



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE PESQUISA EM FÁRMACOS E MEDICAMENTOS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS
BIOATIVOS

LAIANE CALINE OLIVEIRA PEREIRA

SESQUITERPENOS CARIOFILANOS E OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS
DE *Evolvulus linarioides* MEISN. (CONVOLVULACEAE)

João Pessoa – PB

2016

LAIANE CALINE OLIVEIRA PEREIRA

**SESQUITERPENOS CARIOFILANOS E OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS
DE *Evolvulus linarioides* MEISN. (CONVOLVULACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
COORIENTADOR: Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa

João Pessoa – PB
2016

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

P436s Pereira, Laiane Caline Oliveira.
SESQUITERPENOS CARIOFILANOS E OUTROS CONSTITUINTES
QUÍMICOS DE *Evolvulus linarioides* MEISN.
(CONVOLVULACEAE) / Laiane Caline Oliveira Pereira. -
João Pessoa, 2016.
96 f. : il.

Orientação: Marcelo Sobral da Silva.
Coorientação: Vicente Carlos de Oliveira Costa.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. *Evolvulus linarioides*. 2. Convolvulaceae. 3.
evolfileno. 4. acetato de linariofileno. I. Silva,
Marcelo Sobral da. II. Título.

UFPB/BC

LAIANE CALINE OLIVEIRA PEREIRA

**SESQUITERPENOS CARIOFILANOS E OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS
DE *Evolvulus linarioides* MEISN. (CONVOLVULACEAE)**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva
Doutor em Química Orgânica
Universidade Federal da Paraíba – Campus I
(Orientador)



Profa. Dra. Barbara Viviana de Oliveira Santos
Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba – Campus I
(Examinador Interno)



Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida
Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal do Vale do São Francisco
(Examinador Externo)

Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa
Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba
(Coorientador)

Primeiramente, aos meus pais, Maria Liduína e Antônio Carlos, pelo amor, carinho, dedicação e incentivo.

Às minhas irmãs queridas, Leilane Pereira e Carla Pereira, pelo companheirismo, amizade e cumplicidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nunca ter me deixado fraquejar, por demonstrar o Seu amor incondicional por mim inúmeras vezes, pela inspiração nos momentos difíceis e pelo caminho de luz por onde Ele sempre me guiou.

Aos meus amados pais, Maria Liduina e Antônio Carlos, que, no decorrer da minha vida, proporcionaram-me, além de extenso carinho, amor e atenção, os conhecimentos da integridade e da perseverança, despertando e alimentando em minha personalidade, ainda na infância, a sede pelo conhecimento e a importância deste em minha vida. Por essa razão, gostaria de dedicar e reconhecer a vocês, minha imensa gratidão e sempre amor.

Às minhas queridas irmãs, Leilane Pereira e Carla Pereira, pelo apoio, cumplicidade e amizade incondicional. Com vocês a vida é mais divertida.

À toda minha família, em especial os meus avós, Maria Hilda, Antônio (*in memorian*), Maria de Lourdes (*in memorian*) e Ivan (*in memorian*), pela lição de simplicidade e perseverança durante os momentos difíceis. Agradeço pelo apoio e carinho, vocês são os meus exemplos de superação.

Ao meu grande amigo, Augusto Araújo, por todo apoio indispensável para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva, pela oportunidade de desenvolver este trabalho e por ter depositado sua confiança em mim.

Ao meu co-orientador, Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa, pela paciência na orientação e incentivo, além de estar sempre à disposição para me ajudar e tirar dúvidas. Sem você teria sido mais difícil.

Ao Prof. Dr. Josean Fachine Tavares, pela ajuda indispensável no desenvolvimento deste trabalho, e por estar sempre disposto a ajudar.

À Profa. Dra. Maria de Fátima Agra, do Centro de Biotecnologia (CBiotec) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) pela identificação dos materiais vegetais em estudo.

Ao Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho, pelos ensinamentos valiosos durante as reuniões do grupo de estudos.

Aos técnicos da Unidade de Caracterização e Análise, Alexandro Marinho, Evandro Ferreira e Sócrates Golzio, pela ajuda indispensável e por sempre terem se prontificado a me ajudar.

Ao funcionário Raimundo Nonato da Silva Filho, pela ajuda sempre necessária no laboratório.

À Dra. Ana Silvia Suassuna Carneiro Lúcio, pelos ensinamentos durante a Iniciação Científica.

Às secretárias do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Caroline Mangueira e Dayana Pires, pelos esclarecimentos prestados.

Aos mestrandos e doutorandos da equipe do Prof. Dr. Marcelo Sobral, Prof. Dr. Josean Fachine e Dr. Vicente Costa, especialmente Andreza, Ania, Camila, Kaio, Juliana, Márcio, Roseana, Sallette, Susyanne, Yuri, pela amizade, ajuda na bancada, apoio e pela ótima convivência.

Aos alunos de Iniciação Científica, Ana Rita, André, Hanna, Jociano, Mariana, Pedro, pela colaboração e amizade.

Aos colegas da turma do mestrado 2014 e 2015, especialmente aos amigos Anderson, Andressa, Denise, Juliane, Laércia, Lázaro, Luiz André, Marianna e Renata, pela convivência antes e depois das aulas.

À todos os alunos de iniciação científica e pós-graduandos que fazem parte do Laboratório de Fitoquímica do PPgPNSB, pelo convívio, apoio e amizade.

À todos os professores do PPGPNSB, pelos valiosos ensinamentos, e por me ensinarem o amor à pesquisa e à docência.

À todos aqueles que colaboraram de forma direta ou indireta para a realização desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte técnico científico através do Portal Periódicos.

Muito obrigada!

Laiane Caline Oliveira Pereira

O grande rio tem seu trajeto, antes do mar imenso. Copiando-lhe a expressão, a alma percorre igualmente caminhos variados e etapas diversas, também recebe afluentes de conhecimentos, aqui e ali, avoluma-se em expressão e purifica-se em qualidade, antes de encontrar o Oceano Eterno da Sabedoria.

(André Luiz)

RESUMO

PEREIRA, L. C. O. **Sesquiterpenos cariofilanos e outros constituintes químicos de *Evolvulus linarioides* Meisn. (Convolvulaceae)**. 2016. 96 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, 2016.

A família Convolvulaceae compreende 58 gêneros e cerca de 1.880 espécies, sendo conhecida como glória-da-manhã e apresentando distribuição cosmopolita. No Brasil ocorrem 22 gêneros e 403 espécies. Entre os gêneros, *Evolvulus* destaca-se por apresentar espécies com um grande potencial inexplorado do ponto de vista fitoquímico e farmacológico, apresentando diversas classes de metabólitos e vários usos na medicina popular comprovados. Para a realização deste estudo, as partes aéreas de *E. linarioides* foram submetidas a processos de extração e técnicas cromatográficas. A caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados foi realizada pela análise dos dados dos espectros no Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais, ponto de fusão e rotação óptica. No estudo da fase hexânica foram isoladas três substâncias, relatadas pela primeira vez na espécie em estudo: ferulato de alquila (EI-1); estigmasterol (EI-2a) e β -sitosterol (EI-2b), em mistura. Além dos sesquiterpenos: 13α -acetoxi-4,5-epoxi-cariofilan- 8β -ol (EI-3), nomeado de evolfileno, e 13α -acetoxi-cariofil-3(4)-en- 8β - 5α -diol (EI-4), ao qual foi atribuído o nome acetato de linariofileno, ambos inéditos na literatura. Esses resultados contribuíram para o conhecimento do gênero *Evolvulus*, através do estudo fitoquímico de *E. linarioides*, já que reportou o isolamento de três compostos relatados pela primeira vez para esta espécie em estudo e dois sesquiterpenos inéditos na literatura como produto natural (evolfileno e acetato de linariofileno).

Palavras-chave: *Evolvulus linarioides*; Convolvulaceae; evolfileno; acetato de linariofileno.

ABSTRACT

PEREIRA, L. C. O. **Sesquiterpenes caryophyllene and other chemical constituents of *Evolvulus linarioides* Meisn. (Convolvulaceae).** 2016. 96 f. Dissertation (Master in Natural and Bioactive Synthetic Products) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, 2016.

The Convolvulaceae family consists 58 genera and approximately 1,880 species, known as morning glory and presenting a cosmopolitan distribution. In Brazil there are 22 genera and 403 species. Among the genera, *Evolvulus* stands out for presenting species with great unexplored potential from the phytochemical and pharmacological point of view, with several classes of metabolites and various uses in medicine popular proven. To conduct this study, the aerial parts of *E. linarioides* were submitted to extraction processes and chromatographic techniques. The structural characterization of isolated chemical components was performed by analysis of the spectral data of Infrared, nuclear magnetic resonance ^1H and ^{13}C , one- and two-dimensional, melting point and optical rotation. In the study were isolated from the hexane phase three substances, first reported in the species studied: ferulate alkyl (EI-1); stigmasterol (EI-2a) and β -sitosterol (EI-2b), in a mixture. In addition to the sesquiterpene: 13α -acetoxy-4,5-epoxy-cariofilan- 8β -ol (EI-3), named evolfileno and 13α -acetoxy-3-cariofil(4)-en- 8β - 5α -diol (EI-4), to which was assigned the name acetate linariofileno, both unpublished literature. These results contributed to the knowledge of *Evolvulus* genera through the phytochemical study of *E. linarioides* since reported the isolation of three compounds reported for the first time for this kind of study and two unpublished sesquiterpenes in the literature as a natural product (evolfileno and acetate linariofileno).

Keywords: *Evolvulus linarioides*; Convolvulaceae; evolfileno; acetate linariofileno.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição geográfica da família Convolvulaceae Juss. no mundo representada em verde.....	24
Figura 2 – Distribuição geográfica do gênero <i>Evolvulus</i> L. no mundo representada em verde.....	27
Figura 3 – Espécie <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.....	30
Figura 4 – Estrutura química de alguns derivados do ácido cinâmico.....	31
Figura 5 – Estrutura básica dos esteróis.....	32
Figura 6 – Estrutura química do colesterol.....	33
Figura 7 – Estrutura química do β -cariofileno.....	34
Figura 8 – Esquema da biossíntese de sesquiterpenos cariofilanos.....	36
Figura 9 – Espectro de Infravermelho (pastilha de KBr) de EI-1.....	48
Figura 10 – Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de EI-1.....	49
Figura 11 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de EI-1 na região 3,8 a 7,8 ppm.....	50
Figura 12 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de EI-1 na região 0,7 a 2,4 ppm.....	50
Figura 13 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de EI-1.....	51
Figura 14 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de EI-1 na região 105-170 ppm.....	52
Figura 15 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de EI-1 na região 12-68 ppm.....	52
Figura 16 – Estrutura química do ferulato de alquila.....	53
Figura 17 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-2.....	55
Figura 18 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-2 na região 3,4 a 5,4 ppm.....	56
Figura 19 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-2 na região 0,6 a 2,3 ppm.....	56
Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de EI-2.....	57
Figura 21 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-2 na região 31-58 ppm.....	58

Figura 22 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-2 na região 11-30 ppm.....	58
Figura 23 – Estrutura química do estigmasterol.....	59
Figura 24 – Estrutura química do β -sitosterol.....	59
Figura 25 – Espectro de Infravermelho (pastilha de KBr) de EI-3.....	64
Figura 26 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, acetona- d_6) de EI-3.....	65
Figura 27 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região 16-74 ppm.....	66
Figura 28 – Principais diferenças e semelhanças (representadas em cores iguais) entre os deslocamentos químicos de carbono de EI-3 (125 MHz, acetona- d_6), óxido de cariofileno (125 MHz, CDCl_3) (COSTA, 2009), derivado do cariofileno (75 MHz, CDCl_3) (ABRAHAM; ERNST; ARFMANN, 1990) e linariofileno (125 MHz, CDCl_3) (QUEIROGA, 2012)	67
Figura 29 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3.....	68
Figura 30 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região 0,7 a 4,0 ppm.....	68
Figura 31 – Espectro de correlação ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3.....	69
Figura 32 – Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C HMQC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 15-75 ppm e 0,7-3,9 ppm.....	69
Figura 33 – Espectro de correlação ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3.....	70
Figura 34 – Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 15-80 ppm e 0,6-4,0 ppm.....	71
Figura 35 – Expansão do espectro de correlação ^1H x ^{13}C HMBC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 165-178 ppm e 1,7-4,0 ppm.....	71
Figura 36 – Espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3.....	72
Figura 37 – Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H COSY (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 0,5-4,0 ppm e 0,6-4,0 ppm.....	72
Figura 38 – Espectro de correlação NOESY (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3.....	73
Figura 39 – Expansão do espectro de correlação ^1H x ^1H NOESY (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 0,5-4,0 ppm e 0,6-4,0 ppm.....	73

Figura 40 – Estrutura química do evolfileno.....	74
Figura 41 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-4.....	77
Figura 42 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região de 120-178 ppm.....	78
Figura 43 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região 38-74 ppm.....	79
Figura 44 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região 15-36 ppm.....	79
Figura 45 – As principais diferenças e semelhanças (representadas em cores iguais) entre os deslocamentos químicos de carbono de EI-4 (125 MHz, CDCl_3), EI-3 (125 MHz, acetona- d_6) e linariofileno (125 MHz, CDCl_3) (QUEIROGA, 2012)	80
Figura 46 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-4.....	81
Figura 47 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região 3,0 a 5,6 ppm.....	82
Figura 48 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região 0,85 a 2,25 ppm.....	82
Figura 49 – Estrutura química de acetato de linariofileno.....	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do EMB das partes aéreas de <i>Evolvulus linarioides</i>	44
Tabela 2 – Deslocamentos químicos de RMN de ¹ H e ¹³ C (200 MHz e 50 MHz, CDCl ₃) de EI-1 e comparação com dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (200 MHz e 50 MHz, CDCl ₃) da literatura (ROCHA e SILVA et al., 2007) (δ em ppm e <i>J</i> em Hz)..	54
Tabela 3 – Deslocamentos químicos de RMN de ¹ H e ¹³ C (500 MHz e 125 MHz, CDCl ₃) de EI-2a e comparação com dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (600 MHz e 150 MHz, CDCl ₃) do estigmasterol (CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012) (δ em ppm e <i>J</i> em Hz).....	60
Tabela 4 – Deslocamentos químicos de RMN de ¹ H e ¹³ C (500 MHz e 125 MHz, CDCl ₃) de EI-2b e comparação com dados de RMN de ¹ H e ¹³ C (600 MHz e 150 MHz, CDCl ₃) do β-sitosterol (CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012) (δ em ppm e <i>J</i> em Hz).....	62
Tabela 5 – Dados de RMN de ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) de EI-3 e correlações obtidas em HMQC e HMBC, registradas em acetona- <i>d</i> ₆ (δ em ppm e <i>J</i> em Hz).....	75
Tabela 6 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN de ¹³ C de EI-3 (125 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) e o derivado do cariofileno (75 MHz, CDCl ₃) (ABRAHAM; ERNST; ARFMANN, 1990) (δ em ppm).....	76
Tabela 7 – Dados de RMN de ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) de EI-4 em CDCl ₃ (δ em ppm e <i>J</i> em Hz).	84
Tabela 8 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN de ¹³ C de EI-4 (125 MHz, CDCl ₃), linariofileno (125 MHz, CDCl ₃) (QUEIROGA, 2012) e EI-3 (125 MHz, acetona- <i>d</i> ₆) (δ em ppm).....	85

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Substâncias isoladas de espécies da família Convolvulaceae.....	25
Quadro 2 – Espécies de <i>Evolvulus</i> utilizadas na medicina popular.....	28
Quadro 3 – Substâncias isoladas do gênero <i>Evolvulus</i> L.....	29
Quadro 4 – Compostos isolados de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.....	30

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Obtenção e particionamento do EMB de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.....	42
Esquema 2 – Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do EMB das partes aéreas de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de Etila
Acetona-<i>d</i>₆	Acetona deuterada
APT	<i>Attached Proton Test</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em Camada Delgada Analítica
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
cm	Centímetro
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<i>d</i>	Dupleto
DCM	Diclorometano
<i>dd</i>	Duplo dupleto
<i>dl</i>	Dupleto largo
DMAPP	Dimetilalilo pirofosfato
EMB	Extrato Metanólico Bruto
g	Gramma
H₂O	Água
Hex	Hexano
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
Hz	Hertz
IPP	Isopentenilo pirofosfato
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
KBr	Brometo de potássio
kg	Quilograma
LDL	Low Density Lipoprotein
MeOH	Metanol
<i>m</i>	Multiplete
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
mL	Mililitro

nm	Nanômetro
mm	Milímetro
n-BuOH	n-Butanol
Na₂SO₄	Sulfato de sódio anidro
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
pág.	Página
PAL	phenylalanine ammonia-lyase
PPgPNSB	Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
ppm	Partes por milhão
R_f	Fator de Retenção
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
tdd	Tripleto de duplo duplete
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UNICAL	Unidade de Caracterização e Análise
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	23
2.1 Considerações sobre a família <i>Convolvulaceae</i> Juss.....	24
2.2 Considerações sobre o gênero <i>Evolvulus</i> L.....	27
2.3 Considerações sobre a espécie <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.....	30
2.4 Considerações sobre os ácidos hidroxicinâmicos.....	31
2.5 Considerações sobre os fitoesteróis.....	32
2.6 Considerações sobre os sesquiterpenos cariofilano.....	33
2.6.1 Biossíntese dos sesquiterpenos cariofilanos.....	35
3 OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo geral.....	38
3.2 Objetivos específicos.....	38
4 PARTE EXPERIMENTAL	39
4.1 Coleta e identificação do material botânico.....	40
4.2 Processamento do material vegetal de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.....	40
4.3 Obtenção do Extrato Metanólico Bruto (EMB) das partes aéreas de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.....	40
4.4 Particionamento do Extrato Metanólico Bruto de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.....	41
4.5 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Evolvulus</i> <i>linarioides</i> Meisn.....	43
4.6 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Evolvulus</i> <i>linarioides</i> Meisn.....	43
4.7 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados.....	45
4.7.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	45
4.7.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	45
4.7.3 Ponto de Fusão.....	46
4.7.4 Rotação óptica.....	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 Identificação estrutural de EI-1.....	48

5.2 Identificação estrutural de EI-2.....	55
5.3 Determinação estrutural de EI-3.....	64
5.4 Determinação estrutural de EI-4.....	77
CONCLUSÃO.....	86
REFERÊNCIAS.....	88

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O uso das plantas como remédio contra doenças representa uma importante conquista da humanidade, e há relatos da sua utilização na Mesopotâmia, que remota a 3 mil anos a.C. O emprego medicinal das plantas foi sendo adquirido durante o tempo, através de tentativa e erro, resultando na medicina tradicional. Grande parte da população recorre a remédios de base vegetal como terapia complementar e alternativa, ou, ainda, na atenção básica, no caso de países emergentes (FÜRST; ZÜNDORF, 2015).

Os vegetais fornecem complexas bibliotecas de componentes bioativos únicos, devido à grande diversidade estrutural, no entanto, não é a única razão pela qual os produtos naturais são de interesse para o desenvolvimento de novos fármacos. Uma importante característica adicional é que muitas vezes eles possuem atividades biológicas altamente seletivas e específicas (CRAGG; NEWMAN, 2013). Além disso, podem ser otimizados usando química combinatória gerando novos candidatos a fármacos para muitas doenças, como é mostrado pelo número crescente de compostos semissintéticos em vários estágios de desenvolvimento clínico (MISHRA; TIWARI, 2011).

Essa variabilidade estrutural encontrada nas plantas é o resultado da interação de redes de reações químicas de grande versatilidade do metabolismo e faz com que um único indivíduo possa produzir centenas de substâncias. Para sobrevivência, são produzidos os metabólitos primários, tais como açúcares, clorofila, etc., mas esses não são os únicos, há também substâncias que não desempenham funções tão essenciais e que não são produzidos por todos os organismos, designados de metabólitos secundários. À estes, são atribuídas algumas funções, como defesa, transporte de metais, interação com outros organismos, hormônios sexuais, entre outros (GOTTLIEB; BORIN, 2012).

Neste contexto, as substâncias naturais vêm mostrando sua importância, seja por sua própria atividade biológica, seja como fonte inspiradora de novos padrões moleculares bioativos. Fármacos introduzidos na terapêutica nos últimos 20 anos, são fundamentais para o renascimento do interesse nos produtos naturais, com destaque para os agentes antineoplásicos (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

A química de produtos naturais, na virada do século, foi alvo de desinteresse por parte da indústria farmacêutica devido as diversas dificuldades associadas à purificação e à elucidação estrutural, além do advento da química combinatória. Atualmente, com o melhoramento de técnicas de purificação e caracterização de compostos, levou às descobertas de novos fármacos oriundos de produtos naturais, impulsionando, em especial, os estudos de plantas baseado na medicina tradicional (OLIVEIRA; PUPO; VIEIRA, 2013).

Visando melhorar o acesso da população brasileira ao sistema de saúde, o Ministério da Saúde disponibiliza opções terapêuticas e preventivas aos usuários do Sistema Único de Saúde, dentre elas o uso de plantas medicinais e fitoterápicos (SANTOS et al., 2011). Infelizmente, a etnofarmacologia esbarra na falta de dados clínicos e embasamento científico. A base racional para o uso de um grande número de remédios à base de plantas que estão no mercado ainda está longe de ser suficiente, ou cientificamente válido (FÜRST; ZÜNDORF, 2015). Considerando que apenas 10% de 350.000 espécies vegetais conhecidas no mundo foram estudadas sob o ponto de vista fitoquímico e farmacológico, ainda temos muito o que avançar (QUEIROZ et al., 2014).

Portanto, a química de produtos naturais busca proporcionar o embasamento científico para o uso das plantas medicinais, por se dedicar principalmente à caracterização estrutural, avaliação de propriedades e investigações biossintéticas de substâncias naturais produzidas por organismos vivos (BRAZ FILHO, 2010). Atualmente, o avanço tecnológico dos métodos cromatográficos, em especial das técnicas hífenadas, é de suma importância para acelerar o isolamento e identificação de novas substâncias bioativas em uma mistura complexa.

Na região semiárida do Nordeste, o uso de plantas medicinais é disseminado, sendo encontrado no bioma da Caatinga espécies nativas adaptadas morfológicamente às condições de déficit hídrico (MARREIROS et al., 2015).

A Caatinga apresenta parâmetros meteorológicos extremos, como alta radiação solar, baixa nebulosidade, alta temperatura média anual, baixa umidade relativa, e, sobretudo, precipitações mais baixas e irregulares, limitadas, na maior parte da área, a um período curto do ano (LEAL; TABARELLI; SILVA, 2005).

Essas características têm modelado as espécies vegetais endêmicas da Caatinga, pois a produção de metabólitos secundários está intimamente relacionada

com o ambiente circundante da planta, podendo ser influenciada pela sazonalidade, índice pluviométrico, temperatura, altitude, desenvolvimento, entre outros. Como exemplo, o estresse hídrico frequentemente tem consequências marcantes, levando a um aumento na produção de algumas classes de metabólitos, como glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, alguns terpenos, antocianinas e alcaloides (GOBBONETO; LOPES, 2007).

Diante do exposto, decidiu-se estudar fitoquimicamente as espécies encontradas na Caatinga, na qual destaca-se a família Convolvulaceae, em especial o gênero *Evolvulus*, por apresentar um grande potencial inexplorado do ponto de vista fitoquímico e farmacológico, apresentando diversas classes de metabólitos e vários usos na medicina popular comprovados (SINGH, 2008).

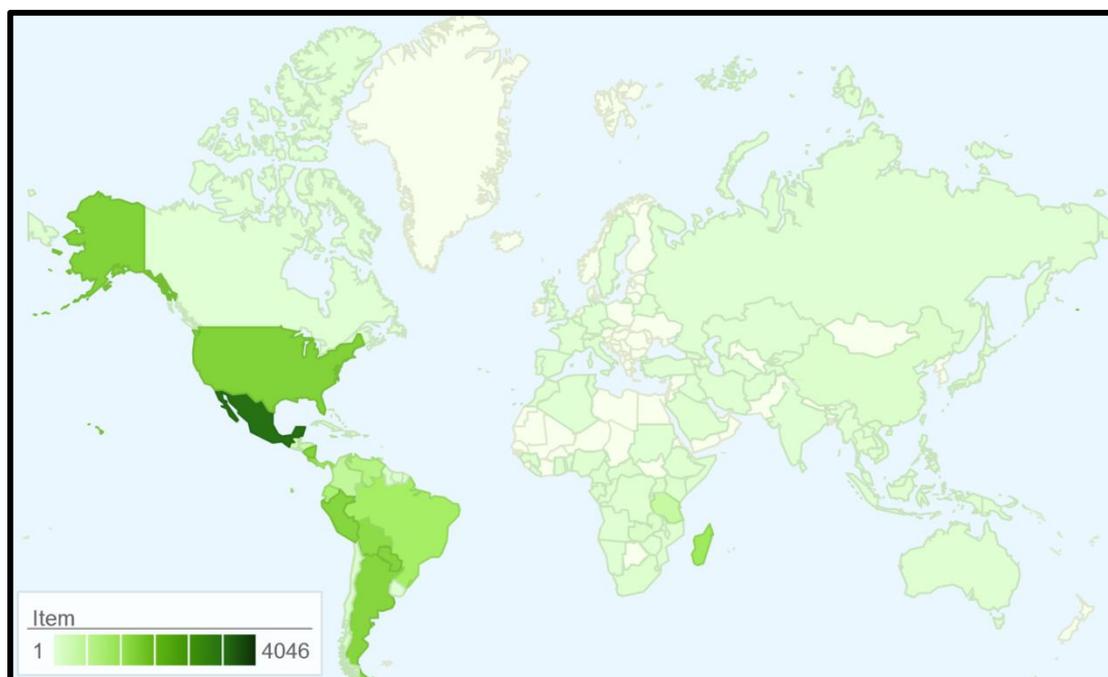
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações sobre a família Convolvulaceae Juss.

A família Convolvulaceae, descrita por Jussieu em 1789, compreende 58 gêneros e cerca de 1.880 espécies (STAPLES, 2016). É conhecida como glória-da-manhã e apresenta distribuição cosmopolita, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, como mostrado na figura 1 (pág. 24) (EICH, 2008). No Brasil, ocorrem 22 gêneros e 403 espécies, habitando principalmente o Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica (SIMÃO-BIANCHINI; FERREIRA; PASTORE, 2016).

Figura 1 – Distribuição geográfica da família Convolvulaceae Juss. no mundo representada em verde.



Fonte: <http://www.tropicos.org/Name/42000283?tab=maps>, acessado em: 26 jan. 2016.

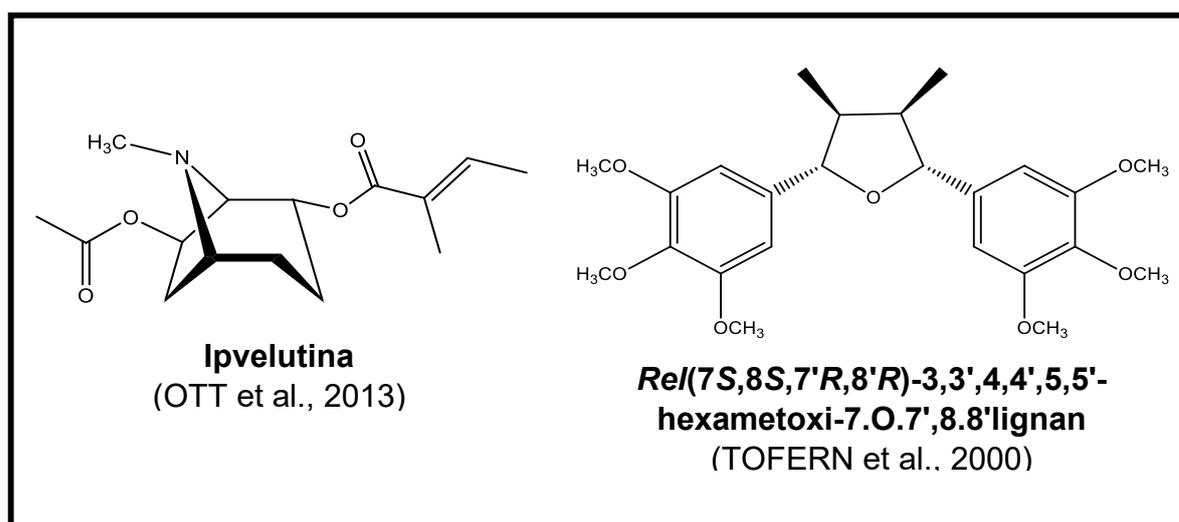
As características anatômicas mais notáveis desta família são a presença de células secretoras de glicoresinas nas folhas, flores, sementes e na periderme de raízes tuberosas. Na medicina tradicional em todo o mundo desde os tempos antigos, espécies da família Convolvulaceae são conhecidas pela sua ação purgante, atribuída a glicosídeos de resina que são metabólitos secundários conhecidos como glicolípídios ou lipo-oligossacarídeos. São metabólitos incomuns, por possuírem uma

grande complexidade estrutural e por serem anfipáticos (PEREDA-MIRANDA; ROSAS-RAMÍREZ; CASTAÑEDA-GÓMEZ, 2010).

Dentre as espécies mais importantes economicamente, a *Ipomea batatas* (batata-doce) é sem dúvidas a mais utilizada, sendo consumida como alimento, fonte de álcool e do açúcar industrial, e como alimento para o gado. Alguns medicamentos, na sua maioria purgantes, são obtidos a partir das raízes de espécies de *Ipomoea* (especialmente *I. purga, jalap*), *Convolvulus* (*C. scammonia, scammony*) e *Operculina*, e outras produzem alcaloides da ergolina em suas sementes e têm sido usados em rituais religiosos. Na ornamentação são utilizadas espécies de *Ipomoea*, *Convolvulus*, *Evolvulus*, *Poranopsis*, *Turbina*, *Argyreia* e *Merremia* (STAPLES, 2016). Algumas plantas são consideradas tóxicas quando consumidas pelo gado no período de seca na falta de outra fonte de alimento, destacando-se *Ipomoea carnea* Jacq. (SILVA, 2008).

Os metabólitos secundários isolados de espécies desta família são de classes químicas variadas, tais como: glicosídeos cianogênicos (NAHRSTEDT; SATTAR; EL-ZALABANIA, 1990); sesquilignanas e sesquieolignanas (TOFERN et al., 2000); flavonoides (ZEKRY et al., 2015); derivados do ácido quínico (LIU et al., 2014); cumarinas e terpenos (LIU et al., 2013); com destaque para os alcaloides, que são encontrados diversos núcleos, como pirrolidina (EVANS; SOMANABANDHU, 1974), tropano (OTT et al., 2013), e, calistegina, sendo este último um importante marcador taxonômico (Quadro 1, pág. 25 e 26) (SCHIMMING et al., 2005).

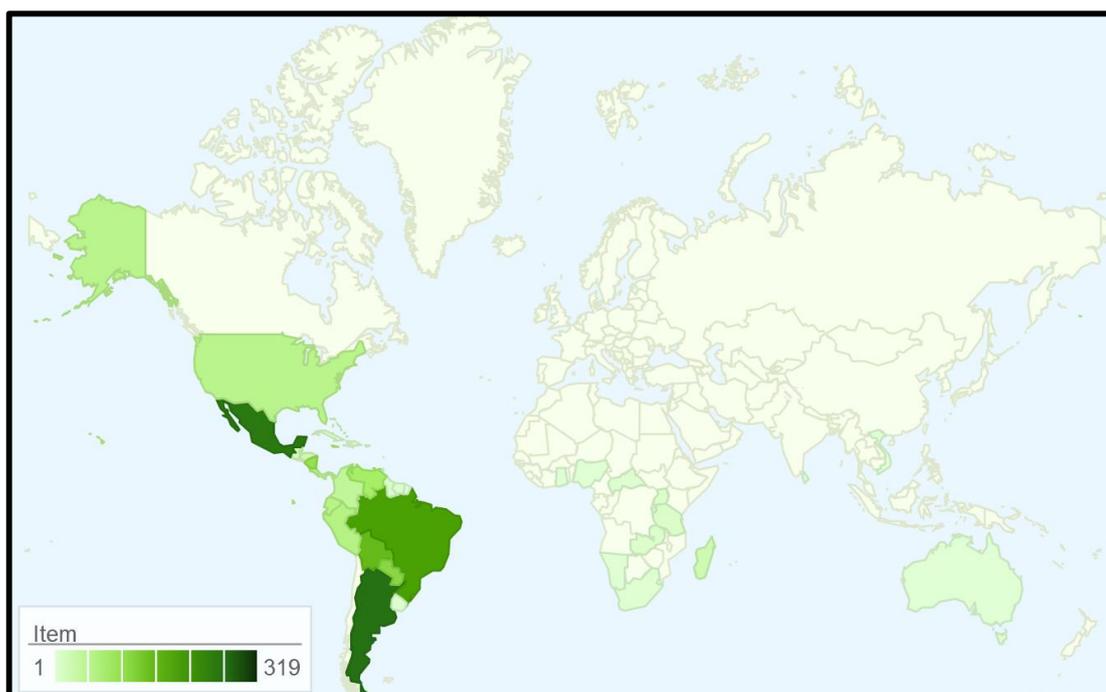
Quadro 1 – Substâncias isoladas de espécies da família Convolvulaceae.



2.2 Considerações sobre o gênero *Evolvulus* L.

O gênero *Evolvulus*, descrito pela primeira vez por Linnaeus, apresenta 97 espécies, sendo predominantemente distribuídas na América, com apenas duas de ocorrência mundial, *E. alsinoides* e *E. nummularius* (OOSTSTROOM, 1934). No Brasil, é representado por 71 espécies, podendo ser encontradas nos domínios fitogeográficos Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa, Pantanal (Figura 2, pág. 27) (SIMÃO-BIANCHINI; FERREIRA, 2016b).

Figura 2 – Distribuição geográfica do gênero *Evolvulus* L. no mundo representada em verde.



Fonte: <http://www.tropicos.org/Name/40007885?tab=maps>, acessado em 26 jan. 2016.

Evolvulus é originada do latim “evolvo”, significando aquele que não se enrola, por não terem sido registradas plantas volúveis no gênero (JUNQUEIRA; SIMÃO-BIANCHINI, 2006). As características comuns a todas as espécies do gênero são o indumento formado por tricomas malpigiúceos, a presença de dois estiletos livres ou unidos na base, cada qual com dois estigmas e as sementes glabras (FERREIRA; SIMÃO-BIANCHINI; MIOTTO, 2014).

A população utiliza as plantas deste gênero para diversos fins, como mostrado no quadro 2 (pág. 28). Estudos farmacológicos realizados reportaram atividades, como, adaptogênica, antiamnésica (SIRIPURAPU et al., 2005), antiestresse (GUPTA

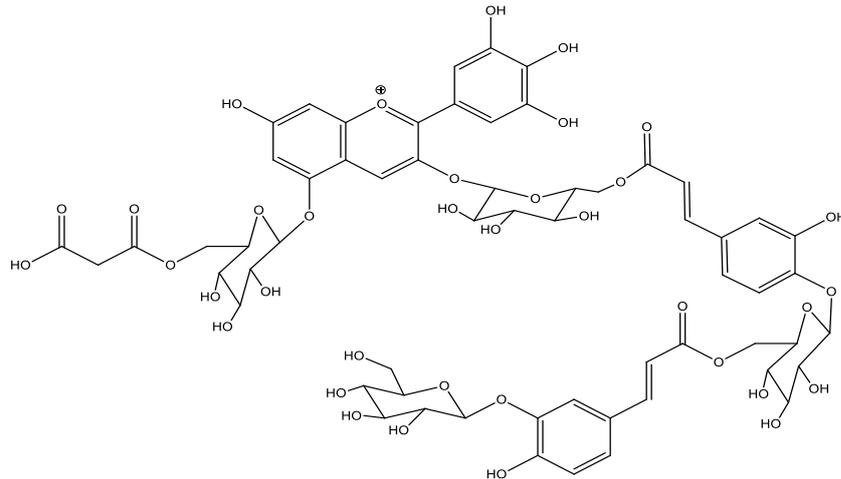
et al., 2007; GUPTA et al., 2013), anti-helmíntica, antimicrobiana (DASH et al., 2002), antioxidante (KUMAR et al., 2010), anti-inflamatória, antipirética, antidiarreica (LEKSHMI; REDD, 2011), melhoria da aprendizagem e memória em ratos (NAHATA; PATIL; DIXIT, 2010).

Quadro 2 – Espécies de *Evolvulus* utilizadas na medicina popular.

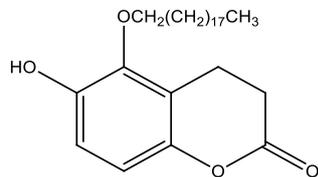
Espécie	Uso Popular	Referências
<i>Evolvulus alsinoides</i>	Febre, debilidade nervosa, perda de memória, sífilis, bronquite crônica, asma, etc.	SINGH, 2008.
<i>Evolvulus arbuscula</i>	Impotência, esterilidade e expectorante.	CANO; VOLPATO, 2004.
<i>Evolvulus nummularius</i>	Febre, verme, disenteria e edema.	AYYANAR; IGNACIMUTHU, 2011; DINDA et al., 2007; MIA et al., 2009.
<i>Evolvulus pterygophyllus</i>	Hemorroidas, inflamação no útero e ovário.	CARNEIRO, 2009.

Em relação aos constituintes químicos, como pode ser visto no quadro 3 (pág. 29), há uma grande variedade de metabólitos secundários, sendo reportado o isolamento de antocianinas (TOKI et al., 1994), alcaloides (GOYAL; SINGH, 2005), flavonoides glicosilados, triterpenos, cumarinas (KUMAR et al., 2010), cromonas (AKHTAR et al., 2009), e compostos fenólicos (GUPTA et al., 2007). A investigação da composição química do óleo essencial de *E. alsinoides* identificou o composto majoritário como sendo o cis- α -necrodol, um monoterpeno irregular com um esqueleto ciclopentano, que é muito incomum no reino vegetal (KASHIMA; MIYAZAWA, 2014).

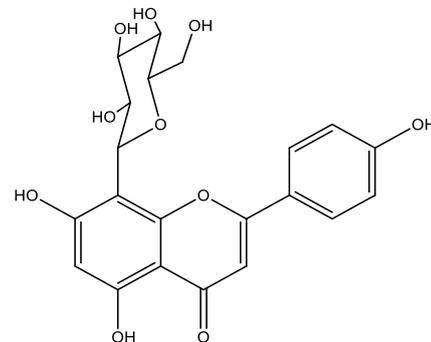
Quadro 3 – Substâncias isoladas do gênero *Evolvulus* L.



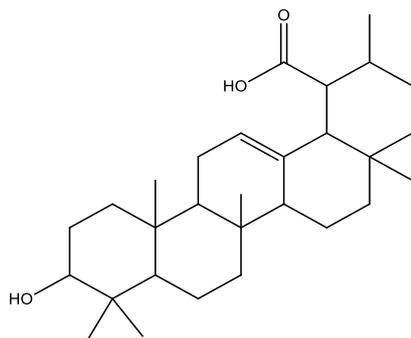
Delfinidina-3-glicosilcafeoilglicosilcafeoilglicosídeo-5-malonilglicosídeo
(TOKI et al., 1994)



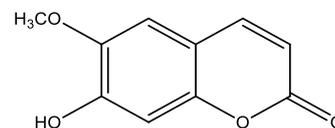
6-hidroxi-5-nonadecanoxicroman-2-ona
(AKHTAR et al., 2009)



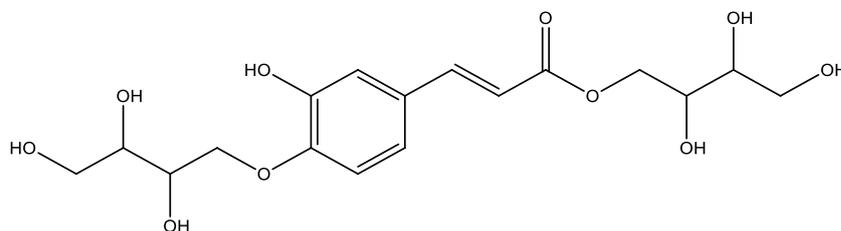
Vitexina
(KUMAR et al., 2010)



Ácido nummulárico
(DINDA et al., 2007)



7-hidroxi-6-metoxicumarina
(KUMAR et al., 2010)



Evolvoide A
(GUPTA et al., 2007)

2.3 Considerações sobre a espécie *Evolvulus linarioides* Meisn.

Evolvulus linarioides apresenta-se como um subarbusto ereto com 15-30 cm de comprimento, às vezes prostrado, com 10-20 cm de comprimento, flores brancas ou azuis medindo 5-7 mm, florescendo de outubro a janeiro (Figura 3, pág. 30) (FERREIRA; SIMÃO-BIANCHINI; MIOTTO, 2014). Pode ser encontrada no Paraguai e Brasil (OOSTSTROOM, 1934). No Brasil, ocorre nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Ceará, Pernambuco e Paraíba (LIMA; BARBOSA, 2014; SIMÃO-BIANCHINI; FERREIRA, 2016a).

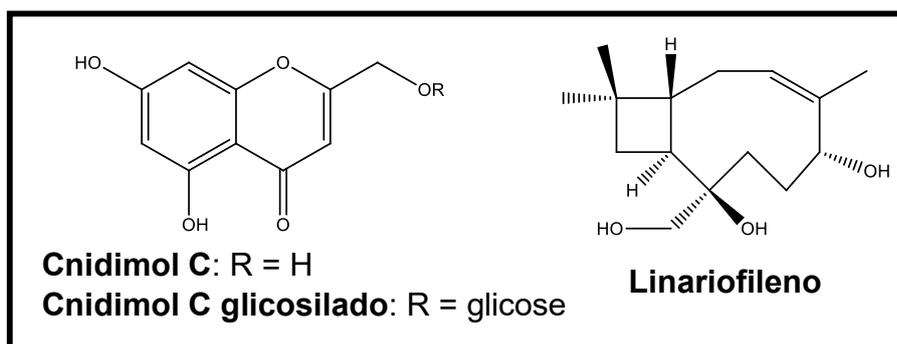
Figura 3 – Espécie *Evolvulus linarioides* Meisn.



Fonte: Josean Fechine Tavares, 2009.

O único estudo fitoquímico envolvendo esta espécie reportou o isolamento de um sesquiterpeno do tipo cariofilano denominado linariofileno, e duas cromonas 5,7-dissubstituídas conhecidas como cnidimol C e cnidimol C glicosilado (quadro 4, pág. 30) (QUEIROGA, 2012).

Quadro 4 – Compostos isolados de *Evolvulus linarioides* Meisn.

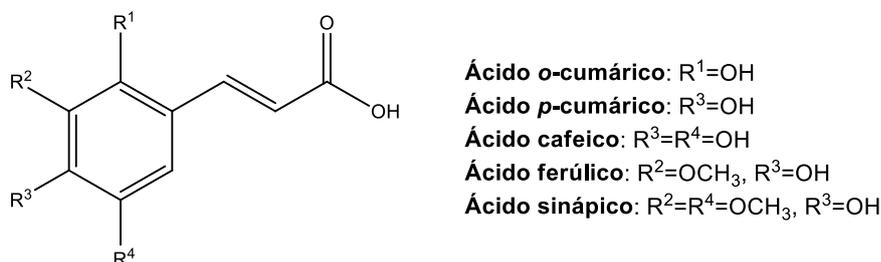


Fonte: QUEIROGA, 2012.

2.4 Considerações sobre os ácidos hidroxicinâmicos

Os fenilpropanoides formam uma classe que abrange diversos metabólitos secundários de plantas e que apresentam grande variedade de estruturas moleculares e efeitos farmacológicos (LIN; YAN, 2014). Dentre estes, destacamos os derivados do ácido cinâmico (C₆C₃), chamados de ácidos hidroxicinâmicos, bastante comuns na natureza. Os mais conhecidos são o ácido cinâmico, o ácido *o*-cumárico, ácido *m*-cumárico, ácido *p*-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido sinápico (Figura 4, pág. 31) (EL-SEEDI et al., 2012).

Figura 4 – Estrutura química de alguns derivados do ácido cinâmico.



A via do chiquimato conduz à síntese de aminoácidos aromáticos tais como fenilalanina e tirosina que são os precursores dos fenilpropanoides. Esta via é uma importante rota biossintética para o metabolismo primário e secundário, que utiliza o fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato como suas matérias-primas. Os ácidos hidroxicinâmicos são formados pela desaminação da fenilalanina ou tirosina, catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (em inglês: phenylalanine ammonia-lyase - PAL), para se obter a unidade C₆C₃, que serve como a estrutura do núcleo dos fenilpropanoides (DEWICK, 2009).

Os ácidos hidroxicinâmicos são produzidos por certas espécies com a função de inibir o crescimento de outras plantas concorrentes (alelopatia), por exemplo os ácidos cafeico e ferúlico (RAMA DEVI; PRASAD, 1992; LI et al., 2015; EL-SHORA; EL-GAWAD, 2014). Desempenham outras funções nos vegetais como proteção contra a luz UV, insetos, bactérias e vírus, e na estimulação do desenvolvimento do sistema vascular, dando rigidez aos vasos (HELENO et al., 2015).

Na natureza podem ocorrer na forma de ácidos carboxílicos livres ou como ésteres formados por condensação com hidroxiácidos, tais como ácido quínico e

tartárico, flavonoides, ou carboidratos. Eles também ocorrem como amidas, formados pela condensação do ácido precursor com um aminoácido ou uma amina (EL-SEEDI et al., 2012).

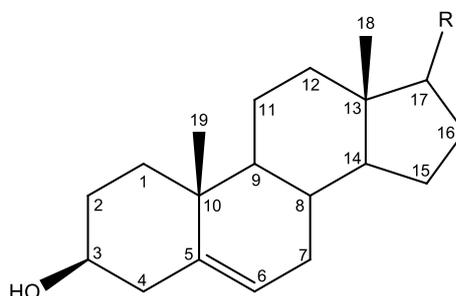
Os ácidos hidroxicinâmicos apresentam atividades farmacológicas como antioxidante (ESPIN et al., 2016), antiespasmódico (ZHANG et al., 2016), antitumoral (CAROCHO; FERREIRA, 2013), antimicrobiano (ALVES et al., 2013), entre outras.

2.5 Considerações sobre os fitoesteróis

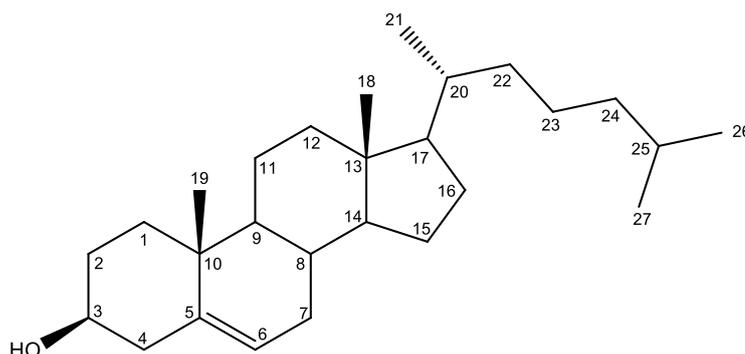
O precursor dos esteróis é o cicloartenol, oriundo das vias do mevalonato e metileritritol fosfato. Quando são produzidos em plantas, fungos, e algas, são chamados de fitoesteróis e são caracterizados por um esqueleto com 28 ou 29 átomos de carbono (DEWICK, 2009).

Apresentam na sua estrutura química quatro anéis fundidos, chamado de ciclopentanoperidrofenantreno, ligados em uma extremidade a uma cadeia lateral flexível com 8 a 10 átomos de carbono em C-17, e em outra extremidade a um grupo polar na posição 3 (Figura 5, pág. 32). Esta organização confere uma natureza anfipática aos esteróis (GARCÍA-LLATAS; RODRÍGUEZ-ESTRADA, 2011).

Figura 5 – Estrutura básica dos esteróis.



Dentre os esteróis vegetais mais abundantes, o campesterol e β -sitosterol são análogos do colesterol (Figura 6, pág. 33) apresentando a adição de um grupo metil e etil na posição 24, respectivamente. O estigmasterol difere do β -sitosterol por conter uma insaturação adicional na cadeia lateral localizada no carbono 22, uma característica vista em muitos esteróis vegetais, mas nunca nos de mamíferos. Os esteróis sem a dupla ligação no anel esterol são chamados de estanóis, e são menos abundantes na natureza (DEWICK, 2009).

Figura 6 – Estrutura química do colesterol.

Os fitoesteróis apresentam grande semelhança estrutural com o colesterol, além de exercerem funções básicas similares às desempenhadas pelo colesterol em células animais. A função primária dos fitoesteróis está relacionada à sua capacidade de interferir na fluidez da membrana vegetal e na sua permeabilidade à água devido à sua natureza anfipática. Além disso, desempenham função na estabilidade da membrana, conferindo rigidez, e como hormônios vegetais ou seus precursores (PIIRONEN et al., 2000).

São atualmente utilizados como ingredientes alimentares funcionais, devido à sua capacidade de reduzir os níveis de lipoproteína de baixa densidade (em inglês: Low Density Lipoprotein - LDL) (GYLLING et al., 2014). Recentemente vários autores revisaram outros efeitos, tais como sobre a função endotelial, estresse oxidativo, coagulação, agregação plaquetária, inflamação, função neurocognitiva e no tratamento para doenças oculares e da osteoartrite (BRÜLL; MENSINK; PLAT, 2009) (DERDEMEZIS et al., 2010) (GABAY et al., 2010) (JONES; ABUMWEIS, 2009) (RUDKOWSKA, 2010).

2.6 Considerações sobre os sesquiterpenos cariofilanos

Terpenos formam uma classe de compostos que ocorrem em grande número de organismos vivos, sendo considerado o maior existente na natureza com mais de 40.000 estruturas. Em plantas, são essenciais para o seu metabolismo, crescimento e desenvolvimento. No geral, as suas funções fisiológicas estão relacionadas à fotossíntese ou as atividades de regulação dos hormônios vegetais, mas também na defesa contra ou simbiose com outros organismos (GHIRARDO, 2010).

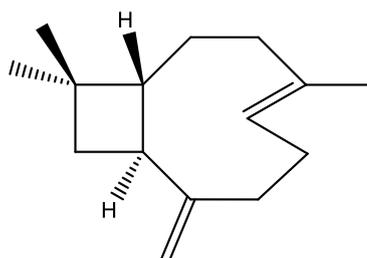
São formados por unidades de isopreno (C_5), e sua classificação baseia-se no número de unidades de isopreno: hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}),

sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos, (C₂₀), sesterterpenos (C₂₅), triterpenos (C₃₀), tetraterpenos (C₄₀) (DEWICK, 2009).

Os compostos terpênicos mais frequentes nos óleos voláteis são os monoterpenos (cerca de 90% dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos. Estes últimos possuem muitas variações estruturais podendo ser acíclicos, monocíclicos, bicíclicos ou lactonas sesquiterpênicas. Em cada um desse subgrupos classificam-se inúmeras substâncias, caracterizadas por cerca de 200 tipos diferentes de esqueletos (SIMÕES et al., 2007).

Dentre os sesquiterpenos bicíclicos destacam-se os cariofilanos que são largamente utilizados na indústria como aromatizante para cosméticos, sabonetes, e muitas outras produções técnicas, já que podem ser encontrados em muitas espécies de plantas (BOAROTO, 2014). O núcleo cariofilano é caracterizado por dois ciclos, um com nove átomos de carbono e o outro dimetilciclobutano, como por exemplo o β -cariofileno (Figura 7, pág. 34) (DUARTE, 2014).

Figura 7 – Estrutura química do β -cariofileno.



Além da sua vasta distribuição no reino vegetal, os cariofilanos são bastante conhecidos por seu uso na medicina popular e atividades farmacológicas comprovadas, como antiparasitária (LEITE et al., 2013), anti-inflamatória (FERNANDES et al., 2007; MEDEIROS et al., 2007), antiulcerogênica (ESTEVES et al., 2005), antimicrobiana (SABULAL et al., 2006), antidepressiva e ansiolítica (BAHI et al., 2014), antiespasmódica (LEONHARDT et al., 2010), antioxidante (CALLEJA et al., 2013), hepatoprotetora (CHO et al., 2015), no tratamento da endometriose (ABBAS et al., 2013) e na defesa de plantas contra bactérias patogênicas (HUANG et al., 2012).

2.6.1 Biossíntese dos sesquiterpenos cariofilanos

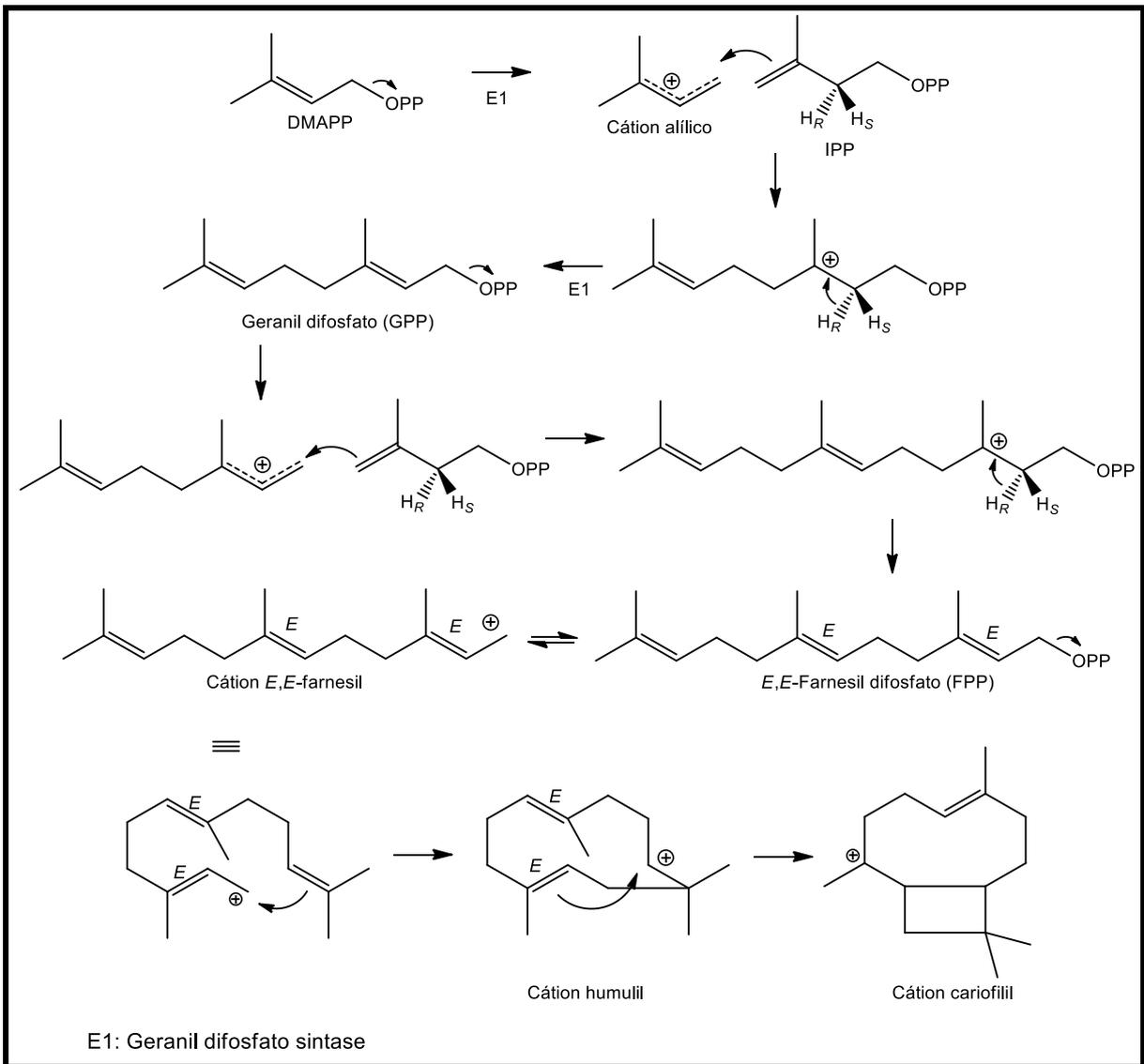
Os sesquiterpenos cariofilanos são produzidos pela combinação linear cabeçaucauda de unidades de dimetilalilo pirofosfato (DMAPP) e isopentenilo pirofosfato (IPP), que derivam da via do ácido mevalônico e da desoxi-xilulose (DEWICK, 2009).

Primeiramente, ocorre uma combinação de DMAPP e IPP catalisada pela enzima geranyl difosfato sintase. Isto envolve a formação do cátion alílico a partir do DMAPP, da dupla ligação do IPP, e a perda em seguida de um próton, resultando no geranyl difosfato sintase (GPP), em que a nova ligação dupla é *trans* (DEWICK, 2009).

Em uma nova reação semelhante à síntese de GPP, é adicionada uma outra unidade de IPP (C₅) a GPP que conduz ao precursor dos sesquiterpenos, o *E,E*-Farnesil difosfato (FPP). Mais uma vez, ocorre uma ionização inicial de FPP, e o próton perdido a partir de C-2 do IPP é estereoquimicamente análogo ao que perdido no passo de isoprenilação anterior (DEWICK, 2009).

O FPP pode então dar origem a sesquiterpenos lineares e cíclicos, com diferentes modos de ciclização, podendo gerar estruturas mono-, bi- ou tricíclicas. A partir do FPP é formado o carbocátion humulil, que é modificado para se obter o cátion cariofilil, precursor dos sesquiterpenos cariofilano. Podem ocorrer modificações enzimáticas secundárias, majoritariamente reações redox, que fazem surgir as funções orgânicas das moléculas e a quimiodiversidade desta família de produtos naturais (DEWICK, 2009; PAVARINI; LOPES, 2016). As etapas de formação dos sesquiterpenos cariofilano está esquematizada de forma simplificada na figura 8, pág. 36.

Figura 8 – Esquema da biossíntese de sesquiterpenos cariofilano.



Fonte: Adaptado de DEWICK, 2009.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Contribuir com o estudo fitoquímico de plantas do Nordeste brasileiro, em especial da família Convolvulaceae, através da extração, isolamento, identificação e determinação de constituintes químicos das partes aéreas da espécie *Evolvulus linarioides* Meisn.

3.2 Objetivos específicos

- Extrair, isolar e purificar os metabólitos secundários encontrados na espécie *Evolvulus linarioides* Meisn., utilizando técnicas extrativas com solventes orgânicos e métodos cromatográficos;
- Identificar os constituintes químicos de *Evolvulus linarioides* Meisn. utilizando métodos espectrométricos como a Espectrometria de Massas, Espectroscopia na região do Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (HMQC, HMBC, COSY e NOESY);

PARTE EXPERIMENTAL

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Coleta e identificação do material botânico

As partes aéreas de *Evolvulus linarioides* Meisn. foram coletadas em 19 de junho de 2009, no município de Matureia, no Estado da Paraíba. A identificação botânica foi realizada pela Professora Dra. Maria de Fátima Agra do Setor de Botânica do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Uma exsicata desta espécie encontra-se depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB), do Centro de Ciências Exatas e da Natureza (UFPB), sob o código AGRA et al. 6970.

4.2 Processamento do material vegetal de *Evolvulus linarioides* Meisn.

As partes aéreas de *Evolvulus linarioides* foram desidratadas em estufa com ar circulante à temperatura média de 40°C durante 72 horas. Após a secagem, o material vegetal foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico do tipo Harley, obtendo-se 1,5 kg de pó seco (QUEIROGA, 2012).

4.3 Obtenção do Extrato Metanólico Bruto (EMB) das partes aéreas de *Evolvulus linarioides* Meisn.

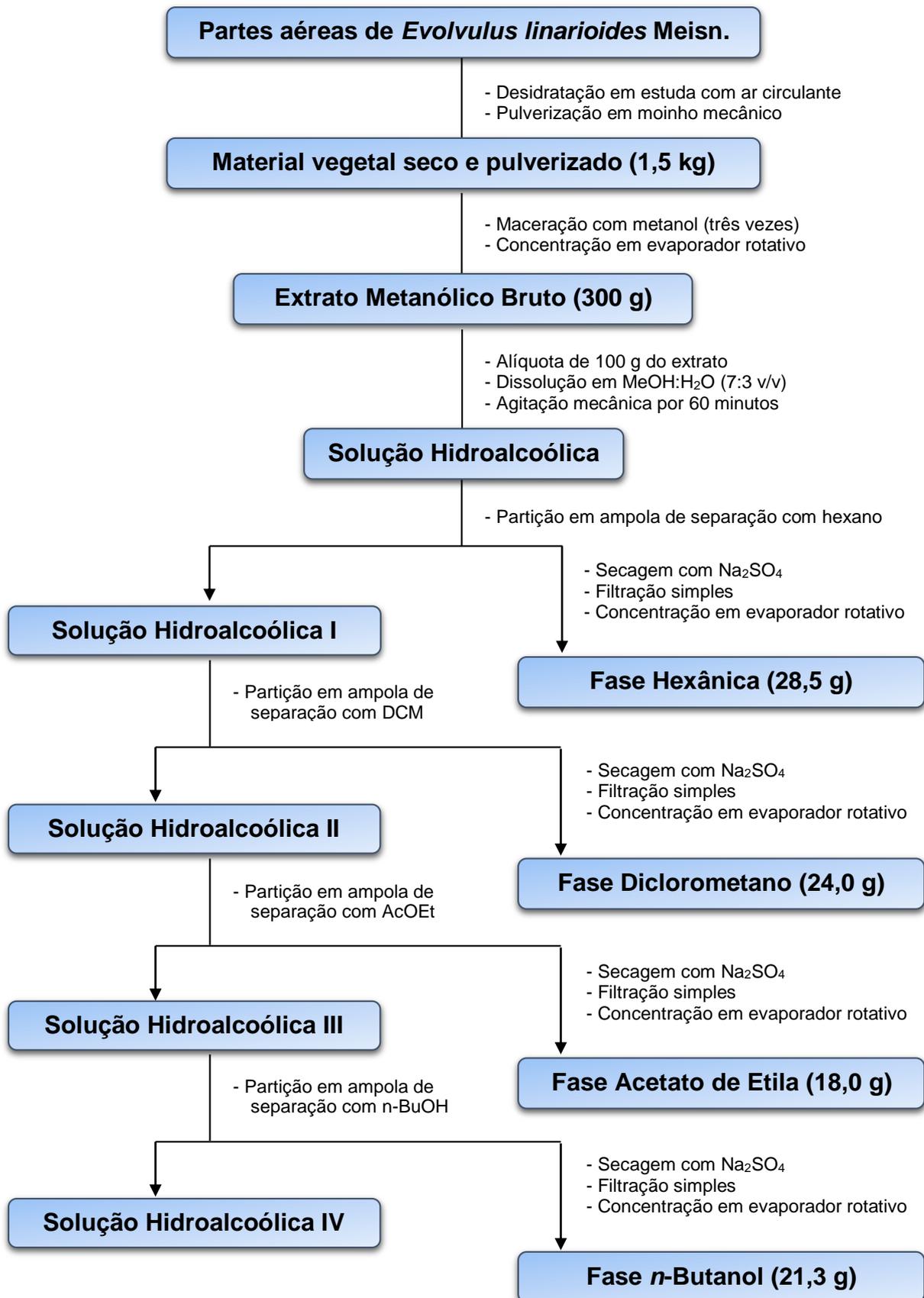
O material vegetal seco e pulverizado (1,5 kg) foi submetido à maceração com metanol em um recipiente de aço inoxidável durante 72 horas. Este processo foi repetido por três vezes.

A solução extrativa resultante da maceração foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida, a uma temperatura média de 35 °C, sendo obtido 300 g de EMB, com rendimento de 20% em relação ao peso seco da planta (Esquema 1, pág. 42) (QUEIROGA, 2012).

4.4 Particionamento do Extrato Metanólico Bruto de *Evolvulus linarioides* Meisn.

Uma alíquota do EMB (100,0 g) foi suspensa em 200 mL de uma solução de MeOH:H₂O (7:3 v/v) e homogeneizado sob agitação mecânica. Desse processo resultou uma solução hidroalcoólica que foi submetida a uma partição líquido-líquido, em uma ampola de separação, com os seguintes solventes orgânicos, em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol.

As soluções obtidas no processo de partição foram tratadas com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e submetidas à filtração sob pressão reduzida. Após esse processo, os solventes foram evaporados em rotaevaporador a uma temperatura média de 35 °C, obtendo-se: 28,5 g de fase hexânica, 24,0 g da fase diclorometano (DCM), 18,0 g da fase acetato de etila (AcOEt) e 21,3 g da fase *n*-butanol (*n*-BuOH) (Esquema 1, pág. 42) (QUEIROGA, 2012).

Esquema 1 – Obtenção e particionamento do EMB de *Evolvulus linarioides* Meisn.

4.5 Isolamento e purificação dos constituintes químicos de *Evolvulus linarioides* Meisn.

O método cromatográfico utilizado para o isolamento e a purificação dos constituintes químicos de *Evolvulus linarioides* foi a Cromatografia em Coluna (CC) utilizando como adsorvente sílica gel (ART 7734 da MERCK, de partículas com dimensões entre 0,060 – 0,200 mm e 70 - 230 mesh), colunas cilíndricas de vidro com comprimentos e diâmetros variáveis (de acordo com a quantidade de amostra submetida à cromatografia) e solventes comerciais para eluição, como hexano (hex), acetato de etila e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias em grau crescente de polaridade.

Para análise do processo de isolamento e purificação das frações obtidas, foram realizadas cromatografias em camada delgada analíticas (CCDA), utilizando cromatofolha de alumínio – sílica gel 60 F₂₅₄ da MERCK. As substâncias em análise foram reveladas através da exposição das cromatoplasas à radiação ultravioleta (UV) sob os comprimentos de onda de 254 e 366 nm, em aparelho MINERALIGHT (modelo UVGL-58), como também, por impregnação das placas em cubas de vidro saturadas com vapores de iodo. Após análise da CCDA, as frações foram reunidas de acordo com os semelhantes fatores de retenção (R_f).

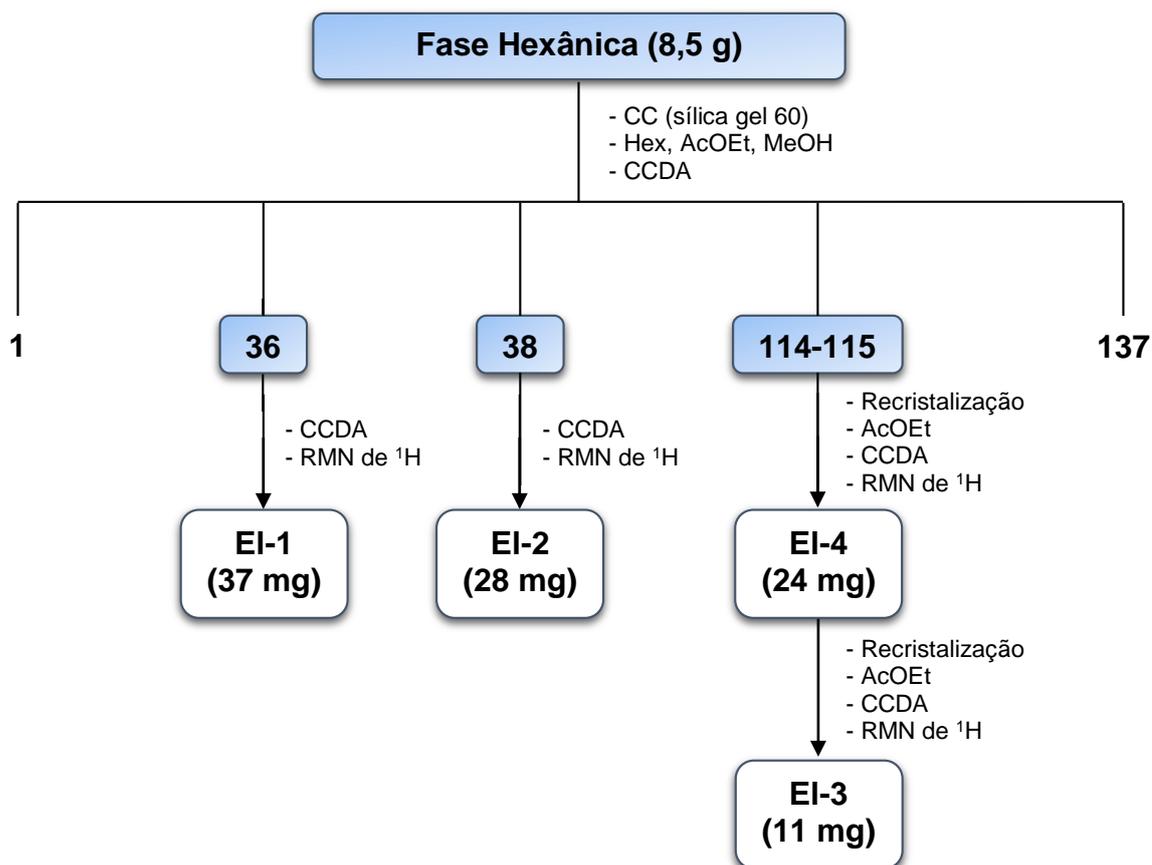
4.6 Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de *Evolvulus linarioides* Meisn.

Uma alíquota de 8,5 g da fase hexânica foi submetida a uma coluna cromatográfica (CC), utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60 (Artigo 7734 MERCK - 0,063 – 0,200 mm), e como eluentes hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, obedecendo um grau crescente de polaridade. Foram coletadas 137 frações, que foram concentradas individualmente em rotaevaporador à temperatura média de 35 °C. (Tabela 1, pág. 44; Esquema 2, pág. 44).

As frações foram analisadas através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), utilizando diferentes sistemas de eluição e reunidas, quando semelhantes e de acordo com seus R_f , após visualização na luz ultravioleta (Tabela 1, pág. 44; Esquema 2, pág. 44).

Tabela 1 – Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do EMB das partes aéreas de *Evolvulus linarioides*.

Frações	Solvente	Proporção (%)
1 e 2	Hex	100
3 a 33	Hex:AcOEt	95:5
34 a 97	Hex:AcOEt	90:10
98 a 112	Hex:AcOEt	85:15
113 a 121	Hex:AcOEt	70:30
122 a 126	Hex:AcOEt	40:60
127 a 130	AcOEt	100
131 a 132	AcOEt:MeOH	95:5
133 a 136	AcOEt:MeOH	90:10
137	AcOEt:MeOH	80:20

Esquema 2 – Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do EMB das partes aéreas de *Evolvulus linarioides* Meisn.

A fração 36 e 38 apresentaram-se como um sólido branco, e foram encaminhadas para análise de RMN de ^1H e codificadas como EI-1 (37 mg) e EI-2 (28 mg), respectivamente.

A reunião das frações 114-115 foi recristalizada em acetato de etila, uma alíquota do precipitado foi encaminhada para RMN de ^1H e codificada como EI-4 (24 mg), sendo a parte restante submetida a novas recristalizações no mesmo solvente e obteve-se um sólido branco cristalino que também foi encaminhada para RMN de ^1H e codificada como EI-3 (11 mg).

4.7 Caracterização estrutural dos constituintes químicos isolados

4.7.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho (4000 a 400 cm^{-1}), foram registrados em espectrofotômetro de marca BOMEM FT-IR (modelo MB 100), com frequência medida em cm^{-1} , obtidos em pastilha de brometo de potássio (KBr), utilizando-se 1 a 3 mg da amostra.

4.7.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros das marcas VARIAN SYSTEM, operando a 500 MHz para hidrogênio (RMN de ^1H) e 125 MHz para carbono-13 (RMN ^{13}C), e VARIAN MERCURY operando a 200 MHz para hidrogênio (RMN de ^1H) e 50 MHz para carbono-13 (RMN de ^{13}C), da Unidade de Caracterização e Análise (UNICAL) da UFPB. As amostras para análise foram preparadas dissolvendo-se as mesmas em solventes deuterados: clorofórmio deuterado (CDCl_3) e acetona deuterada (acetona- d_6).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz, referenciados para RMN de ^1H pelos picos característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas do clorofórmio (7,24 ppm) e acetona (2,04 ppm). Para os espectros de RMN de ^{13}C , os deslocamentos químicos foram referenciados pelos sinais dos carbonos do solvente deuterado: CDCl_3 (77,0 ppm) e acetona- d_6 (29,8 ppm).

As multiplicidades no espectro de RMN de ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (simpleto), *sl* (simpleto largo), *d* (duplete), *dl* (duplete largo), *dd* (duplo duplete), *t* (triplete) e *m* (multiplete).

Os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos utilizando-se a técnica APT convencionando-se os sinais de carbonos não-hidrogenados (C) e metilênicos (CH_2) acima da linha base e os sinais de carbonos metínicos (CH) e metílicos (CH_3) abaixo da referida linha.

4.7.3 Ponto de Fusão

O ponto de fusão de cada substância foi determinado em aparelho digital para ponto de fusão, marca Microquímica, modelo MQAPF-302, com bloco de platina em microscópio óptico tipo “Kofler”, marca REICHERT, modelo R3279, com temperatura que varia de 0-350 °C.

4.7.4 Rotação óptica

A rotação óptica foi obtida à temperatura ambiente em polarímetro Jasco modelo P-2000 $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ (c 0,001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

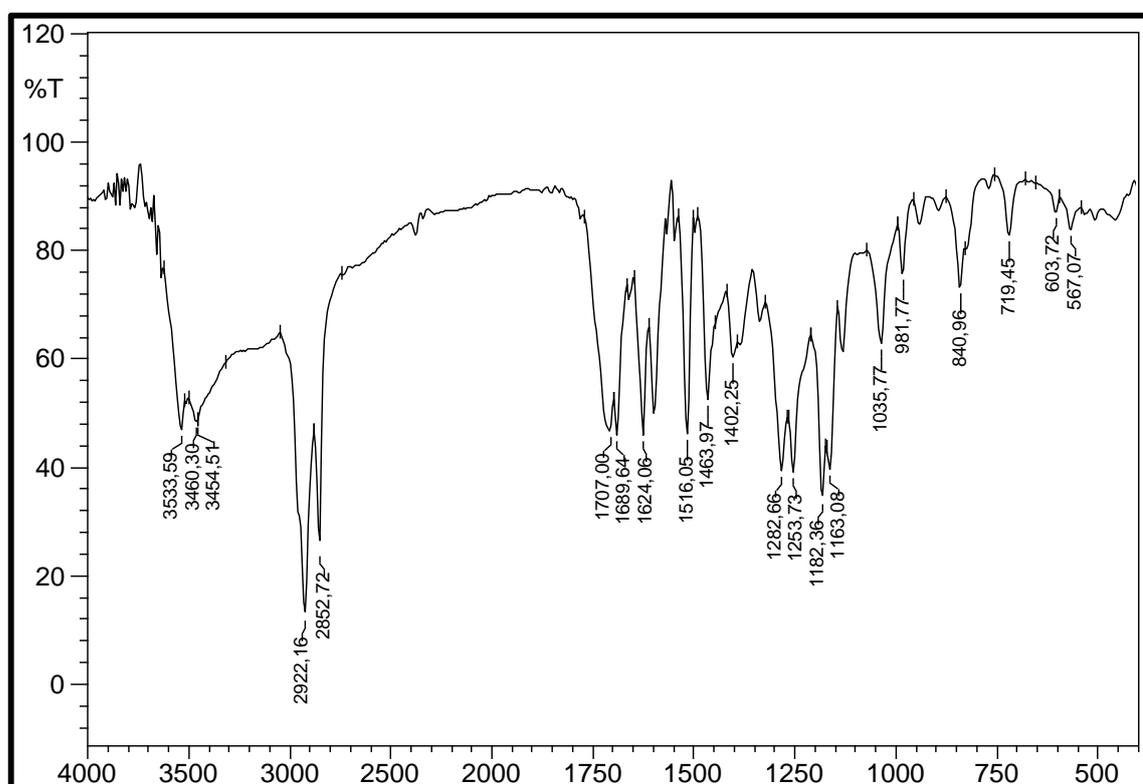
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação estrutural de EI-1

A substância codificada como EI-1 (36 mg) foi isolada na forma de um óleo branco com rendimento de 0,0024% em relação ao peso seco da planta.

O espectro de IV obtido em pastilhas de KBr (Figura 9, pág. 48) apresentou uma banda larga em 3460 cm^{-1} , característica de estiramento O–H com ligação de hidrogênio, como também a presença de bandas de absorções em 2922 e 2852 cm^{-1} , referentes aos estiramentos C–H sp^3 . Foi possível observar ainda a presença de duas bandas fortes em 1707 e 1689 cm^{-1} , atribuído a carbonila α,β -insaturada, e bandas na faixa de 1300 a 1000 cm^{-1} , características de estiramento C–O (PAVIA et al., 2010).

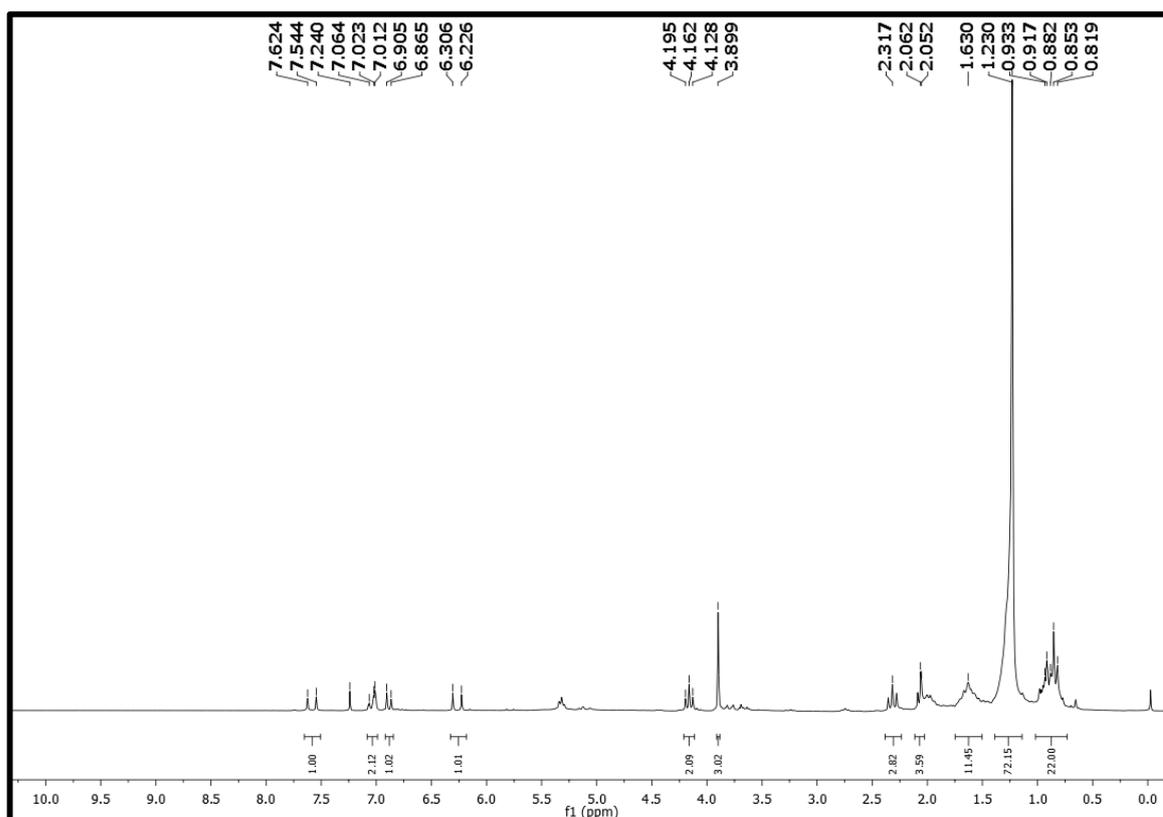
Figura 9 – Espectro de Infravermelho (pastilha de KBr) de EI-1.



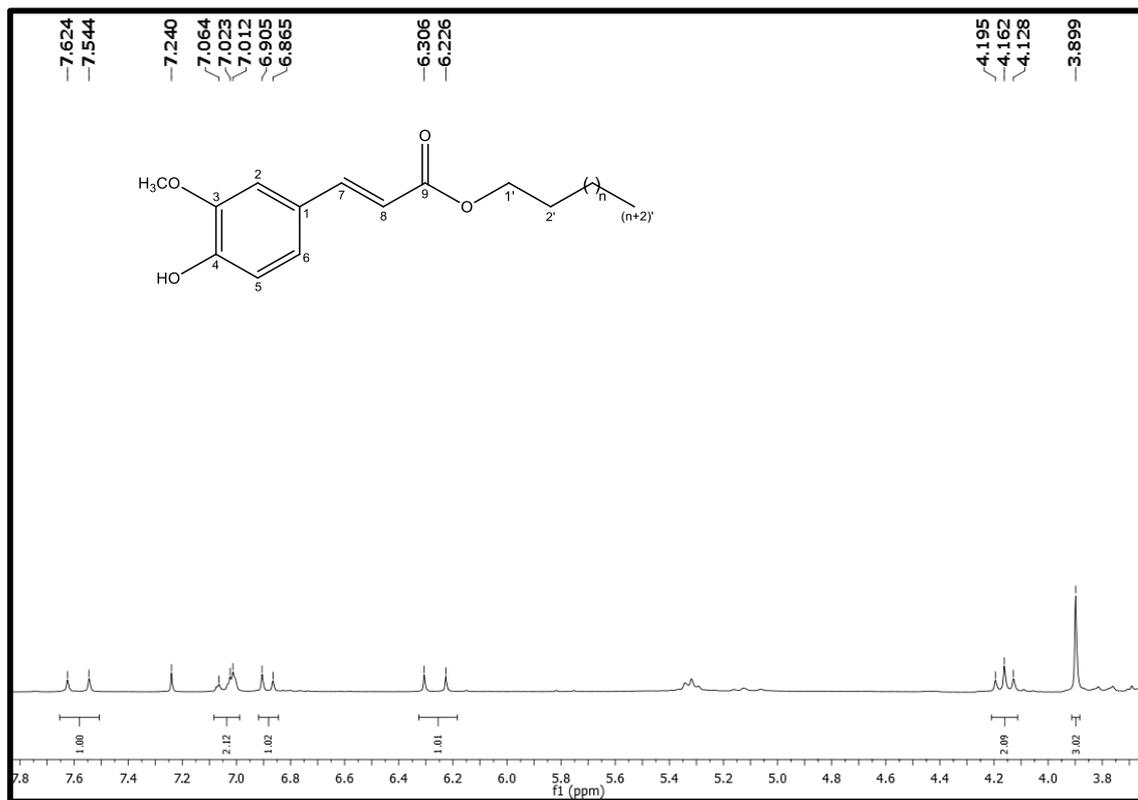
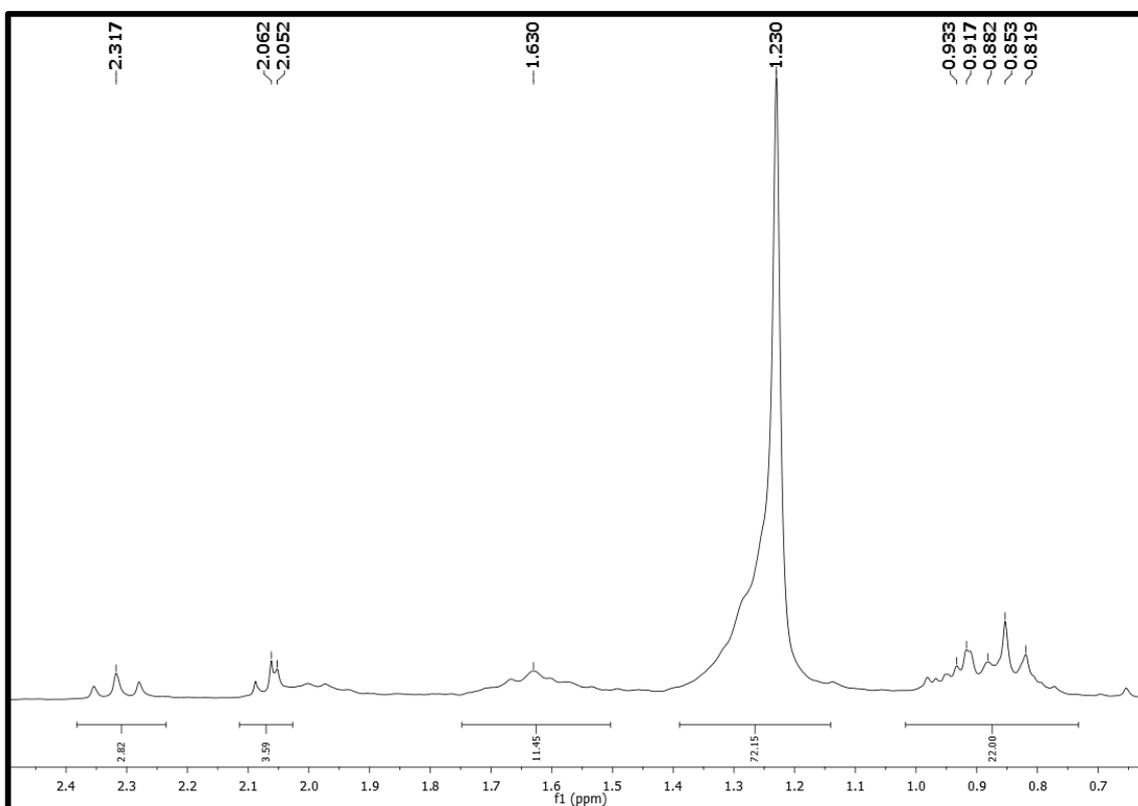
O espectro de RMN de ^1H de EI-1, obtido em CDCl_3 a 200 MHz (Figura 10, pág. 49), apresentou sinais na região de prótons aromáticos, onde foi possível observar a presença de um duplete em $\delta_{\text{H}} 6,90$ (1H, $J = 8,0$ Hz), um simpleto largo em $\delta_{\text{H}} 7,01$ e um duplete largo em $\delta_{\text{H}} 7,02$ ($J = 8,2$ Hz), atribuídos a H-5, H-2 e H-6, respectivamente, evidenciando a existência do sistema aromático 1,3,4-trissubstituído. Observou-se

ainda, a presença de um simpleto em δ_H 3,90 (3H), atribuído à metoxila ligada a anel aromático, e de dois hidrogênios olefínicos conjugados à carbonila em δ_H 6,23 (*d*, 1H, $J = 16,0$ Hz) e δ_H 7,54 (*d*, 1H, $J = 16,0$ Hz), atribuídos a H-8 e H-7, respectivamente. A constante de acoplamento $J = 16,0$ Hz estabeleceu a configuração *trans* para a dupla ligação. Estes dados são característicos de grupo *trans*-feruloíla (ROCHA e SILVA et al., 2007).

Figura 10 – Espectro de RMN de 1H (200 MHz, $CDCl_3$) de EI-1.



Nas expansões desse espectro (Figuras 11 e 12, pág. 50) foi possível observar, na região de hidrogênios alifáticos, dois multipletos em δ_H 1,63 e 0,85, característicos de hidrogênios metilênicos e da metila terminal, respectivamente, e um simpleto largo em δ_H 1,23 característicos de cadeia hidrocarbônica longa. A presença de um tripleto desprotegido em δ_H 4,16 (2H, $J = 6,6$ Hz) referente a hidrogênios oximetilênicos, é indicativo do éster de cadeia longa do ácido ferúlico (STRAPASSON, 2010). Os demais deslocamentos químicos estão dispostos na Tabela 2 (pág. 54).

Figura 11 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de EI-1 na região 3,8 a 7,8 ppm.**Figura 12** – Expansão do espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de EI-1 na região 0,7 a 2,4 ppm.

No espectro de RMN de ^{13}C de EI-1, obtido em CDCl_3 a 50 MHz, utilizando a técnica APT (Figuras 13-15, pág. 51-52), foi possível identificar quatro carbonos não hidrogenados, cinco metínicos, dois metílicos e um conjunto de sinais de carbonos metilênicos. Este conjunto corrobora com a hipótese de uma cadeia hidrocarbônica longa. Na análise desse espectro foi possível confirmar a presença do anel aromático 1,3,4-trissubstituído através dos deslocamentos químicos em δ_{C} 109,3 (C-2); 115,6 (C-5); 123,0 (C-6); 127,0 (C-1); 146,7 (C-3) e 147,9 (C-4). A presença do sinal da carbonila em δ_{C} 167,5 (C-9), que reforça a esterificação, juntamente com os deslocamentos químicos dos carbonos olefínicos em δ_{C} 114,7 e 144,7, referentes a C-8 e C-7, respectivamente, são compatíveis com a carbonila α,β -insaturada (STRAPASSON, 2010). Esses dados confirmam a proposição do éster de cadeia longa do ácido ferúlico. Os demais deslocamentos químicos estão compilados na Tabela 2 (pág. 54).

Figura 13 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de EI-1.

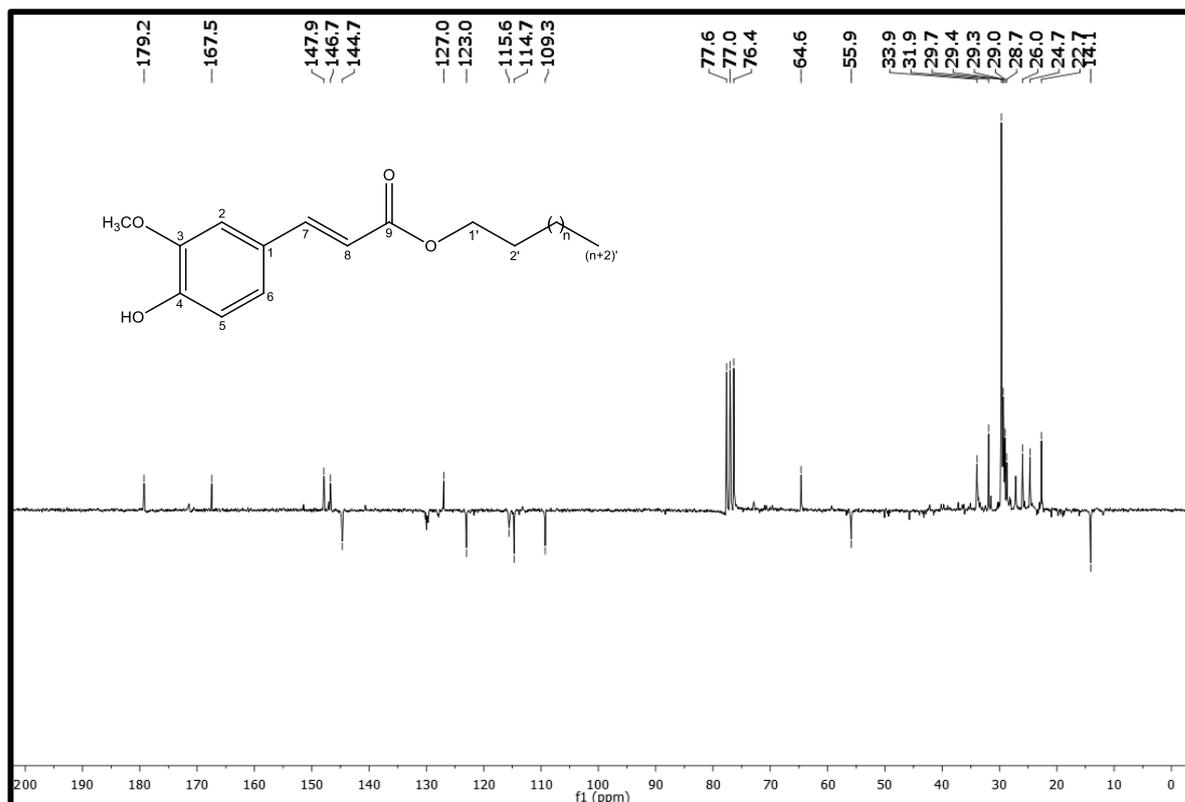


Figura 14 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de EI-1 na região 105-170 ppm.

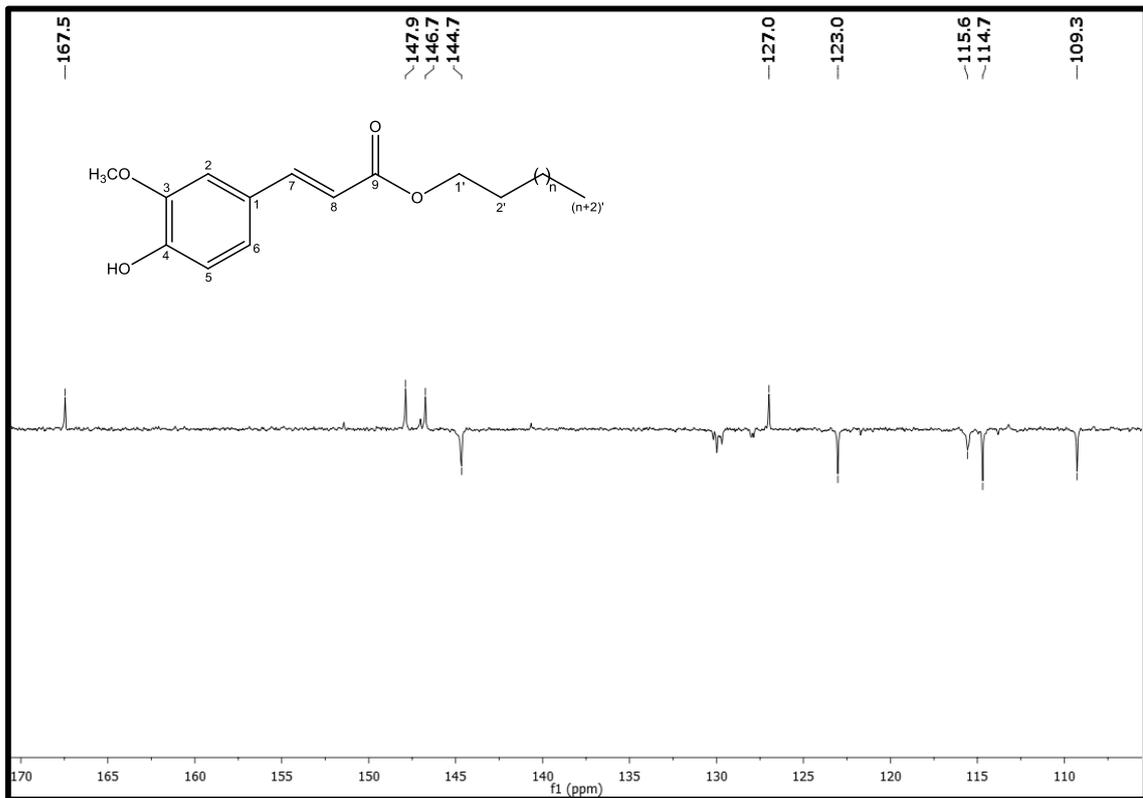
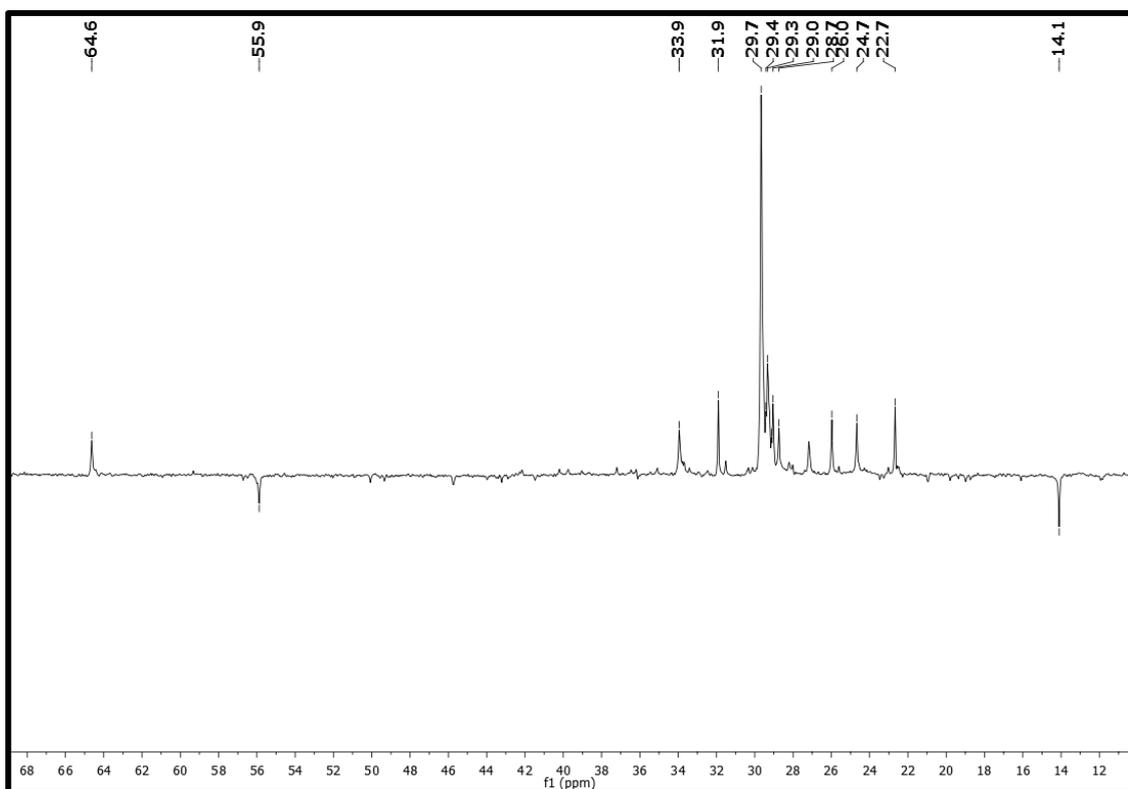


Figura 15 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (50 MHz, CDCl_3) de EI-1 na região 12-68 ppm.



Portanto, após a análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e sua comparação com dados da literatura (ROCHA e SILVA et al., 2007; STRAPASSON, 2010), foi possível concluir que EI-1 trata-se do ferulato de alquila (Figura 16, pág. 53).

No gênero *Evolvulus* foi relatado o ácido ferúlico esterificado com radicais variados como mostra a revisão de Singh (2008), porém esse é o primeiro relato de ferulatos de alquila para a espécie em estudo. Estes compostos apresentaram atividades como antioxidante, antimicrobiana (NASAB et al., 2011) e na indução da perda de peso (TOTANI et al., 2012), entre outras.

Entretanto, ferulatos de alquila ocorrem normalmente em mistura, cuja cadeia hidrocarbônica contém números pares de carbono (ROCHA e SILVA et al., 2007). Sendo assim, não foi possível determinar o tamanho da cadeia alquílica apenas pelos dados de RMN, sendo necessário conhecer a massa molar do composto pelo espectro de massas.

Figura 16 – Estrutura química do ferulato de alquila.

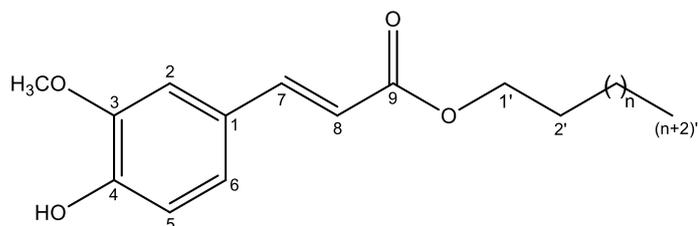
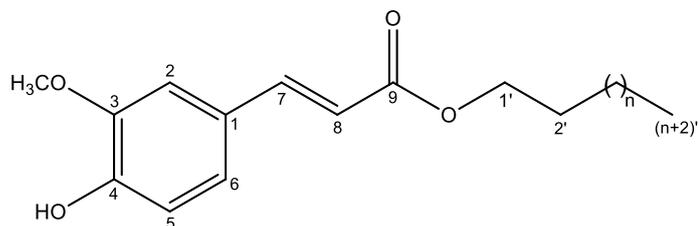


Tabela 2 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C (200 MHz e 50 MHz, CDCl_3) de EI-1 e comparação com dados de RMN de ^1H e ^{13}C (200 MHz e 50 MHz, CDCl_3) da literatura (ROCHA e SILVA et al., 2007) (δ em ppm e J em Hz).



C	EI-1		Literatura	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	127,0	-	127,2	-
3	146,7	-	146,8	-
4	147,9	-	147,9	-
9	167,5	-	167,1	-
CH				
2	109,3	7,01 (<i>s</i>)	109,5	7,06 (<i>s</i>)
5	115,6	6,90 (<i>d</i> , $J = 8,0$)	115,8	6,94 (<i>d</i> , $J = 8,0$)
6	123,0	7,02 (<i>dl</i> , $J = 8,2$)	123,0	7,09 (<i>dl</i> , $J = 8,2$)
7	144,7	7,54 (<i>d</i> , $J = 16,0$)	144,6	7,63 (<i>d</i> , $J = 15,9$)
8	114,7	6,23 (<i>d</i> , $J = 16,0$)	114,8	6,32 (<i>d</i> , $J = 15,9$)
CH₂				
1'	64,6	4,16 (<i>t</i> , $J = 6,6$)	64,6	4,21 (<i>t</i> , $J = 6,6$)
2'	31,9	1,63 (<i>m</i>)	31,9	1,68 (<i>t</i>)
(CH ₂) _n	29,0-29,7	1,23 (<i>s</i>)	29,3-29,6	1,27 (<i>s</i>)
CH₃				
(n+2)'	14,1	0,85 (<i>m</i>)	14,1	0,73 (<i>t</i>)
OCH ₃	55,9	3,90 (<i>s</i>)	56,0	3,95 (<i>s</i>)

5.2 Identificação estrutural de EI-2

A substância codificada como EI-2 (28 mg) foi isolada na forma de cristais em agulha brancos com rendimento de 0,0018% em relação ao peso seco da planta.

O espectro de RMN de ^1H de EI-2, obtido em CDCl_3 a 500 MHz (Figuras 17-19, pág. 55-56), mostrou a presença de um conjunto de sinais entre δ_{H} 0,65 e 2,27 característicos de hidrogênios metínicos, metilênicos e metílicos, sugerindo se tratar de uma estrutura triterpênica ou esteroidal. O multiplete em δ_{H} 3,50, característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico do núcleo esteroidal, permitiu sugerir este tipo de estrutura para EI-2 e atribuí-lo a H-3. Foram observados ainda vários multipletos referentes a hidrogênios olefínicos em δ_{H} 5,00, 5,12 e 5,33, que corrobora a proposta deste tipo de núcleo, e foram atribuídos a H-22, H-23 e H-6, respectivamente (CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012; GOIS, 2010).

Figura 17 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-2.

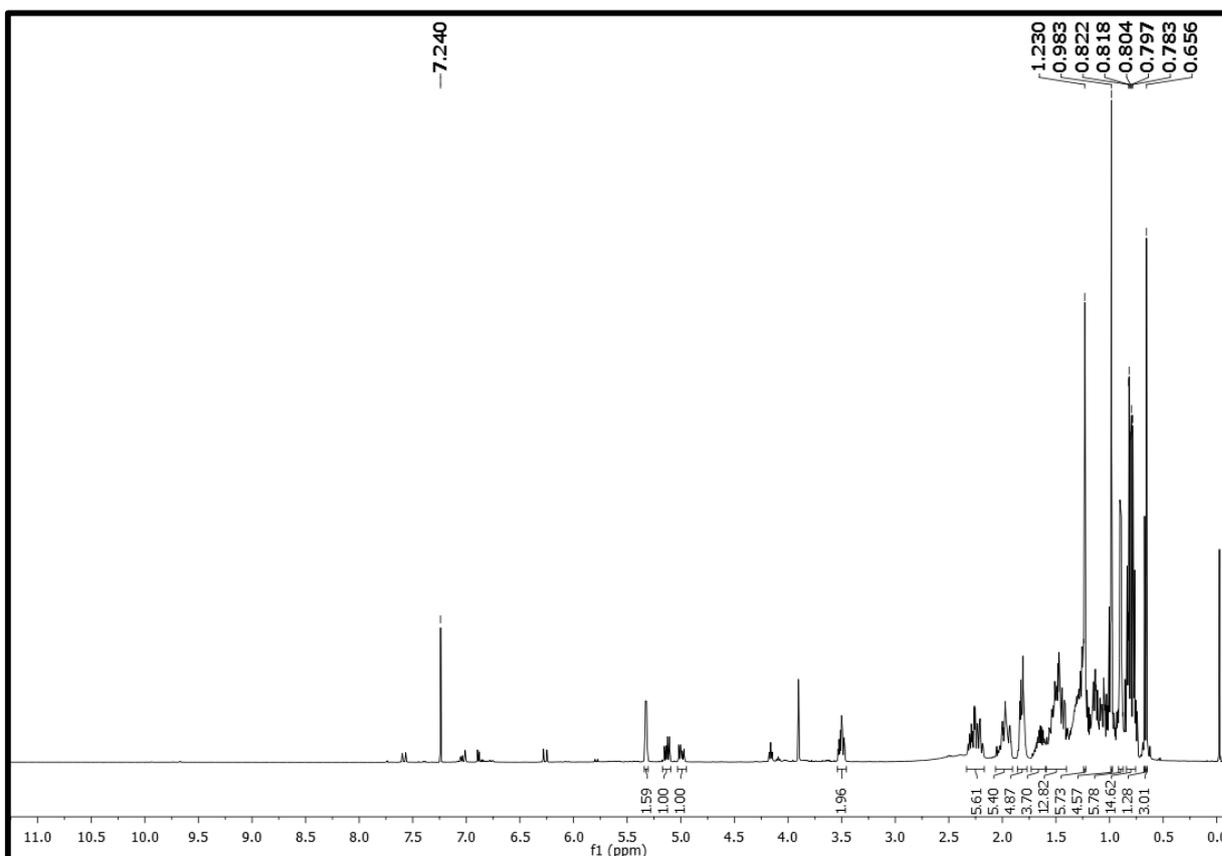
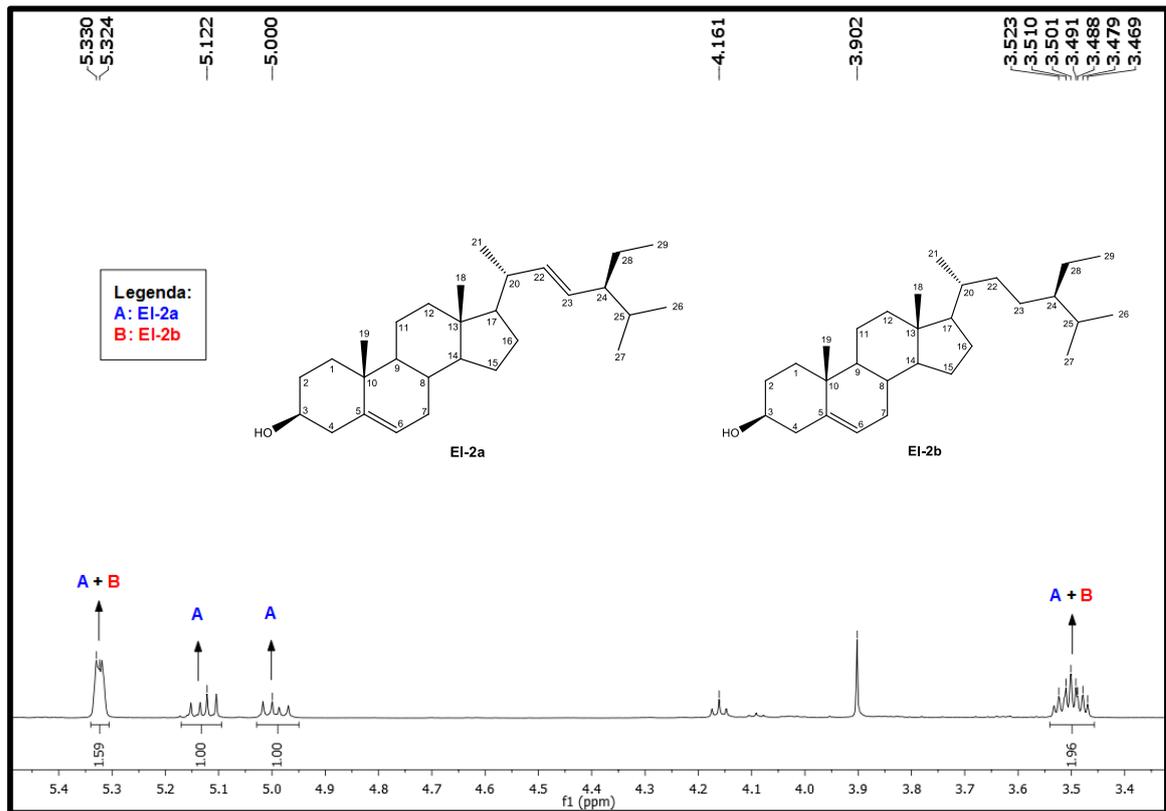
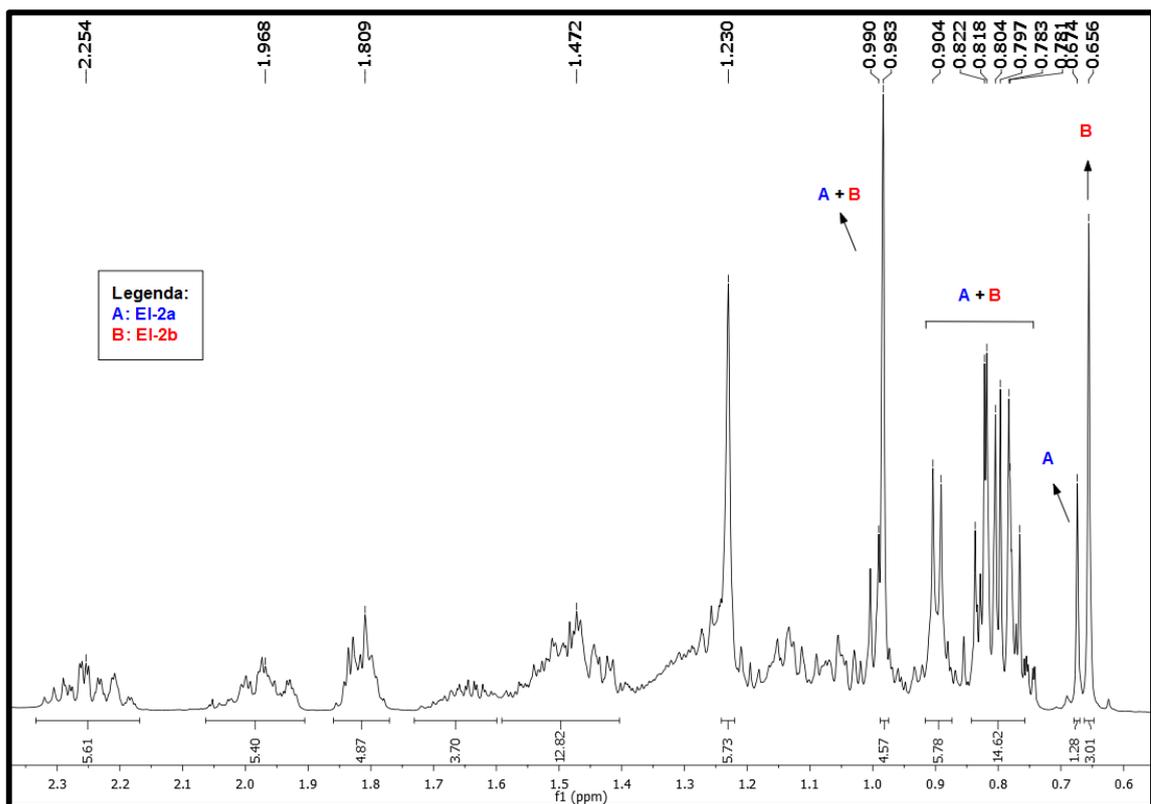


Figura 18 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-2 na região 3,4 a 5,4 ppm.**Figura 19** – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-2 na região 0,6 a 2,3 ppm.

No espectro de RMN de ^{13}C de EI-2, obtido em CDCl_3 a 125 MHz, utilizando a técnica APT (Figura 20-22, pág. 57-58), foi possível identificar vários sinais para dois carbonos, sugerindo se tratar de uma mistura de esteroides. Sendo assim as substâncias da mistura foram codificadas como EI-2a e EI-2b.

Corroborando esta proposta, foi observado a presença dos sinais em δ_{C} 129,3 e 138,3, característicos dos carbonos olefínicos C-22 e C-23 de EI-2a, respectivamente, compatíveis com o estigmasterol, e os sinais em δ_{C} 26,1 e 33,9 de EI-2b, referentes à ausência da dupla ligação entre os átomos de carbono na mesma posição do β -sitosterol (CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012; GOIS, 2010). Foi observado ainda sinais para dois carbonos em δ_{C} 121,7 e 140,7, típicos dos carbonos olefínicos C-6 e C-5, respectivamente, dos esteroides estigmasterol e β -sitosterol. Além do sinal em δ_{C} 71,8 atribuído ao carbono oximetínico C-3 de ambos os esteroides. Os demais sinais foram atribuídos por comparação com dados da literatura e apresentam-se compilados nas tabelas 3 (pág. 60) e 4 (pág. 62).

Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de EI-2.

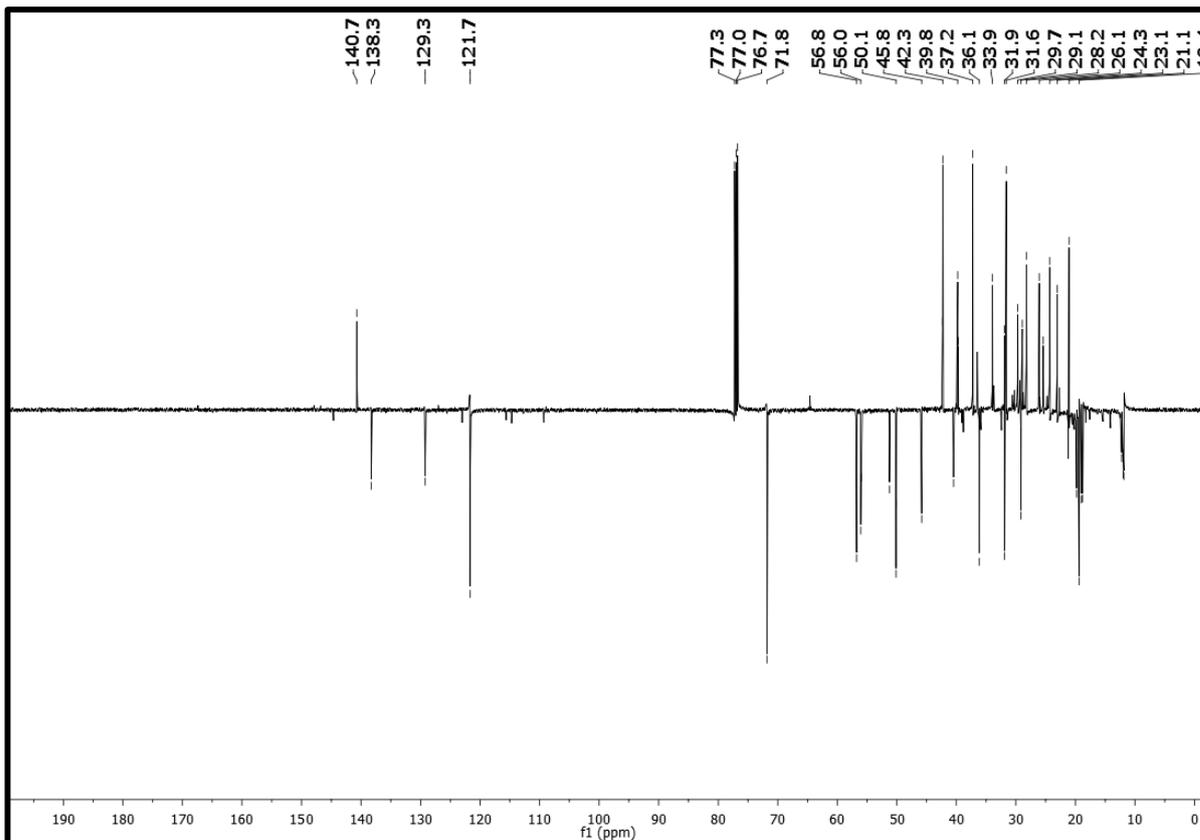


Figura 21 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-2 na região 31-58 ppm.

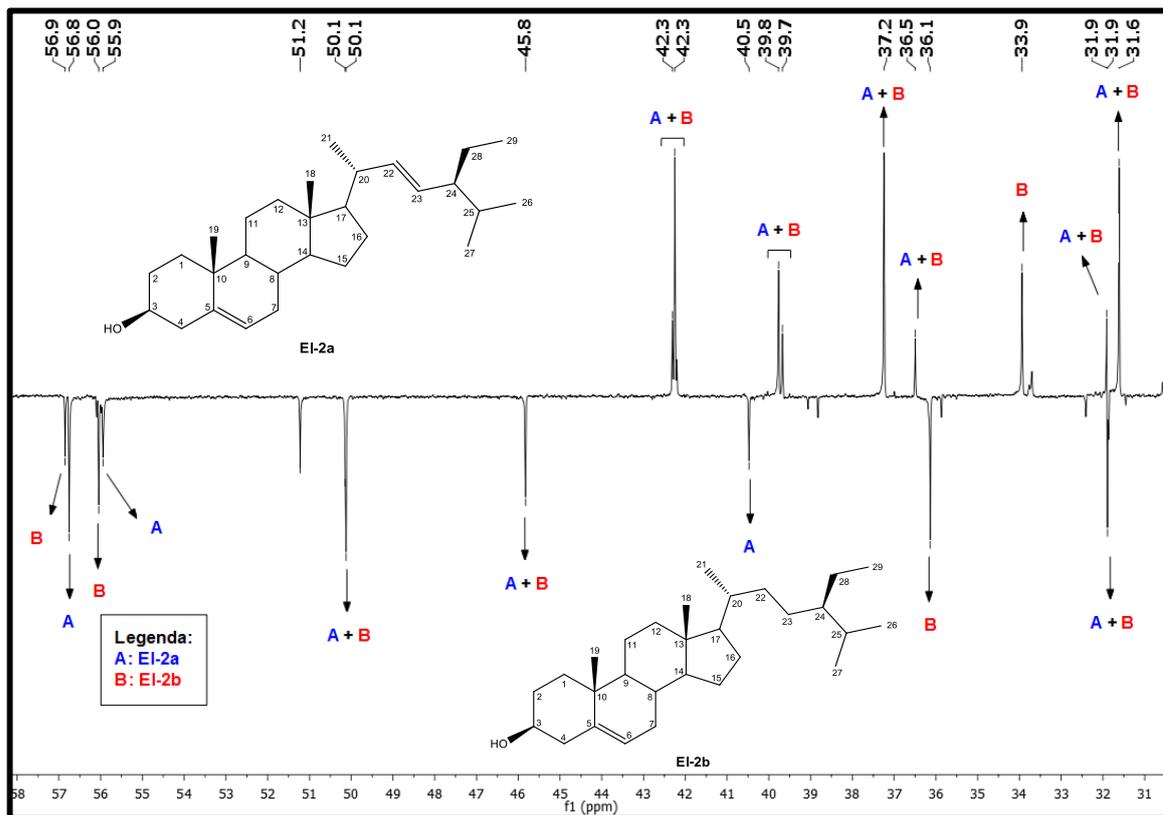
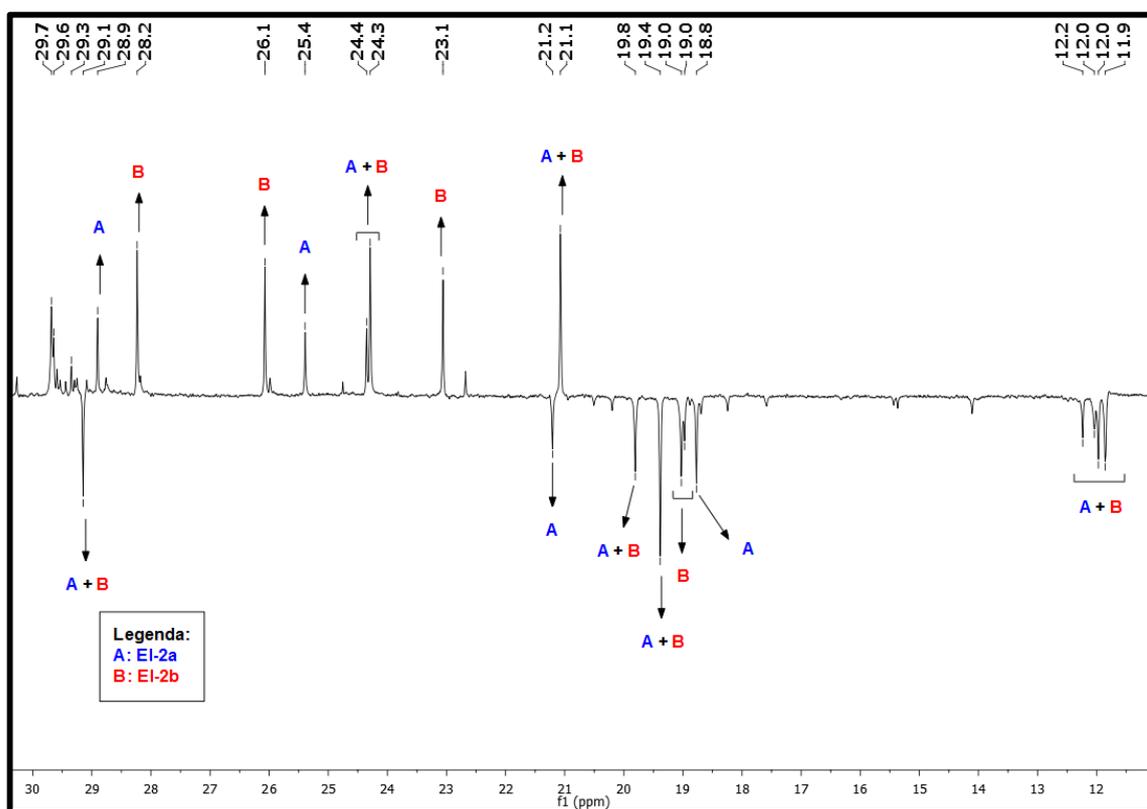


Figura 22 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-2 na região 11-30 ppm.



Assim, após a análise de todos os dados de RMN de ^1H e ^{13}C e sua comparação com dados da literatura (CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012; GOIS, 2010), foi possível concluir que EI-2 trata-se de uma mistura dos esteroides estigmasterol (EI-2a) (Figura 23, pág. 59) e β -sitosterol (EI-2b) (Figura 24, pág. 59). Este é o primeiro relato destes compostos para *Evolvulus linarioides*.

Figura 23 – Estrutura química do estigmasterol.

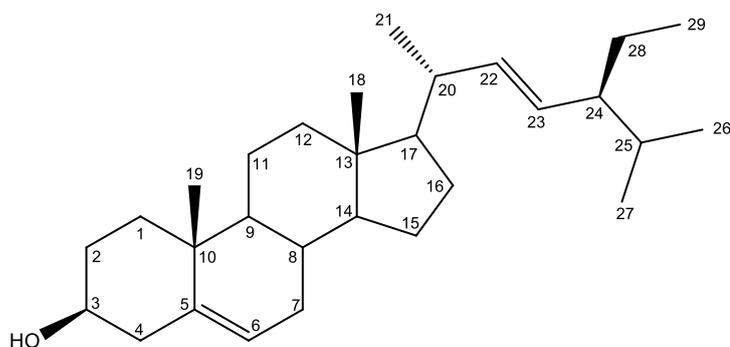


Figura 24 – Estrutura química do β -sitosterol.

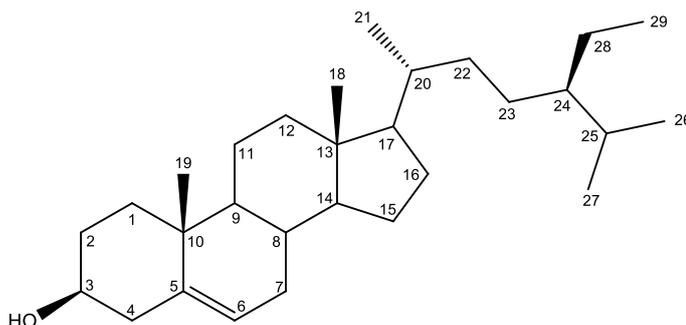
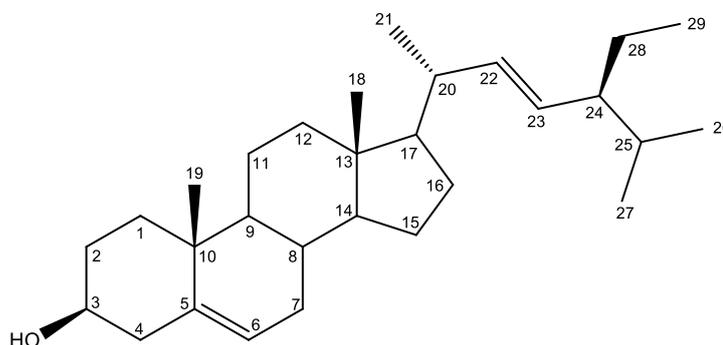


Tabela 3 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C (500 MHz e 125 MHz, CDCl_3) de EI-2a e comparação com dados de RMN de ^1H e ^{13}C (600 MHz e 150 MHz, CDCl_3) do estigmasterol (CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012) (δ em ppm e J em Hz).

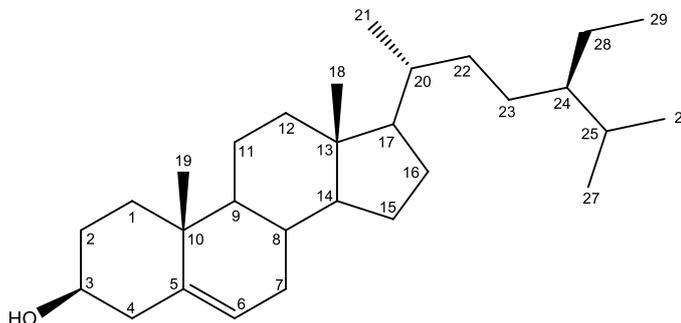


C	EI-2a		Estigmasterol	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
5	140,7	-	141,1	-
10	36,5	-	36,6	-
13	42,3	-	42,4	-
CH				
3	71,8	3,50 (<i>m</i>)	72,1	3,51 (<i>tdd</i> , 1H, $J = 4,5, 4,2, 3,8$ Hz)
4	42,3	-	42,4	-
6	121,7	5,33 (<i>m</i>)	121,8	5,31 (<i>t</i> , 1H, $J = 6,1$ Hz)
8	31,9	-	31,8	-
9	50,1	-	50,2	-
14	56,8	-	56,8	-
17	55,9	-	56,2	-
20	40,5	-	40,6	-
22	138,3	5,00 (<i>m</i> , 1H)	138,7	4,98 (<i>m</i> , 1H)
23	129,3	5,12 (<i>m</i> , 1H)	129,6	5,14 (<i>m</i> , 1H)
24	45,8	-	46,1	-
25	29,1	-	29,6	-
CH₂				
1	37,2	-	37,6	-

Tabela 3 – (Continuação).

2	31,6	-	32,1	-
7	31,9	-	31,8	-
11	21,1	-	21,5	-
12	39,7	-	39,9	-
15	24,4	-	24,4	-
16	28,9	-	29,3	-
28	25,4	-	25,4	-
CH₃				
18	12,0	0,98 (s)	12,2	1,03 (s, 3H)
19	18,8	0,67 (s)	18,9	0,71 (s, 3H)
21	21,2	0,90 (d, $J = 6,5$ Hz)	21,7	0,91 (d, 3H, $J = 6,2$ Hz)
26	19,8	0,81 (m)	20,2	0,82 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz)
27	19,4	0,79 (m)	19,8	0,80 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz)
29	12,0	0,82 (m)	12,1	0,83 (t, 3H, $J = 7,1$ Hz)

Tabela 4 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C (500 MHz e 125 MHz, CDCl_3) de EI-2b e comparação com dados de RMN de ^1H e ^{13}C (600 MHz e 150 MHz, CDCl_3) do β -sitosterol (CHATURVEDULA; PRAKASH, 2012) (δ em ppm e J em Hz).



C	EI-2b		β -sitosterol	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
5	140,7	5,33 (<i>m</i>)	140,9	5,36 (<i>t</i> , 1H, $J = 6,4$ Hz)
10	36,5	-	36,7	-
13	42,3	-	42,6	-
CH				
3	71,8	3,50 (<i>m</i>)	72,0	3,53 (<i>tdd</i> , 1H, $J = 4,5, 4,2, 3,8$ Hz)
4	42,3	-	42,5	-
6	121,7	-	121,9	-
8	31,9	-	32,1	-
9	50,1	-	50,3	-
14	56,9	-	56,9	-
17	56,0	-	56,3	-
20	36,1	-	36,3	-
24	45,8	-	46,1	-
25	29,1	-	29,4	-
CH₂				
1	37,2	-	37,5	-
2	31,6	-	31,9	-
7	31,9	-	32,1	-

Tabela 4 – (Continuação).

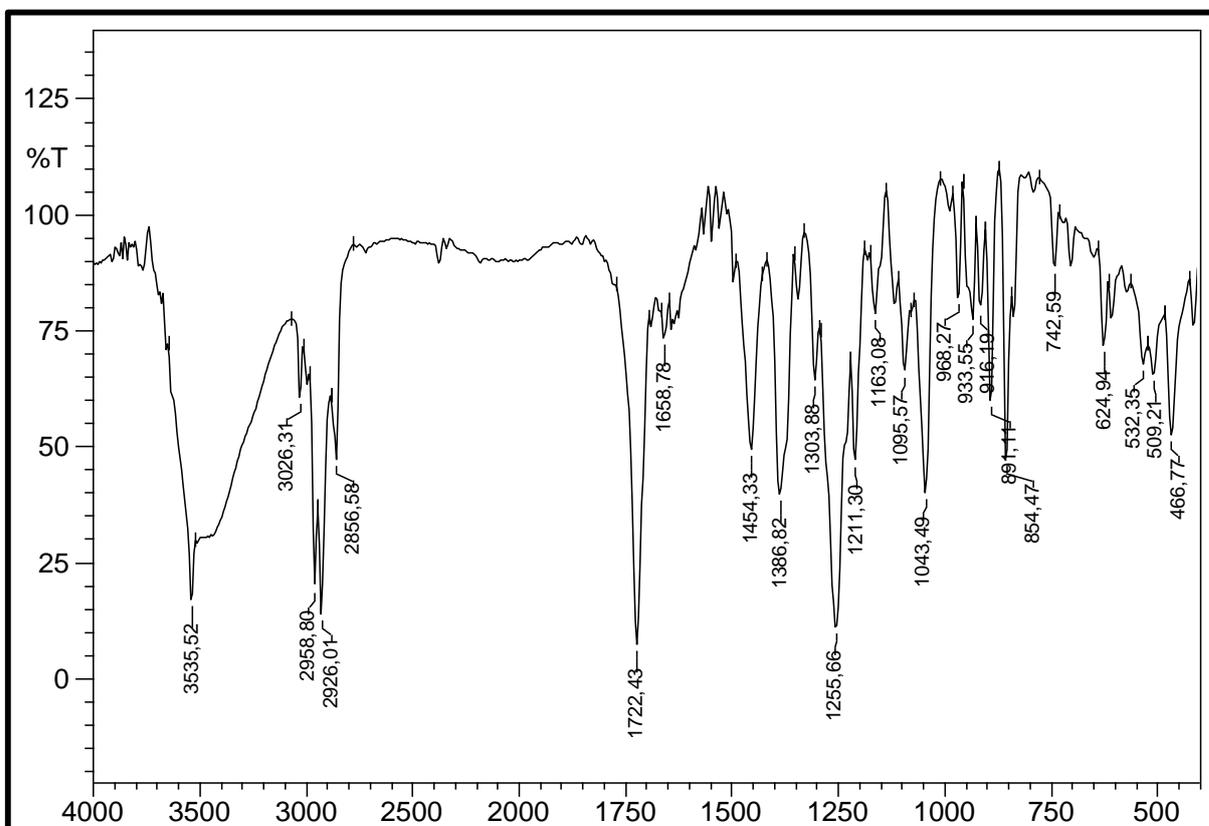
11	21,1	-	21,3	-
12	39,8	-	39,9	-
15	24,3	-	26,3	-
16	28,2	-	26,3	-
22	33,9	-	34,2	-
23	26,1	-	26,3	-
28	23,1	-	23,3	-
CH₃				
18	11,9	0,98 (s)	12,0	1,01 (s, 3H)
19	19,0	0,65 (s)	19,0	0,68 (s, 3H)
21	19,0	0,90 (d, $J = 6,5$ Hz)	19,2	0,93 (d, 3H, $J = 6,5$ Hz)
26	19,8	0,81 (m)	20,1	0,83 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz)
27	19,4	0,79 (m)	19,6	0,81 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz)
29	12,2	0,82 (m)	12,2	0,84 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz)

5.3 Determinação estrutural de EI-3

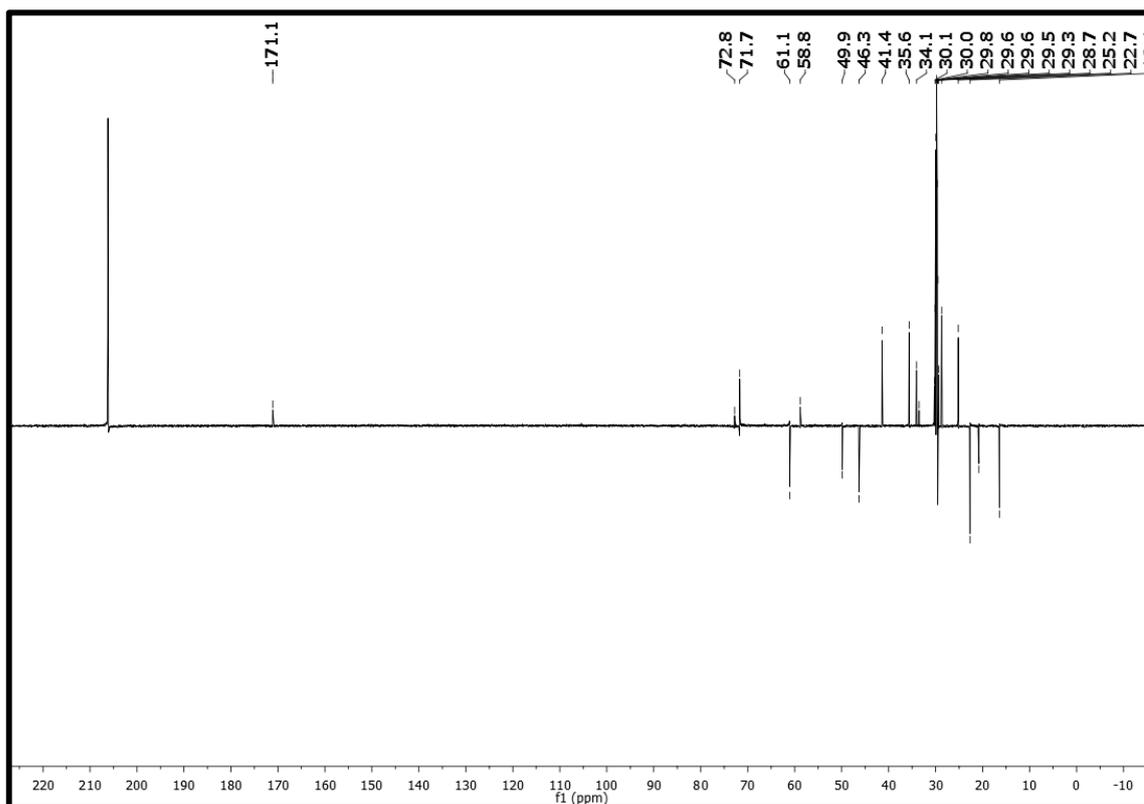
A substância codificada como EI-3 (11 mg) foi isolada na forma de cristais cinzas, com rendimento de 0,0007% em relação ao peso seco da planta, apresentando ponto de fusão entre 133,6 a 135,1 °C, e rotação óptica $[\alpha]_D^{24} -72$ (acetonitrila).

O espectro de IV obtido em pastilhas de KBr (Figura 25, pág. 64) apresentou uma banda larga intensa em 3535 cm^{-1} , característica de estiramento O–H, além da presença de bandas de absorções em 2958 e 2926 cm^{-1} , referentes aos estiramentos C–H sp^3 . Foi possível observar ainda a presença de uma banda muito forte em 1722 cm^{-1} , atribuído ao estiramento C=O de ésteres alifáticos, e bandas na faixa de 1300 a 1000 cm^{-1} , características de estiramento C–O (PAVIA et al., 2010).

Figura 25 – Espectro de Infravermelho (pastilha de KBr) de EI-3.



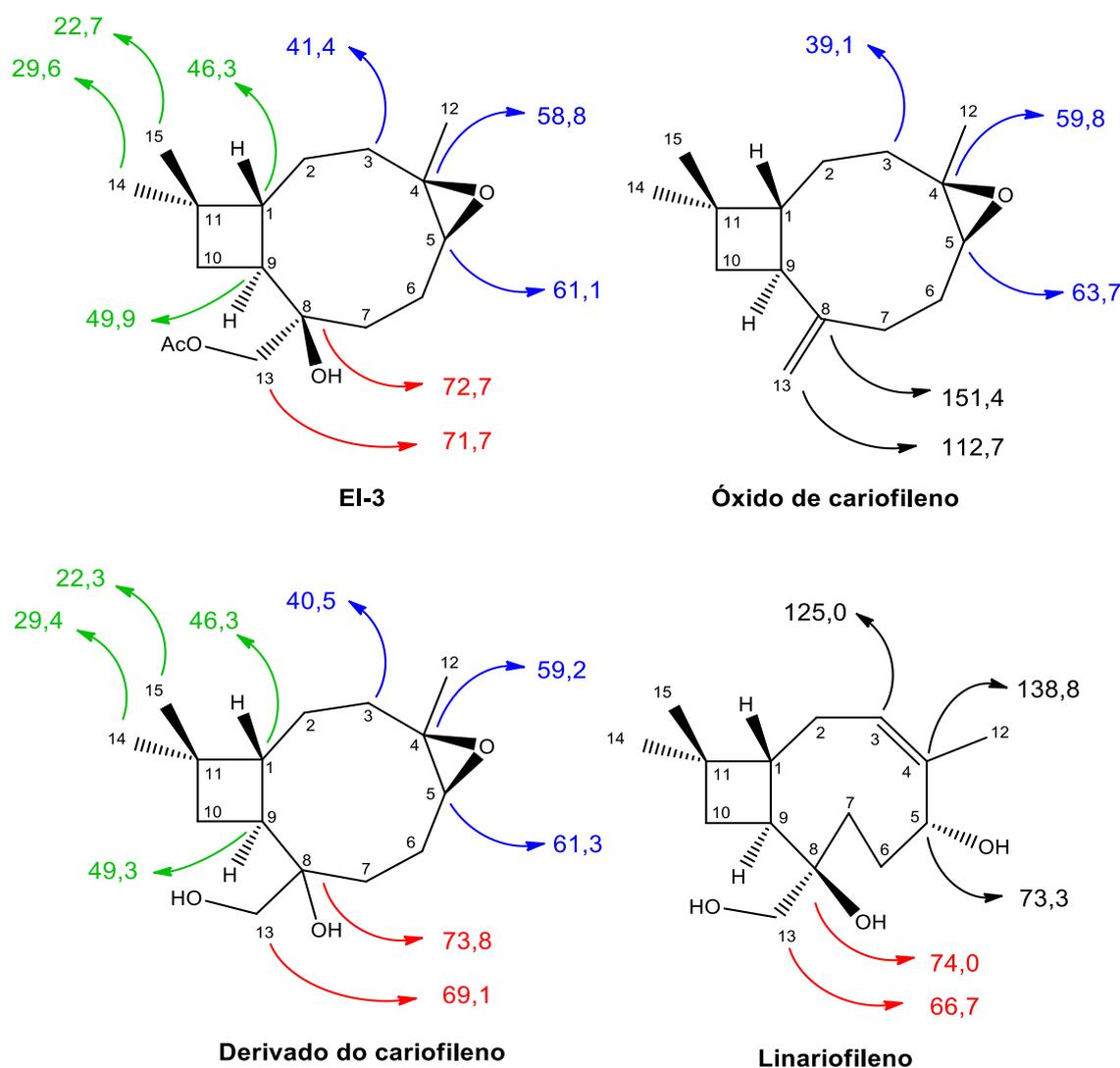
O espectro de RMN de ^{13}C (acetona- d_6 , 125 MHz) de EI-3, utilizando a técnica APT (Figura 26, pág. 65), evidenciou a presença de 17 sinais de átomos de carbonos. Destes, quatro foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, três carbonos metínicos, seis carbonos metilênicos e quatro carbonos metílicos.

Figura 26 – Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, acetona- d_6) de EI-3.

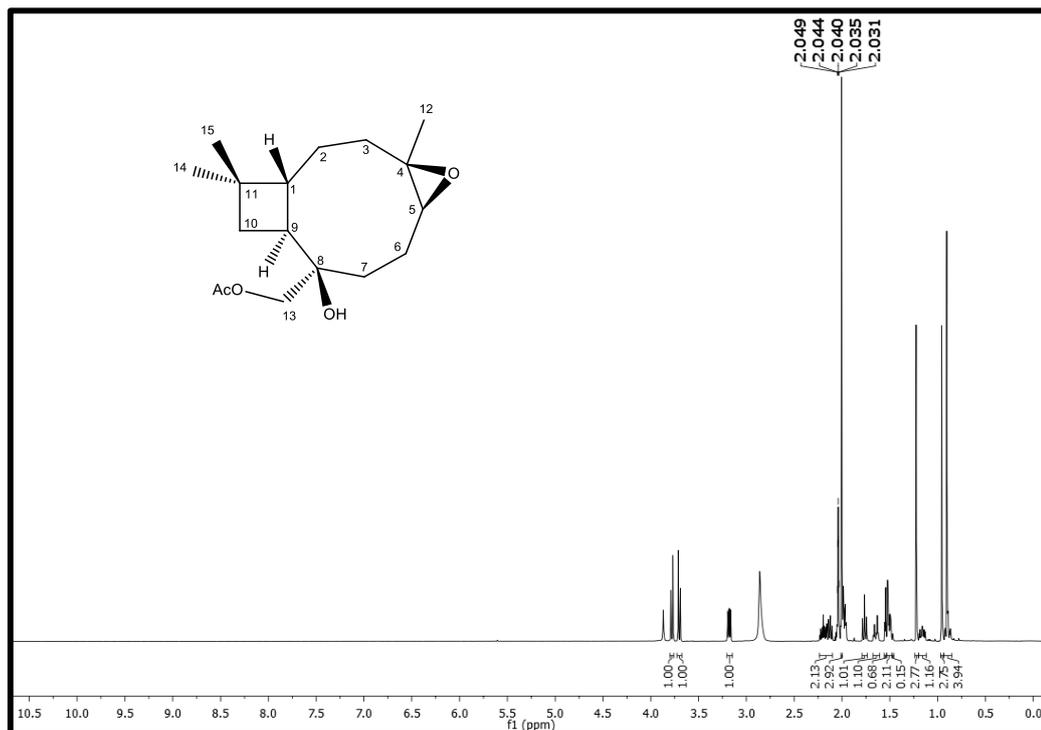
A expansão desse espectro (Figura 27, pág. 66) destaca os deslocamentos químicos em δ_{C} 20,8 e 171,1, que são característicos de grupo acetoxi. Os 15 sinais restantes, juntamente com os deslocamentos químicos em δ_{C} 33,5, 35,6 e 46,3 indicaram a presença de núcleo básico de sesquiterpeno do tipo cariofilano para a estrutura, e foram atribuídos a C-11, C-10 e C-1, respectivamente (DURAN et al., 1999). Os sinais em δ_{C} 28,7, 41,4 e 49,9, conferidos a C-2, C-3 e C-9, respectivamente, e os sinais em δ_{C} 58,8 e 61,0, característicos de carbonos carbinólicos de grupo epóxido, são semelhantes à estrutura do óxido de cariofileno, como representado na figura 28 (pág. 67) (COSTA, 2009; DURAN et al., 1999).

Entretanto, a ausência de carbonos olefínicos característicos de dupla ligação exocíclica, a presença do grupo acetoxi, o deslocamento químico em δ_{C} 72,8, atribuído a C-8, e o sinal em δ_{C} 71,7, atribuído a C-13, sugeriram a substituição do grupo acetoxi em C-13. Essa proposição é reforçada por C-13 está sofrendo desproteção devido a um efeito β , e C-8 está sofrendo proteção causada por um efeito γ , ambos do grupo acetoxi. A hipótese foi confirmada pela comparação com o composto linariofileno, isolado anteriormente da espécie em estudo (QUEIROGA, 2012), e com o derivado

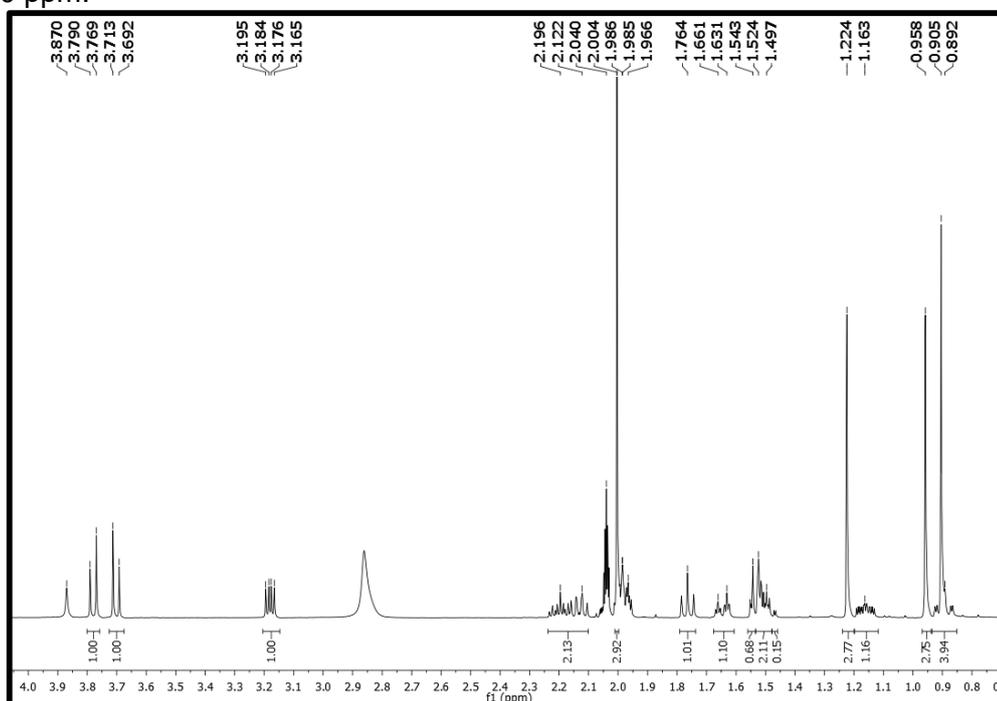
Figura 28 – Principais diferenças e semelhanças (representadas em cores iguais) entre os deslocamentos químicos de carbono de EI-3 (125 MHz, acetona- d_6), óxido de cariofileno (125 MHz, $CDCl_3$) (COSTA, 2009), derivado do cariofileno (75 MHz, $CDCl_3$) (ABRAHAM; ERNST; ARFMANN, 1990) e linariofileno (125 MHz, $CDCl_3$) (QUEIROGA, 2012).



No espectro de RMN de 1H (acetona- d_6 , 500 MHz) de EI-3 (Figura 29, pág. 68), foi possível observar um envelope de sinais na região de δ_H 0,8 a 2,5 ppm, que corroborou com a proposta de sesquiterpeno para EI-3. Nesse envelope foi detectado a presença de três simpletos em δ_H 0,91, 0,96 e 1,22, atribuídos a C-14, C-15 e C-12, respectivamente, compatíveis com metilas de sesquiterpeno do tipo cariofilano, além da metila de acetato em δ_H 2,0, reforçaram a hipótese deste tipo de núcleo básico ligado a um grupo acetoxi (DURAN et al., 1999).

Figura 29 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3.

A expansão desse espectro (Figura 30, pág. 68) mostra a presença de dois dupletos em δ_{H} 3,79 e 3,71 ($J = 10,5$ Hz) atribuídos aos hidrogênios geminados H-13, e um duplo duplete em δ_{H} 3,18 ($J = 5,5; 9,5$ Hz) atribuído ao hidrogênio carbinólico H-5. Os dados corroboraram a estrutura proposta e estão na Tabela 5 (pág. 75).

Figura 30 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região 0,7 a 4,0 ppm.

O espectro de correlação heteronuclear HMQC e sua expansão (acetona- d_6 , 500 e 125 MHz) (Figuras 31 e 32, pág. 69) mostrou a correlação do sinal em δ_H 3,18 com δ_C 61,0 confirmando a atribuição a H-5. As demais correlações estão compiladas na Tabela 5 (pág. 75).

Figura 31 – Espectro de correlação $^1H \times ^{13}C$ HMQC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3.

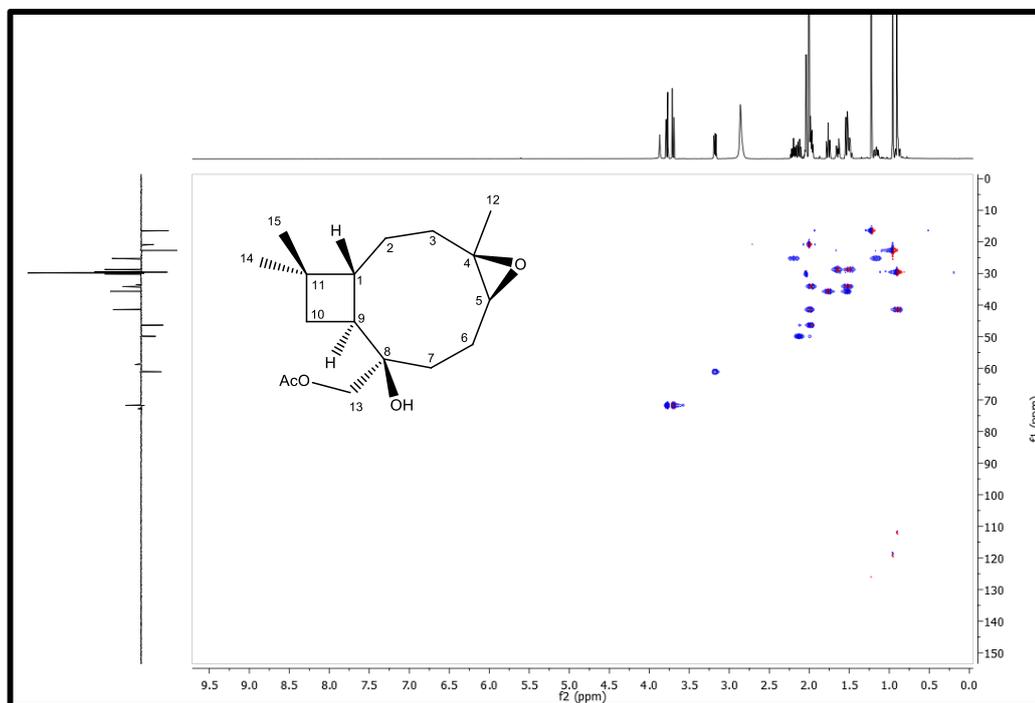
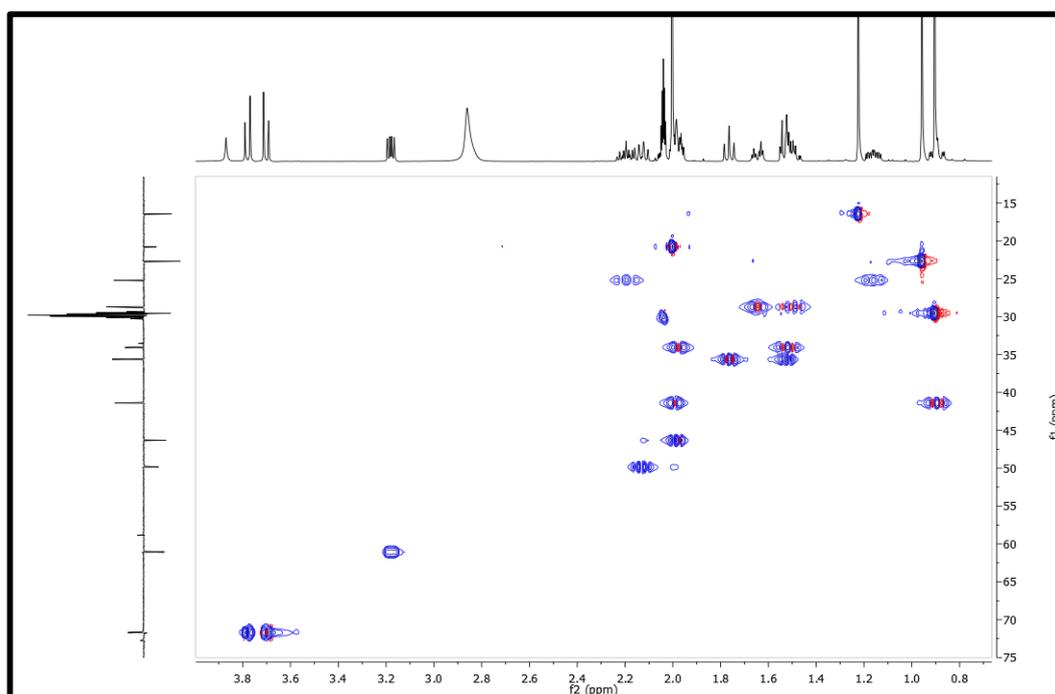


Figura 32 – Expansão do espectro de correlação $^1H \times ^{13}C$ HMQC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 15-75 ppm e 0,7-3,9 ppm.



Nas expansões do espectro de correlação heteronuclear HMBC (acetona- d_6 , 500 e 125 MHz) (Figura 33-35, pág. 70-71) foi possível observar as correlações do sinal δ_H 1,76 (H-10) com δ_C 22,6 (C-15) e 29,6 (C-14), confirmando a existência das metilas geminadas. Os hidrogênios destas metilas se correlacionaram com o sinal δ_C 46,3 (C-1), corroborando com a atribuição feita para C-1. Os hidrogênios metilênicos em δ_H 3,79 e 3,71 (H-13) se correlacionaram com a carbonila em δ_C 171,1 confirmando a inserção do grupo acetoxi em C-13. A correlação do sinal em δ_H 2,0 com a carbonila em δ_C 171,1 permitiu atribuir a metila do grupo acetoxi. Observou-se ainda a correlação do sinal em δ_H 1,22 (CH₃-12) com os sinais em δ_C 58,8 (C-4) e 61,0 (C-5), confirmando as atribuições do grupo epóxido. Além das correlações dos hidrogênios metilênicos H-13 com δ_C 34,1 (C-7), de H-5 (δ_H 3,18) com δ_C 41,4 (C-3), e do sinal em δ_H 1,63 (H-2) com C-4 (δ_C 58,8), confirmando a proposta da estrutura do derivado do óxido de cariofilano. As demais correlações estão dispostas na Tabela 5 (pág. 75).

Figura 33 – Espectro de correlação $^1H \times ^{13}C$ HMBC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3.

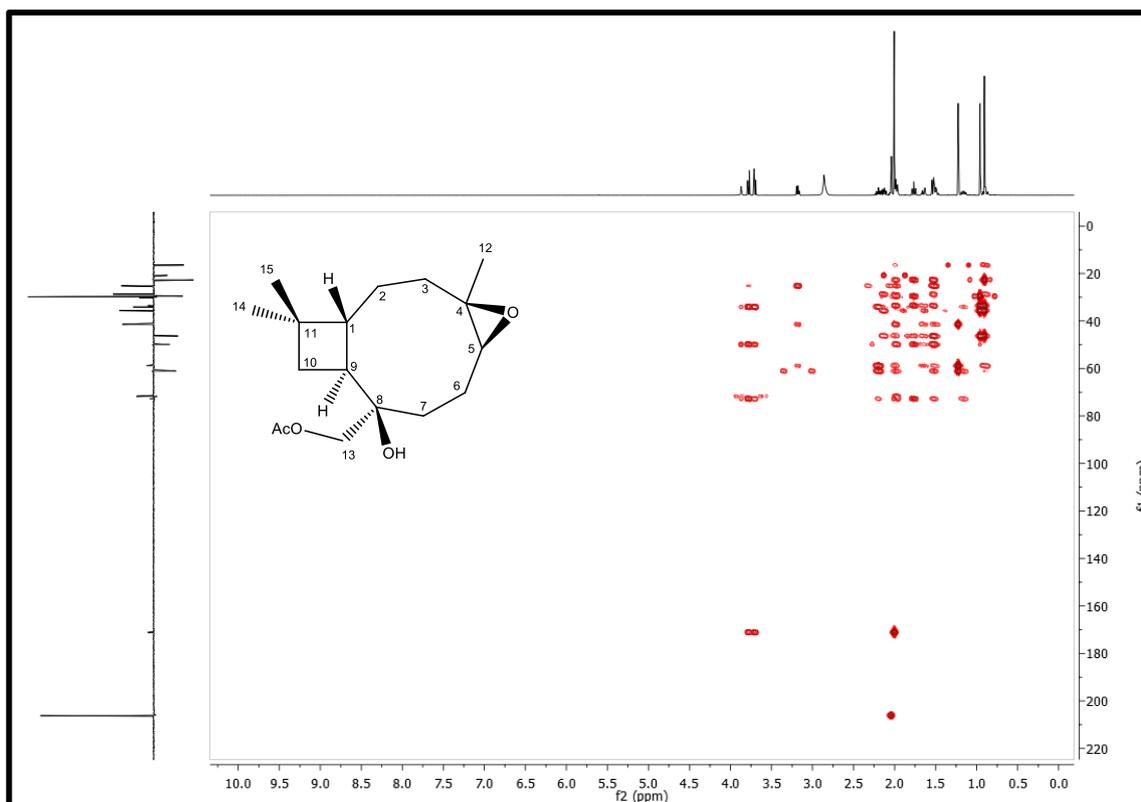


Figura 34 – Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 15-80 ppm e 0,6-4,0 ppm.

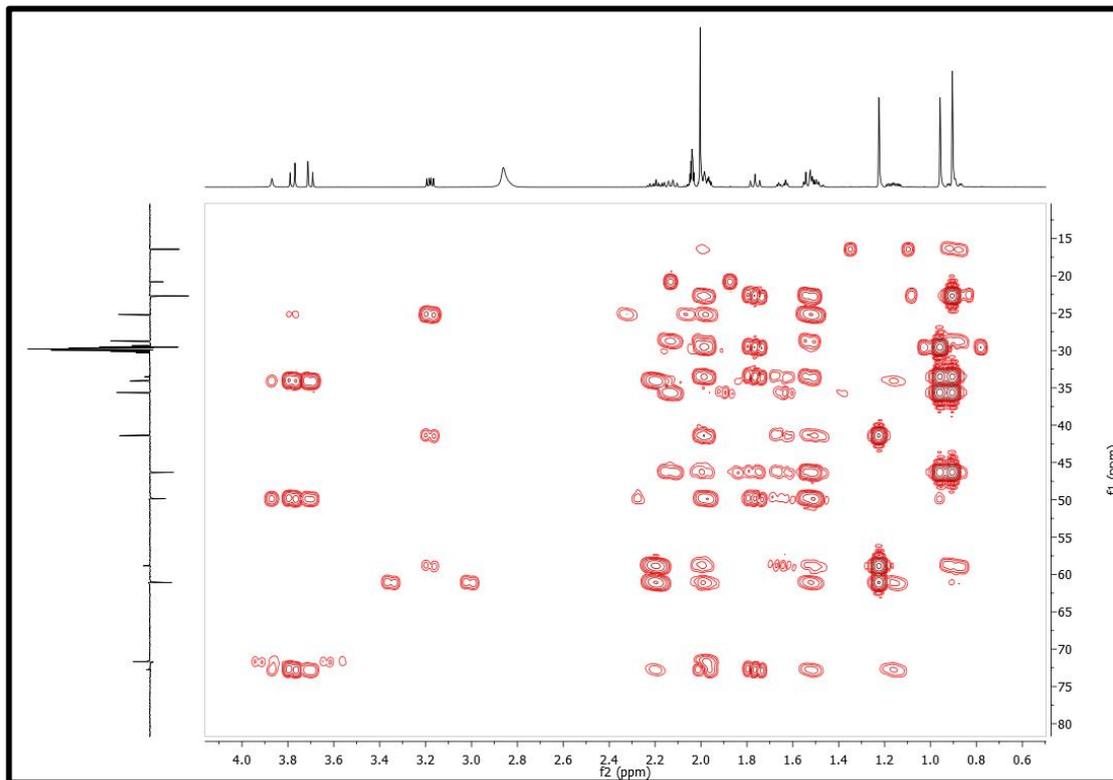
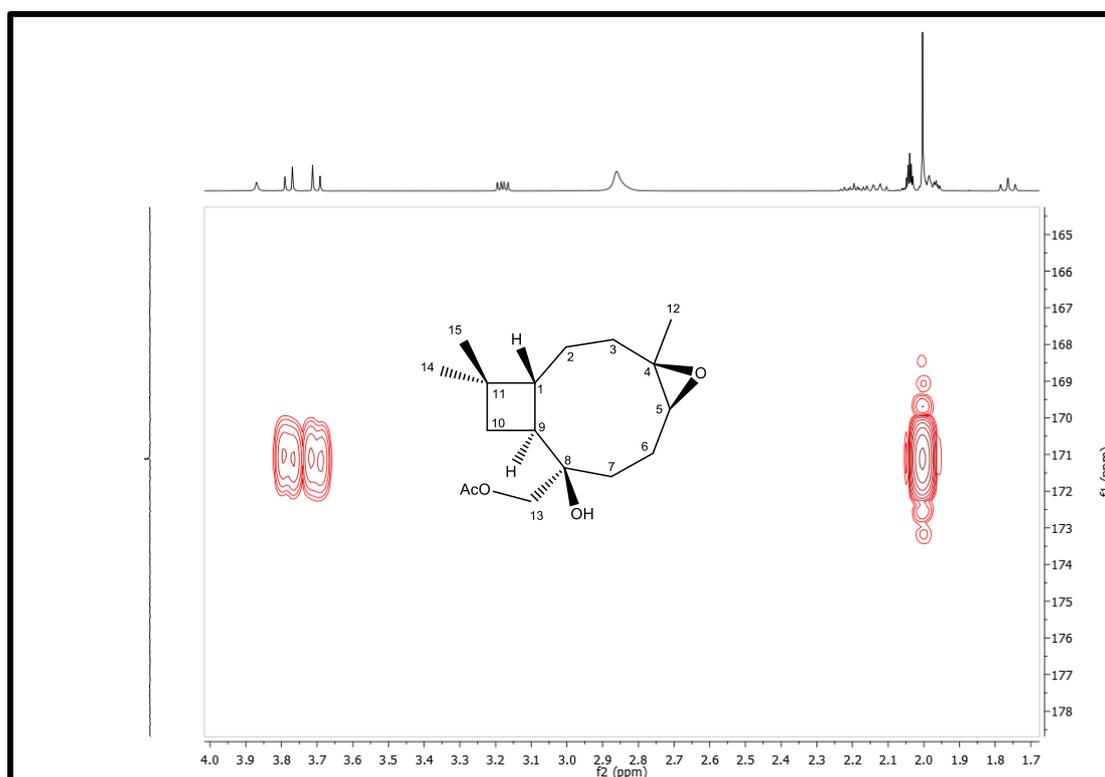


Figura 35 – Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ HMBC (500 e 125 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 165-178 ppm e 1,7-4,0 ppm.



A análise do espectro de correlação homonuclear COSY (acetona- d_6 , 500 MHz) e sua expansão (Figuras 36-37, pág. 72), confirmaram as atribuições para os hidrogênios metilênicos (H-6) ao mostrar correlações dos deslocamentos químicos em δ_H 1,16 e 2,19 com o sinal em δ_H 3,18 (H-5).

Figura 36 – Espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3.

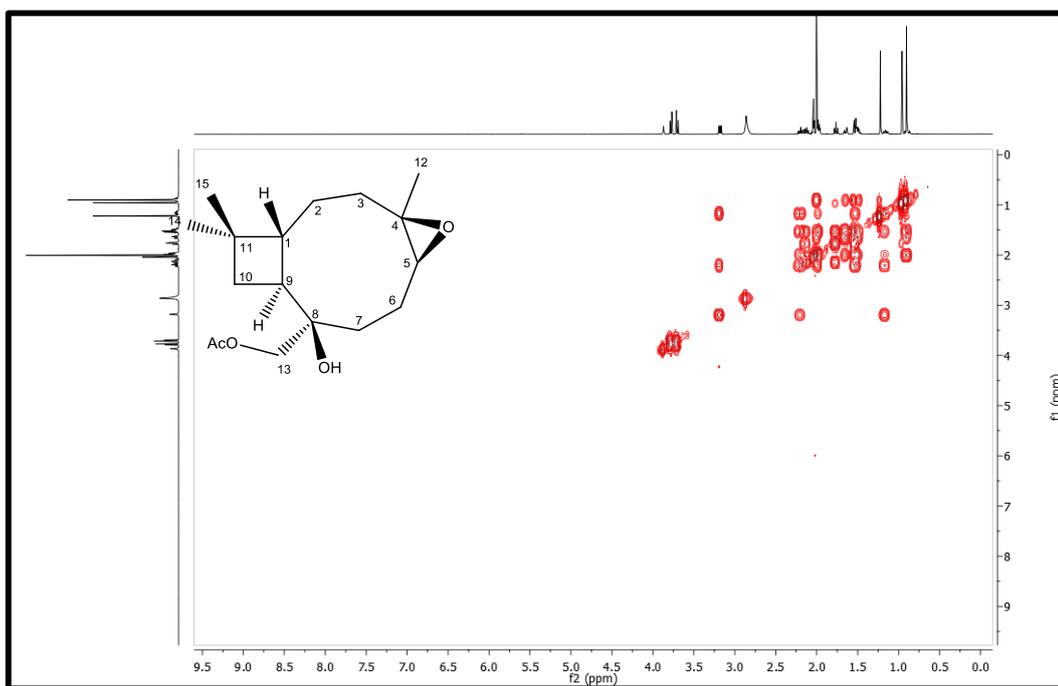
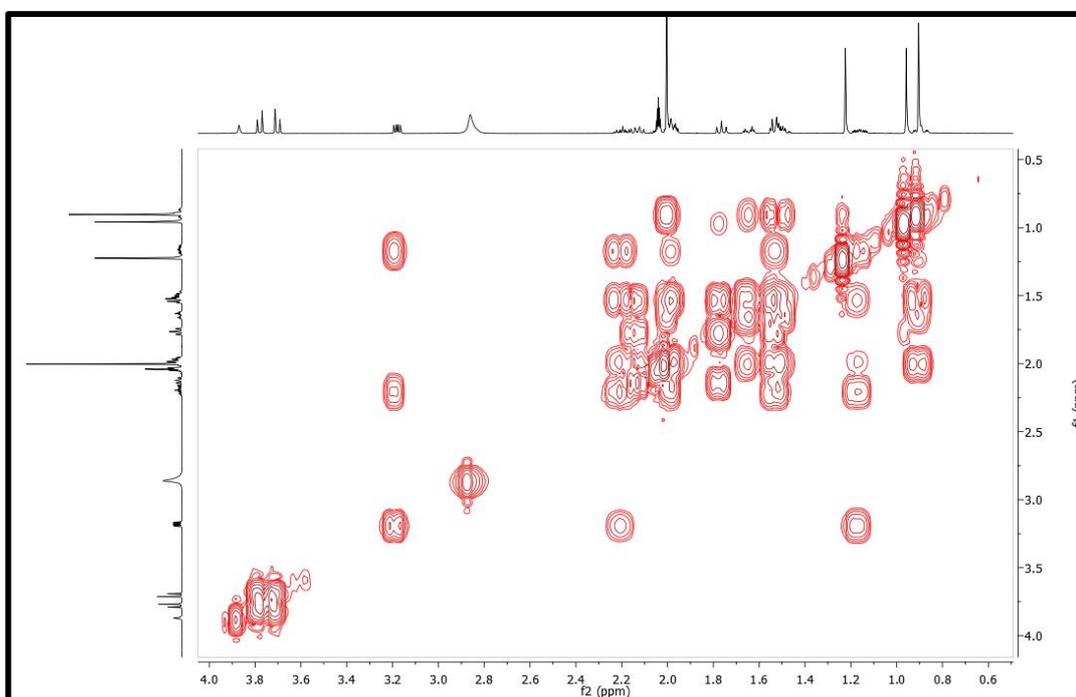


Figura 37 – Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ COSY (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 0,5-4,0 ppm e 0,6-4,0 ppm.



No espectro de correlação homonuclear NOESY (acetona- d_6 , 500 MHz) (Figuras 38-39, pág. 73), foi possível observar a correlação entre δ_H 3,18 (dd, H-5) com as metilas do grupo acetoxi (δ_H 2,0) e da posição 14 (δ_H 0,90), que inferiu a β -orientação do epóxido e do grupo hidroxí em C-8.

Figura 38 – Espectro de correlação NOESY (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3.

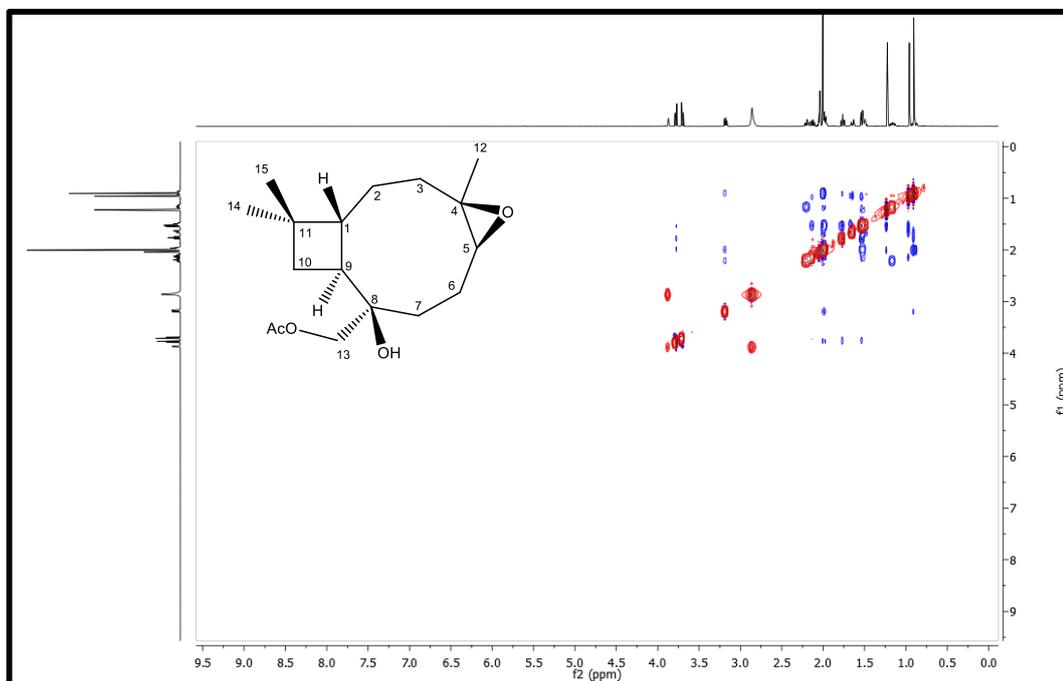
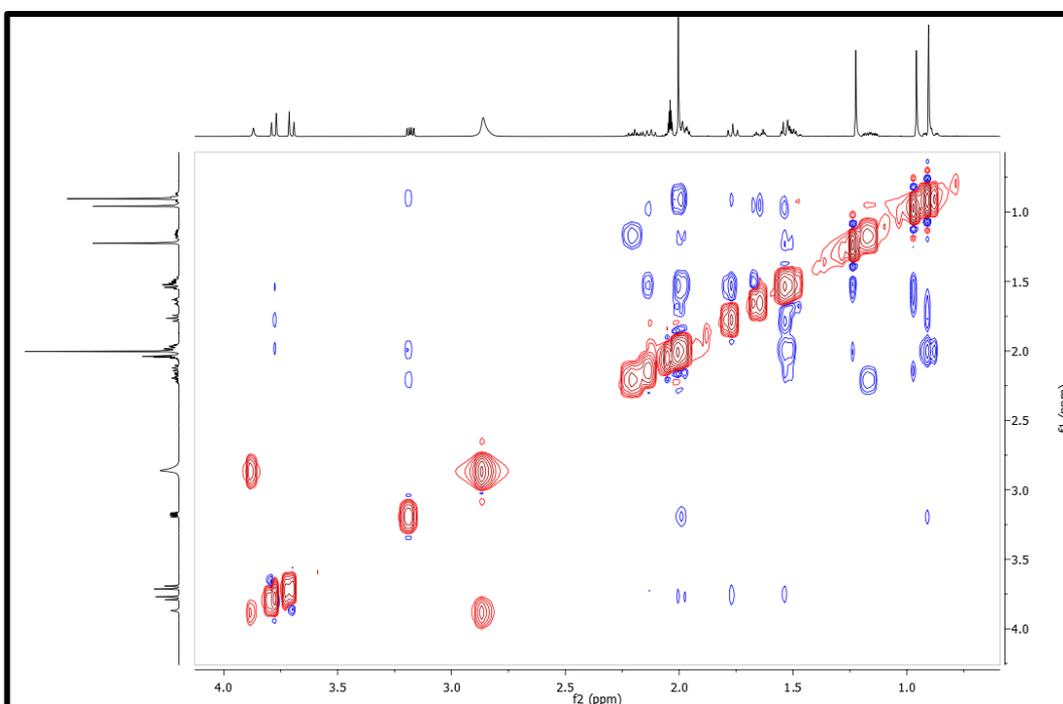


Figura 39 – Expansão do espectro de correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ NOESY (500 MHz, acetona- d_6) de EI-3 na região de 0,5-4,0 ppm e 0,6-4,0 ppm.



Deste modo, após análise de todos os dados de RMN uni e bidimensionais, bem como sua comparação com dados da literatura, foi possível identificar EI-3 como sendo 13 α -acetoxi-4,5-epoxi-cariofilan-8 β -ol, nomeado de evolfileno (Figura 40, pág. 74). Este composto está sendo relatado pela primeira vez como produto natural, tendo sido relatado anteriormente como intermediário de síntese, porém aqui, seus dados de RMN estão assinalados de forma completa (SRINIVASAN; WARNHOF, 1976).

Figura 40 – Estrutura química do evolfileno.

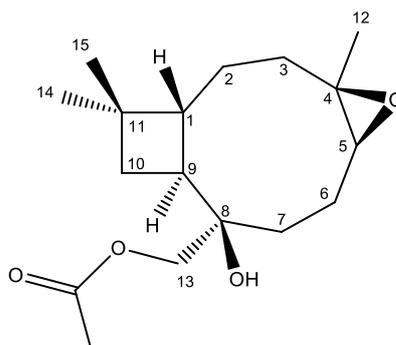
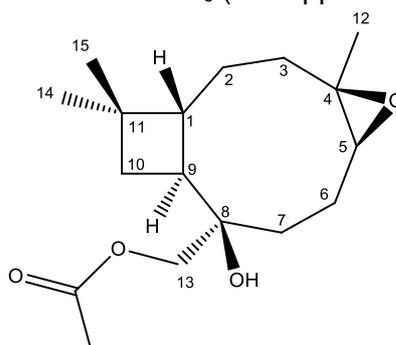
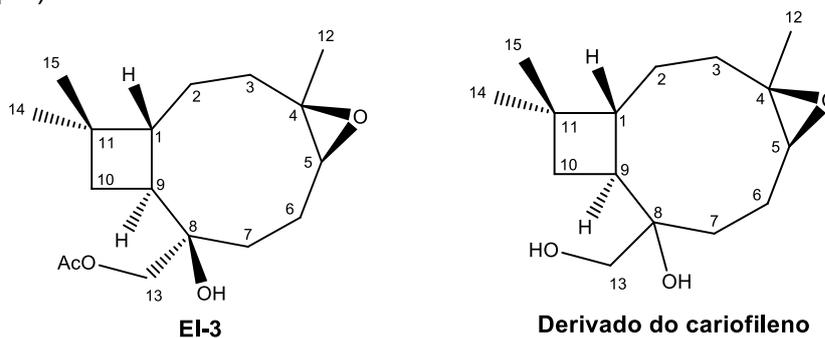


Tabela 5 – Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) de EI-3 e correlações obtidas em HMQC e HMBC, registradas em acetona- d_6 (δ em ppm e J em Hz).

C	δ_{C}	HMQC		HMBC	
		δ_{H}	(2J)	(3J)	
4	58,8	-	-	-	
8	72,8	-	-	-	
11	33,5	-	-	-	
CH					
1	46,3	1,98 (<i>m</i>)	C-11/C-2/C-9	C-3/C-8/C-14/C-15	
5	61,1	3,18 (<i>dd</i> , $J = 5,5; 9,5$)	C-6/C-4	C-3	
9	49,9	2,12 (<i>m</i>)	C-10/C-1	C-2	
CH₂					
2	28,7	1,63; 1,49 (<i>m</i>)	C-1/C-3	C-11/C-9/C-4	
3	41,4	1,96; 0,89 (<i>m</i>)	C-4	C-1/C-5	
6	25,2	2,19; 1,16 (<i>m</i>)	C-7/C-5	C-4/C-8	
7	34,1	1,98; 1,52 (<i>m</i>)	C-6/C-8	C-9/C-5/C-13	
10	35,6	1,76 (<i>t</i>) e 1,52 (<i>m</i>)	C-11/C-9	C-1/C-8/C-14/C-15	
13	71,7	3,79 e 3,71 (<i>d</i> , $J = 10,5$)	C-8	C-7/C-9/C=O	
CH₃					
12	16,4	1,22 (<i>s</i>)	C-4	C-3/C-5	
14	29,6	0,90 (<i>s</i>)	C-11	C-1/C-10/C-15	
15	22,7	0,95 (<i>s</i>)	C-11	C-1/C-10/C-14	
COCH₃	20,8	2,00 (<i>s</i>)	C=O	-	
COCH₃	171,1	-	-	-	
OH	-	3,87 (<i>s</i>)	C-8	C-7/C-9/C-13	

Tabela 6 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C de EI-3 (125 MHz, acetona- d_6) e o derivado do cariofileno (75 MHz, CDCl_3) (ABRAHAM; ERNST; ARFMANN, 1990) (δ em ppm).



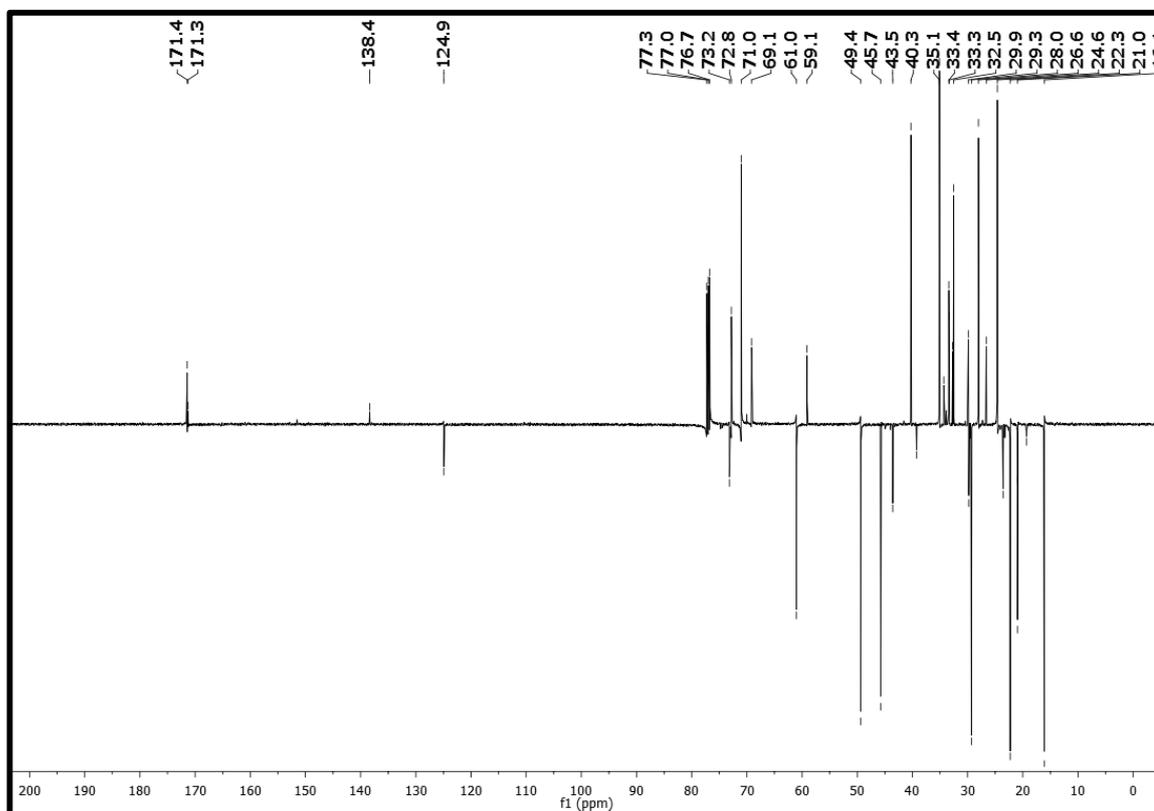
	EI-3	Derivado do cariofileno
C	δ_c	δ_c
1	46,3	46,3
2	28,7	24,9
3	41,4	40,5
4	58,8	59,2
5	61,1	61,3
6	25,2	28,3
7	34,1	32,2
8	72,8	73,8
9	49,9	49,3
10	35,6	35,4
11	33,5	33,0
12	16,4	16,2
13	71,7	69,1
14	29,6	29,4
15	22,7	22,3
COCH₃	20,8	-
COCH₃	171,1	-

5.4 Determinação estrutural de EI-4

A substância codificada como EI-4 (24 mg) foi isolada na forma de cristais cinzas, com rendimento de 0,0016% em relação ao peso seco da planta.

O espectro de RMN de ^{13}C de EI-4, obtido em CDCl_3 a 125 MHz, utilizando a técnica APT (Figura 41, pág. 77), apresentou 33 sinais de átomos de carbono, onde foi possível observar a presença de sinais duplicados e um sinal para dois carbonos, indicando se tratar de uma mistura. A análise das expansões desse espectro (Figuras 42-44, pág. 78-79) e em comparação com os dados espectrais de EI-3, permitiu afirmar que EI-4 se tratava de uma mistura de evolfileno e um outro sesquiterpeno do tipo cariofilano.

Figura 41 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-4.



Os 17 sinais referentes ao composto desconhecido foram atribuídos a quatro carbonos não hidrogenados, quatro carbonos metínicos, cinco carbonos metilênicos, e quatro carbonos metílicos. Semelhante a EI-3, os deslocamentos químicos em δ_{C} 33,3, 34,3 e 43,5, atribuídos a C-10, C-11 e C-1, respectivamente, e os sinais em δ_{C} 20,9 e 171,3, referentes a grupo acetoxi, indicaram a presença de um núcleo básico

de sesquiterpeno do tipo cariofilano com uma unidade acetoxi. Corroborando com essa hipótese, foi possível observar ainda os deslocamentos químicos em δ_C 69,1 e 72,8, atribuídos a C-13 e C-8, respectivamente, compatíveis com a inserção do grupo acetoxi em C-13.

Contudo, a presença dos sinais em δ_C 124,9 e 138,4, característicos de carbonos olefínicos de dupla ligação endocíclica, além da ausência dos sinais de grupo epóxido, evidenciaram a diferença entre EI-4 e EI-3 (SILVA, 2010). Em comparação com dados da literatura, foi possível observar a semelhança de alguns sinais com o composto linariofileno, isolado anteriormente da espécie em estudo, permitindo atribuir os deslocamentos da dupla ligação a C-3 e C-4, dos sinais de carbonos metilênicos em δ_C 26,6 e 29,8 a C-2 e C-6, respectivamente, e do sinal de carbono oxigenado em δ_C 73,1 a C-5 (QUEIROGA, 2012). Os demais deslocamentos químicos estão dispostos na Tabela 7 (pág. 84).

Figura 42 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região de 120-178 ppm.

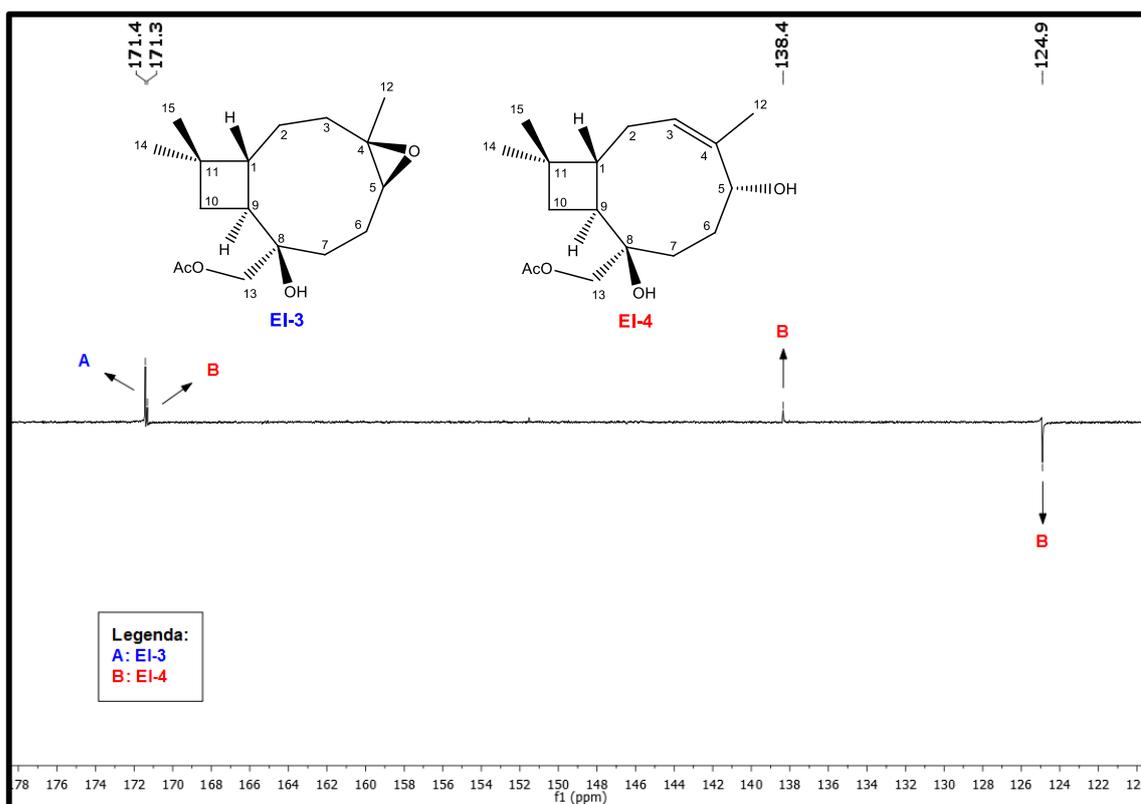


Figura 43 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região 38-74 ppm.

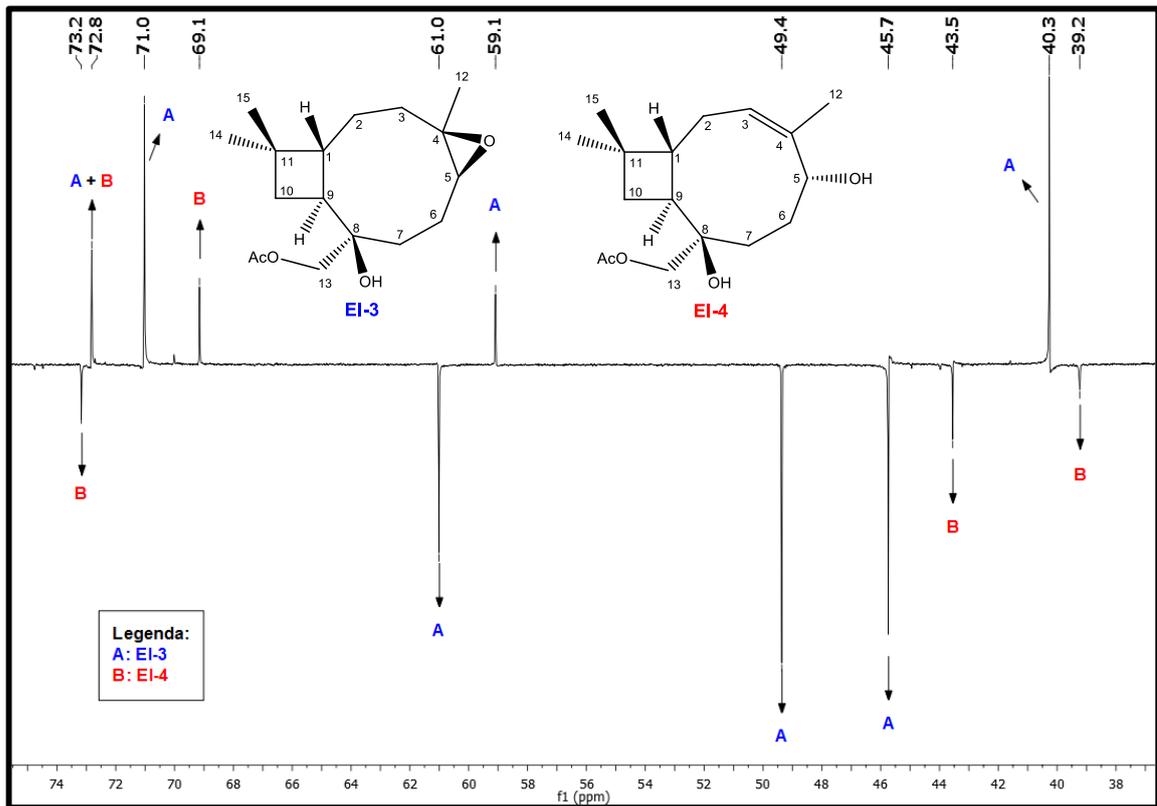
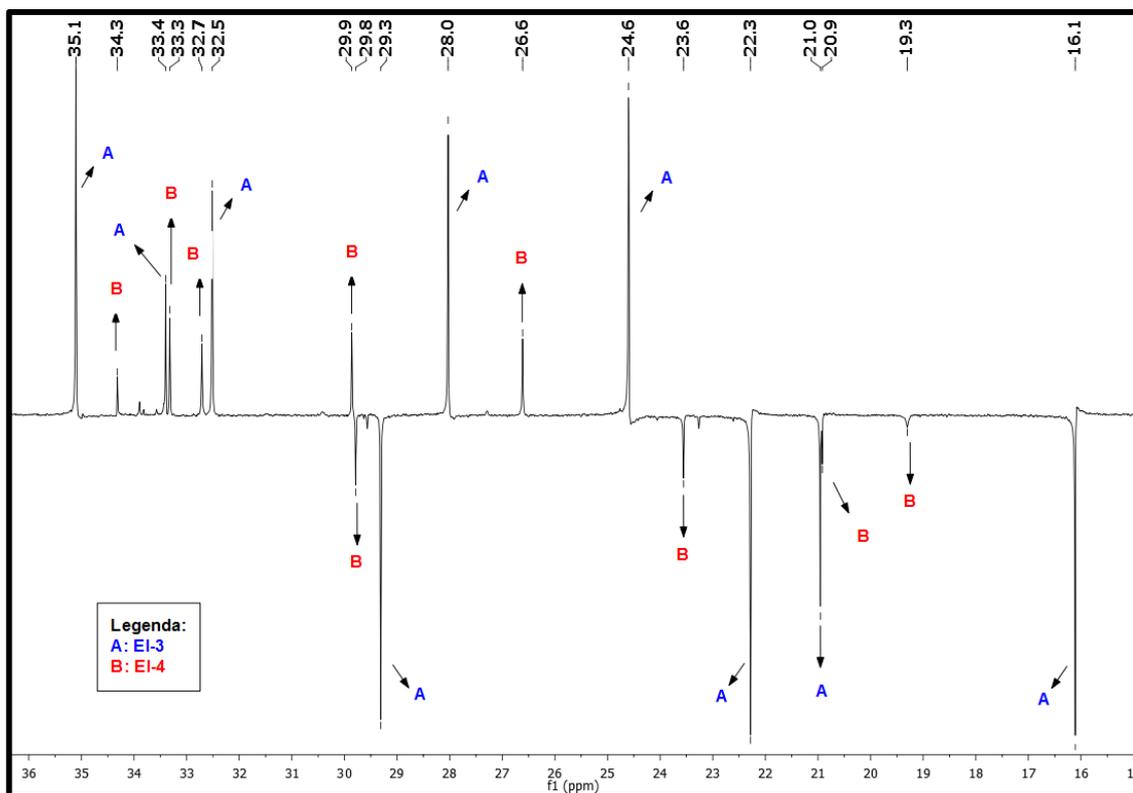
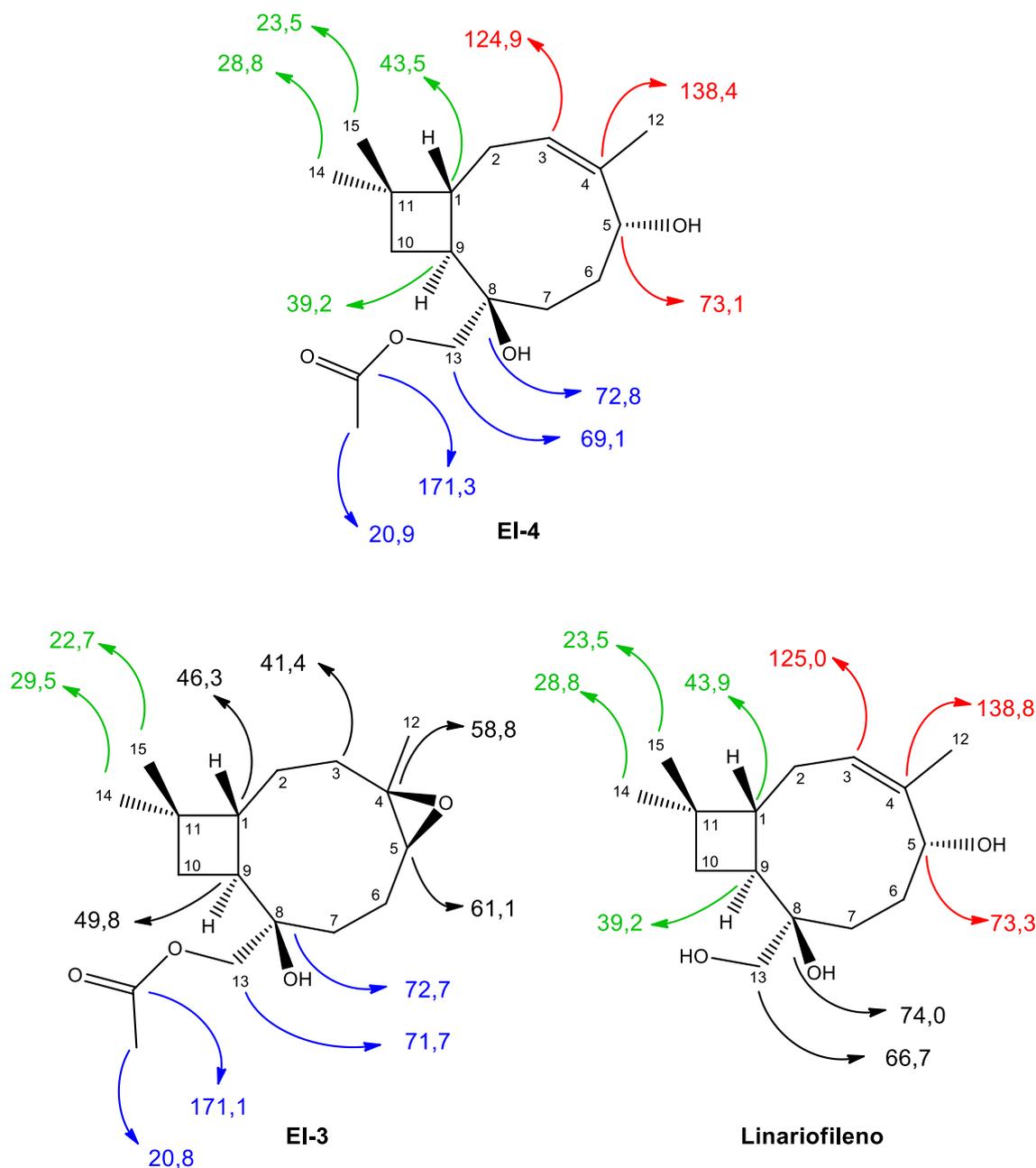


Figura 44 – Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região 15-36 ppm.



As principais diferenças e semelhanças (representadas em cores iguais) entre os deslocamentos químicos de carbono de EI-4, EI-3 e linariofileno (QUEIROGA, 2012) encontram-se compiladas na figura 45 (pág. 80) e tabela 8 (pág. 85).

Figura 45 – As principais diferenças e semelhanças (representadas em cores iguais) entre os deslocamentos químicos de carbono de EI-4 (125 MHz, CDCl₃), EI-3 (125 MHz, acetona-d₆) e linariofileno (125 MHz, CDCl₃) (QUEIROGA, 2012).



A estereoquímica relativa dos centros quirais em C-1, C-5, C-8, C-9 e C-11 foram definidos por comparação com os dados da literatura e representados na figura acima.

No espectro de RMN de ^1H de EI-4, obtido em CDCl_3 a 500 MHz (Figura 46, pág. 81), foi possível observar um envelope de sinais na região entre δ_{H} 0,9 a 2,3 ppm apresentando multipletos e oito simples, destes, quatro referentes a EI-3 e quatro a EI-4. Os simples em δ_{H} 0,97, 0,98, 1,72 e 2,05, foram atribuídos a C-14, C-15, C-12 e a metila do grupo acetoxi de EI-4, respectivamente. Observou-se ainda um multipletos em δ_{H} 3,84 referente aos hidrogênios geminados H-13 de EI-3 e EI-4. Todos esses dados reforçam a hipótese da mistura de EI-3 e EI-4, bem como com a estrutura de um sesquiterpeno do tipo cariofilano com uma unidade acetoxi.

As expansões desse espectro (Figuras 47-48, pág. 82) ressaltaram as diferenças entre EI-3 e EI-4 pela presença de um triplo em δ_{H} 5,43 atribuído ao hidrogênio olefínico H-3, além de um duplo duplete em δ_{H} 4,44 ($J = 3,0; 9,0$ Hz) referente ao hidrogênio de carbono oxigenado H-5. Esses deslocamentos químicos foram observados apenas para EI-4 e destacou a semelhança com o linariofileno (QUEIROGA, 2012).

Figura 46 – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-4.

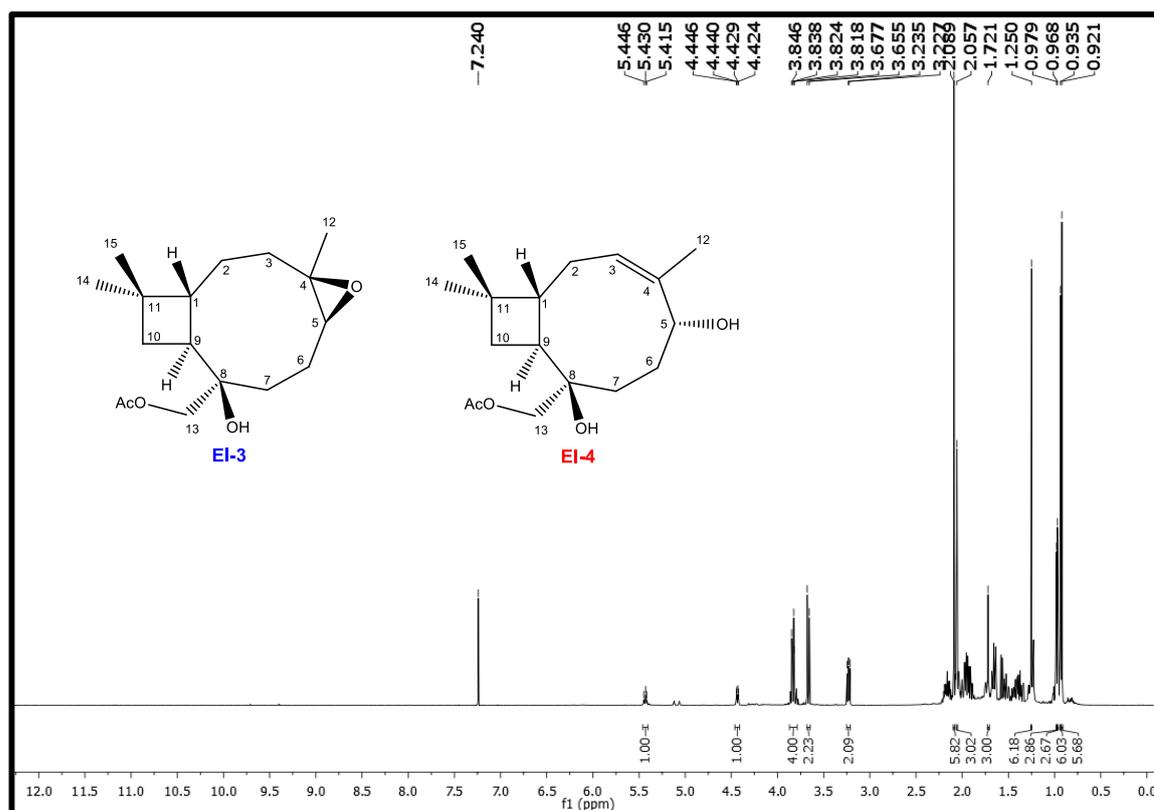


Figura 47 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região 3,0 a 5,6 ppm.

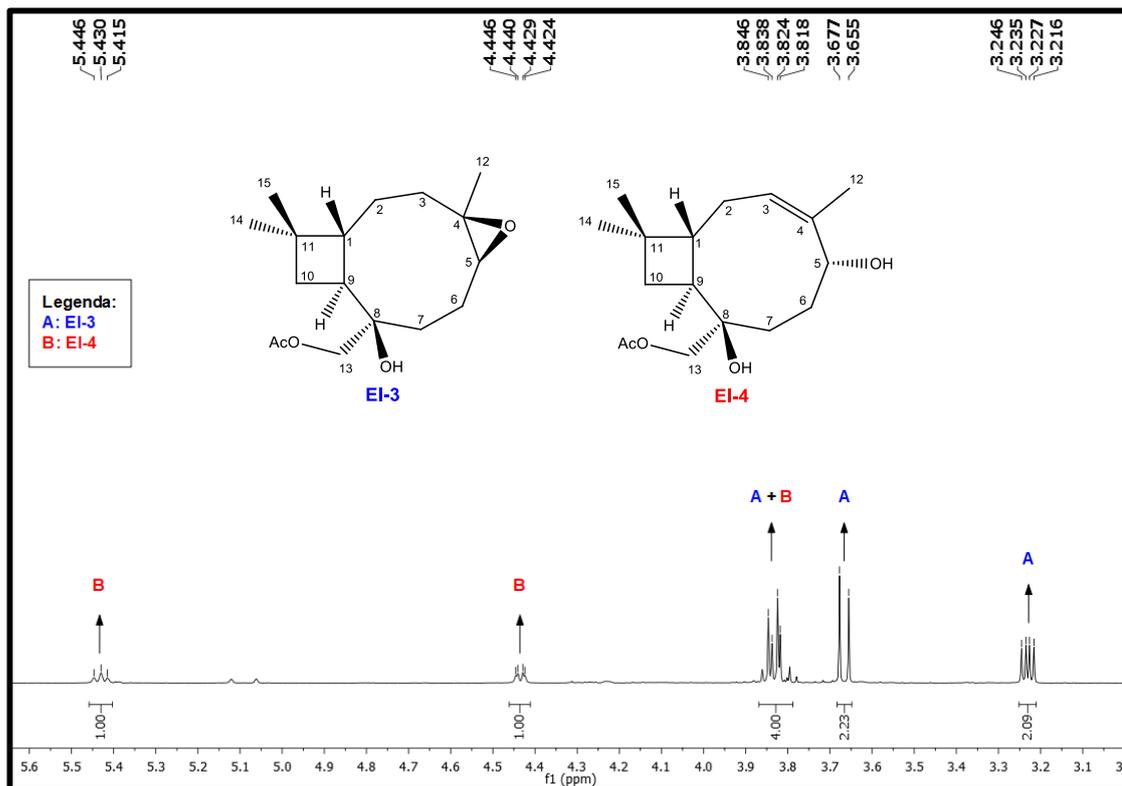
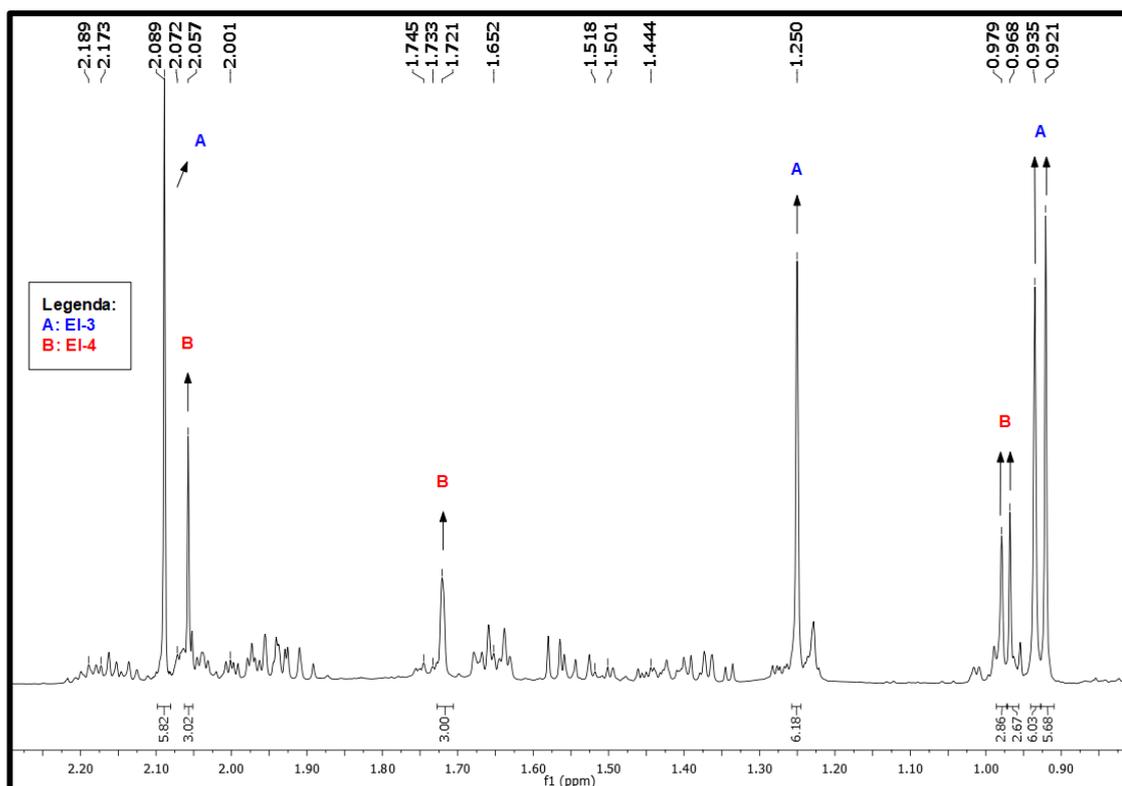


Figura 48 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de EI-4 na região 0,85 a 2,25 ppm.



Assim, após análise completa dos dados de RMN de ^{13}C e ^1H de EI-4, bem como sua comparação com EI-3 e com dados da literatura (QUEIROGA, 2012), foi possível identificar o constituinte minoritário da mistura de EI-4, como sendo o novo sesquiterpeno do tipo cariofilano, 13α -acetoxi-cariofil-3(4)-en- 8β - 5α -diol, que foi atribuído o nome acetato de linariofileno (Figura 49, pág. 83). É o primeiro relato deste composto como produto natural.

Figura 49 – Estrutura química de acetato de linariofileno.

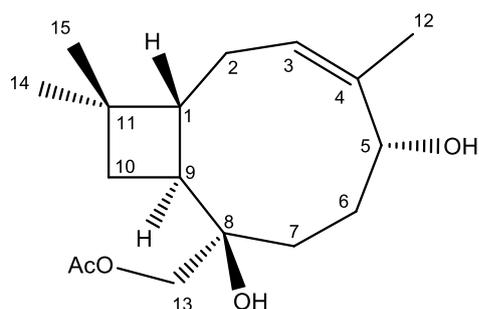
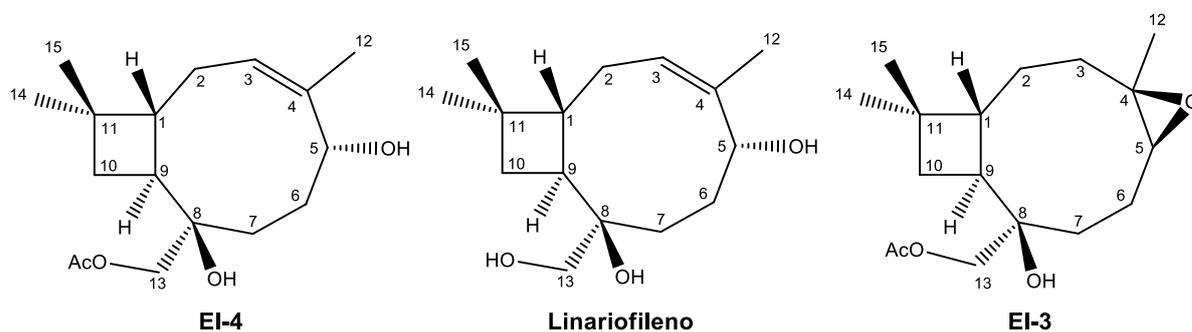


Tabela 8 – Comparação dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C de EI-4 (125 MHz, CDCl_3), linariofileno (125 MHz, CDCl_3) (QUEIROGA, 2012) e EI-3 (125 MHz, acetona- d_6) (δ em ppm).



	EI-4	Linariofileno	EI-3
C	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	43,5	43,9	46,3
2	26,6	26,7	28,7
3	124,9	125,0	41,4
4	138,4	138,8	58,8
5	73,1	73,3	61,1
6	29,8	29,9	25,2
7	32,5	32,0	34,1
8	72,8	74,0	72,7
9	39,2	39,2	49,8
10	33,3	33,4	35,6
11	34,3	34,4	33,5
12	19,3	19,2	16,4
13	69,1	66,7	71,7
14	28,8	29,9	29,5
15	23,5	23,5	22,7
<u>COCH₃</u>	20,9	-	20,8
<u>COCH₃</u>	171,3	-	171,1

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Evolvulus linarioides* Meisn. resultou no isolamento de cinco substâncias pertencentes a três classes de metabólitos, um fenilpropanoide, dois esteroides e dois sesquiterpenos cariofilanos.

Através de técnicas de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , incluindo técnicas bidimensionais (HMQC, HMBC, COSY e NOESY), foi possível identificar o ferulato de alquila, estigmasterol, β -sitosterol, 13α -acetoxi-4,5-epoxi-cariofilan- 8β -ol, nomeado de evolfileno, e 13α -acetoxi-cariofil-3(4)-en- 8β - 5α -diol, ao qual foi atribuído o nome acetato de linariofileno.

O ferulato de alquila e os dois esteroides estão sendo relatados pela primeira vez na espécie *E. linarioides*. Os dois sesquiterpenos, evolfileno e acetato de linariofileno, estão sendo relatados pela primeira vez como produto natural após levantamento bibliográfico nos principais bancos de dados.

Diante disto, o presente trabalho contribuiu para o conhecimento do gênero *Evolvulus*, através do estudo fitoquímico de *E. linarioides*, já que reportou o isolamento de três compostos relatados pela primeira na espécie em estudo e dois sesquiterpeno inéditos na literatura.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, M. A.; TAHA, M. O.; ZIHLIF, M. A.; DISI, A. M. β -Caryophyllene causes regression of endometrial implants in a rat model of endometriosis without affecting fertility. **European Journal of Pharmacology**, v. 702, n. 1-3, p. 12-19, 2013.
- ABRAHAM, W.; ERNST, L.; ARFMANN, H. Rearranged caryophyllenes by biotransformation with *Chaetomium cochliodes*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 3, p. 757-763, 1990.
- AKHTAR, M. S.; KASKOOS, R. A.; MIR, S. R.; ALI, M. New chromone derivative from *Evolvulus alsinoides* Linn. aerial parts. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 13, p. 191-194, 2009.
- ALVES, M. J.; FERREIRA, I. C. F. R.; FROUFE, H. J. C.; ABREU, R. M. V.; MARTINS, A.; PINTADO, M. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 2, p. 346-357, 2013.
- AYYANAR, M., IGNACIMUTHU, S. Ethnobotanical survey of medicinal plants commonly used by Kani tribals in Tirunelveli hills of Western Ghats, India. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 3, p. 851-864, 2011.
- BAHI, A.; MANSOURI, S. A.; MEMARI, E. A.; AMERI, M. A.; NURULAIN, S. M.; OJHA, S. β -Caryophyllene, a CB2 receptor agonist produces multiple behavioral changes relevant to anxiety and depression in mice. **Physiology & behavior**, v. 135, p. 119-124, 2014.
- BOAROTO, J. A. **Identificação do Sesquiterpeno β -Cariofileno em Óleo de Copaíba Utilizando a Espectroscopia Raman**. 2014. 49 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Universidade Camilo Castelo Branco, São José dos Campos, SP. 2014.
- BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Quim. Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.
- BRÜLL, F.; MENSINK, R. P.; PLAT, J. Plant sterols: functional lipids in immune function and inflammation? **Clin. Lipidol.**, v. 4, p. 355-365, 2009.
- CALLEJA, M. A.; VIEITES, J. M.; MONTERO-METERDEZ, T.; TORRES, M. I.; FAUS, M. J.; GIL, A.; SUÁREZ, A. The antioxidant effect of β -caryophyllene protects rat liver from carbon tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. **British Journal of Nutrition**, v.109, n. 3, p.394-401, 2013.
- CANO, J. H., VOLPATO, G. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 2-3, p. 293-316, 2004.
- CAO, S.; GUZA, R. C.; WISSE, J. H.; MILLER, J. S.; EVANS, R.; KINGSTON, D. G. Ipomoeassins A-E, Cytotoxic Macrocyclic Glycoresins from the Leaves of *Ipomoea squamosa* from the Suriname Rainforest. **J. Nat. Prod.**, v. 68, p. 487-492, 2005.

CARNEIRO, M. R. B. **A flora medicinal no Centro Oeste do Brasil: um estudo de caso com abordagem etnobotânica em Campo Limpo de Goiás**. 2009. 242 F. Dissertação (Mestrado em Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente) - Centro Universitário de Anápolis. 2009.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C.F.R. The role of phenolic compounds in the fight against cancer – A review. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 1236-1258, 2013.

CHATURVEDULA, V. S. P.; PRAKASH, I. Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from the dichloromethane extract of *Rubus suavissimus*. **International Current Pharmaceutical Journal**, v. 1, n. 9, p. 239-242, 2012.

CHO, H.; HONG, J.; CHOI, J.; CHOI, H.; HWAN KWAK, J.; LEE, D.; KOOK LEE, S.; LEE, S. β -Caryophyllene alleviates d-galactosamine and lipopolysaccharide-induced hepatic injury through suppression of the TLR4 and RAGE signaling pathways. **European journal of pharmacology**, v. 764, p. 613-21, 2015.

COSTA, V. C. de O. **Constituintes químicos de *Rollinia leptopetala* R. E. fries: alcalóides, sesquiterpenos e um novo derivado caféico**. 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintético Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2009.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 6, p. 670–3695, 2013.

DASH, G. K.; SURESH, P.; SAHU, S. K.; KAR, D. M.; GANAPATY, S.; PANDA, S. B. Evaluation of *Evolvulus alsinoides* Linn. for anthelmintic and antimicrobial activities. **Journal Of Natural Remedies**, v. 2, p. 182-185, 2002.

DERDEMEZIS, C. S.; FILIPPATOS, T. D.; MIKHAILIDIS, D. P.; ELISAF, M.S. Effects of plant sterols and stanols beyond low-density lipoprotein cholesterol lowering. **J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.**, v. 15, p. 120-134, 2010.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3^a ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2009. 550p.

DINDA, B.; GHOSH, B.; ARIMA, S.; SATO, N.; HARIGAYA, Y. Chemical constituents of *Evolvulus nummularius*. **Indian Journal of Chemistry**, v. 46B, p. 492-498, 2007.

DUARTE, R. C. **Estudo dos compostos bioativos em especiarias (*Syzygium aromaticum* L, *Cinnamomum zeylanicum* Blume e *Myristica fragans* Houtt) processadas por radiação ionizante**. 2014. 145 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. 2014.

DURAN, R.; CORRALES, E.; HERNÁNDEZ-GALÁN, R.; COLLADO, I. G. Biotransformation of caryophyllene oxide by *Botrytis cinerea*. **J. Nat. Prod.**, v. 62, p. 41-44, 1999.

EICH, E. **Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites – Biosynthesis, Chemotaxonomy, Biological and Economic Significance** (A Handbook). Springer-Verlag Berlin – Heidelberg, 2008. 637 p.

EL-SEEDI, H. R.; EL-SAID, A. M. A.; KHALIFA, S. A. M.; GÖRANSSON, U.; BOHLIN, L.; BORG-KARLSON, A.; VERPOORTE, R. Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, n. 44, p. 10877-95, 2012.

EL-SHORA, H. M.; EL-GAWAD, A. M. A. Evaluation of allelopathic potential of *Rumex dentatus* root extract and allelochemicals on *Cicer arietinum*. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 10, n. 1, p. 167-180, 2014.

ESPIN, S.; POVEDA, C.; GONZALEZ-MANZANO, S.; AYUDA-DURÁN, B.; GONZALEZ-PARAMAS, A. M.; SANTOS-BUELGA, C.; TACO, V. Phenolic composition and antioxidant capacity of yellow and purple-red Ecuadorian cultivars of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.). **Food Chemistry**, v. 194, p. 1073-1080, 2016.

ESTEVEZ, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G.; SANTOS, L. S.; SERTIE, J. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 191-196, 2005.

EVANS, W. C.; SOMANABANDHU, A. Cuscohygrine: A constituent of the roots of some British Convolvulaceae. **Phytochemistry**, v. 13, n. 2, p. 519–520, 1974.

FERNANDES, E. S.; PASSOS, G.F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (–)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **Eur J Pharmacol**, v. 569, p. 228-236, 2007.

FERREIRA, P. P. A.; SIMÃO-BIANCHINI, R. S.; MIOTTO, S. T. S. O gênero *Evolvulus* L. (Convolvulaceae) na Região Sul do Brasil. **IHERINGIA, Série Botânica**, v. 69, n. 1, p. 201-214, 2014.

FÜRST, R.; ZÜNDORF, I. Evidence-Based Phytotherapy in Europe: Where Do We Stand? **Planta Med**, v. 81, p. 962–967, 2015.

GABAY, O.; SANCHEZ, C.; SALVAT, C.; CHEVY, F.; BRETON, M.; NOURISSAT, G.; WOLF, C.; JACQUES, C.; BERENBAURN, F. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. **Osteoarthr. Cartil.**, v. 18, p. 106-116, 2010.

GARCÍA-LLATAS, G.; RODRÍGUEZ-ESTRADA, M. T. Current and new insights on phytosterol oxides in plant sterol-enriched food. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 164, n. 6, p. 607-624, 2011.

- GHIRARDO, A. **Studies of plant terpenoid biosynthesis using ^{13}C stable isotope labeling techniques**. 2010. 63 f. Dissertação (Ciências Florestais e Ambientais) - Universidade de Freiburg, Freiburg im Breisgau. 2010.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- GOIS, R. W. da S. Estudo fitoquímico e biológico de *Bauhinia acuruana* Moric. 2010. 128 f. Dissertação (Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE. 2010.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. de M. B. Químico-Biologia Quantitativa: um novo paradigma? **Quim. Nova**, v. 35, n. 11, p. 2105-2114, 2012.
- GOYAL, P. R.; SINGH K.P. Shankhpuspi (*Evolvulus alsinoides* Linn.): a medicinal herb. **Int J Mendel**, v. 22, p. 124, 2005.
- GUPTA, P.; AKANKSHA, S. K. B.; AHMAD, A.; PALIT, G.; ARORA, A.; MAURYA, R. Anti-stress constituents of *Evolvulus alsinoides*: an ayurvedic crude drug. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 55, n. 5, p. 771—775, 2007.
- GUPTA, P.; SHARMA, U.; GUPTA, P.; SIRIPURAPU, K. B.; MAURYA, R. Evolosides C–E, flavonol-4-O-triglycosides from *Evolvulus alsinoides* and their anti-stress activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 1116-1122, 2013.
- GYLLING, H.; PLAT, J.; TURLEY, S.; GINSBERG, H. N.; ELLEGARD, L.; JESSUP, W.; JONES, P. J.; LÜTJOHANN, D.; MAERZ, W.; MASANA, L.; SILBERNAGEL, G.; STAELS, B.; BORÉN, J.; CATAPANO, A. L.; DE BACKER, G.; DEANFIELD, J.; DESCAMPS, O. S.; KOVANEN, P. T.; RICCARDI, G.; TOKGÖZOGLU, L.; CHAPMAN, M. J. Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. **Atherosclerosis**, v. 232, n. 2, p. 346-360, 2014.
- HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501-513, 2015.
- HUANG, M.; SANCHEZ-MOREIRAS, A. M.; ABEL, C.; SOHRABI, R.; LEE, S.; GERSHENZON, J.; THOLL, D. The major volatile organic compound emitted from *Arabidopsis thaliana* flowers, the sesquiterpene (E)- β -caryophyllene, is a defense against a bacterial pathogen. **New Phytologist**, v. 193, n. 4, p. 997-1008, 2012.
- JONES, P. J. H.; ABUMWEIS, S. S. Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 12, p. 147-151, 2009.
- JUNQUEIRA, M. E. R.; SIMÃO-BIANCHINI, R. O gênero *Evolvulus* L. (Convolvulaceae) no município de Morro do Chapéu, BA, Brasil. **Acta bot. bras.**, v. 20, n. 1, p. 157-172, 2006.

KASHIMA, Y.; MIYAZAWA, M. Chemical composition and aroma evaluation of essential oils from *Evolvulus alsinoides* L. **Chemistry & Biodiversity**, v. 11, p. 396-407, 2014.

KUMAR, M.; AHMAD, A.; RAWAT, P.; KHAN, M. F.; RASHEED, N.; GUPTA, P.; SATHIAMOORTHY, B.; BHATIA, G.; PALIT, G.; MAURYA, R. Antioxidant flavonoid glycosides from *Evolvulus alsinoides*. **Fitoterapia**, v. 81, p. 234–242, 2010.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. da. **Ecologia e conservação da caatinga**. 2ª Ed. Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2005. 822 p.

LEITE, N. F. et al. Atividade antiparasitária *in vitro* e citotóxica de cariofileno e eugenol contra *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis*. **Revista Cubana Plantas Medicas**, v. 18, n. 4, p. 522-528, 2013.

LEKSHMI, U. M. D.; REDD, P. N. Preliminary studies on antiinflammatory, antipyretic, and antidiarrhoeal properties of *Evolvulus alsinoides*. **Turk J Biol**, v. 35, p. 611-618, 2011.

LEONHARDT, V.; LEAL-CARDOSO, J. H.; LAHLOU, S.; ALBUQUERQUE, A. A. C.; PORTO, R. S.; CELEDÔNIO, N. R.; OLIVEIRA, A. C.; PEREIRA, R. F.; SILVA, L. P.; GARCIA-TEÓFILO, T. M. N.; SILVA, A. P. F. S.; MAGALHÃES, P. J. C.; DUARTE, G. P.; COELHO-DE-SOUZA, A. N. Antispasmodic effects of essential oil of *Pterodon polygalaeflorus* and its main constituent β -caryophyllene on rat isolated ileum. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, v. 24, p. 749-758, 2010.

LI, J.; ZHANG, Q.; HU, W.; YANG, X.; HE, H. Stability of phenolic acids and the effect on weed control activity. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 58, n. 6, p. 919-926, 2015.

LIMA, I. B. de; BARBOSA, M. R. de V. Composição florística da RPPN Fazenda Almas, no Cariri Paraibano, Paraíba, Brasil. **Rev. Nordestina Biol.**, v. 23, n. 1, p. 49-67, 2014. Disponível em: <<http://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/revnebio/article/view/21188>>. Acesso em: 27 jan. 2016.

LIMA, O. O. de A.; BRAZ-FILHO, R. Dibenzylbutyrolactone Lignans and Coumarins from *Ipomoea cairica*. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 8, n. 3, p. 235-238, 1997.

LIN, Y.; YAN, Y. Biotechnological production of plant-specific hydroxylated phenylpropanoids. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 111, n. 9, 2014.

LIU, Z. Z.; ZHAN, Z. L.; LIU, F.; YANG, Y. N.; FENG, Z. M.; JIANG, J. S.; ZHANG, P. C. Acyl glycosides lignans, coumarins, and terpenes from the stems of *Erycibe obtusifolia*. **Carbohydrate Research**, v. 372, p. 47-54, 2013.

LIU, Z.; FENG, Z.; YANG, Y.; JIANG, J.; ZHANG, P. Acyl quinic acid derivatives from the stems of *Erycibe obtusifolia*. **Fitoterapia**, v. 99, p. 109–116, 2014.

MARREIROS, N. de A.; FERREIRA, E. da C.; LUCENA, C. M. de; PAIVA DE LUCENA, R. F. Conhecimento botânico tradicional sobre plantas medicinais no semiárido da Paraíba (Nordeste, Brasil). **Rev. Ouricuri**, Paulo Afonso, Bahia, v. 5, n. 1, p. 110-144, 2015.

MEDEIROS, R.; PASSOS, G. F.; VITOR, C. E.; KOEPP, J.; MAZZUCO, T. L.; PIANOWSKI, L. F.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. Effect of two active compounds obtained from the essential oil of *Cordia verbenacea* on the acute inflammatory responses elicited by LPS in the rat paw. **British Journal of Pharmacology**, v. 151, p. 618–627, 2007.

MEIRA, M.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; ARAÚJO, S. V.; REGIS, T. L.; GIULIETTI, A. M.; QUEIRÓZ, L. P. Constituintes químicos de *Ipomoea subincana* Meisn. (Convolvulaceae). **Quim. Nova**, v. 31, n. 4, p. 751-754, 2008.

MIA, M. M. K., KADIR, M. F., HOSSAN, M. S., RAHMATULLAH, M. Medicinal plants of the Garo tribe inhabiting the Madhupur forest region of Bangladesh. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v. 3, n. 2, p. 165-171, 2009.

MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: An evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4769-4807, 2011.

NAHATA, A.; PATIL, U. K.; DIXIT, V. K. Effect of *Evolvulus alsinoides* Linn. on learning behavior and memory enhancement activity in rodents. **Phytother. Res.**, v. 24, p. 486–493, 2010.

NAHRSTEDT, A.; SATTAR, E. A.; EL-ZALABANIA, S. M. H. Amygdalin acyl derivatives, cyanogenic glycosides from the seeds of *Merremia dissecta*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 4, p. 1179-1181, 1990.

NASAB, M. F.; HADI, A. H. A.; NAJMULDEEN, I. A.; AWANG, K.; SOHRAB, A. D.; EBRAHIMI, R. F.; RAFAT, A.; KHORASANI, A. Antioxidant and antimicrobial activities of ferulic acid esters from *Ochrosia oppositifolia*. **Malaysian Journal of Science**, v. 30, n. 2, 2011.

OLIVEIRA, L. G. de; PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C. Explorando produtos naturais microbianos nas fronteiras da Química e da Biologia. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 36, n. 10, p. 1577-1586, 2013.

OOSTSTROOM, S. J. V. A monograph of the genus *Evolvulus*. **Mededeelingen van het botanisch museum en herbarium van de rijks universiteit te Utrecht**, v. 14, p. 1-267, 1934.

OTT, S. C.; JENETT-SIEMS, K.; SIEMS, K.; MÜLLER, F.; HILKER, M.; EICH, E. Ipvelutine, 7 β -acetoxy-2 α -(tigloyloxy)tropane, an unusual tropane alkaloid from *Ipomoea velutina* R. BR. (Convolvulaceae). **Scientia pharmaceutica**, v. 81, n. 2, p. 543-548, 2013.

PAVARINI, D. P.; LOPES, N. P. A. Ecologia química e a biossíntese dos terpenos voláteis das “Arnicas-da-Serra” (*Lychnophora* spp.). **Rev. Virtual Quim.**, v. 8, n. 1, no prelo, 2016. Disponível em: <<http://www.uff.br/RVQ/index.php/rvq/article/viewArticle/1487>>. Acessado em: 4 de fev. 2016.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. Tradução da 4ª ed. norte-americana. São Paulo: Cengage, 2010.

PEREDA-MIRANDA, R.; ROSAS-RAMÍREZ, D.; CASTAÑEDA-GÓMEZ, J. Resin glycosides from the morning glory family. In: KINGHORN, A.D. et al. (eds.) **Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**. v. 92, 2010, p. 77-153.

PIIRONEN, V.; LINDSAY, D. G.; MIETTINEN, T. A.; TOIVO, J.; LAMPI, A. M. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. **J Sci Food Agric**, v. 80, p. 939-966, 2000.

QUEIROGA, C. S. **Novas substâncias isoladas de *Evolvulus linarioides* Meisn. (Convolvulaceae)**. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintético Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2012.

QUEIROZ, E. F.; WOLFENDER, J.; HOSTETTMAN, K.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. 2ª Ed. São Carlos: EdUFSCar, 2014. 232 p.

RAMA DEVI, S.; PRASAD, M. N. V. Effect of ferulic acid on growth and hydrolytic enzyme activities of germinating maize seeds. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 11, p. 1981-1990, 1992.

ROCHA e SILVA, H.; SILVA, C. C. M. da; CALAND NETO, L. B.; LOPES, J. A. D.; CITÓ, A. M. G. L.; CHAVES, M. H. Constituintes químicos das cascas do caule de *Cenostigma macrophyllum*: ocorrência de colesterol. **Quim. Nova**, v. 30, n. 8, p. 1877-1881, 2007.

RUDKOWSKA, I. Plant sterols and stanols for healthy ageing. **Maturitas**, v. 66, p. 158-162, 2010.

SABULAL, B.; DAN, M.; J, A. J.; KURUP, R.; PRADEEP, N. S.; VALSAMMA, R. K.; GEORGE, V. Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmonii* from South India: Chemical characterization and antimicrobial activity. **Phytochemistry**, v. 67, n. 22, p. 2469-2473, 2006.

SANTOS, R. L., GUIMARAES, G. P., NOBRE, M. S. C., PORTELA, A. S. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 13, n. 4, p. 486-491, 2011.

SCHIMMING, T.; JENETT-SIEMS, K.; MANN, P.; TOFERN-REBLIN, B.; MILSON, J.; JOHNSON, R. W.; DEROIN, T.; AUSTIN, D. F.; EICH, E. Calystegines as chemotaxonomic markers in the Convolvulaceae. **Phytochemistry**, v. 66, p. 469-480, 2005.

SILVA, C. de M. da; BOLZAN, A. A.; MALLMANN, C. A.; POZZATTI, P.; ALVES, S. H.; HEINZMANN, B. M. Sesquiterpenoids of *Senecio bonariensis* Hook. & Arn., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, 2010.

SILVA, C. V. da. **O gênero *Evolvulus* L. (Convolvulaceae) no estado de São Paulo e no Distrito Federal, Brasil**. 2008. 72 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo. 2008.

SIMÃO-BIANCHINI, R.; FERREIRA, P. P. A. *Evolvulus linarioides* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB7005>>. Acesso em: 27 Jan. 2016a.

SIMÃO-BIANCHINI, R.; FERREIRA, P.P.A. *Evolvulus* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB6990>>. Acesso em: 27 jan. 2016b.

SIMÃO-BIANCHINI, R.; FERREIRA, P.P.A.; PASTORE, M. Convolvulaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB93>>. Acesso em: 27 jan. 2016.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1104 p.

SINGH, A. Review of Ethnomedicinal Uses and Pharmacology of *Evolvulus alsinoides* Linn. **Ethnobotanical Leaflets**, v. 12, p. 734-740, 2008.

SIRIPURAPU, K.B.; GUPTA, P.; BHATIA, G.; MAURYA, R.; NATH, C.; PALIT, G. Adaptogenic and anti-amnesic properties of *Evolvulus alsinoides* in rodents. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 81, n. 3, p. 424-32, 2005.

SRINIVASAN, V.; WARNHOF, E. W. Base-catalyzed intramolecular displacements on certain 1,2-epoxides. **Can. J. Chem.**, v. 54, p. 1372-1382, 1976.

STAPLES, G. W. **Convolvulaceae Unlimited**, 2015. Disponível em: <<http://convolvulaceae.myspecies.info/>>. Acesso em: 21 jan. 2016.

STRAPASSON, R. L. B. **Estudo químico e farmacológico das cascas do tronco de *Gochnatia polymorpha* ssp. *floccosa* (Asteraceae)**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2010.

TOFERN, B.; JENETT-SIEMS, K.; SIEMS, K.; JAKUPOVIC, J.; EICH, E. Bonaspectins and neobonaspectins, first sesquilignans and sesquieolignans from a convolvulaceae species. **Phytochemistry**, v. 53, p. 119-128, 2000.

TOKI, K., SAITO, N., KAWANO, K., LU, T. S., SHIGIHARA, A., HONDA, T. An acylated delphinidin glycoside in the blue flowers of *Evolvulus pilosus*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 3, p. 609-612, 1994.

TOTANI, N.; TATEISHI, S.; TAKIMOTO, T.; SHINOHARA, R.; SASAKI, H. Ferulic acid esters and weight-loss promoting effects in rats. **J. Oleo Sci.**, v. 61, n. 6, p. 331-336, 2012.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. da S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quím. Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

ZEKRY, S. H.; ABO-ELMATTY, D. M.; ZAYED, R. A.; RADWAN, M. M.; ELSOHLY, M. A.; HASSANEAN, H. A.; AHMED, S. A. Effect of metabolites isolated from *Cuscuta pedicellata* on high fat diet-fed rats. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, p. 1964-1973, 2015.

ZHANG, Y.; LONG, Z.; GUO, Z.; WANG, Z.; ZHANG, X.; YE, R. D.; LIANG, X.; CIVELLI, O. Hydroxycinnamic acid amides from *Scopolia tangutica* inhibit the activity of M1 muscarinic acetylcholine receptor in vitro. **Fitoterapia**, v. 108, p. 9-12, 2016.