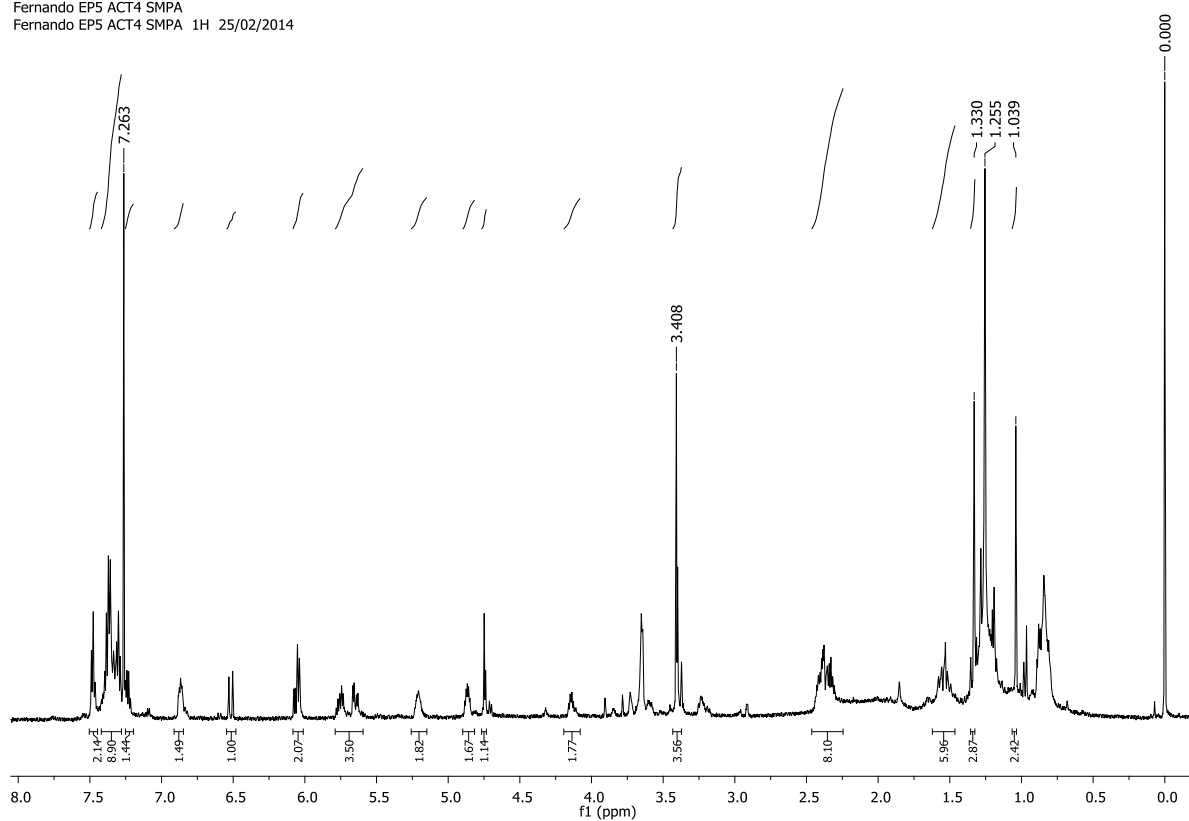


Anexo 100 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoa F1 (6) após formação do acetonídeo entre 6' e 8' e após esterificação com *S*-MPA.

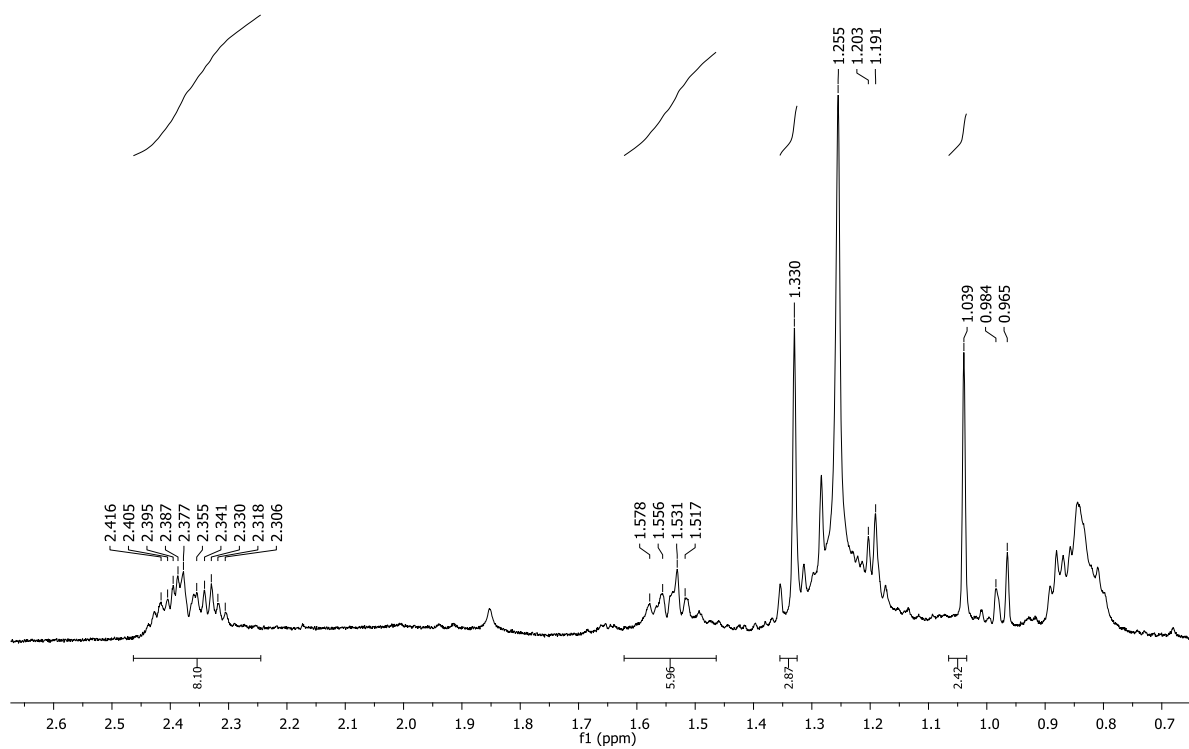
Criptomoscatoa F1 ACT 6'e 8' S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	163,9		-		
3	121,6	6,05	<i>ddd</i> (9,6; 2,4; 1,2)	6,86	29,5; 163,9
4	144,6	6,86	<i>ddd</i> (9,6; 5,4; 2,4)	6,05; 2,38	
5	29,5	2,38	<i>m</i>	6,86; 4,86	
		2,38	<i>m</i>)		
6	77,6	4,86	<i>ddd</i> (10,5; 5,4; 5,4)		
1'	130,3	5,64	<i>dd</i> (15,6, 5,4)	4,86	129,7
2'	129,3	5,75	<i>dtt</i> (15,6; 6,0)	2,32; 2,40	77,6
3'	37,7	2,32	<i>m</i>	5,75	129,3; 129,3
		2,40	<i>m</i>		
4'	70,3	5,21	<i>m</i>	1,53; 2,32; 2,40	
5'	40,9	1,51	<i>ddd</i> (14,0; 9,0; 3,6)	5,21; 3,24	
		1,54	<i>m</i>		
6'	64,6	3,24	<i>m</i>	1,19; 1,54	
7'	37,2	1,19	<i>m</i>		64,6; 69,8
8'	69,9	4,14	<i>ddd</i> (12,6; 6,0; 1,5)	6,07; 1,19	
9'	129,7	6,07	<i>dd</i> (15,6; 6,0)	6,52; 4,14	136,6
10'	130,6	6,52	<i>d</i> (15,6)	6,07	69,9; 126,5
Metila	19,3	1,04	<i>s</i>		30,0; 98,8
Metila	30,0	1,33	<i>s</i>		19,3; 98,8
Cetal	98,3		-		
1''	136,6		-		
2'' e 6''	126,51	7,37	<i>dl</i> (8,0)		127,34
4''	127,70	7,23	<i>tl</i> (8,0)		
3'' e 5''	128,50	7,3	<i>tl</i> (8,0)		136,6
	170,0				
	57,2	3,4	<i>s</i>		82,4
	82,4	4,75	<i>s</i>		57,2; 127,4; 136,6; 170,0
	127,2	7,48	<i>dl</i> (8,0)		82,4; 128,5
	128,7	7,33	<i>tl</i> (8,0)		
	128,7	7,38	<i>tl</i> (8,0)		136,6
	136,6		-		

Anexo 101 - Espectro de RMN de ^1H e ampliação da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetoneo entre 6' e 8' e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

Fernando EP5 ACT4 SMPA
Fernando EP5 ACT4 SMPA 1H 25/02/2014

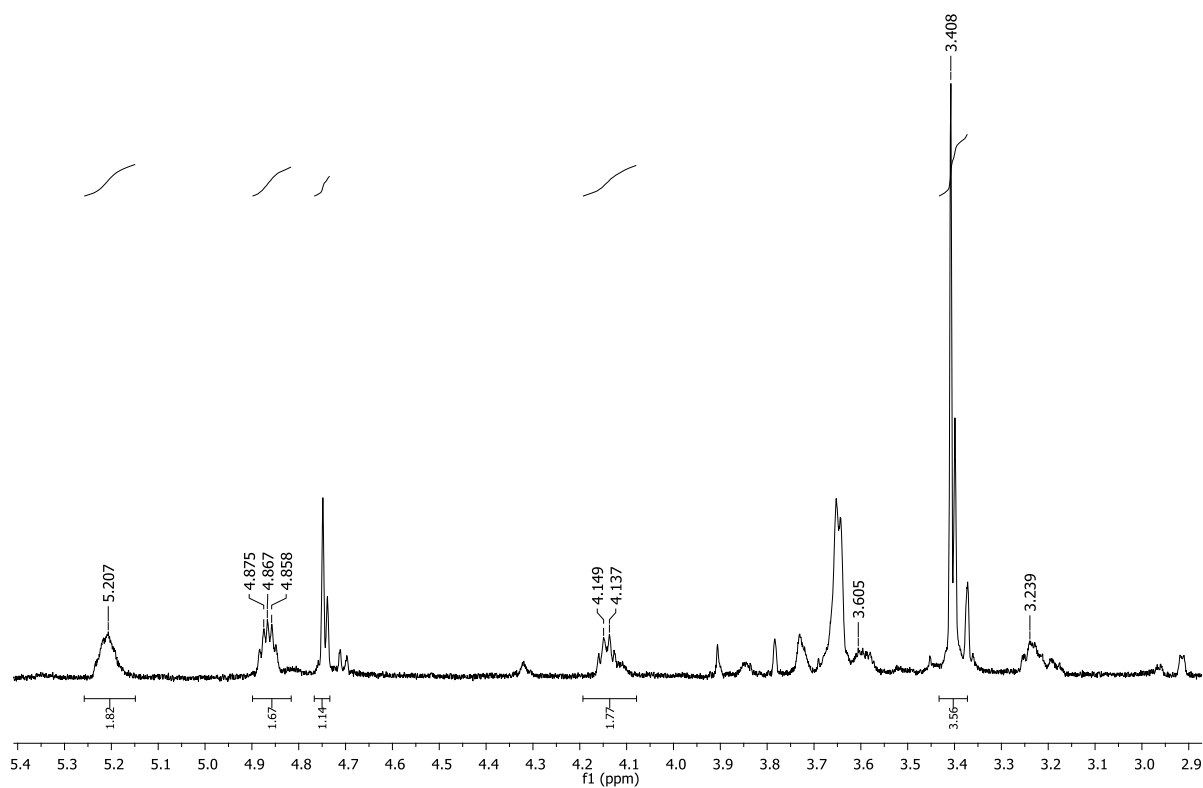


Fernando EP5 ACT4 SMPA
Fernando EP5 ACT4 SMPA 1H 25/02/2014

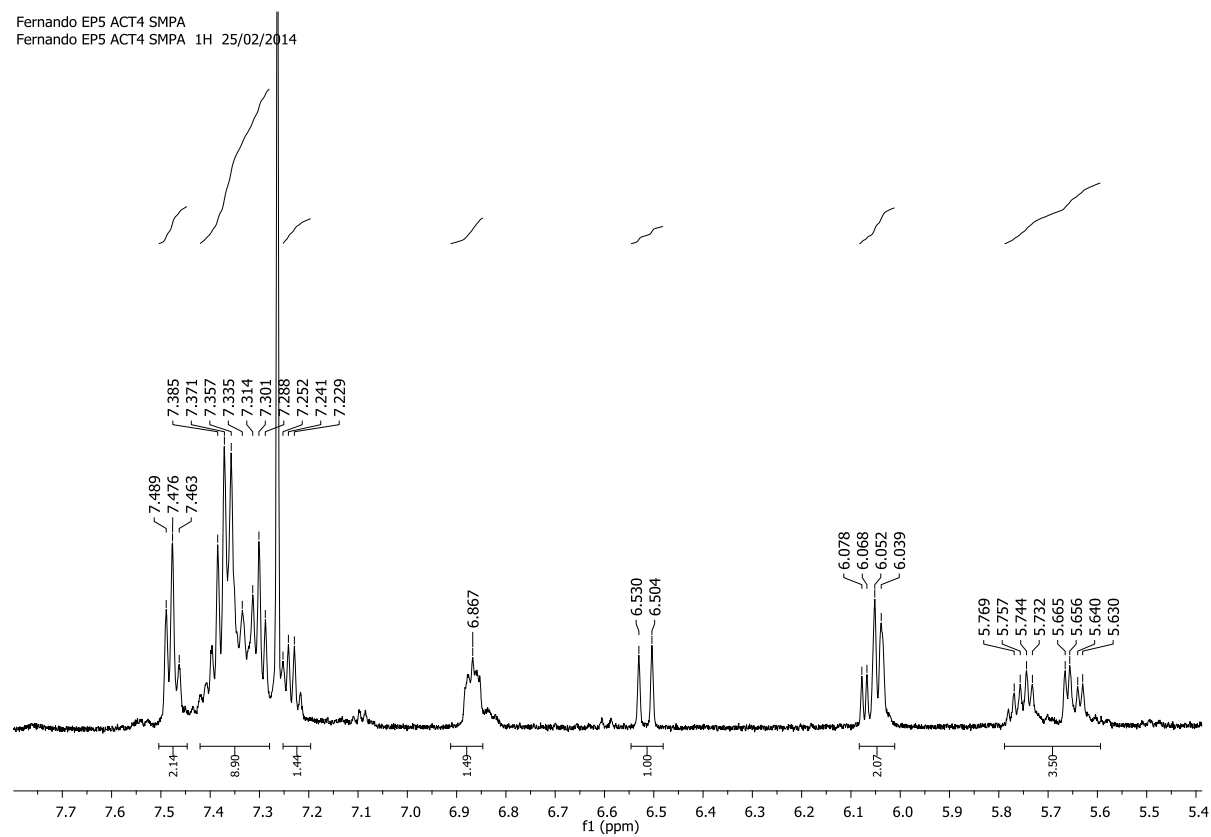


Anexo 102 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetoneo entre δ^6 e δ^8 e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

Fernando EP5 ACT4 SMPA
Fernando EP5 ACT4 SMPA 1H 25/02/2014

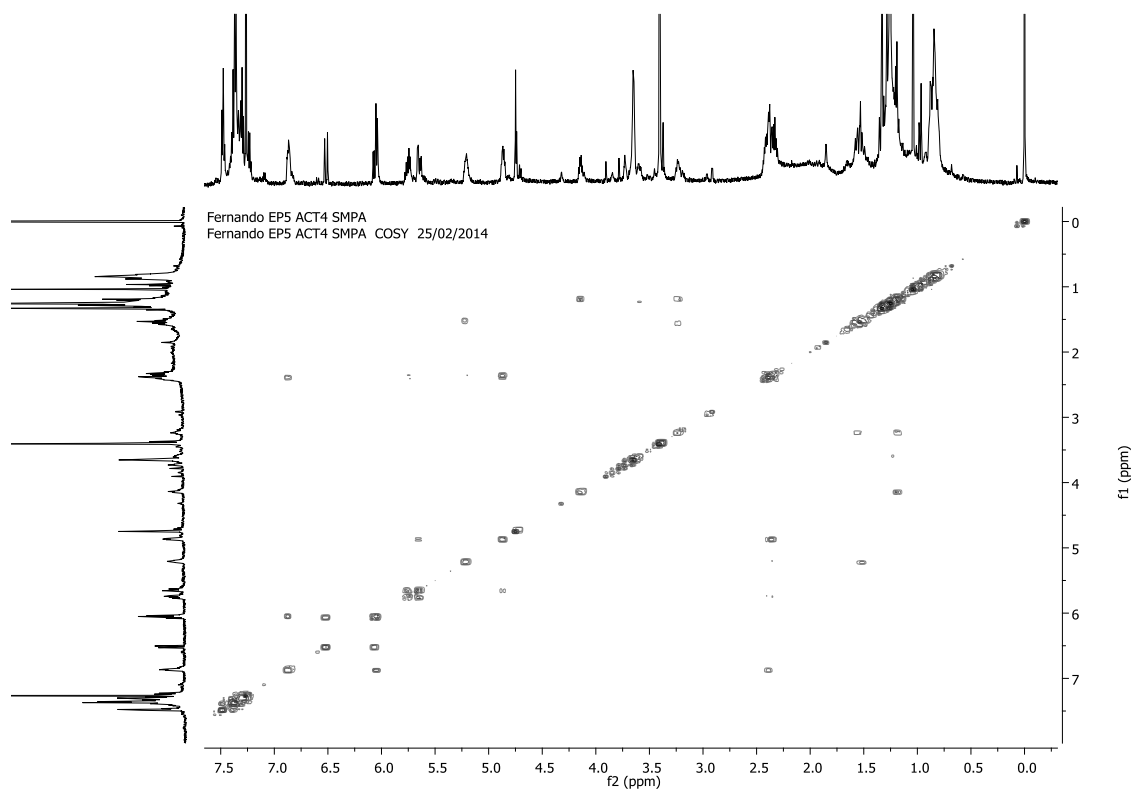
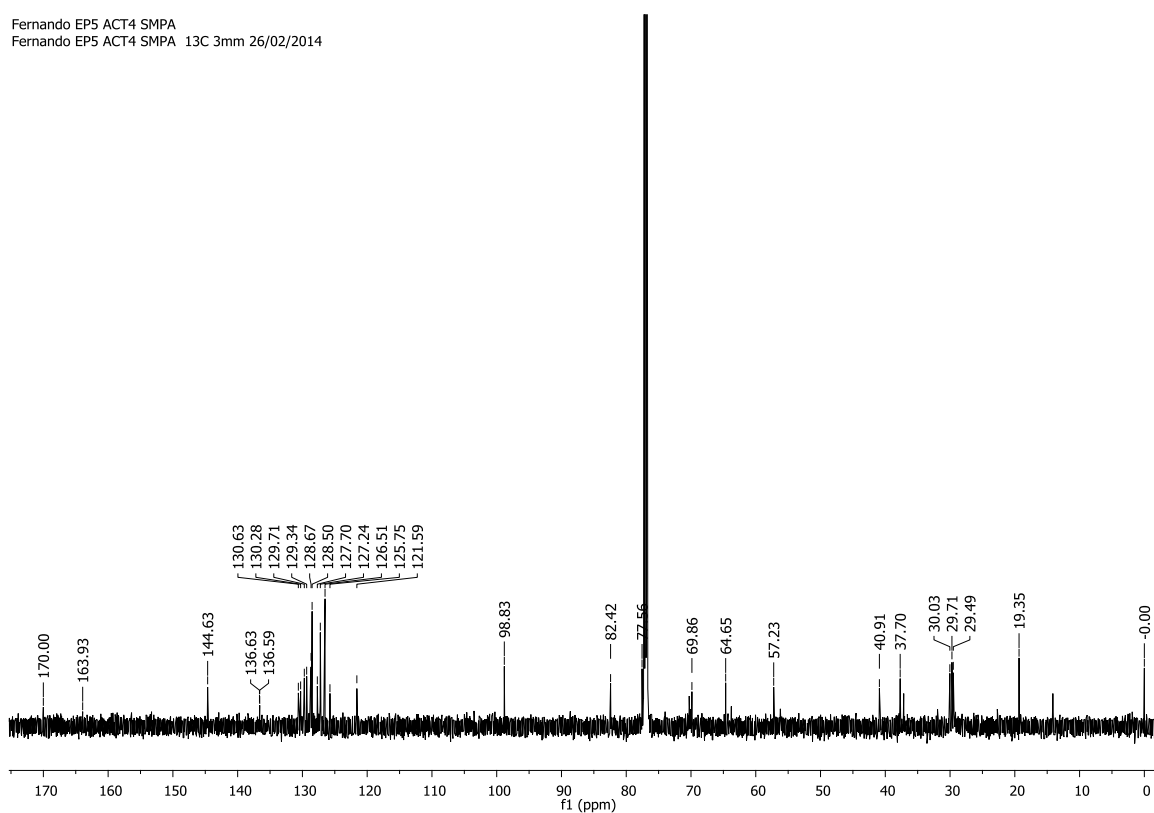


Fernando EP5 ACT4 SMPA
Fernando EP5 ACT4 SMPA 1H 25/02/2014

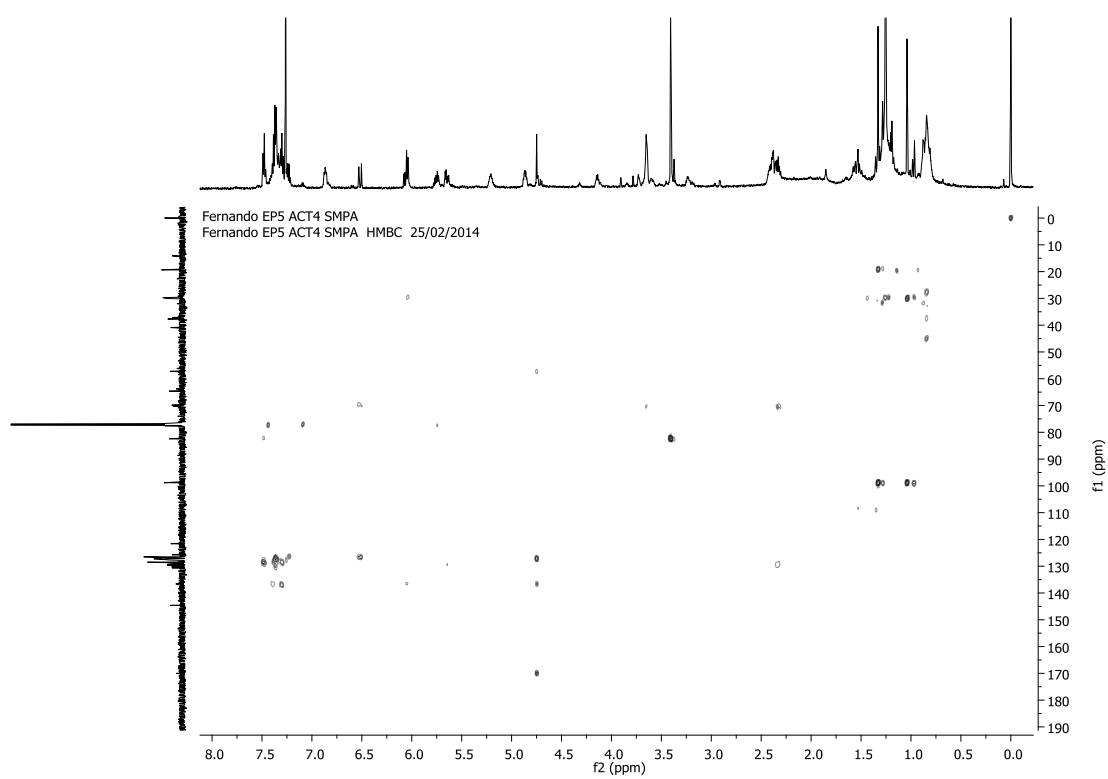
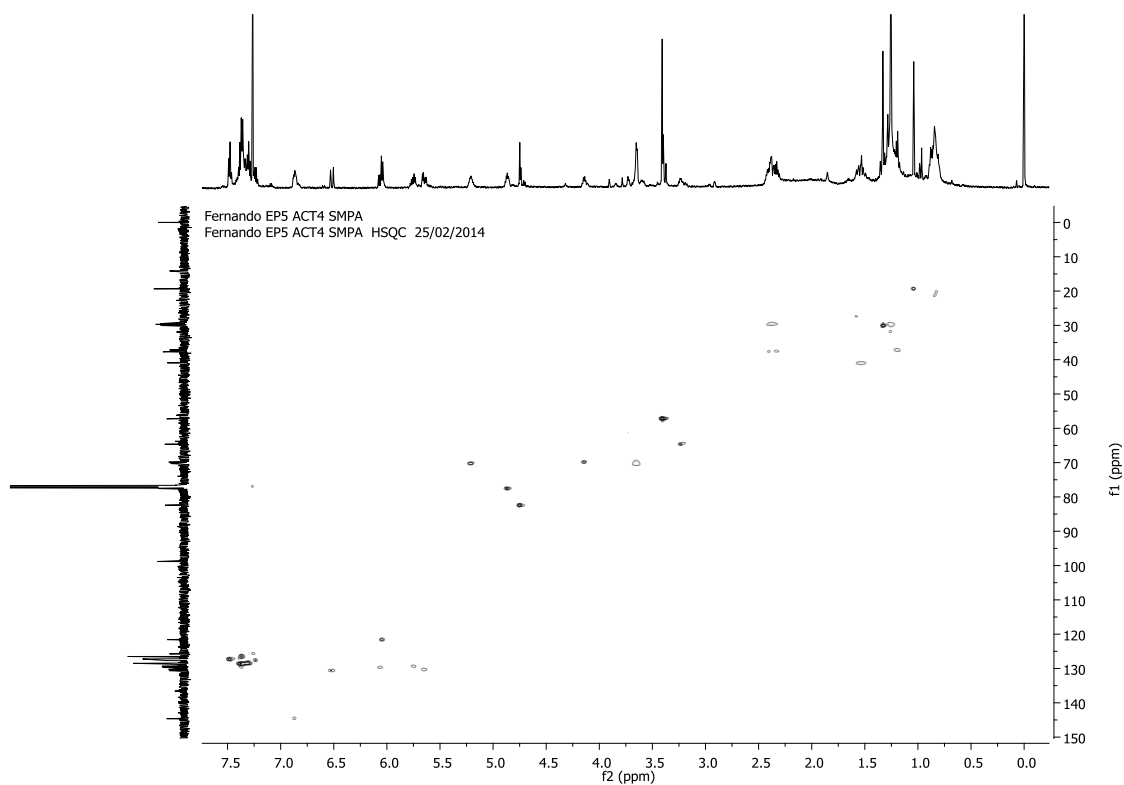


Anexo 103 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 150 MHz e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetonídeo entre 6'e 8' e com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando EP5 ACT4 SMPA
Fernando EP5 ACT4 SMPA 13C 3mm 26/02/2014



Anexo 104 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação de formação do acetonídeo entre 6' e 8' e com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

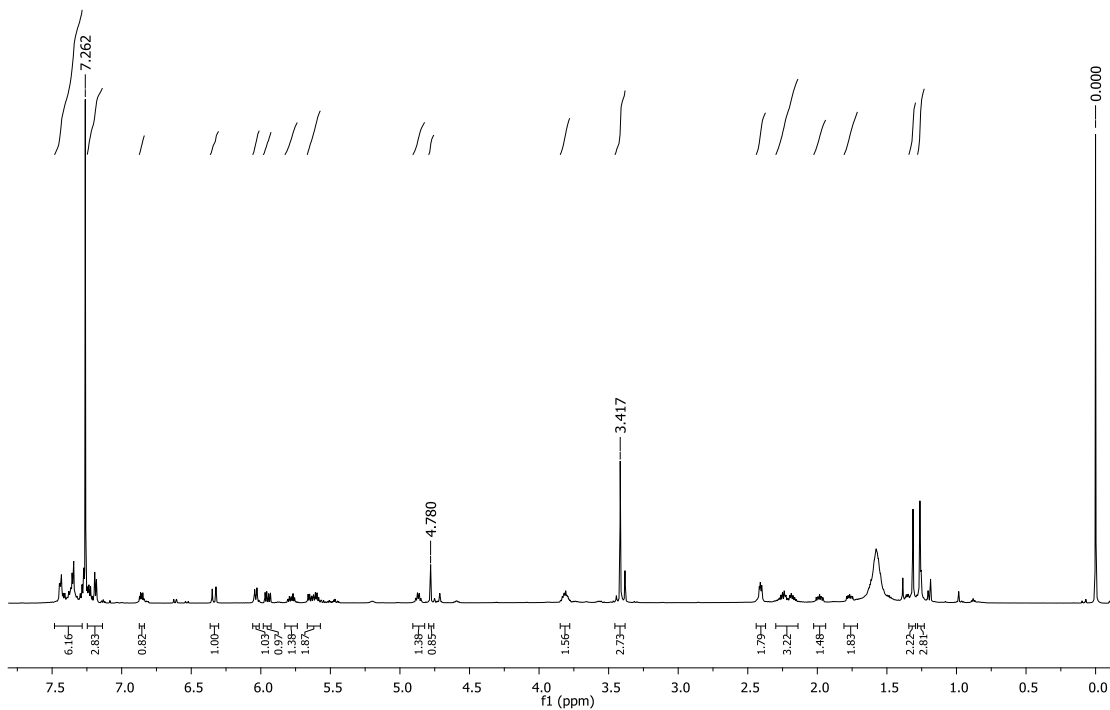


Anexo 105 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoa F1 (6) após formação do acetonídeo entre 4' e 6' e após esterificação com R-MPA.

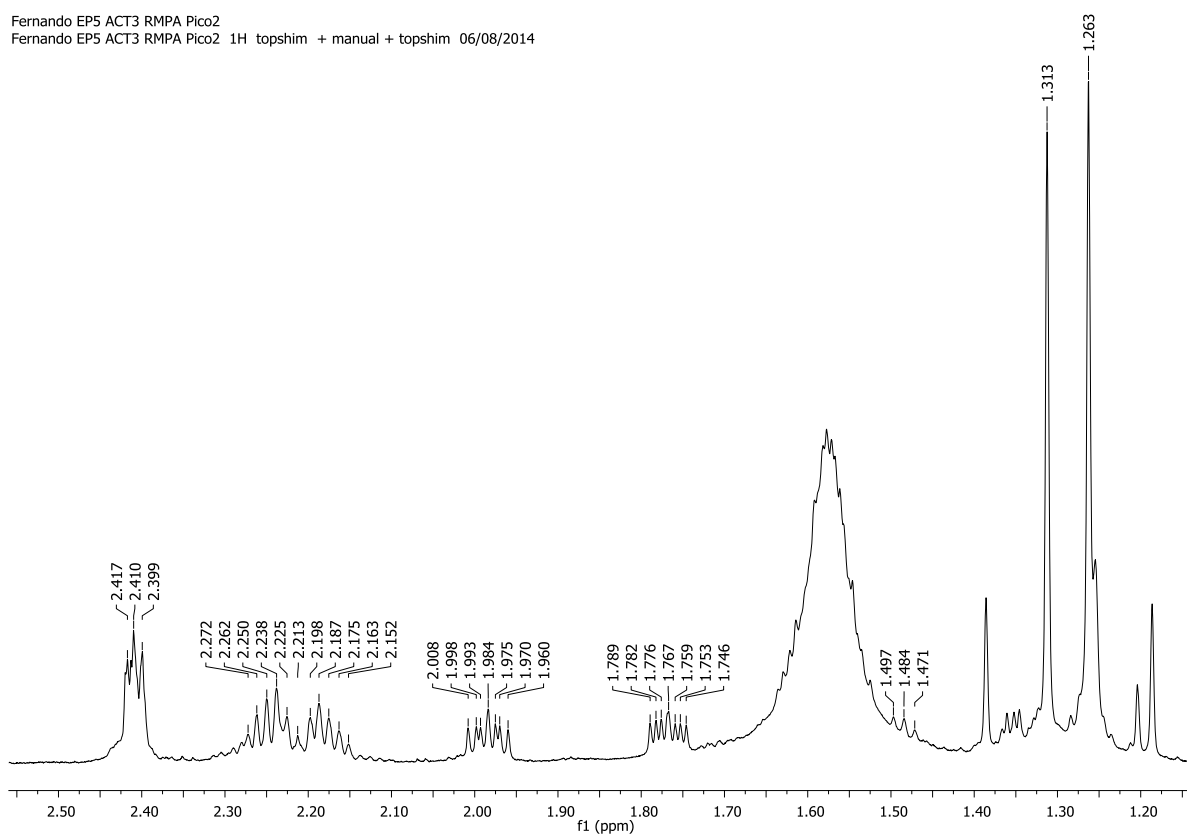
Criptomoscatoa F1 ACT 4' e 6' R-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	164,0		-		
3	121,6	6,03	<i>ddd</i> (10,0; 2,4; 1,2)	6,85	29,7
4	144,6	6,85	<i>ddd</i> (10,0; 6,0; 2,4)	6,03; 2,40	164,0
5	29,7	2,42	<i>m</i>	6,85; 4,87	121,6; 144,6
6	77,9	4,87	<i>ddd</i> (7,2)	5,65; 2,41	
1'	129,3	5,64	<i>dd</i> (15,6; 6,6)	4,86	38,3; 77,9
2'	130,8	5,78	<i>dil</i> (15,6; 7,0)	2,19	38,4; 77,9; 129,3
3'	38,4	2,19 2,25	<i>m</i> (14,0; 6,6; 6,6) <i>m</i> (14,0; 6,0; 6,0)	5,78	
4'	65,8	3,82	<i>m</i>	2,25; 1,55	
5'	38,0	1,57	<i>m</i>	3,82	
6'	63,2	3,8	<i>m</i>	1,98	
7'	40,3	1,76 1,98	<i>ddd</i> (13,8; 7,8; 4,2) <i>ddd</i> (13,8; 9,0; 6,0)	5,60; 3,80	65,8; 129,3
8'	72,8	5,60	<i>ddd</i> (8,4)	5,95; 1,76; 1,98	126,2; 133,1; 169,7
9'	126,2	5,95	<i>dd</i> (15,6; 7,2)	6,33; 5,60	72,8; 136,1; 133,2
10'	133,2	6,33	<i>d</i> (15,6)	5,95	72,8; 126,5
Metila	24,7	1,31	<i>s</i>		24,8; 100,6
Metila	24,8	1,26	<i>s</i>		24,7; 100,6
Cetal	100,6		-		
1''	136,1		-		
2'' e 6''	126,5	7,19	<i>dl</i> (7,8)		127,9; 127,3; 133,2
4''	128,0	7,23	<i>tl</i> (7,8)		126,5
3'' e 5''	128,5	7,27	<i>tl</i> (7,8)		136,2
	169,7				
	57,4	3,42	<i>S</i>		82,84
	82,8	4,78	<i>s</i>		57,4; 169,7; 127,2; 136,2
	127,3	7,45	<i>dl</i> (7,8)		
	128,8	7,35	<i>tl</i> (7,8)		127,3
	128,7	7,37	<i>tl</i> (7,8)		127,3; 136,2
	136,2		-		

Anexo 106 - Espectro de RMN de ^1H e ampliação da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetonídeo entre 4' e 6' e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

Fernando EP5 ACT3 RMPA Pico2
Fernando EP5 ACT3 RMPA Pico2 1H topshim + manual + topshim 06/08/2014

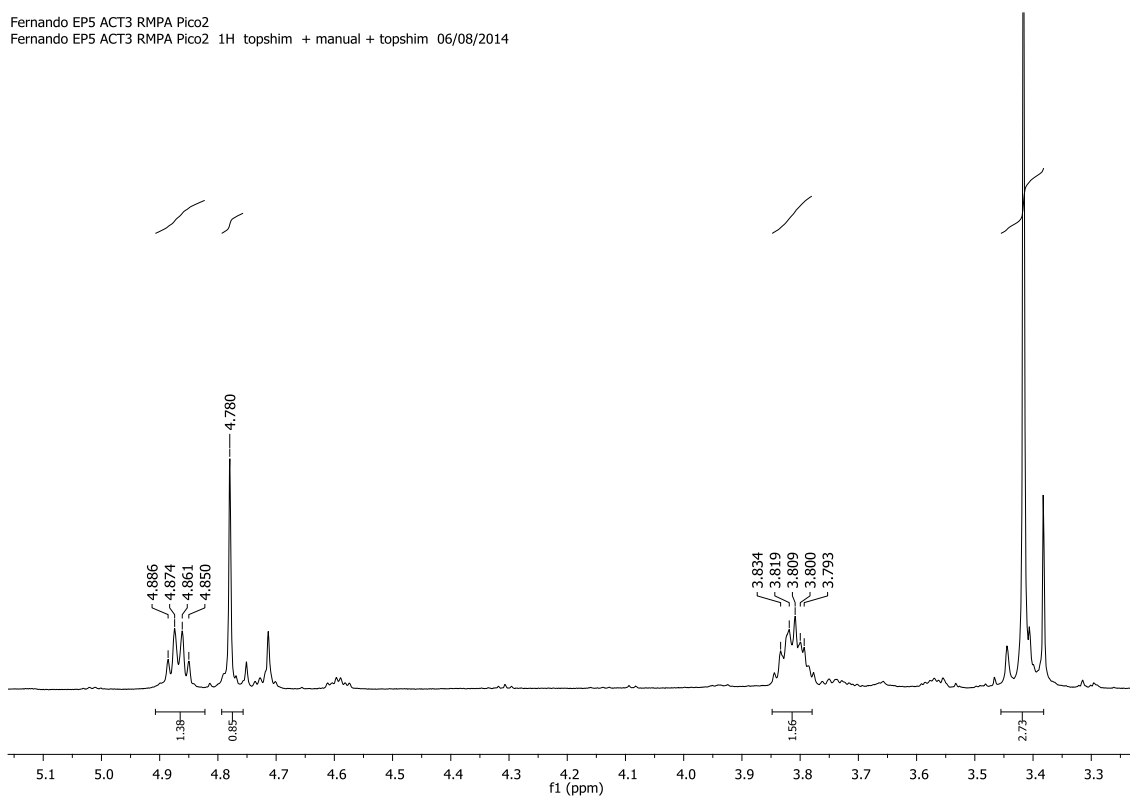


Fernando EP5 ACT3 RMPA Pico2
Fernando EP5 ACT3 RMPA Pico2 1H topshim + manual + topshim 06/08/2014

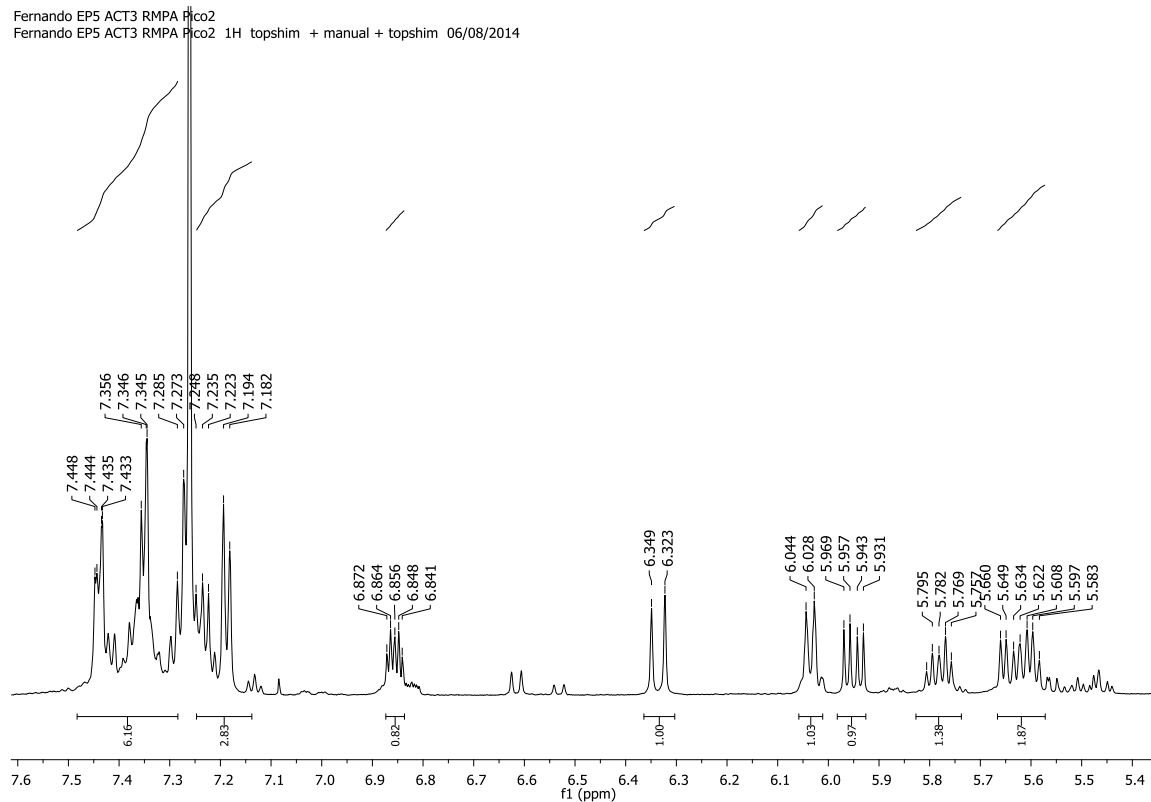


Anexo 107 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H e da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetoneo entre 4' e 6' e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

Fernando EP5 ACT3 RMPA Pico2
Fernando EP5 ACT3 RMPA Pico2 1H topshim + manual + topshim 06/08/2014

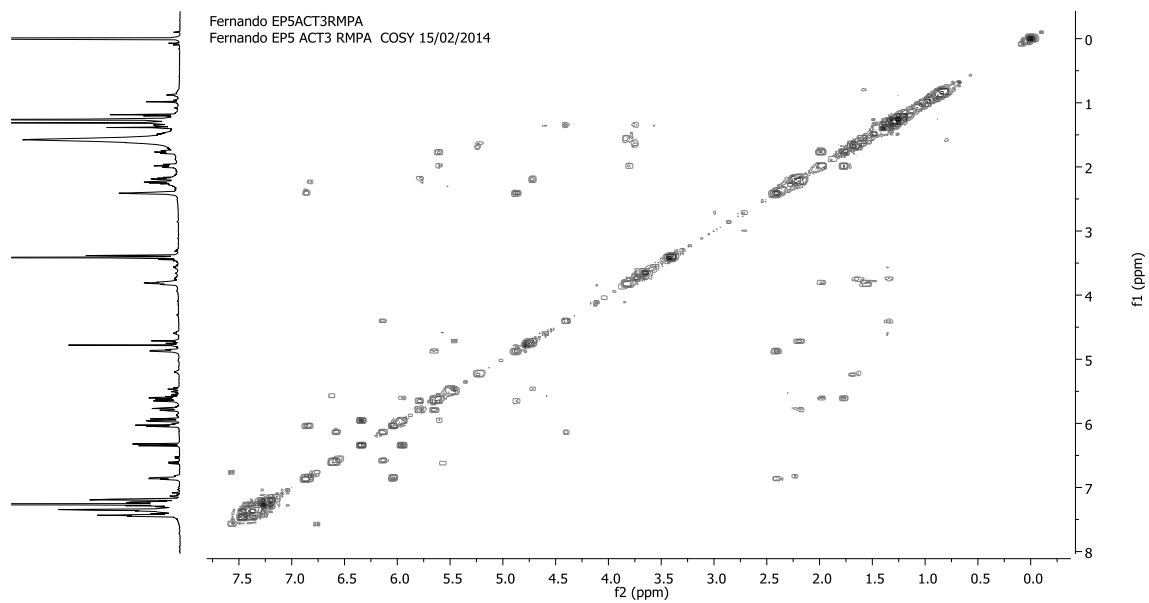
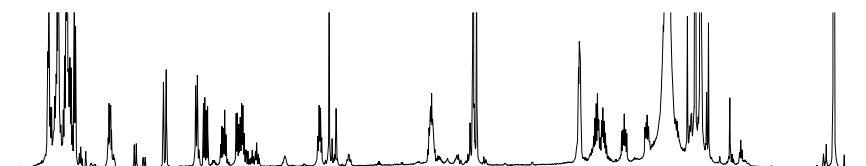
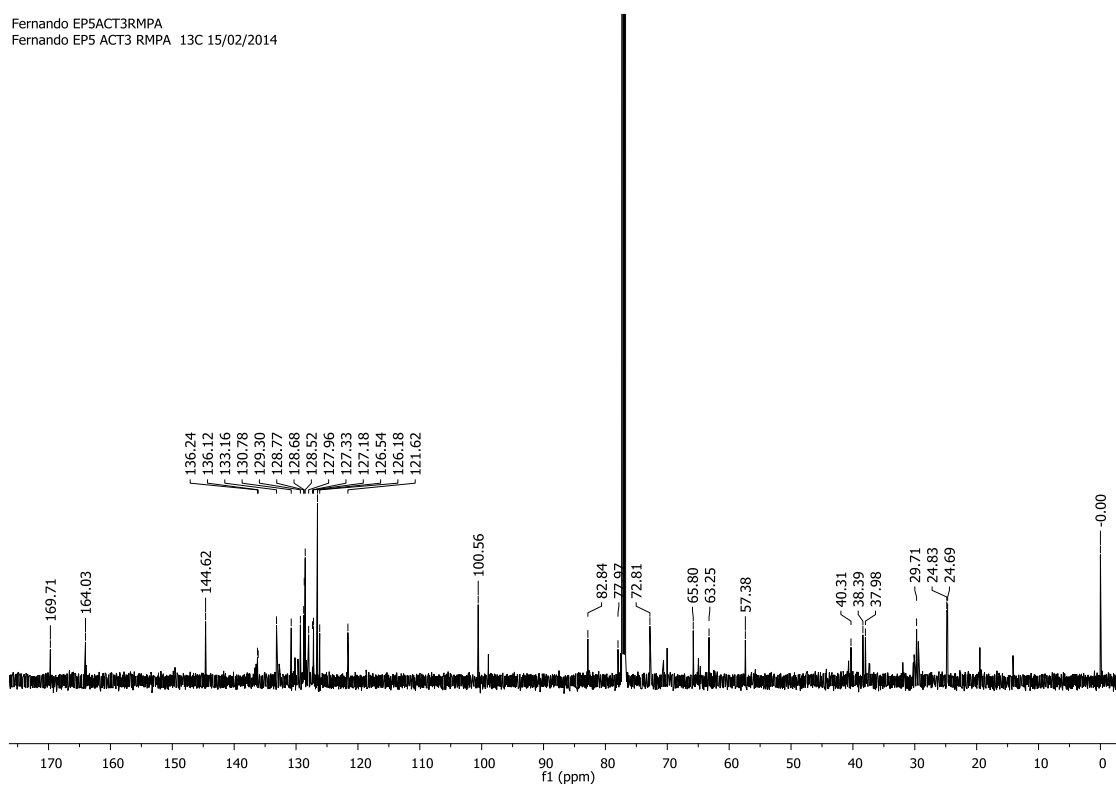


Fernando EP5 ACT3 RMPA Pico2
Fernando EP5 ACT3 RMPA Pico2 1H topshim + manual + topshim 06/08/2014

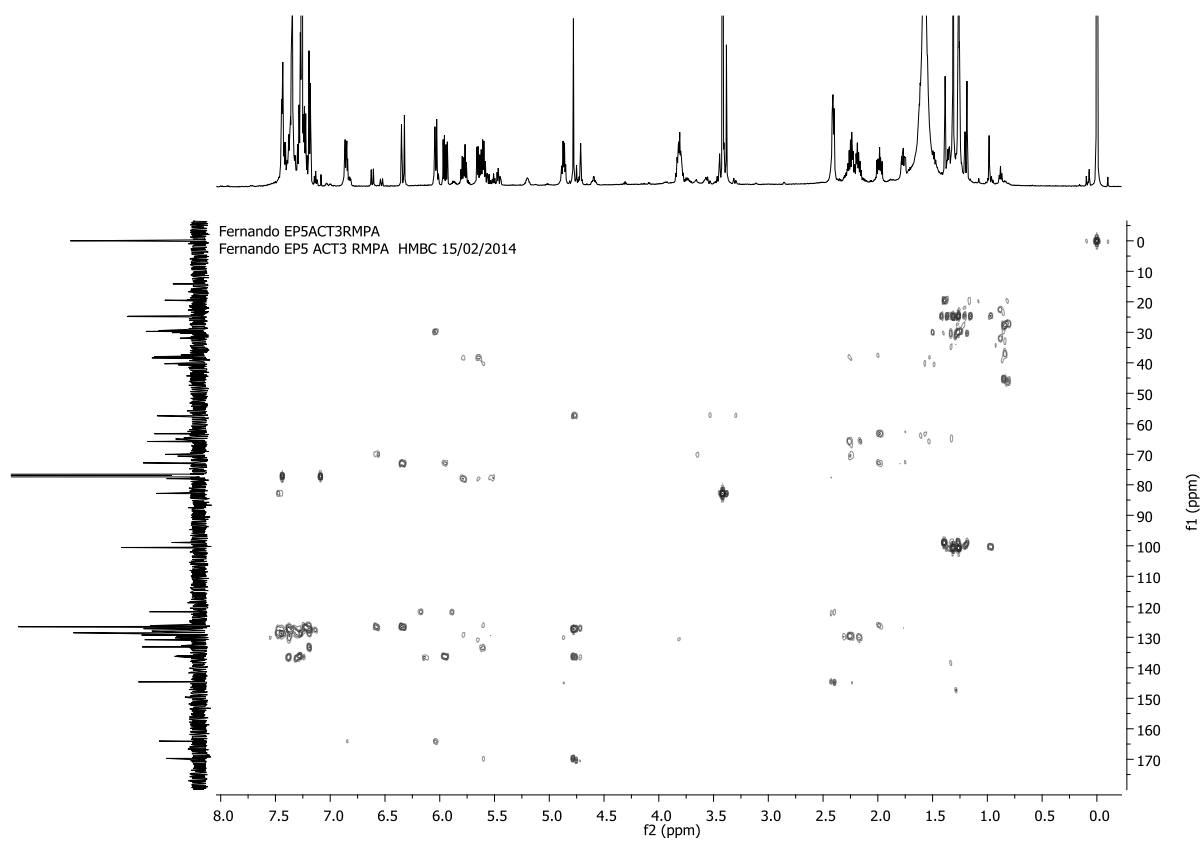
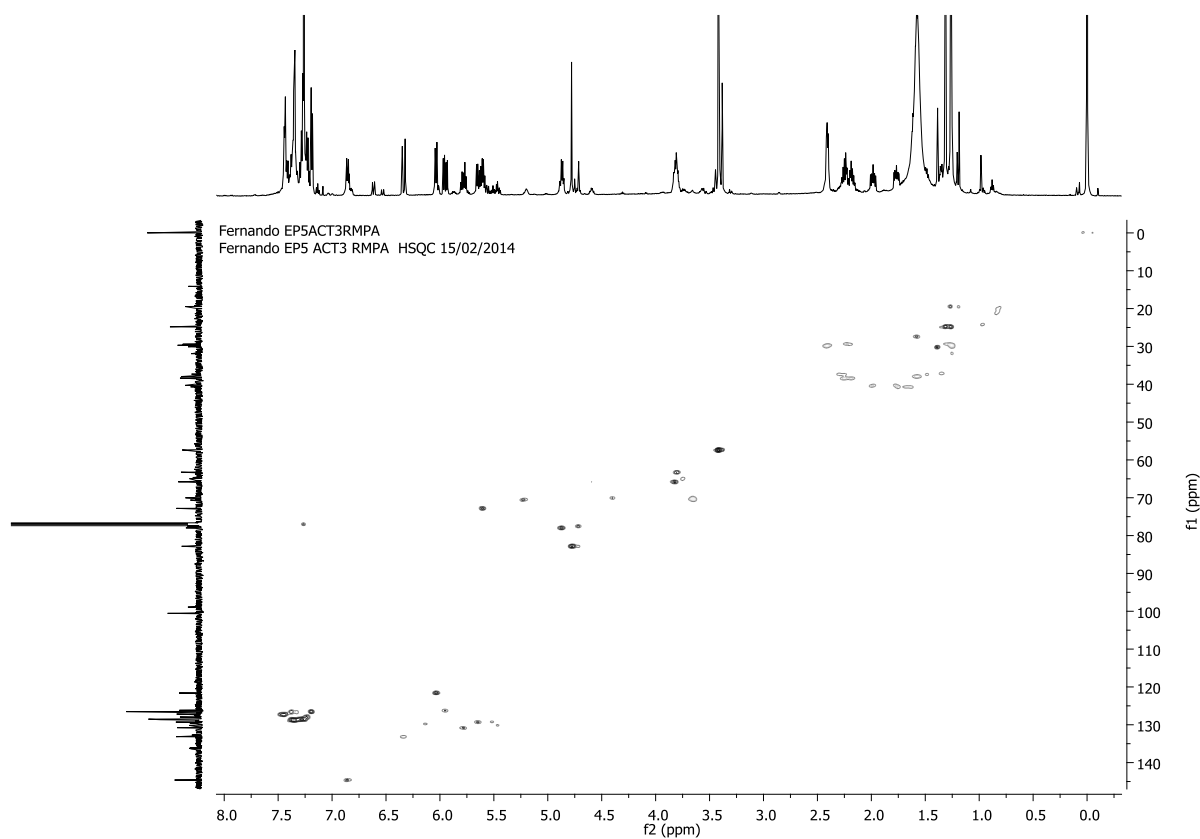


Anexo 108 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 150 MHz e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetônio entre 4'e 6'e com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando EP5ACT3RMPA
Fernando EP5 ACT3 RMPA 13C 15/02/2014



Anexo 109 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação de formação do acetonídeo entre 4' e 6' e com *R*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.

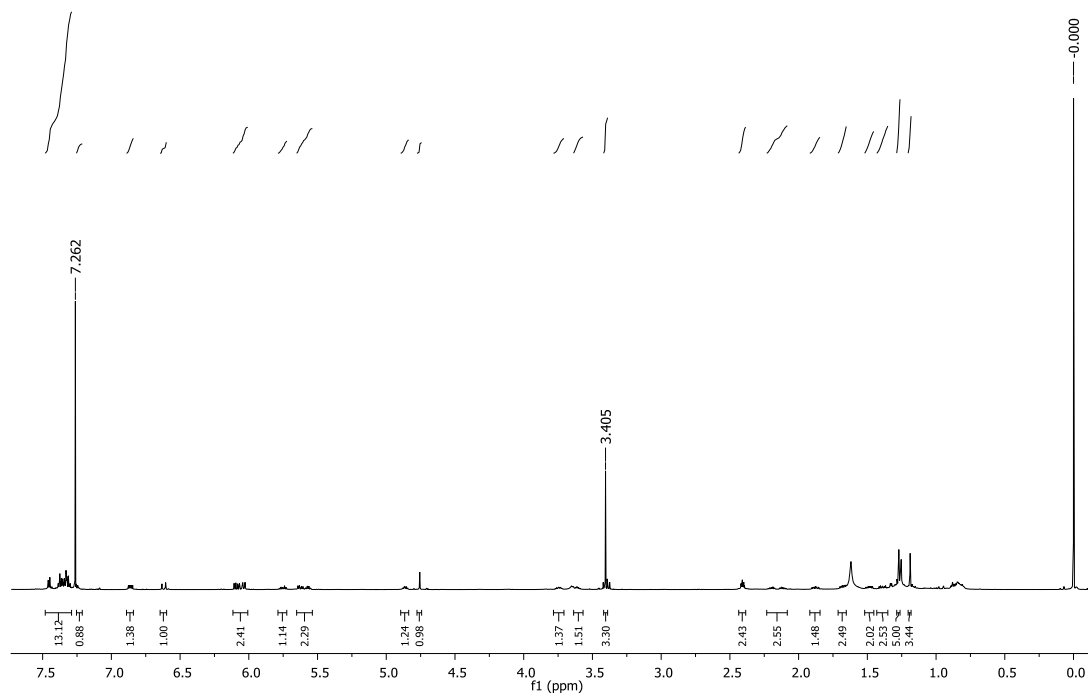


Anexo 110 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona F1 (6) após formação do acetonídeo entre 4' e 6' e após esterificação com *S*-MPA.

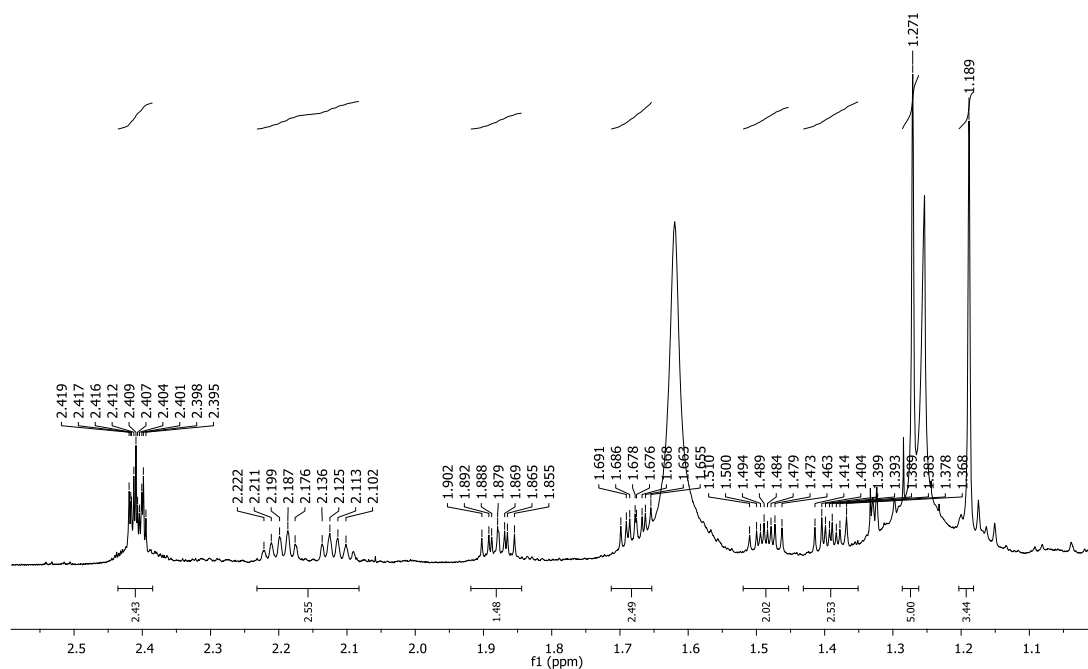
Criptomoscatoona F1 ACT 4' e 6' S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	164,0		-		
3	121,6	6,04	<i>ddd</i> (10,0; 2,4; 1,8)		29,8; 164,0
4	144,6	6,86	<i>ddd</i> (10,0; 6,0; 2,4)	2,40; 6,04	
5	29,8	2,40	<i>m</i>		121,6; 144,6; 77,9
6	77,9	4,86	<i>ddd</i> (7,0)	2,4	130,8
1'	129,2	5,62	<i>dd</i> (15,6; 6,6)	4,85	38,3; 77,9
2'	130,8	5,75	<i>dtt</i> (15,6; 7,0)	2,13; 2,18	38,35; 6,7; 77,7; 129,2
3'	38,3	2,11 2,18	<i>m</i> (14,0; 6,6; 6,6) <i>m</i> (14,0; 6,0; 6,0)		37,8; 65,7; 130,8
4'	65,7	3,75	<i>m</i>	1,39; 1,48; 2,18; 2,13	130,8
5'	37,8	1,48 1,39	<i>ddd</i> (12,6; 9,6; 6,0) <i>ddd</i> (12,6; 9,0; 6,0)		40,0; 38,3
6'	62,9	3,61	<i>dddd</i> (9,5; 9,5; 5,4; 5,4)	1,39; 1,48; 1,68; 1,87	
7'	40,0	1,68 1,87	<i>ddd</i> (13,8; 9,0; 6,0) <i>ddd</i> (13,8; 7,8; 4,2)		72,9; 126,4; 62,9; 37,8
8'	72,9	5,57	<i>ddd</i> (7,8)	1,68; 1,87	40,0; 62,9; 133,7; 126,4; 170,0
9'	126,6	6,09	<i>dd</i> (16,2; 7,8)	5,57	40,0; 72,9; 136,1
10'	133,9	6,62	<i>d</i> (16,2)	6,09	72,9; 126,6; 130,8
Metila	24,7	1,27	<i>s</i>		24,8; 100,5
Metila	24,8	1,19	<i>s</i>		24,7; 100,5
Cetal	100,5		-		
1''	136,1		-		
2'' e 6''	126,6	7,33	<i>dl</i> (7,8)		133,9
4''	128,1	7,26	<i>tl</i> (7,8)		126,6
3'' e 5''	128,8	7,36	<i>tl</i> (7,8)		136,1
	169,7				
	57,4	3,4	<i>S</i>		82,65
	82,6	4,76	<i>s</i>		57,4; 127,2; 136,3; 169,7
	127,2	7,45	<i>dl</i> (7,8)		82,6; 128,8
	128,6	7,31	<i>tl</i> (7,8)		128,8
	128,7	7,37	<i>tl</i> (7,8)		
	136,3		-		

Anexo 111 - Espectro de RMN de ^1H e ampliação da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetoneo entre 4' e 6' e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

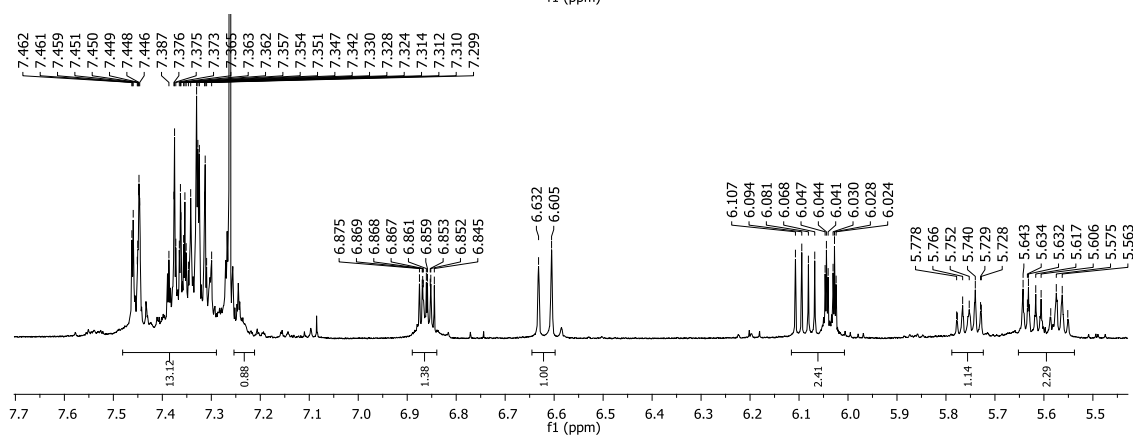
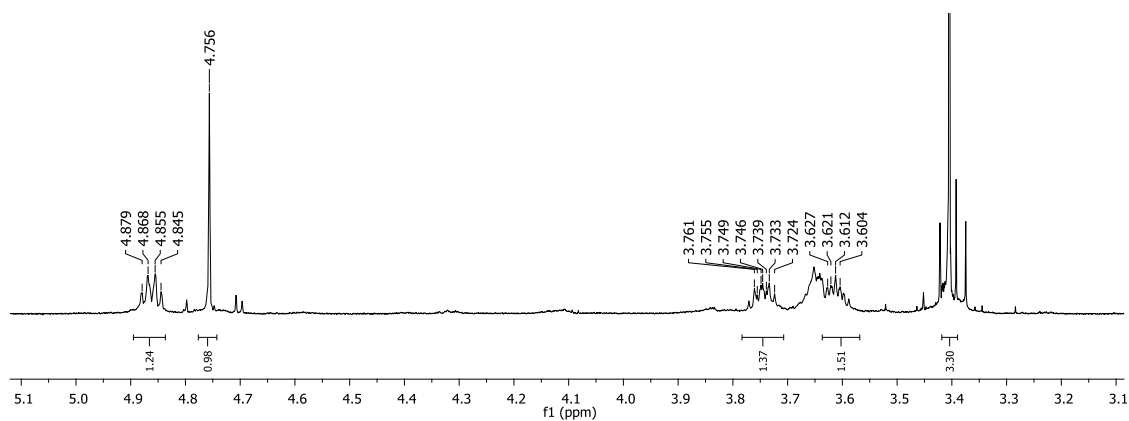
Fernando EP5 ACT3 SMPA
Fernando EP5 ACT3 SMPA 1H 28/02/2014



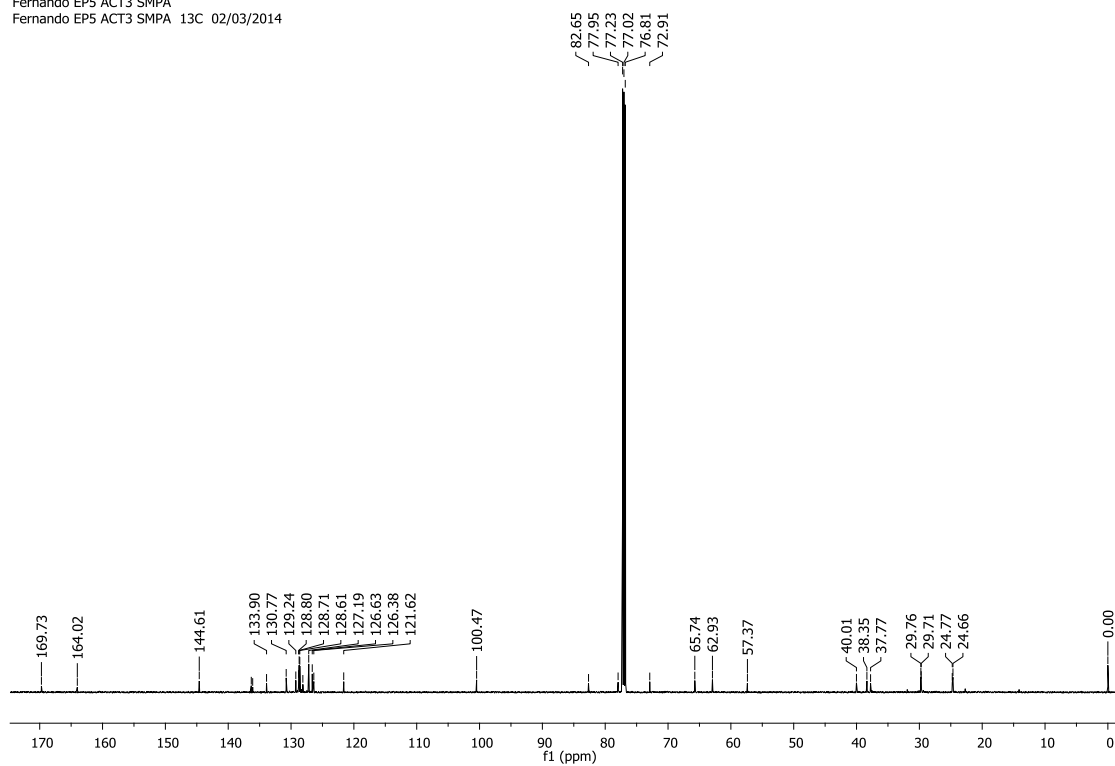
Fernando EP5 ACT3 SMPA
Fernando EP5 ACT3 SMPA 1H 28/02/2014



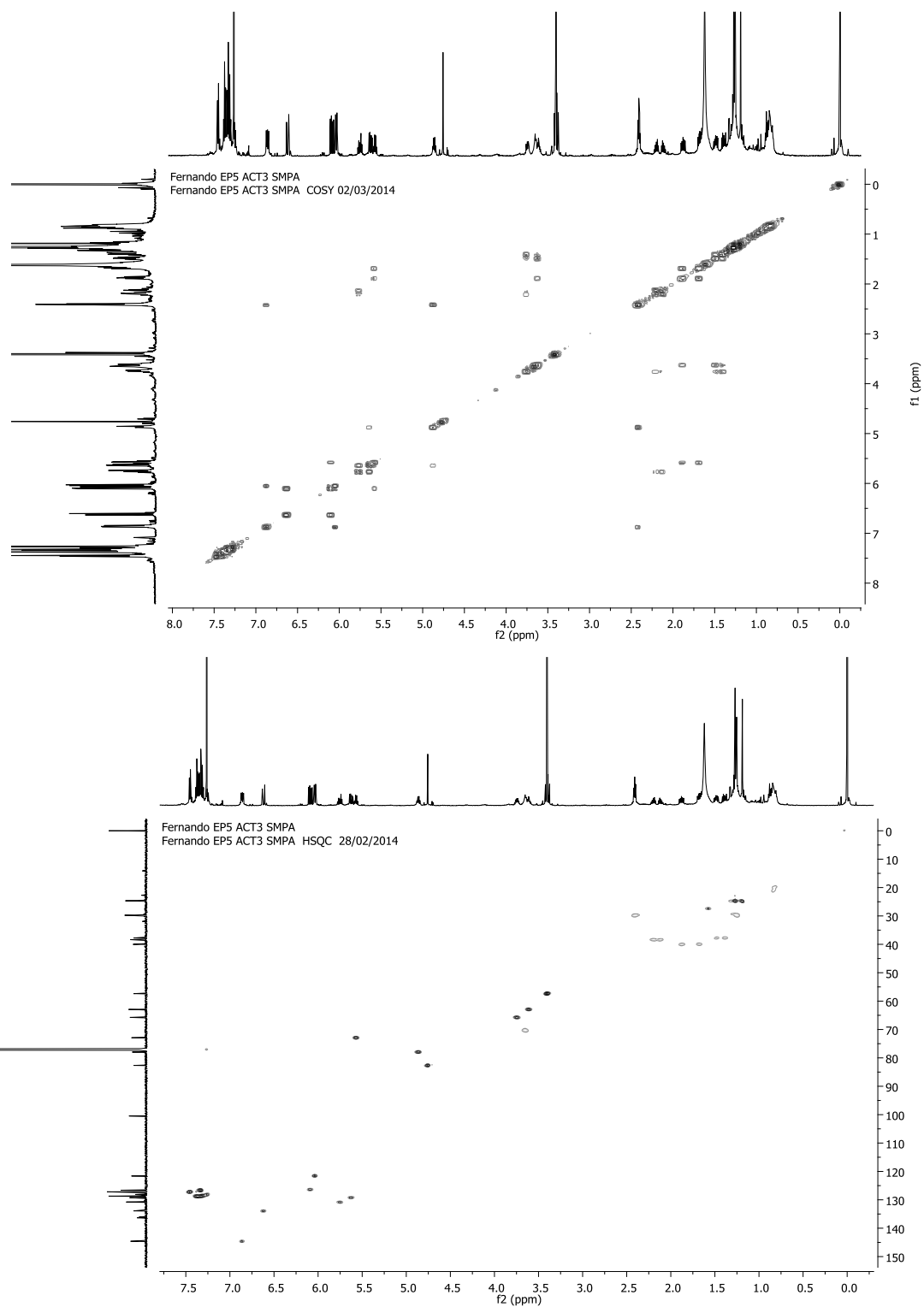
Anexo 112 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação com acetonídeo entre 4' e 6' e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 e 150 MHz, respectivamente.



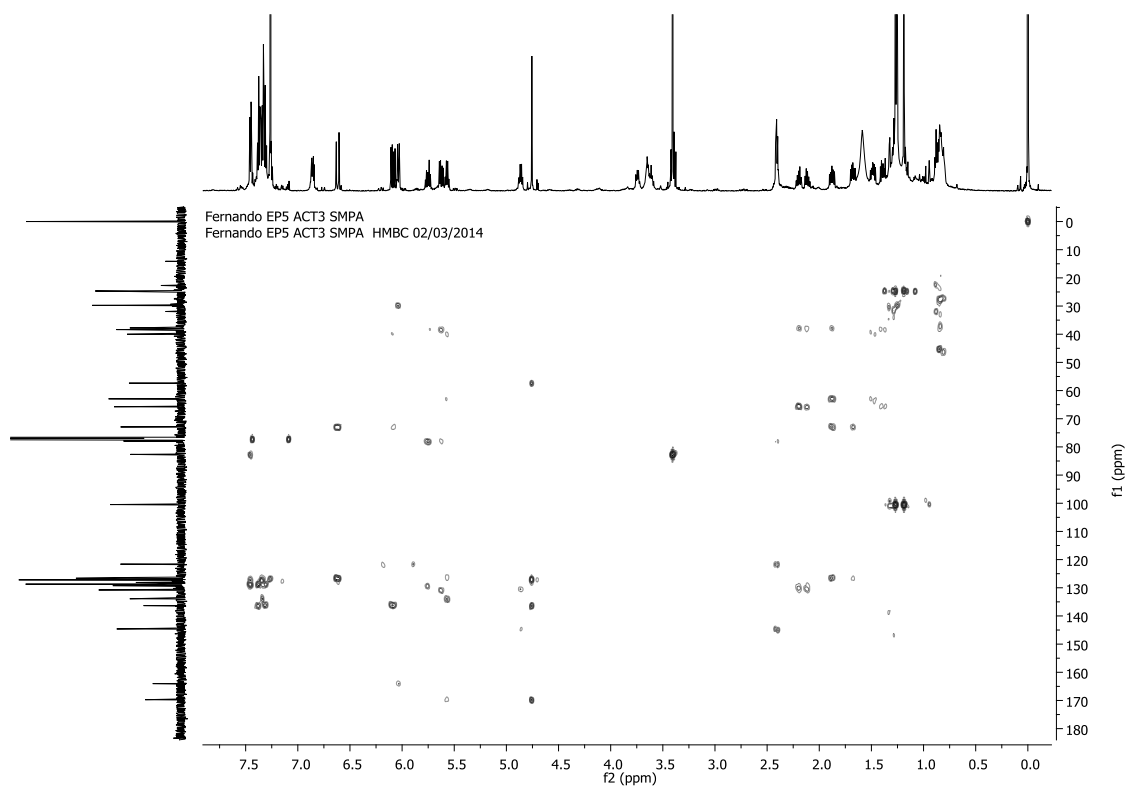
Fernando EP5 ACT3 SMPA
Fernando EP5 ACT3 SMPA 13C 02/03/2014



Anexo 113 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação de formação do acetonídeo entre 4' e 6' e com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



Anexo 114 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoa F1 (6) após reação de formação do acetoneo entre 4' e 6' e com *S*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.

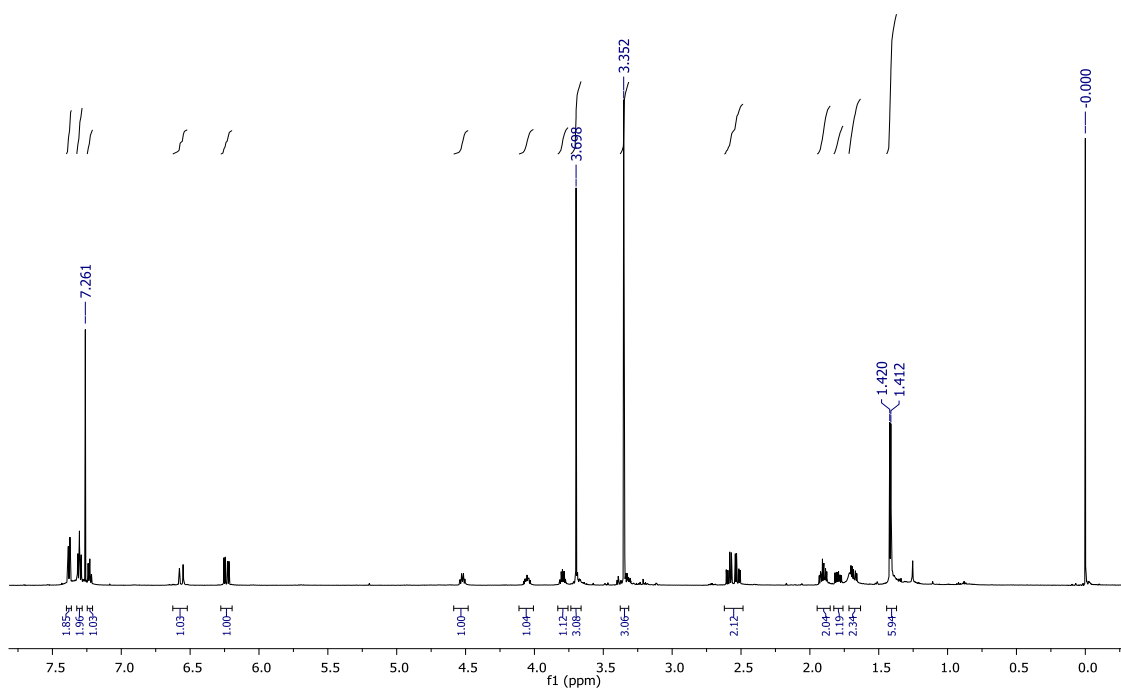


Anexo 115 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 75 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a desacetilcriptocarialactona (1) após reações de hidrólise e formação do acetonídeo.

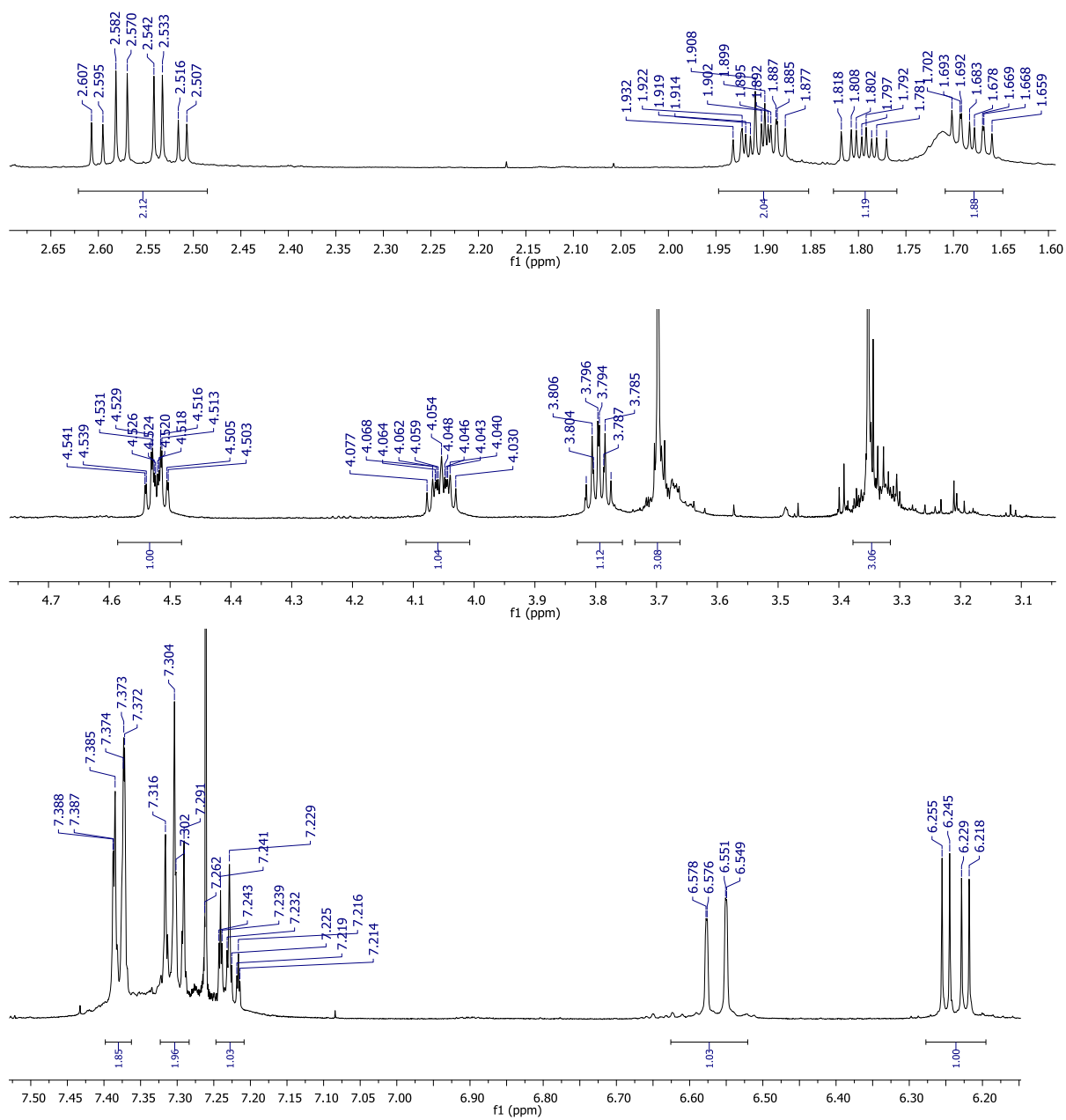
(-)-Desacetilcriptocarialactona HID ACT					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	172,1		-		
3	39,0	2,58	<i>dd</i> (6,9; 15,3)		63,1; 74,5; 172,1
		2,52	<i>dd</i> (6,9; 15,3)		
4	74,6	3,80	<i>dddd</i> (6,0)	1,69; 1,90; 2,56	172,1
5	39,5	1,66	<i>ddd</i> (14,4; 6,0; 5,0)		74,6
		1,70	<i>ddd</i> (14,4; 6,0; 5,4)		
6	63,1	4,05	<i>dddd</i> (5,4; 5,4; 8,6; 8,6)	1,70; 6,24	
1'	38,2	1,80	<i>ddd</i> (13,2; 9,6; 5,4)		
		1,90	<i>ddd</i> (13,2; 7,0; 5,4)		
2'	67,7	4,52	<i>ddd</i> (14,0; 9,0; 6,0; 2,4)	1,90	
3'	129,7	6,24	<i>dd</i> (15,6; 6,0)	4,05; 6,57	136,7
4'	130,5	6,57	<i>d</i> (15,6)	6,24	67,7; 126,5
Metoxila	51,7	3,70	<i>s</i>		172,1
Metoxila	56,9	3,35	<i>s</i>		74,6
Metila	24,7	1,42	<i>s</i>		25,4; 100,5
Metila	25,4	1,41	<i>s</i>		24,7; 100,5
Cetal	100,5		-	-	
1''	136,7		-	-	
2'' e 6''	126,5	7,38	<i>dl</i> (8,0)		127,5
4''	127,6	7,24	<i>tl</i> (8,0)		127,6; 136,7
3'' e 5''	128,5	7,31	<i>tl</i> (8,0)		

Anexo 116 - Espectro de RMN de ^1H da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e de formação do acetonídeo em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

Fernando EP1 Hid M4 M3 ACT 600MHz
Fernando EP1 Hid M4 M3 ACT 1H 06/03/2014

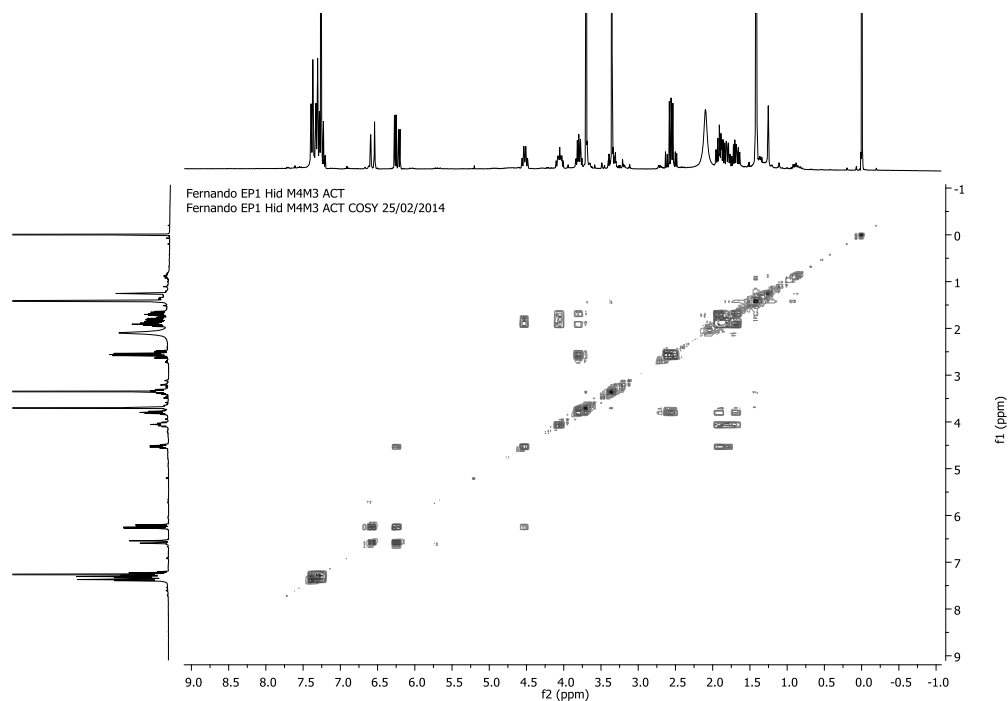
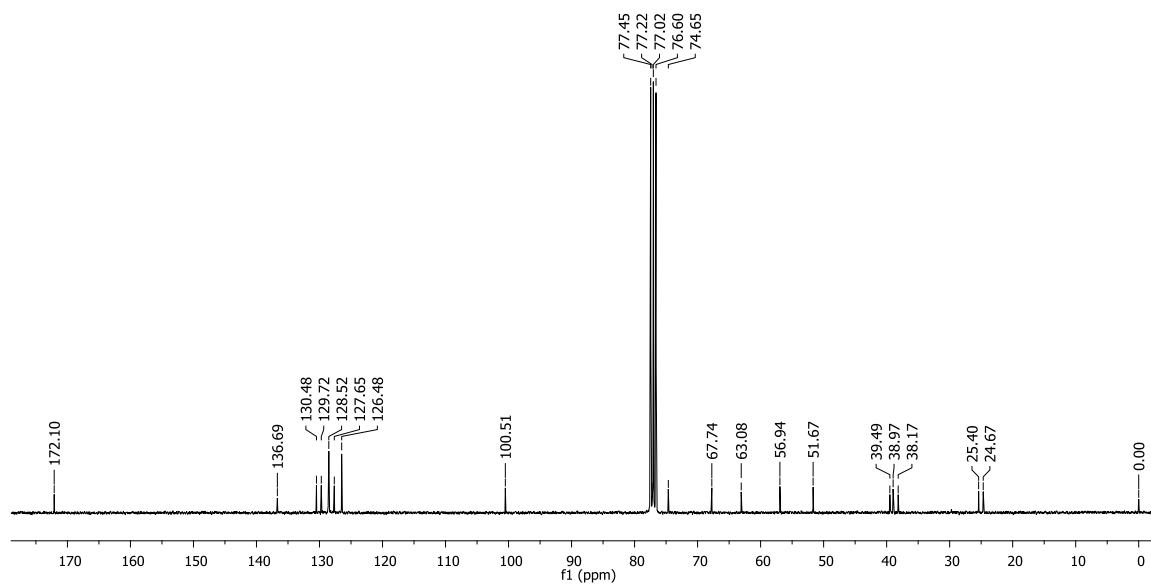


Anexo 117 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância desacetilriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e de formação do acetonídeo em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

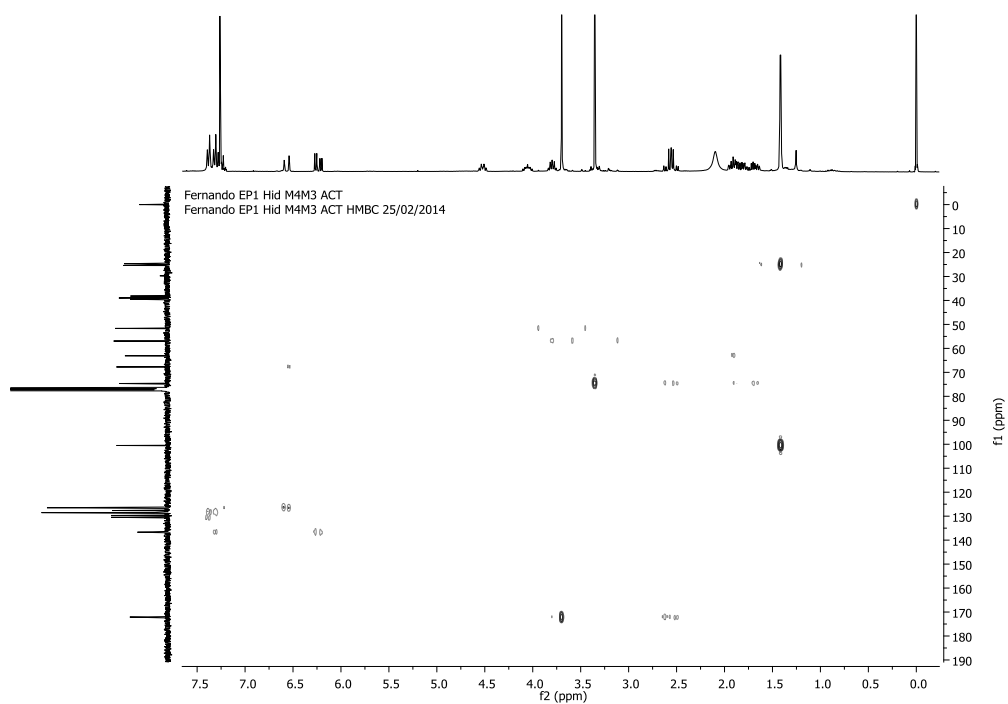
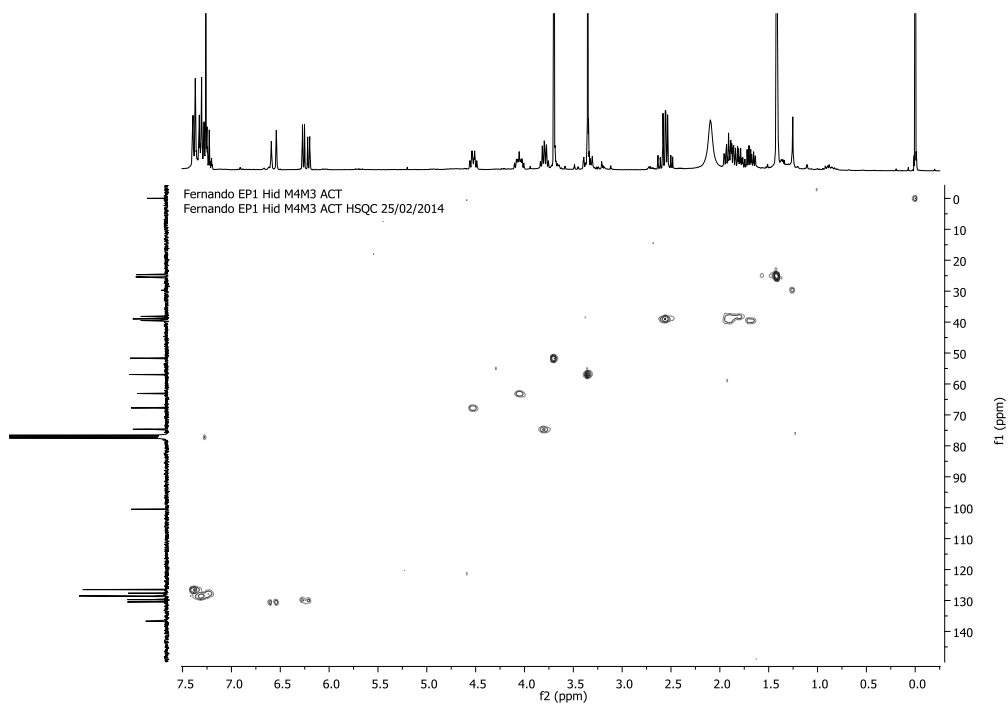


Anexo 118 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 75 MHz e mapa de contorno COSY da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e de formação do acetonídeo (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando EP1 Hid M4M3 ACT
Fernando EP1 Hid M4M3 ACT 13C 25/02/2014



Anexo 119 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância desacetilriptomocina (1) após reação de hidrólise e de formação do acetonídeo em CDCl_3 (7,0 T), respectivamente.



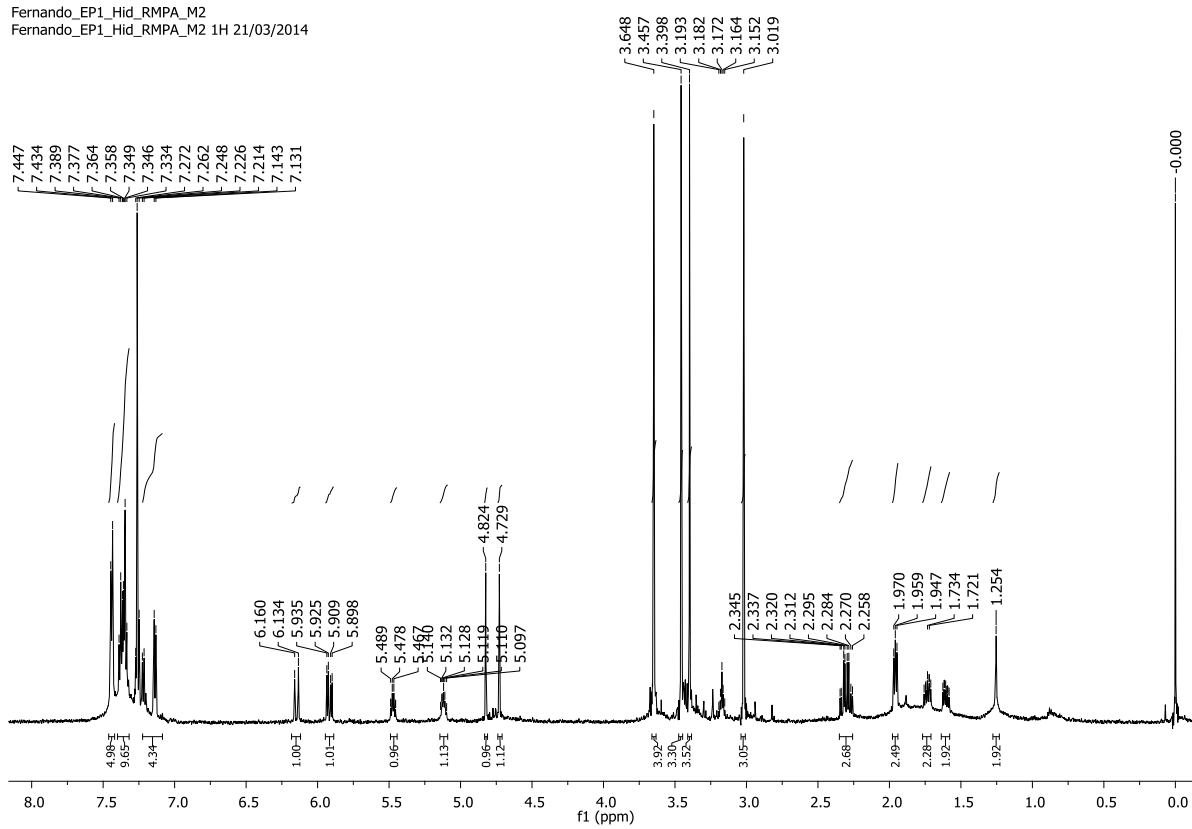
Anexo 120 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 125 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a desacetilriptocarialactona (1) após reações de hidrólise e com *R*-MPA.

(-)-Desacetilriptocarialactona HID <i>R</i>-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	171,7	-	-	-	
3	38,3	2,31 2,26	<i>dd</i> (7,2; 15,0) <i>dd</i> (4,8; 15,0)	3,17	38,0; 74,0; 171,3
4	74,0	3,17	<i>dddd</i> (6,0)	1,60; 1,73; 2,30	56,5; 171,3
5	38,0	1,60 1,73	<i>ddd</i> (14,4; 6,6; 4,8) <i>ddd</i> (14,4; 7,2; 6,0)	3,17; 5,12	70,9; 74,0
6	68,0	5,12	<i>m</i>	1,60; 1,73; 1,95	
1'	39,1	1,95	<i>tl</i> (6,6)	5,12; 5,47	38,0; 68,0; 70,9; 125,9
2'	70,9	5,47	<i>ddd</i> (6,6)	1,95; 5,92	39,1; 68,0; 125,9; 132,0; 169,8
3'	125,9	5,91	<i>dd</i> (15,6; 6,0)	5,47; 6,15	70,9; 135,8
4'	132,0	6,15 (<i>d</i>)	<i>d</i> (15,6)	5,92	70,9; 126,4
Metoxila	51,6	3,65	<i>s</i>	-	171,7
Metoxila	56,5	3,01	<i>s</i>	-	74,0
1''	135,8	-	-	-	
2'' e 6''	126,4	7,14	<i>dl</i> (8,0)		132,0
4''	127,9	7,21	<i>tl</i> (8,0)		126,4
3'' e 5''	128,4	7,25	<i>tl</i> (8,0)		135,8
	169,8	-	-	-	
	170,1	-	-	-	
	57,5	3,4	<i>s</i>		82,2
	57,6	3,46	<i>s</i>		82,4
	82,2	4,73	<i>s</i>		57,5; 127,3; 136,2
	82,4	4,82	<i>s</i>		57,6; 127,4; 136,0
	127,3	7,45	<i>dl</i> (8,0)		82,2
	127,4	7,43	<i>dl</i> (8,0)		82,4
	128,6	7,32-7,39	<i>tl</i> (8,0)		
	128,7	7,32-7,40	<i>tl</i> (8,0)		127,4; 136,2
	128,7	7,32-7,41	<i>tl</i> (8,0)		128,7
	128,7	7,32-7,42	<i>tl</i> (8,0)		
	136,2	-	-	-	
	136,3	-	-	-	

Anexo 121 - Espectro de RMN de ^1H da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

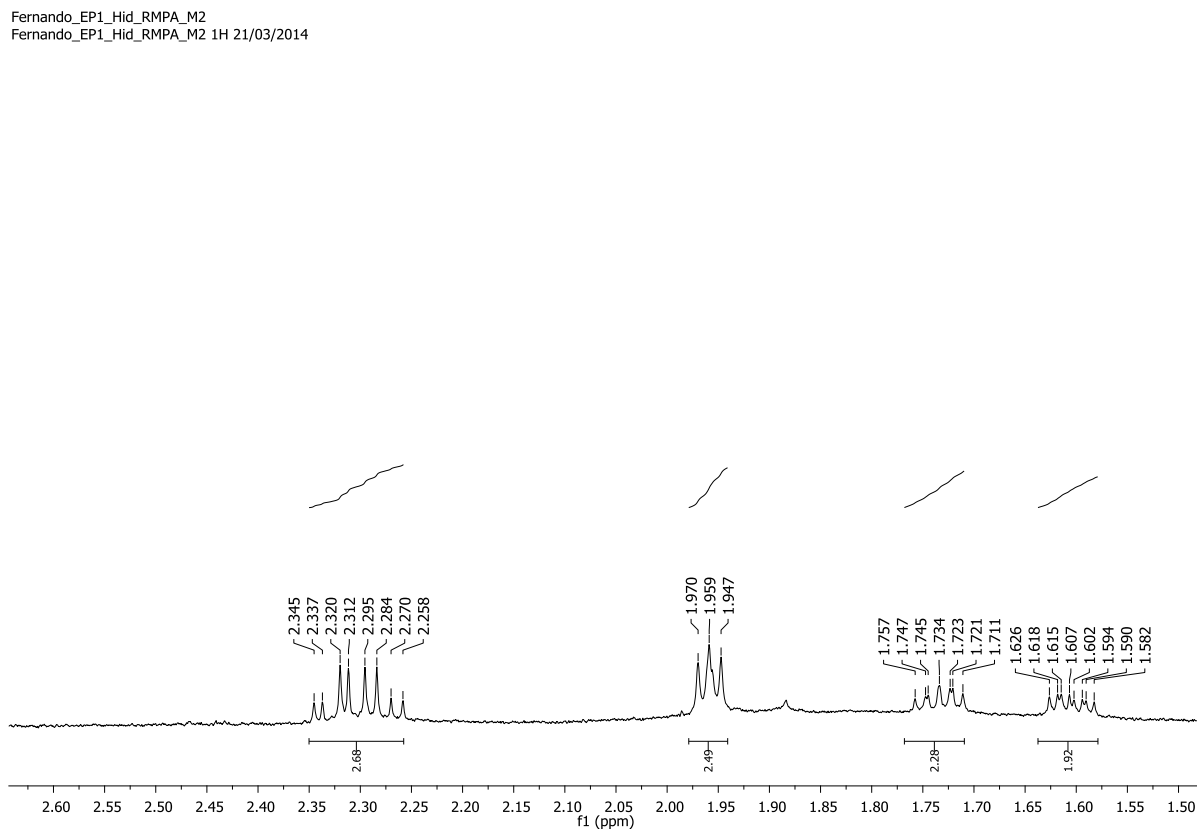
Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2

Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2 1H 21/03/2014



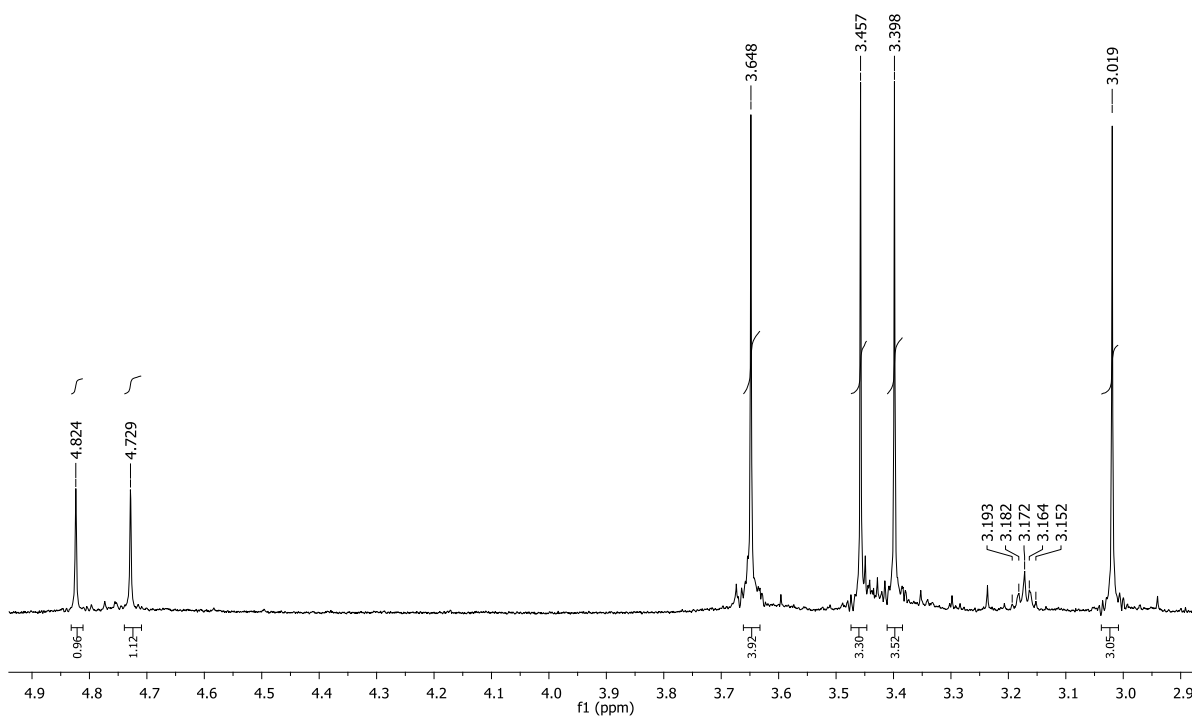
Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2

Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2 1H 21/03/2014

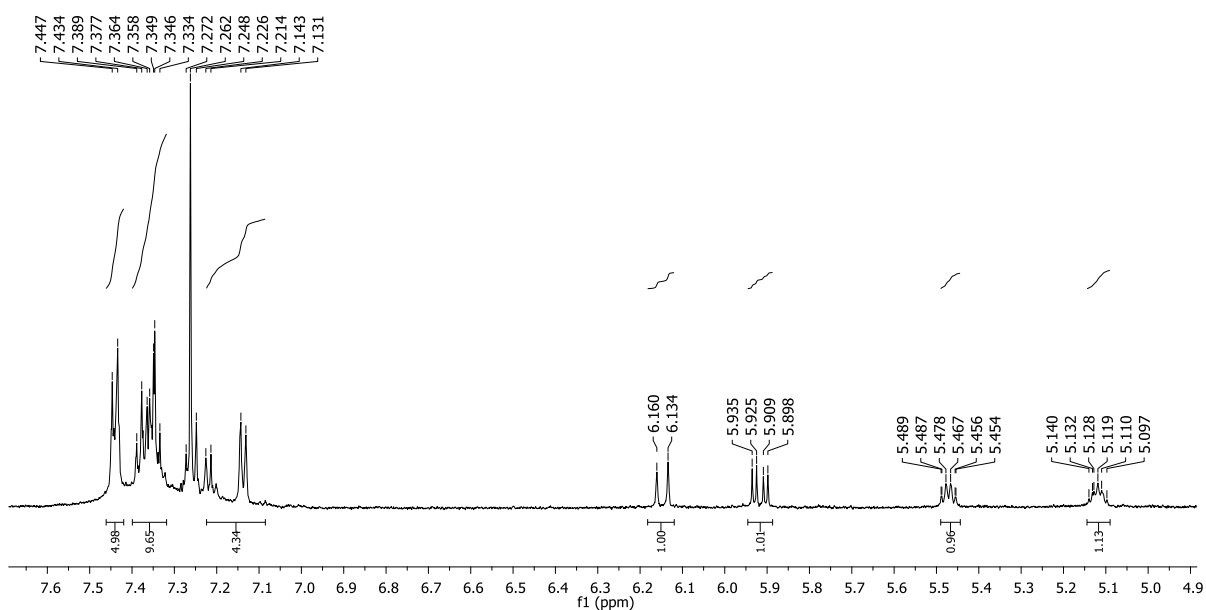


Anexo 122 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância desacetilriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2
Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2 1H 21/03/2014

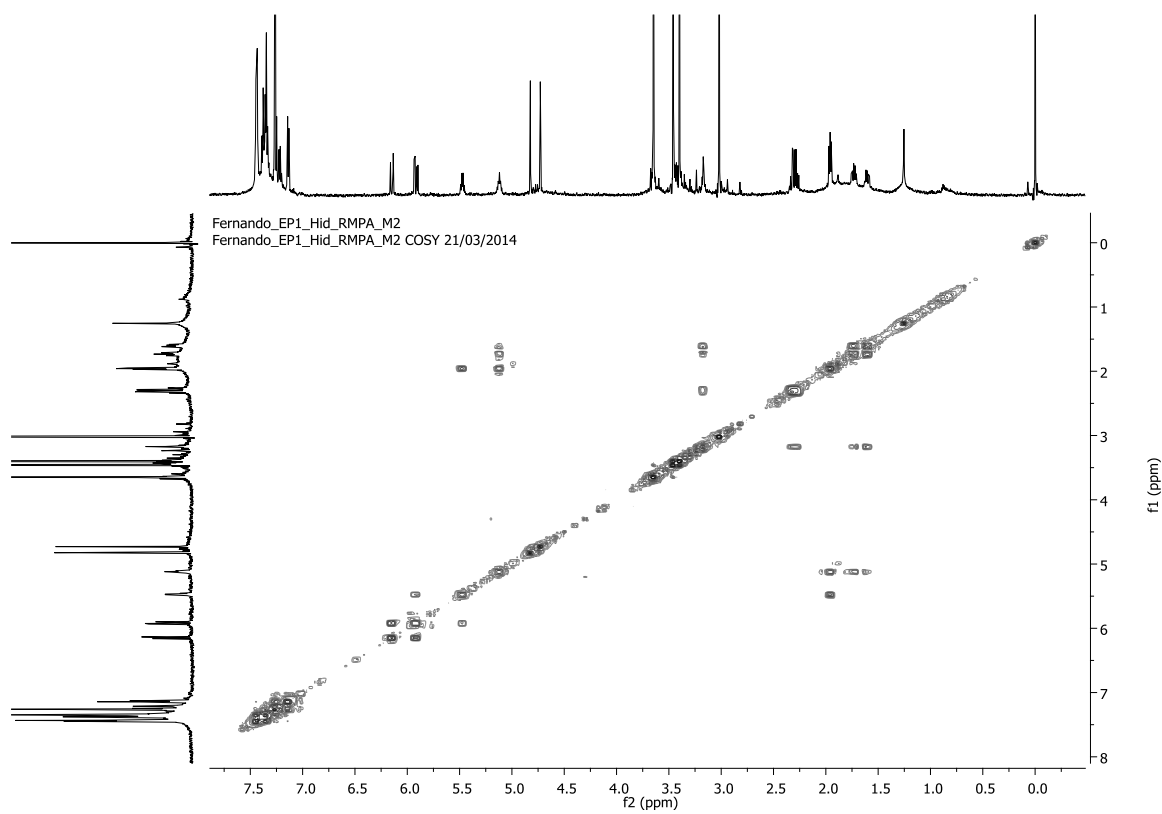
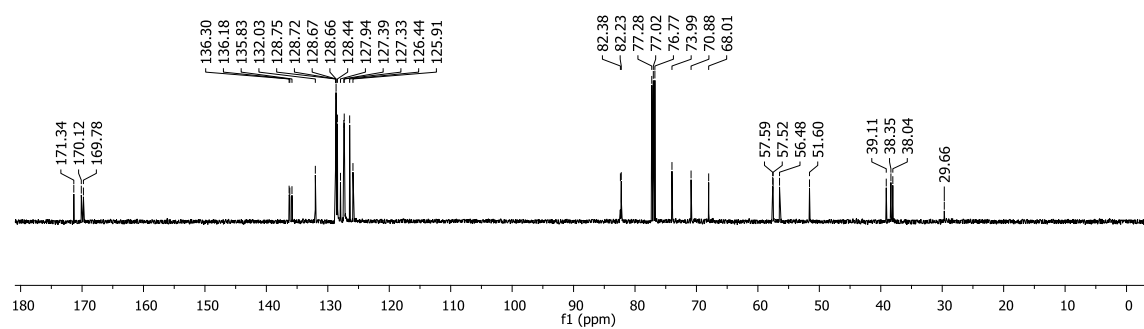


Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2
Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2 1H 21/03/2014

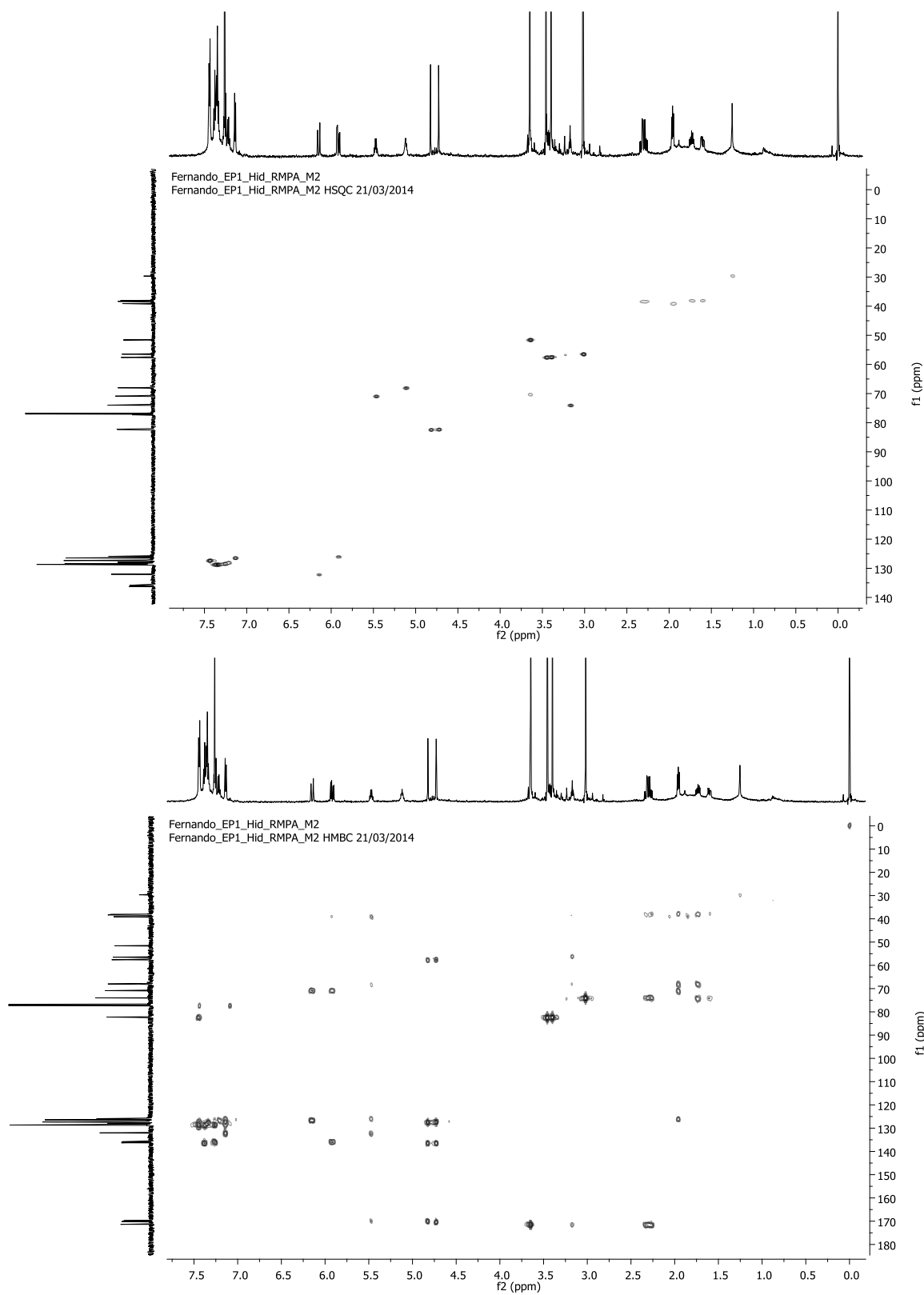


Anexo 123 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 500 MHz e mapa de contorno COSY da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e de formação do acetonídeo (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando_EP1_Hid_RMPA_M2_13C
Std carbon



Anexo 124 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância desacetilriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

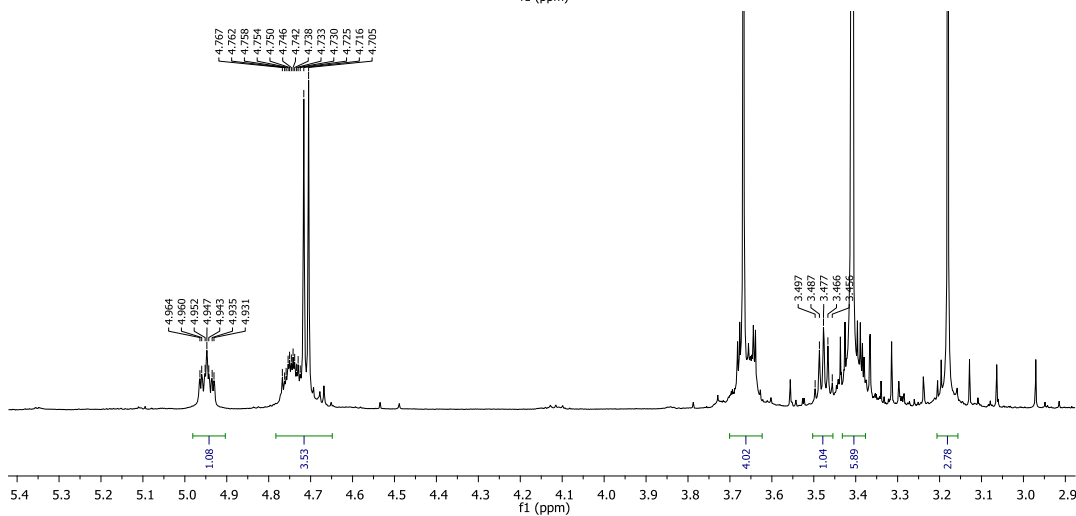
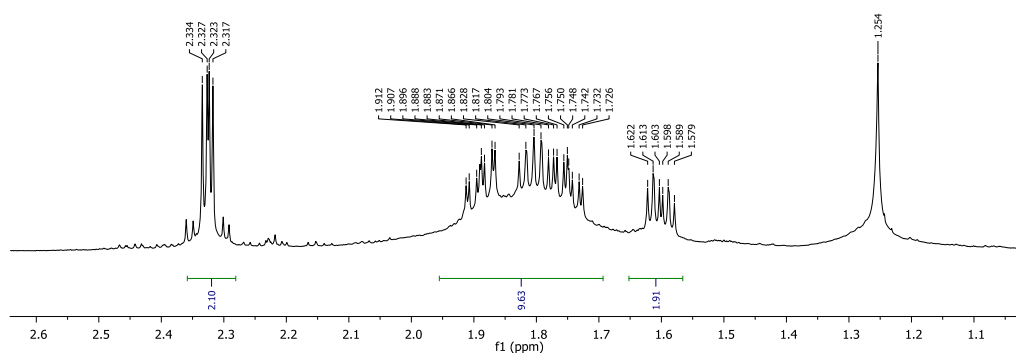
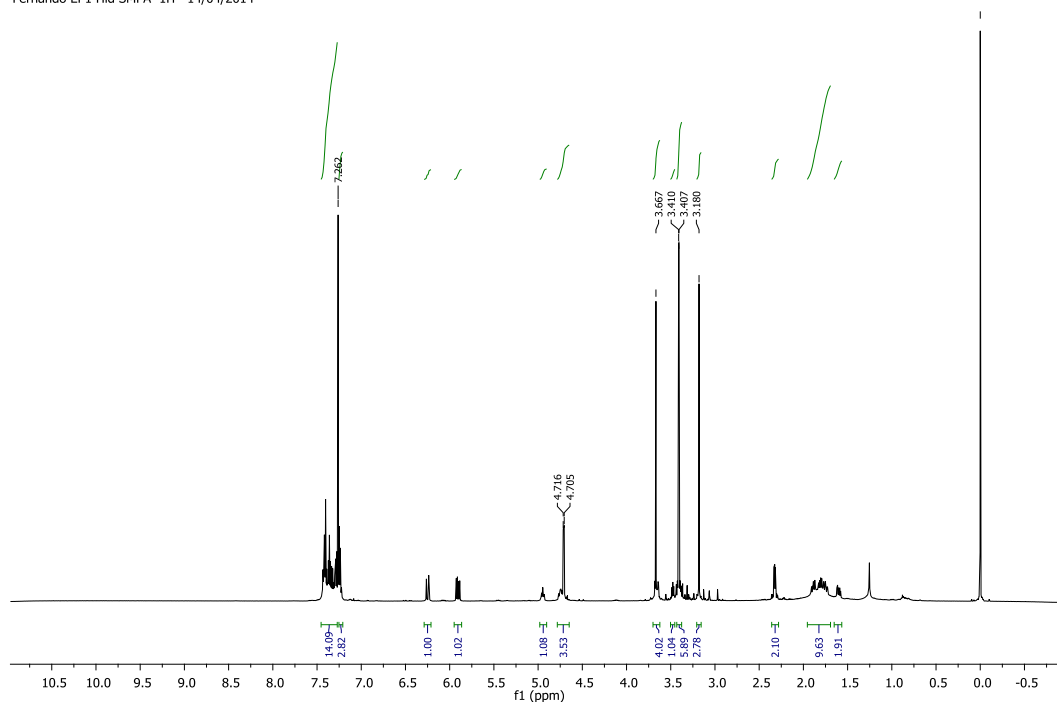


Anexo 125 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a desacetilcriptocarialactona (1) após reações de hidrólise e com S-MPA.

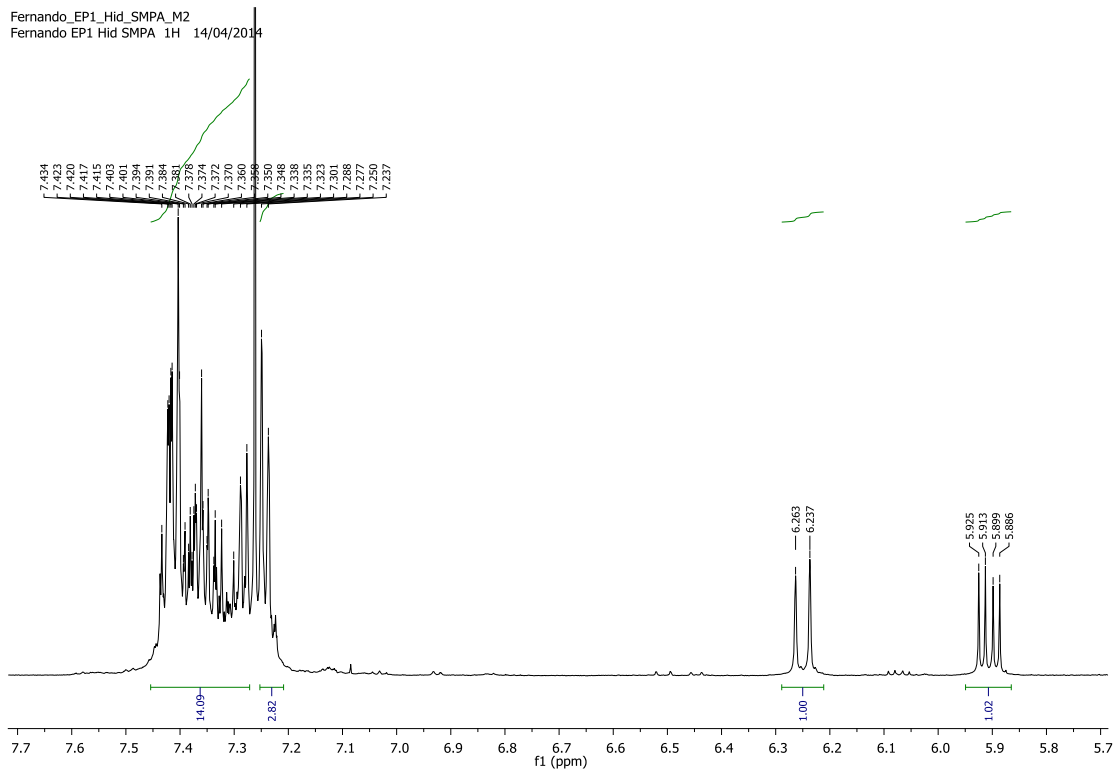
(-)-Desacetilcriptocarialactona HID S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	171,5	-	-	-	
3	38,5	2,31 2,34	<i>dd</i> (6,6; 15,6) <i>dd</i> (6,0; 15,6)		38,16; 74,50; 171,55
4	74,5	3,48	<i>dddd</i> (6,0)		38,50; 74,50; 56,66; 68,59; 171,60
5	38,16	1,60 1,80	<i>ddd</i> (14,4; 6,6; 5,4) <i>ddd</i> (14,4; 7,2; 6,0)	4,75	38,50; 68,59; 74,50
6	68,59	4,75	<i>m</i>	1,60; 1,80; 1,75; 1,89	
1'	39,36	1,71 1,89	<i>ddd</i> (14,4; 9,6; 3,9) <i>ddd</i> (14,4; 9,6; 3,0)	4,75; 4,95	71,68
2'	71,68	4,95	<i>dddd</i> (0,6; 3,0; 7,0; 10,0)	5,91; 1,75; 1,89	126,12; 133,35; 169,75; 68,59
3'	126,12	5,91	<i>dd</i> (15,6; 7,2)	6,25; 4,95	39,36; 71,68; 135,97
4'	133,35	6,25	<i>d</i> (15,6)	5,91	71,68; 126,60; 135,97
Metoxila	51,66	3,67	<i>s</i>	-	171,6
Metoxila	56,67	3,18	<i>s</i>	-	74,5
1''	136,0	-	-	-	
2'' e 6''	126,6	7,25	<i>dl</i> (8,0)		133,3
4''	128,5	7,29	<i>tl</i> (8,0)		136,0
3'' e 5''	128,1	7,24	<i>tl</i> (8,0)		128,5; 126,6
	169,62	-	-	-	
	169,95	-	-	-	
	57,38	3,4	<i>s</i>	-	82,6
	57,45	3,41	<i>s</i>	-	82,8
	82,65	4,71	<i>s</i>	-	57,4; 127,3; 136,2; 169,9
	82,76	4,72	<i>s</i>	-	57,4; 127,3; 136,2; 169,6
	127,35	7,43	<i>dl</i> (8,0)		82,8; 136,2
	127,35	7,42	<i>dl</i> (8,0)		82,8
	128,68	7,32-7,41	<i>tl</i> (8,0)		
	128,69	7,32-7,42	<i>tl</i> (8,0)		136,23
	128,77	7,32-7,43	<i>tl</i> (8,0)		
	128,78	7,40-7,41	<i>tl</i> (8,0)		
	136,2	-	-		
	136,25	-	-		

Anexo 126 - Espectro de RMN de ^1H da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

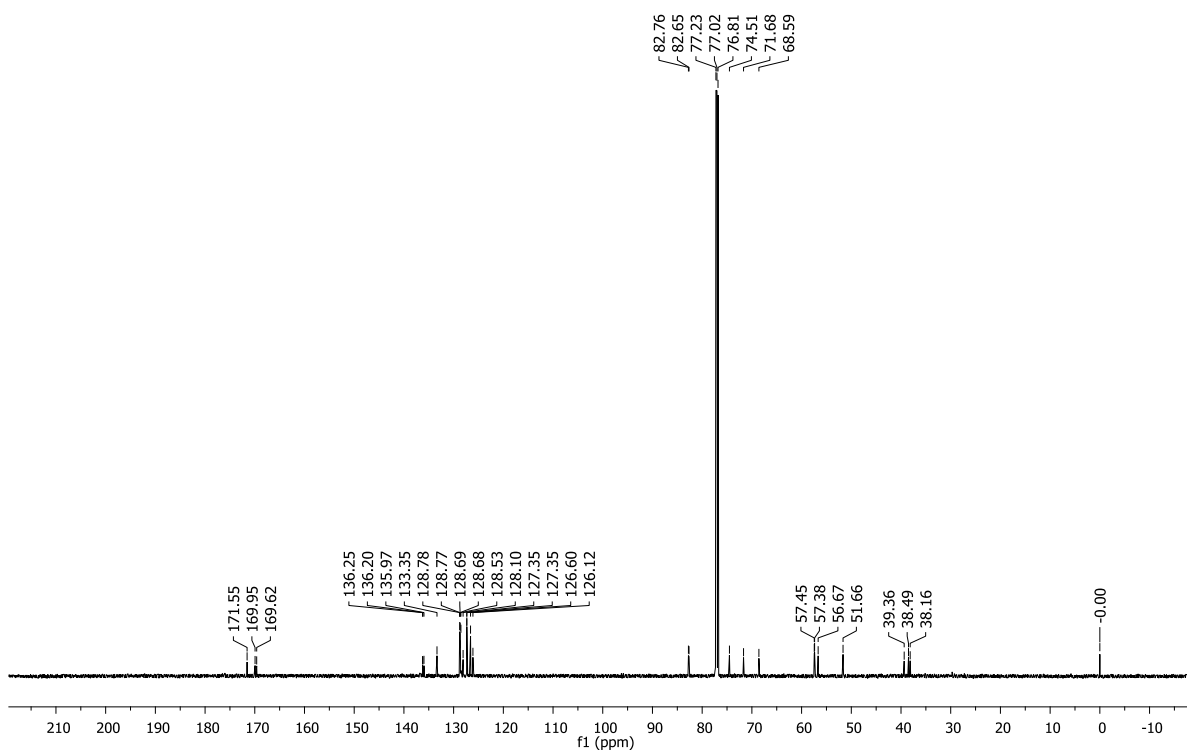
Fernando_EP1_Hid_SMPA_M2
Fernando EP1 Hid SMPA 1H 14/04/2014



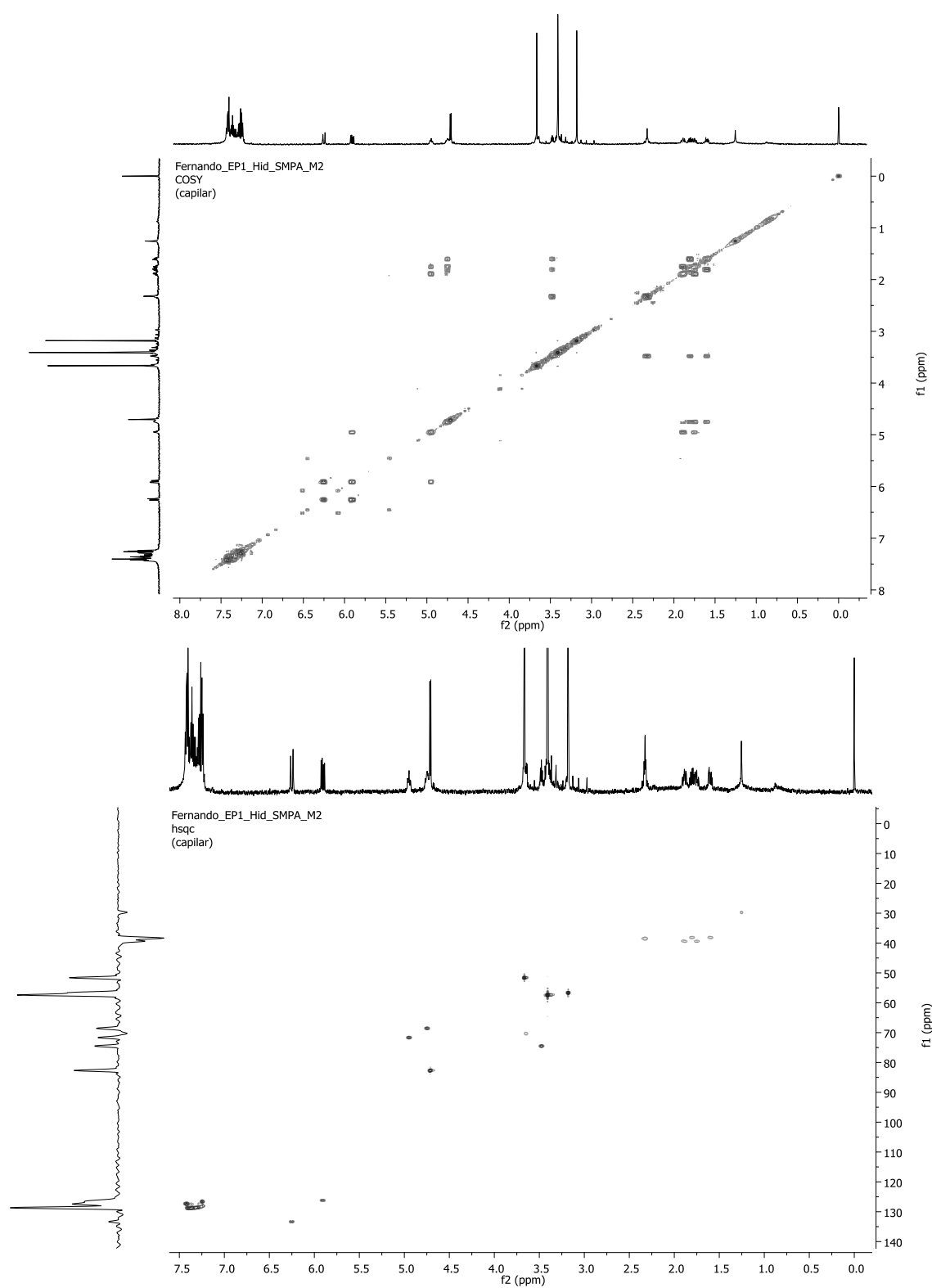
Anexo 127 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.



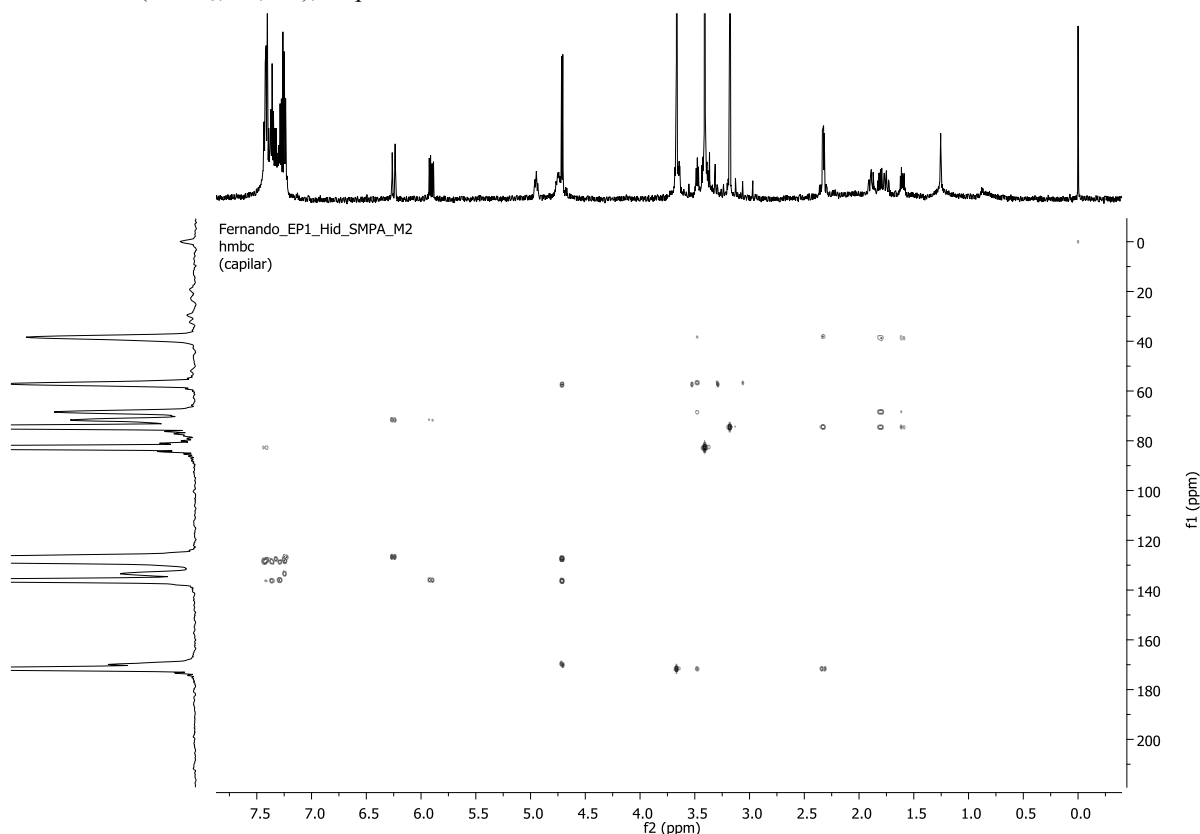
Fernando_EP1_Hid_SMPA_M2
Fernando EP1 Hid SMPA 13C 14/04/2014



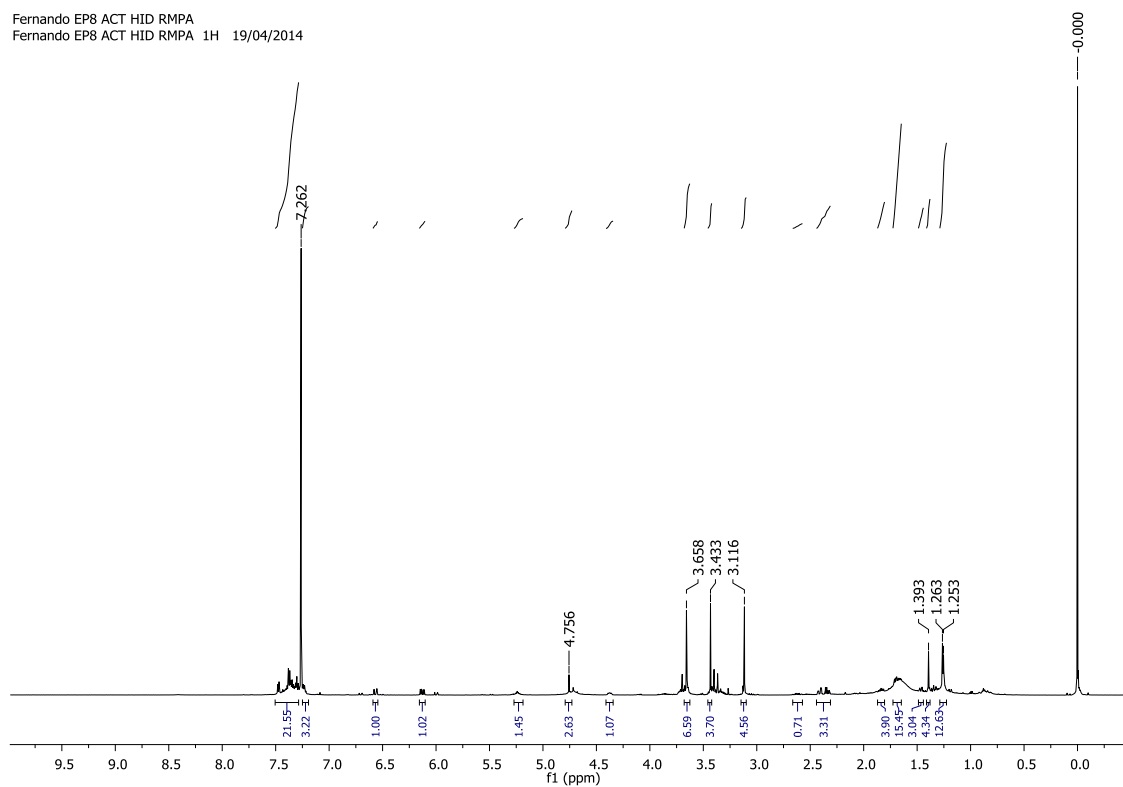
Anexo 128 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância desacetilcriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



Anexo 129 - Mapa de contorno HMBC da substância desacetilriptocarialactona (1) após reação de hidrólise e com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



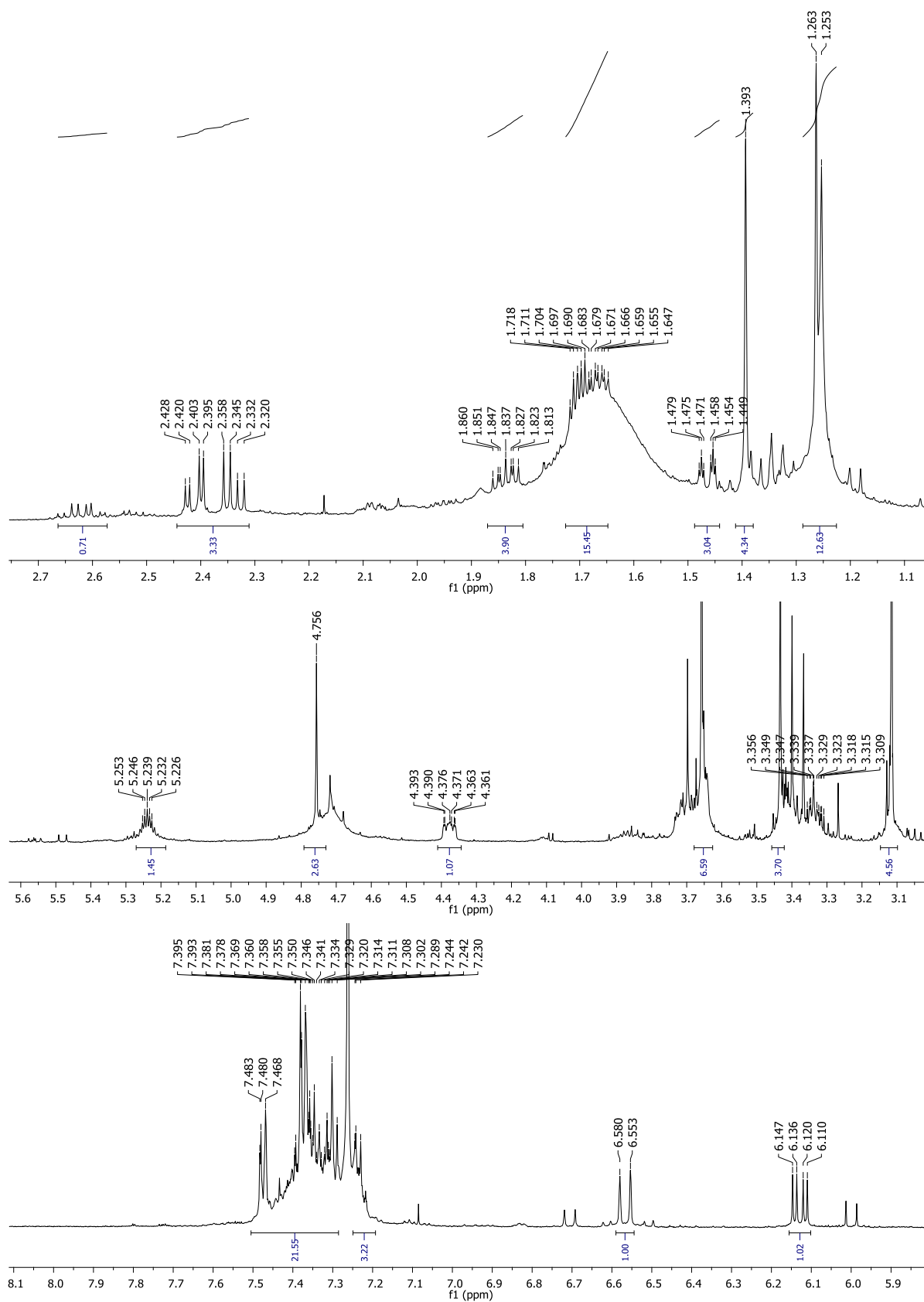
Anexo 130 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação de formação do acetonídeo seguida de hidrólise e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.



Anexo 131 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona D1 (2) após reações de acetnídeo, hidrólise e com R-MPA.

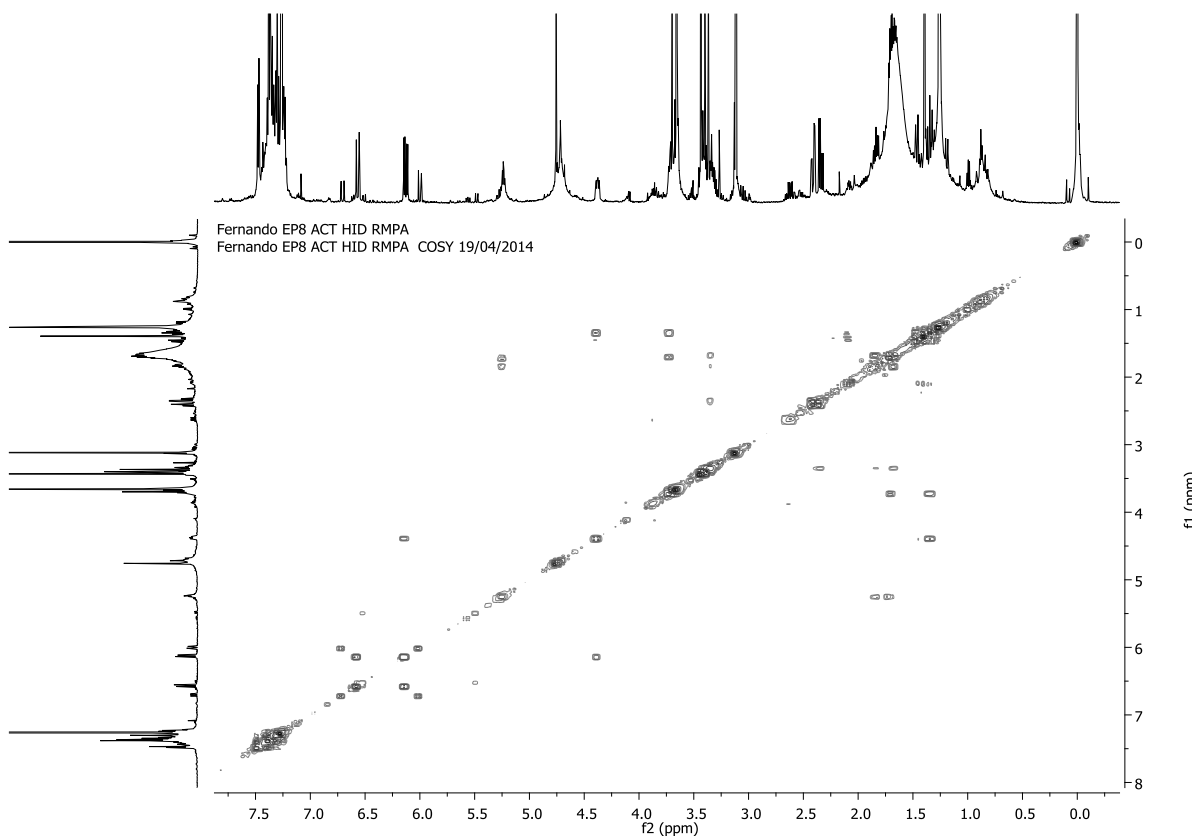
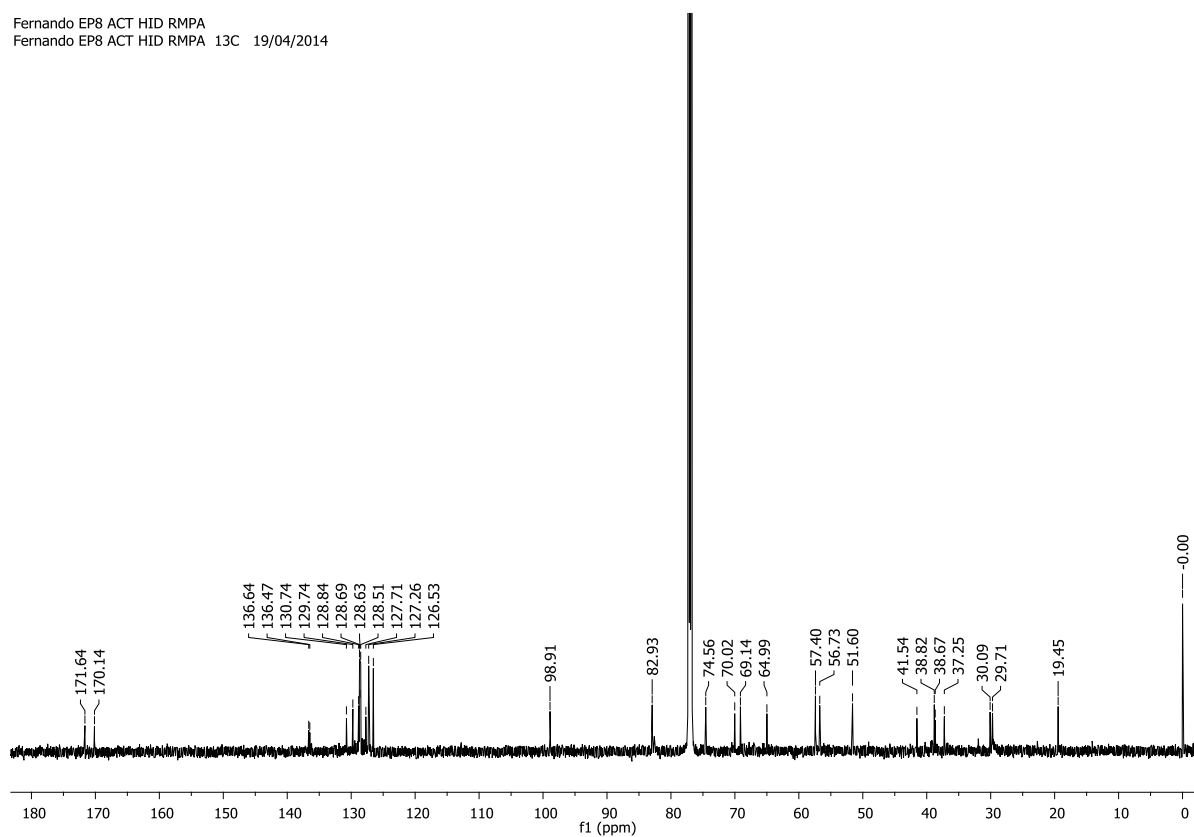
(-)-Criptomoscatoona D1 ACT HID R-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	171,6		-	-	
3	38,8	2,34 2,41	<i>dd</i> (7,2; 15,0) <i>dd</i> (7,2; 15,0)		38,7; 74,6; 171,6
4	74,6	3,33	<i>dddd</i> (6,0)	1,67; 1,80; 2,34	
5	38,7	1,67 1,83	<i>ddd</i> (14,4; 7,2; 4,8) <i>ddd</i> (14,4; 7,8; 5,4)	5,24; 3,33	38,8; 69,1; 74,6
6	69,1	5,24	<i>dddd</i> (4,2)	1,67; 1,83; 1,70	
1'	41,5	1,70 1,73	<i>ddd</i> (14,4; 8,4; 4,2) <i>ni</i>	3,71; 5,26	
2'	65,0	3,71	<i>m</i>	1,33; 1,46; 1,70	
3'	37,2	1,33 1,46	<i>m</i> <i>dt</i> (12,6; 2,4)	4,37	
4'	70,0	4,37	<i>ddd</i> (12,0; 6,0; 2,4)	1,33; 1,46	
5'	129,7	6,13	<i>dd</i> (16,2; 6,6)	6,57; 4,39	136,6; 126,5
6'	130,7	6,57	<i>d</i> (16,2)	6,13	70,0
Metoxila	51,6	3,66	<i>s</i>	-	171,6
Metoxila	56,7	3,12	<i>s</i>	-	74,6
Metila	19,4	1,26	<i>s</i>	-	30,1; 98,9
Metila	30,1	1,39	<i>s</i>	-	19,4; 98,9
Cetal	98,9	-	-	-	65,0; 70,0
1''	136,6	-	-	-	
2'' e 6''	126,5	7,37-7,38	<i>dl</i> (7,2)		129,7
4''	127,7	7,23-7,24	<i>tl</i> (7,2)		126,5
3'' e 5''	128,5	7,3	<i>tl</i> (7,2)		136,6
	170,1	-	-		
	57,4	3,43	<i>s</i>		82,9
	82,9	4,76	<i>s</i>		170,1; 57,4; 127,3; 136,5
	127,3	7,47-7,48	<i>dl</i> (7,2)		82,9; 128,6
	128,8	7,34	<i>tl</i> (7,2)		
	128,7	7,37	<i>tl</i> (7,2)		127,3; 136,5
	136,5	-	-		

Anexo 132 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação de formação do acetonídeo seguida de hidrólise e com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz.

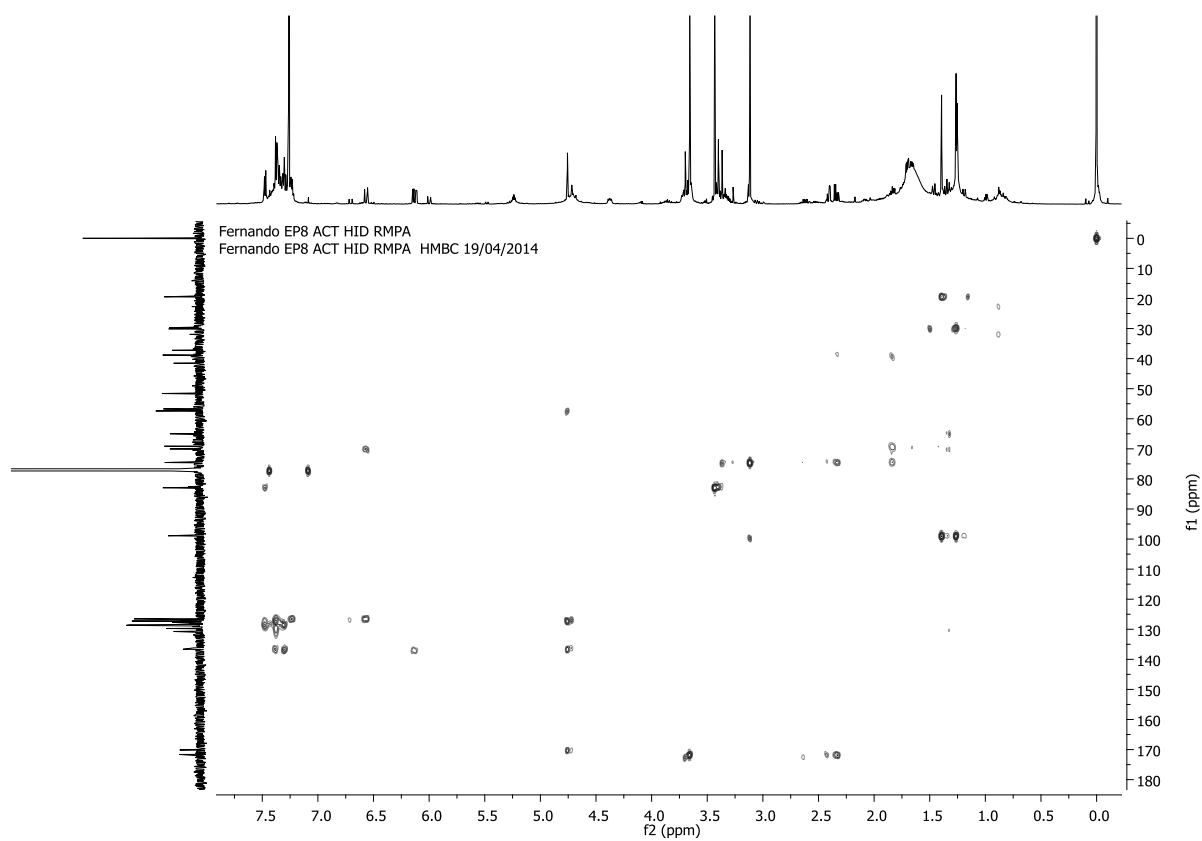
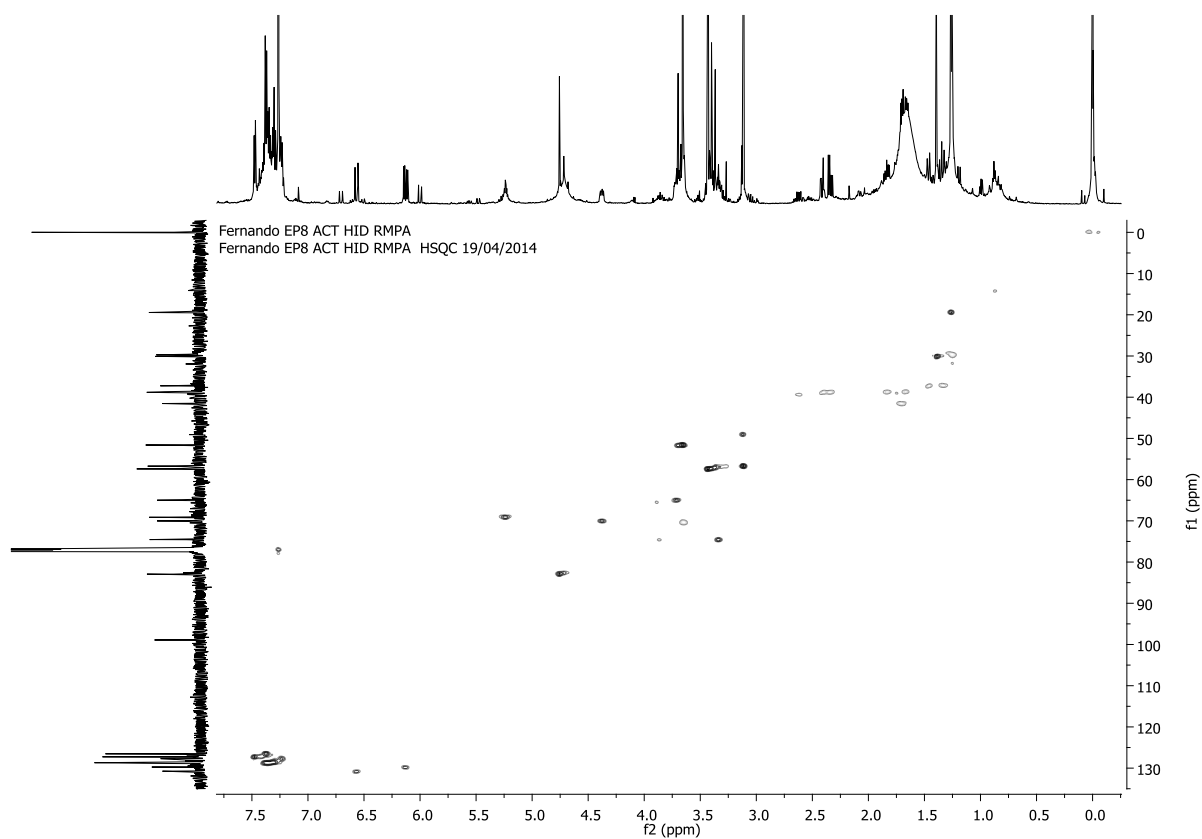


Anexo 133 - Espectro de RMN de ^{13}C e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoana D1 (2) após reação de formação do acetonídeo seguida de hidrólise e com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando EP8 ACT HID RMPA
Fernando EP8 ACT HID RMPA ^{13}C 19/04/2014



Anexo 134 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação de formação do acetonídeo seguida de hidrólise e com *R*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.

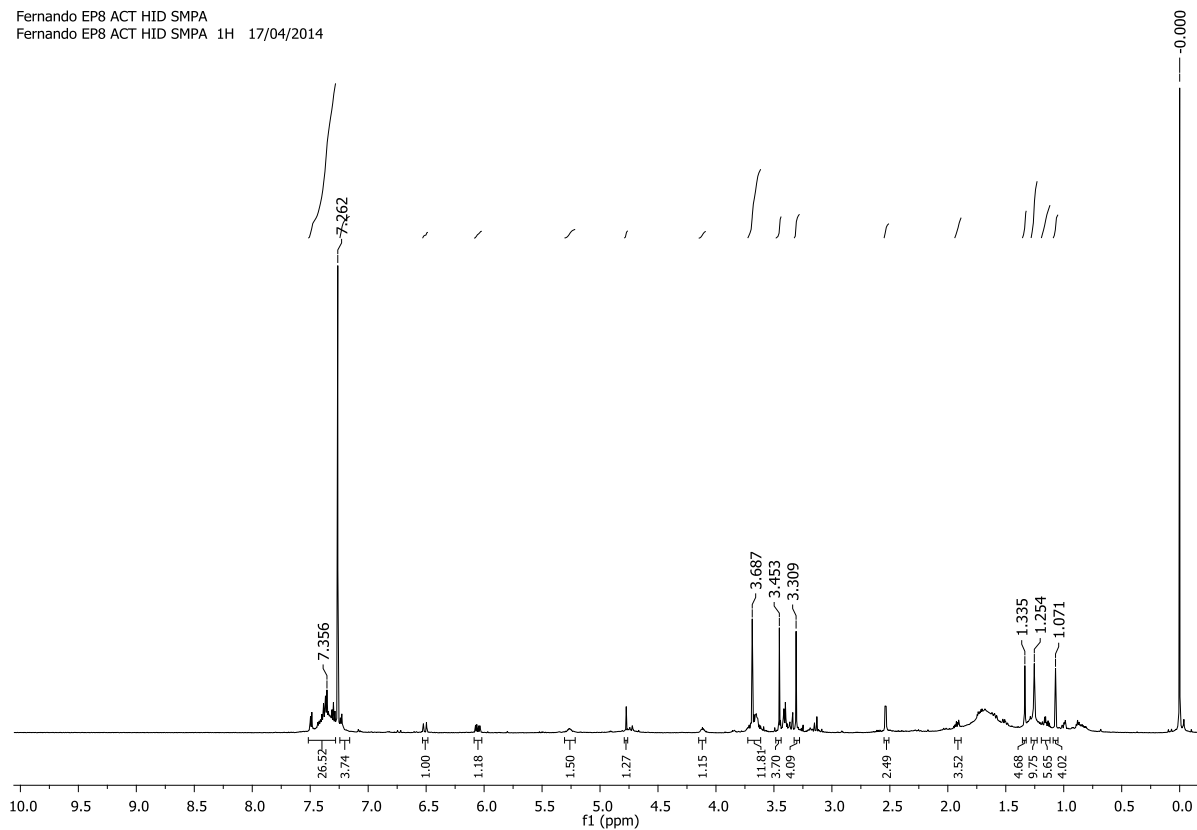


Anexo 135 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona D1 (2) após reações de acetonídeo, hidrólise e com S-MPA.

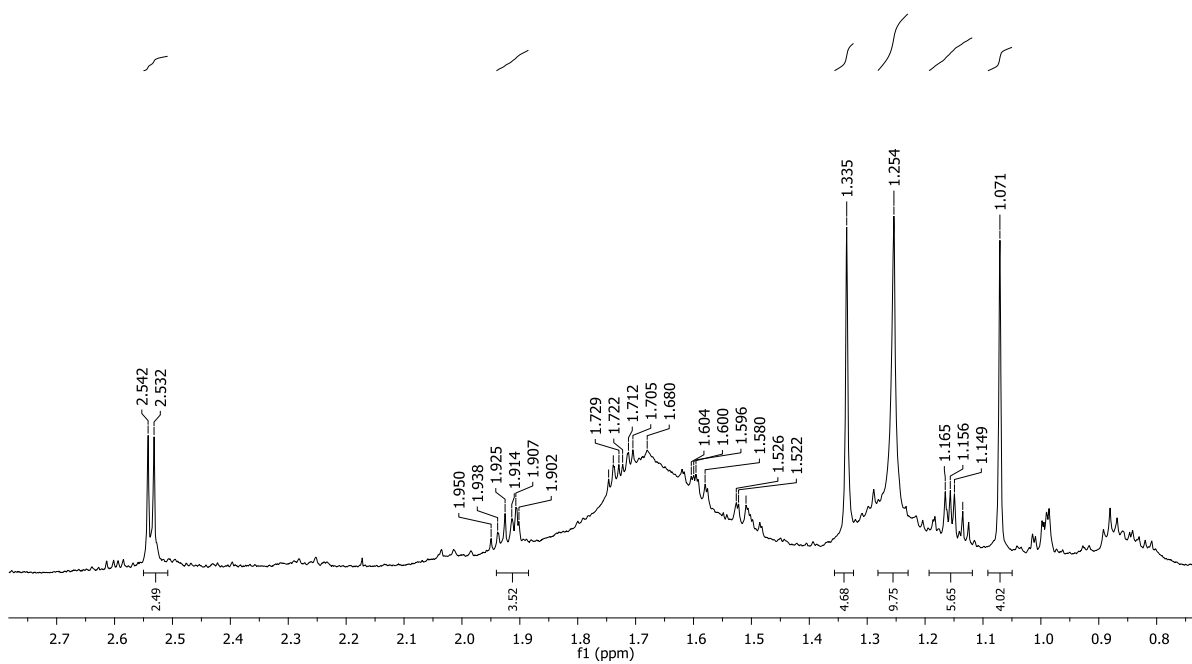
(-)-Criptomoscatoona D1 ACT HID S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	171,7	-	-	-	
3	38,9	2,54	<i>d</i> (6,0)	3,67	38,98; 75,04; 171,73
4	75,0	3,67	<i>m</i>		1,73; 1,92
5	39,0	1,72 1,92	<i>m</i> <i>m</i>	5,26; 3,68	39,89; 69,08; 75,04
6	69,1	5,26	<i>m</i>	1,51; 1,73; 1,92; 2,54	
1'	41,8	1,51 1,59	<i>m</i> <i>m</i>	5,26	69,08; 64,64
2'	64,6	3,18	<i>m</i>	1,16; 1,59	
3'	37,1	1,15 1,18	<i>m</i> <i>dt</i> (12,6; 2,4)	4,12; 3,18	64,64; 69,86
4'	69,9	4,14	<i>ddd</i> (12,0; 6,0; 2,4)	6,05; 1,15	
5'	129,8	6,05	<i>dd</i> (16,2; 6,6)	4,12; 6,51	136,65
6'	130,6	6,51	<i>d</i> (16,2)	6,05	69,86; 126,50
Metoxila	51,7	3,69	<i>s</i>	-	171,72
Metoxila	56,9	3,31	<i>s</i>	-	75,04
Metila	19,4	1,07	<i>s</i>	-	30,02; 98,85
Metila	30,0	1,34	<i>s</i>	-	19,37; 98,85
Cetal	98,8	-	-	-	
1''	136,6	-	-	-	
2'' e 6''	126,5	7,36-7,37	<i>dl</i> (7,8)		129,78
4''	127,7	7,23-7,24	<i>tl</i> (7,8)		126,5
3'' e 5''	128,5	7,29-7,31	<i>tl</i> (7,8)		136,65
	170,0	-	-	-	
	57,4	3,45	<i>s</i>	-	82,44
	82,4	4,77	<i>s</i>	-	38,96; 127,15; 170,00; 136,72
	127,1	7,49-7,50	<i>dl</i> (7,8)		82,44; 128,62
	128,6	7,37-7,38	<i>tl</i> (7,8)		127,15
	128,7	7,4	<i>tl</i> (7,8)		136,72
	136,7	-	-	-	

Anexo 136 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação de formação do acetoneo seguida de hidrólise e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

Fernando EP8 ACT HID SMPA
Fernando EP8 ACT HID SMPA 1H 17/04/2014

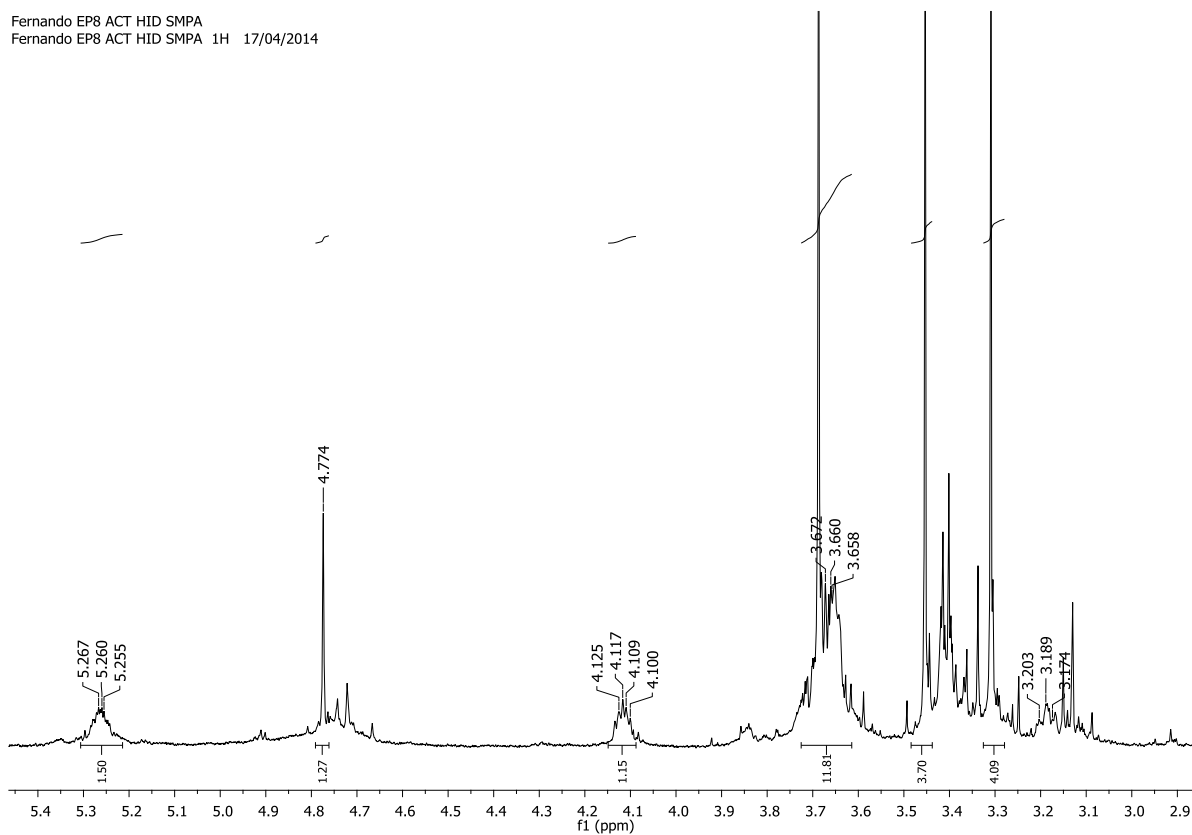


Fernando EP8 ACT HID SMPA
Fernando EP8 ACT HID SMPA 1H 17/04/2014

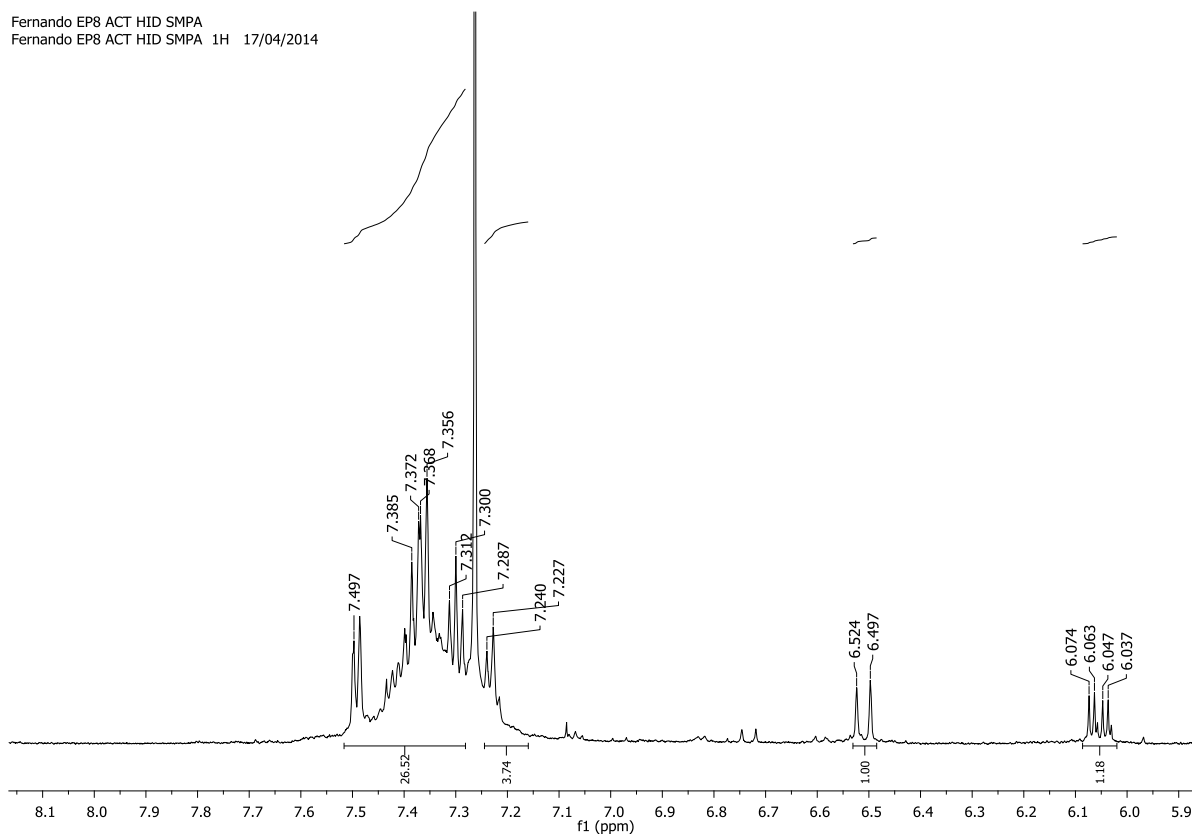


Anexo 137 – Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação de formação do acetonídeo seguida de hidrólise e com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente

Fernando EP8 ACT HID SMPA
Fernando EP8 ACT HID SMPA 1H 17/04/2014

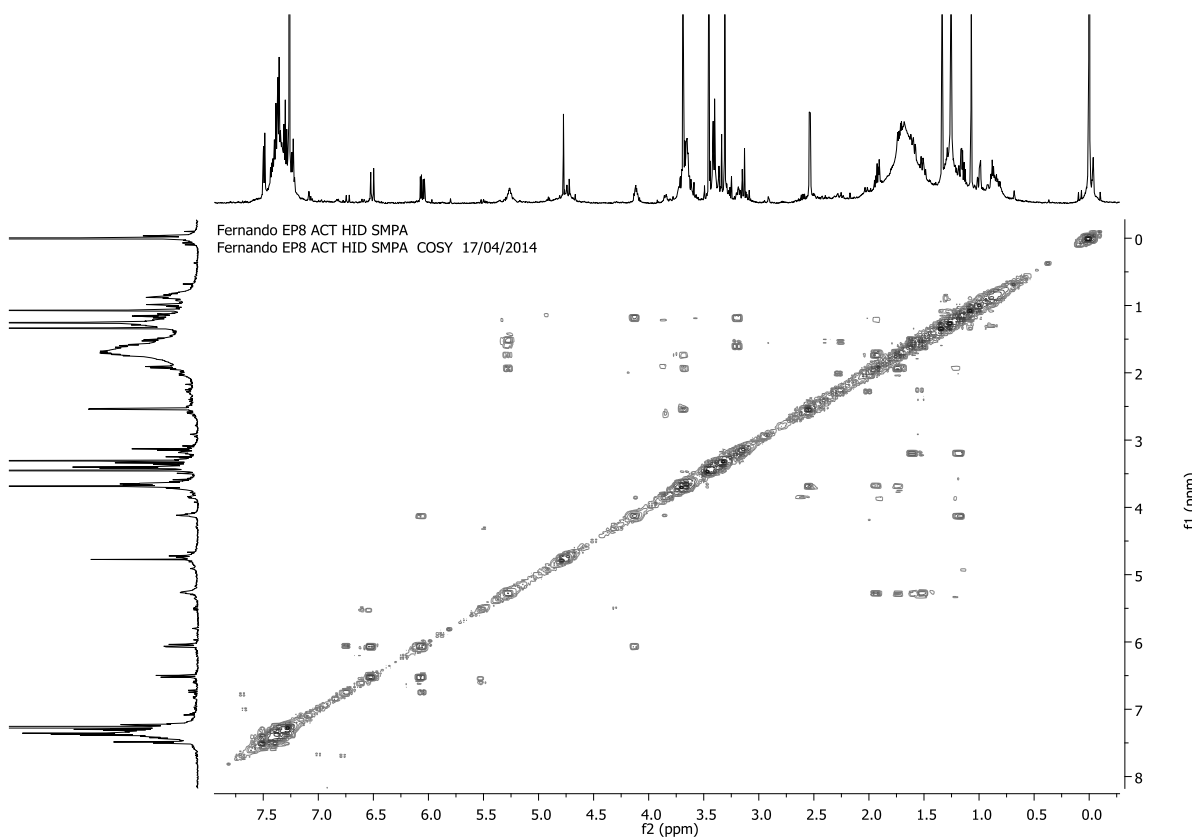
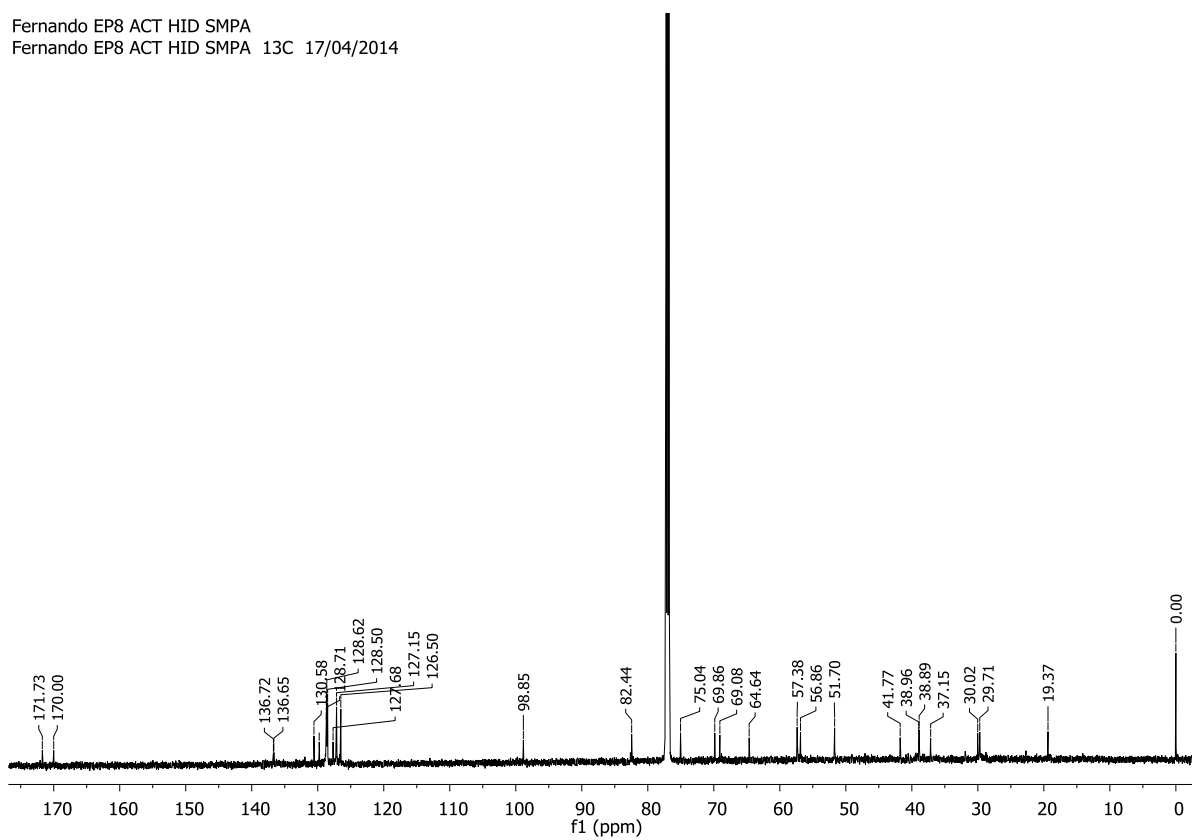


Fernando EP8 ACT HID SMPA
Fernando EP8 ACT HID SMPA 1H 17/04/2014

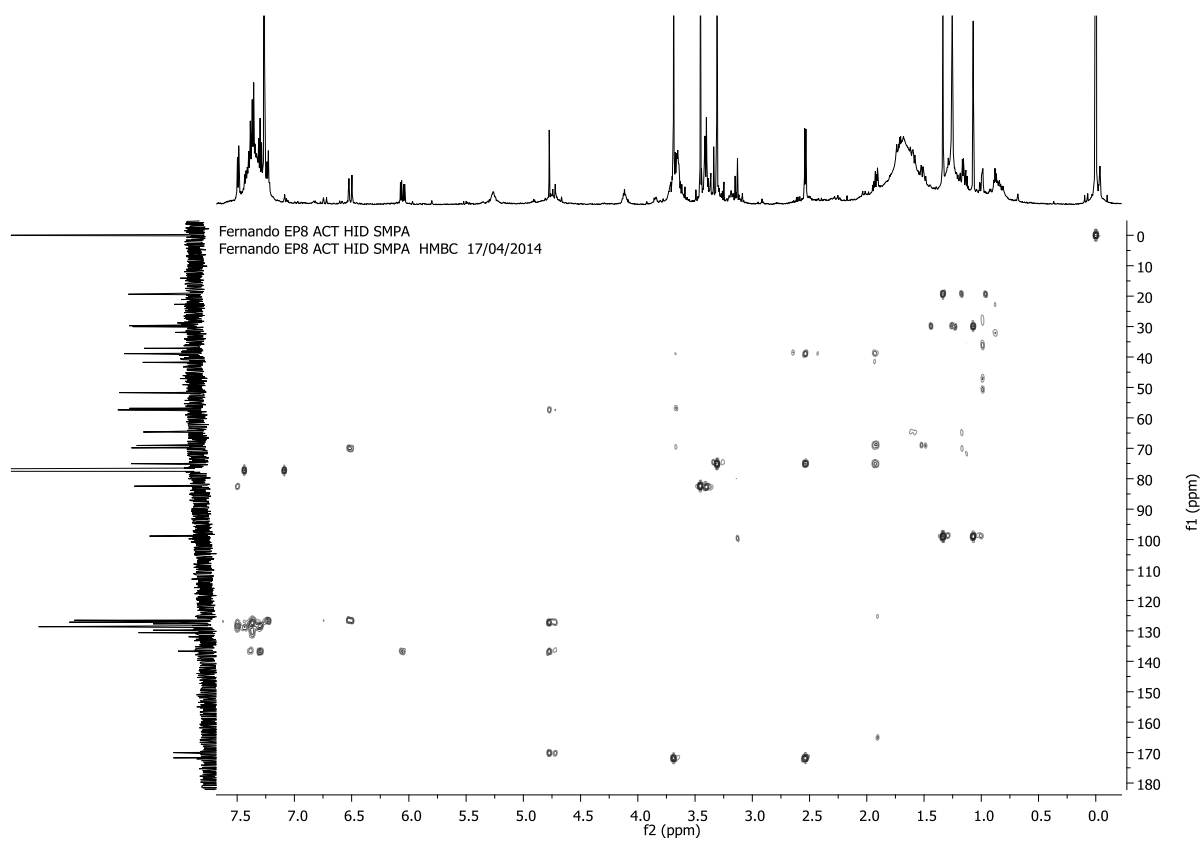
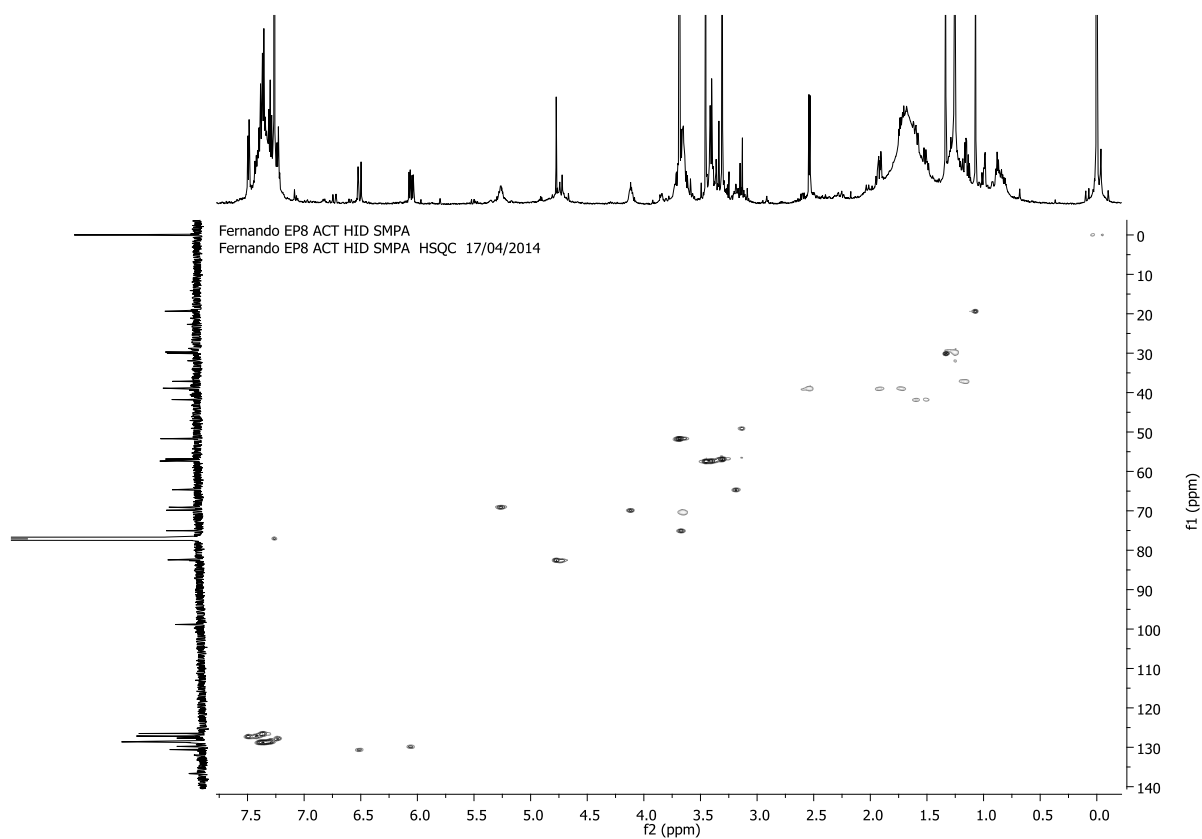


Anexo 138 - Espectro de RMN de ^{13}C e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoana D1 (2) após reação de formação do acetonídeo seguida de hidrólise e com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando EP8 ACT HID SMPA
Fernando EP8 ACT HID SMPA ^{13}C 17/04/2014

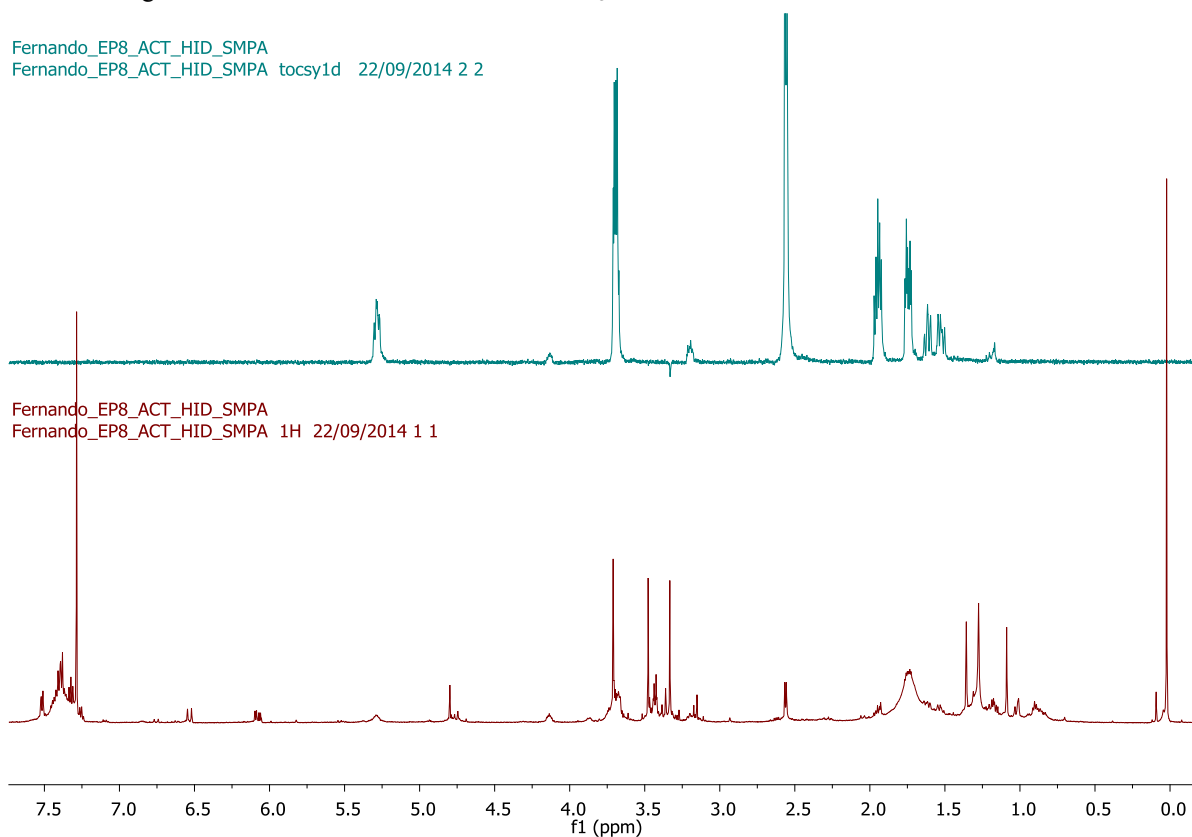


Anexo 139 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoa D1 (2) após reação de formação do acetonídeo seguida de hidrólise e com *S*-MPA (CDCl₃, 14,1 T), respectivamente.



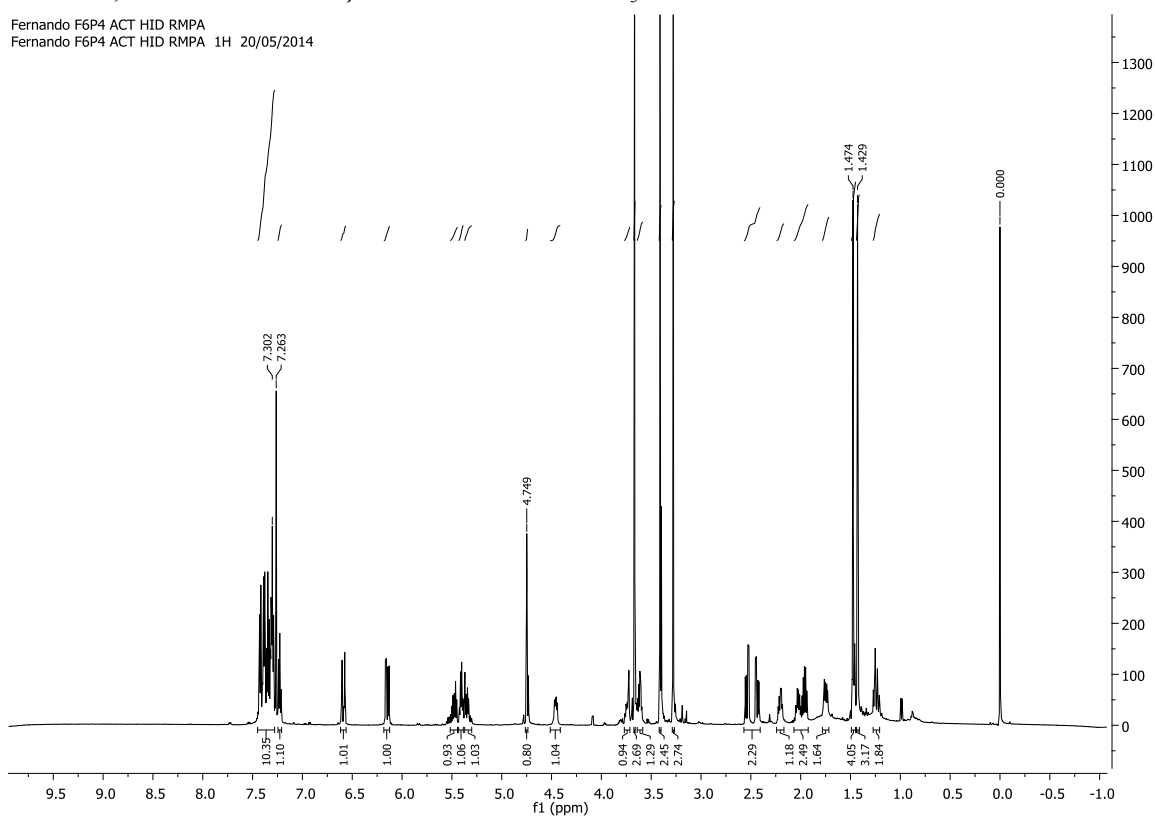
Anexo 140 - Mapa de contorno TOCSY da substância criptomoscatoona D1 (2) após reação de formação do acetônio seguida de hidrólise e com *S*-MPA em CDCl_3 .

Fernando_EP8_ACT_HID_SMPA
Fernando_EP8_ACT_HID_SMPA tocsy1d 22/09/2014 2 2



Anexo 141 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoona E1 (4) após reação para formação do acetônio, hidrólise e esterificação com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz.

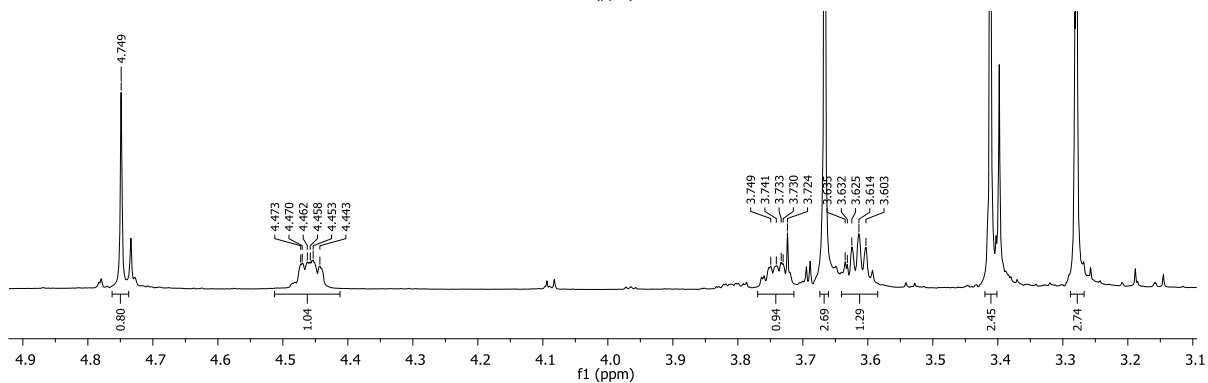
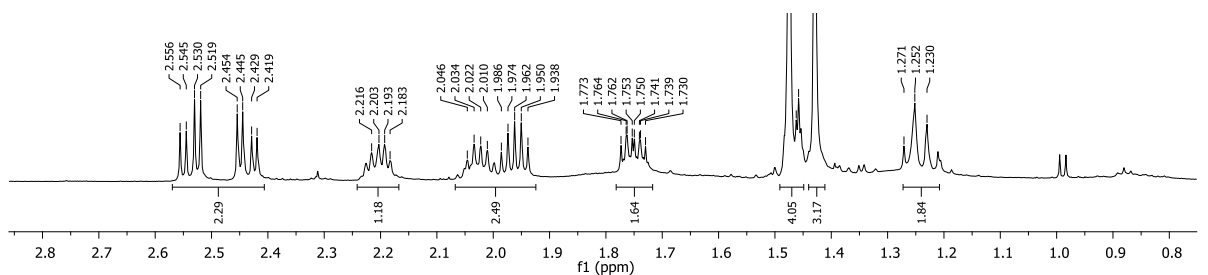
Fernando F6P4 ACT HID RMPA
Fernando F6P4 ACT HID RMPA 1H 20/05/2014



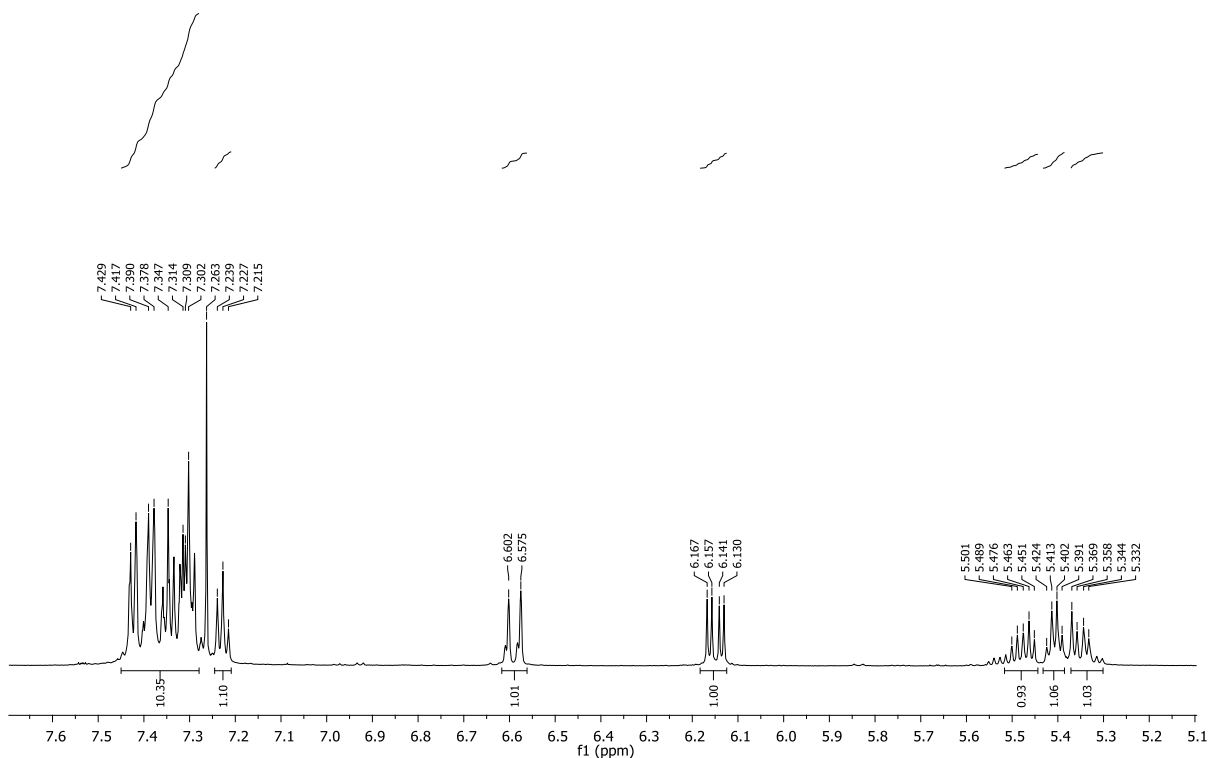
Anexo 142 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E1 (4) após reações de acetonídeo, hidrólise e com *R*-MPA.

Criptomoscatoona E1 ACT HID <i>R</i> -MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	171,6		-	-	
3	38,8	2,44; 2,54	<i>dd</i> (6,6; 15,6) <i>dd</i> (6,0; 15,6)		38,7; 74,5; 171,6
4	74,5	3,61	<i>dddd</i> (6,0)	1,75; 1,96, 2,24	38,8; 38,7; 72,5; 56,1; 171,6
5	38,7	1,75 1,94	<i>ddd</i> (13,8; 6,6; 5,4) <i>ddd</i> (14,4; 7,2; 7,2)	5,41; 3,74	38,7; 72,5; 74,5; 129,8
6	72,5	5,41	<i>ddd</i> (6,6)	1,75; 1,96	38,7; 74,3; 129,8; 169,7
1'	129,8	5,35	<i>dd</i> (15,0; 6,6)		39,1; 72,5; 129,8
2'	129,8	5,48	<i>dt</i> (15,0; 3,0)	2,03; 2,20	72,5; 129,8; 38,8
3'	39,1	2,03 2,20	<i>ddd</i> (14,4; 7,2; 7,2) <i>ddd</i> (14,4; 6,0; 6,0)	5,48; 3,74	36,5; 68,2; 129,8
4'	68,2	3,74	<i>dddd</i> (11,0; 6,5; 6,5; 2,4)	1,24; 2,03; 2,20	
5'	36,5	1,24 1,46	<i>m</i> <i>dt</i> (12,5; 2,4)		39,1; 68,2; 70,0; 129,8
6'	70,0	4,45	<i>m</i>		129,8
7'	129,8	6,15	<i>dd</i> (16,2; 6,0)	6,40; 4,45	36,5; 70,0; 136,7
8'	130,7	6,59	<i>d</i> (16,2)	6,15	70,0; 126,5; 136,7
Metoxila	51,7	3,67	<i>s</i>	-	171,6
Metoxila	56,8	3,28	<i>s</i>	-	74,3
Metila	19,8	1,47	-	-	30,2; 98,7
Metila	30,2	1,43	-	-	19,6; 98,7
Cetal	98,7	-	-	-	
1''	136,7	-	-	-	
2'' e 6''	126,5	7,38-7,39	<i>dl</i> (7,2)		130,7
4''	127,7	7,22-7,24	<i>tl</i> (7,2)		126,5
3'' e 5''	128,5	7,3	<i>tl</i> (7,2)		136,7
	169,7	-	-	-	
	57,4	3,41	<i>s</i>	-	82,6; 169,7
	82,6	4,75	<i>s</i>	-	57,4; 127,1; 136,2
	127,2	7,42-7,43	<i>dl</i> (7,2)		82,6
	128,5	7,31	<i>tl</i> (7,2)		
	128,7	7,34-7,36	<i>tl</i> (7,2)		136,2; 128,5
	136,2	-	-	-	

Anexo 143 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E1 (4) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

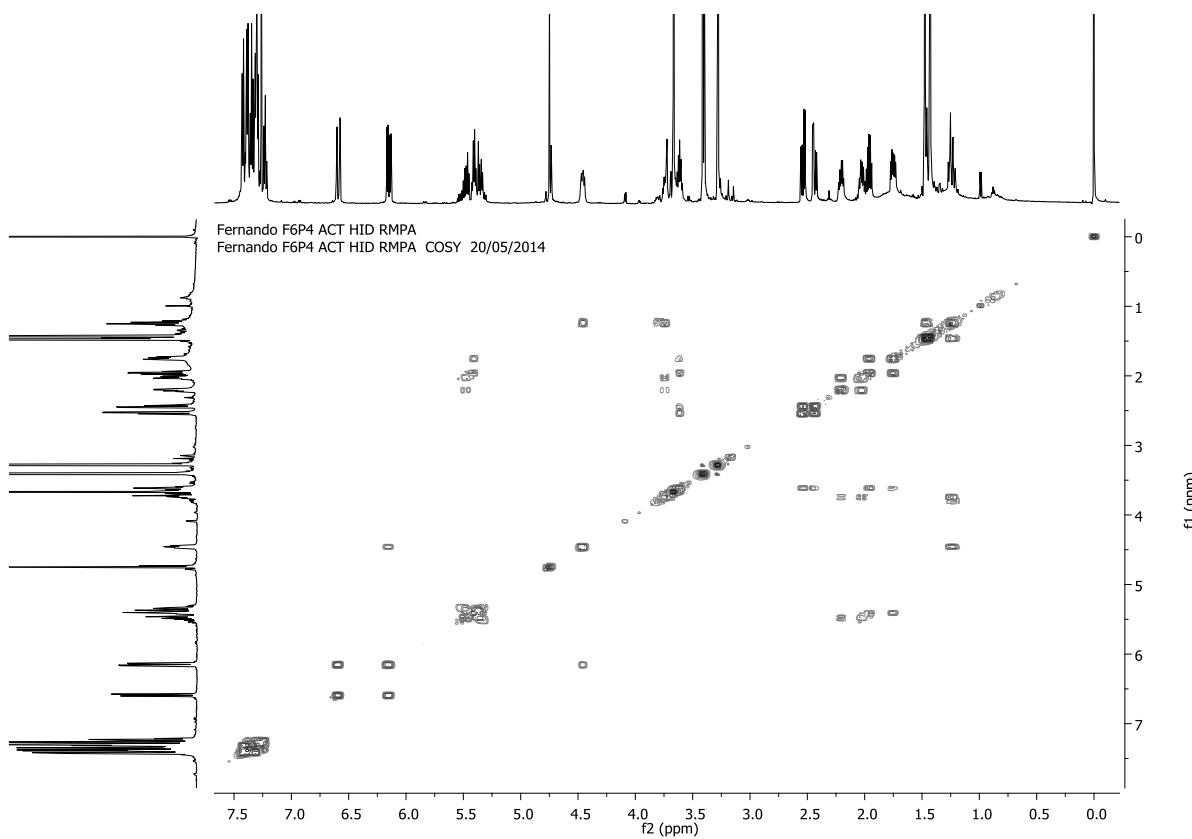
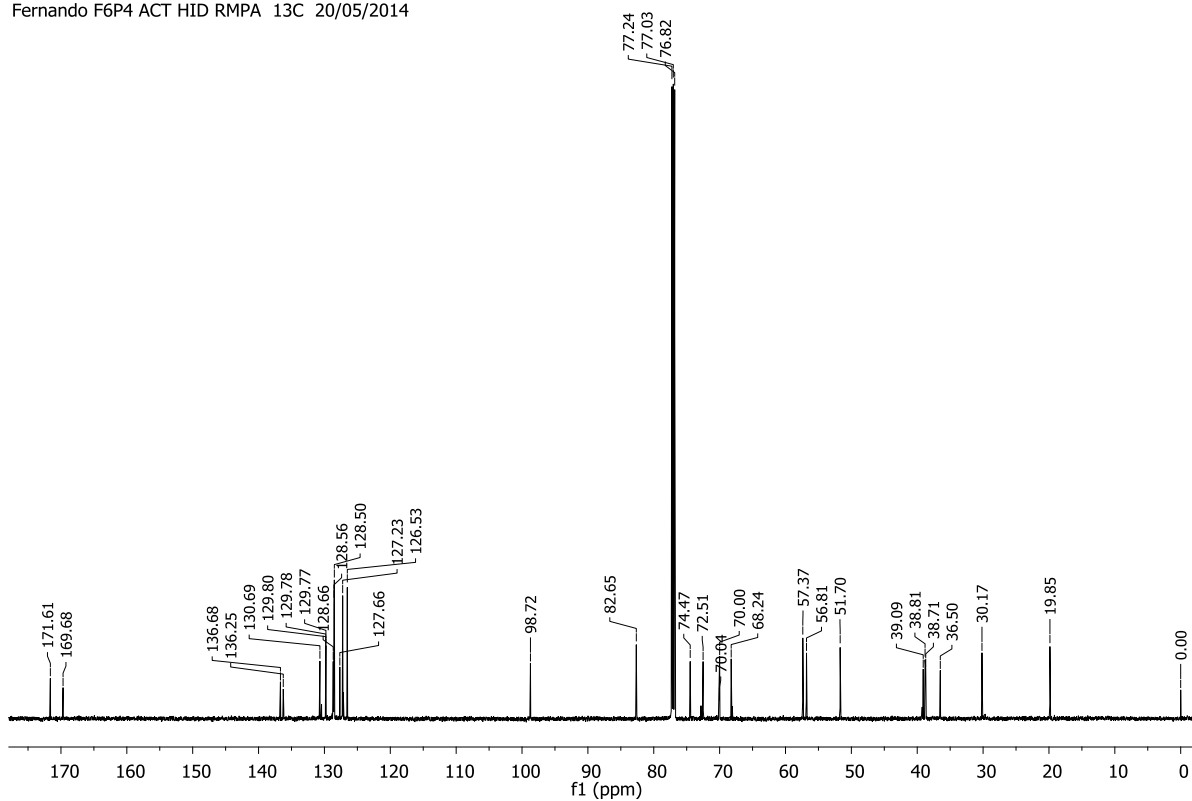


Fernando F6P4 ACT HID RMPA
Fernando F6P4 ACT HID RMPA 1H 20/05/2014

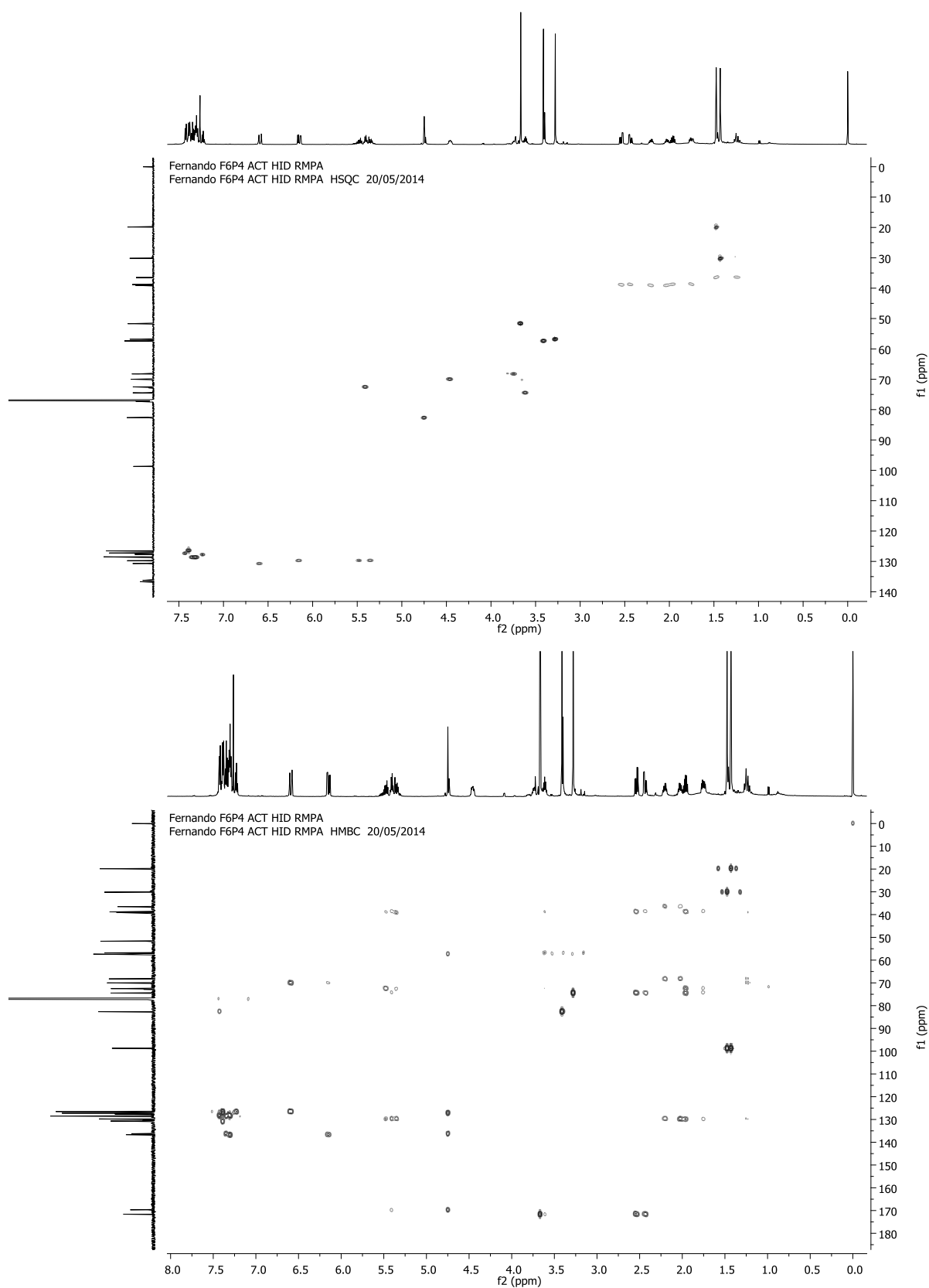


Anexo 144 - Espectro de RMN de ^{13}C obtido em 600 MHz e mapa de contorno COSY da substância criptomoscatoa E1 (4) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com após reação com R-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.

Fernando F6P4 ACT HID RMPA
Fernando F6P4 ACT HID RMPA 13C 20/05/2014



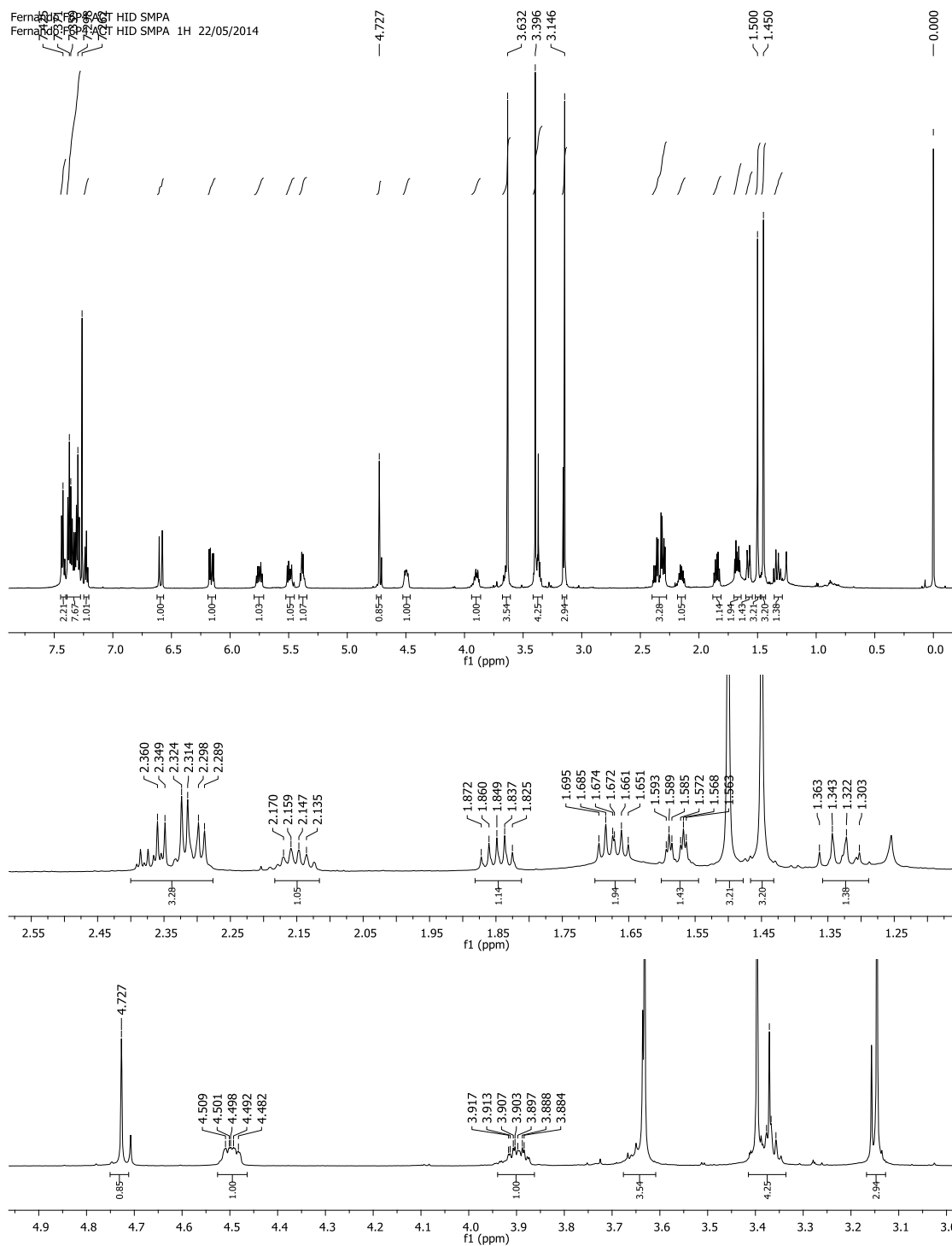
Anexo 145 - Mapa de contorno HSQC e HMBC da substância criptomoscatoana E1 (4) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com após reação com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



Anexo 146 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoína E1 (4) após reações de acetonídeo, hidrólise e com S-MPA.

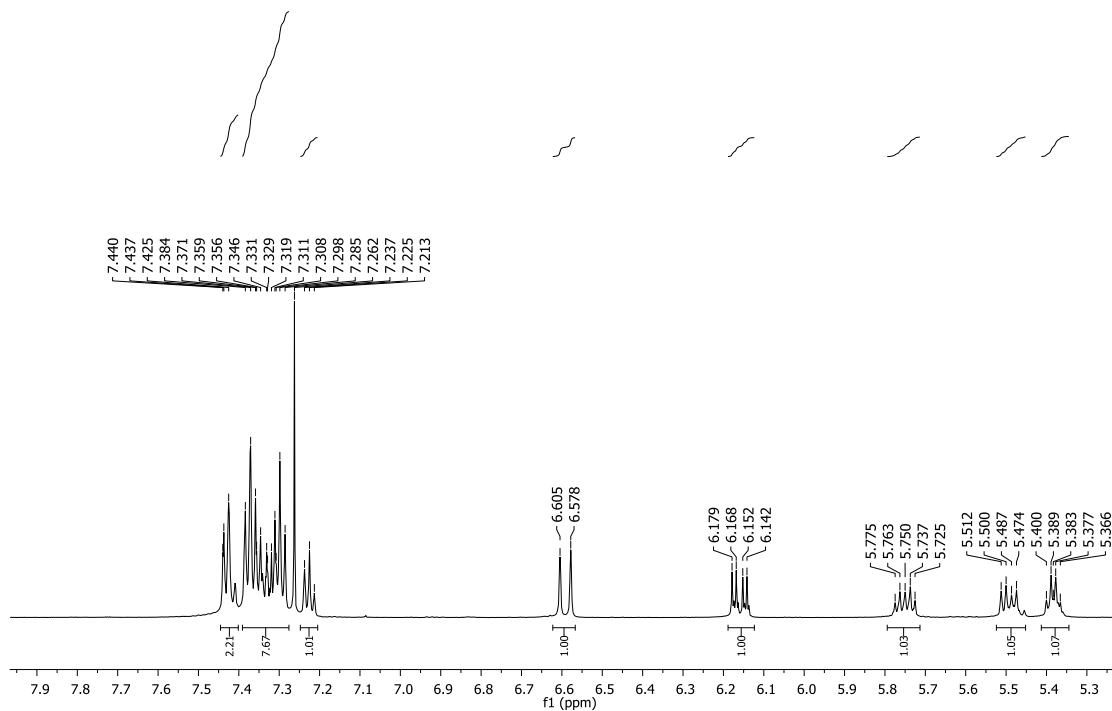
Criptomoscatoína E1 ACT S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	J (Hz)	COSY	HMBC
2	171,5	-	-	-	
3	38,6	2,31 2,36	<i>dd</i> (5,4; 15,0) <i>dd</i> (6,6; 15,0)		74,2; 171,5
4	74,2	3,36	<i>m</i>	1,67; 1,85; 2,36	38,6; 56,6; 72,7; 82,5; 171,5
5	38,5	1,67 1,85	<i>ddd</i> (14,4; 6,0; 6,0) <i>ddd</i> (14,4; 7,2; 7,2)		38,6; 72,7; 74,2; 130,0
6	72,7	5,38	<i>ddd</i> (6,6)	5,49; 1,67; 1,85	74,2; 130,0; 169,7
1'	130,0	5,49	<i>dd</i> (15,0; 7,2)	5,75; 5,38	39,1; 72,7
2'	130,5	5,75	<i>dt</i> (15,0; 7,2)	5,49; 2,15; 2,31	39,1; 72,7
3'	39,1	2,15 2,31	<i>ddd</i> (14,4; 7,2; 7,2) <i>ddd</i> (14,4; 6,0; 6,0)	5,75; 3,90	36,6; 68,3; 130,5; 130,0
4'	68,3	3,9	<i>ddd</i> (11,0; 6,5; 6,5; 2,4)	1,33; 2,15; 2,31	
5'	36,6	1,33 1,58	<i>m</i> <i>dt</i> (12,5; 2,4)	4,50; 3,90	68,3; 70,0; 129,8
6'	70,0	4,5	<i>m</i>	1,33; 1,58	130,5
7'	129,8	6,16	<i>dd</i> (16,2; 6,6)	6,59; 4,50	36,6; 70,0; 136,7
8'	130,7	6,59	<i>d</i> (16,2)	6,16	70,0; 126,5; 136,7
Metoxila	51,6	3,63	<i>s</i>		171,5
Metoxila	56,7	3,15	<i>s</i>		74,2
Metila	19,9	1,5	-	-	30,2; 98,8
Metila	30,2	1,45	-	-	19,9; 98,8
Cetal	98,8	-	-	-	
1''	136,7	-	-	-	
2'' e 6''	126,5	7,37-7,38	<i>dl</i> (7,2)	7,23	130,7
4''	127,7	7,21-7,24	<i>tl</i> (7,2)	7,38	126,5
3'' e 5''	128,5	7,29-7,31	<i>tl</i> (7,2)		136,7
	169,7	-	-	-	
	57,3	3,4	<i>s</i>	-	82,7
	82,7	4,73	<i>s</i>	-	57,3; 127,7; 136,7; 169,7
	127,3	7,43-7,44	<i>dl</i> (7,2)		128,75
	128,6	7,35-7,36	<i>tl</i> (7,2)		
	128,7	7,32-7,34	<i>tl</i> (7,2)		128,7; 136,3
	136,3	-	-		127,3; 128,6

Anexo 147 - Espectro de RMN de ^1H e ampliação da substância criptomoscatoa E1 (4) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.

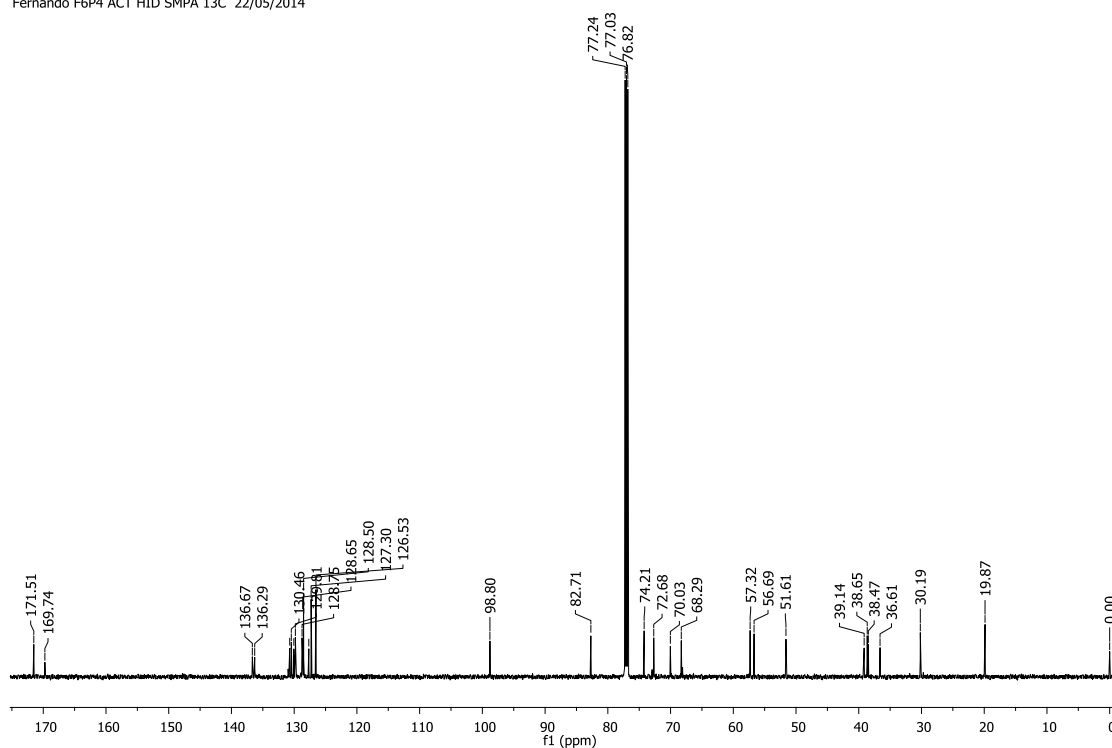


Anexo 148 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H e espectro de ^{13}C da substância criptomoscatoa E1 (4) após reação para formação do acetonideo, hidrólise e esterificação com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 e 150 MHz, respectivamente.

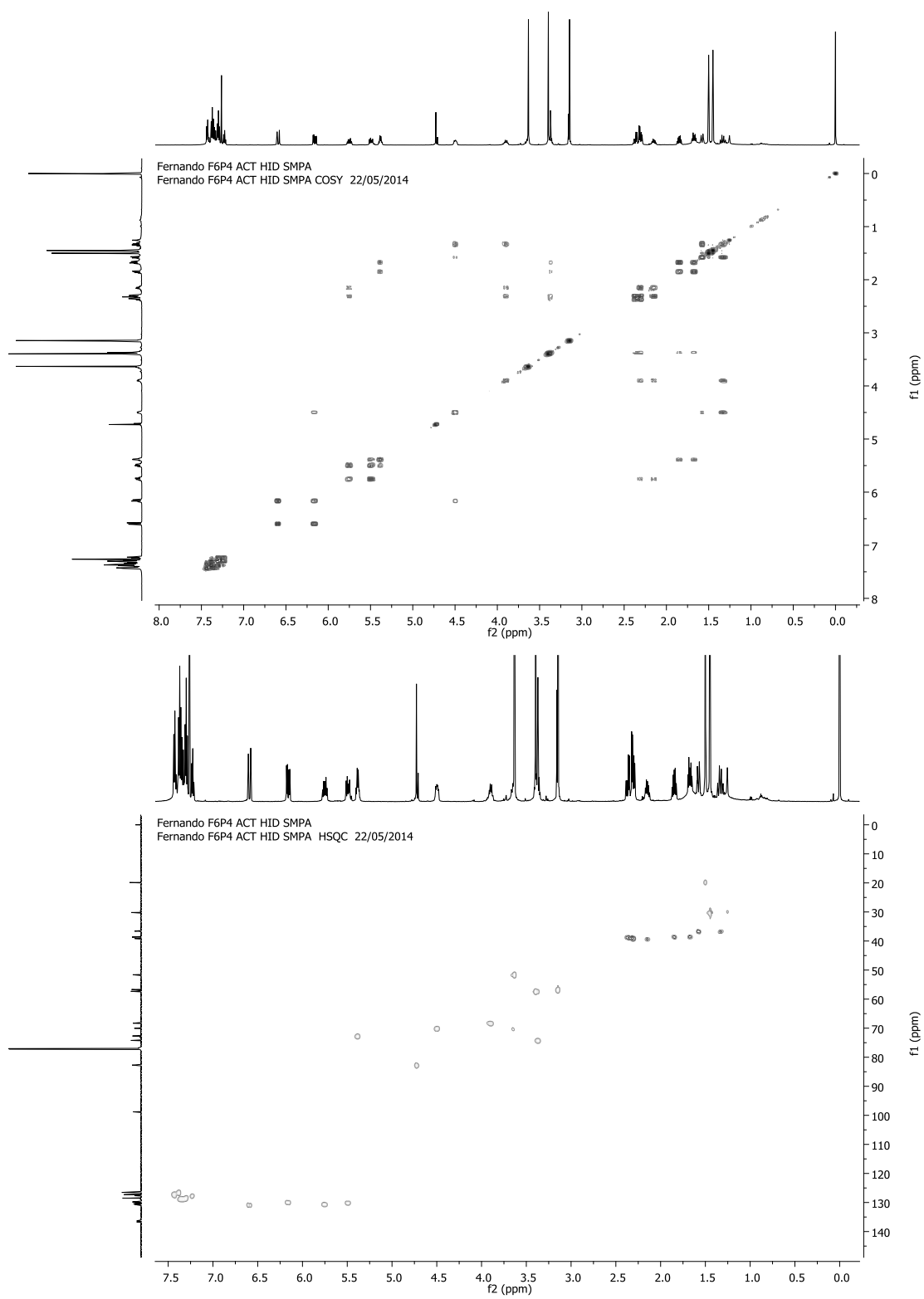
Fernando F6P4 ACT HID SMPA
Fernando F6P4 ACT HID SMPA 1H 22/05/2014



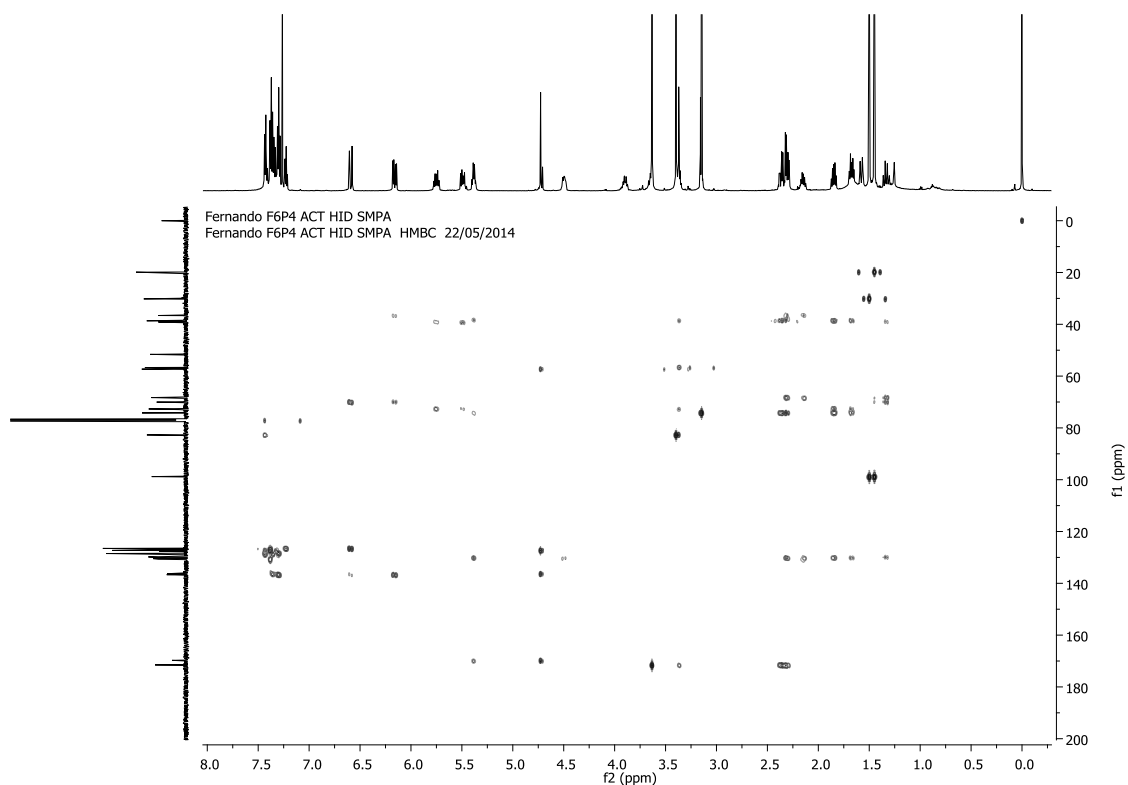
Fernando F6P4 ACT HID SMPA
Fernando F6P4 ACT HID SMPA 13C 22/05/2014



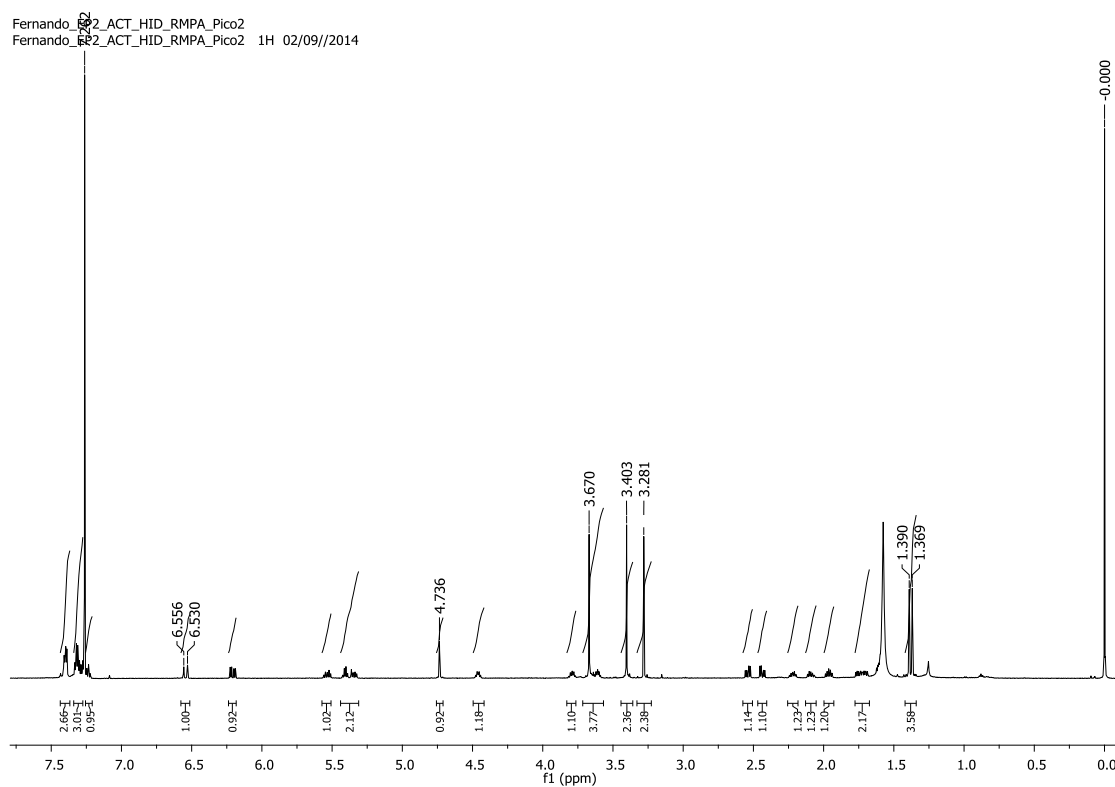
Anexo 149 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoa E1 (4) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com após reação com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



Anexo 150 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoa E1 (4) após reação para formação do acetoneído, hidrólise e esterificação com após reação com *R*-MPA, (CDCl₃, 14,1 T).



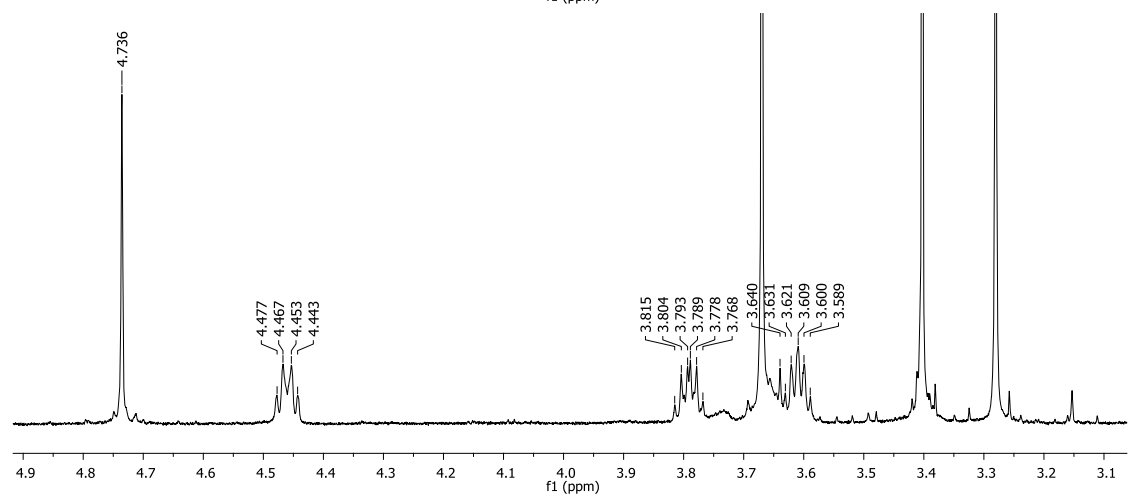
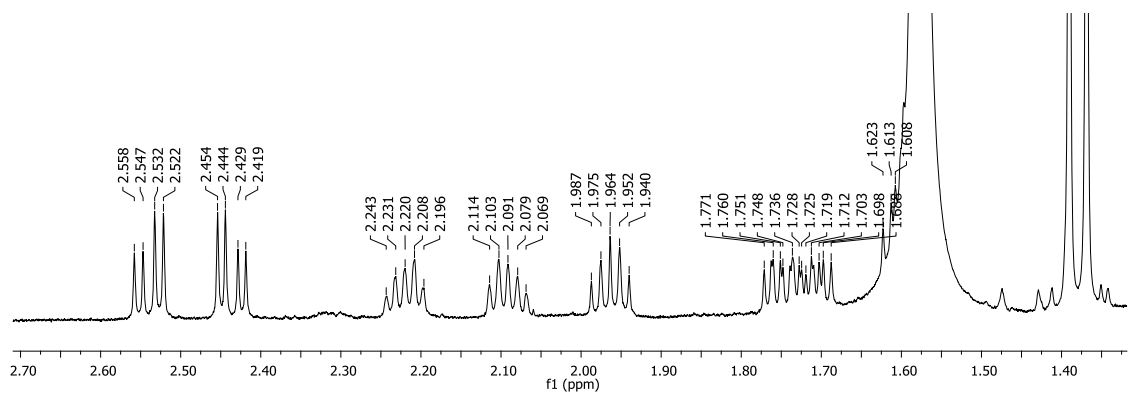
Anexo 151 - Espectro de RMN de ¹H da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação para formação do acetoneído, hidrólise e esterificação com *R*-MPA em CDCl₃ obtido em 600 MHz.



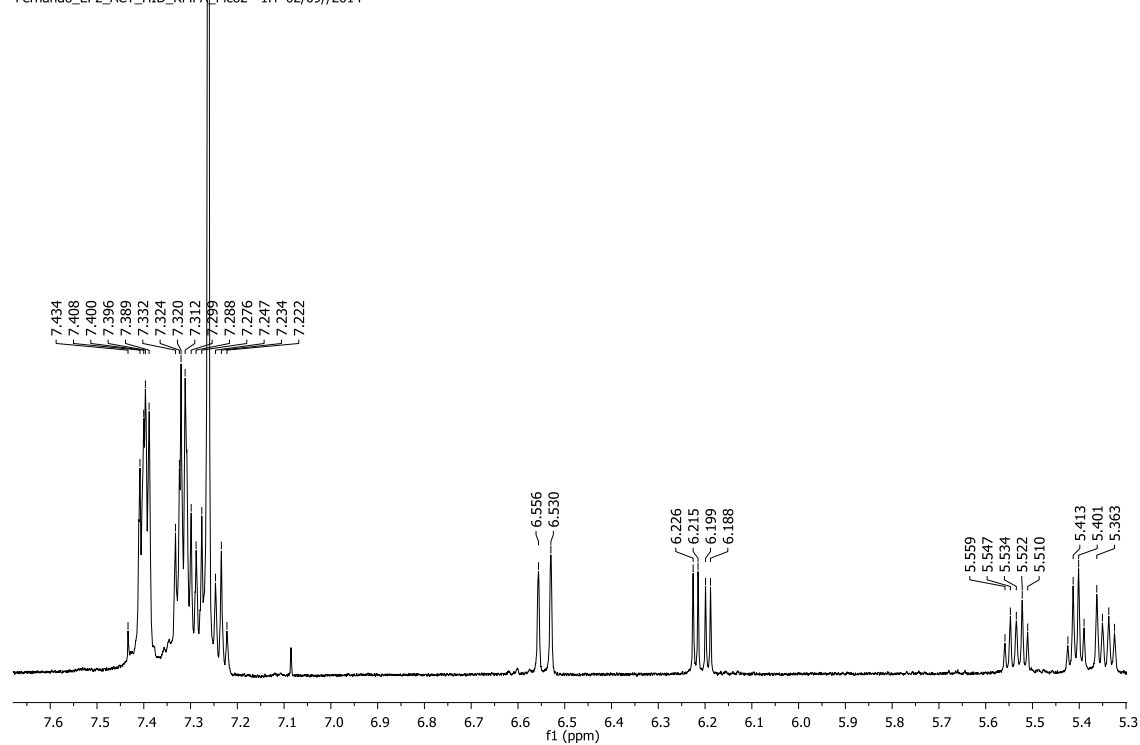
Anexo 152 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E2 (3) após reações de acetonídeo, hidrólise e com R-MPA.

Criptomoscatoona E2 ACT HID R-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	171,6		-	-	
3	38,8	2,44 2,54	<i>dd</i> (15,0; 6,0) <i>dd</i> (15,0; 6,0)		74,4; 171,6
4	74,4	3,62	<i>dddd</i> (6,0)	1,75; 1,96; 2,24; 2,54	
5	38,7	1,75 1,96	<i>ddd</i> (14,4; 6,0; 6,0) <i>ddd</i> (14,4; 7,2; 7,2)	3,62	74,4; 72,7
6	72,8	5,4	<i>ddd</i> (6,6)		74,4; 129,8; 169,6
1'	129,8	5,33	<i>dd</i> (15,0; 7,4)	5,53	
2'	130,7	5,53	<i>dt</i> (15,0; 7,2)	5,31	72,8
3'	38,8	2,10 2,21	<i>ddd</i> (14,4; 7,0; 7,0) <i>ddd</i> (14,4; 7,0; 7,0)		
4'	65,6	3,79	<i>dddd</i> (11,0; 6,5; 6,5)	1,60; 1,70; 2,10; 2,21	
5'	37,2	1,60 1,71	<i>ni</i> <i>ddd</i> (13,2; 9,0; 6,0)	4,46	65,6
6'	67,8	4,46	<i>m</i>	1,60; 1,70; 6,21	
7'	129,8	6,21	<i>dd</i> (15,6; 6,6)	6,54; 4,46	136,7
8'	130,5	6,54	<i>d</i> (15,6)	6,21	67,7; 126,5
Metoxila	51,7	3,68	<i>S</i>	-	171,7
Metoxila	56,9	3,28	<i>s</i>	-	74,4
Metila	24,8	1,37	-	-	25,6; 100,4
Metila	25,6	1,39	-	-	24,8; 100,4
Cetal	100,4	-	-	-	
1''	136,7	-	-	-	
2'' e 6''	126,5	7,39	<i>dl</i> (7,2)		130,5
4''	127,7	7,23	<i>tl</i> (7,2)		126,5
3'' e 5''	128,5	7,29	<i>tl</i> (7,2)		136,7
	169,6	-	-	-	
	57,3	3,4	<i>s</i>	-	82,6
	82,6	4,73	<i>s</i>	-	127,2; 136,1; 169,6
	127,2	7,4	<i>dl</i> (7,2)		82,6
	128,6	7,31	<i>tl</i> (7,2)		
	128,6	7,32	<i>tl</i> (7,2)		
	136,1	-	-	-	

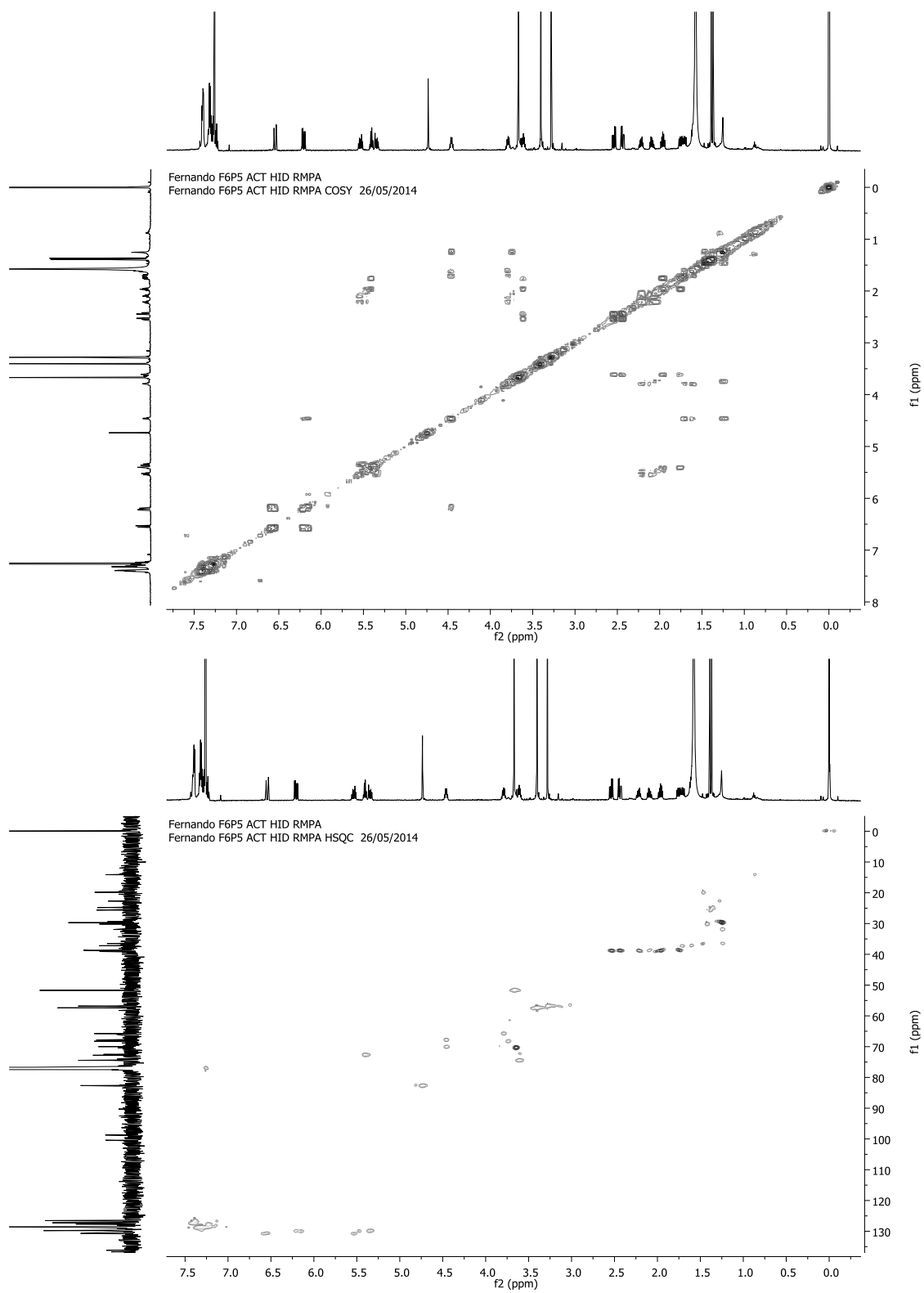
Anexo 153 – Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com *R*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz, respectivamente.



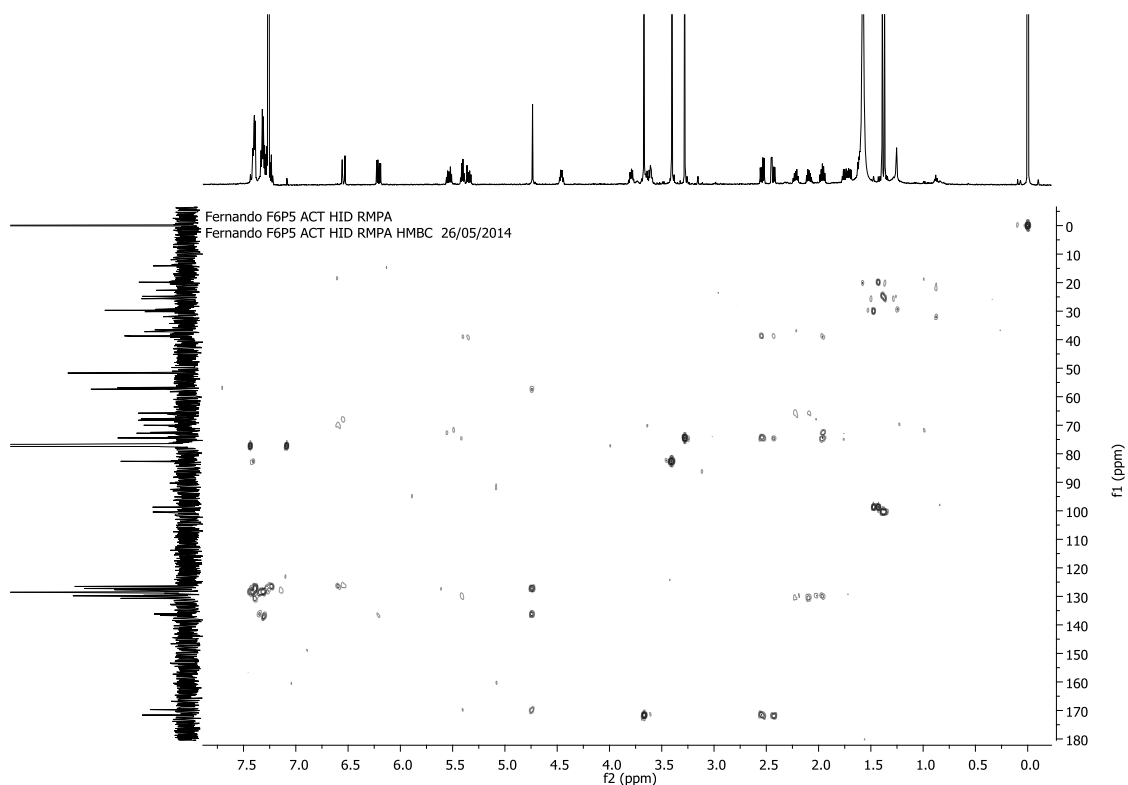
Fernando_EP2_ACT_HID_RMPA_Pico2
Fernando_EP2_ACT_HID_RMPA_Pico2 1H 02/09//2014



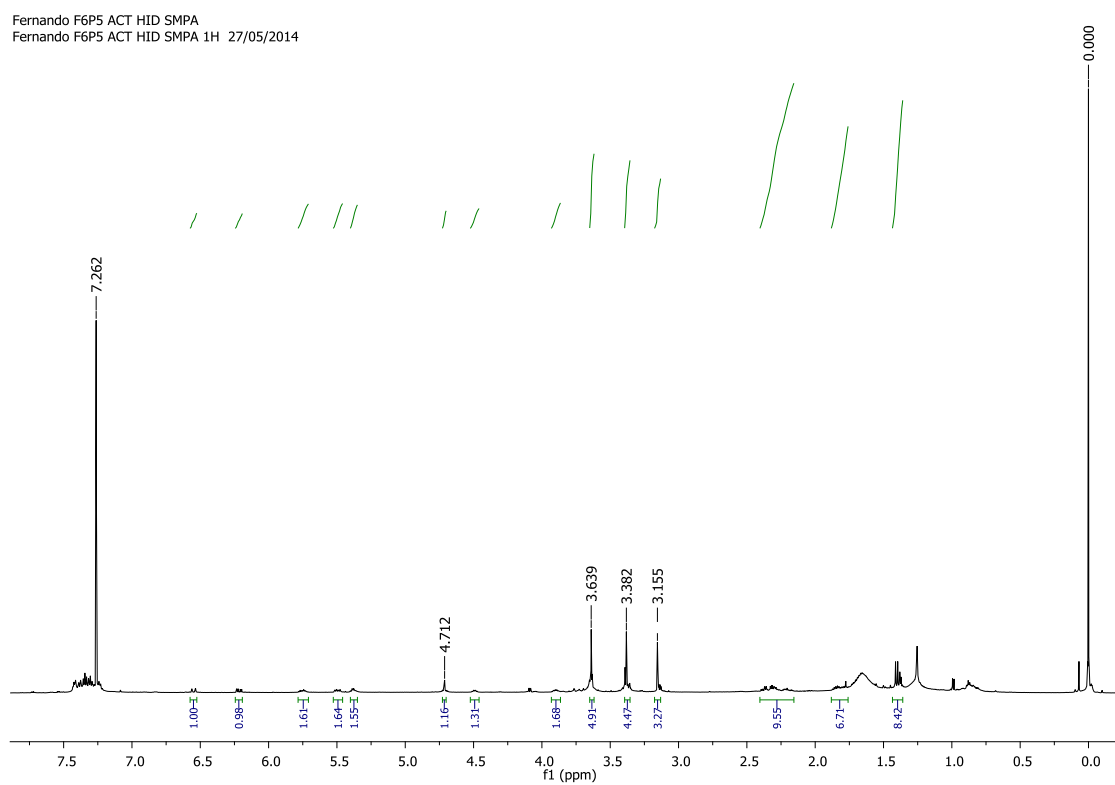
Anexo 154 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com após reação com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T), respectivamente.



Anexo 155 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação para formação do acetoneo, hidrólise e esterificação com após reação com *R*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T).



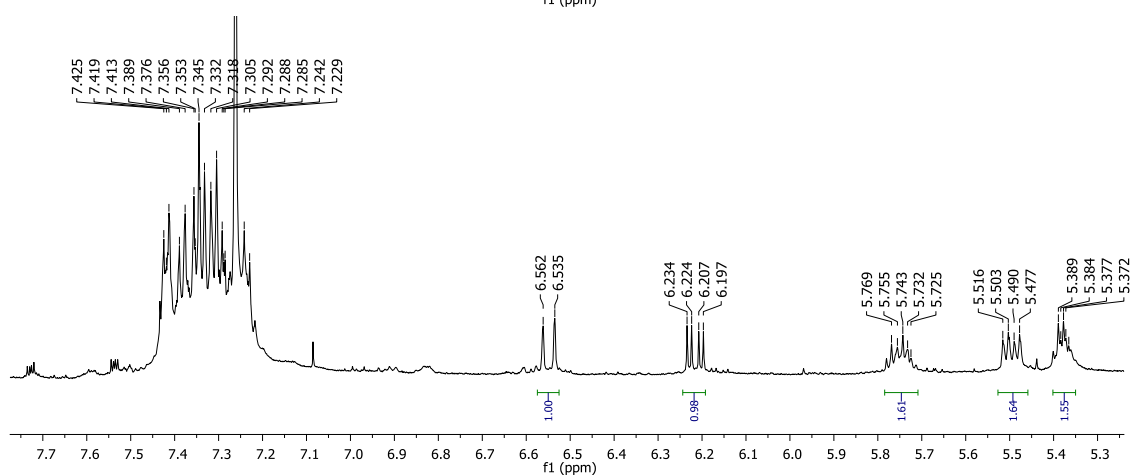
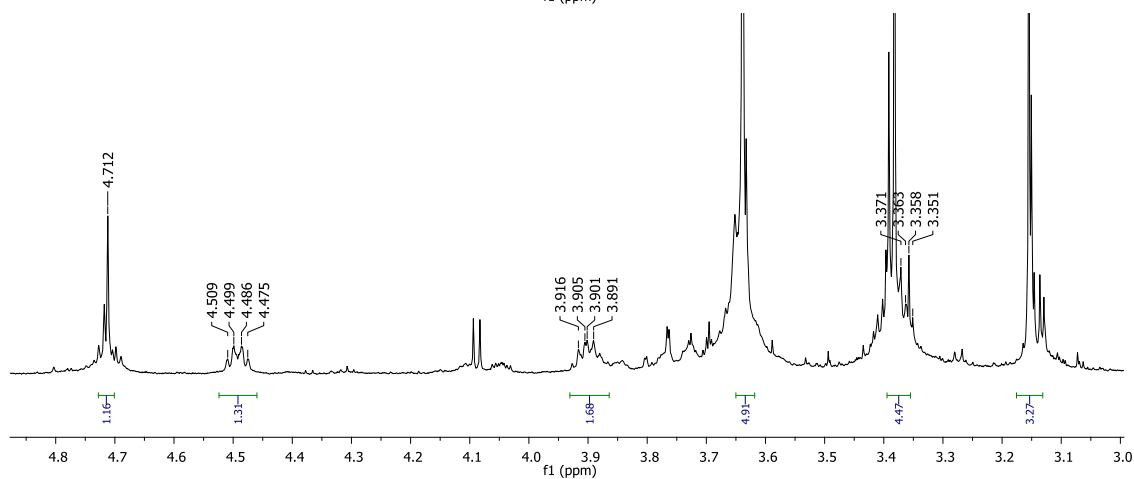
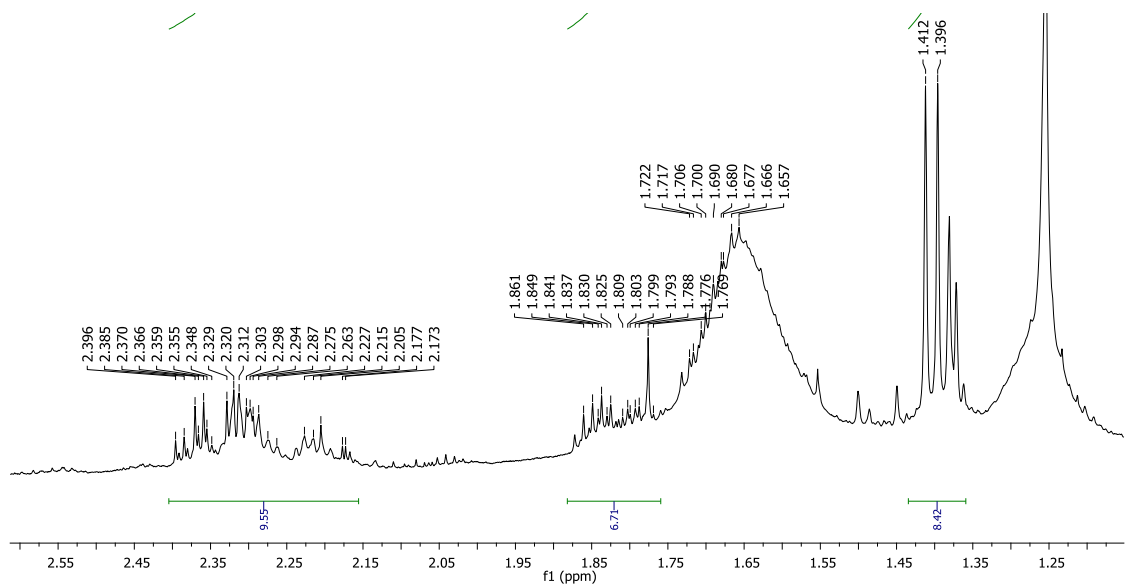
Anexo 156 - Espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação para formação do acetoneo, hidrólise e esterificação com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz.



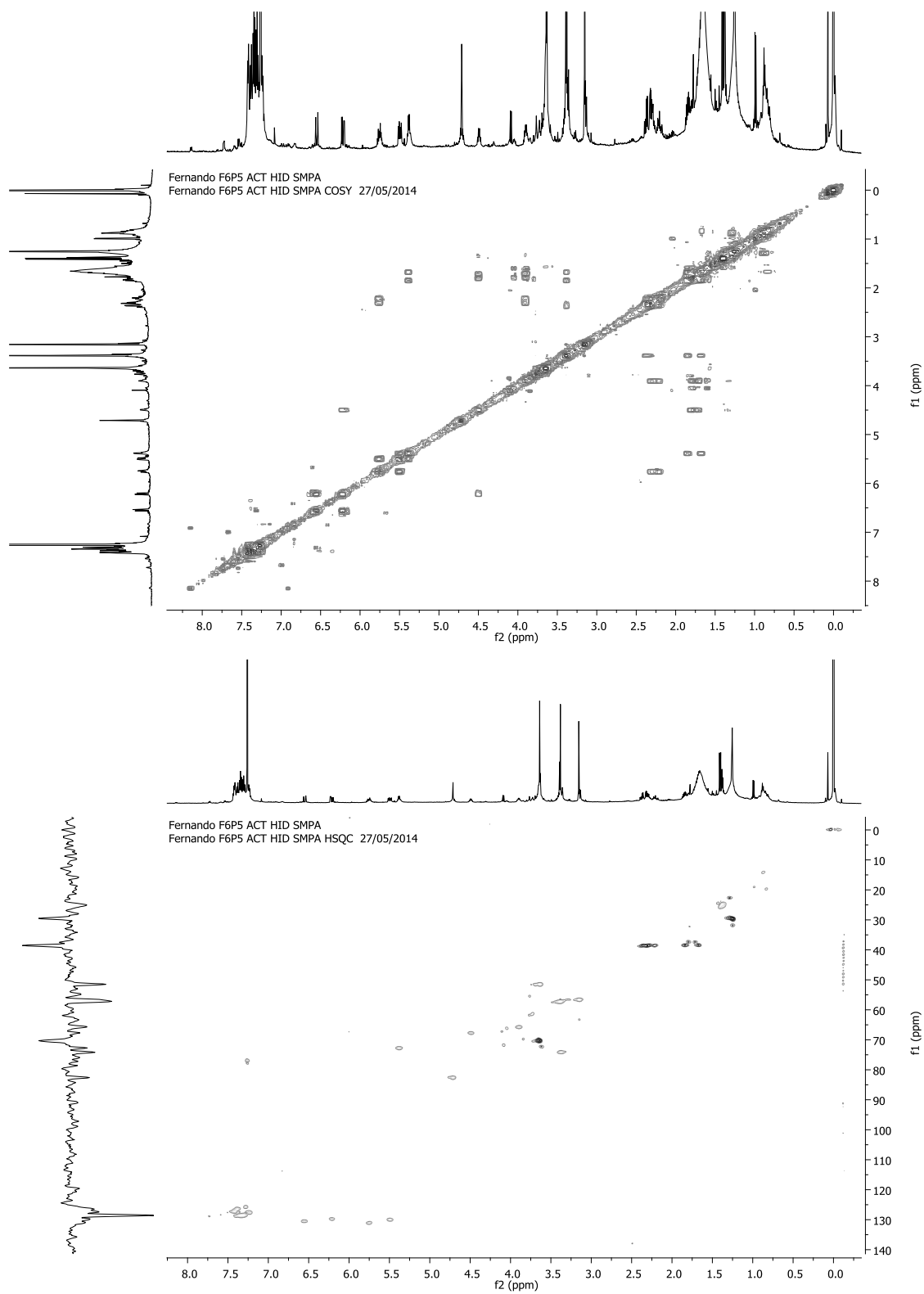
Anexo 157 - Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C e ^1H obtidos em 150 e 600 MHz, respectivamente, em CDCl_3 para a criptomoscatoona E2 (3) após reações de acetonídeo, hidrólise e com R-MPA.

Criptomoscatoona E2 ACT HID S-MPA					
	^{13}C (ppm)	^1H (ppm)	<i>J</i> (Hz)	COSY	HMBC
2	171,70		-		
3	38,53	2,31 2,37	<i>dd</i> (15,0; 6,6) <i>dd</i> (15,0; 6,6)	3,37	38,5; 74,11; 171,7
4	74,11	3,37	<i>m</i>	1,68; 1,85; 2,37	
5	38,36	1,68 1,85	<i>m</i> <i>m</i>	3,37; 5,38	38,5; 74,11; 130,5
6	72,76	5,38	<i>ddd</i> (7,0)	1,68; 1,85	38,3; 74,11; 130,0; 169,7
1'	130,00	5,49	<i>dd</i> (15,6; 7,8)	5,75	38,3
2'	131,00	5,75	<i>dt</i> (15,6; 6,6)	2,22; 2,32; 5,49	38,3; 72,76
3'	38,53	2,22 2,29	<i>m</i> <i>m</i>		
4'	65,77	3,9	<i>dddd</i> (11,0; 6,5; 6,5)	1,73; 1,81; 2,21; 2,30	
5'	37,35	1,73 1,81	<i>m</i> <i>m</i>	3,90; 4,50	
6'	67,76	4,5	<i>m</i>	1,73; 1,81; 6,21	
7'	129,73	6,21	<i>dd</i> (16,2; 6,0)	4,50; 6,55	137
8'	130,50	6,55	<i>d</i> (16,2)	6,21	67,77; 126,46
Metoxila	51,53	3,64	<i>s</i>		171,7
Metoxila	56,50	3,16	<i>s</i>		74,11
Metila	24,70	1,4	-		25,5; 100,5
Metila	25,50	1,41	-		24,7; 100,5
Cetal	100,50		-		
1''	137,0		-		
2'' e 6''	126,46	7,38	<i>dl</i> (7,2)		127,65; 130,50
4''	127,65	7,23	<i>tl</i> (7,2)		126,4
3'' e 5''	128,55	7,21	<i>tl</i> (7,2)		137
	169,74		-		
	57,18	3,38	<i>s</i>		82,6
	82,60	4,71	<i>s</i>		57,2; 127,3; 136,7; 169,7
	127,32	7,42	<i>dl</i> (7,2)		82,60; 128,5
	127,75	7,28	<i>tl</i> (7,2)		
	128,60	7,36	<i>tl</i> (7,2)		136,7
	136,7		-		

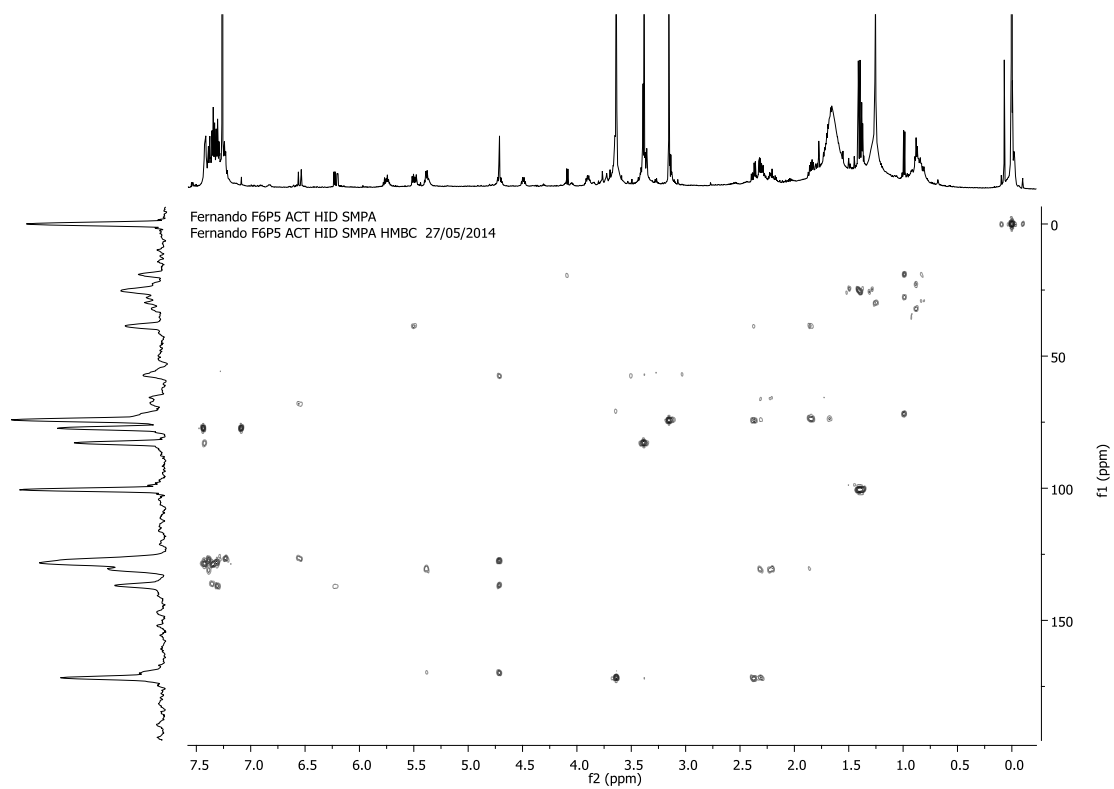
Anexo 158 - Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com *S*-MPA em CDCl_3 obtido em 600 MHz.



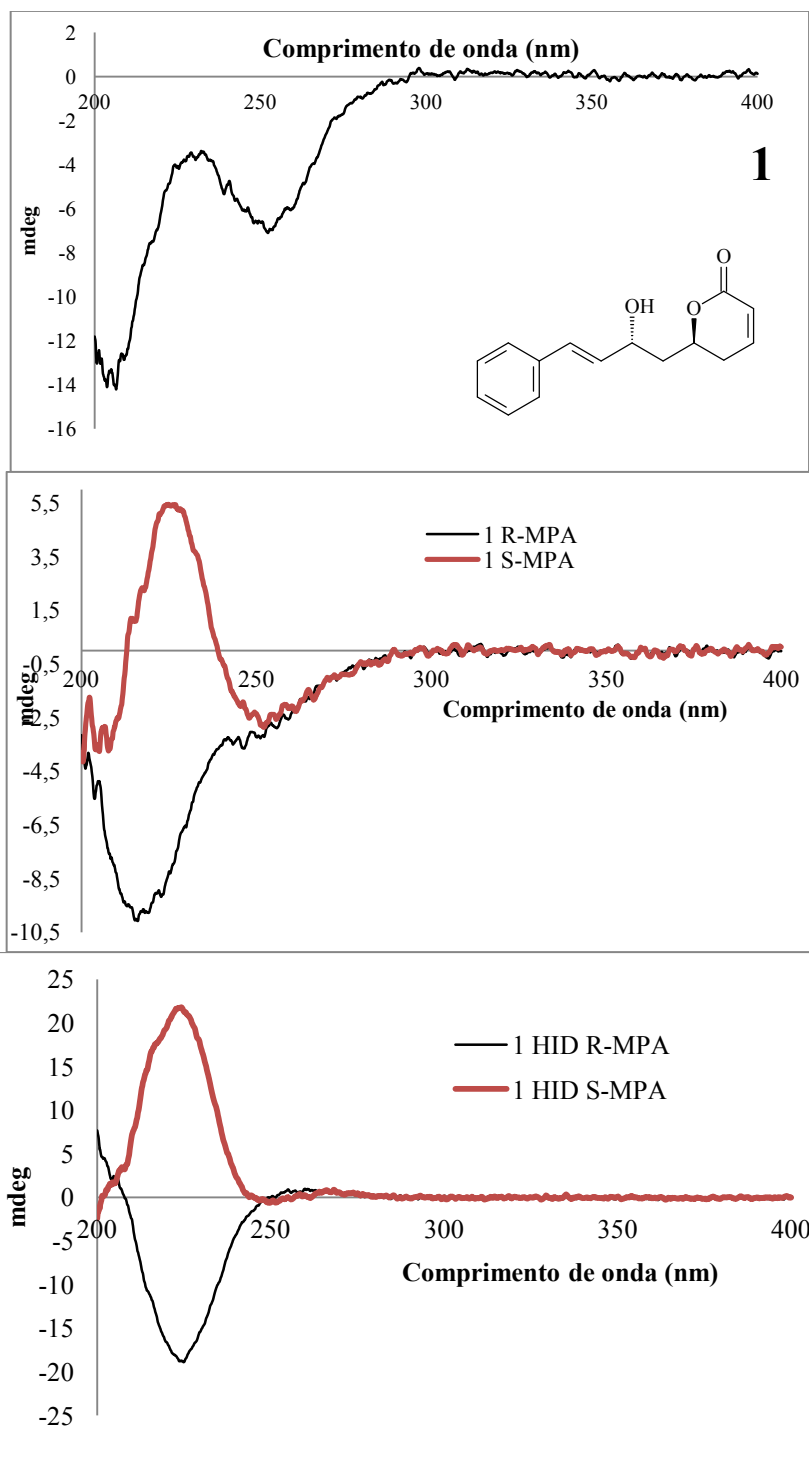
Anexo 159 - Mapa de contorno COSY e HSQC da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação para formação do acetonídeo, hidrólise e esterificação com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T).



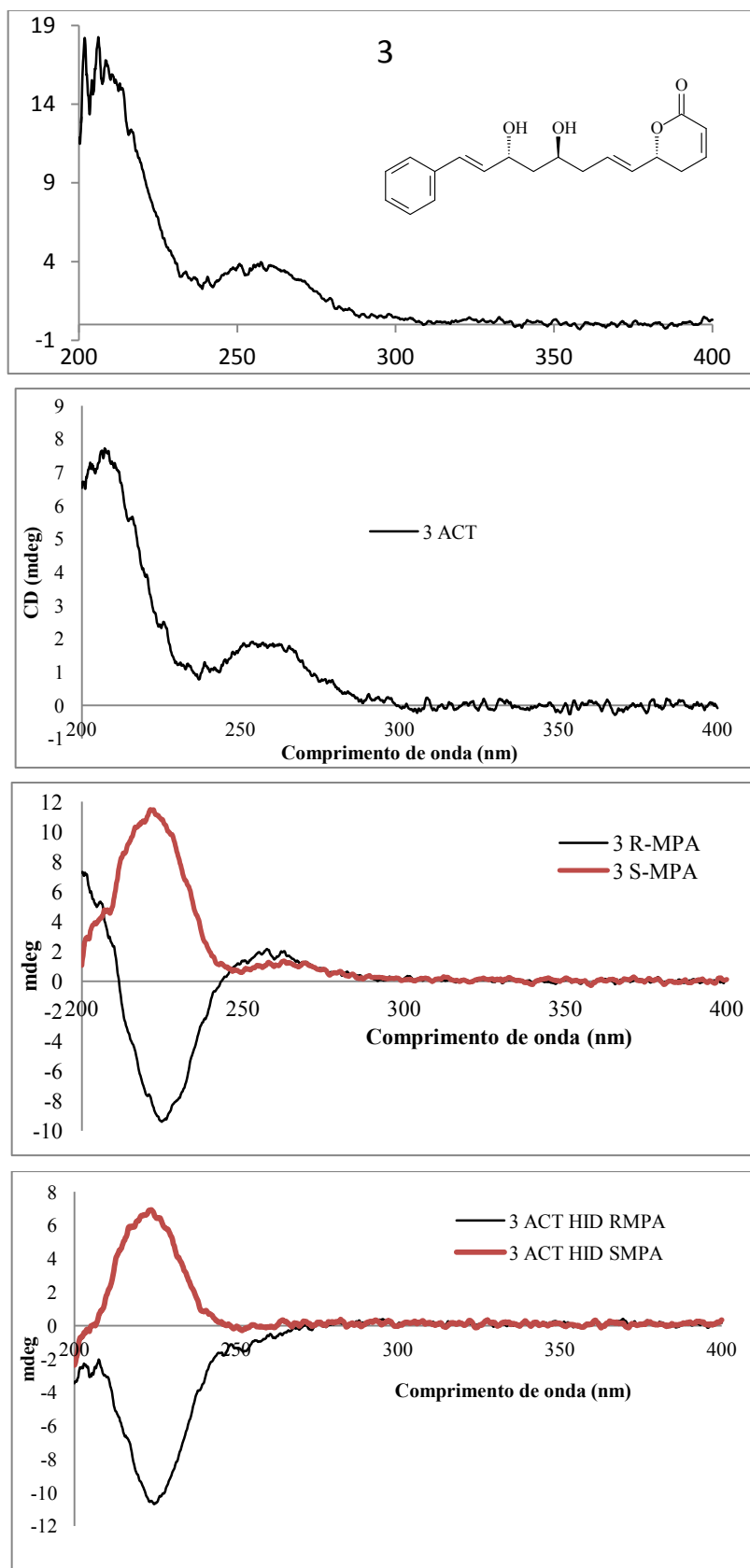
Anexo 160 - Mapa de contorno HMBC da substância criptomoscatoa E2 (3) após reação para formação do acetoneo, hidrólise e esterificação com *S*-MPA (CDCl_3 , 14,1 T).



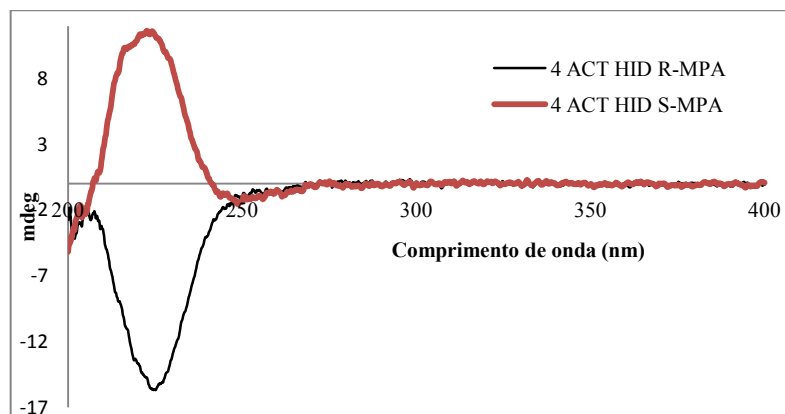
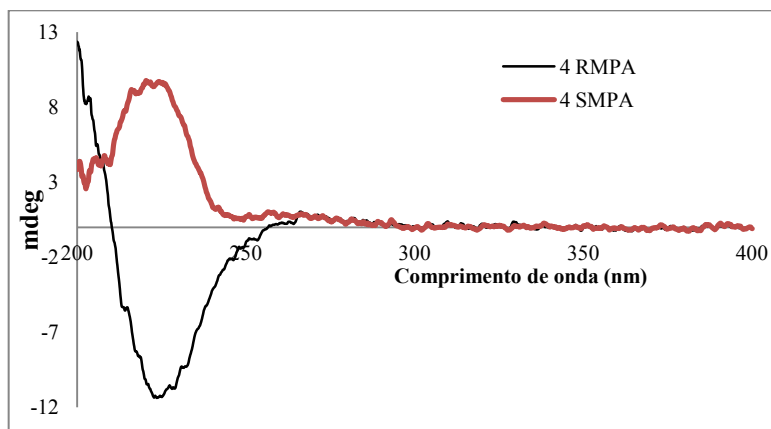
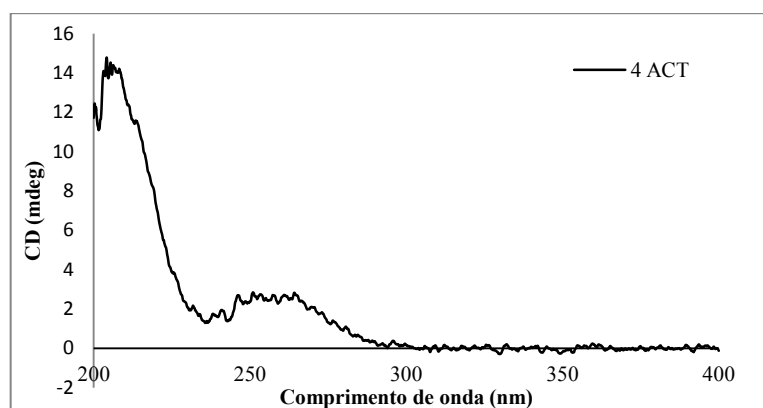
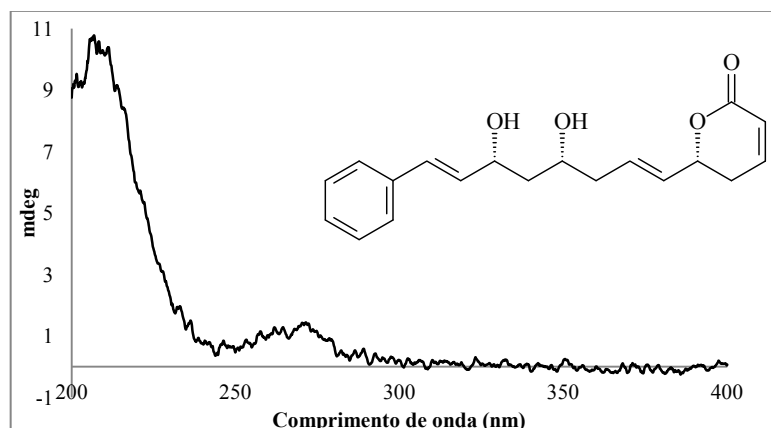
Anexo 161 - Espectro de dicroísmo circular eletrônico da substância desacetilcryptocaryalactona (1) e dos seus derivados com *R* e *S* MPA.



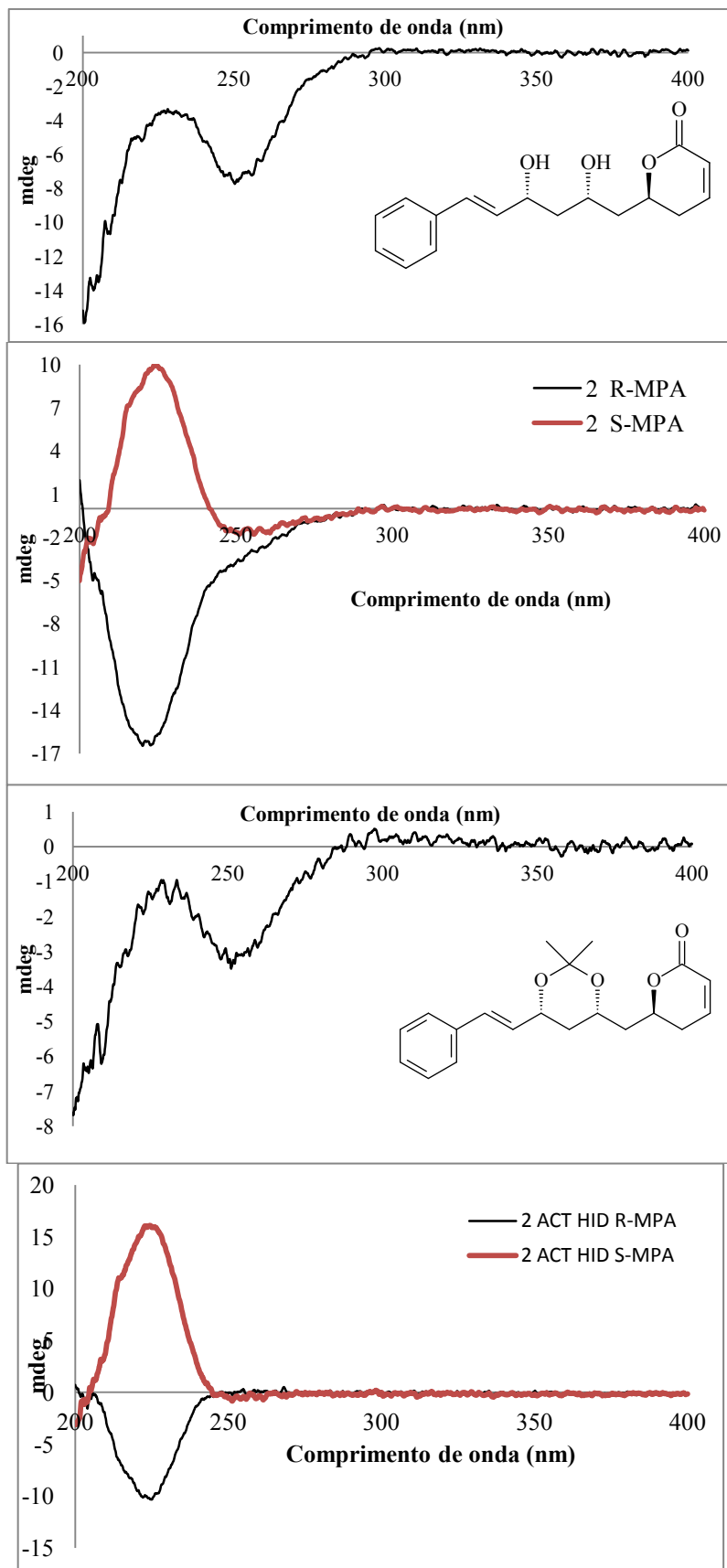
Anexo 162 - Espectro de dicroísmo circular eletrônico da substância cryptomoscatona E2 (3), após reação de formação do acetonídeo e dos seus derivados com *R* e *S* MPA, e seus derivados após reação de hidrólise.



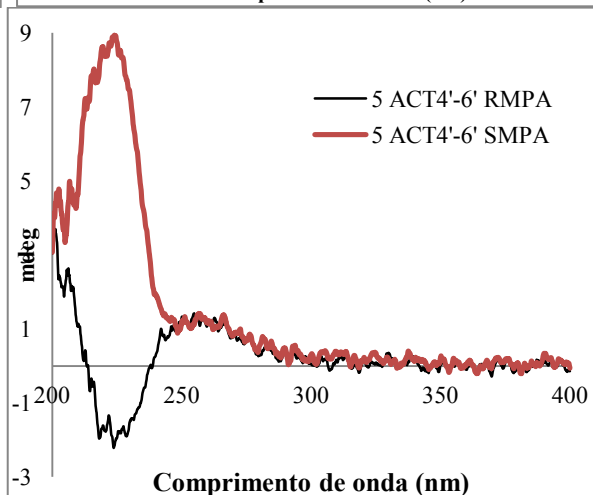
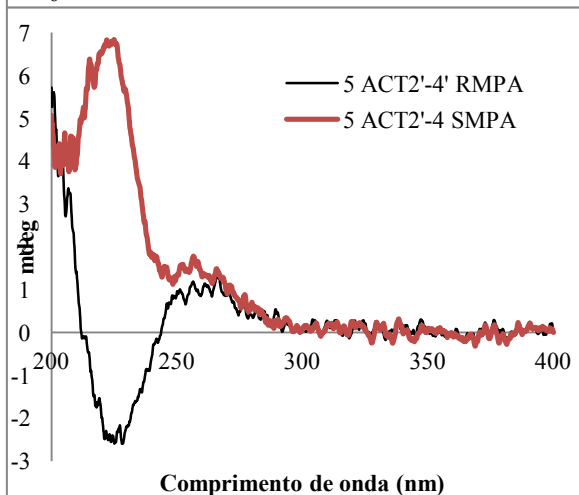
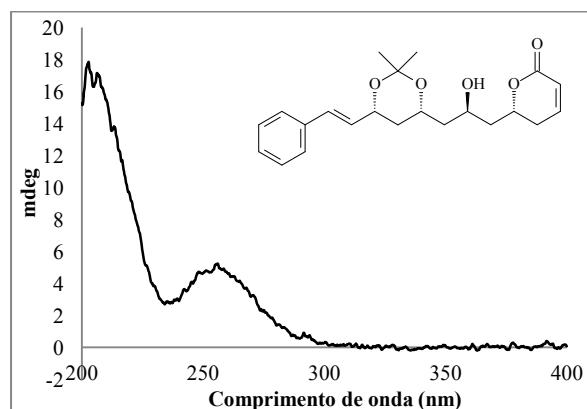
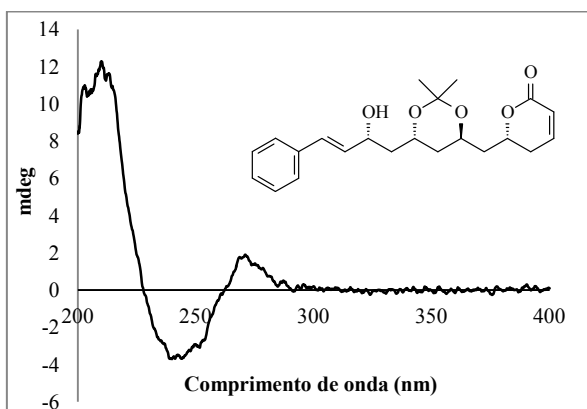
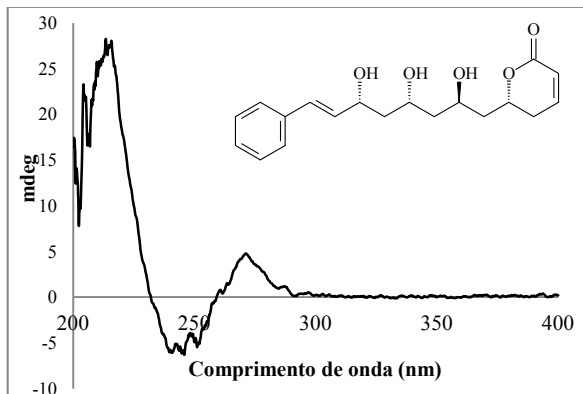
Anexo 163 - Espectro de dicroísmo circular eletrônico da substância cryptomoscatona E1 (4), após reação de formação do acetonídeo e dos seus derivados com *R* e *S* MPA, e seus derivados após reação de hidrólise.



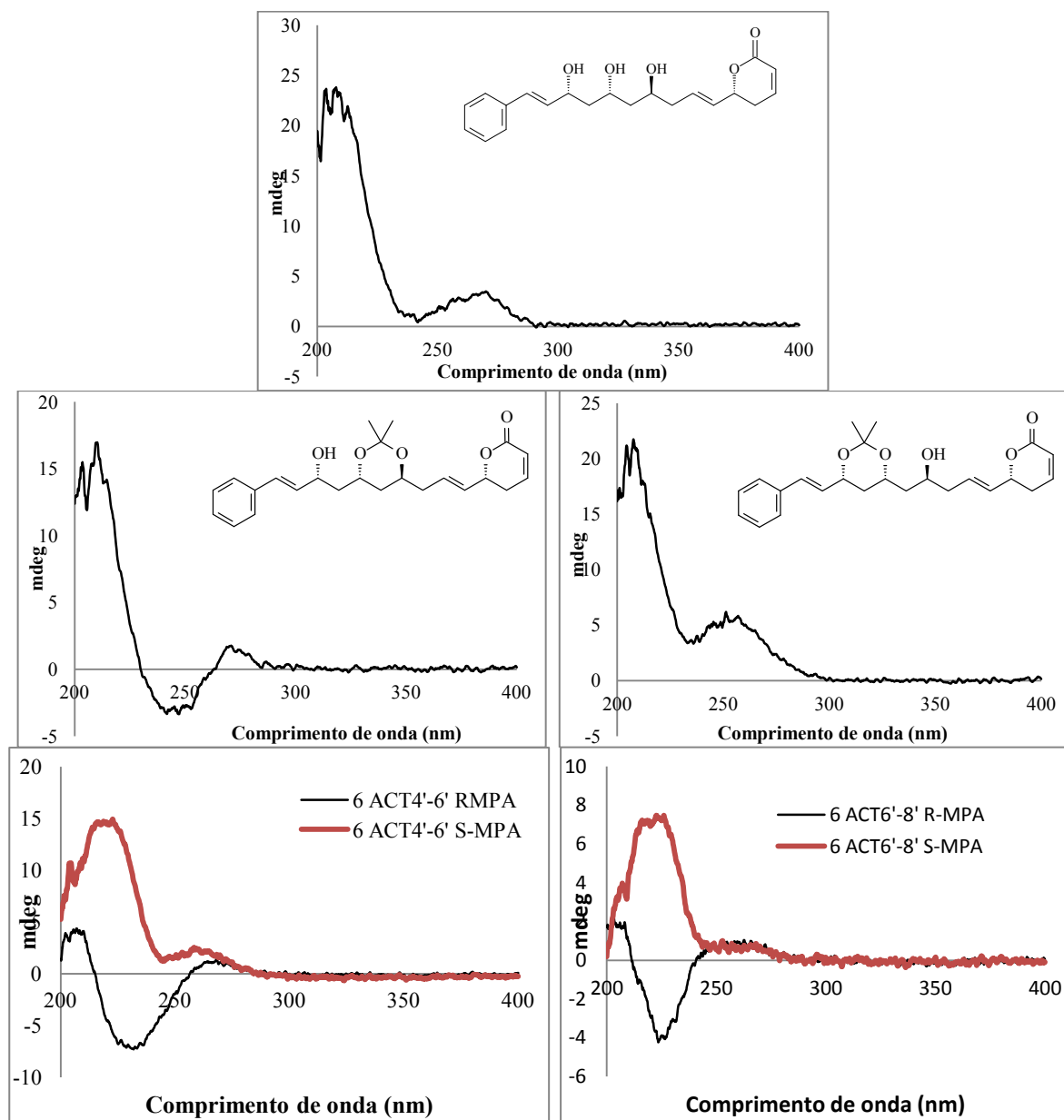
Anexo 164 - Espectro de dicroísmo circular eletrônico da substância cryptomoscatona D1 (**2**) e dos seus derivados com *R* e *S* MPA, após reação de formação do acetonídeo e seus derivados de MPA após reação de hidrólise.



Anexo 165 - Espectro de dicroísmo circular eletrônico da substância cryptomoscatona E3 (**5**) e após reação de formação do acetonídeo, após reação de formação do acetonídeo e dos seus derivados com *R* e *S* MP, respectivamente.



Anexo 166 - Espectro de dicroísmo circular eletrônico da substância cryptomoscatona F1 (**6**) e após reação de formação do acetonídeo e após reação de formação do acetonídeo e seus derivados com *R* e *S* MPA, respectivamente.



Anexo 167 - Espectro de dicroísmo circular eletrônico da substância R e S MPA.

