



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SEMI-SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA E
ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS DA ANNONALIDA, DITERPENOS
ISOLADO DE *Humirianthera ampla*.**

AKENATON ONASSIS CARDOSO VIANA GOMES

FORTALEZA

2014

AKENATON ONASSIS CARDOSO VIANA GOMES

SEMÍ-SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA E
ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS DA ANNONALIDA, DITERPENOS ISOLADOS
DE *Humirianthera ampla*.

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química
da Universidade Federal do Ceará como
requisito para a obtenção do Título de
Mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Maria da
Conceição Ferreira Oliveira

Co-orientador: Dr. Ricardo de Araújo
Marques

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

G612s

Gomes, Akenaton Onassis Cardoso Viana.

Semi-síntese e avaliação da atividade citotóxica e antimicrobiana de derivados da annonalida, diterpeno isolado de *Humirianthera ampla* / Akenaton Onassis Cardoso Viana Gomes. – 2014.
119 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2014.

Área de Concentração: Química Orgânica.

Orientação: Profª. Dra. Maria da Conceição Ferreira Oliveira.

Coorientação: Dr. Ricardo de Araújo Marques.

1. Anti-infecciosos. 2. Diterpenos. 3. *Humirianthera ampla*. 4. Agentes antineoplásicos. I. Título.

CDD 540

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

Akenaton Onassis Cardoso Viana Gomes

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 18/07/2014.

EXAMINADORES:

Profa. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Edson Rodrigues Filho
Universidade Federal de São Carlos – UFSCar

Prof. Dr. Lourivaldo da Silva Santos
Universidade Federal do Pará – UFPA

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Antonio Gomes Rodrigues e Valdiana Cardoso Viana Gomes por todo carinho, apoio e incentivo. Ao meu irmão Orleans pelo carinho e amizade.

À minha segunda família Dona Irene, Renata Ingrid e Renato por todo carinho, por participarem diretamente da minha vida e por darem todo o apoio que precisei.

À Professora Dr^a. Maria da Conceição Ferreira Oliveira pela contribuição com seus conhecimentos e por estes anos de convivência tão agradável.

Ao Dr. Ricardo de Araújo Marques por estar presente em todas as etapas do trabalho, pela grande amizade, pela contribuição com seus conhecimentos e discussões que muito contribuíram para meu crescimento.

Ao Professor Dr. Marcos Carlos de Mattos por sempre estar disposto a ajudar e pelas contribuições ao longo destes dois anos de convivência.

À Professora Dr^a Cláudia do Ó Pessoa e a doutoranda Fátima de Cássia Evangelista de Oliveira pela realização dos ensaios de atividade citotóxicos.

Ao Professor Dr. Hélio Vitoriano Nobre Júnior e ao mestrando João Batista de Andrade Neto pela realização dos ensaios de atividade antimicrobiana e pela amizade.

Aos examinadores, pela participação na banca de mestrado e por contribuírem para essa dissertação.

Aos amigos de laboratório: Ricardo, Régis, Gledson, Rayane, Fátima, Victor, Thiago, Carol, Danny, Manu, Leandro, Maria, Fernando, Aquino, Bruna e Reinaldo pelo convívio e por contribuírem no meu desenvolvimento profissional.

Aos meus amigos Diego, Moacir, Celso, Rafael, Gabi, Gleyciara e DeJane pelo convívio, carinho e companheirismo.

Aos meus amigos Silvio, Edinho, Flávio, Tiago, Tati, Maria Alice, Sr. Ricardo, Dona Antonia, Anderson, Christian, Gleydson, Marcelo, Cirlene, Luquinhas, Very, Clara, Lucineide e Dona Célia que tanto torcem para meu desenvolvimento pessoal e profissional, e por transmitirem alegria no momento que precisei.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e a Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho, **MUITO OBRIGADO!**

RESUMO

O diterpeno pimaranoannonalida (**11**) foi isolado das raízes de *Humirianthera ampla* e convertido quimicamente nos derivados ANN-ACET (**79**), ANN-PROP (**80**), ANN-HEXA (**81**), ANN-DECA (**82**) e ANN-Cl (**83**). Destes, os compostos **80-83** são inéditos na literatura. Os produtos naturais **16** e **17**, e os derivados semi-sintéticos de **11** foram testados em ensaios de atividade citotóxica contra as linhagens celulares tumorais humanas OVCAR-8 (ovário), HCT-166 (côlon), HL-60 (leucemia) e SF-295 (glioblastoma), e atividade antimicrobiana contra cepas de *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 1026), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Aannonalida (**11**) apresentou elevada citotoxicidade contra SF-295 (IC₅₀ 0,09µg/mL), e o derivado **80** apresentou melhor atividade citotóxica que **11** contra duas das quatro linhagens testadas (0,32 µg/mL contra HL-60 e 2,56 µg/mL contra OVCAR-8). Nos ensaios de atividade antimicrobiana, os compostos não apresentaram halo de inibição contra bactérias e FICI=1,5 (não apresentando sinergismo com fluconazol) contra fungos resistentes.

Palavras chave: Annonalida, diterpenos pimaranos, atividade citotóxica, atividade antimicrobiana, *Humirianthera ampla*.

ABSTRACT

The pimarane diterpeno annonalida (**11**) was isolated from roots of *Humirianthera ampla* and chemically converted into derivatives ANN-ACET (**79**), ANN-PROP (**80**), ANN-HEXA (**81**), ANN-DECA (**82**) e ANN-Cl (**83**). Among them, compounds **80-83** are new in the literature. Natural products **16** and **17**, and the semisynthetic derivatives **11** were tested in cytotoxicity assays against the human tumor cell lines OVCAR-8 (ovarian), HCT-116 (colon), HL-60 (leukemia) and SF-295 (glioblastoma), and antimicrobial activity against strains of *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 1026), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) and *Candida albicans* (ATCC 10231). Annonalida (**11**) showed high cytotoxicity against SF-295 (IC₅₀ 0.09 mg/mL), and compound **80** was more active than **11** against two of the four strains tested (0.32 µg/mL against HL-60 and 2.56 µg/mL against OVCAR-8). In the antimicrobial assay, all compounds showed no zone of inhibition against bacteria, and FICI=1.5 (no synergism with fluconazole) against resistant fungi.

Keywords: Annonalide, pimamare diterpenoids, cytotoxic activity, antimicrobial activity, *Humirianthera ampla*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Representação estrutural de agentes antineoplásicos derivados de plantas, utilizados clinicamente. | 2 |
| Figura 2: Representação estrutural de vindesina (8), vinorelbina (9) e vinflunina (10)..... | 3 |
| Figura 3: Representação estrutural da annonalida (11). | 4 |
| Figura 4: Representação estrutural do esqueleto pimarano e análogos estruturais. | 5 |
| Figura 5: Representação estrutural do humirianthol 16 e acrenol 17..... | 6 |
| Figura 6: Representação estrutural de 18, 20, 27 e seus derivados semi-sintéticos 28-30... | 8 |
| Figura 7: Representação estrutural dos compostos 31-37. | 9 |
| Figura 8: Representação estrutural dos compostos 38-43. | 9 |
| Figura 9: Representação estrutural dos compostos 44-47. | 10 |
| Figura 10: Representação estrutural dos compostos 48-50. | 10 |
| Figura 11: Representação estrutural do composto 51..... | 11 |
| Figura 12: Representação estrutural dos compostos 52-55. | 11 |
| Figura 13: Representação estrutural dos compostos 56-61. | 12 |
| Figura 14: Representação estrutural dos compostos 62-63. | 12 |
| Figura 15: Representação estrutural dos compostos 64-69. | 13 |
| Figura 16: Representação estrutural dos compostos 70 | 13 |
| Figura 17: Representação estrutural dos compostos 71-78. | 14 |
| Figura 18: Representação estrutural dos derivados semi-sintéticos da annonalida 11..... | 19 |
| Figura 19: Representação do experimento de atividade antifúngica, contra cepas de <i>Candida</i> | 22 |
| Figura 20: Determinação do Índice de Combinação Inibitória Fracionária. | 23 |
| Figura 21: Espectro de massas de alta resolução da annonalida (11). | 26 |
| Figura 22: Espectro de absorção na região do infravermelho da annonalida (11)..... | 27 |
| Figura 23: Espectro de RMN ¹ H da annonalida (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 29 |
| Figura 24: Expansão 1 do espectro de RMN ¹ H da annonalida (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 30 |
| Figura 25: Expansão 2 do espectro de RMN ¹ H da annonalida (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 31 |
| Figura 26: Expansão 3 do espectro de RMN ¹ H da annonalida (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 32 |
| Figura 27: Espectro de RMN de ¹³ C-BB da annonalida (C ₅ D ₅ N/125MHz)..... | 33 |
| Figura 28: Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT135° da annonalida (C ₅ D ₅ N/125 MHz)..... | 34 |
| Figura 29: Espectro de massas de alta resolução de ANN-ACET (79)..... | 42 |
| Figura 30: Espectro de absorção na região do infravermelho de ANN-ACET (79)..... | 43 |
| Figura 31: Espectro de RMN ¹ H da ANN-ACET (CDCl ₃ /300MHz). | 45 |
| Figura 32: Espectro de RMN de ¹³ C-BB da ANN-ACET (CDCl ₃ /75 MHz). | 46 |
| Figura 33: Espectro de RMN de ¹³ C-DEPT135° da ANN-ACET (CDCl ₃ /75 MHz). | 47 |
| Figura 34: Espectro de RMN 2-D HMBC ¹ H- ¹³ C de ANN-ACET (CDCl ₃ /75 MHz)..... | 48 |
| Figura 35: Espectro de massas de alta resolução de ANN-PROP (80). | 50 |
| Figura 36: Espectro de absorção na região do infravermelho de ANN-PROP (80). | 51 |
| Figura 37: Espectro de RMN ¹ H de ANN-PROP (CDCl ₃ /300 MHz)..... | 53 |
| Figura 38: Espectro de RMN ¹³ C-BB de ANN-PROP (CDCl ₃ /75 MHz). | 54 |
| Figura 39: Expansão do espectro de RMN ¹³ C-BB de ANN-PROP (CDCl ₃ /75 MHz). | 55 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 40: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ANN-PROP ($\text{CDCl}_3/75$ MHz)..... | 56 |
| Figura 41: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ANN-PROP ($\text{CDCl}_3/75$ MHz)..... | 57 |
| Figura 42: Espectro de RMN 2-D HMBC ^1H - ^{13}C de ANN-PROP ($\text{CDCl}_3/75$ MHz). | 58 |
| Figura 43: Expansão do espectro de RMN 2-D HMBC ^1H - ^{13}C de ANN-PROP ($\text{CDCl}_3/75$ MHz)..... | 59 |
| Figura 44: Espectro de massas de alta resolução de ANN-HEXA (81). | 61 |
| Figura 45: Espectro de absorção na região do infravermelho de ANN-HEXA (81). | 62 |
| Figura 46: Espectro de RMN ^1H de ANN-HEXA ($\text{CDCl}_3/300$ MHz)..... | 64 |
| Figura 47: Expansão 1 do espectro de RMN ^1H de ANN-HEXA ($\text{CDCl}_3/300$ MHz)..... | 65 |
| Figura 48: Espectro de RMN ^{13}C -BB de ANN-HEXA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz). | 66 |
| Figura 49: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de ANN-HEXA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz). ... | 67 |
| Figura 50: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ANN-HEXA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz)..... | 68 |
| Figura 51: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ANN-HEXA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz)..... | 69 |
| Figura 52: Espectro de RMN 2-D HMBC ^1H - ^{13}C de ANN-HEXA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz). | 70 |
| Figura 53: Espectro de massas da ANN-DECA (82). | 72 |
| Figura 54: Espectro de absorção na região do infravermelho de ANN-DECA (82)..... | 73 |
| Figura 55: Espectro de RMN ^1H de ANN-DECA ($\text{CDCl}_3/300$ MHz). | 75 |
| Figura 56: Espectro de RMN ^{13}C -BB de ANN-DECA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz). | 76 |
| Figura 57: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -BB de ANN-DECA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz). ... | 77 |
| Figura 58: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ANN-DECA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz). | 78 |
| Figura 59: Expansão do espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ANN-DECA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz)..... | 79 |
| Figura 60: Espectro de RMN 2-D HMBC ^1H - ^{13}C de ANN-DECA ($\text{CDCl}_3/75$ MHz). | 80 |
| Figura 61: Espectro de massas de alta resolução de ANN-Cl (83). | 82 |
| Figura 62: Espectro de absorção na região do infravermelho de ANN-Cl (83). | 83 |
| Figura 63: Espectro de RMN ^1H de ANN-Cl (CDCl_3 , 300 MHz). | 85 |
| Figura 64: Espectro de RMN ^{13}C -BB de ANN-Cl (CDCl_3 , 75 MHz). | 86 |
| Figura 65: Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° de ANN-Cl (CDCl_3 , 75 MHz)..... | 87 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Derivados semi-sintéticos da vimblastina (1) em uso clínico no tratamento do câncer..... | 4 |
| Tabela 2: Dados de RMN de ^1H e ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}/300\text{-}75$ MHz) para o diterpeno annonalida (MARQUES 2007)..... | 7 |
| Tabela 3: Dados das reações de acilação da annonalida (11) para formação dos derivados 80-82..... | 18 |
| Tabela 4: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C do Humirianthol ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500/125 MHz). Comparação com dados da literatura, DMSO- d_6 a 100 MHz (GRAEBNER, 2000)..... | 24 |
| Tabela 5: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C do Acrenol ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500/125 MHz). Comparação com dados da literatura, DMSO- d_6 a 100 MHz (GRAEBNER, 2000)..... | 25 |
| Tabela 6: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de annonalida ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 500/125 MHz). Comparação com dados da literatura, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ a 300/75 MHz (MARQUES, 2007)..... | 35 |
| Tabela 7: Dados espectrais de RMN de ^1H dos derivados 79-83 (CDCl_3 , 300/75 MHz). . | 39 |
| Tabela 8: Continuação dos dados espectrais de RMN de ^1H dos derivados 79-83 (CDCl_3 , 300/75 MHz). | 40 |
| Tabela 9: Dados espectrais de RMN ^{13}C dos derivados 79-83 (CDCl_3 , 300/75 MHz)..... | 40 |
| Tabela 10: Continuação dos dados espectrais de RMN ^{13}C dos derivados 79-83 (CDCl_3 , 300/75 MHz). | 41 |
| Tabela 11: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de ANN-ACET (CDCl_3 , 300/75 MHz). .. | 49 |
| Tabela 12: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de ANN-PROP (CDCl_3 , 300/75 MHz).... | 60 |
| Tabela 13: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de ANN-HEXA (CDCl_3 , 300/75 MHz)... | 71 |
| Tabela 14: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de ANN-DECA (CDCl_3 , 300/75 MHz)... | 81 |
| Tabela 15: Dados espectrais de RMN ^1H e ^{13}C de ANN-Cl (CDCl_3 , 300/75 MHz)..... | 88 |
| Tabela 16: Valores de IC_{50} em $\mu\text{g}/\text{mL}$ após 72 h de exposição dos produtos naturais 11 , 16 e 17 , e dos derivados 79-83 comparados com os dados da literatura (MARQUES, 2011) para annonalida (11). | 90 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Esquema 1: Síntese dos derivados 79-83 da annonalida (11)..... | 34 |
| Esquema 2: Mecanismo de acilação de álcoois catalisada por DMAP..... | 35 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ – Deslocamento químico

μM - Micromolar

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

COSY – *Correlation Spectroscopy*

DMSO – Dimetilsulfóxido

DMAP – Dimetilaminopiridina

DEPT 135° – *Distortionless Enhancement by Polarization Transfer 135°*

EMAR – Espectro de Massas de Alta Resolução

FICI – *Fractionary Inhibitory Concentration*

HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Coherence*

HSQC – *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

IV – Infravermelho

J – Contante de acoplamento

LABEL/UFC–Laboratório de Bioprospecção e Experimentação em Leveduras
Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará)

MHz – Megahertz

m/z – relação massa/carga

PN – Produto Natural

RMN ^{13}C – *BB* – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 – *Broad Band*

RMN ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO | 5 |
| 2.1 DITERPENOS PIMARANOS..... | 5 |
| 2.2 HISTÓRICO DA DESCOBERTA DA ANNONALIDA | 5 |
| 2.3 DITERPENOS PIMARANOS E DERIVADOS COM ATIVIDADE CITOTÓXICA. | 7 |
| 3. OBJETIVOS | 14 |
| 4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 14 |
| 4.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS | 14 |
| 4.2 MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS..... | 15 |
| 4.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | 15 |
| 4.2.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)..... | 15 |
| 4.2.3 Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR) | 16 |
| 4.3 SOLVENTES E REAGENTES | 16 |
| 4.4 COLETA DE <i>H. ampla</i> | 16 |
| 4.5 ISOLAMENTO DA ANNONALIDA (11) | 16 |
| 4.6 PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DA ANNONALIDA (11) | 17 |
| 4.7 ENSAIOS DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DA ANNONALIDA E SEUS DERIVADOS..... | 20 |
| 4.7.1 Atividade citotóxica em células tumorais | 20 |
| 4.8 ENSAIO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA | 20 |
| 4.8.1 Microrganismos | 20 |
| 4.8.2 Teste de atividade antibiótica (Ensaio de disco-difusão)..... | 21 |
| 4.8.3 Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antifúngica..... | 21 |
| 4.8.4 Avaliação do efeito sinérgico dos compostos alvo com o fluconazol, por meio da técnica do <i>checkerboard</i> | 22 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 23 |
| 5.1 ISOLAMENTO DA ANNONALIDA (11), HUMIRIANTHOL (16) E ACRENOL (17) 23 | |
| 5.2 OBTENÇÃO DE DERIVADOS DA ANNONALIDA (11) POR SÍNTESE QUÍMICA 36 | |
| 5.2.1 Identificação estrutural de ANN-ACET (79) | 42 |
| 5.2.2 Identificação estrutural de ANN-PROP (80) | 50 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.2.3 Identificação estrutural de ANN-HEXA (81) | 61 |
| 5.2.4 Identificação estrutural de ANN-DECA (82)..... | 72 |
| 5.2.5 Identificação estrutural de ANN-Cl (83) | 82 |
| 6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA..... | 89 |
| 7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA | 90 |
| 8. CONCLUSÃO | 91 |
| REFERÊNCIAS | 92 |
| ANEXO A - ESPECTRO DE RMN ¹ H DO HUMIRIANTHOL (C ₅ D ₅ N /500 MHz). | 98 |
| ANEXO B - EXPANSÃO 1 DO ESPECTRO DE RMN ¹ H DO HUMIRIANTHOL (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 99 |
| ANEXO C - EXPANSÃO 2 DO ESPECTRO DE RMN ¹ H DO HUMIRIANTHOL (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 100 |
| ANEXO D - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DO HUMIRIANTHOL (C ₅ D ₅ N/125 MHz). 101 | |
| ANEXO E - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C-DEPT135° DO HUMIRIANTHOL (C ₅ D ₅ N/125 MHz)..... | 102 |
| ANEXO F - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO ACRENOL (C ₅ D ₅ N/500MHz). | 103 |
| ANEXO G - EXPANSÃO 1 DO ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO ACRENOL (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 104 |
| ANEXO H - EXPANSÃO 2 DO ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO ACRENOL (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 105 |
| ANEXO I - EXPANSÃO 3 DO ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DO ACRENOL (C ₅ D ₅ N/500MHz)..... | 106 |
| ANEXO J - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DO ACRENOL (C ₅ D ₅ N/125 MHz)..... | 107 |
| ANEXO K - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C-DEPT135° DO ACRENOL (C ₅ D ₅ N/125 MHz). | 108 |