



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS
NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS



COMPOSTOS BIOATIVOS DAS PARTES AÉREAS DE *Evolvulus linarioides*

LAIANE CALINE OLIVEIRA PEREIRA

João Pessoa – PB
2021

LAIANE CALINE OLIVEIRA PEREIRA

COMPOSTOS BIOATIVOS DAS PARTES AÉREAS DE *Evolvulus linarioides*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, área de concentração Farmacoquímica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva

**João Pessoa – PB
2021**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

P436c Pereira, Laiane Caline Oliveira.
Compostos bioativos das partes aéreas de *Evolvulus*
linarioides / Laiane Caline Oliveira Pereira. - João
Pessoa, 2021.
180 f. : il.

Orientação: Marcelo Sobral da Silva.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. *Evolvulus linarioides*. 3.
Anti-inflamatório. 4. Hamamelitol. I. Silva, Marcelo
Sobral da. II. Título.

UFPB/BC

CDU 547.9(043)

LAIANE CALINE OLIVEIRA PEREIRA

COMPOSTOS BIOATIVOS DAS PARTES AÉREAS DE *Evolvulus linarioides*

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 Externo)

Prof. Dr. Jorge Mauricio David
Doutor em Química
Universidade de São Paulo
(Examinador Externo)

Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonca Junior
Doutor em Ciências Biológicas
Universidade Federal de Pernambuco
(Membro Interno Titular)

Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa
Doutor em Ciências (área: Química Orgânica)
Universidade Federal de São Carlos
(Membro Interno Titular)



PgPNSB

Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

Ata da 329ª (trecentésima vigésima nona) Tese de Doutorado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Laiane Caline Oliveira Pereira**, candidata ao Título de “Doutora” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica.

Às oito horas (08h00) do dia vinte e três de agosto do ano dois mil e vinte e um (23/08/2021), em ambiente virtual de videoconferência através do aplicativo Google Meet, link: <https://meet.google.com/psp-dybo-zaa>, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Laiane Caline Oliveira Pereira**, candidata ao Título de “DOUTORA” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os pesquisadores Jorge Maurício David, Ph.D em Química Orgânica, Bárbara Viviana de Oliveira Santos, Ph.D em Farmacoquímica, Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior, Ph.D em Ciências Biológicas, Damião Pergentino de Sousa, Ph.D em Química Orgânica e Marcelo Sobral da Silva, Ph.D em Química Orgânica. Sendo o primeiro, integrante do corpo docente da Universidade Federal da Bahia; o terceiro, integrante do corpo docente da Universidade Estadual da Paraíba; e os demais, integrantes do corpo de pesquisadores da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor Marcelo Sobral da Silva, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata **Laiane Caline Oliveira Pereira**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado “Compostos Bioativos das Partes Aéreas de *Evolvulus linarioides*”. Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de cinquenta minutos, a candidata foi arguida pelos Examinadores na forma Regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADA**. Em face da aprovação, declarou o Presidente, achar-se a examinada **Laiane Caline Oliveira Pereira**, legalmente habilitada a receber o Título de “DOUTORA” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na Área de Concentração Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da Comissão e pelo(a) discente.

Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva (Presidente)





PgPNSB

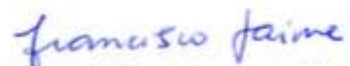
Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos


Prof. Dr. Jorge Maurício David (Examinador)

Prof.^a Dr.^a Bárbara Viviana de Oliveira Santos (Examinadora)

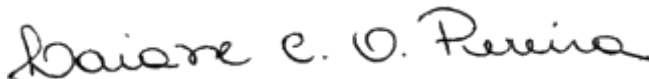


Documento assinado digitalmente
Bárbara Viviana de Oliveira Santos
Data: 31/08/2021 09:32:0300
Verifique em <https://verificador.it.br>


Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior (Examinador)



Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa (Examinador)


Laiane Caline Oliveira Pereira (Discente)



Dedico este trabalho aos meus pais,
Maria Liduina e Antônio Carlos, e as minhas
irmãs, Leilane e Carla.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela inspiração nos momentos difíceis e pelo caminho de luz por onde Ele sempre me guiou, e pelas coisas/pessoas maravilhosas que Ele colocou em meu caminho.

Aos meus amados pais, Maria Liduina e Antônio Carlos, dedico à vocês mais essa vitória.

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*), pelas lições de simplicidade e perseverança durante os momentos difíceis.

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

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.

À Prof. Dra. Cristiane F. Villarreal da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), ao pós-graduando Renan F. do Espírito-Santo do Instituto Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz, Salvador – BA, e ao aluno Diego F. de Agnelo-Silva da UFBA, pela realização dos ensaios da atividade farmacológica.

Ao Prof. Dr. Marcus T. Scotti (UFPB), pela análise conformacional e obtenção dos espectros calculados de dicroísmo circular eletrônico.

À Prof. Dra. Maysa Furlan (UNESP) do Instituto de Química - Campus de Araraquara – UNESP, pela realização dos espectros de dicroísmo circular eletrônico.

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

Aos funcionários do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise, Marcelo Felipe, Evandro Ferreira e Sócrates Golzio, pela ajuda indispensável e por sempre terem se prontificado a me ajudar. Á Junior Santos por todos os “cafés” e disposição para ajudar sempre. Ao Sr. Ivan que, literalmente, é indispensável para o

funcionamento do laboratório. 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 que até hoje são úteis.

Às secretárias do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Caroline Manguiera e Nilmar Medeiros, pelos esclarecimentos e serviços prestados.

À toda equipe do Prof. Dr. Marcelo Sobral, Prof. Dr. Josean Fachine e todos os alunos do laboratório LMCA, Roseana, Andreza, Márcio, Ana Rita, Arthur, César, Jociano, Ramon, Natan, Gabriela, Yuri, Kaio, Juliana, Jordana e Anderson por todo apoio e pelos inúmeros “cafés” que foram indispensáveis para as longas jornadas de trabalho. E em especial, Joanda, Sabrina, Thalisson, Lucas, que foram os meus companheiros de madrugadas, finais de semanas e feriados que precisamos estar no laboratório, com certeza vocês foram indispensáveis para a minha jornada!

À Lucas Abreu, que me ajudou e me ensinou muito como colega de doutorado e que continua sendo meu companheiro além dos laboratórios.

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 a pesquisa e aos Produtos Naturais.

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

RESUMO

PEREIRA, L. C. O. **Compostos Bioativos das Partes Aéreas de *Evolvulus linarioides***. 2021. 180 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, 2021.

Três novos sesquiterpenos do tipo cariofilano, linariofilenos A–C (**1–3**), dois novos derivados do hamamelitol, linaritols A (**4**) e B (**5**), duas novas cromonas, linariosídeos A (**6**) e B (**7**), e três cromonas conhecidas, cnidimol C (**8**), monnierisídeo A (**9**), undulatosídeo A (**10**), foram identificadas das partes aéreas de *Evolvulus linarioides*. As estruturas desses compostos foram elucidadas por dados de RMN, EM e IV. As configurações absolutas dos compostos **1–5** e **7** foram estabelecidas com base nos dados de dicroísmo circular eletrônico (DCE). O potencial anti-inflamatório dos compostos **1–5** e **7–10** foi avaliado pela sua capacidade de inibir a produção de óxido nítrico (NO) e da citocina pró-inflamatória IL-1 β por macrófagos da linhagem J774 estimulados. Os compostos testados em concentrações não citotóxicas, inibiram a produção de NO por macrófagos, exibindo valores de IC₅₀ entre 17,8 e 66,2 μ M, e inibiram a produção de IL-1 β por macrófagos estimulados com eficácia de inibição variando de 72,7 a 96,2%.

Palavras-chave: *Evolvulus linarioides*; Convolvulaceae; atividade anti-inflamatória; derivados do hamamelitol.

ABSTRACT

PEREIRA, L. C. O. **Bioactive Compounds from the Aerial Parts of *Evolvulus linarioides***. 2021. 180 f. Thesis (Doctor in Natural and Bioactive Synthetic Products) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, 2021.

Three new caryophyllane-type sesquiterpenoids, linariophyllenes A–C (**1–3**), two new hamamelitol derivatives, linaritols A (**4**) and B (**5**), two new chromones, linariosides A (**6**) and B (**7**), and three known chromones, cnidimol C (**8**), monnieriside A (**9**), and undulatoside A (**10**), were identified from the aerial parts of *Evolvulus linarioides*. The structures of these compounds were elucidated by NMR, MS, and IR data. The absolute configurations of compounds **1–5** and **7** were established via electronic circular dichroism data. The anti-inflammatory potential of compounds **1–5** and **7–10** was evaluated by determining their ability to inhibit the production of nitric oxide (NO) and proinflammatory cytokine IL-1 β by stimulated J774 macrophages. Compounds tested at noncytotoxic concentrations inhibited NO production by macrophages, exhibiting IC₅₀ values between 17.8 and 66.2 μ M, and inhibited IL-1 β production by stimulated macrophages by 72.7–96.2%.

Keywords: *Evolvulus linarioides*; Convolvulaceae; anti-inflammatory activity; hamamelitol derivatives.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de calor da distribuição geográfica da família Convolvulaceae Juss. no mundo. 21

Figura 2 – Mapa de calor da distribuição geográfica do gênero *Evolvulus* L. no mundo. 23

Figura 3 – Espécie *Evolvulus linarioides* Meisn. 24

Figura 4 – Cromatograma da fração 78–108 com identificação da subfração B. 34

Figura 5 – Cromatograma da fração 78–108 subfração B com identificação da substância isolada. 34

Figura 6 – Cromatograma da fração 110-113 em 238 nm com identificação da substância isolada. 35

Figura 7 – Cromatograma do CLAE-EM/EM da fração 53–59 no modo positivo com identificação das substâncias isoladas. 37

Figura 8 – Cromatograma da fração 53–59 em 205 nm das substâncias isoladas. 38

Figura 9 – Cromatograma do CLAE-EM/EM da fração 76–86 no modo negativo com identificação das substâncias isoladas. 38

Figura 10 – Cromatograma do CLAE semipreparativo da fração 76–86 em 254 nm com identificação das substâncias isoladas. 39

Figura 11 – Chart 1 47

Figura 12 – Correlações de HMBC, COSY ^1H – ^1H e TOCSY ^1H – ^1H dos compostos **1–5** e **7**. 48

Figura 13 – Principais correlações de NOESY ^1H – ^1H de **1–3**. 49

Figura 14 – Espectros de ECD experimental e calculados dos compostos **1–5** e **7**. 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do EMB das partes aéreas de *Evolvulus linarioides*. 33

Tabela 2 – Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do EMB das partes aéreas de *Evolvulus linarioides*. 36

Tabela 3 – Dados Espectroscópicos de RMN dos Compostos 1, 2 e 3. 51

Tabela 4 – Dados Espectroscópicos de RMN (400 MHz, CDCl₃) dos Compostos 4 e 5. 54

Tabela 5 – Dados Espectroscópicos de RMN (400 MHz, metanol-*d*₄) dos Compostos 6 e 7. 56

Tabela 6 – Compostos **1–5** e **7–10** Induz Baixa Citotoxicidade e Efeito Inibitório na Produção de NO pela Estimulação de Macrófagos J774^a 58

Tabela 7 – Compostos **1–5** e **7–10** Inibiram a Produção de IL-1 β por Macrófagos J774 Estimulados^a58

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Exemplos de álcoois de açúcar. 19

Quadro 2 – Álcoois de açúcares de cadeia ramificada e derivados da hamamelose.
19

Quadro 3 – Álcoois de açúcares isolados de espécies de Convolvulaceae. 20

Quadro 4 – Espécies de *Evolvulus* utilizadas na medicina popular. 23

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1– Obtenção e particionamento do EMB de *Evolvulus linarioides* Meisn.
32

Esquema 2 – Fracionamento cromatográfico da fase hexânica do EMB das partes aéreas de *Evolvulus linarioides* Meisn. 35

Esquema 3 – Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do EMB das partes aéreas de *Evolvulus linarioides* Meisn. 39

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	Grama
H₂O	Água
Hex	Hexano
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
Hz	Hertz
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
tdt	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	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1	Álcool de açúcar	18
2.2	Família Convolvulaceae Juss.	20
2.3	Gênero <i>Evolvulus</i> L.	22
2.4	Espécie <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.	24
3	OBJETIVO	26
3.1	Objetivo geral	26
3.2	Objetivos específicos	26
4	PARTE EXPERIMENTAL	27
4.1	Métodos do isolamento e purificação	27
4.2	Métodos de identificação e caracterização	28
4.2.1	Rotação Óptica	28
4.2.2	Espectroscopia no Infravermelho	28
4.2.3	Dicroísmo Circular Eletrônico	28
4.2.4	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	28
4.2.5	Espectrometria de Massas (EM)	29
4.2.6	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-EM)	30
4.3	Estudo fitoquímico	30
4.3.1	Coleta e identificação do material botânico	30
4.3.2	Processamento do material vegetal de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.	31
4.3.3	Obtenção do Extrato Metanólico Bruto (EMB) das partes aéreas de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.	31
4.3.4	Particionamento do Extrato Metanólico Bruto de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.	31
4.3.5	Isolamento e purificação dos constituintes químicos de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.	33
4.3.5.1	Fracionamento cromatográfico da fase hexânica de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.	33
4.3.6	Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.	36
4.3.7	Fracionamento cromatográfico da fase n-butanol de <i>Evolvulus linarioides</i> Meisn.	40
4.4	Hidrólise Ácida e Análise por CG-EM	40
4.5	Atividade farmacológica	41
4.5.1	Ensaio de Citotoxicidade	41
4.5.2	Ensaio de Produção de Óxido Nítrico e Citocina	41
4.5.3	Análise Estatística	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	Manuscrito: Compostos Bioativos das Partes Aéreas de <i>Evolvulus linarioides</i> (artigo publicado na revista Journal of Natural Products)	43

6	CONCLUSÃO.....	173
	REFERÊNCIAS.....	174

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais possuem um papel bem estabelecido em várias culturas no tratamento de doenças, desde muito antes do nascimento das ciências modernas e tecnológicas. Além disso, os produtos naturais têm servido como fonte de inspiração para o desenvolvimento e descobrimento de novas drogas (YANG et al., 2020).

Newman e colaboradores, reportaram que 32% do total de 1394 novos fármacos (moléculas pequenas) aprovados entre 1981 e 2019 são produtos naturais ou seus derivados, e 30% dos medicamentos sintéticos utilizaram como protótipo uma molécula de origem natural (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Sendo assim, os produtos naturais são as principais fontes de novas drogas. Diferentes estratégias são empregadas no descobrimento de novas drogas advindas de produtos naturais, sendo o conhecimento acerca das atividades farmacológicas das plantas a base para esse desenvolvimento. A descoberta de efeitos terapêuticos de produtos naturais requer o isolamento de compostos ativos, que geralmente utilizam-se várias técnicas cromatográficas, como cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Além disso, são empregadas técnicas cromatográficas hífenadas a diversos detectores visando aumentar a resolução e capacidade de separação de constituintes de matrizes complexas, como detectores de ultravioleta (UV), arranjo de diodos (DAD), ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massas (EM) (ZHANG et al., 2020; ZHU et al., 2018).

A família Convolvulaceae é considerada cosmopolita com maior incidência de espécies nos trópicos e poucas nas zonas temperadas. É representada por aproximadamente 1900 espécies agrupadas em 55–60 gêneros (STEFANOVIĆ; AUSTIN; OLMSTEAD, 2003). A diversidade estrutural e potencial biológico das suas espécies estão associadas aos alcaloides do tipo tropano, calistegina, pirrolizidínico, indolizidínico e ergolina (AHIMSA-MÜLLER et al., 2007; HARAGUCHI et al., 2003; MEIRA et al., 2012; OTT et al., 2013; SCHIMMING et al., 2005), flavonoides, lignanas (SOUSA et al., 2012) e triterpenos (TOFERN et al., 1999). Além destes, estudos reportam a ocorrência de resinas glicosídicas, que são macrolídeos formados por açúcares esterificados com ácidos graxos (FAN; HE et al., 2019; LIRA-RICÁRDEZ et al., 2019; SURA et al., 2019). Açúcares esterificados por via metabólica natural geram uma grande diversidade estrutural (GHOSH; JONES, 2017).

O gênero *Evolvulus* L. consiste em mais de 100 espécies de plantas, distribuídas mundialmente (OOSTSTROOM, VAN, 1934). Investigações fitoquímicas anteriores em plantas deste gênero resultaram no isolamento de antocianinas, flavonoides glicosilados, triterpenos, cumarinas, alcaloides e resinas glicosídicas (AUSTIN, 2008; FAN; LU et al., 2019; GUPTA et al., 2013; KUMAR et al., 2010; TOKI et al., 1994). Além destes, já foram reportados polióis livres e esterificados (álcoois de açúcar ou alditols) que apresentaram atividade anti-estresse (ANTHONSEN et al., 1976; GUPTA et al., 2007).

Algumas espécies desse gênero são usadas na medicina tradicional para os tratamentos de doenças relacionadas com inflamação como edema, disenteria, asma, bronquite e outras afecções do trato respiratório (AYYANAR; IGNACIMUTHU, 2011; CANO; VOLPATO, 2004; LEKSHMI; REDDY, 2011; MIA et al., 2009; YADAV, M. K. et al., 2019).

Considerando que o envelhecimento populacional no mundo tem aumentado a demanda por anti-inflamatórios mais seguros e eficazes, pois a maioria das doenças relacionadas à idade compartilham uma patogênese inflamatória, é importante a busca de novas moléculas bioativas (FRANCESCHI; CAMPISI, 2014; LIMA et al., 2014). Os macrófagos apresentam papel essencial na iniciação e manutenção da inflamação por serem fonte de mediadores inflamatórios, como citocinas, prostaglandinas e óxido nítrico (FUJIWARA; KOBAYASHI, 2005). Diante disto, investigações farmacológicas têm utilizado macrófagos ativados para a realização de *screening* para a identificação de novos compostos com potencial anti-inflamatório.

Evolvulus linarioides Meisn. é uma erva distribuída em alguns países da América Latina e pode ser encontrada no bioma Caatinga (FERREIRA; SIMÃO-BIANCHINI; MIOTTO, 2014). Na contínua busca por metabólitos com atividade anti-inflamatório e tendo em vista o potencial medicinal do gênero *Evolvulus*, foi realizada a investigação fitoquímica de *E. linarioides*.

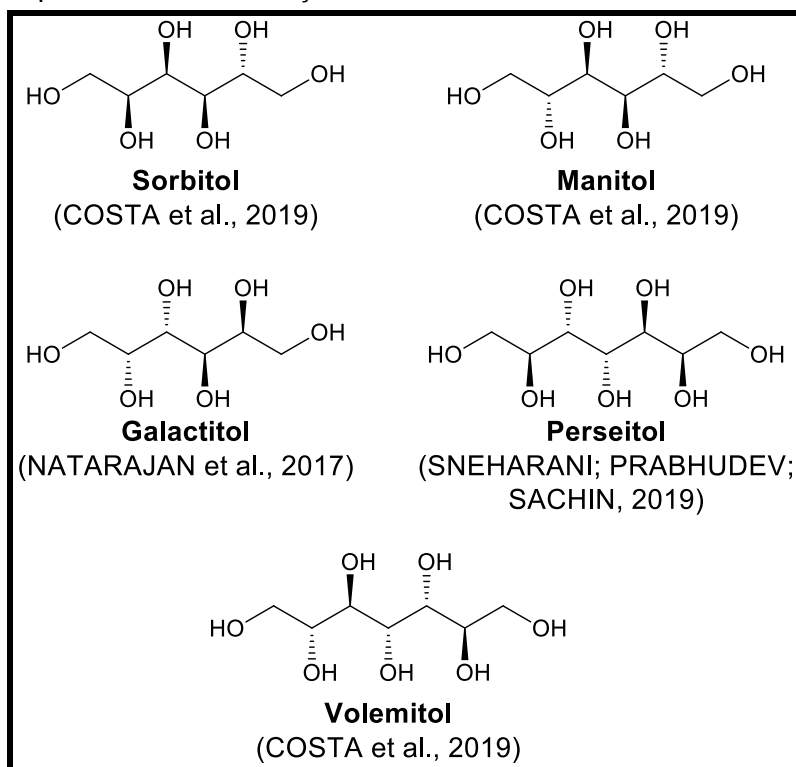
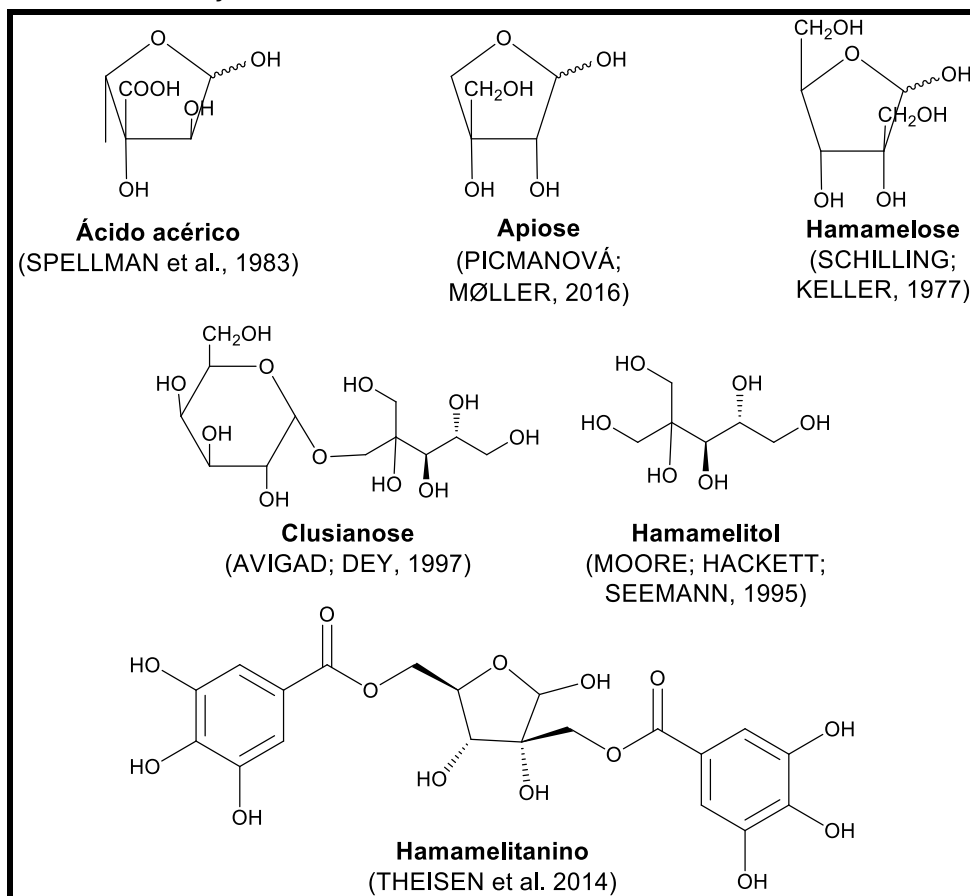
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Álcool de açúcar

Os álcoois de açúcar, também chamados frequentemente de polióis ou alditóis, são a forma reduzida de açúcares e se referem a compostos acíclicos com três ou mais carbonos que sustentam grupos hidroxilas. Estes compostos podem derivar tanto de uma aldose quanto de uma cetose, sendo assim, o termo alditol não é considerado o mais apropriado, e sim álcool de açúcar (LOESCHER; EVERARD, 1996; MOING, 2000). Sua função na fisiologia de plantas está relacionada com assimilação fotossintética, translocação e armazenamento de carbono e poder redutor, regulação de coenzimas, regulação da atividade da água e como soluto compatível (LOESCHER, 1987). E isso resulta na correlação de álcoois de açúcar e o desenvolvimento pela planta de tolerância a seca, sal, temperatura e a outros estresses (LOESCHER; EVERARD, 2000).

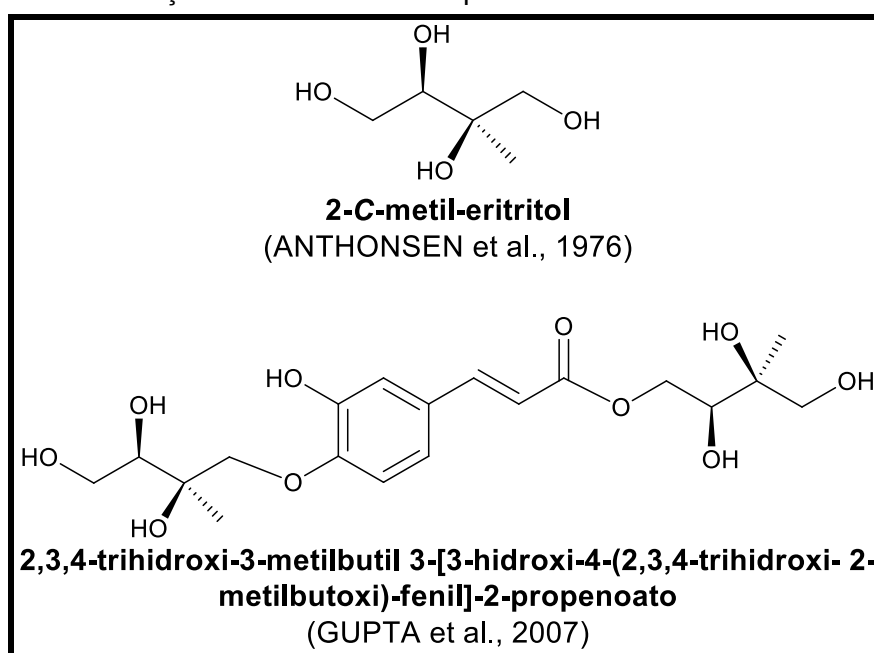
Os álcoois de açúcar mais comuns são os de cadeia linear de seis carbonos: sorbitol, manitol e galactiol. Dentre os menos comuns de cadeia linear estão os de sete carbonos como perseitol (reduzido de manoheptulose) isolado do abacate, e volemitol (reduzido de sedoheptulose) isolado de espécies de *Primula* (Primulaceae) (Quadro 1) (NOIRAUD; MAUROUSSET; LEMOINE, 2001).

Dentre os mais incomuns estão os álcoois de açúcares de cadeia ramificada. A literatura relata que só existem três açúcares de cadeia ramificada relatados em plantas: apiose [(3-C-(hidroximetil)-D-glicerotetrose) (PIČMANOVÁ; MØLLER, 2016), ácido acérico (3-C-carboxi-5-deoxixilose) (SPELLMAN et al., 1983) e hamamelose (2-C-hidroximetilribose) (SCHILLING; KELLER, 1977). Como exemplo de derivados naturais da hamamelose estão: o seu álcool de açúcar, hamamelitol (MOORE; HACKETT; SEEMANN, 1995; MOORE; TALBOT; SEEMANN, 1997); o clusianose, um oligossacarídeo formado por uma unidade de galactose e outra de hamamelitol (AVIGAD; DEY, 1997); e, hamamelitanino, que é constituído por duas unidades de galoil e uma de hamamelose (Quadro 2) (THEISEN et al., 2014).

Quadro 1 – Exemplos de álcoois de açúcar.**Quadro 2 – Álcoois de açúcares de cadeia ramificada e derivados da hamamelose.**

Anteriormente, Anthonsen e colaboradores (1976) reportaram o isolamento de um álcool de açúcar ramificado, o 2-C-metil-eritritol, da espécie *Convolvulus glomeratus* pertencente à família Convolvulaceae (ANTHONSEN et al., 1976). Além disto, foi relatado a ocorrência deste mesmo álcool de açúcar na sua forma livre e também esterificado a uma unidade cafeoil na espécie *Evolvulus alsinoides* (Convolvulaceae), este último composto apresentou atividade antiestresse (Quadro 3) (GUPTA et al., 2007).

Quadro 3 – Álcoois de açúcares isolados de espécies de Convolvulaceae.



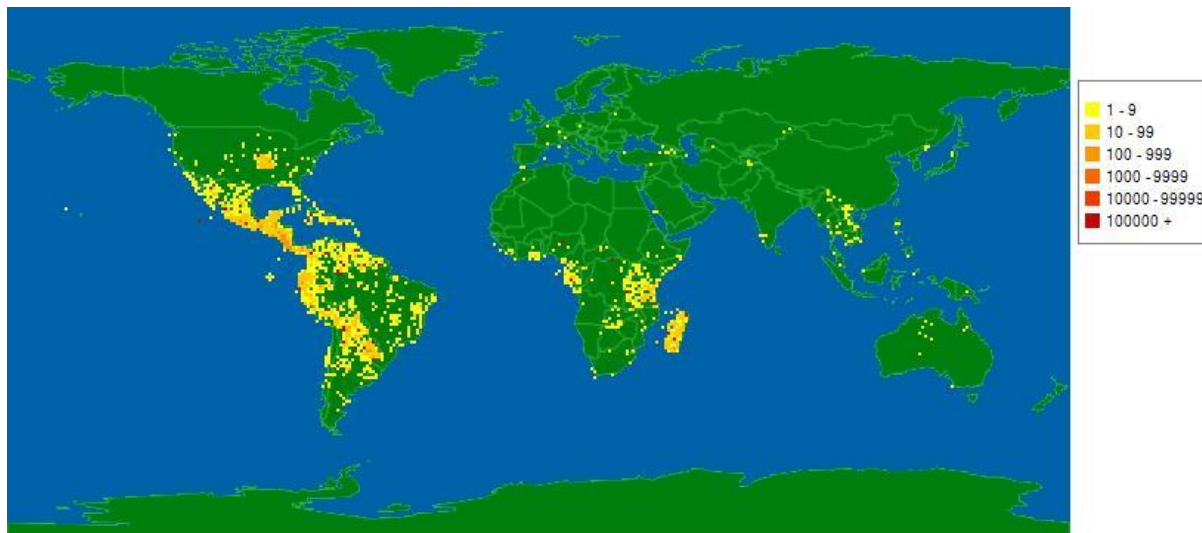
2.2 Família Convolvulaceae Juss.

A família Convolvulaceae compreende cerca de 1900 espécies e 57 gêneros (WCSP, 2021). A sua distribuição é principalmente cosmopolita, apresentando vários gêneros endêmicos de zonas tropicais (Figura 1) (STEFANOVIĆ; AUSTIN; OLMSTEAD, 2003).

No Brasil podem ser encontrados 24 gêneros e cerca de 416 espécies, sendo os mais representativos *Ipomoea* L., *Evolvulus* L. e *Jacquemontia* Choisy. Essa família ocorre em todas as formações vegetacionais, principalmente em ambientes abertos e em bordas de matas. No Nordeste há registros de 18 gêneros e 221 espécies, destes, 14 gêneros e 137 espécies ocorrem na Caatinga (BANDEIRA et al., 2019; DELGADO

JÚNIOR; BURIL; ALVES, 2014; MACHADO et al., 2020; MARINHO; JARDIM; BURIL, 2021).

Figura 1 – Mapa de calor da distribuição geográfica da família Convolvulaceae Juss. no mundo.



Fonte: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden.

<http://legacy.tropicos.org/NamePage.aspx?nameid=42000283&tab=maps>, acessado em: 26 jul. 2021.

A família Convolvulaceae apresenta grande diversidade de características morfológica e de habitats. São caracterizadas como ervas (*Convolvulus*, *Evolvulus*), arbustos e trepadeira (*Ipomoea*, *Argyria*), e podem ser xerófitas, hidrófita (*I. aquatica*) ou parasita (*Cuscuta* L.). Apresentam folhas alternadas e flores regulares pentâmeras com corolas entrançadas. (DELGADO JÚNIOR; BURIL; ALVES, 2014; YADAV, S.; HEMKE; UMEKAR, 2018)

Quanto a importância econômica, algumas espécies de Convolvulaceae são utilizadas na alimentação humana, em destaque a batata-doce ou batata-da-terra (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) que é consumida em quase todas as partes mundo, e *I. aquatica* utilizada na Ásia (MEIRA et al., 2012). Espécies dos gêneros *Ipomoea* e *Evolvulus* são muito utilizadas como ornamentais devido a beleza e coloração das suas flores. Esta característica também é responsável por atrair muitos polinizadores, como insetos, beija-flores, mariposas e borboletas. Algumas espécies são consideradas daninhas por invadirem plantações e crescerem junto de outras plantas, essa característica é atribuída ao seu hábito de trepadeira, como as do gênero *Ipomoea*, *Jacquemontia* e *Merremia*, e holoparasita, como *Cuscuta* (SILVA, 2013).

Plantas da família Convolvulaceae apresentam atividades como antidiabética, cicatrizante e antimicrobiana (AMBIKA; NAIR, 2019). *Convolvulus pluricaulis* (*Shankhapushpi*) e *Evolvulus alsinoides* são importantes plantas da Ayurveda utilizadas para o tratamento de várias desordens do sistema nervoso central, como insanidade, epilepsia, neurastenia e amnesia (CHEN et al., 2018). Algumas espécies de *Ipomoea* e *Turbina* são consideradas alucinógenas por serem colonizadas por fungos e produzem alcaloides ergolínicos (STEINER; LEISTNER, 2018). Devido a presença de resinas glicolíticas, alguns medicamentos com propriedade purgativa são obtidos das raízes de espécies de Convolvulaceae, como *C. scammonia*, *I. orizabensis* e *I. purga* (ONO, 2017).

Os metabólitos secundários de Convolvulaceae são diversificados e podem ser encontrados: alcaloides pirrolidínicos, pirrolizidínicos, nicotinoides, tropânicos, calisteginas, dentre outros; flavonoides; lignanas e neolignanas; hidroxycumarinas; terpenos, como sesqui-, di-, tri- e tetraterpenoides; derivados de ácidos graxos, como amidas de ácidos graxos, lipídeos e resinas glicosídicas. Dentre esses, os alcaloides pirrolidínicos, calisteginas e tropânicos, e as resinas glicosídicas, são considerados marcadores quimiotaxonômicos dessa família (YADAV, S.; HEMKE; UMEKAR, 2018).

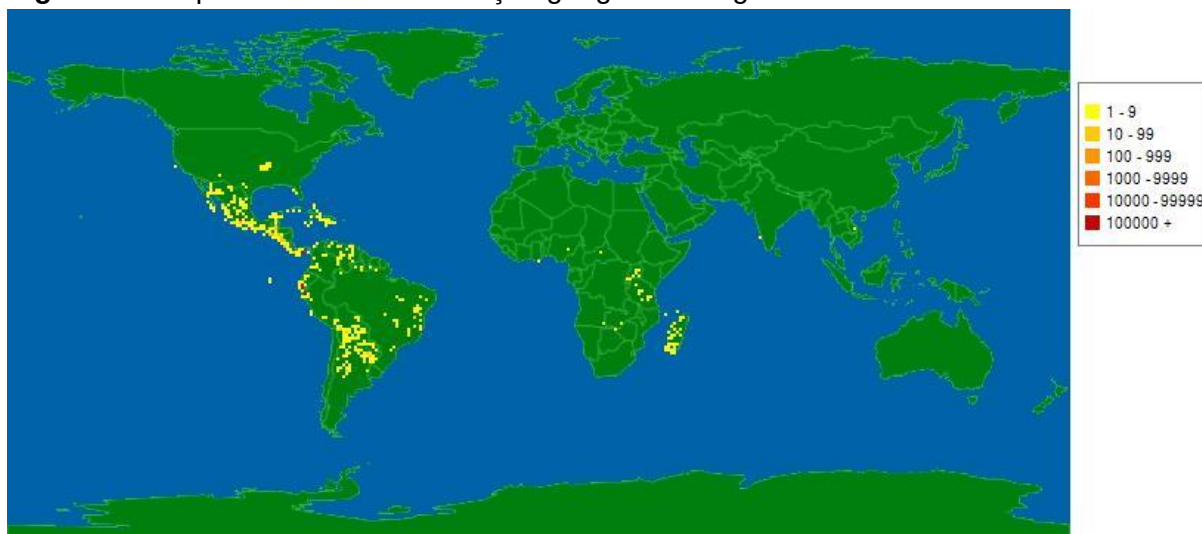
2.3 Gênero *Evolvulus* L.

O gênero *Evolvulus* compreende cerca de 103 espécies, com distribuição predominantemente nas Américas e duas espécies pantropicais, *Evolvulus alsinoides* e *E. nummularius*. No Brasil, ocorrem 73 espécies em todas regiões e domínios geográficos, sendo o Cerrado e a Caatinga os que apresentam maior diversidade. Na região Nordeste são conhecidas 55 espécies, o que representa 71% das espécies registradas no Brasil (Figura 2) (BFG, 2018; SANTOS; BURIL, 2020; WCSP, 2021).

As plantas do gênero *Evolvulus* são ervas eretas ou prostradas, com ramos delgados, cilíndricos, seríceos ou vilosos. As folhas são simples, inteiras, sésseis ou subsésseis. As flores são solitárias ou em inflorescências corimbiformes, axilares e terminais, pediceladas; corola hipocrateriforme ou rotada, azul, 0,5–0,7 × 0,5–0,7 cm; sépalas iguais, lanceoladas (MARINHO; JARDIM; BURIL, 2021).

Na medicina popular algumas espécies são utilizadas com diversos fins que estão relacionadas no quadro 4.

Figura 2 – Mapa de calor da distribuição geográfica do gênero *Evolvulus* L. no mundo.



Fonte: Tropicos.org. Missouri Botanical Garden.

<http://legacy.tropicos.org/Name/40007885?tab=maps>, acessado em: 01 ago. 2021.

Quadro 4 – Espécies de *Evolvulus* utilizadas na medicina popular.

Espécie	Uso Popular	Referências
<i>Evolvulus alsinoides</i>	Insanidade, epilepsia, debilidade nervosa, perda de memória, febre, sífilis, bronquite crônica, asma, tosse, resfriados, e etc.	(AMBIKA; NAIR, 2019; CHEN et al., 2018; SINGH, 2008)
<i>Evolvulus arbuscula</i>	Impotência, esterilidade, expectorante e dor de barriga.	(CANO; VOLPATO, 2004; FACEY et al., 1999)
<i>Evolvulus nummularius</i>	Queimaduras, cicatrização, picada de escorpião, febre, verme, disenteria e edema.	(AMBIKA; NAIR, 2019; AYYANAR; IGNACIMUTHU, 2011; DINDA et al., 2007; MIA et al., 2009)
<i>Evolvulus pterygophyllus</i>	Hemorroidas, inflamação no útero e ovário.	(CARNEIRO, 2009)
<i>Evolvulus sericeus</i>	Gripe e dor de cabeça.	(MAGNO-SILVA; ROCHA; TAVARES-MARTINS, 2020)

Em relação aos constituintes químicos, há uma grande variedade de metabólitos secundários, sendo reportado o isolamento de resinas glicosídicas (XU et al., 2020), antocianinas (TOKI et al., 1994), alcaloides (SINGH, 2008), flavonoides

glicosilados (SUNDARAMOORTHY; PACKIAM, 2020), triterpenos, cumarinas (KUMAR et al., 2010), derivado com esqueleto croman-2-ona (AKHTAR et al., 2009), e compostos fenólicos (GUPTA et al., 2007).

Além destes, muitos estudos em Convolvulaceae reportam a ocorrência de resinas glicosídicas, que são macrolídeos formados por açúcares esterificados com ácidos graxos (FAN; HE et al., 2019; LIRA-RICÁRDEZ et al., 2019; SURA et al., 2019). Modificações de açúcares por esterificação por via metabólica natural gera uma grande diversidade estrutural, dentre essa variedade estão os polióis (álcoois de açúcar) (GHOSH; JONES, 2017). Polióis livres e esterificados já foram isolados anteriormente do gênero *Evolvulus* (GUPTA et al., 2007).

2.4 Espécie *Evolvulus linarioides* Meisn.

Evolvulus linarioides, sinônimo *Evolvulus pulchellus* Meisn., pode ser encontrada em alguns países da América Latina. No Brasil, ocorre nos estados do Paraná, Minas Gerais, Bahia, Ceará, Pernambuco e Paraíba (Figura 3) (FERREIRA; SIMÃO-BIANCHINI; MIOTTO, 2014; SIMÃO-BIANCHINI; SILVA, 2020).

Figura 3 – Espécie *Evolvulus linarioides* Meisn.



Esta espécie é uma erva que apresenta caule com ramos eretos pouco ramificados, folhas na forma de lâminas linear ou elípticas, face adaxial glabrescente, face abaxial serícea, base subcordada, ápice agudo. Inflorescência com pedúnculo e pedicelo longo e tipo tirso multifloro. As flores são azuis ou lilás de 5–10 mm com sépalas lanceoladas, indumento serícea e a corola infundibuliforme (SIMÃO-BIANCHINI; SILVA, 2020).

Estudos fitoquímicos envolvendo esta espécie reportaram o isolamento de três sesquiterpenos do tipo cariofilano, acetato de linariofileno, linariofileno A e C, duas cromonas 5,7-dissubstituídas conhecidas como cnidimol C e monnierisídeo A, ferulato de alquila e dois esteroides (PEREIRA, 2016;QUEIROGA, 2012).

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Contribuir para o conhecimento da família Convolvulaceae, bem como do gênero *Evolvulus*, através do estudo fitoquímico da espécie *Evolvulus linarioides* Meisn.

3.2 Objetivos específicos

- Extrair, isolar e purificar os metabólitos secundários encontrados na espécie *E. linarioides*;
- Desenvolver método analítico em CLAE-DAD-EM e transpô-lo para escala preparativa a fim de isolar e purificar os metabólitos secundários da espécie *E. linarioides*;
- Caracterizar os constituintes químicos isolados por infravermelho, rotação ótica, espectrometria de massas de baixa e alta resolução, e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C e bidimensionais;
- Definir a configuração absoluta dos compostos isolados por dicróismo circular eletrônico, e dos açúcares por CG-EM e comparação com padrão;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória de compostos isolados de *E. linarioides* através da inibição da produção de óxido nítrico e da citocina pró-inflamatória IL- 1β por macrófagos da linhagem J774 estimulados.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Métodos do isolamento e purificação

Os métodos cromatográficos utilizados para o isolamento e a purificação dos constituintes químicos de *Evolvulus linarioides* foram: 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 PA para eluição, como hexano (hex), diclorometano, acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) (Química Moderna e Vetec), puros ou em misturas binárias; e, Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE) empregando um cromatógrafo da marca Shimadzu constituído de duas bombas de alta pressão LC-10ADvp, detector de arranjo de diodos SPD-M10Avp, forno CTO-10Avp, controlador SCL-10Avp, degaseficador DGU-14a e injetor manual com alça de amostragem de 20 μL (analítico) e 100 μL (semipreparativo e preparativo). As colunas cromatográficas analítica, semipreparativa e preparativa foram as da marca ACE C18, com 5 μm de tamanho de partícula e dimensão de 250 x 4,6 mm (analítica), Venusil XBP C18, com 10 μm de tamanho de partícula e dimensão de 250 x 10 mm (semipreparativa), e ACE C18, com 5 μm de tamanho de partícula e dimensão de 250 x 21,2 mm (preparativa). Na preparação das soluções, utilizou-se filtros para seringa em PVDF com 0,45 μm de diâmetro de poro e diâmetro 30mm (Allcrom) além de aparelho de banho de ultrassom (Unique-USC-1600). Foram empregados solvente (metanol) de grau HPLC (Tedia) e água ultrapura tipo I (Mili-Q). Na bomba A foi utilizado uma solução de ácido fórmico 0,1% e na bomba B foi utilizado metanol, ambos degaseificados.

Para análise do processo de isolamento e purificação das frações obtidas por CC, 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).

4.2 Métodos de identificação e caracterização

4.2.1 Rotação Óptica

As rotações ópticas foram medidas a 25 °C em um polarímetro JASCO P-2000 e as amostras foram solubilizadas em metanol.

4.2.2 Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros na região do infravermelho (IV) (4000 a 400 cm^{-1}), foram registrados em espectrômetro FTIR da Bruker Vertex 70 e BOMEM FT-IR (modelo MB 100), com frequência medida em cm^{-1} , obtidos em pastilha de brometo de potássio (KBr) e por espectroscopia de reflectância total atenuada (ATR).

4.2.3 Dicroísmo Circular Eletrônico

Os espectros de Dicroísmo Circular (DC) foram obtidos no espectropolarímetro modelo J-815 da Jasco. As leituras foram feitas no intervalo de 180 a 400 nm a 25 °C e as amostras solubilizadas em acetonitrila.

Para estabelecer a estereoquímica absoluta dos compostos, os dados experimentais de DC foram comparados com os calculados. Para isso, os estudos conformacionais foram realizados no programa Spartan'14 utilizando o campo de força MMFF94 (*molecular mechanics force field*). Os confôrmeros com até 10 kcal/mol de energia foram gerados e otimizados com cálculos usando DFT (*density functional theory*) em B3LYP/6-311+G(2d,p). Os espectros foram obtidos por DFT e TD-DFT (*time-dependent-DFT*) utilizando o programa Gaussian 09 e analisados no SpecDis v.1.71.

4.2.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros das marcas BRUKER AVANCE III HD, operando a 400 MHz para hidrogênio (RMN de ^1H) e 100 MHz para carbono-13 (RMN de ^{13}C), e VARIAN SYSTEM, operando a 500 MHz para hidrogênio (RMN de ^1H) e 125 MHz para carbono-13 (RMN ^{13}C) do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da UFPB (LMCA-IPeFarM-UFPB). As amostras para análise foram solubilizadas em solventes deuterados: clorofórmio deuterado (CDCl_3), metanol deuterado (CD_3OD) 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 (7,26 ppm), metanol (3,30 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), CD_3OD (49,0 ppm) e acetona- d_6 (29,8 ppm).

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

Os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos utilizando-se a técnica de APT, BB e DEPT-135.

4.2.5 Espectrometria de Massas (EM)

Para obtenção dos espectros de massas das substâncias foram utilizados espectrômetros de massas de alta e baixa resolução da marca Bruker, modelo microTOF II e Ion-Trap AmazonX, respectivamente, pela técnica de Ionização por Eletrospray (modo positivo (ESI+) e negativo (ESI-)), ambos situados no LMCA-IPeFarM-UFPB.

Para as análises de CLAE-EM/EM, foram utilizados 1,0 mg da amostra solubilizado em 1,0 mL de MeOH com ajuda do banho de ultrassom, filtradas através de um filtro PVDF de 0,45 μm e injetadas no CLAE. A análise foi realizada utilizando um UFLC (Shimadzu) contendo duas bombas de solvente LC20AD, um auto

amostrador SIL20AHT e um controlador de sistema CBM20A, acoplado com um espectrômetro de massas Ion-Trap (AmaZon X). Utilizou-se uma coluna C18 (Kromasil - 250 mm x 4,6 mm x 5 µm), volume de injeção de 20 µL, taxa de fluxo de 0,6 mL/min e os solventes: bomba A: H₂O e ácido fórmico (0,1% v/v); bomba B: MeOH.

Os parâmetros de análise do Ion-Trap foram os seguintes: capilar 4,5 kV, ESI no modo positivo ou negativo, offset da placa final 500 V, nebulizador 10 psi, gás seco (N₂) com fluxo de 6 mL/min e temperatura de 250 °C. A fragmentação de CID foi conseguida no modo autoMS/MS utilizando o modo de resolução avançada para o modo MS e MS/MS. As possíveis estruturas putativas foram propostas com base no padrão de fragmentação MS/MS. Os espectros (*m/z* 50-1000) foram registados a cada 2 s.

4.2.6 Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-EM)

As análises por CG-EM foram realizadas no cromatógrafo GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu) com ionização por impacto de elétrons a 70 eV utilizando a coluna cromatográfica RTX-5MS (30 m/0,25 mm/0,25 µm df).

4.3 Estudo fitoquímico

4.3.1 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 (07°16'01"S, 37°21'05"W). 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. O registro de acesso no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi obtido sob número A18E40E.

4.3.2 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.

4.3.3 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.

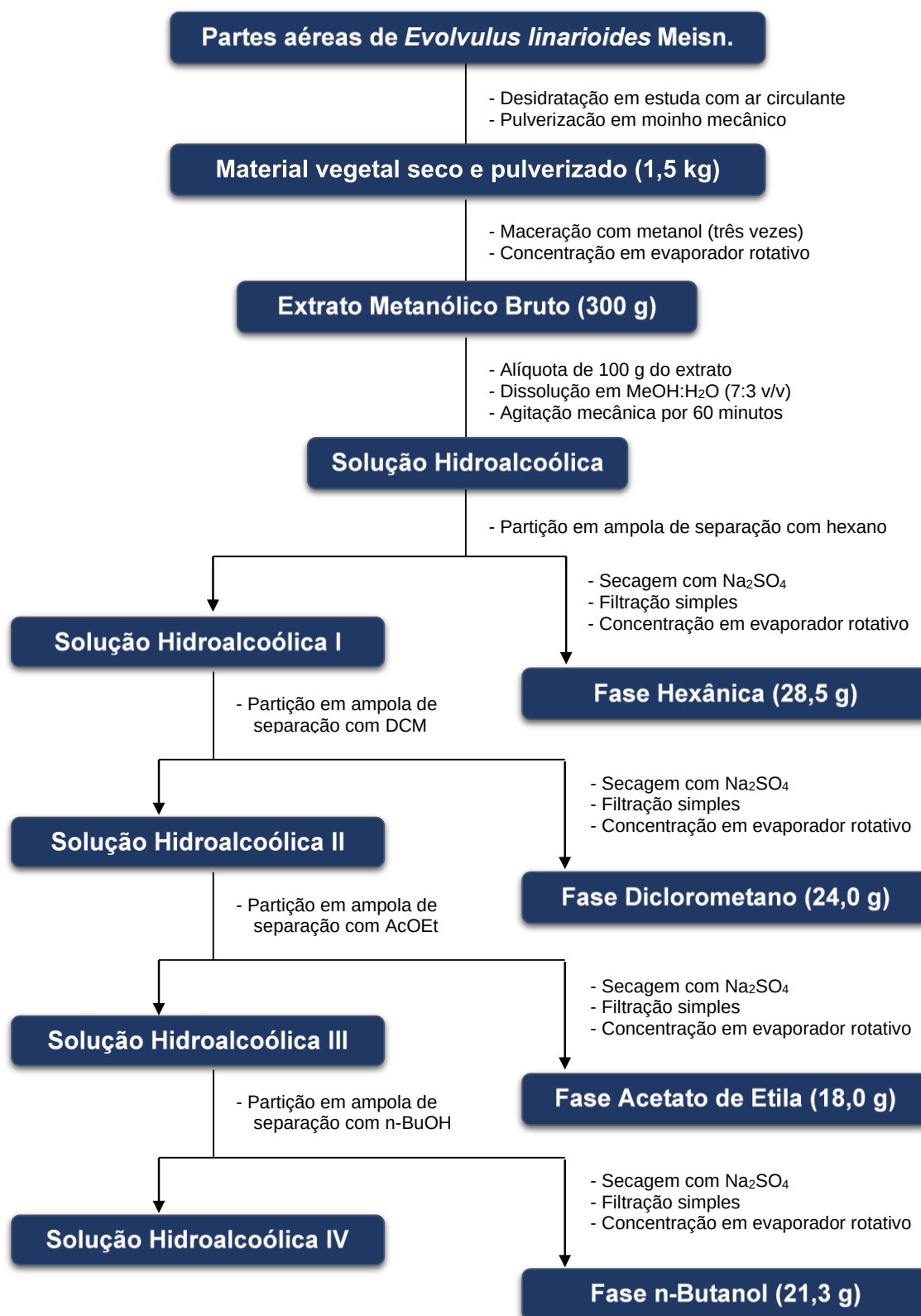
A solução extrativa resultante da maceração foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida, a uma temperatura média de 40 °C, sendo obtido 300 g de EMB, com rendimento de 20% em relação ao peso seco da planta (Esquema 1).

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

Uma alíquota do EMB (100,0 g) foi suspensa em 200 mL de uma solução 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, 18,0 g da fase acetato de etila e 21,3 g da fase n-butanol (Esquema 1).

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



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

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

Uma alíquota de 8,5 g da fase hexânica foi submetida a uma coluna cromatográfica, utilizando-se como fase estacionária sílica gel 60, 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 a temperatura média de 35 °C (Tabela 1; Esquema 2).

As frações foram analisadas através de CCDA e RMN de ^1H , e reunidas quando semelhantes e de acordo com seus R_f , após visualização na luz ultravioleta (Tabela 1; Esquema 2).

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

Uma alíquota de 112,2 mg da fração 78–108 (387,2 mg) foi submetida a CLAE semipreparativo utilizando o sistema de eluição isocrático 70% de B por 90 minutos (fluxo 3,5 mL/min; $\lambda = 238$ nm), resultando em duas subfrações, A e B (Figura 4). A subfração B (9,51 mg, Tr = 87 min), apresentou-se com uma mistura e foi submetida novamente a CLAE semipreparativo utilizando o sistema isocrático 70% de B por 100 minutos (fluxo 3,5 mL/min; $\lambda = 238$ nm) (Figura 5). Após a análise dos espectros de RMN de ^1H , o pico 1 (13,5 mg, Tr = 60,2 min) foi codificado como **5** e encaminhado para determinação estrutural.

Figura 4 – Cromatograma da fração 78–108 com identificação da subfração B.

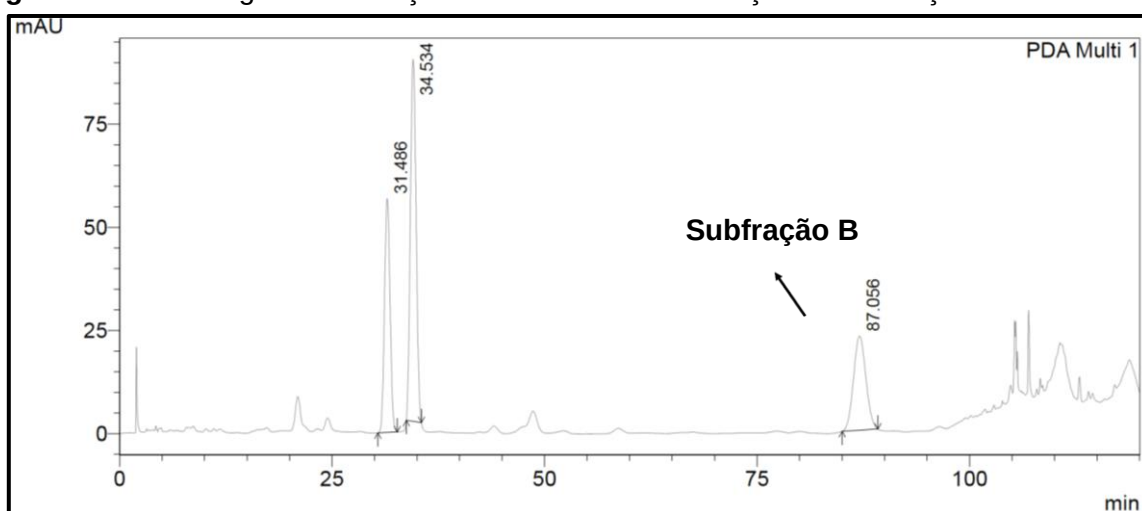
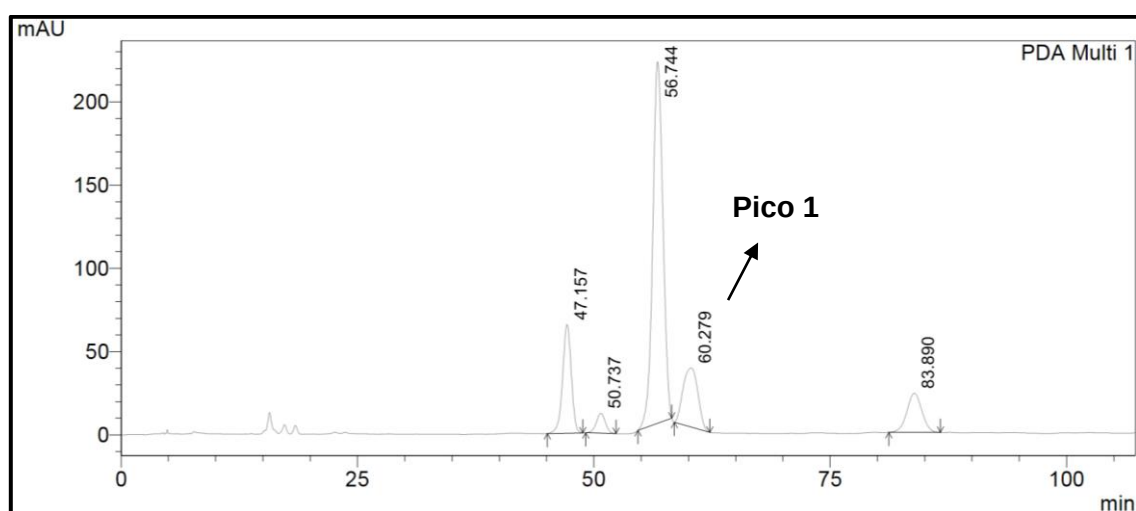


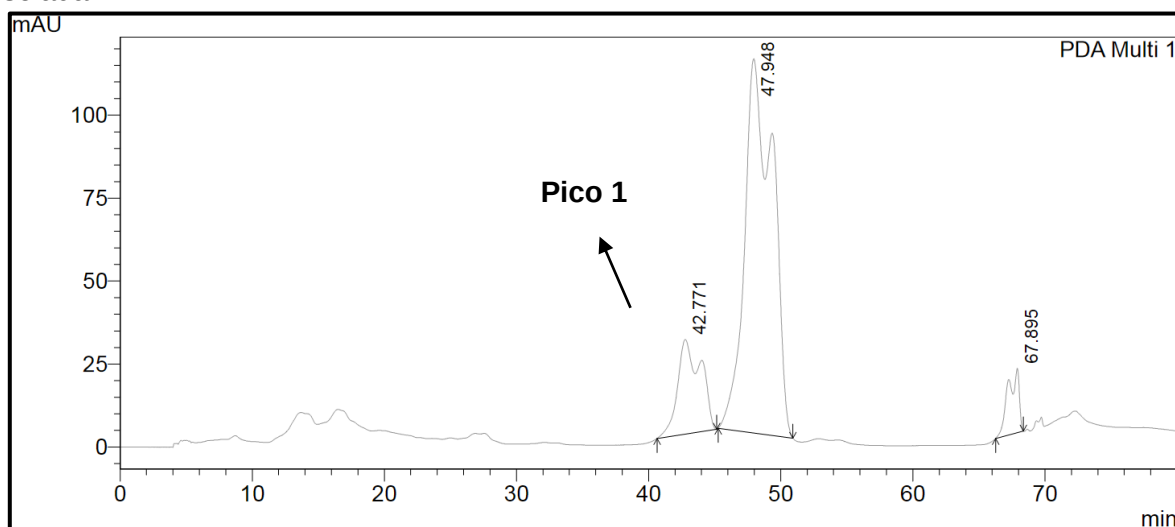
Figura 5 – Cromatograma da fração 78–108 subfração B com identificação da substância isolada.



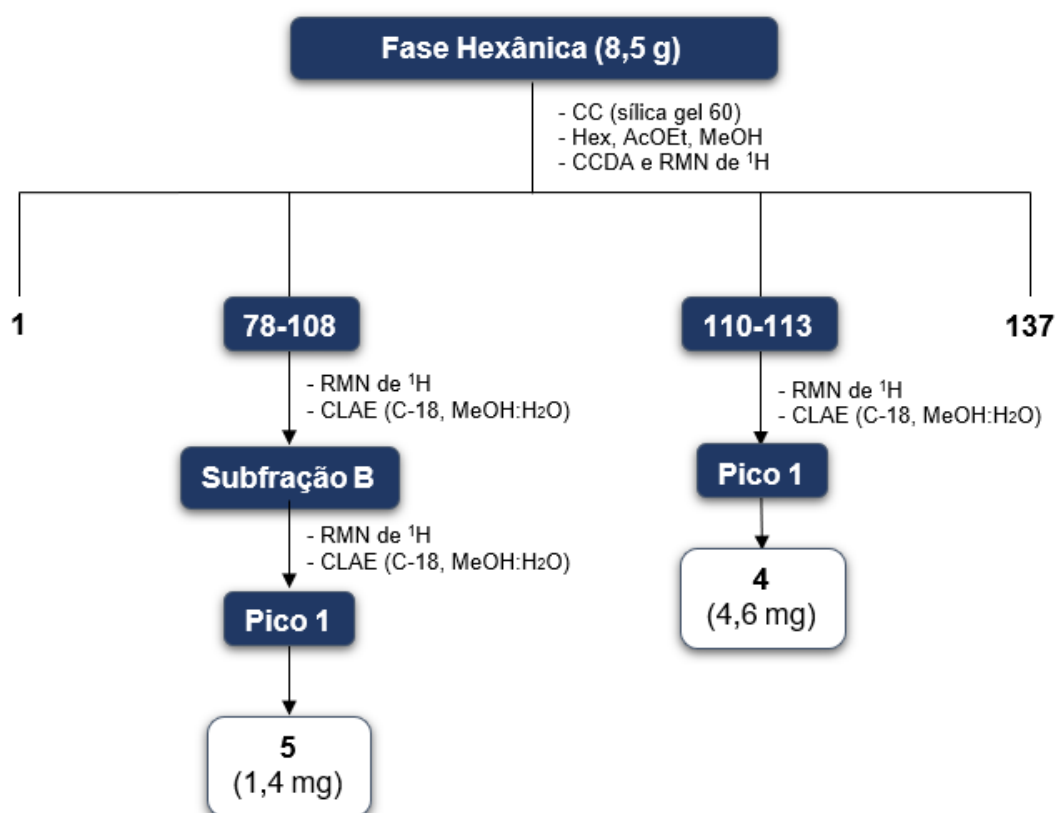
A fração 110-113 (150 mg) foi purificada em CLAE semipreparativo utilizando sistema de eluição isocrático 70% de B por 70 minutos (3,5 mL/min; $\lambda = 238$ nm)

(Figura 6). Após a análise dos espectros de RMN de ^1H , o pico 1 (10,2 mg, Tr = 42,7 min) foi codificado como **4** e encaminhado para determinação estrutural.

Figura 6 – Cromatograma da fração 110-113 em 238 nm com identificação da substância isolada.



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



A reunião das frações 114–115 que originou o sesquiterpeno (**3**) reportado em trabalho anterior (PEREIRA, 2016), foi recristalizado em acetato de etila a fim de aumentar o seu grau de pureza, e assim, ser submetido a análise de determinação da sua configuração absoluta e atividade farmacológica.

4.3.6 Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano de *Evolvulus linarioides* Meisn.

Uma alíquota de 3,5 g da fase diclorometano foi submetida a uma 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 102 frações, que foram concentradas individualmente em rotaevaporador a temperatura média de 35 °C (Tabela 2; Esquema 3).

As frações foram analisadas através de CCDA e RMN de ^1H , e reunidas quando semelhantes e de acordo com seus R_f , após visualização na luz ultravioleta (Tabela 2; Esquema 3).

Tabela 2 – Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do EMB das partes aéreas de *Evolvulus linarioides*.

Frações	Solvente	Proporção
1 e 2	Hex	90:10
3	Hex:AcOEt	80:20
4 a 27	Hex:AcOEt	70:30
28 a 30	Hex:AcOEt	65:35
31 a 34	Hex:AcOEt	60:40
35 a 41	Hex:AcOEt	50:50
42 a 47	Hex:AcOEt	40:60
48 a 51	Hex:AcOEt	30:70
52 a 54	Hex:AcOEt	10:90
55 a 63	AcOEt	100
64 a 68	AcOEt:MeOH	99,5:0,5

69 a 71	AcOEt:MeOH	99:1
72 a 75	AcOEt:MeOH	95:5
76 a 84	AcOEt:MeOH	90:10
85 a 88	AcOEt:MeOH	80:20
89 a 102	AcOEt:MeOH	70:30

A fração 53–59 (61,2 mg) foi submetida a CLAE-EM/EM no modo positivo, utilizando um sistema de eluição exploratório (5–100% de B em 120 min e 100% por 20 min) (Figura 7). Na análise dos espectros de massas das duas substâncias majoritárias no modo positivo, observou-se que as mesmas apresentavam m/z 277 $[M+Na]^+$, semelhantes ao sesquiterpeno isolado anteriormente da espécie em estudo (QUEIROGA, 2012). Então, essa fração foi submetida a purificação por CLAE em escala semipreparativa utilizando sistema de eluição isocrático 55% de B por 40 minutos (fluxo 3,5 mL/min; λ = 205 nm), fornecendo duas frações (Figura 8). Após a análise dos espectros de RMN de 1H dos picos 1 (15 mg, Tr = 32,6 min) e 2 (14 mg, Tr = 38,2 min), possibilitou verificar que o pico 1 se trata do sesquiterpeno (**1**) isolado anteriormente da espécie em estudo (QUEIROGA, 2012), e o pico 2 foi codificado como **2** e encaminhado para determinação estrutural.

Figura 7 – Cromatograma do CLAE-EM/EM da fração 53–59 no modo positivo com identificação das substâncias isoladas.

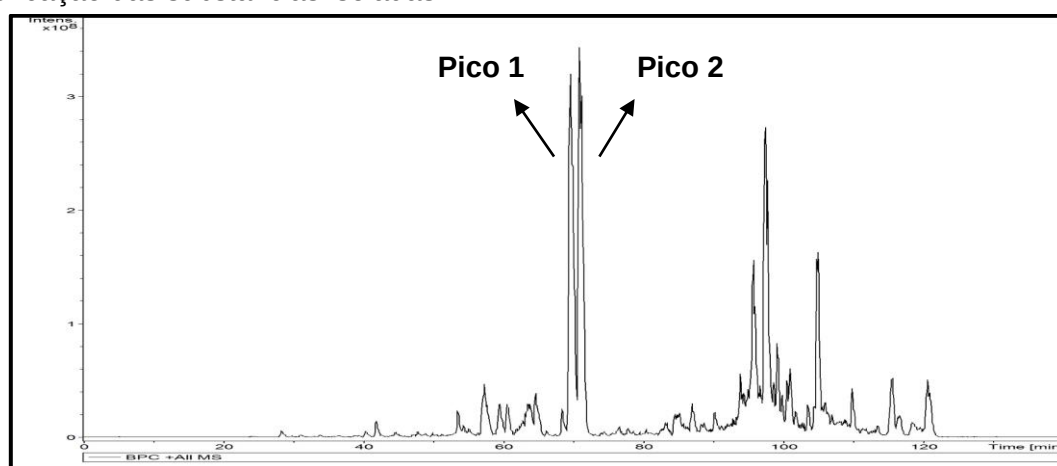
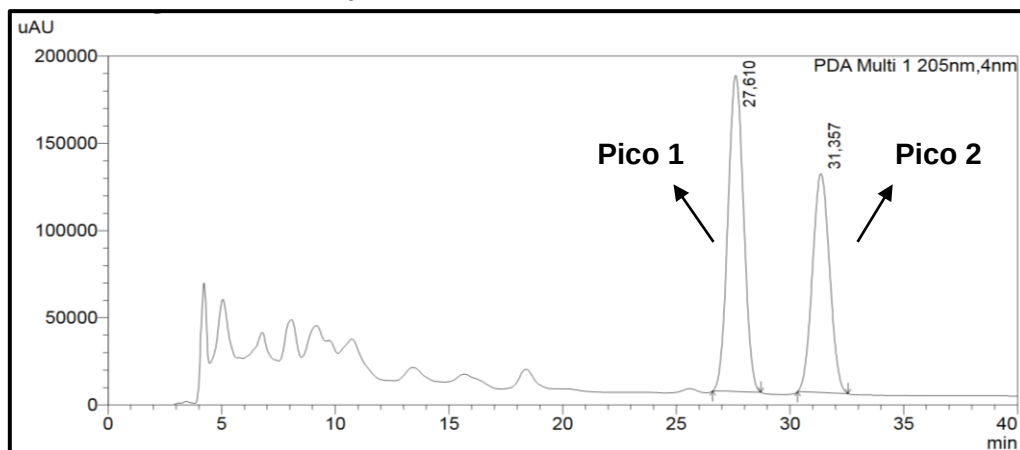


Figura 8 – Cromatograma da fração 53–59 em 205 nm das substâncias isoladas.



A fração 76–86 (586 mg) foi submetida a CLAE-EM/EM no modo negativo (Figura 9), utilizando o perfil de eluição: 0,0–50,0 min (25% de B); 50,0–55,0 min (25–35% de B); 55,0–127,0 min (35% de B); 127,0–130,0 min (35–100% de B); 130,0–160,0 min (100% de B). Uma alíquota de 154 mg da fração foi submetida a purificação por CLAE semipreparativo utilizando o mesmo sistema de eluição (fluxo 3,5 mL/min; $\lambda = 254$ nm), resultando em 4 frações (Figura 10). Após a análise dos espectros de RMN de ^1H , verificou-se que o pico 1 ($\text{Tr} = 46,7$ min) se tratavam do cnidimol C (**8**) isolado previamente da espécie em estudo (QUEIROGA, 2012), e o pico 2 (4,7 mg, $\text{Tr} = 96,7$ min) foram codificados como **7** e encaminhado para determinação estrutural.

Figura 9 – Cromatograma do CLAE-EM/EM da fração 76–86 no modo negativo com identificação das substâncias isoladas.

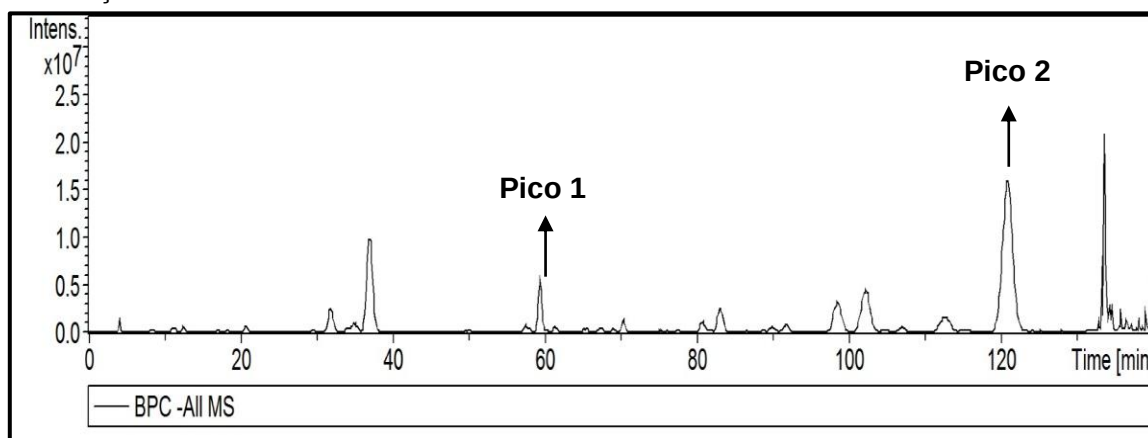
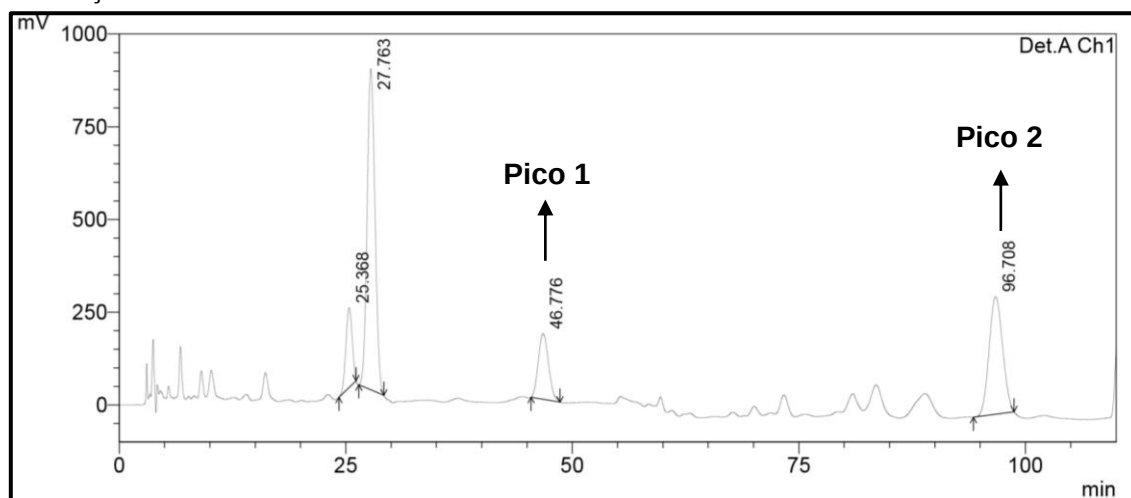
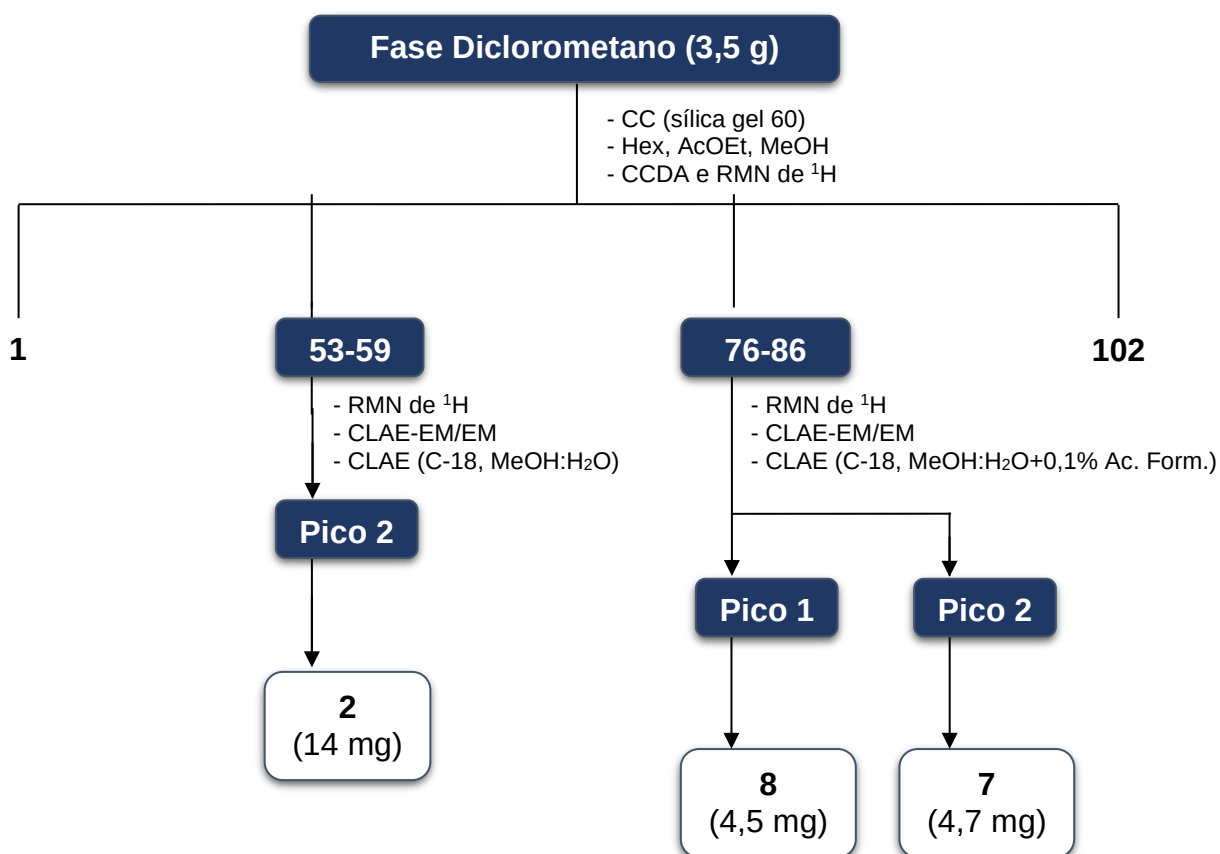


Figura 10 – Cromatograma do CLAE semipreparativo da fração 76–86 em 254 nm com identificação das substâncias isoladas.



Esquema 3 – Fracionamento cromatográfico da fase diclorometano do EMB das partes aéreas de *Evolvulus linarioides* Meisn.



4.3.7 Fracionamento cromatográfico da fase n-butanol de *Evolvulus linarioides* Meisn.

Uma alíquota de 10 g da fase n-butanol foi submetida a uma CC utilizando-se Sephadex LH-20 e eluída com metanol. Foram coletadas 68 frações, que foram concentradas individualmente em rotaevaporador a temperatura média de 35 °C. As frações foram analisadas através de RMN de ^1H e reunidas quando semelhantes.

A reunião das frações 30–37 (250 mg) foi purificada por CLAE preparativo utilizando o mesmo sistema de eluição (fluxo 8 mL/min; λ = 254 nm), resultando em 3 picos. Após a análise dos espectros de RMN de ^1H , verificou-se que os picos 2 (45,4 mg, Tr = 64,4 min) e 3 (4,8 mg, Tr = 62,8 min) se tratavam dos compostos já conhecidos monnierisídeo A (**9**) (KIM et al., 2012; QUEIROGA, 2012) e undulatosídeo A (**10**) (PENG et al., 2016), respectivamente, e o pico 1 (0,5 mg, Tr = 31,4 min) foi codificado como **6** e encaminhado para determinação estrutural.

A configuração absoluta da unidade de açúcar foi definida através da hidrólise ácida de **9** e por comparação com o tempo de retenção do padrão por análise por CG-EM (FU et al., 2000; MA et al., 2003).

4.4 Hidrólise Ácida e Análise por CG-EM

Uma alíquota do composto **9** (5 mg) foi submetida a refluxo por 3 horas a 70 °C em solução HCl em MeOH 2 N (5 mL). A solução resultante foi concentrada em rotaevaporador a pressão reduzida. O precipitado foi ressuspensionado em água e extraído com CHCl_3 . A aglicona foi recuperada da fase orgânica e o açúcar da fase aquosa. A fase aquosa foi derivatizada e analisada por CG-EM (MA et al., 2003).

Para a derivatização da fração de açúcares foi realizada a solubilização em 60 μL de piridina e adicionado 100 μL do reagente derivatizante BSTFA (*N,O*-bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida). A mistura reacional foi aquecida a 70 °C por 30 minutos para promover o processo de derivatização (HAAS; LAMOUR; TRAPP, 2018).

A amostra foi analisada por CG-EM com o programa de temperatura iniciando a 100 °C por 1 minuto, posteriormente aumentando até 290 °C com taxa de 10 °C/min e permanecendo a 290 °C por 8 minutos. A temperatura do injetor foi configurada

para 280 °C. O fluxo do gás (He) foi de 0,8 mL/min (FU et al., 2000). O padrão de D-glicose foi derivatizado e analisado seguindo o mesmo protocolo.

4.5 Atividade farmacológica

4.5.1 Ensaio de Citotoxicidade

Para determinar a citotoxicidade dos compostos, macrófagos murinos da linhagem de células J774 foram semeados em placas de 96 poços a densidade de células de 2×10^5 células/poço em meio Eagle modificado por Dulbecco's (DMEM; Life Technologies, GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD, EUA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB; GIBCO) e 50 $\mu\text{g/mL}$ de gentamicina (Novafarma, Anápolis, GO, Brasil), e incubada durante a noite a 37 °C e 5% de CO₂. As células foram estimuladas com LPS (500 ng/mL, Sigma) e IFN- γ (5 ng/mL; Sigma), os compostos **1–5** e **7–10** foram adicionadas em sete concentrações entre 6,25 a 200 μM em quintuplicata e as placas foram incubadas por 72 h. Alamar Blue (Invitrogen, Carlsbad, CA) foi adicionado às placas (20 $\mu\text{L/poço}$), seguido por incubação por 12 h. As placas foram lidas a 570 nm e 600 nm. Violeta genciana (Synth, São Paulo, Brasil) foi usada como controle positivo. Três experimentos independentes foram realizados (OPRETZKA et al., 2019).

4.5.2 Ensaio de Produção de Óxido Nítrico e Citocina

Para as determinações de NO e citocina (IL-1 β), células J774 foram semeadas a placas de 96-poços a 2×10^5 células/ poço em meio DMEM suplementado com 10% de SBF e 50 $\mu\text{g/mL}$ de gentamicina por 2 h a 37 °C e 5% de CO₂ (ESPÍRITO-SANTO et al., 2017). As células foram então estimuladas com LPS (500 ng/mL, Sigma) e IFN- γ (5 ng/mL; Sigma) na presença de diferentes concentrações dos compostos testados (6,25–100 μM), dexametasona (0,00064–10 μM) ou de veículo e incubado a 37 °C. Sobrenadantes sem células foram coletados em 24 h e mantidos a –80 °C. Concentrações de IL-1 β em sobrenadantes de cultura de macrófagos foram determinadas pelo ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) usando o kit DuoSet da R&D Systems (Minneapolis, MN, USA) seguindo as instruções do fabricante e os

resultados são expressos em picogramas de IL-1 β por miligramas de proteína. A quantificação de NO foi realizada pelo método de Griess (GREEN et al., 1982).

4.5.3 Análise Estatística

Os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. Comparações entre os tratamentos foram feitas usando one-way ANOVA e o teste de Tukey. Todos os dados foram analisados usando o programa Prism 5 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Diferenças estatísticas foram consideradas significantes se $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Manuscrito: Compostos Bioativos das Partes Aéreas de *Evolvulus linarioides* (artigo publicado na revista Journal of Natural Products)

Compostos Bioativos das Partes Aéreas de *Evolvulus linarioides*

Laiane C. O. Pereira,[†] Lucas S. Abreu,[†] Joanda P. R. e Silva,[†] Francisca S. V. L. Machado,[†] Cinthia S. Queiroga,[†] Renan F. do Espírito-Santo,[‡] Diego F. de Agnelo-Silva,[§] Cristiane F. Villarreal,[§] Maria de F. Agra,[†] Vicente C. de O. Costa,[†] Josean F. Tavares,[†] e Marcelo S. da Silva^{*,†}

[†]Programa de pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil

[‡]Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brasil

[§]Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil

RESUMO: Três novos sesquiterpenos do tipo cariofilano, linariofilenos A–C (**1–3**), dois novos derivados do hamamelitol, linaritols A (**4**) e B (**5**), duas novas cromonas, linariosídeos A (**6**) e B (**7**), e três cromonas conhecidas, cnidimol C (**8**), monnierisídeo A (**9**), undulatosídeo A (**10**), foram identificadas das partes aéreas de *Evolvulus linarioides*. As estruturas desses compostos foram elucidadas por dados de RMN, EM e IV. As configurações absolutas dos compostos **1–5** e **7** foram estabelecidas com base nos dados de dicroísmo circular eletrônico (DCE). O potencial anti-inflamatório dos compostos **1–5** e **7–10** foi avaliado pela sua capacidade de inibir a produção de óxido nítrico (NO) e da citocina pró-inflamatória IL-1 β por macrófagos da linhagem J774 estimulados. Os compostos testados em concentrações não citotóxicas, inibiram a produção de NO por macrófagos, exibindo valores de IC₅₀ entre 17,8 e 66,2 μ M, e inibiram a produção de IL-1 β por macrófagos estimulados com eficácia de inibição variando de 72,7 a 96,2%.

O gênero *Evolvulus* L. consiste em mais de 100 espécies de plantas, distribuídas mundialmente.¹ Investigações fitoquímicas anteriores em plantas deste gênero resultaram no isolamento de antocianinas, flavonoides glicosilados, triterpenos, cumarinas, alcaloides e resinas glicosídicas.²⁻⁶ Além destes, já foram reportados polióis livres e esterificados (álcoois de açúcar ou alditols) que apresentaram atividade anti-estresse.^{7,8} Apesar desses compostos possuírem uma estrutura simples, são encontrados menos de vinte tipos em espécies vegetais, e sua função na fisiologia está relacionada com assimilação fotossintética, translocação e armazenamento de carbono e poder redutor, regulação de coenzimas, regulação da atividade da água e como soluto compatível.⁹⁻¹¹

Algumas espécies desse gênero são usadas na medicina tradicional para os tratamentos de doenças relacionadas com inflamação como edema, disenteria, asma, bronquite e outras afecções do trato respiratório.¹²⁻¹⁶ Considerando que o envelhecimento populacional no mundo tem aumentado a demanda por anti-inflamatórios mais seguros e eficazes, pois a maioria das doenças relacionadas à idade compartilham uma patogênese inflamatória, é importante a busca de novas moléculas bioativas.^{17,18} Os macrófagos apresentam papel essencial na iniciação e manutenção da inflamação por serem fonte de mediadores inflamatórios, como citocinas, prostaglandinas e óxido nítrico (NO).¹⁹ Diante disto, investigações farmacológicas tem utilizado macrófagos ativados para a realização de screening para a identificação de novos compostos com potencial anti-inflamatório.

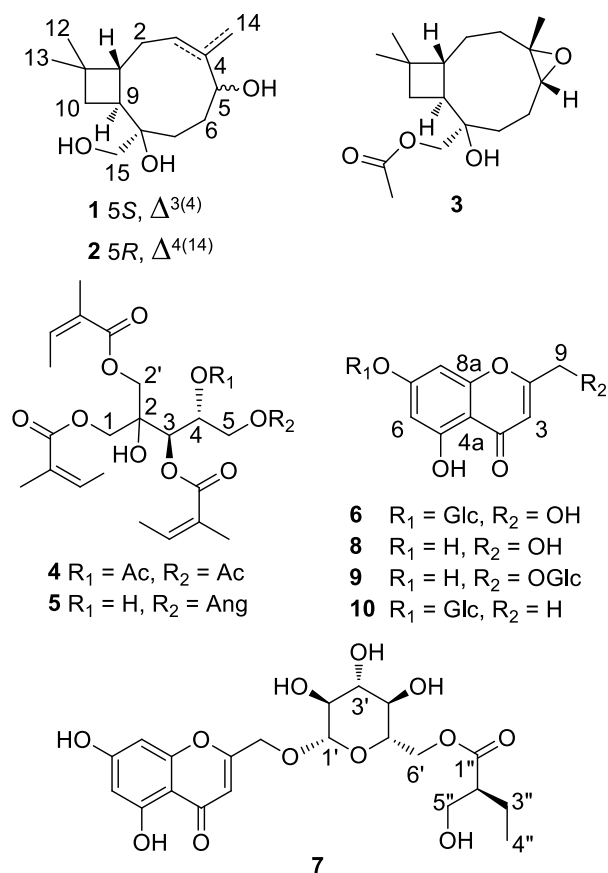
Evolvulus linarioides Meisn. é uma erva distribuída em alguns países da América Latina e pode ser encontrada no bioma Caatinga.²⁰ Na contínua busca por metabólitos com atividade anti-inflamatório e tendo em vista o potencial medicinal do gênero *Evolvulus*, foi realizada a investigação fitoquímica de *E. linarioides*. Neste estudo, foram isolados três novos sesquiterpenos do tipo cariofilano (**1-3**), dois novos derivados do hamamelitol (**4 e 5**), duas novas cromonas (**6 e 7**) e três cromonas conhecidas, cnidimol C (**8**),²¹ monnierisídeo A (**9**),²²

undulatosídeo A (**10**).²³ Considerando que as propriedades anti-inflamatórias de cromonas²⁴ e sesquiterpenos²⁵ têm sido demonstradas, os compostos isolados **1–5** e **7–10** foram avaliados quanto ao seu potencial anti-inflamatório.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As partes aéreas de *E. linarioides* foram secas e extraídas com MeOH três vezes em temperatura ambiente. O extrato MeOH foi suspenso em MeOH–H₂O (7:3) e particionado com *n*-hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e *n*-BuOH. As fases *n*-hexânica e CH₂Cl₂ foram submetidas separadamente a coluna cromatográfica de sílica gel de fase normal seguida de separações sucessivas por CLAE semipreparativo, obtendo-se da fase *n*-hexânica os compostos linaritols A (**4**) e B (**5**) e linariofileno C (**3**), e da fase CH₂Cl₂, o linariofilenos A (**1**) e B (**2**), linariosídeo B (**7**) e o cnidimol C (**8**).²¹ A fase *n*-BuOH foi fracionada em coluna de Sephadex LH-20 e submetida a purificação por CLAE preparativo, obtendo-se os compostos linariosídeo A (**6**), monnierisídeo A (**9**)²² e undulatosídeo A (**10**).²³ Os compostos conhecidos foram identificados por comparação dos seus dados espectroscópicos com dados reportados na literatura. As estruturas dos novos compostos foram determinadas por dados de RMN 1D e 2D, IESEMAR, ESIEM/EM, IV e ECD.

Figura 11 – Chart 1



Composto **1** foi isolado como sólido amorfo branco com rotação específica negativa ($[\alpha]^{25}_D -34$, MeOH). O espectro de IV mostrou a presença de hidroxila (3401 cm^{-1}) e ligação olefínica (1648 cm^{-1}). Sua fórmula molecular foi definida como $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3$ por IESEMAR m/z 277,1762 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calculado 277,1774), inferindo em três índices de deficiência de hidrogênio. Desses, um foi associado a um grupo olefínico (δ_C 140,2, 125,4). O espectro de RMN de ^{13}C de **1** mostrou sinais atribuídos a três carbonos oxigenados (δ_C 75,1, 73,8, 67,5), um carbono quaternário (δ_C 35,0), dois carbonos metínicos (δ_C 44,8, 40,1), quatro carbonos metilênicos (δ_C 34,0, 33,4, 30,6, 27,4) e três carbonos metílicos (δ_C 30,1, 24,1, 19,6). No espectro de RMN de ^1H de **1** observou-se sinais de duas metilas terciárias em δ_H 1,0 (s) e 0,97 (s); uma metila alílica em δ_H 1,71 (s); um sinal de próton olefínico em δ_H 5,41 (br t, $J = 7,6\text{ Hz}$); dois sinais para prótons oximetilênicos em δ_H 3,24 e 3,18 ($2 \times \text{d}$, $J = 11,2\text{ Hz}$) e um próton oximetínico em δ_H 4,39 (dd, $J = 2,4; 8,4\text{ Hz}$) (Tabela 3). Os dados espectroscópicos de RMN

1D indicam que **1** possui um núcleo básico de sesquiterpeno do tipo cariofilano.^{26,27} As correlações observadas no espectro HMBC de H₃-13/H₃-12 com C-1 e do H-3 com este mesmo carbono e com C-4/C-5/C-14 inferiram a ligação olefínica $\Delta^{3(4)}$ (Figura 12). A localização da ligação olefínica foi inequivocamente estabelecida pela correlação de HMBC de H₃-14 com C-3 (δ_C 125,4) e C-5 (δ_C 73,8). Correlações de prótons em δ_H 3,24 e 3,18 com os carbonos em δ_C 33,4 (C-7), 75,1 (C-8) e 40,1 (C-9) indicando a presença de uma hidroxila e um grupo oximetilênico em C-8. A configuração relativa foi atribuída pelo experimento de NOESY (Figura 13). As correlações entre H-9 e H₂-15, H₂-15 e H-7 α , e H-7 α e H-5 indicaram que esses prótons estão cofaciais, e inferiram na β -orientation of HO-5 e HO-8. A Z-configuração da dupla ligação $\Delta^{3(4)}$ foi definida pela correlação do NOESY entre H-3 e H₃-14. A configuração absoluta de **1** foi estabelecida por comparação dos dados de ECD experimentais e calculados (Figura 14) e definida como (1*R*,5*S*,8*R*,9*S*). Portanto, a estrutura do linariofileno A (**1**) foi estabelecida como mostrado no Chart 1.

Figura 12 – Correlações de HMBC, COSY ¹H–¹H e TOCSY ¹H–¹H dos compostos **1–5** e **7**.

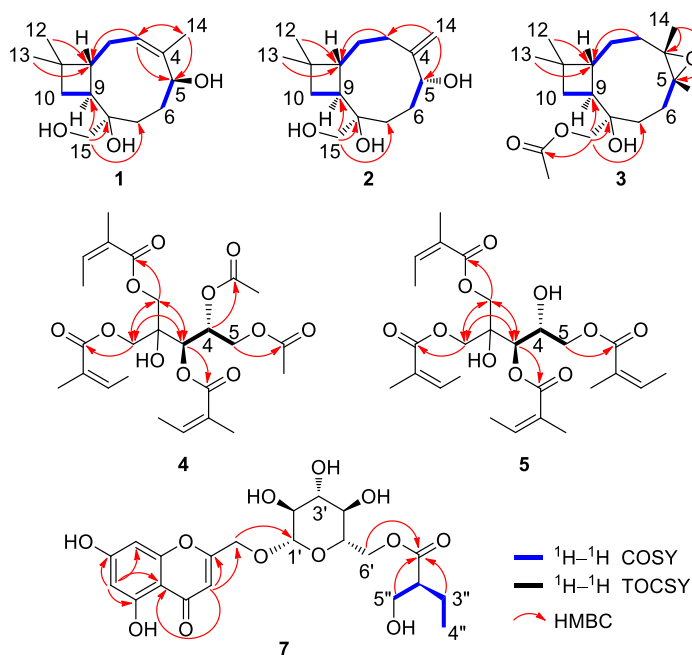
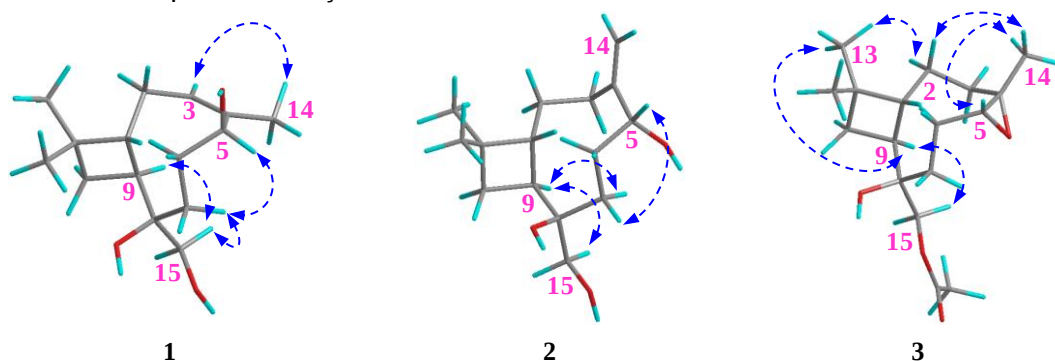
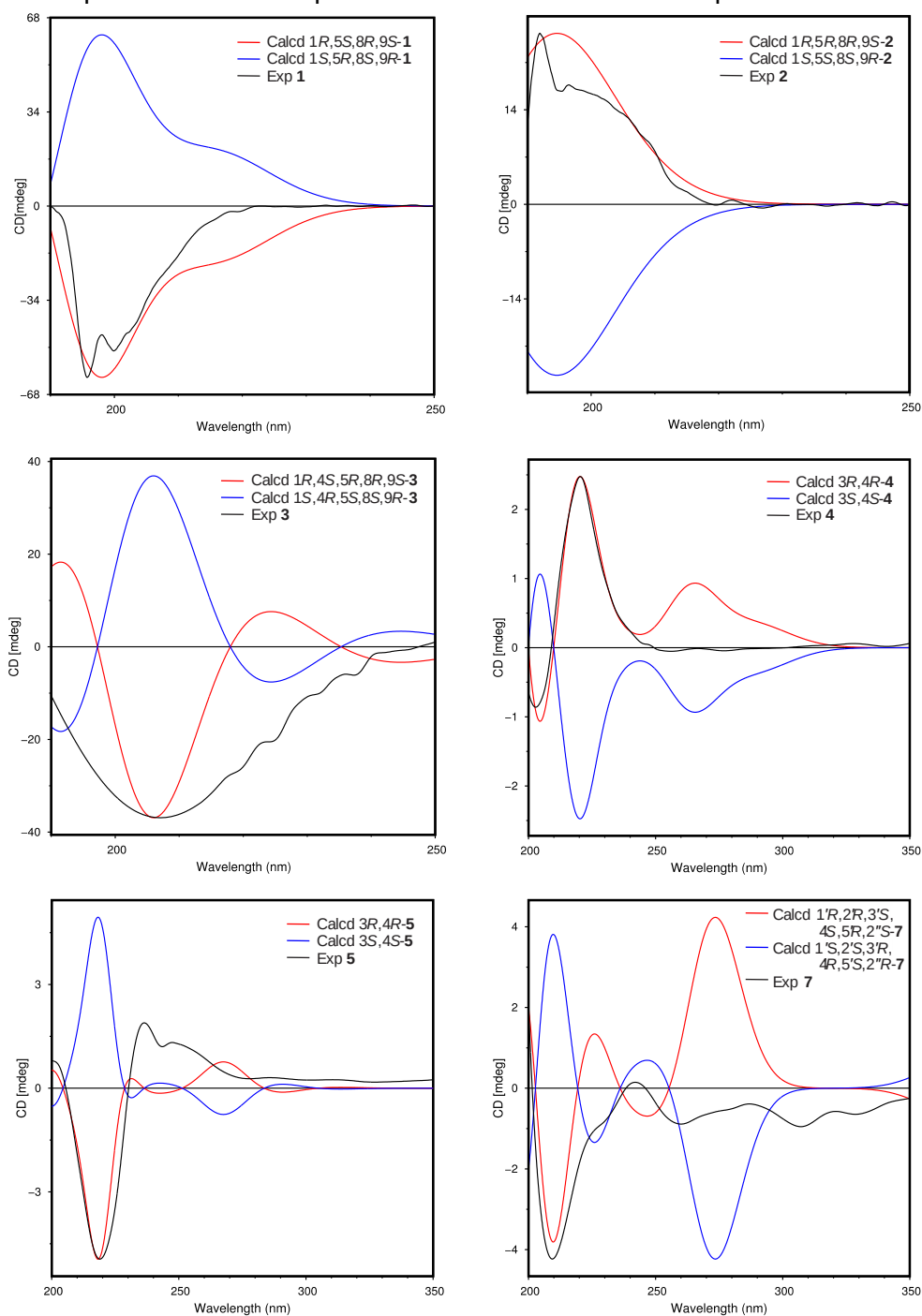


Figura 13 – Principais correlações de NOESY ^1H - ^1H de **1-3**.



Composto **2** foi isolado como um sólido amorfo branco com rotação específica negativa ($[\alpha]_D^{25} -74$, MeOH). O espectro de IV mostrou a presença de hidroxila (3341 cm^{-1}) e ligação olefínica (1662 cm^{-1}). Sua fórmula molecular foi definida como $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3$ por IESEMAR com m/z 277,1760 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calculado 277,1774), inferindo em três índices de deficiência de hidrogênio. Os dados espectroscópicos RMN 1D foram similares a aqueles do composto **1**, exceto pela presença de deslocamentos característicos de dupla exocíclica [δ_{H} 5,14 (d, $J = 1,4$ Hz); 5,03 (d, $J = 1,4$ Hz); δ_{C} 152,5, 110,9] e pela ausência da metila em C-4. Assim, definiu-se a posição da dupla ligação $\Delta^{4(14)}$, sendo confirmada pelas correlações de HMBC de H_2 -14 com C-3/C-5 (Figura 12). As correlações de NOESY observadas entre H-9 e H_2 -15/H-7 α , e H-7 β e H-5 sugeriram a β -orientação da HO-8 e a α -orientação da HO-5. A configuração absoluta de **2** foi estabelecida como (1*R*,5*R*,8*R*,9*S*) por comparação dos dados de ECD experimentais e calculados (Figura 14). Assim, a estrutura do linariofileno B (**2**) foi estabelecido como mostrado no Chart 1.

Figura 14 – Espectros de ECD experimental e calculados dos compostos **1–5** e **7**.



Composto **3** foi isolado como sólido amorfo branco com rotação específica negativa ($[\alpha]_D^{25} -41$, MeOH). Sua fórmula molecular foi definida como $C_{17}H_{28}O_4$ por IESEMAR com m/z 319,1866 $[M + Na]^+$ (calculado 319,1880), inferindo em quatro índices de deficiência de hidrogênio. O espectro de IV mostrou a presença de bandas de absorção atribuídas a hidroxila

(3535 cm^{-1}) e carbonila de éster (1722 cm^{-1}). A comparação dos dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C de **1** e **3** mostrou que as estruturas se diferenciavam pela ausência do grupo olefínico, pela presença de um grupo acetoxi (δ_{C} 171,1, 20,8) e carbonos carbinólicos de grupo epóxido (δ_{C} 61,1, 58,8) semelhante à estrutura do óxido de cariofileno.²⁸ O espectro de HMBC de **3** mostrou a correlação da metila H₃-14 (δ_{H} 1,22 s) com ambos os carbonos do grupo epóxido permitindo a atribuição de C-5 e C-4 (Figura 12). Além disso, a localização do grupo acetoxi foi determinada pelo acoplamento de HMBC de H₂-15 com a carbonila de acetato. As correlações de NOESY observadas entre H-9 e H₂-15/H₃-13 e H₃-13 e H-2 α revelaram a α -orientação desses grupos. Assim, a correlação entre H-2 β com H₃-14 e H₃-14 com H-5 indicaram que esses grupos estão β -orientados. A comparação dos dados de ECD experimental e calculados (Figura 14) suportaram a configuração absoluta (1*R*,4*S*,5*R*,8*R*,9*S*) de **3**. Deste modo, a estrutura do linariofileno C (**3**) foi estabelecida como mostrado no Chart 1.

Tabela 3 – Dados Espectroscópicos de RMN dos Compostos 1, 2 e 3.

posição	1 ^a		2 ^a		3 ^b	
	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}
1	2,23, m ^c	44,8	2,03, m ^c	45,0	1,98, m ^c	46,3
2 α	2,23, m ^c	27,4	1,75, m ^c	32,9	1,63, dt (15,0, 3,5)	28,7
2 β	2,06, m ^c		1,62, m		1,49, m ^c	
3 α	5,41, br t (7,6)	125,4	2,38, m	31,4	1,96, m ^c	41,4
3 β			1,64, m ^c		0,89, td (13,5, 3,5)	
4		140,2		152,5		58,8
5	4,39, dd (8,4, 2,4)	73,8	4,14, dl (5,7)	75,7	3,18, dd (9,5, 5,5)	61,1
6 α	1,77, m	30,7	1,94, m	25,4	1,16, m	25,2
6 β	1,52, m		1,65, m ^c		2,19, m	
7 α	1,46, m	33,4	1,60, m ^c	28,4	1,52, m ^c	34,1
7 β	1,83, m		1,51, m		1,98, m ^c	
8		75,1		74,9		72,8
9	2,06, m ^c	40,1	1,97, m ^c	43,3	2,12, m	49,9
10 α	1,68, m ^c	34,0	1,74, m ^c	34,5	1,52, m ^c	35,6
10 β	1,39, m		1,45, dd (11,1, 8,6)		1,76, t (10,5)	
11		35,0		34,3		33,5
12	0,97, s	30,1	0,96, s	29,8	0,90, s	29,6
13	1,00, s	24,1	0,95, s	23,8	0,95, s	22,7

14	1,71, s	19,6	5,14, 5,03, d (1,4)	110,9	1,22, s	16,4
15	3,24, 3,18, d (11,2)	67,5	3,14, 3,11, d (10,8)	68,9	3,79, 3,71, d (10,5)	71,7
AcO-15						171,1
					2,00, s	20,8

^aRMN de 400 MHz, metanol-*d*₄. ^bRMN de 500 MHz, acetona-*d*₆. ^cSinais sobrepostos.

Composto **4** foi isolado na forma de um óleo incolor com rotação específica positiva ($[\alpha]_D^{25} +13$, MeOH). Sua fórmula molecular foi definida como C₂₅H₃₆O₁₁ por IESEMAR com m/z 535,2152 [M + Na]⁺ (calculado 535,2150), indicando oito índices de deficiência de hidrogênio. O espectro de IV mostrou a presença de hidroxila (3426 cm⁻¹), carbonila (1729 cm⁻¹) e ligação olefínica (1644 cm⁻¹). Os espectros RMN 1D mostraram sinais característicos de dois grupos acetatos (δ_H 2,05 s, 2,03 s; δ_C 170,7, 170,2, 20,9, 20,7) e três angeloil (δ_H 6,14 m, 1,98 m, 1,90 m; δ_C 167,7, 167,5, 165,9, 140,4, 140,0, 139,9, 2 × 126,9, 126,7, 20,5, 2 × 20,4, 3 × 15,8). Os seis sinais restantes no espectro de RMN de ¹³C foram característicos de carbonos oxigenados, sugerindo um esqueleto de um poliol derivado de um açúcar. A ausência de deslocamento químico entre δ_C 90–110 referente a carbono anomérico, excluiu a possibilidade de uma estrutura cíclica. A presença de três carbonos oximetilênicos (δ_C 64,2, 64,1, 62,9) sugeriu uma estrutura de um álcool de açúcar de cadeia ramificada.²⁹ A literatura relata que só existem três açúcares de cadeia ramificada relatados em plantas: apiose [(3-C-(hidroximetil)-D-glicerotetrose),³⁰ ácido acérico (3-C-carboxi-5-deoxixilose)³¹ e hamamelose (2-C-hidroximetilribose).³² A presença dos deslocamentos químicos para carbono não hydrogenado (δ_C 74,6), dois carbonos oximetínicos (δ_C 71,1, 70,8), além dos três carbonos oximetilênicos, foram compatíveis somente com o álcool do açúcar hamamelose, o hamamelitol.³³ No espectro de TOCSY ¹H–¹H (Figura 12) foi identificado a sequência de prótons correlacionados: –CH(OR)–CH(OR)–CH₂(OR) (δ_H 5,50 d, J = 3,6 Hz; 5,45 m; 4,67 dd, J = 12,4, 2,4 Hz; 4,19 dd, J = 12,4, 8 Hz) (Tabela 4). Adicionalmente, as correlações de HMBC de H-1/H-2'a/H-2'b com C-2/C-3, H₂-1 com C-2', H-2'a/H-2'b com C-1, e H-4 com C-2, estabeleceram o arranjo de dois

carbonos metilênicos e a sequência de prótons em C-2. De maneira análoga, o espectro de HMBC definiu as localizações dos substituintes pelos acoplamentos de H₂-1, H-2'a/H-2'b e H-3 com as carbonilas do grupo angeloil em δ_C 167,5, 165,9 e 167,7, e de H-4 e H-5a/H-5b com as carbonilas do acetato em δ_C 170,2 e 170,7, respectivamente. O espectro de LC-ESIEM/EM no modo positivo, mostrou um íon aduto $[M + Na]^+$ em m/z 535 com padrão de fragmentação caracterizado pela ocorrência da perda neutra de 60 amu, típico de um grupo acetoxi. Além disso, foi observado as perdas neutras de 82 e 100 amu referentes ao grupo angeloil. Baseado nos dados de ECD experimental e calculado, a configuração absoluta (3*R*,4*R*) de **4** foi estabelecida. Portanto, a estrutura do linaritol A (**4**) foi estabelecida como (3*R*,4*R*)-4,5-diacetoxi-1,3,6-triangeloiloxi-hamamelitol.

Composto **5** foi isolado na forma de um óleo incolor com rotação específica positiva ($[\alpha]^{25}_D +11$, MeOH). Sua fórmula molecular foi definida como C₂₆H₃₈O₁₀ por IESEMAR com m/z 511,2534 $[M + H]^+$ (calculado 511,2538), indicando a presença de oito índices de deficiência de hidrogênio. O espectro de IV mostrou a presença de hidroxila (3417 cm⁻¹), carbonila (1720 cm⁻¹) e ligação olefínica (1650 cm⁻¹). A análise dos dados de RMN sugeriu que **5** possui o mesmo esqueleto derivado do hamamelitol **4**, diferindo apenas na presença de quatro unidades de angeloil [δ_H 6,13 (4H, m), 1,98 (12H, m), 1,90 (12H, m); δ_C 168,4, 167,8, 167,6, 165,7, 140,7, 139,7, 2 × 139,6, 3 × 127,1, 126,5, 4 × 20,4 e 4 × 15,8]. A localização dos grupos angeloil foram definidas pelas correlações observadas no HMBC de H-1/H-2'/H-3/H-5 com as carbonilas do grupo angeloil em δ_C 167,8, 167,6, 165,7 e 168,4, respectivamente (Figura 12). O espectro de LC-ESIMS/MS no modo positivo, mostrou um íon aduto $[M + Na]^+$ em m/z 533 com padrão de fragmentação caracterizado pela ocorrência de perdas neutras de 18, 82 e 100 amu, típico de perdas de unidades H₂O e do grupo angeloil. A comparação dos dados de ECD experimental e calculados (Figura 14) estabeleceu a configuração absoluta (3*R*,4*R*) de **5**.

Assim, a estrutura do linaritol B (**5**) foi estabelecida como (3*R*,4*R*)-1,3,5,6-tetraangeloiloxi-hamamelitol.

Tabela 4 – Dados Espectroscópicos de RMN (400 MHz, CDCl₃) dos Compostos **4** e **5**.

posição	4		5	
	δ_H (J em Hz)	δ_C	δ_H (J em Hz)	δ_C
1	4,33, s	64,2	4,32, d (12,0) ^a ; 4,29, d (12,0)	65,0
2		74,6		75,0
2'	4,31, d (11,6); 4,13, d (11,6)	64,1	4,50, d (12,0); 4,33, d (11,6) ^a	64,6
3	5,50, d (3,6)	71,1	5,31, d (8,0)	71,0
4	5,45, m	70,8	4,33, m ^a	70,1
5	4,67, dd (12,4, 2,4); 4,19, dd (12,4, 8,0)	62,9	4,33; ^a 4,19, dd (11,6, 5,6)	65,8
AngO-1		167,5 126,9		167,8 127,1
	6,14, m	140,0	6,13, m	139,7
	1,98, m	15,8	1,98, m	15,8
	1,90, m	20,4	1,90, m	20,4
AngO-2'		167,7 126,9		167,6 127,1
	6,14, m	139,9	6,13, m	139,6
	1,98, m	15,8	1,98, m	15,8
	1,90, m	20,4	1,90, m	20,4
AngO-3		165,9 126,7		165,7 126,5
	6,14, m	140,4	6,13, m	140,7
	1,98, m	15,8	1,98, m	15,8
	1,90, m	20,5	1,90, m	20,4
AcO-4		170,2		
	2,05, s	20,9		
AcO-5		170,7		
	2,03, s	20,7		
AngO-5				168,4 127,1 6,13, m 1,98, m 1,90, m 139,6 15,8 20,4

^aSinais sobrepostos.

Composto **6** foi isolado na forma de óleo incolor com rotação específica negativa ($[\alpha]^{25}_D$ -18, MeOH). Sua fórmula molecular foi definida como $C_{16}H_{18}O_{10}$ por IES-EMAR com m/z 369,0808 $[M - H]^-$ (calculado 369,0827), inferindo em oito índices de deficiência de hidrogênio. Os espectros de RMN 1D de **6** mostraram dois singletos em δ_H 6,66 e 6,48 e os sinais de carbonos em δ_C 184,2, 164,9, 163,1, 159,2, 107,3, 101,2 e 95,9, um conjunto de sinais foram atribuídos a uma ligação olefínica trissubstituída (δ_H 6,33 s; δ_C 172,2; 107,0) e grupo oximetilênico alílico (δ_H 4,47 s, 2H; δ_C 61,4), que são típicos de um núcleo cromona 5,7-dissubstituída semelhante a cnidimol C.²¹ Uma unidade de glicose foi identificada pela presença de um próton anomérico em δ_H 5,02 (d, $J = 6,8$ Hz; δ_C 101,5) e sinais de carbonos entre δ_C 62,3 e 78,3. Esta unidade foi localizada na posição C-7 por comparação com o composto undulatosídeo A (**10**) e com dados da literatura.²³ Uma análise adicional de RMN de 1H em DMSO- d_6 mostrou a presença de um grupo OH quelado (δ_H 12,76 br s OH-5) corroborando com a localização da unidade de glicose em C-7. No espectro de HMBC, foi possível observar as correlações de H-3 (δ_H 6,33) com os carbonos C-2/C-4/C-4a/C-9 e dos prótons oximetilênicos alílicos H₂-9 (δ_H 4,47) com C-2/C-3, além das correlações dos prótons aromáticos H-6 (δ_H 6,48) com C-5/C-7/C-4a/C-8 e de H-8 (δ_H 6,66) com C-7/C-8a/C-4a. Deste modo, a estrutura de linariosídeo A (**6**) foi identificada como 5-hidroxi-2-hidroximetil-4*H*-benzopiran-4-one-7-*O*- β -glicopiranosídeo.

Composto **7** foi isolado como um pó amorfo marrom com rotação específica negativa ($[\alpha]^{25}_D$ -28, MeOH). Sua fórmula molecular foi definida como $C_{21}H_{26}O_{12}$ por IESEMAR com m/z 469,1358 $[M - H]^-$ (calculado 469,1351), apresentando uma unidade $C_5H_8O_2$ a mais do que em **6**. No espectro de RMN de 1H de **7** observou-se sinais de uma metila terminal em δ_H 0,90 (3H, t, $J = 7,2$ Hz), prótons metilênicos em δ_H 1,55 (2H, m) e um próton metínico em δ_H 2,49 (1H, m) que foram semelhantes a estrutura do grupo 2-metilbutanoil (MeBu),³⁴ exceto pela presença de prótons oximetilênicos [δ_H 3,70 (m) e 3,63 (m)] ao invés de uma metila. O espectro

de RMN de ^{13}C de **7** mostrou sinais para carbono metílico em δ_{C} 12,0, dois carbonos metilênicos em δ_{C} 22,7 e 63,7, um carbono metínico em δ_{C} 51,3 e uma carbonila de éster em δ_{C} 176,1, revelando a existência do substituinte 2-hidroximetil-butanoil (HmBu) (Figura 12). O espectro de COSY ^1H – ^1H corroborou com a presença da unidade HmBu pela sequência de prótons correlacionados: $-\text{CH}_2(\text{OH})-\text{CH}(\text{COO})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$. No espectro de HMBC foi possível observar as correlações de H₂-6' (δ_{H} 4,22, 4,43) com a carbonila C-1'' (δ_{C} 176,1), e H₂-9 (δ_{H} 4,63) com C-1' (δ_{C} 104,2) que confirmaram as localizações do grupo HmBu em C-6' e da unidade de glicose em C-9. O espectro de IESEM/EM no modo negativo, mostrou um íon da molécula desprotonada em m/z 469 $[\text{M} - \text{H}]^-$, que ao ser fragmentado apresentou um pico base em m/z 451, formado pela perda de H_2O . A partir dos espectros de EM³, foi possível observar a perda da unidade HmBu (100 amu), gerando o pico base em m/z 351, e em seguida a perda de um resíduo de glicose (144 amu) (m/z 351 $\rightarrow$ m/z 207). Os espectros de ECD experimental e calculado foram compatíveis e a configuração absoluta de linariosídeo B (**7**) foi definida como (1'R,2'R,3'S,4'S,5'R,2''S).

Tabela 5 – Dados Espectroscópicos de RMN (400 MHz, metanol- d_4) dos Compostos **6** e **7**.

posição	6		7	
	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J em Hz)	δ_{C}
2		172,2		167,7
3	6,33, s	107,0	6,39, s	108,3
4		184,2		183,8
4a		107,3		105,6
5		163,1		163,3
6	6,48, s	101,2	6,18, s	100,2
7		164,9		166,1
8	6,66, s	95,9	6,31, s	95,0
8a		159,2		159,5
9	4,47, s (2H)	61,4	4,63, m (2H)	67,6
1'	5,02, d (6,8)	101,5	4,43, m ^a	104,2
2'	3,47, m ^a	74,6	3,25, m ^a	74,8
3'	3,41, m ^a	78,3	3,37, m ^a	77,6
4'	3,40, m ^a	71,1	3,35, m ^a	71,4
5'	3,47, m ^a	77,8	3,49, m	75,5

6'	3,90, dd (12,0, 1,8); 3,70, dd (12,0, 5,4)	62,3	4,22, 4,43 m ^a	64,2
HmBuO-6'				176,1
2"			2,49, m	51,3
3"			1,55, m (2H)	22,7
4"			0,90, t (7,2)	12,0
5"			3,70, 3,63, m	63,7

^aSinais sobrepostos.

A configuração absoluta da unidade de açúcar foi definida por método por CG-EM³⁵ e a reação de hidrólise ácida de **9** resultou em glicopirranose.³⁶ A configuração absoluta foi identificada como D-glicopirranose por comparação com o tempo de retenção do padrão de D-glicopirranose.

Os compostos conhecidos **8–10** foram identificados pela comparação de dados espectroscópicos e espectrométricos com dados da literatura. Os compostos foram definidos como cnidimol C (**8**),²¹ monnierisídeo A (**9**)²² e undulatosídeo A (**10**).²³

O ensaio de estimulação de macrófagos J774³⁷ foi usado como um screening para a identificação do potencial anti-inflamatório dos compostos **1–5** e **7–10** isolados de *Evolvulus linarioides*. Inicialmente, o efeito dos compostos sobre a viabilidade dos macrófagos J774 foi avaliado para descartar a influência de eventual citotoxicidade. Os compostos não induziram citotoxicidade em macrófagos J774 em concentrações inferiores à 150 μ M, exibindo CC₅₀ > 190 μ M (Tabela 6). Com base nesses resultados, os estudos subsequentes foram realizados dentro de faixas não citotóxicas.

O potencial anti-inflamatório dos compostos foi avaliado pela sua capacidade de inibir a produção de NO e IL-1 β por macrófagos estimulados com LPS e IFN- γ .^{37,38} Todos os compostos testados reduziram a produção do NO por macrófagos estimulados (Tabela 6). Os compostos **1, 2, 4, 5, 7 e 8** apresentaram efeito inibitório com IC₅₀'s de 30,3, 17,8, 28,2, 34,2, 25,3 e 22,4 μ M, respectivamente. Já os compostos **3, 9 e 10** apresentaram inibição moderada da produção de NO, com IC₅₀'s de 52,2, 66,3 e 51,2 μ M, respectivamente. A dexametasona,

utilizada como padrão-ouro, inibiu a produção de NO pelos macrófagos com IC₅₀ de 5,2 μ M. Corroborando seu potencial anti-inflamatório, todos os compostos inibiram a produção da citocina pró-inflamatória IL-1 β por macrófagos estimulados (Tabela 7, $p < 0,01$). Os compostos **1**, **2**, **4**, **7** e **10** reduziram em 92,5%, 93,0%, 88,5%, 96,2% e 89,6% os níveis de IL-1 β , exibindo eficácia superior à dexametasona, cuja inibição foi de 87,1%. Os compostos **3**, **5**, **8** e **9** inibiram em 75,0%, 80,6%, 72,7% e 85,5% a produção dessa citocina. Esses resultados sugerem que esses compostos apresentam potencial anti-inflamatório. Dentre os compostos conhecidos, a atividade de inibição da atividade de NO do composto **10** já foi descrita anteriormente.²³ Este é o primeiro relato de derivados do hamamelitol com atividade anti-inflamatória. Dessa forma, estes resultados corroboram com o uso tradicional de espécies de *Evolvulus* para o tratamento de processos inflamatórios.

Tabela 6 – Compostos **1–5** e **7–10** Induz Baixa Citotoxicidade e Efeito Inibitório na Produção de NO pela Estimulação de Macrófagos J774^a

composto	IC ₅₀ (μ M) ^b	CC ₅₀ (μ M) ^c
1	30,3 $\pm$ 2,1	194
2	17,8 $\pm$ 0,8	193
3	52,2 $\pm$ 4,2	273
4	28,2 $\pm$ 0,9	198
5	34,2 $\pm$ 1,6	206
7	25,3 $\pm$ 1,0	209
8	22,4 $\pm$ 0,7	256
9	66,3 $\pm$ 5,9	201
10	51,2 $\pm$ 5,5	191
Dexametasona ^d	5,2 $\pm$ 1,5	
Violeta genciana ^d		0,8 $\pm$ 0,1

^aValores expressos como média $\pm$ erro padrão da média, $n = 4$. ^bIC₅₀: 50% concentração inibitória.

^cCC₅₀: 50% concentração citotóxica. ^dControle positivo.

Tabela 7 – Compostos **1–5** e **7–10** Inibiram a Produção de IL-1 β por Macrófagos J774 Estimulados^a

compostos	concentrações de IL-1 β (pg/mg)				inibição máxima (%)
	controle	6,3 μ M	25 μ M	100 μ M	
1	26,1 $\pm$ 3,4	28,6 $\pm$ 1,8	14,0 $\pm$ 2,3	1,5 $\pm$ 0,9 ^b	92,5
2	14,1 $\pm$ 1,6	14,3 $\pm$ 0,9	7,0 $\pm$ 1,1 ^b	0,7 $\pm$ 0,4 ^b	93,0
3	10,6 $\pm$ 1,8	10,2 $\pm$ 2,4	6,5 $\pm$ 0,7	2,4 $\pm$ 0,5 ^b	75,0

4	9,6 ± 1,8	7,3 ± 0,6	9,3 ± 0,5	1,1 ± 0,6 ^b	88,5
5	20,1 ± 3,4	15,6 ± 2,0	14,6 ± 2,2	3,8 ± 1,2 ^b	80,6
7	9,6 ± 1,8	8,4 ± 2,5	8,6 ± 2,1	0,3 ± 0,3 ^b	96,2
8	14,3 ± 1,0	15,7 ± 0,3	10,5 ± 0,5	3,9 ± 0,3 ^b	72,7
9	14,3 ± 1,0	14,6 ± 1,9	9,1 ± 1,5	2,0 ± 0,5 ^b	85,5
10	15,0 ± 2,1	14,5 ± 1,0	9,5 ± 2,3	1,5 ± 0,7 ^b	89,6
dexametasona ^c					87,1

^aValores expressos como média ± erro padrão da média, $n = 5$. ^bDiferente do grupo controle tratado com veículo ($p < 0,01$). ^cControle positivo (10 μ M).

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos Experimentais. Rotação específica foi medida a 25 °C em um polarímetro JASCO P-2000 (Easton, MD, USA). Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier foram adquiridos em espectrofotômetro Bruker Vertex 70 (Bruker, Billerica, MA, USA). Os experimentos de RMN 1D e 2D foram realizados usando um espectrômetro Bruker Avance III HD (400 MHz e 100 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente) e Varian RMN (500 MHz e 125 MHz para ^1H e ^{13}C , respectivamente). Os picos residuais de solventes deuterados foram utilizados como referência. As análises de IESEMAR foram realizadas em espectrômetro de massas microTOFII ESI-TOF, e as análises de IESEM/EM foram obtidas em AmazonX ESI-IT (Bruker). O isolamento, purificação e análise dos constituintes químicos foram realizados utilizando métodos cromatográficos, incluindo CC, CCD e CLAE. Para o isolamento dos compostos foram utilizadas coluna semipreparativa de fase reversa C_{18} (Venusil XBP; 10 mm $\times$ 250 mm $\times$ 10 μm) e coluna preparativa de fase reversa C_{18} (ACE; 250 mm $\times$ 21,2 mm $\times$ 5 μm). Sílica gel (Silicycle[®], tamanho de partícula 0,040–0,063 mm) foi empregada em CC. Placas de sílica gel (Whatman) foram usadas para análise de CCD, em camada de 0,25 mm de espessura disposta em suporte de alumínio (20 $\times$ 20 cm). Os compostos foram analisados por luz ultravioleta nos comprimentos de 254 e 366 nm (Boitton brand apparatus) e pela impregnação das placas em câmara saturada com vapores de iodo.

Material Vegetal. As partes aéreas frescas de *E. linarioides* foram coletadas em Matureia, Paraíba, Brasil (07°16'01"S, 37°21'05"W) em junho de 2009 e identificado por M.

de F. A. O registro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi obtido pelo número A18E40E. Uma exsicata desta espécie (AGRA et al. 6970) encontra-se depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB), Universidade Federal da Paraíba, Brasil.

Extração e Isolamento. O pó das partes aéreas de *E. linarioides* (1,5 kg) foi submetido a extração com metanol (três vezes por 72 h) a temperatura ambiente. A solução extrativa resultante foi concentrado sob pressão reduzida em rotaevaporador a 40 °C, obtendo-se 300 g, dos quais 100 g foi suspenso em MeOH–H₂O (7:3) e particionado sucessivamente com *n*-hexano, CH₂Cl₂, AcOEt e *n*-BuOH, resultando em 28,5, 24,0, 18,0 e 21,3 g de resíduo, respectivamente. A fase *n*-hexano (8,5 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica utilizando-se como fase estacionária sílica gel e eluída com *n*-hexano/AcOEt (1:0–0:1) e AcOEt/MeOH (1:0–8:2), obtendo-se 137 frações (H1–137). Os eluatos foram monitorados por CCD. Frações com o mesmo perfil cromatográfico foram combinadas. As frações reunidas H110–113 (150 mg) foram submetidas a CLAE semipreparativo de fase reversa utilizando MeOH–H₂O (3:7, eluição isocrática, 3 mL/min) resultando em **4** (10,2 mg, *t_R* = 42,7 min). Fração H78–108 (112,2 mg) foi fracionada por CLAE semipreparativo de fase reversa utilizando MeOH–H₂O (3:7, eluição isocrática). O pico com tempo de retenção de 87 min (35,5 mg) foi purificado por CLAE semipreparativo de fase reversa utilizando as mesmas condições fornecendo o composto **5** (13,5 mg, *t_R* = 60,2 min). A fração H114–115 (72,1 mg) foi purificada por cristalização em AcOEt, obtendo-se **3** (11,2 mg) como cristais incolores. A fase CH₂Cl₂ (3,5 g) foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel e eluída com *n*-hexano/AcOEt (1:0–0:1) e AcOEt/MeOH (1:0–8:2) gerando 102 frações (D1–102). A separação da fração D53–59 (61,2 mg) por CLAE semipreparativo de fase reversa utilizando MeOH–H₂O (55:45, eluição isocrática) resultou em **1** (15,0 mg, *t_R* = 27,6 min) e **2** (14,5 mg, *t_R* = 31,3 min). A fração D76–86 (154 mg) foi fracionada por CLAE semipreparativo de fase reversa usando como fase

móvel H₂O acidificada com 0,1% de ácido fórmico e MeOH, e o gradiente foi 0–50 min (25% B), 50–55 min (25%–35% B), 55–127 min (35% B), 127–130 min (35%–100% B), 130–150 min (100% B), 150–155 min (100%–25% B), 155–175 min (25% B), resultando em **7** (8,7 mg, t_R = 96,7 min) e **8** (4,5 mg, t_R = 46,7 min). A fase *n*-BuOH (10 g) foi submetida a cromatografia em coluna por Sephadex LH-20 e eluída com metanol, gerando 68 frações (B1-68). As frações reunidas B30–37 (250 mg) foi purificada por CLAE semipreparativo de fase reversa usando H₂O acidificada com 0,1% de ácido fórmico e MeOH como eluente (17:83, eluição isocrática, 8 mL/min) resultando nos compostos **6** (0,5 mg, t_R = 31,4 min), **9** (45,4 mg, t_R = 64,4 min) e **10** (4,8 mg, t_R = 62,8 min).

Linariofileno A (1): sólido amorfo branco; $[\alpha]^{25}_D$ –34 (*c* 0,1, MeOH); IV (KBr) $\nu_{\max}$ 3401, 2922, 2850, 1648, 1450, 1440, 1012 cm^{–1}; RMN de ¹H e ¹³C, Tabela 3; IESEMAR modo positivo m/z 277,1762 [M + Na]⁺ (calculado para C₁₅H₂₆O₃Na, 277,1774).

Linariofileno B (2): sólido amorfo branco; $[\alpha]^{25}_D$ –41 (*c* 0,1, MeOH); IV (KBr) $\nu_{\max}$ 3341, 2974, 2882, 1662, 1451, 1378, 1085, 1044, 877 cm^{–1}; RMN de ¹H e ¹³C, Tabela 3; IESEMAR modo positivo m/z 277,1760 [M + Na]⁺ (calculado para C₁₅H₂₆O₃Na, 277,1774).

Linariofileno C (3): sólido amorfo branco; pf 133–134 °C; $[\alpha]^{25}_D$ –72 (*c* 0,1, MeOH); IV (KBr) $\nu_{\max}$ 3535, 2958, 2926, 2856, 1722, 1454, 1386, 1255, 1043, 854 cm^{–1}; RMN de ¹H e ¹³C, Tabela 3; IESEMAR modo positivo m/z 319,1866 [M + Na]⁺ (calculado para C₁₇H₂₈O₄Na, 319,1880).

Linaritol A (4): óleo incolor; $[\alpha]^{25}_D$ +13 (*c* 0,1, MeOH); IV (filme) $\nu_{\max}$ 3426, 2957, 2925, 2851, 1729, 1644, 1454, 1378, 1234, 1149, 1046 cm^{–1}; RMN de ¹H e ¹³C, Tabela 4; IESEMAR modo positivo m/z 535,2152 [M + Na]⁺ (calculado para C₂₅H₃₆O₁₁Na, 535,2150).

Linaritol B (5): óleo incolor; $[\alpha]^{25}_D$ +11 (*c* 0,1, MeOH); IV (filme) $\nu_{\max}$ 3417, 2955, 2918, 2850, 1720, 1650, 1456, 1385, 1230, 1149, 1045 cm^{–1}; RMN de ¹H e ¹³C, Tabela 4; IESEMAR modo positivo m/z 511,2534 [M + H]⁺ (calculado para C₂₆H₃₉O₁₀, 511,2538).

Linariosídeo A (6): óleo incolor; $[\alpha]_D^{25} -18$ (c 0,1, MeOH); RMN de ^1H e ^{13}C , Tabela 5; IESEMAR modo negativo m/z 369,0808 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{O}_{10}$, 369,0827).

Linariosídeo B (7): pó amorfo marrom; $[\alpha]_D^{25} -28$ (c 0,1, MeOH); RMN de ^1H e ^{13}C , Tabela 5; IESEMAR modo negativo m/z 469,1358 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_{12}$, 469,1351).

Cálculos de ECD. Análises conformacionais dos compostos (**1–5** e **7**) foram realizados pelo programa Spartan'14 utilizando os cálculos de mecânica molecular usando o campo de força MMFF94. Confómeros com janela de energia de 10 kcal/mol foram gerados e otimizados usando cálculos DFT no nível B3LYP/6-31G(d). Confómeros com a distribuição de Boltzmann maior do que 1% foram escolhidos por cálculos de ECD em CH_3CN no nível B3LYP/6-311 +G(2d,p). O modelo de solvente IEF-PCM para CH_3CN foi usado. Os espectros de ECD calculados foram obtidos por DFT e DFT tempo-dependente usando Gaussian 09 e analisados usando SpecDis v1.71.

Hidrolise Ácida e Análise por CG-EM. 5 mg da amostra de **9** foi refluxada por 3 h a 70 °C em uma solução MeOH–2 N HCl (5 mL), a solução foi concentrada sob pressão reduzida e diluída em água para extração com CHCl_3 , a aglicona foi recuperada na fase orgânica e a fase aquosa foi concentrada e submetida a derivatização e análise por CG-EM.³⁶ A fração glicosídica foi derivatizada pela solubilização em 60 μL de piridina, e então pela adição de 100 μL do reagente derivatizante BSTFA (*N,O*-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida). A mistura da reação foi aquecida a 70 °C por 30 min para promover o processo de derivatização.³⁹ A amostra foi analisada por CG-EM com o programa de temperatura iniciando a 100 °C por 1 min e depois um gradiente de temperatura de 100 a 290 °C com uma taxa de 10 °C/min e permanecendo em 290 °C por 8 min. A temperatura do injetor foi configurada a 280 °C. O fluxo de gás (He) foi de 0,8 mL/min.³⁵ O padrão de D-glicose foi derivatizado e analisado pelo mesmo protocolo. A configuração absoluta da unidade osídica foi determinada pela comparação entre os tempos de

retenção do padrão D-glicose ($t_R = 12,95$ min) e a fração glicosídica ($t_R = 12,99$ min), assim resultando na identificação da D-glicose do composto **9**. Os dados foram comparados com a biblioteca NIST08 e ambas as amostras foram identificadas pela NIST como D-glicose, 5TMS.

Ensaio de Citotoxicidade. Para determinar a citotoxicidade dos compostos, macrófagos murinos da linhagem de células J774 foram semeados em placas de 96 poços a densidade de células de 2×10^5 células/poço em meio Eagle modificado por Dulbecco's (DMEM; Life Technologies, GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD, EUA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB; GIBCO) e 50 $\mu\text{g/mL}$ de gentamicina (Novafarma, Anápolis, GO, Brasil), e incubada durante a noite a 37 °C e 5% de CO₂. As células foram estimuladas com LPS (500 ng/mL, Sigma) e IFN- γ (5 ng/mL; Sigma), os compostos **1–5** e **7–10** foram adicionadas em sete concentrações entre 6,25 a 200 μM em quintuplicata e as placas foram incubadas por 72 h. Alamar Blue (Invitrogen, Carlsbad, CA) foi adicionado às placas (20 μL /poço), seguido por incubação por 12 h. As placas foram lidas a 570 nm e 600 nm. Violeta genciana (Synth, São Paulo, Brasil) foi usada como controle positivo. Três experimentos independentes foram realizados.²⁴

Ensaio de Produção de Óxido Nítrico e Citocina. Para as determinações de NO e citocina (IL-1 β), células J774 foram semeadas a placas de 96-poços a 2×10^5 células/ poço em meio DMEM suplementado com 10% de SBF e 50 $\mu\text{g/mL}$ de gentamicina por 2 h a 37 °C e 5% de CO₂.³⁷ As células foram então estimuladas com LPS (500 ng/mL, Sigma) e IFN- γ (5 ng/mL; Sigma) na presença de diferentes concentrações dos compostos testados (6,25–100 μM), dexametasona (0,00064–10 μM) ou de veículo e incubado a 37 °C. Sobrenadantes sem células foram coletados em 24 h e mantidos a –80 °C. Concentrações de IL-1 β em sobrenadantes de cultura de macrófagos foram determinadas pelo ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) usando o kit DuoSet da R&D Systems (Minneapolis, MN, USA) seguindo as instruções do

fabricante e os resultados são expressos em picogramas de IL-1 β por miligramas de proteína. A quantificação de NO foi realizada pelo método de Griess.³⁸

Análise Estatística. Dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. Comparações entre os tratamentos foram feitas usando one-way ANOVA e o teste de Tukey. Todos os dados foram analisados usando o programa Prism 5 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Diferenças estatísticas foram consideradas significantes se $p < 0,05$.

CONTEÚDO ASSOCIADO

Material Suplementar. Dados de IESEMAR e RMN dos compostos **1–10** estão disponíveis como Material Suplementar.

INFORMAÇÕES DOS AUTORES

Autor Correspondente. *Tel: +55 83 32167427. E-mail: josean@lftf.ufpb.br.

Contribuições dos Autores. O manuscrito foi escrito pela contribuição de todos os autores. Todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito. Todos os autores contribuíram igualmente.

Notas. Os autores declaram nenhum interesse financeiro.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Financiamento Código 001) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento e bolsas de estudo. Agradecemos também a colaboração da Rede Norte-Nordeste de Fitoterápicos (INCT-RENNOFITO) e o Instituto de Química – Campus de Araraquara – UNESP. Dr. A Leyva (USA) auxiliou na tradução para inglês e edição do manuscrito.

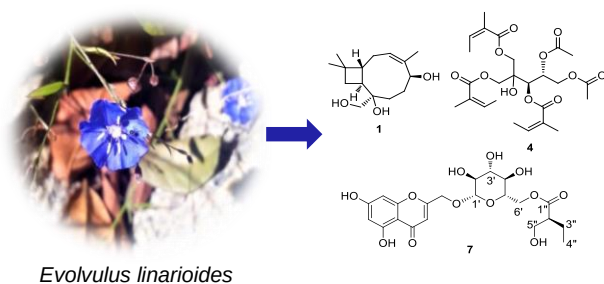
REFERÊNCIAS

- (1) Van Ooststroom, S. J. Mededeelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijks, Universiteit te Utrecht, 1934.
- (2) Austin, D. F. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *117*, 185–198.
- (3) Toki, K.; Saito, N.; Kawano, K.; Lu, T. S.; Shigihara, A.; Honda, T. *Phytochemistry* **1994**, *36* (3), 609–612.
- (4) Gupta, P.; Sharma, U.; Gupta, P.; Siripurapu, K. B.; Maurya, R. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21* (5), 1116–1122.
- (5) Kumar, M.; Ahmad, A.; Rawat, P.; Khan, M. F.; Rasheed, N.; Gupta, P.; Sathiamoorthy, B.; Bhatia, G.; Palit, G.; Maurya, R. *Fitoterapia* **2010**, *81* (4), 234–242.
- (6) Fan, B.; Lu, Y.; Yang, M.; Li, J.; Chen, G. *Org. Lett.* **2019**, *21* (16), 6548–6551.
- (7) Gupta, P.; Akanksha; Siripurapu, K. B.; Ahmad, A.; Palit, G.; Arora, A.; Maurya, R. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55* (5), 771–775.
- (8) Anthonsen, T.; Hagen, S.; Kazi, M. A.; Shah, S. W.; Tagar, S. *Acta Chem. Scand.* **1976**, *30b* (1), 91–93.
- (9) Noiraud, N.; Maurousset, L.; Lemoine, R. *Plant Physiol. Biochem.* **2001**, *39* (9), 717–728.
- (10) Williamson, J. D.; Jennings, D. B.; Guo, W.-W.; Pharr, D. M.; Ehrenshaft, M. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **2002**, *127* (4), 467–473.
- (11) Loescher, W. H. *Physiol. Plant.* **1987**, *70* (3), 553–557.

- (12) Ayyanar, M.; Ignacimuthu, S. *J. Ethnopharmacol.* **2011**, *134* (3), 851–864.
- (13) Lekshmi, U. M. D.; Reddy, P. N. *Turkish J. Biol.* **2011**, *35* (5), 611–618.
- (14) Mia, M. M. ul K.; Kadir, M. F.; Hossan, M. S.; Rahmatullah, M. *Am. J. Sustain. Agric.* **2009**, *3* (2), 165–171.
- (15) Yadav, M. K.; Singh, S. K.; Singh, M.; Mishra, S. S.; Singh, A. K.; Tripathi, J. S.; Tripathi, Y. B. *Maced. J. Med. Sci.* **2019**, *7* (7), 1059–1066.
- (16) Hernández, J.; Volpato, G. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, *90*, 293–316.
- (17) Franceschi, C.; Campisi, J. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* **2014**, *69*, S4–S9.
- (18) Lima, M. D. S.; Evangelista, A. F.; Santos, G. G. L. Dos; Ribeiro, I. M.; Tomassini, T. C. B.; Soares, M. B. P.; Villarreal, C. F. *J. Nat. Prod.* **2014**, *77* (11), 2397–2403.
- (19) Fujiwara, N.; Kobayashi, K. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy* **2005**, *4* (3), 281–286.
- (20) Ferreira, P. P. A.; Simão-bianchini, R.; Miotto, S. T. S. *Iheringia, Série Botânica* **2014**, *69* (1), 201–214.
- (21) Baba, K.; Kawanishi, H.; Taniguchi, M.; Kozawa, M. *Phytochemistry* **1992**, *31* (4), 1367–1370.
- (22) Kim, S. B.; Ahn, J. H.; Han, S. B.; Hwang, B. Y.; Kim, S. Y.; Lee, M. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22* (19), 6267–6271.
- (23) Peng, B.; Bai, R. F.; Li, P.; Han, X. Y.; Wang, H.; Zhu, C. C.; Zeng, Z. P.; Chai, X. Y. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2016**, *18* (1), 59–64.
- (24) Opretzka, L. C. F.; do Espírito-Santo, R. F.; Nascimento, O. A.; Abreu, L. S.; Alves, I.

- M.; Döring, E.; Soares, M. B. P.; Velozo, E. da S.; Laufer, S. A.; Villarreal, C. F. *Int. Immunopharmacol.* **2019**, 72, 31–39.
- (25) Geroushi, A.; Auzi, A. A.; Elhwuegi, A. S.; Elzawam, F.; Elsherif, A.; Nahar, L.; Sarker, S. D. *Phyther. Res.* **2011**, 25 (5), 774–777.
- (26) Durán-Patrón, R.; Aleu, J.; Hernández-Galán, R.; Collado, I. G. *J. Nat. Prod.* **2000**, 63 (1), 44–47.
- (27) Hou, J.-Q.; Fan, C.-L.; Pei, X.; Zhang, P.-L.; Deng, F.; Jiang, W.-Q.; Wang, G.-C.; Zhang, X.-Q.; Ye, W.-C.; Wang, H. *J. Nat. Prod.* **2019**.
- (28) Durán, R.; Corrales, E.; Hernández-Galán, R.; Collado, I. G. *J. Nat. Prod.* **1999**, 62 (1), 41–44.
- (29) Lichtenthaler, F. W. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010.
- (30) Pičmanová, M.; Møller, B. L. *Glycobiology* **2016**, 26 (5), 430–442.
- (31) Spellman, M. C.; McNeli, M.; Darvill, A. G.; Albersheim, P.; Henrick, K. *Carbohydr. Res.* **1983**, 122, 115–129.
- (32) Schilling, G.; Keller, A. *Liebigs Ann. Chem.* **1977**, 1475–1479.
- (33) Sellmair, J.; Beck, E.; Kandler, O. *Z. Pflanzenphysiol.* **1968**, 59, 70–79.
- (34) Wang, P.; Xie, C.; An, L.; Yang, X.; Xi, Y.; Yuan, S.; Zhang, C.; Tuerhong, M.; Jin, D. Q.; Lee, D.; et al. *J. Nat. Prod.* **2019**, 82 (2), 183–193.
- (35) Fu, X. W.; Iga, M.; Kimura, M.; Yamaguchi, S. *Early Hum. Dev.* **2000**, 58 (1), 41–55.

- (36) Ma, L. Y.; Ma, S. C.; Wei, F.; Lin, R. C.; But, P. P. H.; Lee, S. H. S.; Lee, S. F. *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51* (11), 1264–1267.
- (37) Espírito-Santo, R. F.; Meira, C. S.; Costa, R. D. S.; Souza Filho, O. P.; Evangelista, A. F.; Trossini, G. H. G.; Ferreira, G. M.; Velozo, E. D. S.; Villarreal, C. F.; Soares, M. B. P. *PLoS One* **2017**, *12* (6), 1–20.
- (38) Green, L. C.; Wagner, D. A.; Glogowski, J.; Skipper, P. L.; Wishnok, J. S.; Tannenbaum, S. R. *Anal. Biochem.* **1982**, *126* (1), 131–138.
- (39) Haas, M.; Lamour, S.; Trapp, O. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1568*, 160–167.



Material Suplementar

Compostos Bioativos das Partes Aéreas de *Evolvulus linarioides*

Laiane C. O. Pereira,[†] Lucas S. Abreu,[†] Joanda P. R. e Silva,[†] Francisca S. V. L. Machado,[†] Cinthia S. Queiroga,[†] Renan F. do Espírito-Santo,[‡] Diego F. de Agnelo-Silva,[§] Cristiane F. Villarreal,[§] Maria de F. Agra,[†] Marcus T. Scotti,[†] Vicente C. de O. Costa,[†] Josean F. Tavares,[†] e Marcelo S. da Silva^{*,†}

[†]Programa de pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil

[‡]Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brasil

[§]Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil

Material Suplementar

Dados físico-químicos dos compostos conhecidos isolados de <i>Evolvulus linarioides</i>	73
Figura S1. Espectro de RMN de ^1H de 1 a 400 MHz em metanol- d_4	74
Figura S2. Espectro de RMN de ^1H de 1 a 400 MHz em metanol- d_4 (expansão)	75
Figura S3. Espectro de RMN de ^{13}C de 1 a 100 MHz a metanol- d_4	76
Figura S4. Espectro de HSQC de 1	77
Figura S5. Espectro de HSQC de 1 (expansão).	78
Figura S6. Espectro de HMBC de 1	79
Figura S7. Espectro de HMBC de 1 (expansão).	80
Figura S8. Espectro de HMBC de 1 (expansão).	81
Figura S9. Espectro de HMBC de 1 (expansão).	82
Figura S10. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 1	83
Figura S11. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 1 (expansão).	84
Figura S12. Espectro de ^1H - ^1H NOESY de 1	85
Figura S13. Espectro de ^1H - ^1H NOESY de 1 (expansão).	86
Figura S14. Espectro de HRESIMS de 1	87
Figura S15. Espectro de RMN de ^1H de 2 a 400 MHz em metanol- d_4 .	88
Figura S16. Espectro de RMN de ^1H de 2 a 400 MHz em metanol- d_4 (expansão)	89
Figura S17. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de 2 a 100 MHz em metanol- d_4 .	90
Figura S18. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT de 2 a 100 MHz em metanol- d_4 .	91
Figura S19. Espectro de HSQC de 2 .	92
Figura S20. Espectro de HSQC de 2 (expansão).	93
Figura S21. Espectro de HSQC de 2 (expansão).	94
Figura S22. Espectro de HMBC de 2 .	95
Figura S23. Espectro de HMBC de 2 (expansão).	96
Figura S24. Espectro de HMBC de 2 (expansão).	97
Figura S25. Espectro de HMBC de 2 (expansão).	98
Figura S26. Espectro de HMBC de 2 (expansão).	99
Figura S27. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 2 .	100
Figura S28. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 2 (expansão).	101
Figura S29. Espectro de NOESY ^1H - ^1H de 2 .	102
Figura S30. Espectro de NOESY ^1H - ^1H de 2 (expansão).	103
Figura S31. Espectro de HRESIMS de 2 .	104
Figura S32. Espectro de RMN de ^1H de 3 a 500 MHz em acetona- d_6	105
Figura S33. Espectro de RMN de ^1H de 3 a 500 MHz em acetona- d_6 (expansão)	106
Figura S34. Espectro de RMN de ^{13}C de 3 a 125 MHz em acetona- d_6	107
Figura S35. Espectro de RMN de ^{13}C de 3 a 125 MHz em acetona- d_6 (expansão)	108
Figura S36. Espectro de HSQC de 3	109
Figura S37. Espectro de HSQC de 3 (expansão).	110
Figura S38. Espectro de HMBC de 3	111
Figura S39. Espectro de HMBC de 3 (expansão).	112

Figura S40. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 3	113
Figura S41. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 3 (expansão).	114
Figura S42. Espectro de ^1H - ^1H NOESY de 3	115
Figura S43. Espectro de ^1H - ^1H NOESY de 3 (expansão).	116
Figura S44. Espectro de HRESIMS de 3	117
Figura S45. Espectro de RMN de ^{13}C de 4 a 100 MHz em CDCl_3	118
Figura S46. Espectro de RMN de ^{13}C de 4 a 100 MHz em CDCl_3 (expansão).	119
Figura S47. Espectro de RMN de ^{13}C de 4 a 100 MHz em CDCl_3 (expansão).	120
Figura S48. Espectro de RMN de ^1H de 4 a 400 MHz em CDCl_3	121
Figura S49. Espectro de RMN de ^1H de 4 a 400 MHz em CDCl_3 (expansão).	122
Figura S50. Espectro de RMN de ^1H de 4 a 400 MHz em CDCl_3 (expansão).	123
Figura S51. Espectro de HSQC de 4	124
Figura S52. Espectro de HSQC de 4 (expansão).	125
Figura S53. Espectro de HSQC de 4 (expansão).	126
Figura S54. Espectro de HMBC de 4	127
Figura S55. Espectro de HMBC de 4 (expansão).	128
Figura S56. Espectro de HMBC de 4 (expansão).	129
Figura S57. Espectro de HMBC de 4 (expansão).	130
Figura S58. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 4	131
Figura S59. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 4 (expansão).	132
Figura S60. Espectro de ^1H - ^1H TOCSY de 4	133
Figura S61. Espectro de ^1H - ^1H TOCSY de 4 (expansão).	134
Figura S62. Espectro de HRESIMS de 4	135
Figura S63. Espectro de RMN de ^{13}C de 5 a 400 MHz em CDCl_3	136
Figura S64. Espectro de RMN de ^{13}C de 5 em CDCl_3 (expansão).	137
Figura S65. Espectro de RMN de ^1H de 5 em CDCl_3	138
Figura S66. Espectro de RMN de ^1H de 5 a 400 MHz em CDCl_3 (expansão).	139
Figura S67. Espectro de RMN de ^1H de 5 a 400 MHz em CDCl_3 (expansão).	140
Figura S68. Espectro de HSQC de 5	141
Figura S69. Espectro de HSQC de 5 (expansão).	142
Figura S70. Espectro de HMBC de 5	143
Figura S71. Espectro de HMBC de 5 (expansão).	144
Figura S72. Espectro de HMBC de 5 (expansão).	145
Figura S73. Espectro de HMBC de 5 (expansão).	146
Figura S74. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 5	147
Figura S75. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 5 (expansão).	148
Figura S76. Espectro de ^1H - ^1H TOCSY de 5	149
Figura S77. Espectro de ^1H - ^1H TOCSY de 5 (expansão).	150
Figura S78. Espectro de HRESIMS de 5 .	151
Figura S79. Espectro de RMN de ^1H de 6 a 400 MHz em metanol- d_4	152
Figura S80. Espectro de RMN de ^1H de 6 a 400 MHz em metanol- d_4 (expansão).	153
Figura S81. Espectro de RMN de ^{13}C de 6 a 100 MHz em metanol- d_4	154
Figura S82. Espectro de HSQC de 6 .	155
Figura S83. Espectro de HSQC de 6 (expansão).	156

Figura S84. Espectro de HMBC de 6	157
Figura S85. Espectro de HMBC de 6 (expansão).	158
Figura S86. Espectro de HRESIMS de 6	159
Figura S87. Espectro de RMN de ^{13}C -BB de 7 a 100 MHz em metanol- d_4	160
Figura S88. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT de 7 a 100 MHz em metanol- d_4	161
Figura S89. Espectro de RMN de ^1H de 7 a 400 MHz em metanol- d_4	162
Figura S90. Espectro de RMN de ^1H de 7 a 400 MHz em metanol- d_4 (expansão)	163
Figura S91. Espectro de HSQC de 7	164
Figura S92. Espectro de HSQC de 7 (expansão).	165
Figura S93. Espectro de HSQC de 7 (expansão).	166
Figura S94. Espectro de HMBC de 7	167
Figura S95. Espectro de HMBC de 7 (expansão).	168
Figura S96. Espectro de HMBC de 7 (expansão).	169
Figura S97. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 7	170
Figura S98. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 7 (expansão).	171
Figura S99. Espectro de HRESIMS de 7	172

Dados físico-químicos dos compostos conhecidos isolados de *Evolvulus linarioides*

Cnidimol C (8): Pó amorfo branco; $C_{10}H_8O_5$; RMN de 1H (500 MHz, metanol- d_4): δ 6,26 (1H, s, H-3), 6.18 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6), 6.31 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8), 4.44 (2H, d, $J = 1$ Hz, H-8); RMN de ^{13}C (125 MHz, metanol- d_4): δ 171.5 (C, C-2), 106.6 (CH, C-3), 184.0 (C, C-4), 105.5 (C, C-4a), 163.3 (C, C-5), 100.1 (CH, C-6), 166.1 (C, C-7), 95.0 (CH, C-8), 159.6 (C, C-8a), 61.4 (CH₂, C-9). HRESIMS m/z 207.0289 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{10}H_7O_5$, 207.0299).

Monnierisídeo A (9): Pó amorfo branco; $C_{16}H_{18}O_{10}$; RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4): δ 6.40 (1H, s, H-3), 6.15 (1H, s, H-6), 6.28 (1H, s, H-8), 4.76 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-9a), 4.61 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, H-9b), 4.41 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.27 (1H, m, H-2'), 3.28 (1H, m, H-3'), 3.29 (1H, m, H-4'), 3.65 (1H, m, H-5'), 3.87 (1H, d, $J = 11.8$ Hz, H-6a'), 3.67 (1H, dd, $J = 10.5, 3.6$ Hz, H-6b'); RMN de ^{13}C (100 MHz, metanol- d_4): δ 167.6 (C, C-2), 108.2 (CH, C-3), 183.7 (C, C-4), 105.2 (C, C-4a), 163.2 (C, C-5), 100.7 (CH, C-6), 167.8 (C, C-7), 95.5 (CH, C-8), 159.7 (C, C-8a), 67.4 (CH₂, C-9), 104.1 (CH, C-1'), 75.0 (CH, C-2'), 78.2 (CH, C-3'), 71.5 (CH, C-4'), 77.9 (CH, C-5'), 62.7 (CH₂, C-6'). HRESIMS m/z 369.0808 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{16}H_{17}O_{10}$, 369.0827).

Undulatosídeo A (10): Pó amorfo branco; $C_{16}H_{18}O_9$; RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4): δ 6,11 (1H, s, H-3), 6.46 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-6), 6.66 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-8), 2.38 (3H, s, Me-9), 5.02 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 3.46 (1H, m, H-2'), 3.46 (1H, m, H-3'), 3.38 (1H, m, H-4'), 3.38 (1H, m, H-5'), 3.90 (1H, dd, $J = 11.8, 2.0$ Hz, H-6a'), 3.70 (1H, dd, $J = 12.4, 5.6$ Hz, H-6b'); RMN de ^{13}C (100 MHz, metanol- d_4): δ 170.0 (C, C-2), 109.3 (CH, C-3), 184.2 (C, C-4), 106.8 (C, C-4a), 162.9 (C, C-5), 101.0 (CH, C-6), 164.7 (C, C-7), 95.9 (CH, C-8), 159.4 (C, C-8a), 20.3 (CH₃, C-9), 101.6 (CH, C-1'), 74.7 (CH, C-2'), 78.3 (CH, C-3'), 71.2 (CH, C-4'), 77.8 (CH, C-5'), 62.4 (CH₂, C-6'). HRESIMS m/z 353.0872 $[M - H]^-$ (calcd for $C_{16}H_{17}O_9$, 353.0878).

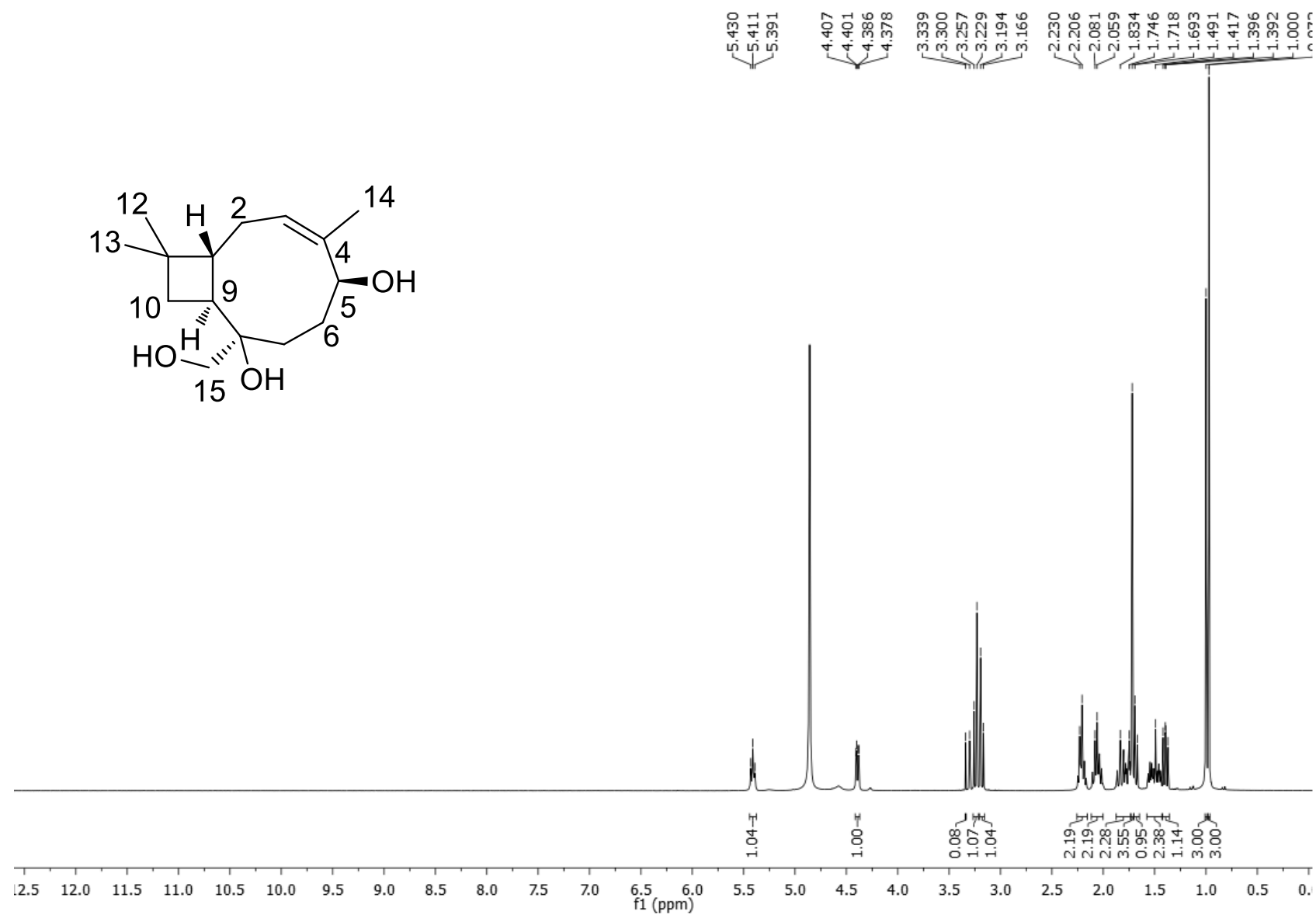


Figura S1. Espectro de RMN de ^1H de **1** a 400 MHz em metanol- d_4

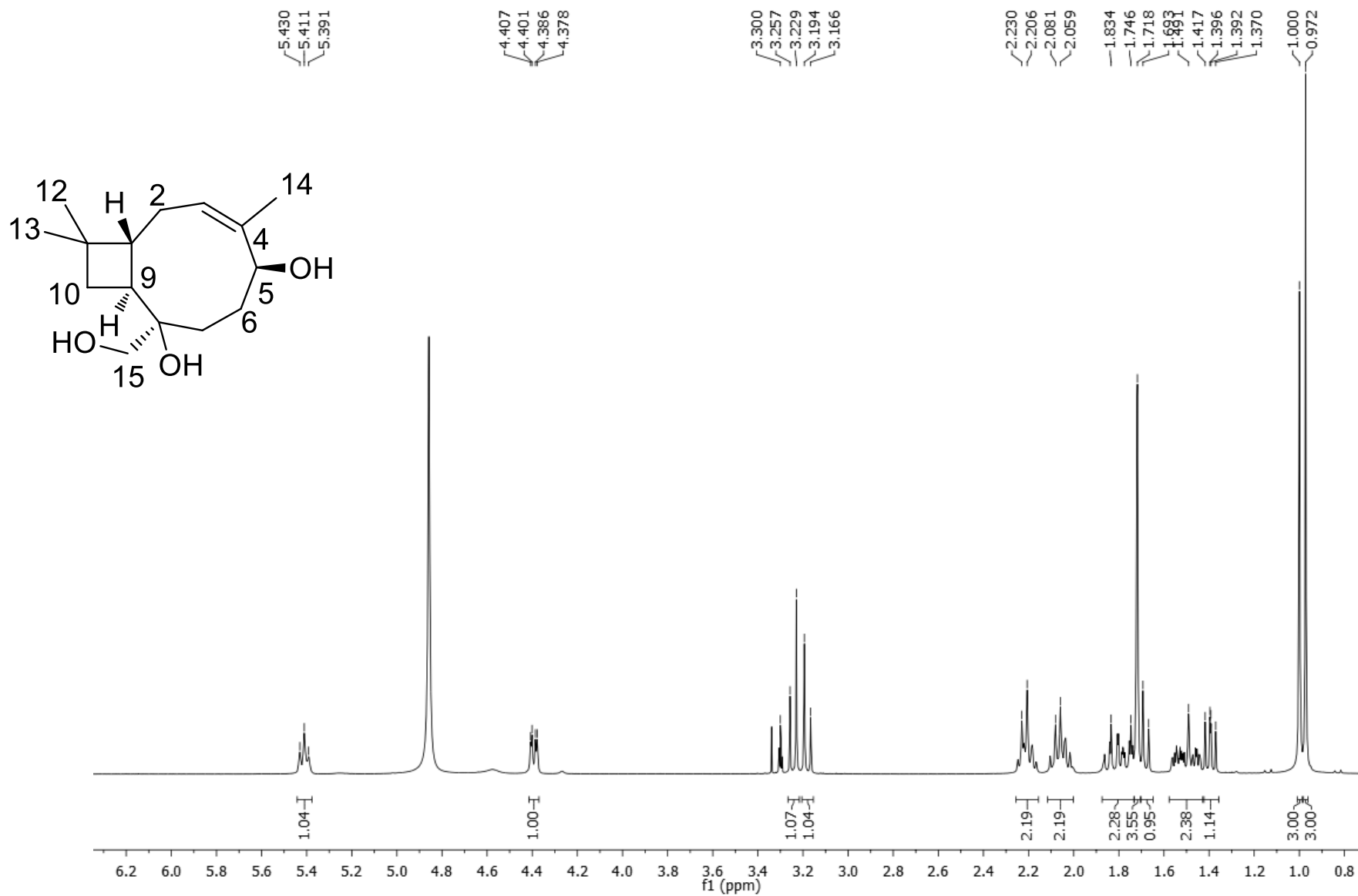


Figura S2. Espectro de RMN de ^1H de **1** a 400 MHz em metanol- d_4

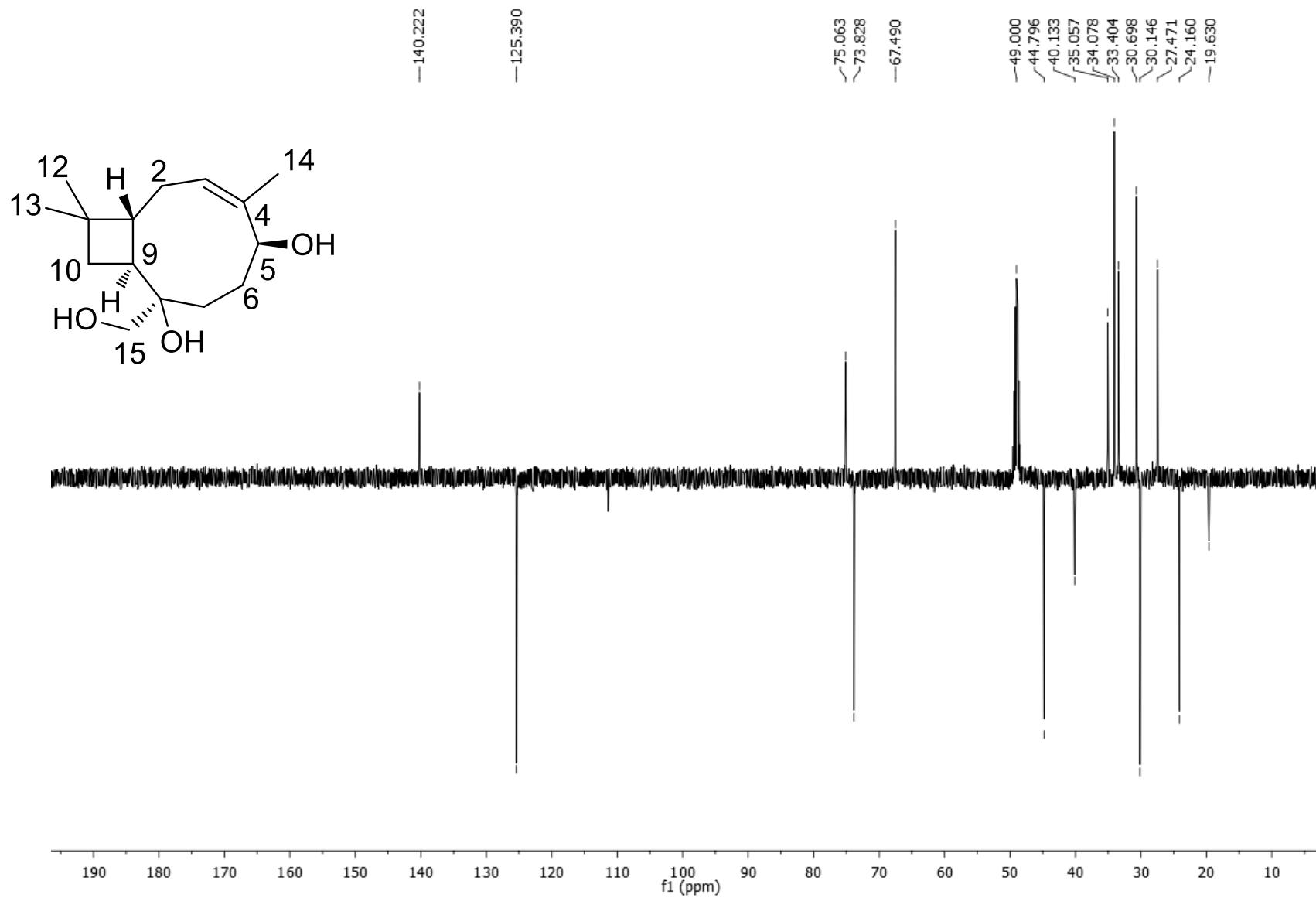


Figura S3. Espectro de RMN de ^{13}C de **1** a 100 MHz em metanol- d_4

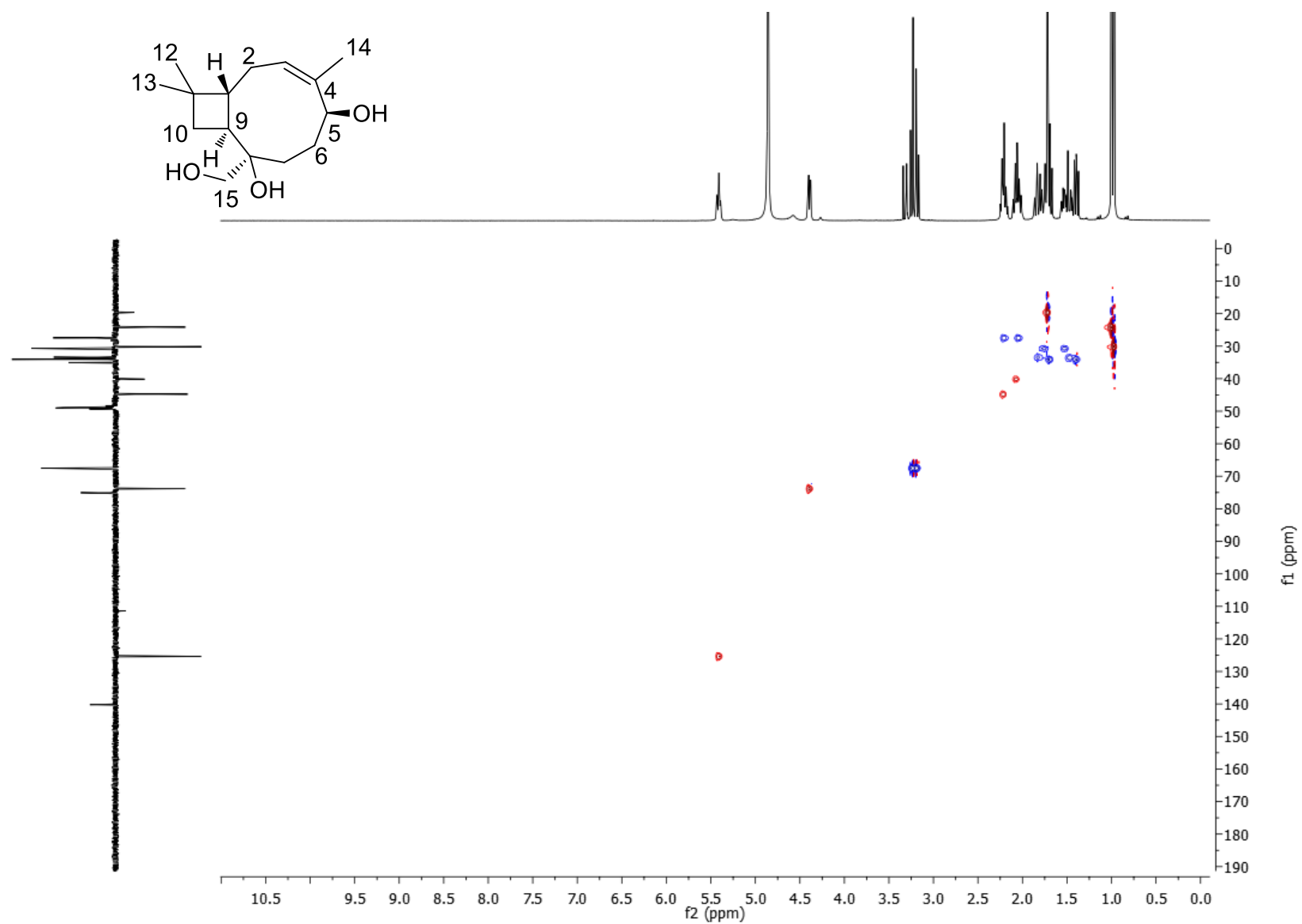


Figura S4. Espectro de HSQC de **1**

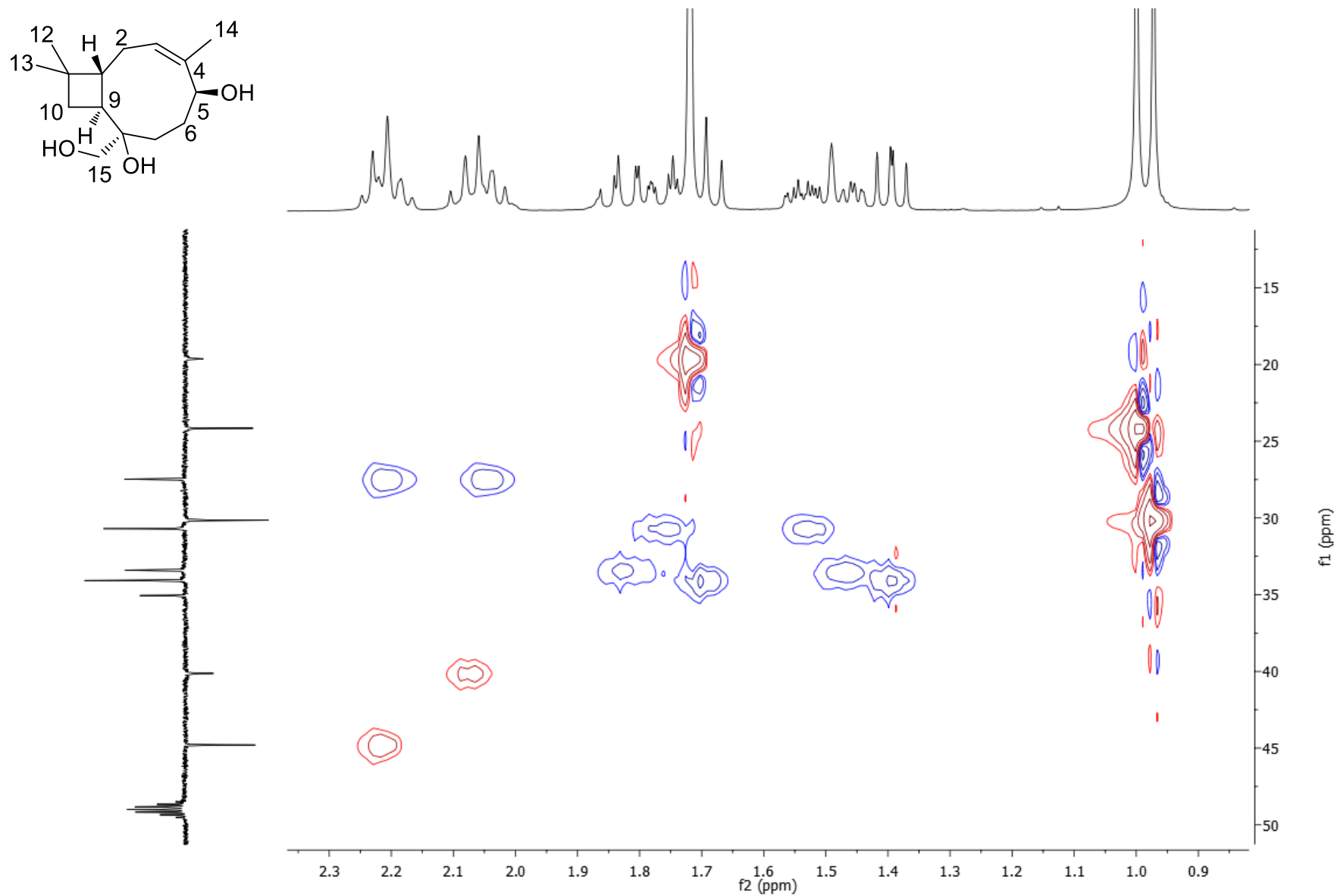


Figura S5. Espectro de HSQC de **1** (expansão).

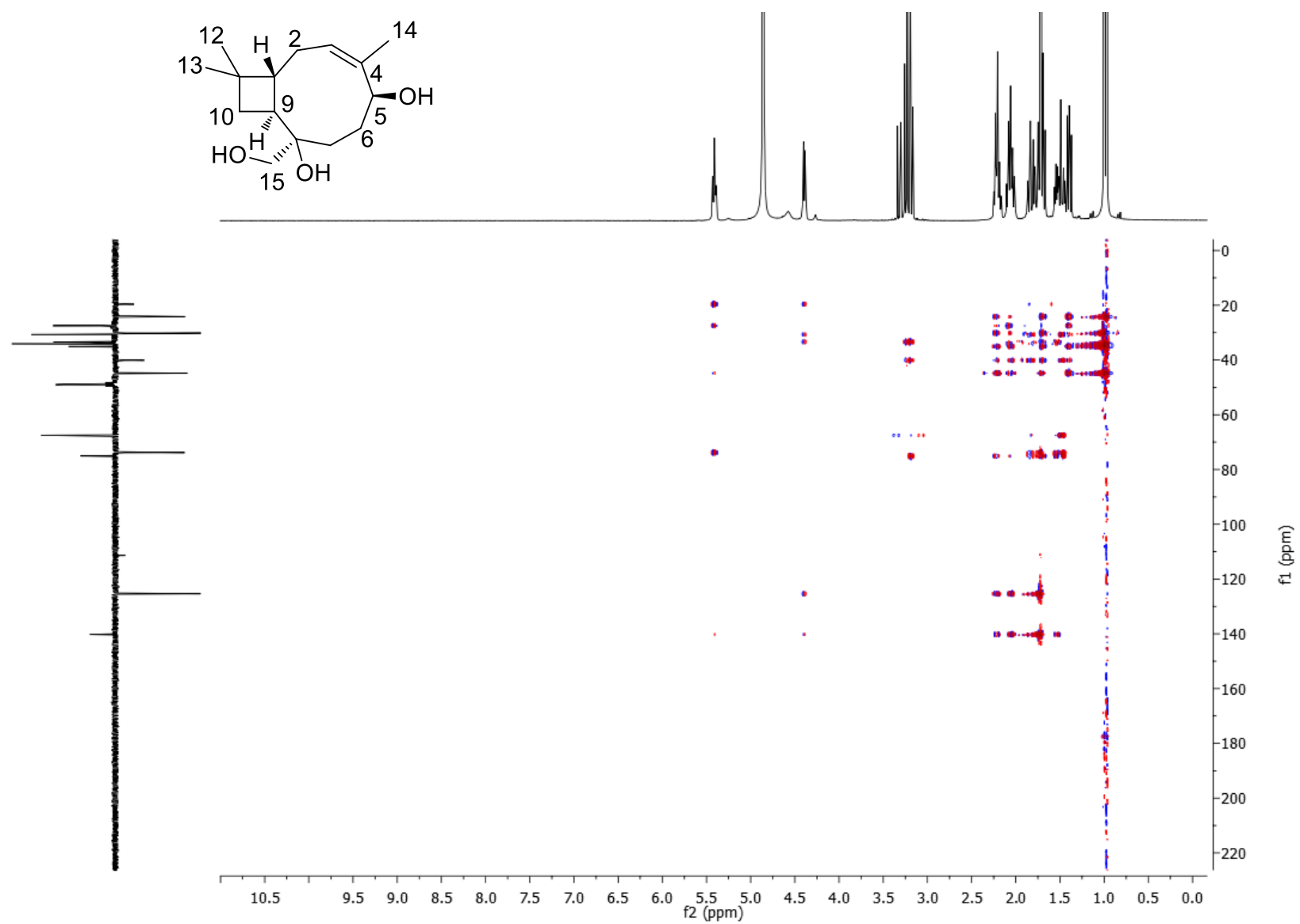


Figura S6. Espectro de HMBC de **1**

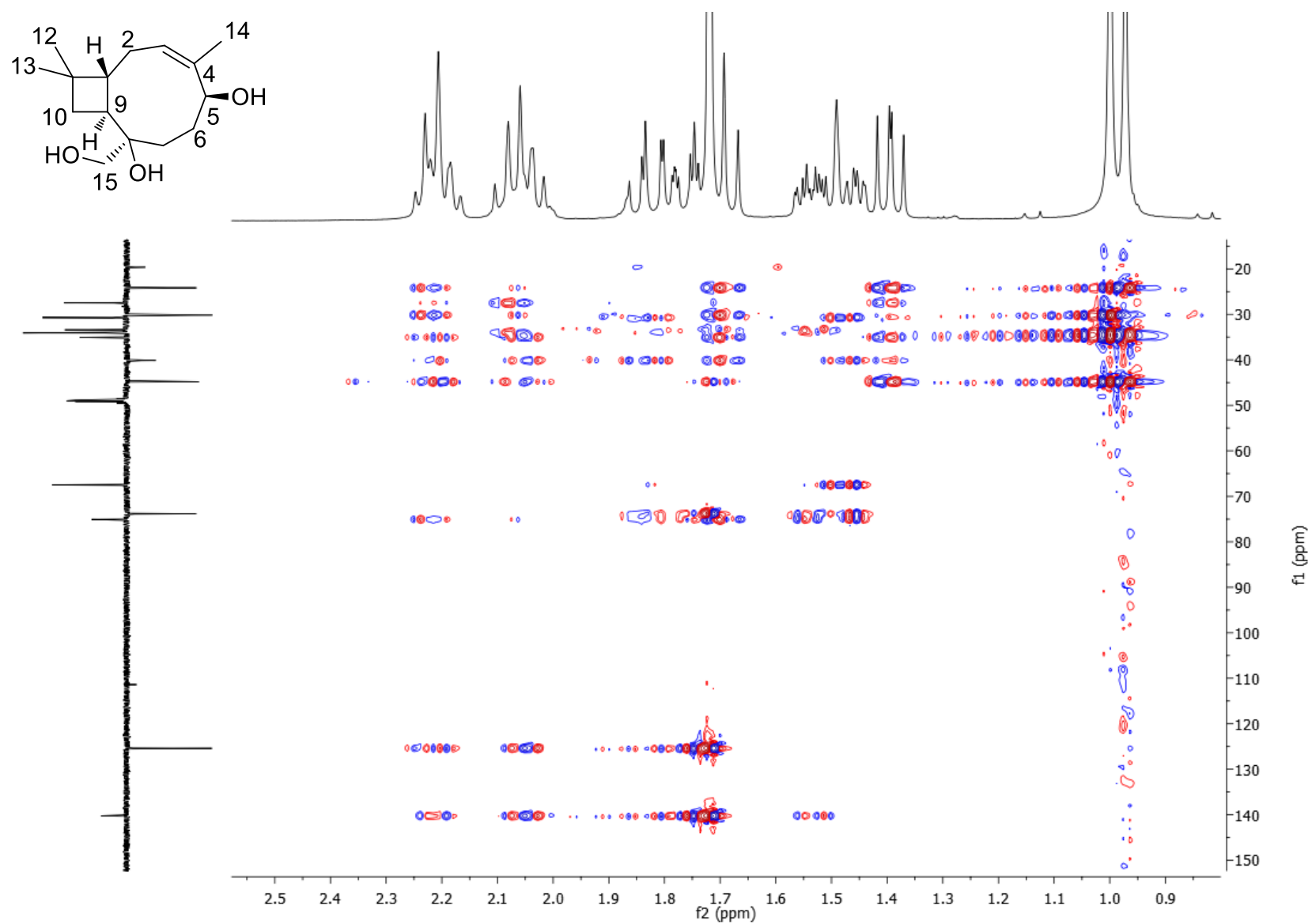


Figura S7. Espectro de HMBC de **1** (expansão).

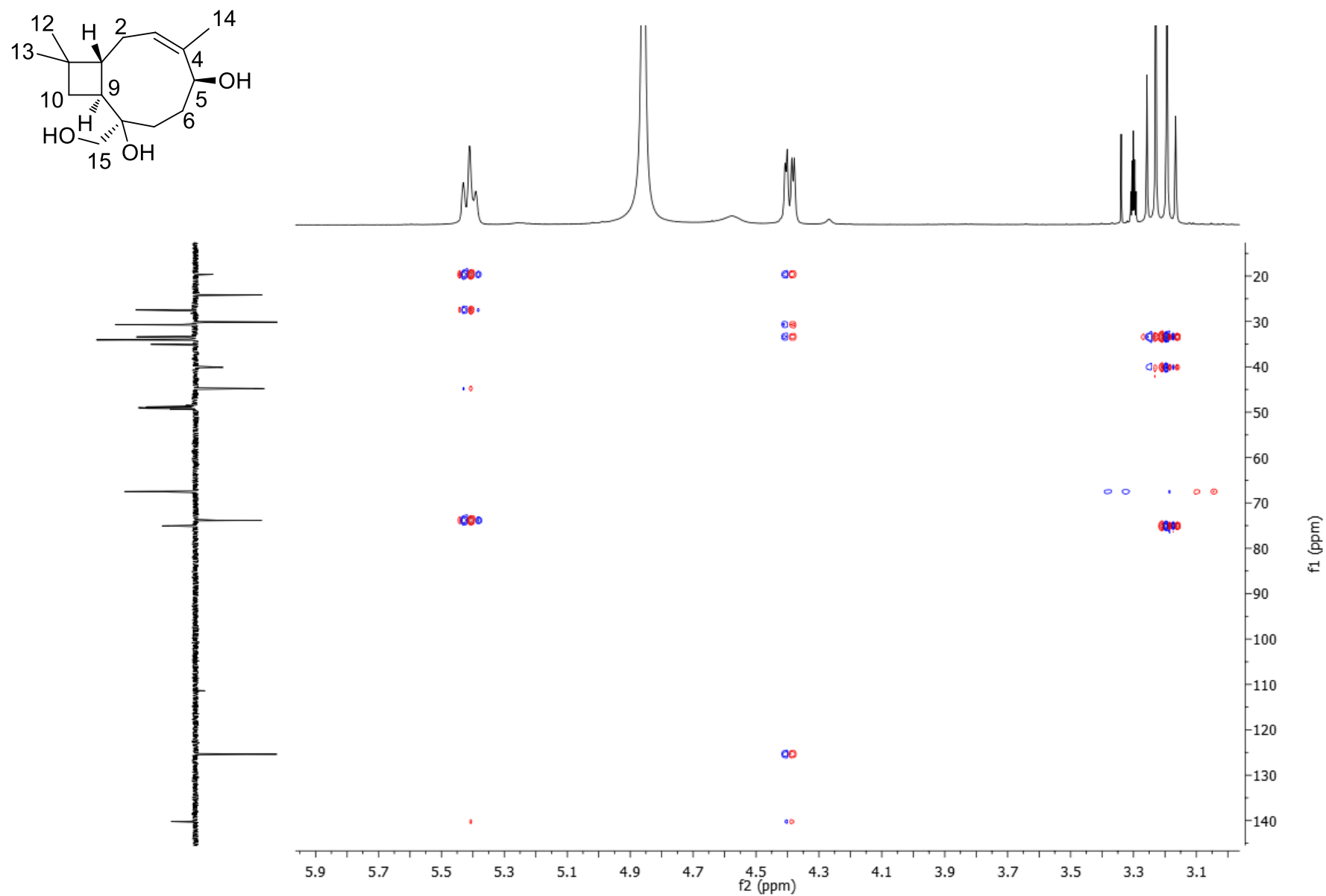


Figura S8. Espectro de HMBC de **1** (expansão).

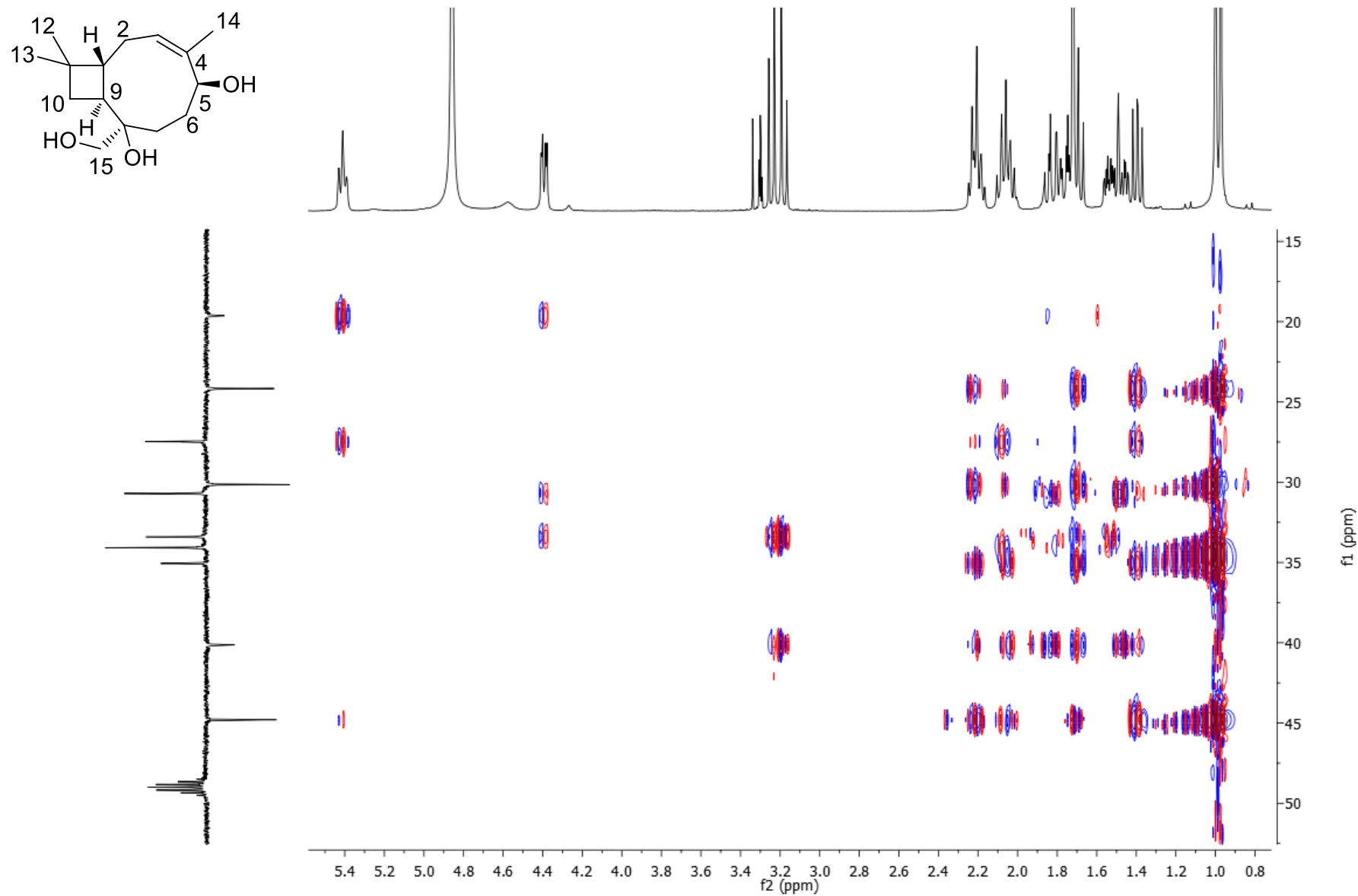


Figura S9. Espectro de HMBC de **1** (expansão).

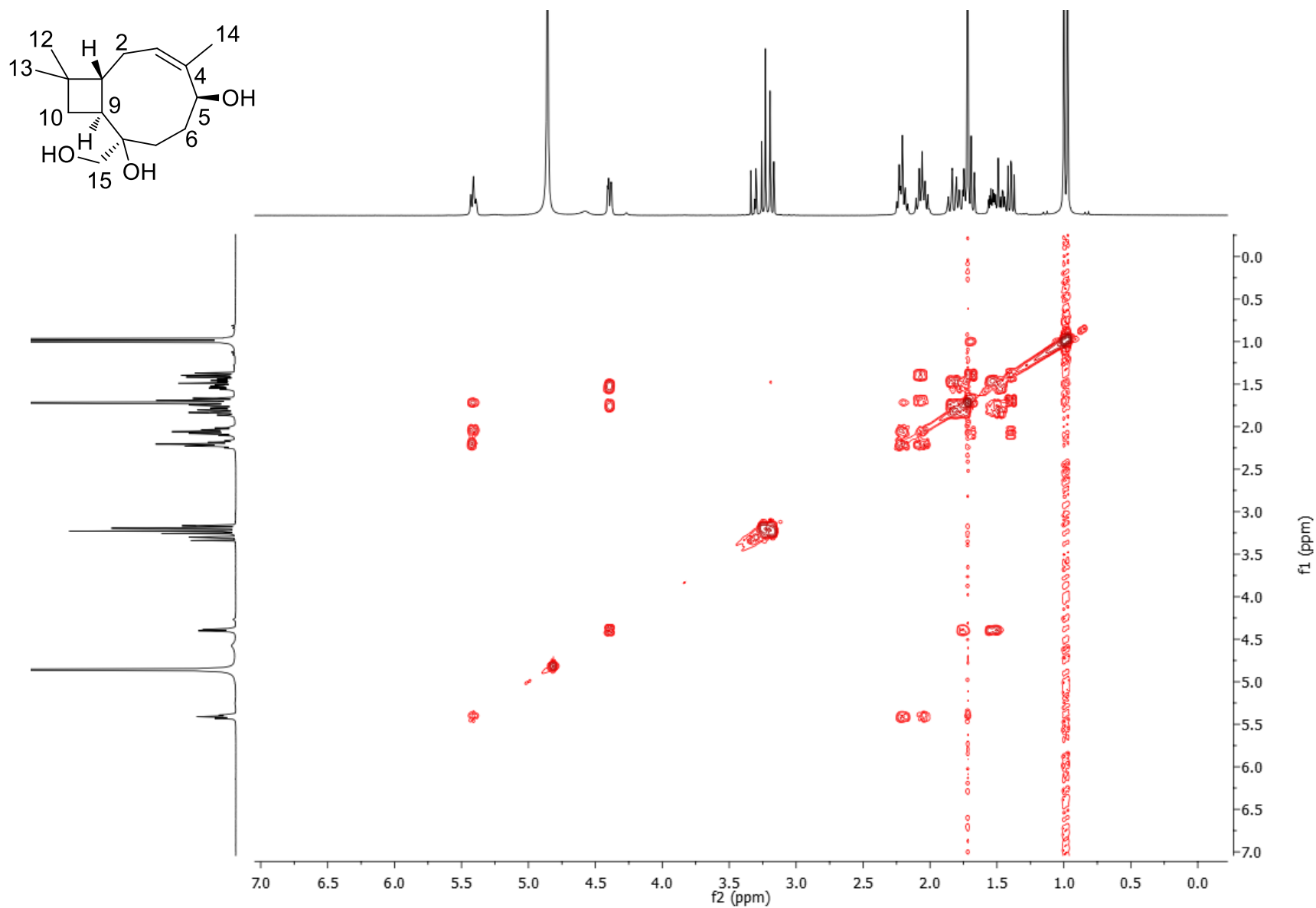


Figura S10. Espectro de ^1H - ^1H COSY de **1**.

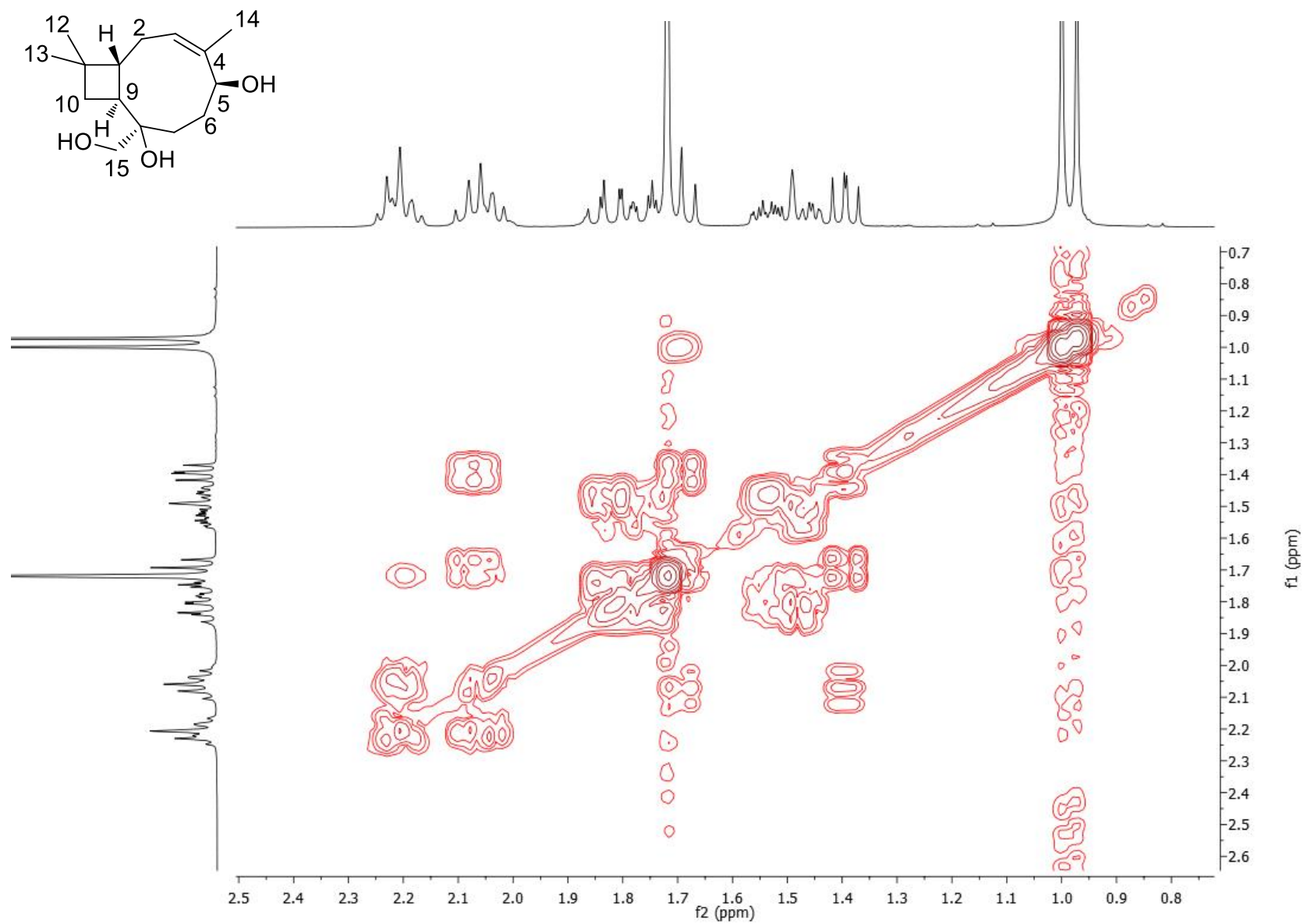


Figura S11. Espectro de ^1H - ^1H COSY de **1** (expansão).

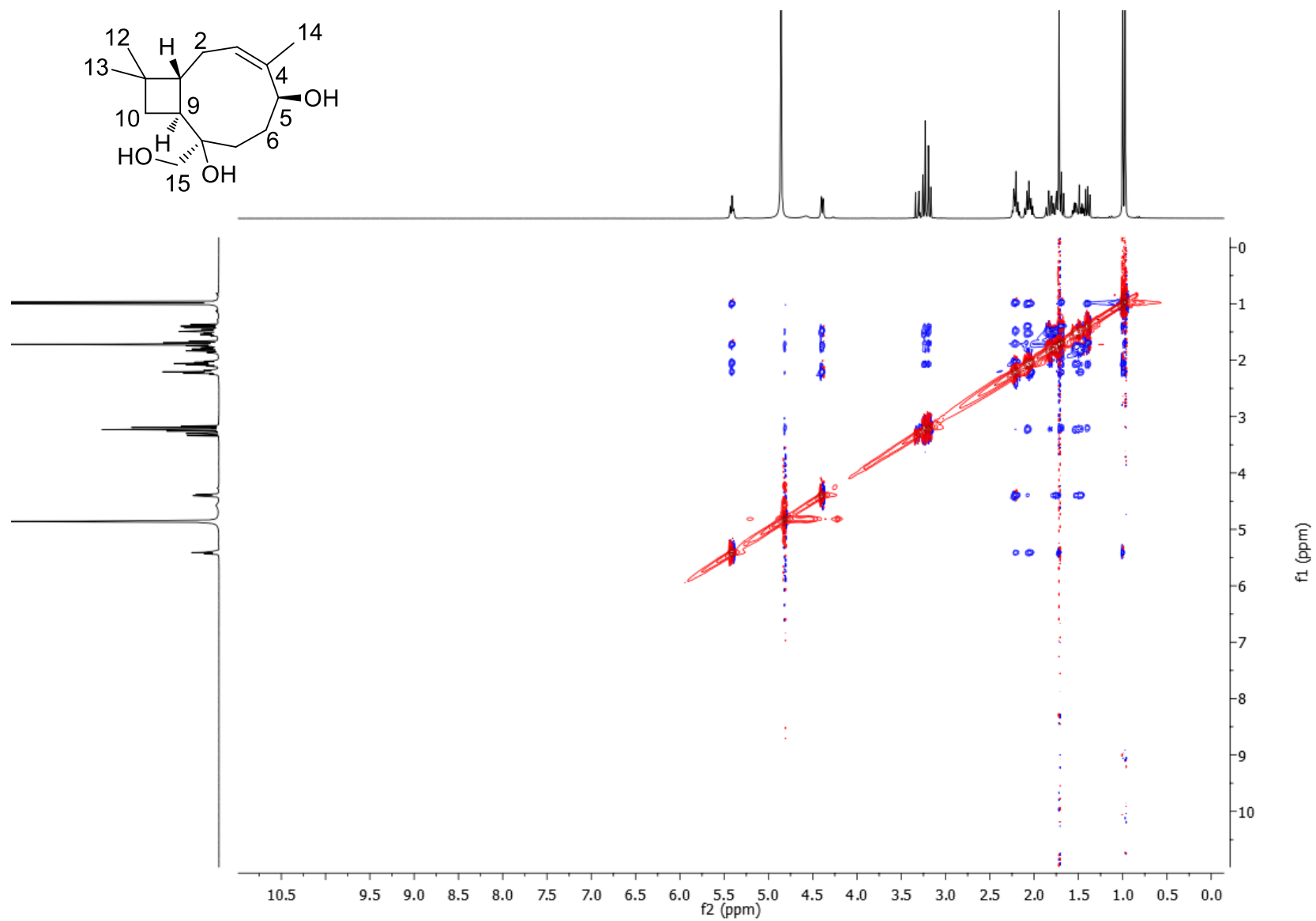


Figura S12. Espectro de ^1H - ^1H NOESY de **1**

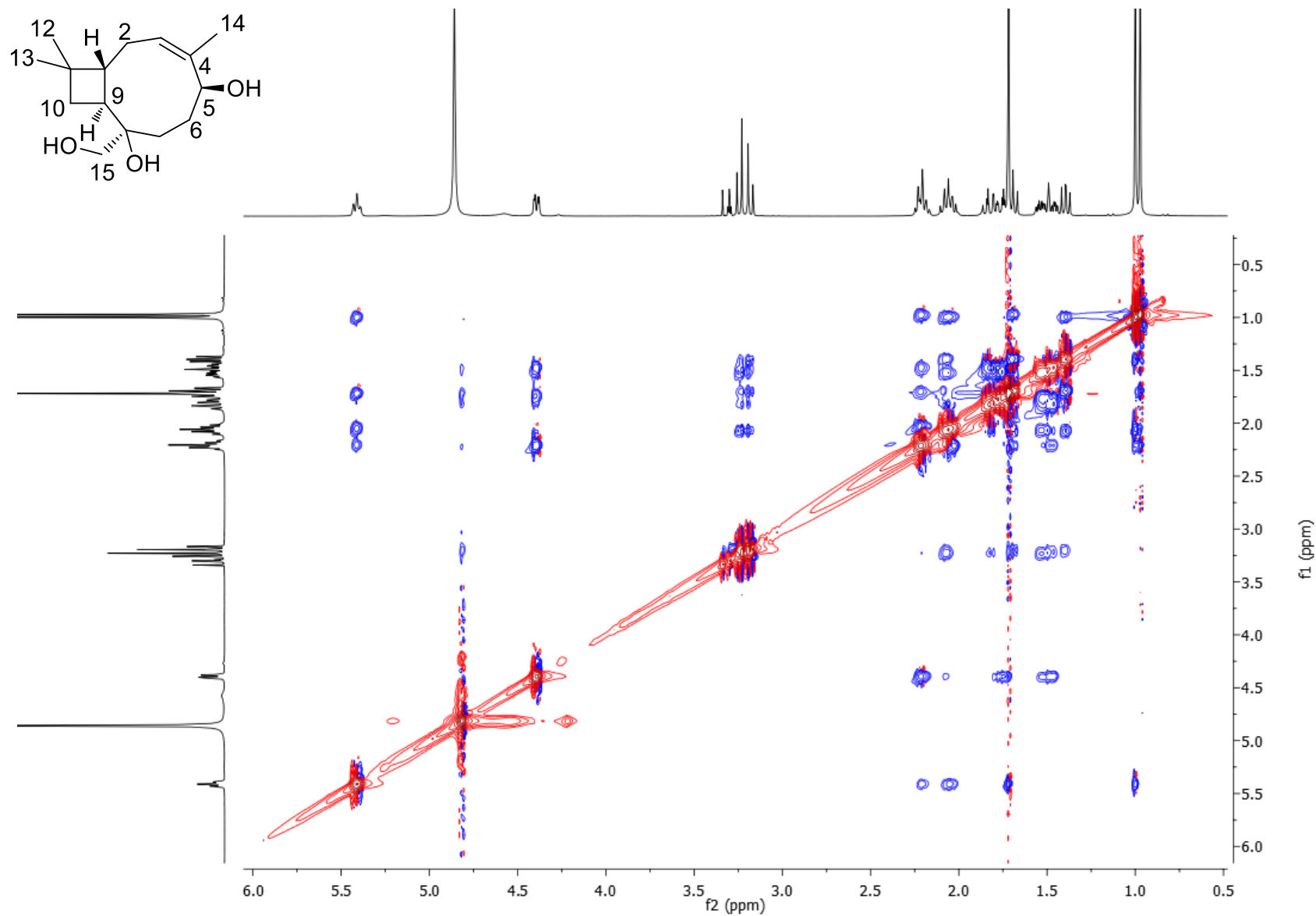


Figura S13. Espectro de ^1H - ^1H NOESY de **1** (expansão).

Mass Spectrum SmartFormula Report

Acquisition Date 4/6/2018 22:15:27
Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF 10338

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	34.8 psi
Focus	Not active			Set Dry Heater	300 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	8.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste

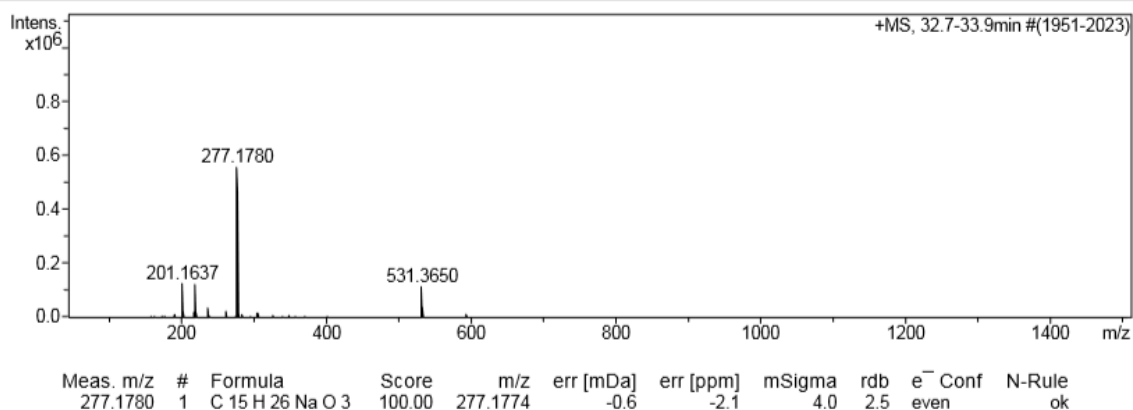


Figura S14. Espectro de HRESIMS de **1**

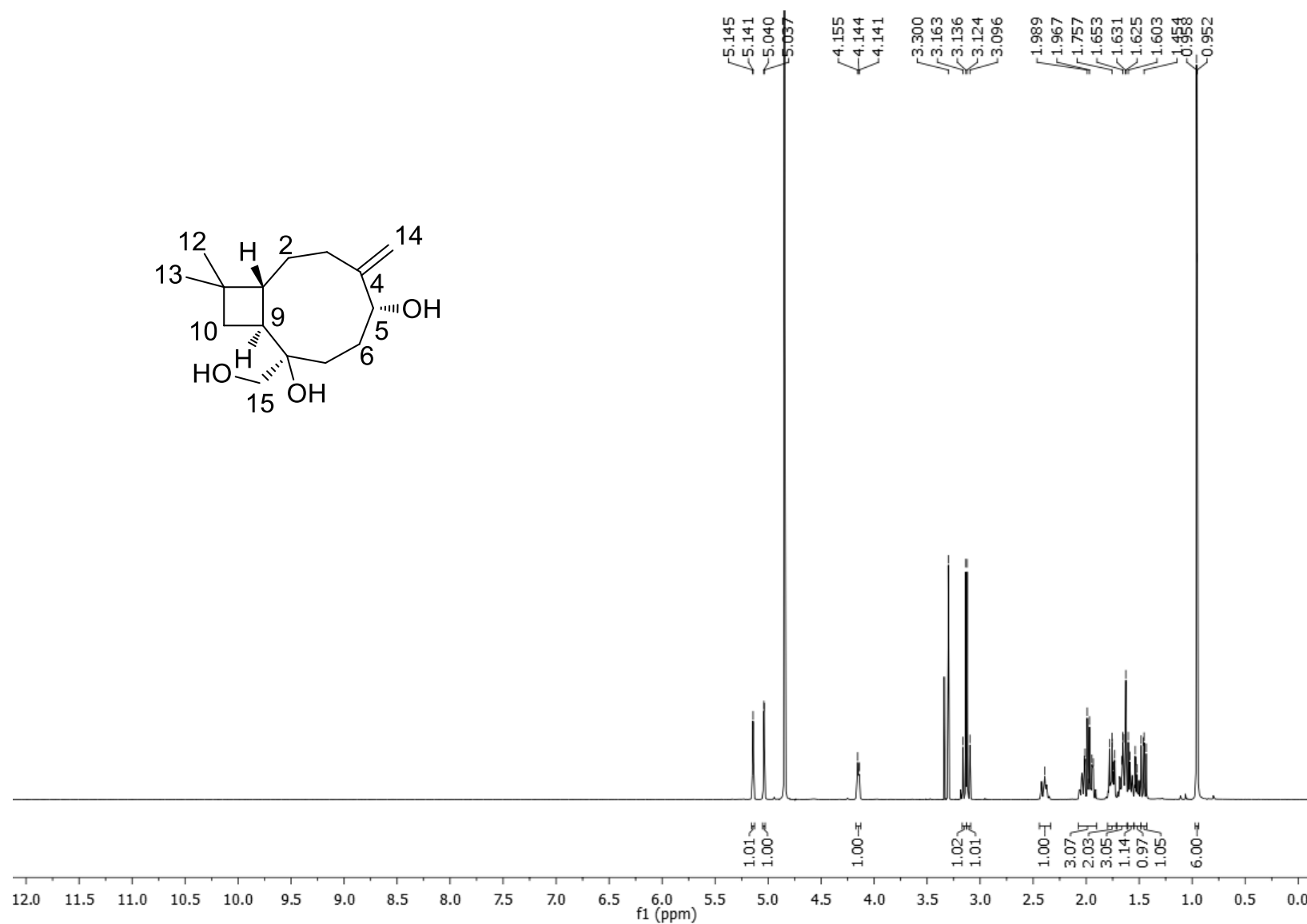


Figura S15. Espectro de RMN de ^1H de **2** a 400 MHz em metanol- d_4 .

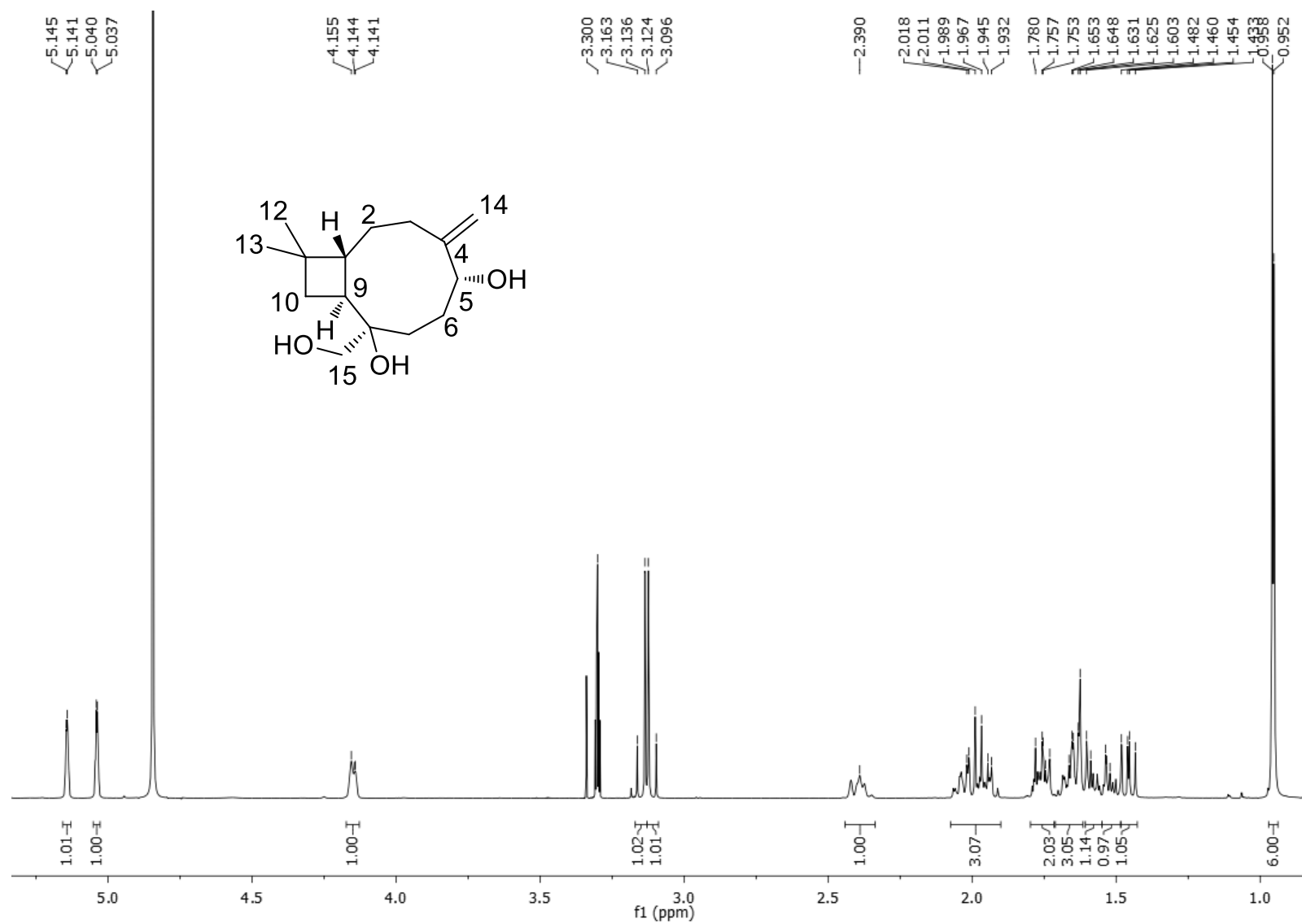


Figura S16. Espectro de RMN de ^1H de **2** a 400 MHz em metanol- d_4 (expansão).

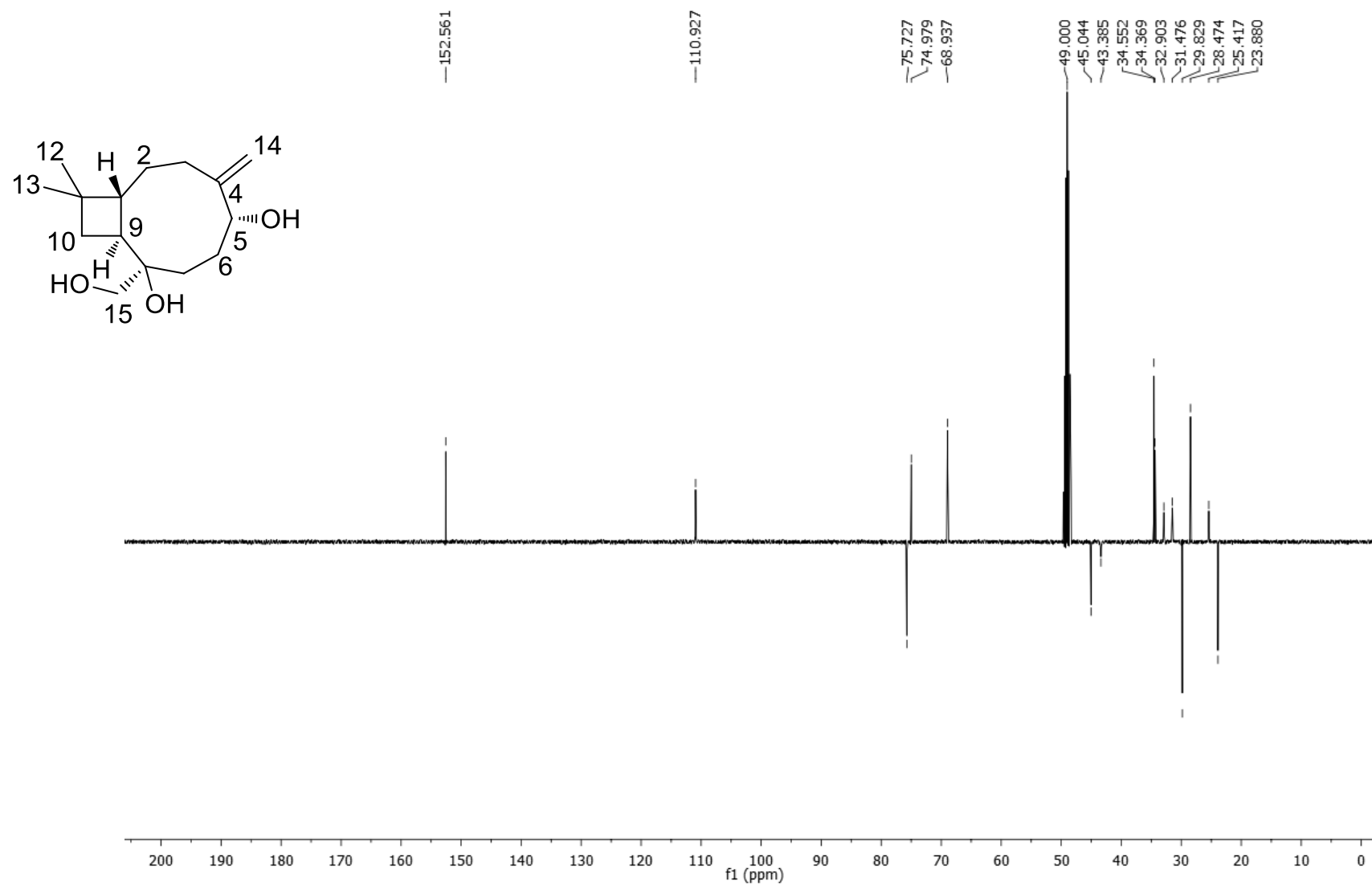


Figura S17. Espectro de RMN de ^{13}C -APT de 2 a 100 MHz em metanol- d_4

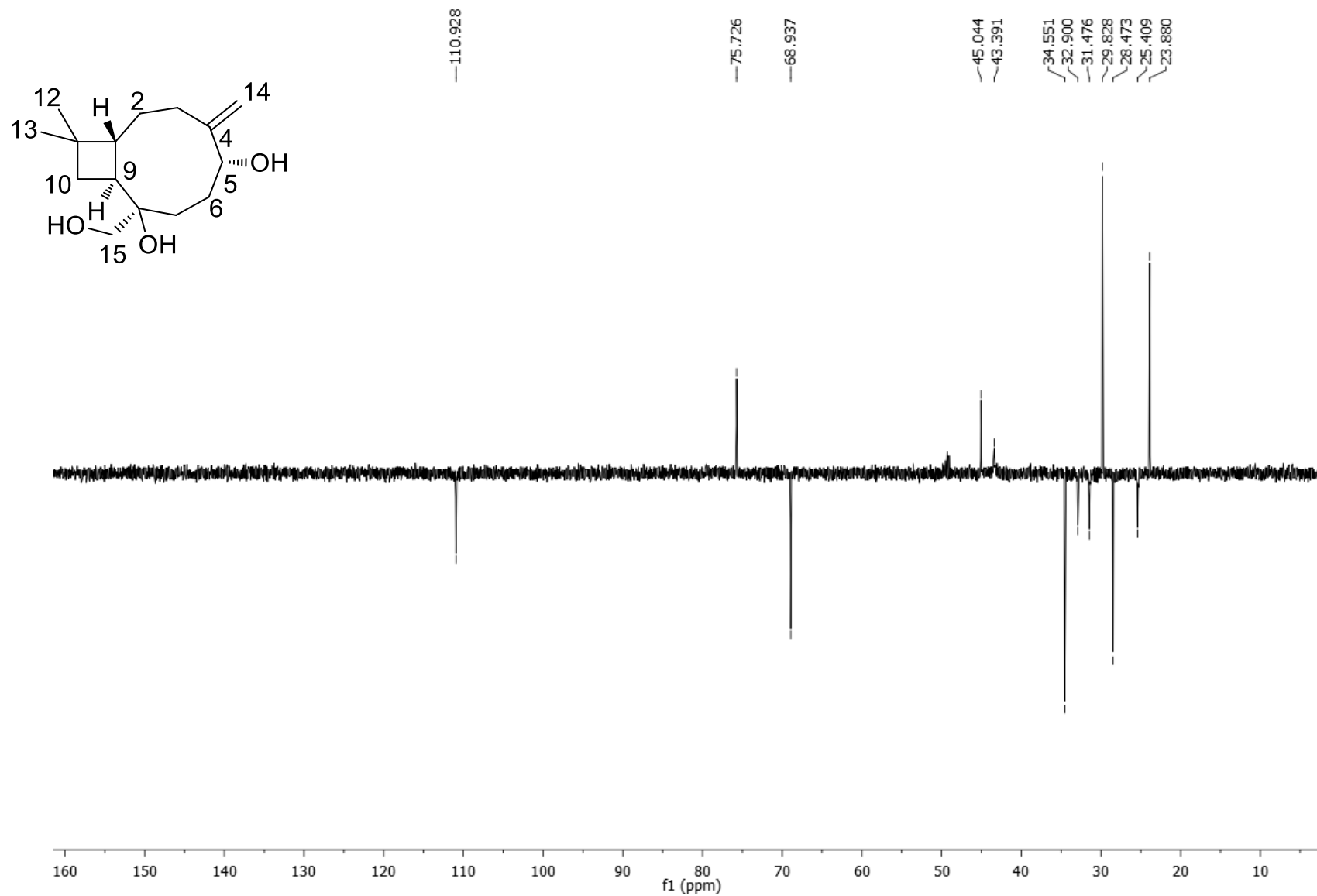


Figura S18. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT de **2** a 100 MHz em metanol- d_4

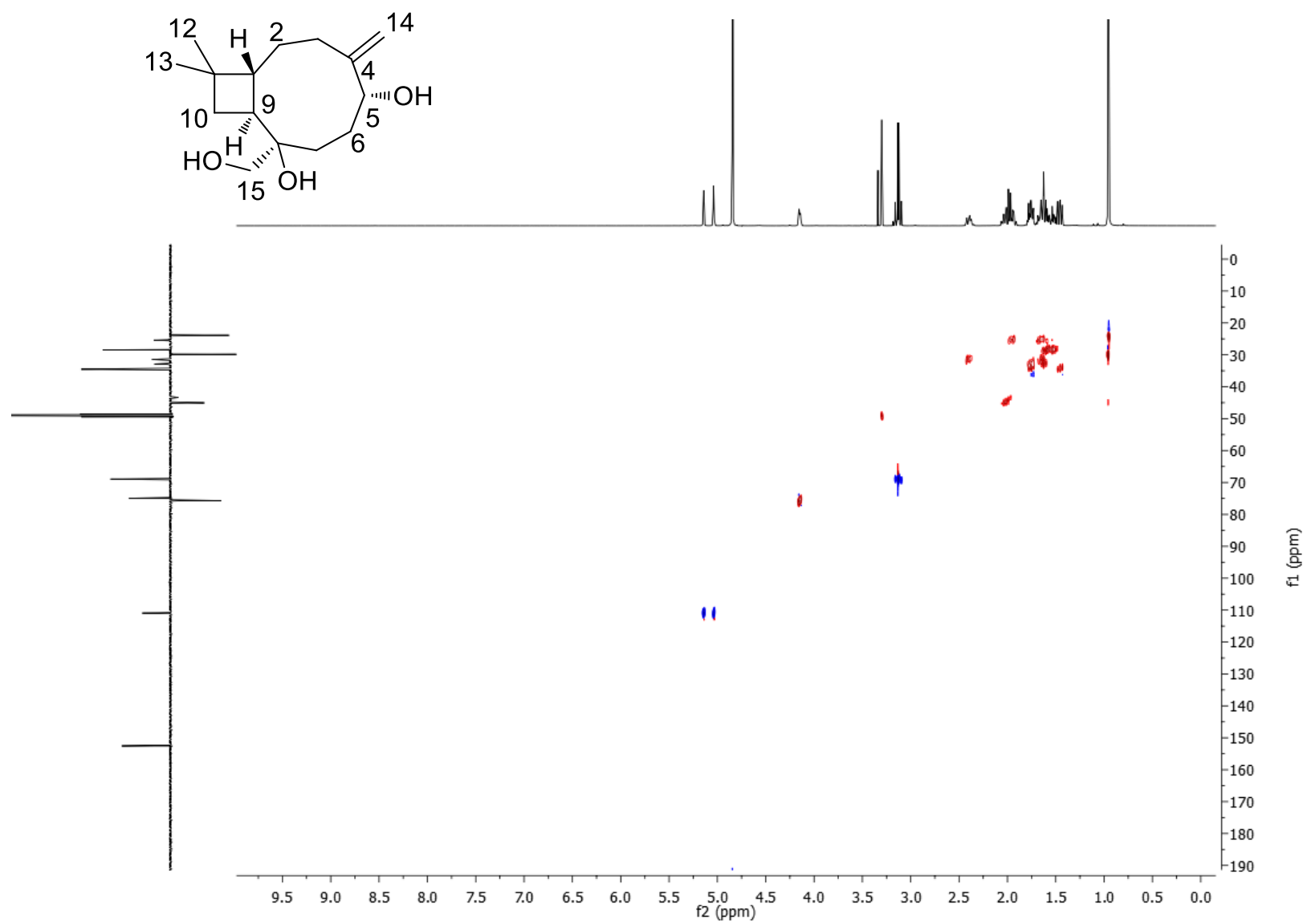


Figura S19. Espectro de HSQC de 2

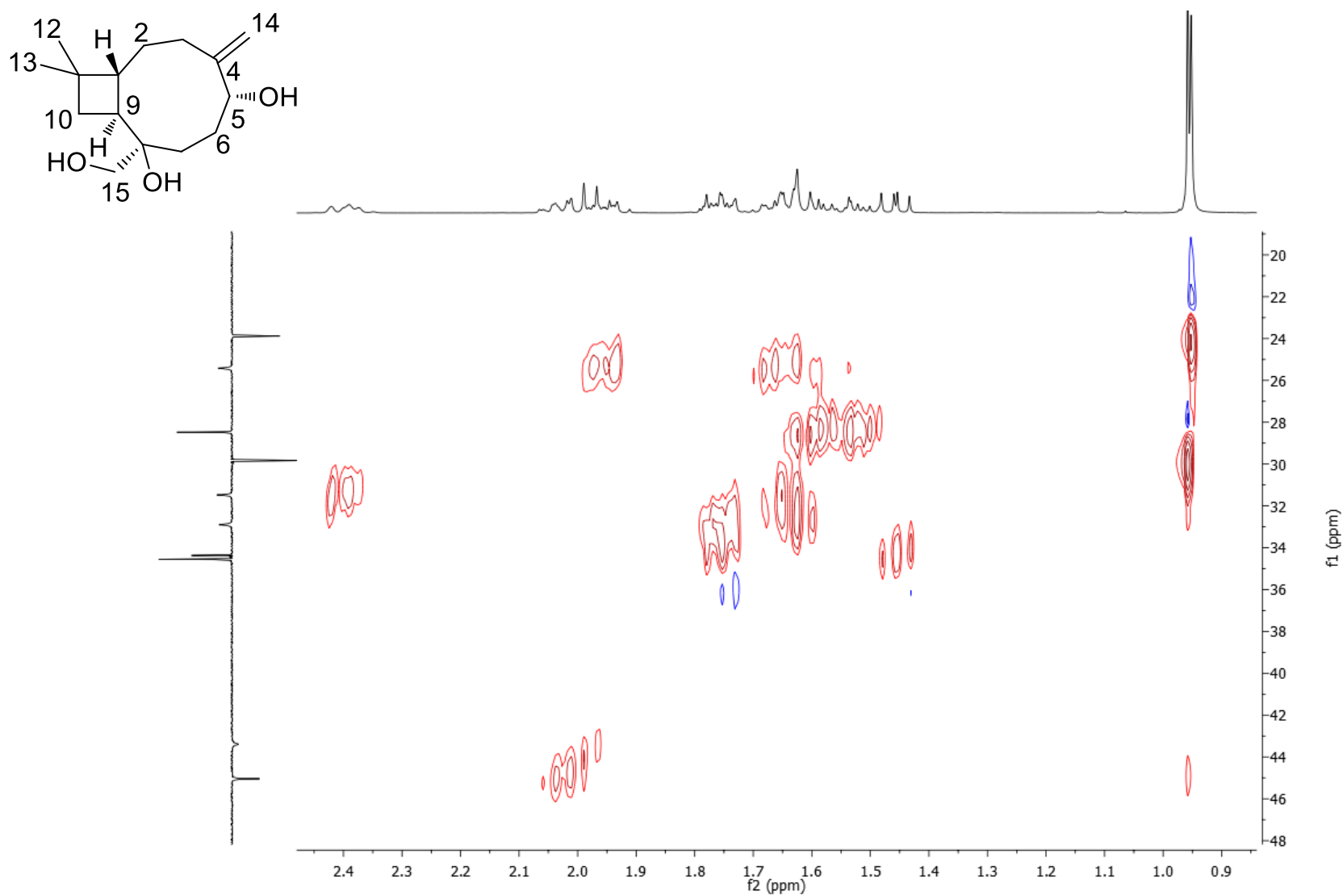


Figura S20. Espectro de HSQC de **2** (expansão).

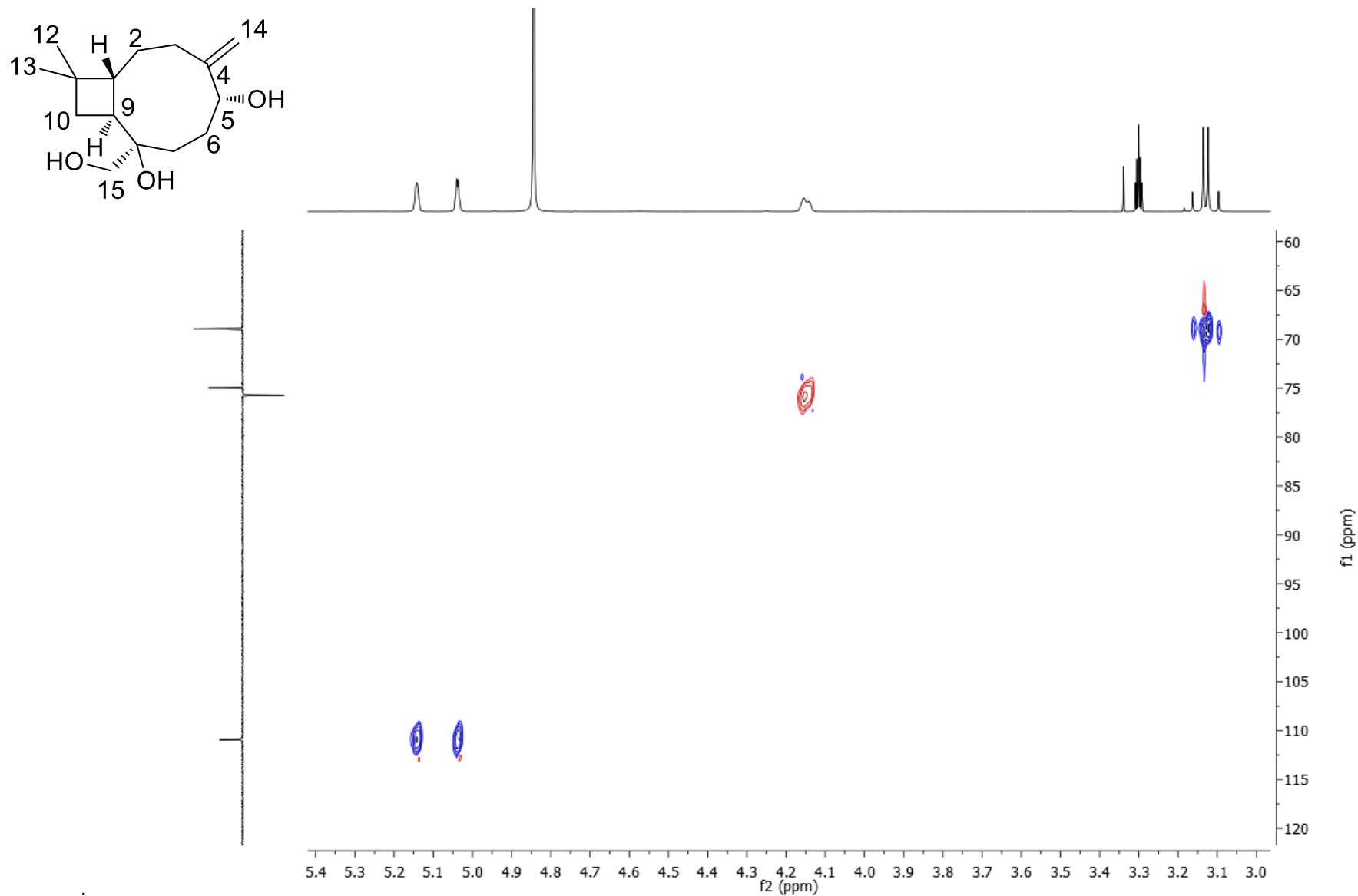


Figura S21. Espectro de HSQC de 2 (expansão).

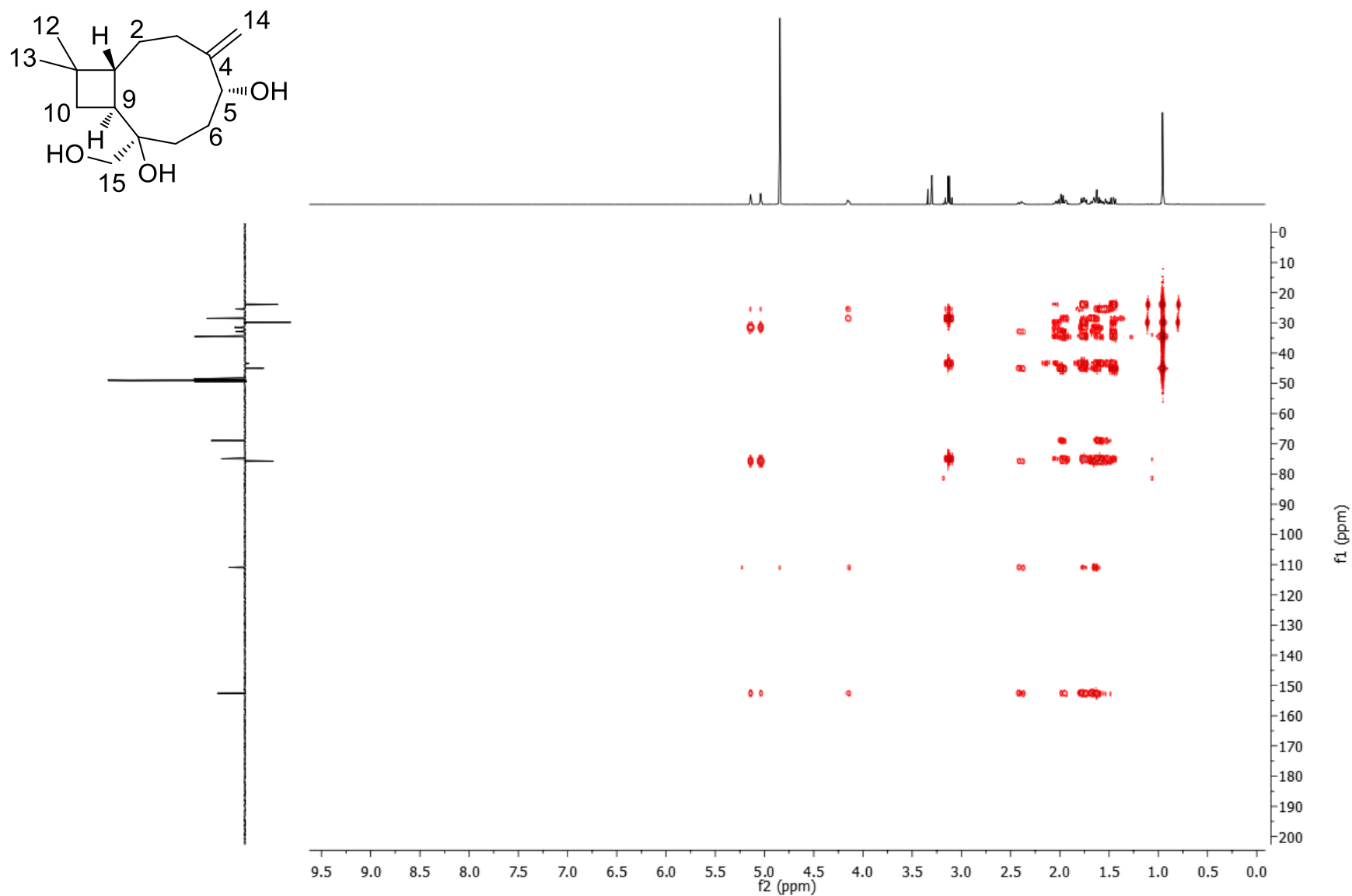


Figura S22. Espectro de HMBC de 2

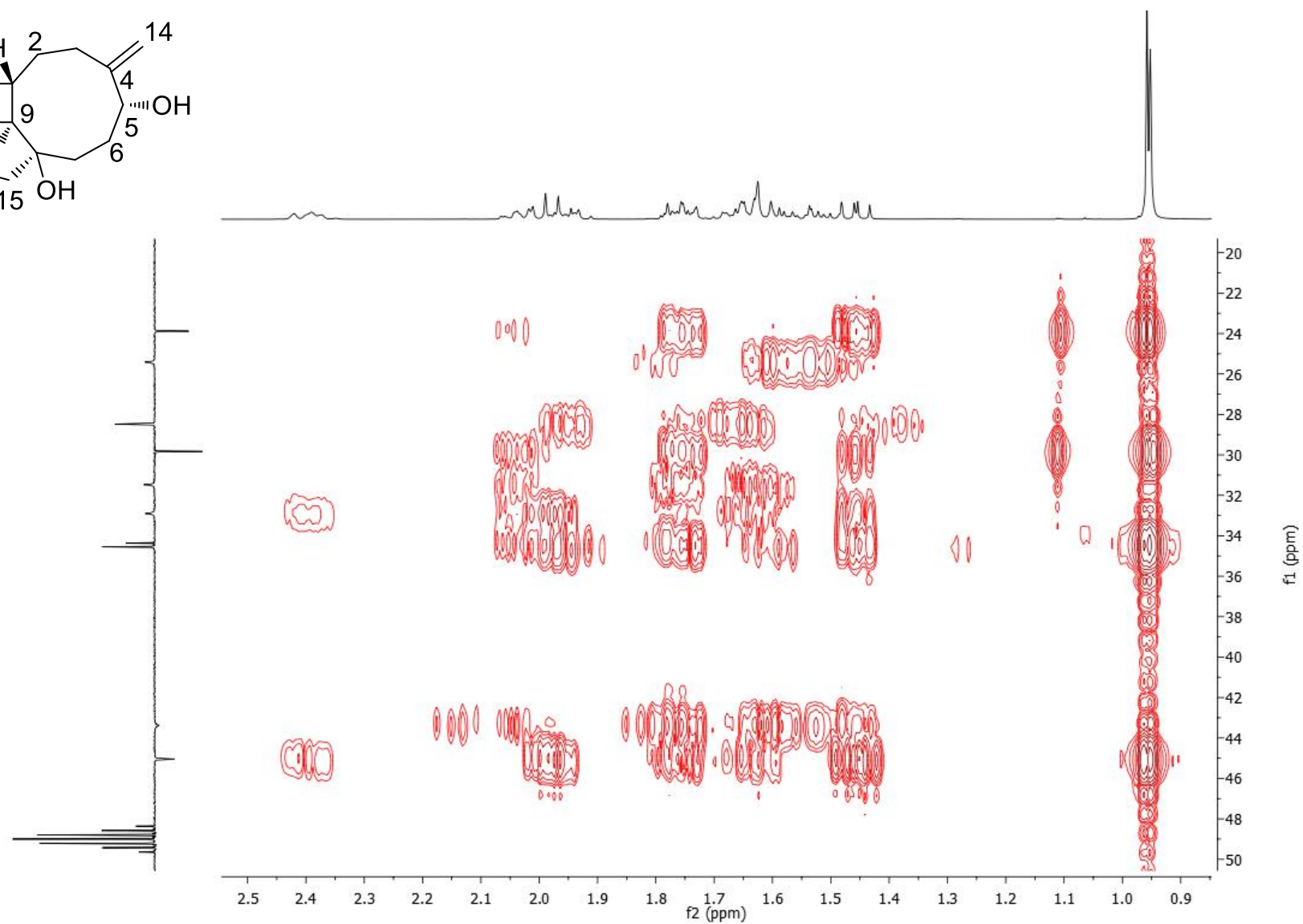
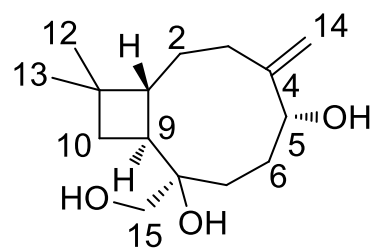


Figura S23. Espectro de HMBC de 2 (expansão).

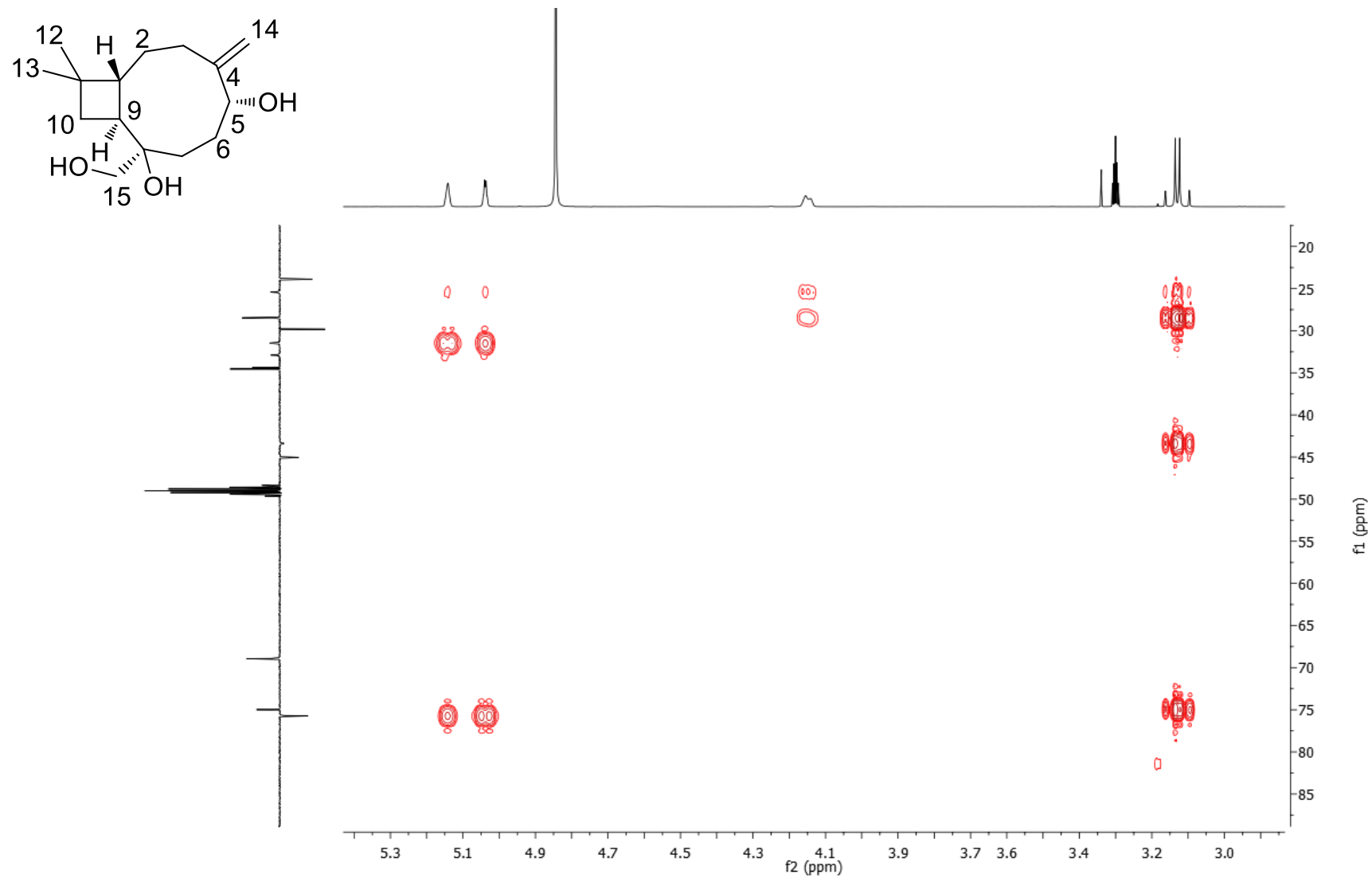


Figura S24. Espectro de HMBC de **2** (expansão).

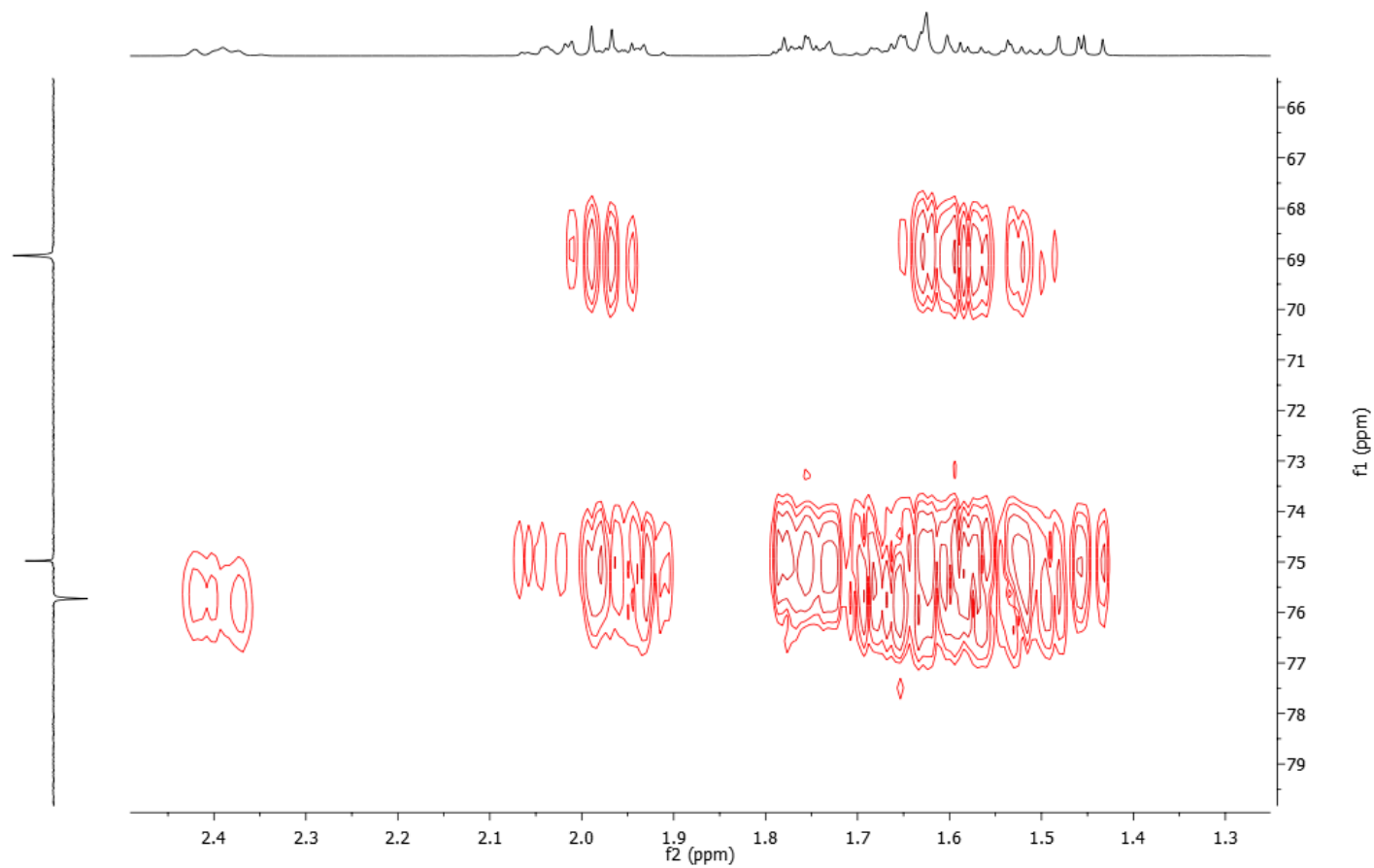
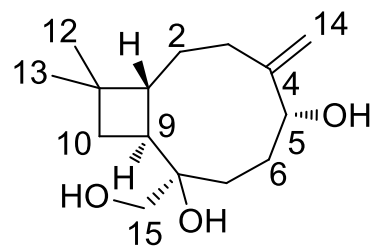


Figura S25. Espectro de HMBC de **2** (expansão).

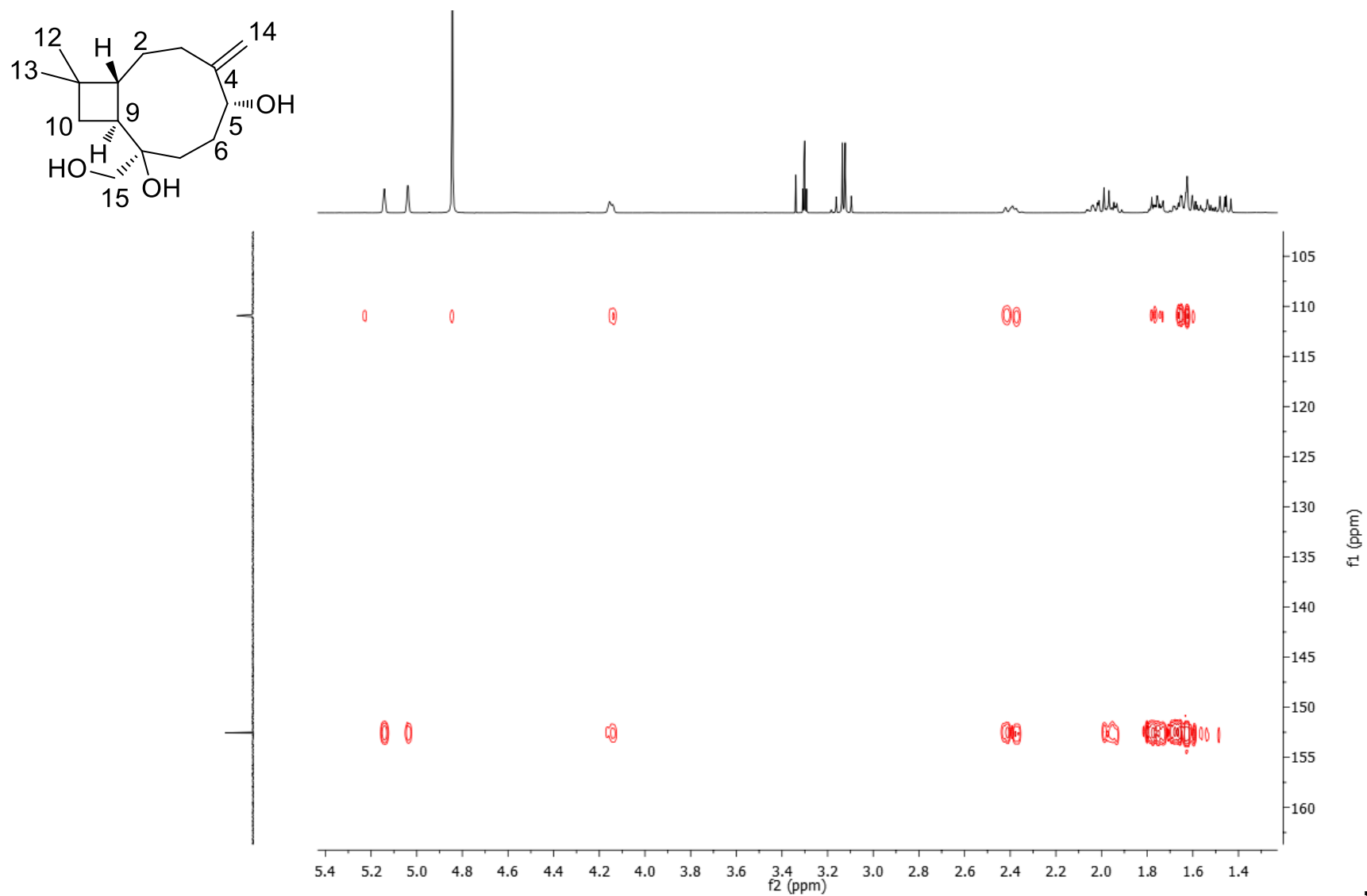


Figura S26. Espectro de HMBC de **2** (expansão).

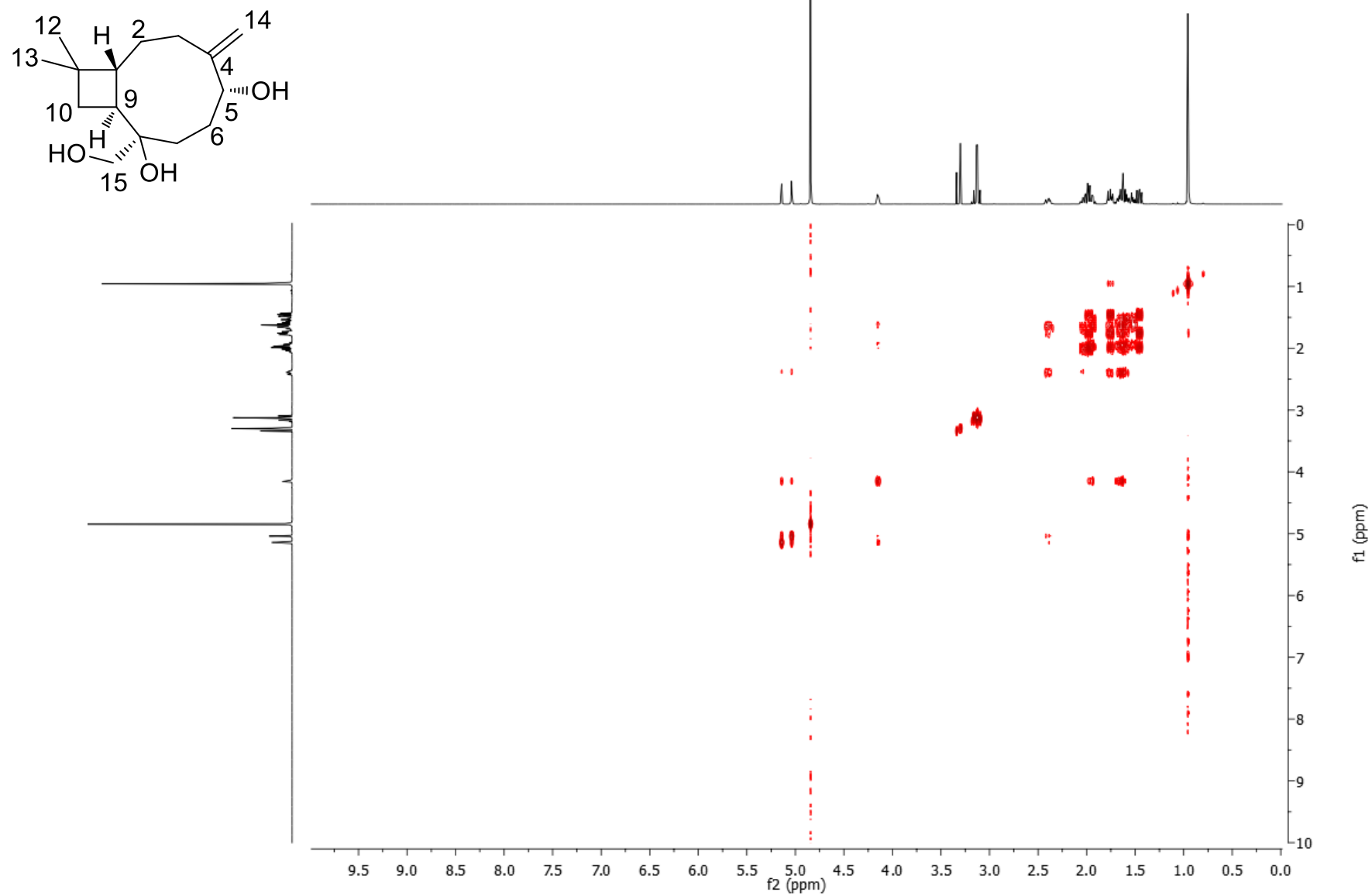


Figura S27. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 2

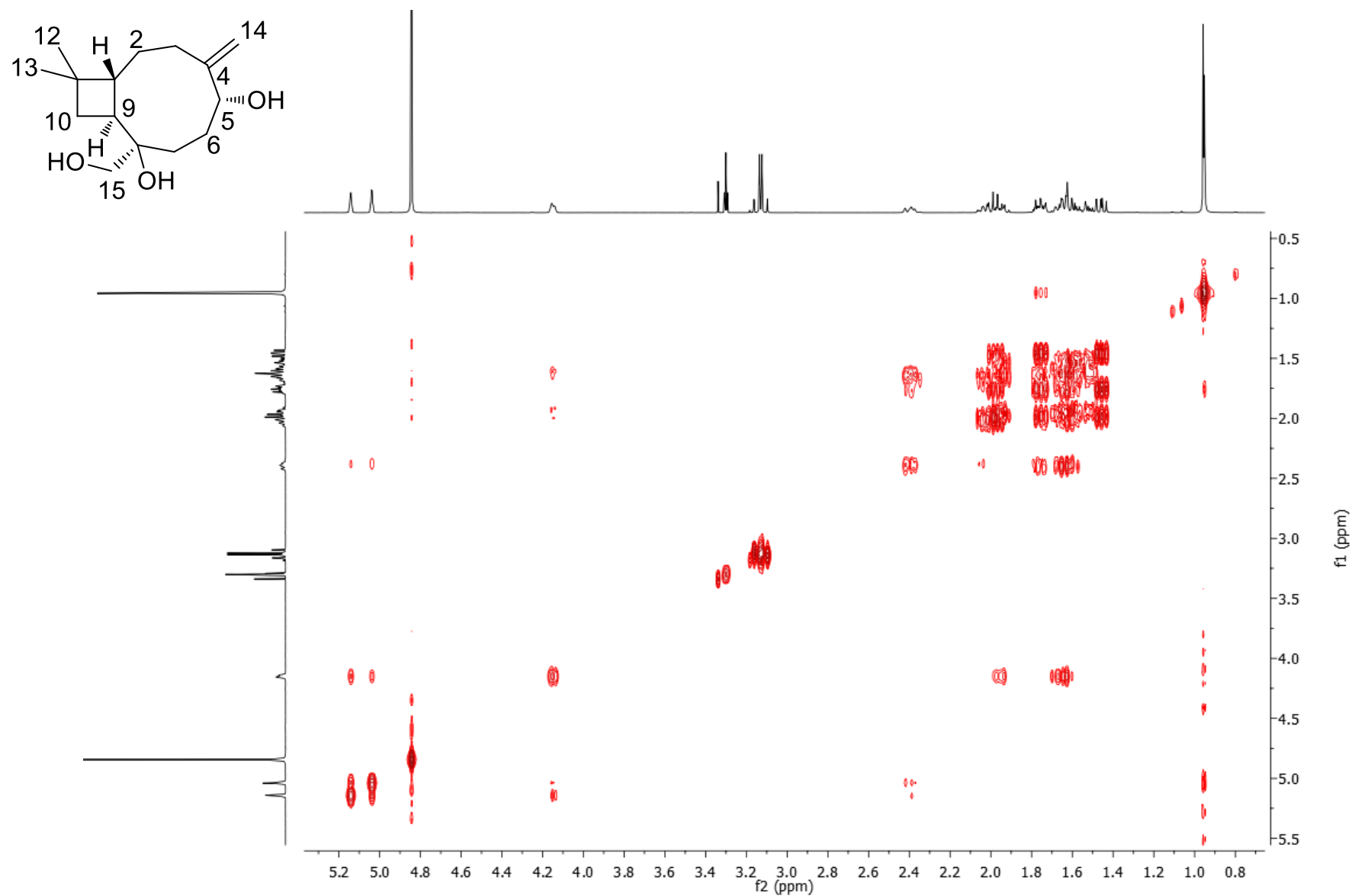


Figura S28. Espectro de ^1H - ^1H COSY de **2** (expansão).

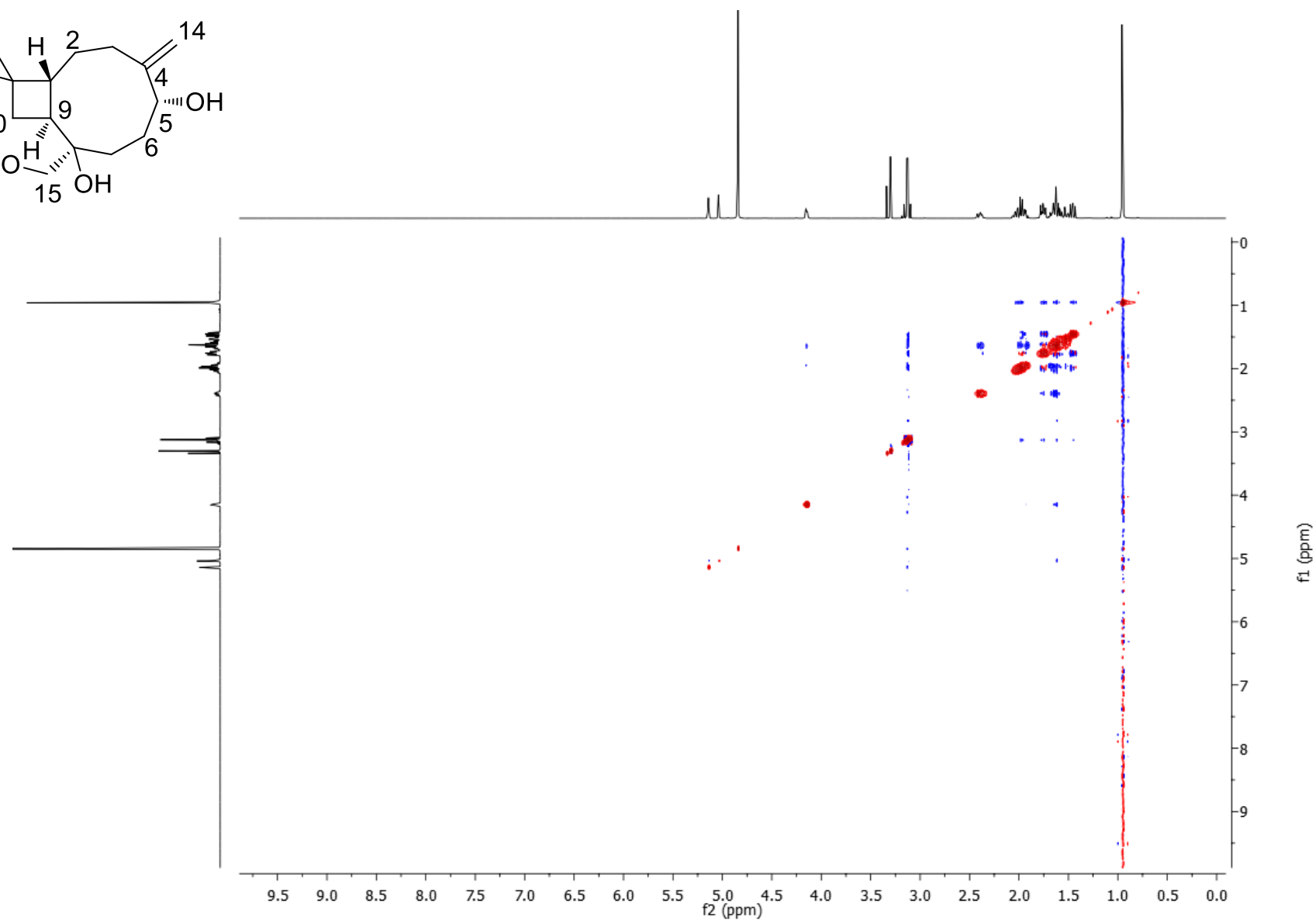
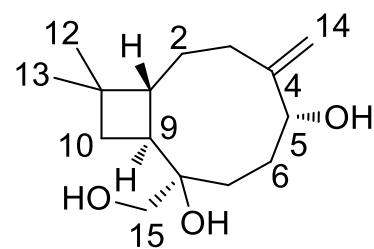


Figura S29. Espectro de NOESY ^1H - ^1H de 2

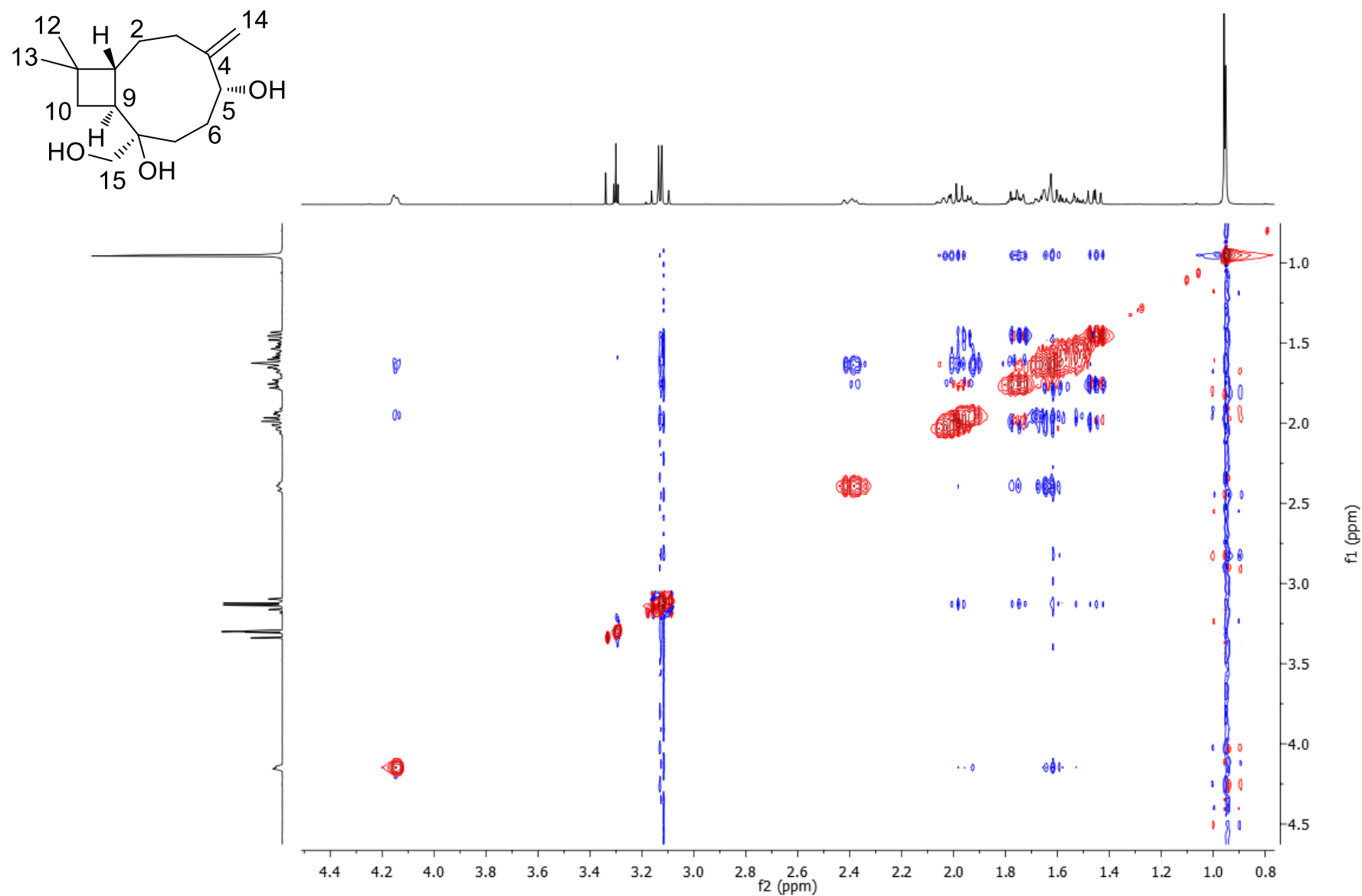


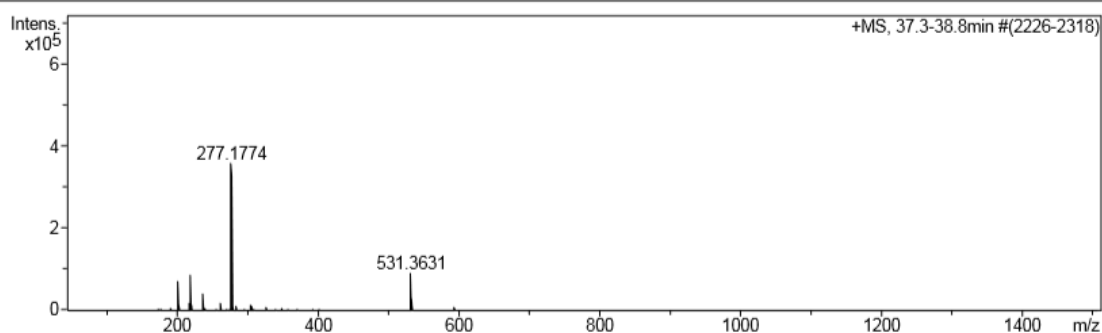
Figura S30. Espectro de NOESY ^1H - ^1H de 2 (expansão).

Mass Spectrum SmartFormula Report

Acquisition Date 4/6/2018 23:46:10
Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF 10338

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	34.8 psi
Focus	Not active			Set Dry Heater	300 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	8.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste



Meas. m/z	#	Formula	Score	m/z	err [mDa]	err [ppm]	mSigma	rdb	e ⁻ Conf	N-Rule
277.1774	1	C 15 H 26 Na O 3	100.00	277.1774	0.0	0.0	2.6	2.5	even	ok
	2	C 13 H 27 Na 2 O 3	18.21	277.1750	-2.4	-8.7	15.2	-0.5	even	ok

Figura S31. Espectro de HRESIMS de **2**

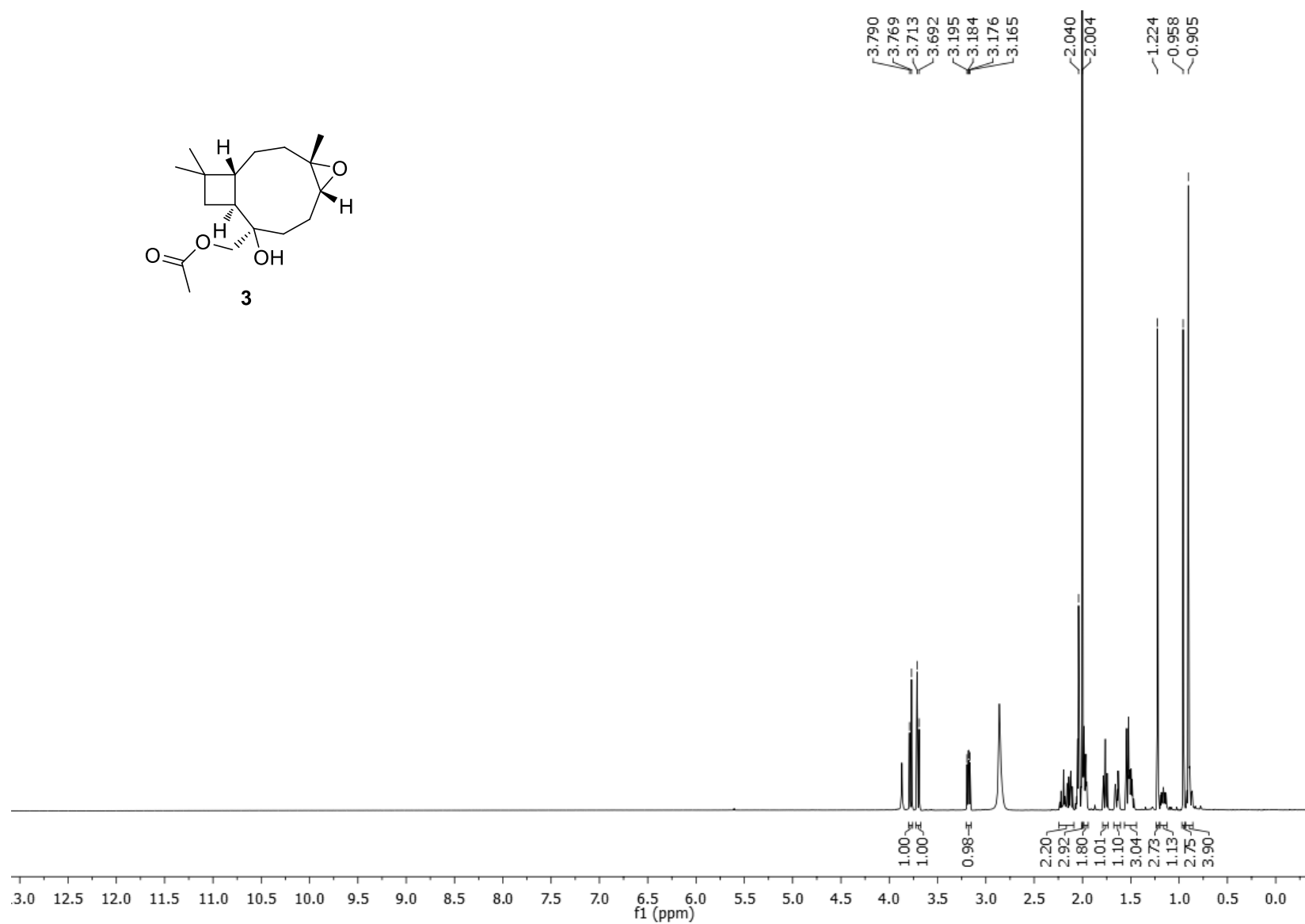


Figura S32. Espectro de RMN de ^1H de **3** a 500 MHz em acetona- d_6

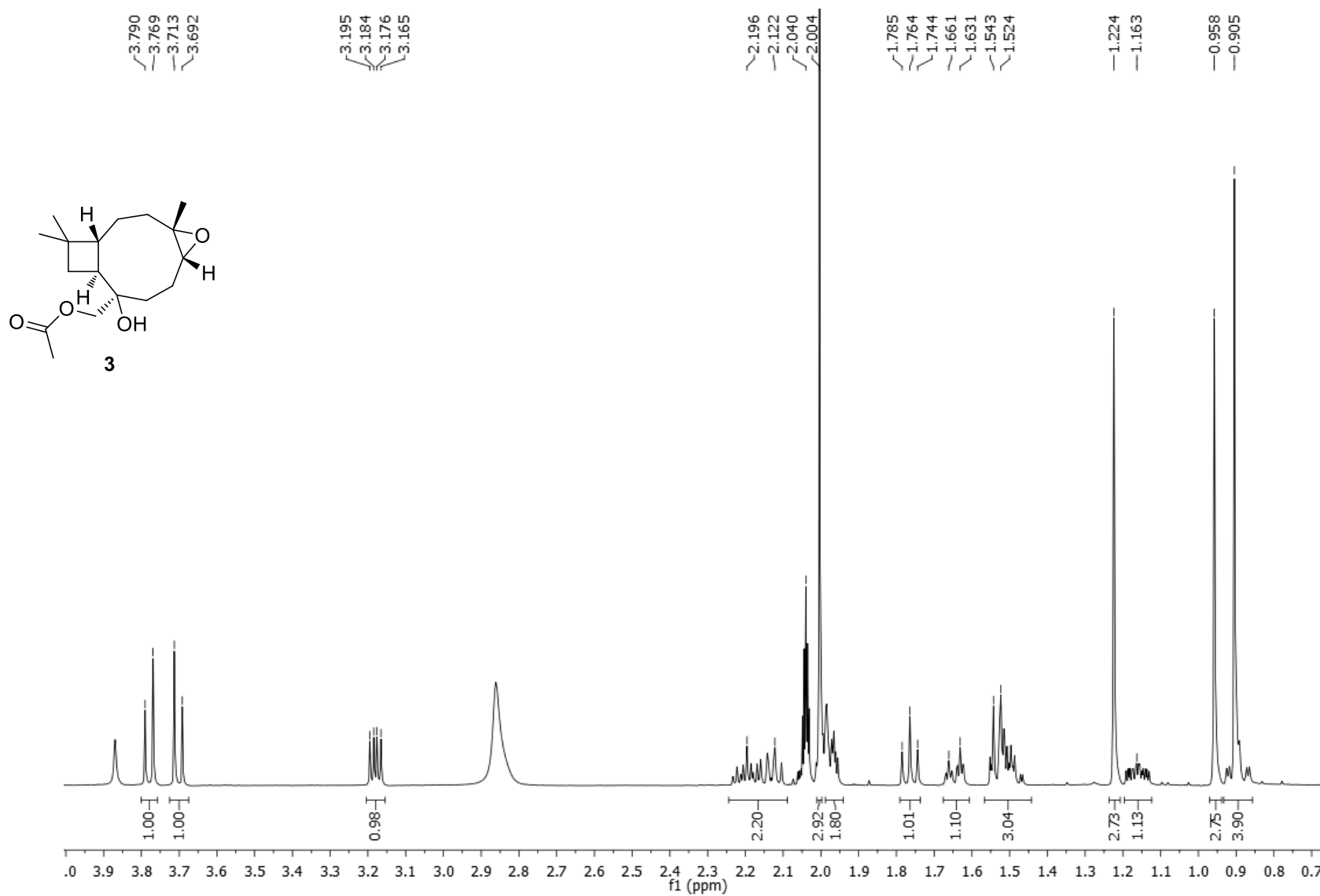


Figura S33. Espectro de RMN de ^1H de **3** a 500 MHz em acetona- d_6 (expansão).

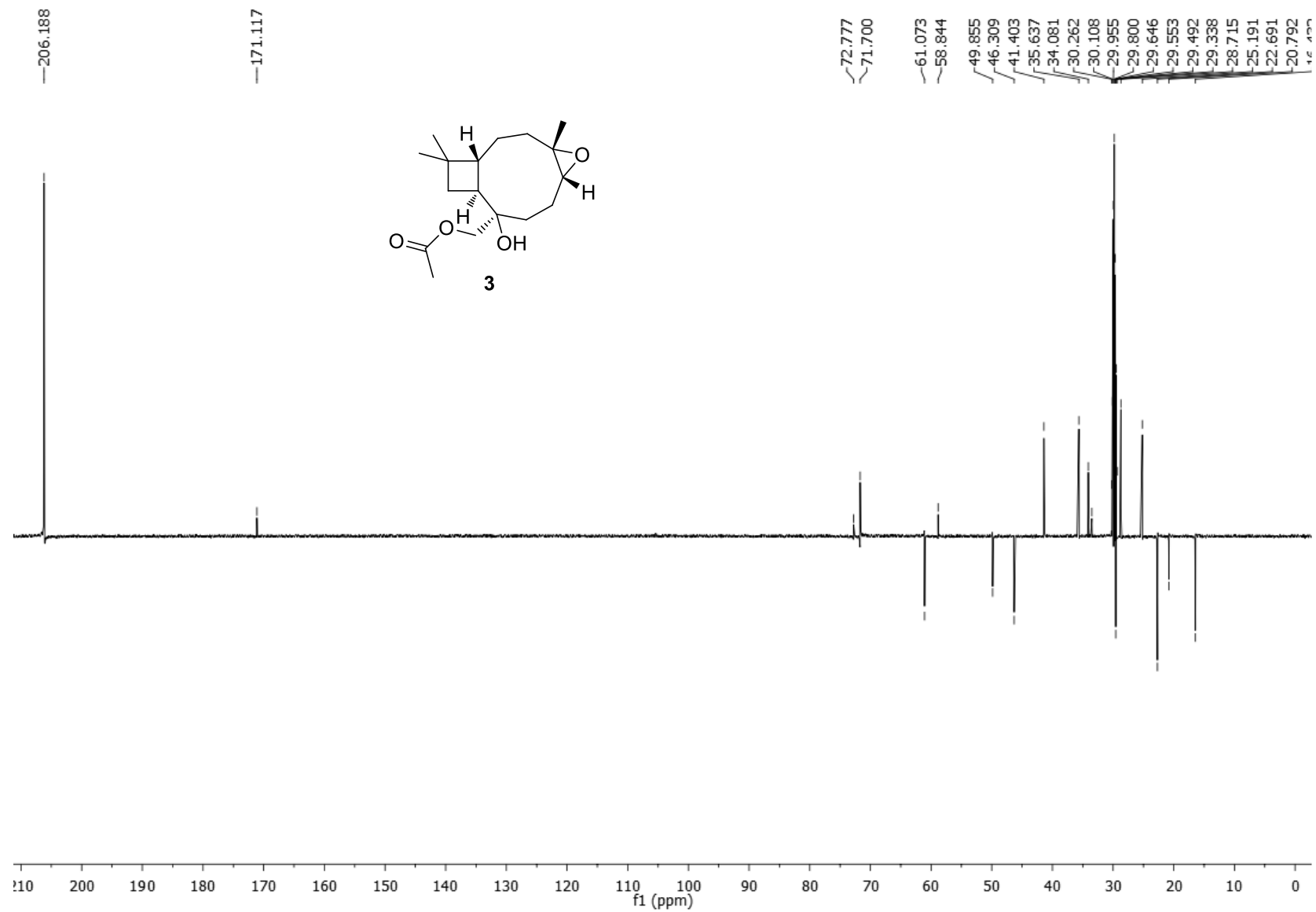


Figura S34. Espectro de RMN de ^{13}C de **3** a 125 MHz em acetona- d_6

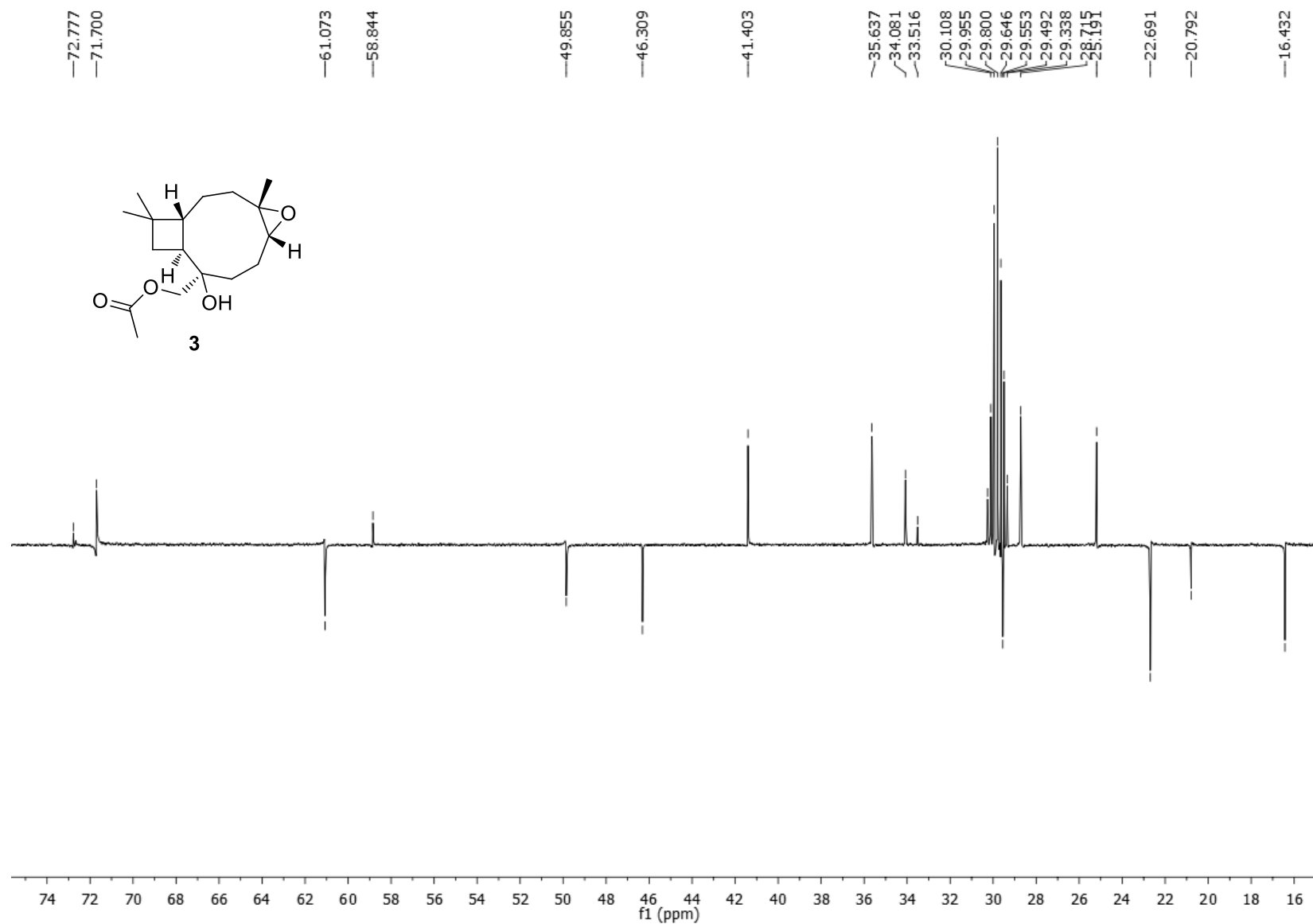


Figura S35. Espectro de RMN de ^{13}C de **3** a 125 MHz em acetona- d_6 (expansão).

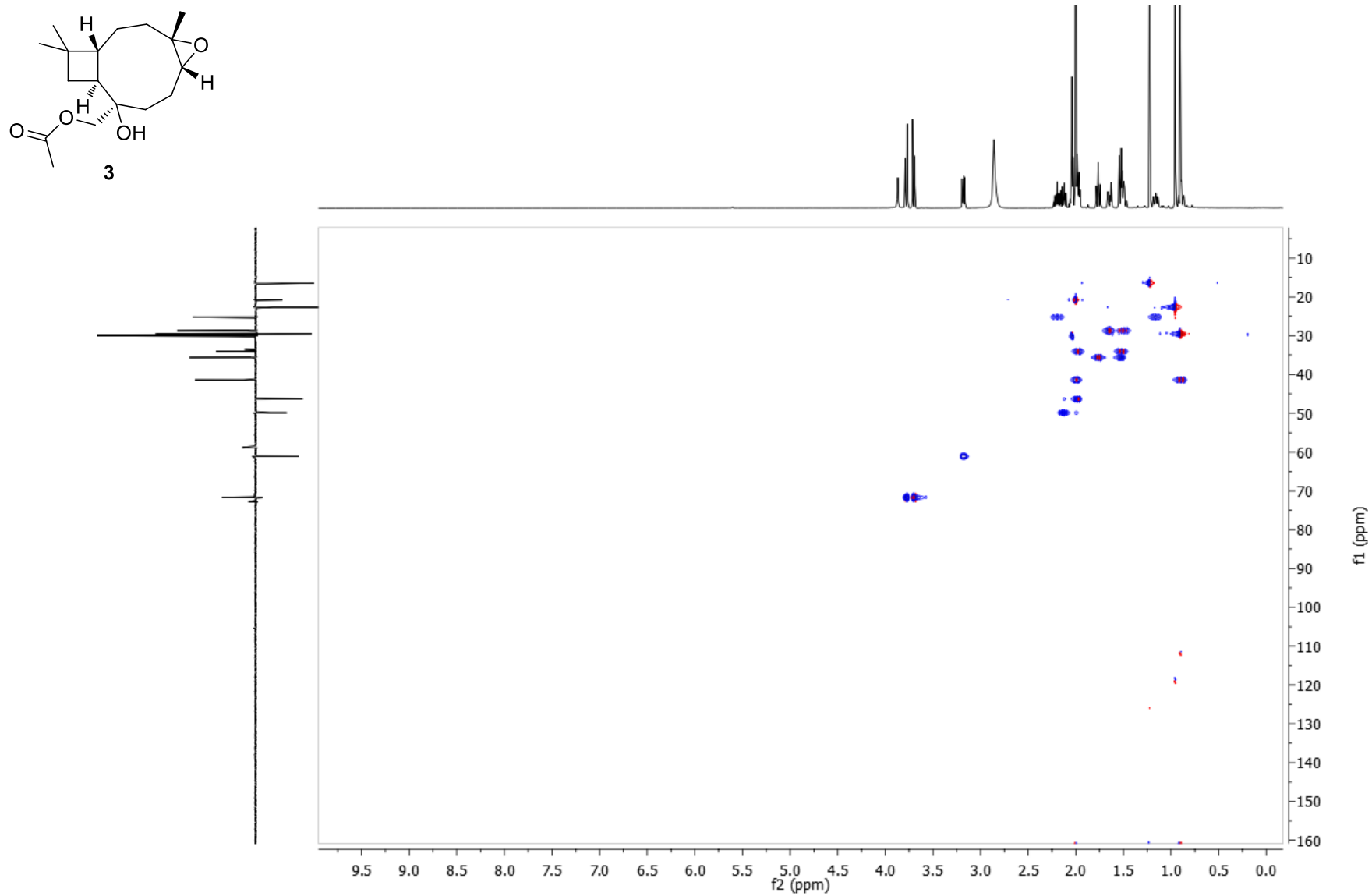


Figura S36. Espectro de HSQC de **3**

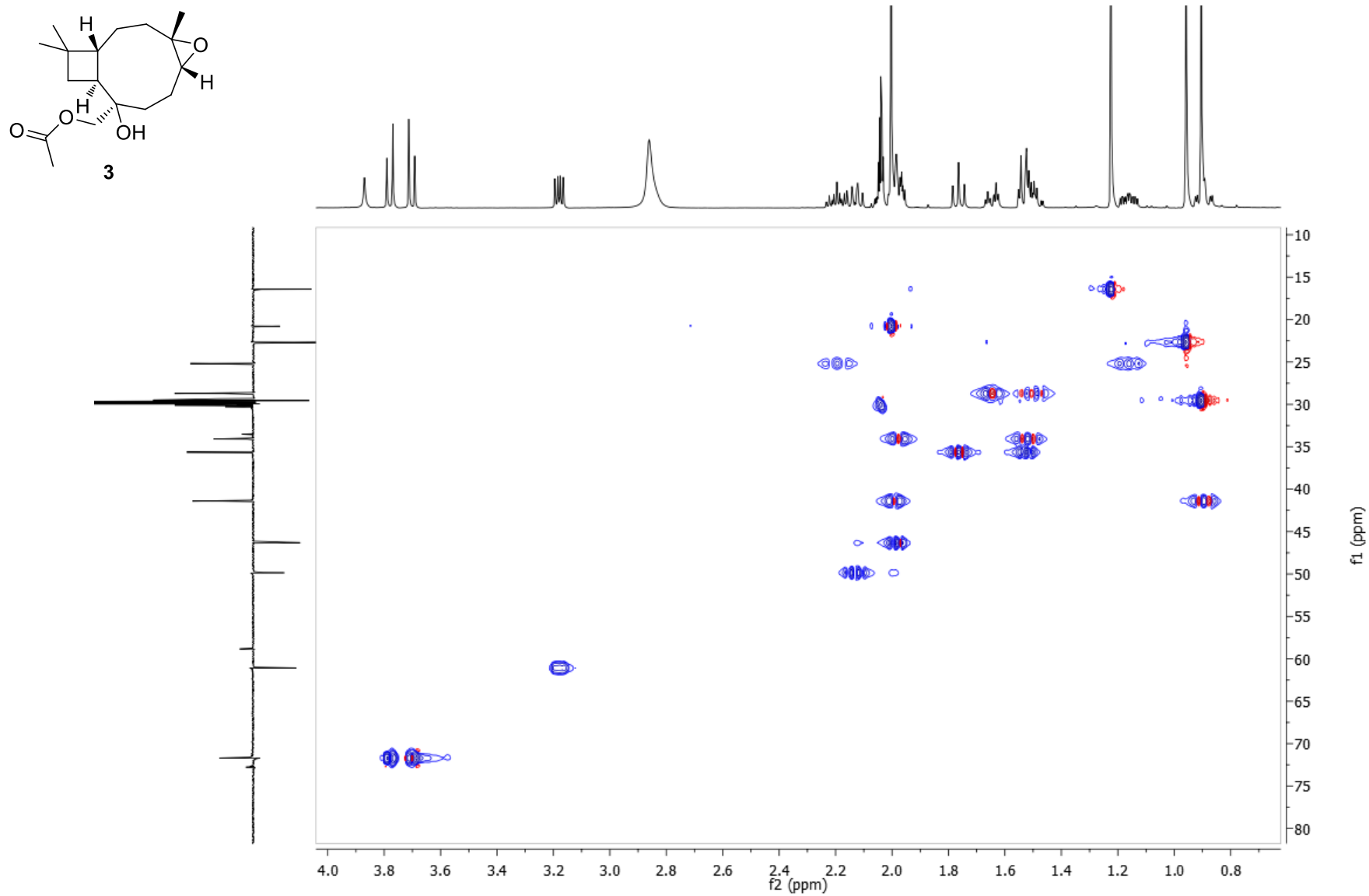


Figura S37. Espectro de HSQC de **3** (expansão).

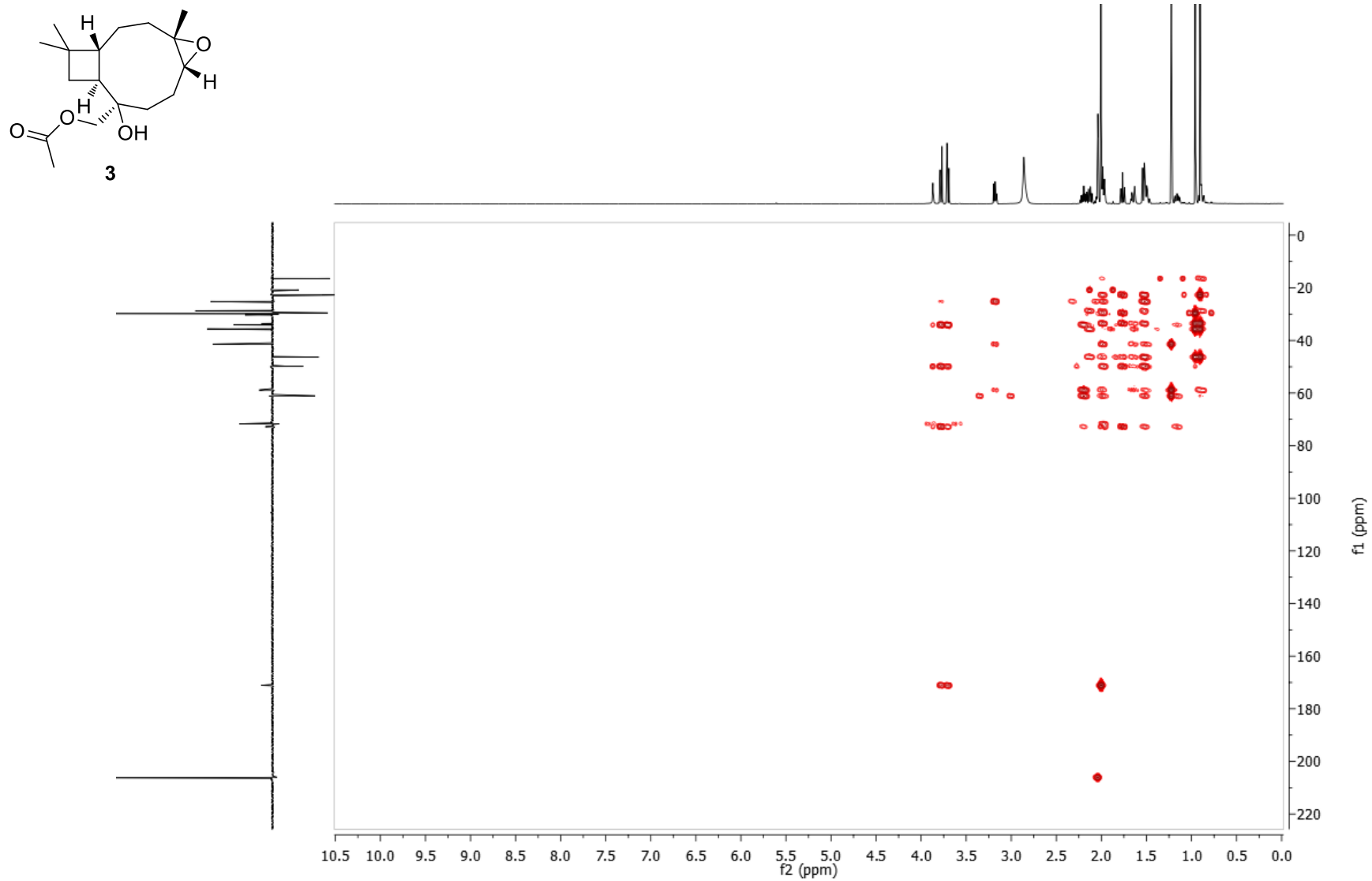


Figura S38. Espectro de HMBC de **3**

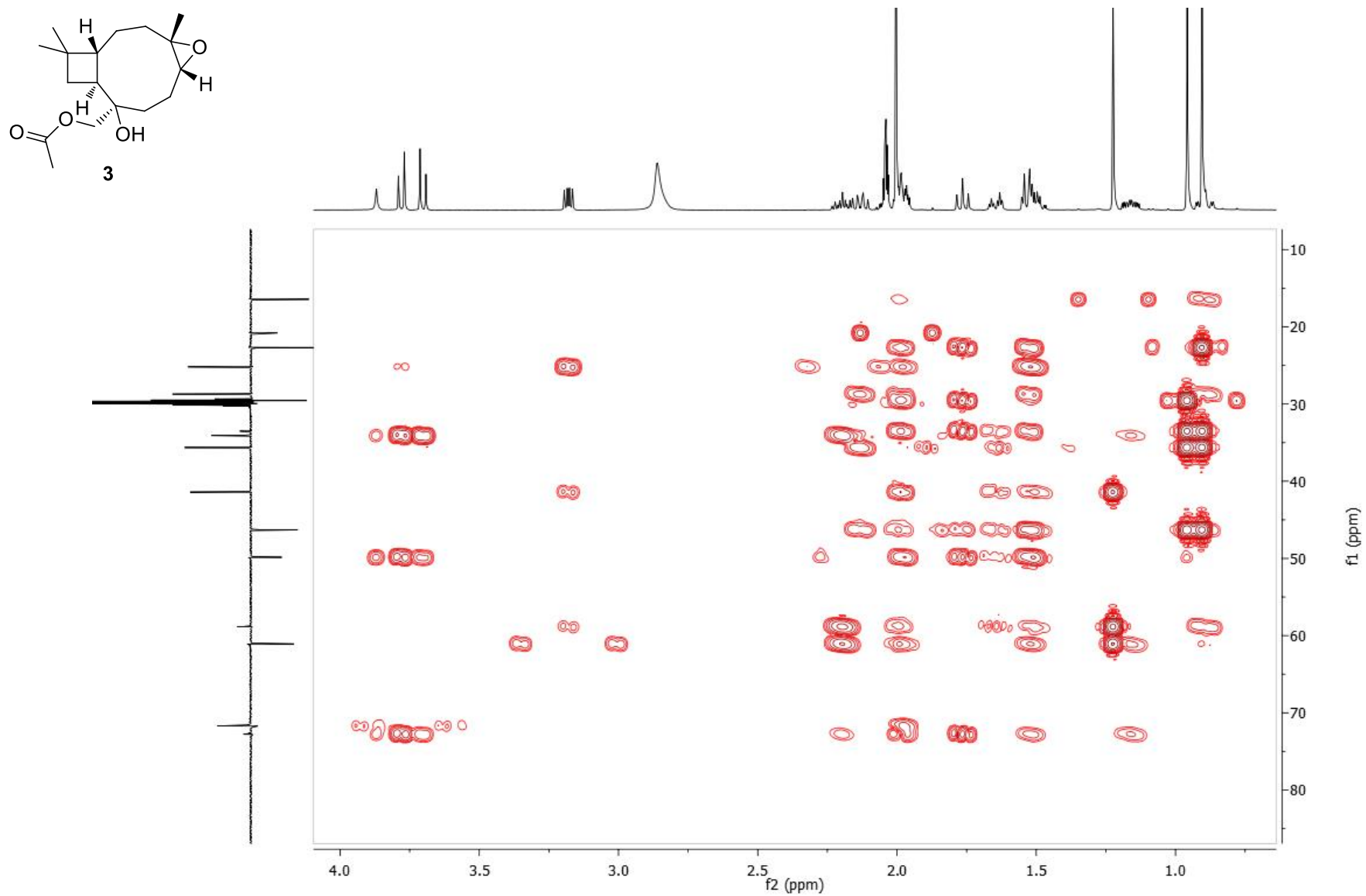


Figura S39. Espectro de HMBC de **3** (expansão).

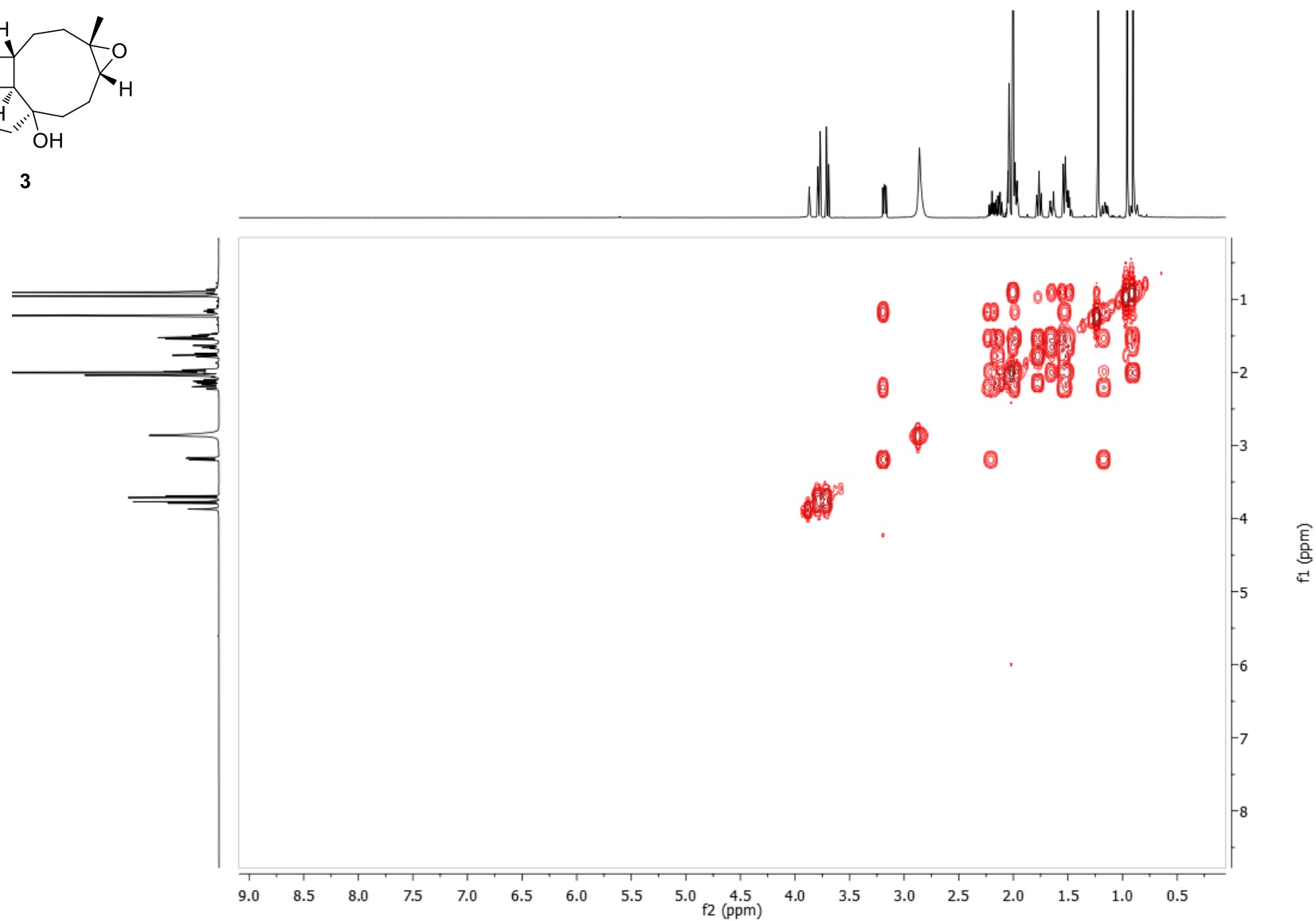
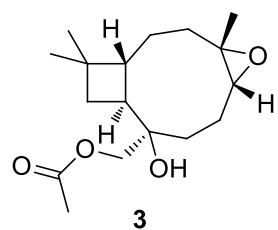


Figura S40. Espectro de ^1H - ^1H COSY de **3**

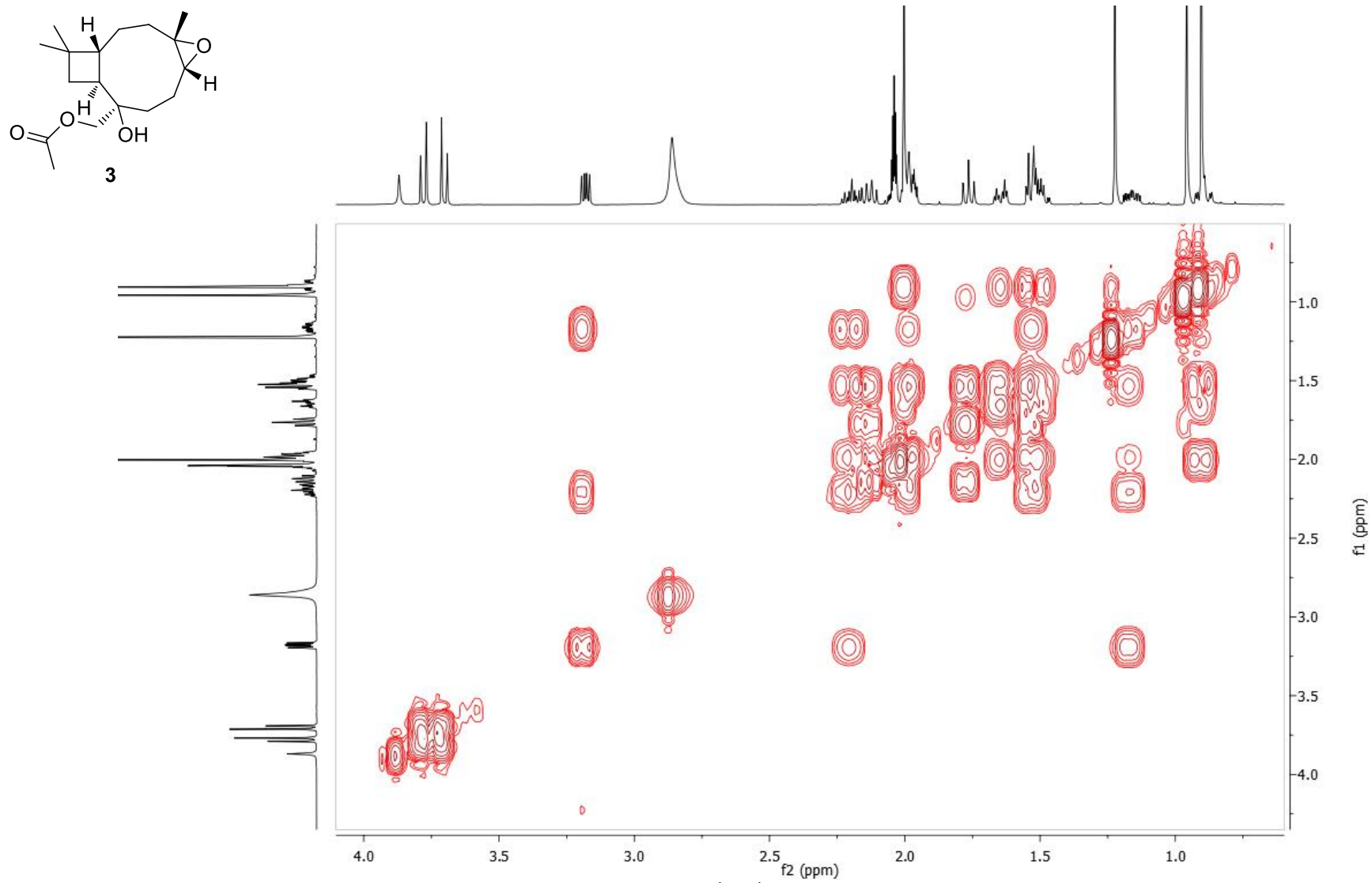


Figura S41. Espectro de ^1H - ^1H COSY de **3** (expansão).

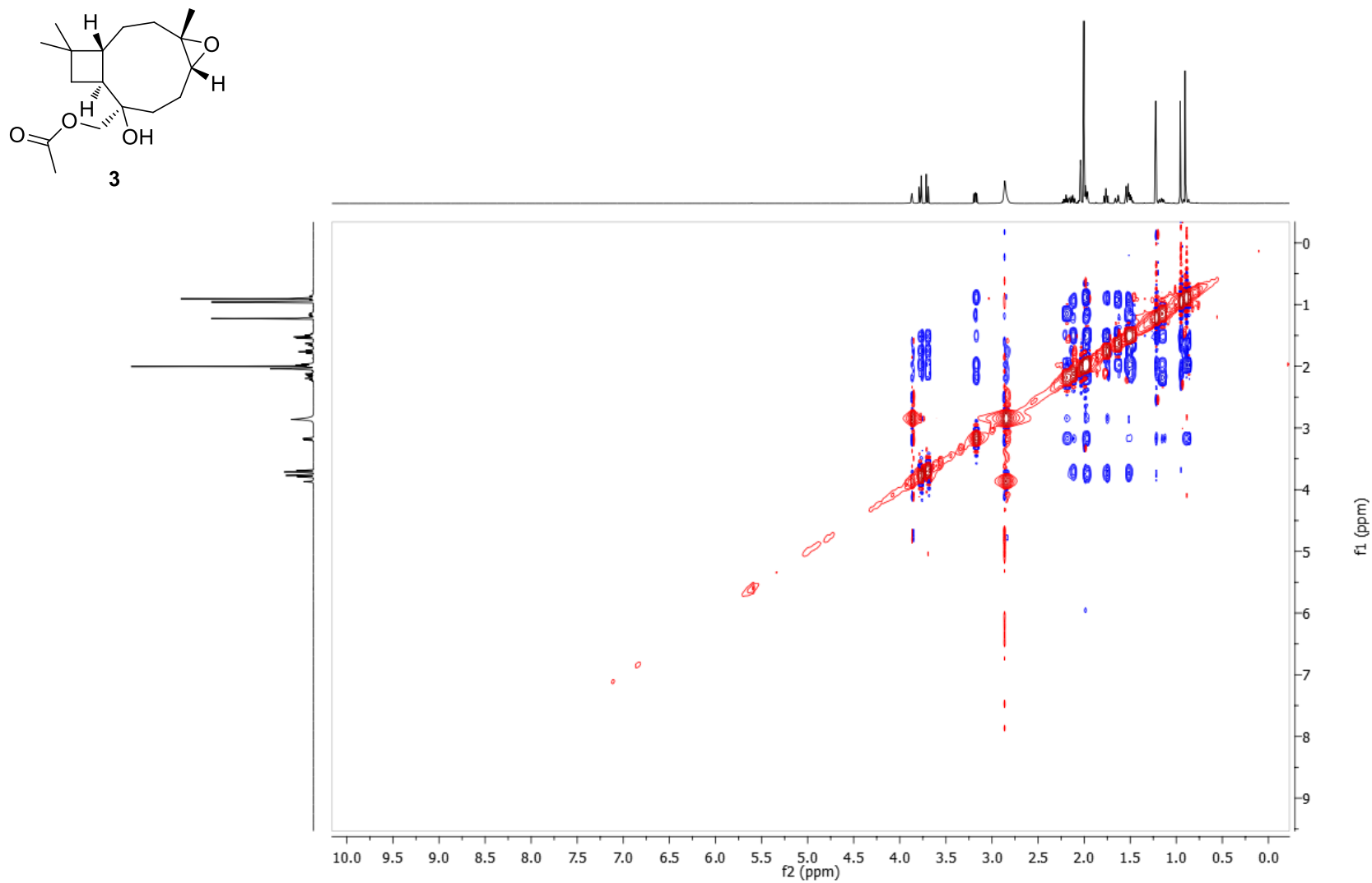


Figura S42. Espectro de NOESY ^1H - ^1H de **3**.

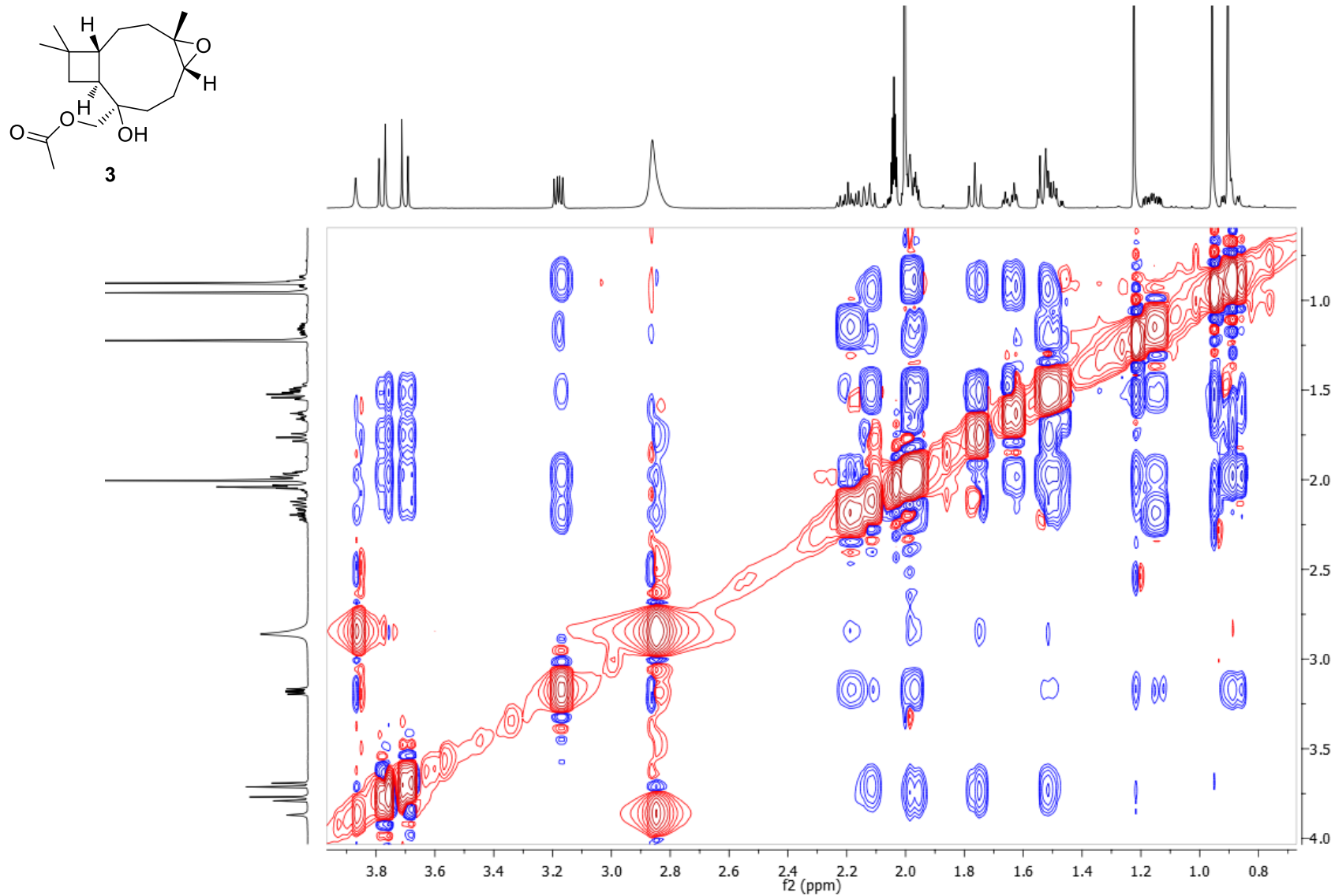


Figura S43. Espectro de NOESY ^1H - ^1H de **3** (expansão).

Mass Spectrum SmartFormula Report

Acquisition Date 14/6/2018 20:41:27
Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF 10338

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	5.8 psi
Focus	Not active			Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste

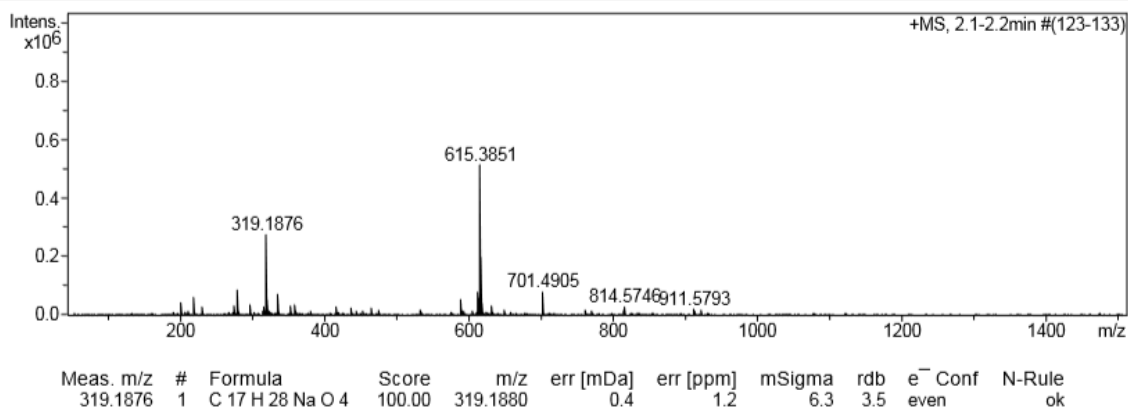


Figura S44. Espectro de HRESIMS de **3**.

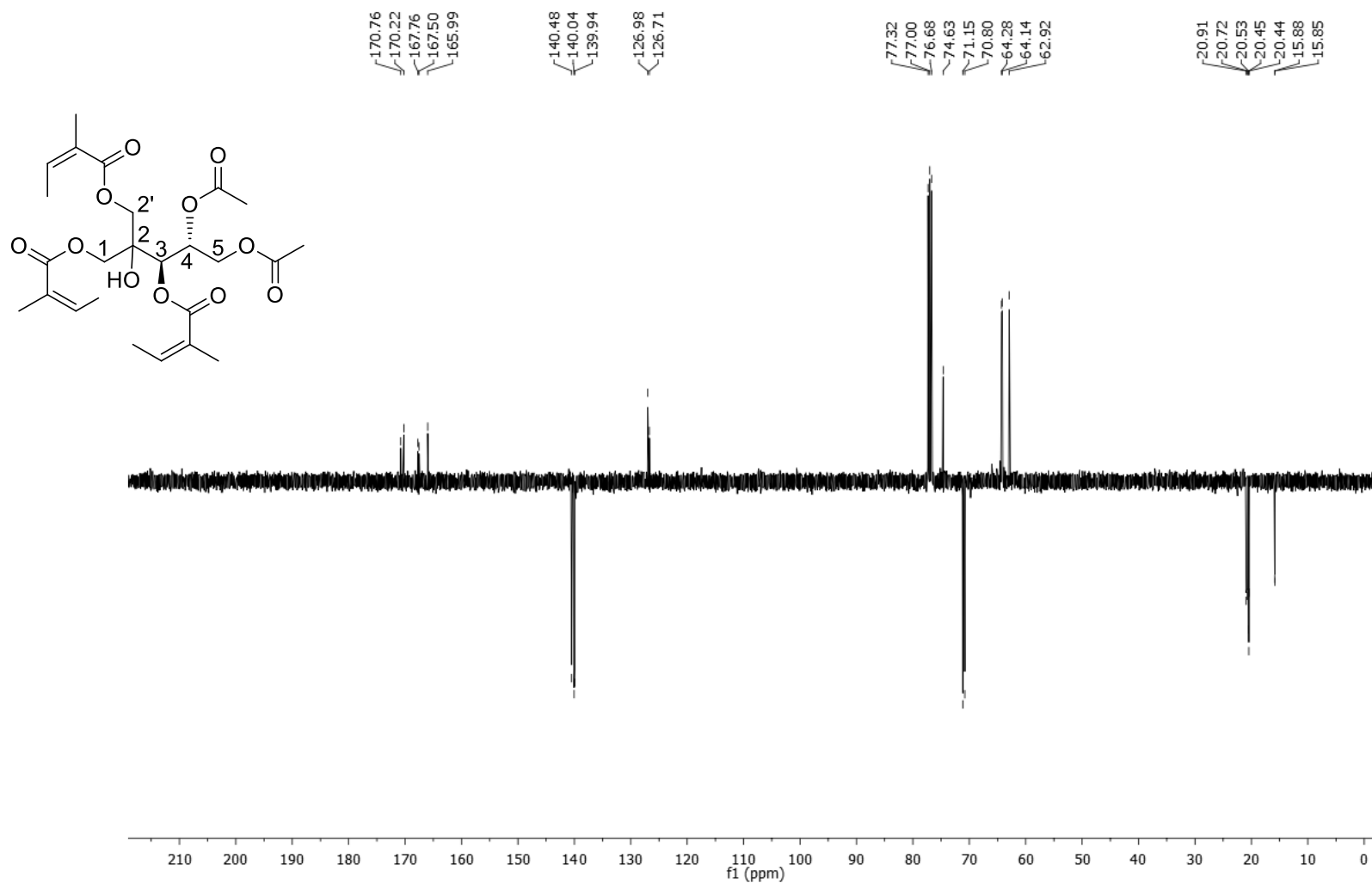


Figura S45. Espectro de RMN de ^{13}C de **4** a 100 MHz em CDCl_3 .

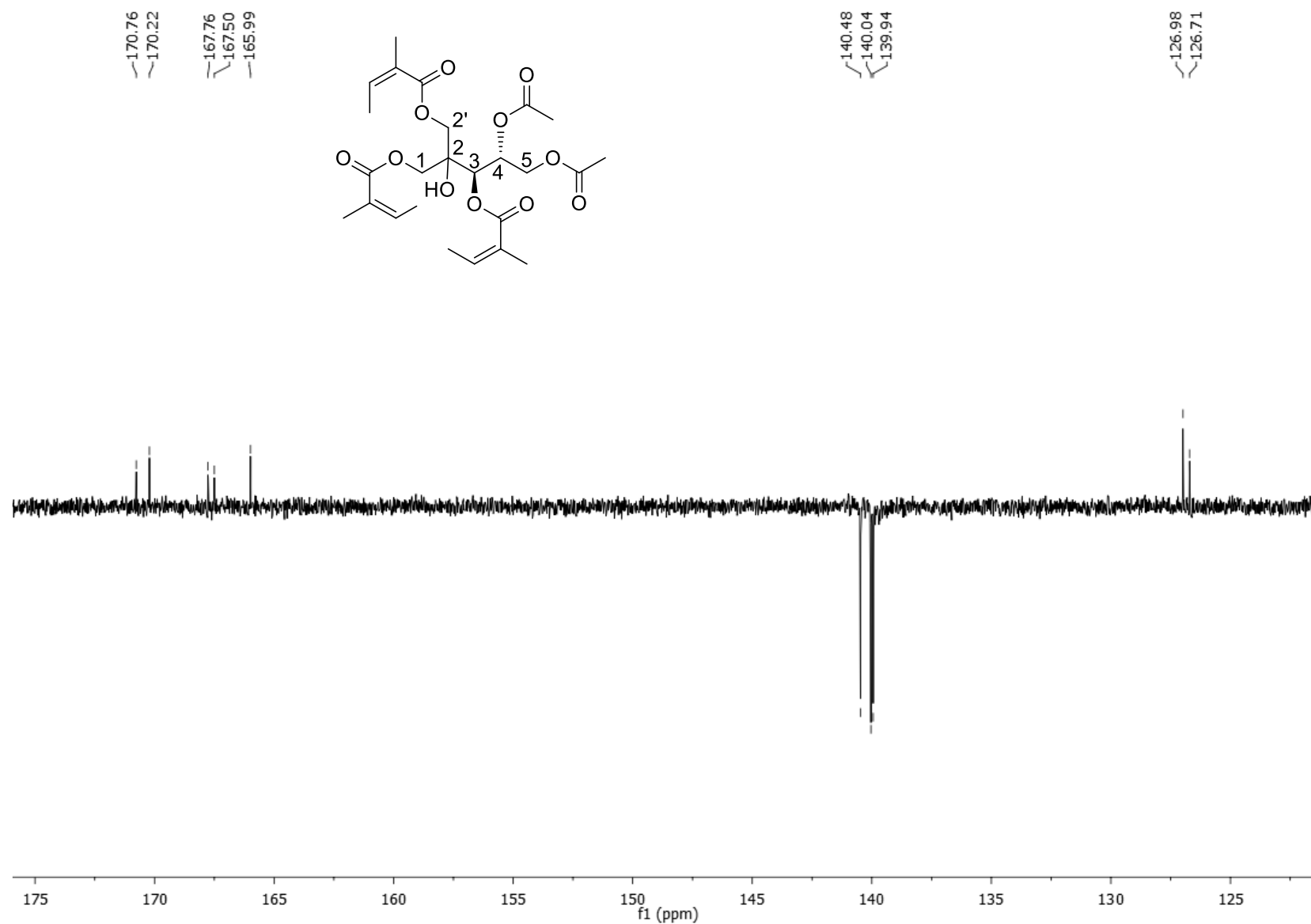


Figura S46. Espectro de RMN de ^{13}C de **4** a 100 MHz em CDCl_3 (expansão).

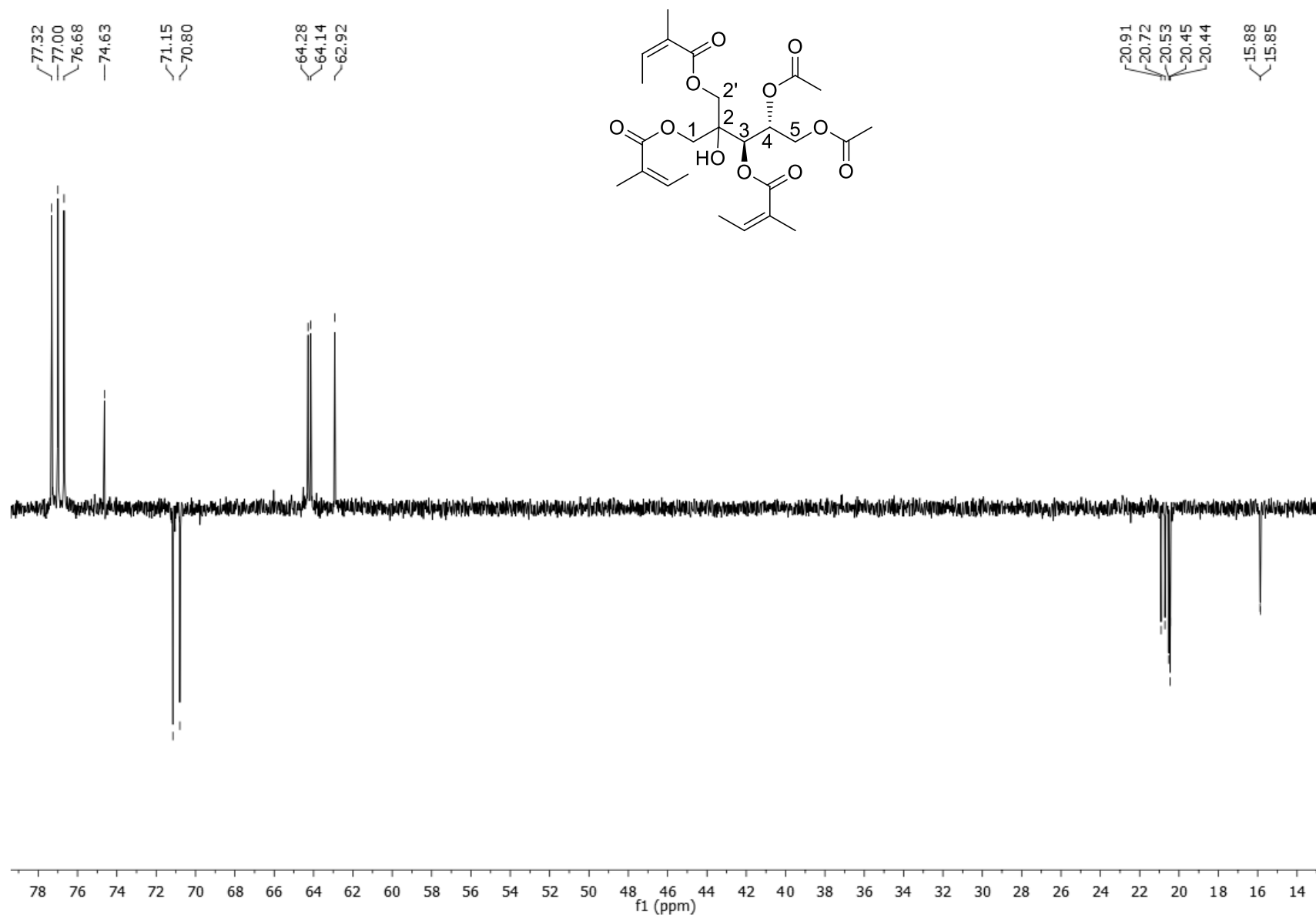


Figura S47. Espectro de RMN de ^{13}C de **4** a 100 MHz em CDCl_3 (expansão).

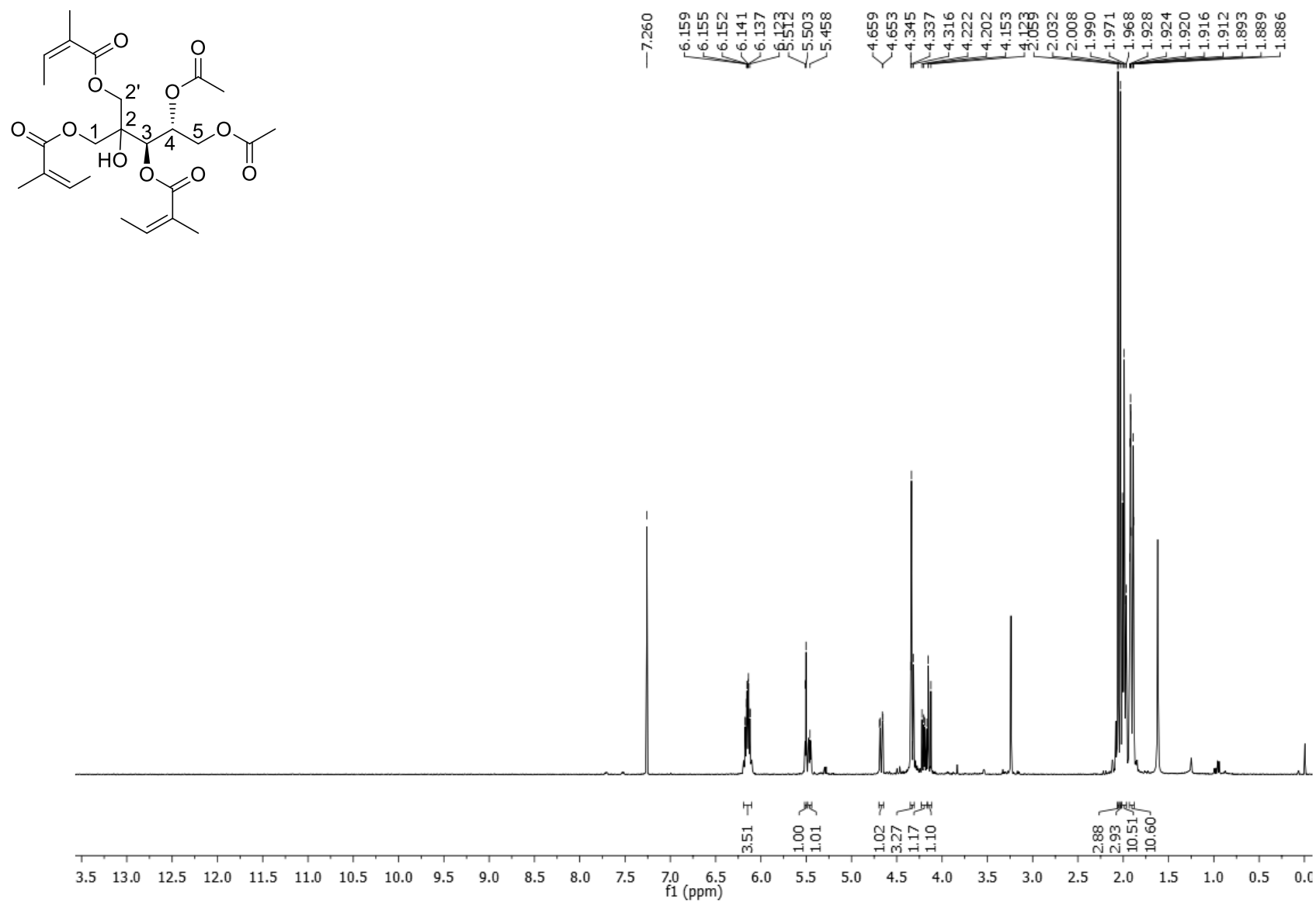


Figura S48. Espectro de RMN de ¹H de **4** a 400 MHz em CDCl₃.

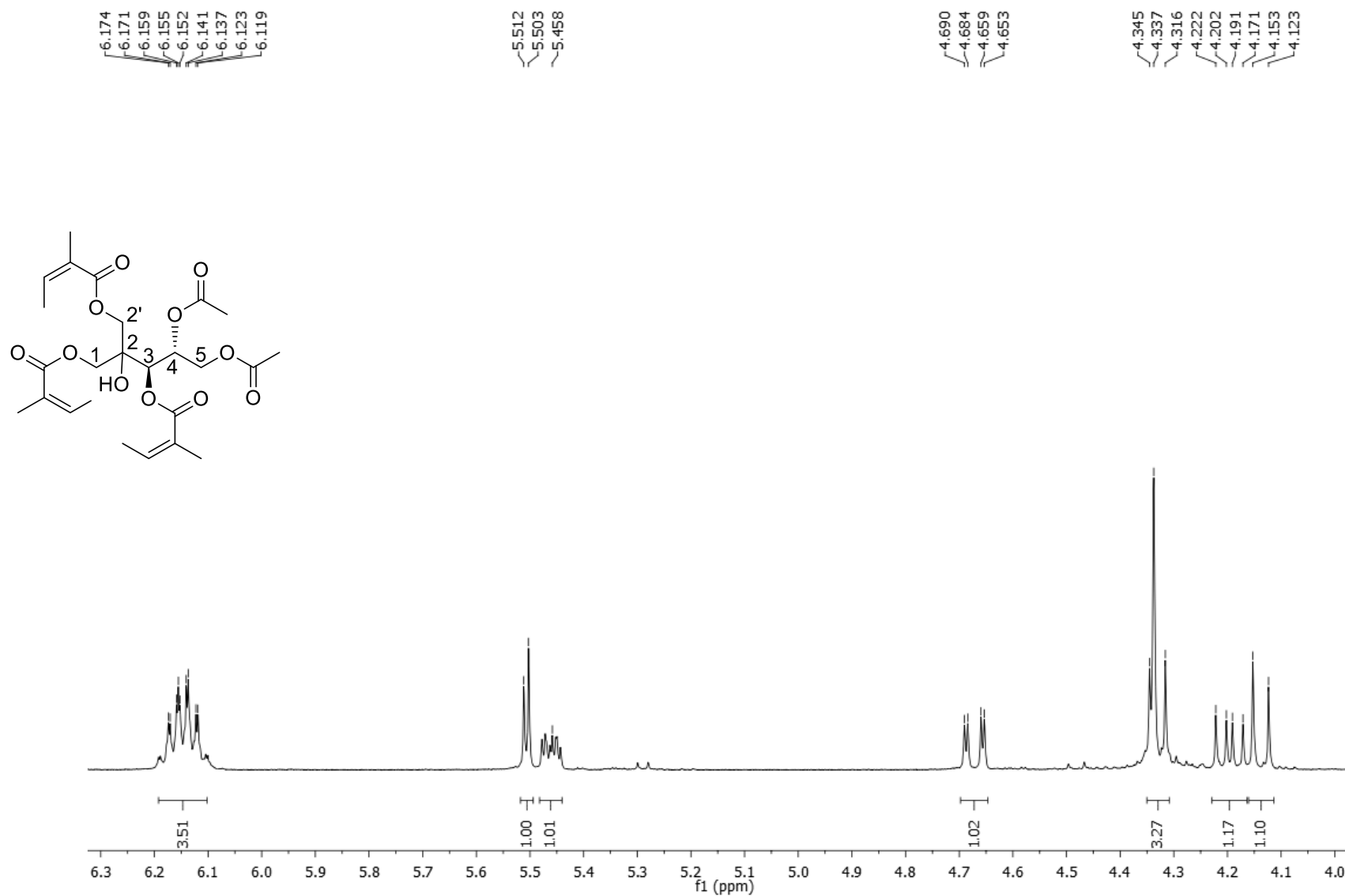


Figura S49. Espectro de RMN de ^1H de **4** a 400 MHz em CDCl_3 (expansão).

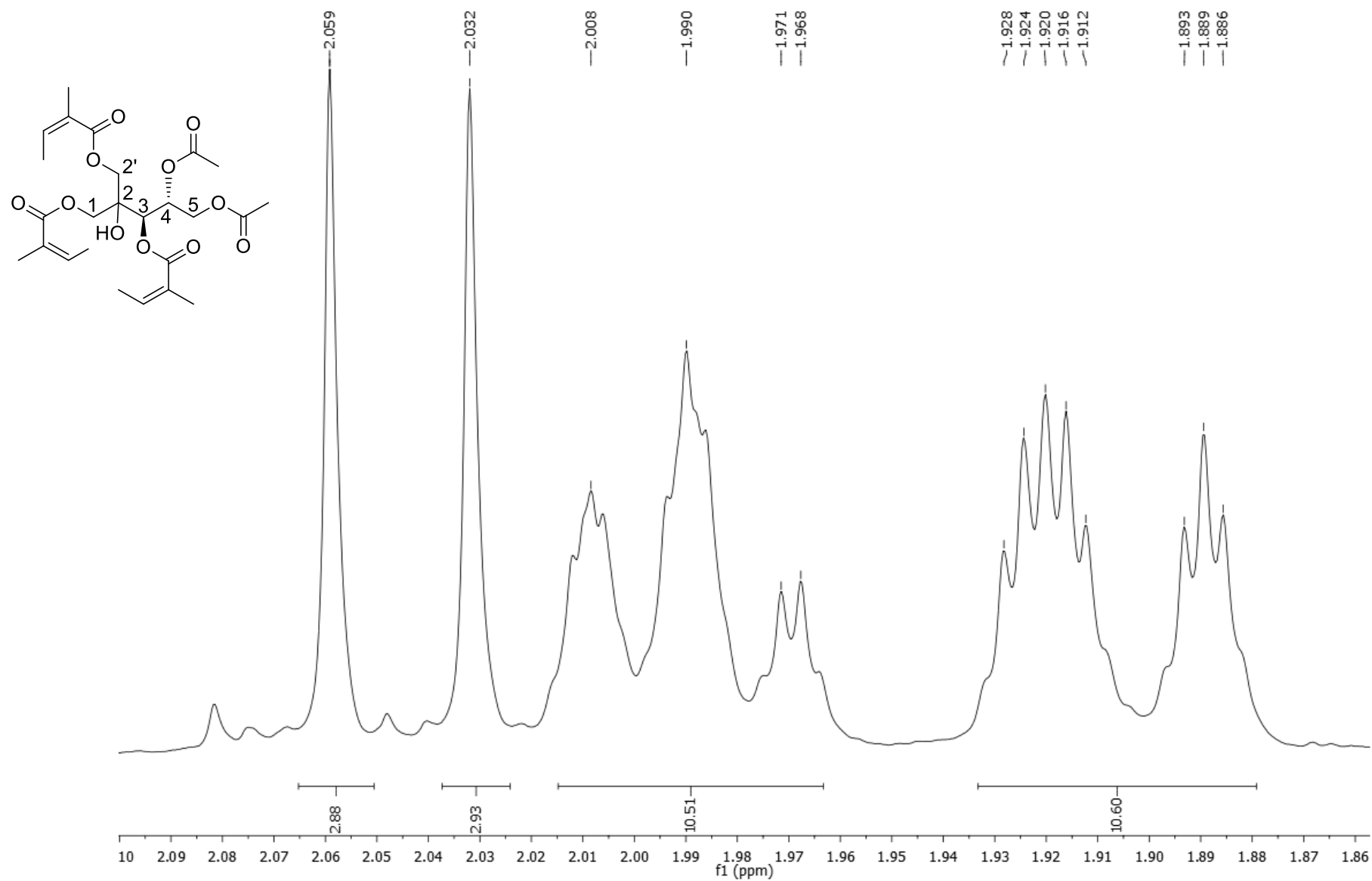


Figura S50. Espectro de RMN de ^1H de **4** a 400 MHz em CDCl_3 (expansão).

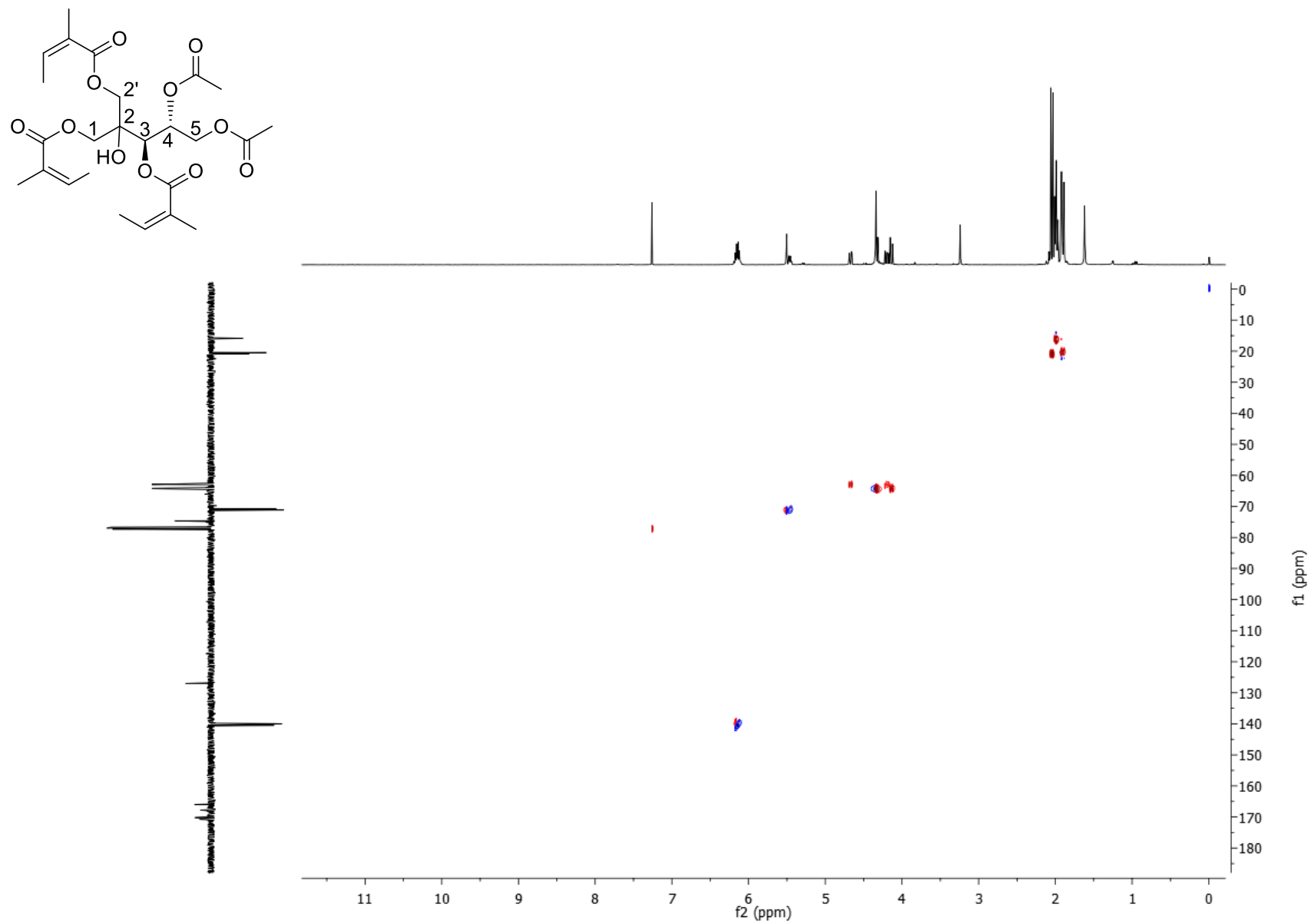


Figura S51. Espectro de HSQC de **4**

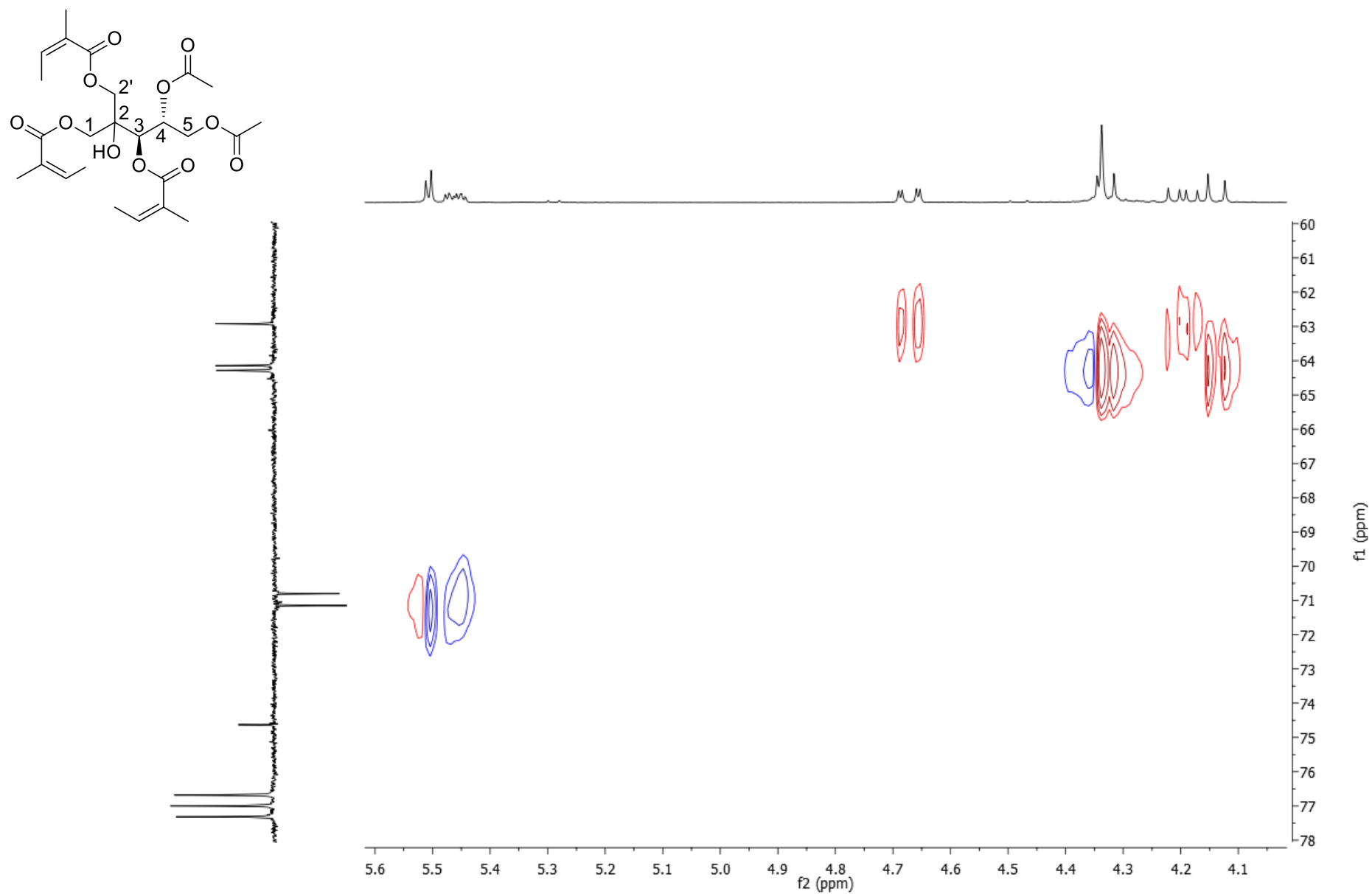


Figura S52. Espectro de HSQC de **4** (expansão).

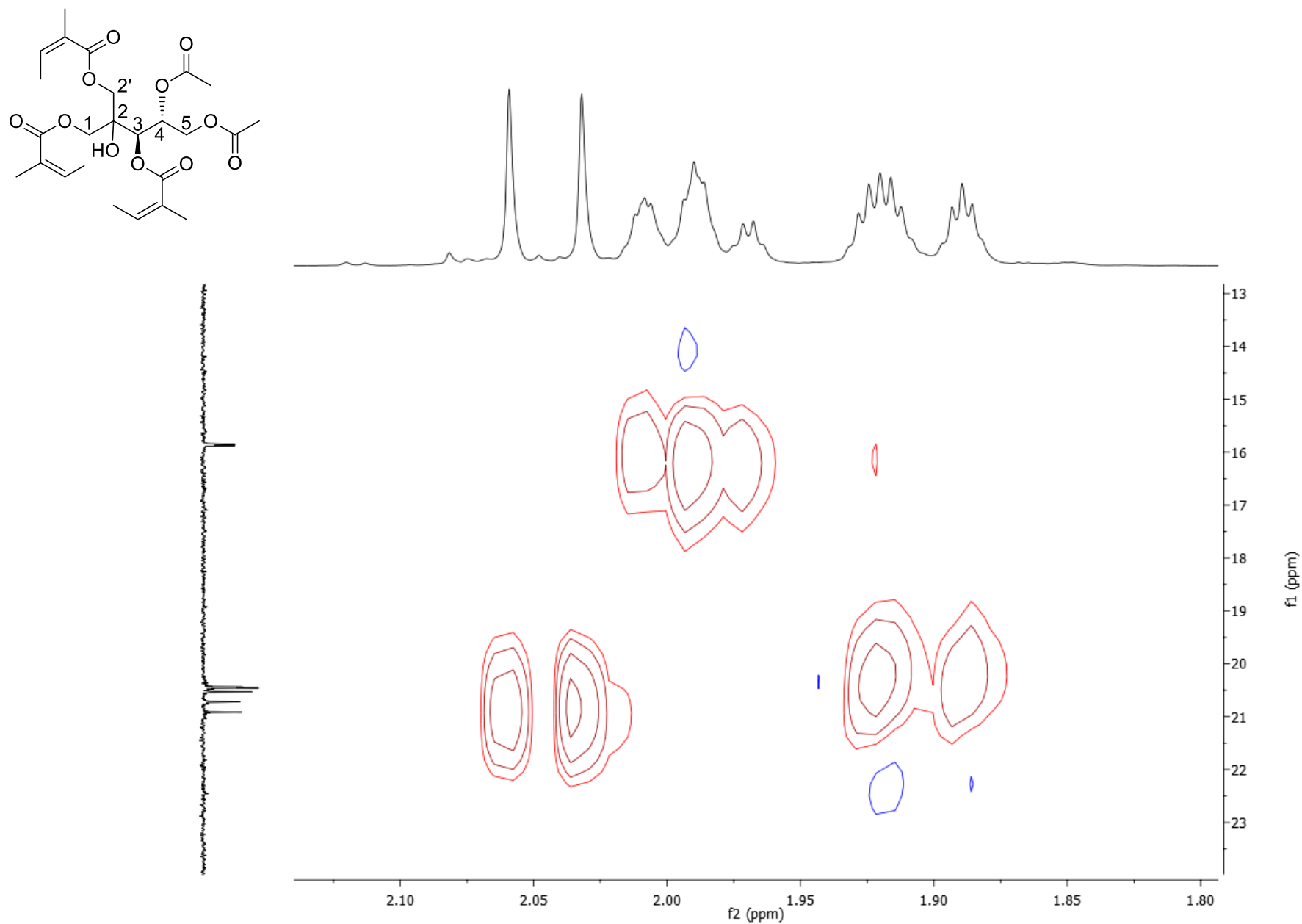


Figura S53. Espectro de HSQC de **4** (expansão).

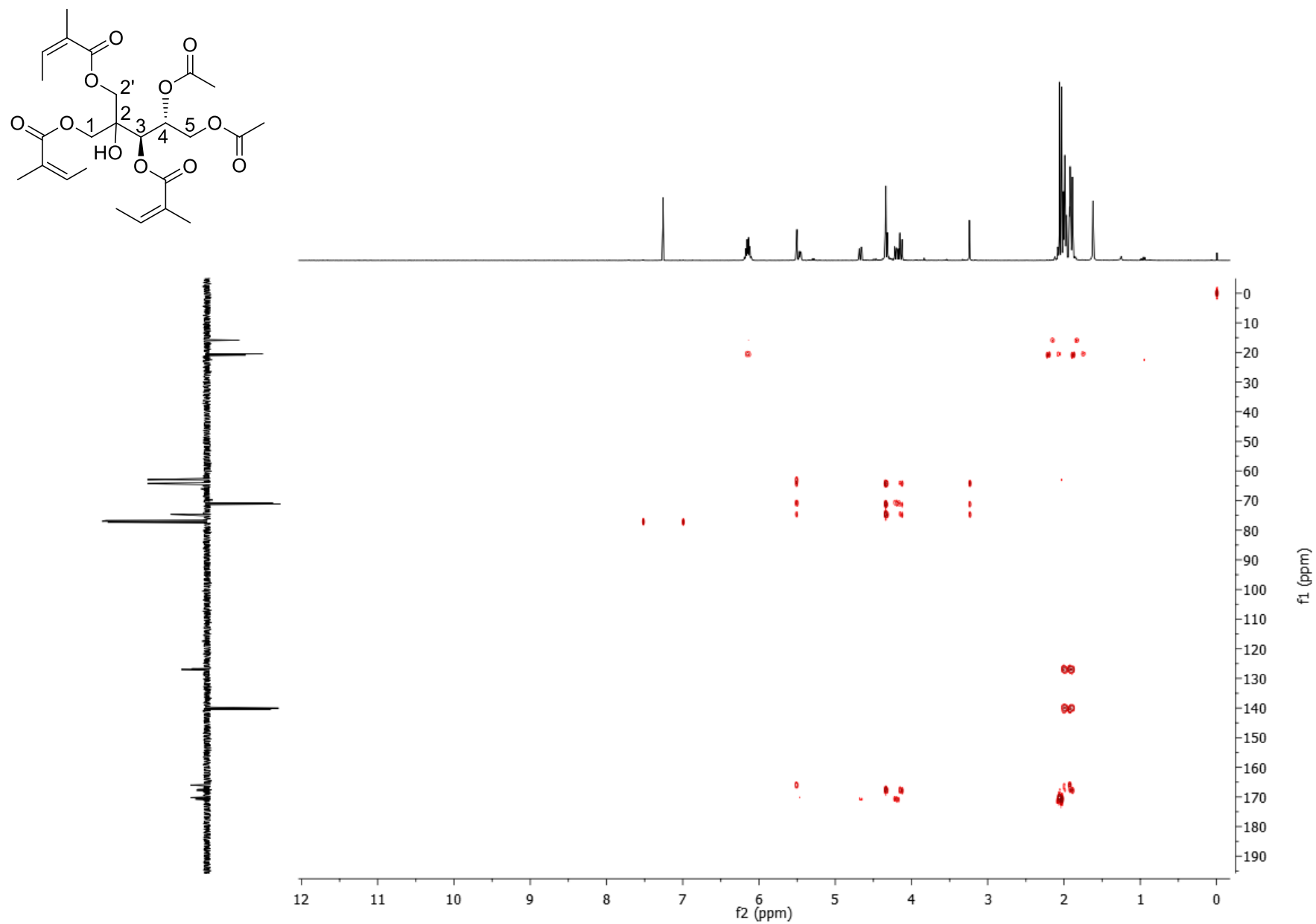


Figura S54. Espectro de HMBC de 4

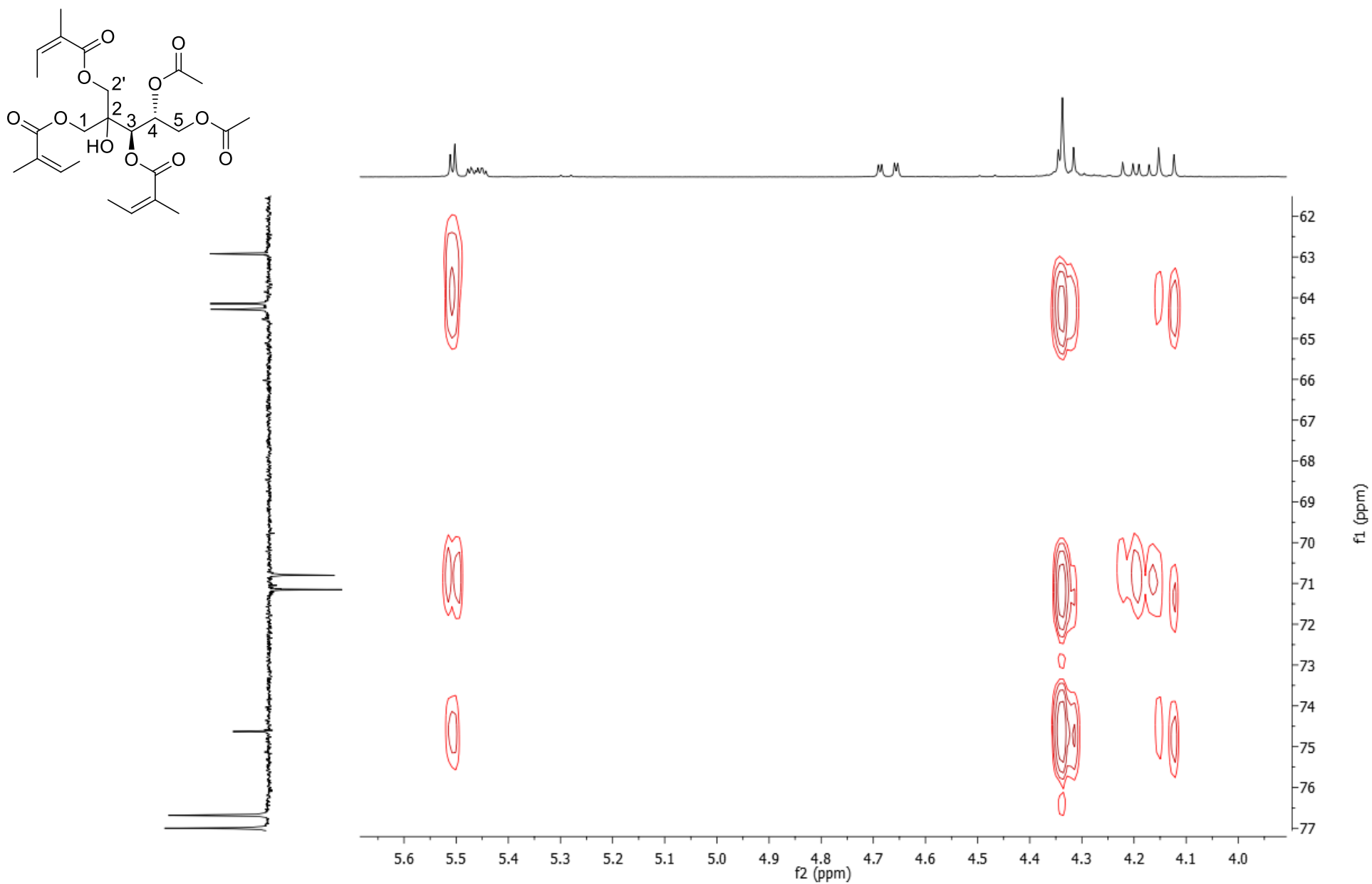


Figura S55. Espectro de HMBC de **4** (expansão).

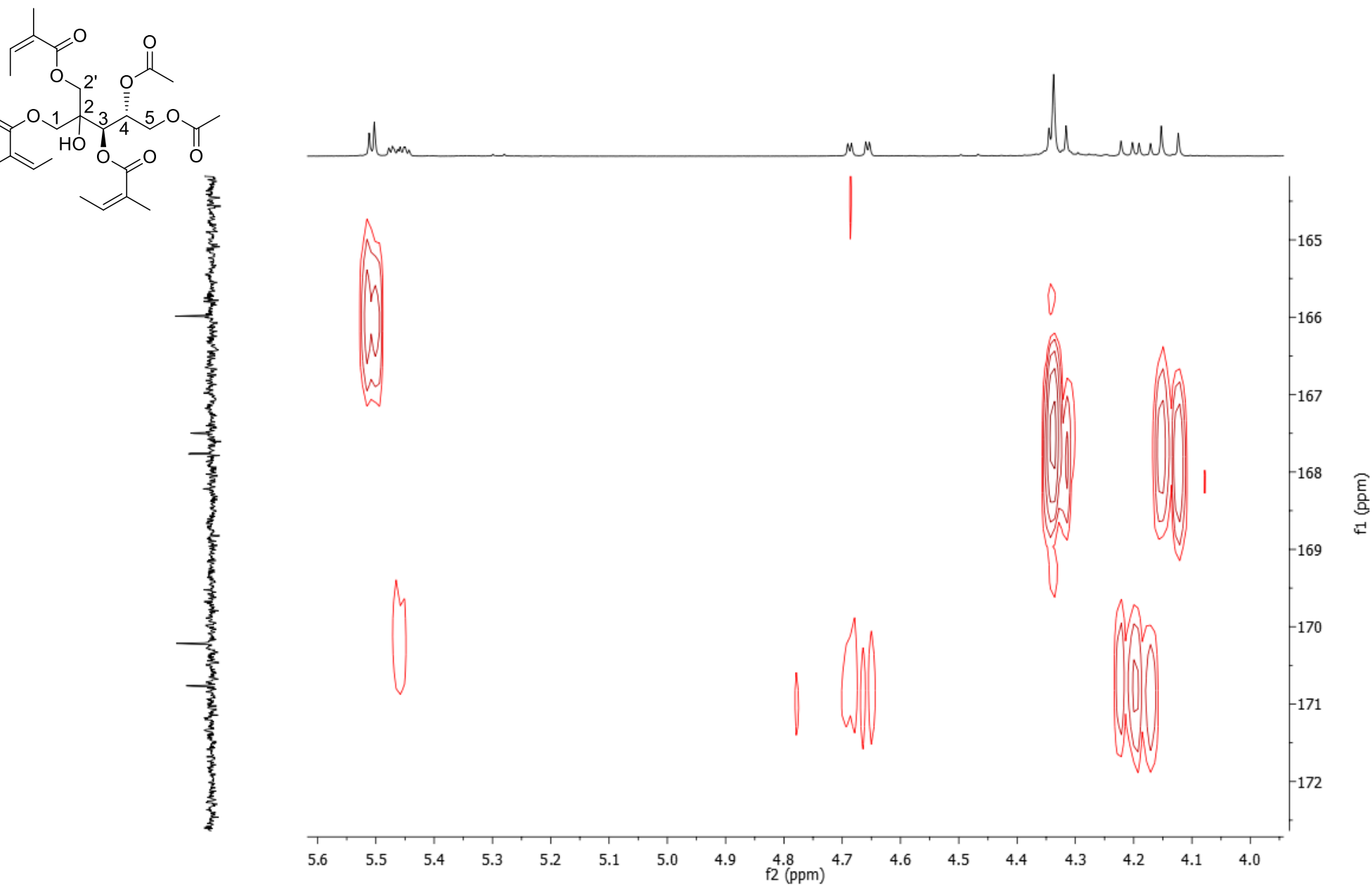


Figura S56. Espectro de HMBC de **4** (expansão).

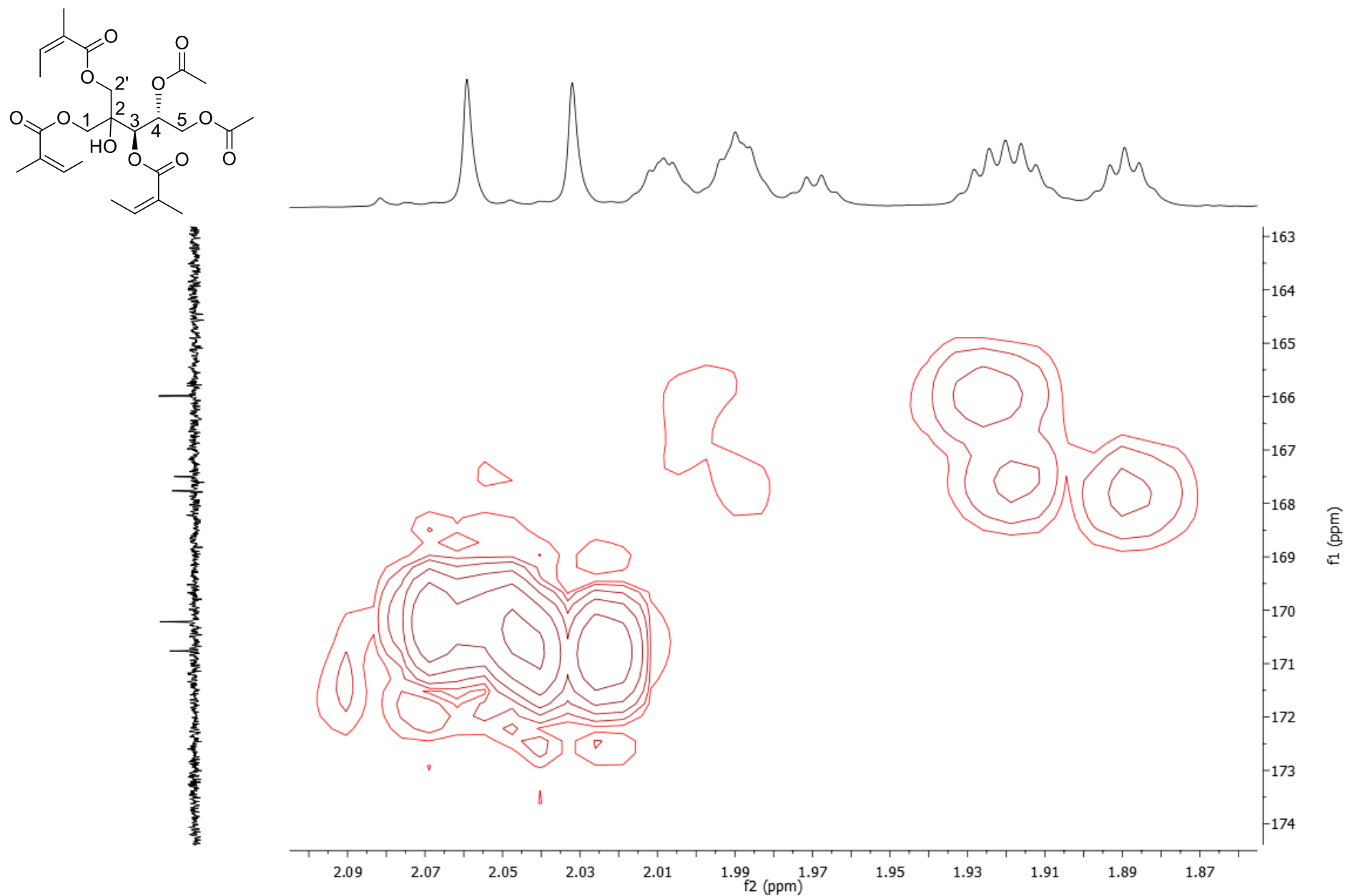


Figura S57. Espectro de HMBC de **4** (expansão).

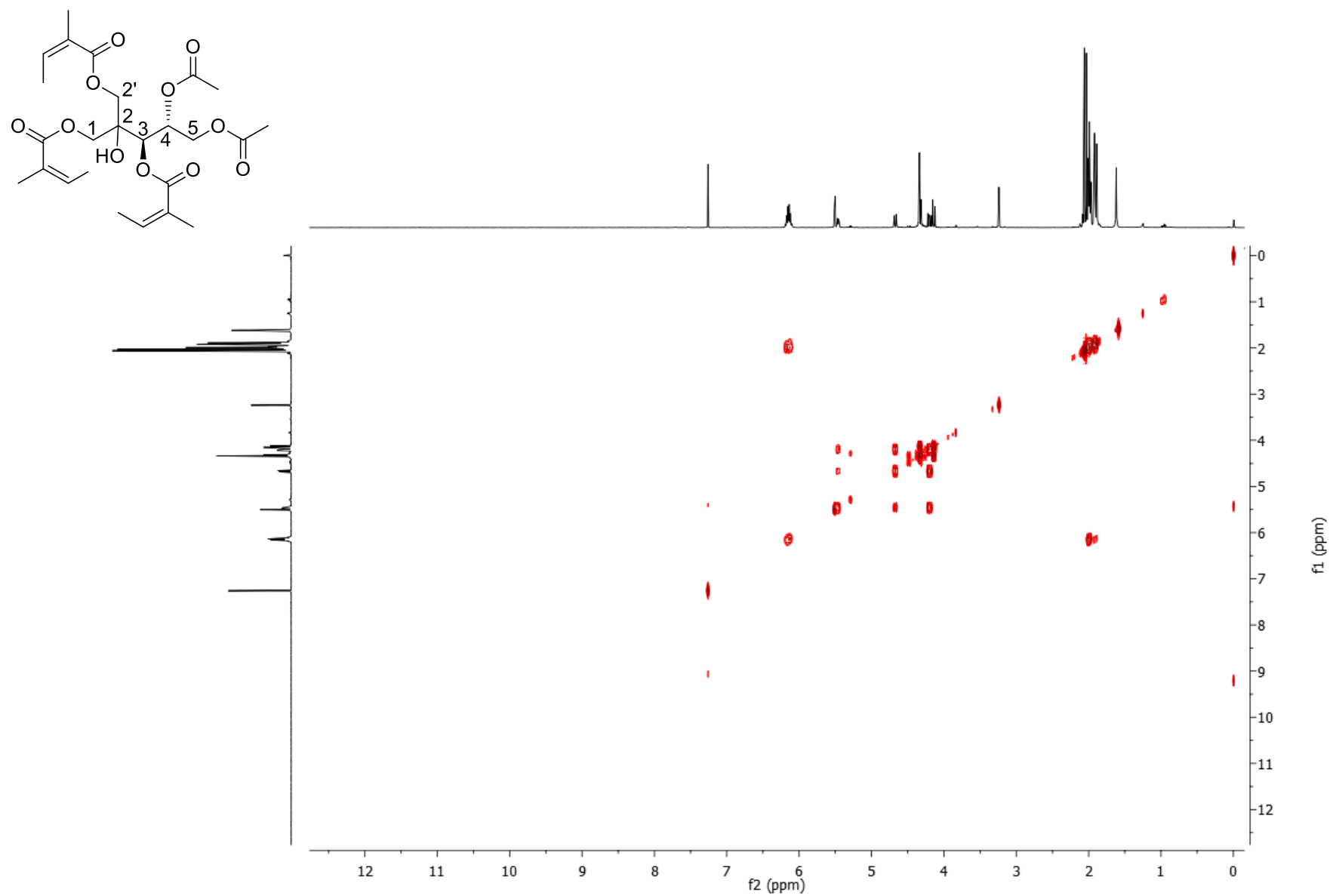


Figura S58. Espectro de ^1H - ^1H COSY de **4**.

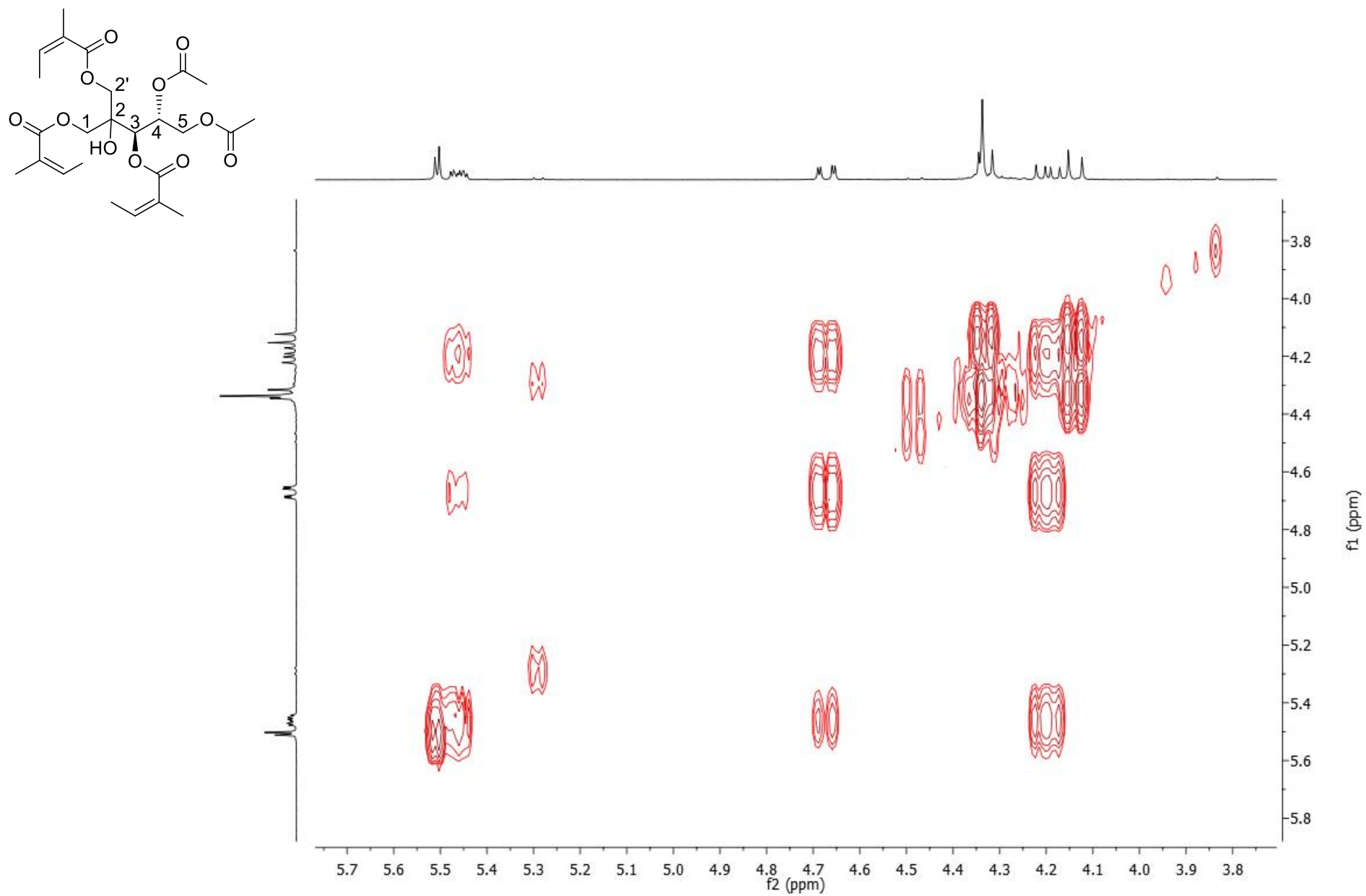


Figura S59. Espectro de ^1H - ^1H COSY de **4** (expansão).

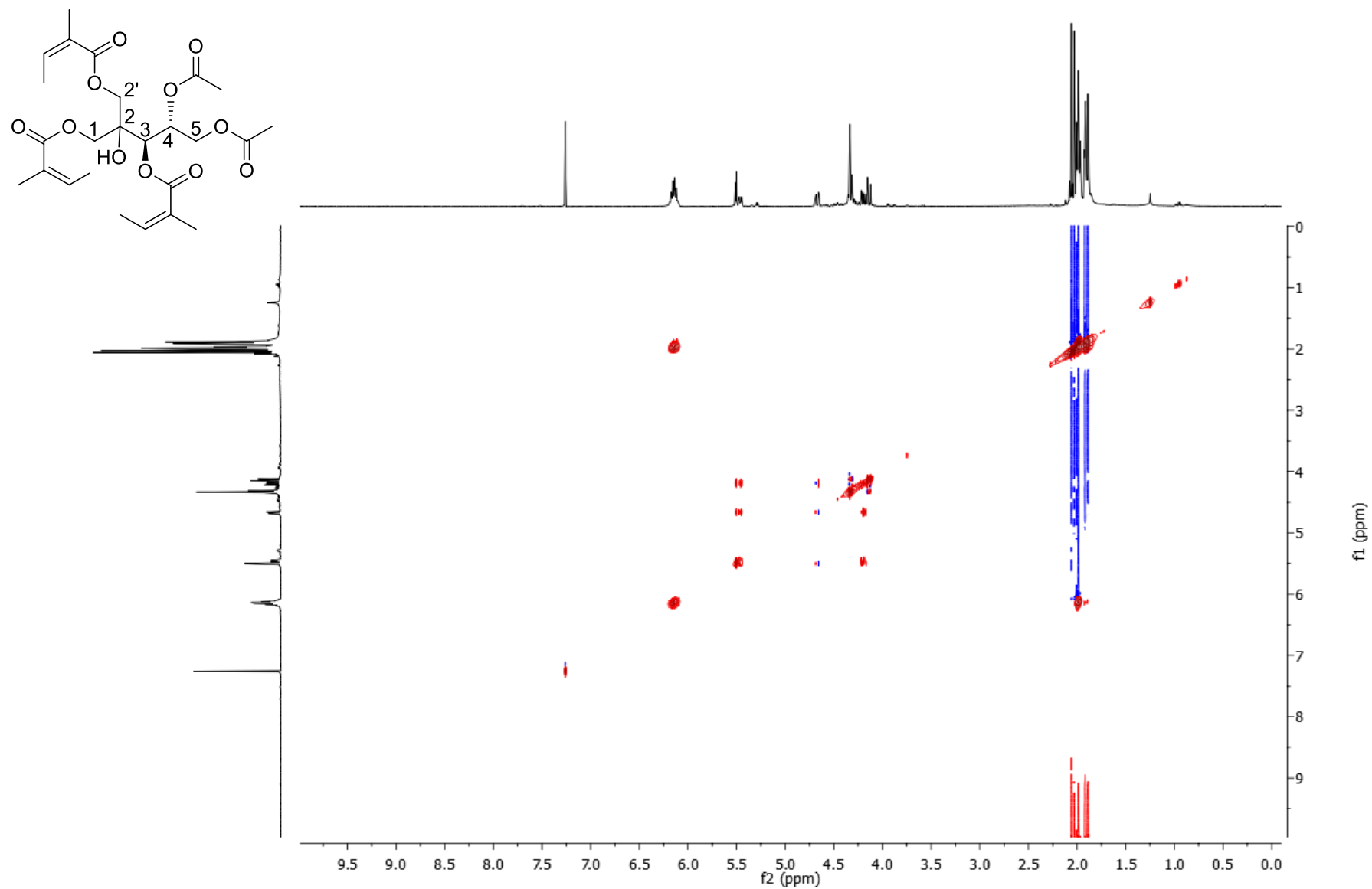


Figura S60. Espectro de ^1H - ^1H TOCSY de **4**

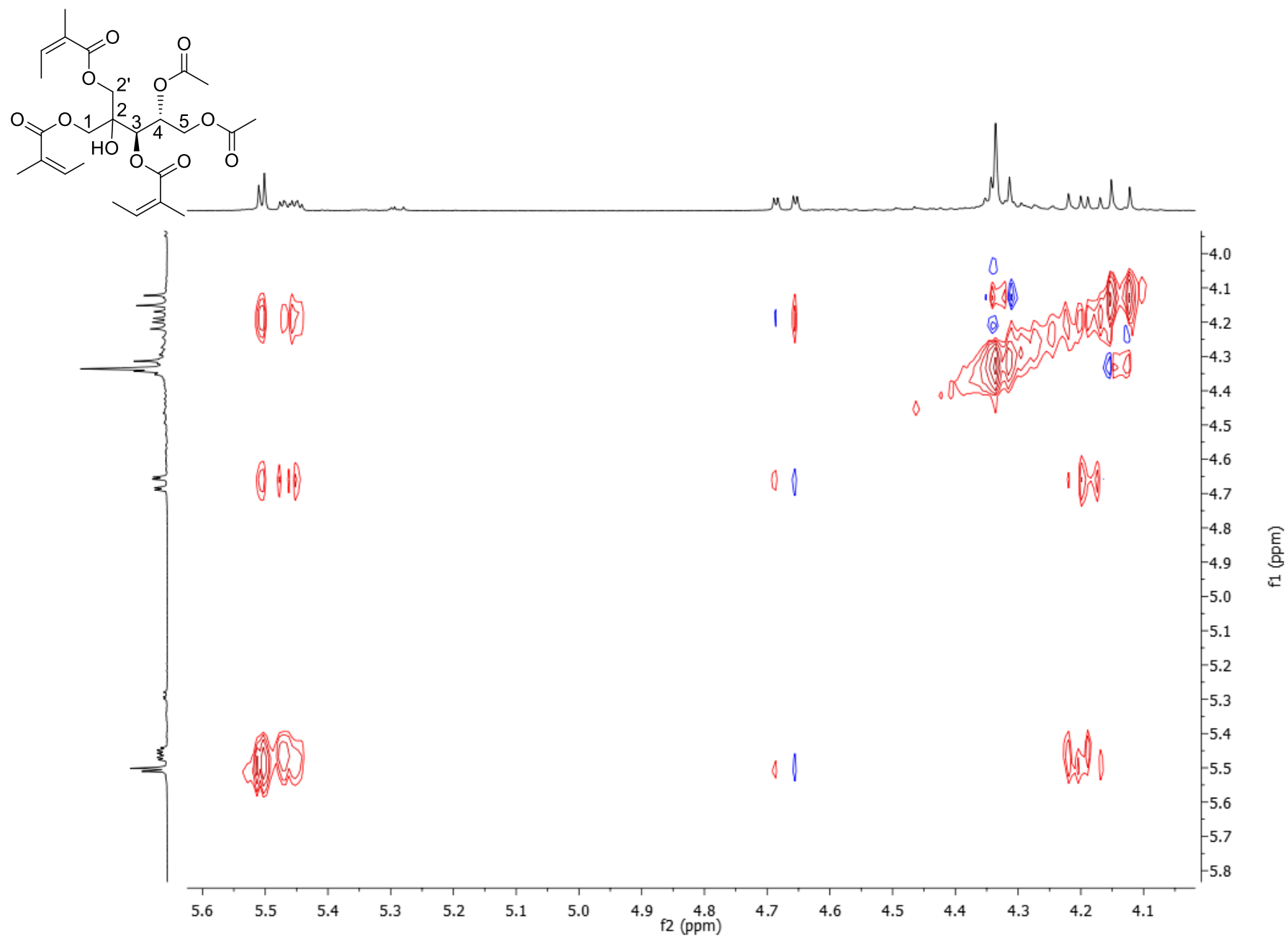


Figura S61. Espectro de ^1H - ^1H TOCSY de **4** (expansão).

Mass Spectrum SmartFormula Report

Acquisition Date 13/6/2018 15:14:58
Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# microTOF 10338

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	5.8 psi
Focus	Not active			Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste

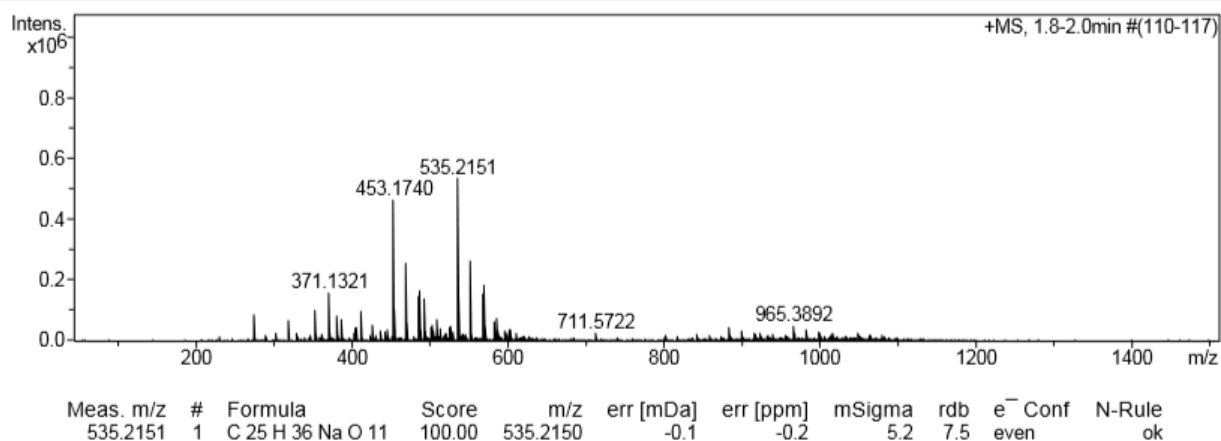


Figura S62. Espectro de HRESIMS de 4

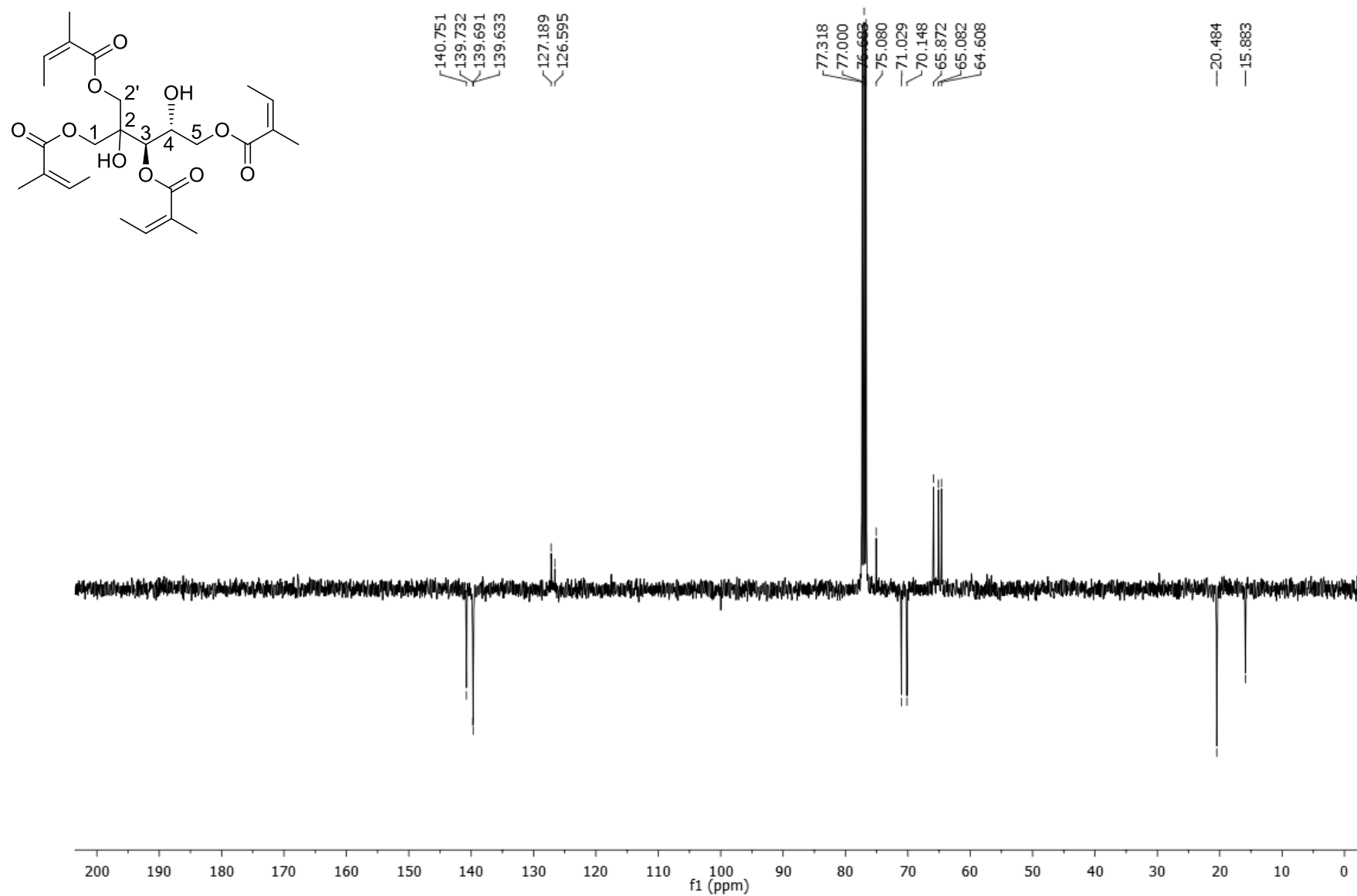


Figura S63. Espectro de RMN de ^{13}C de 5 a 400 MHz em CDCl_3

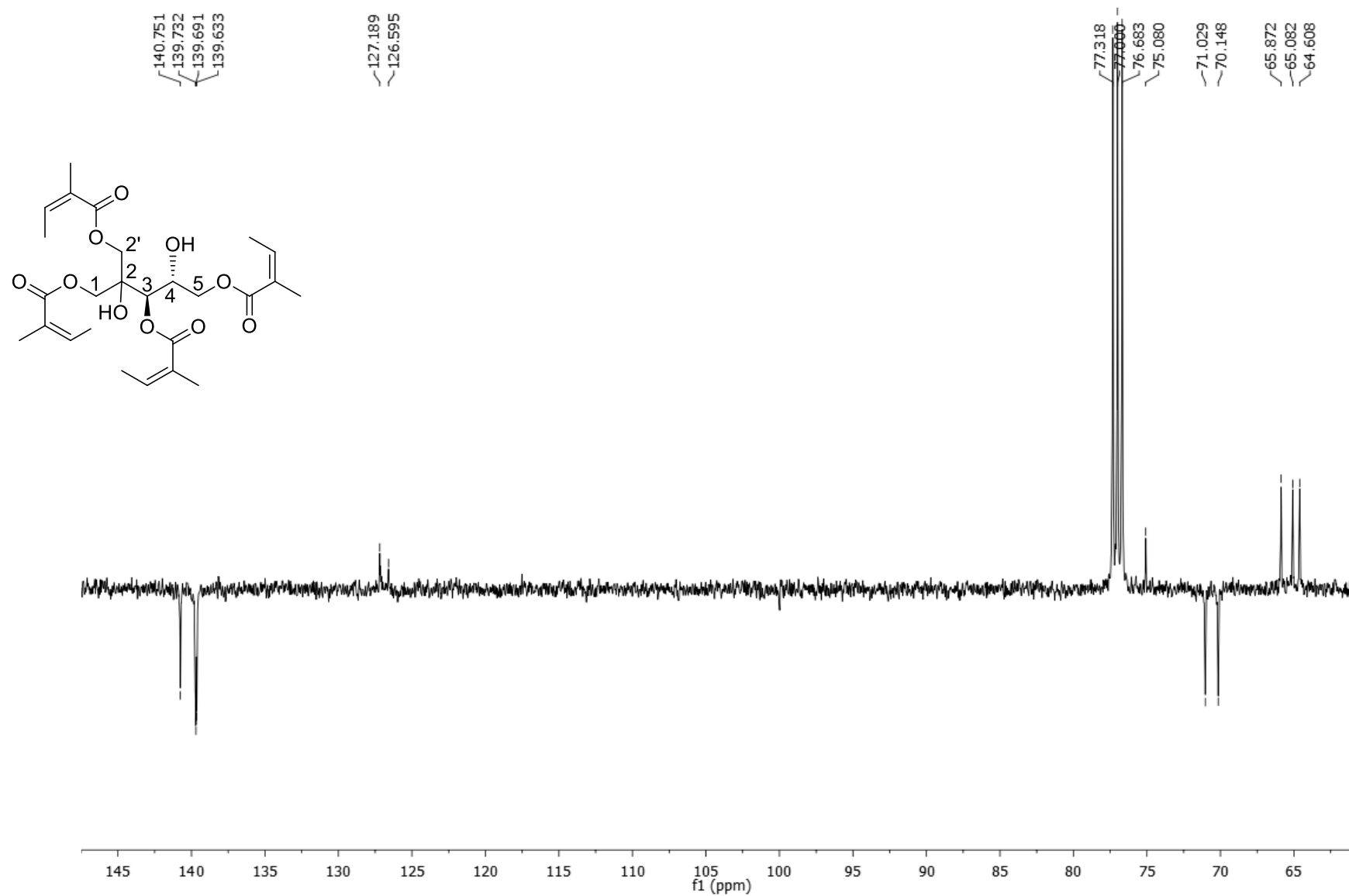


Figura S64. Espectro de RMN de ^{13}C de **5** em CDCl_3 (expansão).

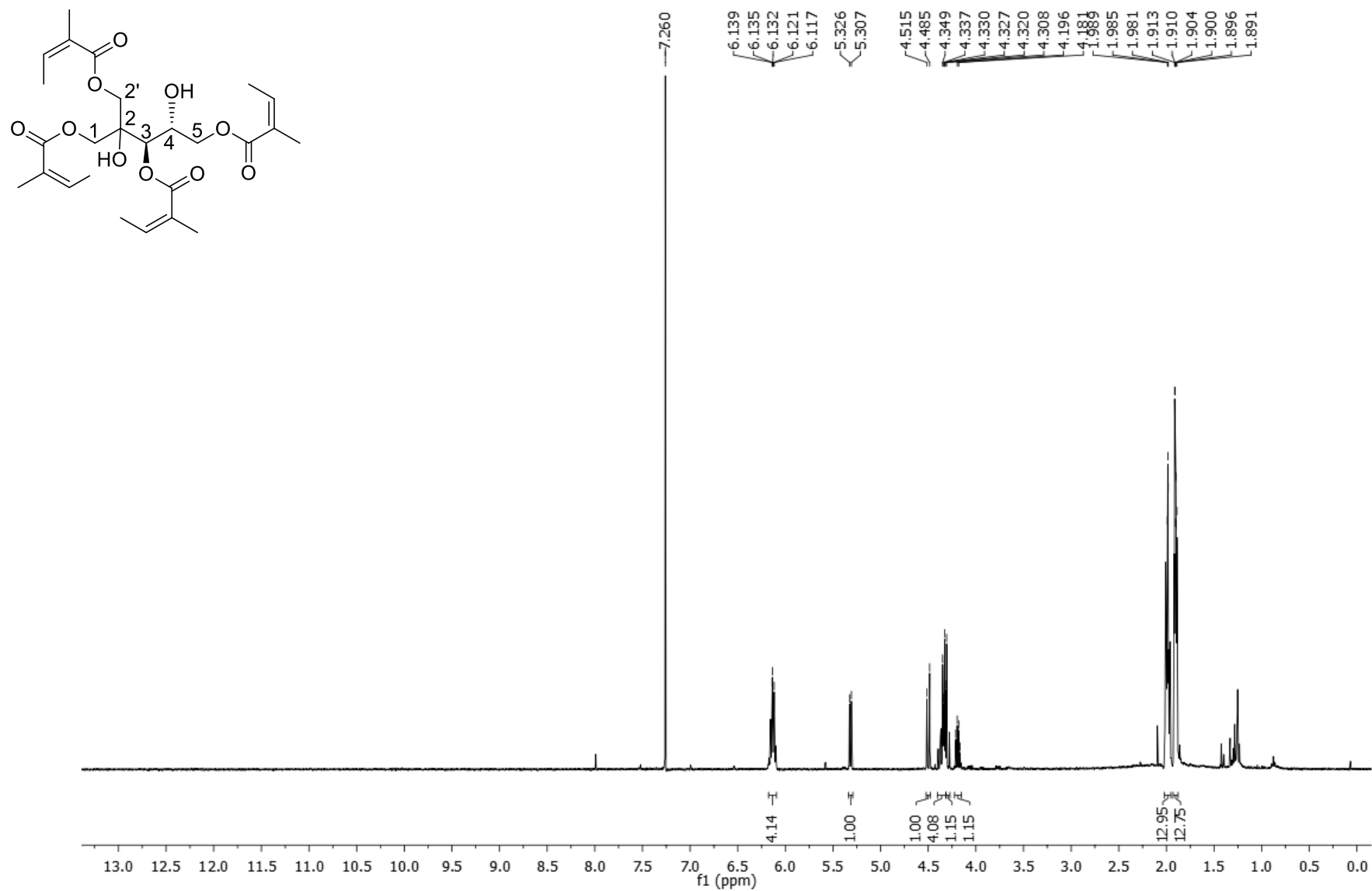


Figura S65. Espectro de RMN de ^1H de 5 em CDCl_3

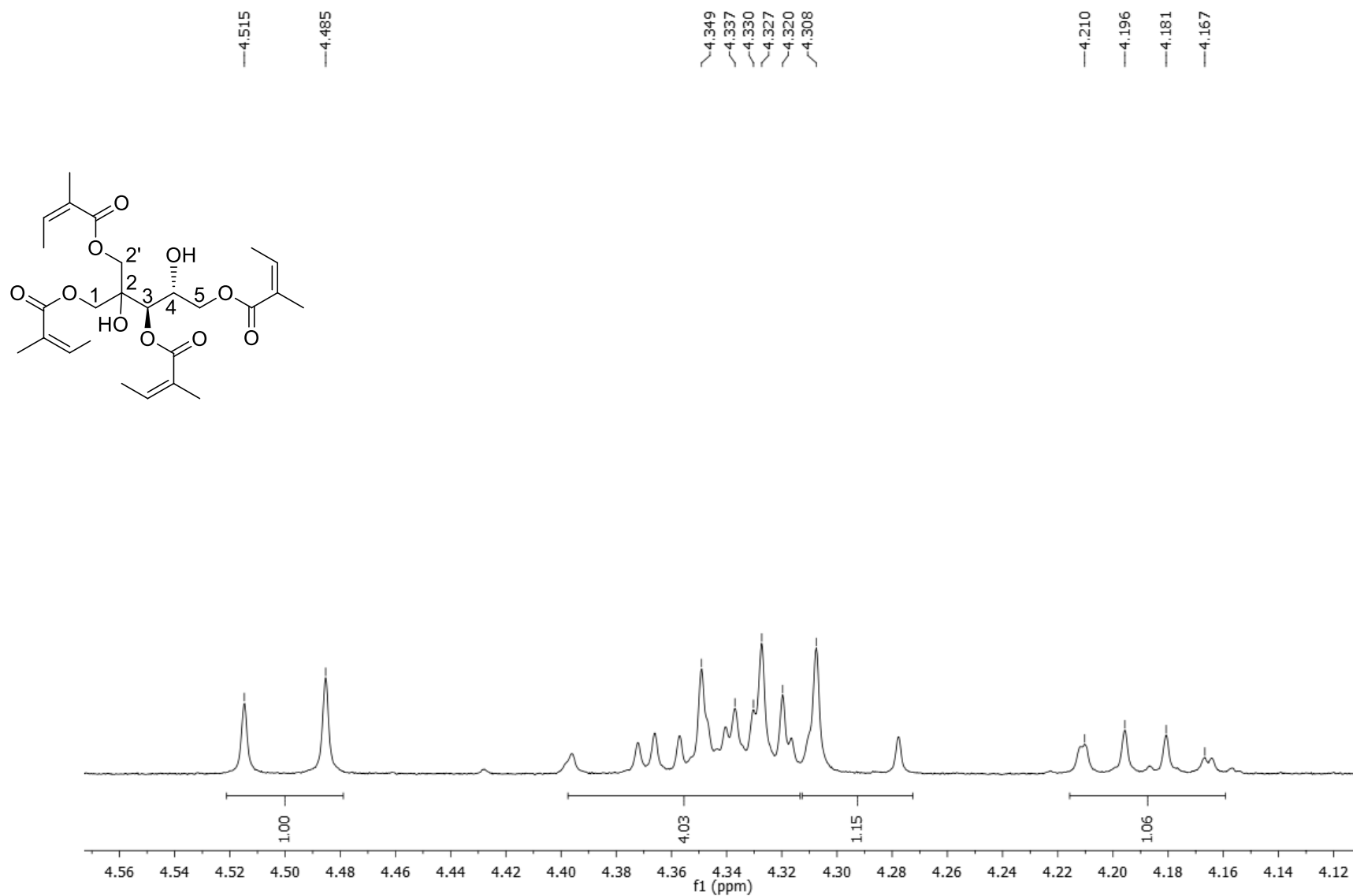


Figura S66. Espectro de RMN de ^1H de 5 a 400 MHz em CDCl_3 (expansão).

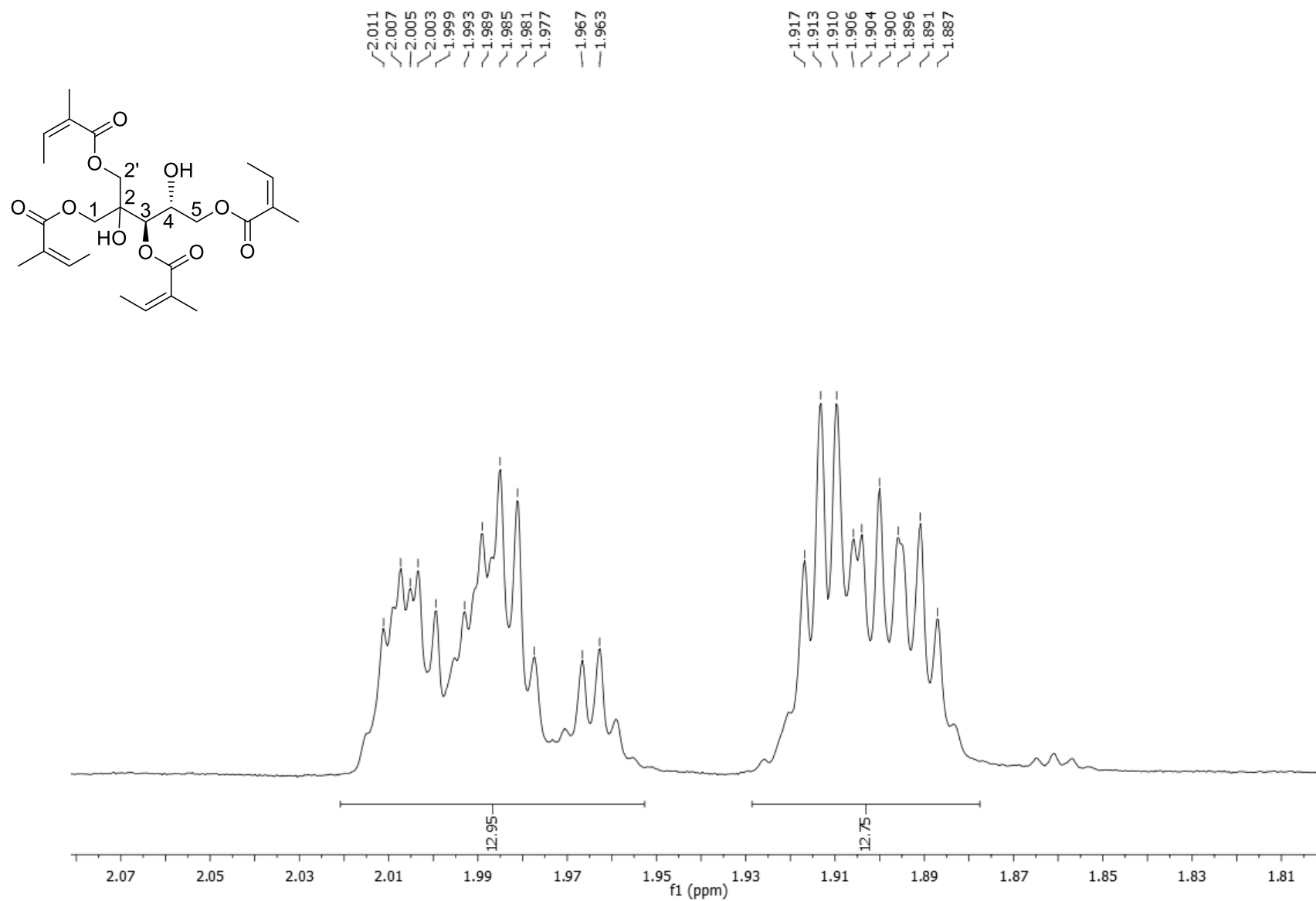


Figura S67. Espectro de RMN de ^1H de 5 a 400 MHz em CDCl_3 (expansão).

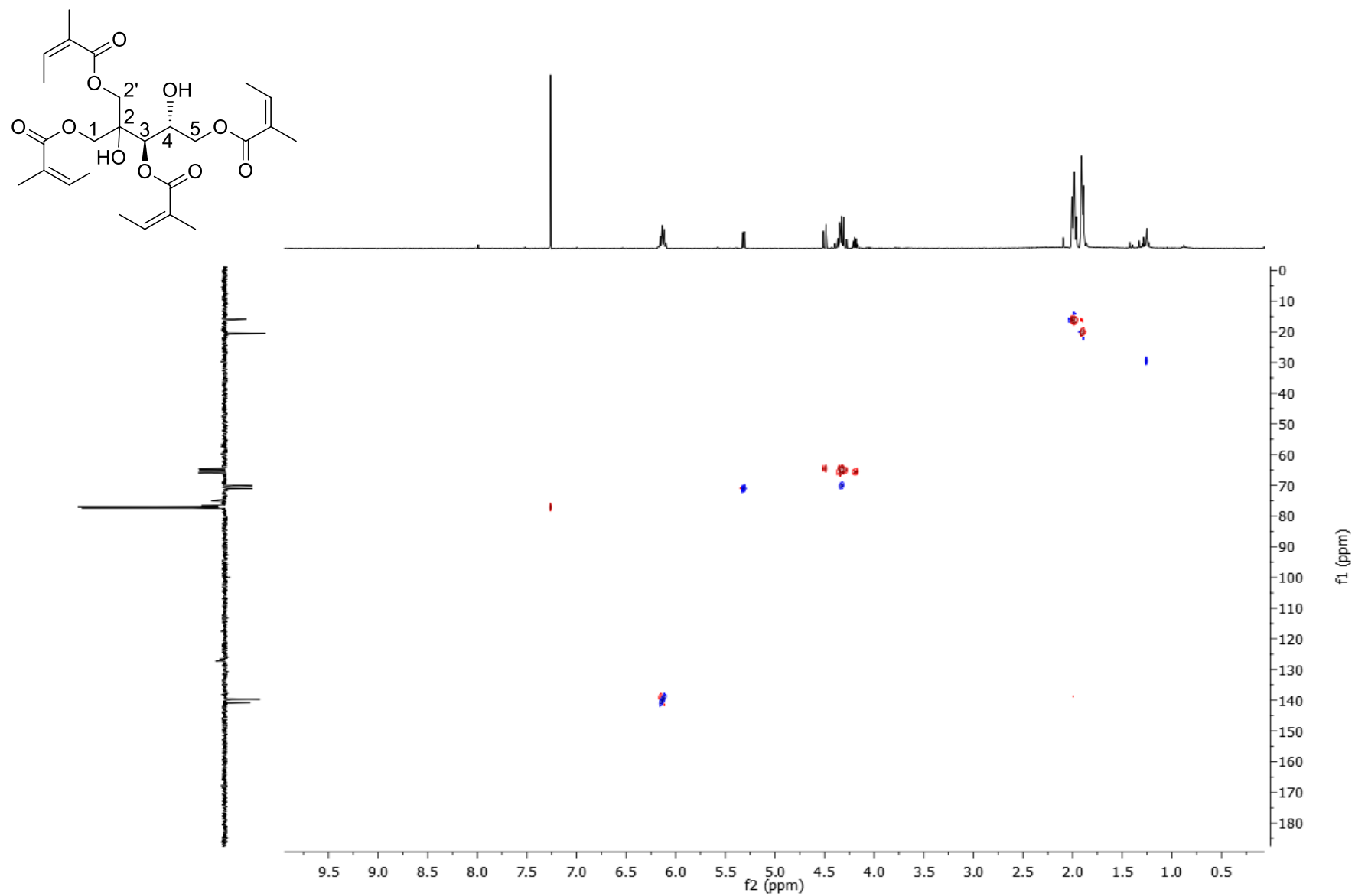


Figura S68. Espectro de HSQC de 5

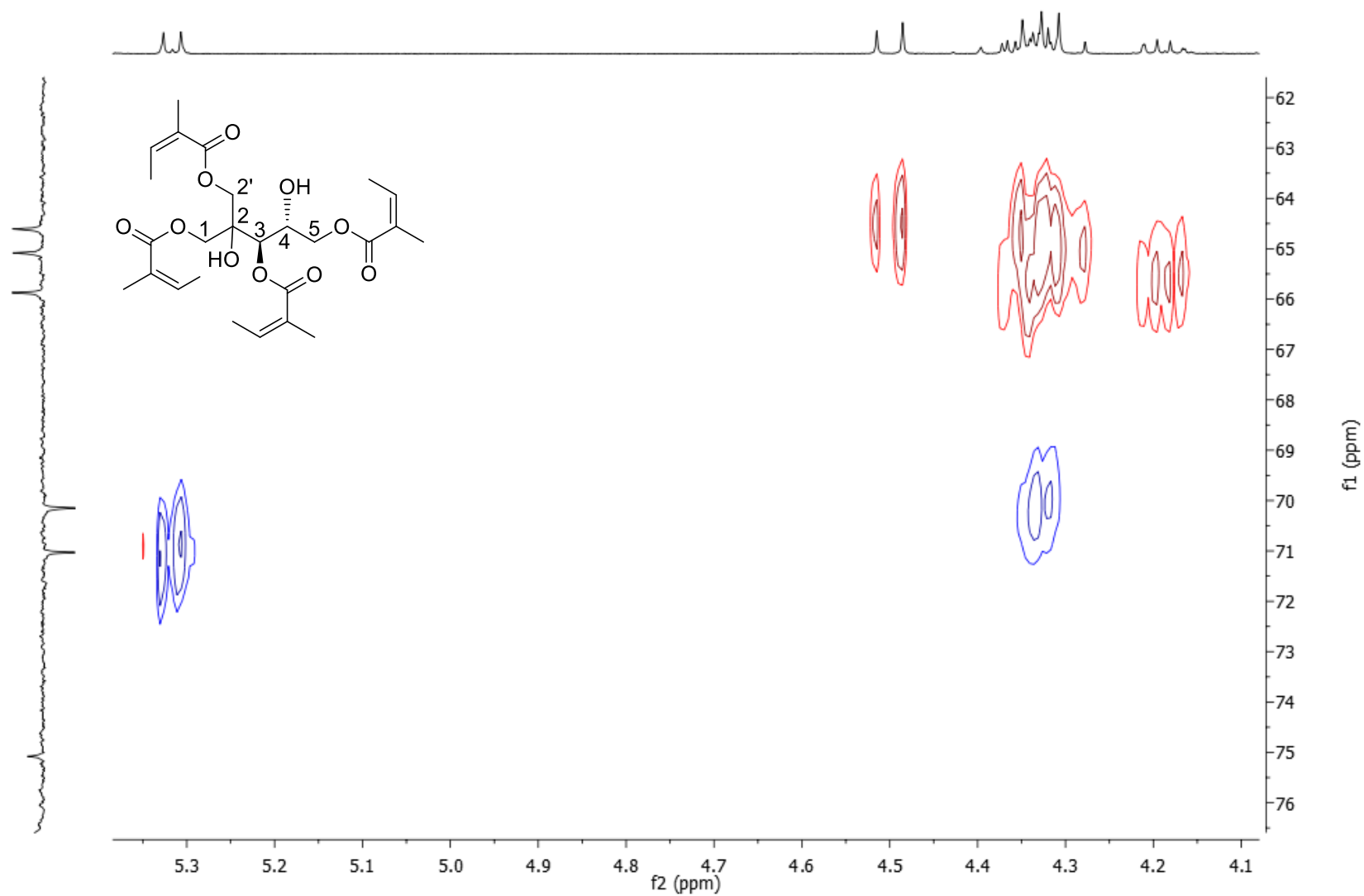


Figura S69. Espectro de HSQC de 5 (expansão).

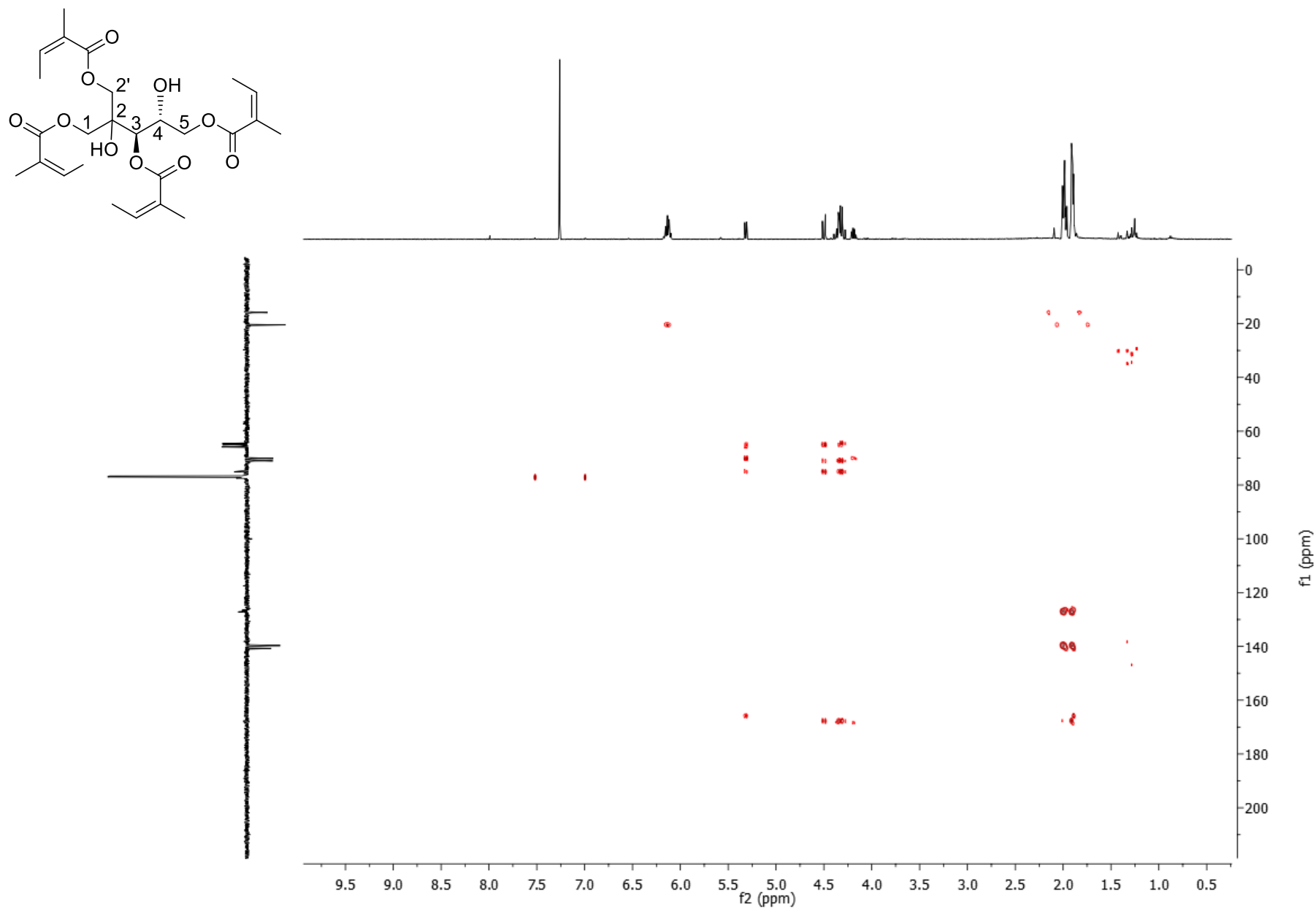


Figura S70. Espectro de HMBC de 5

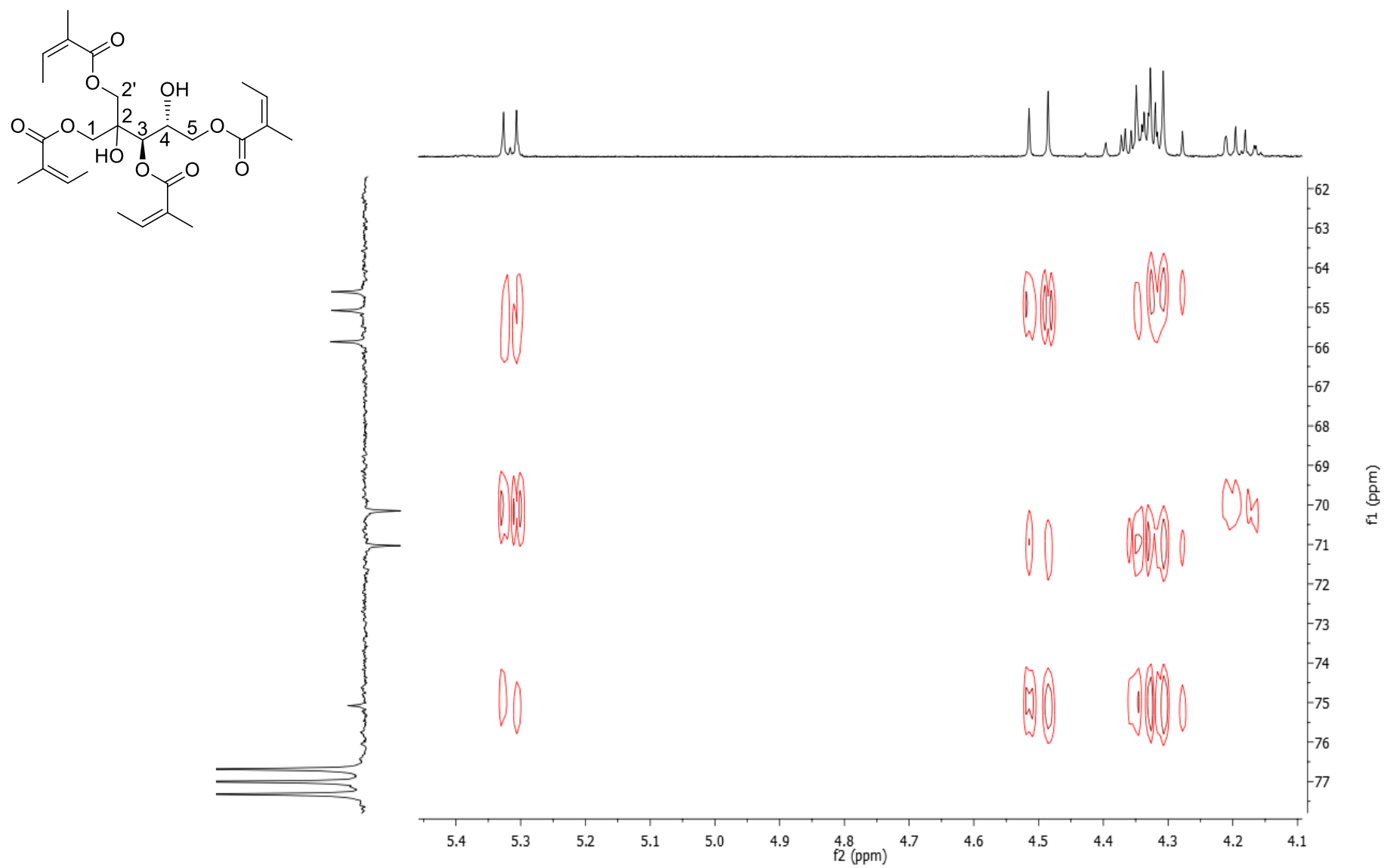


Figura S71. Espectro de HMBC de 5 (expansão).

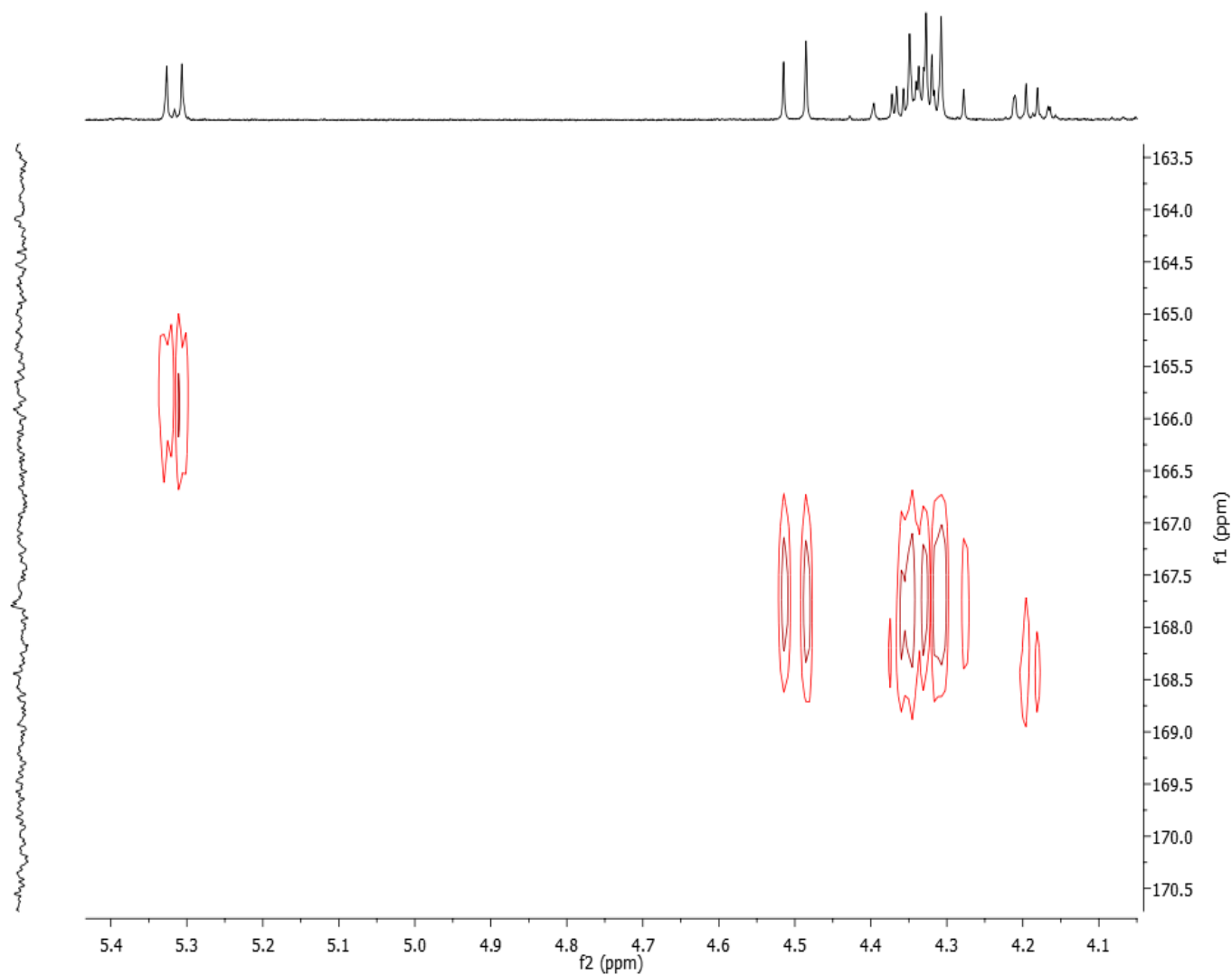


Figura S72. Espectro de HMBC de **5** (expansão).

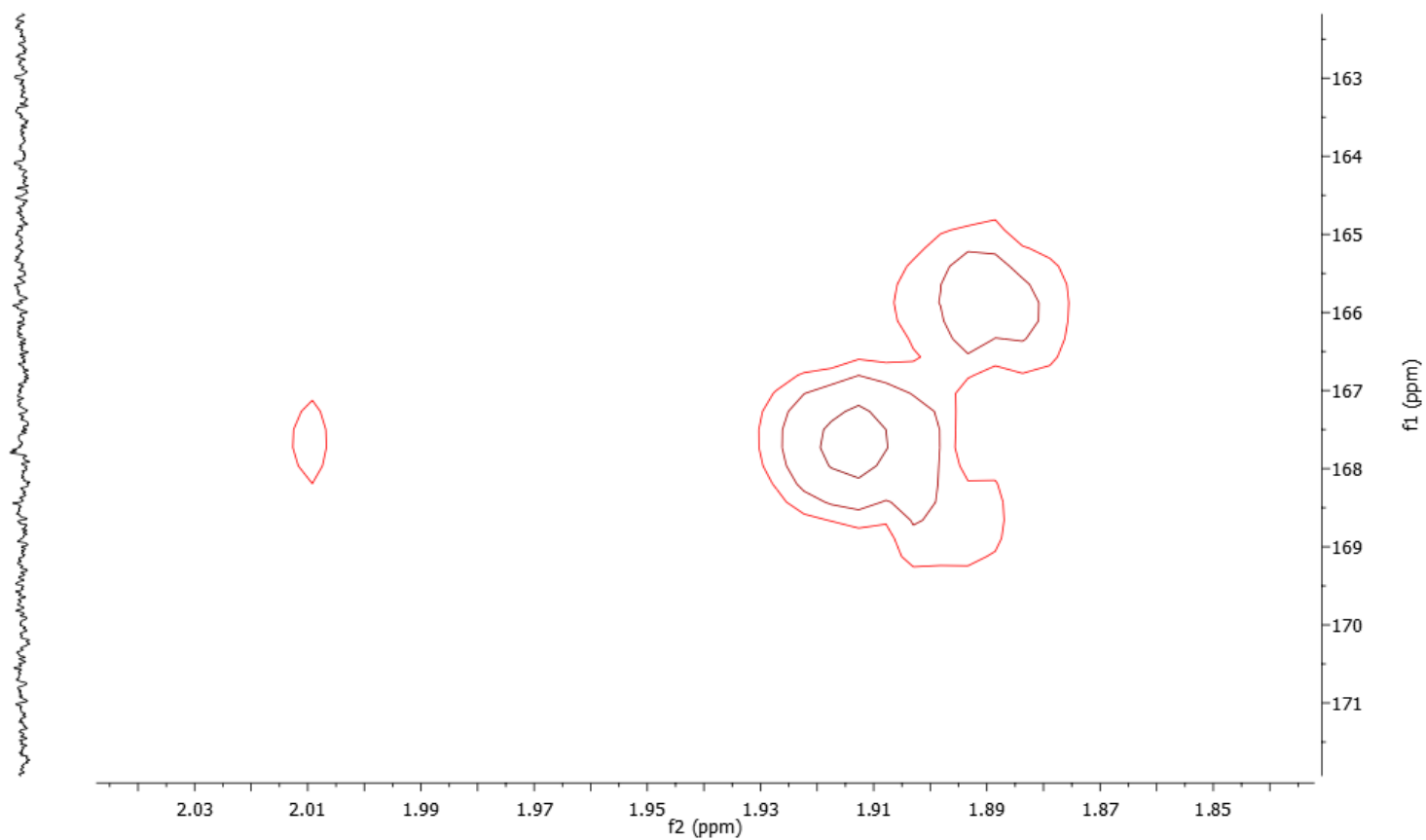
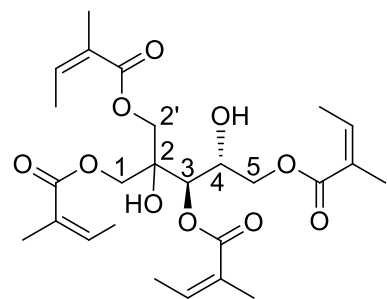


Figura S73. Espectro de HMBC de 5 (expansão).

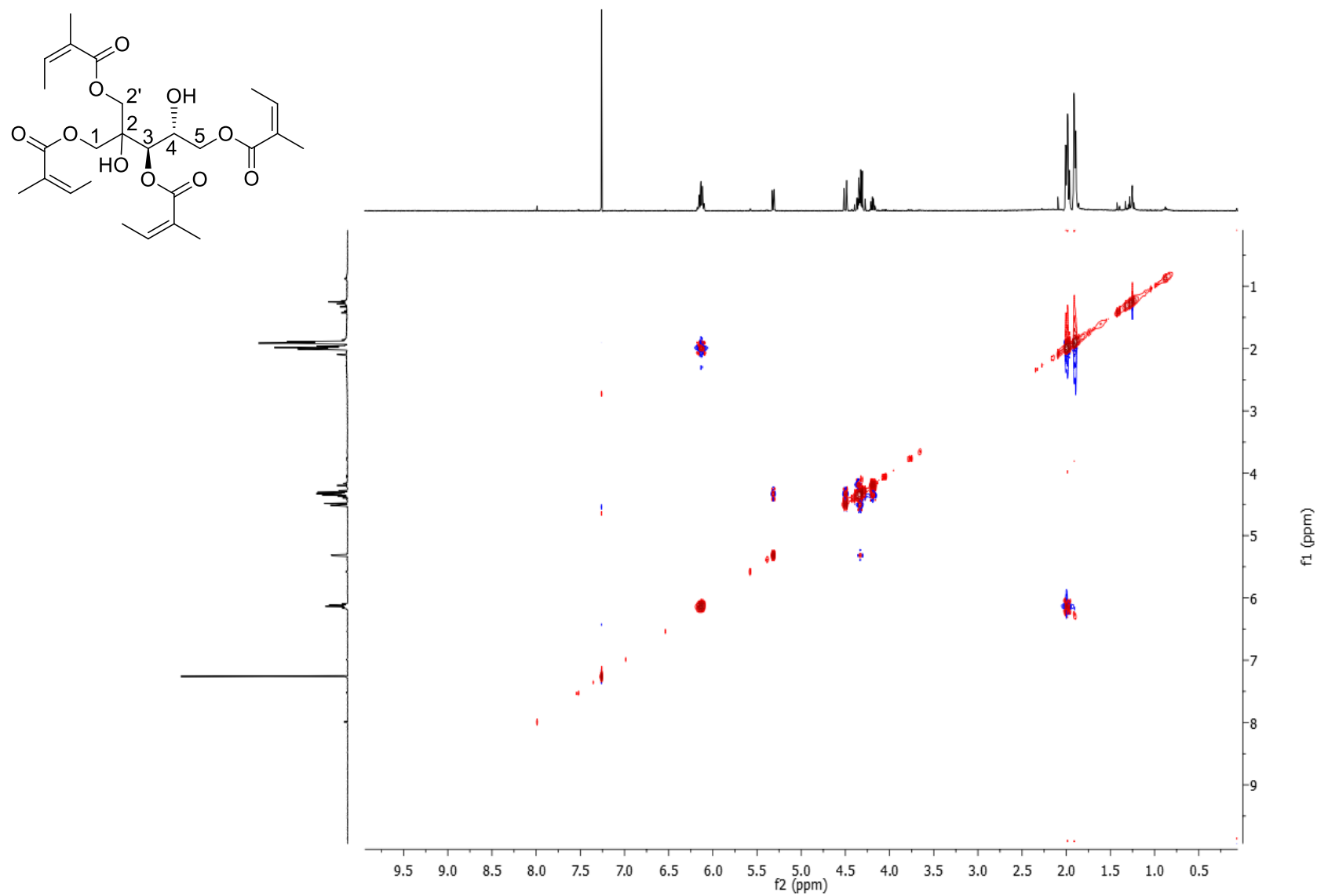


Figura S74. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 5

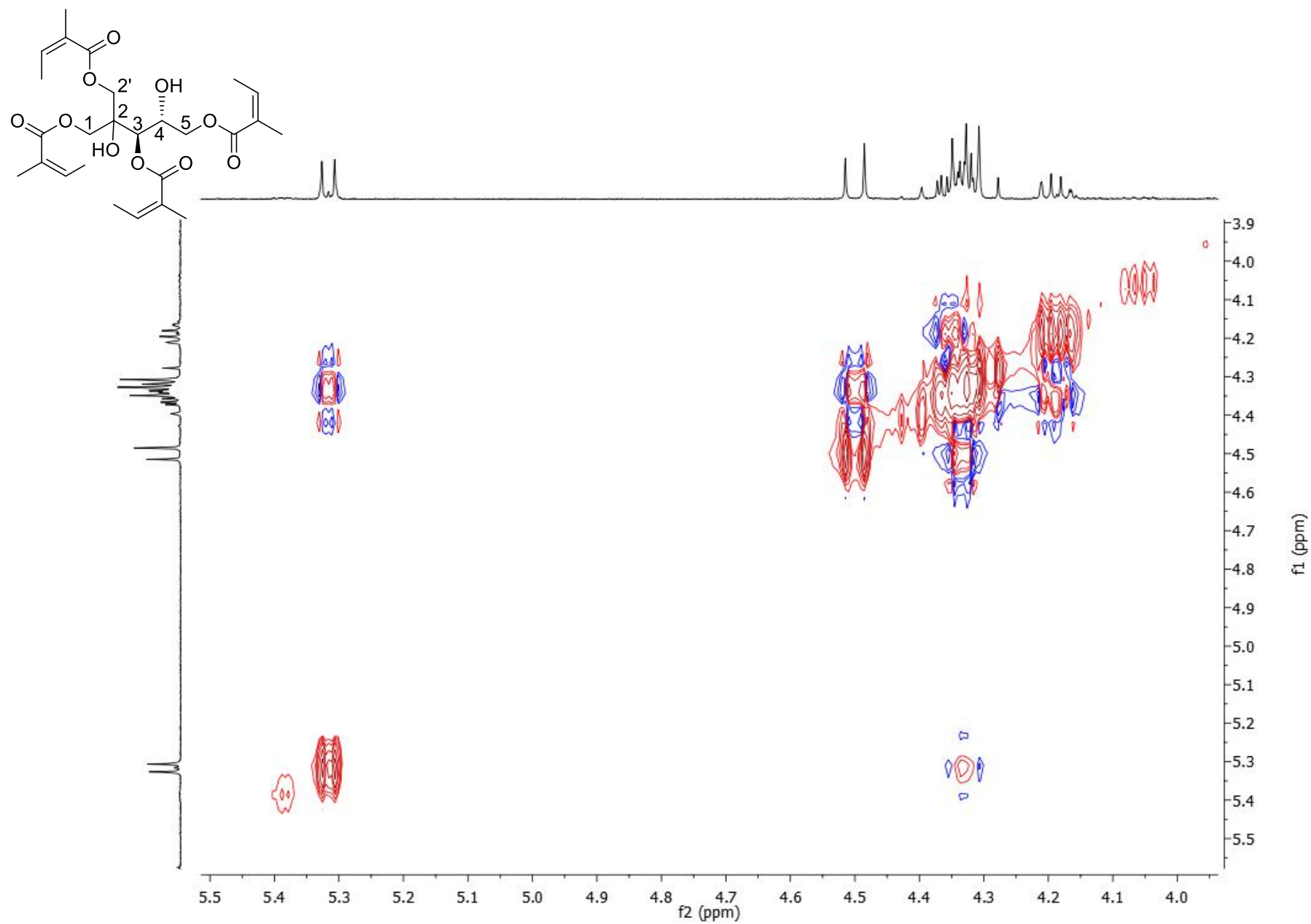


Figura S75. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 5 (expansão).

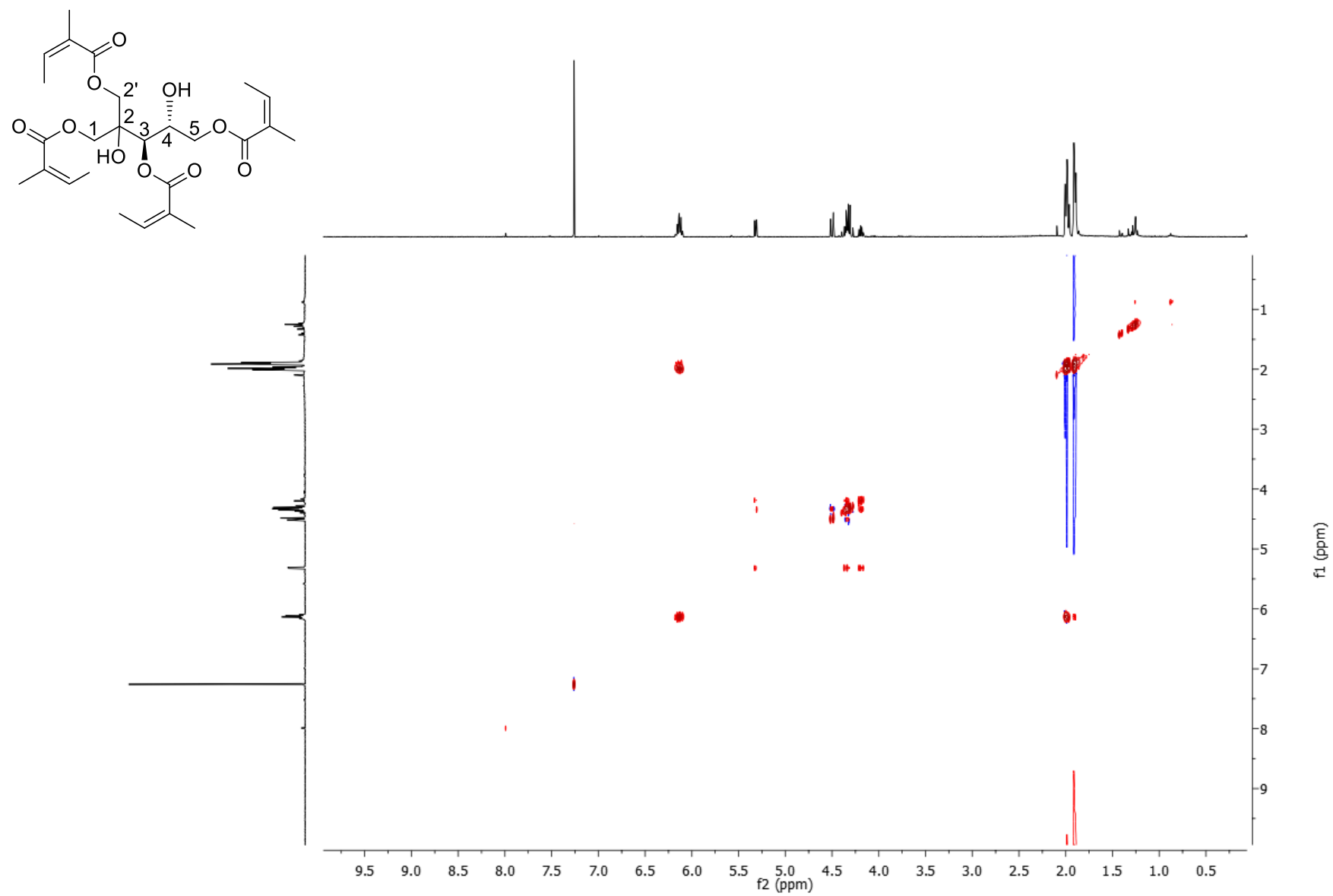


Figura S76. Espectro de ^1H - ^1H TOCSY de 5

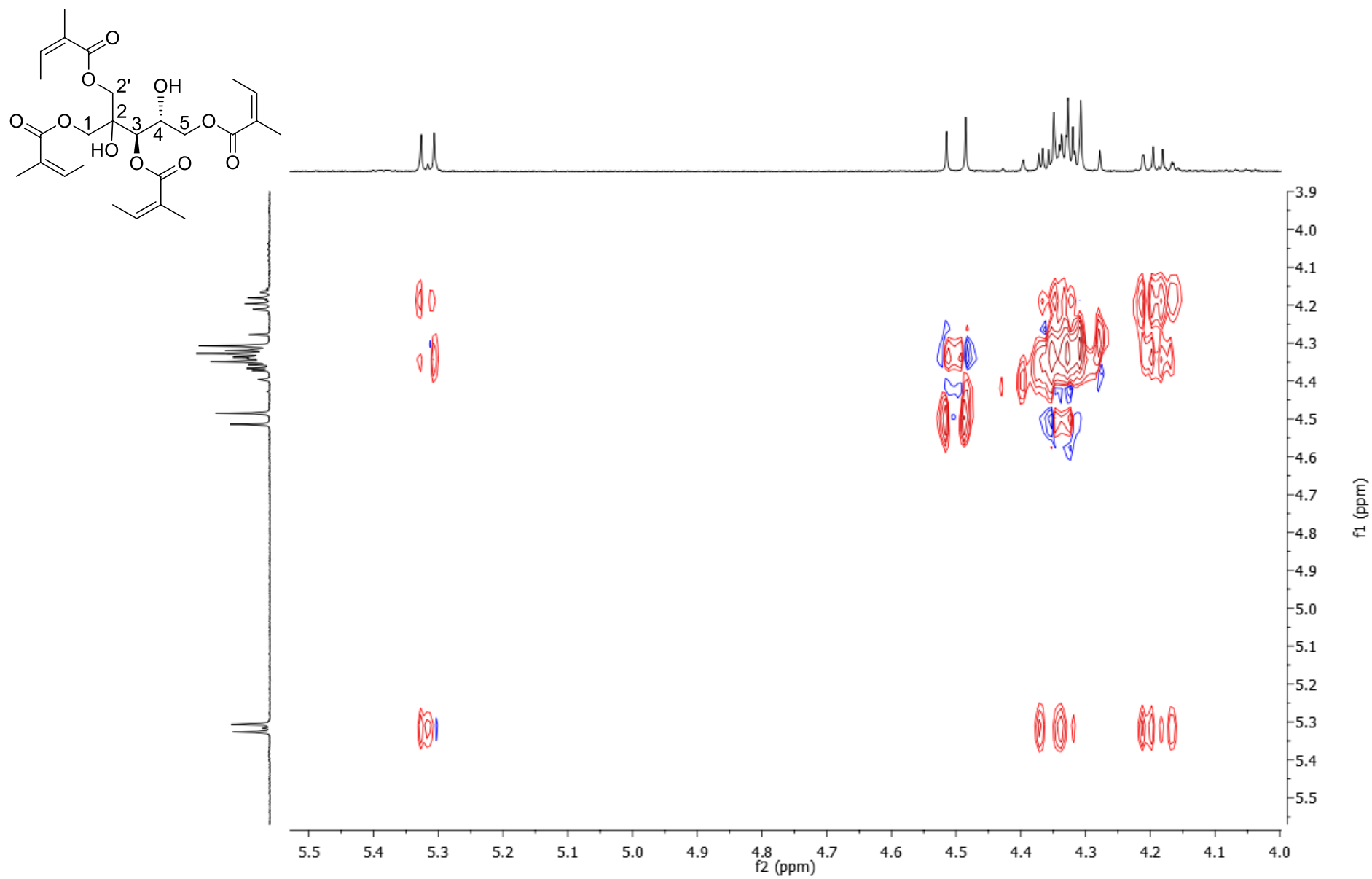


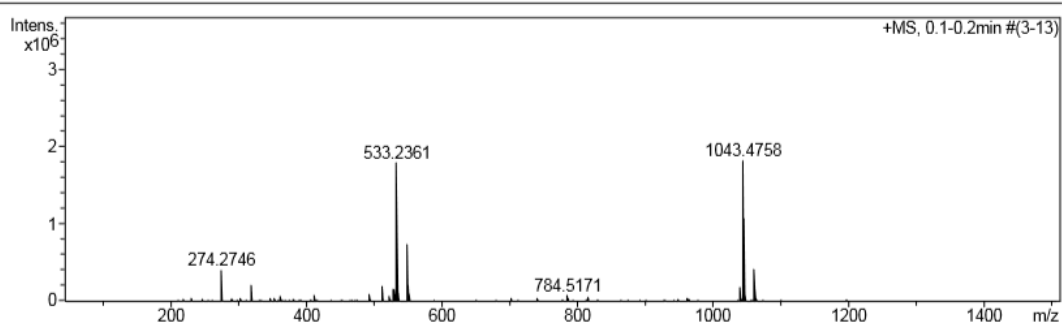
Figura S77. Espectro de ^1H - ^1H TOCSY de 5 (expansão).

Mass Spectrum SmartFormula Report

Acquisition Date 14/6/2018 19:00:58
Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF 10338

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	5.8 psi
Focus	Not active			Set Dry Heater	180 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste



Meas. m/z	#	Formula	Score	m/z	err [mDa]	err [ppm]	mSigma	rdb	e ⁻ Conf	N-Rule
533.2361	1	C ₂₆ H ₃₈ NaO ₁₀	100.00	533.2357	-0.4	-0.7	4.4	7.5	even	ok

Figura S78. Espectro de HRESIMS de 5

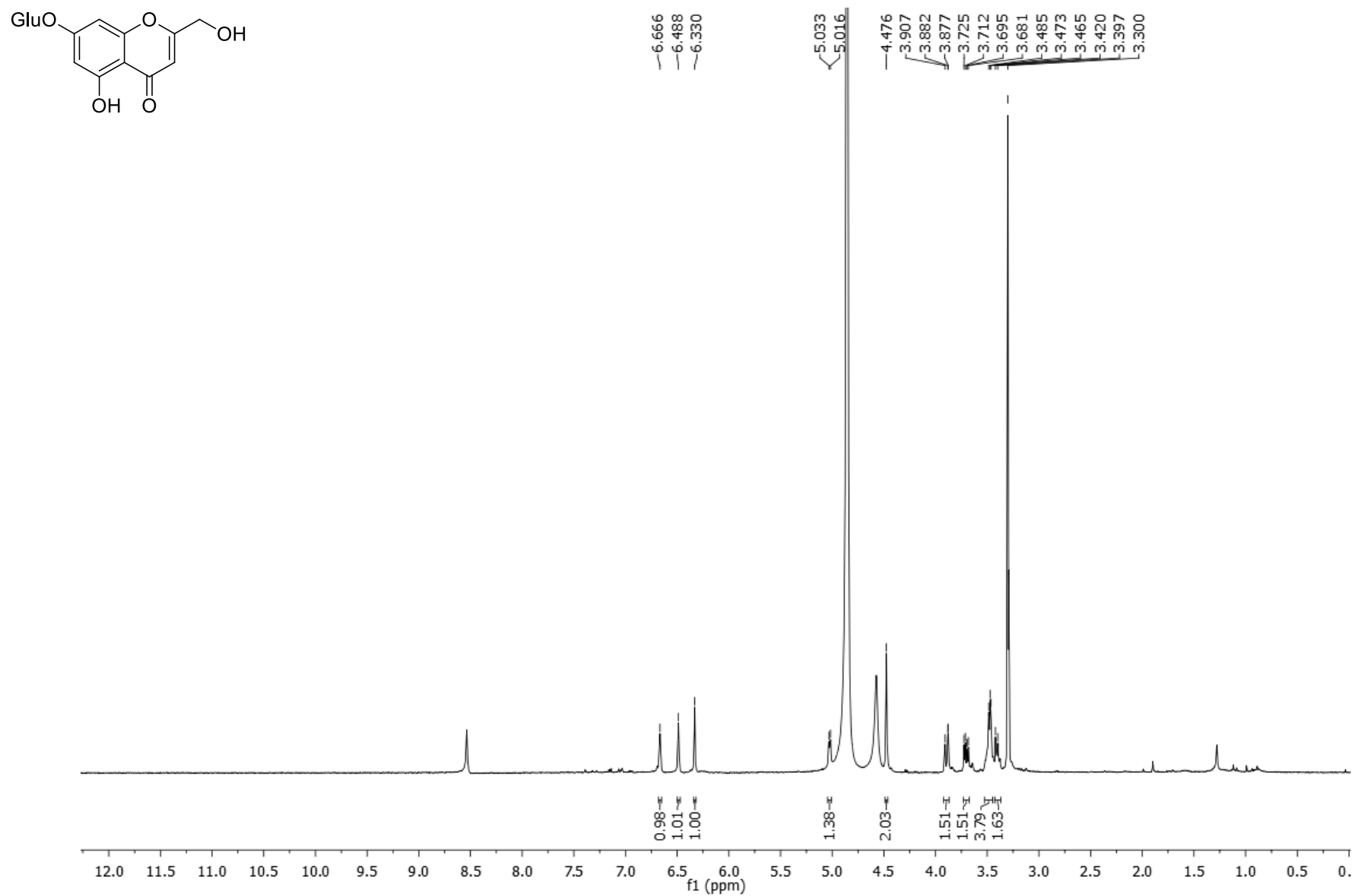


Figura S79. Espectro de RMN de ^1H de **6** a 400 MHz em metanol- d_4

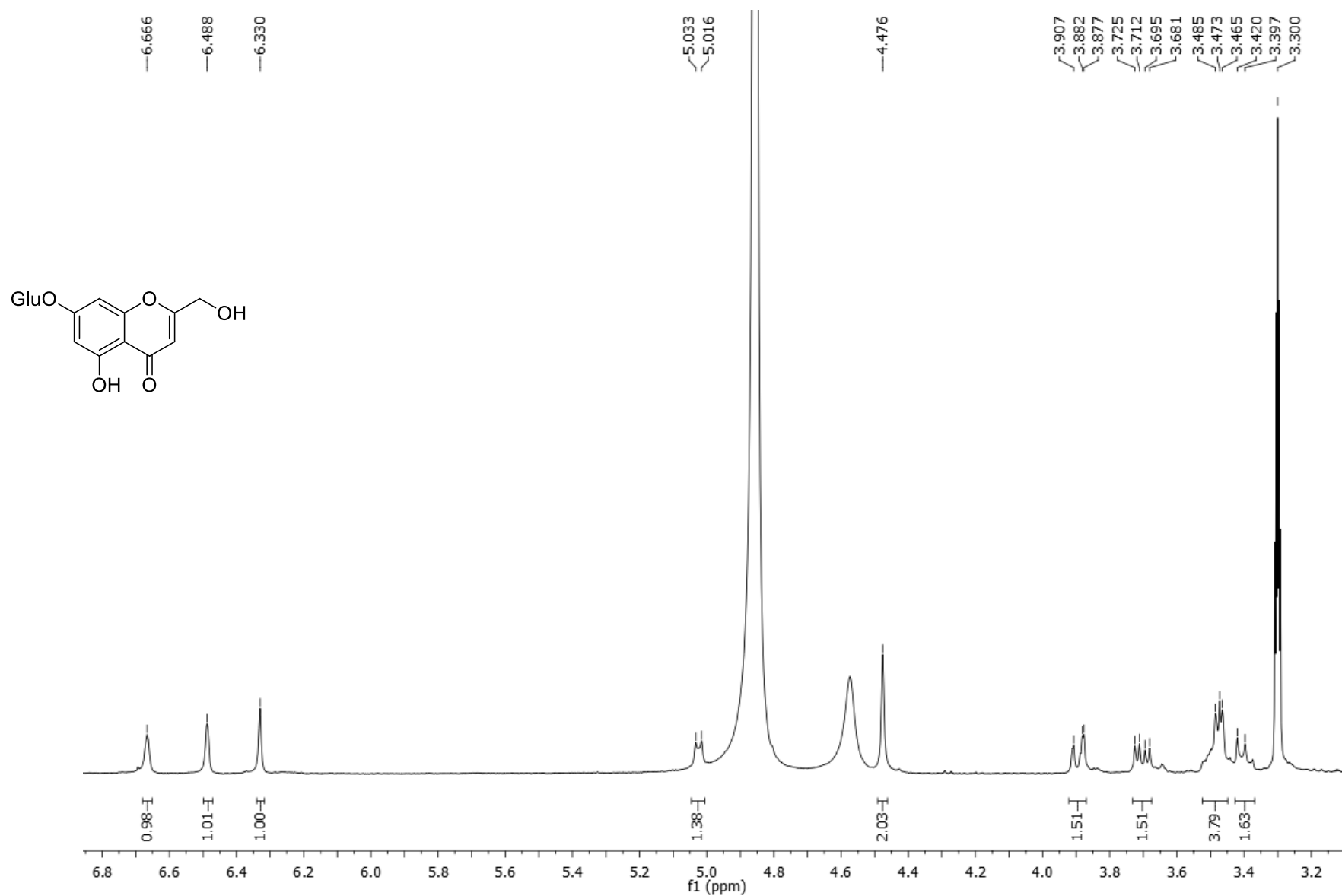


Figura S80. Espectro de RMN de ^1H de **6** a 400 MHz em metanol- d_4 (expansão).

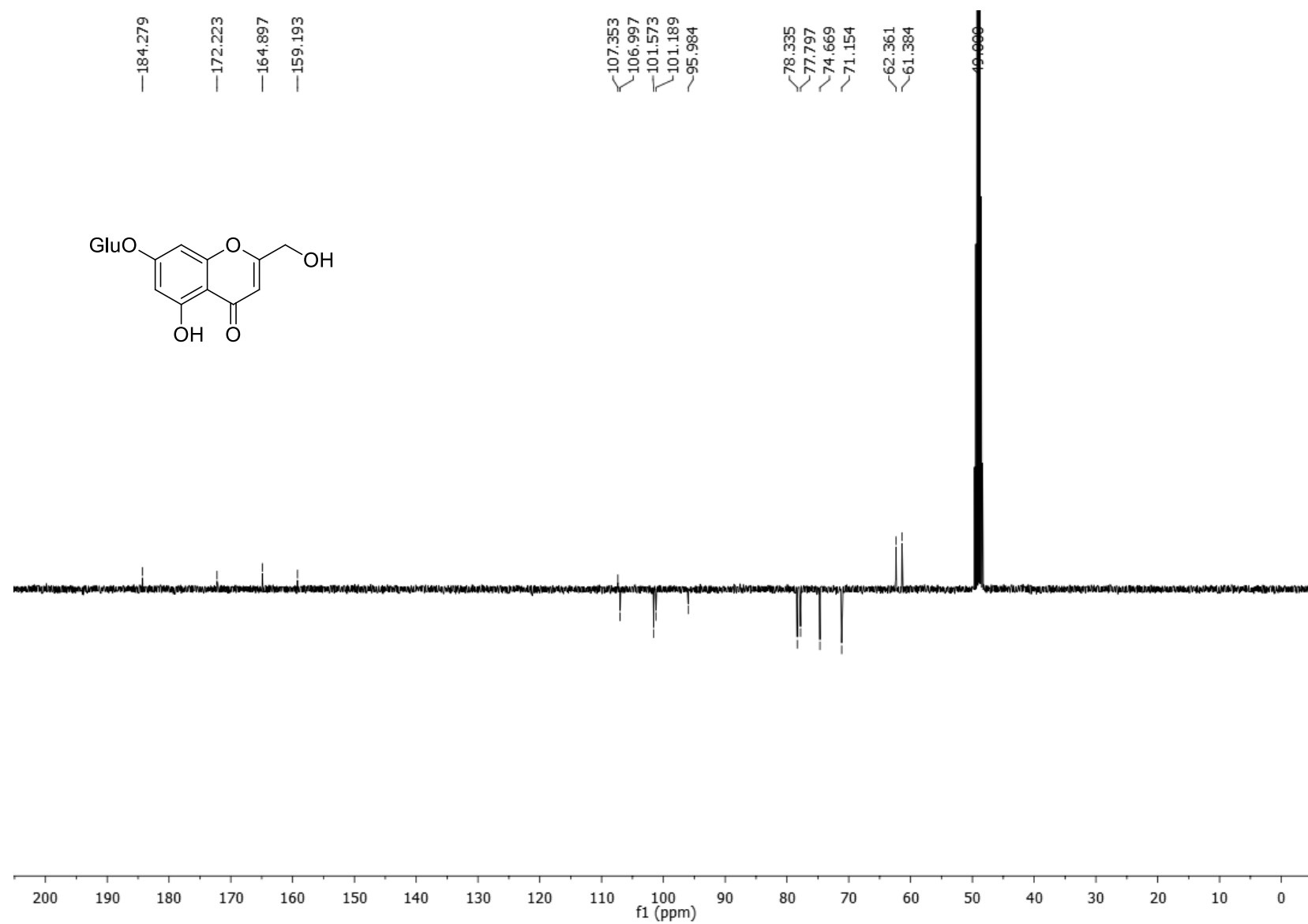


Figura S81. Espectro de RMN de ¹³C de 6 a 100 MHz em metanol-*d*₄

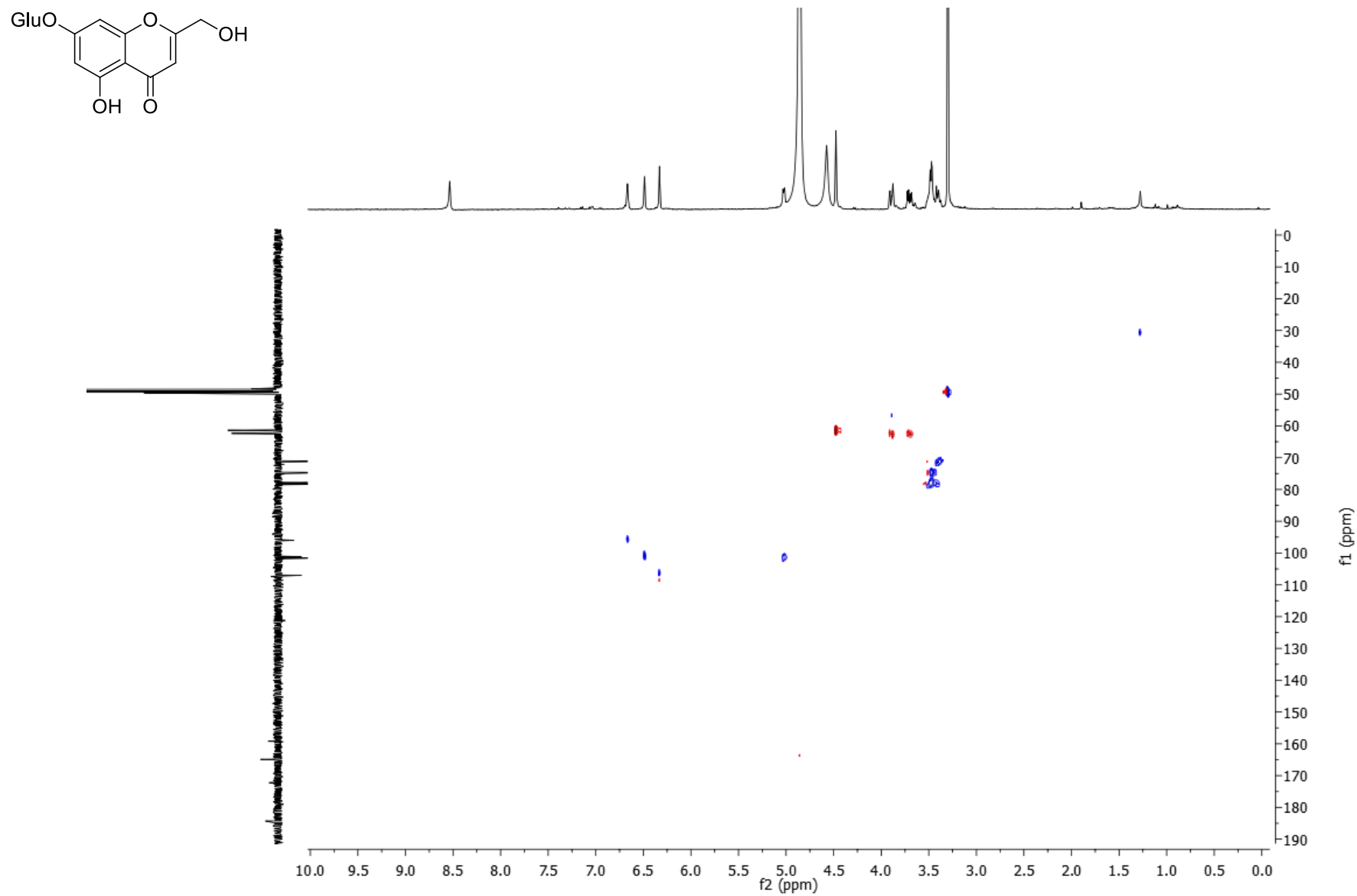


Figura S82. Espectro de HSQC de **6**

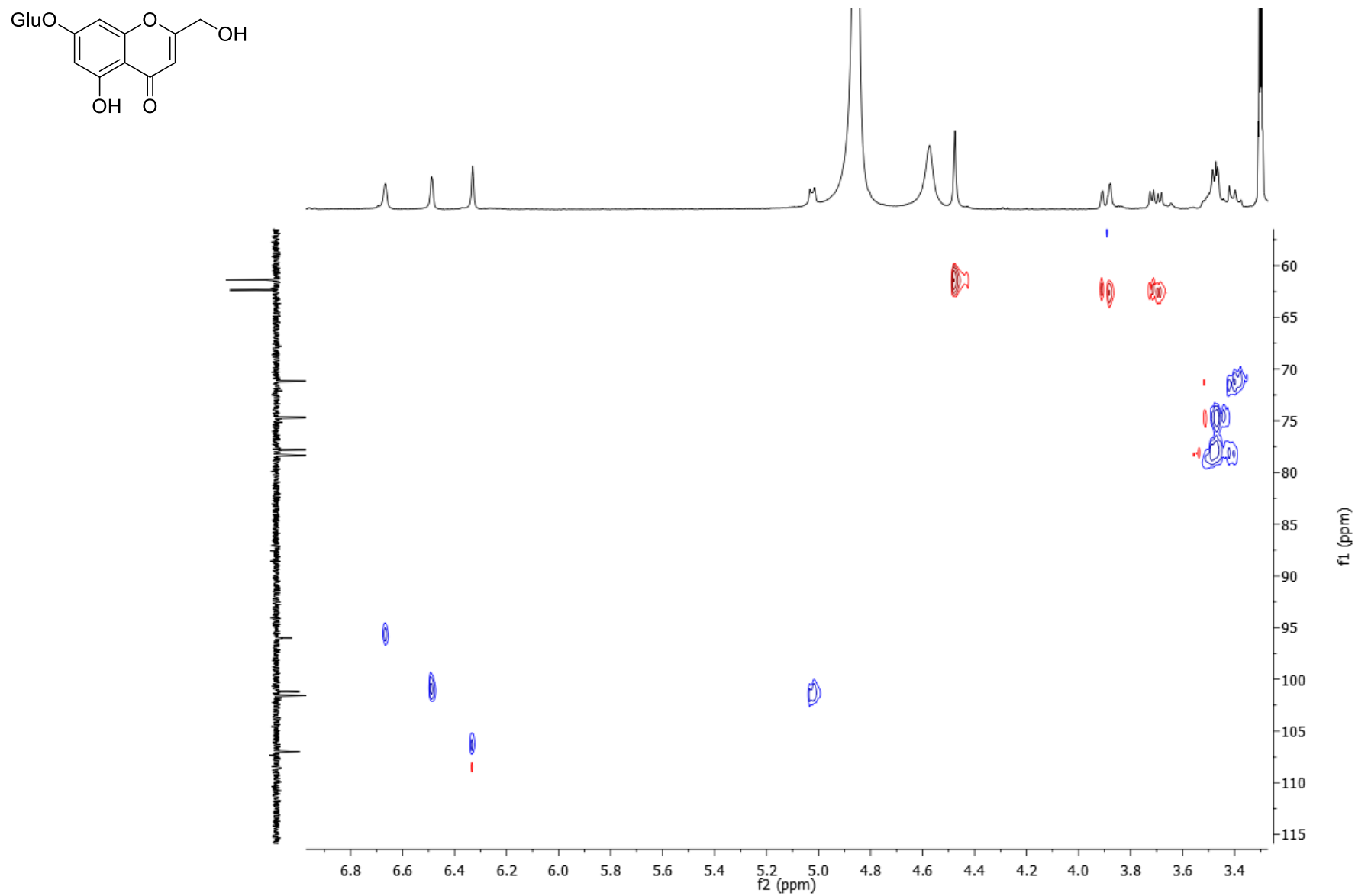


Figura S83. Espectro de HSQC de **6** (expansão).

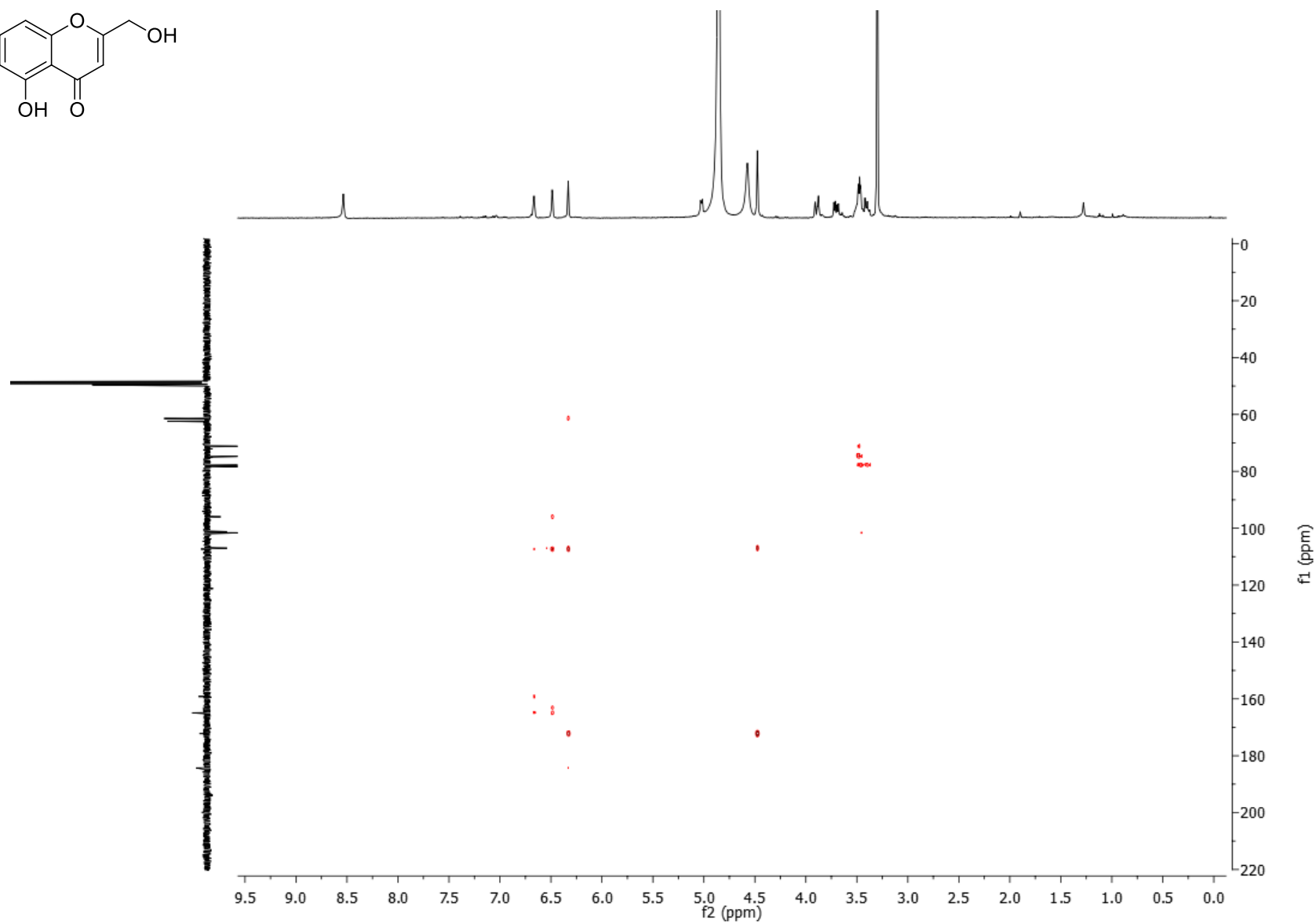


Figura S84. Espectro de HMBC de **6**

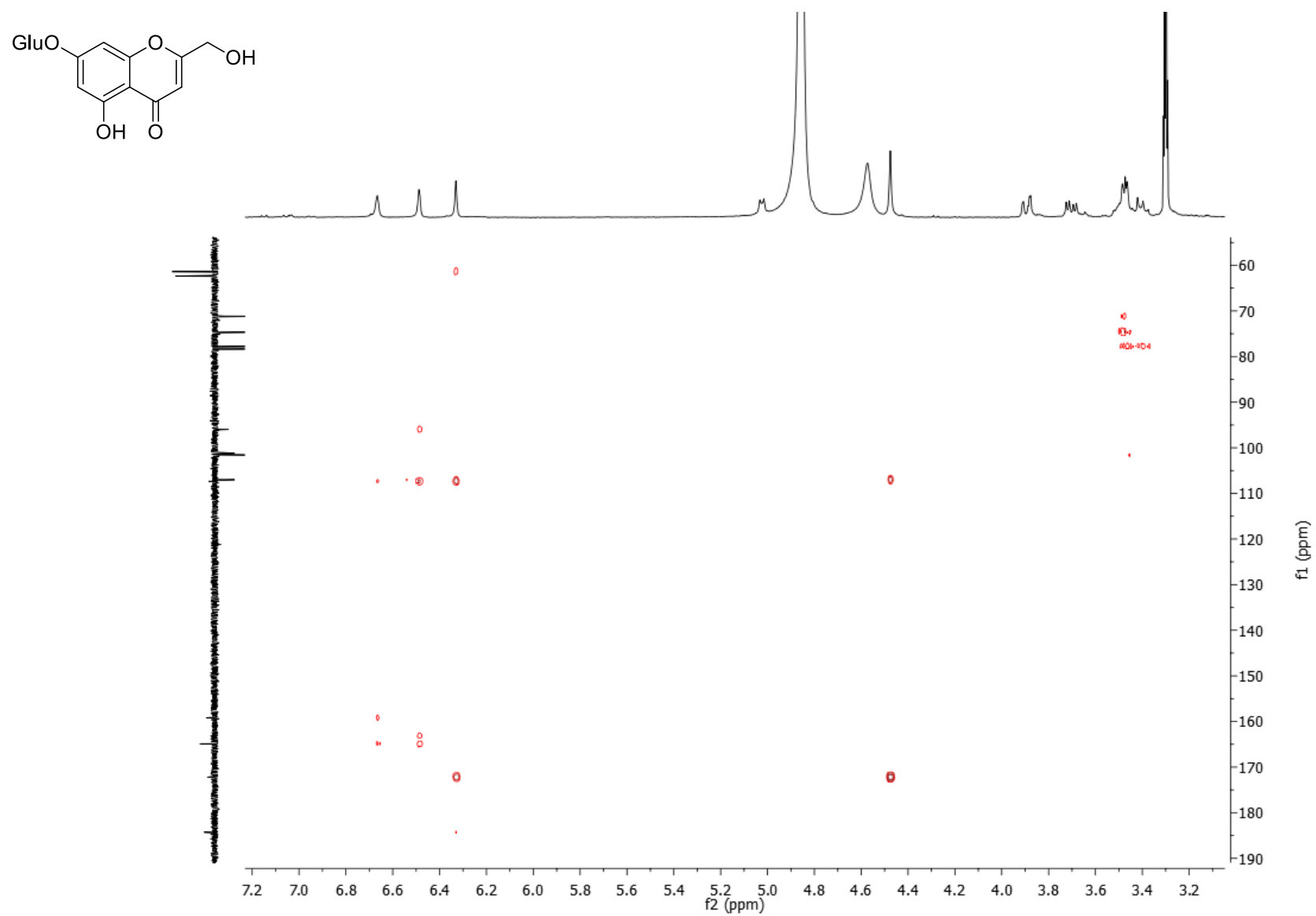


Figura S85. Espectro de HMBC de **6** (expansão).

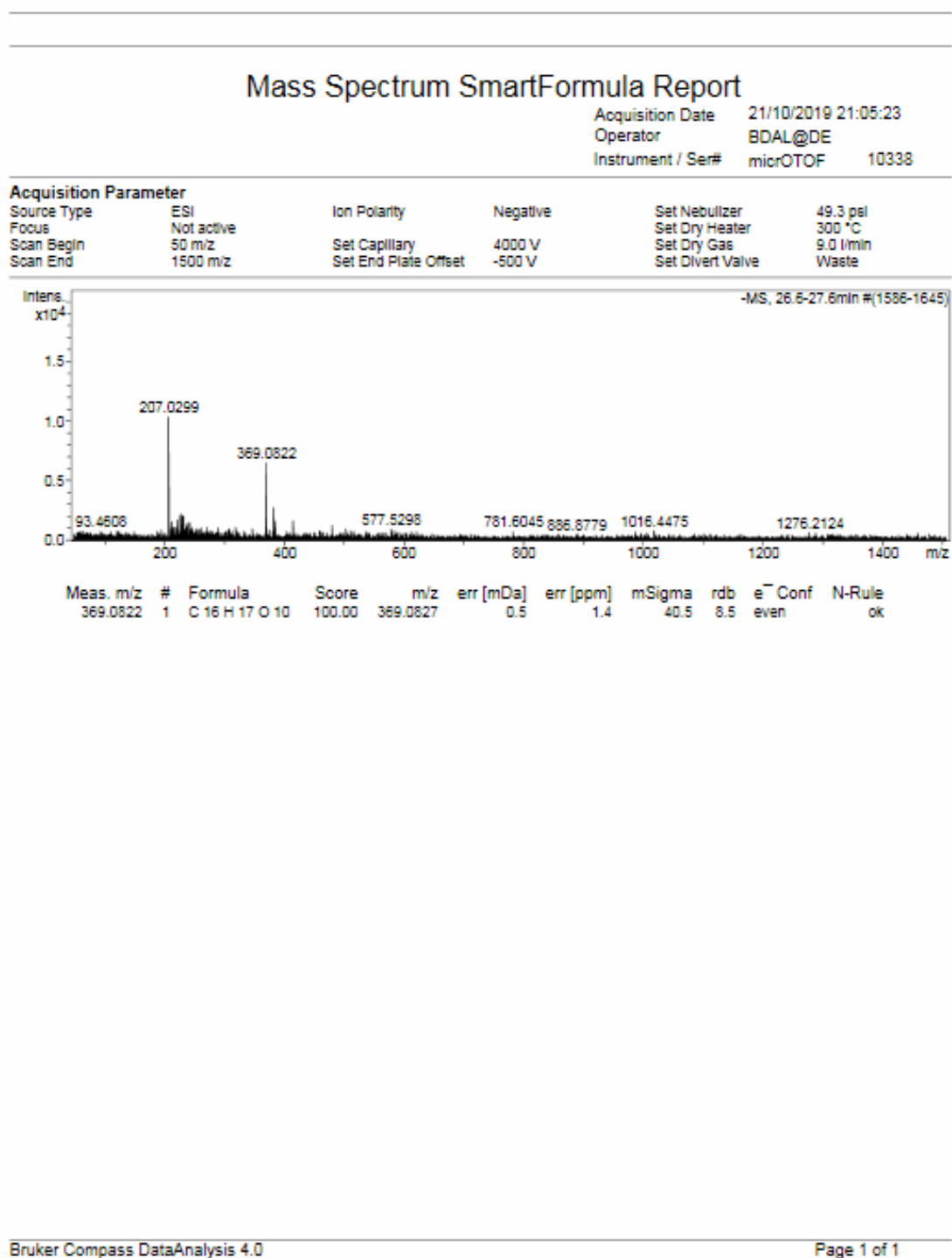


Figura S86. Espectro de HRESIMS de **6**

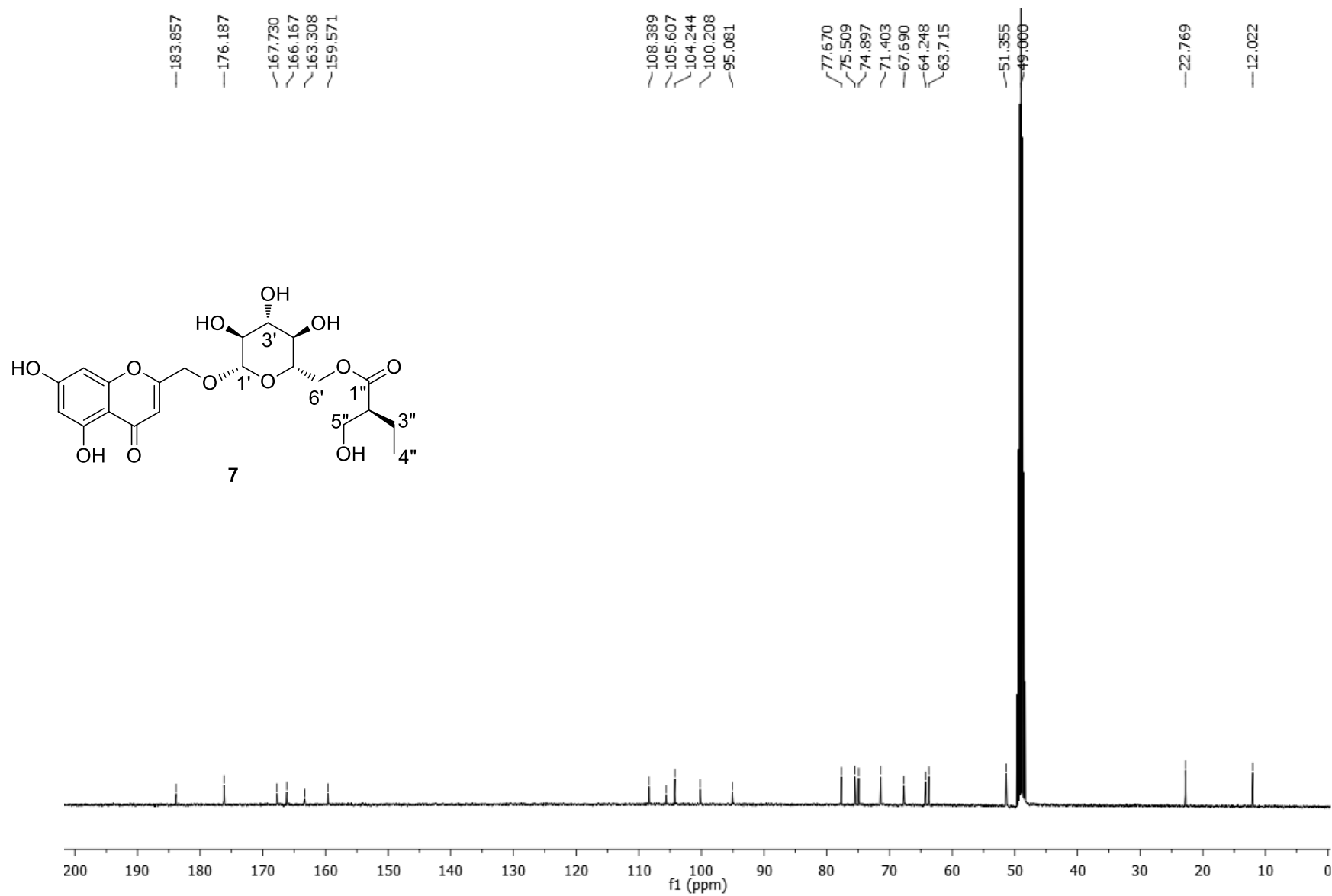


Figura S87. Espectro de RMN de ^{13}C - BB 7 a 100 MHz em metanol- d_4 .

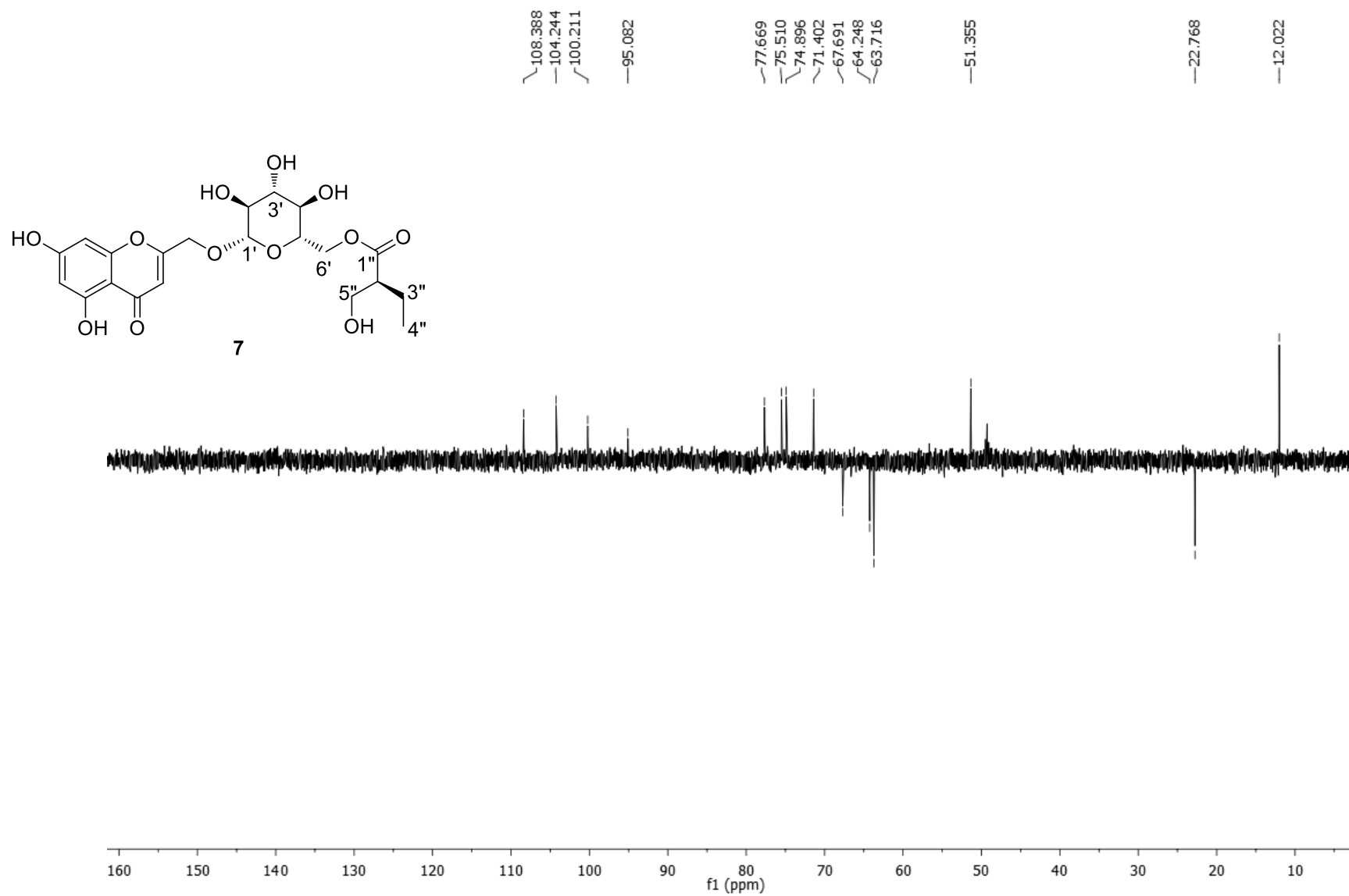


Figura S88. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT de **7** a 100 MHz em metanol- d_4 .

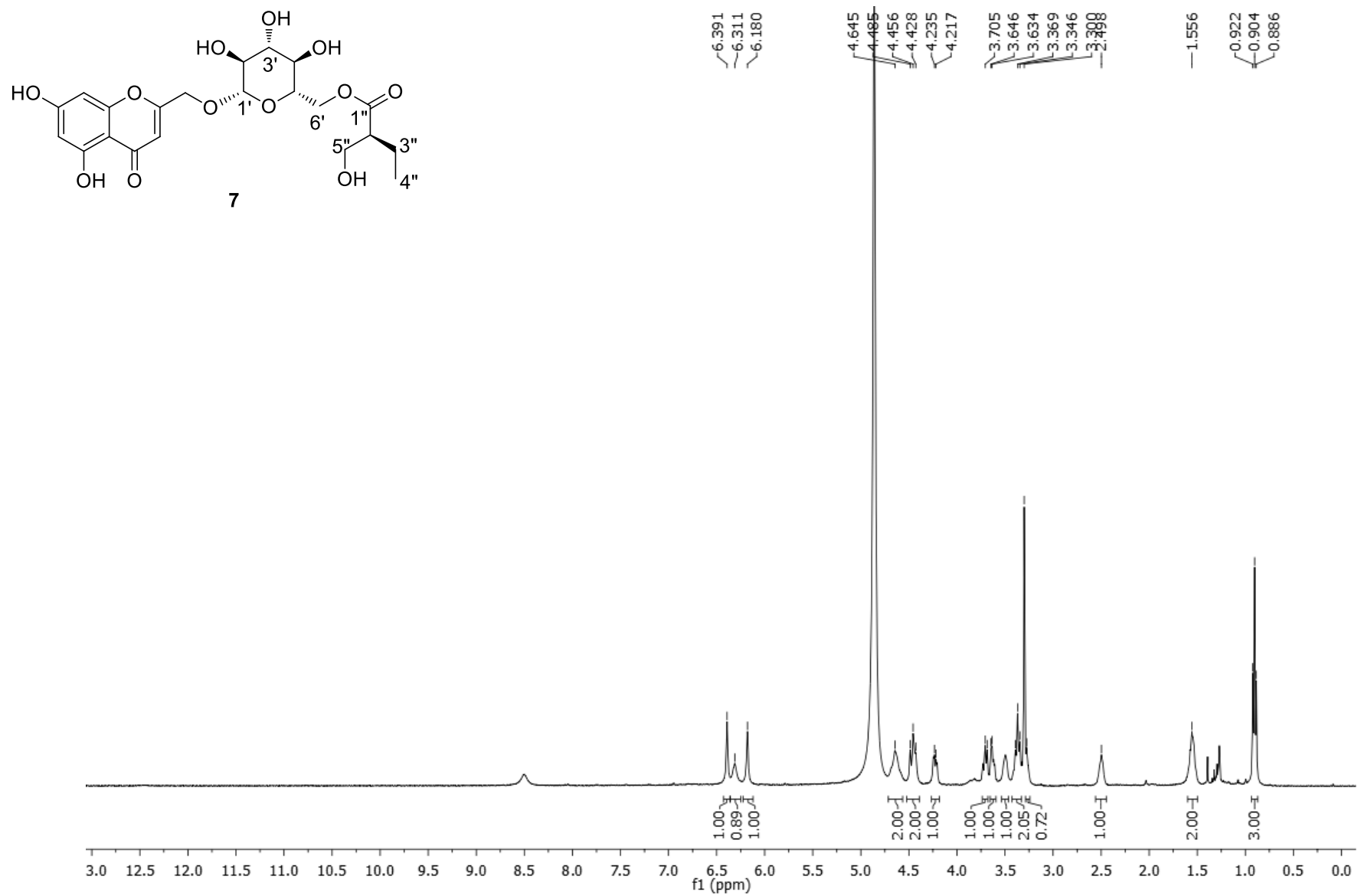


Figura S89. Espectro de RMN de ^1H de **7** a 400 MHz em metanol- d_4 .

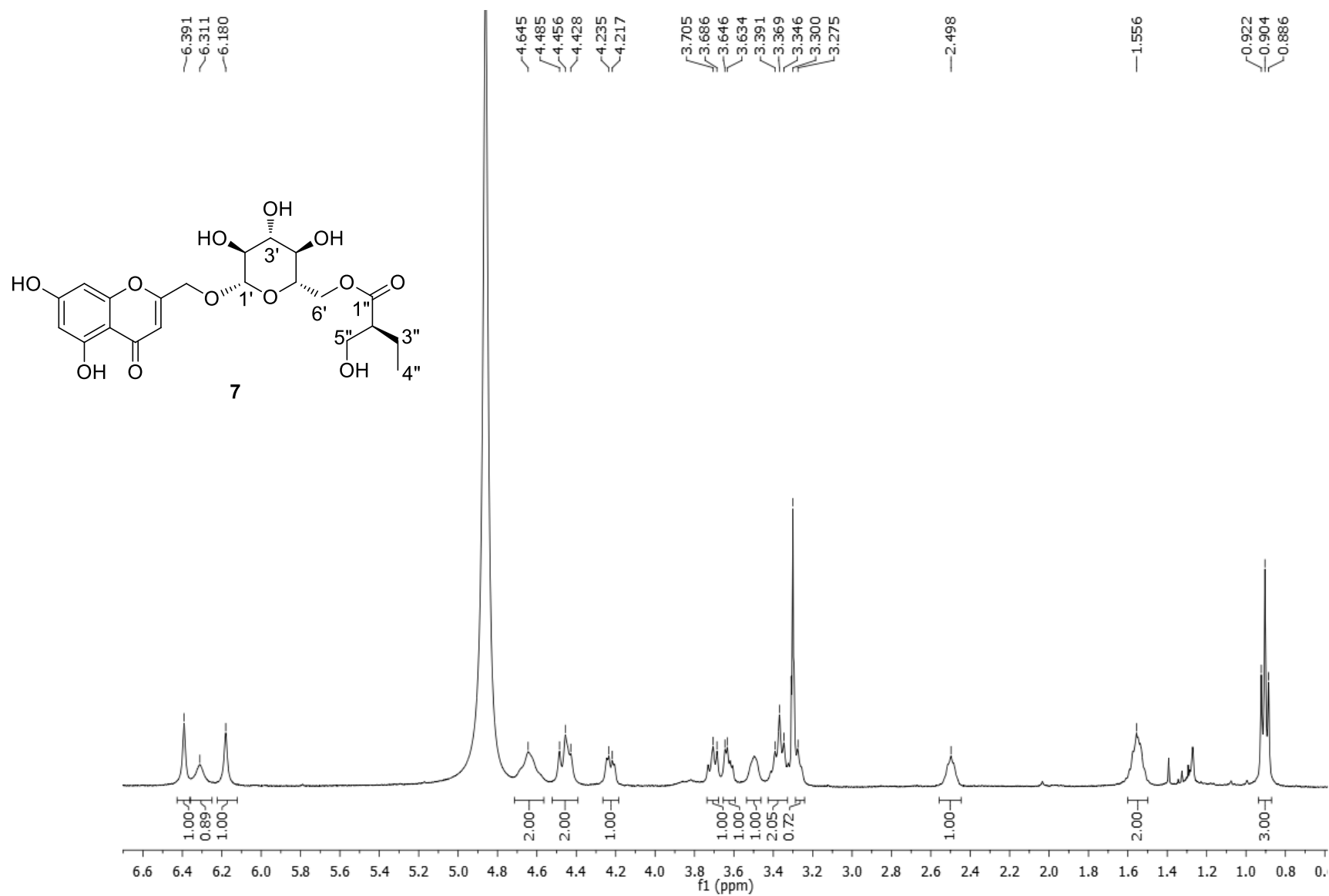


Figura S90. Espectro de RMN de ^1H de **7** a 400 MHz em metanol- d_4 (expansão).

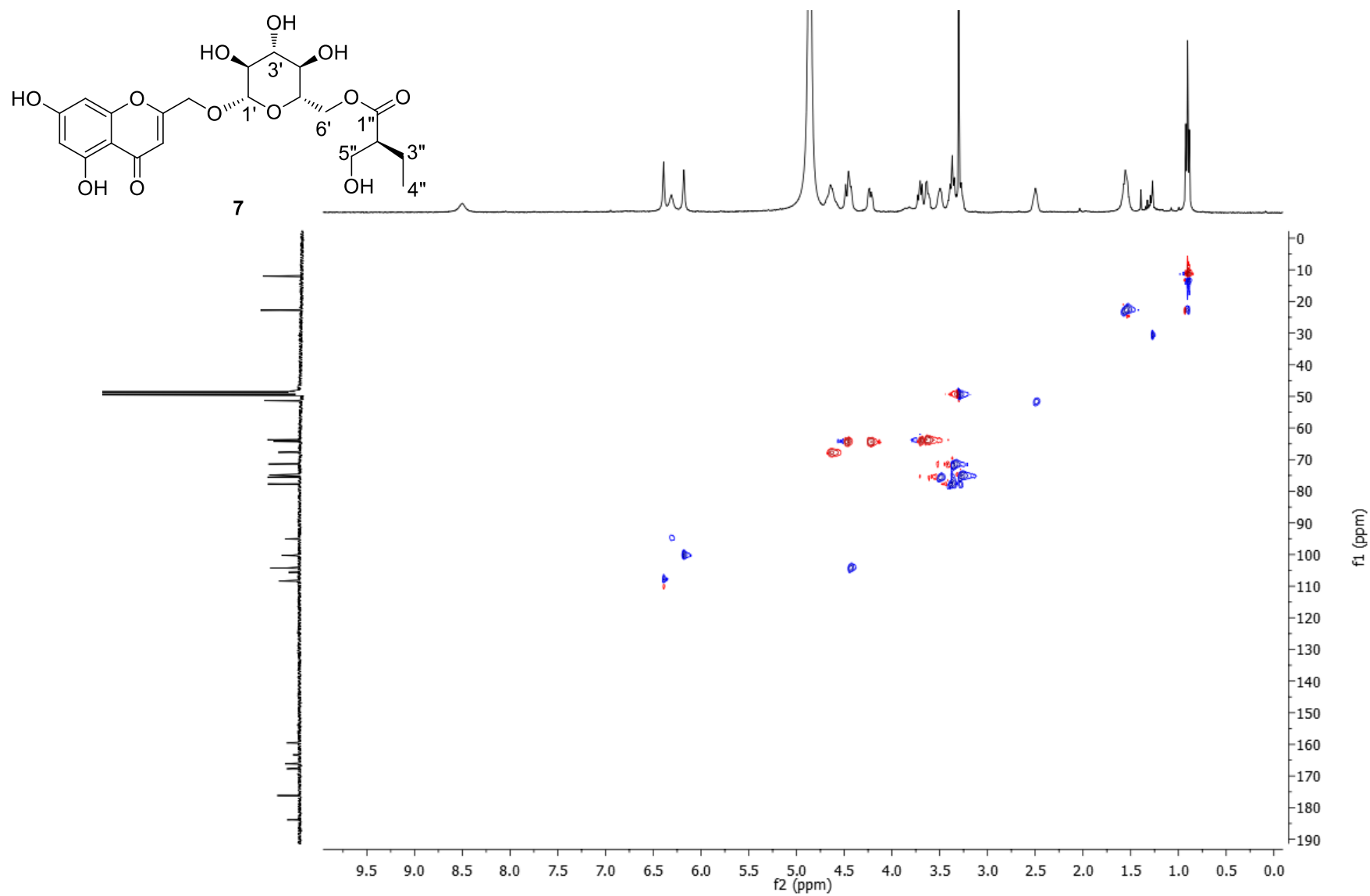


Figura S91. Espectro de HSQC de 7.

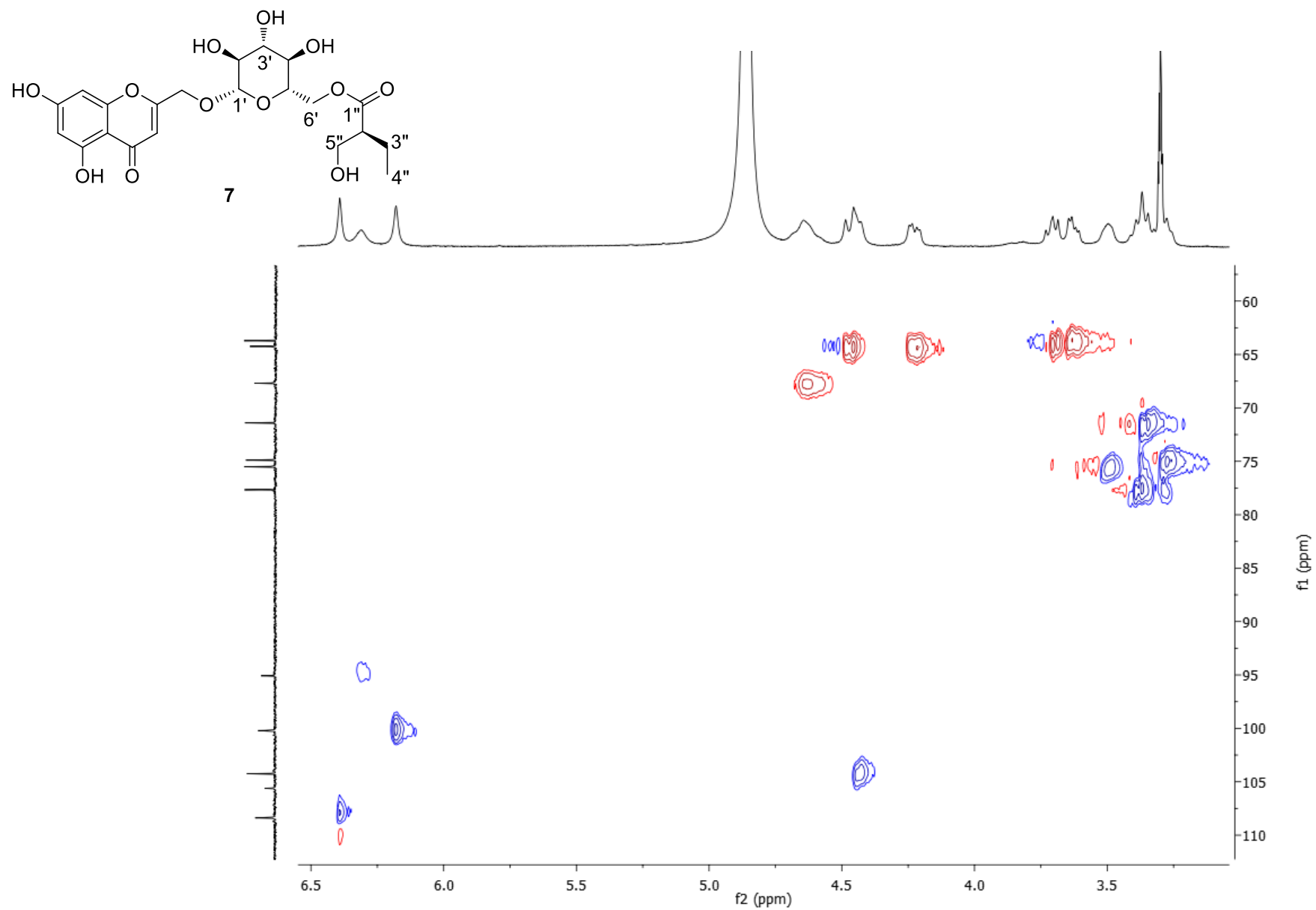


Figura S92. Espectro de HSQC de 7 (expansão).

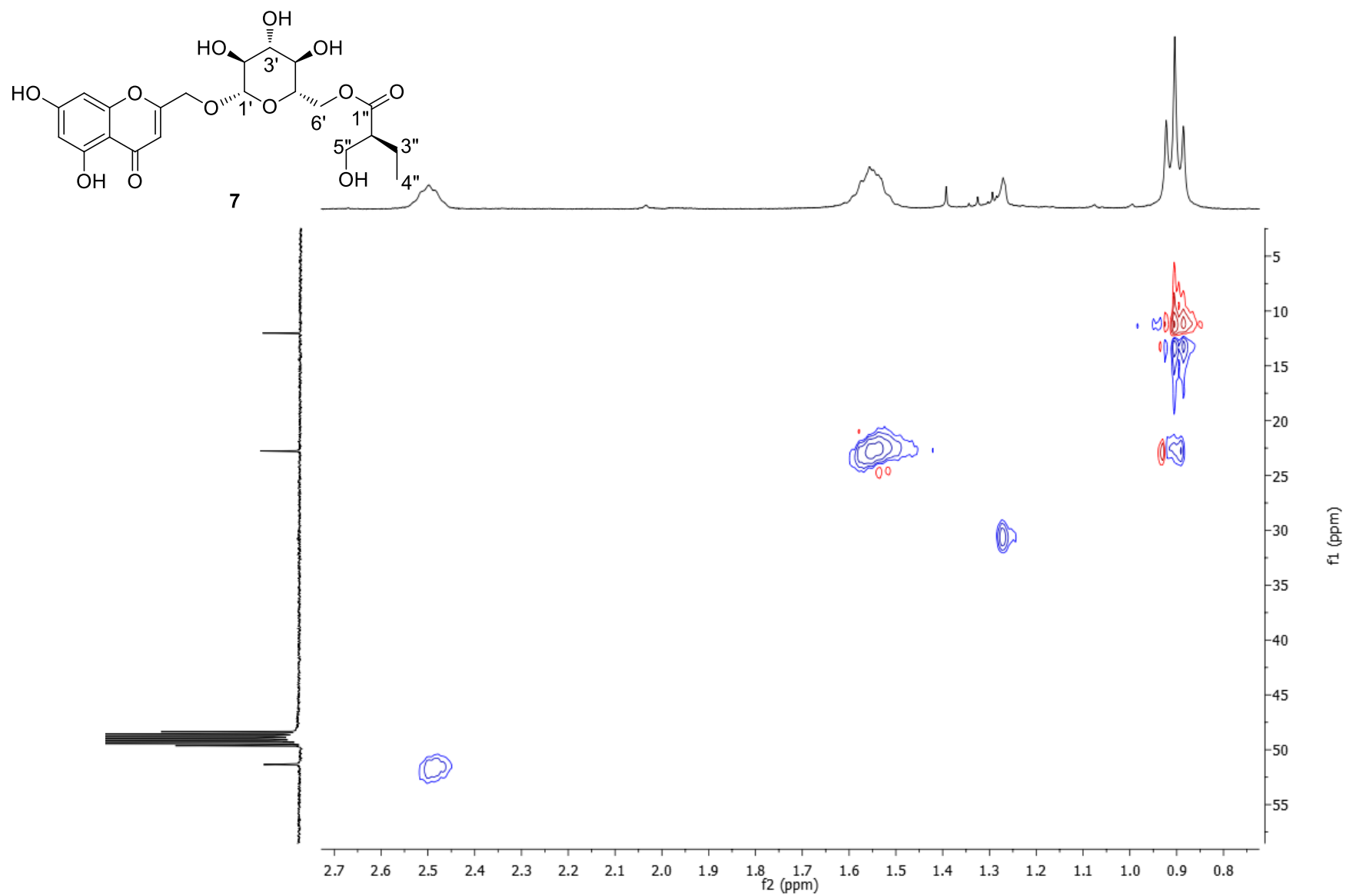


Figura S93. Espectro de HSQC de 7 (expansão).

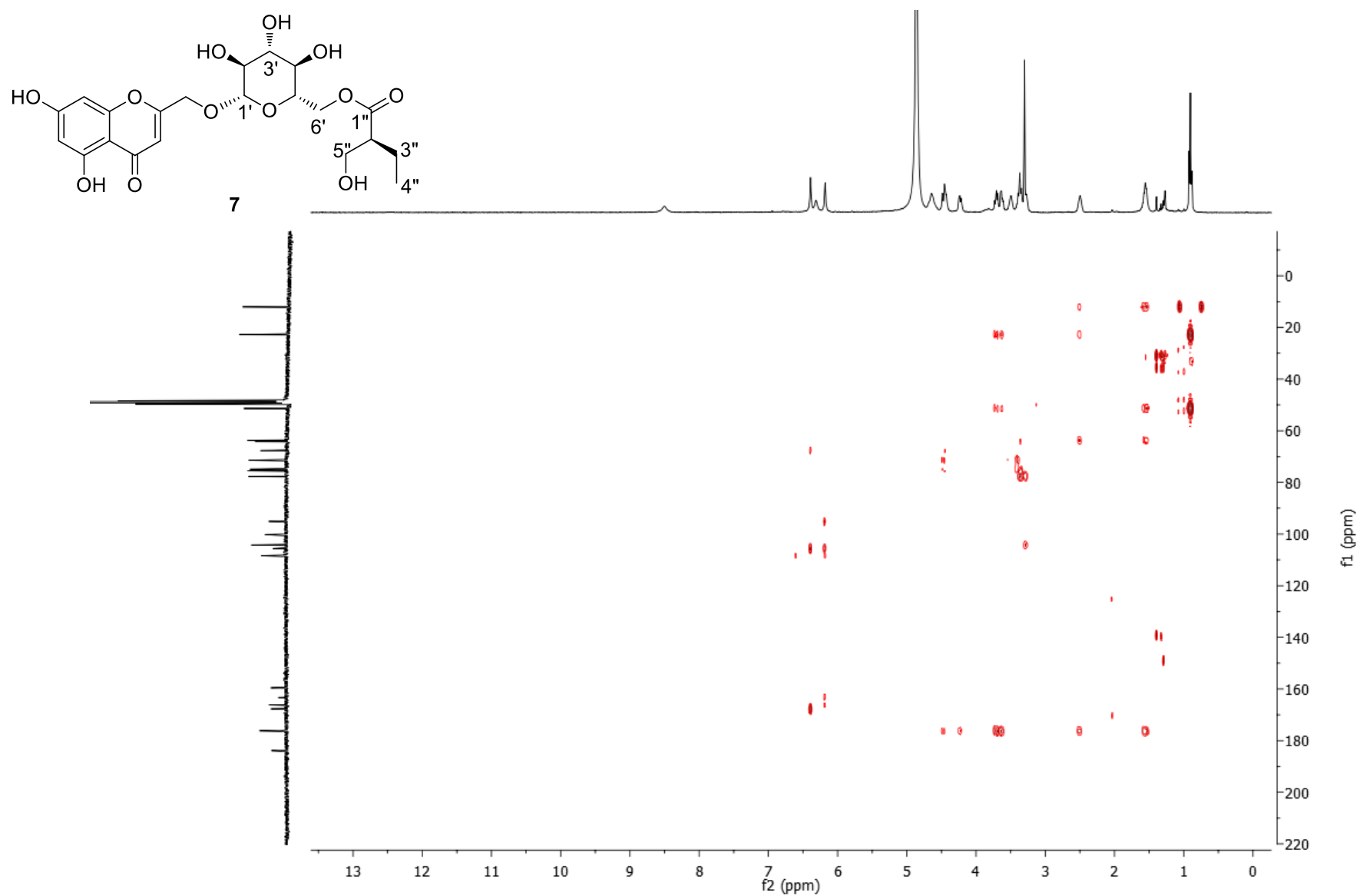


Figura S94. Espectro de HMBC de 7.

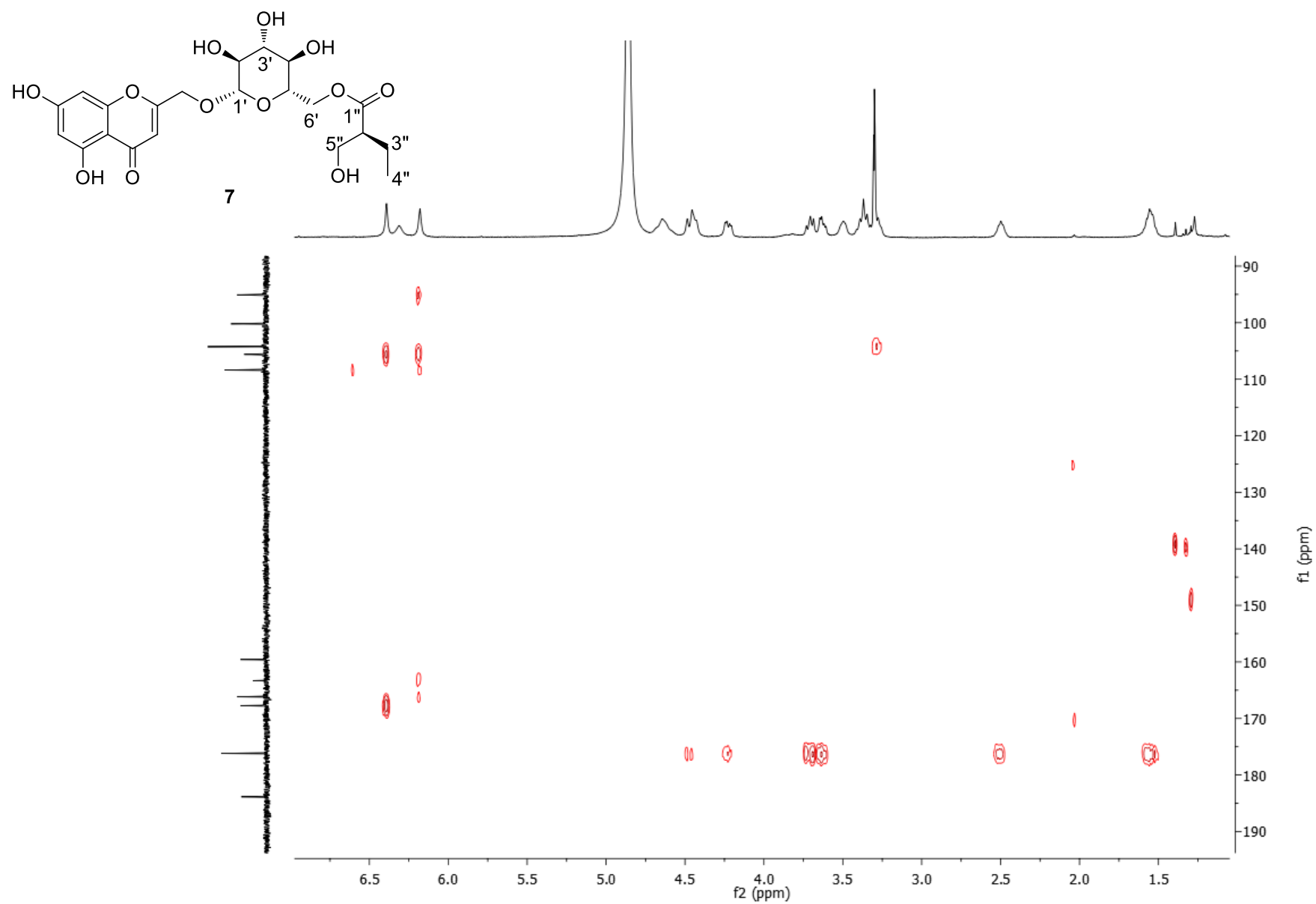


Figura S95. Espectro de HMBC de **7** (expansão).

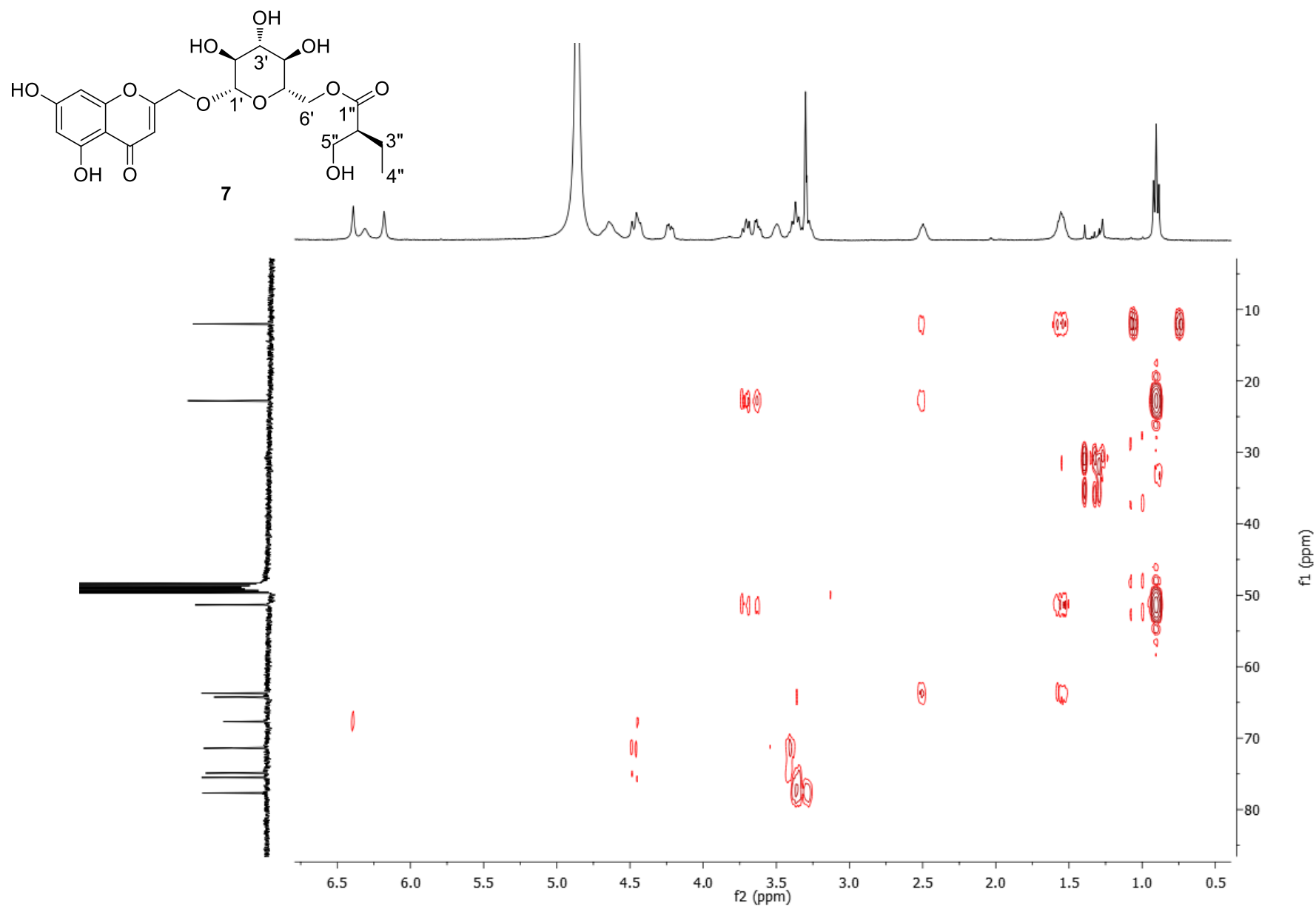


Figura S96. Espectro de HMBC de **7** (expansão).

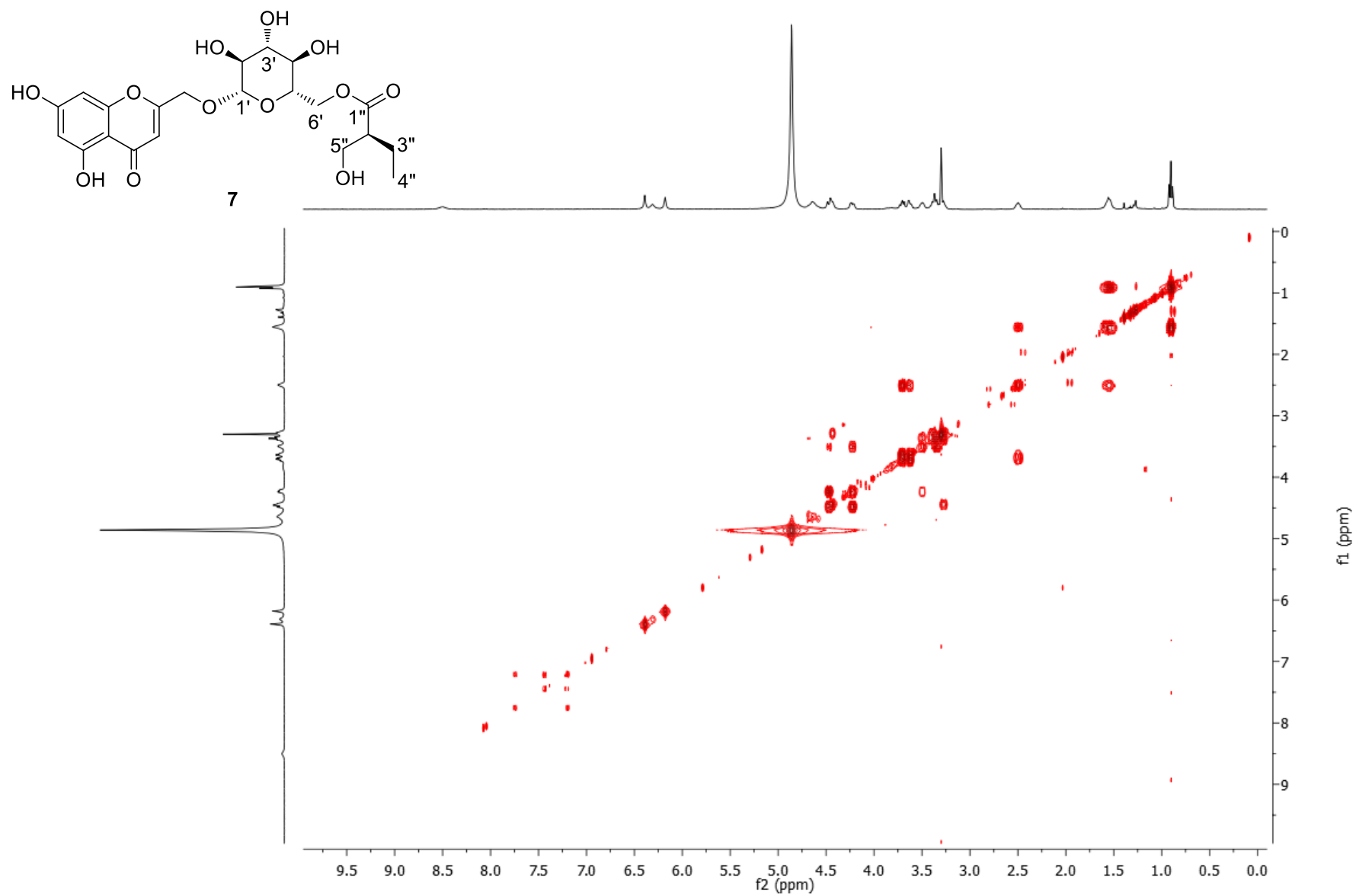


Figura S97. Espectro de ^1H - ^1H COSY de **7**.

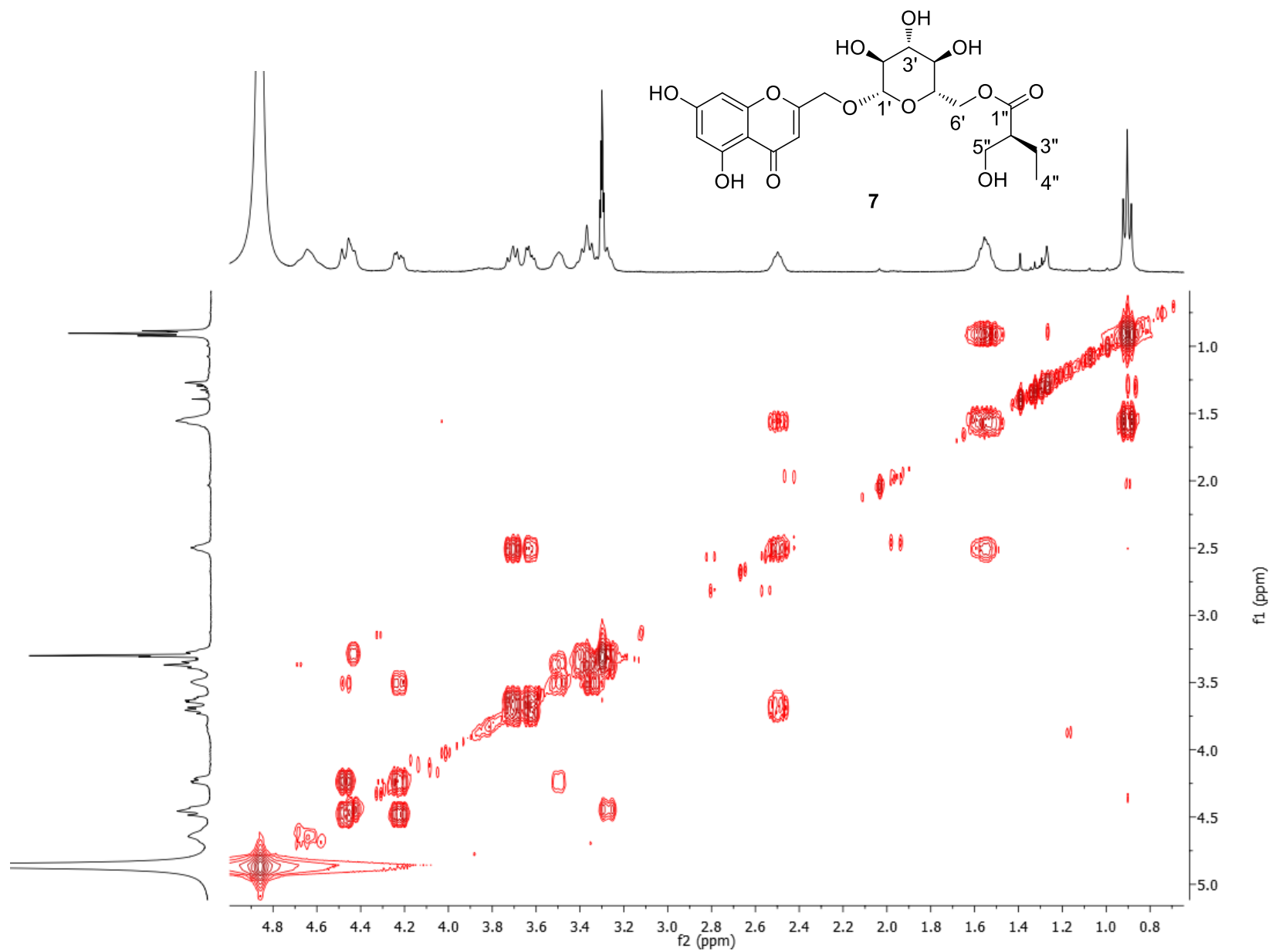


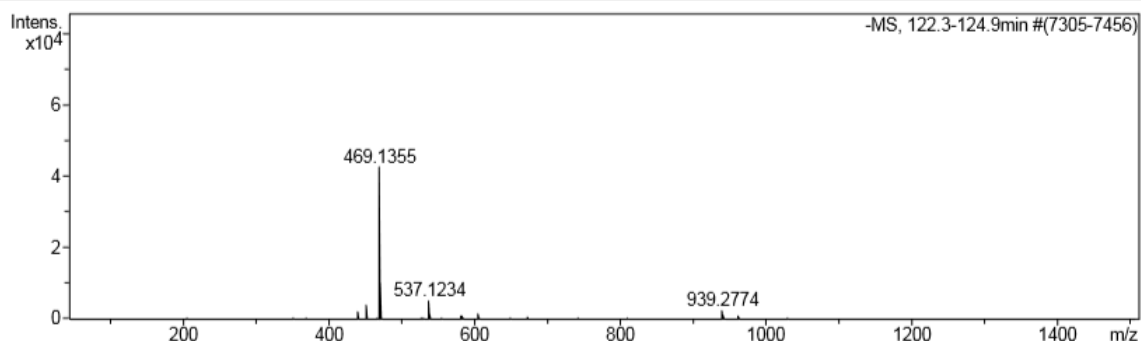
Figura S98. Espectro de ^1H - ^1H COSY de 7 (expansão).

Mass Spectrum SmartFormula Report

Acquisition Date 15/6/2018 18:46:58
Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF 10338

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Negative	Set Nebulizer	34.8 psi
Focus	Not active			Set Dry Heater	300 °C
Scan Begin	50 m/z	Set Capillary	4000 V	Set Dry Gas	8.0 l/min
Scan End	1500 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Divert Valve	Waste



Meas. m/z	#	Formula	Score	m/z	err [mDa]	err [ppm]	mSigma	rdb	e ⁻ Conf	N-Rule
469.1355	1	C ₂₁ H ₂₅ O ₁₂	100.00	469.1351	-0.4	-0.8	4.4	9.5	even	ok

Figura S99. Espectro de HRESIMS de 7.

6 CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *Evolvulus linarioides* Meisn. resultou no isolamento de sete novos compostos pertencentes a três classes de metabólitos: três sesquiterpeno do tipo cariofilano, linariofilenos A–C (**1–3**), dois novos derivados do hamamelitol, linaritols A (**4**) e B (**5**), duas novas cromonas, linariosídeos A (**6**) e B (**7**), e três cromonas conhecidas, cnidimol C (**8**), monnierisídeo A (**9**), undulatosídeo A (**10**).

Por meio de técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional, espectrometria de massas de alta e baixa resolução, infravermelho e rotação óptica, foi possível elucidar as estruturas desses compostos. Através da espectrometria de massas de alta e baixa resolução, foi possível propor a fragmentação das substâncias isoladas, reforçando as estruturas propostas.

As configurações absolutas dos compostos **1–5** e **7** foram estabelecidas com base nos dados de dicroísmo circular eletrônico, através da comparação dos dados experimentais e seus espectros teóricos. A configuração absoluta da unidade de açúcar foi definida por reação de hidrólise ácida e análise por CG-EM.

O potencial anti-inflamatório dos compostos foi avaliado pela sua capacidade de inibir a produção de óxido nítrico e da citocina pró-inflamatória IL- 1β por macrófagos da linhagem J774 estimulados. Os compostos **1**, **2**, **4**, **7** e **10** reduziram em 92,5%, 93,0%, 88,5%, 96,2% e 89,6% os níveis de IL- 1β , exibindo eficácia superior ao controle positivo, cuja inibição foi de 87,1%. Os compostos **3**, **5**, **8** e **9** inibiram em 75,0%, 80,6%, 72,7% e 85,5% a produção dessa citocina. Esses resultados sugerem que esses compostos apresentam potencial anti-inflamatório. Este é o primeiro relato de derivados do hamamelitol com atividade anti-inflamatória. Dessa forma, estes resultados corroboram com o uso tradicional de espécies de *Evolvulus* para o tratamento de processos inflamatórios.

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 um composto relatado pela primeira na família Convolvulaceae e quatro compostos inéditos na literatura.

REFERÊNCIAS

- AHIMSA-MÜLLER, M. A. et al. **Clavicipitaceous fungi associated with ergoline alkaloid-containing Convolvulaceae**. *Journal of Natural Products*, v. 70, nº 12, p. 1955–1960, 2007. ISSN: 01633864, DOI: 10.1021/np070315t.
- AKHTAR, M. S. et al. **New chromone derivative from *Evolvulus alsinoides* Linn. aerial parts**. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 13, nº 2, p. 191–194, 2009. ISSN: 13196103, DOI: 10.1016/j.jscs.2009.02.001.
- AMBIKA, A. P.; NAIR, S. N. **Wound healing activity of plants from the Convolvulaceae family**. *Advances in Wound Care*, v. 8, nº 1, p. 28–37, 2019. ISSN: 21621934, DOI: 10.1089/wound.2017.0781.
- ANTHONSEN, T. et al. **2-C-Methyl-erythritol, a New Branched Alditol from *Convolvulus glomeratus***. *Acta Chemica Scandinavica*, v. 30b, nº 1, p. 91–93, 1976. ISSN: 0904-213X, DOI: 10.3891/acta.chem.scand.30b-0091.
- AUSTIN, D. F. ***Evolvulus alsinoides* (Convolvulaceae): An American herb in the Old World**. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 117, p. 185–198, 2008. DOI: 10.1016/j.jep.2008.01.038.
- AVIGAD, G.; DEY, P. M. **Carbohydrate Metabolism: Storage Carbohydrates**. *Plant Biochemistry*. [s.l.]: ACADEMIC PRESS, 1997. 143–204 p. ISBN: 0122146743, DOI: 10.1016/b978-012214674-9/50005-9.
- 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, nº 3, p. 851–864, 2011. ISBN: 0378-8741, ISSN: 03788741, DOI: 10.1016/j.jep.2011.01.029.
- BANDEIRA, Á. N. T. et al. **Convolvulaceae no Parque Ecológico Engenheiro Ávidos, Alto Sertão Paraibano, Nordeste do Brasil**. *Rodriguésia*, v. 70, p. 1–18, 2019.
- BFG. **Brazilian flora 2020: Innovation and collaboration to meet target 1 of the global strategy for plant conservation (GSPC)**. *Rodriguésia*, v. 69, nº 4, p. 1513–1527, 2018. ISSN: 21757860, DOI: 10.1590/2175-7860201869402.
- CANO, J. H.; VOLPATO, G. **Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba**. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 90, p. 293–316, 2004. DOI: 10.1016/j.jep.2003.10.012.
- CARNEIRO, M. R. B. **A flora medicinal no centro oeste do Brasil: um estudo de caso com abordagem etnobotânica em Campo Limpo de Goiás**. p. 242, 2009.

CHEN, G. T. et al. **Medicinal uses, pharmacology, and phytochemistry of Convolvulaceae plants with central nervous system efficacies: A systematic review.** *Phytotherapy Research*, v. 32, nº 5, p. 823–864, 2018. ISSN: 10991573, DOI: 10.1002/ptr.6031.

DELGADO JÚNIOR, G. C.; BURIL, M. T.; ALVES, M. **Convolvulaceae do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil.** *Rodriguesia*, v. 65, nº 2, p. 425–442, 2014. ISSN: 21757860.

DINDA, B. et al. **Chemical constituents of *Evolvulus nummularius*.** *Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry*, v. 46, nº 3, p. 492–498, 2007. ISBN: 0376-4699, ISSN: 03764699.

ESPÍRITO-SANTO, R. F. et al. **The anti-inflammatory and immunomodulatory potential of braylin: Pharmacological properties and mechanisms by in silico, in vitro and in vivo approaches.** *PLoS ONE*, v. 12, nº 6, p. 1–20, 2017. ISBN: 1111111111, ISSN: 19326203, DOI: 10.1371/journal.pone.0179174.

FACEY, P. C. et al. **Investigation of Plants used in Jamaican Folk Medicine for Anti-bacterial Activity.** *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 51, nº 12, p. 1555–1560, 1999. ISSN: 0022-3573, DOI: 10.1211/0022357991777119.

FAN, B.; LU, Y. et al. **Evolvulins I and II, Resin Glycosides with a Trihydroxy Aglycone Unit from *Evolvulus alsinoides*.** *Org. Lett.*, v. 21, nº 16, p. 6548–6551, 2019. ISSN: 1523-7060, DOI: 10.1021/acs.orglett.9b02492.

FAN, B.; HE, Y. et al. **Glycosidic Acids with Unusual Aglycone Units from *Convolvulus arvensis*.** *J. Nat. Prod.*, v. 82, nº 6, p. 1593–1598, 2019. ISSN: 0163-3864, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b00056.

FERREIRA, P. P. A.; SIMÃO-BIANCHINI, R.; MIOTTO, S. T. S. **O gênero *Evolvulus* L. (Convolvulaceae) na Região Sul do Brasil.** *Iheringia, Série Botânica*, v. 69, nº 1, p. 201–214, 2014. ISSN: 00734705.

FRANCESCHI, C.; CAMPISI, J. **Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential contribution to age-associated diseases.** *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, v. 69, p. S4–S9, 2014. ISSN: 1758535X, DOI: 10.1093/gerona/glu057.

FU, X. W. et al. **Simplified screening for organic acidemia using GC/MS and dried urine filter paper: A study on neonatal mass screening.** *Early Hum. Dev.*, v. 58, nº 1, p. 41–55, 2000. ISSN: 03783782, DOI: 10.1016/S0378-3782(00)00053-0.

FUJIWARA, N.; KOBAYASHI, K. **Macrophages in inflammation.** *Current Drug Targets: Inflammation and Allergy*, v. 4, nº 3, p. 281–286, 2005. ISSN: 1568010X, DOI: 10.2174/1568010054022024.

GHOSH, B.; JONES, A. D. **Profiling, characterization, and analysis of natural and synthetic acylsugars (sugar esters).** *Anal. Methods*, v. 9, nº 6, p. 892–905,

2017. DOI: 10.1039/C6AY02944B.

GREEN, L. C. et al. **Analysis of Nitrate, Nitrite, and [15N]Nitrate in Biological Fluids.** *Analytical Biochemistry*, v. 126, n° 1, p. 131–138, 1982. ISSN: 10960309, DOI: 10.1016/0003-2697(82)90118-X.

GUPTA, P. et al. **Anti-stress constituents of *Evolvulus alsinoides*: an ayurvedic crude drug.** *Chem. Pharm. Bull.*, v. 55, n° 5, p. 771–775, 2007.

_____. **Evolvosides C-E, flavonol-4-O-triglycosides from *Evolvulus alsinoides* and their anti-stress activity.** *Bioorg. and Med. Chem.*, v. 21, n° 5, p. 1116–1122, 2013. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.12.040.

HAAS, M.; LAMOUR, S.; TRAPP, O. **Development of an advanced derivatization protocol for the unambiguous identification of monosaccharides in complex mixtures by gas and liquid chromatography.** *J. Chromatogr. A*, v. 1568, p. 160–167, 2018. ISSN: 18733778, DOI: 10.1016/j.chroma.2018.07.015.

HABERLAND, C.; KOLODZIEJ, H. **Novel Galloylhamameloses from *Hamamelis virginiana*.** *Planta Med*, n° 60, p. 464–466, 1994.

HAKKI, Z. et al. **Synthesis of the monoterpenoid esters cypellocarpin C and cuniloside B and evidence for their widespread occurrence in *Eucalyptus*.** *Carbohydrate Research*, v. 345, n° 14, p. 2079–2084, 2010. ISBN: 1873-426X (Electronic)n0008-6215 (Linking), ISSN: 00086215, DOI: 10.1016/j.carres.2010.07.029.

HARAGUCHI, M. et al. **Alkaloidal components in the poisonous plant, *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae).** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n° 17, p. 4995–5000, 2003. ISSN: 00218561, DOI: 10.1021/jf0341722.

KIM, S. B. et al. **Anti-adipogenic chromone glycosides from *Cnidium monnieri* fruits in 3T3-L1 cells.** *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, v. 22, n° 19, p. 6267–6271, 2012. ISSN: 0960894X, DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.07.103.

KUMAR, M. et al. **Antioxidant flavonoid glycosides from *Evolvulus alsinoides*.** *Fitoterapia*, v. 81, n° 4, p. 234–242, 2010. ISBN: 0367-326X, ISSN: 0367326X, DOI: 10.1016/j.fitote.2009.09.003.

LEKSHMI, U. M. D.; REDDY, P. N. **Preliminary studies on antiinflammatory, antipyretic, and antidiarrhoeal properties of *Evolvulus alsinoides*.** *Turkish Journal of Biology*, v. 35, n° 5, p. 611–618, 2011. ISSN: 13000152, DOI: 10.3906/biy-0904-19.

LIMA, M. D. S. et al. **Antinociceptive properties of physalins from *Physalis angulata*.** *Journal of Natural Products*, v. 77, n° 11, p. 2397–2403, 2014. ISSN: 15206025, DOI: 10.1021/np5003093.

LIRA-RICÁRDEZ, J. et al. **Resin Glycosides from the Roots of *Operculina macrocarpa* (Brazilian Jalap) with Purgative Activity.** *Journal of Natural Products*, v. 82, p. 1664–1677, 2019. ISSN: 15206025, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b00222.

LOESCHER, W. H. **Physiology and metabolism of sugar alcohols in higher plants.** *Physiologia Plantarum*, v. 70, nº 3, p. 553–557, 1987. ISSN: 13993054, DOI: 10.1111/j.1399-3054.1987.tb02857.x.

LOESCHER, W. H.; EVERARD, J. D. **Sugar alcohol metabolism in sinks and sources.** In: ZAMSKI, E.; SCHARFFER, A. A. (Orgs.). *Photoassimilate Distribution Plants and Crops Source-Sink Relationships*. 1 ed. New York: [s.n.], 1996. p. 185–208. ISBN: 9781351424912, DOI: 10.1201/9780203743539.

_____. **Regulation of Sugar Alcohol Biosynthesis.** In: LEEGOOD, R. C.; SHARKEY, T. D.; CAEMMERER, S. Von (Orgs.). *Photosynthesis: Physiology and Metabolism*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 275–299.

MA, L. Y. et al. **Uncinoside A and B, two new antiviral chromone glycosides from *Selaginella uncinata*.** *Chem. Pharm. Bull.*, v. 51, nº 11, p. 1264–1267, 2003. ISSN: 00092363, DOI: 10.1248/cpb.51.1264.

MACHADO, M. D. S. et al. **Convolvulaceae na Serra Negra, Minas Gerais, Brasil.** *Rodriguésia*, v. 71, p. 1–10, 2020.

MAGNO-SILVA, E. R.; ROCHA, T. T.; TAVARES-MARTINS, A. C. C. **Ethnobotany and ethnopharmacology of medicinal plants used in communities of the source marine extractive reserve, Pará State, Brazil.** *Bol. Latinoam. Caribe Plant Med. Aromat.*, v. 19, nº 1, p. 29–64, 2020. ISSN: 07177917.

MARINHO, A. M.; JARDIM, J. G.; BURIL, M. T. **Convolvulaceae na APA Jenipabu, Rio Grande do Norte, Brasil.** *Rodriguésia*, v. 72, p. 1–12, 2021.

MEIRA, M. et al. **Review of the genus *Ipomoea*: Traditional uses, chemistry and biological activities.** *Braz. J. Pharmacogn.*, v. 22, nº 3, p. 682–713, 2012. ISSN: 0102695X, DOI: 10.1590/S0102-695X2012005000025.

MIA, M. M. ul K. et al. **Medicinal plants of the Garo tribe inhabiting the Madhupur forest region of Bangladesh.** *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, v. 3, nº 2, p. 165–171, 2009. ISSN: 19950748.

MOING, A. **Sugar alcohols as carbohydrate reserves in some higher plants.** *Developments in Crop Science*, v. 26, nº C, p. 337–358, 2000. ISSN: 0378519X, DOI: 10.1016/S0378-519X(00)80017-3.

MOORE, B.; HACKETT, M.; SEEMANN, J. R. **Hamamelitol purification, identification by electrospray ionization mass spectrometry, and quantitation in plant leaves.** *Planta*, v. 195, p. 418–425, 1995.

MOORE; TALBOT, J. N.; SEEMANN, J. R. **Function of leaf hamamelitol as a compatible solute during water stress treatment of *Hedera helix* L.** *Plant, Cell and Environment*, v. 20, nº 7, p. 938–944, 1997. ISSN: 01407791, DOI: 10.1046/j.1365-3040.1997.d01-130.x.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. **Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019.** *Journal of Natural Products*, v. 83, nº 3, p. 770–803, 2020. ISSN: 15206025, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

NOIRAUD, N.; MAUROSSET, L.; LEMOINE, R. **Transport of polyols in higher plants.** *Plant Physiol. and Biochem.*, v. 39, nº 9, p. 717–728, 2001. ISSN: 09819428, DOI: 10.1016/S0981-9428(01)01292-X.

ONO, M. **Resin glycosides from Convolvulaceae plants.** *Journal of Natural Medicines*, v. 71, nº 4, p. 591–604, 2017. ISSN: 18610293, DOI: 10.1007/s11418-017-1114-5.

OOSTSTROOM, S. J. VAN. **A Monograph of the Genus *Evolvulus*.** [s.l.]: Mededeelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijks, Universiteit te Utrecht, 1934. 1–267 p.

OPRETZKA, L. C. F. et al. **Natural chromones as potential anti-inflammatory agents: Pharmacological properties and related mechanisms.** *International Immunopharmacology*, v. 72, p. 31–39, 2019. ISSN: 18781705, DOI: 10.1016/j.intimp.2019.03.044.

OTT, S. C. et al. **Ipvelutine, 7 β -acetoxy-2 α -(tigloyloxy)tropane, an unusual tropane alkaloid from *Ipomoea velutina* R. BR. (Convolvulaceae).** *Scientia Pharmaceutica*, v. 81, nº 2, p. 543–548, 2013. ISSN: 00368709, DOI: 10.3797/scipharm.1303-13.

PENG, B. et al. **Two new glycosides from *Dryopteris fragrans* with anti-inflammatory activities.** *Journal of Asian Natural Products Research*, v. 18, nº 1, p. 59–64, 2016. ISSN: 14772213, DOI: 10.1080/10286020.2015.1121853.

PEREIRA, L. C. O. **SESQUITERPENOS CARIOFILANOS E OUTROS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Evolvulus linarioides* MEISN. (CONVOLVULACEAE).** 96 p. - Universidade Federal da Paraíba, 2016.

PIČMANOVÁ, M.; MØLLER, B. L. **Apiose: One of nature's witty games.** *Glycobiology*, v. 26, nº 5, p. 430–442, 2016. ISSN: 14602423, DOI: 10.1093/glycob/cww012.

QUEIROGA, C. S. **Novas substâncias isoladas de *Evolvulus linarioides* Meisn. (CONVOLVULACEAE).** 87 p. - Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintético Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, 2012.

SANTOS, D.; BURIL, M. T. **O gênero *Evolvulus* (Convolvulaceae) no estado de**

Pernambuco , Brasil. *Rodriguesia*, v. 59, nº 71, 2020.

SCHILLING, G.; KELLER, A. **Zusammensetzung und Konformation von Hamamelose in Lösung. *Liebigs Ann. Chem.***, p. 1475–1479, 1977.

SCHIMMING, T. et al. **Calystegines as chemotaxonomic markers in the Convolvulaceae. *Phytochemistry***, v. 66, nº 4, p. 469–480, 2005. ISBN: 0031-9422 (Print)r0031-9422 (Linking), ISSN: 00319422, DOI: 10.1016/j.phytochem.2004.12.024.

SILVA, C. V. DA. **Revisão taxonômica de *Evolvulus* L. – Seção *Phyllostachyi* Meisn. (Convolvulaceae)**. 133 p. - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2013.

SIMÃO-BIANCHINI, R.; SILVA, C. V. ***Evolvulus* in Flora do Brasil 2020**. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB7005>>. Acesso em: 06/ago./21

SINGH, A. **Review of Ethnomedicinal uses and pharmacology of *Evolvulus alsinoides* Linn. *Ethnobotanical leaflets***, v. 12, p. 734-740 ., 2008.

SOUSA, A. L. et al. **Lignans and flavonoids isolated from *Cuscuta racemosa* Mart. & Humb (Convolvulaceae) by Droplet Counter-Current Chromatography. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies***, v. 35, nº 16, p. 2294–2303, 2012. ISSN: 10826076, DOI: 10.1080/10826076.2011.631259.

SPELLMAN, M. C. et al. **Isolation and characterization of 3-C-carboxy-4-deoxy-L-xylose, a naturally occurring, branched-chain, acidic monosaccharide. *Carbohydrate Research***, v. 122, p. 115–129, 1983.

STEFANOVIĆ, S.; AUSTIN, D. F.; OLMSTEAD, R. G. **Classification of Convolvulaceae: A Phylogenetic Approach. *Systematic Botany***, v. 28, nº 4, p. 791–806, 2003. ISSN: 0363-6445, DOI: 10.1043/02-45.1.

STEINER, U.; LEISTNER, E. **Ergot Alkaloids and their Hallucinogenic Potential in Morning Glories. *Planta Medica***, v. 84, nº 11, p. 751–758, 2018. ISSN: 14390221, DOI: 10.1055/a-0577-8049.

SUNDARAMOORTHY, P. M. K.; PACKIAM, K. K. **Extraction, isolation and identification of kaempferol 3,7 – Diglucoside in the leaf extracts of *Evolvulus alsinoides* (Linn.) and its inhibition potency against α -amylase, α -glucosidase, Acetylcholinesterase and amyloid aggregation. *Phcog Mag***, v. 16, p. 221–234, 2020. ISBN: 9789896540821.

SURA, M. B. et al. **Ipomeolides A and B, Resin Glycosides from *Ipomoea pes-caprae* and Combination Therapy of Ipomeolide A with Doxorubicin. *Journal of Natural Products***, v. 82, p. 1292–1300, 2019. ISSN: 0163-3864, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.8b01100.

THEISEN, L. L. et al. **Tannins from Hamamelis virginiana bark extract: Characterization and improvement of the antiviral efficacy against influenza A virus and human papillomavirus.** *PLoS ONE*, v. 9, nº 1, p. 1–14, 2014. ISSN: 19326203, DOI: 10.1371/journal.pone.0088062.

TOFERN, B. et al. **Arcapitins A–C, first dammarane-type triterpenes from the Convolvulaceae.** *Zeitschrift für Naturforschung C*, v. 54, nº 12, p. 1005–1010, 1999. ISSN: 09395075.

TOKI, K. et al. **An Acylated Delphinidin Glycoside In The Blue Flowers Of Evolvulus pilosus.** *Phytochemistry*, v. 36, nº 3, p. 609–612, 1994.

WCSP. **World Checklist of Selected Plant Families.** *Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew.* Disponível em: <<http://wcsp.science.kew.org/>>. Acesso em: 25/jul./21

XU, J. Y. et al. **Isolation of evolulic acids B and C, two new components of crude resin glycoside fraction from Evolvulus alsinoides.** *Natural Product Research*, v. 6419, p. 1–6, 2020. ISSN: 14786427, DOI: 10.1080/14786419.2020.1736067.

YADAV, M. K. et al. **Neuroprotective Activity of Evolvulus alsinoides & Centella asiatica Ethanolic Extracts in Scopalamine-Induced Amnesia in Swiss Albino Mice.** *Macedonian Journal of Medical Sciences*, v. 7, nº 7, p. 1059–1066, 2019.

YADAV, S.; HEMKE, A.; UMEKAR, M. **Convolvulaceae: A Morning Glory Plant Review.** *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, v. 51, nº 17, p. 103–117, 2018.

YANG, C. et al. **A natural product solution to aging and aging-associated diseases.** *Pharmacology and Therapeutics*, v. 216, p. 107673, 2020. ISSN: 1879016X, DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107673.

ZHANG, L. et al. **The strategies and techniques of drug discovery from natural products.** *Pharmacology and Therapeutics*, v. 216, p. 107686, 2020. ISSN: 1879016X, DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107686.

ZHU, M. Z. et al. **Recent development in mass spectrometry and its hyphenated techniques for the analysis of medicinal plants.** *Phytochemical Analysis*, v. 29, nº 4, p. 365–374, 2018. ISSN: 10991565, DOI: 10.1002/pca.2763.