UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS

E SINTÉTICOS BIOATIVOS

JOCIANO DA SILVA LINS

Estudo fitoquímico e farmacológico de *Ruehssia caatingae* (Morillo) F. Esp. Santo & Rapini (Apocynaceae) com avaliação *in vitro* das atividades anti-inflamatória e citotóxica

João Pessoa-PB

2025

JOCIANO DA SILVA LINS

Estudo fitoquímico e farmacológico de *Ruehssia caatingae* (Morillo) F. Esp. Santo & Rapini (Apocynaceae) com avaliação *in vitro* das atividades anti-inflamatória e citotóxica

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 Farmacoquímica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Orientador: Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho
Coorientador: Prof. Dr. Josean Fechine Tavares

João Pessoa-PB

2025

Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L759e Lins, Jociano da Silva.
Estudo fitoquímico e farmacológico de Ruehssia caatingae (Morillo) F. Esp. Santo & Rapini (Apocynaceae) com avaliação in vitro das atividades anti inflamatória e citotóxica / Jociano da Silva Lins. - João Pessoa, 2025.
385 f. : il.

Orientação: José Maria Barbosa Filho.
Coorientação: Josean Fechine Tavares.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Fitoterapia. 2. Apocynaceae. 3. Glicosídeos pregnânicos. 4. Atividade anti-inflamatória. 5. Ruehssioside A-R. 6. Ácido-3-metil-N-pentanóico-B-D-galactofuranosídeo. I. Barbosa Filho, José Maria. II. Tavares, Josean Fechine. III. Título.

Elaborado por GRACILENE BARBOSA FIGUEIREDO - CRB-15/794

Ata da 396ª (trecentésima nonagésima sexta) Tese de Doutorado do aluno do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Jociano da Silva Lins**, candidato ao Título de "Doutor" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica.

Às oito horas (8h00) do dia dez de outubro do ano dois mil e vinte e cinco (10/10/2025), no Auditório do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos, da Universidade Federal da Paraíba e em ambiente virtual de videoconferência através do aplicativo Google Meet, https://meet.google.com/pbn-tyts-dfn, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar o(a) discente **Jociano da Silva Lins**, candidato ao Título de "DOUTOR" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os pesquisadores Massuo Jorge Kato, Ph.D em Química Orgânica; Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida, Ph.D em Farmacoquímica; Sócrates Golzio dos Santos, Ph.D em Farmacoquímica; Yuri Mangueira do Nascimento, Ph.D em Farmacoquímica; Josean Fechine Tavares, Ph.D em Farmacoquímica e José Maria Barbosa Filho, Ph.D em Química Orgânica. Sendo o primeiro, integrante do corpo docente da Universidade de São Paulo, o segundo, integrante do corpo docente da Universidade Federal do Vale do São Francisco e os demais, integrantes do corpo de pesquisadores da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor José Maria Barbosa Filho, após declarar os objetivos da reunião, apresentou o candidato **Jociano da Silva Lins**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Estudo fitoquímico e farmacológico de *Ruehssia Caatingae* (Morillo) F. Esp. Santo & Rapini (Apocynaceae): Isolamento, elucidação estrutural e avaliação das atividades anti-inflamatórias e citotóxicas". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de cinquenta minutos, o candidato foi arguido 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 APROVADO. Em face da aprovação, declarou o Presidente, achar-se o examinado **Jociano da Silva Lins**, legalmente habilitado a receber o Título de "DOUTOR" 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 o mesmo faz jus. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da Comissão e pelo discente.

Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho (Orientador)

Documento assinado digitalmente
gov.br
JOSE MARIA BARBOSA FILHO
Data: 10/10/2025 13:21:36-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Josean Fechine Tavares (Coorientador)

Documento assinado digitalmente
gov.br
JOSEAN FECHINE TAVARES
Data: 04/11/2025 09:25:11-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Massuo Jorge Kato (Examinador)

Documento assinado digitalmen
gov.br
MASSUO JORGE KATO
Data: 23/10/2025 11:24:36-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida (Examinador)

Documento assinado digitalmente
gov.br
JACKSON ROBERTO GUEDES DA SILVA ALMEIDA
Data: 28/10/2025 12:08:15-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos (Examinador)

Documento assinado digitalmente
gov.br
SOCRATES GOLZIO DOS SANTOS
Data: 28/10/2025 19:01:43-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Yuri Mangueira do Nascimento (Examinador)

Documento assinado digitalmente
gov.br
YURI MANGUEIRA DO NASCIMENTO
Data: 31/10/2025 22:32:40-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Jociano da Silva Lins (Discente)

Documento assinado digitalmente
gov.br
JOCIANO DA SILVA LINS
Data: 20/10/2025 08:37:35-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.b

AGRADECIMENTOS

A **Deus** pelo dom da vida, por sempre me dar as forças necessárias para enfrentar todos os desafios e me guiar no caminho certo, obrigado por todas as bênçãos que recebo e pelo seu amor incondicional.

Ao meu pai, **João Teotônio Lins** (*in memoriam*), pelo amor, amizade, carinho e companheirismo, por ter sido o melhor pai que eu podia ter, sempre me ensinando a seguir o caminho correto. Muito da pessoa que sou hoje devo ao senhor e sei que junto de Deus sente orgulho de mim, saudades de ti.

À minha mãe**, Luciene Angelo da Silva**, pelo amor incondicional, colocando seus filhos sempre em primeiro lugar. Por toda dedicação em buscar o melhor para nós, ÉS uma guerreira.

Aos meus irmãos, **Jociene, Jocieno, Jocileno e Jocilano,** pelo companheirismo e amizade, por todos os momentos bons e ruins que passamos juntos sempre um pensando no outro. A vida com vocês se torna mais leve e agradável.

À minha namorada **Camila**, uma pessoa incrível, que entrou em minha vida trazendo muitas alegrias, obrigado por todo amor, carinho, apoio, paciência e contribuição para que eu pudesse concluir este trabalho.

Ao meu orientador **Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho**, pela orientação, confiança e por todo o ensinamento.

Ao meu coorientador **Prof. Dr. Josean Fechine Tavares,** por todo ensinamento, confiança, contribuição e disponibilidade para a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Sobral da Silva,** por toda disponibilidade e tantos ensinamentos compartilhados, muito obrigado por tudo.

Ao Prof. Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa, por toda orientação e ensinamentos desde a minha iniciação científica. Por todo o convívio e conselhos que me passou durante esse tempo, me fazendo crescer como pessoa e profissional. Por ser como um pai e grande amigo que a vida me deu, sendo um dos melhores exemplos de pessoa e profissional para mim.

Aos técnicos e funcionários do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), **Marcelo, Evandro, Yuri, Nonato, Gil, Madalena, Júnior, Anderson e Carol,** por toda a amizade, ajuda e disponibilidade para a realização deste trabalho.

A todos os **pós-graduandos e estudantes de iniciação científica** que fazem parte do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (Equipe SFCB), **Ana Rita, Edileuza,**

Gabriela, Natan, Anauara, Emille, Ranna, Mariana, Luiz, Sátiro, Anna Rubia, Beatriz, Carlos, Eloiza, Jailson, Genil, Karol, Khylmara, Lourdes, Mirla, Rubens e Yasmin. pela ótima convivência e por toda a ajuda.

A **Thiago e Nikole,** pela amizade, pelos momentos de descontração e por sempre estarem dispostos a me ajudarem em tudo, muito obrigado!

A **Thalisson** pela amizade e por toda contribuição para que esse este trabalho fosse possível, obrigado pela disponibilidade e paciência em todas as etapas.

Ao **Laboratório de Farmacologia e Terapêutica Experimental** da Universidade Federal da Bahia pela realização do ensaio de atividade anti-inflamatória.

Ao **Laboratório de Ensaios Toxicológicos** da Universidade Federal da Paraíba pela realização do ensaio de atividade citotóxica.

A **Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba** (FAPESQ) pelo apoio financeiro.

À **Universidade Federal da Paraíba**.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado!

Jociano da Silva Lins

RESUMO

A família Apocynaceae compreende aproximadamente 5.350 espécies distribuídas em 378 gêneros, com ampla ocorrência em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, a família inclui cerca de 94 gêneros e 974 espécies, incluindo arbustos, árvores, ervas e lianas. Entre elas, encontra-se *Ruehssia caatingae*, uma planta arbustiva característica da região semiárida do Brasil, com ampla distribuição em afloramentos rochosos da Caatinga. Até a conclusão deste estudo, não havia registros de investigações fitoquímicas ou farmacológicas para essa espécie. Assim, este trabalho teve como objetivo ampliar o conhecimento químico e farmacológico da família Apocynaceae, por meio do isolamento e da caracterização de metabolitos secundários das partes aéreas (folhas e ramos) e raízes de *R. caatingae*, bem como da avaliação de suas atividades citotóxicas e anti-inflamatórias. Para a realização deste trabalho, as partes aéreas e raízes *R. caatingae* foram coletadas no município de Pocinhos-PB. As partes aéreas e raízes foram secas e trituradas separadamente e submetidos a maceração com etanol a 95% por 72 horas, sendo esse processo repetido por quatro vezes, obtendo-se os extratos etanólicos brutos (EEB). O EEB das partes aéreas (28 g) foi submetido a uma Cromatografia de Partição utilizando os solventes hexano, clorofórmio, acetato de etila e n-butanol. As fases n-butanólica e acetato de etila foram submetidas a sucessivas etapas de fracionamento utilizando Cromatografia em Sephadex LH-20, Cromatografia de Média Pressão e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), resultando no isolamento de três compostos: ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo, descrito pela primeira vez na literatura, o **(-)** - conduritol F, isolado pela primeira vez no gênero e a timidina, isolado pela primeira vez na família Apocynaceae. Os compostos isolados foram avaliados quanto ao potencial citotóxico frente às linhagens celulares U87-MG, SH-SY5Y e MDA-MB-231, não apresentando atividade citotóxica significativa. O EEB das raízes foi (31 g) submetido a um processo de partição como descrito anteriormente. A fase clorofórmica foi submetida a sucessivas etapas de fracionamento por cromatografia em Sephadex LH-20, Cromatografia em Coluna e CLAE, resultando no isolamento de dezoito novos glicosídeos pregnânicos denominados: Ruehssioside A-R. Estes compostos foram avaliados quanto ao potencial anti-inflamatório em modelos de macrófagos ativados, apresentando atividade anti-inflamatória pela inibição significativa da produção de IL-1β, IL-6 e óxido nítrico. Entre eles, Ruehssioside J destacou-se por ter a maior potência (IC_{50} = 17,5 μM). A relação da estrutura-atividade destacou a importância das substituições em C-3 e C-20, assim como a presença de um hidrogênio em C-8, como fatores determinantes para a potência e eficácia. Este trabalho amplia o conhecimento químico e farmacológico da família Apocynaceae, destacando o isolamento de novos compostos, em especial os glicosídeos pregnânicos, evidenciando a relevância da família como fonte de metabólitos estruturais únicos e biologicamente ativos.

Palavras-chave: Apocynaceae; Glicosídeos pregnânicos; Atividade anti-inflamatória; Ruehssioside A-R; ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo

ABSTRACT

The Apocynaceae family comprises approximately 5,350 species distributed across 378 genera, with widespread occurrence in tropical and subtropical regions. In Brazil, the family includes approximately 94 genera and 974 species, including shrubs, trees, herbs, and lianas. Among these is *Ruehssia caatingae*, a shrubby plant characteristic of Brazil's semiarid region, widely distributed on rocky outcrops in the Caatinga. Until the completion of this study, there were no records of phytochemical or pharmacological investigations of this species. Therefore, this study aimed to expand chemical and pharmacological knowledge of the Apocynaceae family by isolating and characterizing secondary metabolites from the aerial parts (leaves and branches) and roots of *R. caatingae*, as well as evaluating their cytotoxic and anti-inflammatory activities. For this study, the aerial parts and roots of *R. caatingae* were collected in the municipality of Pocinhos, Paraíba. The aerial parts and roots were dried and ground separately and subjected to maceration with 95% ethanol for 72 hours, this process being repeated four times, obtaining the crude ethanolic extracts (CEE). The CEE of the aerial parts (28 g) was subjected to Partition Chromatography using the solvents hexane, chloroform, ethyl acetate and n-butanol. The n-butanolic and ethyl acetate phases were subjected to successive fractionation steps using Sephadex LH-20 Chromatography, Medium Pressure Chromatography and High Performance Liquid Chromatography (HPLC), resulting in the isolation of three compounds: 3-methyl-N-pentanoic acid-*β*-D-galactofuranoside, described for the first time in the literature; (-)-conduritol F, isolated for the first time in the genus; and thymidine, isolated for the first time in the family Apocynaceae. The isolated compounds were evaluated for their cytotoxic potential against the U87-MG, SH-SY5Y, and MDA-MB-231 cell lines, showing no significant cytotoxic activity. The CEE from the roots was subjected to a partition process as previously described. The chloroform phase was subjected to successive fractionation steps by Sephadex LH-20 chromatography, column chromatography and HPLC, resulting in the isolation of eighteen new pregnane glycosides named Ruehssioside A-R. These compounds were evaluated for their anti-inflammatory potential in activated macrophage models, showing anti-inflammatory activity by significantly inhibiting the production of IL-1β, IL-6 and nitric oxide. Among them, Ruehssioside J stood out for having the highest potency (IC_{50} = 17.5 μM). The structure-activity relationship highlighted the importance of substitutions at C-3 and C-20, as well as the presence of a hydrogen at C-8, as determining factors for potency and efficacy. This work expands the chemical and pharmacological knowledge of the Apocynaceae family, highlighting the isolation of new compounds, particularly pregnane glycosides, demonstrating the family's relevance as a source of unique and biologically active structural metabolites.

Keywords: Apocynaceae; Pregnane glycosides; Anti-inflammatory activity; Ruehssioside A–R; 3-methyl-N-pentanoic acid-*β*-D-galactofuranoside.

LISTA DE ABREVIATURAS, FÓRMULAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
$CDCl_3$	Clorofórmio deuterado
CD_3OD	Metanol deuterado
$CHCl_3$	Clorofórmio
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLMP	Cromatografia líquida de média pressão
COSY	"Correlation Spectroscopy"
C_5D_5N	Piridina deuterada
d	Dupleto
DAD	Detector de arranjo de diodos
DCM	Diclorometano
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
ddl	Duplo dupleto largo
dl	Dupleto largo
DMSO-d_6	Dimetilsulfóxido deuterado
dq	Duplo quarteto
dtd	Duplo triplo dupleto
EEB	Extrato etanólico bruto
EtOH	Etanol
Hex	Hexano
HMBC	"Heteronuclear Multiple Bond Correlation"
HSQC	"Heteronuclear Single Quantum Correlation"
Hz	Hertz
H_2O	Água
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
m	Multipleto
MeOH	Metanol

MHz	Megahertz
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
Fr	Fator de retenção
RMN	Ressonância magnética nuclear
RMN ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono treze
RMN ^{1}H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RPM	Rotação por minuto
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
tl	Tripleto largo
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UV	Ultravioleta
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Deslocamento químico

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Obtenção do extrato etanólico bruto e fases das partes aéreas de *R. caatinga*e 30
Esquema 2 - Fracionamento da fase n-butanólica das partes aéreas de *R. caatingae* 32
Esquema 3 - Fracionamento da fase acetato de etila das partes aéreas de *R. caatingae*. 33
Esquema 4 - Obtenção do extrato etanólico bruto e fases das raízes de *R. caatingae* 35
Esquema 5 - Fracionamento da fase clorofórmica das raízes de *R. caatingae*.....37
Esquema 6 - Fracionamento da fração 7 das raízes de *R. caatingae*.....38

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Compostos isolados em espécies da família Apocynaceae 17
Figura 2 - Mapa de calor da distribuição geográfica da família Apocynaceae no mundo 17
Figura 3 - A) Detalhe da flor; B e C) Folhas e flores; D) Planta inteira. 20
Figura 4 - Distribuição geográfica de *R. caatingae* no Brasil, representada pelos pontos amarelos. 20
Figura 5 - Tipos de esqueletos de glicosídeos pregnânicos 22
Figura 6 - Monossacarídeos comuns em glicosídeos pregnânicos 22
Figura 7 - Estruturas químicas de compostos isolados das partes aéreas de *R. caatingae*, (1) ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo, (2) (-)-conduritol F e (3) timidina. 46
Figura 8 - Estruturas químicas de 1–18 da raiz de *R. caatingae* 93
Figura 9 - Principais correlações ^{1}H-^{13}C HMBC e ^{1}H-^{1}H COSY dos compostos 1-9 94
Figura 10 - Continuação da figura 9: Principais correlações ^{1}H-^{13}C HMBC e ^{1}H-^{1}H COSY dos compostos 10-18 95
Figura 11 - Principais correlações ^{1}H-^{1}H NOESY[a] e ^{1}H-^{1}H ROESY[b] dos compostos 1-10. 96
Figura 12 - Continuação da figura 11: Principais correlações ^{1}H-^{1}H NOESY[a] e ^{1}H-^{1}H ROESY[b] dos compostos 11-18. 97
Figura 13 - Efeito inibitório de compostos na produção de IL-1β e IL-6 por macrófagos J774.A1 estimulados. 108
Figura 14 - Efeito dos compostos 1–4, 6 e 7, 10–13 e 15–18 na viabilidade de macrófagos J774.A1. 109
Figura 15 - Efeito dos compostos 1–4, 6 e 7, 10–13 e 15–18 na produção de óxido nítrico por macrófagos J774.A1 estimulados. 110
Figura 16 - Relação estrutura-atividade de glicosídeos pregnânicos isolados 113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - ^{1}H, ^{13}C-BB e DEPT 135 RMN de 1 (400 e 100 MHz, respectivamente, em metanol-d_4). 46
Tabela 2 - Dados de RMN de ^{13}C para as porções da aglicona dos compostos 1–18 (δ em ppm, C_5D_5N)..... 98
Tabela 3 - Dados de RMN de ^{1}H para as porções aglicona dos compostos 1–6 (δ em ppm, C_5D_5N)..... 99
Tabela 4 - Dados de RMN de ^{1}H para as porções aglicona dos compostos 7–12 (δ em ppm, C_5D_5N)..... 100
Tabela 5 - Dados de RMN de ^{1}H para as porções aglicona dos compostos 13–18 (δ em ppm, C_5D_5N)..... 101
Tabela 6 - Dados de RMN de ^{13}C para as porções de açúcar dos compostos 1–18 (δ in ppm, C_5D_5N)..... 102
Tabela 7 - Dados de RMN de ^{1}H das porções de açúcar dos compostos para 1–9 (δ em ppm, C_5D_5N)..... 103
Tabela 8 - Dados de RMN de ^{1}H das porções de açúcar dos compostos para 10–18 (δ em ppm, C_5D_5N)..... 105
Tabela 9 - Citotoxicidade e efeito inibitório dos compostos de teste na produção de NO em macrófagos J774.A1 estimulados. 112

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 OBJETIVOS 15
2.1 Objetivo geral 15
2.2 Objetivos específicos 15
3 REFERENCIAL TEÓRICO 16
3.1 Considerações sobre a família Apocynaceae 16
3.2 Considerações sobre o gênero *Ruehssia* H. Karst 18
3.3 Considerações sobre a espécie *Ruehssia caatingae* (Morillo) F. Esp. Santo & Rapini .. 19
3.4 Considerações sobre os glicosídeos pregnânicos 21
3.5 Considerações sobre atividade anti-inflamatória 23
3.6 Considerações sobre atividade citotóxica 24
4 MATERIAIS E MÉTODOS 27
4.1 Materiais e equipamentos utilizados. 27
4.2 Coleta e identificação botânica. 29
4.3 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas 29
4.4 Fracionamento cromatográfico da fase n-butanólica das partes aéreas (folhas e caules). 30
4.5 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das partes aéreas (folhas e caules) 32
4.6 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das raízes 34
4.7 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica da raiz. 35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 39
5.1. Manuscrito: Novo aminoglicosídeo das partes aéreas de *Ruehssia caatingae* (Apocynaceae) (Revista Natural Product Research) 39
5.2.Manuscrito: Ruehssiosides A–R, Dezoito Novos Glicosídeos pregnânicos de *Ruehssia caatingae*: Elucidação Estrutural, Atividade Anti-inflamatória e Insights sobre REA (Revista Bioorganic Chemistry). 75
6 CONCLUSÕES 381
REFERÊNCIAS 381

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais para prevenção de doenças e recuperação da saúde é tida como uma prática que percorre milênios, tendo sua origem na China e Egito, e posteriormente, sendo propagado para o resto do mundo. O conhecimento empírico sobre as plantas medicinais esteve presente na história da humanidade, desde as mais simples até as mais elaboradas formas de uso terapêutico (Martins e Garlet, 2016; Rodrigues et al., 2020; Vieira-Filho et al., 2018). Estima-se que aproximadamente 64% da população mundial dependa da medicina tradicional para suas necessidades de saúde (Moges; Moges, 2019), o que reforça a importância de validar cientificamente esse conhecimento.

Nesse sentido, a ampla utilização de espécies vegetais como remédios em diferentes regiões do mundo, evidência a necessidade de desenvolver métodos que permitam avaliar o valor terapêutico das plantas (Soares et al., 2021). Nas últimas décadas, avanços significativos têm sido alcançados na melhoria da resolução e sensibilidade dos métodos analíticos para o estudo de pequenas moléculas em extratos naturais (Gopalaiah; Jayaseelan, 2025). Entre as principais técnicas de elucidação estrutural destacam-se a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e a Espectrometria de Massas (EM), cujas capacidades complementares permitem uma caracterização mais completa de compostos bioativos. Enquanto a EM fornece informações sobre a fórmula molecular e grupos funcionais (ex: grupos nitrila e sulfato), a RMN revela o arranjo estrutural dos átomos, distinguindo, por exemplo, compostos isobáricos e isômeros posicionais. O uso combinado de ambas se consolidou como ferramenta essencial em aéreas como descoberta de produtos naturais (Gathungu et al., 2020).

É amplamente aceito que compostos de origem natural têm maiores taxas de sucesso em ensaios clínicos, demonstrando eficácia frente a diversas condições patológicas, incluindo os processos inflamatórios (Matos, Anastácio e Nunes dos Santos, 2021). Por exemplo, em ensaios clínicos de Fase 1, cerca de 35% dos produtos naturais e compostos derivados são empregados, enquanto que em ensaios clínicos de Fase III, essa proporção é de aproximadamente 45% (Choo et al., 2025).

O Brasil se destaca no cenário mundial, por possuir a maior biodiversidade do planeta, com uma ampla variedade de biomas, e apresentando uma flora e fauna de riquezas imensuráveis (Brasil, 2019). Diversas plantas sintetizam compostos bioativos durante o metabolismo secundário, os quais apresentam uma ampla variedade de atividades biológicas no

organismo, incluindo efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes, hipoglicemiantes entre outros (Sousa et al., 2011; Rodrigues; Da Silva; Macêdo, 2017).

A Caatinga, reconhecida como um domínio fitogeográfico exclusivo do brasil, ocupa 11% do território nacional, predominando na região Nordeste entre os estados do Maranhão e Bahia. Com uma flora diversificada, as plantas dessa região são fisiologicamente adaptadas ao solo arenoso, às variações de temperatura e aos extensos períodos de seca (da Silva & Lacher, 2020). Os fatores ambientais sobre a vegetação fornecem significativa variabilidade de agentes fitoquímicos, com bioatividades já descritas, capazes de atenuar ou bloquear vias biológicas envolvidas em processos fisiopatológicos neurodegenerativos, tumorais e inflamatórios (da Silva Barbosa et al., 2020; Veras et al., 2020).

O crescimento considerável de registros científicos, além dos relatórios etnofarmacológicos sobre plantas brasileiras, indica que essa vasta riqueza vegetal ainda não foi totalmente investigada e possui um grande potencial para a descoberta de novos fármacos (Giulietti et al., 2005; Ricardo et al., 2018).

Assim, substâncias adquiridas de fontes naturais vêm sendo utilizadas nas mais diferentes áreas, para o desenvolvimento de bioprodutos tecnologicamente preparados com eficácia, qualidade e segurança comprovada. Para essa finalidade, é indispensável a realização de pesquisas multidisciplinares abrangendo áreas do conhecimento como a fitoquímica, farmacologia, toxicologia, ecologia, síntese química, biotecnologia, etc. Com a realização destas pesquisas multidisciplinares, torna-se possível a aplicação dessas substâncias ou mesmo dos extratos vegetais como medicamentos, cosméticos, fragrâncias, agroquímicos, inseticidas, etc (Bolzani, 2016; Bajaj et al., 2020).

Considerando o potencial medicinal das espécies da família Apocynaceae, o presente estudo teve como objetivo realizar a primeira investigação química e farmacológica da espécie *Ruehssia caatingae*. Portanto, com a utilização de métodos cromatográficos clássicos e instrumentais, buscou-se isolar e determinar novos produtos naturais e avaliar a citotoxicidade e a atividade anti-inflamatória das moléculas elucidadas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Contribuir com o conhecimento químico da família Apocynaceae através do isolamento, identificação e/ou determinação estrutural de metabólitos secundários e avaliar a atividade biológica dos constituintes químicos de *Ruehssia caatingae*.

2.2 Objetivos específicos

- Obter extratos e fases orgânicas das partes aéreas e raízes de *R. caatingae* para o estudo da sua composição química;
- Extrair, isolar e purificar os metabólitos secundários, utilizando técnicas extrativas com solventes orgânicos e métodos cromatográficos clássicos e instrumentais;
- Identificar/determinar os metabólitos secundários de *R. caatingae* por métodos usuais de Ressonância Magnética Nuclear de ^{1}H e ^{13}C e bidimensionais (HMBC, HSQC, COSY, TOCSY, ROESY e NOESY), infravermelho, espectrometria de massas de alta resolução e análises polarimetricas;
- Avaliar a citotoxicidade de compostos isolados das partes aéreas em células de glioblastoma (U87-MG), neuroblastoma (SH-SY5Y) e adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231);
- Avaliar o potencial anti-inflamatório de compostos isolados das raízes em células de macrófagos da linhagem J774.A1 estimulados, através da inibição da produção de óxido nítrico e de citocinas pró-inflamatórias.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Considerações sobre a família Apocynaceae

Apocynaceae é composta por cerca de 5.350 espécies e 378 gêneros, possuindo distribuição nos trópicos e subtrópicos (figura 2). As espécies que compõem a família apresentam uma ampla variedade de formas de crescimento e habitats, que incluem árvores de grande porte, arbustos, lianas e epífitas em florestas tropicais úmidas, suculentas em ambientes secos e abertos, ervas perenes em campos temperados e trepadeiras em diferentes habitats (Endress et al. 2019; Bitencourt et al. 2021). A mais recente classificação de Apocynaceae dividiu a família em cinco principais grupos. Dois são parafiléticos e, por isso, foram classificados informalmente: rauvolfioides e apocinoides (antes pertencentes às tradicionais Apocynaceae s.s.). Os outros três grupos são monofiléticos e compreendem as subfamílias Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (antiga Asclepiadaceae). Os 378 gêneros reconhecidos foram incluídos em 25 tribos e 50 subtribos (Morales et al. 2017; Fishbein et al., 2018; Endress et al., 2019; Antonelli et al., 2021).

As plantas dessa família são reconhecidas não só pelo seu valor estético, mas também pelas suas propriedades terapêuticas, sendo comumente empregadas em diversos sistemas da medicina tradicional, entre eles o chinês, indiano, unani e tailandês. As espécies da família Apocynaceae se destacam na produção de compostos bioativos, incluindo iridoides, ácidos fenólicos, alcaloides, triterpenos, esteroides, glicosídeos cardioativos e compostos pregnanos (Bhadane et al., 2018) (figura 1).

No Brasil, a família inclui cerca de 94 gêneros e 974 espécies, incluindo arbustos, árvores, ervas e lianas (Bfg, 2022). Possui importância cultural para as comunidades indígenas, sendo empregadas como alimento e por suas propriedades tóxicas na produção de venenos, pesticidas, gomas e outros produtos de alto valor (Patil et al., 2023).

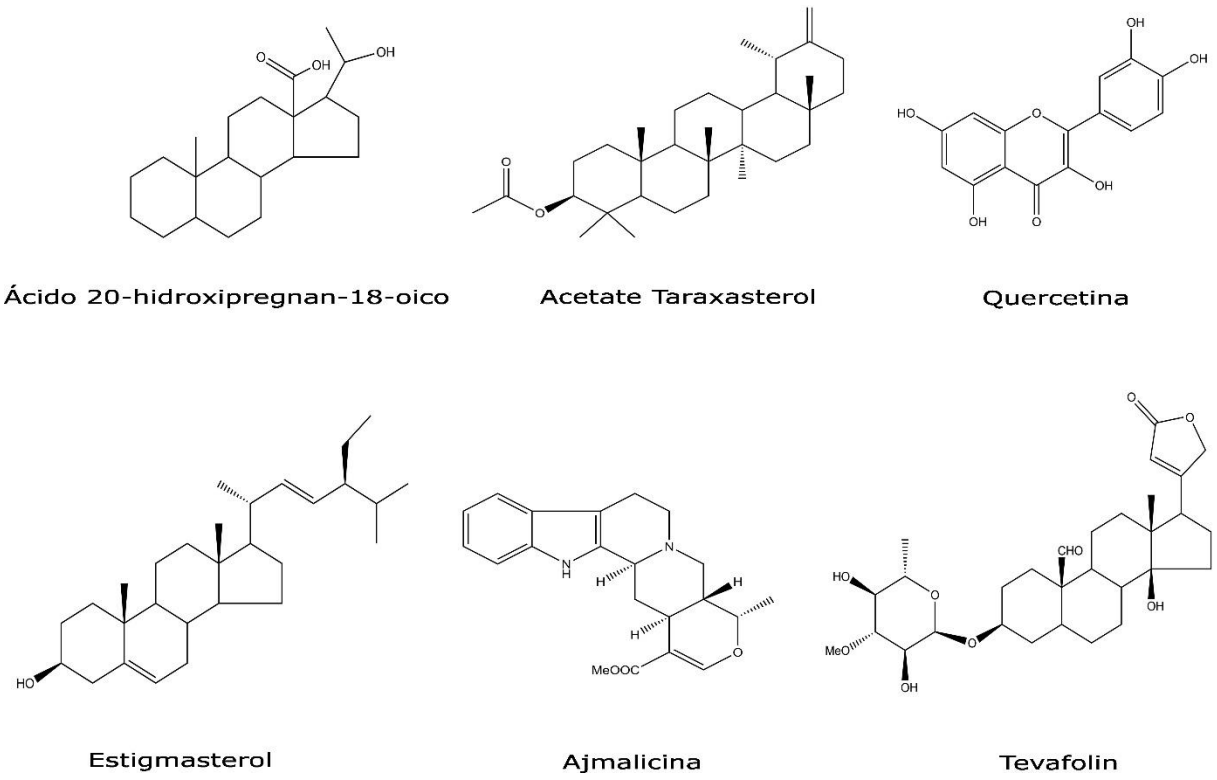


Figura 1 - Compostos isolados em espécies da família Apocynaceae

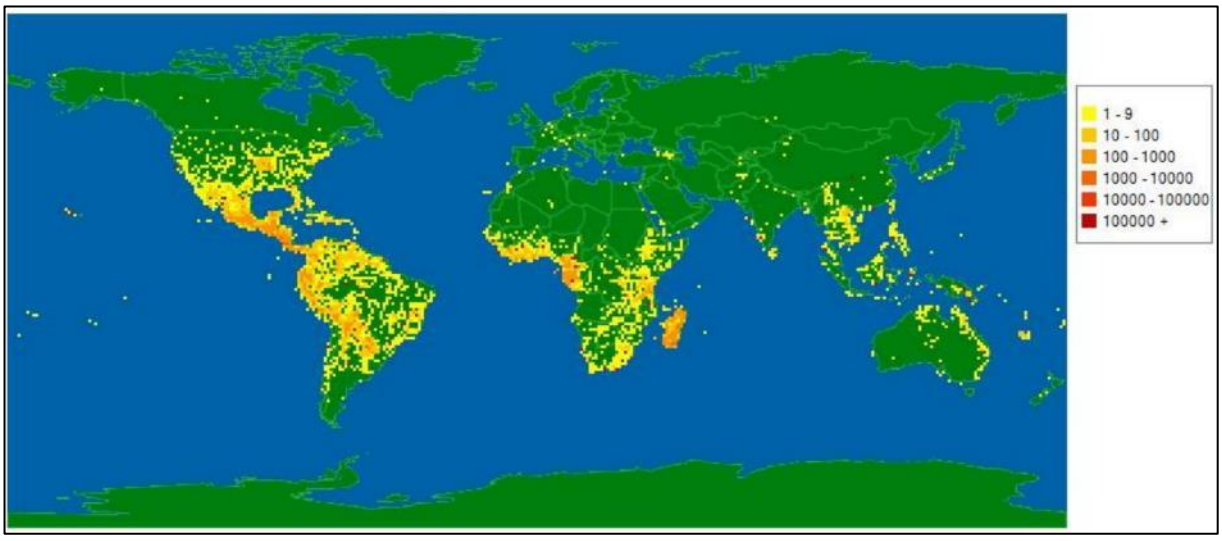


Figura 2 - Mapa de calor da distribuição geográfica da família Apocynaceae no mundo
Fonte:Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Acesso em 18/09/25
<https://www.tropicos.org/name/42000278>

A família se diferencia pela produção de látex, que contém uma variedade de fitoquímicos, incluindo alcaloides, glicosídeos, terpenoides e saponinas. Estes compostos possuem propriedades antibacterianas, anticancerígenas, antioxidantes e anti-inflamatórias, tendo uma função crucial na proteção das plantas e ampliando o potencial terapêutico de Apocynaceae na medicina tradicional e moderna (Naidoo et al., 2022).

Extratos e constituintes isolados de plantas de Apocynaceae possuem uma vasta variedade de atividades biológicas, tais como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e citotóxicas (Patil et al., 2023).

3.2 Considerações sobre o gênero *Ruehssia* H. Karst

Um estudo filogenético baseado em análises nucleares e plastidiais (Espírito Santo et al., 2019) da espécie *Marsdenia tinctoria* constatou resultados incongruentes quanto à posição filogenética desta espécie dentro da tribo Marsdenieae. Pois pelos dados nucleares sugerem uma maior proximidade com o Clado I (*Dregea, Gunnessia, Gymnema, Sarcolobus, Stephanotis, Telosma* e possivelmente *Cionura* e *Cosmostigma*), enquanto os dados plastidiais e combinados apontam afinidade com o Clado II (*Hoya* e *Dischidia*). Para manter uma classificação monofilética (isto é, que reflita ancestrais comuns reais) e não torna o gênero *Marsdenia* excessivamente amplo e pouco prático (reunindo todas as espécies dos gêneros dos clados I e II), as espécies de *Marsdenia* do continente americano foram separados em um gênero próprio. Assim, *Ruehssia* H. Karst, anteriormente identificada como sinonímia de *Marsdenia*, foi reintegrada para incluir as espécies neotropicais da Marsdenieae.

O gênero *Ruehssia* apresenta cerca de 110 espécies, com centros de diversidades no sudeste do México, noroeste da América do Sul e Nordeste do Brasil, cada um com aproximadamente 20 espécies. Presente em amplas áreas ecológicas, podendo ser encontrada em ambientes tão distintos quanto florestas úmidas, savanas e florestas com estações secas. Embora tenha uma morfologia variada, *Ruehssia* pode ser facilmente identificada entre as Asclepiadoideae neotropicais devido às suas polínias eretas, pois representa a única linhagem americana do clado Ceropegieae-Marsdenieae (Espírito Santo et al., 2019).

No Brasil, foram identificadas quarenta e quatro espécies de *Ruehssia*, a maioria delas endêmica (36 espécies) e geralmente restrita a um único domínio fitogeográfico. Há registros de doze espécies de *Ruehssia* no domínio da Caatinga, no nordeste brasileiro, das quais oito são endêmicas dessa região (Espírito Santo et al. 2019). Espécies deste gênero apresentam atividade citotóxica e anti-inflamatória (de Souza et al. 2024).

3.3 Considerações sobre a espécie *Ruehssia caatingae* (Morillo) F. Esp. Santo & Rapini

Reino: Plantae
Phylum: Thacheophyta
Classe: Magnolipsida
Ordem: Gentinales
Família: Apocynaceae
Subfamília: Asclepiadoideae
Gênero: *Ruehssia*

Ruehssia caatingae é uma planta arbustiva amplamente distribuída na região semiárida do Brasil, sendo encontrada em diversos afloramentos rochosos em toda a área da Caatinga (Espírito Santo et al. 2019) (figuras 3 e 4). Esta espécie é caracterizada por folhas pecioladas, inflorescências umbeliformes e corola tubular a levemente urceolada, com lobos recurvados e coroa corolinea de cincos lóbulos carnosos. Apresenta grande variação morfólogica e afinidade com *R. loniceroides*, diferenciando-se desta principalmente pelos lobos recurvados da corola e pela presença de lobos carnosos na coroa, caracteres consistentes com sua distribuição geográfica e posição filogenética. Também se assemelha a *R. otoniensis*, da qual se distingue pelo tamanho e forma da corola (lobos maiores e recurvados, tubo mais longo) e pela morfologia dos lobos da coroa (ovaladas a triangular-ovaladas).

A partir das buscas realizadas na literatura, até a finalização desta pesquisa, não havia nenhuma investigação fitoquímica ou farmacológica relativa a essa espécie.

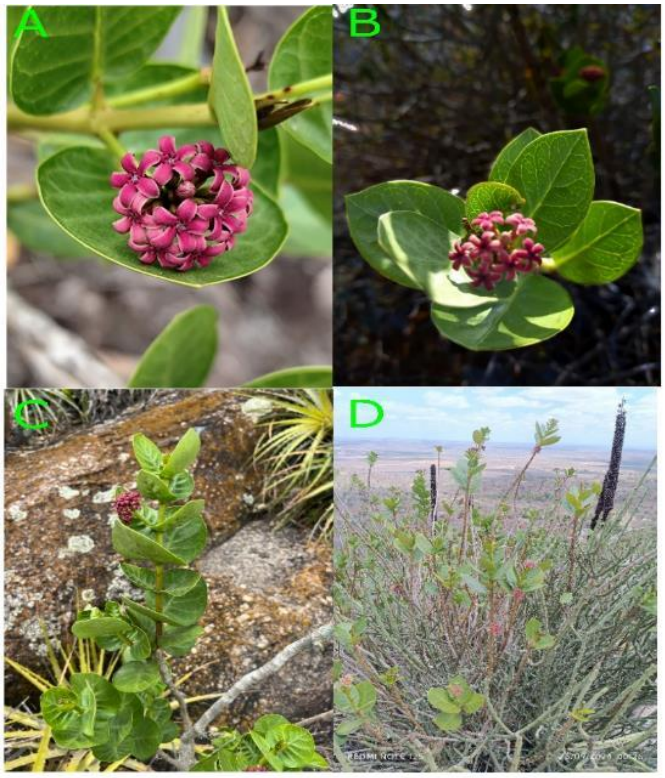


Figura 3 - A) Detalhe da flor; B e C) Folhas e flores; D) Planta inteira.
Fonte: https://www.gbif.org/occurrence/gallery?taxon_key=10754885. Acesso em 18/09/25.

Figura 4 - Distribuição geográfica de *R. caatingae* no Brasil, representada pelos pontos amarelos.
Fonte: https://www.gbif.org/occurrence/map?taxon_key=10754885. Acesso em 18/09/25.

3.4 Considerações sobre os glicosídeos pregnânicos

Glicosídeos pregnânicos são compostos presentes em plantas que têm recebido bastante atenção por suas diversas propriedades farmacológicas. Esses compostos demonstraram ter efeitos benéficos para a saúde humana, como propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas (Griffiths, Keith et al., 2016).

Esta classe de compostos é anfifílica e formada por uma unidade lipofílica composta pelo núcleo esteroide pregnano C21 que consiste em um esqueleto denominado ciclopentanoperidrofenantreno (C17) com adição de substituintes metil orientados beta em C-10 e C-13 e um grupo etil ligado em C-17 e, por uma unidade lipofóbica que consiste em unidades de açúcar de cadeia, variando de uma a seis unidades ligadas principalmente em C-3 da aglicona ou em C-20 por ligação éter, sendo amplamente distribuídos no reino vegetal, principalmente na subfamília Asclepiadoideae (família Apocynaceae) (Gupta et al. 2015; Srisurichan et al. 2014).

As saponinas esteroides podem ser do tipo monodesmosídico, quando uma unidade ou cadeia de açúcar está ligada em C-3 ou C-20, ou do tipo bidesmosídico quando está ligada a ambos. Com base nos diferentes tipos de substituintes e no grau de funcionalização oxidativa nos anéis, os glicosídeos pregnânicos monodesmosídicos podem ser divididos em: glicosídeos polioxipregnanos, glicosídeos poli-hidroxipregnanos, glicosídeos epóxi-polioxipregnanos e glicosídeos pregnânicos 17-furanos secos e dissecos, de acordo com os tipos de conexão em C-17 (Xiao-jie Gu, Da-cheng Hao 2016; Si et al. 2022) (Figuras 5 e 6).

Os glicosídeos polioxipregnanos normalmente têm dois substituintes contendo oxigênio no anel C e geralmente têm funções oxigenadas em C-11, C-12 e C-20. Os glicosídeos poli-hidroxipregnanos têm três ou mais grupos hidroxila, onde as posições mais frequentes são em C-8, C-11, C-12, C-14, C-15, C-17 e C-20. Os glicosídeos epóxi-polioxipregnanos têm um grupo epóxi. Os glicosídeos 17-furânicos do tipo pregnano podem ser divididos em tipos secos e dissecados, de acordo com os mais variados tipos de ligações em C-17 (Xiao-jie Gu, Da-cheng Hao 2016; Si et al. 2022).

No tipo seco, eles são divididos em glicosídeos 8,14-seco-pregnano, glicosídeos 14,15-seco-pregnano e glicosídeos 12,13-seco-14,18-nor-pregnano. As características estruturais dos glicosídeos 8,14-seco-pregnano são a presença de duas carbonilas nas posições C-8 e C-14. Os glicosídeos do tipo 14,15-seco-pregnano apresentam um grupo butenolídeo em C-13 na aglicona, sendo também comum a presença de uma carbonila em C-14 (Xiao-jie Gu, Da-cheng Hao 2016; Si et al. 2022).

O tipo 12,13-seco-14,18-nor-pregnano é uma classe rara com apenas um representante, o Cinanosídeo S, um derivado da Cinanigenina D, formado por uma clivagem oxidativa na ligação entre C-8 e C-14 do anel C, promovendo a abertura deste anel (Xiao-jie Gu, Da-cheng Hao 2016; Si et al. 2022). No tipo disseco, são encontrados glicosídeos esteroides do tipo 13,14:14,15-disseco pregnano, que são formados pela abertura dos anéis C/D e subsequentes reações de oxidação. Os glicosídeos pregnânicos bidesmosídicos possuem uma cadeia oligossacarídica em C-3 e C-20 na aglicona, que consiste dê um a seis unidades de açúcar (Si et al. 2022).

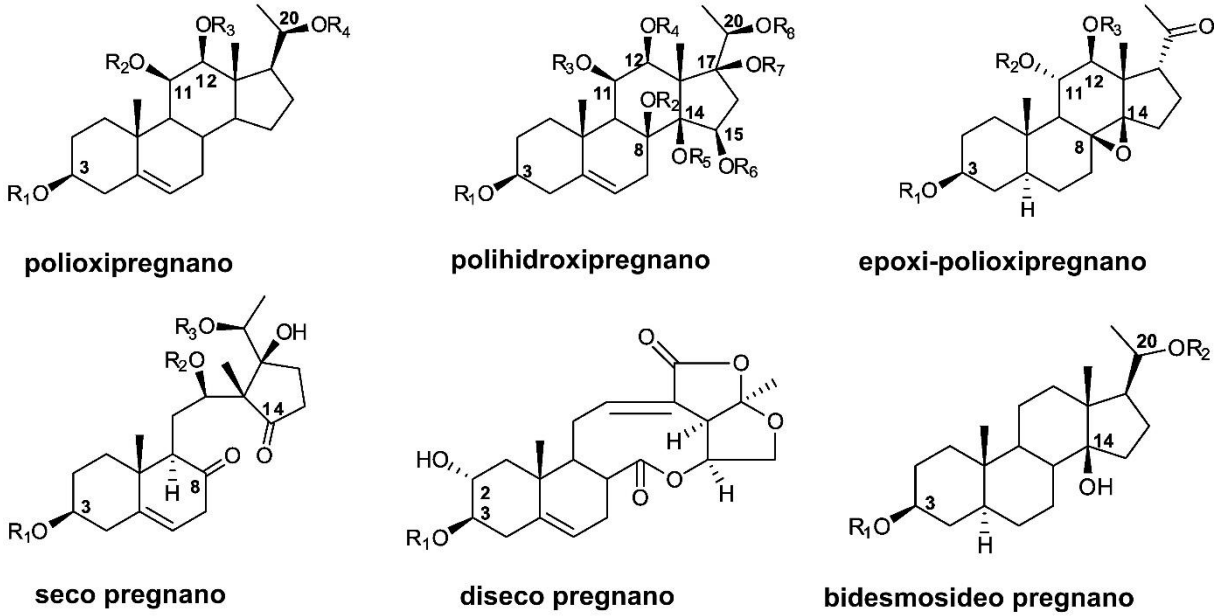


Figura 5 - Tipos de esqueletos de glicosídeos pregnânicos

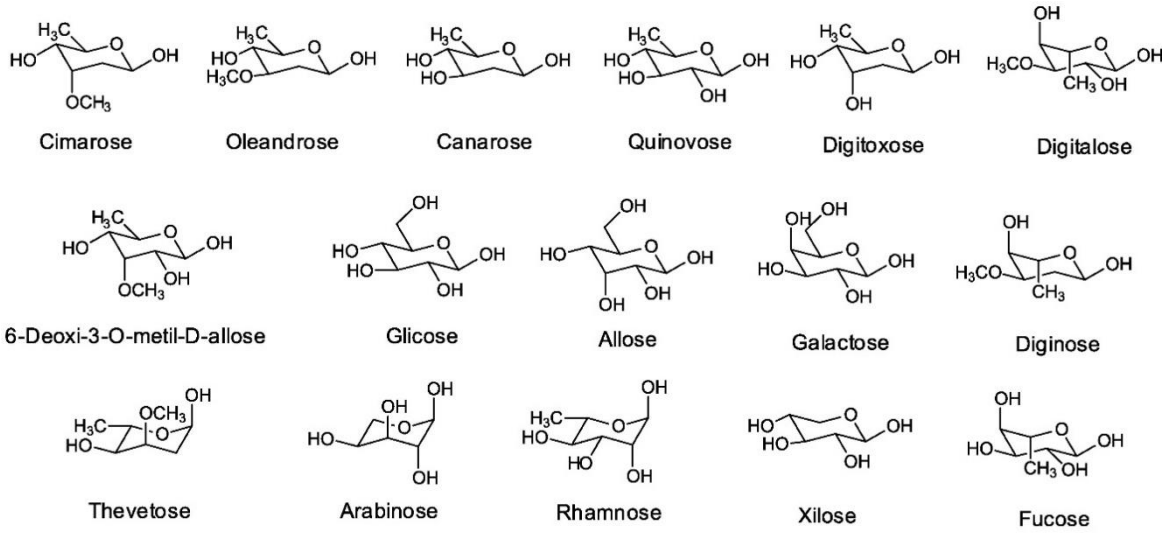


Figura 6 - Monossacarídeos comuns em glicosídeos pregnânicos

3.5 Considerações sobre atividade anti-inflamatória

A inflamação é um processo fisiológico mediado pelo sistema imunológico em resposta a patógenos e/ou danos a órgãos e tecidos. Esse processo envolve uma série de etapas estritamente reguladas, incluindo sinais para iniciar, permanecer e encerrar a ação inflamatória (Albano et al., 2024). Porém, respostas inflamatórias intensas ou persistentemente de baixo grau colaboram e/ou contribuem para o desenvolvimento e o avanço de inúmeras doenças, incluindo artrite reumatoide, asma, doenças inflamatórias intestinais crônicas, doenças renais crônicas, distúrbios neurodegenerativos e câncer (Al-Awadhi et al., 2024; Kadatane et al., 2023; Kim et al., 2020; Kouba et al., 2024; Shi et al., 2024; Xu et al., 2024).

Embora exista vários anti-inflamatórios em uso clínico, como anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), glicocorticoides e agentes imunossupressores, a descoberta de novas substâncias anti-inflamatórias, de baixa toxicidade, continua sendo uma demanda atual devido aos efeitos colaterais relacionados à sua administração a longo prazo (Biji, Balde e Nazeer, 2024). Nos últimos anos, a busca por novos medicamentos para inflamação com eficácia terapêutica extensa e toxicidade reduzida resultou em diferentes entidades químicas (Aziz et al., 2025).

As plantas medicinais e seus metabólitos são frequentemente empregados para promover a saúde. É amplamente aceito que compostos de origem natural têm maiores taxas de sucesso em ensaios clínicos, demonstrando eficácia frente a diversas condições patológicas, incluindo os processos inflamatórios (Matos, Anastácio e Nunes dos Santos, 2021). Por exemplo, em ensaios clínicos de Fase 1, cerca de 35% dos produtos naturais e compostos derivados são empregados, enquanto que em ensaios clínicos de Fase III, essa proporção é de aproximadamente 45% (Choo et al., 2025).

Alguns casos de sucesso terapêutico de fármacos oriundos de produtos naturais são descritos na literatura, a aspirina, um dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) mais comumente usados, é derivada da salicina, um composto ativo encontrado na casca do salgueiro (Lei et al., 2015).

Atualmente, um número crescente de estudos revelou que a berberina, um alcaloide derivado da isoquinolina isolado de diferentes espécies vegetais, como *Cortex phellodendron* (Huang bai), *Hydrastis canadensis* (hidraste) e *Rhizoma coptidis* (Huanglian) (Kuo et al., 2004), possui uma extensa variade de funções biológicas, incluindo efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (Li, Z. et al., 2014), anticancerígenos (Sun et al., 2009) e anti-hiperglicêmicos (Mahmoud et al., 2017). Estudos indicaram que a berberina reduz a liberação de mediadores

inflamatórios, tais como TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-8 (Lou et al., 2011; Zhang et al., 2016).

A colchicina, um alcaloide natural da família Liliaceae (Bhat, S. V., Nagasampagi, B. A. & Sivakumar, M., 2005) é um composto bioativo bastante conhecido, com propriedades antimitóticas e anti-inflamatórias. A colchicina impede a polimerização dos microtúbulos, uma ação antimitótica que foi totalmente elucidada em 2004 (Roubille, F., Kritikou, E., Busseuil, D., Barrère-Lemaire, S. & Tardif, J. C, 2013). Esta substância, por seu efeito anti-inflamatório, é eficaz como medicamento durante episódios de gota. A sua principal atividade é inibir citocinas pró-inflamatórias e do infamassomo (componentes fundamentais nas vias de sinalização da inflamação).

Há uma variedade de outros produtos naturais com propriedades anti-inflamatórias, com destaque para os extratos vegetais da família Apocynaceae conhecidas por sua composição rica em saponinas, principalmente do núcleo pregnano, que apresentam atividade anti-inflamatória.

Nesse contexto, a Medicina Tradicional Chinesa emprega diversas plantas ricas em pregnanos, tais como espécies dos gêneros *Cinanchum* e *Marsdenia*. A principal aplicação etnomédica do *C. atratum* é no tratamento de infecções urinárias, incluindo nefrite, disenteria, hepatite, entre outras. Atualmente, esta espécie é avaliada como um provável medicamento anti-inflamatório, e por isso tem sido extensivamente empregado no tratamento de múltiplas doenças inflamatórias. Pesquisas adicionais sobre essa espécie revelaram que o Cinatrasídeo C possui propriedades anti-inflamatórias ao impedir a ativação das vias de sinalização de NF-B e MAPKs (Hu et al., 2018; Jeon *et al.*, 2011). O composto Tenacissoside H, isolado do caule de *Marsdenia tenacissimae* apresentou significativa atividade anti-inflamatória em um modelo de dano cerebral causado por isquemia/reperfusão em ratos. Esta ação é evidenciada pela diminuição de mediadores pró-inflamatórios e elevação de mediadores anti-inflamatórios (Zhang et al., 2021).

Tendo em vista a toxicidade e efeitos colaterais de medicamentos anti-inflamatórios utilizados na terapêutica e a necessidade de melhor adesão ao tratamento de doenças inflamatórias, é viável conduzir pesquisas que procurem explorar o potencial dos compostos da família Apocynaceae como fonte de novos agentes anti-inflamatórios.

3.6 Considerações sobre atividade citotóxica

O câncer é uma condição caracterizada pelo crescimento descontrolado e excessivo de células anormais no organismo humano. Essas células anormais são capazes de se multiplicar

e invadir qualquer parte do corpo (Brown et al., 2023). O câncer é considerado a segunda maior causa de morte em todo o mundo, permanecendo atrás apenas de acidente vascular cerebral e da doença cardíaca (Sun e Bhaskar, 2022). As projeções da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (AIPC) estimam que até 2040 haverá 30,2 milhões de novos casos de câncer no mundo, causando 16,3 milhões de mortes. Essas previsões dificultam a realização do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 3 (ODS3), que pretende garantir vidas saudáveis e promover o bem-estar para todas as pessoas em todas as idades (Wang, Mengting et al., 2024).

As opções clínicas atuais para o tratamento do câncer incluem medicamentos de pequenas moléculas, imunoterapias, cirurgias, quimioterapias e radioterapias, empregadas isoladamente ou em combinação (Lou et al., 2019). Contudo, essas terapias convencionais estão ligadas á toxicidade e resistência indesejáveis, tornando-se, assim, ineficazes para a erradicação completa dos tumores. Portanto, é urgente a busca por novos fármacos anticâncer para superar as limitações das terapias convencionais e, assim, oferecer opções terapêuticas mais eficazes (Bousbaa, H. 2021).

Nesse contexto, compostos naturais são vistos como uma fonte inesgotável de modelos para identificar novos agentes quimioterápicos ativos, além de fornecerem a base para a descoberta de novas estruturas que podem ser aprovadas como agentes terapêuticos para diversas doenças humanas (Dehelean, et al., 2021).

A revisão mais recente de Newman e Cragg, 2019, explica em detalhes o papel dos compostos naturais como fármacos ou como base para o desenvolvimento de novos medicamentos. Conforme seus dados, dos 1881 novos fármacos aprovados (antibacterianos, antifúngicos, antivirais, antitumorais, etc.) nas últimas quatro décadas, 929 são de origem natural e pertencem à classe das macromoléculas biológicas, produtos naturais inalterados ou derivados de produtos naturais. Os demais 952 fármacos são considerados sintéticos ou imitam produtos naturais (Newman e Cragg, 2020).

A literatura menciona alguns casos de sucesso terapêutico de medicamentos provenientes de produtos naturais, sendo o paclitaxel um dos fármacos anticâncer mais bem-sucedidos dos últimos 50 anos. O paclitaxel foi isolado e purificado pela primeira vez da casca de *Taxus brevifolia* e sua ação se dá por meio da inibição da proliferação de células cancerígenas, estabilizando os microtúbulos, principalmente em células de melanoma e de câncer de ovário (Perez-Matas, et al. 2022; Schiff, Fant., Horwitz, 1979). Os alcaloides vinblastina e vincristina, encontrados no caule e nas folhas da espécie *Catharanthus roseus,* tem a capacidade de inibir o crescimento de tumores em humanos (Mishra & Verma, 2017).

Os produtos naturais constituem uma rica fonte de moléculas bioativas com

propriedades antitumorais e elevado potencial para uso clínico. Os progressos já feitos, associados com o sucesso na terapêutica, destacam sua importância tanto como agentes farmacológicos, quanto como modelos estruturais para o desenvolvimento de novos medicamentos. Assim, a exploração contínua desse potencial é fundamental para o avanço no tratamento do câncer, contribuindo para a descoberta de terapias mais eficientes e na melhoria da qualidade de vida dos pacientes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais e equipamentos utilizados.

A cromatografia líquida de média pressão (CLMP) foi realizada utilizando um cromatógrafo BUCHI® com um sistema de bomba e injetor de solventes e como fase estacionária utilizou-se sílica gel (Sílicaflash® F60 SiliCycle®, 40-63 μm, 230-400 mesh) e como eluentes foram utilizados os solventes orgânicos, hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. O fluxo utilizado em todas as análises foi de 13 mL/min.

As cromatografias em coluna (CC) foram realizadas utilizando como fases estacionárias sílica gel com partículas de 0,063-0,200 mm de diâmetro e Sephadex LH-20 da Merck® como eluentes foram utilizados os solventes orgânicos, Hex, AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. O comprimento e as dimensões das colunas de vidro variaram de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada.

As cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas utilizando placas cromatográficas da Merck® contendo sílica gel 70 com indicador de fluorescência F_{254}, diâmetro de 20 x 20 cm e espessura de 0,25 mm e como eluentes foram utilizados os solventes orgânicos, Hex, clorofórmio ($CHCl_3$), AcOEt e MeOH, puros ou em misturas binárias em ordem crescente de polaridade. As substâncias foram reveladas através da exposição à luz ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e em câmara saturada com vapores de iodo.

Para as análises em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em escala analítica foi utilizado um equipamento da Shimadzu (Prominence®), equipado com módulo de bombeamento de solvente binário LC-20AT, autoinjetor SIL-20A, um sistema de desgaseificação DGU-20A5 e detector de arranjo de diodo (DAD) SPD-M20A. Foram utilizadas colunas de fase reversa C-18 da marca YMC-Actus Triart (250 mm x 20,0 mm de diâmetro interno preenchida com partículas de 5 μm)® conectada a uma pré-coluna C-18 (4 mm x 4.6 mm d. i. preenchido com partículas 5 μm). A fase móvel utilizada foi composta por água ultra-pura obtida por sistema de purificação Milli-Q Millipore® com ácido fórmico (0,1 %) e metanol grau CLAE (Tedia®, Brasil). O fluxo empregado para a fase móvel foi de 0,6 mL/min com um volume de injeção de 20 μL.

Para as análises em CLAE em escala preparativa foi utilizado um equipamento da Shimadzu (Prominence®), composto por controlador de sistema SLC 10A vp, duas bombas LC-

6AD, injetor manual e detector DAD SPD-M10A. Foram utilizadas colunas de fase reversa C-18 da marca YMC-Actus Triart® (250 mm x 21.2 mm d. i. preenchido com partículas 5 μm). A fase móvel utilizada foi composta por água Milli-Q Millipore® com ácido fórmico (0,1 %) e metanol grau CLAE (Tedia®, Brasil). O fluxo empregado para a fase móvel foi de 8,0 mL/min com um volume de injeção de 100 e 200 μL.

Os espectros de RMN foram registrados em um espectrômetro da BRUKER Ascend, operando a 400 MHz para hidrogênio (RMN de ^{1}H) e 100 MHz para carbono-13 (RMN de ^{13}C). As amostras a serem analisadas foram preparadas dissolvendo-as em solventes deuterados. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (*J*) em Hz. As multiplicidades da RMN ^{1}H foram indicadas segundo a convenção: *s* (simpleto), *sl* (simpleto largo), *d* (dupleto), *d* (dupleto largo), *dd* (duplo dupleto), *ddd* (duplo duplo dupleto), *t* (tripleto), *tl* (tripleto largo), *q* (quarteto) e *m* (multipleto).

Um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) Shimadzu (Kyoto, Japão) acoplado a um espectrômetro de massas micrOTOF II (Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA) foi utilizado para análises de espectrometria de massas por ionização por eletrospray de alta resolução (AR-IES-EM). Os parâmetros de análise foram os seguintes: capilar de 4,5 kV, IES em modo positivo e negativo, offset final da placa de 500 V, nebulizador de 40 psi, gás seco (N_2) com vazão de 8 mL/min e temperatura de 200 °C. Os espectros de massas (m/z 50-1000 e 100 a 3000)) foram registrados a cada 2 s.

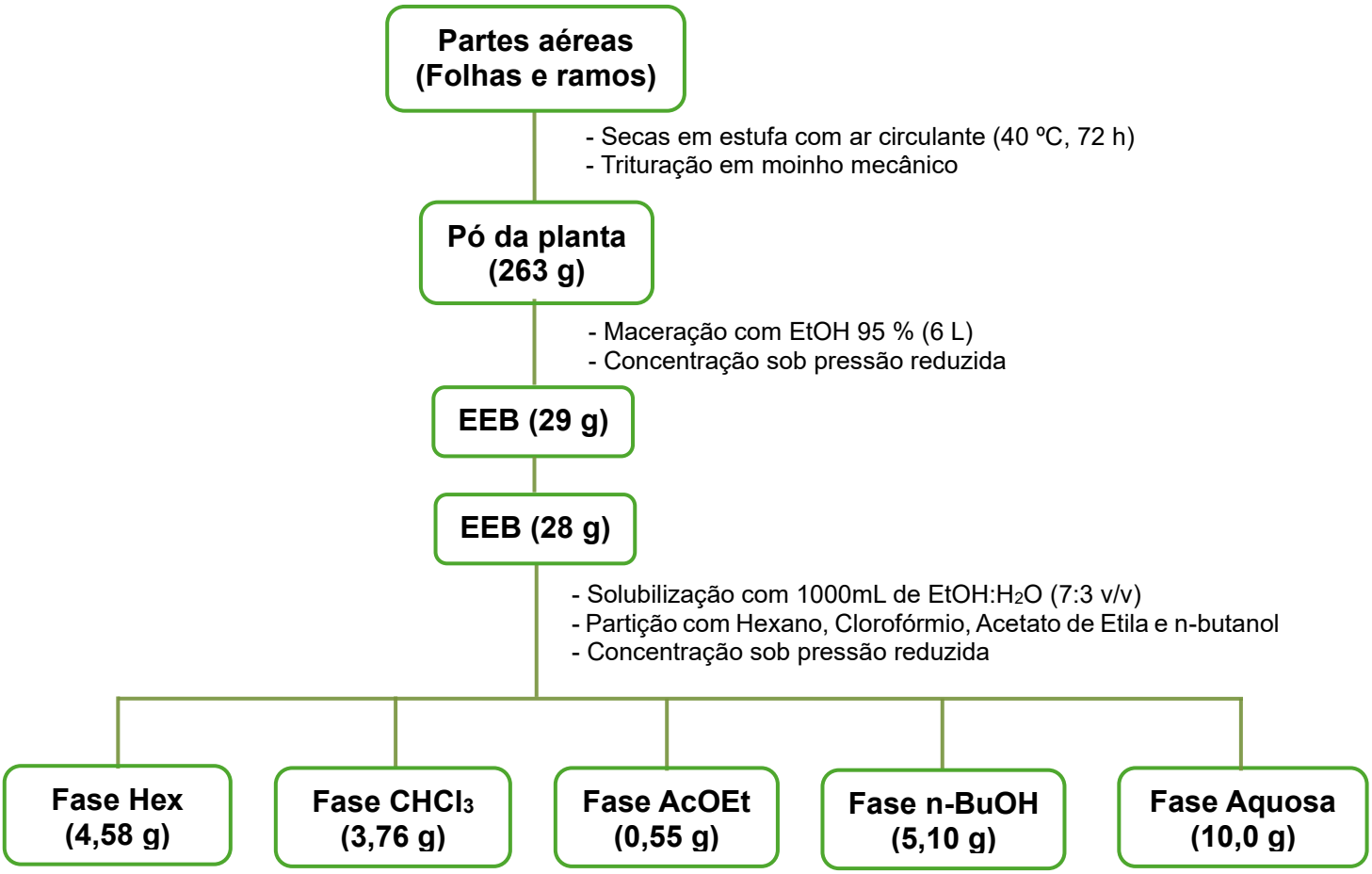
As rotações específicas das substâncias foram realizadas no polarímetro modelo Polarimeter, série P-200, da JASCO. Os espectros na região do infravermelho (4000 a 400 cm^{-1}), foram obtidos utilizando um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (Shimadzu IRSpirit-T) usando o acessório QATR-S, com frequência medida em cm^{-1}, utilizando-se 1 mg de cada amostra.

4.2 Coleta e identificação botânica.

As raízes e partes áreas de *Ruehssia caatingae* foram coletadas no município de Pocinhos, estado da Paraíba. Em seguida, foi identificada pelo Prof. Dr. José Iranildo Miranda de Melo, sendo a exsicata depositada no Herbário Manuel de Arruda Câmara instalado na Universidade Estadual da Paraíba, sob o código de registro HACAM 662. O estudo está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número A5B0BFC.

4.3 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das partes aéreas

O material vegetal (folhas e caules) foi desidratado em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 72 horas, e em seguida triturado em moinho mecânico, obtendo-se 263 g de pó seco. O pó obtido, foi submetido à maceração com seis litros de etanol a 95 % em um recipiente de aço inoxidável. Foram feitos três processos de extração num intervalo de 72 horas entre elas. As soluções extrativas obtidas foram filtradas, fazendo-se, em seguida, a evaporação do solvente com o auxílio de um rotaevaporador a uma temperatura média de 40 ºC. Após esse processo de evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB), que pesou 29 g (Esquema 1). Foram utilizados 28 g do EEB, este foi dissolvido numa mistura de etanol:água (7:3 v/v) e homogeneizado, obtendo-se uma solução hidroalcóolica. Esta solução foi submetida a um processo de partição em ampola de separação, utilizando os solventes hexano (500 mL), clorofórmio (300 mL), acetato de etila (500 mL) e n-butanol (650 mL). As respectivas fases foram tratadas com sulfato de sódio anidro para remoção do excesso de água, posteriormente foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40 ºC. Fornecendo as fases, hexânica (4,58 g), clorofórmica (3,76 g), acetato de etila (0,55 g), n-butanólica (5,10 g) e aquosa (10 g) (Esquema 1).



Esquema 1 – Obtenção do extrato etanólico bruto e fases das partes aéreas de *R. caatingae*

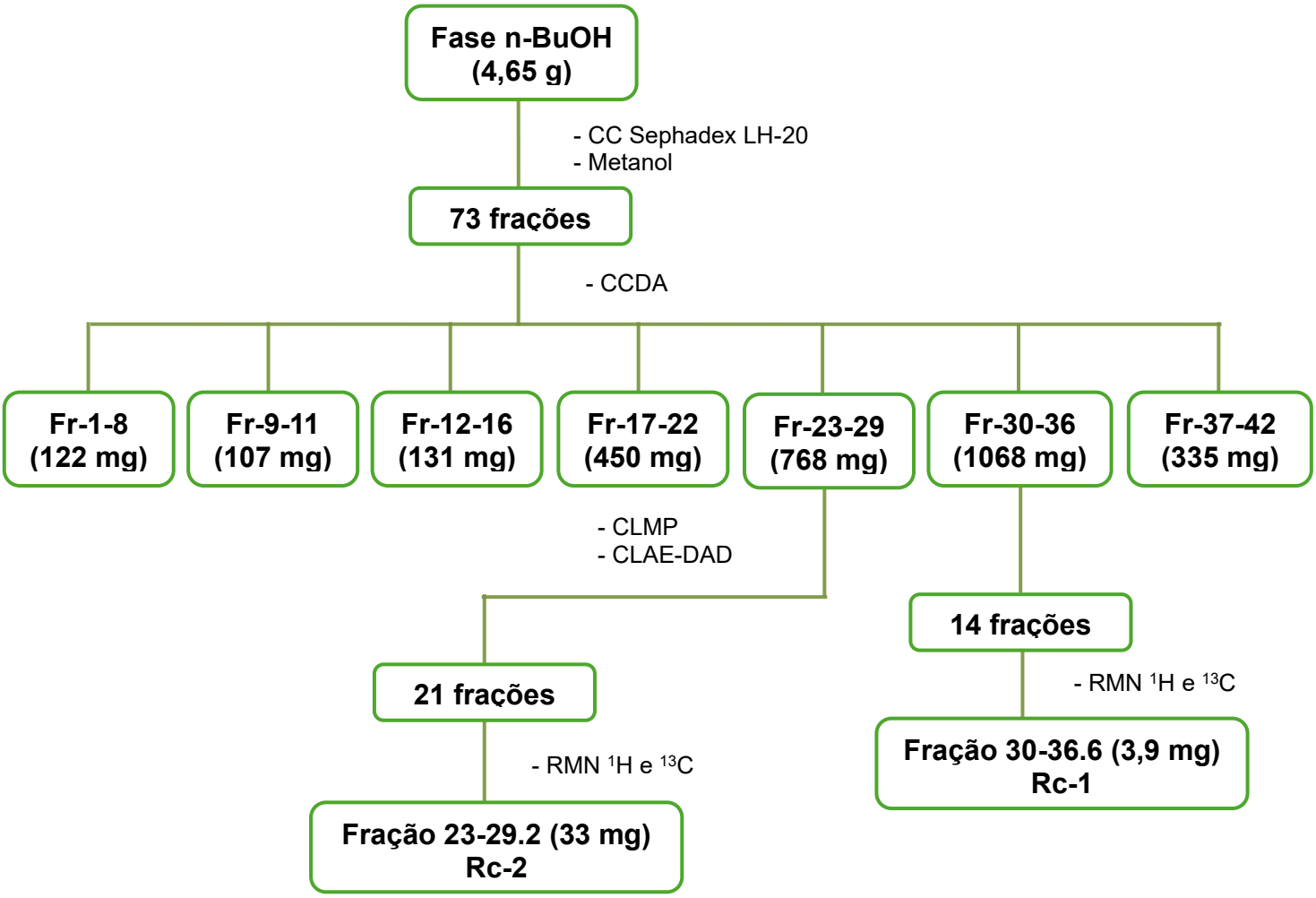
4.4 Fracionamento cromatográfico da fase n-butanólica das partes aéreas (folhas e caules).

A fase n-butanólica (4,65 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna, utilizando como fase estacionária Sephadex LH-20 e como fase móvel metanol puro, obtendo-se assim um total de 73 frações com um volume de coleta de 40 mL cada. Essas frações foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus Fr., após visualização na luz ultravioleta e revelação em câmara saturada com vapores de iodo. As frações foram reunidas em grupos: 1 a 8 (122 mg); 9 e 11 (107 mg); 12 e 16 (131 mg); 17 a 22 (450 mg); 23 a 29 (768 mg); 30 a 36 (1068 mg); 37 a 42 (335 mg); 43 a 46 (71 mg); 47 a 53 (52 mg); 54 a 63 (115 mg); 64 a 73 (26 mg).

A fração 30 a 36 (1068 mg) foi submetida a uma cromatografia líquida de média pressão (CLMP), utilizando como fase estacionária C-18 e como fase móvel metanol: H_2O acidificada (0,1 % ác. fórmico). O fluxo foi de 15 mL/min e sua detecção por UV-VIS em 205, 220, 254 e 280 nm com volume de injeção de 5 mL, onde foi desenvolvido um método que consistiu em 17 a 100 % de MeOH por 120 min, obtendo-se 6 frações. A fração 1 (635 mg) foi submetida

a análise de CLAE analítico utilizando como fase móvel ACN:H_2O (acidificada com 0,1% de ácido fórmico) e como fase estacionária C-18, com fluxo de 0,6 mL/min e volume de injeção de 20 µL, onde foi desenvolvido um método que consistiu em 5 a 100 % de ACN por 90 min; 100 % de ACN por 20 min; 100 a 5 % de ACN por 5 min e 5 % de ACN por 20 min. O método foi transposto para a escala preparativa, sendo a massa da amostra de 635 mg com um fluxo de 8 mL/min e volume de injeção de 200 µL. Foi obtido 14 frações, onde estas foram analisadas por RMN de ^{1}H e ^{13}C. Após essas análises, a fração 6 (Tr = 16 min; 3,9 mg) foi codificada como Rc-1 (Esquema 2).

A fração 23 a 29 (772 mg) foi submetida a uma cromatografia líquida de média pressão (CLMP), utilizando como fase estacionária C-18 e como fase móvel metanol:água acidificada (0,1 % ácido fórmico). O fluxo foi de 15 mL/min em comprimentos de onda de 205, 220, 254 e 280 nm com volume de injeção de 5 mL, onde foi desenvolvido um método que consistiu em 23 a 100 % de MeOH por 115 min, obtendo-se 6 frações. A fração 1 (365 mg) foi submetida a análise de CLAE analítico utilizando como fase móvel acetonitrila (ACN):água (acidificada com 0,1% de ácido fórmico) e como fase estacionária C-18, com fluxo de 0,6 mL/min e volume de injeção de 20 µL, onde foi desenvolvido um método que consistiu em 5 a 100 % de ACN por 90 min; 100 % de ACN por 20 min; 100 a 5 % de ACN por 5 min e 5 % de ACN por 20 min. O método foi transposto para a escala preparativa, sendo a massa da amostra de 635 mg com um fluxo de 8 mL/min e volume de injeção de 200 µL. Foi obtido 21 frações, onde estas foram analisadas por RMN de ^{1}H e ^{13}C. Após essas análises, a fração 2 (Tr = 40 min; 33,0 mg) foi codificada como Rc-2 (Esquema 2).



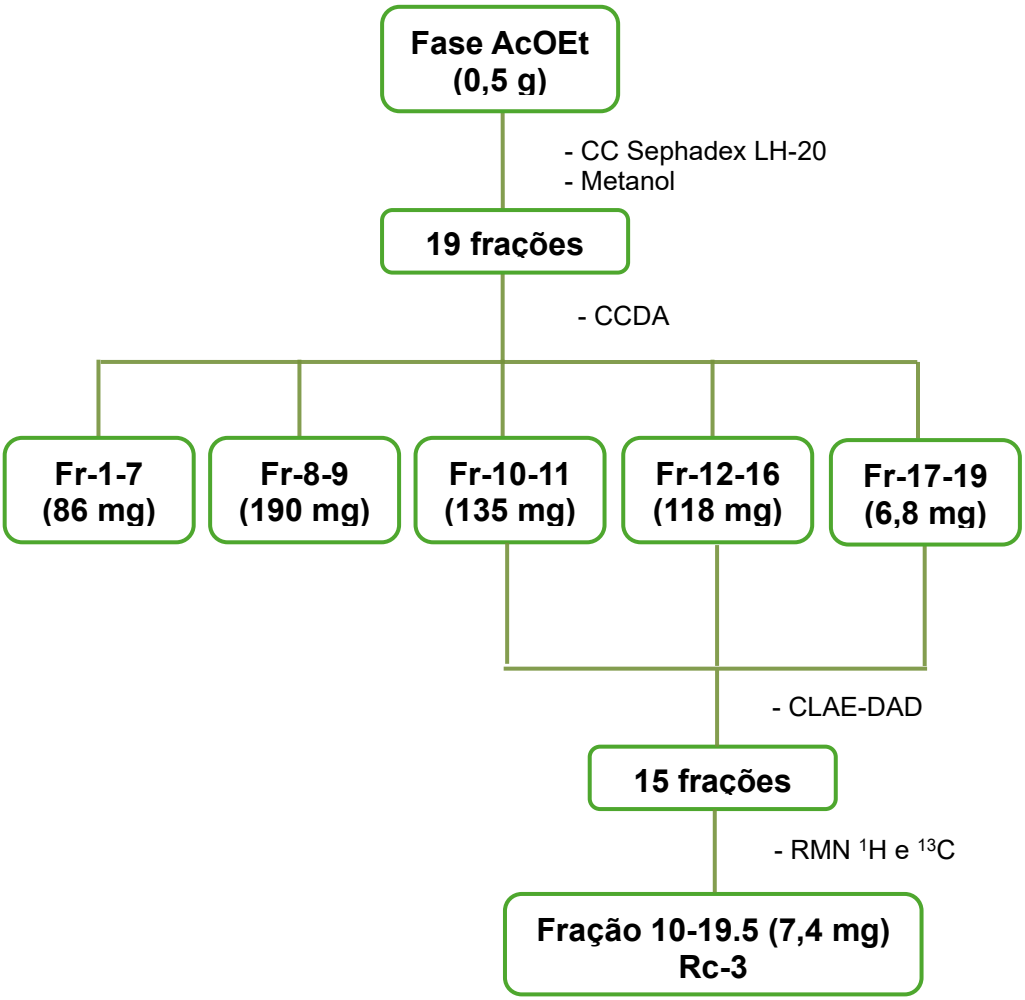
Esquema 2 - Fracionamento da fase n-butanólica das partes aéreas de *R. caatingae*

4.5 Fracionamento cromatográfico da fase acetato de etila das partes aéreas (folhas e caules)

A fase acetato de etila (0,5 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna, utilizando como fase estacionária Sephadex LH-20 e como fase móvel metanol puro, obtendo-se assim um total de 19 frações com um volume de coleta de 100 mL cada. Essas frações foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus Fr., após visualização na luz ultravioleta e revelação em câmara saturada com vapores de iodo. As frações foram reunidas em grupos: 1 a 7 (86,5 mg); 8 e 9 (190 mg), 10 e 11 (135 mg), 12 a 16 (118 mg), 17 a 19 (6,8 mg). Após análises de Ressonância Magnética Nuclear de ^{1}H (RMN ^{1}H) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplado a um detector de Arranjo de Diodo (CLAE-DAD), as frações foram reunidas em: 1 a 9 (275 mg); 10 e 19 (260 mg).

A fração 10 a 19 foi submetida a análise de CLAE analítico utilizando como fase móvel metanol:água (acidificada com 0,1% de ácido fórmico) e como fase estacionária C-

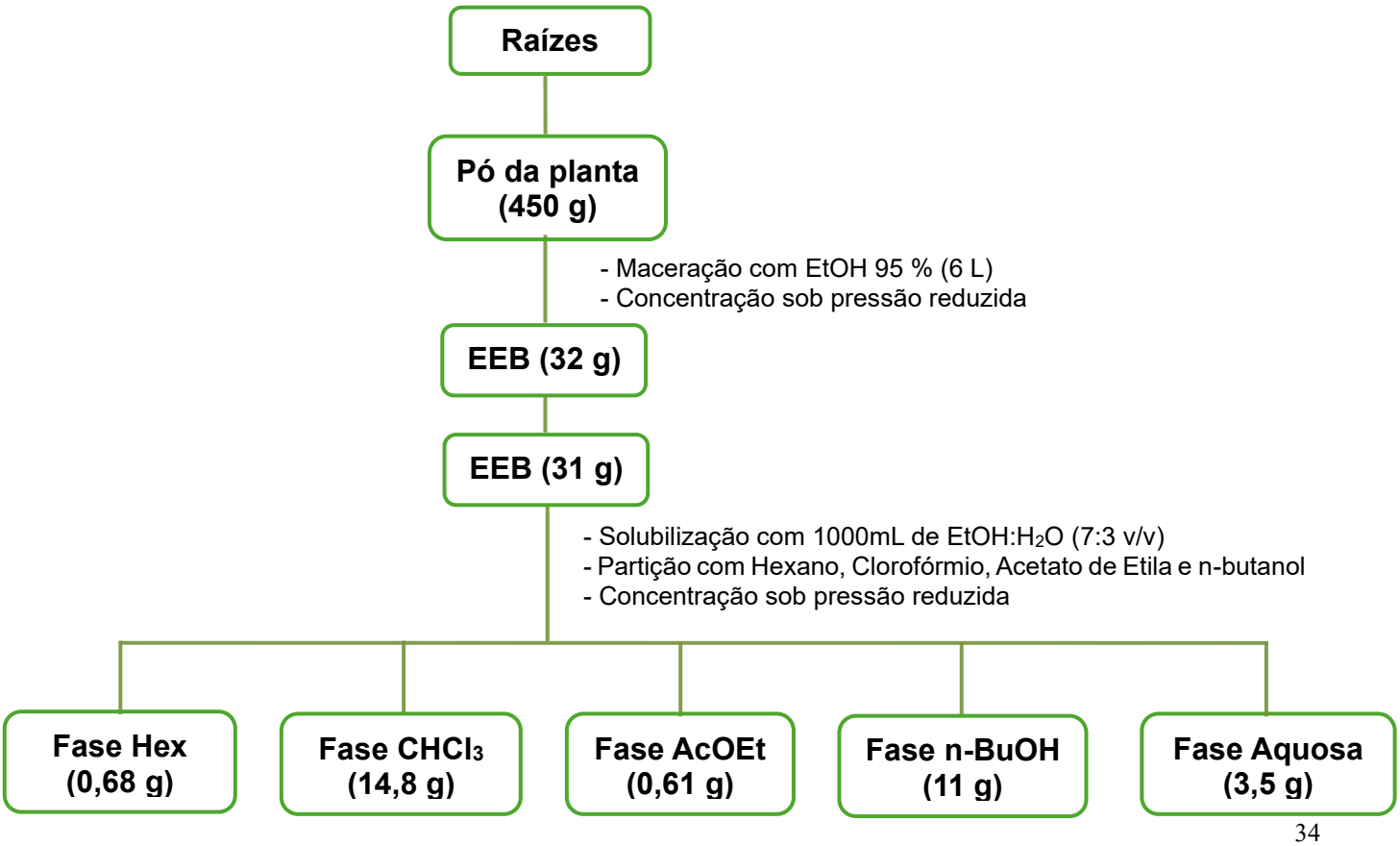
18, com fluxo de 0,6 mL/min e volume de injeção de 20 µL, onde foi desenvolvido um método que consistiu em 12 a 100 % de metanol por 90 min. O método foi transposto para a escala preparativa, sendo a massa da amostra de 260 mg com um fluxo de 8 mL/min e volume de injeção de 200 µL. Foi obtido 15 frações, onde as estas foram analisadas por RMN de ^{1}H e ^{13}C. Após essas análises, a fração 5 (Tr = 19 min; 7,4 mg) foi codificada como Rc-3 (Esquema 3).



Esquema 3 - Fracionamento da fase acetato de etila das partes aéreas de *R. caatingae.*

4.6 Obtenção e particionamento do extrato etanólico bruto das raízes

O material vegetal (raízes) foi desidratado em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 72 horas, e em seguida triturada em moinho mecânico, obtendo-se 450 g do pó seco. O pó obtido, foi submetido à maceração com seis litros de etanol a 95 % em um recipiente de aço inoxidável. Foram feitos três processos de extração num intervalo de 72 horas entre elas. As soluções extrativas obtidas foram filtradas, fazendo-se, em seguida, a evaporação do solvente com o auxílio de um rotaevaporador a uma temperatura média de 40 ºC. Após esse processo de evaporação do solvente, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB), que pesou 32 g (Esquema 4). Foram utilizados 31 g do EEB, este foi dissolvido numa mistura de etanol:água (7:3 v/v) e homogeneizado, obtendo-se uma solução hidroalcóolica. Esta solução foi submetida a um processo de partição em ampola de separação, utilizando os solventes hexano (750 mL), clorofórmio (500 mL), acetato de etila (500 mL) e n-butanol (500 mL). As respectivas fases foram tratadas com sulfato de sódio anidro para remoção do excesso de água, posteriormente foram concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40 ºC. Fornecendo as fases, hexânica (Hex) (0,688 g), clorofórmica ($CHCl_3$) (14,8 g), acetato de etila (AcOEt) (0,618 g), n-butanólica (n-BuOH) (11 g) e aquosa (3,5 g) (Esquema 4).



Esquema 4 - Obtenção do extrato etanólico bruto e fases das raízes de *R. caatingae*

4.7 Fracionamento cromatográfico da fase clorofórmica da raiz.

A partir das análises de RMN de ^{1}H e ^{13}C das fases da raiz de *R. caatingae*, pode-se observar a presença de regiões de sinais característicos [0,9 a 2,6 ppm (sinais do esqueleto pregnano); 3,3 a 5,8 ppm (sinais dos glicosídeos); 6,2 a 9,6 ppm (sinais de substituintes contendo anel aromático)] e sinais norteadores de glicosídeos pregnânicos na fase clorofórmica [sinais de três metilas entre 1,15 a 2,00 ppm (RMN de ^{1}H) e 9,0 a 22,0 ppm (RMN de ^{13}C); sinais de metinicos entre 0,95 a 2,20 ppm (RMN de ^{1}H) e 44,0; 46,0 e 51,0 ppm (RMN de ^{13}C) e sinais de metilênicos entre 0,9 a 2,6 ppm (RMN de ^{1}H) e 29 a 39 ppm (RMN de ^{13}C)], assim esta fase foi fracionada por métodos cromatográficos. A fase clorofórmica (5 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna, utilizando como fase estacionária Sephadex LH-20, e como fase móvel metanol puro, obtendo-se assim um total de 40 frações com um volume de coleta de 100 mL cada. Essas frações foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (Fr.), após visualização na luz ultravioleta e revelação em câmara saturada com vapores de iodo e análises em CLAE-DAD. As frações foram reunidas em grupos: 1 a 8 (224 mg); 9 a 18 (3 g); 19 a 24 (1176 mg); 25 a 35 (328 mg); 36 a 40 (117mg).

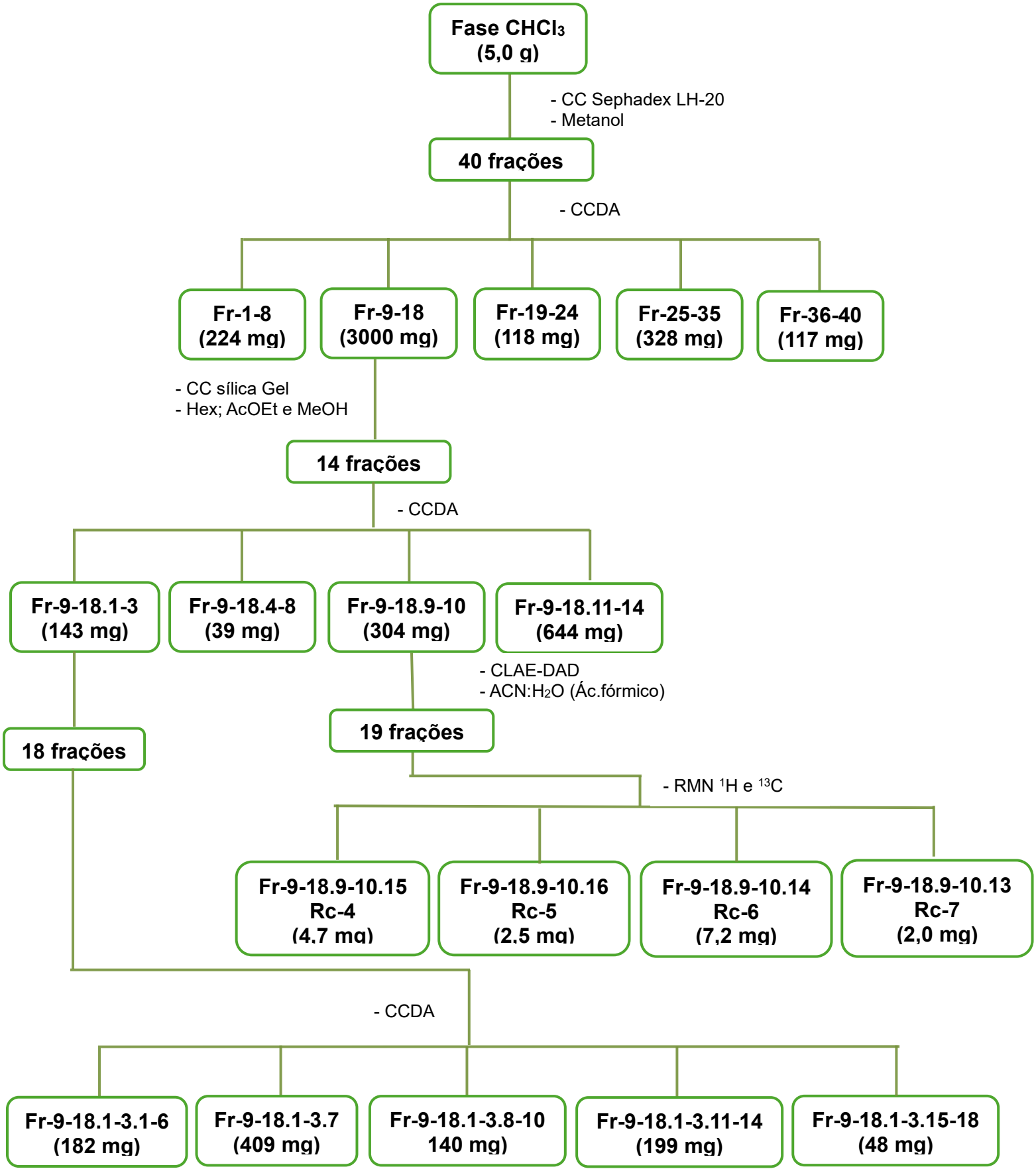
A fração 9 a 18 (3 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna, utilizando como fase estacionária sílica gel e como fase móvel Hex, AcOEt e MeOH puros e em misturas binarias, em ordem crescente de polaridade. Obtendo-se assim um total de 14 frações. Essas frações foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus Fr., após visualização na luz ultravioleta e revelação em câmara saturada com vapores de iodo. As frações foram reunidas em grupos: 1 a 3 (1426 mg); 4 a 8 (39 mg); 9 e 10 (304 mg); 11 a 14 (644 mg).

A reunião das frações 9 e 10 (304 mg) foram submetidas a análise de CLAE analítico utilizando como fase móvel acetonitrila (ACN):água (H_2O) (acidificada com 0,1% de ácido fórmico) e como fase estacionária C-18, com fluxo de 0,6 mL/min e volume de injeção de 20 µL, onde foi desenvolvido um método que consistiu de 5 a 29 % de ACN por 5 min; 29 % de ACN por 25 min; 29 a 43 % de ACN por 5 min; 43 % de ACN por 20 min; 43 a 52 % de ACN por 5 min; 52 % de ACN por 30 min; 52 a 100 % em 5 min; 100 % de ACN por 20 min; 100 a 5 % de ACN por 5 min e 5 % de ACN por 20 min.. O método foi transposto para a escala preparativa, sendo a massa da amostra de 304 mg com um fluxo de 8 mL/min e volume de injeção de 200 µL. Foi obtido 19 frações, onde estas foram

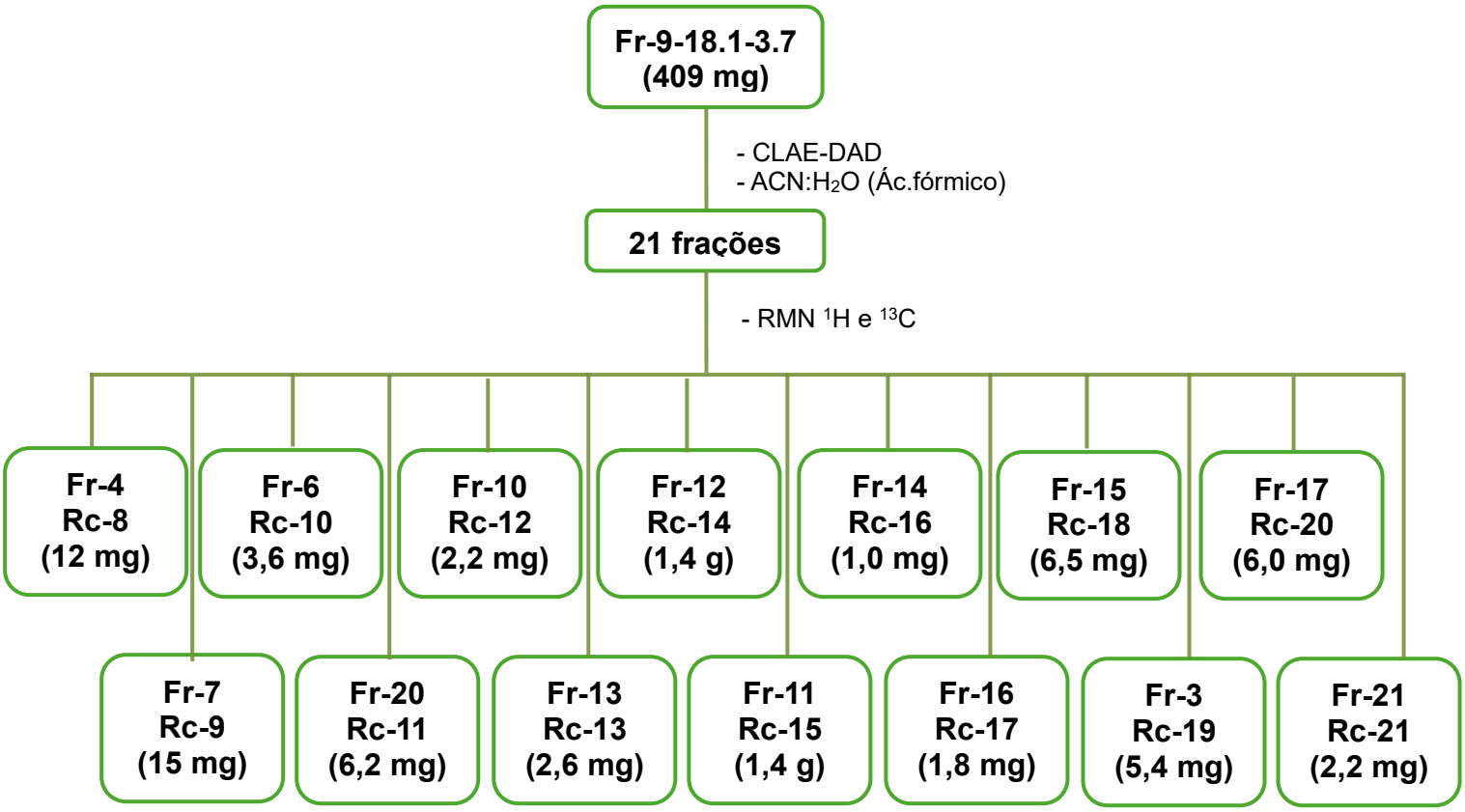
analisadas por RMN de ^{1}H e ^{13}C. Após essas análises, as frações 15 (T_R = 74 min; 4,5 mg), 16 (T_R =75 min; 2,5 mg), 14 (T_R =72 min; 7,2 mg), 13 (T_R = 71 min; 2,0 mg) foram codificadas como Rc-4, Rc-5, Rc-6 e Rc-7, respectivamente (Esquema 5).

A reunião das frações 1 a 3 (1426 mg) foi submetida a uma cromatografia em coluna, utilizando como fase estacionária sílica gel e como fase móvel Hex, AcOEt e MeOH puros e em misturas binarias, em ordem crescente de polaridade. Obtendo-se assim um total de 18 frações. Essas frações foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus Fr, após visualização na luz ultravioleta e revelação em câmara saturada com vapores de iodo. As frações foram reunidas em grupos: 1 a 6 (182 mg); 7 (409 mg); 8 a 10 (140 mg); 11 a 14 (199 mg), 15 a 18 (48 mg).

A fração 7 (409 mg) foi submetida a análise de CLAE analítico utilizando como fase móvel ACN:H_2O (acidificada com 0,1% de ácido fórmico) e como fase estacionária C-18, com fluxo de 0,6 mL/min e volume de injeção de 20 µL, onde foi desenvolvido um método que consistiu de 5 a 55 % de ACN por 20 min; 55 a 59 % de ACN por 20 min; 59 % de ACN por 20 min; 59 a 71 % de ACN por 10 min; 71 % de ACN por 20 min; 71 a 100 % de ACN por 10 min. O método foi transposto para a escala preparativa, sendo a massa da amostra de 409 mg com um fluxo de 8 mL/min e volume de injeção de 200 µL. Foi obtido 21 frações, onde estas foram analisadas por RMN de ^{1}H e ^{13}C. Após essas análises, as frações 4 (T_R = 26 min; 12 mg), 7 (T_R = 30 min; 15 mg), 6 (T_R = 29 min; 3,6 mg), 20 (T_R = 65 min; 6,2 mg), 10 (T_R = 27 min; 2,2 mg), 13 (T_R = 45 min; 2,6 mg), 12 (T_R = 42 min; 1,4 mg), 11 (T_R = 38 min; 1,4 mg), 14 (T_R = 48 min; 1,0 mg), 16 (T_R = 55 min; 1,8 mg), 15 (T_R = 50 min; 6,5 mg), 3 (T_R = 22 min; 5,4 mg), 17 (T_R = 58 min; 6,0 mg) e 21 (T_R = 67 min; 2,2 mg) foram codificadas como Rc-8 a Rc-21, respectivamente (Esquema 6).



Esquema 5 - Fracionamento da fase clorofórmica das raízes de *R. caatingae.*



Esquema 6 - Fracionamento da fração 7 das raízes de *R. caatingae.*

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Manuscrito: Novo aminoglicosídeo das partes aéreas de *Ruehssia caatingae* (Apocynaceae) (Revista Natural Product Research)

Novo aminoglicosídeo das partes aéreas de *Ruehssia caatingae* (Apocynaceae)

Jociano da Silva Lins[a], Thalisson Amorim de Souza[a], Sátiro Leandro Galdino de Almeida[a], Igor Gabriel da Silva Ramalho[a], José Iranildo Miranda de Melo[b], Daniele Idalino Janebro[a], Marcelo Sobral da Silva[a], Josean Fechine Tavares[a*], José Maria Barbosa Filho[a].

[a]Universidade Federal da Paraiba, Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PgPNSB), Centro de Ciências da Saúde, João Pessoa-PB, Brasil.
[b]Programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB, Brasil.

*Autor correspondente: Prof. Dr. Josean Fechine Tavares, Campus I, Lot. Cidade Universitária, PB, 58051-900. E-mail: josean@ltf.ufpb.br

Resumo

Um novo aminoglicosídeo N-Galactado, (ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo) (1) e dois metabólitos previamente identificados, (-) - conduritol F (2) e timidina (3), foram isolados de partes aéreas desidratadas de *R. caatingae* (Apocynaceae). A elucidação das estruturas desses compostos foi baseada em análises espectroscópicas, incluindo técnicas de RMN 1D, 2D, IV e AR-IES-EM e na comparação de seus dados de RMN com aqueles relatados na literatura. Além disso, o potencial citotóxico dos compostos 1, 2 e 3 foi avaliado testando-os contra um painel de linhagens celulares de glioblastoma (U87-MG), neuroblastoma (SH-SY5Y) e adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231). Todas as substâncias testadas não promoveram uma citotoxicidade mínima de 50% nas linhagens celulares tumorais submetidas a este ensaio.

Palavras-chave: Caatinga, Glicosídeos, Ciclitóis, Nucleosídeos, *Ruehssia*

1 Introdução

Ruehssia é um gênero de plantas recentemente restabelecido, compreendendo espécies neotropicais anteriormente classificadas como *Marsdenia* (Apocynacea) (do Espírito Santo et al. 2019; Liede-Schumann e Keller 2020). Espécies de *Marsdenia* ocorrem na África e na Ásia e são amplamente conhecidas por suas aplicações medicinais, particularmente na descoberta de compostos antitumorais e anti-inflamatórios (de Souza et al. 2024). Nesse contexto, as espécies americanas representam um reservatório de moléculas bioativas que permanecem inexploradas à luz das abordagens fitoquímicas modernas. No Brasil, aproximadamente 44 espécies de *Ruehssia* foram documentadas, sendo a região semiárida um "hotspot" para sua ocorrência. Dentre elas, *R. caatingae* é um arbusto endêmico encontrado em afloramentos rochosos dentro do domínio da Caatinga, sem investigações anteriores sobre suas propriedades químicas e farmacológicas (Oliveira et al. 2023).

Dada a notável quimiodiversidade da família Apocynaceae e o potencial inexplorado do gênero *Ruehssia*, este estudo visa isolar, caracterizar e avaliar a atividade citotóxica dos constituintes das partes aéreas de *R. caatingae*. Três compostos foram obtidos e a estrutura de um novo composto (ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo) foi elucidada por extensa análise espectroscópica, incluindo RMN uni e bidimensional, IV e AR-IES-EM, enquanto os já conhecidos foram identificados pela comparação de seus dados espectrais com a literatura. Em seguida, todos os compostos foram rastreados contra um painel de linhagens celulares tumorais.

2 Experimental

2.1 Material vegetal

As partes aéreas de *R. caatingae* foram coletadas em Pocinhos (7° 04' 37" S, 36° 03' 39" W), no estado da Paraíba, Brasil. A planta foi então identificada pelo Prof. Dr. José Iranildo de Miranda Melo e um espécime foi depositado no Herbário Manuel de Arruda Câmara na Universidade Estadual da Paraíba, sob o código de registro HACAM 662. O acesso ao material também foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número A5B0BFC.

2.2. Extração

As partes aéreas (folhas e caules) foram coletadas e posteriormente desidratadas em estufa com circulação circulante a 40°C por 72 horas. Após a secagem, foram moídas em moinho mecânico, obtendo-se 263 g de pó seco. O pó foi então submetido à maceração com etanol a 95%. Quatro processos de extração foram realizados, cada um com duração de 72 horas. As soluções extrativas resultantes foram filtradas e concentradas em rotaevaporador a uma temperatura média de 40°C. Após esse processo, obteve-se o extrato etanólico bruto (EEB), com rendimento de 29 g.

Em seguida, o extrato foi submetido à uma partição. Para isso, 28 g do EEB foi dissolvido em uma mistura de etanol:água (7:3 v/v) e homogeneizados, resultando em uma solução hidroalcoólica. A essa solução foram adicionados sequencialmente hexano, clorofórmio, acetato de etila e n-butanol. Pelo menos três ciclos de extração foram realizados para cada solvente. As respectivas fases obtidas foram tratadas com sulfato de sódio anidro e posteriormente concentradas em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura média de 40°C. Este processo produziu as seguintes fases: hexânica (4,58 g), clorofórmica (3,76 g), acetato de etila (0,55 g), n-butanolica (5,10 g) e hidroalcoólico (10 g).

2.3 Isolamento

2.3.1 Fracionamento cromatográfico da fase n-butanolica

A fase n-butanolica (4,65 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando Sephadex LH-20® como fase estacionária e metanol puro (MeOH) como fase móvel. As frações foram coletadas em um volume fixo de 40 mL cada, resultando em um total de 73 frações. Todas as frações foram monitoradas por Cromatografia Camada Delgada Analítica (CCDA) e agrupadas de acordo com seus fatores de retenção (Fr.). Após visualização sob luz ultravioleta e coloração em câmara saturada de vapor de iodo, as frações foram agrupadas em 11 frações (nB01 a nB11), como segue: nB01 (FR1 a FR8, 122 mg); nB02 (FR9 a FR11, 107 mg); nB03 (FR12 a FR16, 131 mg); nB04 (FR17 a FR22, 450 mg); nB05 (FR23 a FR29, 768 mg); nB06 (FR30 a FR36, 1068 mg); nB07 (FR37 a FR42, 335 mg); nB08 (FR43 a FR46, 71 mg); nB09 (FR47 a FR53, 52 mg); nB10 (FR54 a FR63, 115 mg); e nB11 (FR64 a FR73, 26 mg).

Subsequentemente, o nB05 foi analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

(CLAE) em escala analítica, utilizando acetonitrila (ACN) e água ultrapura (acidificada com 0,1% de ácido fórmico) como fase móvel. Uma coluna C18 (YMC-Triart, 250 mm x 4,6 mm de diâmetro interno, preenchida com partículas de 5 µm foi utilizada como fase estacionária, com vazão de 0,6 mL/min e volume de injeção de 20 µL. Foi aplicado um método de gradiente, iniciando com 5% de ACN e aumentando até 100% ao longo de 90 min. Após o desenvolvimento do método, o procedimento foi ampliado para CLAE preparativa utilizando uma coluna C18 (YMC-Actus Triart, 250 mm x 20,0 mm de diâmetro interno, preenchida com partículas de 5 µm), vazão de 8 mL/min e volume de injeção de 200 mL (figura S1). A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) dos espectros de RMN de ^{1}H, ^{13}C e bidimensional da fração 6 (3,9 mg) levou à identificação do composto (1) [ácido-3-metil-N-pentanóico-β-D-galactofuranosídeo].

O nB06 foi submetido à Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP) utilizando uma fase estacionária C18 e uma fase móvel composta de metanol e água acidificada com ácido fórmico a 0,1%. O volume de injeção foi de 5 mL e a vazão foi de 15 mL/min. As frações foram monitoradas nos comprimentos de onda de 205, 220, 254 e 280 nm, resultando em seis frações (designadas como nB06-Fr1 a nB06-Fr6). Dentre estas, nB06-Fr1 (365 mg) foi selecionado para estudo posterior e posteriormente analisado sob as mesmas condições de CLAE que nB05 (figura S2). A espectroscopia de RMN de ^{1}H e ^{13}C para a fração 2 (40 mg) permitiu a identificação do composto (2) [(-) - Conduritol F].

2.3.2 Fracionamento cromatográfico da fase de acetato de etila

A purificação da fase de acetato de etila (0,5 g) seguiu o mesmo fluxo de trabalho da fase n-butanólica. Inicialmente, foi submetida à separação utilizando Sephadex® LH-20, eluído com MeOH, resultando em 19 frações. Após a análise do perfil por CCDA, as frações foram agrupadas em três grupos (EA01 a EA03) da seguinte forma: EA01 (FR1 a FR7, 86,5 mg); EA02 (FR8 e FR9, 190 mg) e EA03 (FR10 a FR19, 260 mg).

Posteriormente, o EA03 foi analisado por CLAE analítico e preparativo. O desenvolvimento do método utilizou uma coluna C18 de fase reversa como fase estacionária e uma fase móvel composta por água ultrapura (acidificada com 0,1% de ácido fórmico) e metanol. O método final consistiu em uma eluição em gradiente de 12% a 100% de metanol ao longo de 90 min (figura S3). As análises unidimensionais de RMN de ^{1}H e ^{13}C da fração 5 (7,4 mg) levaram à identificação do composto (3) [Timidina].

2.4. Análises espectroscópicas e espectrométricas

2.4.1. CLAE-IES-TOF-EM

A CLAE Shimadzu (Kyoto, Japão) acoplada a um espectrômetro de massas micrOTOF II (Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA) foi utilizada para análises de espectrometria de massas com ionização por eletrospray de alta resolução (AR-IES-EM). Os parâmetros de análise foram os seguintes: capilar de 4,5 kV, IES em modo negativo, offset final da placa de 500 V, nebulizador de 40 psi, gás secagem (N_2) com vazão de 8 mL/min e temperatura de 200 °C. Os espectros de massa (m/z 50-1000) foram registrados a cada 2 s.

2.4.2. Rotações ópticas específicas

As rotações ópticas específicas das substâncias foram realizadas no polarímetro modelo Polarimeter, série P-200 da JASCO.

2.4.3. Análise no infravermelho

Os espectros de infravermelho foram registrados em um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (Shimadzu IRSpirit-T) utilizando o acessório QATR-S.

2.4.4. Análise de RMN

Os espectros de RMN foram registrados utilizando espectrômetros BRUKER operando a 400 e 500 MHz para hidrogênio (RMN de ^{1}H) e 100 e 125 MHz para núcleos de carbono (RMN de ^{13}C). As amostras analisadas foram preparadas por dissolução em solventes deuterados. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. As multiplicidades da RMN de ^{1}H foram relatadas de acordo com a seguinte convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (dupleto), dl (dupleto largo), dd (duplo dupleto), ddd (duplo duplo dupleto), t (tripleto), tl (tripleto largo), q (quarteto) e m (multipleto).

2.5. Ensaio biológico

2.5.1. Ensaio de Viabilidade Celular MTT

Células de glioblastoma (U87-MG), neuroblastoma (SH-SY5Y), adenocarcinoma mamário (MDA-MB-231) e linhagem celular não tumoral (HEK-293) foram semeadas em placas de 96 poços e mantidas por 24 horas na incubadora de cultura, sob condições padrão e com um volume de 100 µL de meio DMEM completo de alta glicose e DMEM F12 (Neuroblastoma), a uma densidade de 1x10^4 células por poço.

Após 24 horas, foram adicionados 100 µL de meio completo em solução com as concentrações das substâncias. Um agente permeabilizante de membrana, DMSO 20%, foi utilizado como controle positivo, enquanto o próprio meio foi utilizado como controle negativo. Após outras 24 horas, o sobrenadante foi removido e 100 µL de MTT na concentração de 5 mg/ml foram adicionados, incubados por 4 horas na ausência de luz. Após 4 horas, o MTT foi removido e 100 µL de DMSO foram adicionados para solubilizar os cristais de formazana. As densidades ópticas foram medidas usando um leitor de microplacas a $\lambda = 570$ nm para verificar a viabilidade celular.

2.5.2. Análises Estatísticas

Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM) e analisados por Análise de Variância (ANOVA unidirecional), seguida pelo teste de Tukey. Os dados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. O programa estatístico utilizado para análise dos dados e produção dos gráficos foi o GraphPad Prism, versão 8 (GraphPad, EUA).

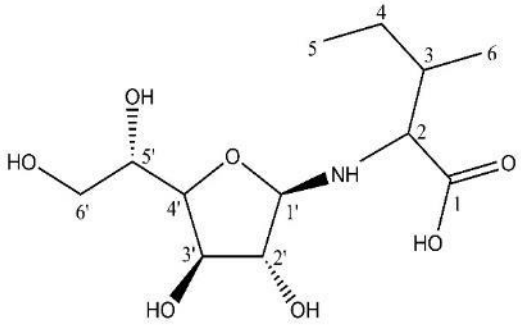
3 Resultados e Discussão

3.1 Determinação estrutural do composto isolado

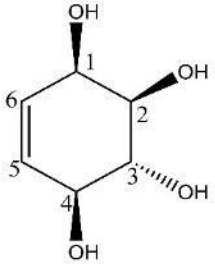
O composto 1 (Rc-1) foi obtido como um sólido amorfo. AR-IES-EM ($[M + H]^+$) apresentou um pico referente a um íon positivo em m/z 294,1547 (Material suplementar, Figura S5), correspondendo à fórmula molecular $C_{12}H_{24}NO_7$ (erro de 0,3 ppm). No espectro de infravermelho, foram observadas bandas em: 3282 cm^{-1} (estiramento livre O-H), 1625 cm^{-1} (dobramento N-H), 1602 cm^{-1} (dobramento COO-), 1516 cm^{-1} (dobramento N-H), 1401cm^{-1}

(estiramento COO-), 1332 cm^{-1} (dobramento C-O) (Material suplementar, Figura S6). Os dados de RMN de ^{1}H (ppm) (Material Suplementar, Tabela S1) mostram dois grupos metil em δ_H 0,95 (3H, t, J = 7,2 Hz, H-4) e 1,03 (3H, d, J = 7,2 Hz, H-6). Dois sinais metinicos também foram observados em δ_H 1,94 (1H m, H-3) e 3,47 (1H, m, H-2) e dois sinais de metileno em δ_H 1,27 (1H, m, H-5A) e 1,58 (1H, m, H-5B), onde no espectro de RMN de ^{13}C e nas correlações de HSQC, eles corresponderam aos carbonos em δ_C 15,6 (C-4), 12,2 (C-6), 37,6 (C-3), 60,9 (C-2) e 25,9 (C-5). O sinal em 173,6 (C-1) foi consistente com a carbonila do ácido carboxílico. No espectro COSY, foram observadas correlações de H-2/H-3, H-6/H-3, H-4/H-5, H-1'/H-2', H-3'/H-4', H-4'/H-5' e H-5'/H-6'. Esses dados e comparações com dados da literatura (Ma et al., 2011; Kohda et al., 1987) sugerem que se trata de uma porção de isoleucina. Foi possível definir uma hexose de acordo com os dados de RMN de ^{1}H, onde sinais atribuídos a cinco hidrogênios oximetinicos foram observados em δ_H 4,86 (1H, d, J = 2,8 Hz, H-1'), 3,91 (1H, m, H-2'), 3,98 (1H, dd, J = 4,0; 6,8 Hz, H-3'), 3,92 (1H, dd, J = 2,0; 2,8 Hz, H-4') e 3,70 (1H, m, H-5') e dois hidrogênios metilênicos em 3,60 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6A') e 3,61 (1H, sl, H-1B'), que corresponderam aos carbonos em δ_C 109,1 (C-1'), 84,1 (C-2'), 78,6 (C-3'), 83,3 (C-4'), 72,4 (C-5') e 64,3 (C-6') de acordo com as correlações HSQC. Assim, foi possível definir esta porção da molécula como sendo o *β*-D-galactofuranosídeo (Shibata e Okawa 2011; Completo e Lowary 2008). No espectro HMBC (Material Suplementar, figuras S7, S16, S17, S18 e Tabela S1), foi observada uma correlação de H-2 (3,47) com C-1' (109,1), confirmando a conectividade da porção isoleucina com a porção *β-D*-galactofuranosídeo por C-2 e C-1'. A via biossintética proposta para a formação deste composto, bem como o mecanismo da reação enzimática envolvida, são descritos no material suplementar (Material Suplementar, figura S4) (Yao et al. 2022; Wang et al. 2023). Assim, 1 foi determinado como sendo o ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo (Figura 7).

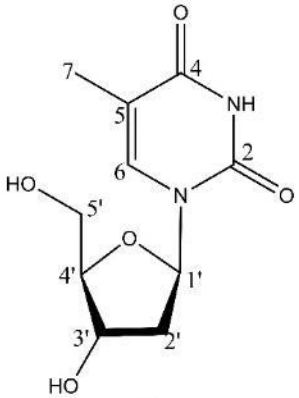
Os compostos 2 e 3 foram identificados como (-) - conduritol F (2) (Rc-2) (Figura 7) ($[\alpha]_D^{20}$ - 64,7; lit. $[\alpha]_D^{20}$ - 68,7) (Vinaykumar et al. 2023; Sewn et al. 1990; Patti et al. 1996) (Material suplementar, Figuras S22-S26) e timidina (3) (Rc-3) (Figura 7) (Nath et al. 2004) (Material suplementar, Figuras S28-S32) de acordo com seus dados de RMN e polarímetro com aqueles encontrados nas referências.



1



2

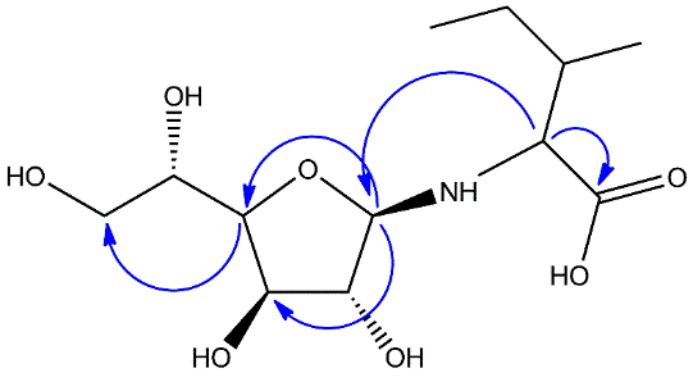


3

Figura 7 - Estruturas químicas de compostos isolados das partes aéreas de *R. caatingae*, (1) ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo, (2) (-)-conduritol F e (3) timidina.

1				
	HSQC		**HMBC**	**COSY**
Nº	^{1}H, mult. (*J* em Hz)	^{13}C	^{1}H x ^{13}C	^{1}H x ^{1}H
1	-	173.6	-	-
2	3.47 *m* (1H)	60.9	C-1'/C-1/C-3/C-4/C-6	H-3
3	1.94 *m* (1H)	37.6	-	H-2/H-4/H-6
4A	1,27 *m* (1H)	25.9	C-2/C-3/C-5/C-6	H-3/H-4B/H-5
4B	1.58 *m* (1H)	25.9	C-2/C-3/C-5/C-6	H-4A/H-5
5	0.95 *t*, *J* = 7.2 Hz (3H)	12.2	C-3/C-4	H-4A, H-4B
6	1.03 *d*, *J* = 7.2 Hz (1H)	15.6	C-2/C-3/C-4	H-3
1'	4.86 *d*, *J* = 2.8 Hz (1H)	109.1	C-3'/C-4'	H-2'
2'	3.92 *dd*, *J* = 2.0; 2.8 Hz (1H)	83.3	C-1'/C-3'/C-4'/C-5'	H-1'/H-3'
3'	3,98 *dd*, *J* = 4.0; 6.8 Hz (1H)	78.6	C-1'/C-2'/C-4'/C-5'	H-2'
4'	3.91 *m* (1H)	84.1	C-2'/C-3'/C-5'/C-6'	H-5'
5'	3.70 *m* (1H)	72.4	C-4'/C-6'	H-4'
6'A	3.60 *d*, *J* = 2.0 Hz (1H)	64.3	C-4'/C-5'	H-6B
6'B	3.61 *sl* (1H)	64.3	C-4'/C-5'	H-6A

Tabela 1 - ^{1}H, ^{13}C-BB e DEPT 135 RMN de 1 (400 e 100 MHz, respectivamente, em metanol-d_4).



1

Figura 8 - Corr

HMBC

3.2. Avaliação da atividade biológica

No ensaio MTT (Buranaamnuay 2021), todas as substâncias testadas não foram citotóxicas nos 50% das linhagens celulares tumorais submetidas a este ensaio. Enquanto na linhagem celular não tumoral HEK-293, os compostos 1 e 2 não causaram efeito citotóxico significativo nas concentrações testadas, não possuindo atividade tóxica nos parâmetros testados.

4 Conclusão

O presente estudo descreve a primeira investigação fitoquímica do gênero *Ruehssia* e relata o isolamento de três compostos das partes aéreas de *R. caatingae*, sendo (ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo) relatado pela primeira vez na literatura. Os compostos 1, 2 e 3 não apresentaram atividade citotóxica contra células de glioblastoma (U87-MG), neuroblastoma (SH-SY5Y) e adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231). Além disso, os compostos 1 e 2 não promoveram citotoxicidade significativa nas concentrações testadas da linhagem celular não tumoral (HEK-293) (Material suplementar, Figuras S30-S32). As referidas linhagens celulares foram escolhidas devido à alta incidência, agressividade e altas taxas de mortalidade desse tipo de câncer em todo o mundo atualmente. Além disso, estudos farmacológicos com espécies de Apocynaceae demonstraram que alcaloides e outros compostos nitrogenados, bem como seus extratos, apresentaram grande atividade citotóxica contra as linhagens celulares selecionadas (Wong et al. 2011; Park et al. 2017; Vrabec et al. 2025).

Declaração de Divulgação

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Contribuições dos autores

Jociano da Silva Lins (Conceitualização, Investigação, Metodologia, Redação – rascunho original e Redação – revisão e edição), Thalisson Amorim de Souza (Supervisão, Redação – rascunho original e Redação – revisão e edição), Sátiro Leandro Galdino de Almeida (Investigação e Metodologia), Igor Gabriel da Silva Ramalho (Investigação, Metodologia e Redação – rascunho original), José Iranildo Miranda de Melo (Conceitualização e Investigação), Daniele Idalino Janebro (Metodologia e Redação – rascunho original), Marcelo

Sobral da Silva (Captação de Recursos, Metodologia, Recursos e Supervisão), Josean Fechine Tavares (Captação de Recursos, Metodologia, Recursos e Supervisão), José Maria Barbosa Filho (Conceitualização, Captação de Recursos, Metodologia, Recursos, Supervisão e Validação).

Referências

Buranaamnuay K. 2021. The MTT assay application to measure the viability of spermatozoa: A variety of the assay protocols. Open Vet J. 11(2):251–269. https://doi.org/10.5455/OVJ.2021.v11.i2.9

Completo GC, Lowary TL. 2008. Synthesis of galactofuranose-containing acceptor substrates for mycobacterial galactofuranosyltransferases. Journal of Organic Chemistry. 73(12). https://doi.org/10.1021/jo800457j

do Espírito Santo F da S, Rapini A, Ribeiro PL, Liede-Schumann S, Goyder DJ, Fontella-Pereira J. 2019. Phylogeny of the tribe Marsdenieae (Apocynaceae), reinstatement of *Ruehssia* and the taxonomic treatment of the genus in Brazil. Kew Bull. 74(2). https://doi.org/10.1007/s12225-019-9807-4

Kohda D, Kawai G, Yokoyama S, Miyazawa T, Kohda D, Kawakami M, Mizushima S. 1987. NMR Analyses of the Conformations of L-Isoleucine and L-valine Bound to *Escherichia coli* Isoleucyl-tRNA Synthetase. Biochemistry. 26(20). https://doi.org/10.1021/bi00394a037

Liede-Schumann S, Keller HA. 2020. New combinations in *Ruehssia* for the South American species of *Marsdenia* (Apocynaceae-Asclepiadoideae). Phytotaxa. 471(3). https://doi.org/10.11646/phytotaxa.471.3.10

Ma F, Xie X, Ding L, Gao J, Zhang Z. 2011. Palladium-catalyzed coupling reaction of amino acids (esters) with aryl bromides and chlorides. Tetrahedron. 67(48). https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.09.109

Nath M, Jairath R, Eng G, Song X, Kumar A. 2004. Interaction of triorganotin (IV) cations with pyrimidine bases/nucleoside: Synthesis, spectral characterization and biological studies of a novel triphenyltin (IV) derivative of thymidine. Inorg Chem Commun. 7(10). https://doi.org/10.1016/j.inoche.2004.08.013

Oliveira IC, Espírito Santo FS, Rapini A, Dórea MC, Oliveira RP. 2023. *Ruehssia bahiensis*: a new species of Apocynaceae endemic to a floristically neglected area within the Semi-arid of Bahia, Brazil. Phytotaxa. 629(2). https://doi.org/10.11646/phytotaxa.629.2.4

Park MN, Song HS, Kim M, Lee MJ, Cho W, Lee HJ, Hwang CH, Kim S, Hwang Y, Kang B, Kim B. 2017. Review of natural product-derived compounds as potent antiglioblastoma drugs. Biomed Res Int. 2017. https://doi.org/10.1155/2017/8139848

Patti A, Sanfilippo C, Piattelli M, Nicolosi G. 1996. Enantioselective Synthesis of (-)-and (+)-Conduritol F via Enzymatic Asymmetrization of cis-Cyclohexa-3,5-diene-1,2-diol [Internet]. [place unknown]. https://pubs.acs.org/sharingguidelines

Sewn H, Stitbeyaz Y, Bah M. A New and Stereospecific Synthesis of Conduritol-F and Conduritol-B. [place unknown].

Shibata N, Okawa Y. 2011. Chemical structure of ß-galactofuranose-containing polysaccharide and O-linked oligosaccharides obtained from the cell wall of pathogenic dematiaceous fungus *Fonsecaea pedrosoi*. Glycobiology. 21(1). https://doi.org/10.1093/glycob/cwq132

de Souza TA, Lins FSV, da Silva Lins J, Alves AF, Cibulski SP, Brito T de AM, Abreu LS, Scotti L, Scotti MT, da Silva MS, Tavares JF. 2024. Asclepiadoideae subfamily (Apocynaceae): ethnopharmacology, biological activities and chemophenetics based on pregnane glycosides. Phytochemistry Reviews. https://doi.org/10.1007/s11101-024-09914-2

Vinaykumar A, Surender B, Rao BV. 2023. Chemoselective Nozaki-Hiyama-Takai-Kishi and Grignard reaction: short synthesis of some carbahexopyranoses. RSC Adv. 13(33). https://doi.org/10.1039/d3ra03704e

Vrabec R, Drašar P, Opletal L, Kosturko Š, Blunden G, Cahlíková L. 2025. Alkaloids from the genus *Vinca* L. (Apocynaceae): a comprehensive biological and structural review. Phytochemistry Reviews. https://doi.org/10.1007/s11101-025-10102-z

Wang M, Ji Q, Lai B, Liu Y, Mei K. 2023. Structure-function and engineering of plant UDP-glycosyltransferase. Comput Struct Biotechnol J. 21:5358–5371. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.10.046

Wong SK, Lim YY, Abdullah NR, Nordin FJ. 2011. Assessment of antiproliferative and antiplasmodial activities of five selected Apocynaceae species. BMC Complement Altern Med. 11. https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-3

Yao J, Xing X, Yu L, Wang Y, Zhang X, Zhang L. 2022. Structure [sbnd] function relationships in plant UDP-glycosyltransferases. Ind Crops Prod. 189. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115784

Material suplementar: Novo aminoglicosídeo das partes aéreas de *Ruehssia caatingae* (Apocynaceae).

LISTA DE FIGURAS

Figura S1. Cromatograma da CLAE-DAD da fração nB05 da fase n-butanólica em 254 nm

Figura S2. Cromatograma da CLAE-DAD da fração nB06 da fase n-butanólica em 254 nm

Figura S3. Cromatograma da CLAE-DAD da fração nB06 da fase acetato de etila em 254 nm

Figura S4. Biossíntese do composto 1 (adaptado de Wang et al., 2023; Yao et al., 2022)

Figura S5. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 1.

Figura S6. Espectro de infravermelho ATR do composto 1.

Figura S7. Correlações HMBC do composto 1.

Figura S8. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

Figura S9. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 1 na região de 0,9–2,0 ppm.

Figura S10. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 1 na região de 3,4–4,9 ppm.

Figura S11. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

Figura S12. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, metanol-d_4) do composto 1 na região de 5–110 ppm.

Figura S13. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT 135 (100 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

Figura S14. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

Figura S15. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1 nas regiões de 10–110 e 0,8–5,2 ppm.

Figura S16. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

Figura S17. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1 nas regiões de 0–200 ppm e 0,5–5,5 ppm.

Figura S18. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1 nas regiões de 10–180 ppm e 3,3–4,9 ppm.

Figura S19. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

Figura S20. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, metanol-d_4) do composto 1 nas regiões de 1,0–5,5 ppm e 0,6–5,2 ppm.

Figura S21. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 2.

Figura S22. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 2.

Figura S23. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 2 na região de 3,1–6,1 ppm.

Figura S24. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 2 na região de 3,4–4,2 ppm.

Figura S25. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, metanol-d_4) do composto 2.

Figura S26. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT 135 (100 MHz, metanol-d_4) do composto 2.

Figura S27. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 3.

Figura S28. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto 3.

Figura S29. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto 3 na região de 6,1–7,8 ppm.

Figura S30. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto 3 na região de 1,7–4,4 ppm.

Figura S31. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, DMSO-d_6) do composto 3.

Figura S32. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT 135 (100 MHz, DMSO-d_6) do composto 3.

Figura S33. Citotoxicidade do composto 1 em linhas celulares tumorais humanas U87-MG, SH-SY5Y, MDA-MB-231 e linha celular não tumoral humana embrionária HEK-293, após 24 horas de tratamento. Viabilidade celular (%) após 24 h de tratamento com o composto 1 (μg/mL). Os dados são apresentados como média ± SEM, analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste de Tukey. * indica diferenças significativas entre as condições; $p < 0,05$.

Figura S34. Citotoxicidade do composto 2 em linhas celulares tumorais humanas U87-MG, SH-SY5Y, MDA-MB-231 e linha celular não tumoral humana embrionária HEK-293, após 24 horas de tratamento. Viabilidade celular (%) após 24 h de tratamento com o composto 2 (μg/mL). Os dados são apresentados como média ± SEM, analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste de Tukey. * indica diferenças significativas entre as condições; $p < 0,05$.

Figura S35. Citotoxicidade do composto 3 em linhas celulares tumorais humanas U87-MG, SH-SY5Y, MDA-MB-231 e linha celular não tumoral humana embrionária HEK-293, após 24 horas de tratamento. Viabilidade celular (%) após 24 h de tratamento com o composto 3 (μg/mL). Os dados são apresentados como média ± SEM, analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste de Tukey. * indica diferenças significativas entre as condições; $p < 0,05$.

LISTA DE TABELAS

Tabela S1. Dados de RMN de ^{1}H, ^{13}C-BB e DEPT 135 de 1 (400 e 100 MHz, respectivamente, em metanol-d_4).

Tabela S2. Dados de RMN de ^{1}H, ^{13}C-BB e DEPT 135 de 2 comparados com dados da literatura (400 e 100 MHz, respectivamente, em metanol-d_4).

Tabela S3. Dados de RMN de ^{1}H, ^{13}C-BB e DEPT 135 de 3 comparados com dados da literatura (500 e 100 MHz, respectivamente, em DMSO-d_6).

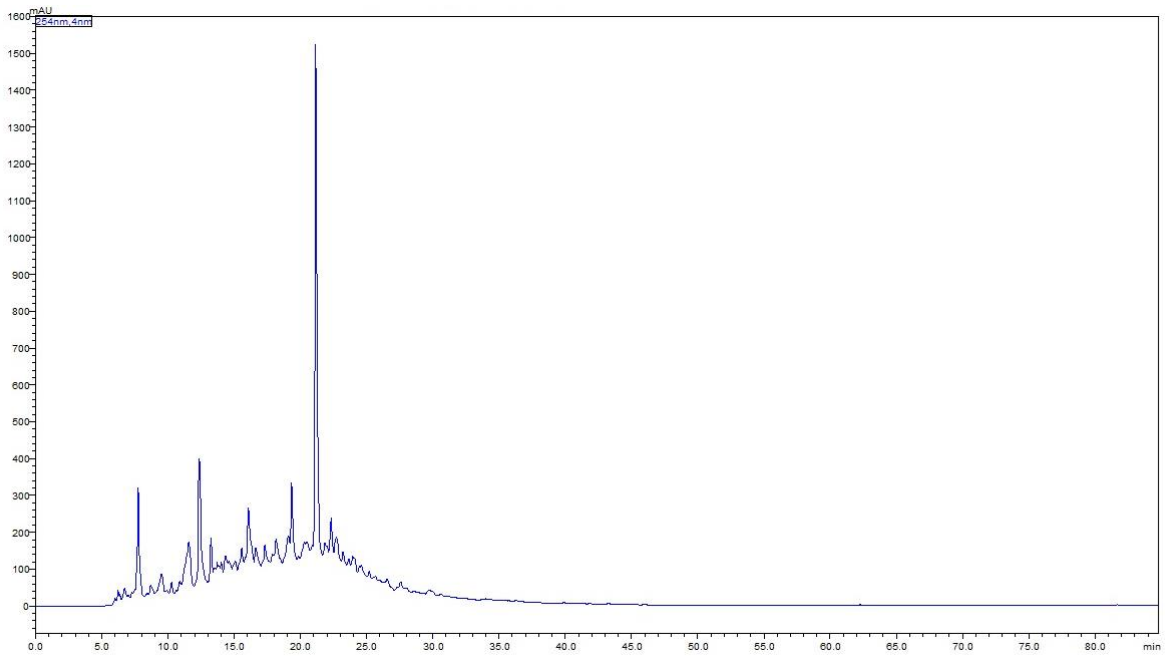


Figura S1. Cromatograma da CLAE-DAD da fração nB05 da fase n-butanólica em 254 nm

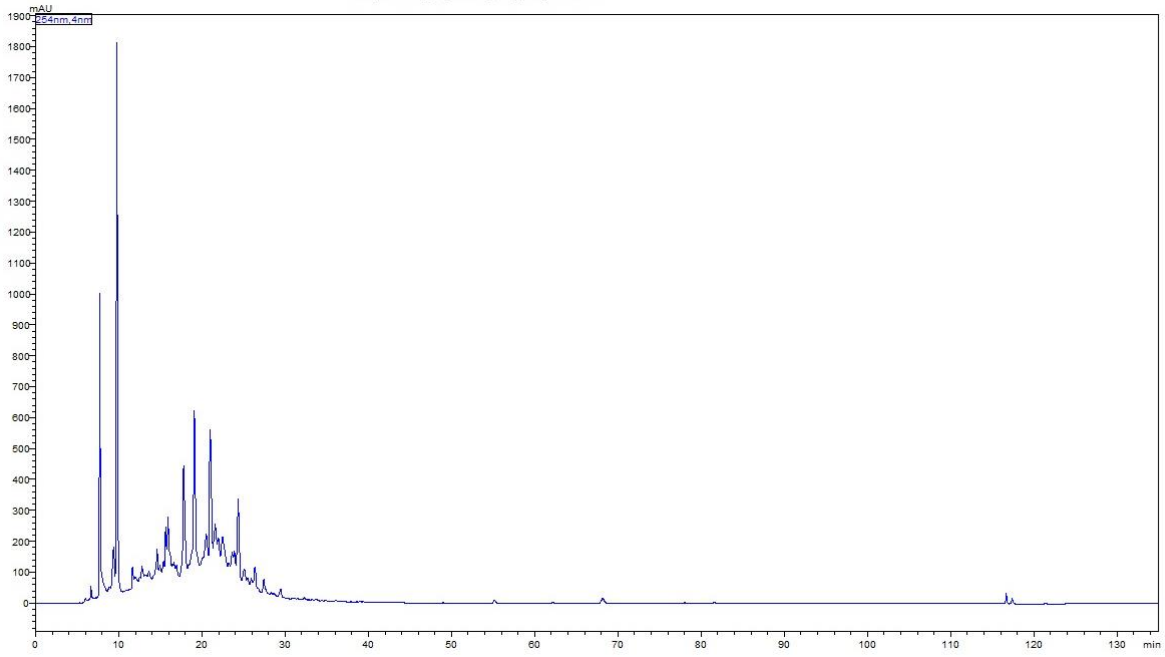


Figura S2. Cromatograma da CLAE-DAD da fração nB06 da fase n-butanólica em 254 nm

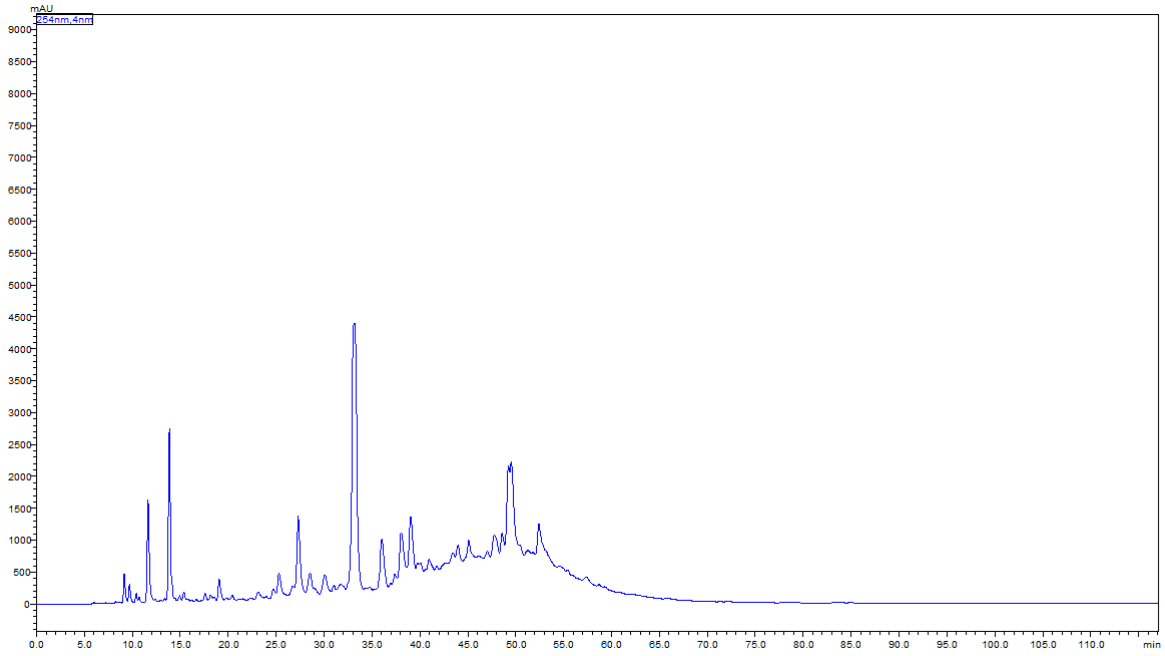


Figura S3. Cromatograma da CLAE-DAD da fração nB06 da fase acetato de etila em 254 nm

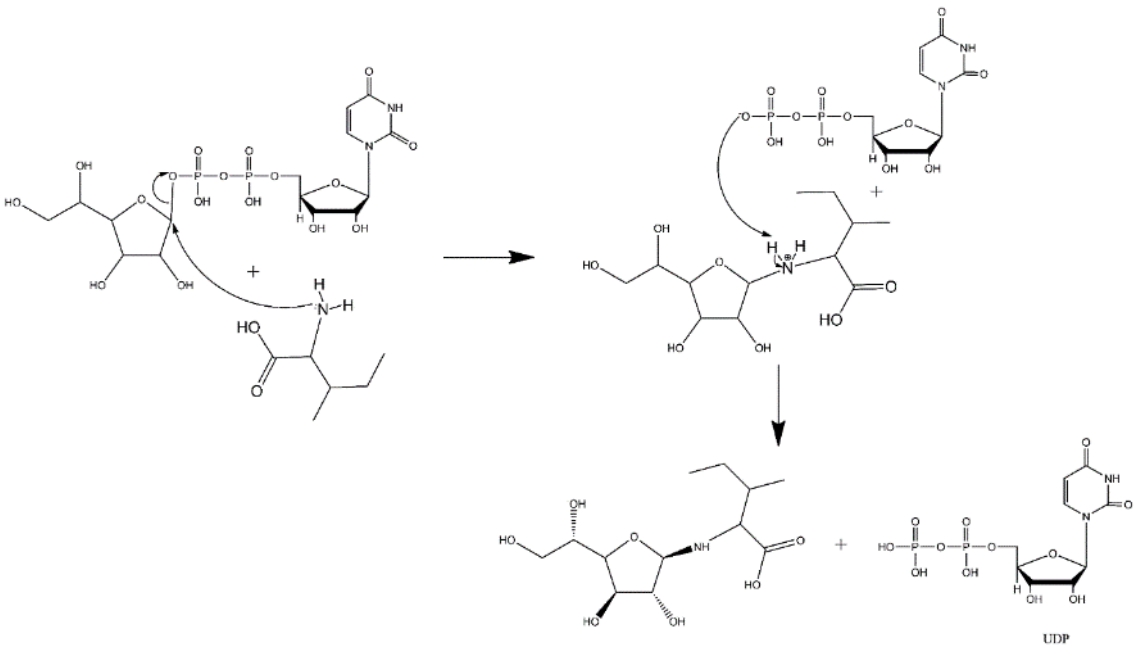


Figura S4. Biossíntese do composto 1 (adaptado de Wang et al., 2023; Yao et al., 2022)

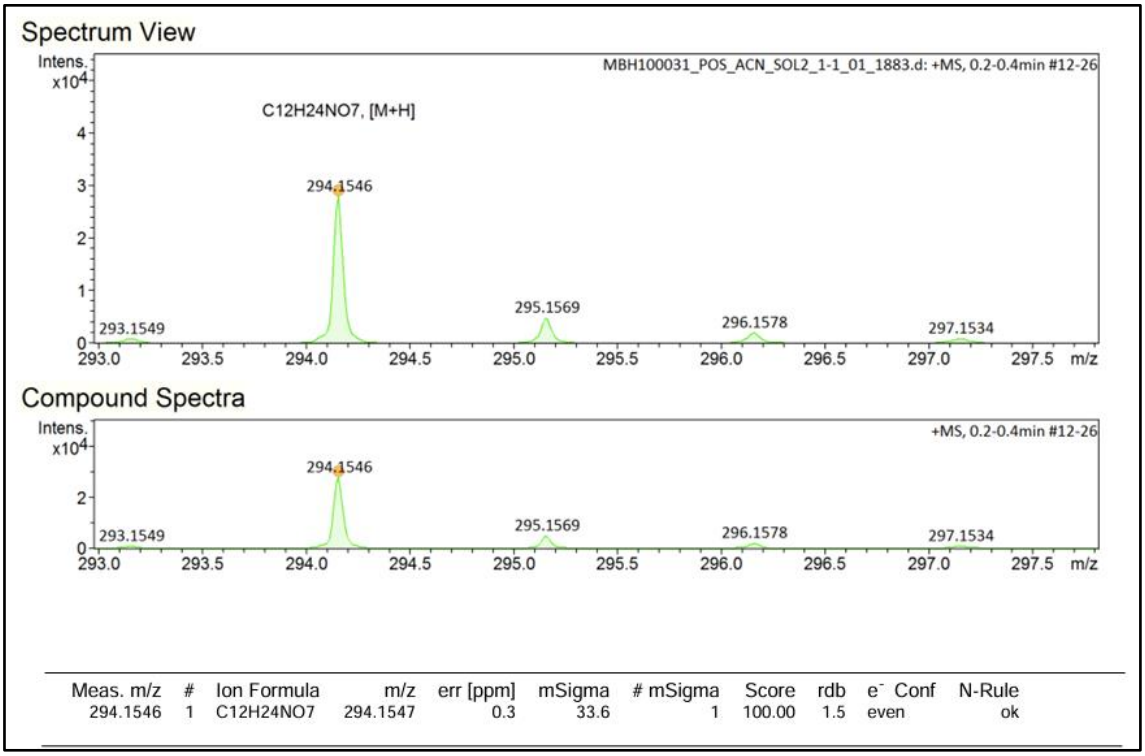


Figura S5. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 1.

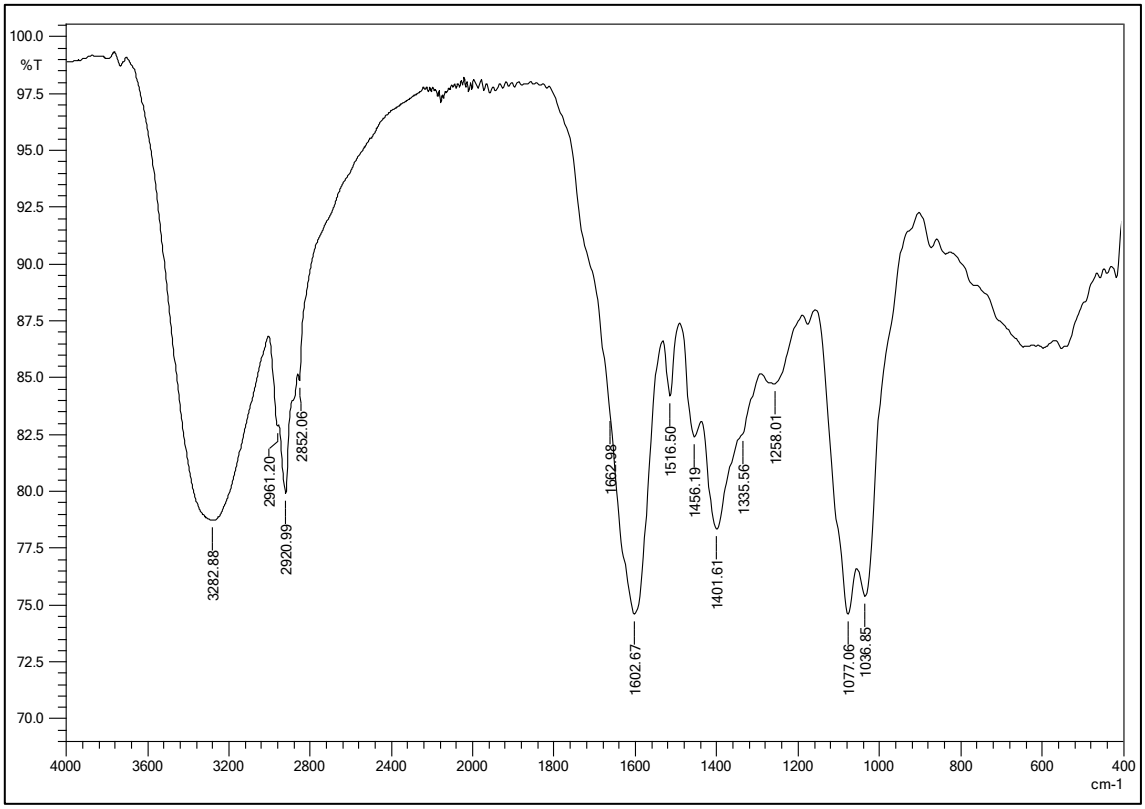


Figura S6. Espectro de infravermelho ATR do composto 1.

	1			
	HSQC		**HMBC**	**COSY**
Nº	^{1}H, mult. (*J* em Hz)	^{13}C	^{1}H x ^{13}C	^{1}H x ^{1}H
1	-	173.6	-	-
2	3.47 *m* (1H)	60.9	C-1'/C-1/C-3/C-4/C-6	H-3
3	1.94 *m* (1H)	37.6	-	H-2/H-4/H-6
4A	1,27 *m* (1H)	25.9	C-2/C-3/C-5/C-6	H-3/H-4B/H-5
4B	1.58 *m* (1H)	25.9	C-2/C-3/C-5/C-6	H-4A/H-5
5	0.95 *t*, *J* = 7.2 Hz (3H)	12.2	C-3/C-4	H-4A, H-4B
6	1.03 *d*, *J* = 7.2 Hz (1H)	15.6	C-2/C-3/C-4	H-3
1'	4.86 *d*, *J* = 2.8 Hz (1H)	109.1	C-3'/C-4'	H-2'
2'	3.92 *dd*, *J* = 2.0; 2.8 Hz (1H)	83.3	C-1'/C-3'/C-4'/C-5'	H-1'/H-3'
3'	3,98 *dd*, *J* = 4.0; 6.8 Hz (1H)	78.6	C-1'/C-2'/C-4'/C-5'	H-2'
4'	3.91 *m* (1H)	84.1	C-2'/C-3'/C-5'/C-6'	H-5'
5'	3.70 *m* (1H)	72.4	C-4'/C-6'	H-4'
6'A	3.60 *d*, *J* = 2.0 Hz (1H)	64.3	C-4'/C-5'	H-6B
6'B	3.61 *sl* (1H)	64.3	C-4'/C-5'	H-6A

Tabela S1. Dados de RMN de ^{1}H, ^{13}C-BB e DEPT 135 de 1 (400 e 100 MHz, respectivamente, em metanol-d_4).

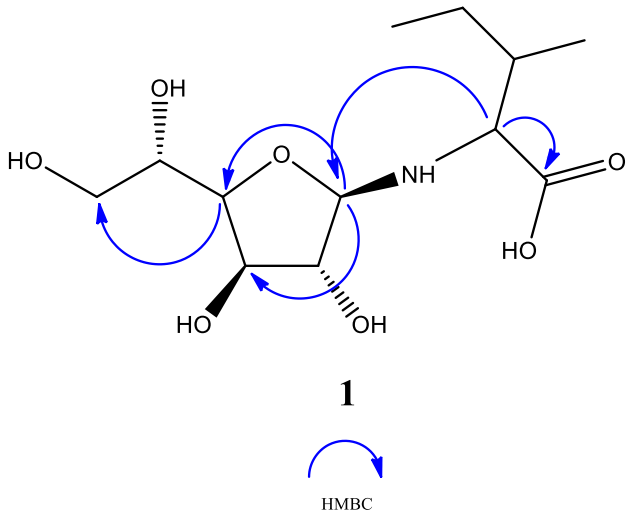


Figura S7. Correlações HMBC do composto 1.

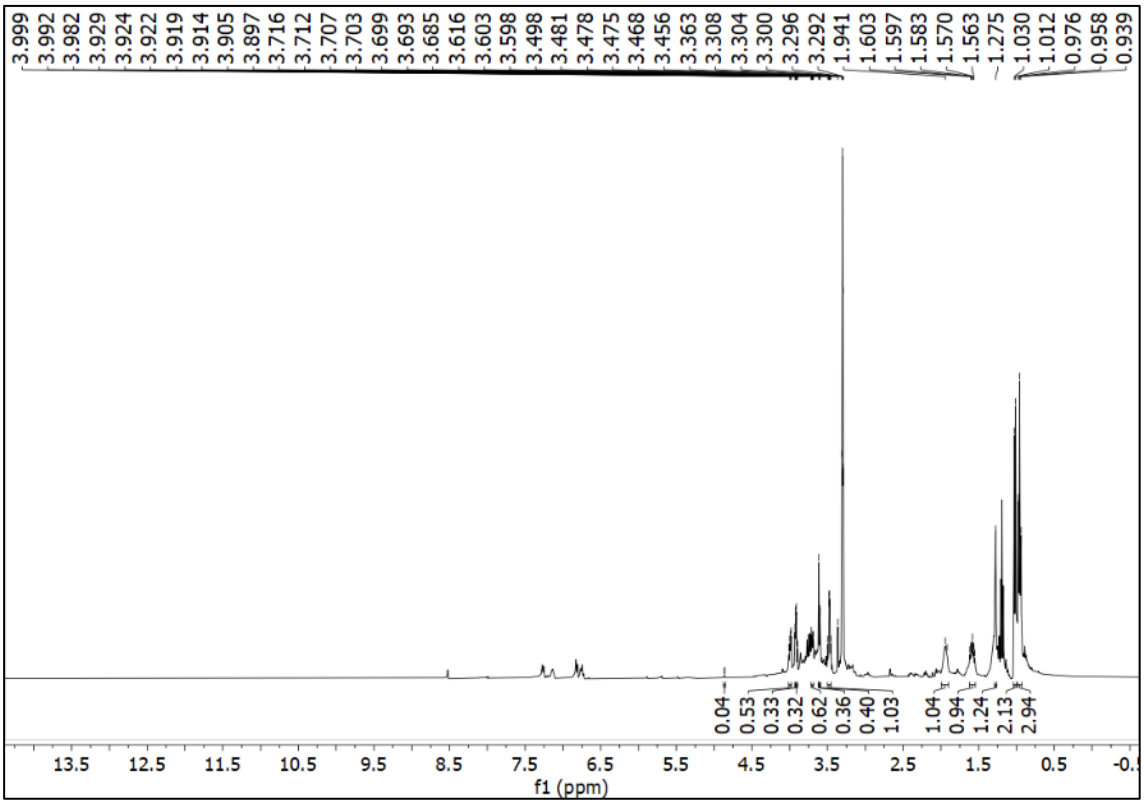


Figura S8. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

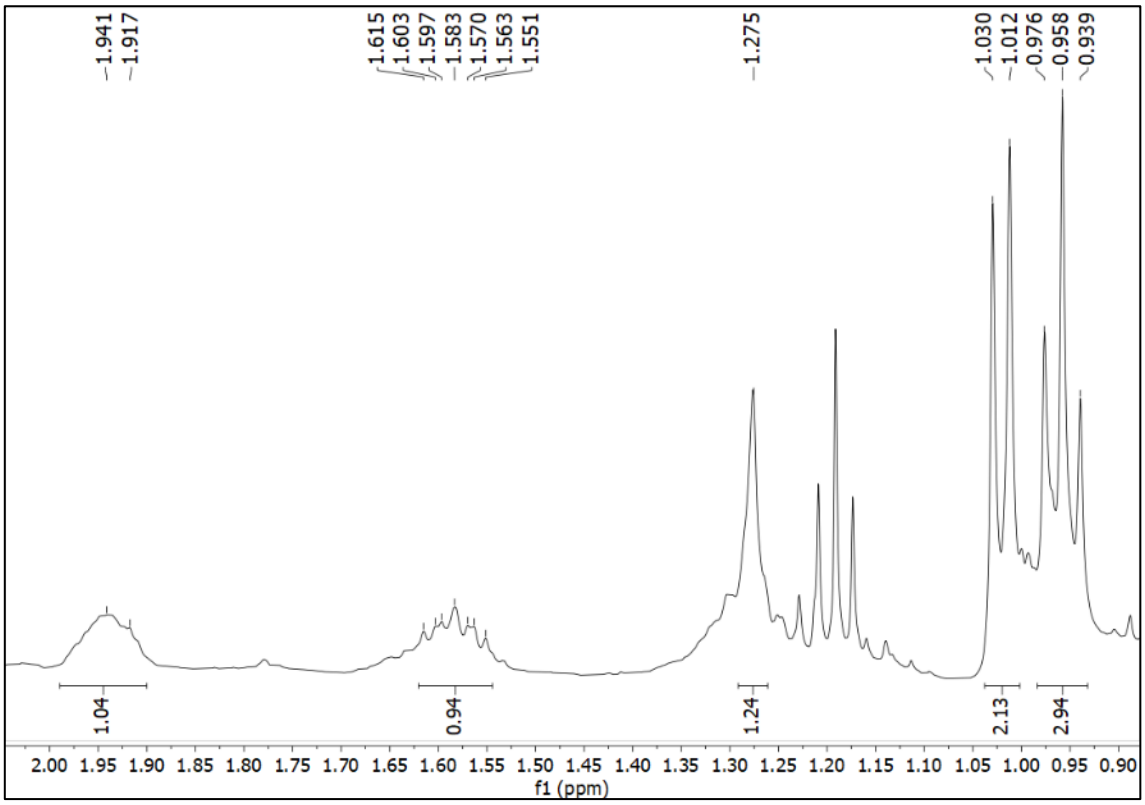


Figura S9. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 1 na região de 0,9–2,0 ppm.

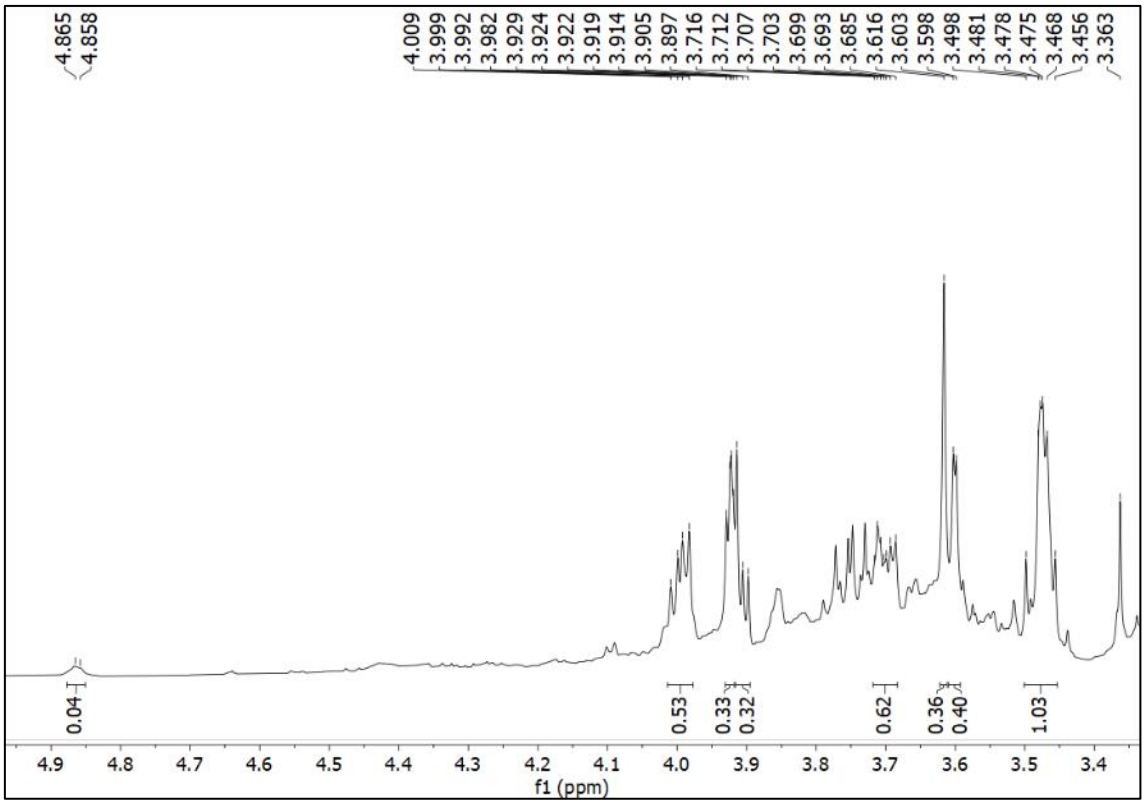


Figura S10. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 1 na região de 3,4–4,9 ppm.

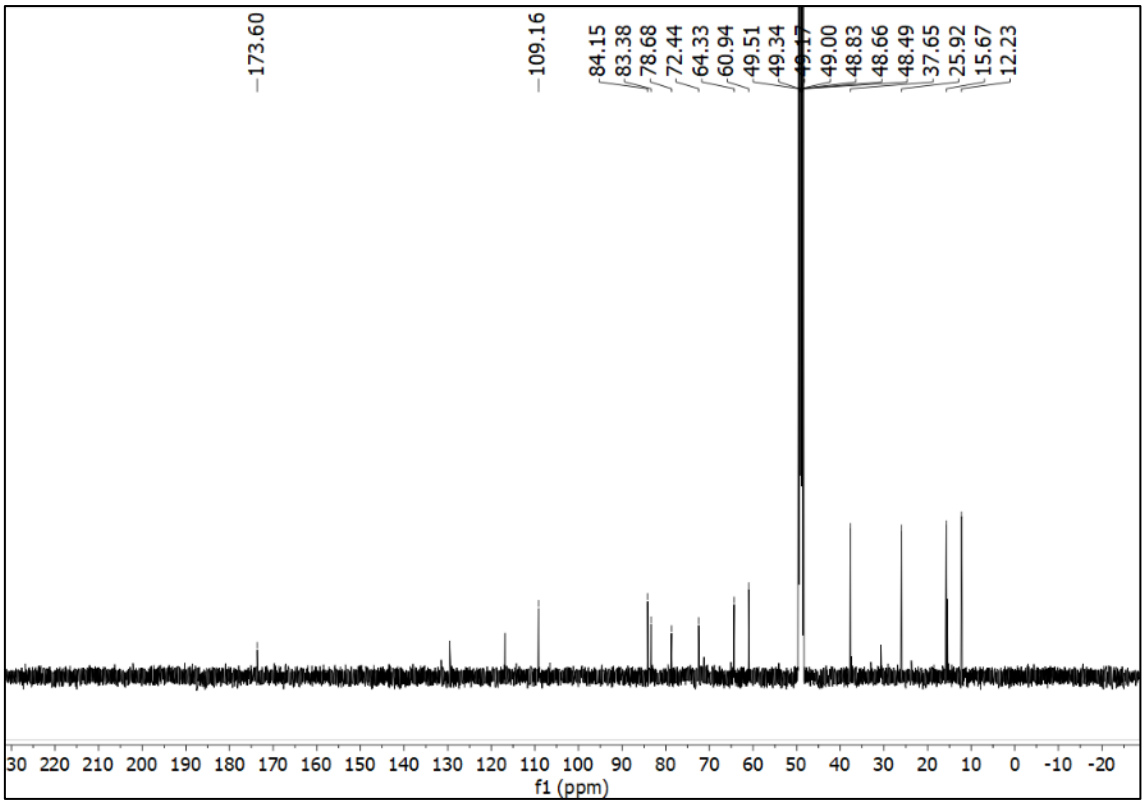


Figura S11. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

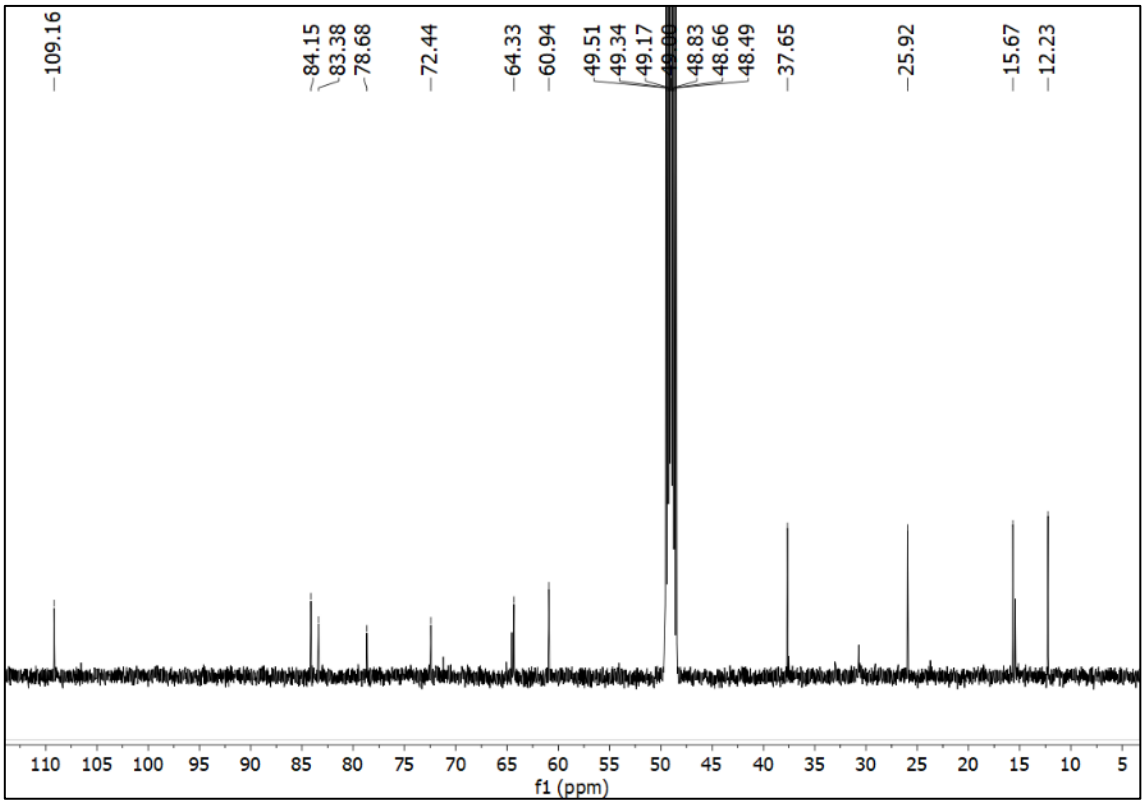


Figura S12. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, metanol-d_4) do composto 1 na região de 5–110 ppm.

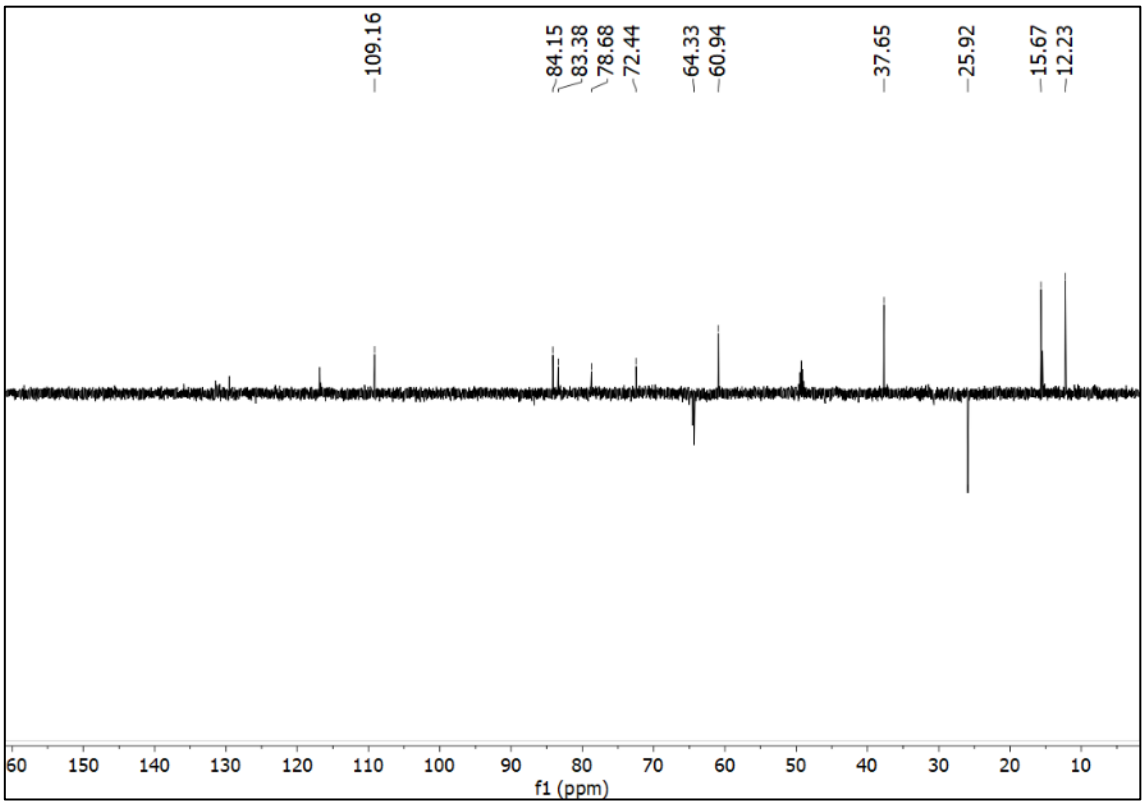


Figura S13. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT 135 (100 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

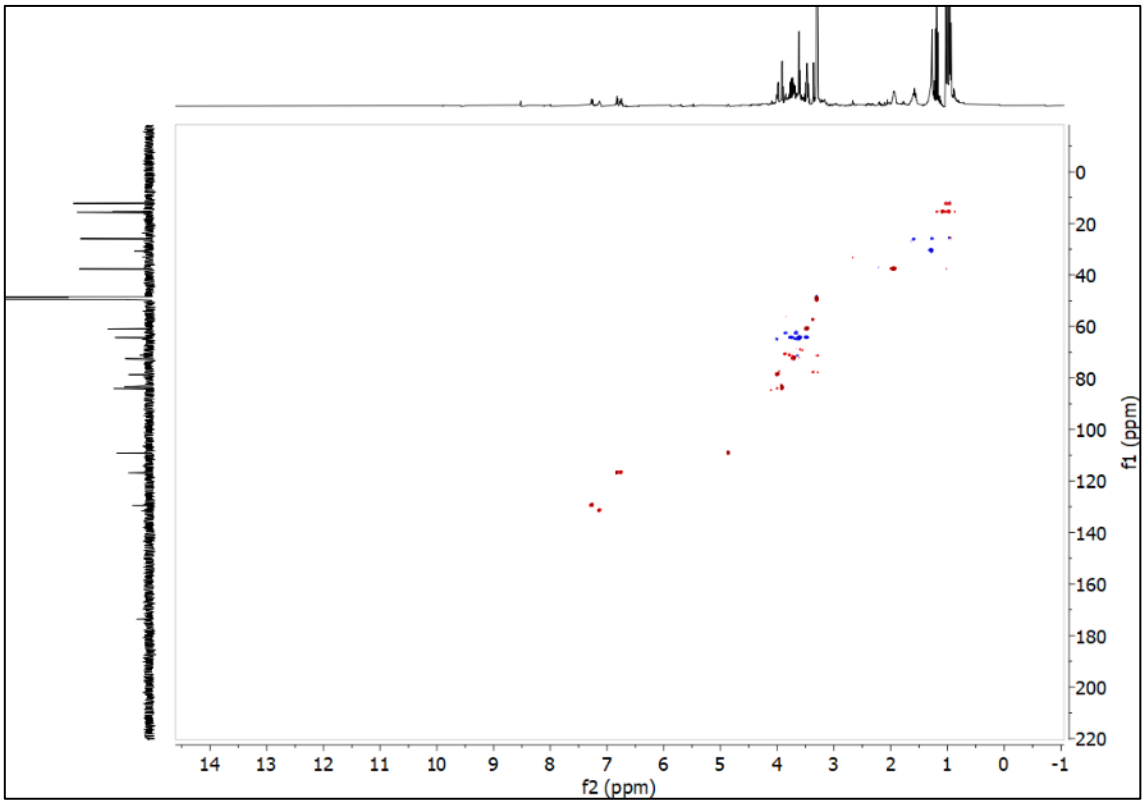


Figura S14. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

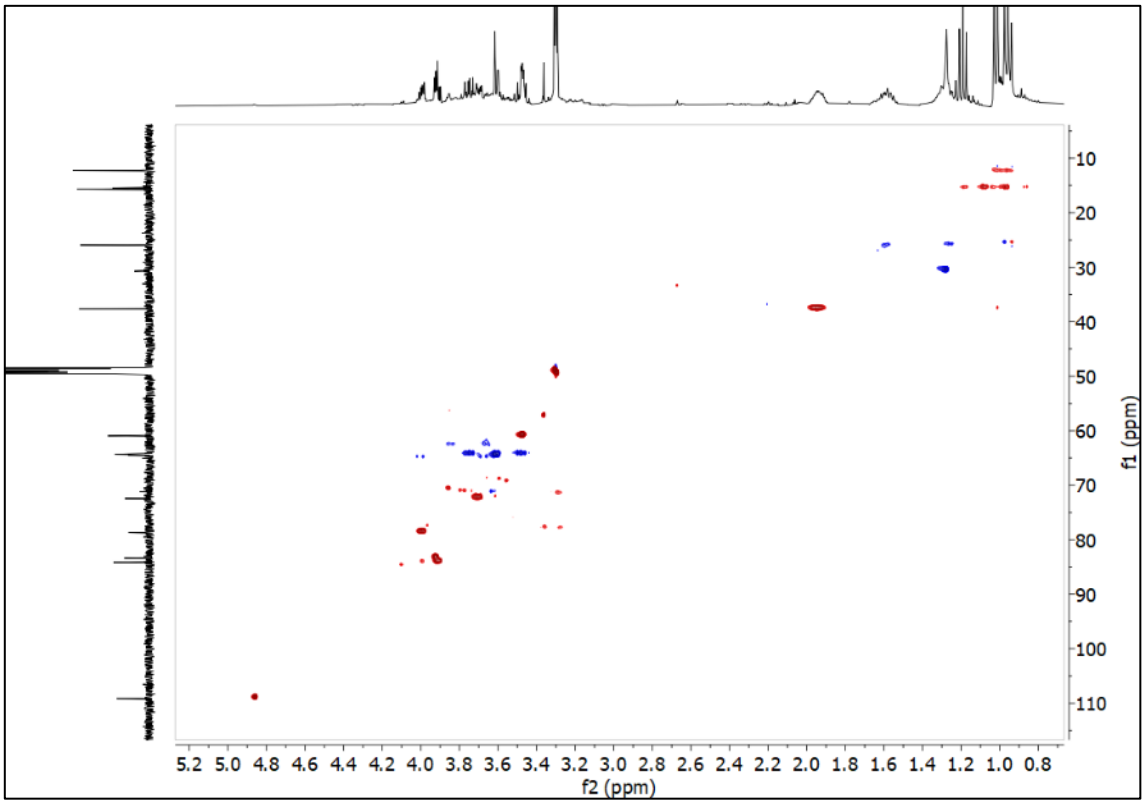


Figura S15. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1 nas regiões de 10–110 e 0,8–5,2 ppm.

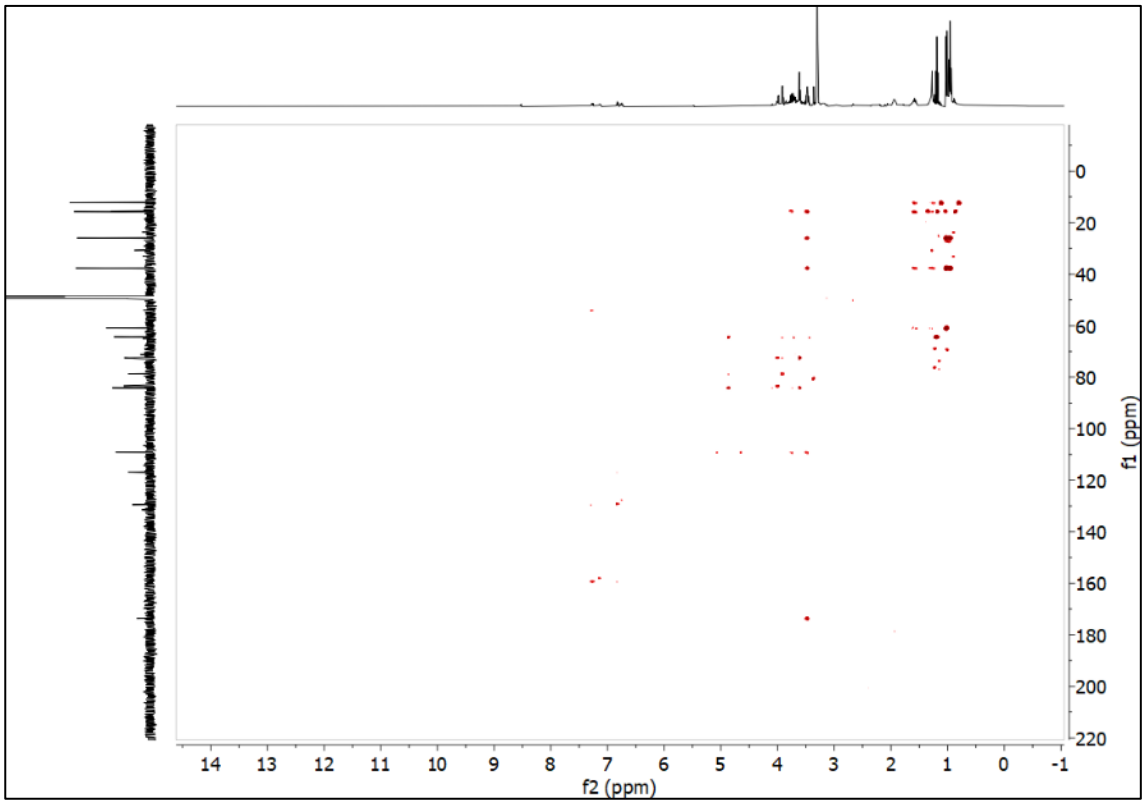


Figura S16. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

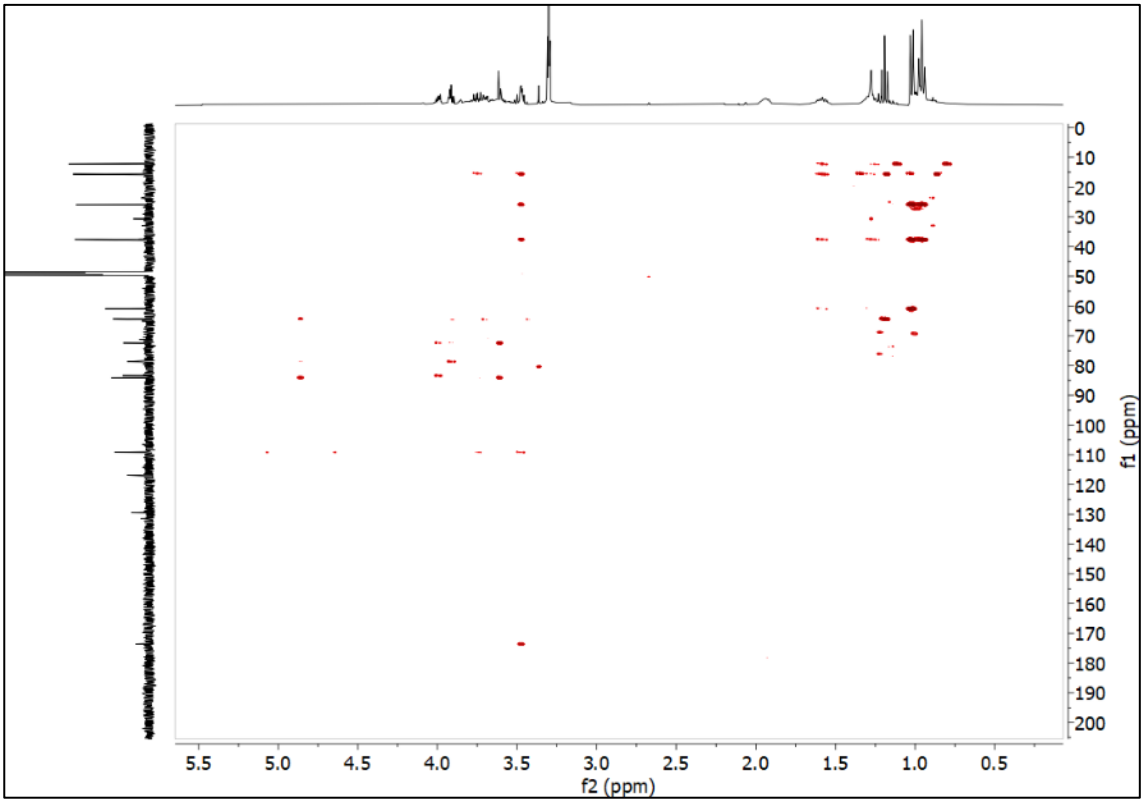


Figura S17. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1 nas regiões de 0–200 ppm e 0,5–5,5 ppm.

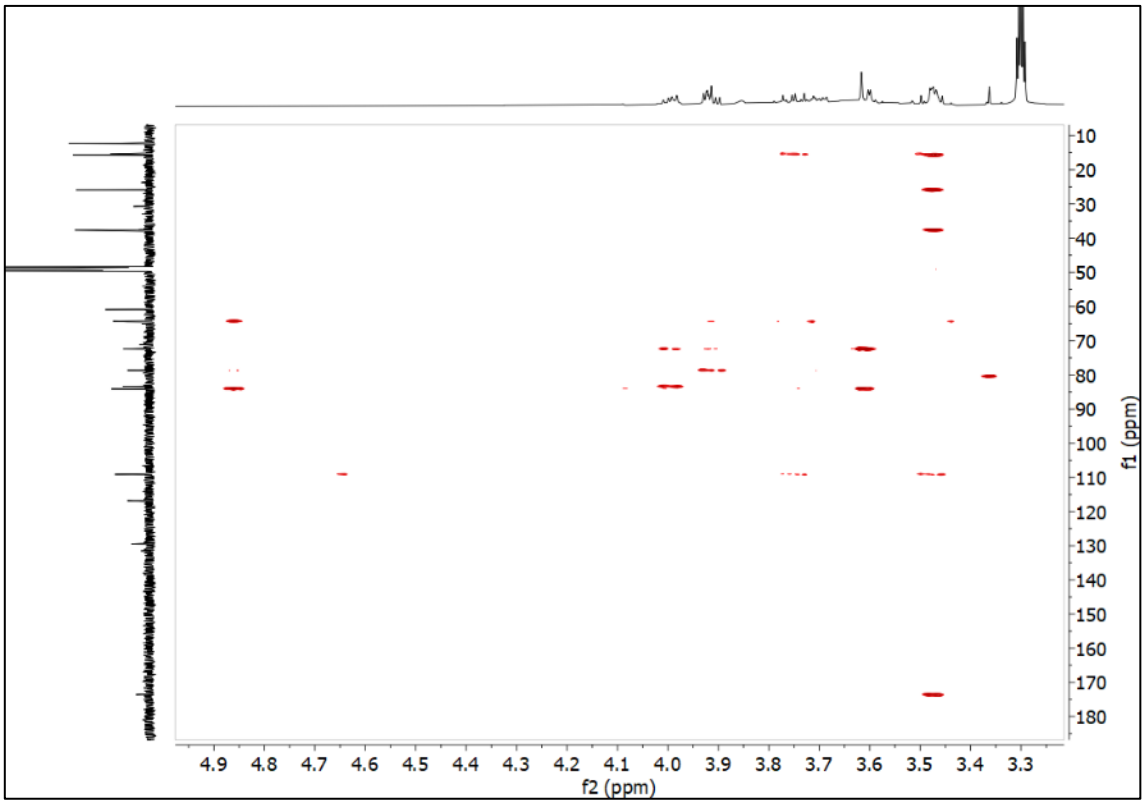


Figura S18. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, metanol-d_4) do composto 1 nas regiões de 10–180 ppm e 3,3–4,9 ppm.

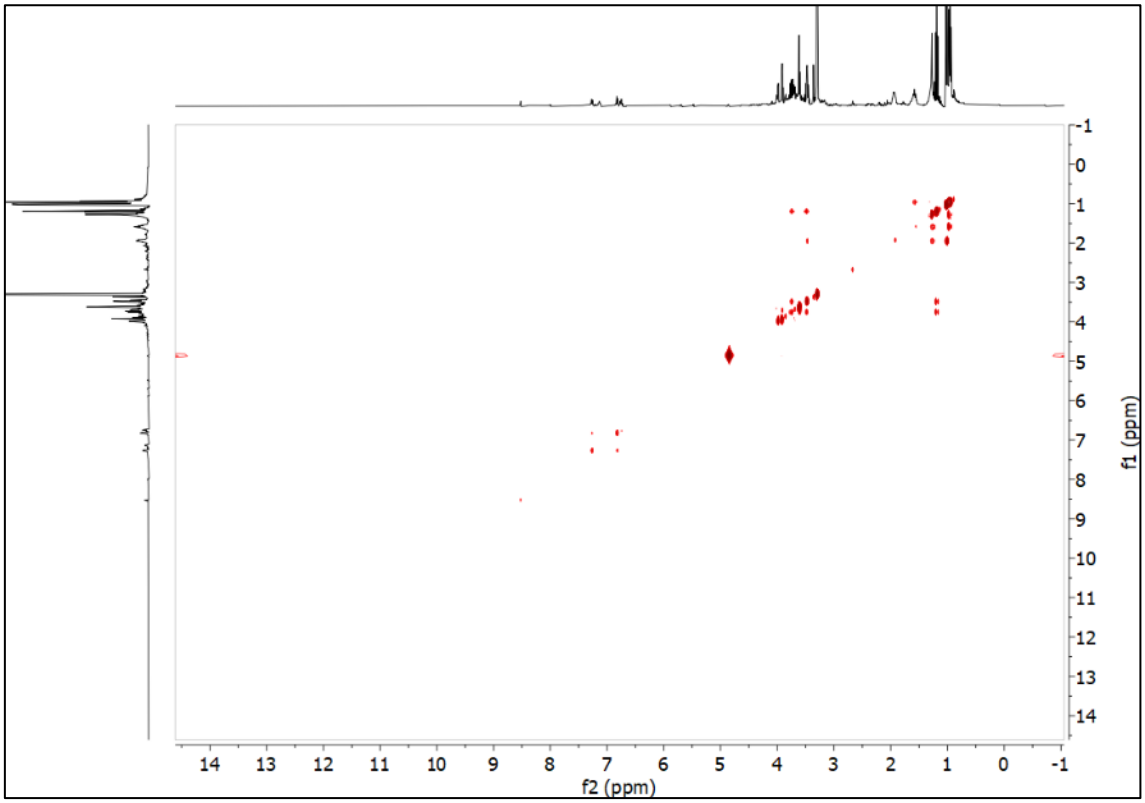


Figura S19. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, metanol-d_4) do composto 1.

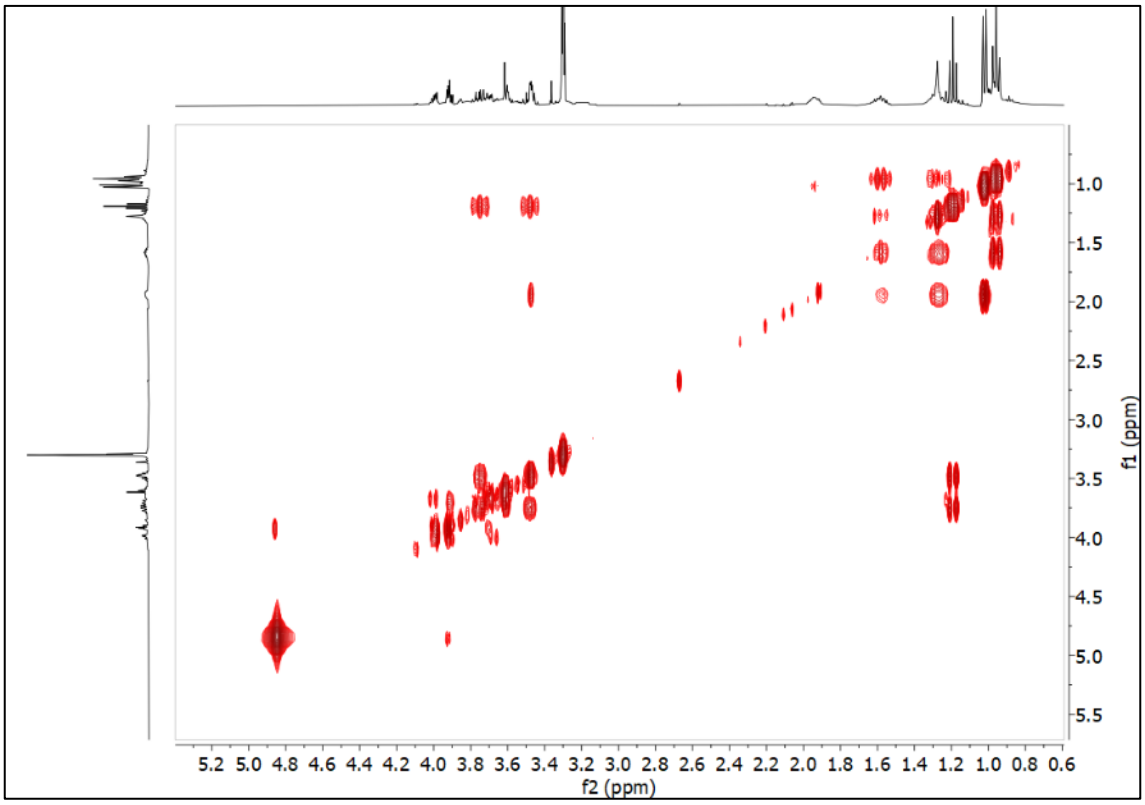


Figura S20. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, metanol-d_4) do composto 1 nas regiões de 1,0–5,5 ppm e 0,6–5,2 ppm.

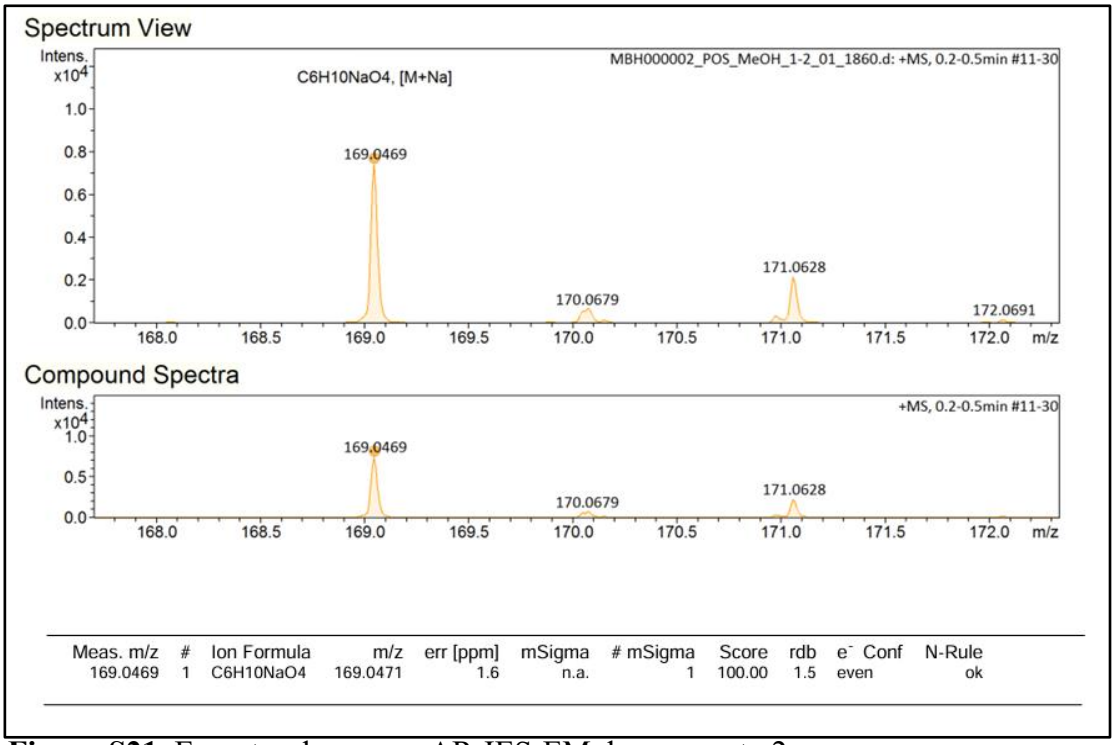


Figura S21. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 2.

	2		(Vinaykumar et al., 2023)	
Nº	^{1}H, multo. (*J* em Hz)	^{13}C	^{1}H, mult. (*J* em Hz)	^{13}C
1	3.93 m, (1H)	73.8	3.94 *dt*, 1.7; 7.6 Hz (1H)	73.9
2	3.61 *dd*, 7.6; 10.4 Hz (1H)	72.6	3.63 *dd*, 7.6; 10.3 Hz (1H)	72.7
3	3.41 *dd*, 4.4; 10.4 Hz (1H)	68.0	3.43 *dd*, 4.2; 10.3 Hz (1H)	68.0
4	4.16 *t*, *J* = 4.4 Hz (1H)	74.0	4.17 *t*, *J* = 4.4 Hz (1H)	74.0
5	5.78 *ddd*, *J* = 10.0; 4.4; 2.0 Hz (1H)	133.8	5.80 *ddd*, *J* = 1.7; 4.7; 9.6 Hz (1H)	133.8
6	5,72 (*dd, J* = 2.0; 10.0 Hz (1H)	128.0	5,72 (*dd, J* = 1.4; 10.0 Hz (1H)	128.1

Tabela S2. Dados de RMN de ^{1}H, ^{13}C-BB e DEPT 135 de 2 comparados com dados da literatura (400 e 100 MHz, respectivamente, em metanol-d_4).

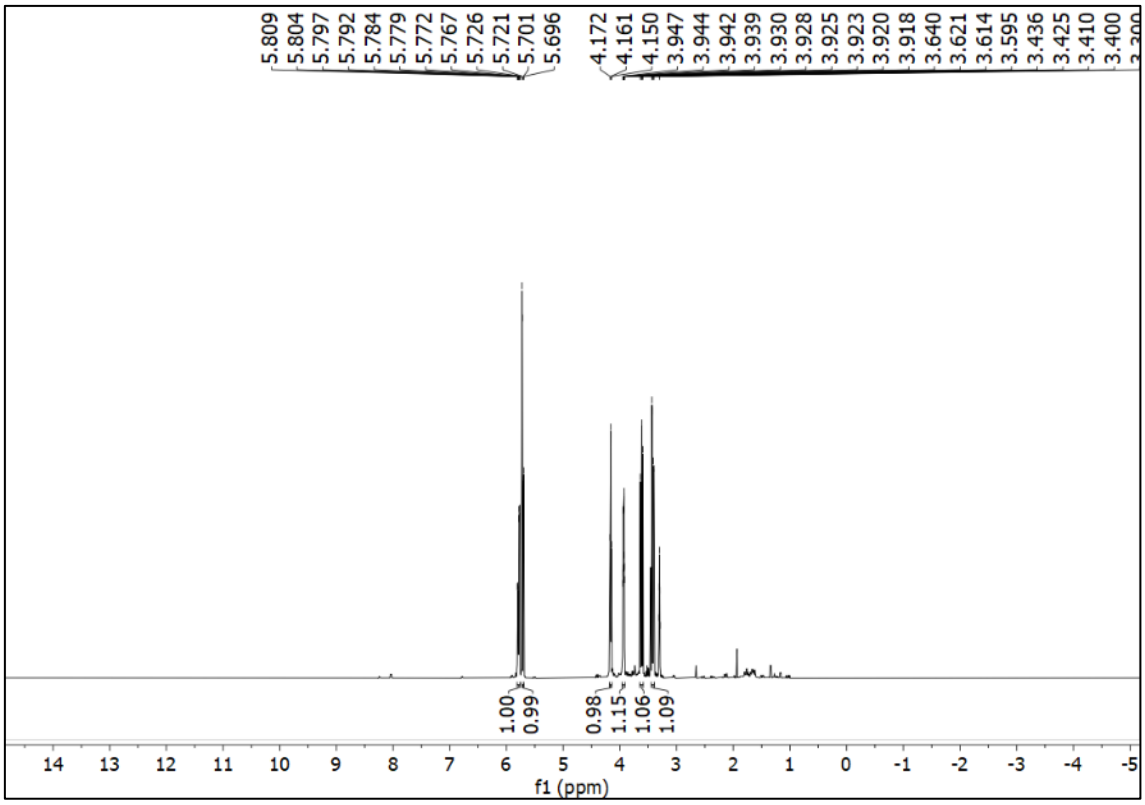


Figura S22. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 2.

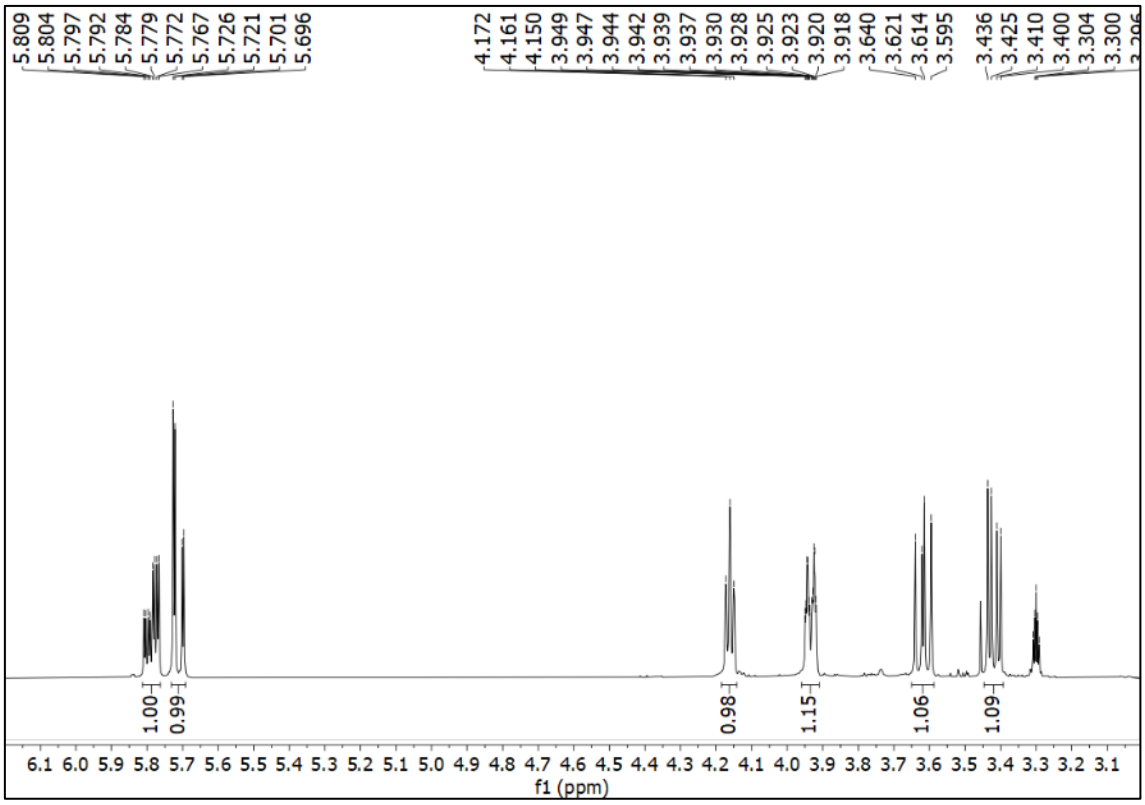


Figura S23. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 2 na região de 3,1–6,1 ppm.

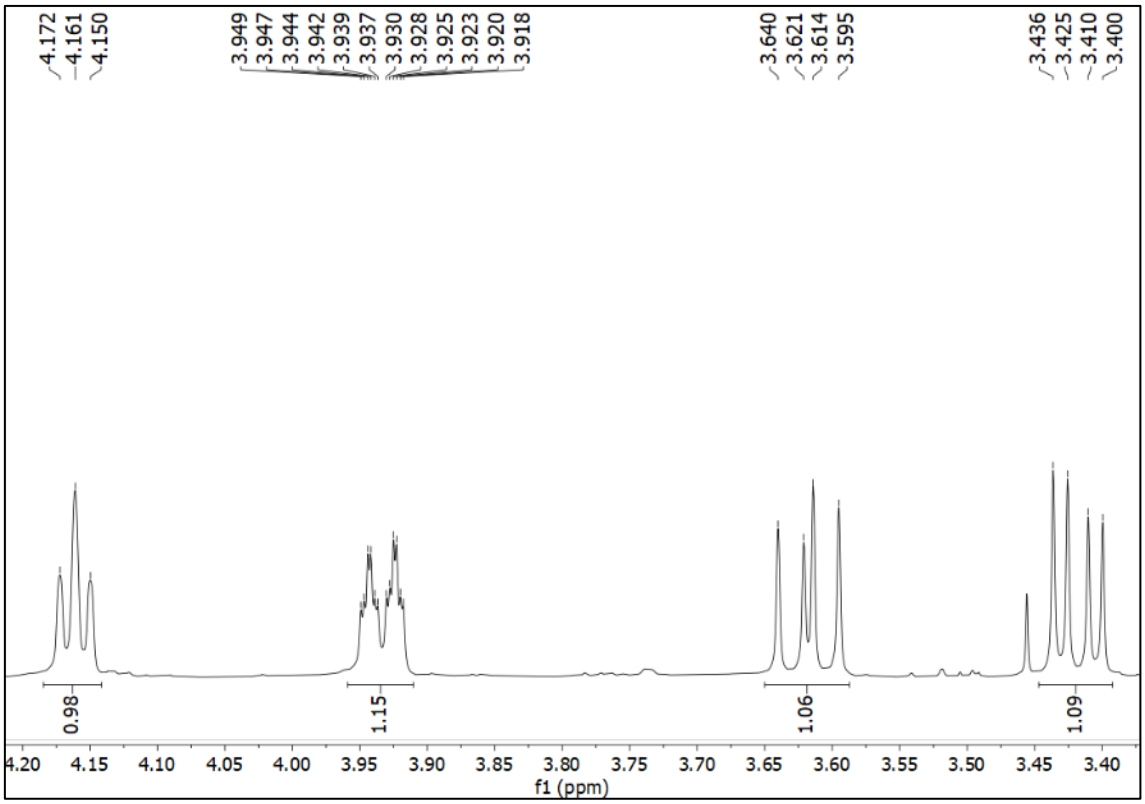


Figura S24. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, metanol-d_4) do composto 2 na região de 3,4–4,2 ppm.

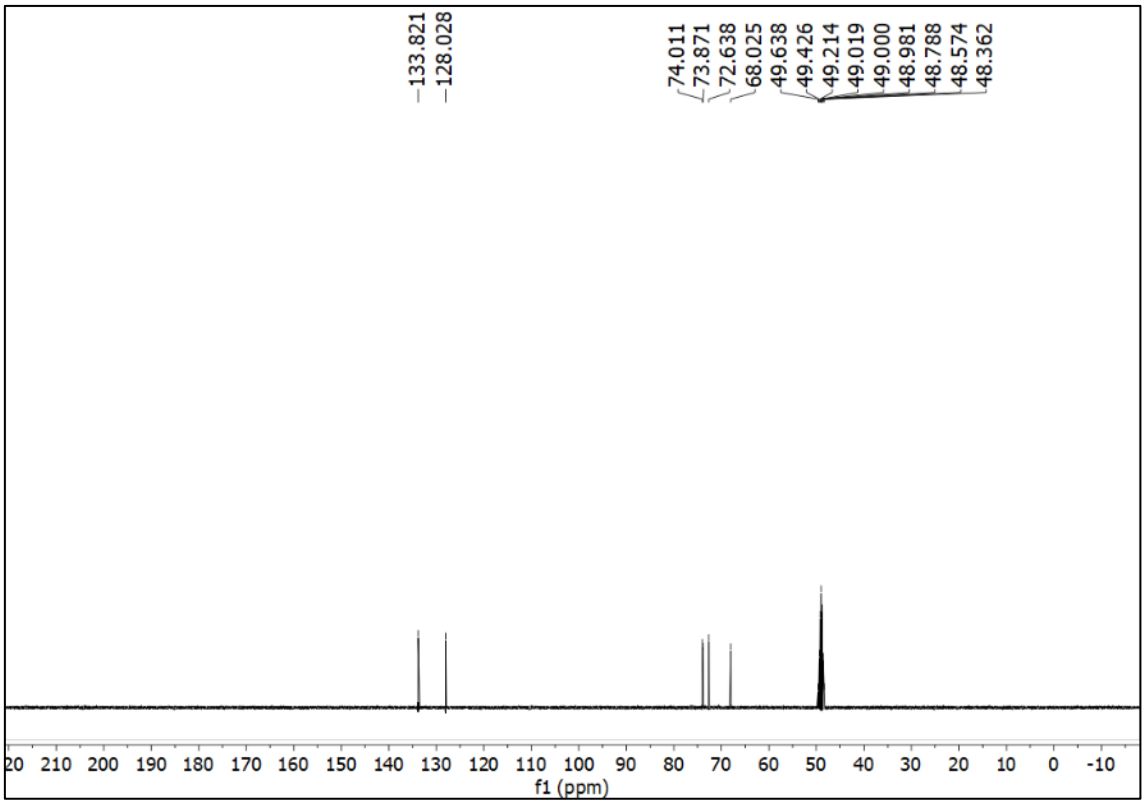


Figura S25. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, metanol-d_4) do composto 2.

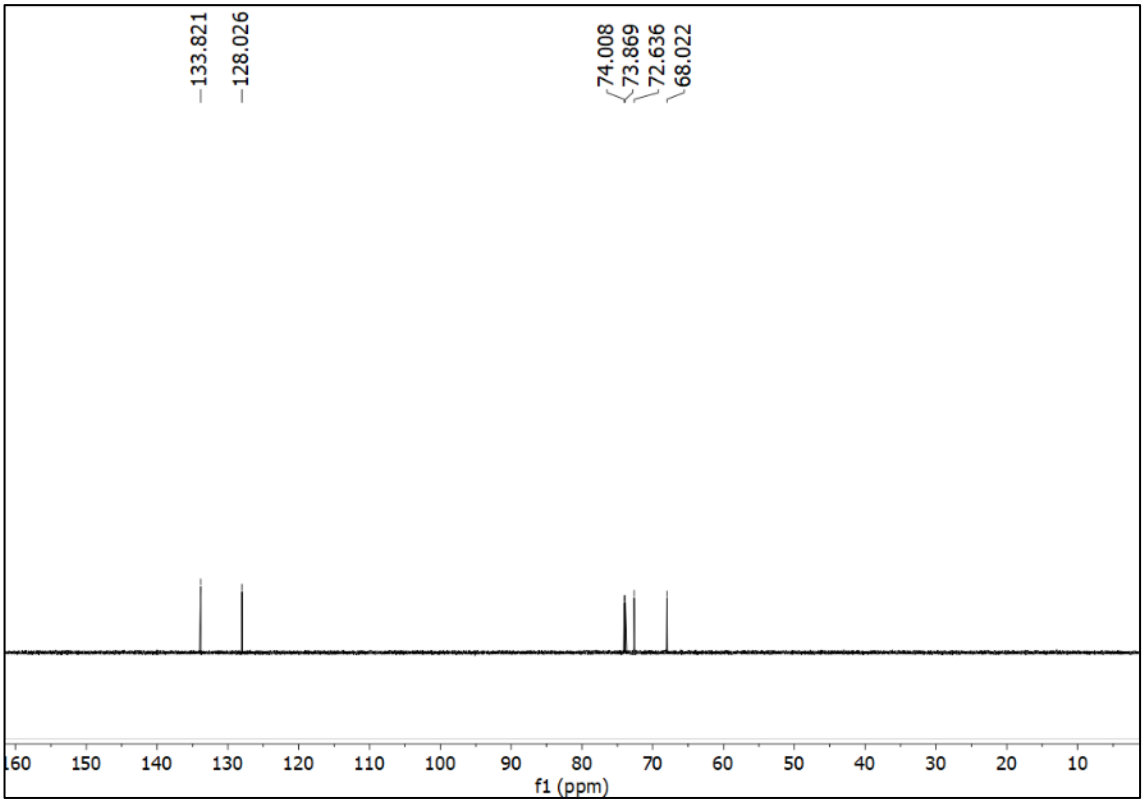


Figura S26. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT 135 (100 MHz, metanol-d_4) do composto 2.

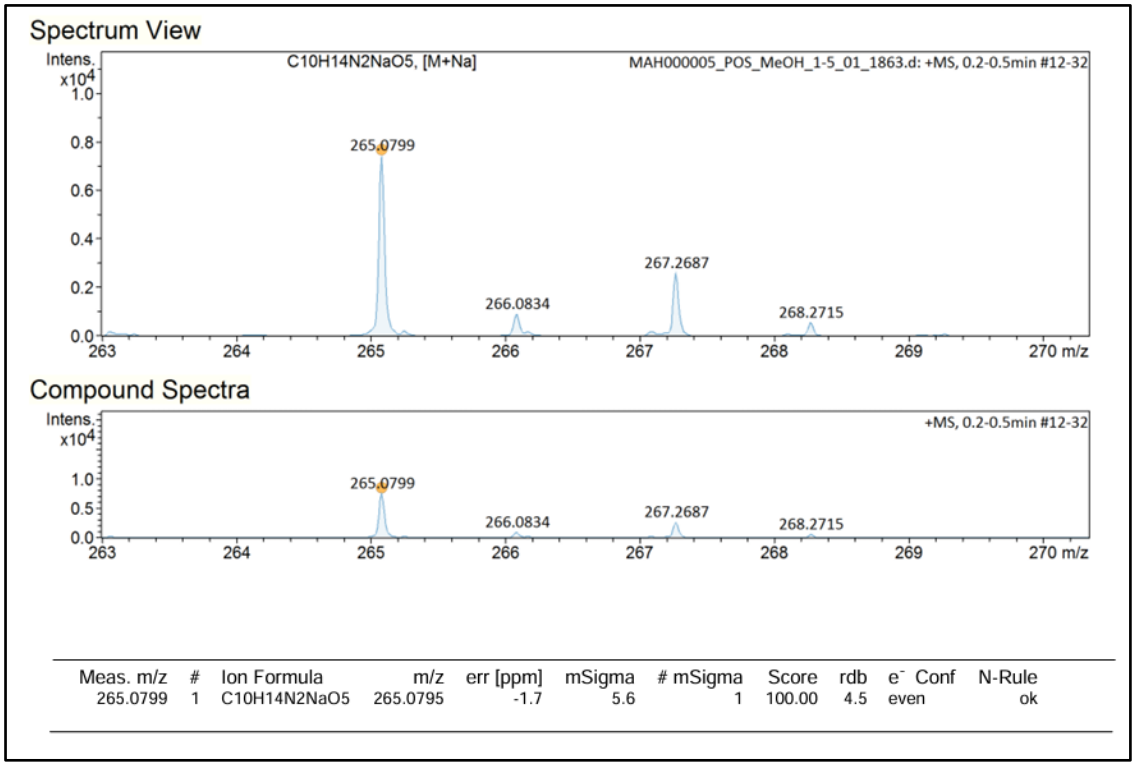


Figura S27. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 3.

	3		(Nath et al., 2004)	
Nº	^{1}H, mult. (*J* em Hz)	^{13}C	^{1}H, mult. (*J* em Hz)	^{13}C
2	-	150.7	-	150.3
4	-	164.2	-	163.6
5	-	109.7	-	109.2
6	7.70 *s* (1H)	136.4	7.71 *s* (1H)	135.9
7	1.76 *s* (3H)	12.4	1.78 *s* (3H)	12.1
1'	6.15 *t*, *J* = 5.2 Hz (1H)	84.0	6.18 *t* (1H)	83.6
2'	2.06 *m* (2H)	39.6	2.08 m (2H)	39.3
3'	3.55 *dd*, *J* = 3.5; 11.0 Hz (1H)	70.6	3.58 *dt* (1H)	70.3
4'	3.75 *q*, *J* = 2.8 Hz (1H)	87.4	3.78 m (1H)	87.1
5'	4.23 *t*, *J* = 2.0 Hz (2H)	61.5	4.25 m (2H)	61.2

Tabela S3. Dados de RMN de ^{1}H, ^{13}C-BB e DEPT 135 de 3 comparados com dados da literatura (500 e 100 MHz, respectivamente, em DMSO-d_6).

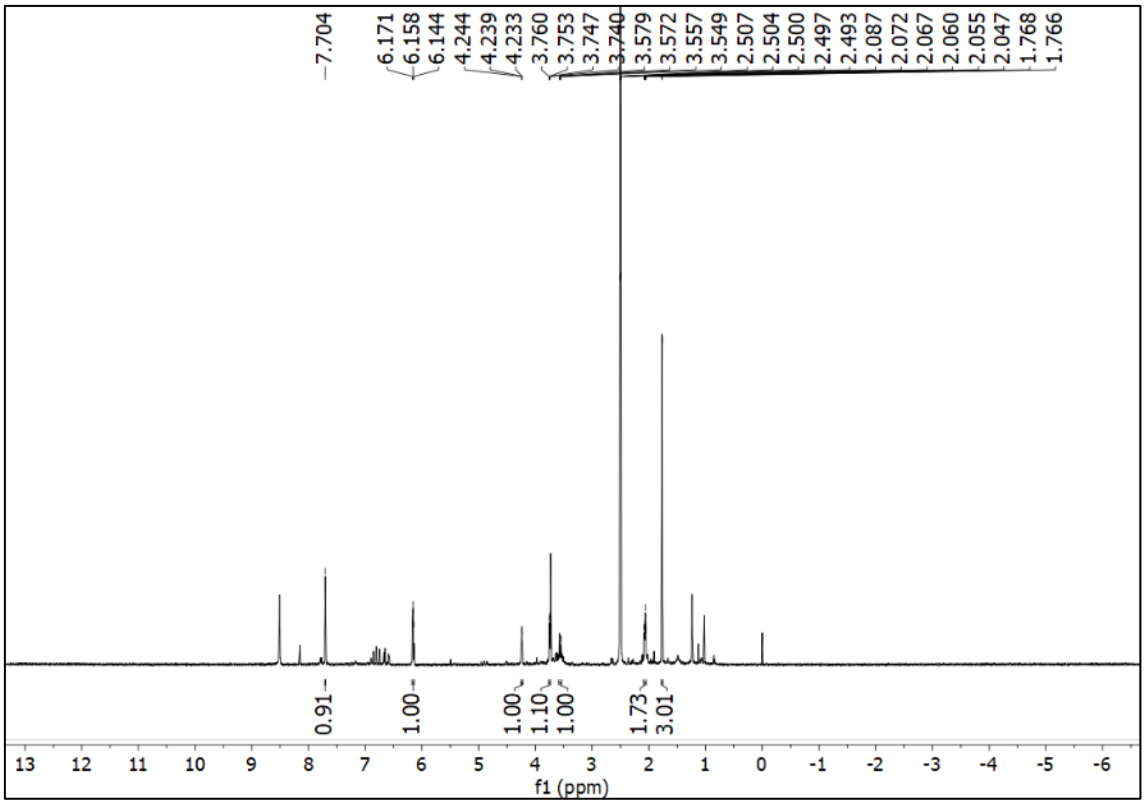


Figura S28. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto 3.

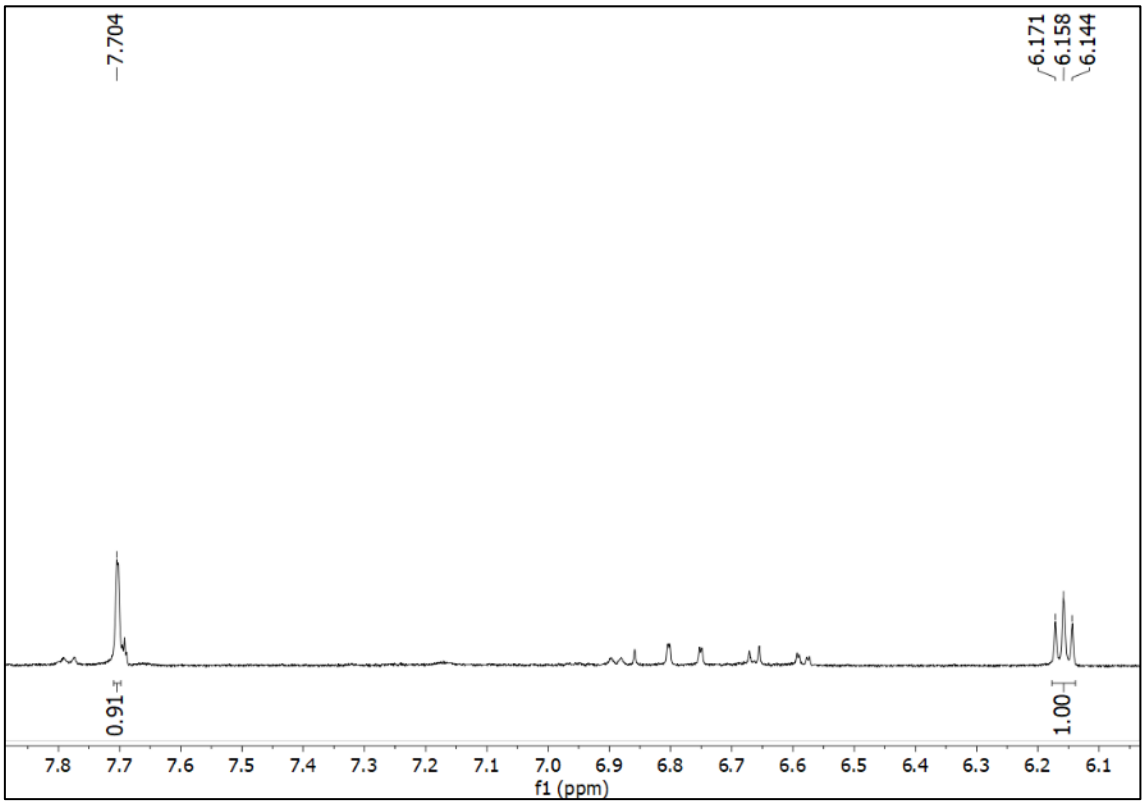


Figura S29. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto 3 na região de 6,1–7,8 ppm.

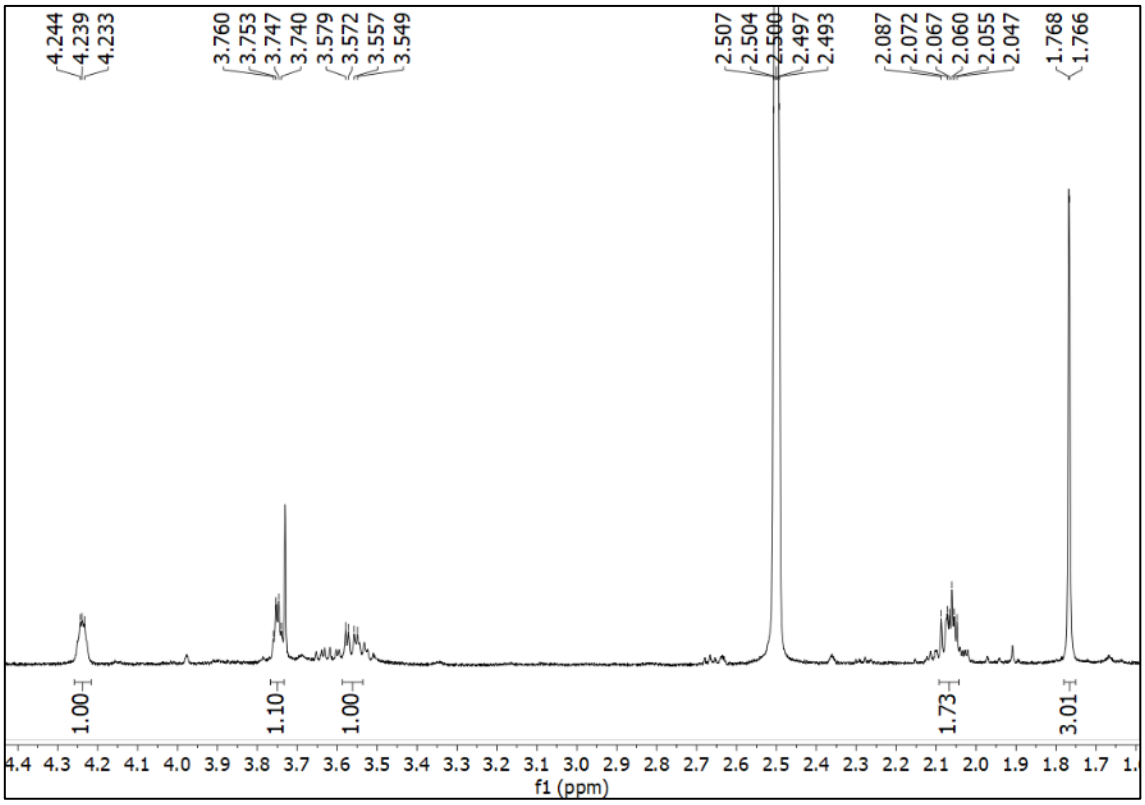


Figura S30. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, DMSO-d_6) do composto 3 na região de 1,7–4,4 ppm.

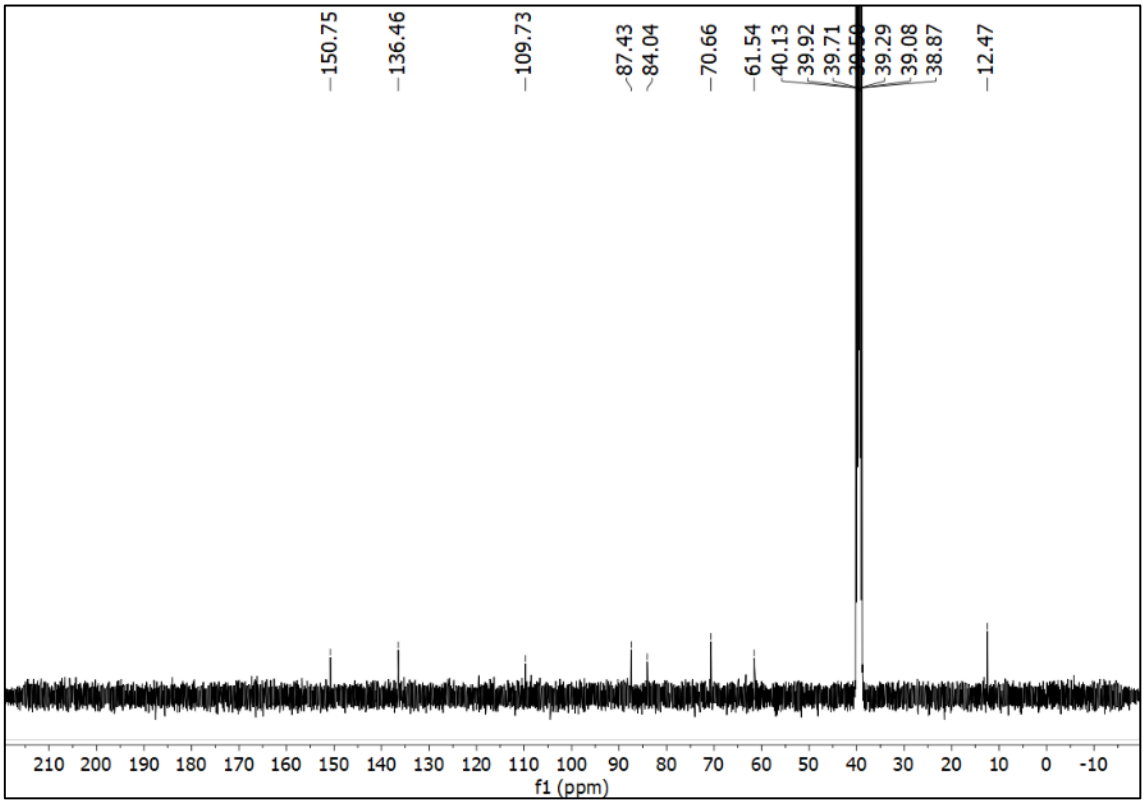


Figura S31. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, DMSO-d_6) do composto 3.

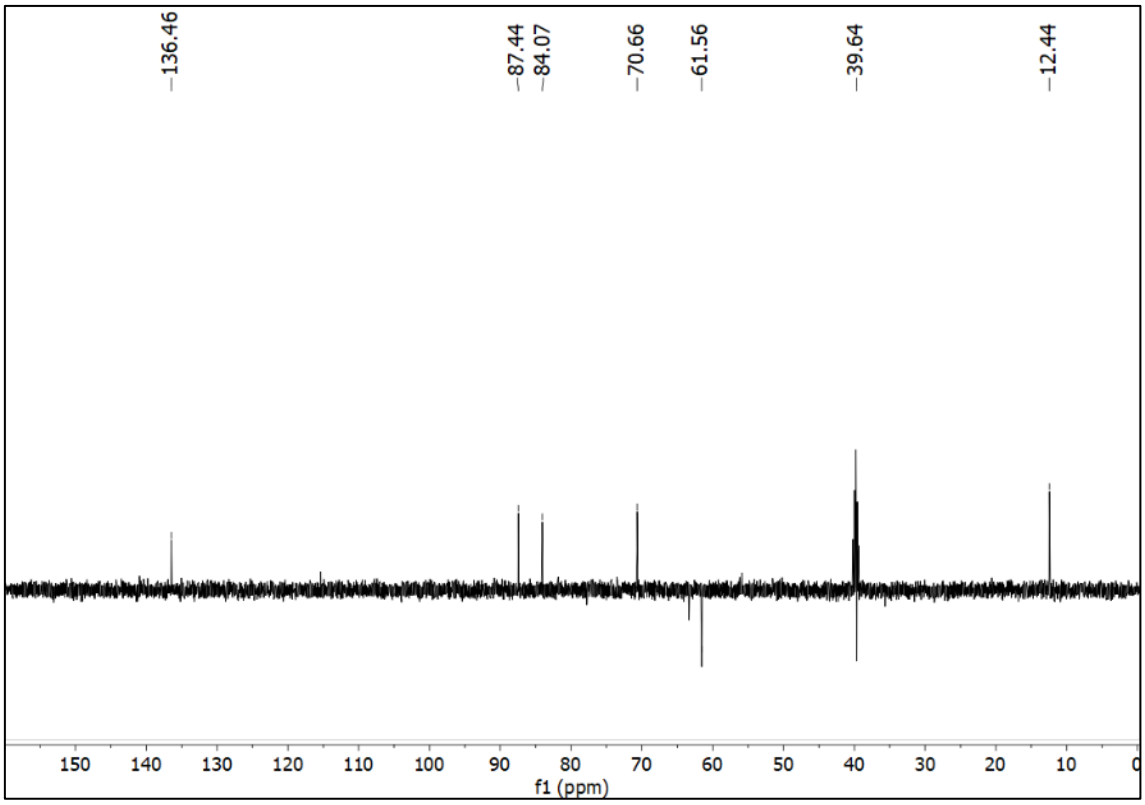


Figura S32. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT 135 (100 MHz, DMSO-d_6) do composto 3.

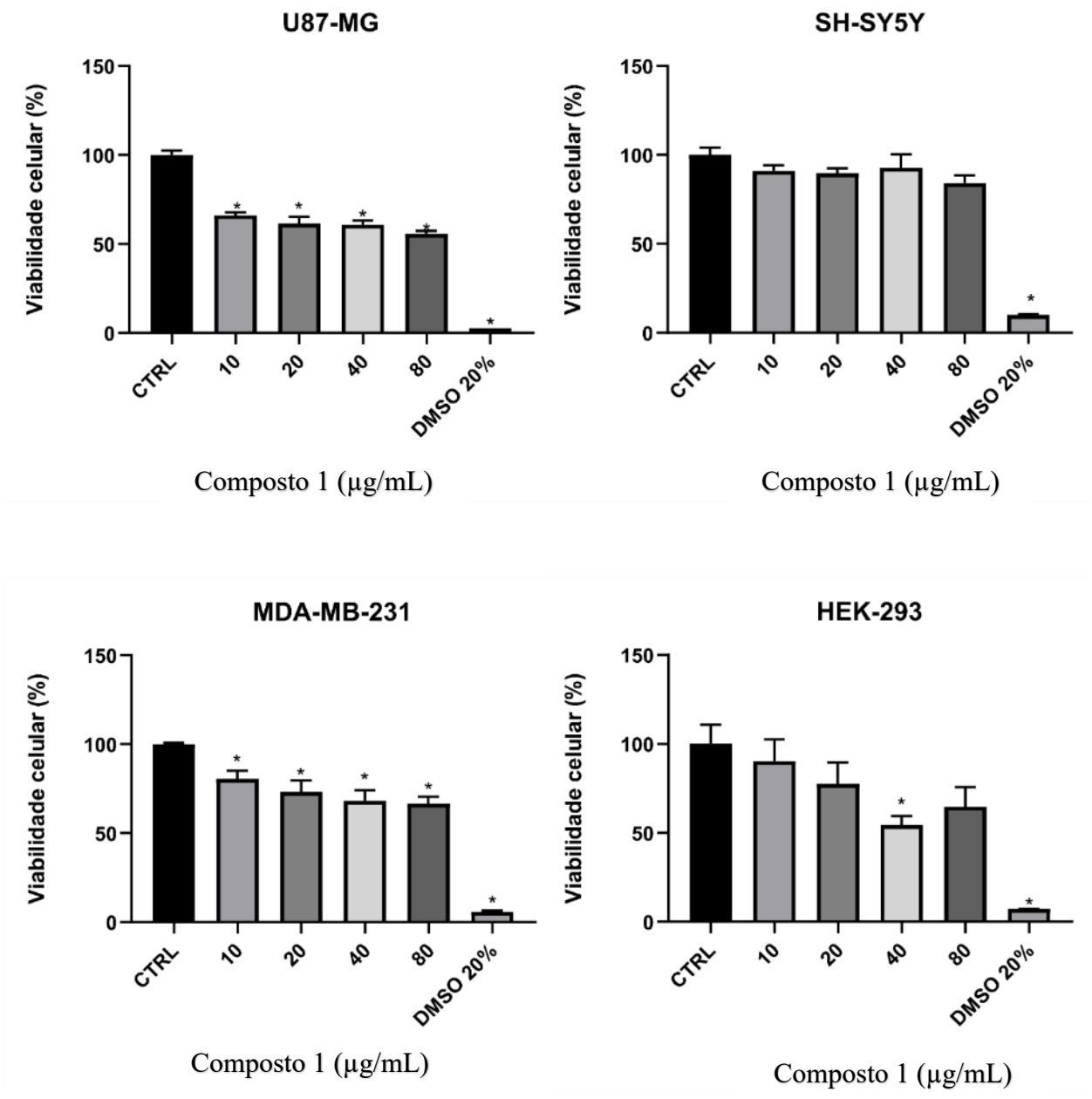


Figura S33. Citotoxicidade do composto 1 em linhas celulares tumorais humanas U87-MG, SH-SY5Y, MDA-MB-231 e linha celular não tumoral humana embrionária HEK-293, após 24 horas de tratamento. Viabilidade celular (%) após 24 h de tratamento com o composto 1 (µg/mL). Os dados são apresentados como média ± SEM, analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste de Tukey. * indica diferenças significativas entre as condições; $p < 0,05$.

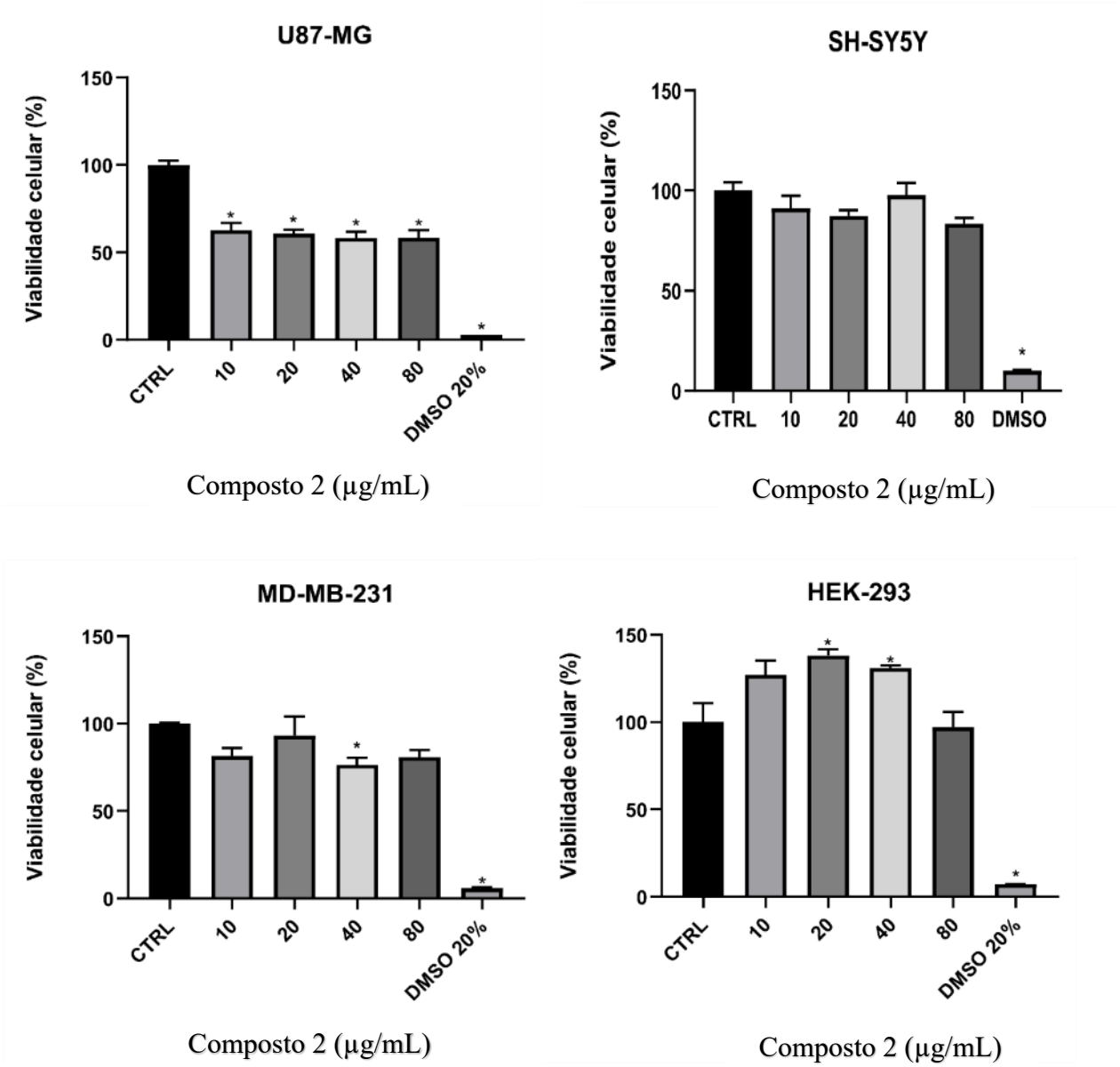


Figura S34. Citotoxicidade do composto 2 em linhas celulares tumorais humanas U87-MG, SH-SY5Y, MDA-MB-231 e linha celular não tumoral humana embrionária HEK-293, após 24 horas de tratamento. Viabilidade celular (%) após 24 h de tratamento com o composto 2 (µg/mL). Os dados são apresentados como média ± SEM, analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste de Tukey. * indica diferenças significativas entre as condições; $p < 0,05$.

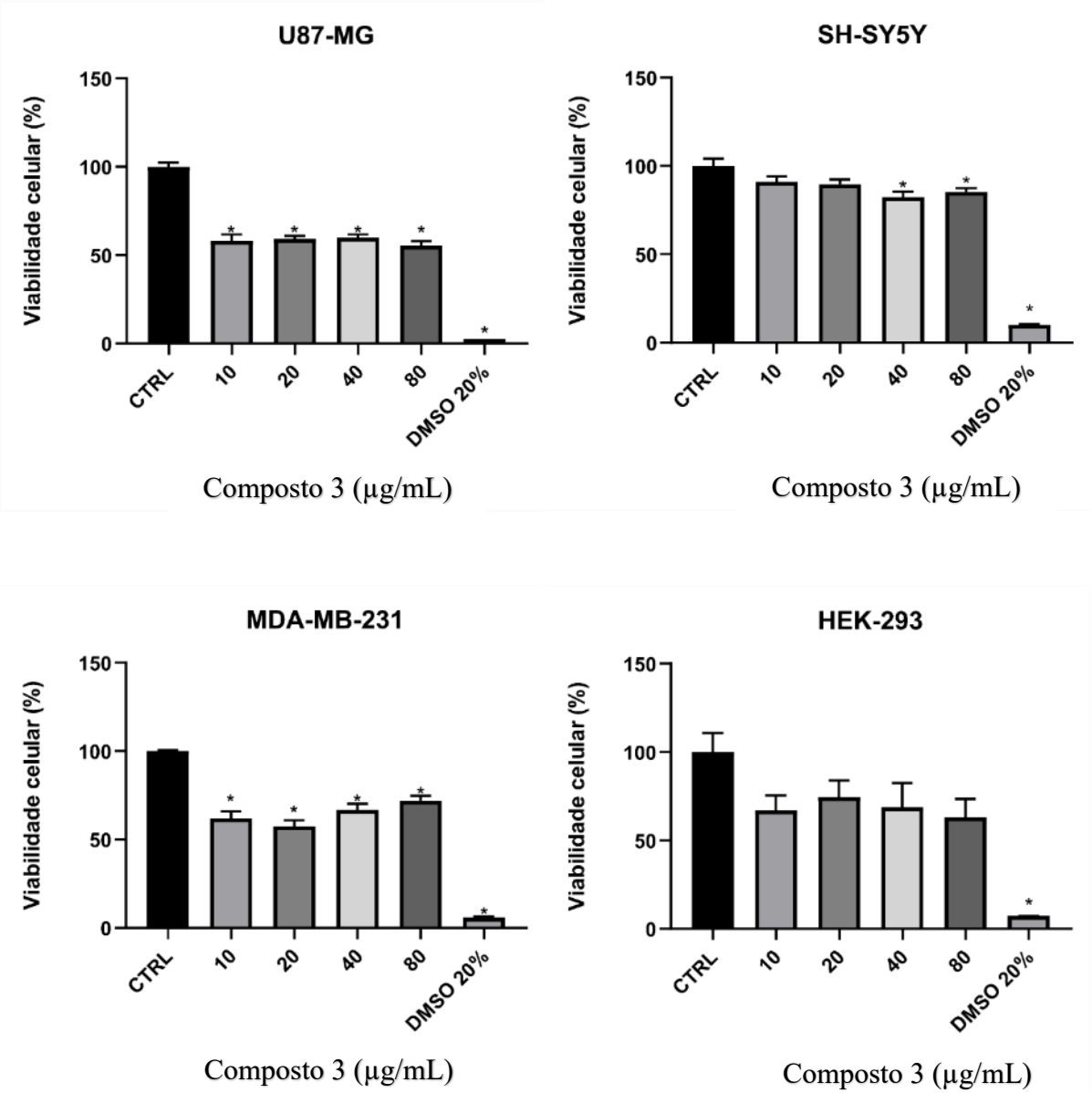


Figura S35. Citotoxicidade do composto 3 em linhas celulares tumorais humanas U87-MG, SH-SY5Y, MDA-MB-231 e linha celular não tumoral humana embrionária HEK-293, após 24 horas de tratamento. Viabilidade celular (%) após 24 h de tratamento com o composto 3 (µg/mL). Os dados são apresentados como média ± SEM, analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste de Tukey. * indica diferenças significativas entre as condições; $p < 0,05$.

Referências

Nath, M., Jairath, R., Eng, G., Song, X., & Kumar, A. (2004). Interaction of triorganotin (IV) cations with pyrimidine bases/nucleoside: Synthesis, spectral characterization and biological studies of a novel triphenyltin (IV) derivative of thymidine. *Inorganic Chemistry Communications*, *7*(10). https://doi.org/10.1016/j.inoche.2004.08.013

Vinaykumar, A., Surender, B., & Rao, B. V. (2023). Chemoselective Nozaki-Hiyama-Takai-Kishi and Grignard reaction: short synthesis of some carbahexopyranoses. *RSC Advances*, *13*(33). https://doi.org/10.1039/d3ra03704e

Wang, M., Ji, Q., Lai, B., Liu, Y., & Mei, K. (2023). Structure-function and engineering of plant UDP-glycosyltransferase. In *Computational and Structural Biotechnology Journal* (Vol. 21, pp. 5358–5371). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.10.046

Yao, J., Xing, X., Yu, L., Wang, Y., Zhang, X., & Zhang, L. (2022). Structure function relationships in plant UDP-glycosyltransferases. In *Industrial Crops and Products* (Vol. 189). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115784

5.2.Manuscrito: Ruehssiosides A–R, Dezoito Novos Glicosídeos pregnânicos de *Ruehssia caatingae*: Elucidação Estrutural, Atividade Anti-inflamatória e Insights sobre REA (Revista Bioorganic Chemistry).

Ruehssiosides A–R, Dezoito Novos Glicosídeos Pregnânicos de *Ruehssia caatingae*: Elucidação Estrutural, Atividade Anti-inflamatória e Insights sobre REA

Jociano da Silva Lins[a], Thalisson Amorim de Souza[a], Karoline Cristina Jatobá da Silva[d], Arthur Ribeiro de Souza[c], Cristiane Flora Villarreal[d], Lucas Silva Abreu[c], Fernando Martins dos Santos Junior[c], José Iranildo Miranda de Melo[b], Marcus Tullius Scotti[a], Marcelo Sobral da Silva[a], Josean Fechine Tavares[a*], José Maria Barbosa Filho[a].

[a]Universidade Federal da Paraiba, Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sinteticos Bioativos (PgPNSB), Centro de Ciências da Saúde, 58050-585, João Pessoa-PB, Brasil

[b] Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba, 58429-500, Campina Grande-PB, Brasil

[c]Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal Fluminense, 24020-141, Niterói-RJ, Brasil

[d]Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, 40170-115, Salvador-BA, Brasil

*Autor correspondente: Prof. Dr. Josean Fechine Tavares, Campus I Lot. Cidade Universitária, PB, 58051-900. E-mail: josean@ltf.ufpb.br

Resumo

A natureza sempre inspirou a descoberta de novos compostos para aliviar e tratar processos inflamatórios humanos, que estão relacionados a muitas doenças em condições agudas e crônicas. Encontrados em algumas espécies de Apocynaceae, os glicosídeos pregnânicos (GP) têm atraído atenção devido à sua promissora atividade anti-inflamatória. *Ruehssia* é um gênero neotropical endêmico de regiões áridas; no Brasil, a Caatinga é um importante hotspot para sua ocorrência. No entanto, nenhuma investigação química ou farmacológica foi conduzida em espécies de *Ruehssia*. Com base nisso, o presente trabalho buscou isolar, caracterizar e avaliar a atividade anti-inflamatória de GPs obtidos das raízes de *R. caatingae*. Para atingir esse objetivo, técnicas cromatográficas clássicas e instrumentais foram aplicadas, seguidas de

experimentos de RMN 1D e 2D, infravermelho e AR-IES-EM para auxiliar na elucidação estrutural. Para avaliar a atividade anti-inflamatória, foram utilizadas células murinas semelhantes a macrófagos J774.A1, estimuladas com lipopolissacarídeo (LPS) e interferon-gama (IFN-γ). Como resultado, dezoito novos GPs foram obtidas, denominadas Ruehssioside A–R (1–18). Dentre elas, a Ruehssioside J (composto 10) destacou-se como a mais potente da série, apresentando um IC_{50} de 17,5 μM e reduzindo a produção dos mediadores pró-inflamatórios IL-6 e IL-1β. Além disso, foi realizada uma análise da relação estrutura-atividade (REA), destacando os elementos estruturais que contribuem para a atividade anti-inflamatória (substituições em C-3 e C-20, bem como da presença de um hidrogênio em C-8, no aumento da potência e eficácia). Este trabalho incentiva o estudo contínuo de espécies de Apocynaceae, especialmente de ambientes pouco investigados, como fontes de substâncias anti-inflamatórias.

Palavras-chave: Subfamília Asclepiadoidea; saponinas**;** Insights de atividade

1 Introdução

A inflamação é uma resposta natural do organismo para se proteger e se recuperar de danos, infecções ou outros estímulos nocivos, manifestando-se pelos sinais clássicos de vermelhidão, inchaço, calor e dor na área afetada. No entanto, quando o sistema imunológico não consegue distinguir adequadamente entre elementos endógenos e exógenos, ou quando reage excessivamente a estímulos externos por um período prolongado, podem surgir distúrbios como doenças cardiovasculares e respiratórias, condições autoimunes, doenças neurodegenerativas, distúrbios metabólicos e certos tipos de câncer [1–3]. A família Apocynaceae está entre as mais representativas das angiospermas, compreendendo mais de 424 gêneros e aproximadamente 5.100 espécies, com distribuição predominantemente tropical e subtropical em todo o mundo. Essa característica reflete sua notável quimiodiversidade, que tem servido como fonte de moléculas bioativas com potencial anti-inflamatório e antitumoral, particularmente glicosídeos pregnânicos [4].

Glicosídeos pregnânicos são compostos anfifílicos constituídos por uma porção hidrofóbica formada pelo núcleo C21 do esteroide pregnano, que apresenta um esqueleto ciclopentanoperidrofenantreno (C17) com substituintes metílicos adicionais orientados para β em C-10 e C-13, bem como um grupo etil ligado a C-17, e uma porção hidrofílica composta por unidades de açúcar em cadeias que variam de um a seis. Esses açúcares geralmente estão ligados em C-3 ou C-20 da aglicona por meio de ligações éter. Os glicosídeos pregnânicos são

amplamente distribuídos no reino vegetal, particularmente na subfamília Asclepiadoideae (Apocynaceae) [5,6].

Estudos filogenéticos recentes demonstraram que espécies americanas de *Marsdenia* formam um grupo monofilético, distinto do táxon asiático representado por *M. tinctoria*. Consequentemente, o gênero *Ruehssia* H. Karst foi reintegrado para acomodar o clado americano Marsdenieae. Marcada por sua heterogeneidade morfológica, *Ruehssia* compreende cerca de 110 espécies, das quais 44 ocorrem no nordeste do Brasil. Isso torna esta região um centro de diversidade e endemismo para este grupo vegetal, com oito espécies relatadas apenas no bioma Caatinga, como *R. caatingae* [7].

Nos últimos anos, nosso grupo relatou o isolamento, a caracterização e a atividade de saponinas de diferentes espécies na região semiárida do Brasil, e recentemente elucidamos as estruturas de cinco novos glicosídeos pregnânicos de *Mandevilla dardanoi* (Apocynaceae), denominados dardanoides A–E [8–10]. Até onde sabemos, apenas um estudo preliminar foi realizado sobre o gênero *Rhuessia*. Dando continuidade ao estudo de glicosídeos pregnânicos de espécies brasileiras de Apocynaceae, o presente trabalho descreve o isolamento e a elucidação estrutural de dezoito novos glicosídeos pregnânicos C21 das raízes de *R. caatingae* e sua atividade anti-inflamatória.

2 Material e métodos

2.1 Material e métodos para pesquisa fitoquímica

2.1.1 Procedimentos experimentais gerais

As rotações específicas das substâncias foram realizadas no polarímetro do modelo Polarimeter, série P-200 da JASCO. Experimentos de RMN foram realizados em piridina-d_5 em espectrômetros Bruker AVANCE NEO 500/125 MHz e Bruker III nanobay 400/100 MHz para ^{1}H e ^{13}C, respectivamente, com TMS como padrão interno. Os espectros AR-IES-EM foram obtidos usando um instrumento Bruker, MicroTOF II. Os espectros de ATR-Infravermelho foram adquiridos em Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier, IRSpirit-X (Shimadzu). A CLAE foi realizada em um cromatógrafo líquido Shimadzu (Prominence®) equipado com um detector de arranjo de diodo (DAD) SPD-M10A a 205 nm e 254 nm usando uma coluna YMC® C-18 modelo Actus triart C-18 (250 mm x 4.6 mm d. i. preenchido com partículas 5 μm) conectada a uma pré-coluna Security GuardGemini® C-18 (4

mm x 4.6 mm d. i. preenchido com partículas 5 μm) para escala preparativa. A cromatografia em coluna (CC) foi realizada utilizando sílica gel da Merck®, 7734, com partículas de 0,063-0,200 mm de diâmetro e Sephadex LH-20 da Merck®. A CCDA foi realizada utilizando placas cromatográficas da Merck® contendo sílica gel 70 com indicador de fluorescência F_{254}.

2.1.2 Material vegetal

As raízes de *Ruehssia caatingae* foram coletadas no município de Pocinhos, estado da Paraíba. Em seguida, foi identificado pelo Prof. Dr. José Iranildo Miranda de Melo, sendo a exsicata depositada no Herbário Manuel de Arruda Câmara instalado na Universidade Estadual da Paraíba, sob o código de registro HACAM 662. O estudo está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o número A5B0BFC.

2.1.3 Extração e isolamento

Raízes secas em estufa com ar circulante de *Ruehssia caatingae* (450 g) foram trituradas e submetidas a maceração (72 h cada) com etanol 95% 3x (21,0 L). A solução extrativa foi concentrada usando um evaporador rotativo, proporcionando um extrato etanólico bruto (32 g). O extrato (31 g) foi dissolvido em mistura de etanol:água 7:3 (v/v %) e submetido a uma partição, utilizando os solventes orgânicos: hexano (Hex), clorofórmio ($CHCl_3$), acetato de etila (AcOEt) e n-butanol (n-BuOH), obtendo-se as respectivas fases.

A fase clorofórmica (5 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna (CC) por Sephadex LH-20 e eluída com metanol (MeOH) para obter quarenta frações, que foram reunidas por CCDA de acordo com os fatores de retenção.

A Fr-9 a 18 (3 g) foi submetida a uma cromatografia em coluna (CC) por sílica gel e eluida com hex, AcOEt e MeOH puros e em misturas binarias, em ordem crescente de polaridade, obtendo-se quatorze frações (Fr-9 a 18.1-Fr-9 a 18.14) que foram reunidas por CCDA.

A reunião da fração 9 a 18.9 e 10 (304 mg) foi submetida a CLAE preparativa, utilizando ACN:H_2O (ácido fórmico 0,1% v/v) como fase móvel em um gradiente composto por 5 a 29 % de ACN por 5 min; 29 % de ACN por 25 min; 29 a 43 % de ACN por 5 min; 43 % de ACN por 20 min; 43 a 52 % de ACN por 5 min; 52 % de ACN por 30 min; 52 a 100 % em 5 min, onde foi obtido os compostos 6 (T_R = 74 min, 4,5 mg), 7 (T_R = 75 min, 1,8 mg), 8 (T_R =72

min, 1 mg) e 9 (T_R =71 min, 1 mg).

A fração 9 a 18.3 (1426 mg) foi submetida a uma cromatografia em coluna (CC) por sílica gel e eluida com hex, AcOEt e MeOH puros e em misturas binarias, em ordem crescente de polaridade, obtendo-se dezoito frações (Fr-9 a 18.3.1-Fr-9 a 18.3.18) que foram reunidas por CCDA.

A fração 9 a 18.3.7 (410 mg) foi submetida a CLAE preparativa, utilizando ACN:H_2O (ácido fórmico 0,1% v/v) como fase móvel em um gradiente composto por 5 a 55 % de ACN por 20 min; 55 a 59 % de ACN por 10 min; 59 % de ACN por 20 min; 59 a 71 % de ACN por 10 min; 71 % de ACN por 20 min; 71 a 100 % de ACN por 10 min, onde foi obtido os compostos 1 (T_R = 26 min, 12 mg), 2 (T_R = 30 min, 15,3 mg), 3 (T_R = 29min, 3,6 mg), 4 (T_R =65 min, 6,2 mg), 5 (T_R = 27 min, 2,2 mg), 10 (T_R = 45 min, 2,6 mg), 11 (T_R = 42 min, 1,4 mg), 12 (T_R = 38 min, 1,4 mg), 13 (T_R = 48 min, 1 mg), 14 (T_R = 55 min, 1,7 mg), 15 (T_R = 50 min, 6,5 mg), 16 (T_R = 22 min, 5,4 mg), 17 (T_R = 58 min, 6,0 mg) e 18 (T_R = 67 min, 2,2 mg).

2.2 Citotoxicidade para células de mamíferos

Para determinar a citotoxicidade dos compostos 1–4, 6–7, 10–13 e 15–18, células J774.A1 semelhantes a macrófagos murinos foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de 2×10^5 células por poço em Meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM; Life Technologies, GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD, EUA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB; GIBCO) e 50 µg/mL de gentamicina (Novafarma, Anápolis, GO, Brasil). As células foram incubadas por 72 h a 37 °C em atmosfera de 5% de CO_2, conforme descrito anteriormente [11]. Em seguida, foram estimuladas com LPS (500 ng/mL, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) e IFN-γ (5 ng/mL, Sigma). Os compostos foram adicionados ao meio em oito concentrações variando de 1,9 a 500 µM, em triplicata, e incubados por 24 h. Posteriormente, 20 µL por poço de Alamar Blue (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) foram adicionados às placas por 6 h. Leituras colorimétricas foram realizadas a 570 e 600 nm. Triton X-100 (5%) foi utilizado como controle positivo.

2.3 Avaliação da produção de citocinas e óxido nítrico por macrófagos.

Para avaliações de citocinas e óxido nítrico, células J774.A1 foram semeadas em

placas de cultura de tecidos de 96 poços a 2 × 10^5 células por poço em DMEM suplementado com 10% de SFB e 50 μg/mL de gentamicina e incubadas por 2 h a 37 °C em uma atmosfera de 5% de CO_2, conforme descrito anteriormente [11]. As células foram então estimuladas com LPS (500 ng/mL) e IFN-γ (5 ng/mL) na presença dos compostos de teste em diferentes concentrações (3,9–250 μM), do meio sozinho ou de dexametasona (40 μM, fármaco de referência) e posteriormente incubadas a 37 °C. Sobrenadantes livres de células foram coletados 24 h após a incubação para quantificação de IL-1β, IL-6 e nitrito. As concentrações de citocinas nos sobrenadantes das culturas de J774.A1 foram determinadas por ensaio imunoenzimático (ELISA) utilizando o kit DuoSet (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em picogramas por mililitro (pg/mL) de IL-1β ou IL-6. A quantificação de nitrito como indicador da produção de óxido nítrico foi realizada pelo método de Griess [12]. Três experimentos independentes foram realizados.

2.4 Análise estatística

Os dados são apresentados como média ± desvio padrão (DP). As comparações entre os tratamentos foram realizadas utilizando ANOVA unidirecional seguida pelo teste post hoc de Tukey. Os valores de CC_{50} (concentração citotóxica pela metade da máxima) e IC_{50} (concentração inibitória pela metade da máxima) foram calculados a partir das curvas concentração-efeito obtidas nos ensaios de citotoxicidade e quantificação de nitrito, respectivamente. Todos os dados foram analisados utilizando o software Prism 9 (GraphPad, San Diego, CA, EUA). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

(Ruehssioside A): (1) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 78,7 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3432, 2932, 1717, 1637, 1594, 1453, 1372, 1166 (Figura S1), ^1H RMN (C_5D_5N, 500 MHz) (Tabela 2); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 125 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1066.5348 $[M + H]^+$ (calcd. para $C_{57}H_{80}NO_{18}$, m/z 1066.5370) (Figura S2).

(Ruehssioside B): (2) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 95,3 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3423, 2932, 1708, 1640, 1594, 1447, 1372, 1166, 1077 (Figura S11), ^1H RMN (C_5D_5N, 500 MHz) (Tabela 2); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 125 MHz) (Tabela 1), AR-IES-EM m/z 1068.5498 $[M + H]^+$ (calcd. para $C_{57}H_{82}NO_{18}$, m/z 1068.5526) (Figura S12).

(Ruehssioside C): (3) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 87,5 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3452, 2935, 1717, 1637, 1594, 1453, 1372, 1166 (Figura S57) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 2); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1118.5292 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{58}H_{81}NNaO_{19}$, 1118.5292) (Figura S58).

(Ruehssioside D): (4) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 57,2 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3455, 2935, 1711, 1640, 1453, 1372, 1166 (Figura S85), ^1H RMN (C_5D_5N, 500 MHz) (Tabela 2); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 125 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1089.5383 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{58}H_{82}NaO_{18}$, 1089.5393) (Figura S86).

(Ruehssioside E): (5) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 15,4 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3449, 2935, 1731, 1711, 1640, 1453, 1372, 1166, 1065 (Figura S113) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 2); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1027.5210 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{53}H_{80}NaO_{18}$, 1027.5237) (Figura S114).

(Ruehssioside F): (6) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 30,5 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3483, 2932, 1708, 1637, 1594, 1450, 1312, 1166, 1074 (Figura S138) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 2); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1293.6200 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{63}H_{98}NaO_{26}$, 1293.6239) (Figura S139).

(Ruehssioside G): (7) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 81,6 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3389, 2932, 1737, 1708; 1637, 1594, 1453, 1372, 1166, 1065 (Figura S164) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 3); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1321.6175 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{64}H_{98}NaO_{27}$, 1321.6188) (Figura S165).

(Ruehssioside H): (8) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ – 12,4 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3383, 2918, 2852, 1711, 1637, 1576, 1539; 1453, 1370, 1166, 1062 (Figura S192) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 3); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1277.6272 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{63}H_{98}NaO_{25}$, 1277.6289) (Figura S193).

(Ruehssioside I): (9) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 10,4 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3383, 2926, 2854, 1708, 1637, 1594, 1453, 1372, 1166, 1074 (Figura S218) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 3); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1275.6093 $[M + Na]^+$

(calcd. para $C_{63}H_{96}NaO_{25}$, 1275.6133) (Figura S219).

(Ruehssioside J): (10) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ – 5,8 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3426, 2932, 1708, 1640, 1447, 1372, 1166, 1062 (Figura S246) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 3); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 953.5218 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{51}H_{78}NaO_{15}$, 953.5233) (Figura S247).

(Ruehssioside K): (11) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 23,4 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3429, 2932, 1708; 1637, 1447, 1370, 1312; 1163, 1062 (Figura S274) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 3); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 967.5007 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{51}H_{76}NaO_{16}$, 967.5026) (Figura S275).

(Ruehssioside L): (12) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ - 3.4 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3443, 2932, 1708, 1640, 1596, 1447, 1372, 1166, 1062 (Figura S304) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 3); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 955.5000 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{50}H_{76}NaO_{16}$, 955.5026) (Figura S305).

(Ruehssioside M): (13) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 59,7 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3426, 2932, 1737, 1706; 1637, 1450, 1372, 1166, 1062 (Figura S332) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 4); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 997.5125 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{52}H_{78}NaO17$, 997.5131) (Figura S333).

(Ruehssioside N): (14) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 9,4 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3423, 2932, 1708; 1640, 1447, 1375, 1166; 1065 (Figura S360) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 4); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1099.5810 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{57}H_{88}NaO_{19}$, 1099.5812) (Figura S361).

(Ruehssioside O): (15) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 8,6 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3417, 2932, 1708; 1640, 1447, 1372, 1166, 1062 (Figura S385) ^1H RMN (C_5D_5N, 500 MHz) (Tabela 4); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 125 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 969.5137 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{51}H_{78}NaO_{16}$, 969.5182) (Figura S386).

(Ruehssioside P): (16) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 19,6 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3440, 2935, 1726; 1640, 1594, 1447, 1381, 1163 (Figura S413) ^1H RMN (C_5D_5N, 500 MHz) (Tabela 4; ^{13}C

RMN (C_5D_5N, 125 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 881.4854 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{44}H_{74}NaO_{16}$, 881.4869) (Figura S414).

(Ruehssioside Q): (17) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 42,6 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3463, 2932, 1731, 1717, 1637, 1605, 1453, 1372, 1163, 1065 (Figura S439) ^1H RMN (C_5D_5N, 500 MHz) (Tabela 4); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 125 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 1013.5055 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{52}H_{78}NaO_{18}$, 1013.5080) (Figura S440).

(Ruehssioside R): (18) pó branco amorfo; $[\alpha]_D^{20}$ + 11,2 (MeOH); IV vmax cm^{-1}: 3501, 2932, 1734, 1717, 1602, 1453, 1370, 1163, 1065 (Figura S461) ^1H RMN (C_5D_5N, 400 MHz) (Tabela 4); ^{13}C RMN (C_5D_5N, 100 MHz) (Tabela 1); AR-IES-EM m/z 985.5115 $[M + Na]^+$ (calcd. para $C_{51}H_{78}NaO_{17}$, 985.5131) (Figura S462).

3 Resultados e discussão

Composto 1 (Rc-8), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 78,7, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{57}H_{80}NO_{18}$ (m/z 1066.5348 $[M + H]^+$; (calcd para $C_{57}H_{80}NO_{18}$, 1066.5370, Δ = 2.1 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 19 graus de insaturação. A absorção do espectro de IV indicou a presença de grupo hidroxila (3432 cm^{-1}), carbonila de éster conjugado (1708 cm^{-1}), bandas de anel aromático (1640, 1447 cm^{-1}), banda de olefínico (1594 cm^{-1}) e banda de éter (1077 cm^{-1}). O espectro de RMN de ^1H (Tabela 2) mostrou que havia três sinais de metila em δ_H 2.04 (s, CH_3-18), 1,23 (s, CH_3-19), 1,50 (d, J = 6.5 Hz, CH_3-21), um sinal de olefina em δ_H 5,28 (dd, 12.5 e 4.0 Hz, H-6), um sinal de oximetínico em δ_H 3,78 (m, H-3), um sinal de metínico 1.70 (d, 3.0, H-9) e sete sinais de metilênicos em 1.00 (td, 14.0; 4.0, H-1a), 1.65 (m, H-1b), 1.73 (m, H-2a), 2.00 (m, H-2b), 2.38 (d, 13.0, H-4a), 2.49 (dd, 13.5, 4.0, H-4b), 2.32 (m, H-7a), 2.43 (sl, H-7b), 1.96 (m, H-11a), 2.29 (m, H-11b), 2.06 (m, H-15), 2.08 (m, H-16). De acordo com o espectro de RMN de ^{13}C e correlações de HSQC, havia três sinais de carbono de metila correspondentes em δ_C 11,2 (C-18), 17,7 (C-19), 15,1 (C-21), um par de carbonos de olefina trissubstituídos em δ_C 138,9 (C-5) e 119,1 (C-6), um sinal de carbono terciário oxigenado δ_C 77.3 (C-3), um sinal de carbono terciário δ_C 43.7 (C-9) e sinais de carbonos secundários correspondentes em 38.4 (C-1), 29.5 (C-2), 38.9 (C-4), 34.5 (C-7), 25.4 (C-11), 33.7 (C-15) e 33.4 (C-17). Essas informações acima mencionadas indicaram que 1 era uma saponina esteroidal do núcleo pregnano C21. A aglicona foi identificada como sarcostin pelas análises dos dados de RMN e comparações com os dados

na literatura [13,14]. Os sinais de prótons em 6.48 (d, 16.0, Cin-H-2), 7.78 (d, 16.0, Cin-H-3), 7.37 (m, Cin-H-2 e 6), 7.32 (m, Cin-H-3, 4 e 5), 8.79 (dd, 4.5; 1.5, Nic-H-2), 8.29 (dt, 8.0; 2.0, Nic-H-4), 7.19 (d, 4.5, Nic-H-5) e 9.48 (d, 2.0, Nic-H-6) e os sinais de carbono em 166.5 (Cin-C-1), 119.8 (Cin-C-2), 143.8 (Cin-C-3), 134.5 (Cin-C-1), 128.2 (Cin-C-2 e 6), 129.0 (Cin-C-3 e 5), 130.4 (Cin-C-4), 153.5 (Nic-C-2), 126.6 (Nic-C-3), 137.2 (Nic-C-4) e 123.6 (Nic-C-5) indicaram a existência de um grupo cinamoíla e um grupo nicotinoíla na molécula [15]. Os grupos cinamoíla e nicotinoíla foram determinados como localizados em C-12 e C-20, respectivamente, devido às correlações HMBC entre 5.25 (H-12) e 166.5 (Cin-C-1) e entre 5.21 (H-20) e 164.4 (Nic-C-1) (Figura 9) [15,16].

A configuração relativa do composto 1 foi deduzida por meio de seu espectro NOESY (Figura 9) envolvendo H-3/H-1b, H-1b/H-9, H-9/H-12, H-19/H-2a, H-19/H-11b, H-18/H-11b, H-18/H-20 e H-21/H-16. Essas correlações indicaram que as configurações em H-3, H-1b, H-2a, H-9, H-12 e H-11b foram designadas como orientação α. Enquanto aqueles em 17-OH, H3-18, H3-19 e H-20 foram definidos como orientação β. Foi observado na literatura que os deslocamentos químicos de C-20 e C-16 de esteroides do tipo 20-hidroxi-C/D-cis-pregnano com configuração 20R foram de 75,8 e 39,0 ppm, respectivamente, o que está de acordo com os valores do composto 1, uma vez que C-20 e C-16 ressoaram a δ_C 76,1 e 33,7, respectivamente [17,18].

No espectro de RMN de ^{1}H (tabela 6) foi observado três prótons anoméricos em δ_H 5,19 (sl, H-1'), 4,65 (dd, 9.5; 1.5 Hz, H-1'') e 5,24 (d, 8.0 Hz, H-1'''), onde no espectro de HSQC correspondeu aos carbonos δ_C 96,1 (C-1'), 101,6 (C-1'') e 101.7 (C-1'''), respectivamente, junto com os sinais de grupos metoxilas em δ_H 3.50 (s), 3.47 (s) e 3.79 (s) e três sinais de grupos metilas em δ_H 1.38 (d, 6,0), 1.59 (d, 5,5) e 1.51 (d, 6,5) em adição com os sinais de RMN ^{13}C (tabela 5) de metilênicos em 36.8 (C-2') e 37.2 (C-2'') que possuem valores de deslocamentos químicos mais desprotegidos que 34,0 ppm e no RMN ^{1}H com a constante de acoplamento maior que 7.0 Hz do sinal δ_H 5,24, juntamente com os dados de TOCSY e COSY sugerem que a cadeia de açúcar consiste em *β-D*-cimarose, *β-D*-oleandrose e *β-D*- 6-deoxi-3-O-metil-allose [16,19–22]. A sequência dos três açúcares ligados em C-3 da aglicona 12-O-cinamoil-20-O-nicotinoil-sarcostin foi definida pelas correlações HMBC de δ_H 5.19 (*β-D*-cimaropiranosil, H-1') com δ_C 77,3 (C-3), de δ_H 4,65 (oleandropiranosil, H-1'') com δ_C 83,1 (cimaropiranosil,C-4'), de δ_H 5,24 (6-deoxi-3-O-metil-*β*-allopiranosil, H-1''') com δ_C 82.6 (oleandropiranosil, C-4''). Assim, 1 foi determinado como sendo 12-O-cinamoil-20-O-nicotinoil-(20R)-sarcostin-3-O-*β-D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β-D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β-D*-cimaropiranoside (Ruehssioside A).

Composto 2 (Rc-9), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 95,3, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{57}H_{82}NO_{18}$ (m/z 1068.5498 $[M + H]^+$; (calcd para $C_{57}H_{82}NO_{18}$, 1068.5526, Δ = 2.6 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 18 graus de insaturação. Seus espectros de ^1H (tabela 2), ^{13}C RMN (Tabela 1) e 2D RMN foram bastante semelhantes ao do Ruehssioside A. Entretanto, a ausência dos sinais para grupo olefínico e a presença de sinais de um metinico [δ_H 0.96 (H-5); δ_C 44.8 (C-5)] e sinas de um metilênico [δ_H 1.09 e 1.72 (H-6a e 6b); δ_C 24.7 (C-6)] sugeriram a ausência de uma dupla ligação entre C-5 e C-6, o que foi confirmado pelas correlações HMBC de δ_H 1.05 (19-CH_3) e 3.81 (H-3) com δ_C 44.8 (C-5) (Figura 2). A configuração relativa do composto 2 possui todas as correlações do espectro NOESY de 1 (figura 11), com correlação adicional envolvendo H-5/H-3, H-5/H-9, essa correlação indicou que a configuração em H-5 foi designada como orientação α. Assim, a estrutura 12-O-cinamoil-20-O-nicotinoil-(20R)-5,6-dihidrosarcostin-3-O-*β-D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)- *β-D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β-D*-cimaropiranoside (Ruehssioside B) foi estabelecida.

Composto 3 (Rc-10), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 87.5, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{58}H_{81}NNaO_{19}$ (m/z 1118.5292 $[M + Na]^+$; (calcd para $C_{58}H_{81}NNaO_{19}$, 1118.5295, Δ = 0.3 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 19 graus de insaturação. A absorção do espectro de IV indicou a presença de grupo hidroxila (3452 cm^{-1}), carbonila de éster (1731 cm^{-1}), carbonila de éster conjugado (1717 cm^{-1}), bandas de anel aromático (1637, 1453 cm^{-1}), banda de olefínico (1594 cm^{-1}) e banda de éter (1079 cm^{-1}). Os espectros de ^1H (tabela 2), ^{13}C RMN (Tabela 1) da porção aglicona de 3 foi idêntico ao de 2. Na cadeia de açúcar de 3 em comparação com 2, foi observado a ausência de sinal característico de metoxila e a presença de sinais característicos de um grupo acetila [δ_H 2.07 (s); δ_C 170.0 (-OCO) e 21.0 (CH_3)]. A posição do grupo acetila foi estabelecida pela correção de HMBC de δ_H 5.71 (H-3') e δ_H 2.07 (-CH_3) com δ_C 170.0 (C-O) (Figura 2). Com isso, a estrutura 12-O-cinamoil-20-O-nicotinoil-(20R)-5,6-dihidrosarcostin- 3-O-*β-D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β-D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β-D*-3-acetil-cimaropiranoside (Ruehssioside C) foi determinada.

Composto 4 (Rc-11), foi obtido como um pó amorfo com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 57,2, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{58}H_{82}NaO_{18}$ (m/z 1089.5383 $[M + Na]^+$; (calcd para $C_{58}H_{82}NaO_{18}$, 1089.5393, Δ = 0.9 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 18

graus de insaturação. Os dados de RMN da aglicona 4 (tabelas 1 e 2) apresentaram de forma semelhante aos de 2, exceto pela ausência dos sinais do grupo nicotinoil e pela presença de sinais de um grupo benzoil [δ_H 8.15 (H-3); 7.28 (H-4); 7.47 (H-5); 7.28 (H-6); 8.15 (H-7); δ_C 165.5 (C-1), 131.1 (C-2), 130.1 (C-3 e 7), 128.6 (C-4 e 6) e 133.1 (C-5)]. As correlações HMBC de H-20 (5.20) com C-1 (165.5) (Bz) permitiram a localização do grupo benzoil em C-20 (figura 2). Os demais sinais de 4 foram atribuídos a fração de açúcares, estes apresentaram sinais muito semelhantes aos de 2, sugerindo que ambos possuem a mesma cadeia de açúcar (tabelas 5 e 6). Desta forma, a estrutura de 4 foi definida como 12-O-cinamoil-20-O-benzoil-(20R)-5,6-dihidrosarcostin-3-O-β-D-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-β-D-oleandropiranosil-(1 → 4)-β-D-cimaropiranoside (Ruehssioside D).

Composto 5 (Rc-12), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 15.4, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{53}H_{80}NaO_{18}$ (m/z 1027.5210 [M + Na]$^+$; (calcd para $C_{53}H_{80}NaO_{18}$, 1027.5237, Δ = 2.8 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 14 graus de insaturação. Nos espectros de RMN ^{1}H (tabela 2), ^{13}C (tabela 1), e 2D (figuras 9 e 11) de 5, foi observado sinais e correlações muito semelhantes ao de 4, indicando que ambos possuíam a mesma porção de açúcares e aglicona esteroidal pregnano. Porém, os sinais característicos do grupo benzoíla não estavam presentes nos espectros, entretanto foram observados sinais típicos de um grupo acetila [δ_H 1.92 (H-2); δ_C 170.5 (C-1) e 21.3 (C-2)] que foi confirmado estar ligado em C-20 pela correlação HMBC de δ_H 5.19 (H-20) com δ_C 170.5 (C-) (Figura 2). Portanto, a estrutura de 5 foi estabelecida como 12-O-cinamoil-20-O-acetil-(20R)-5,6-dihidrosarcostin-3-O-*β-D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β-D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β-D*-cimaropiranoside (Ruehssioside E).

Composto 6 (Rc-4), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 30.5, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{63}H_{98}NaO_{26}$ (m/z 1293.6200 [M + Na]$^+$; (calcd para $C_{63}H_{98}NaO_{26}$, 1293.6239, Δ = 3.0 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 15 graus de insaturação. Após extensas analises dos espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C (tabelas 1 e 2) de 6, foi possível evidenciar que a aglicona era bem semelhante ao de 5, com diferenças em C-17, onde em 5 essa posição possuía uma função oxigenada evidenciada pelo deslocamento químico mais desprotegido (87,6 C-17), em contrapartida, no composto 6, esse carbono se deslocou para deslocamento químico mais protegido (51,8 C-17), evidenciando que em C-17 não possui um grupo oxigenado ligado, isto foi confirmado pelas correlações HMBC de δ_H 5.09 (H-12), 1,71 (18-CH_3), 1,14 (21-CH_3) com δ_C 51,8 (C-17), além disso, os sinais do

grupo acetila estavam ausentes. A configuração relativa do composto 6 foi deduzida por meio de seu espectro ROESY (Figura 3) envolvendo H-3/H-1a, H-3/H-5, H-5/H-9, H-9/H-12, H-12/H-17, H-21/H-17, H-21/16a, H-20/H-17, H-19/H-6a, H-19/H-7b, H-19/H-2b e H-19/H-6a. Essas correlações indicaram que as configurações em H-3, H-5, H-9, H-12, H-16a, H-17, H-20 e H-21 foram designadas como orientação α. Enquanto aqueles em H3-18 e H3-19 foram definidos como orientação β. Dados da literatura mencionam que, em esteroides do tipo 20-hidroxi-C/D-cis-pregnano, o impedimento estérico entre o metileno-16 (H-16), o substituinte na posição 20, e os grupos metil na posição 18 e 21 do anel ciclopentano pode resultar em diferenças nos deslocamentos químicos de ^{13}C que apontam para a configuração absoluta do carbono 20. Foi observado na literatura que deslocamentos químicos de C-20 e C-16 de esteroides do tipo 20-hidroxi-C/D-cis-pregnano com hidrogênio em C-17 com configuração 20S foram de 65,0 e 19,0 ppm para C-20 e C-16, respectivamente, o que está de acordo com os valores do composto 6, uma vez que C-20 e C16 ressoaram a δ_C 65,4 e 19,0, respectivamente [18,23].

Adicionalmente, foram observados sinais referentes a cinco hidrogênios anoméricos (tabela 6) em δ_H 5,25 (dd, 10,0; 1,6 Hz H-1'), 4,63 (dd, 9,2; 1,2 Hz, H-1''), 5,22 (d, 8,0 Hz, H-1'''), 4,86 (d, 7,6 Hz, H-1''''), 5,16 (sl, H-1'''''), correlacionados com os sinais de carbono em δ_C 95,7 (C-1'), 101,6 (C-1'') e 101,6 (C-1'''), 105,9 (C-1'''') e 104,7 (C-1''''') respectivamente, confirmados pelas correlações HSQC. A partir das comparações dos dados de RMN ^1H e ^{13}C desses açúcares com aqueles encontrados nas referências [16,20–22], com auxílio de TOCSY e COSY indicou se tratar de uma Cim, uma Ole, uma 6-deoxi-3-O-metil-allose e duas Glc. Pelos valores dos dados de RMN em comparação com os dados encontrados na literatura e a constante de acoplamento maior que 7,0 Hz para as unidades de glicose [16,19] foi possível definir os açúcares como sendo, *β-D*-Cim, *β*-D-Ole, *β*-D-6-deoxi-3-O-metil-allose, *β-D*-Glc, *β-D*-Glc. A sequência desses cinco açúcares foram confirmados pelas correlações HMBC de de δ_H 5,25 (*β-D*-cimaropiranosil, H-1') com δ_C (C-3), de δ_H 4,63 (oleandropiranosil, H-1'') com δ_C 83,3 (cimaropiranosil,C-4'), de δ_H 5,22 (6-deoxi-3-O-metil-*β*-allopiranosil, H-1''') com δ_C 82,8 (oleandropiranosil, C-4''), de δ_H 4,86 (6-deoxi-3-O-metil-*β*-allopiranosil, H-1''') com δ_C 83,2 (6-deoxi-3-O-metil-*β*-allopiranosil, C-4'') e de δ_H 5.16 (glicopiranosil, H-1''') com δ_C 81,2 (glicopiranosil, C-4''). Assim, a estrutura 12-O-cinamoil-(20S)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β-D*-glicopiranosidil-(1 → 4)-*β-D*-glicopiranosidil-(1 → 4)-*β-D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β-D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β-D*-cimaropiranoside (Ruehssioside F) (6) foi determinada.

Composto 7 (Rc-5), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 81,6, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{64}H_{98}NaO_{27}$ (m/z 1321.6175 [M + Na]$^+$; (calcd para $C_{64}H_{98}NaO_{27}$, 1321.6188, Δ = 1,6 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 16 graus de insaturação. Após análises dos espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C (tabelas 3 e 1), foi possível concluir que 7 tinha a mesma aglicona que 6. A porção de açucares de ambas os compostos eram bastante semelhantes diferindo na ausência de sinais característicos de uma metoxila da unidade cimarose e a presença de sinais característicos de um grupo acetila [δ_C 170.1 (-OCO); δ_C 21.1 (-CH_3); δ_H 2.03 (-CH_3)] em 7 (tabelas 5 e 6). A posição do grupo acetila foi determinada pelas correlações HMBC de δ_H 5.73 (H-3') com δ_C 170.1 (-OCO). A estrutura foi determinada como sendo 12-O-cinamoil-(20S)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-glicopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-glicopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-(1 → 4)-*β*-*D*-3'-acetil-cimaropiranoside (Ruehssioside G).

Composto 8 (Rc-6), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ - 12.4, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{63}H_{98}NaO_{25}$ (m/z 1277.6272 [M + Na]$^+$; (calcd para $C_{63}H_{98}NaO_{25}$, 1277.6289, Δ = 1.6 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 15 graus de insaturação. Os espectros de ^{1}H, ^{13}C (tabelas 3 e 1) e 2D mostraram que a porção de açúcares de 8 era idêntica à de 6. Já na porção da aglicona do núcleo pregnano a função oxigenada presente em C-8 de 6 não era observada no espectro de RMN de 8, ao invés disso foi observado sinais em δ_H 1.72 e δ_C 40.0 que foram atribuídos a H-8 e C-8, respectivamente, em acordo com os dados na literatura [21]. Isto foi confirmado pela correção COSY entre 1.87 (H-8) e 1,06 (H-9) e HMBC de 1,51 (H-11) e 1.16 (H-15) com 40.0 (C-8) (figura 2). A configuração relativa do composto 8 possui todas as correlações do espectro NOESY de 6 (figura 3), com correlações adicionais envolvendo H-8/H-19 e H-8/H-16b. Essas correlações indicaram que a configuração em H-8 foi designada como orientação β. Portanto, a estrutura 12-O-cinamoil-(20S)-5,6,8,17-tetrahidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-glicopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-glicopiranosidil-(1 → 4)-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-cimaropiranoside (Ruehssioside H) foi determinada.

Composto 9 (Rc-7), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 10,4, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{63}H_{96}NaO_{25}$ (m/z 1275.6093 [M + Na]$^+$; (calcd para $C_{63}H_{96}NaO_{25}$, 1275.6133, Δ = 2.8 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 16 graus de insaturação. Os espectros de ^{1}H, ^{13}C (tabelas 3 e 1) e 2D mostraram que a porção de açúcares de 9 era idêntica à de 8. Os demais sinais observados evidenciaram um

núcleo esteroide pregnano e um grupo cinamoíla, que foi confirmado estar ligado em C-12 da aglicona, observado na correlação HMBC de 5,08 (H-12) com 116.9 (C-1). Em 9 foi possível observar sinais adicionais característicos de olefínico [5,36 (H-6), 139,2 (C-5) e 122,2 (C-6)] que não foram observado em 8. A posição da insaturação foi determinada estando em C-5 e C-6 pelas correlações de COSY de 1,22 (H-6) com 1,84 (H-7) e HMBC de 3,74 (H-3), 2,06 (H-8), 1,39 (H-9) e 0,94 (H-19) com 139,2 (C-5) (figura 2). Assim, a estrutura foi confirmada como 12-O-cinamoil-(20S)-8,17-dihidro-sarcostin-3-O-*β*-*D*-glicopiranoside-(1 → 4)-*β*-*D*-glicopiranoside-(1 → 4)-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-cimaropiranoside (Ruehssioside I).

Composto 10 (Rc-13), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ – 5,8, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{51}H_{78}NaO_{15}$ (m/z 953.5218 $[M + Na]^+$; (calcd para $C_{51}H_{78}NaO_{15}$, 953.5233, Δ = 1.5 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 13 graus de insaturação. A comparação detalhada dos dados de RMN ^1H, ^{13}C (tabelas 3 e 1) de 10 e 8 mostrou que não há diferença relevante entre os valores de deslocamentos químicos atribuídos para suas porções aglicona, confirmando que ambas possuem a mesma aglicona 12-O-cinamoil-5,6,8,17-tetrahidrosarcostin. Os sinais referentes a cadeia de açúcar (tabelas 5 e 7) e correlações 2D revelaram que 10 possuía as mesmas unidades osídicas cim, ole, 6-deoxi-3-O-metoxi-allose e na mesma sequência que 1, 2, 4 e 5, estando essa cadeia ligada em C-3 da aglicona. Portanto, a estrutura foi definida como 12-O-cinamoil-(20S)-5,6,8,17-tetrahidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-cimaropiranoside (Ruehssioside J).

Composto 11 (Rc-14), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ - 3.4, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{51}H_{76}NaO_{16}$ (m/z 967.5007, $[M + Na]^+$; (calcd para $C_{51}H_{76}NaO_{16}$, 967.5007, Δ = 2.0 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 14 graus de insaturação. Os espectros de ^1H, ^{13}C (tabelas 3 e 1) e 2D (figuras 10 e 12) mostraram que a porção de açúcares de 11 era idêntica à de 10. Os demais sinais foram característicos a uma aglicona do núcleo esteroide pregnano, sendo esta aglicona de 11 bastante semelhantes a de 6, porém em 11 foi possível observar sinais adicionais característicos de olefínico [5,35 (H-6), 138,9 (C-5) e 119,7 (C-6)] que não foram observados em 6. A posição da insaturação foi determinada estando em C-5 e C-6 pelas correlações de COSY de 5,35 (H-6) com 2,35 (H-7a) e 2,48 (H-7b) e HMBC de 3,84 (H-3), 1,77 (H-9) e 1,38 (H-19) com 138,9 (C-5) (figura 2). A cadeia de açúcar de 11 foi identificada como sendo a mesma de 10 e ligada na aglicona em C-

3, de acordo com as análises de RMN 1D (tabelas 5 e 7) e 2D. Desta forma, a estrutura 12-O-cinamoil-(20S)-17-hidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-cimaropiranoside (Ruehssioside K) foi estabelecida.

Composto 12 (Rc-15), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 59.7, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{50}H_{76}NaO_{16}$ (m/z 955.5000 [M + Na]$^+$; (calcd para $C_{50}H_{76}NaO_{16}$, 955.5000, Δ = 2.7 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 13 graus de insaturação. A comparação dos sinais dos espectros de RMN 1D (tabelas 3 e 1) e principais correlações 2D de 12, 13, 14, 15, 6 e 7 mostraram que possuíam a mesma aglicona 12-O-cinamoil-5,6,17-trihidrosarcostin em comum (tabelas 3 e 1). Os outros sinais atribuídos as unidades de açúcar (tabelas 5 e 7) de 12 foram bastante semelhantes às de 1, 2, 4, 5, 10 e 11, porém sinais referentes a um grupo metoxila atribuído a cimarose estava ausente, isso promoveu uma mudança significativa no deslocamento químico em Δδ 0,24 ppm de H-1' da cimarose em deslocamento químico mais baixo em relação aos H-1' de 11. A cadeia de açúcar estava ligada na aglicona em C-3 de acordo com a correlação HMBC de 3,82 (C-3) com 95,8 (C-1''). Portanto, a estrutura 12-O-cinamoil-(20S)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-desmetoxicimaropiranoside (Ruehssioside L) foi determinada.

Composto 13 (Rc-16), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 23,4, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{52}H_{78}NaO_{17}$ (m/z 997.5125 [M + Na]$^+$; (calcd para $C_{52}H_{78}NaO_{17}$, 997.5131, Δ = 0.7 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 14 graus de insaturação. A cadeia de açúcar de 13 foi identificada como sendo a mesma de 3 e ligada na aglicona em C-3, de acordo com as análises de RMN 1D (tabelas 4 e 1) e 2D (figuras 10 e 12). Assim, a estrutura de 13 foi determinada como sendo 12-O-cinamoil-(20S)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)- *β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-3-acetil-cimaropiranoside (Ruehssioside M).

Composto 14 (Rc-17), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 9.4, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{57}H_{88}NaO_{19}$ (m/z 1099.5810 [M + Na]$^+$; (calcd para $C_{57}H_{88}NaO_{19}$, 1099.5812, Δ = 0.0 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 14 graus de insaturação. Após analises dos espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C (tabelas 4 e 1) referente a cadeia de açúcar de 14, foram observados sinais atribuídos a quatro prótons anoméricos em δ_H 5,28 (dd, 9.6; 1.6, H-1'), 4,66 (dd, 9.6; 1.6 Hz, H-1''), 4,90 (d, 10.4 Hz, H-

1’’’), 5,08 (d, 8.4 Hz, H-1’’’’) correlacionados com os sinais de carbono em δ_C 95,8 (C-1’), 101,8 (C-1’’) e 100.2 (C-1’’’), 103,2 (C-1’’’’), respectivamente, confirmados pelas correlações HSQC. Comparações com os dados RMN encontrados na literatura [16,20–22,24] foi possível determinar a cadeia de açúcar como sendo, *β-D*-cimarose, *β-D*-oleandrose, *β-D*-canarose e *β-D*-6-deoxi-3-O-metil-*β*-allose. A sequência desses quatro açúcares foram confirmados pelas correlações HMBC (figura 10) de de δ_H 5,28 (*β-D*-cimaropiranosil, H-1’) com δ_C 76,6 (C-3), de δ_H 4,66 (oleandropiranosil, H-1’’) com δ_C 83,5 (cimaropiranosil, C-4’), de δ_H 4,90 (canaropiranosil, H-1’’’) com δ_C 82,9 (oleandropiranosil, C-4’’), de δ_H 5,08 (6-deoxi-3-O-metil-*β*-allopiranosil, H-1’’’) com δ_C 88,2 (canaropiranosil, C-4’’). Assim, a estrutura 12-O-cinamoil-(20S)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β-D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β-D*-canaropiranosil-(1 → 4)-*β-D*-oleandropiranosil-*β-D*-cimaropiranoside (Ruehssioside N) foi determinada.

Composto 15 (Rc-18), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 8.6, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{51}H_{78}NaO_{16}$ (m/z 969.5137 $[M + Na]^+$; (calcd para $C_{51}H_{78}NaO_{16}$, 969.5182, Δ = 4.7 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 13 graus de insaturação. A cadeia de açúcar de 15 foi identificada como sendo a mesma de 1 e ligada na aglicona em C-3, de acordo com as análises de RMN 1D (tabelas 4 e 1) e 2D (figuras 10 e 12). Portanto, a estrutura de 15 foi estabelecida como sendo 12-O-cinamoil-(20S)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β-D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β-D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β-D*-cimaropiranoside (Ruehssioside O).

Composto 16 (Rc-19), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 19.6, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{44}H_{74}NaO_{16}$ (m/z 969.5137 $[M + Na]^+$; (calcd para $C_{44}H_{74}NaO_{16}$, 969.5182, Δ = 1.8 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 13 graus de insaturação. A absorção do espectro de IV indicou a presença de grupo hidroxila (3440 cm^{-1}), carbonila de éster (1726 cm^{-1}), bandas de anel aromático (1640, 1447 cm^{-1}) e banda de éter (1065 cm^{-1}). A comparação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (tabelas 4 e 1) revelou que 16 possuía uma aglicona esteroidal pregnano idêntica à de 12, porém os sinais referentes ao grupo cinamoíla estavam ausentes em 16. Ao invés disso, foram vistos sinais atribuídos a uma unidade acetila [δ_H 2,12 (s); δ_C 171,0 (-OCO) e 21,1 (CH_3)], sendo a posição desse grupo definida estando ligada em C-12 pela observação de uma correlação HMBC δ_H 4,91 (H-12) com δ_C 171.0 (OC-) (figura 2). A cadeia de açúcar de 16 foi confirmada como sendo idêntica à de 1 e ligada na aglicona em C-3, de acordo com as análises de RMN 1D (tabelas 5 e 7) e 2D

(figuras 10 e 12). Assim, a estrutura 12-O-acetil-(20S)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-cimaropiranoside (Ruehssioside P) foi estabelecida.

Composto 17 (Rc-20), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 42,6, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{52}H_{78}NaO_{18}$, (m/z 1013.5055 $[M + Na]^+$; (calcd para $C_{52}H_{78}NaO_{18}$, 1013.5080, Δ = 0.1 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 14 graus de insaturação. Os sinais de RMN 1D (tabelas 4 e 1) e 2D (figuras 9 e 10) de 17 se assemelhou ao de 16, porém, com sinais adicionais que foram atribuídos a uma unidade benzoíla [δ_H 8.34 (H-3); 7.28 (H-4); 7,44 (H-5); 7,28 (H-6); 8.34 (H-7); δ_C 166,0 (C-1), 131.4 (C-2), 130,0 (C-3 e 7), 128,5 (C-4 e 6) e 132,9 (C-5)]. Esse grupo foi confirmado estando ligado em C-12 pela correlação HMBC de H-20 (5.53) com C-1 (166,0) (Bz). De acordo com a literatura, deslocamentos químicos de C-20 e C-16 de esteroides do tipo 20-hidroxi-C/D-cis-pregnano com hidrogênio ligado em C-17 com configuração 20R foram de 71,0 e 27,0 ppm para C-20 e C-16, respectivamente, o que está de acordo com os valores do composto 17, uma vez que C-20 e C16 ressoaram a δ_C 71.7 e 23,5, respectivamente [18,23]. A cadeia de açúcar de 17 foi identificada como sendo a mesma de 3 e 13 e ligada na aglicona em C-3, de acordo com as análises de RMN 1D (tabelas 5 e 7) e 2D. Assim, a estrutura de 17 foi determinada como sendo 12-O-acetil-20-O-benzoil-(20R)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)- *β*-*D*-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-3-acetil-cimaropiranoside (Ruehssioside Q).

Composto 18 (Rc-21), foi obtido como um pó amorfo branco com rotação óptica ($[\alpha]_D^{20}$ + 11,2, MeOH). A fórmula molecular foi identificada como $C_{51}H_{78}NaO_{17}$, (m/z 985.5115 $[M + Na]^+$; (calcd para $C_{51}H_{78}NaO_{17}$, 985.5131, Δ = 1.7 ppm) para análise de AR-IES-EM, indicando 13 graus de insaturação. A comparação dos sinais dos espectros de RMN 1D (tabelas 4 e 1) e principais correlações 2D (figuras 10 e 12) de 17 e 18 mostraram que possuíam a mesma aglicona 12-O-acetil-20-O-benzoil-5,6,17-trihidrosarcostin em comum. A cadeia de açúcar de 18 foi determinada como sendo idêntica à de 16 e ligada na aglicona em C-3, de acordo com as análises de RMN 1D (tabelas 5 e 7) e 2D. Portanto, a estrutura 12-O-acetil-20-O-benzoil-(20R)-5,6,17-trihidrosarcostin-3-O-*β*-*D*-6-deoxi-3-O-metil-allopiranosil-(1 → 4)-β-D-oleandropiranosil-(1 → 4)-*β*-*D*-cimaropiranoside (Ruehssioside R) foi determinada.

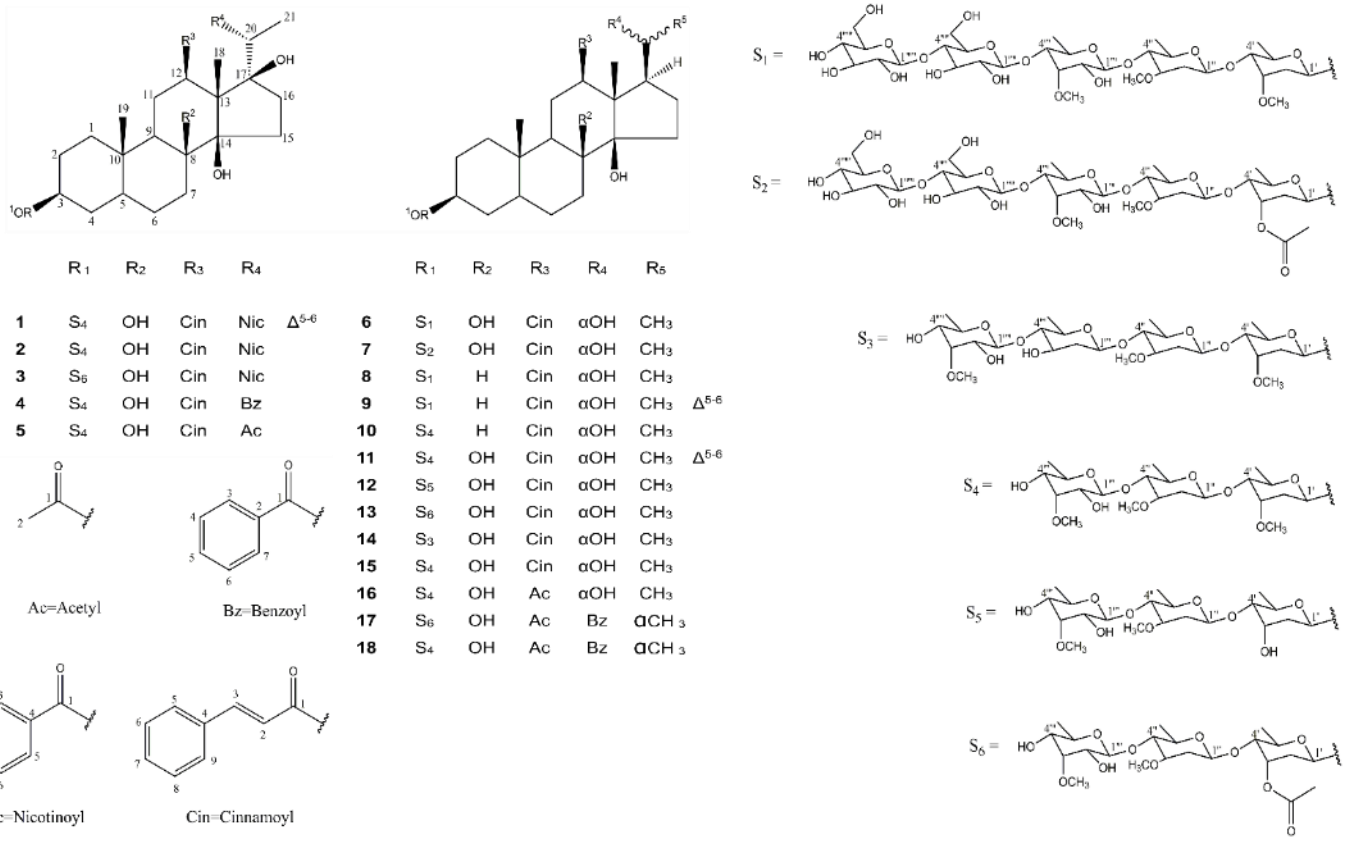


Figura 8 - Estruturas químicas de 1–18 da raiz de *R. caatingae*

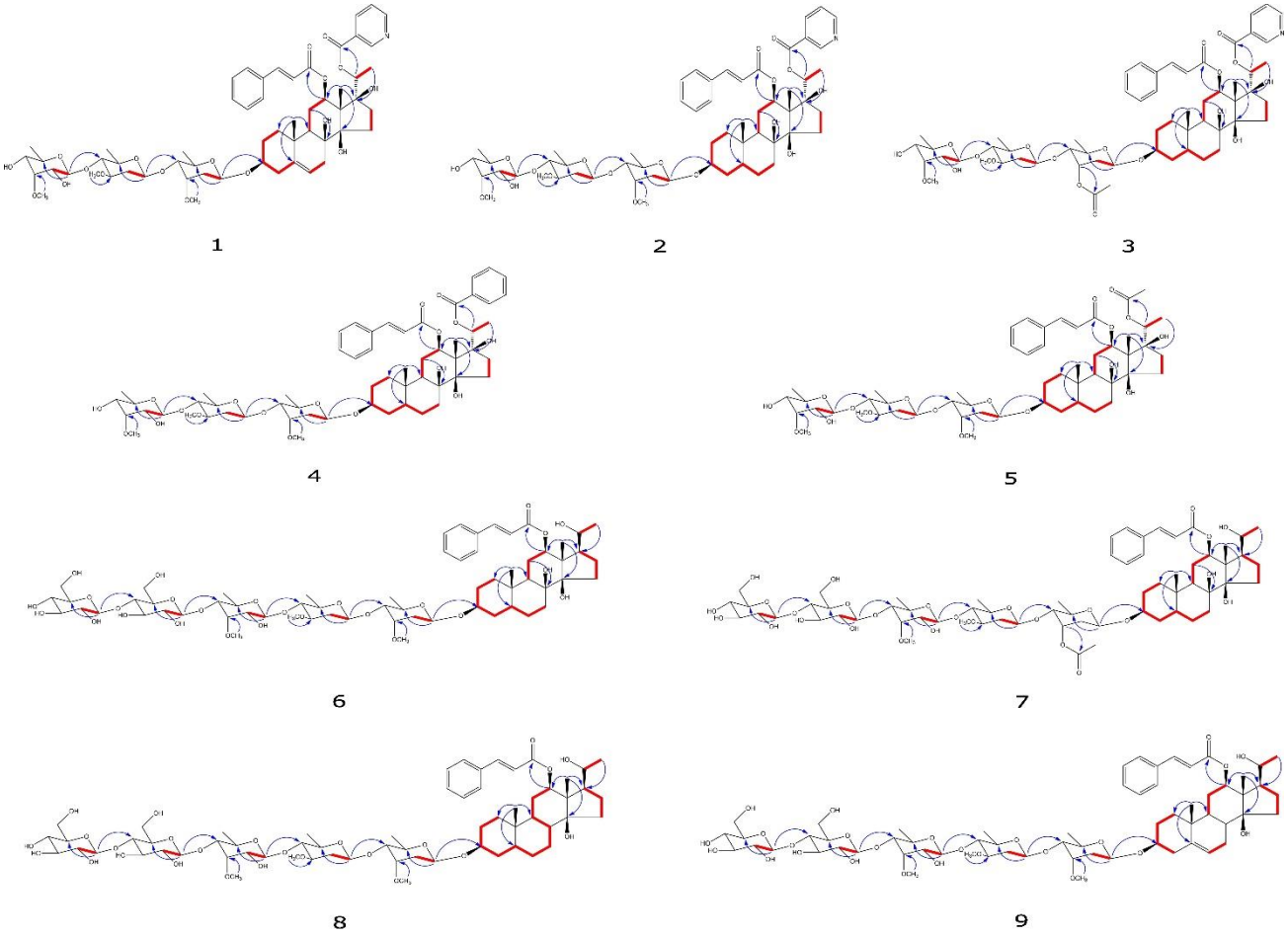


Figura 9 - Principais correlações ^{1}H-^{13}C HMBC e ^{1}H-^{1}H COSY dos compostos 1-9

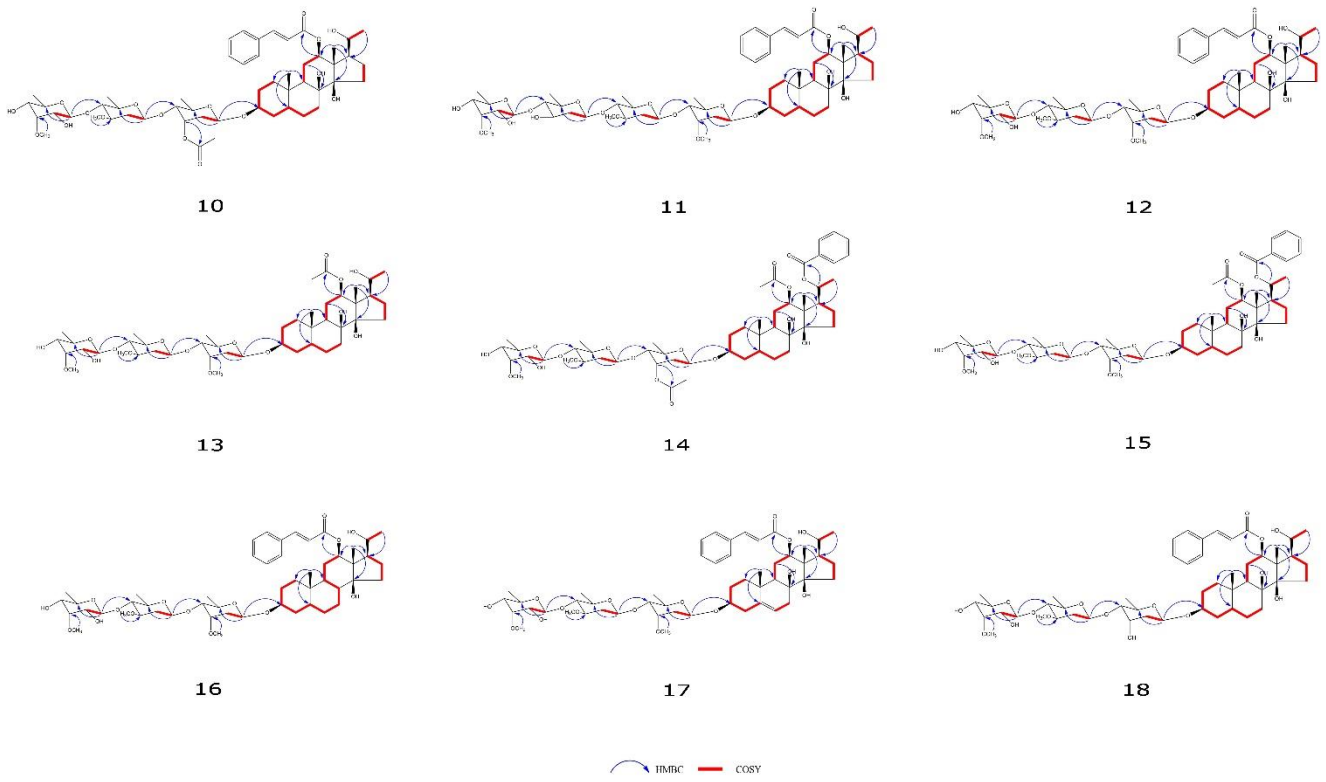


Figura 10 - Continuação da figura 9: Principais correlações ^{1}H-^{13}C HMBC e ^{1}H-^{1}H COSY dos compostos 10-18

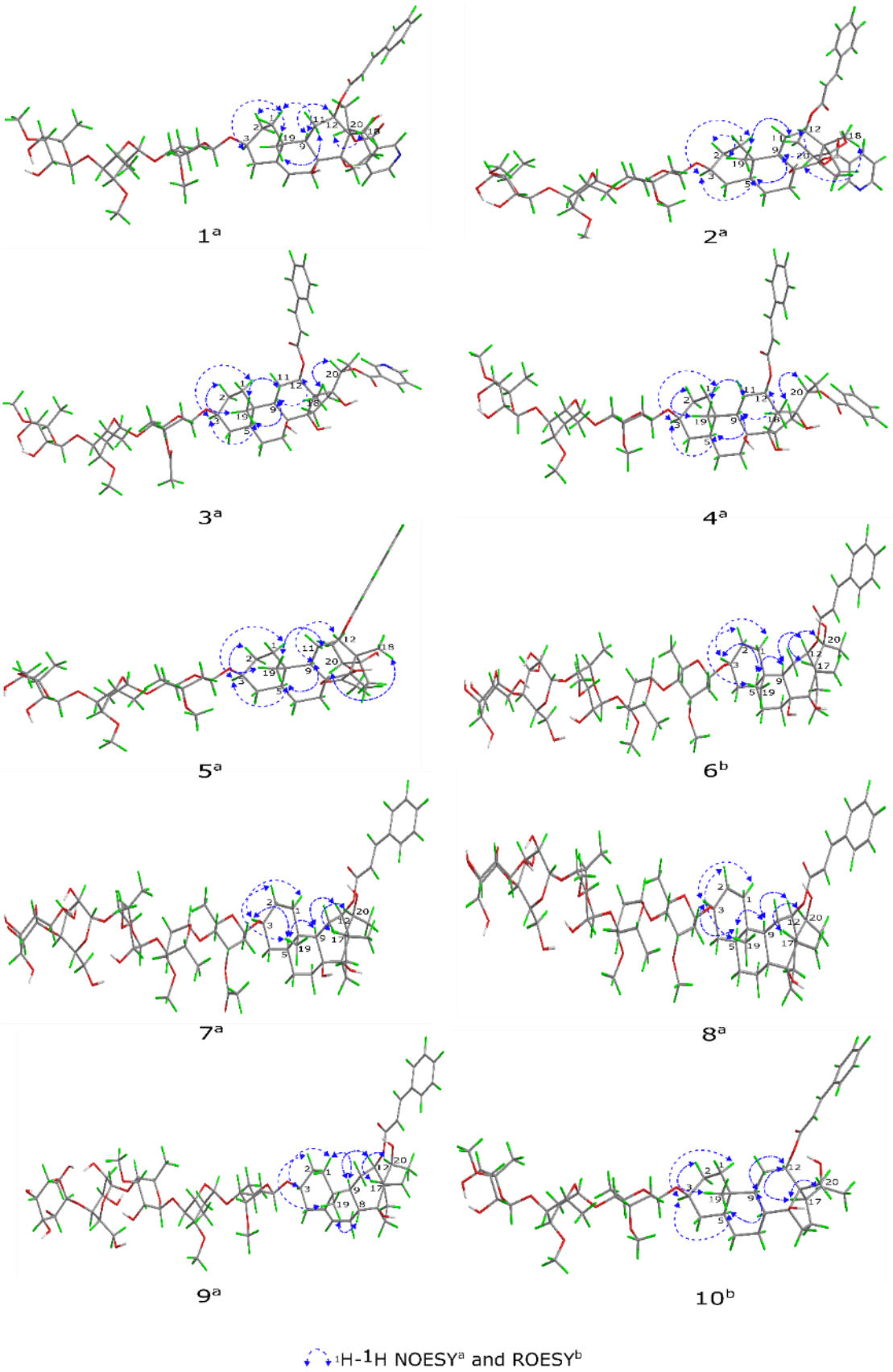


Figura 11 - Principais correlações ^{1}H-^{1}H NOESY[a] e ^{1}H-^{1}H ROESY[b] dos compostos 1-10.

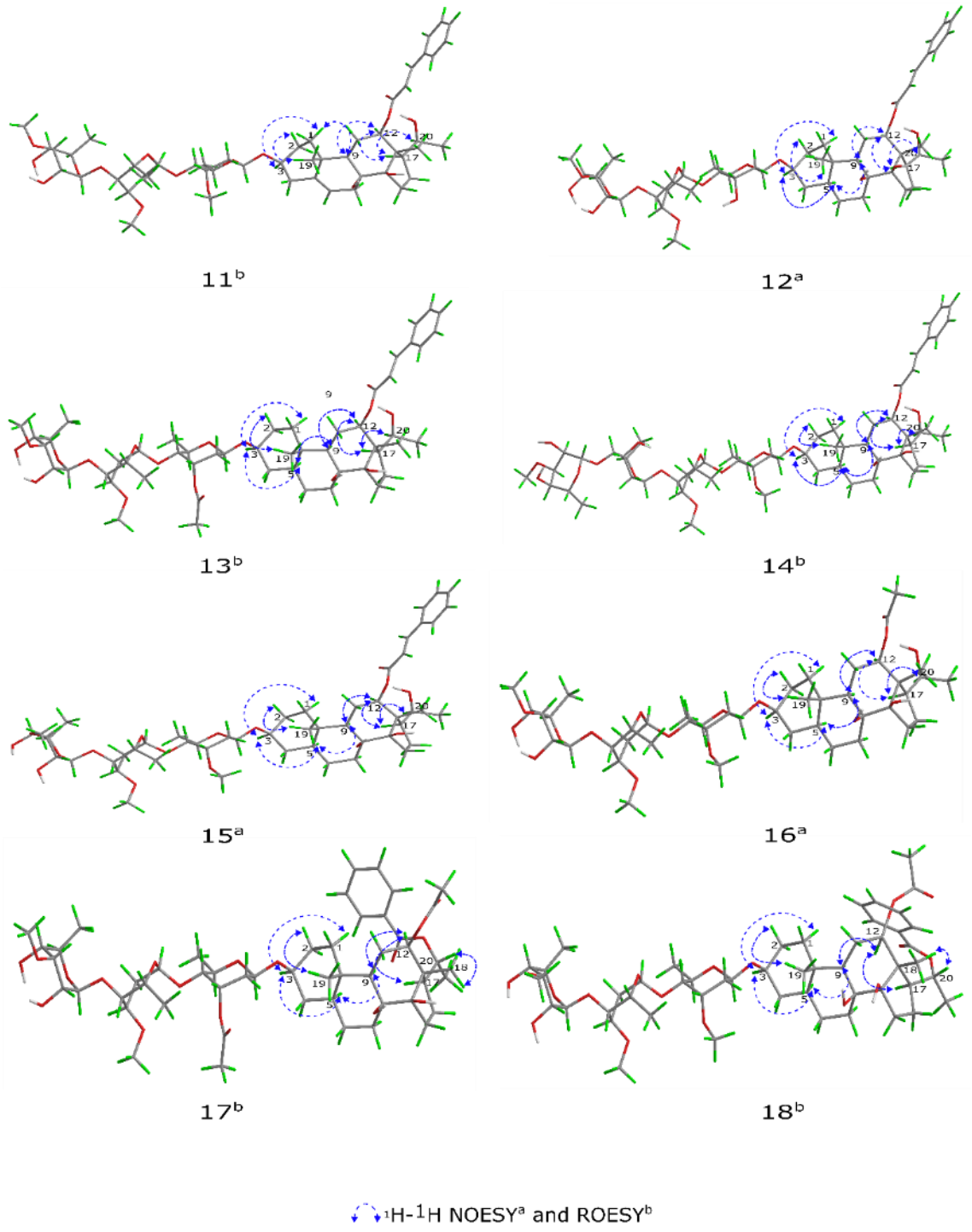


Figura 12 - Continuação da figura 11: Principais correlações ^{1}H-^{1}H NOESY^{a} e ^{1}H-^{1}H ROESY^{b} dos compostos 11-18.

Tabela 2 - Dados de RMN de ^{13}C para as porções da aglicona dos compostos 1–18 (δ em ppm, C_5D_5N)

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	38.4	37.5	37.6	37.7	37.7	37.9	38.0	37.4	37.1	37.4	38.9	38.0	38.0	38.1	37.8	38.0	37.9	38.0
2	29.5	29.1	29.3	29.4	29.3	29.4	29.5	29.8	29.9	29.9	29.9	29.5	29.5	29.5	29.3	29.5	29.3	29.5
3	77.3	76.4	76.8	76.1	76.5	76.5	76.9	76.4	77.0	76.5	77.8	76.6	76.9	76.6	76.5	76.6	76.9	76.7
4	38.9	34.0	34.1	34.2	34.3	34.3	34.4	34.6	38.9	34.7	39.2	34.4	34.4	34.4	34.2	34.4	34.3	34.4
5	138.9	44.8	45.0	45.0	45.0	45.2	45.4	44.3	139.2	44.4	138.9	45.3	45.4	45.4	45.1	45.3	45.1	45.2
6	119.1	24.7	24.4	25.0	24.9	25.2	25.3	28.8	122.2	28.9	119.7	25.2	25.3	25.3	25.1	25.3	25.0	25.2
7	34.5	34.1	34.2	34.3	34.1	35.1	35.2	27.9	27.5	28.0	36.1	35.2	35.2	35.2	35.0	35.4	35.4	35.5
8	74.0	75.7	75.8	75.9	75.8	75.6	75.7	40.0	36.5	40.1	73.9	75.7	75.7	75.7	75.5	75.6	76.0	76.1
9	43.7	46.4	46.5	46.6	46.6	47.7	47.8	46.3	43.4	46.5	45.0	47.8	47.8	47.8	47.6	47.7	48.0	48.1
10	36.9	36.0	36.2	36.2	36.2	36.5	36.6	35.8	35.7	35.9	37.1	36.5	35.9	36.6	36.4	36.5	36.4	36.5
11	25.4	24.2	24.9	24.4	24.5	23.8	23.9	26.7	26.5	26.8	24.8	23.9	23.9	23.9	23.7	23.7	23.6	23.7
12	74.3	74.8	74.8	75.9	74.5	78.4	78.4	77.9	77.4	78.0	77.8	78.4	78.4	78.5	78.3	78.2	81.0	81.1
13	56.8	57.1	57.2	57.3	57.1	53.8	53.9	53.0	52.8	53.1	53.7	53.8	53.9	53.9	53.7	53.6	52.6	52.7
14	88.7	88.5	88.5	88.6	88.5	85.3	85.4	83.9	84.1	83.9	85.5	85.4	85.4	85.4	85.2	85.3	86.0	86.2
15	33.4	33.7	33.1	33.8	33.4	35.3	35.5	32.9	33.4	33.0	36.0	35.4	35.5	35.5	35.3	35.1	34.0	34.1
16	33.7	33.1	33.7	33.4	33.3	19.0	19.1	18.8	18.5	19.0	33.6	19.1	19.1	19.1	18.9	19.1	23.5	23.6
17	87.1	87.2	87.3	87.6	87.3	51.8	51.8	51.6	51.7	51.8	52.0	51.8	51.9	51.9	51.7	51.7	52.2	52.3
18	11.2	11.6	11.7	11.8	11.7	12.1	12.2	9.8	9.6	9.9	11.8	12.1	12.1	12.2	12.0	12.0	11.1	11.2
19	17.7	12.5	12.6	12.7	12.7	12.9	13.0	11.9	19.2	12.0	18.2	13.0	13.0	13.1	12.9	13.0	13.1	13.2
20	76.1	76.0	76.1	75.6	75.0	65.4	65.5	65.2	65.1	65.3	65.4	65.5	65.3	65.5	65.3	65.4	71.7	71.9
21	15.1	15.1	15.2	15.3	15.1	22.2	22.3	22.5	22.4	22.7	22.3	22.3	22.3	22.3	22.1	22.3	19.8	20.0
12-O	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Ac	Ac	Ac
1	166.5	166.4	166.5	166.7	166.7	167.0	167.1	166.9	166.9	167.0	167.1	167.0	167.0	167.1	167.0	-	-	-
2	119.8	119.8	119.9	120.2	120.4	119.3	119.4	119.2	119.1	119.3	119.4	119.4	119.4	119.4	119.1	-	-	-
3	143.8	143.7	143.8	143.7	143.7	144.8	144.9	144.9	144.9	144.9	144.9	144.9	144.9	144.9	144.8	-	-	-
4	134.5	134.4	134.5	134.8	134.9	134.9	134.9	134.7	135.0	134.9	134.9	135.0	134.9	134.9	134.6	171.0	171.0	171.0
5	128.2	128.2	128.3	128.4	128.4	128.4	128.5	128.5	128.4	128.6	128.6	128.5	128.5	128.5	128.4	21.1	21.0	21.1
6	129.0	128.9	129.0	129.0	129.2	129.1	129.2	129.1	129.1	129.2	129.2	129.2	129.2	129.2	129.1	-	-	-
7	130.4	130.3	130.4	130.3	130.3	130.5	130.6	130.5	130.5	130.6	130.6	130.5	130.5	130.1	130.4	-	-	-
8	129.0	128.9	129.0	129.0	129.2	129.1	129.2	129.1	129.1	129.2	129.2	129.2	129.2	129.2	129.1	-	-	-
9	128.2	128.2	128.3	128.4	128.4	128.4	128.5	128.5	128.4	128.6	128.6	128.5	128.5	128.5	128.4	-	-	-
20-O	Nic	Nic	Nic	Bz	Ac	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Bz	Bz
1	164.4	164.3	164.4	165.5	170.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	166.0	166.1
2	-	-	-	131.1	21.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	131.4	131.6
3	151.1	151.0	151.1	130.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130.0	130.1
4	126.6	126.5	126.6	128.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	128.5	128.6
5	137.2	137.1	137.2	133.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	132.9	133.0
6	123.6	123.6	122.9	128.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	128.5	128.6
7	153.5	153.4	153.6	130.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130.0	130.1

Tabela 3 - Dados de RMN de ^{1}H para as porções aglicona dos compostos 1–6 (δ em ppm, C_5D_5N)

No.	1a	2a	3b	4a	5b	6b
1	1.00 (td, 14.0; 4.0) 1.65 (m)	0.80 (td, 13.5; 3.5) 1.47 (m)	0.82 (m) 1.53 (m)	0.83 (td, 13.5; 4.0) 1.53 (m)	0.86 (m) 1.58 (m)	0.88 (m) 1.57 (m)
2	1.73 (m) 2.00 (m)	1.60 (m) 1.91 (m)	1.61 (m) 1.98 (m)	1.68 (m) 1.95 (m)	1.66 (m) 1.97 (m)	1.68 (m) 2.01 (m)
3	3.78 (m)	3.81 (m)	3.83 (m)	3.84 (m)	3.84 (m)	3.88 (m)
4	2.38 (d, 13.0) 2.49 (dd, 13.5; 4.0)	1.43 (m) 1.67 (sl)	1.43 (m) 1.69 (d, 7.6)	1.37 (m) 1.71 (s)	1.41 (m) 1.71 (m)	1.37 (m) 1.71 (m)
5	-	0.96 (m)	0.97 (m)	0.97 (m)	0.99 (m)	1.00 (m)
6	5.28 (dd, 12.5; 4.0)	1.09 (m) 1.72 (m)	1.11 (s) 1.76 (s)	1.10 (m) 1.77 (m)	1.10 (m) 1.76 (m)	1.06 (m) 1.80 (m)
7	2.32 (m) 2.43 (sl)	1.36 (d, 6.0) 2.13 (m)	1.36 (t, 6.4) 2.16 (m)	1.46 (m) 2.02 (m)	1.39 (m) 2.14 (m)	1.40 (m) 2.15 (m)
8	-	-	-	-	-	-
9	1.70 (d, 3.0)	1.33 (sl)	1.38 (sl)	1.36 (sl)	1.35 (sl)	1.38 (d, 4.0)
10	-	-	-	-	-	-
11	1.96 (m) 2.29 (m)	1.89 (m) 2.17 (m)	1.95 (m) 2.21 (m)	1.97 (m) 2.21 (m)	1.98 (m) 2.26 (dd, 10.0; 1.6)	1.84 (m) 2.25 (m)
12	5.25 (dd, 12.5; 4.0)	5.18 (d, 11.0)	5.18 (d, 8.0)	5.25 (m)	5.15 (dd, 11.2; 4.0)	5.09 (dd, 12.0; 4.4)
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	2.08 (m)	2.09 (m)	2.05 (m)	2.02 (m)	2.09 (m)	1.40 (m)
16	2.06 (m)	2.17 (m)	2.10 (m) 2.16 (m)	2.16 (m)	2.14 (m)	1.88 (m) 2.15 (m)
17	-	-	-	-	-	2.06 (m)
18	2.04 (s)	2.02 (s)	2.06 (s)	2.10 (s)	2.00 (s)	1.71 (s)
19	1.23 (s)	1.05 (s)	1.09 (s)	1.09 (s)	1.13 (s)	1.16 (s)
20	5.21 (m)	5.21 (m)	5.23 (m)	5.20 (m)	5.19 (m)	4.19 (m)
21	1.50 (d, 6.5)	1.50 (d, 6.0)	1.51 (sl)	1.50 (d, 6.0)	1.53 (d, 6.0)	1.14 (sl)
12-O	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin
α	-	-	-	-	-	-
β	6.48 (d, 16.0)	6.46 (d, 16.0)	6.51 (d, 16.4)	6.46 (d, 16.0)	6.81 (d, 16.0)	6.89 (d, 16.0)
δ	7.78 (d, 16.0)	7.74 (d, 16.0)	7.77 (d, 16.4)	7.81 (d, 16.0)	8.00 (d, 16.0)	8.03 (d, 16.0)
1	-	-	-	-	-	-
2	7.37 (m)	7.33 (m)	7.36 (m)	7.34 (m)	7.67 (m)	7.61 (m)
3	7.32 (m)	7.30 (m)	7.31 (m)	7.32 (m)	7.33 (m)	7.32 (m)
4	7.32 (m)	7.30 (m)	7.31 (m)	7.32 (m)	7.33 (m)	7.32 (m)
5	7.32 (m)	7.30 (m)	7.31 (m)	7.32 (m)	7.33 (m)	7.32 (m)
6	7.37 (m)	7.33 (m)	7.36 (m)	7.34 (m)	7.67 (m)	7.61 (m)
20-O	Nic	Nic	Nic	Bz	Ac	-
1	-	-	-	-	-	-
2	8.79 (dd, ;4.5; 1.5)	8.76 (dd, ;4.5; 1.5)	8.83 (m)	-	1.92 (s)	-
3	-	-	-	8.15 (dd, 8.5; 1.5)	-	-
4	8.29 (dt, ;8.0; 2.0)	8.26 (dt, ;8.0; 2.0)	8.34 (d, 6.0)	7.28 (m)	-	-
5	7.19 (d, 4.5)	7.16 (dd, 8.0; 4.5)	7.14 (d, 8.0)	7.47 (tt, 7.5; 1.5)	-	-
6	9.48 (d, 2.0)	9.45 (d, 2.0)	9.55 (m)	7.28 (m)	-	-
7	-	-	-	8.15 (dd, 8.5; 1.5)	-	-

a Medido a 500 MHz

b Medido a 400 MHz.

Tabela 4 - Dados de RMN de ^{1}H para as porções aglicona dos compostos 7–12 (δ em ppm, C_5D_5N)

No.	7b	8b	9b	10b	11b	12b
1	0.92 (m) 1.63 (m)	0.88 (td, 14.0; 4.8) 1.48 (m)	1.00 (m) 1.66 (m)	0.87 (td, 14.0; 4.0) 1.51 (m)	1.09 (m) 1.80 (m)	0.91 (m) 1.61 (m)
2	1.70 (m) 2.03 (m)	1.71 (m) 2.07 (m)	1.64 (m) 2.03 (m)	1.58 (m) 2.03 (m)	1.81 (m) 2.09 (m)	1.67 (m) 2.01 (m)
3	3.88 (m)	3.81 (m)	3.74 (m)	3.83 (m)	3.84 (m)	3.81 (m)
4	1.38 (m) 1.71 (m)	1.25 (m) 1.68 (m)	2.26 (d, 12.8) 2.45 (dd, 13.6; 6.0)	1.25 (m) 1.65 (m)	2.36 (d, 12.8) 2.55 (d, 13.2; 4.4)	1.40 (m) 1.73 (m)
5	1.03 (m)	0.98 (m)	-	0.95 (m)	-	0.98 (m)
6	1.08 (m) 1.80 (m)	1.22 (m)	5.36 (d, 2.4)	1.22 (m)	5.35 (d, 4.4)	1.08 (m) 1.78 (m)
7	1.87 (m) 2.17 (m)	1.84 (m) 2.16 (m)	2.36 (m) 2.59 (d, 16.0)	1.16 (d, 6.4) 2.39 (d, 5.6)	2.35 (m) 2.58 (dd, 12.0; 4.4)	1.87 (m) 2.16 (m)
8	-	1.87 (d, 2.0)	2.06 (m)	1.87 (d, 2.4)	-	-
9	1.44 (sl)	1.06 (d, 3.2)	1.39 (sl)	1.06 (d, 2.8)	1.77 (d, 3.2)	1.40 (sl)
10	-	-	-	-	-	-
11	1.95 (m) 2.29 (m)	1.51 (m) 1.94 (m)	1.66 (m) 1.97 (m)	1.50 (m) 1.97 (m)	2.00 (m) 2.38 (m)	1.92 (m) 2.27 (m)
12	5.13 (dd, 12.0; 3.2)	5.00 (m)	5.08 (m)	5.00 (dd, 11.6; 3.6)	5.19 (dd, 11.6; 3.6)	5.09 (m)
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	1.44 (m)	1.16 (sl) 2.37 (m)	1.88 (m)	1.86 (m) 2.09 (m)	2.07 (m)	1.42 (m)
16	1.90 (m) 2.17 (m)	1.91 (m) 2.25 (m)	1.86 (m) 2.17 (m)	1.93 (m) 2.16 (m)	2.11 (m)	1.90 (m) 2.19 (m)
17	2.10 (m)	2.15 (m)	2.15 (m)	2.14 (m)	2.14 (m)	2.08 (m)
18	1.73 (s)	1.49 (s)	1.48 (s)	1.49 (s)	1.73 (s)	1.72 (s)
19	1.19 (s)	0.73 (s)	0.94 (s)	0.73 (s)	1.38 (s)	1.17 (s)
20	4.21 (m)	4.22 (m)	4.21 (m)	4.24 (m)	4.21 (m)	4.21 (m)
21	1.17 (d, 6.4)	1.20 (d, 6.4)	1.18 (d, 6.4)	1.20 (d, 6.4)	1.17 (d, 6.0)	1.16 (d, 6.0)
12-O	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin
α	-	-	-	-	-	-
β	6.93 (d, 16.0)	6.93 (d, 16.0)	6.89 (d, 16.0)	6.91 (d, 16.0)	6.92 (d, 16.0)	6.91 (d, 16.0)
δ	8.07 (d, 16.0)	8.07 (d, 16.0)	8.03 (d, 16.0)	8.05 (d, 16.0)	8.06 (d, 16.0)	8.05 (d, 16.0)
1	-	-	-	-	-	-
2	7.65 (m)	7.34 (m)	7.64 (m)	7.66 (m)	7.65 (m)	7.64 (m)
3	7.35 (m)	7.65 (m)	7.33 (m)	7.33 (m)	7.35 (m)	7.33 (m)
4	7.35 (m)	7.65 (m)	7.33 (m)	7.33 (m)	7.35 (m)	7.33 (m)
5	7.35(m)	7.65 (m)	7.33 (m)	7.33 (m)	7.35 (m)	7.33 (m)
6	7.65 (m)	7.34 (m)	7.64 (m)	7.66 (m)	7.65 (m)	7.64 (m)

b Medido a 400 MHz.

Tabela 5 - Dados de RMN de ^{1}H para as porções aglicona dos compostos 13–18 (δ em ppm, C_5D_5N)

No.	13b	14b	15a	16a	17a	18b
1	0.93 (m) 1.62 (m)	0.93 (m) 1.62 (m)	0.88 (m) 1.57 (m)	0.85 (m) 1.58 (m)	0.84 (m) 1.60 (m)	0.85 (td, 13.2; 3.6) 1.59 (m)
2	1.68 (m) 2.04 (m)	1.69 (m) 2.03 (m)	1.66 (m) 1.99 (m)	1.69 (m) 1.97 (m)	1.67 (m) 1.97 (m)	1.66 (m) 1.98 (m)
3	3.87 (m)	3.89 (m)	3.86 (m)	3.86 (m)	3.85 (m)	3.85 (m)
4	1.42 (m) 1.71 (m)	1.39 (m) 1.75 (m)	1.37 (m) 1.68 (m)	1.71 (m)	1.38 (m) 1.68 (m)	1.34 (m) 1.72 (m)
5	1.01 (m)	1.02 (m)	0.98 (m)	0.98 (m)	0.99 (m)	0.98 (m)
6	1.09 (m) 1.84 (m)	1.12 (m) 1.79 (m)	1.05 (m) 1.75 (m)	1.06 (m) 1.76 (m)	1.05 (m) 1.74 (m)	1.09 (m) 1.82 (m)
7	1.87 (m) 2.16 (m)	1.91 (m) 2.09 (m)	1.85 (m) 2.14 (m)	1.84 (m) 2.16 (m)	1.42 (m) 2.12 (m)	1.40 (m) 2.10 (m)
8	-	-	-	-	-	-
9	1.43 (sl)	1.43 (sl)	1.38 (sl)	1.33 (d, 3.5)	1.25 (sl)	1.28 (sl)
10	-	-	-	-	-	-
11	1.98 (m) 2.27 (d, 11.6)	1.93 (m) 2.28 (m)	1.89 (m) 2.23 (m)	1.81 (m) 2.15 (m)	1.76 (m) 1.99 (m)	1.76 (m) 2.00 (m)
12	5.11 (dd, 11.6; 3.6)	5.14 (m)	5.10 (dd, 12.0; 4.0)	4.91 (dd, 12.5; 4.5)	4.89 (dd, 9.6; 3.2)	4.89 (dd, 12.8; 3.2)
13	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-
15	1.43 (m)	1.41 (m) 2.16 (m)	1.39 (m) 2.14 (m)	1.39 (m)	1.36 (m)	1.36 (m)
16	1.90 (m) 2.20 (m)	1.87 (m) 2.10 (m)	1.88 (m) 2.14 (m)	1.86 (m) 2.13 (m)	2.12 (m) 2.41 (m)	2.13 (m) 2.40 (m)
17	2.10 (m)	2.09 (m)	2.03 (m)	2.00 (m)	2.17 (m)	2.19 (td, 8.8; 3.2)
18	1.73 (s)	1.72 (s)	1.69 (s)	1.60 (s)	1.55 (s)	1.57 (s)
19	1.19 (s)	1.19 (s)	1.14 (s)	1.15 (s)	1.10 (s)	1.12 (s)
20	4.23 (m)	4.22 (m)	4.19 (m)	4.17 (m)	5.53 (m)	5.55 (m)
21	1.17 (d, 6.0)	1.15 (d, 6.4)	1.14 (d, 6.0)	1.18 (d, 6.5)	1.36 (d, 4.8)	1.38 (d, 6.0)
12-O	Cin	Cin	Cin	Ac	Ac	Ac
α	-	-	-	-	-	-
β	6.91 (d, 16.0)	6.87 (d, 16.0)	6.87 (d, 16.0)	-	-	-
δ	8.05 (d, 16.0)	8.01 (d, 16.0)	8.01 (d, 16.0)	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-
2	7.64 (m)	7.62 (m)	7.62 (m)	2.12 (s)	2.09 (s)	2.09 (s)
3	7.33 (m)	7.33 (m)	7.33 (m)	-	-	-
4	7.33 (m)	7.33 (m)	7.33 (m)	-	-	-
5	7.33 (m)	7.33 (m)	7.33 (m)	-	-	-
6	7.64 (m)	7.62 (m)	7.62 (m)	-	-	-
20-O	-	-	-	-	Bz	Bz
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	8.34 (d, 5.6)	8.35 (dd, 8.4; 1.2)
4	-	-	-	-	7.28 (m)	7.28 (m)
5	-	-	-	-	7.44 (tt, 5.6; 1.2)	7.45 (tt, 7.2; 1.6)
6	-	-	-	-	7.28 (m)	7.28 (m)
7	-	-	-	-	8.34 (d, 5.6)	8.35 (dd, 8.4; 1.2)

a Medido a 500 MHz

b Medido a 400 MHz

Tabela 6 - Dados de RMN de ^{13}C para as porções de açúcar dos compostos **1**–**18** (δ in ppm, C_5D_5N)

No.	1a	2a	3b	4a	5b	6b	7b	8b	9b	10b	11b	12b	13b	14b	15a	16a	17a	18b
	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym
1’	96.1	95.6	95.8	95.8	95.7	95.7	95.9	95.7	96.0	95.9	96.3	95.8	95.9	95.8	95.7	95.8	95.9	95.9
2’	36.8	36.8	36.6	36.1	37.1	37.0	36.8	37.0	36.8	37.2	37.1	36.5	36.8	37.1	36.9	37.1	36.6	37.1
3’	77.5	77.5	70.5	77.7	77.7	77.6	70.6	77.6	77.5	77.8	77.7	77.4	70.6	77.8	77.6	77.7	70.5	77.8
4’	83.1	83.1	79.9	83.4	83.3	83.3	80.0	83.2	83.1	83.4	83.3	83.6	80.0	83.5	83.1	83.4	79.9	83.4
5’	68.7	68.6	69.2	68.8	68.8	68.7	69.3	68.7	68.7	68.8	68.8	68.3	68.8	68.8	68.7	68.8	69.2	68.8
6’	18.3	18.3	18.4	18.5	18.4	18.5	18.5	18.4	18.3	18.5	18.5	18.5	18.5	18.1	18.3	18.5	18.4	18.6
OMe	58.2	58.4	-	58.6	58.6	58.5	-	58.6	58.5	58.7	58.7	-	-	58.7	58.5	58.6	-	58.7
-OCO	-	-	170.0	-	-	-	170.1	-	-	-	-	-	170.1	-	-	-	170.0	-
-CH_3	-	-	21.0	-	-	-	21.1	-	-	-	-	-	21.1	-	-	-	21.0	-
	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole
1’’	101.6	101.5	100.9	101.7	101.7	101.6	101.0	101.6	101.6	101.8	101.8	101.3	101.0	101.8	101.6	101.7	100.9	101.8
2’’	37.2	37.2	37.0	37.4	37.4	37.4	37.2	37.4	37.3	37.2	37.4	37.1	37.1	37.6	37.2	37.4	37.0	37.5
3’’	79.0	78.9	79.0	79.1	79.1	79.1	79.1	79.0	79.0	79.1	79.1	79.1	79.1	78.9	79.0	79.1	79.0	79.1
4’’	82.6	82.6	82.5	82.8	82.7	82.8	82.6	82.8	82.7	82.8	82.7	82.9	82.6	82.9	82.6	82.8	82.5	82.8
5’’	71.7	71.6	71.8	71.8	71.8	71.7	71.9	71.7	71.6	71.9	71.9	71.9	72.0	71.4	71.7	71.9	71.8	71.8
6’’	18.6	18.4	18.4	18.5	18.5	18.6	18.6	18.6	18.6	18.6	18.8	18.8	18.6	18.6	18.4	18.8	18.4	18.8
OMe	56.9	56.9	56.9	57.1	57.0	57.1	57.1	57.1	57.0	57.1	57.1	57.1	57.0	57.3	56.9	57.1	56.9	57.1
	All	All	All	All	All	All	All	All	All	All	All	All	All	Can	All	All	All	All
1’’’	101.7	101.7	101.7	101.9	101.8	101.6	101.7	101.6	101.6	101.9	101.9	101.9	101.8	100.2	101.7	101.9	101.7	101.9
2’’’	72.9	72.8	72.9	73.1	73.0	72.4	72.5	72.4	72.3	73.1	73.1	73.1	73.1	39.8	72.9	73.1	72.9	73.1
3’’’	83.7	83.7	83.7	83.9	83.8	82.8	82.9	82.8	82.7	83.9	83.9	83.9	83.8	71.3	83.7	83.9	83.7	83.9
4’’’	74.3	74.2	74.3	74.4	74.4	83.2	83.2	83.2	83.1	74.5	74.5	74.4	74.4	88.2	74.3	74.4	74.3	74.5
5’’’	70.6	70.6	70.7	70.8	70.7	69.2	69.3	69.2	69.2	70.8	70.8	70.8	70.8	70.1	70.6	70.8	70.7	70.9
6’’’	18.3	18.6	18.5	18.8	18.7	18.0	18.1	18.0	17.9	18.8	18.5	18.6	18.6	18.6	18.6	18.6	18.5	18.5
OMe	61.8	61.8	61.9	61.9	61.9	61.5	61.5	61.5	61.5	62.0	62.0	62.0	61.9	-	61.8	62.0	61.9	62.0
						Glc	Glc	Glc	Glc					All				
1’’’’	-	-	-	-	-	105.9	106.0	105.9	105.8	-				103.2				
2’’’’	-	-	-	-	-	74.6	74.7	74.6	74.7	-				72.5				
3’’’’	-	-	-	-	-	76.2	76.3	76.2	76.1	-				83.8				
4’’’’	-	-	-	-	-	81.2	81.3	81.2	81.2	-				74.1				
5’’’’	-	-	-	-	-	78.0	78.1	78.0	77.9	-				71.1				
6’’’’	-	-	-	-	-	62.0	62.2	62.0	61.9	-				18.6				
OMe														62.1				
						Glc	Glc	Glc	Glc					-				
1’’’’’	-	-	-	-	-	104.7	104.8	104.7	104.6	-				-				
2’’’’’	-	-	-	-	-	74.7	74.8	74.7	74.6	-				-				
3’’’’’	-	-	-	-	-	76.3	76.4	76.3	76.2	-				-				
4’’’’’	-	-	-	-	-	71.3	71.4	71.3	71.3	-				-				
5’’’’’	-	-	-	-	-	78.3	78.4	78.3	78.2	-				-				
6’’’’’	-					62.2	62.3	62.2	62.1					-				

a Medido a 500 MHz.

b Medido a 400 MHz.

Tabela 7 - Dados de RMN de ^{1}H das porções de açúcar dos compostos para 1–9 (δ em ppm, C_5D_5N)

No.	1a	2a	3b	4a	5b	6b	7b	8b	9b
	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym
1’	5.19 (sl)	5.22 (m)	5.20 (d, 8.0)	5.26 (m)	5.28 (sl)	5.25 (dd, 10.0; 1.6;	5.24 (dd, 9.2; 1.6)	5.26 (d, 2.0)	5.22 (sl)
2’	1.81 (m) 2.24 (dt, 12.0; 4.0)	1.81 (m) 2.22 (dt, 12.0; 3.5)	1.82 (m) 2.25 (s)	1.85 (t, 3.0) 2.27 (m)	1.85 (m) 2.29 (m)	1.81 (m) 2.25 (m)	2.01 (m) 2.41 (m)	1.84 (m) 2.25 (m)	1.82 (m) 2.22 (m)
3’	3.97 (q, 3.0)	3.98 (q, 3.0)	5.71 (s)	4.01 (q, 2.5)	4.02 (q, 2.8)	3.99 (q, 3.6)	5.73 (q, 3.2)	4.00 (m)	3.97 (m)
4’	3.42 (m)	3.43 (m)	3.60 (m)	3.47 (dd, 5.0; 2.0)	3.47 (m)	3.44 (m)	3.60 (m)	3.43 (m)	3.41 (m)
5’	4.16 (m)	4.20 (m)	4.20 (m)	4.23 (m)	4.24 (m)	4.10 (m)	4.22 (m)	4.14 (m)	4.18 (m)
6’	1.38 (d, 6.0)	1.42 (d, 6.5)	1.44 (sl)	1.44 (d, 6.0)	1.44 (d, 6.4)	1.41 (d, 6.0)	1.49 (d, 6.0)	1.42 (d, 6.4)	1.38 (d, 6.4)
OMe	3.50 (s)	3.51 (s)	-	3.54 (s)	3.55 (s)	3.52 (s)	-	3.54 (s)	3.50 (s)
-OCO	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$-CH_3$	-	-	2.07 (s)	-	-	-	2.07 (s)	-	-
	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole
1’’	4.65 (dd, 9.5; 1.5)	4.64 (dd, 9.5; 2.0)	4.69 (t, 10.8)	4.67 (dd, 10.0; 2.0)	4.66 (dd, 9.6; 2.0)	4.63 (dd, 9.2; 1.2)	4.68 (dd, 9.6; 1.2)	4.65 (dd, 9.6; 1.6)	4.64 (d, 9.6)
2’’	1.68 (d, 4.0) 2.41 (m)	1.69 (m) 2.44 (m)	1.71 (m) 2.39 (s)	1.75 (dd, 12.0; 3.0) 2.45 (m)	1.73 (m) 2.47 (m)	1.68 (m) 2.44 (m)	1.71 (m)	1.68 (m) 2.42 (m)	1.66 (m) 2.40 (m)
3’’	3.54 (t, 1.5)	3.54 (sl)	3.55 (m)	3.57 (m)	3.58 (m)	3.50 (m)	3.41 (m)	3.53(m)	3.51 (m)
4’’	3.56 (sl)	3.53 (s)	3.52 (sl)	3.58 (m)	3.58 (m)	3.51 (m)	3.49 (m)	3,52 (m)	3.50 (m)
5’’	3.52 (q, 2.5)	3.53 (s)	3.52 (sl)	3.55 (m)	3.53 (m)	3.50 (m)	3.48 (m)	3.53 (m)	3.50 (m)
6’’	1.59 (d, 5.5)	1.59 (d, 5.0)	1.59 (sl)	1.61 (d, 6.0)	1.62 (d, 6.0)	1.55 (d, 5.6)	1.53 (d, 6.4)	1.55 (d, 6.0)	1.55 (,d, 4.8)
OMe	3.47 (s)	3.46 (s)	3.46 (s)	3.48 (s)	3.50 (s)	3.47 (s)	3.41 (s)	3.48 (s)	3.45 (s)
	All	All	All	All	All	All	All	All	All
1’’’	5.24 (d, 8.0)	5.24 (m)	5.26 (d, 7.6)	5.27 (m)	5.26 (sl)	5.22 (d, 8.0)	5.19 (dd, 8.0; 1.6)	5.24 (d, 8.0)	5.16 (sl)
2’’’	3.83 (dd, 8.5; 3.0)	3.83 (dd, 8.0; 3.0)	3.81 (sl)	3.86 (m)	3.87 (sl)	3.79 (dd, 8.0; 2.8)	3.78 (m)	3.80 (d, 3.2)	3.79 (m)
3’’’	4.04 (t, 2.5)	4.04 (t, 2.5)	4.03 (sl)	4.05 (t, 3.0)	4.05 (t, 3.2)	4.38 (t, 2.8)	4.37 (t, 2.8)	4.39 (t, 2.8)	4.38 (t, 3.2)
4’’’	3.58 (d, 3.0)	3.58 (dd, 10.0; 3.0)	3.55 (sl)	3.60 (sl)	3.60 (m)	3.63 (dd, 9.6; 2.4)	3.65 (dd, 10.0; 2.0)	3.66 (dd, 9.6; 2.4)	3.62 (d, 9.6))
5’’’	4.12 (m)	4.12 (m)	4.12 (m)	4.14 (m)	4.14 (m)	4.22 (m)	4.14 (m)	4.22 (m)	4.19 (m)
6’’’	1.51 (d, 6.5)	1.50 (d, 6.0)	1.50 (s)	1.53 (d, 6.0)	1.53 (d, 6.0)	1.59 (d, 6.4)	1.60 (d, 6.4)	1.58 (d, 5.6)	1.58 (d, 6.0)
OMe	3.79 (s)	3.79 (s)	3.79 (s)	3.81 (s)	3.81 (s)	3.77 (s)	3.76 (s)	3.78 (s)	3.77 (s)
	-	-	-	-	-	Glc	Glc	Glc	Glc
1’’’’	-	-	-	-	-	4.86 (d, 7.6)	4.89 (d, 7.6)	4.89 (d, 8.4)	4.86 (d, 8.0)
2’’’’	-	-	-	-	-	4.05 (t, 8.4)	4.06 (m)	4.05 (m)	3.95 (m)
3’’’’	-	-	-	-	-	4.22 (m)	4.24 (m)	4.30 (m)	4.22 (m)
4’’’’	-	-	-	-	-	4.23 (m)	4.26 (m)	4.24 (m)	4.21 (m)
5’’’’	-	-	-	-	-	4.19 (m)	4.20 (m)	3.98 (m)	4.18 (m)
6’’’’	-	-	-	-	-	4.44 (dd, 10.0; 3.6)	4.44 (dd, 14.4; 3.6)	4.44 (dd, 12.0; 3..2)	4.41 (m)
						Glc	Glc	Glc	Glc
1’’’’’	-	-	-	-	-	5.16 (sl)	5.17 (dd, 8.0; 1.6)	5.10 (d, 8.0)	5.12 (sl)
2’’’’’	-	-	-	-	-	3.97 (m)	3.98 (d, 8.4)	3.96 (m)	4.04 (d, 8.8)

3’’’’	-	-	-	-	-	3.88 (m)	3.91 (m)	3.90 (m)	3.8 (m)
4’’’’	-	-	-	-	-	4.13 (m)	4.17 (m)	4.12 (m)	4.11 (m)
5’’’’	-	-	-	-	-	3.95 (m)	3.95 (m)	3.92 (m)	4.17 (m)
6’’’’	-	-	-	-	-	4.23 (m) 4.49 (dd, 12.0; 2.0)	4.28 (m) 4.51 (dd, 11.6; 2.0)	4.24 (m) 4.50 (d, 2.4)	4.22 (m) 4.50 (dd, 11.2; 2.4)

a Medido a 500 MHz.

b Medido a 400 MHz.

Tabela 8 - Dados de RMN de ^{1}H das porções de açúcar dos compostos para 10–18 (δ em ppm, C_5D_5N)

No.	10b	11b	12b	13b	14b	15a	16a	17a	18b
	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym	Cym
1'	5.23 (d, 2.0)	5.24 (d, 10.0)	5.49 (dd, 9.2; 2.0)	5.24 (dd, 9.2; 2.4)	5.28 (dd, 9.6; 1.6)	5.25 (m)	5.25 (m)	5.16 (d, 10.0)	5.26 (dd, 9.6; 2.0)
2'	1.84 (dd, 13.2; 2.4) 2.27 (m)	1.85 (m) 2.25 (m)	1.84 (m) 2.27 (m)	1.90 (d, 2.4) 2.38 (m)	1.87 (m) 2.31 (m)	1.83 (d, 3.0) 2.26 (m)	1.84 (m) 2.28 (m)	1.98 (m) 2.37 (m)	1.87 (m) 2.29 (m)
3'	4.02 (q, 2.4)	4.00 (m)	4.02 (m)	5.73 (q, 3.2)	4.03 (q, 2.8)	3.99 (q, 3.0)	4.01 (m)	5.70 (m)	4.01 (q, 3.2)
4'	3.44 (m)	3.45 (m)	3.47 (m)	3.61 (m)	3.47 (m)	3.44 (m)	3.47 (m)	3.59 (m)	3.47 (m)
5'	4.22 (m)	4.19 (m)	4.34 (m)	4.25 (m)	4.26 (m)	4.22 (m)	4.23 (m)	4.19 (m)	4.25 (m)
6'	1.42 (d, 6.4)	1.40 (d, 7.6)	1.48 (d, 6.4)	1.42 (d, 6.0)	1.44 (d, 4.4)	1.47 (d, 6.5)	1.43 (d, 6.0)	1.39 (d, 4.8)	1.44 (d, 6.0)
OMe	3.55 (s)	3.52 (s)	-	-	3.52 (s)	3.52 (s)	3.54 (s)	-	3.54 (s)
-OCO	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$-CH_3$	-	-	-	2.08 (s)	-	-	-	2.06 (s)	-
	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole	Ole
1''	4.67 (dd, 10.0; 2.0)	4.66 (dd, 9.2; 1.6)	4.70 (dd, 9.6; 1.6)	4.69 (m)	4.66 (dd, 9.6; 1.6)	4.64 (dd, 10.0; 2.0)	4.67 (dd, 9.5; 2.0)	4.67 (dd, 8.0; 1.2)	4.68 (dd, 9.6; 2.0)
2''	1.73 (m) 2.44 (m)	1.72 (m) 2.35 (m)	1.69 (m) 2.44 (m)	1.74 (m) 2.43 (m)	1.71 (m) 2.42 (m)	1.68 (m) 2.43 (m)	1.71 (m) 2.44 (m)	1.71 (m) 2.41 (m)	1.72 (m) 2.47 (m)
3''	3.56 (m)	3.56 (m)	3.57 (m)	3.54 (m)	3.50 (m)	3.55 (m)	3.56 (m)	3.55 (m)	3.56 (m)
4''	3.57 (m)	3.57 (m)	3.54 (m)	3.53 (m)	3.44 (m)	3.54 (m)	3.57 (m)	3.52 (m)	3.57 (m)
5''	3.52 (m)	3.53 (m)	3.54 (m)	3.52 (m)	3.44 (m)	3.54 (m)	3.54 (m)	3.51 (m)	3.53 (m)
6''	1.62 (d, 5.6)	1.62 (d, 5.6)	1.57 (d, 6.4)	1.58 (d, 6.0)	1.58 (d, 6.0)	1.57 (d, 6.0)	1.60 (sl)	1.58 (d, 4.4)	1.62 (d, 5.6)
OMe	3.49 (s)	3.49 (s)	3.49 (s)	3.46 (s)	3.45 (s)	3.47 (s)	3.49 (s)	3.45 (s)	3.50 (s)
	All	All	All	All	Can	All	All	All	All
1'''	5.27 (d, 8.0)	5.27 (d, 8.0)	5.27 (d, 8.4)	5.21 (d, 8.0)	4.90 (d, 10.4)	5.26 (d, 8.5)	5.27 (d, 8.5)	5.21 (d, 6.0)	5.28 (d, 8.0)
2'''	3.85 (m)	3.85 (m)	3.85 (m)	3.84 (m)	1.93 (m) 2.54 (dd, 5.2; ;1.2)	3.82 (d, 3.0)	3.85 (m)	3.80 (m)	3.87 (m)
3'''	4.05 (t, 2.8)	4.05 (t, 2.8)	4.04 (t, 2.8)	4.05 (t, 2.8)	3.56 (m)	4.04 (t, 2.5)	4.05 (t, 2.0)	4.03 (t, 2.4)	4.05 (t, 2.8)
4'''	3.58 (d, 1.2)	3.60 (sl)	3.61 (d, 2.8)	3.58 (d, 2.0)	3.32 (m)	3.56 (sl)	3.58 (m)	3.57 (d, 2.0)	3.60 (d, 2.8)
5'''	4.13 (m)	4.13 (m)	4.14 (m)	4.13 (m)	4.00 (m)	4.12 (m)	4.14 (m)	4.12 (m)	4.16 (m)
6'''	1.51 (d, 6.4)	1.53 (d, 6.0)	1.53 (d, 6.4)	1.48 (d, 5.6)	1.36 (d, 6.0)	1.50 (d, 6.5)	1.53 (d, 6.0)	1.49 (d, 5.2)	1.53 (d, 6.0)
OMe	3.81 (s)	3.81(s)	3.80 (s)	3.79 (s)	-	3.80 (s)	3.81 (s)	3.79 (s)	3.81 (s)
					All				
1''''					5.08 (d, 8.4)				
2''''					3.93 (m)				
3''''					4.05 (q, 2.8)				
4''''					3.57 (m)				
5''''					4.18 (m)				
6''''					1.46 (d, 4.4)				
OMe					3.80 (s)				

Atividade anti-inflamatória

Primeiramente, a faixa de concentração não citotóxica foi determinada testando a viabilidade celular de macrófagos tratados com os compostos de teste. Definir essa faixa de concentração não citotóxica para a realização dos experimentos subsequentes é uma etapa importante, pois a redução da viabilidade celular implicaria na redução da produção de mediadores inflamatórios, o que poderia ser erroneamente reconhecido como uma possível atividade anti-inflamatória. Os dados atuais mostram que os compostos 1, 2, 3, 4, 6, 7, 13, 16 e 17 não induziram efeitos citotóxicos em macrófagos J774.A1 em concentrações de até 500 μM, ou induziram citotoxicidade leve apenas nas concentrações mais altas, exibindo CC_{50} > 500 μM (Tabela 9 e Figura 14). Os compostos mais citotóxicos da série foram: 11 > 10 > 15 > 18 > 12.

Em seguida, os seguintes ensaios foram realizados dentro da faixa de concentração não citotóxica de cada composto. A atividade anti-inflamatória dos compostos de teste foi avaliada utilizando macrófagos J774.A1 estimulados como modelo *in vitro*. Macrófagos são células imunes implicadas nos processos de inflamação e regulação imunológica e contribuem para a homeostase tecidual [25,26]. Após ativação por estímulos inflamatórios, os macrófagos produzem uma miríade de mediadores pró-inflamatórios, como quimiocinas, citocinas e óxido nítrico (NO) [25]. Portanto, o efeito dos compostos na produção de mediadores pró-inflamatórios por macrófagos foi avaliado.

Macrófagos não tratados estimulados com LPS e IFN-γ apresentam níveis aumentados de NO em comparação com células não estimuladas. Todos os compostos da série foram capazes de reduzir a produção de NO por macrófagos estimulados; no entanto, os compostos exibiram perfis farmacológicos distintos. A partir das curvas dose-resposta dos compostos, padronizadas pela inibição do NO em culturas de macrófagos J774.A1, foram obtidos os valores de IC_{50} e eficácia. Os compostos 12, 4, 6 e 7 apresentaram a menor potência, com valores de IC_{50} acima de 100 μM. Os compostos 11, 13, 16, 17 e 18 também apresentaram baixa potência, com valores de IC50 variando de 40 a 70 μM. Os compostos 1, 2, 3 e 15 apresentaram potência moderada, com valores de IC_{50} entre 20 e 35 μM, enquanto o composto 10 foi o mais potente da série, com IC_{50} de 17,5 μM. Todos os compostos foram menos potentes que a dexametasona, o fármaco padrão-ouro, com IC_{50} de 4,8 μM (Figura 15).

Em relação à eficácia farmacológica, ou seja, à resposta máxima atingível, os compostos apresentaram um perfil superior. Apenas os compostos 4, 6, 7, 16, 17 e 18 apresentaram eficácia inferior a 50% na inibição da produção de NO, sendo, portanto, inferior à da dexametasona. A eficácia dos compostos 3, 10, 11, 12, 13 e 15 variou entre 50 e 70% de inibição, com valores

semelhantes ou superiores aos da dexametasona. Os compostos 1 e 2 apresentaram as maiores eficácias da série, com inibição acima de 70%.

Os compostos 1, 2 e 3 apresentaram potência moderada, mas a maior eficácia, enquanto o composto 10 foi o mais potente, com eficácia ligeiramente inferior, embora ainda superior à da dexametasona.

O NO é uma molécula com papel ubíquo, mas durante os eventos inflamatórios terá principalmente um papel pró-inflamatório. O NO atuará como um agente oxidante ou um mediador de sinalização e amplifica a resposta inflamatória, ativando cascatas que levam à produção de mais mediadores inflamatórios [27]. Assim, a capacidade de inibir a produção de NO por macrófagos estimulados é uma propriedade que destaca o potencial anti-inflamatório de novos compostos. Nesse sentido, os presentes resultados indicam que os compostos investigados apresentam um potencial anti-inflamatório significativo. Em concordância com os presentes resultados, outros compostos que compartilham uma similaridade estrutural com os compostos 1 e 18 apresentaram atividade anti-inflamatória [10,28–30].

Para avaliar melhor a potencial atividade anti-inflamatória dos compostos testados, foram medidos os níveis das citocinas pró-inflamatórias IL-1β e IL-6 produzidas pelos macrófagos estimulados. Macrófagos não tratados estimulados com LPS e IFN-γ (grupo Ct+) apresentaram níveis aumentados de IL-1β (A) e IL-6 (B) em comparação às células não estimuladas, indicadas como grupo Ct- (Figura 5, $p < 0,05$). Conforme demonstrado pelo NO, o efeito inibitório dos compostos na liberação de IL-1β e IL-6 também foi observado. Macrófagos estimulados tratados com 1, 2, 3, 10, 11, 13, 15, 16, 17 e 18 a 62,5 μM, ou com 20 a 125 μM, apresentaram redução significativa na produção de IL-1β ($p < 0,05$, Figura 13A) em comparação às células estimuladas não tratadas. O mesmo perfil de efeito inibitório foi observado para IL-6 ($p < 0,05$, Figura 13B), exceto o composto 16, que não foi capaz de inibir essa citocina. Os compostos 6, 7 e 12 não foram capazes de inibir a produção de citocinas por macrófagos estimulados. É importante destacar que os efeitos inibitórios de 1, 2, 3 e 10 sobre os níveis de IL-1β e IL-6 foram de magnitude semelhante aos da dexametasona (40 μM), o fármaco padrão-ouro. Além disso, consistente com esses achados, os compostos 1, 2, 3 e 10 também foram os compostos com maior eficácia e potência na inibição da produção de NO.

IL-1β e IL-6 são implicadas como citocinas-chave para a resposta inflamatória, desempenhando um papel essencial no desenvolvimento de sinais e sintomas inflamatórios. As citocinas atuam como mediadores finais da inflamação e podem induzir sua própria produção em um ciclo de feedback positivo que aumenta a sinalização inflamatória [31,32]. O aumento da secreção de IL-1β e IL-6 tem sido associado à patogênese de doenças autoimunes e

cardiovasculares, síndromes metabólicas, inflamação aguda, inflamação crônica e malignidade [33–35]. De fato, a capacidade de diminuir os níveis dessas citocinas durante a resposta inflamatória é uma propriedade relevante de fármacos com sucesso clínico no controle de doenças inflamatórias. Portanto, a capacidade dos compostos testados no presente estudo de inibir a liberação de citocinas inflamatórias corrobora seu potencial anti-inflamatório.

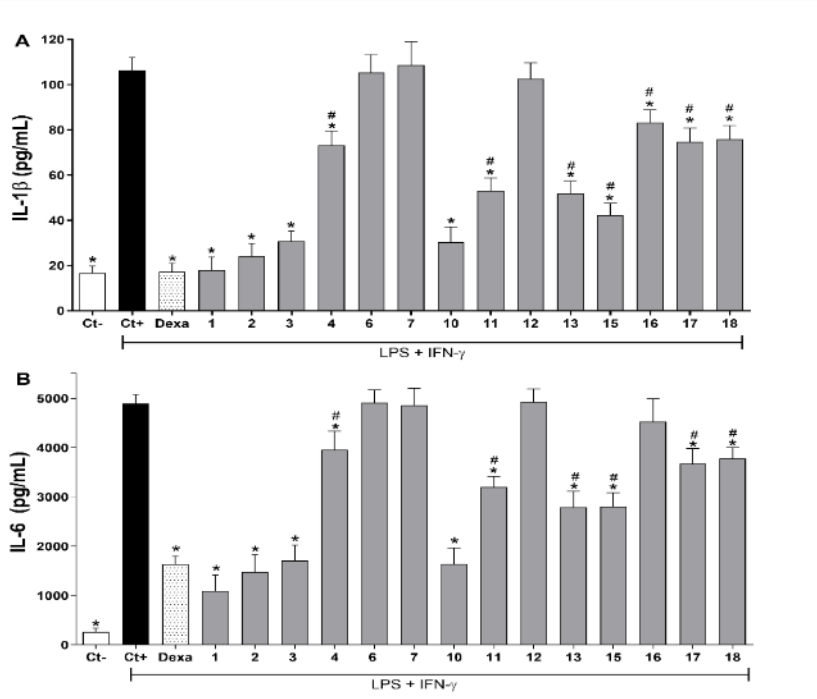


Figura 13 - Efeito inibitório de compostos na produção de IL-1β e IL-6 por macrófagos J774.A1 estimulados. Os painéis mostram dados de quantificação de IL-1β (A) e IL-6 (B) por ELISA. Compostos de dexametasona (Dexa; 40 μM, fármaco de referência) foram adicionados a culturas de macrófagos J774.A1 estimuladas com LPS (500 ng/mL) + IFN-γ (5 ng/mL). Os compostos foram testados a 62,5 μM, apenas os compostos 4 e 6 foram testados a 125 μM, que foi a menor concentração ativa no ensaio de NO. O grupo controle (Ct+) representa células não tratadas estimuladas com LPS + IFN-γ. O grupo Ct- mostra dados de células não tratadas e não estimuladas. Os níveis de IL-1β e IL-6 foram determinados 24 h após os tratamentos. *Diferente do grupo controle ($p<0,05$); #Diferente do grupo Dexa ($p<0,05$). Os dados são expressos como média ± DP de 3 repetições. ANOVA unidirecional seguida do teste de Tukey.

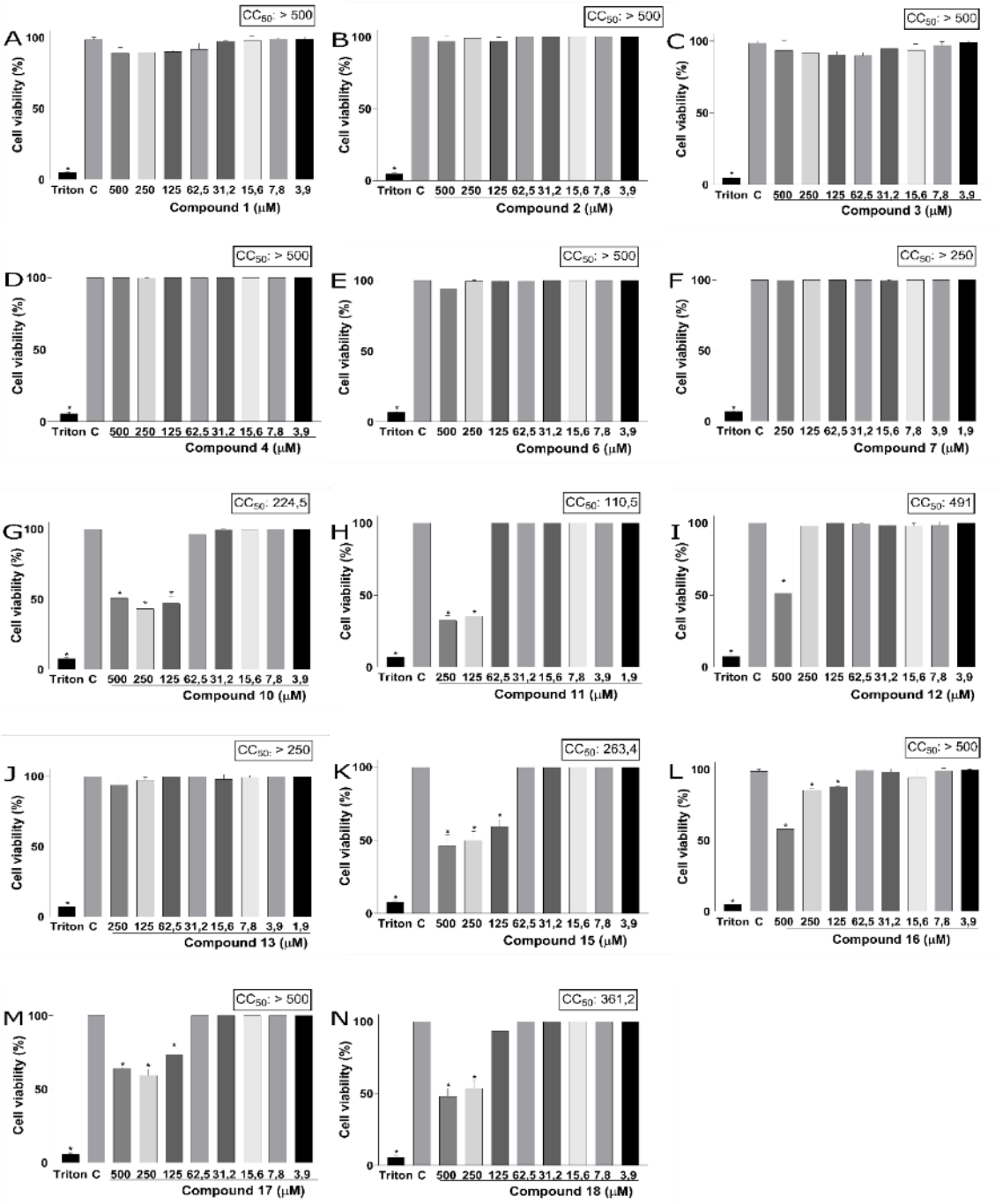


Figura 14 - Efeito dos compostos 1–4, 6 e 7, 10–13 e 15–18 na viabilidade de macrófagos J774.A1. Diferentes concentrações dos compostos (3,9–500 μM), veículo (C; controle) ou 5% de Triton (controle positivo) foram adicionadas a culturas de macrófagos estimuladas com LPS (500 ng/mL) + IFN-γ (5 ng/mL) e incubadas por 24 h. Todos os dados são expressos como média ± desvio padrão. *Significativamente diferente do grupo C ($p < 0,05$), conforme determinado por ANOVA seguida pelo teste de Tukey.

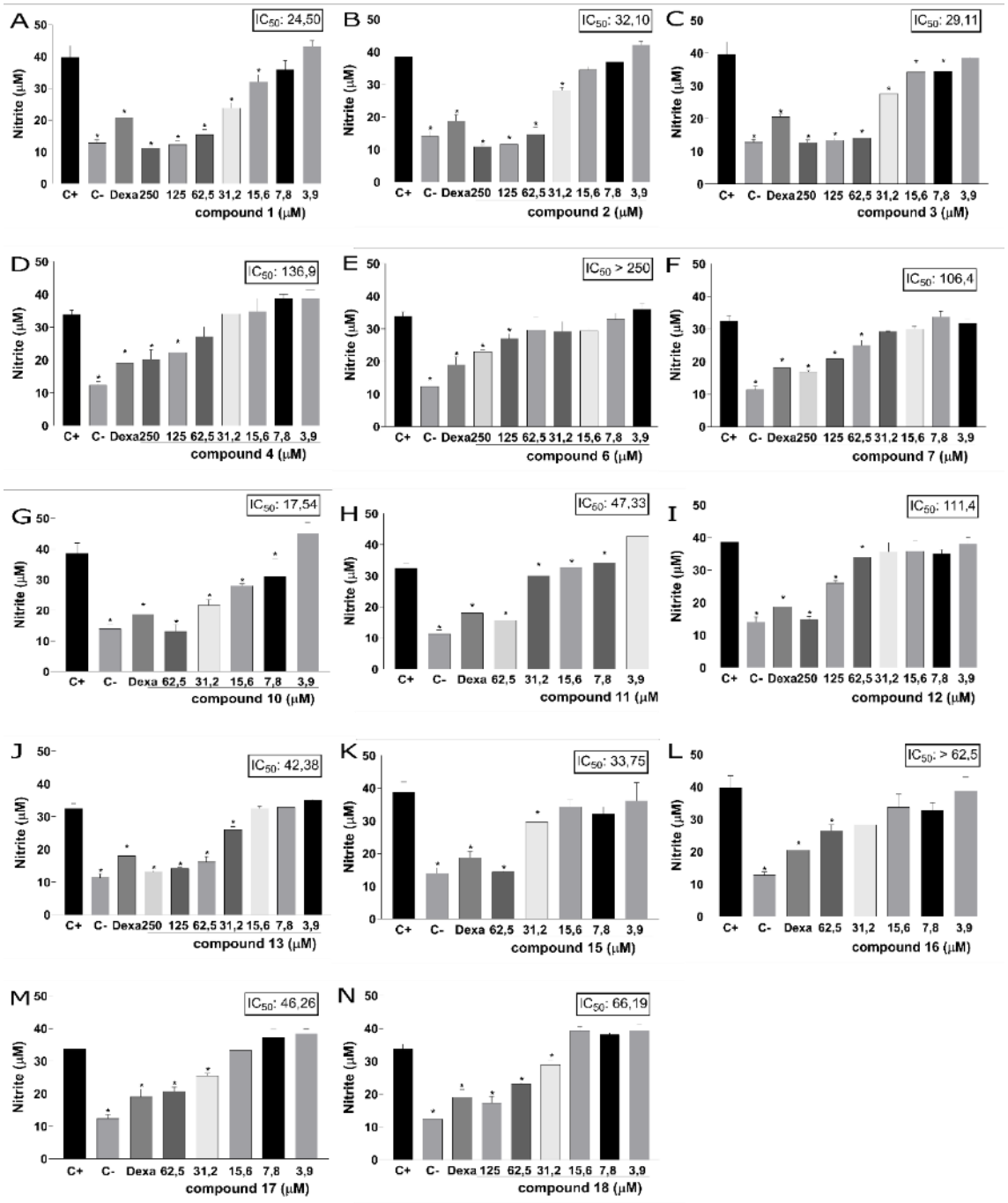


Figura 15 - Efeito dos compostos 1–4, 6 e 7, 10–13 e 15–18 na produção de óxido nítrico por macrófagos J774.A1 estimulados. O eixo X representa os diferentes tratamentos, e o eixo Y representa os níveis de nitrito no sobrenadante da cultura. As culturas foram estimuladas com LPS (500 ng/mL) + IFN-γ (5 ng/mL) e tratadas com veículo (C+; grupo controle, 5% DMSO em solução salina), compostos de teste em concentrações variando de 3,9 a 250 μM e dexametasona (Dexa, 40 μM, medicamento de referência). O grupo C– representa células não estimuladas e não tratadas. Os dados são expressos como média ± DP de experimentos realizados em triplicata. A análise estatística foi conduzida usando ANOVA unidirecional seguida pelo teste post hoc de Tukey. *$p < 0,05$ em comparação com o grupo C+.

3.3 Relação estrutura-atividade (REA) dos compostos isolados

A análise dos compostos isolados testados quanto à atividade biológica (1-4, 6 e 7, 10-13 e 15-18) estabeleceu uma relação clara entre estrutura química, potência (IC_{50}), eficácia e citotoxicidade (CC_{50}), permitindo a identificação de elementos estruturais favoráveis ou prejudiciais à atividade anti-inflamatória.

Nesse sentido, os compostos com cadeias de açúcar codificadas como S4 e S6 geralmente apresentaram maior potência, com valores de IC_{50} abaixo de 35 μM. Os exemplos mais notáveis foram os compostos 1, 3 e 10, com valores de IC_{50} de 24,5, 29,1 e 17,5 μM, respectivamente. Em contraste, compostos contendo cadeias de açúcar codificadas como S1 e S2 (como nos análogos 6 e 7) apresentaram uma perda acentuada de atividade, com $IC_{50} \geq 106,4$ μM. Esses achados sugerem que a redução da atividade pode estar relacionada à presença de unidades terminais de glicose nessas cadeias de açúcar, como observado em S1 e S2. Esses dados demonstram que a substituição em C-3 exerce forte influência na atividade (Tabela 8 e Figura 16), o que pode estar associado à disponibilidade do composto na biofase ou à afinidade por um possível alvo molecular. Estudos adicionais são necessários para confirmar essas hipóteses.

Em relação à substituição em C-20, a presença de um grupo nicotinoíla (Nic), uma hidroxila em C-17 nos compostos 1, 2 e 3 e um hidrogênio em C-8 no composto 10 provou ser crucial para aumentar a potência e a eficácia. De fato, os compostos 1, 2, 3 e 10 apresentaram os maiores valores de eficácia (71,9, 68,0, 71,8 e 66,1%, respectivamente) e forte potência, sendo o composto 10 o mais ativo da série (IC_{50} = 17,5 μM). Relatos na literatura também descrevem glicosídeos de pregnana avaliados em modelos semelhantes, nos quais a inibição da produção de NO em macrófagos estimulados por LPS foi associada à atividade anti-inflamatória [36–38].

Em relação à citotoxicidade, a maioria dos compostos apresentou baixa toxicidade ($CC_{50} > 500$ μM), o que é desejável do ponto de vista terapêutico. Dentre os compostos testados, o composto 11 apresentou a maior toxicidade, com CC_{50} de 110,5 μM (Tabela 9 e Figura 6). A presença de grupos funcionais hidroxila em C-20 e C-17 sugere uma contribuição negativa para o perfil de segurança dessas moléculas (toxicidade). Os substituintes em R2 e R3 não apresentaram variação significativa na atividade dentro do conjunto analisado, com predominância dos grupos hidroxila e cinamoíla (Cin), respectivamente.

Em conjunto, os dados indicam que as modificações em R1 e R4 exercem a maior influência na atividade biológica dos compostos. A presença de R1 = S4 ou S6 combinada com R4 = nicotinoíla resulta em derivados mais potentes e eficazes (Tabela 9 e Figura 16). Esses achados fornecem uma base racional para futuras otimizações estruturais visando à obtenção de

compostos mais promissores.

Tabela 9 - Citotoxicidade e efeito inibitório dos compostos de teste na produção de NO em macrófagos J774.A1 estimulados.

Compostos	CC_{50} (µM)[a]	IC_{50} (µM)[b]	Eficácia (%)[c]
1	> 500	24.5	71.9
2	> 500	32.1	71.8
3	> 500	29.1	68.0
4	> 500	136.9	40.0
6	> 500	> 250	32.1
7	> 500	106.4	47.9
10	224.5	17.5	66.1
11	110.5	47.3	51.8
12	491	111.4	62.0
13	> 500	42.4	59.3
15	269.4	33.7	62.9
16	> 500	> 62.5	33.4
17	> 500	46.3	38.6
18	361.2	66.2	48.8
Dexametasona[d]	> 500	4.8	51.6

[a]CC_{50}: metade da concentração citotóxica máxima. [b]IC_{50}: metade da concentração inibitória máxima. [c]Eficácia: efeito máximo (representado como % do efeito máximo possível). [d]medicamento padrão-ouro (dexametasona, 40 µM).

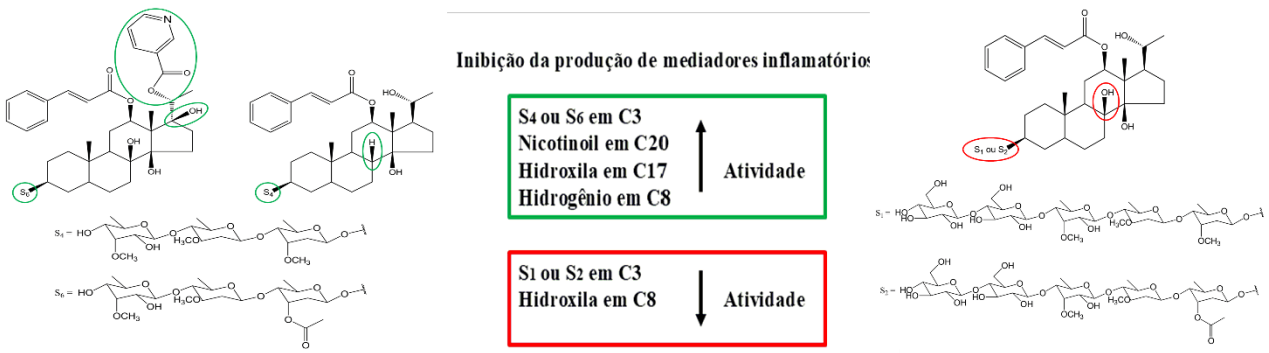


Figura 16 - Relação estrutura-atividade de glicosídeos pregnânicos isolados

4 Conclusão

O presente estudo relata o isolamento e a caracterização estrutural de dezoito novos glicosídeos pregnânicos das raízes de *Ruehssia caatingae*, denominados Ruehssiosides A–R (1–18). Destes, 14 compostos foram avaliados quanto à atividade anti-inflamatória em modelos de macrófagos ativados, exibindo baixa citotoxicidade e inibição eficaz da produção de IL-1β, IL-6 e óxido nítrico. Notavelmente, o composto 10 emergiu como o derivado mais potente (IC_{50} = 17,5 μM). A análise da relação estrutura-atividade destacou o papel crítico das substituições em C-3 e C-20, bem como da presença de um hidrogênio em C-8, no aumento da potência e eficácia.

Este trabalho constitui o primeiro relato de glicosídeos pregnânicos no gênero *Ruehssia* e destaca o bioma Caatinga como uma fonte promissora de metabólitos estruturalmente únicos e biologicamente ativos. Além disso, reforça a relevância da família Apocynaceae como uma fonte valiosa de novos agentes anti-inflamatórios. Este conjunto de evidências sustenta uma estrutura racional para futuras investigações, abrangendo estudos mecanísticos, modelagem molecular e o desenvolvimento de análogos sintéticos, para promover os glicosídeos pregnânicos como potenciais alvos terapêuticos.

Contribuições dos autores

J. S. L. (Conceitualização, Curadoria de dados, Investigação, Metodologia e Redação – rascunho original), T. A. S. (Conceitualização, Curadoria de dados, Validação e Redação – revisão e edição), K. C. J. S. (Curação de dados, Análise formal e Investigação), A. R. S. (Investigação), C. F. V. (Curação de dados, Análise formal, Metodologia e Validação), L. S. A. (Supervisão), F. M. S. J. (Supervisão), J. I. M. M. (Investigação), M. T. S. (Investigação), M. S. S. (Conceitualização e Aquisição de financiamento), J. F. T. (Conceitualização, Metodologia e Supervisão) e J. M. B. F. (Conceitualização, Validação e Supervisão).

Declaração de Divulgação

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

[1] K.W. Kwon, W.Y. Jang, J.W. Kim, J.K. Noh, D.K. Yi, J.Y. Cho, Anti-Inflammatory Effect of *Meriania hexamera* Sprague by Targeting Syk Kinase in NF-κB Signaling, Plants 12 (2023). https://doi.org/10.3390/plants12173044.

[2] I. Blanco, R. Torres-Castro, J.A. Barberà, Pulmonary vascular disease in chronic lung diseases: Cause or comorbidity?, Curr Opin Pulm Med 30 (2024) 437–443. https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000001091.

[3] Y. Liu, L. Huang, M.Y. Kim, J.Y. Cho, The Role of Thymoquinone in Inflammatory Response in Chronic Diseases, Int J Mol Sci 23 (2022). https://doi.org/10.3390/ijms231810246.

[4] B.S. Bhadane, M.P. Patil, V.L. Maheshwari, R.H. Patil, Ethnopharmacology, phytochemistry, and biotechnological advances of family Apocynaceae: A review, Phytotherapy Research 32 (2018) 1181–1210. https://doi.org/10.1002/ptr.6066.

[5] S. Srisurichan, S. Puthong, S. Pornpakakul, Pregnane-type steroidal glycosides from *Gymnema griffithii* Craib., Phytochemistry 106 (2014) 197–206. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.06.014.

[6] V.G. and N.K.K. Mukul R. Gupta, Structural Studies of Biologically Important Steroidal Pregnane Glycosides from Medicinal Plants, Trends Carbohydr Res (2015) 53–97.

[7] F. da S. do Espírito Santo, A. Rapini, P.L. Ribeiro, S. Liede-Schumann, D.J. Goyder, J. Fontella-Pereira, Phylogeny of the tribe Marsdenieae (Apocynaceae), reinstatement of *Ruehssia* and the taxonomic treatment of the genus in Brazil, Kew Bull 74 (2019). https://doi.org/10.1007/s12225-019-9807-4.

[8] Y.M. Nascimento, L.S. Abreu, R.L. Lima, V.C.O. Costa, J.I.M. De Melo, R. Braz-Filho, M.S. Silva, J.F. Tavares, Rapid Characterization of Triterpene Saponins from *Zornia brasiliensis* by HPLC-ESI-MS/MS, Molecules 24 (2019). https://doi.org/10.3390/molecules24142519.

[9] A.F.S. de Brito, T.A. de Souza, L.C.O. Pereira, C.A.G. Dantas, Y.M. do Nascimento, M.F. de Agra, A. V. de Lacerda, R. Braz-Filho, M.S. da Silva, J.F. Tavares, L.S. Abreu, Novel Tritepene Saponins from Mandacaru (*Cereus jamacaru*), Revista Virtual de Quimica 15 (2023) 864–871. https://doi.org/10.21577/1984-6835.20230018.

[10] F.S.V. Lins, T.A. de Souza, L.C.F. Opretzka, J.P.R. e Silva, L.C.O. Pereira, L.S. Abreu, A.A.V. Pinheiro, G.L.D. dos Santos, Y.M. do Nascimento, J.I.M. de Melo, R. Braz-Filho, C.F. Villarreal, M.S. da Silva, J.F. Tavares, New Pregnane Glycosides from *Mandevilla dardanoi* and Their Anti-Inflammatory Activity, Molecules 27 (2022). https://doi.org/10.3390/molecules27185992.

[11] R.F. Espírito-Santo, C.S. Meira, R. Dos Santos Costa, O.P.S. Filho, A.F. Evangelista, G.H.G. Trossini, G.M. Ferreira, E. Da Silva Velozo, C.F. Villarreal, M.B. PereiraSoares, The anti-inflammatory and immunomodulatory potential of braylin: Pharmacological properties and mechanisms by in silico, in vitro and in vivo approaches, PLoS One 12 (2017). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179174.

[12] L.C. Green, D.A. Wagner, J. Glogowski, P.L. Skipper, J.S. Wishnok, S.R. Tannenbaum, Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids, Anal Biochem 126 (1982) 131–138. https://doi.org/10.1016/0003-2697(82)90118-X.

[13] R. Aquino, G. Peluso, N. De Tommasi, F. De Simone, C. Pizza, New Polyoxypregnane Ester Derivatives from *Leptadenia hastata*, 1996.

[14] N.O.Y.K. and S.A. Kazuko Yoshikawa, Steroidal Glycosides from the Fresh Stem of *Stephanotis lutchuensis* var. japonica (Asclepiadaceae). Chemical Structures of Stephanosides A-J, Tokushima, 1996. https://doi.org/https://doi.org/10.1248/cpb.44.1790.

[15] X. Qian, B. Li, P. Li, D. Wang, W. Dai, M. Zhang, C21 steroidal glycosides from *Cynanchum auriculatum* and their neuroprotective effects against H2O2-induced damage in PC12 cells, Phytochemistry 140 (2017) 1–15. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.04.014.

[16] X.Q. Song, L.L. Tian, T. Ye, H. Liu, H. Zhang, Pregnane steroid glycosides with multidrug resistance reversal activity from the stems of *Marsdenia tenacissima*, Phytochemistry 213 (2023). https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2023.113787.

[17] H.L.Z.T.W.N.T.K.H.H.M.A.J.S. AKITO NAGATSU, New Steroid and Matairesinol Glycosides from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Oil Cake, Nagoya, 1998.

[18] K.H.H.N.A.H.M. MASAHIKO KIMURA, studies on constituents of Asclepiadaceae plants. LI. Oxidation at the 18-methyl group of C/D-cis-Pregnane Type Steroids and 13C-Nuclear Magnetic Resonance Spectra of 18-Oxygenated Pregnanes and Related Compounds, Sapporo, 1982.

[19] L.F. Ma, W.G. Shan, Z.J. Zhan, Polyhydroxypregnane glycosides from the roots of *Cynanchum otophyllum*, Helv Chim Acta 94 (2011) 2272–2282. https://doi.org/10.1002/hlca.201100168.

[20] M. Tsoukalas, C.D. Muller, A. Lobstein, A. Urbain, Pregnane Glycosides from *Cynanchum marnierianum* Stimulate GLP-1 Secretion in STC-1 Cells, Planta Med 82 (2016) 992–999. https://doi.org/10.1055/s-0042-107675.

[21] H.O.T.Y.K.H.N.H. Fumiko ABE, Pregnane Glycosides from *Marsdenia tomentosa*, Higashihiroshima, 1999. https://doi.org/https://doi.org/10.1248/cpb.47.869.

[22] X. Pang, L.P. Kang, H.S. Yu, Y. Zhao, L.F. Han, J. Zhang, C.Q. Xiong, L.X. Zhang, L.Y. Yu, B.P. Ma, New polyoxypregnane glycosides from the roots of *Marsdenia tenacissima*, Steroids

93 (2015) 68–76. https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.11.004.

[23] S.M. Al-Massarani, S. Bertrand, A. Nievergelt, A.M. El-Shafae, T.A. Al-Howiriny, N.M. Al-Musayeib, M. Cuendet, J.L. Wolfender, Acylated pregnane glycosides from *Caralluma sinaica*, Phytochemistry 79 (2012) 129–140. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.04.003.

[24] J.Q. Yu, L. Zhao, Seco-pregnane steroidal glycosides from the roots of *Cynanchum stauntonii*, Phytochem Lett 16 (2016) 34–37. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.02.018.

[25] S. Watanabe, M. Alexander, A. V. Misharin, G.R.S. Budinger, The role of macrophages in the resolution of inflammation, Journal of Clinical Investigation 129 (2019) 2619–2628. https://doi.org/10.1172/JCI124615.

[26] N. Fujiwara, K. Kobayashi, Macrophages in Inflammation, Current Drug Target -Inflammation & Allergy 4 (2005) 281–286. https://doi.org/10.2174/1568010054022024.

[27] M.A. Cinelli, H.T. Do, G.P. Miley, R.B. Silverman, Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition, Med Res Rev 40 (2020) 158–189. https://doi.org/10.1002/med.21599.

[28] E. Abdel-Sattar, D.E. Ali, Russelioside B: a Pregnane Glycoside with Pharmacological Potential, (n.d.). https://doi.org/10.1007/s43450-022-00245-x/Published.

[29] J. Wan, Y.N. Zhu, J.Q. Feng, H.J. Chen, R.J. Zhang, J. Ni, Z.H. Chen, L.F. Hou, Q.F. Liu, J. Zhang, L. Yang, W. Tang, Y.F. Yang, F.J. Nan, W.M. Zhao, J.P. Zuo, Periplocoside A, a pregnane glycoside from *Periploca sepium* Bge, prevents concanavalin A-induced mice hepatitis through inhibiting NKT-derived inflammatory cytokine productions, Int Immunopharmacol 8 (2008) 1248–1256. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.05.001.

[30] Z. Na, P. Gongpan, Q. Fan, Polyoxypregnane Glycosides from Root of *Marsdenia tenacissima* and Inhibited Nitric Oxide Levels in LPS Stimulated RAW 264.7 Cells, Molecules 28 (2023). https://doi.org/10.3390/molecules28020886.

[31] C.A. Dinarello, Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity, Immunol Rev 281 (2018) 8–27. https://doi.org/10.1111/imr.12621.

[32] M. Aliyu, F.T. Zohora, A.U. Anka, K. Ali, S. Maleknia, M. Saffarioun, G. Azizi, Interleukin-6 cytokine: An overview of the immune regulation, immune dysregulation, and therapeutic approach, Int Immunopharmacol 111 (2022). https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109130.

[33] N. Kaneko, M. Kurata, T. Yamamoto, S. Morikawa, J. Masumoto, The role of interleukin-1 in general pathology, Inflamm Regen 39 (2019). https://doi.org/10.1186/s41232-019-0101-5.

[34] N. Katkenov, Z. Mukhatayev, S. Kozhakhmetov, A. Sailybayeva, M. Bekbossynova, A. Kushugulova, Systematic Review on the Role of IL-6 and IL-1β in Cardiovascular Diseases, J Cardiovasc Dev Dis 11 (2024). https://doi.org/10.3390/jcdd11070206.

[35] D.A. Papanicolaou, R.L. Wilder, S.C. Manolagas, G.P. Chrousos, The Pathophysiologic Roles

of Interleukin-6 in Human Disease, Ann Intern Med 128 (1998) 127–137. https://doi.org/10.7326/0003-4819-128-2-199801150-00009.

[36] J.Q. Yu, M.B. Lin, A.J. Deng, Q. Hou, J.Y. Bai, Z.H. Li, L. Ma, Z.H. Zhang, S.P. Yuan, R.T. Jiang, H.L. Qin, 14,15-Secopregnane-type C21-steriosides from the roots of *Cynanchum stauntonii*, Phytochemistry 138 (2017) 152–162. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.02.026.

[37] N. Van Hieu, L.B. Vinh, N.V. Phong, P. Van Cong, N.T. Dat, N. Van Dan, N.V. Duc, H.M. Tao, L.T. Tam, L.T. Anh, N.C. Cuong, B.H. Tai, S.Y. Yang, H. Le Tuan Anh, Two New Steroidal Saponins with Potential Anti-Inflammatory Effects from the Aerial Parts of *Gnetum formosum* Markgr., Plants 13 (2024). https://doi.org/10.3390/plants13152100.

[38] P. Wu, Y. Qin, Y. Xie, Y. Liu, P. Luo, S. Ang, C 21 steroids from the roots of *Tylophora floribunda* (Miq.) 2 inhibit inflammation via MAPK/NF-κB pathway, 2025. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2025.106756.

Material suplementar: Ruehssiosides A–R, Dezoito Novos Glicosídeos Pregnânicos de *Ruehssia caatingae*: Elucidação Estrutural, Atividade Anti-inflamatória e Insights sobre REA

LISTA DE FIGURAS

Figura S1. Espectro de infravermelho ATR do composto 1
Figura S2. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 1
Figura S3. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 1
Figura S4. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 na região de 0,9-2,5 ppm
Figura S5. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 na região de 3,3-5,7 ppm
Figura S6. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 na região de 6,4-9,5 ppm
Figura S7. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 1
Figura S8. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 1
Figura S9. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1
Figura S10. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 10–50 ppm e 0,8–2,6 ppm
Figura S11. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 50-125 ppm e 3,2-5,7 ppm
Figura S12. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 115-155 e 9,4-9,6 ppm
Figura S13. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1
Figura S14. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 10-170 ppm e 0,8-2,6 ppm
Figura S15. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 10-160 ppm e 3,2-5,5 ppm
Figura S16. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 120-175 ppm e 5,5-9,5 ppm
Figura S17. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1
Figura S18. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e -0,8-2,6 ppm
Figura S19. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 0,5-0,8 ppm e 3,2-5,7 ppm
Figura S20. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 6-9,5 ppm e 6,2-9,6 ppm
Figura S21. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1
Figura S22. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,2-2,5 ppm

Figura S23. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 1,0-8,0 ppm e 3,0-6,6 ppm
Figura S24. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 6,5-10,0 ppm e 6,9-9,7 ppm
Figura S25. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1
Figura S26. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 0,0-5,0 ppm e 0,1-2,7 ppm
Figura S27. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 2,0-7,0 ppm 3,1-5,9 ppm
Figura S28. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 5,5-11,0 ppm 6,5-9,5 ppm
Figura S29. Espectro de infravermelho ATR do composto 2
Figura S30. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 2
Figura S31. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 2
Figura S32. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 na região de 0,7-2,5 ppm
Figura S33. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 na região de 3,3-5,3 ppm
Figura S34. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 na região de 6,3-9,6 ppm
Figura S35. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 2
Figura S36. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 2
Figura S37. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2
Figura S38. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 5-50 ppm e 0,7-2,5 ppm
Figura S39. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 55-105 ppm e 3,2-5,7 ppm
Figura S40. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 120-155 ppm e 6,4-9,6 ppm
Figura S41. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2
Figura S42. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 10-170 ppm e 0,6-2,5 ppm
Figura S43. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,4 ppm
Figura S44. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 120-170 ppm e 6,4-9,5 ppm
Figura S45. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2
Figura S46. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,3-2,6 ppm
Figura S47. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,1-5,9 ppm
Figura S48. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 6,0-9,5 ppm e 6,2-9,6 ppm
Figura S49. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2

Figura S50. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,6-2,6 ppm
Figura S51. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,1-5,6 ppm
Figura S52. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 5,5-9,5 ppm e 6,5-9,5 ppm
Figura S53. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2
Figura S54. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 0,0-5,5 ppm e 0,1-2,9 ppm
Figura S55. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 3,1-5,0 ppm
Figura S56. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 5,0-10,0 ppm e 6,2-9,6 ppm
Figura S57. Espectro de infravermelho ATR do composto 3
Figura S58. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 3
Figura S59. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 3
Figura S60. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 na região de 0,8-2,4 ppm
Figura S61. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 na região de 3,0-5,8 ppm
Figura S62. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 na região de 6,3-9,6 ppm
Figura S63. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 3
Figura S64. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 3
Figura S65. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3
Figura S66. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 10-50 ppm e 0,7-2,6 ppm
Figura S67. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 50-150 ppm e 3,2-5,8 ppm
Figura S68. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 115-155 ppm e 6,4-9,6 ppm
Figura S69. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3
Figura S70. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 10-170 ppm e 0,5-2,5 ppm
Figura S71. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,7 ppm
Figura S72. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 120-170 ppm e 6,4-9,6 ppm
Figura S73. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3
Figura S74. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,1-2,6 ppm
Figura S75. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,2-6,0 ppm
Figura S76. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3

nas regiões de 6,4-9,6 ppm e 6,4-9,6 ppm
Figura S77. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3
Figura S78. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 1,0-3,6 ppm e 0,2-2,5 ppm
Figura S79. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 3,2-5,3 ppm e 3,2-5,3 ppm
Figura S80. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 7,0-8,8 ppm e 6,5-8,8 ppm
Figura S81. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3
Figura S82. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 0,8-4,4 ppm e 0,8-2,8 ppm
Figura S83. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 2,5-6,0 ppm e 3,1-5,4 ppm
Figura S84. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 5,0-10,0 ppm 6,2-9,6 ppm
Figura S85. Espectro de infravermelho ATR do composto 4
Figura S86. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 4
Figura S87. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 4
Figura S88. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 na região de 0,8-2,5 ppm
Figura S89. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 na região de 3,4-5,3 ppm
Figura S90. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 na região de 6,4-8,2 ppm
Figura S91. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 4
Figura S92. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 4
Figura S93. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4
Figura S94. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 10-55 ppm e 0,7-5,7 ppm
Figura S95. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 50-125 ppm e 3,2-5,7 ppm
Figura S96. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 118-154 ppm e 6,4-8,8 ppm
Figura S97. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4
Figura S98 Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,6 ppm
Figura S99 Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 10-100 ppm e 3,0-6,2 ppm
Figura S100 Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 120-170 ppm e 6,2-9,1 ppm
Figura S101. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4
Figura S102. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 0,0-7,5 ppm e 0,1-3,0 ppm
Figura S103. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4

nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,0-5,7 ppm
Figura S104. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 4,5-9,5 ppm e 6,1-9,2 ppm
Figura S105. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz C_5D_5N) do composto 4
Figura S106. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,7 ppm
Figura S107. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 0,57,0 ppm e 2,8-5,6 ppm
Figura S108. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,1-8,8 ppm
Figura S109. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4
Figura S110. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,6-2,7 ppm
Figura S111. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 1,5-6,5 ppm e 2,9-5,7 ppm
Figura S112. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 5,5-9,5 ppm e 6,3-8,9 ppm
Figura S113. Espectro de infravermelho ATR do composto 5
Figura S114. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 5
Figura S115. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 5
Figura S116. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 na região de 0,8-2,5 ppm
Figura S117. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 na região de 3,4-5,3 ppm
Figura S118. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 na região de 6,70-8,05 ppm
Figura S119. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 5
Figura S120. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 5
Figura S121. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5
Figura S122. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 10-55 ppm e 0,8-2,7 ppm
Figura S123. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 50-125 ppm e 3,1-5,8 ppm
Figura S124. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 120-155 ppm e 6,5-8,9 ppm
Figura S125. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5
Figura S126. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 40-170 ppm e 0,9-2,4 ppm
Figura S127. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 72-88 ppm e 3,30-3,90 ppm
Figura S128. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 120-150 ppm e 7,0-9,0 ppm
Figura S129. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5
Figura S130. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5

Figura S131. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 1,0-5,0 ppm e 0,8-2,7 ppm
Figura S132. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 1,0-7,0 ppm e 3,1-5,4 ppm
Figura S133. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 5,0-9,5 ppm e 6,0-9,6 ppm
Figura S134. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5
Figura S135. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 0,5-4,5 ppm e 0,6-2,6 ppm
Figura S136. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 3,1-4,9 ppm
Figura S137. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 5,5-10,0 ppm e 6,9-9,6 ppm
Figura S138. Espectro de infravermelho ATR do composto 6
Figura S139. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 6
Figura S140. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 6
Figura S141. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 na região de 0,8-2,5 ppm
Figura S142. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 na região de 3,3-5,3 ppm
Figura S143. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 na região de 6,8-8,1 ppm
Figura S144. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 6
Figura S145. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 6
Figura S146. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6
Figura S147. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 10-55 e 0,8-2,6 ppm
Figura S148. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 55-110 e 3,2-5,4 ppm
Figura S149. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 116-152 e 6,8-8,8 ppm
Figura S150. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6
Figura S151. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 10-90 ppm e 0,85-1,95 ppm
Figura S152. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 45-110 ppm e 3,2-5,3 ppm
Figura S153. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 115-175 ppm e 6,7-9,0 ppm
Figura S154. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6
Figura S155. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 0-10 ppm e 0,0-9,5 ppm
Figura S156. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6
Figura S157. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,7-2,7 ppm

Figura S158. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 1,0-5,0 ppm e 3,0-5,3 ppm
Figura S159. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 6,2-9,8 ppm e 6,0-8,9 ppm
Figura S160. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6
Figura S161. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,6-2,9 ppm
Figura S162. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 1,0-6,0 ppm e 3,0-5,9 ppm
Figura S163. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 5,5-9,5 ppm e 6,7-9,0 ppm
Figura S164. Espectro de infravermelho ATR do composto 7
Figura S165. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 7
Figura S166. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 7
Figura S167. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 na região de 0,9-2,5 ppm
Figura S168. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 na região de 3,2-5,8 ppm
Figura S169. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 na região de 6,70-8,15 ppm
Figura S170. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 7
Figura S171. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 7
Figura S172. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7
Figura S173. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 10-55 ppm e 0,7-2,8 pp
Figura S174. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 50-125 ppm e 3,1-5,9 ppm
Figura S175. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 115-155 ppm e 6,7-8,8 ppm
Figura S176. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7
Figura S177. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 10-170 ppm e 0,8-2,2 ppm
Figura S178. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 50-110 ppm e 3,2-5,2 ppm
Figura S179. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 120-165 ppm e 6,8-9,0 ppm
Figura S180. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7
Figura S181. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,7-2,7 ppm
Figura S182. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 0,5-6,5 ppm e 3,1-6,1 ppm
Figura S183. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 5,5-10,0 ppm e 6,8-9,0 ppm
Figura S184. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7

Figura S185. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,7-2,6 ppm
Figura S186. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 0,0-6,5 ppm e 3,2-6,4 ppm
Figura S187. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 7,1-8,9 ppm
Figura S188. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7
Figura S189. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,8 ppm
Figura S190. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 1,0-7,0 ppm e 3,2-6,1 ppm
Figura S191. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 6,6-9,8 ppm e 6,8-9,0 ppm
Figura S192. Espectro de infravermelho ATR do composto 8
Figura S193. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 8
Figura S194. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 8
Figura S195. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 na região de 0,7-2,4 ppm
Figura S196. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 na região de 3,3-5,3 ppm
Figura S197. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 na região de 6,8-8,1 ppm
Figura S198. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 8
Figura S199. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 8
Figura S200. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8
Figura S201. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 5-65 ppm e 0,5-2,8 ppm
Figura S202. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 50-125 ppm e 3,1-6,4 ppm
Figura S203. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 115-155 ppm e 6,7-9,9 ppm
Figura S204. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8
Figura S205. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 10-170 ppm e 0,5-2,2 ppm
Figura S206. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 50-105 ppm e 3,0-5,3 ppm
Figura S207. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 115-170 ppm e 6,8-9,1 ppm
Figura S208. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8
Figura S209. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 1-13 ppm e 0,5-9,5 ppm
Figura S210. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8
Figura S211. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,7 ppm

Figura S212. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,1-6,3 ppm
Figura S213. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 7,0-9,0 ppm e 6,8-8,8 ppm
Figura S214. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8
Figura S215. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,3-2,7 ppm
Figura S216. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 1,0-8,0 ppm e 3,1-6,0 ppm
Figura S217. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,2-9,0 ppm
Figura S218. Espectro de infravermelho ATR do composto 9
Figura S219. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 9
Figura S220. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 9
Figura S221. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 na região de 0,7-2,6 ppm
Figura S222. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 na região de 3,3-5,4 ppm
Figura S223. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 na região de 6,8-8,1 ppm
Figura S224. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 9
Figura S225. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 9
Figura S226. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9
Figura S227. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 5-55 ppm e 0,5-2,7 ppm
Figura S228. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 50-125 ppm e 2,9-5,5 ppm
Figura S229. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 116-152 ppm e 6,5-8,7 ppm
Figura S230. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9
Figura S231. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 10-140 ppm e -0,3-2,5 ppm
Figura S232. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 60-110 ppm e 2,9-5,3 ppm
Figura S233. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 115-170 ppm e 6,6-9,0 ppm
Figura S234. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9
Figura S235. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,7 ppm
Figura S236. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 0-10 ppm e 3,2-6,4 ppm
Figura S237. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 6,5-9,5 ppm e 6,5-9,4 ppm
Figura S238. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9

Figura S239. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 0,5-4,5 ppm e 0,5-2,1 ppm
Figura S240. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de -1-10 ppm e 3,1-5,9 ppm
Figura S241. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,3-9,0 ppm
Figura S242. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9
Figura S243. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,5-2,7 ppm
Figura S244. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de -1-11 ppm e 3,0-6,0 ppm
Figura S245. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,6-9,3 ppm
Figura S246. Espectro de infravermelho ATR do composto 10
Figura S247. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 10
Figura S248. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 10
Figura S249. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 na região de 0,7-2,5 ppm
Figura S250. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 na região de 3,3-5,3 ppm
Figura S251. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 na região de 3,3-5,3 ppm
Figura S252. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 10
Figura S253. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 10
Figura S254. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10
Figura S255. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 10-55 ppm e 0,5-2,7 ppm
Figura S256. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 55-125 ppm e 3,2-5,9 ppm
Figura S257. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 120-155 ppm e 6,8-8,7 ppm
Figura S258. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10
Figura S259. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 10-170 ppm e 0,5-2,5 ppm
Figura S260. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 10-160 ppm e 3,0-6,0 ppm
Figura S261. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 115-170 ppm e 6,7-9,0 ppm
Figura S262. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10
Figura S263. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 0,0-6,0 ppm -0,1-2,8 ppm
Figura S264. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 1,0-6,0 ppm 3,0-6,1 ppm
Figura S265. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10

nas regiões de 6,2-8,8 ppm 6,2-8,8 ppm
Figura S266. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10
Figura S267. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,8-2,6 ppm
Figura S268. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 1,0-7,0 ppm e 3,1-5,4 ppm
Figura S269. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 5,0-8,5 ppm e 6,3-8,8 ppm
Figura S270. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10
Figura S271. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,5-2,9 ppm
Figura S272. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 0,5-6,0 ppm e 3,0-5,8 ppm
Figura S273. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 6,5-9,5 ppm e 6,5-9,0 ppm
Figura S274. Espectro de infravermelho ATR do composto 11
Figura S275. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 11
Figura S276. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 11
Figura S277. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 na região de 1,1-2,6 ppm
Figura S278. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 na região de 3,4-5,4 ppm
Figura S279. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 na região de 6,80-8,15 ppm
Figura S280. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 11
Figura S281. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 11
Figura S282. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11
Figura S283. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 10-60 ppm e 0,7-2,8 ppm
Figura S284. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 55-125 ppm e 3,0-5,9 ppm
Figura S285. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 116-152 ppm e 6,7-8,8 ppm
Figura S288. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11
Figura S289. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,5 ppm
Figura S290. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 40-110 ppm e 3,0-5,3 ppm
Figura S291. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 120-170 ppm e 6,7-9,0 ppm
Figura S292. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11
Figura S293. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 0,0-5,5 ppm e -0,1-2,8 ppm
Figura S294. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11

nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,1-6,0 ppm
Figura S295. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 6,5-9,0 ppm e 6,2-9,0 ppm
Figura S296. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11
Figura S297. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,8-2,7 ppm
Figura S298. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 1,0-7,5 ppm e 3,1-5,3 ppm
Figura S299. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,2-8,8 ppm
Figura S300. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11
Figura S301. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,7-2,8 ppm
Figura S302. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 1,5-7,5 ppm e 3,0-5,7 ppm
Figura S303. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 5,8-9,2 ppm e 6,7-9,0 ppm
Figura S304. Espectro de infravermelho ATR do composto 12
Figura S305. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 12
Figura S306. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 12
Figura S307. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 na região de 0,9-2,5 ppm
Figura S308. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 na região de 3,4-5,5 ppm
Figura S309. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 na região de 6,80-8,15 ppm
Figura S310. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 12
Figura S311. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 12
Figura S312. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12
Figura S313. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 5-55 ppm e 0,8-2,8 ppm
Figura S314. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 50-120 ppm e 3,2-5,9 ppm
Figura S315. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 120-155 ppm e 6,8-8,7 ppm
Figura S316. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12
Figura S317. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,2 ppm
Figura S318. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 45-90 ppm e 3,2-5,3 ppm
Figura S319. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 120-170 ppm e 6,8-9,0 ppm
Figura S320. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12
Figura S321. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12

nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,2-2,8 ppm
Figura S322. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 1,0-6,0 ppm e 3,1-5,8 ppm
Figura S323. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 6,8-9,2 ppm e 6,7-8,9 ppm
Figura S324. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12
Figura S325. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,9-2,7 ppm
Figura S326. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,2-5,4 ppm
Figura S327. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 4,5-10,0 ppm e 6,5-8,9 ppm
Figura S328. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12
Figura S329. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,8-2,9 ppm
Figura S330. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 1,5-6,5 ppm e 3,2-6,0 ppm
Figura S331. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 6,5-10,0 ppm e 6,7-9,7 ppm
Figura S332. Espectro de infravermelho ATR do composto 13
Figura S333. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 13
Figura S334. Espectro de RMN de ^1H (5400 MHz, C_5D_5N) do composto 13
Figura S335. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 na região de 0,7-2,5 ppm
Figura S336. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 na região de 3,2-5,8 ppm
Figura S337. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 na região de 6,75-8,10 ppm
Figura S338. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 13
Figura S339. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 13
Figura S340. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13
Figura S341. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 10-55 ppm e 0,6-2,7 ppm
Figura S342. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 55-120 ppm e 3,1-5,9 ppm
Figura S343. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 115-155 ppm e 6,8-8,8 ppm
Figura S344. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13
Figura S345. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 10-170 ppm e 0,5-2,3 ppm
Figura S346. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 20-110 ppm e 3,0-5,2 ppm
Figura S347. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 115-170 ppm e 6,7-9,0 ppm

Figura S348. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13
Figura S349. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,0-6,0 ppm e -0,1-2,8 ppm
Figura S350. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,5-7,5 ppm e 3,0-6,0 ppm
Figura S351. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 5,0-9,5 ppm e 6,1-8,9 ppm
Figura S352. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13
Figura S353. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,7-2,7 ppm
Figura S354. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,5-8,0 ppm e 3,2-5,3 ppm
Figura S355. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,3-8,8 ppm
Figura S356. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13
Figura S357. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,1-2,9 ppm
Figura S358. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,1-6,0 ppm
Figura S359. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 6,6-9,2 ppm e 6,6-9,0 ppm
Figura S360. Espectro de infravermelho ATR do composto 14
Figura S361. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 14
Figura S362. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 14
Figura S363. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 na região de 0,9-2,6 ppm
Figura S364. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 na região de 3,3-5,3 ppm
Figura S365. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 na região de 6,85-8,10 ppm
Figura S366. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 14
Figura S367. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 14
Figura S368. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14
Figura S369. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 10-55 ppm e 0,8-2,7 ppm
Figura S370. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 55-120 ppm e 3,1-5,6 ppm
Figura S371. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 120-155 ppm e 6,8-9,2 ppm
Figura S372. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14
Figura S373. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,2 ppm
Figura S374. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 20-100 ppm e 2,4-5,2 ppm

Figura S375. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 120-170 ppm e 6,7-9,1 ppm
Figura S376. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14
Figura S377. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14
Figura S378. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 1,0-2,8 ppm
Figura S379. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 0,5-7,5 ppm e 3,1-5,6 ppm
Figura S380. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 5,0-8,5 ppm e 6,3-8,9 ppm
Figura S381. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C5D5N) do composto 14
Figura S382. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,7-2,8 ppm
Figura S383. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 1,0-7,5 ppm e 2,9-6,0 ppm
Figura S384. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 6,0-10,0 ppm e 6,0-9,5 ppm
Figura S385. Espectro de infravermelho ATR do composto 15
Figura S386. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 15
Figura S387. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 15
Figura S388. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 na região de 0,8-2,5 ppm
Figura S389. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 na região de 3,4-5,5 ppm
Figura S390. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 na região de 6,8-8,4 ppm
Figura S391. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 15
Figura S392. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C5D5N) do composto 15
Figura S393. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15
Figura S394. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 5-60 ppm e 0,7-2,7 ppm
Figura S395. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 50-120 ppm e 3,2-5,9 ppm
Figura S396. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 115-155 ppm e 6,8-8,8 ppm
Figura S397. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15
Figura S398. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,5 ppm
Figura S399. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,3 ppm
Figura S400. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 115-175 ppm e 6,7-8,9 ppm
Figura S401. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15
Figura S402. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15

nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,6-2,7 ppm
Figura S403. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,0-7,0 ppm e 3,1-5,9 ppm
Figura S404. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 6,4-9,0 ppm e 6,5-8,8 ppm
Figura S405. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15
Figura S406. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 1,0-2,7 ppm
Figura S407. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,0-7,5 ppm e 3,1-5,9 ppm
Figura S408. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 5,0-8,5 ppm e 6,6-8,7 ppm
Figura S409. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15
Figura S410. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 0,5-6,0 ppm e 0,9-2,7 ppm
Figura S411. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,5-7,0 ppm e 2,9-6,0 ppm
Figura S412. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 6,0-9,0 ppm e 6,1-8,7 ppm
Figura S413. Espectro de infravermelho ATR do composto 16
Figura S414. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 16
Figura S415. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 16
Figura S416. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 na região de 0,8-2,4 ppm
Figura S417. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 na região de 3,4-5,3 ppm
Figura S418. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 16
Figura S419. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 16
Figura S420. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16
Figura S421. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 10-55 ppm e 0,7-2,7 ppm
Figura S422. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 55-105 ppm e 3,2-5,8 ppm
Figura S423. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 120-160 ppm e 6,4-9,6 ppm
Figura S424. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16
Figura S425. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,5 ppm
Figura S426. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,4 ppm
Figura S427. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 80-170 ppm e 6,4-9,6 ppm
Figura S428. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16
Figura S429. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16

nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,1-2,8 ppm
Figura S430. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 1,5-6,5 ppm e 3,0-6,0 ppm
Figura S431. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 6,4-9,6 ppm e 6,4-9,5 ppm
Figura S432. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16
Figura S433. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,1-2,2 ppm
Figura S434. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 1,0-7,5 ppm e 3,1-5,8 ppm
Figura S435. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 5,0-9,5 ppm e 6,6-9,7 ppm
Figura S436. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16
Figura S437. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,1-2,7 ppm
Figura S438. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 1,0-8,5 ppm e 2,4-7,0 ppm
Figura S439. Espectro de infravermelho ATR do composto 17
Figura S440. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 17
Figura S441. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 17
Figura S442. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 na região de 0,8-2,5 ppm
Figura S443. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 na região de 3,3-5,7 ppm
Figura S444. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 na região de 7,10-8,40 ppm
Figura S445. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 17
Figura S446. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 17
Figura S447. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17
Figura S448. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 5-55 ppm e 0,7-2,6 ppm
Figura S449. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 55-120 ppm e 3,2-5,9 ppm
Figura S450. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 120-155 ppm e 6,3-8,8 ppm
Figura S451. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17
Figura S452. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,7-2,5 ppm
Figura S453. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,8 ppm
Figura S454. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 115-170 ppm e 6,3-9,1 ppm
Figura S455 Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17

Figura S456. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,8-2,6 ppm
Figura S457. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 1,5-7,5 ppm e 3,2-6,6 ppm
Figura S458. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 6,2-8,8 ppm e 7,0-8,7 ppm
Figura S459. Espectro de ROESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17
Figura S460. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,7-2,7 ppm
Figura S461. Espectro de infravermelho ATR do composto 18
Figura S462. Espectro de massas AR-IES-EM do composto 18
Figura S463. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 18
Figura S464. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 na região de 0,8-2,5 ppm
Figura S465. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 na região de 3,4-5,6 ppm
Figura S466. Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 na região de 7,25-8,40 ppm
Figura S467. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 18
Figura S468. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 18
Figura S469. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18
Figura S470. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 10-55 ppm e 0,7-2,6 ppm
Figura S471. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 50-105 ppm e 3,0-5,8 ppm
Figura S472. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 125-155 ppm e 7,0-8,8 ppm
Figura S473. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18
Figura S474. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 10-170 ppm e 0,8-2,6 ppm
Figura S475. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 45-105 ppm e 3,1-5,4 ppm
Figura S476. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 120-170 ppm e 7,0-9,0 ppm
Figura S477. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18
Figura S478. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,2-2,6 ppm
Figura S479. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,1-6,0 ppm
Figura S480. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 6,9-9,0 ppm e 7,0-8,8 ppm
Figura S481. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18
Figura S482. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 1,1-2,6 ppm

Figura S483. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,2-5,5 ppm
Figura S484. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 6,9-9,1 ppm e 7,1-8,9 ppm
Figura S485. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18
Figura S486. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,8 ppm
Figura S487. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 1,5-8,0 ppm e 3,5-6,5 ppm
Figura S488. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 6,6-9,2 ppm e 6,8-9,0 ppm
Figura S489. Cromatograma da CLAE-DAD da fração 9 a 18.9 e 10 da raiz de *R. caatingae*
Figura S490. Cromatograma da CLAE-DAD da fração 9 a 18.3.7 da raiz de *R. caatingae*

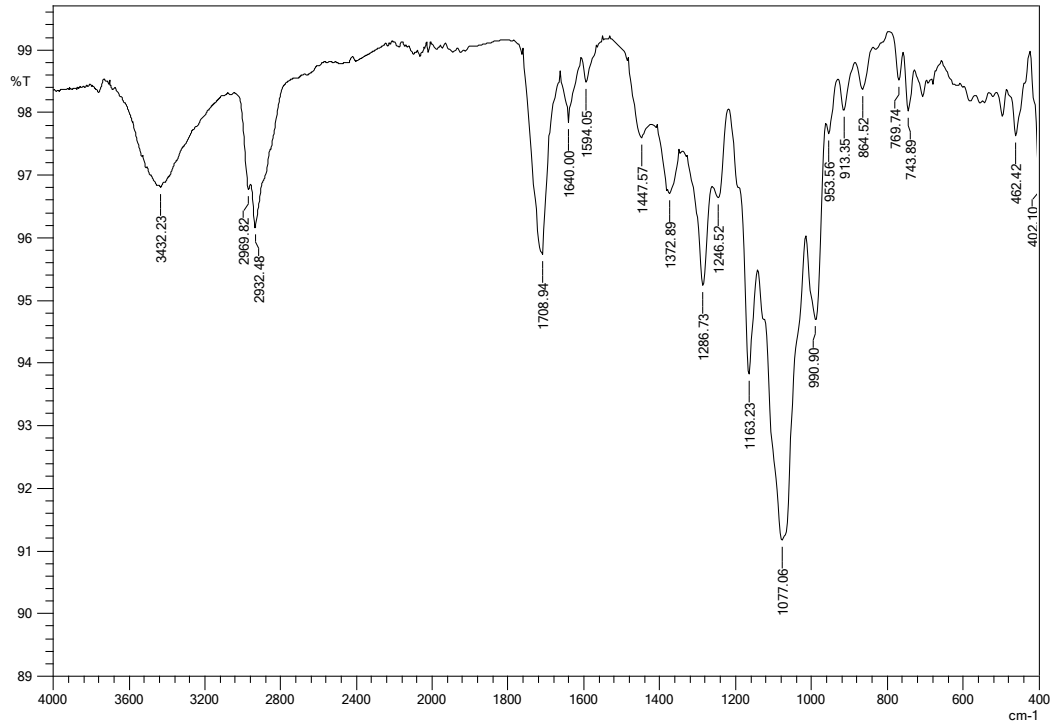
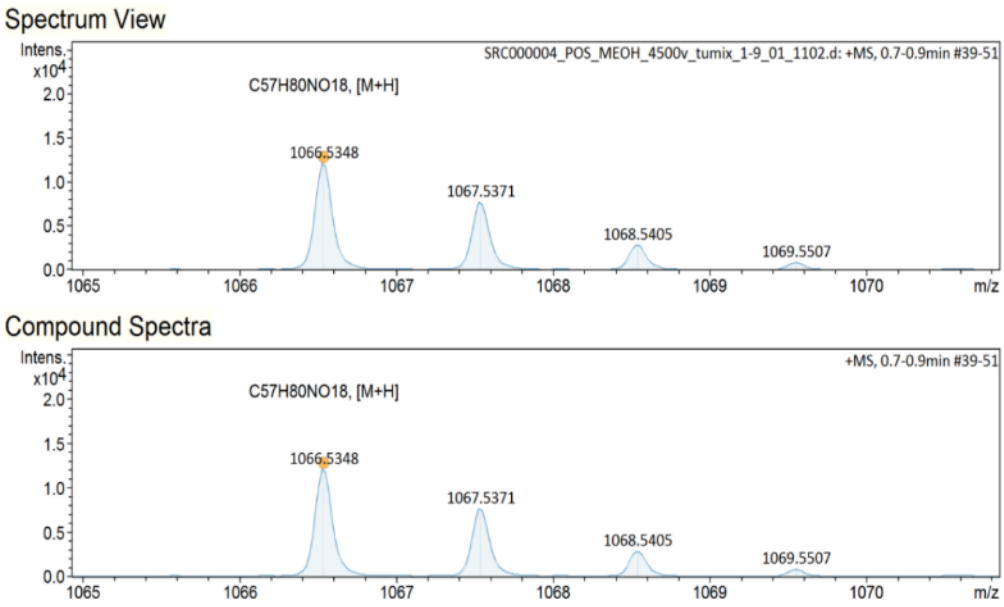


Figura S1. Espectro de infravermelho ATR do composto 1



Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# mSigma	Score	rdb	e⁻ Conf	N-Rule
1066.5348	1	C57H80NO18	1066.5370	2.1	7.2	1	100.00	18.5	even	ok

Figura S2. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 1

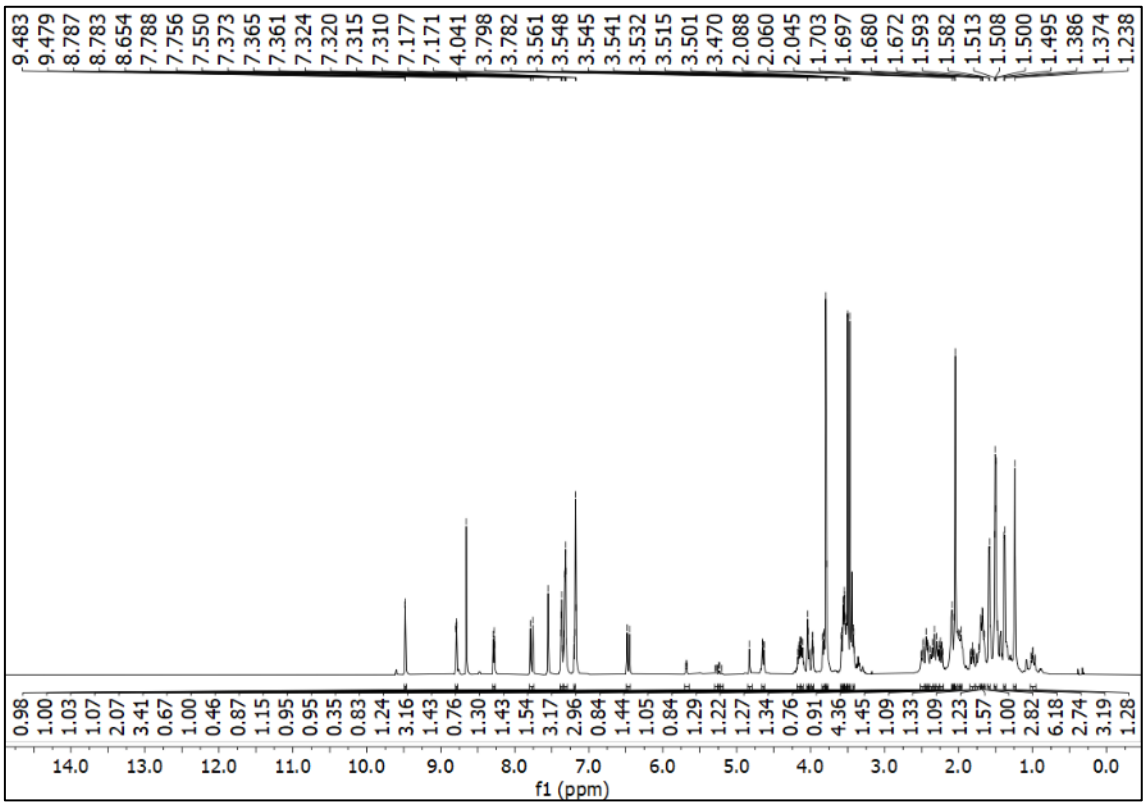


Figura S3. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 1

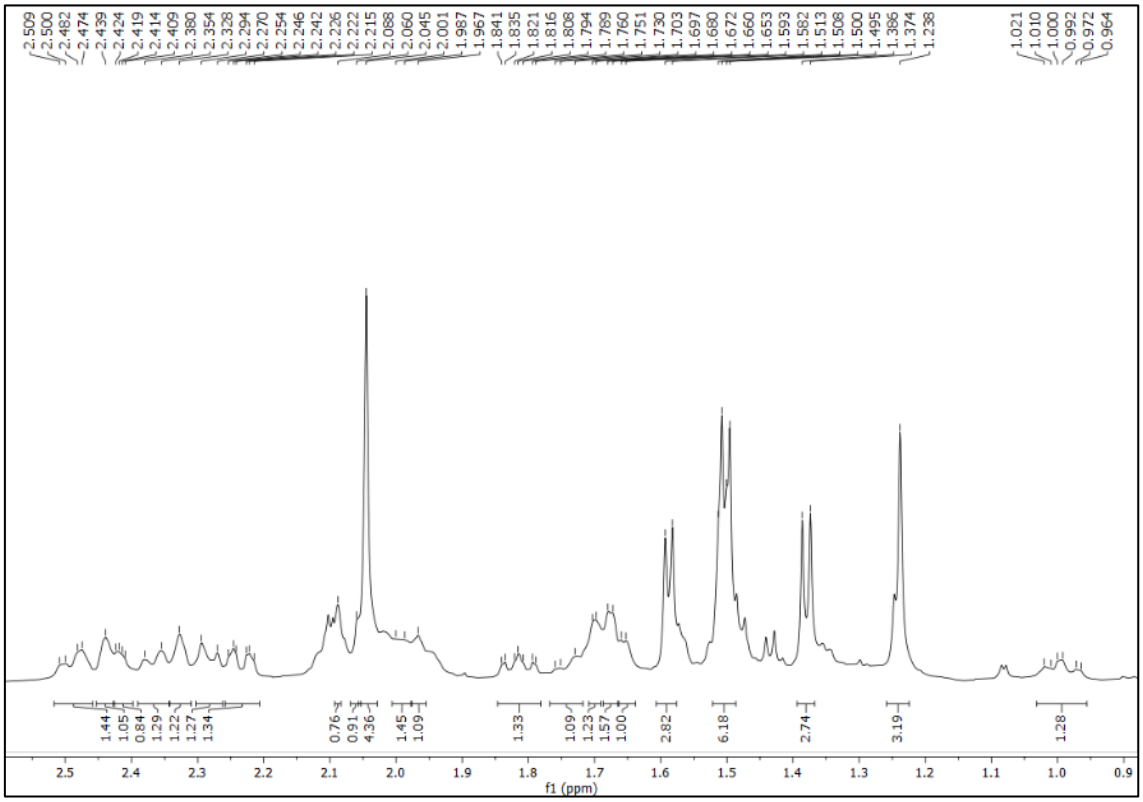


Figura S4. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 na região de 0,9-2,5 ppm

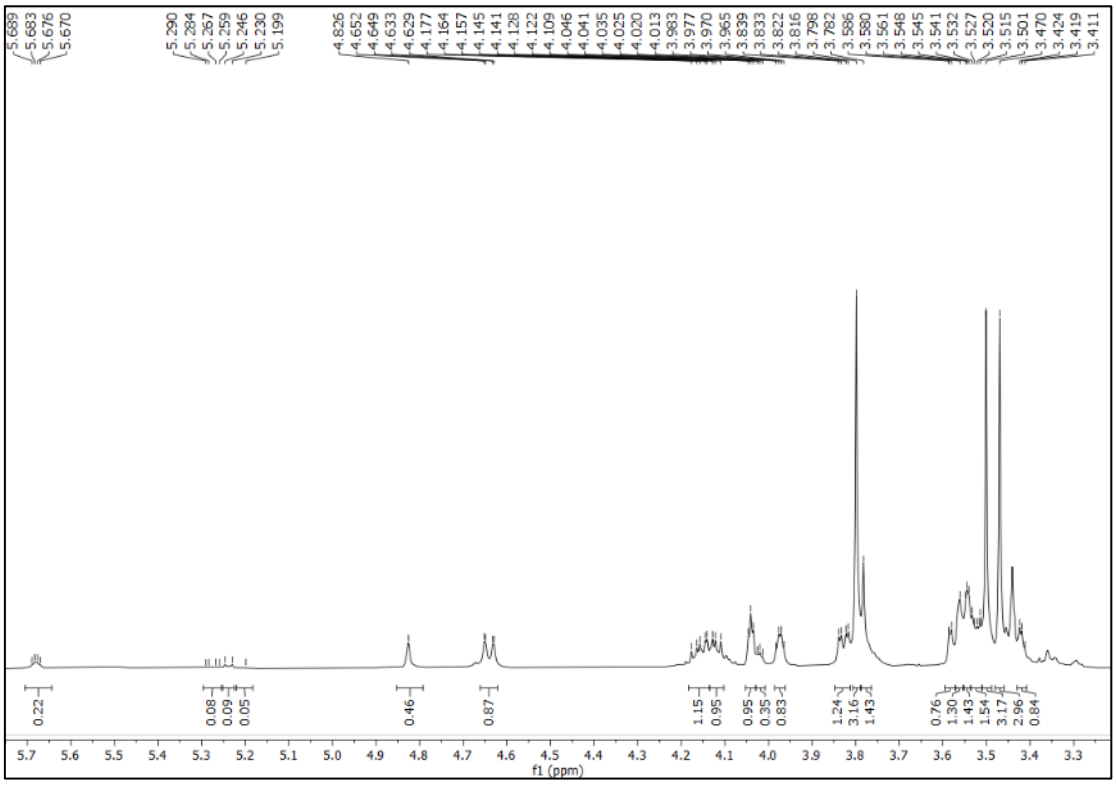


Figura S5. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 na região de 3,3-5,7 ppm

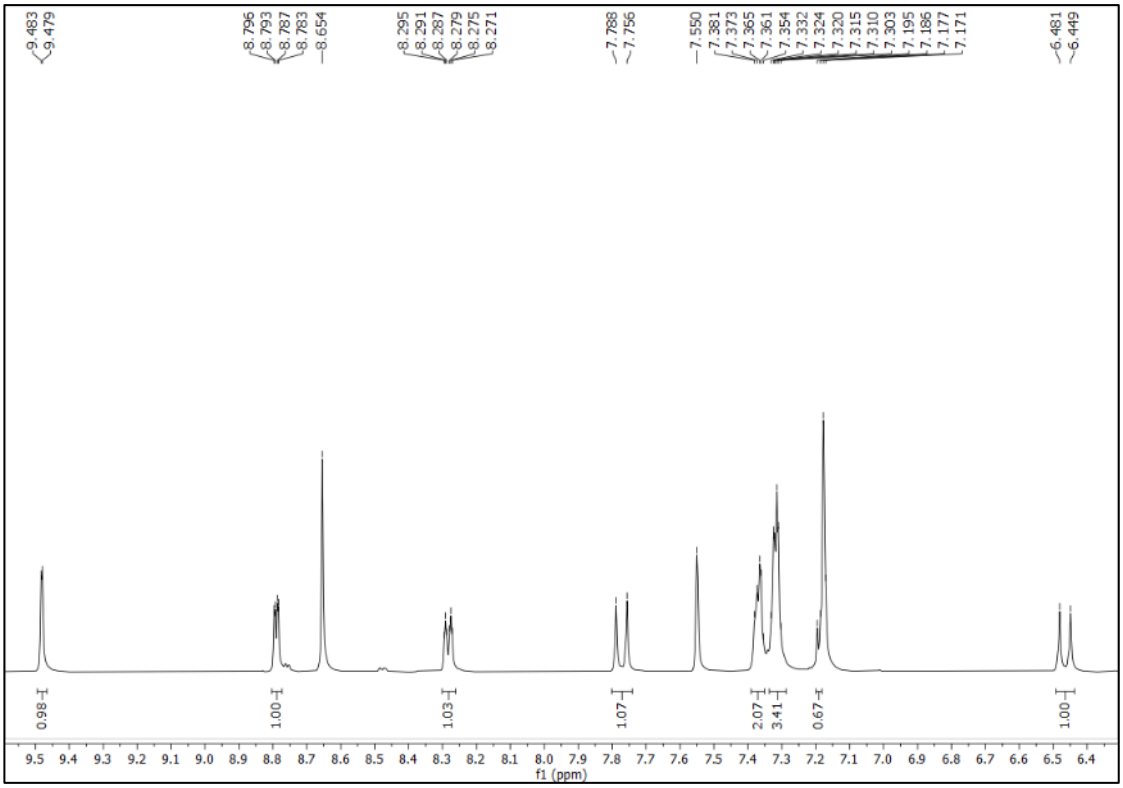


Figura S6. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 na região de 6,4-9,5 ppm

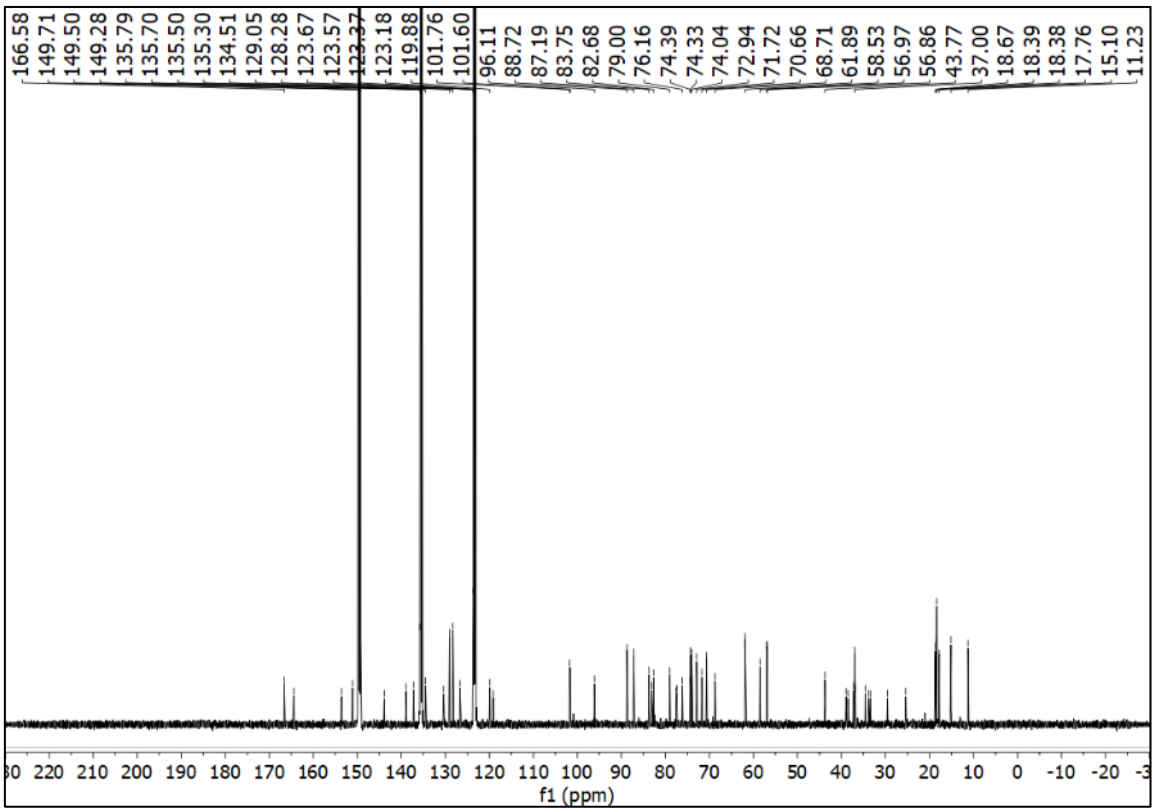


Figura S7. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 1

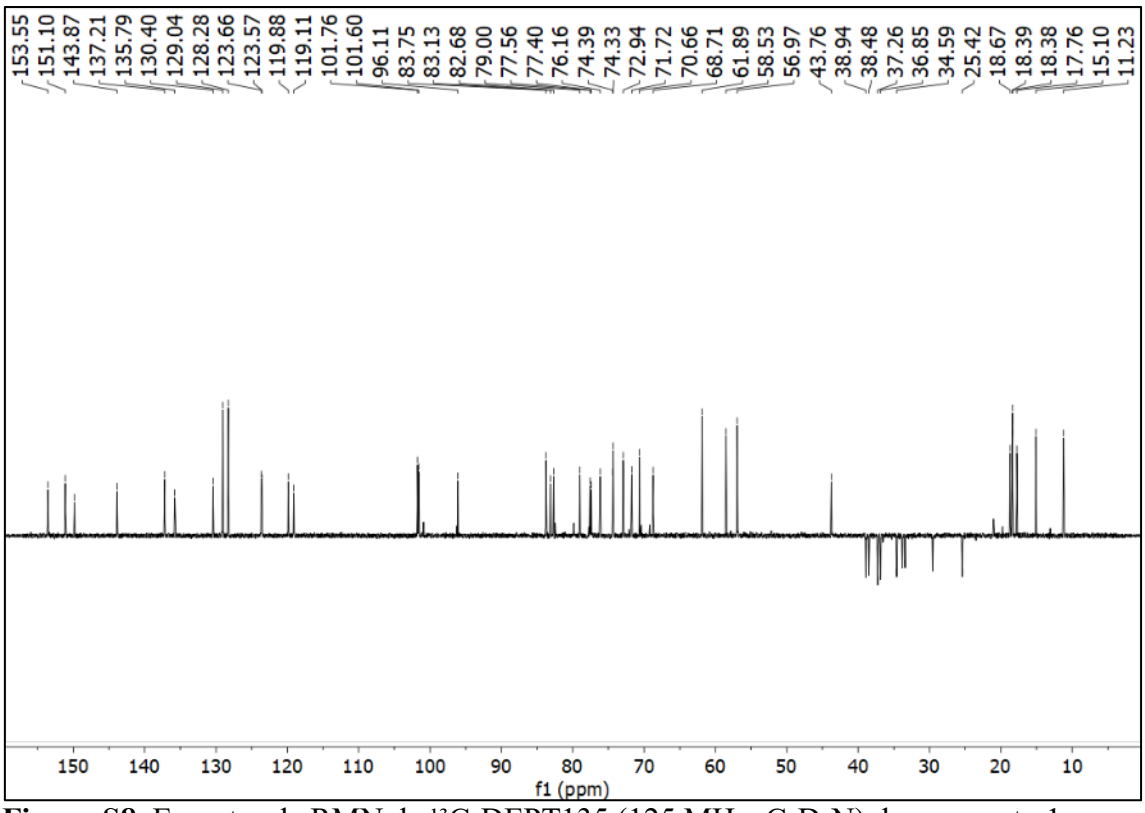


Figura S8. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 1

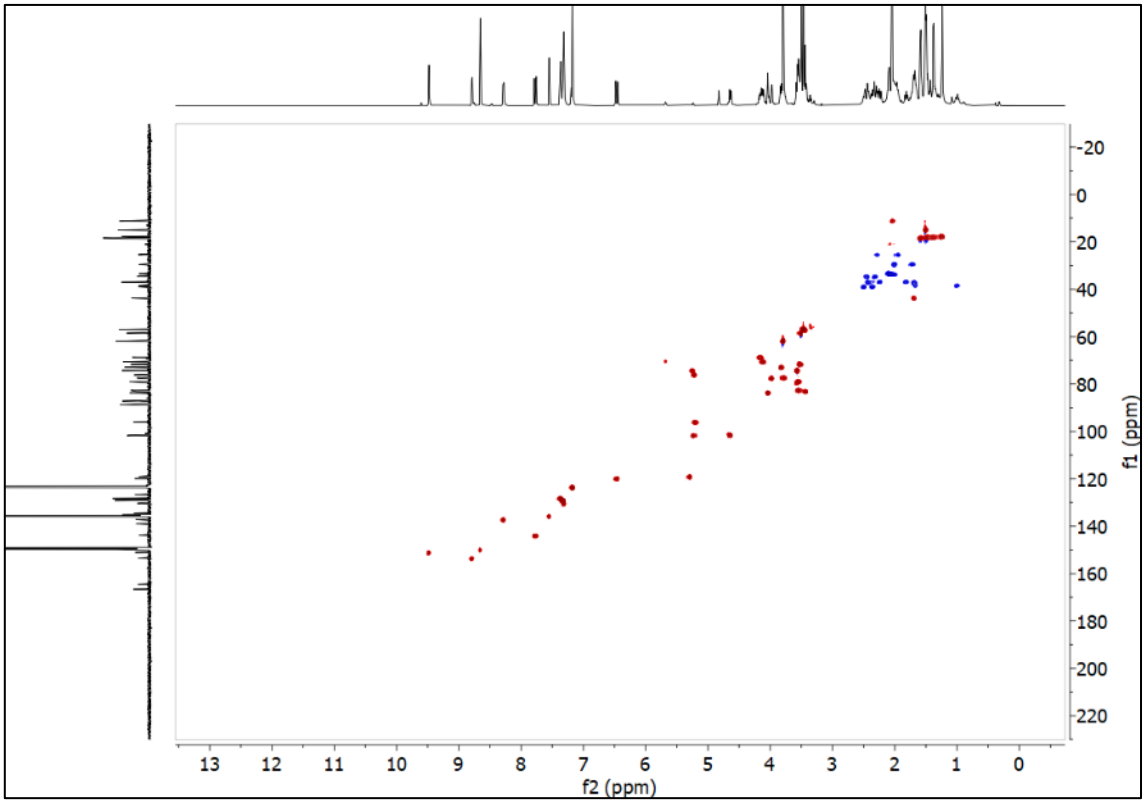


Figura S9. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1

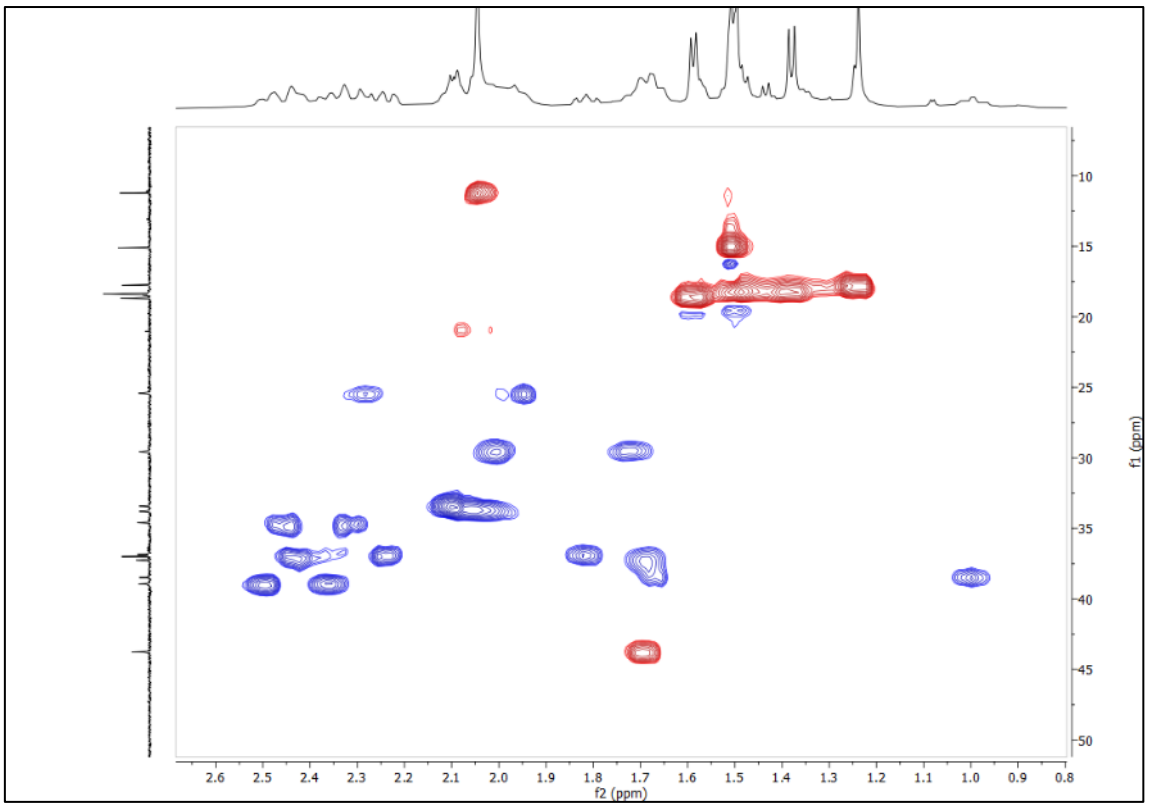


Figura S10. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 10–50 ppm e 0,8–2,6 ppm

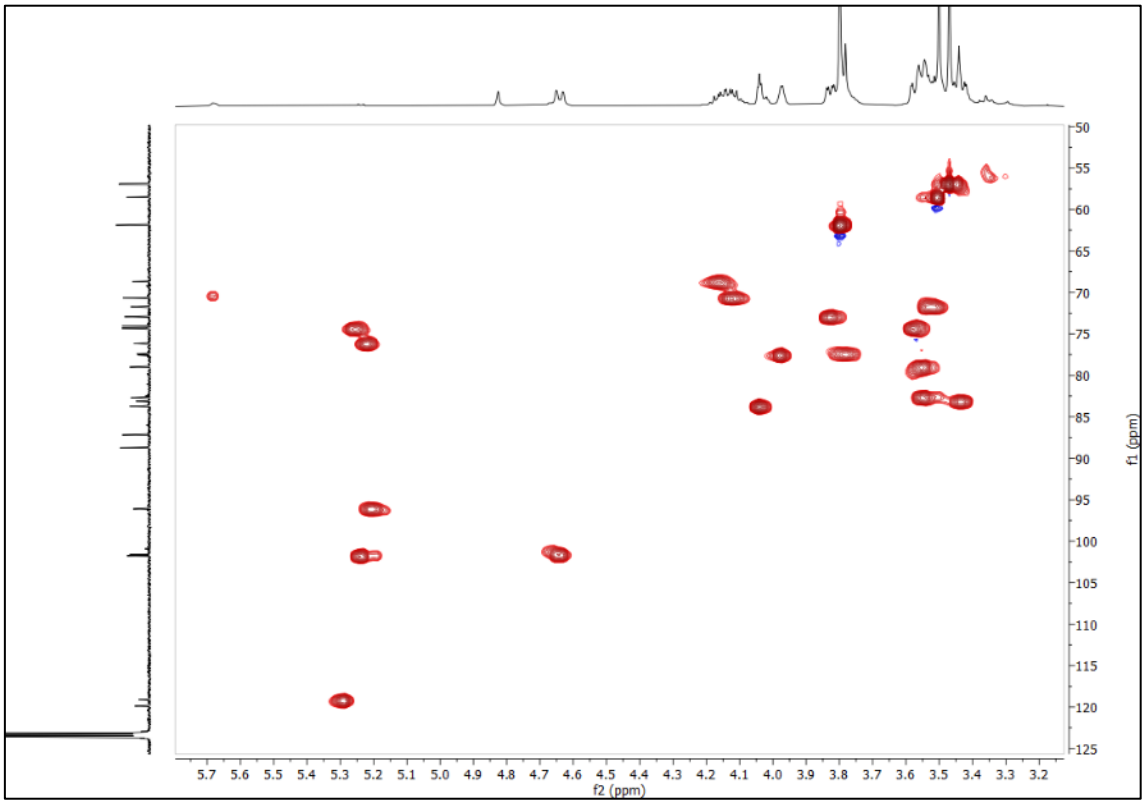


Figura S11. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 50-125 ppm e 3,2-5,7 ppm

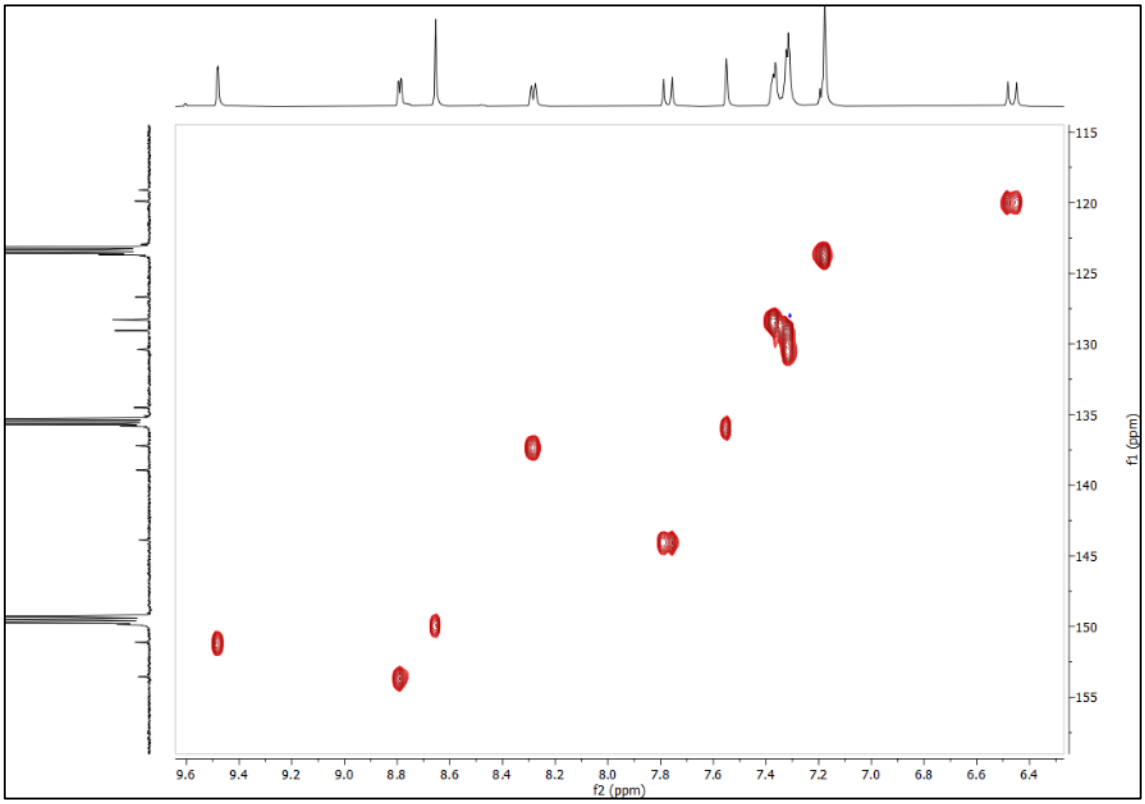


Figura S12. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 115-155 e 9,4-9,6 ppm

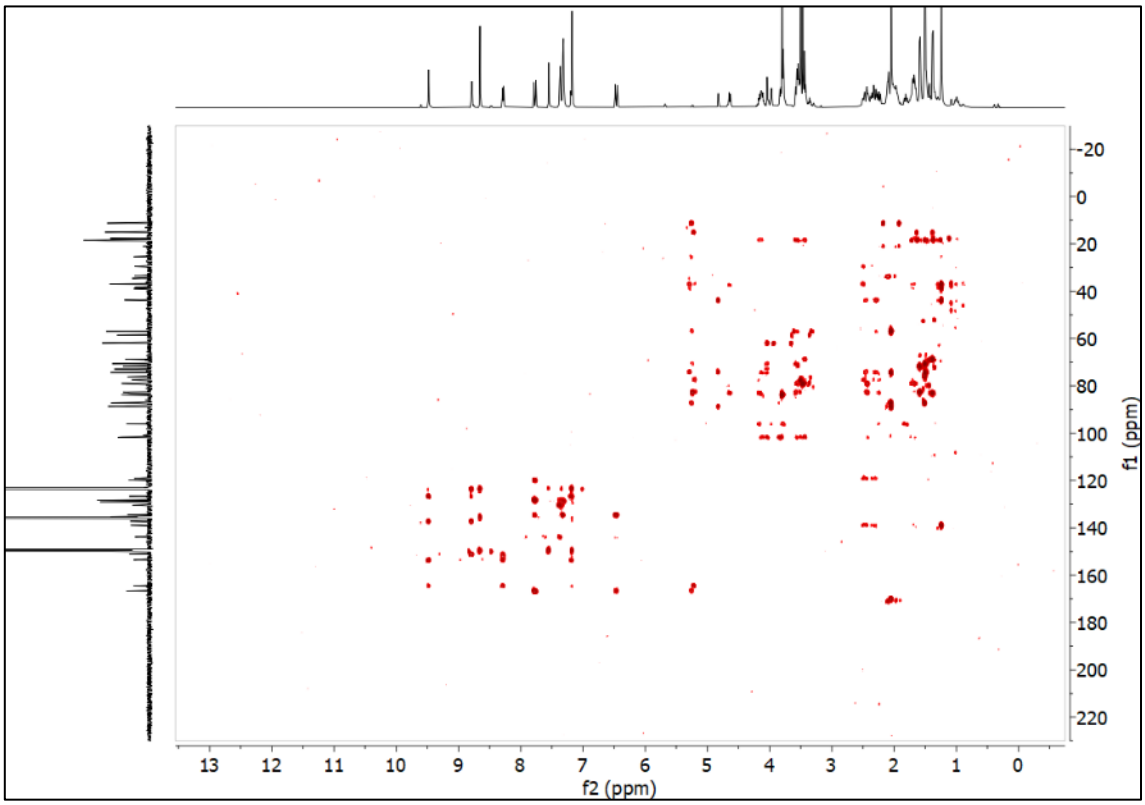


Figura S13. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1

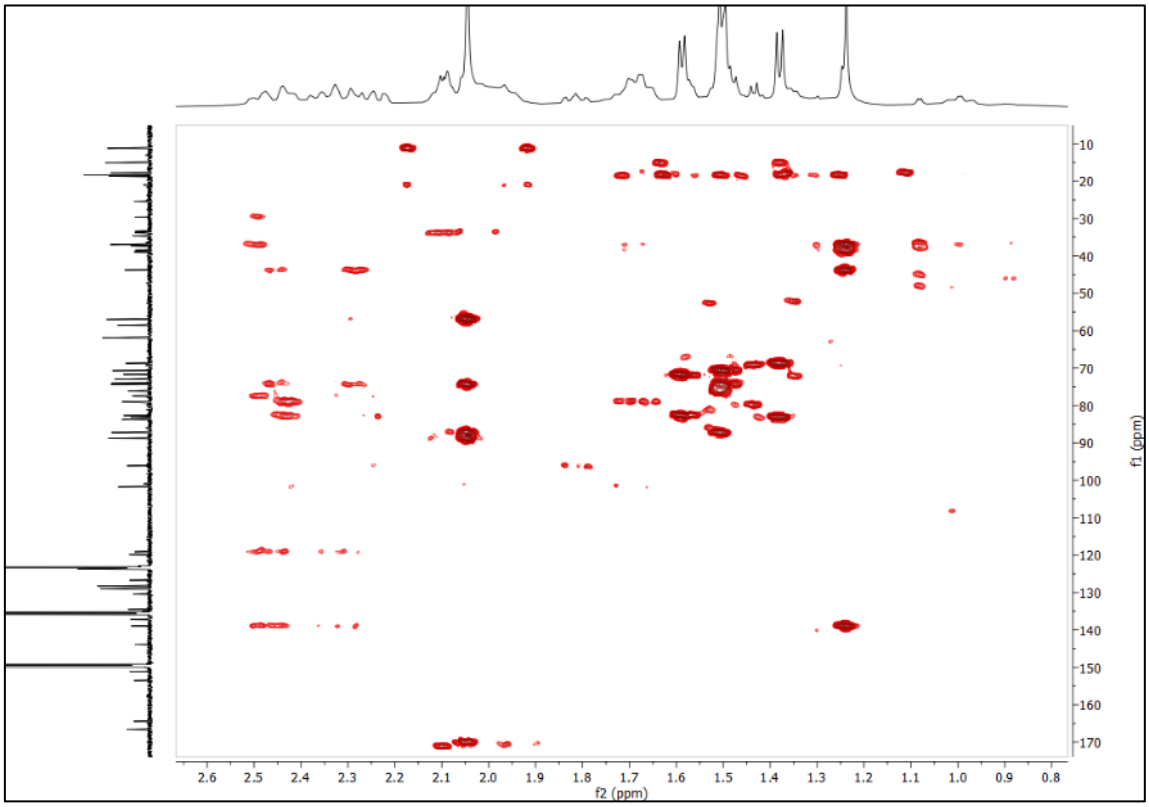


Figura S14. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 10-170 ppm e 0,8-2,6 ppm

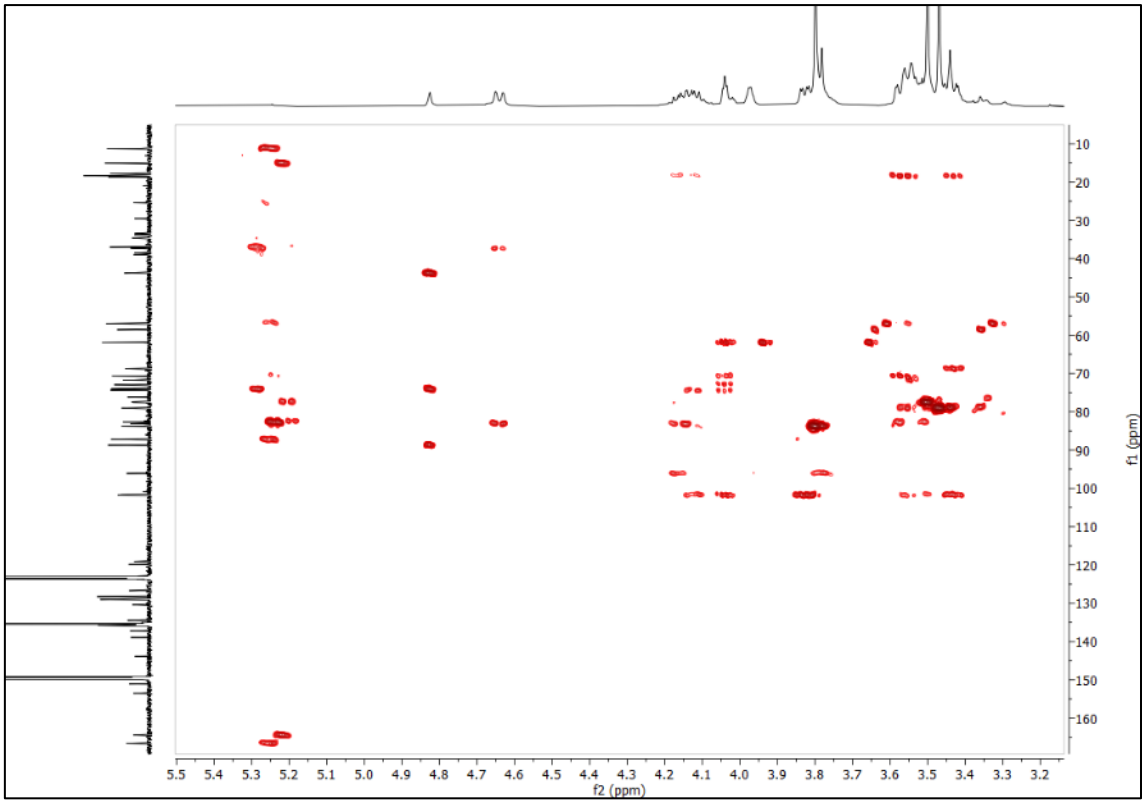


Figura S15. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 10-160 ppm e 3,2-5,5 ppm

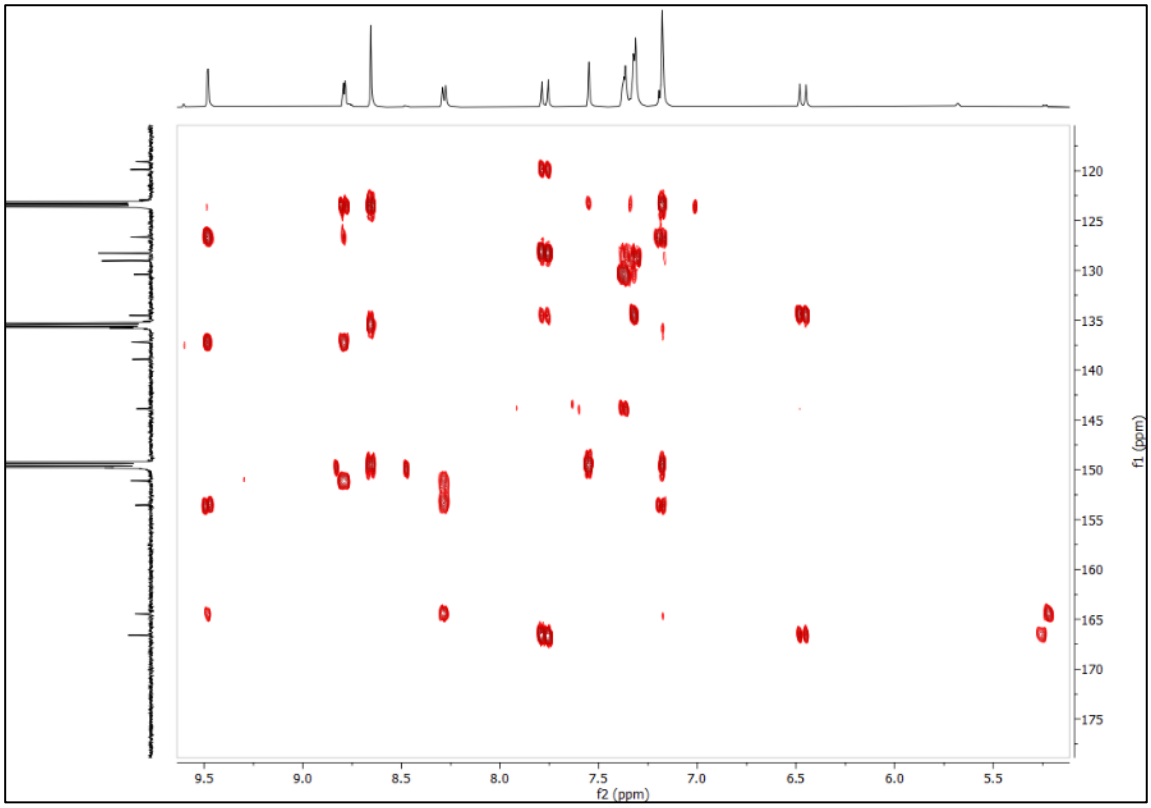


Figura S16. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 120-175 ppm e 5,5-9,5 ppm

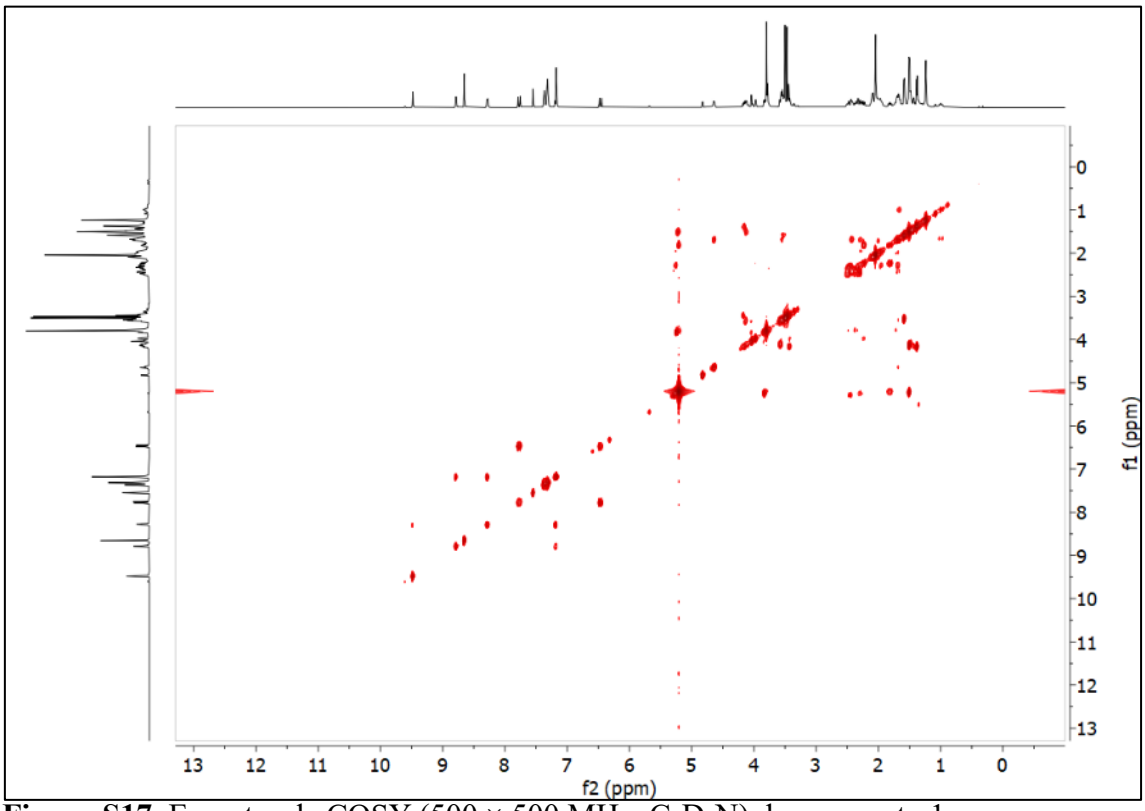


Figura S17. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1

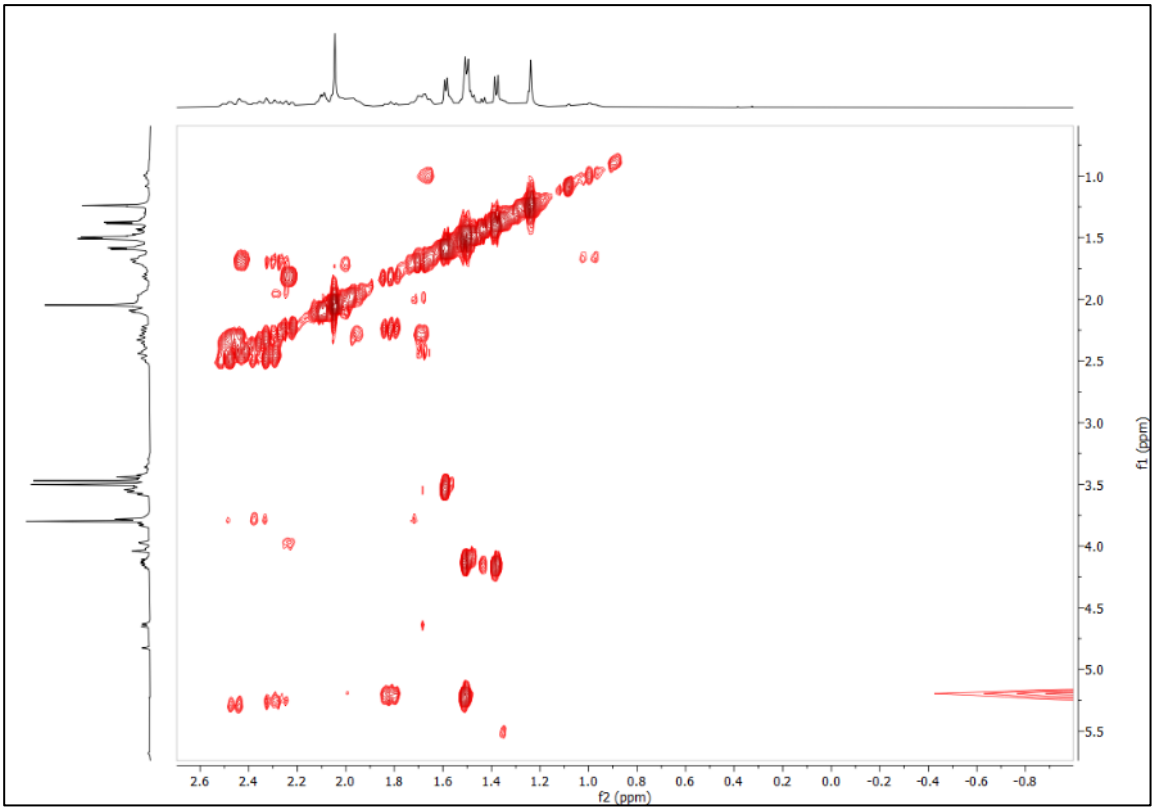


Figura S18. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e -0,8-2,6 ppm

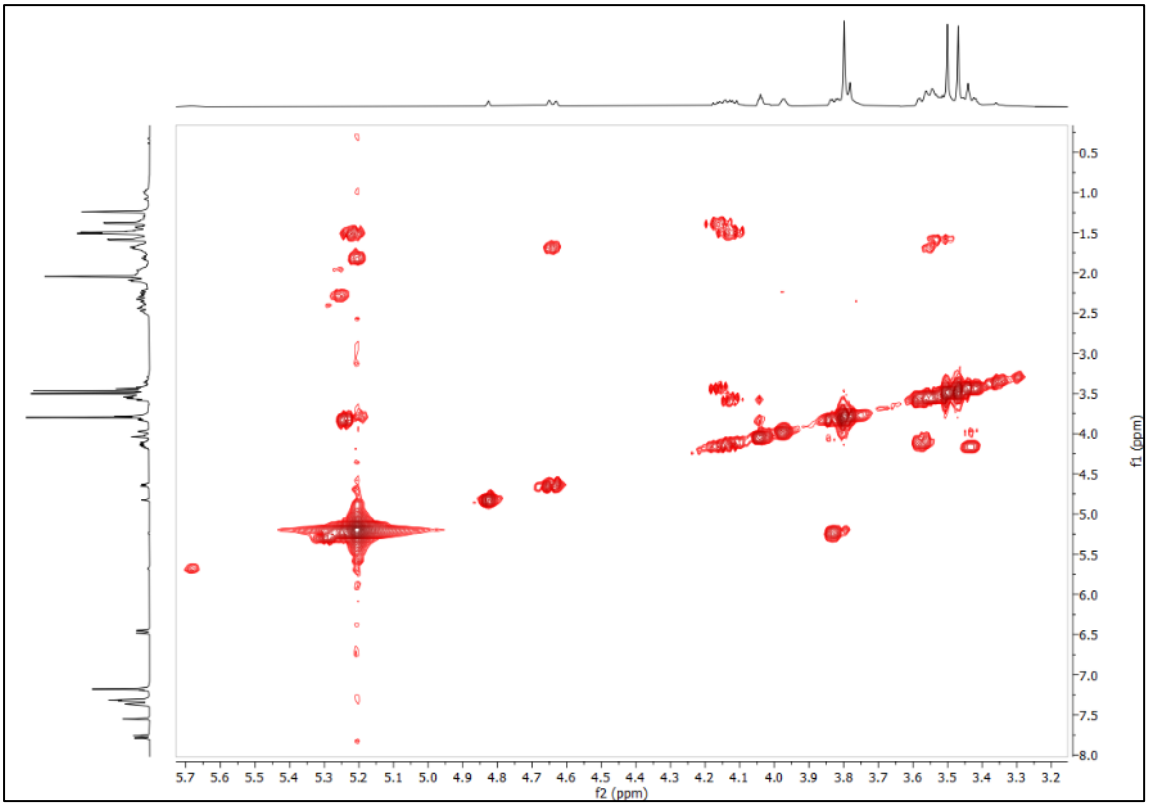


Figura S19. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 0,5-0,8 ppm e 3,2-5,7 ppm

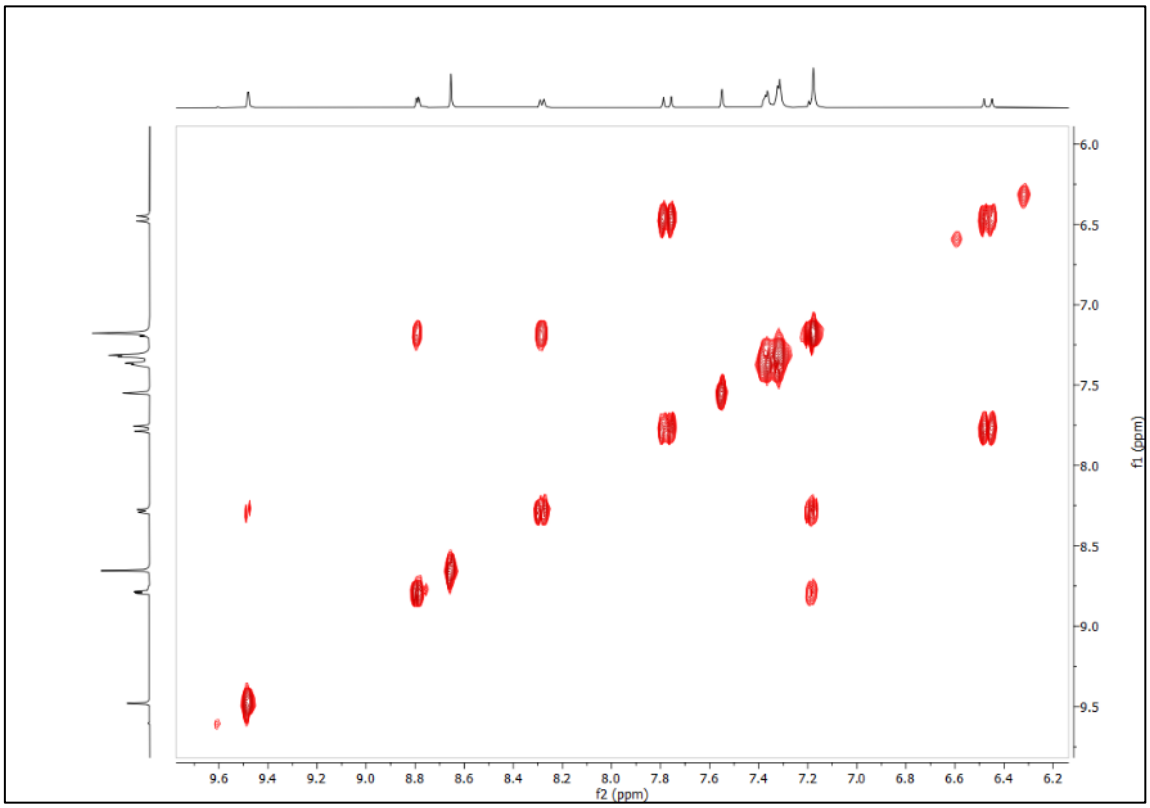


Figura S20. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 6-9,5 ppm e 6,2-9,6 ppm

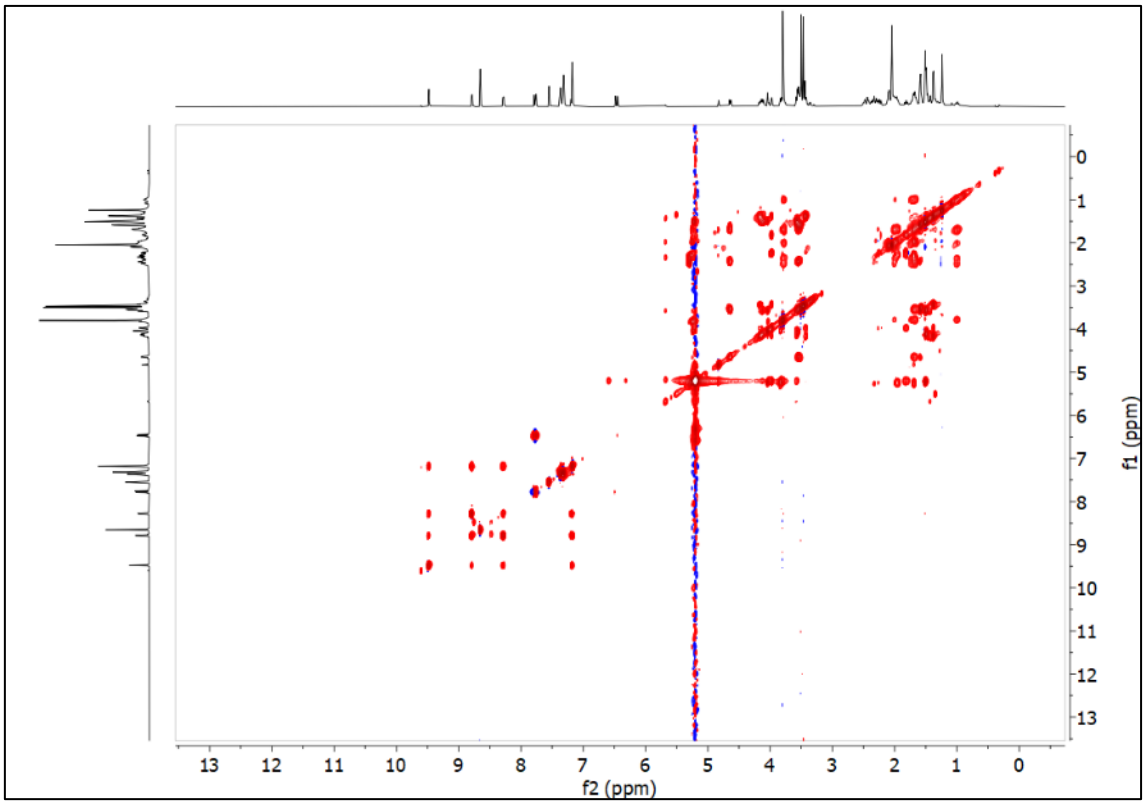


Figura S21. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1

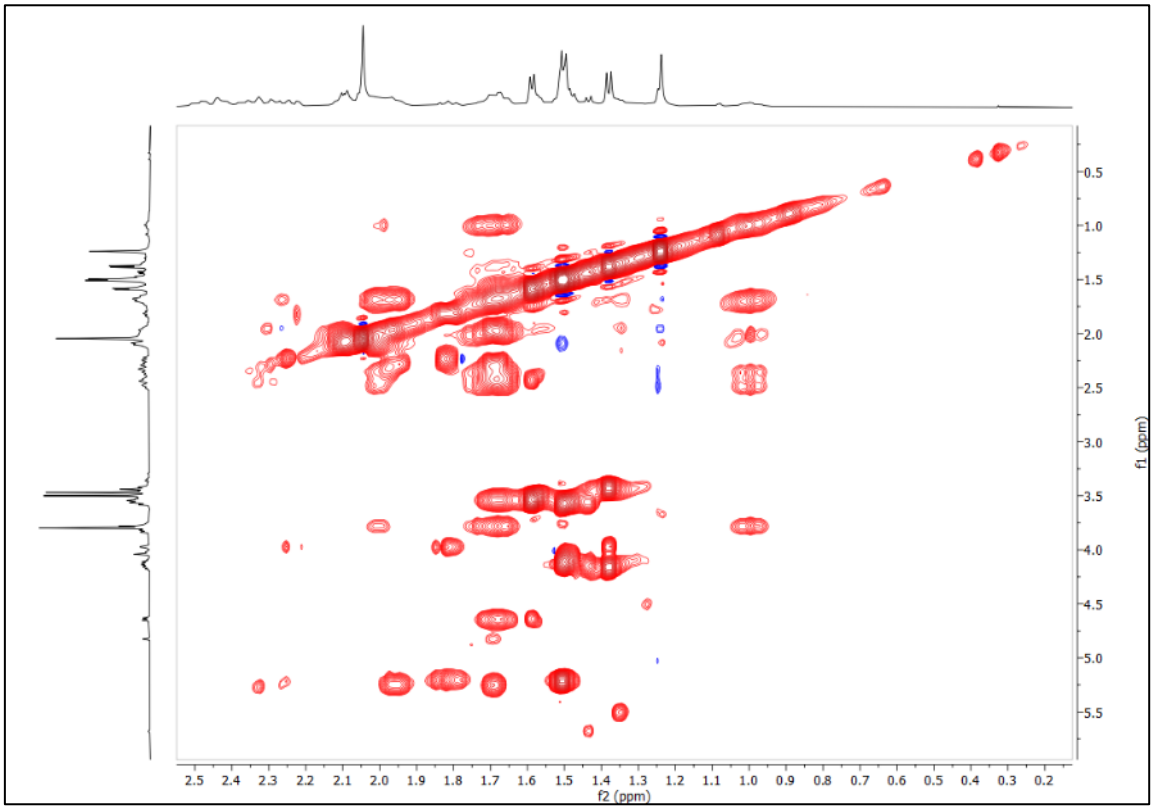


Figura S22. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,2-2,5 ppm

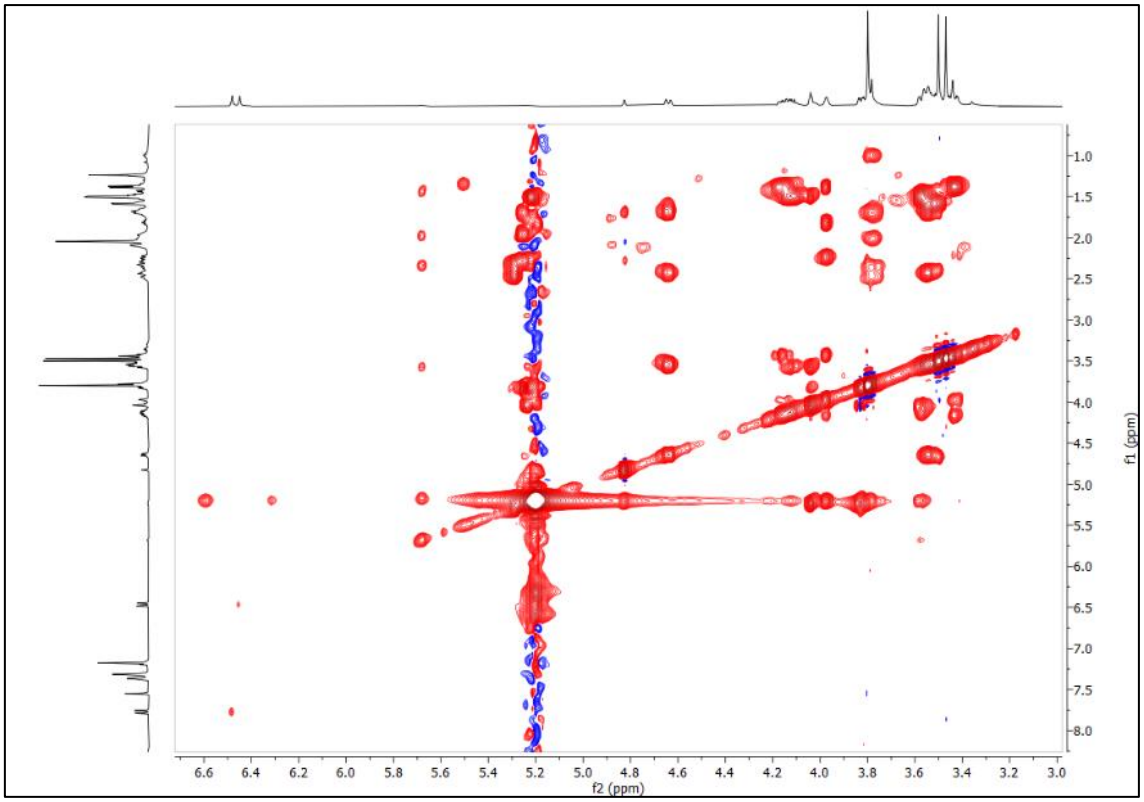


Figura S23. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 1,0-8,0 ppm e 3,0-6,6 ppm

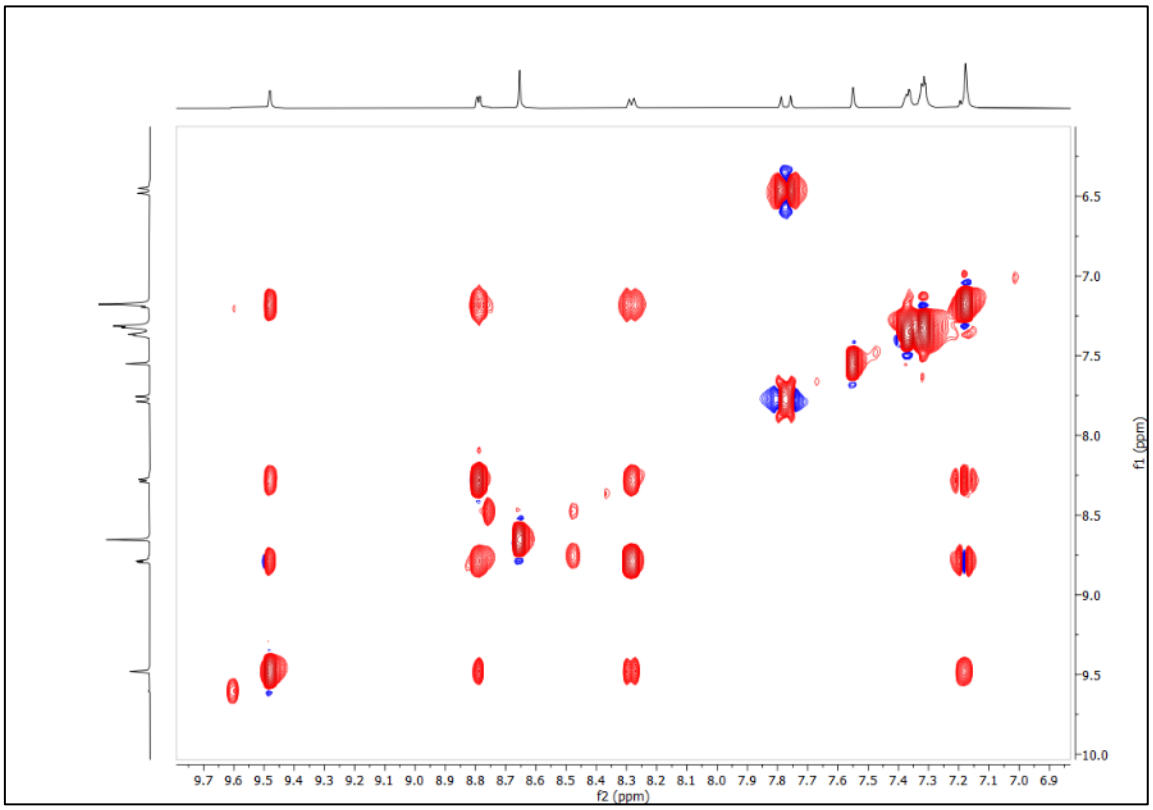


Figura S24. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 6,5-10,0 ppm e 6,9-9,7 ppm

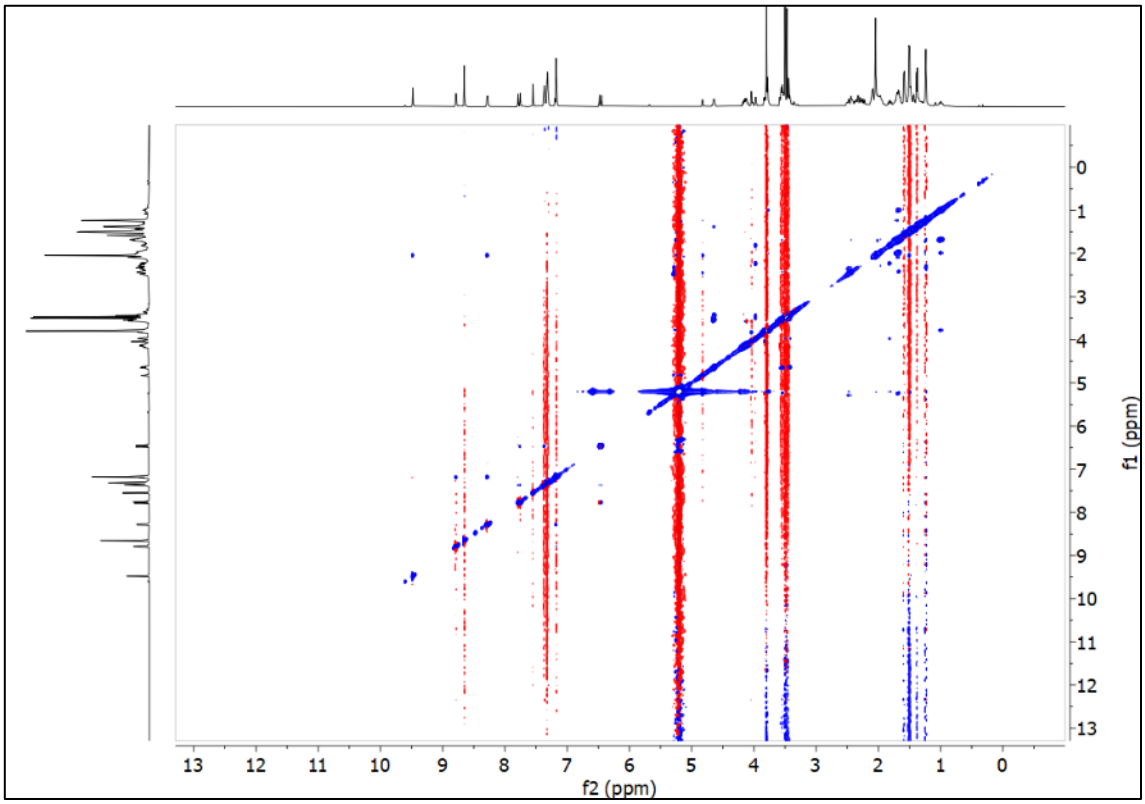


Figura S25. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1

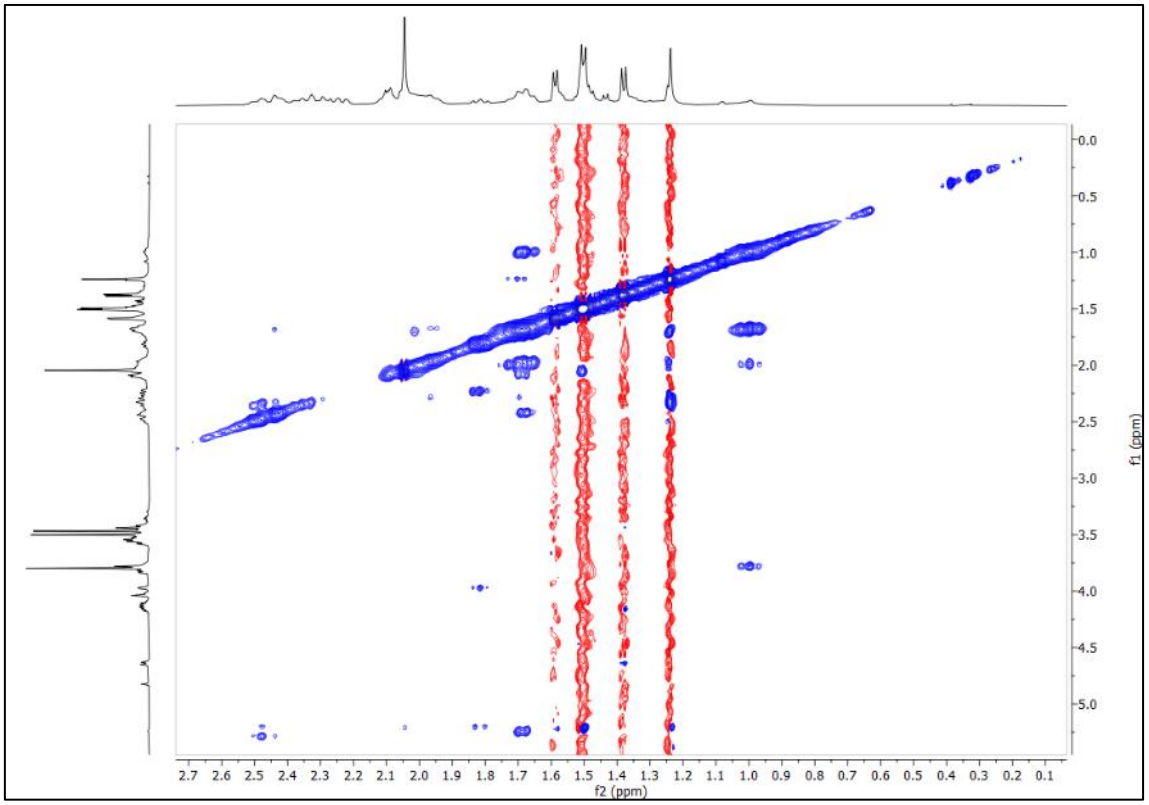


Figura S26. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 0,0-5,0 ppm e 0,1-2,7 ppm

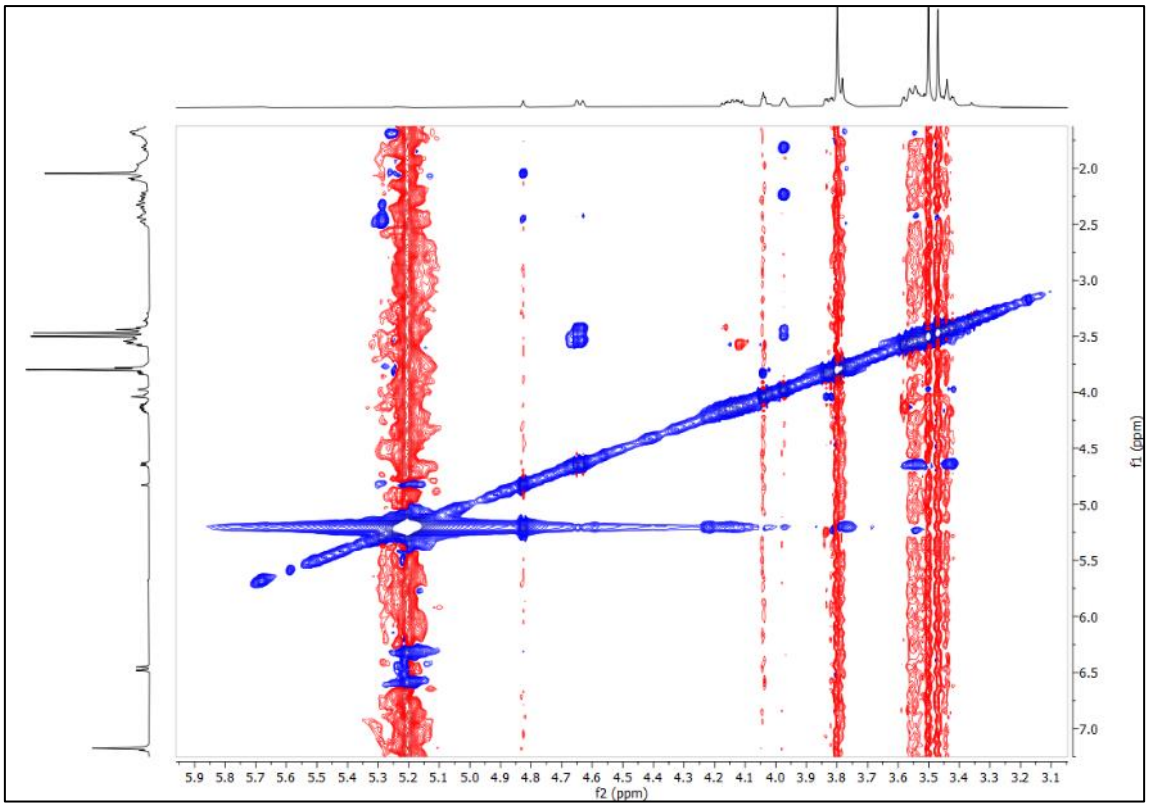


Figura S27. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 2,0-7,0 ppm 3,1-5,9 ppm

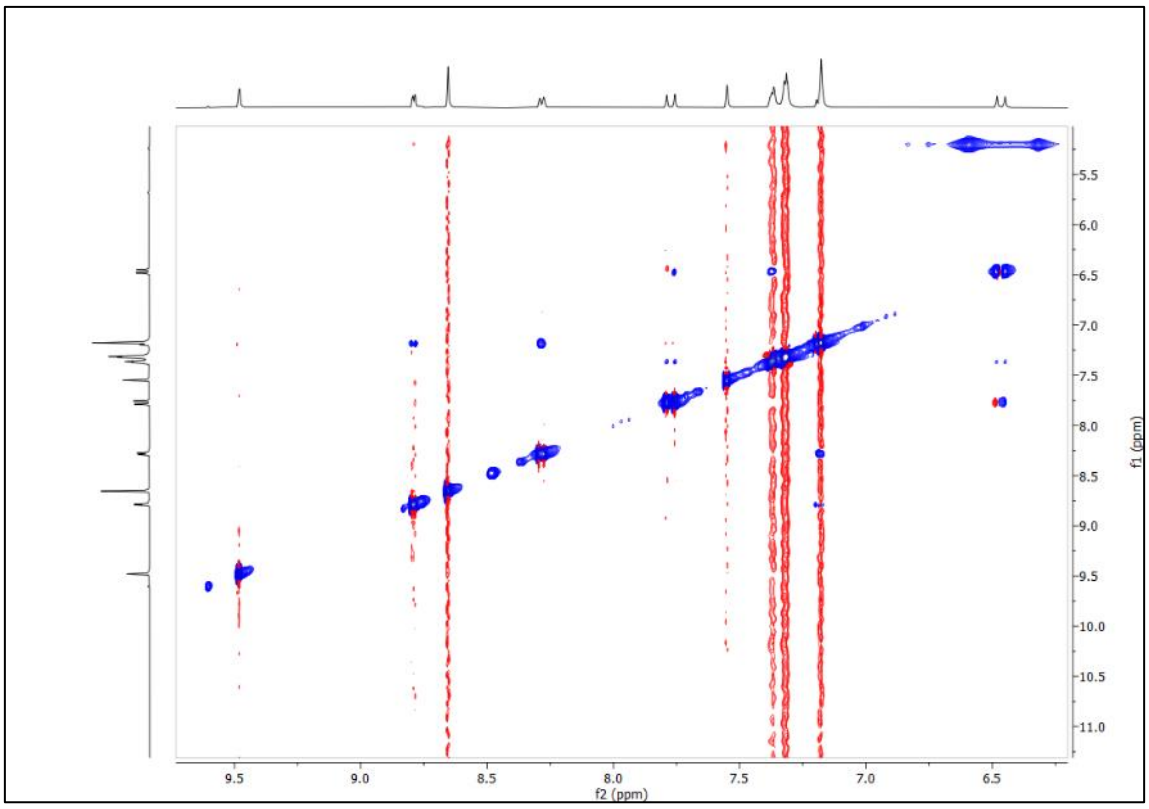


Figura S28. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 1 nas regiões de 5,5-11,0 ppm 6,5-9,5 ppm

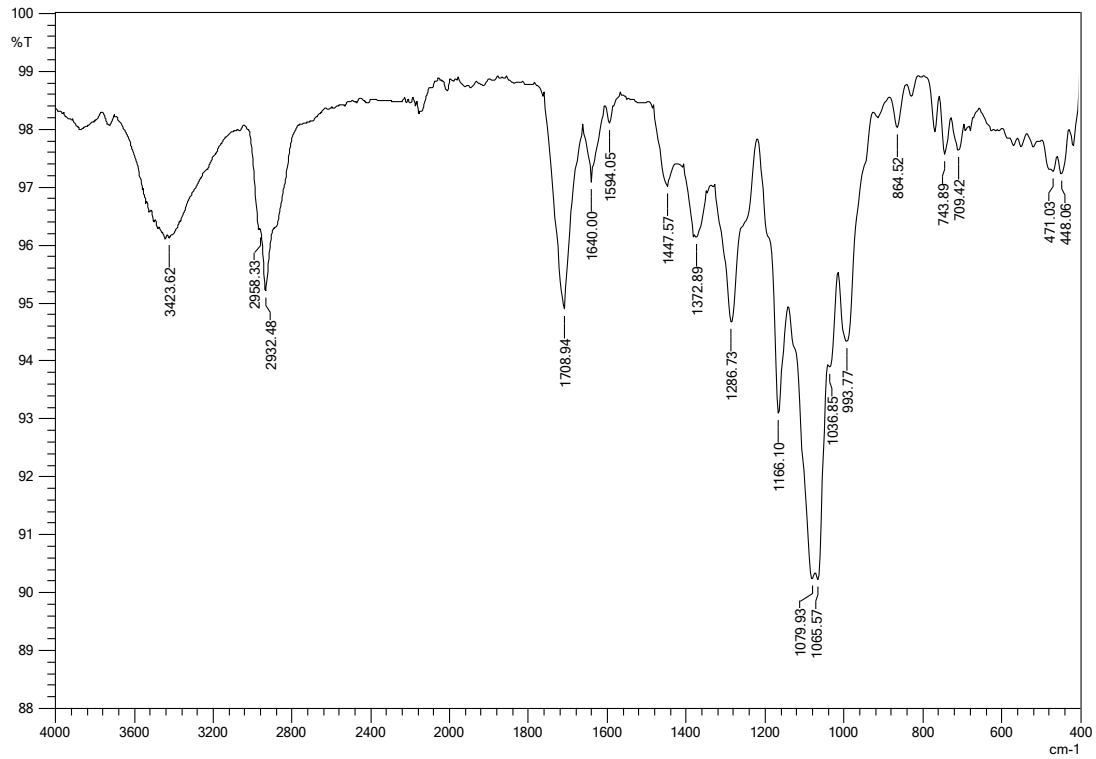
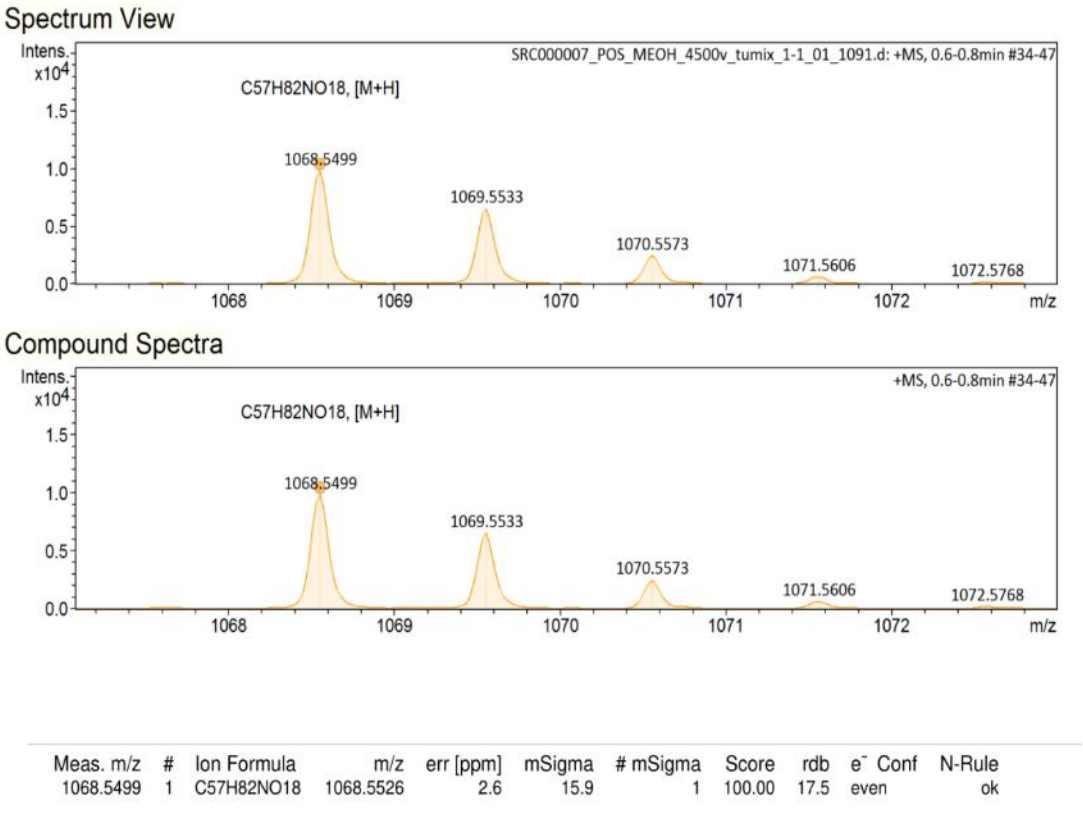


Figura S29. Espectro de infravermelho ATR do composto 2



Meas. m/z	#	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	# mSigma	Score	rdb	e⁻ Conf	N-Rule
1068.5499	1	C57H82NO18	1068.5526	2.6	15.9	1	100.00	17.5	even	ok

Figura S30. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 2

.

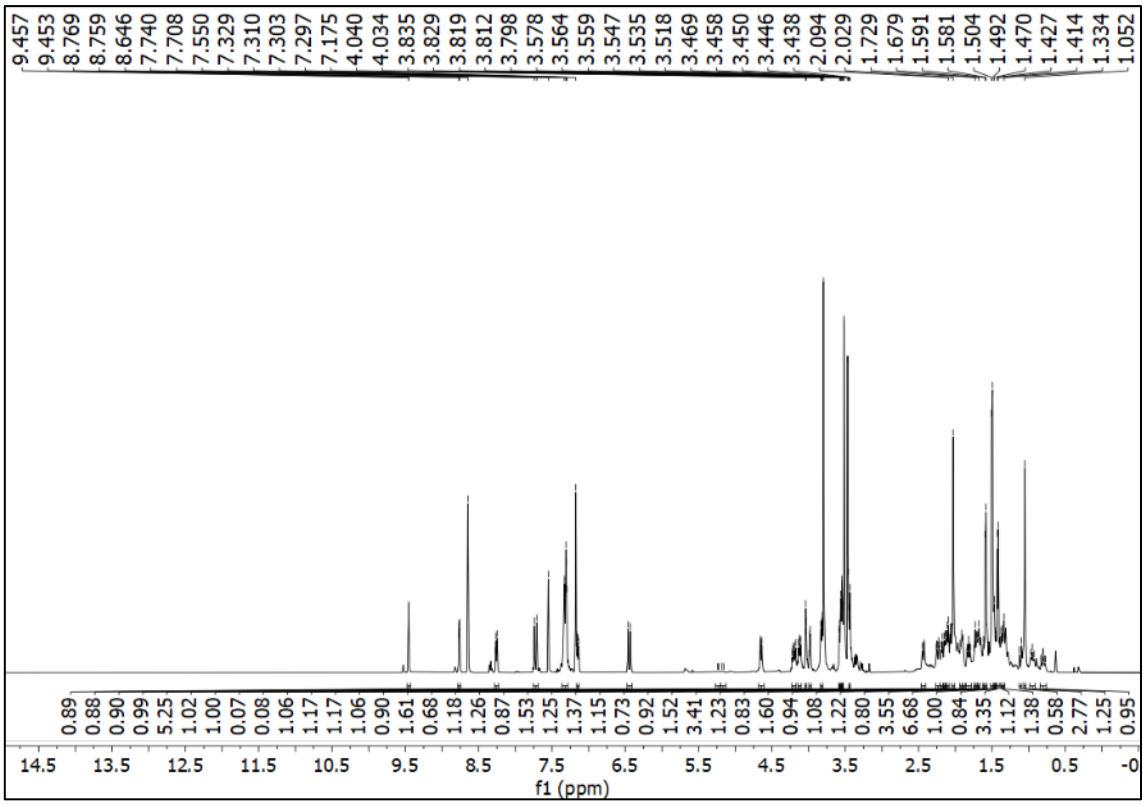


Figura S31. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 2

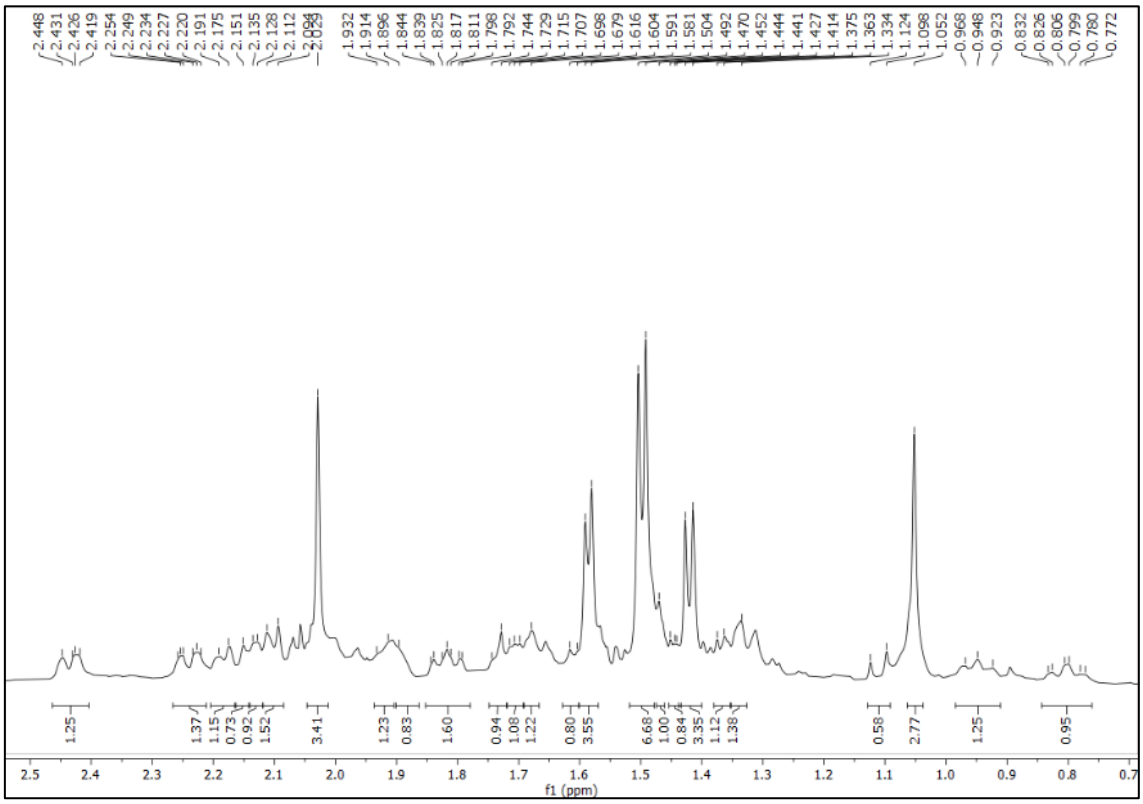


Figura 32. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 na região de 0,7-2,5 ppm

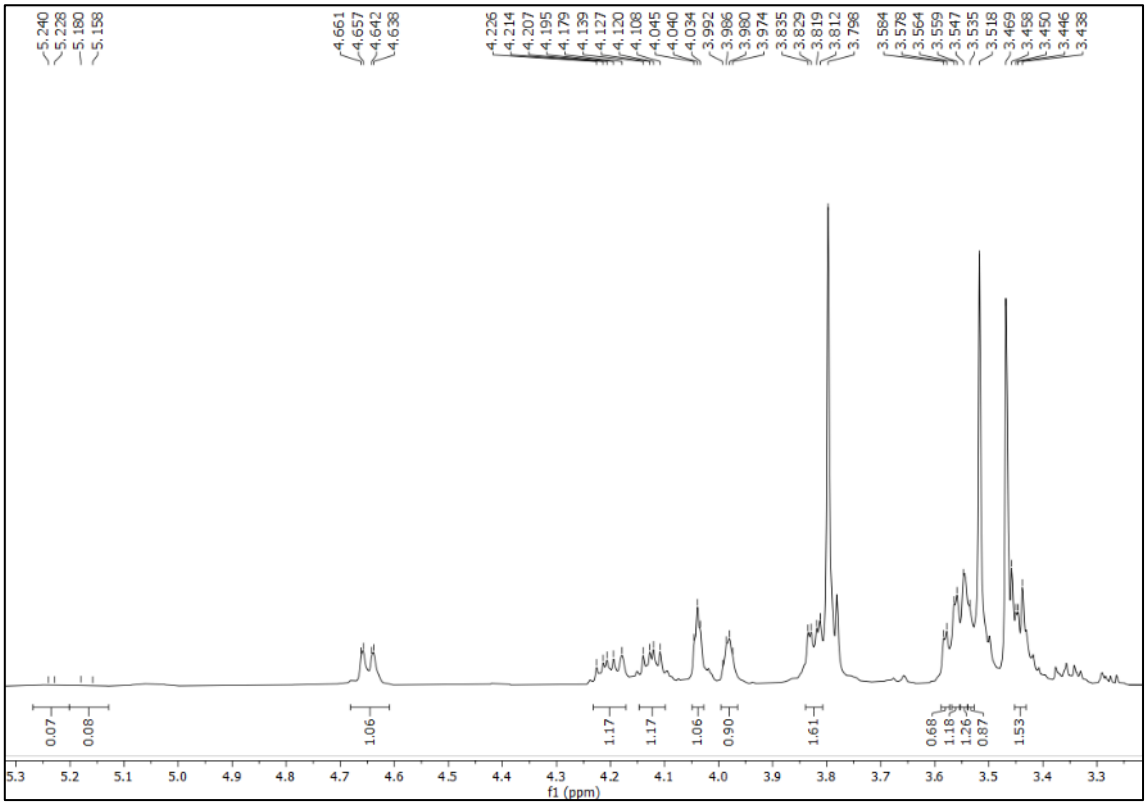


Figura 33. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 na região de 3,3-5,3 ppm

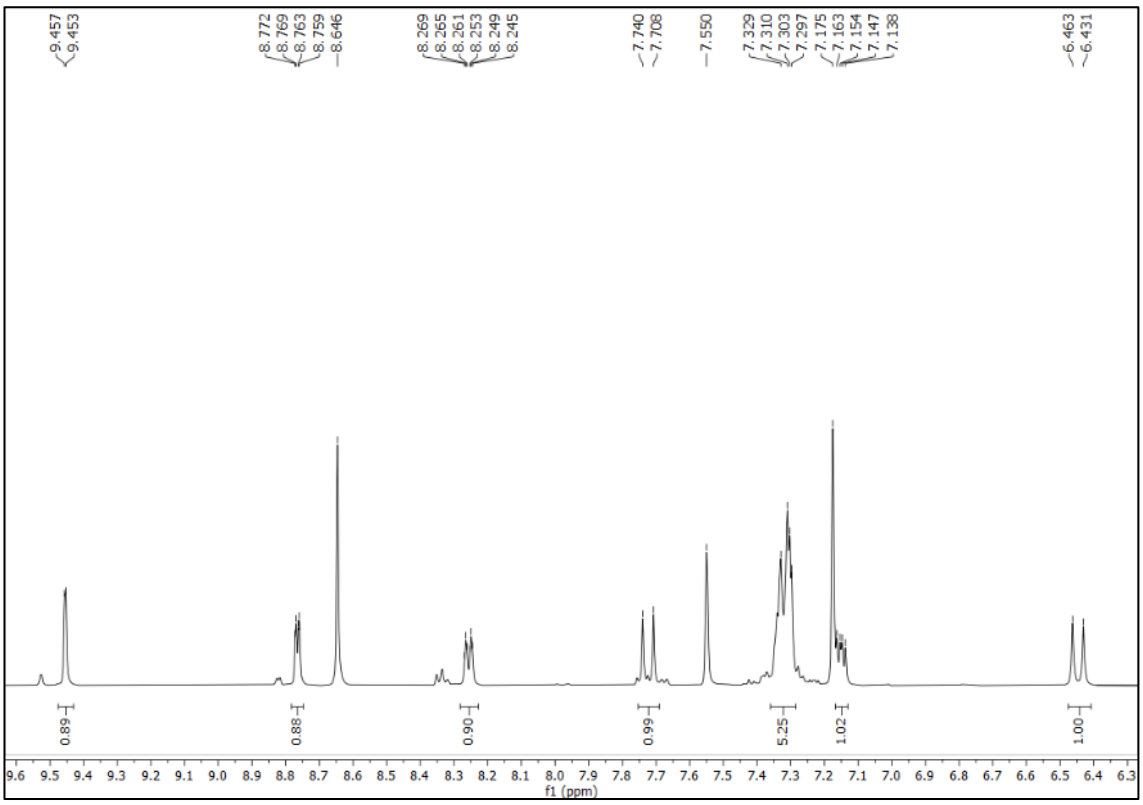


Figura 34. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 na região de 6,3-9,6 ppm

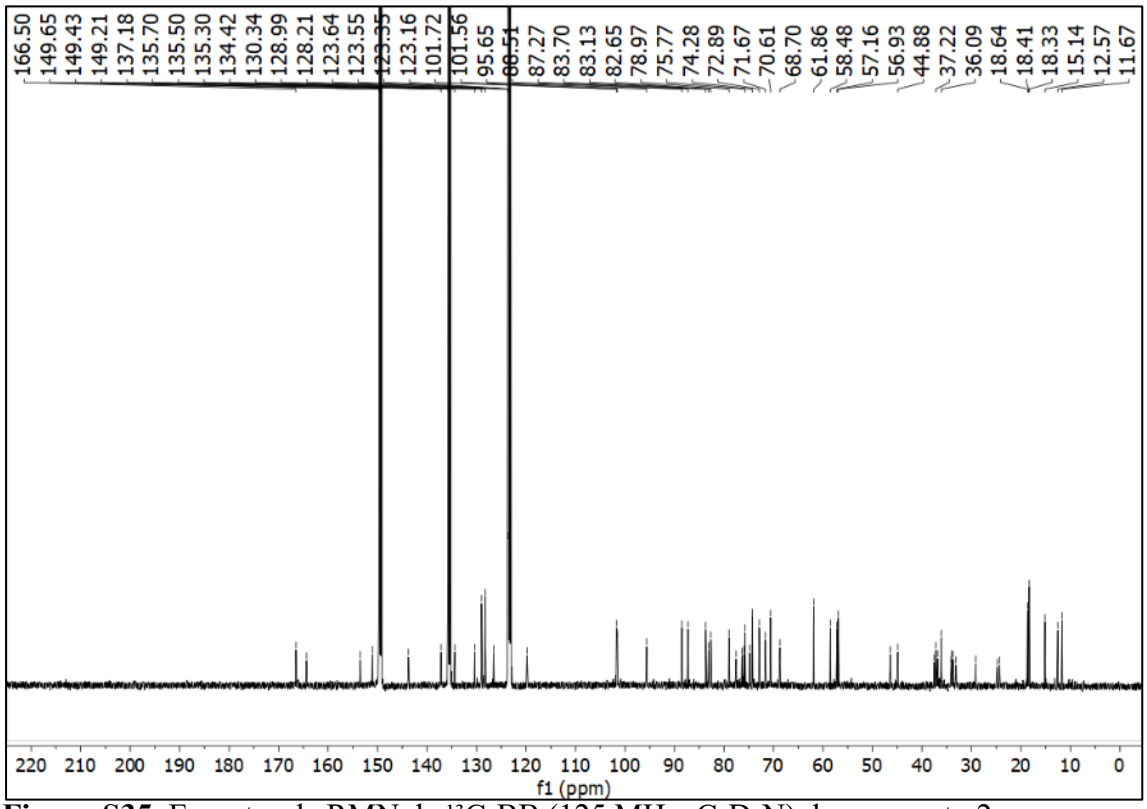


Figura S35. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 2

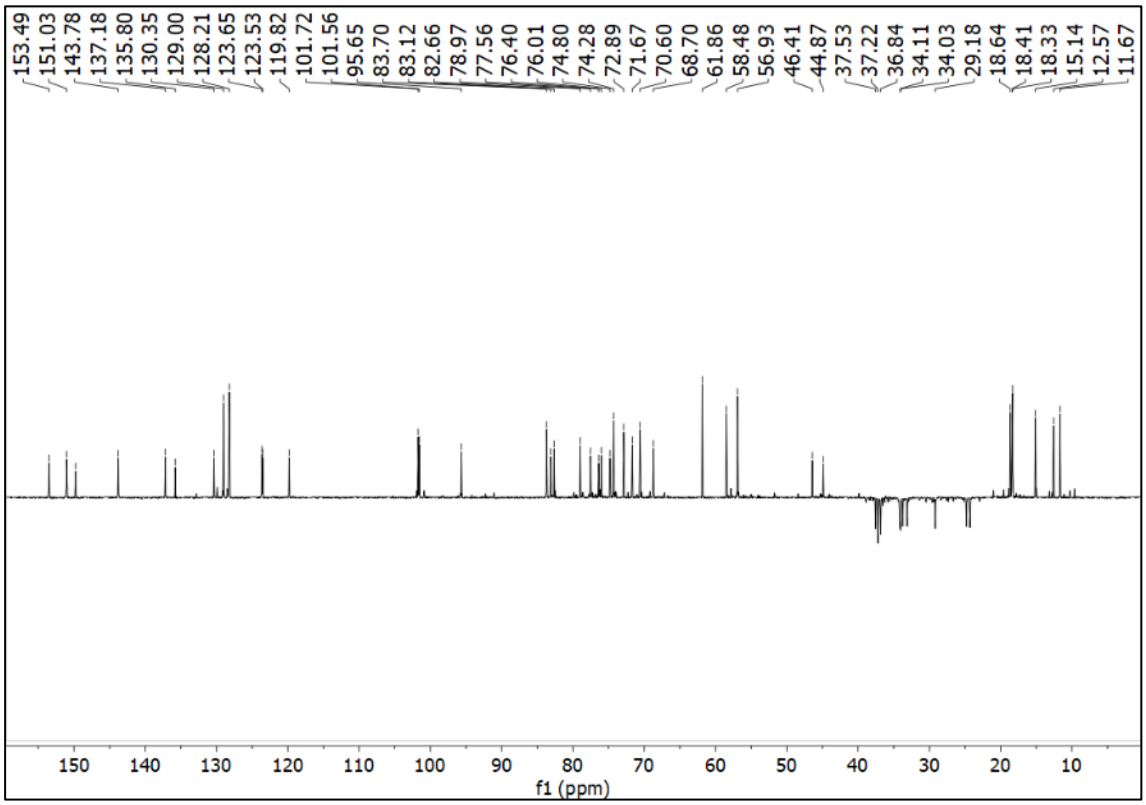


Figura S36. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 2

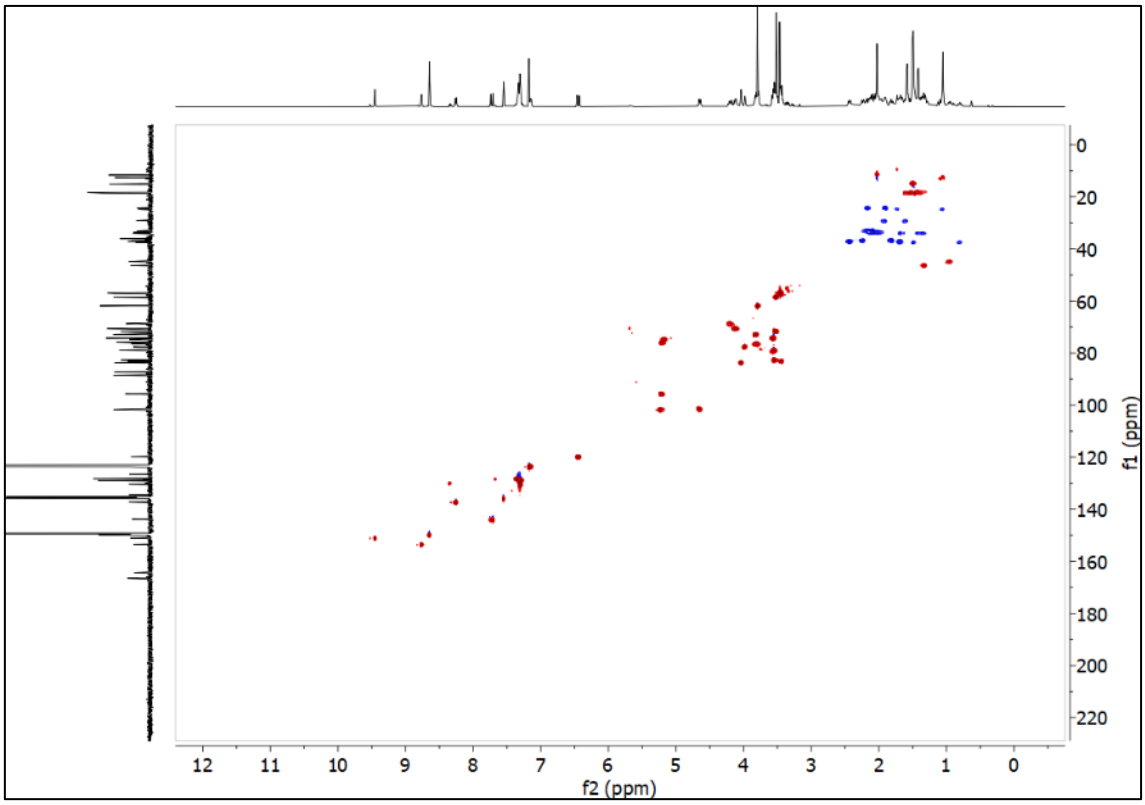


Figura S37. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2

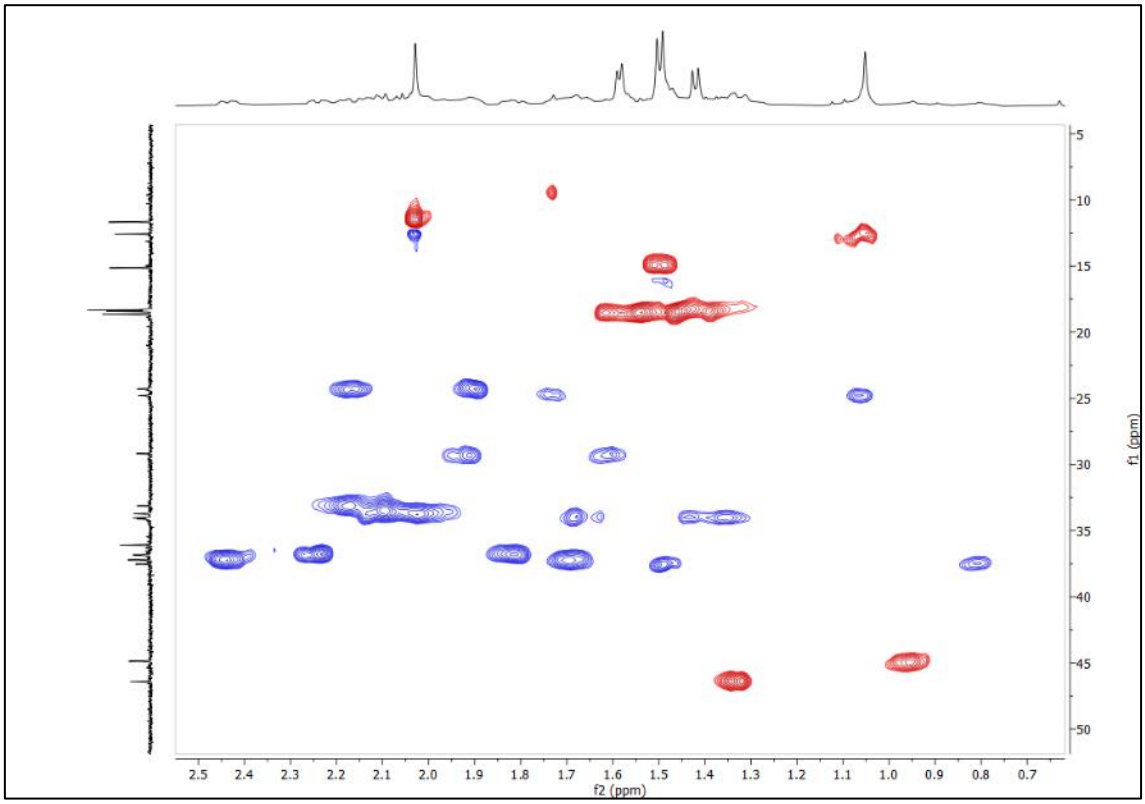


Figura S38. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 5-50 ppm e 0,7-2,5 ppm

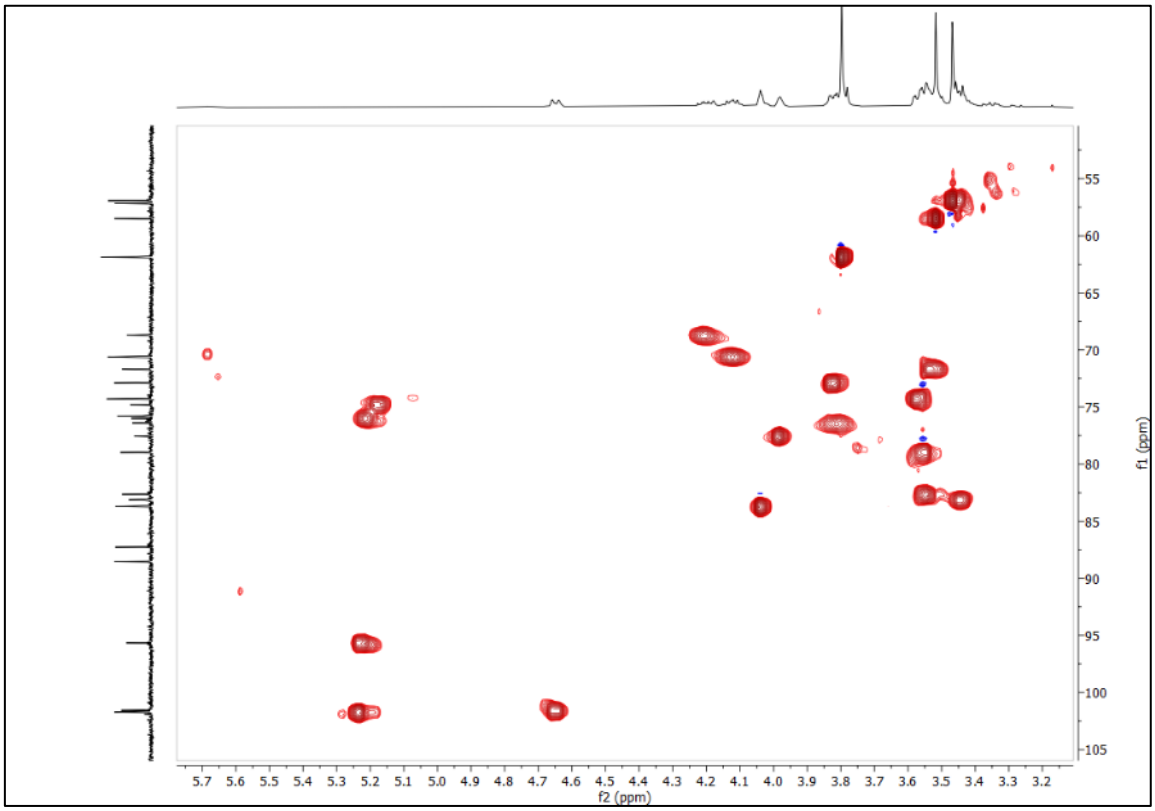


Figura S39. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 55-105 ppm e 3,2-5,7 ppm

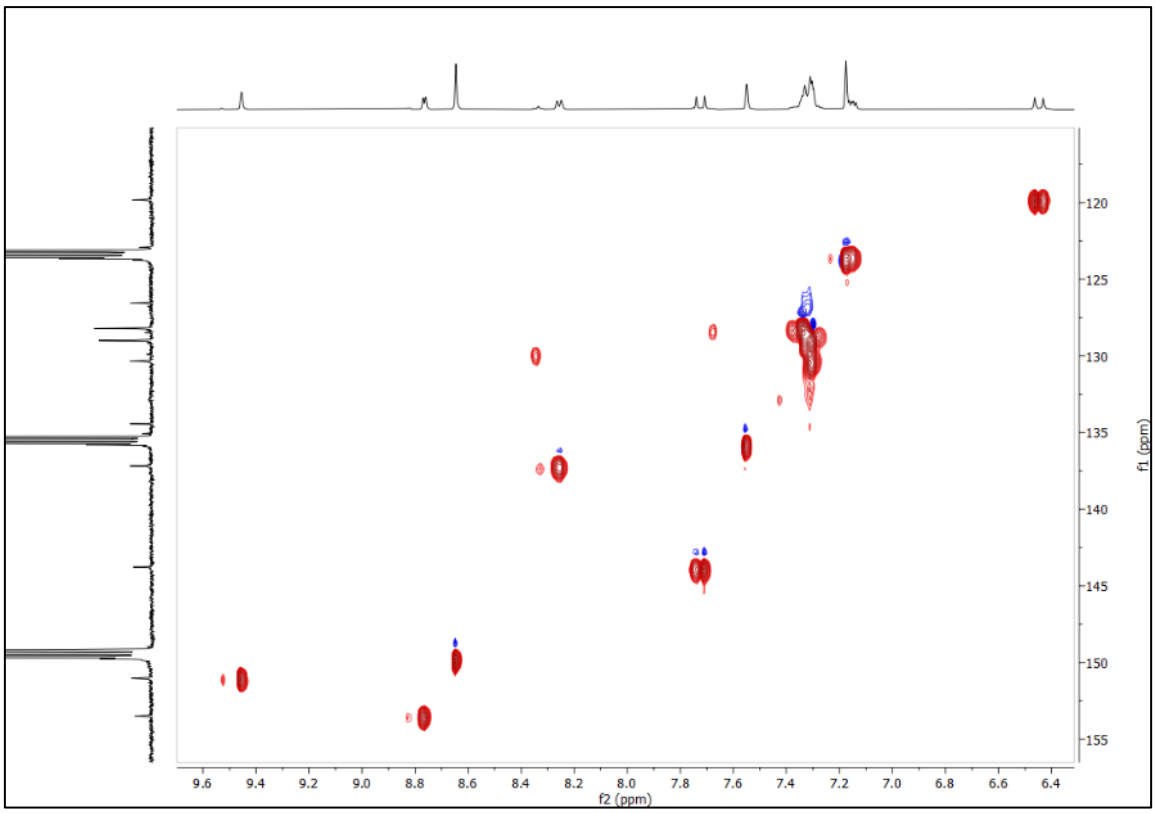


Figura S40. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 120-155 ppm e 6,4-9,6 ppm

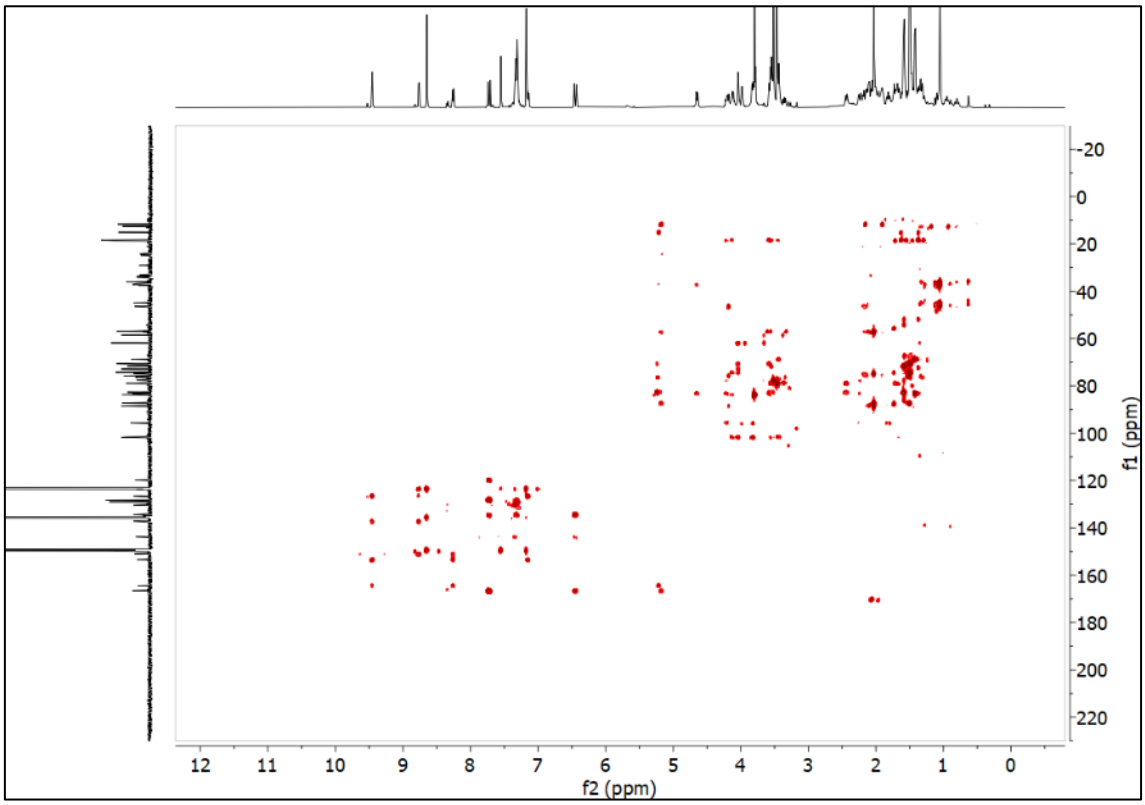


Figura S41. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2

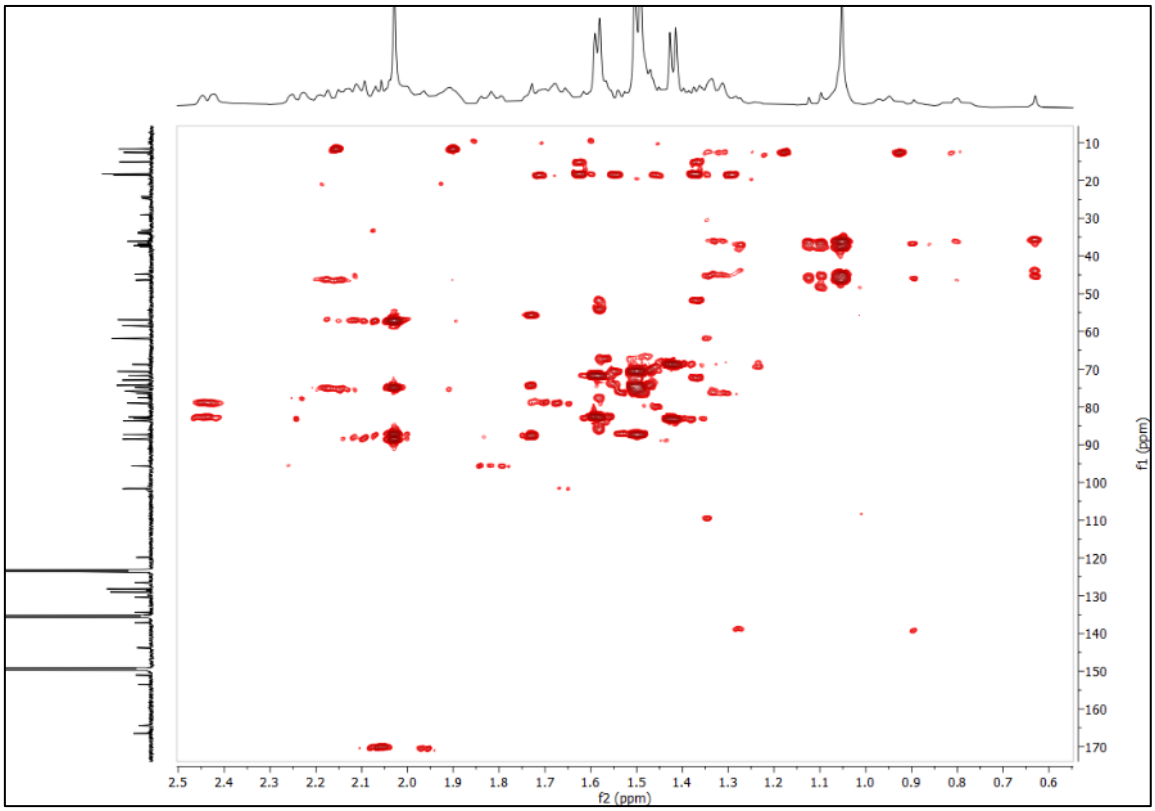


Figura S42. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 10-170 ppm e 0,6-2,5 ppm

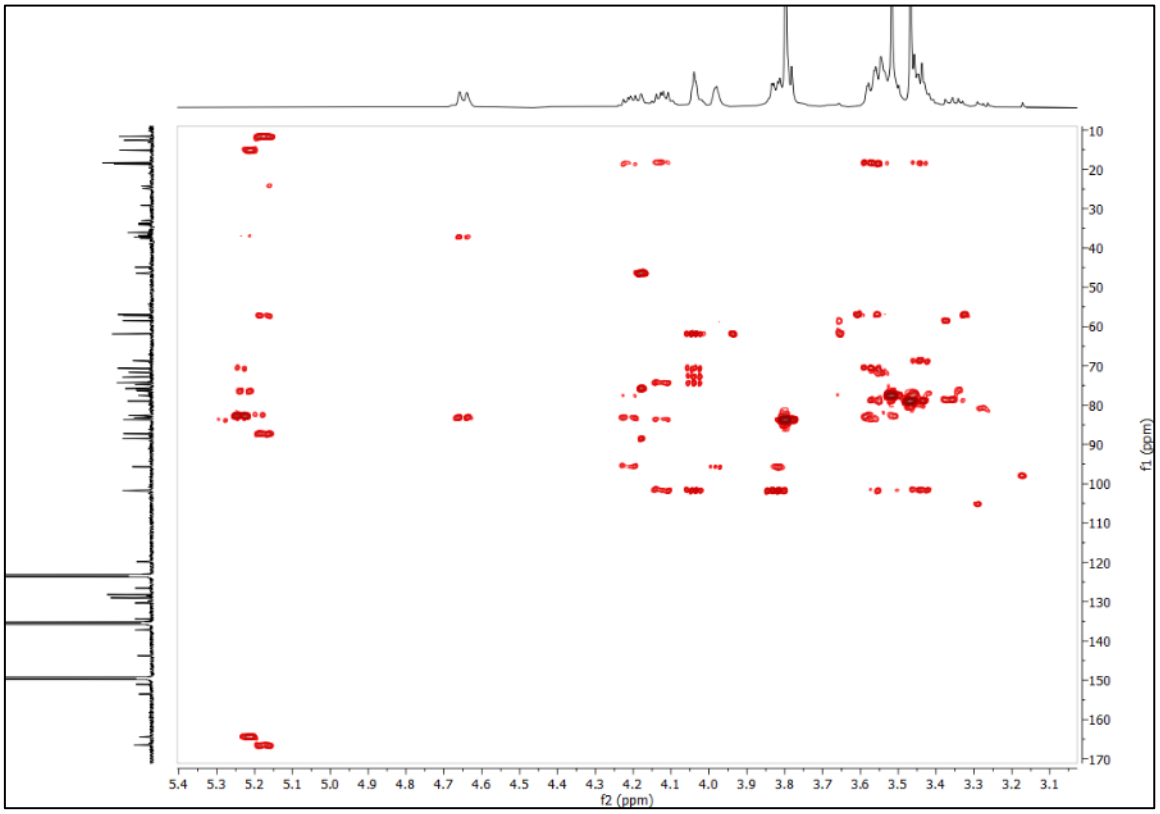


Figura S43. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,4 ppm

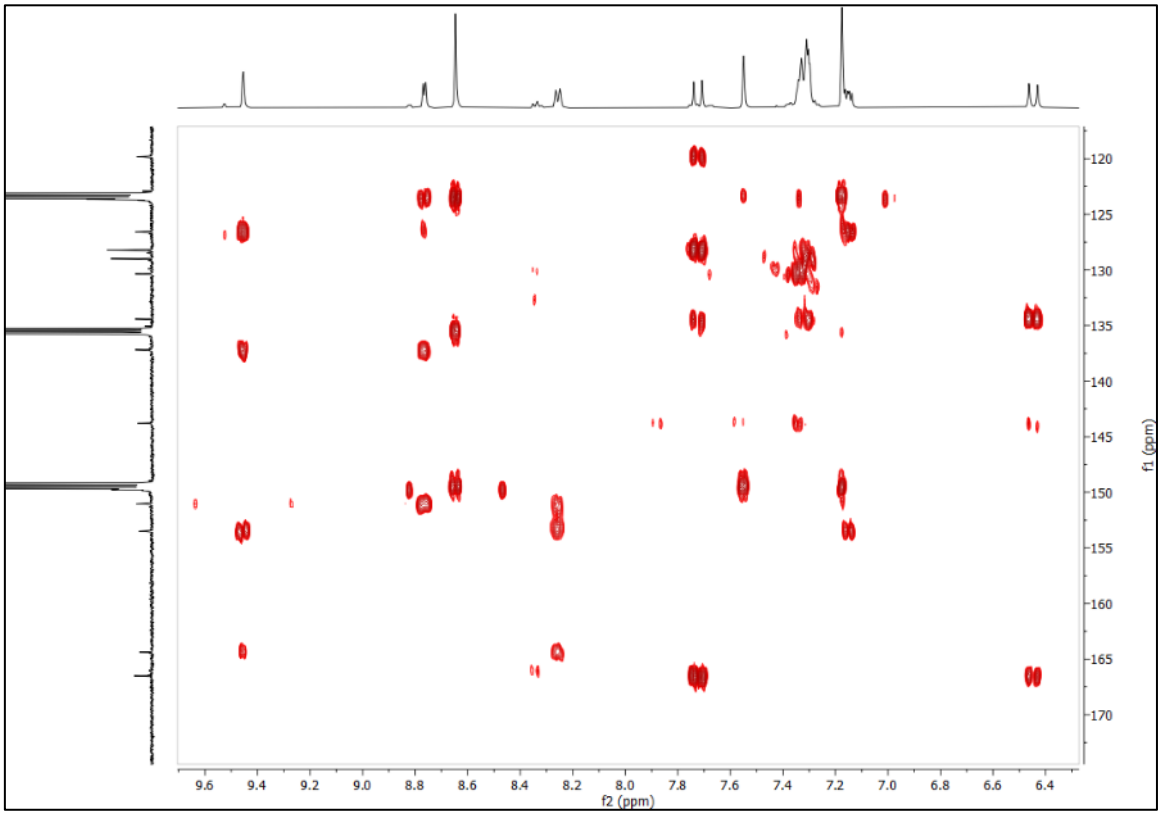


Figura S44. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 120-170 ppm e 6,4-9,5 ppm

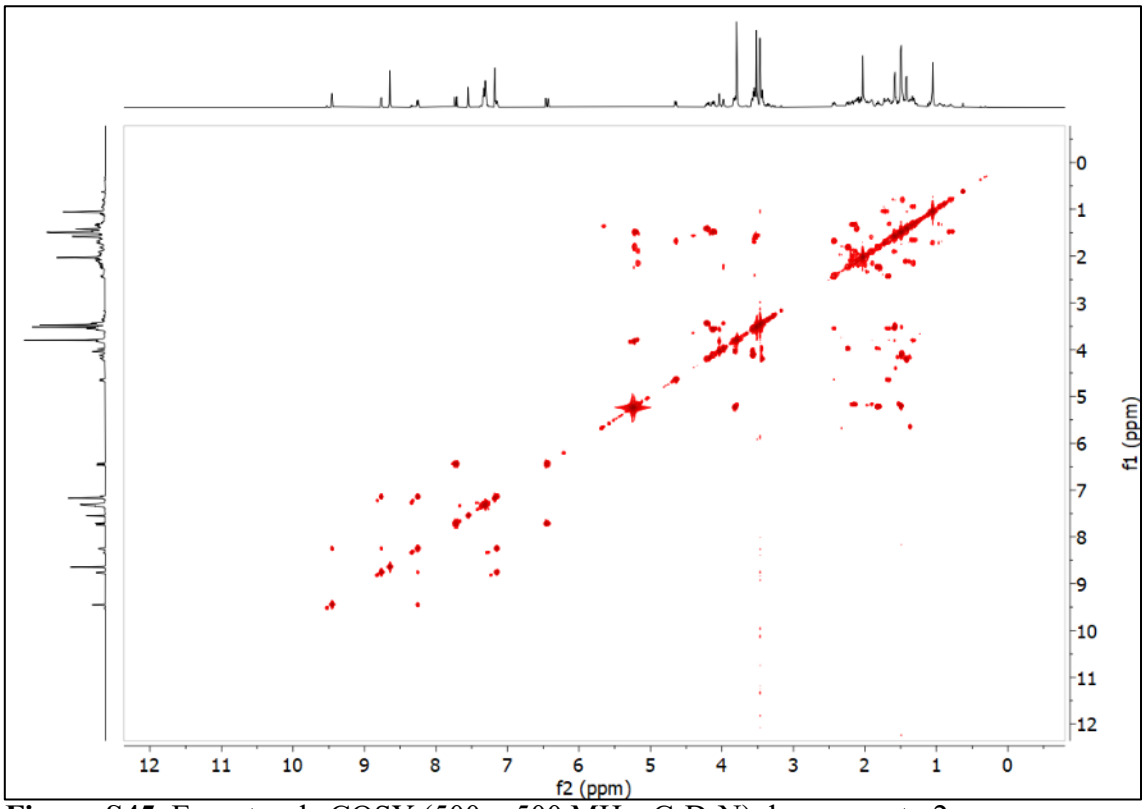


Figura S45. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2

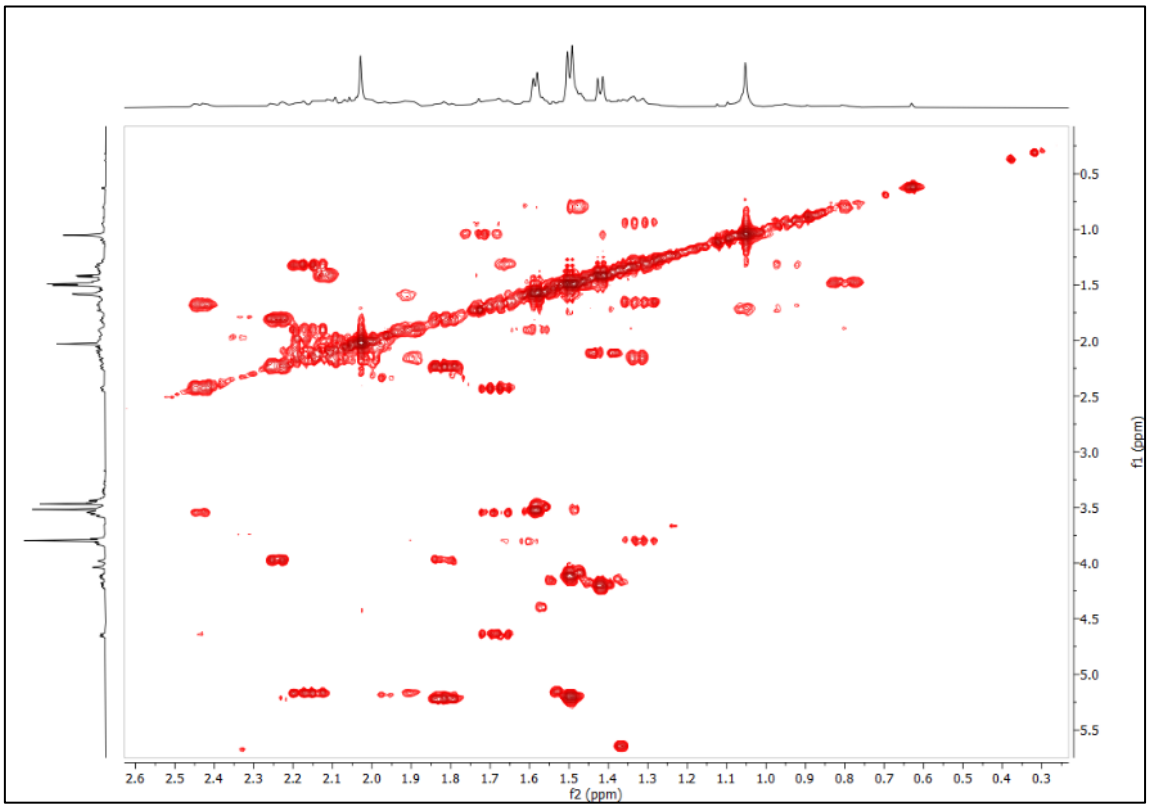


Figura S46. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,3-2,6 ppm

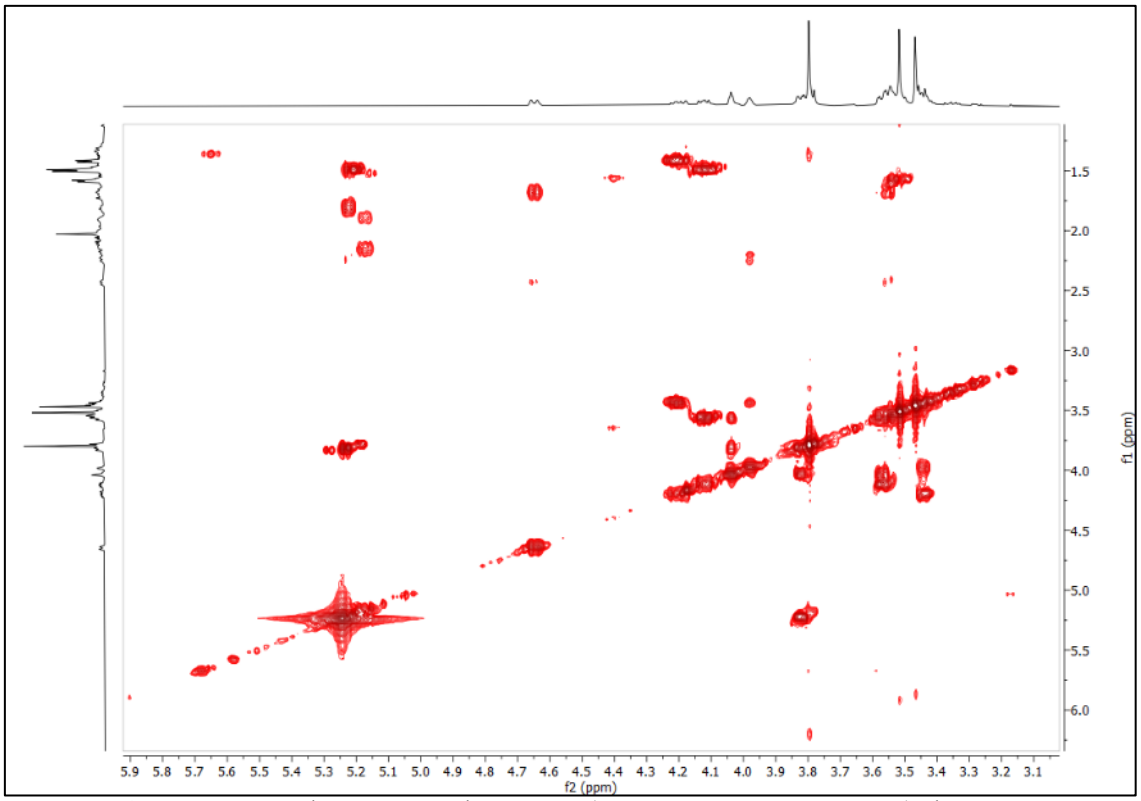


Figura S47. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,1-5,9 ppm

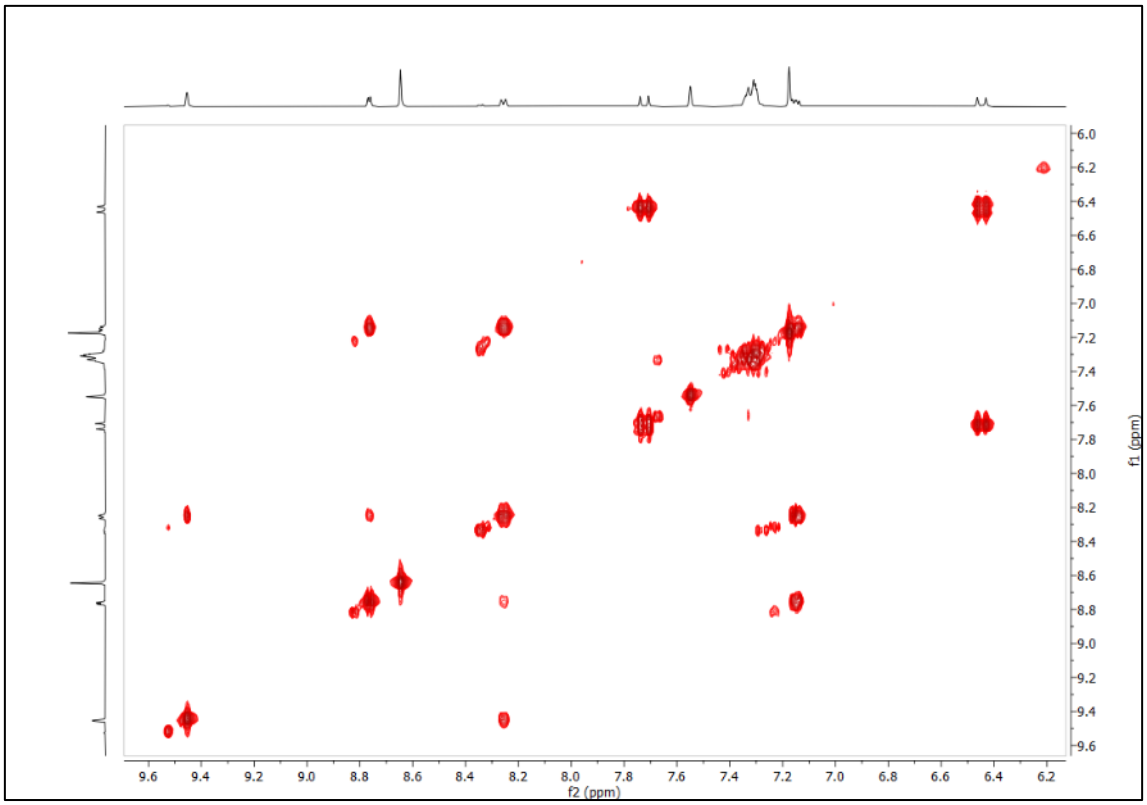


Figura S48. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 6,0-9,5 ppm e 6,2-9,6 ppm

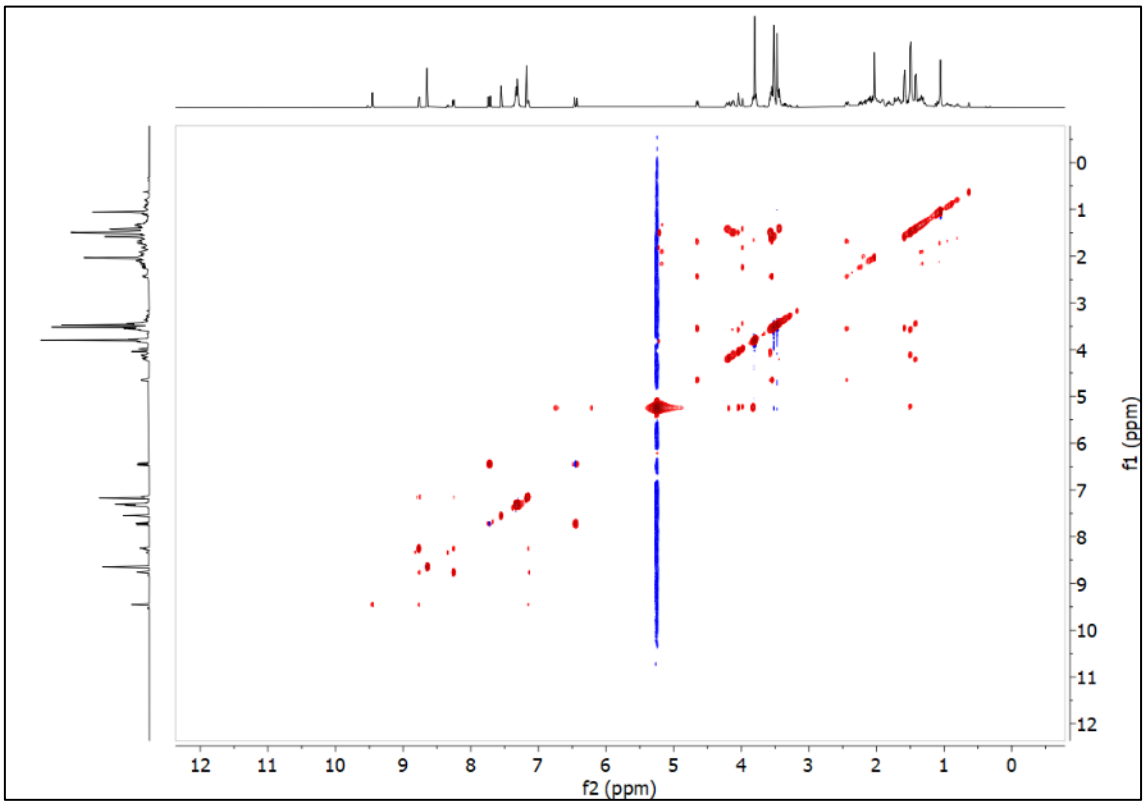


Figura S49. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2

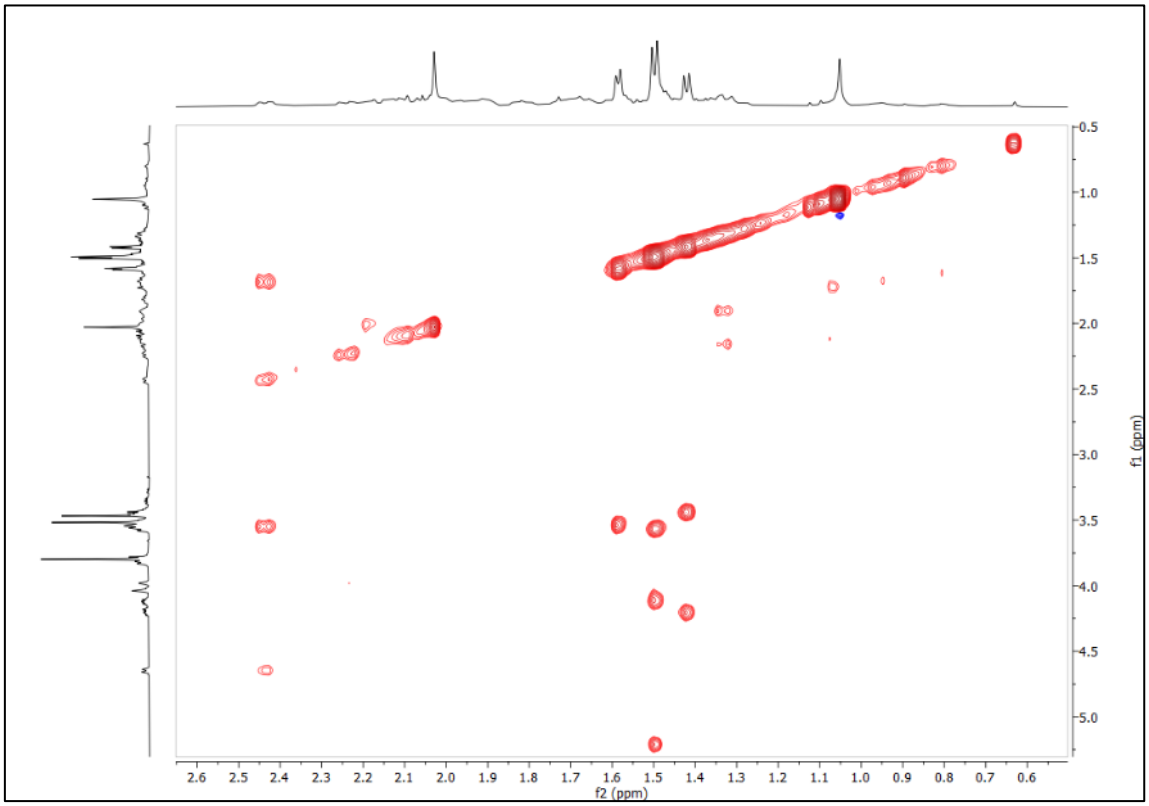


Figura S50. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,6-2,6 ppm

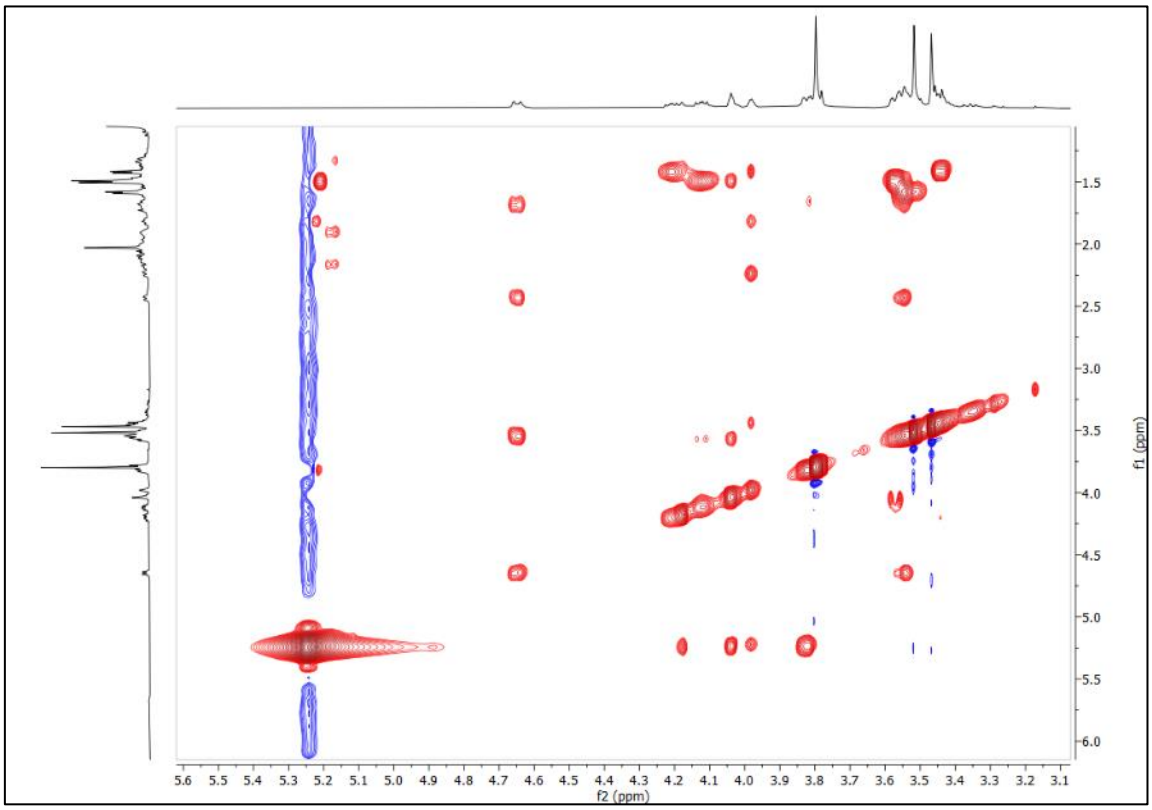


Figura S51. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,1-5,6 ppm

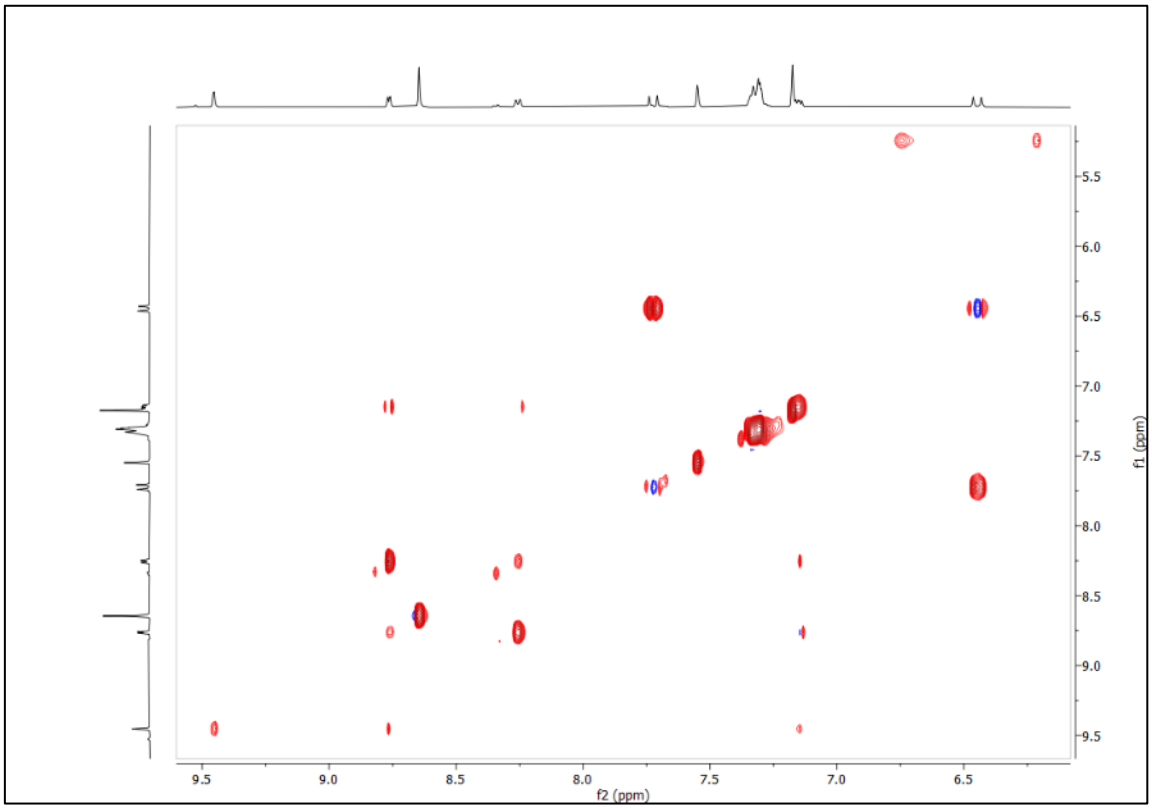


Figura S52. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 5,5-9,5 ppm e 6,5-9,5 ppm

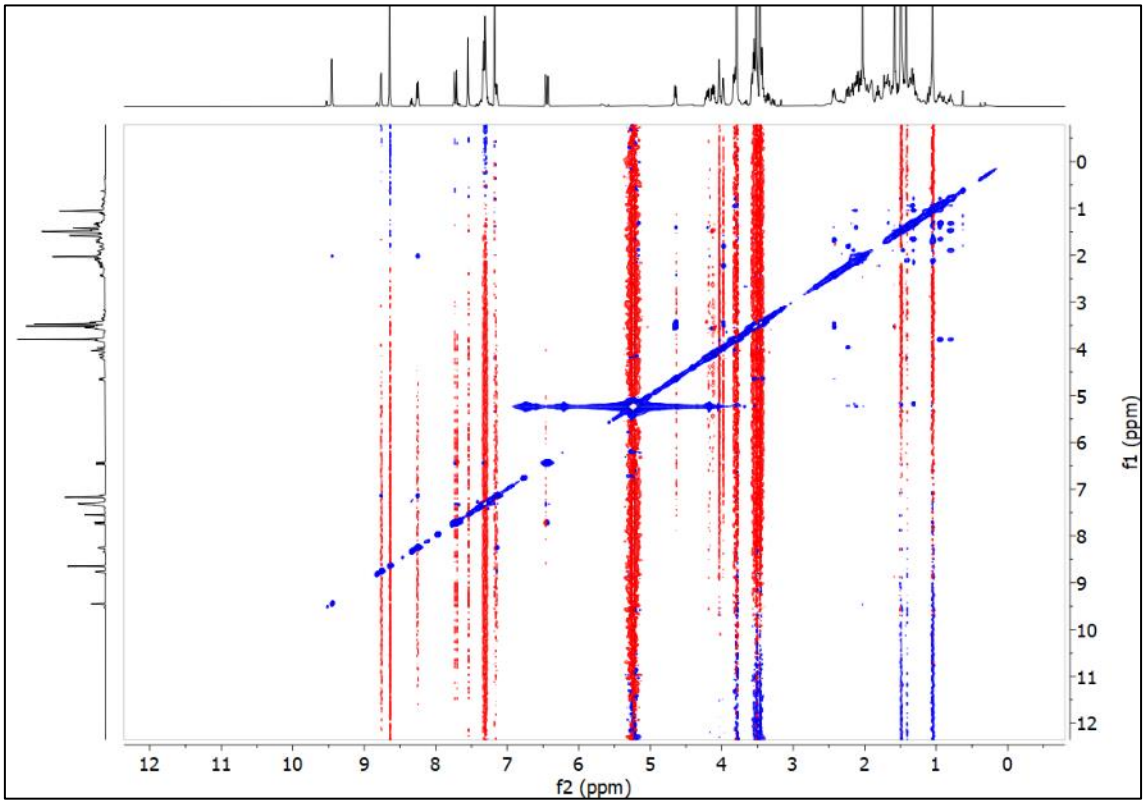


Figura S53. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2

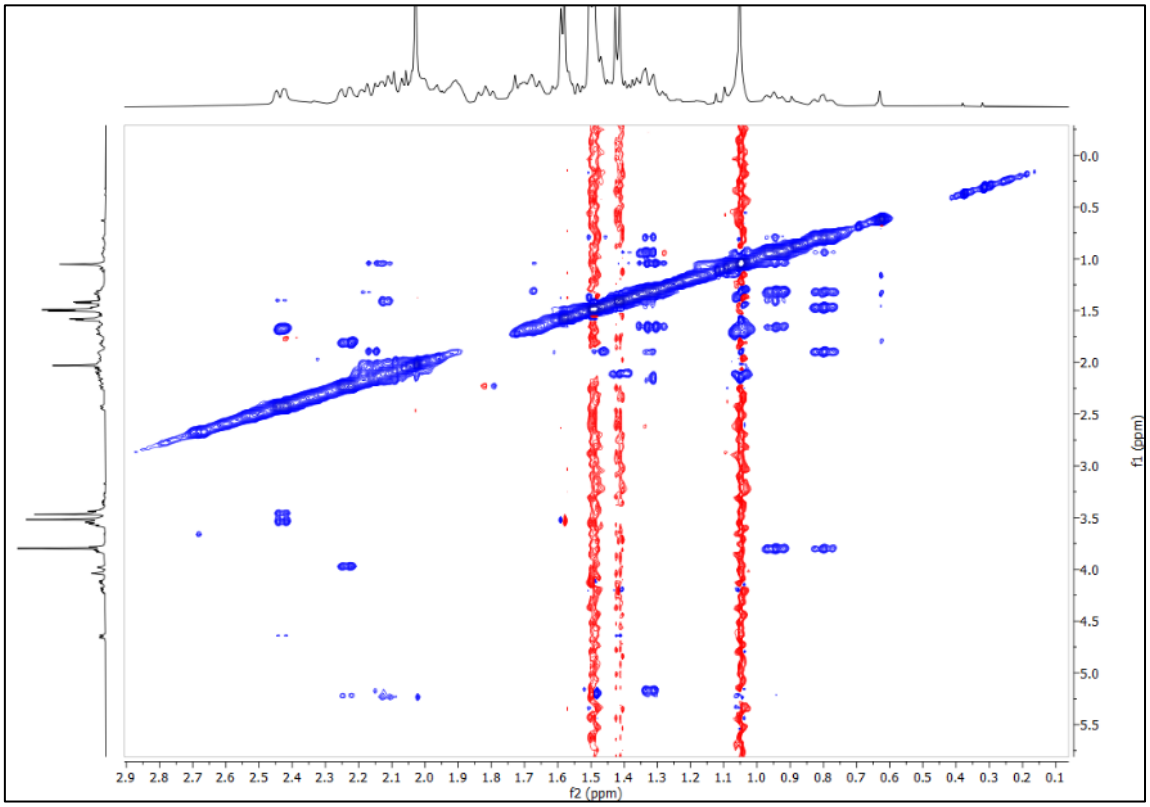


Figura S54. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 0,0-5,5 ppm e 0,1-2,9 ppm

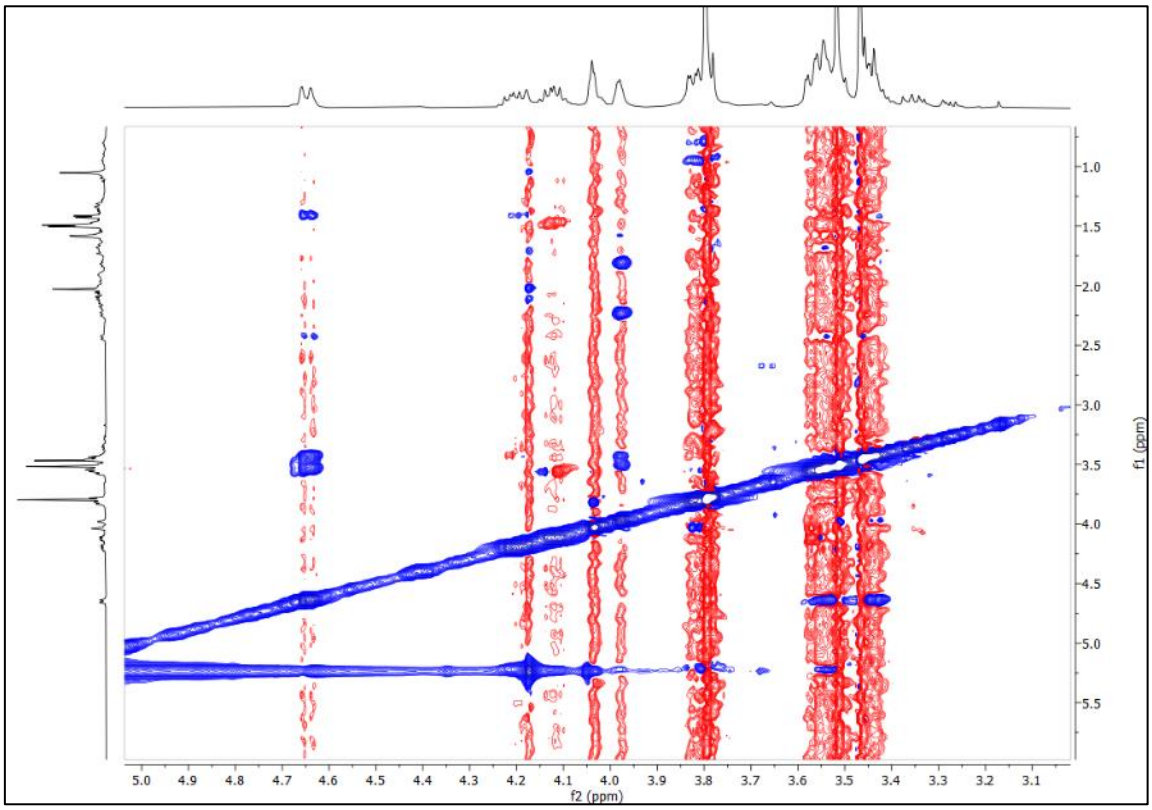


Figura S55. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 3,1-5,0 ppm

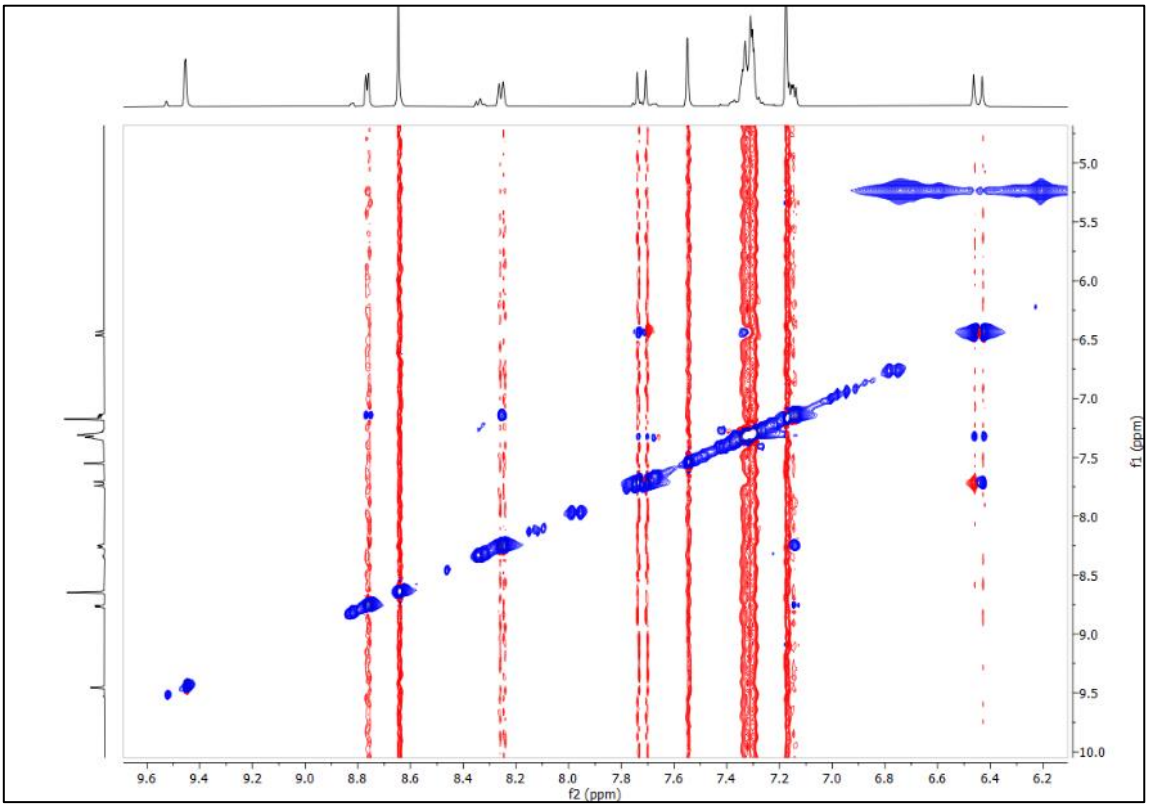


Figura S56. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 2 nas regiões de 5,0-10,0 ppm e 6,2-9,6 ppm

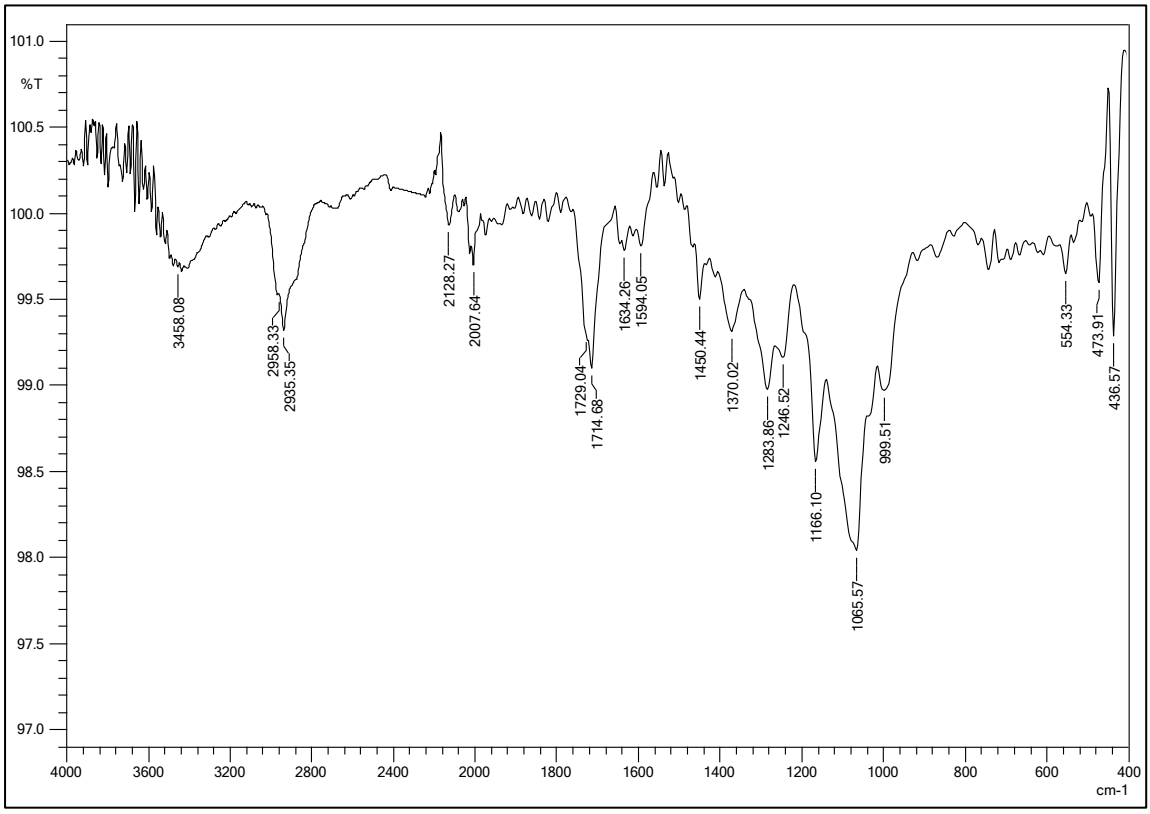


Figura S57. Espectro de infravermelho ATR do composto 3

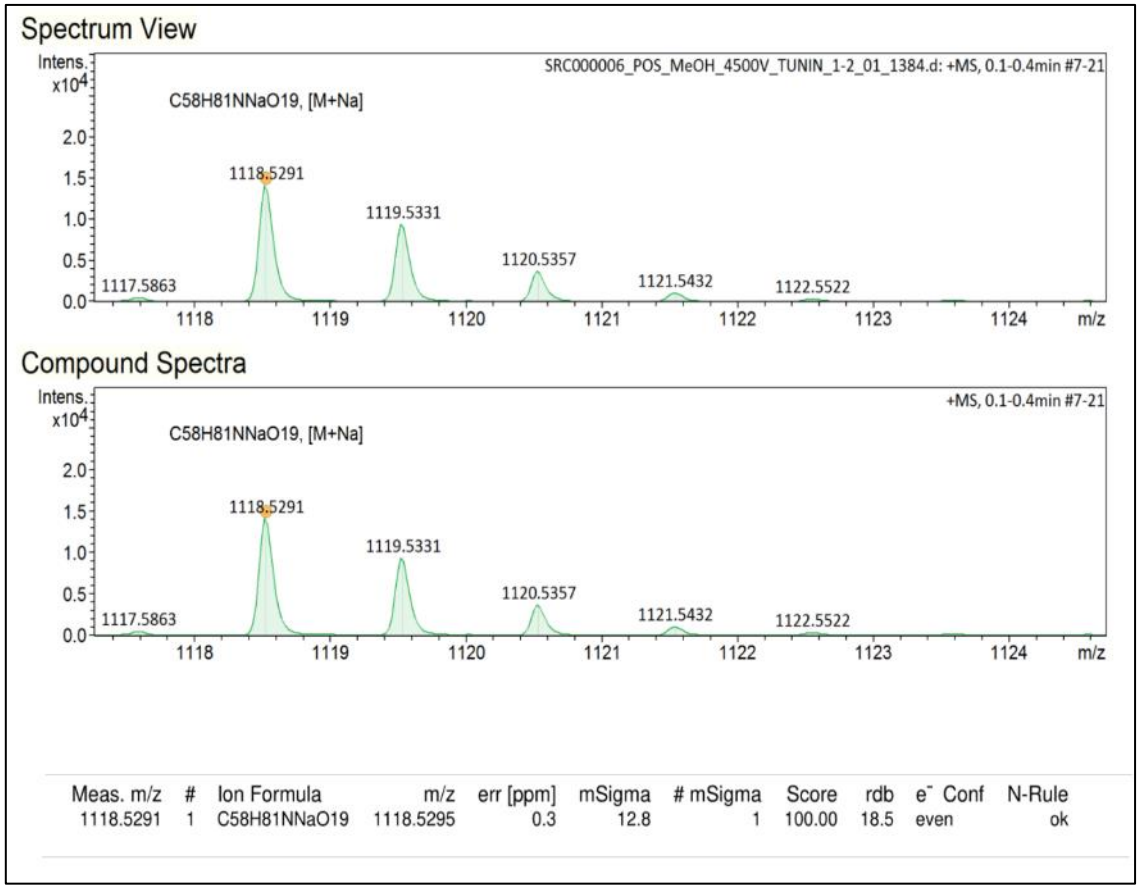


Figura S58. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 3

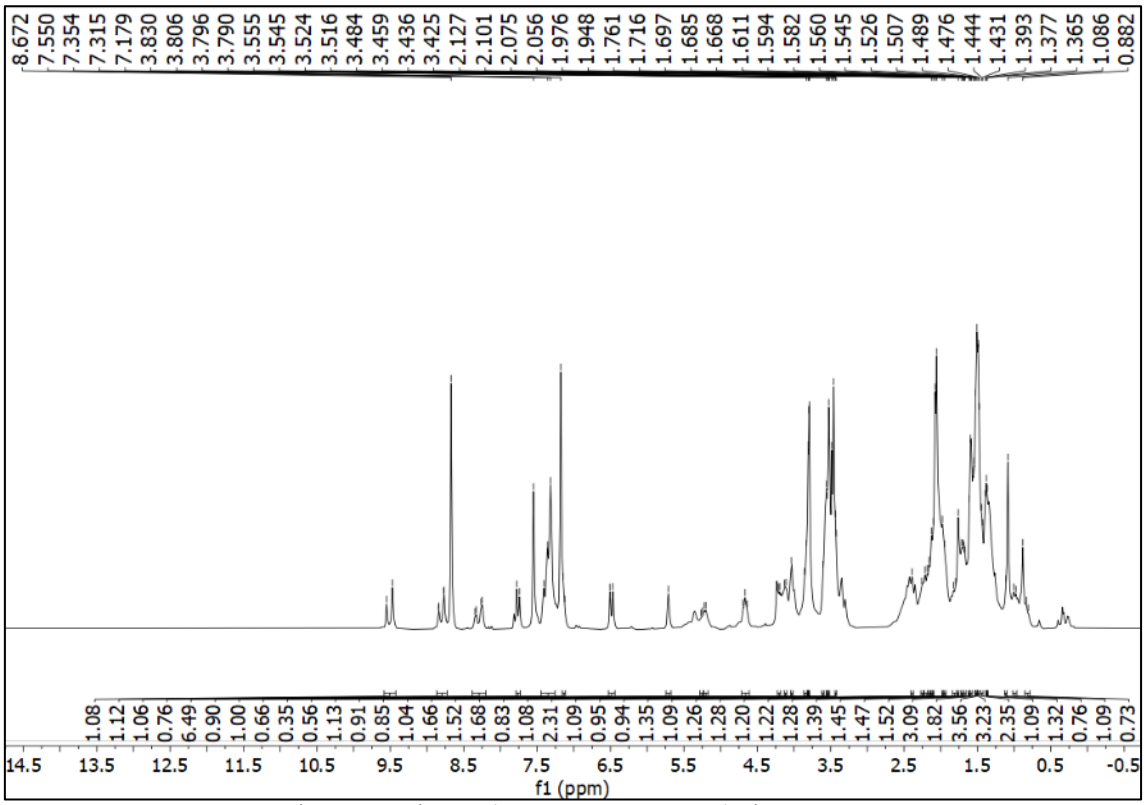


Figura S59. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 3

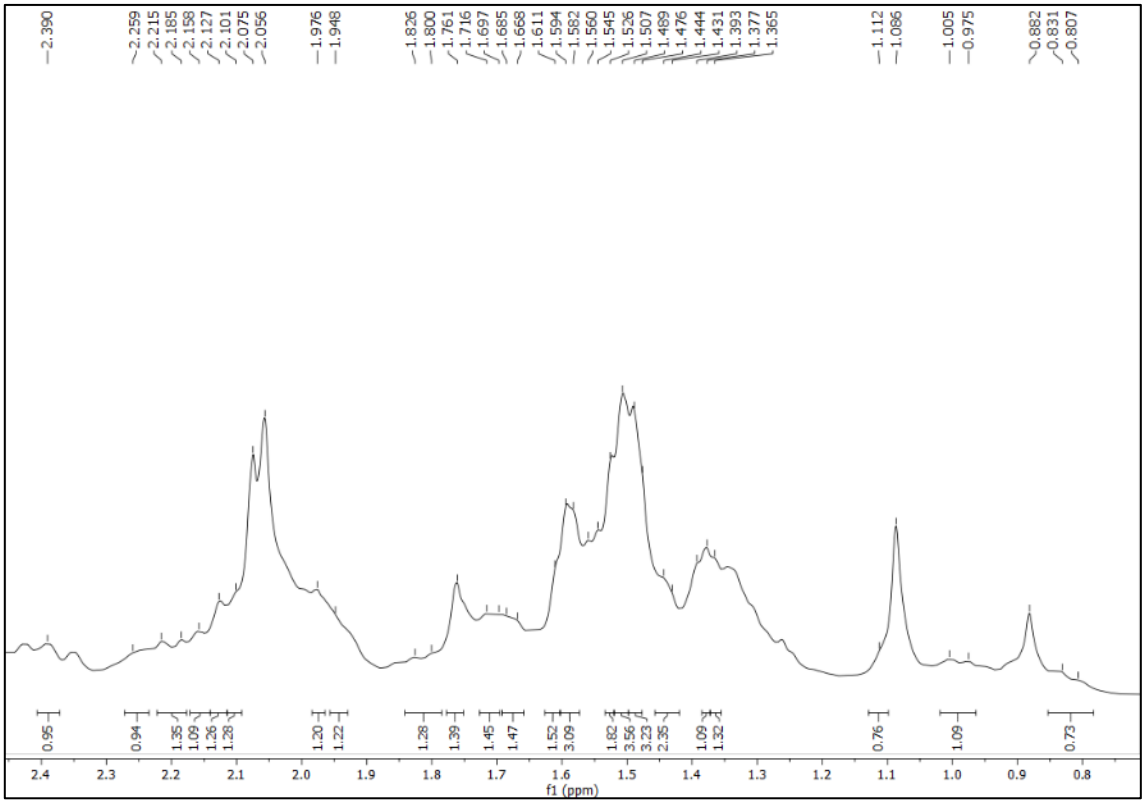


Figura S60. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 na região de 0,8-2,4 ppm

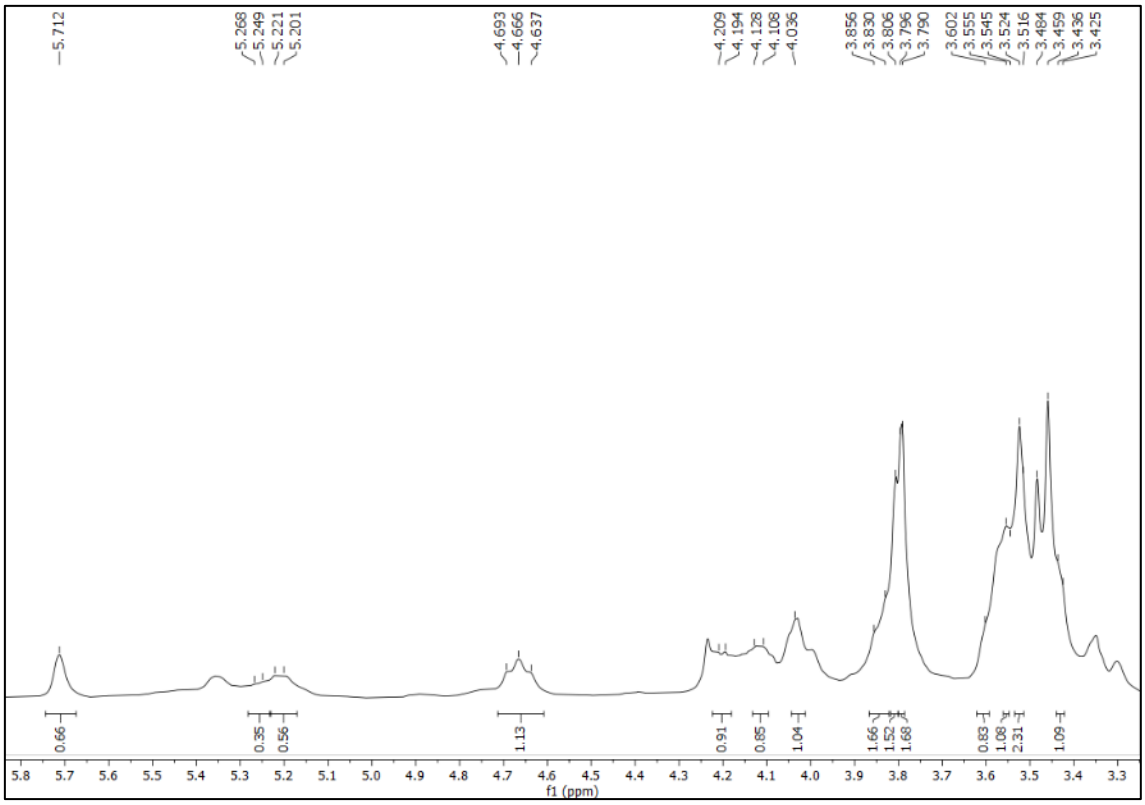


Figura S61. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 na região de 3,0-5,8 ppm

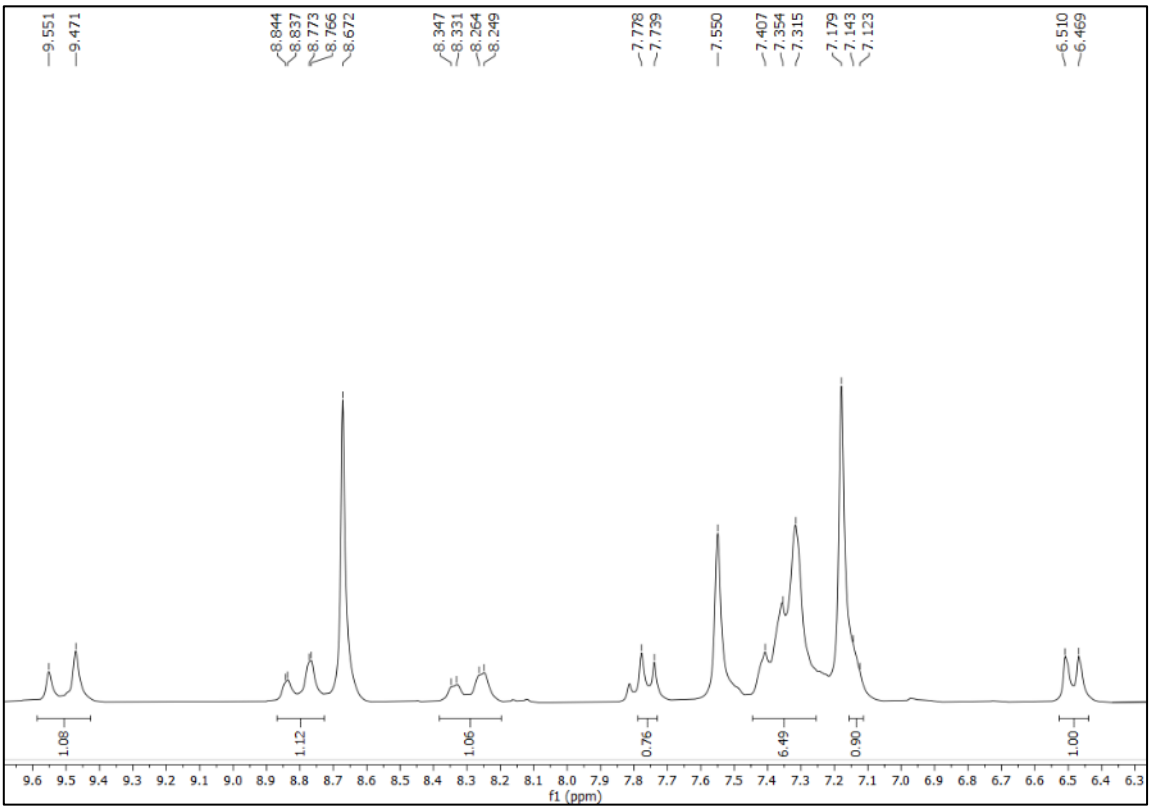


Figura S62. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 na região de 6,3-9,6 ppm

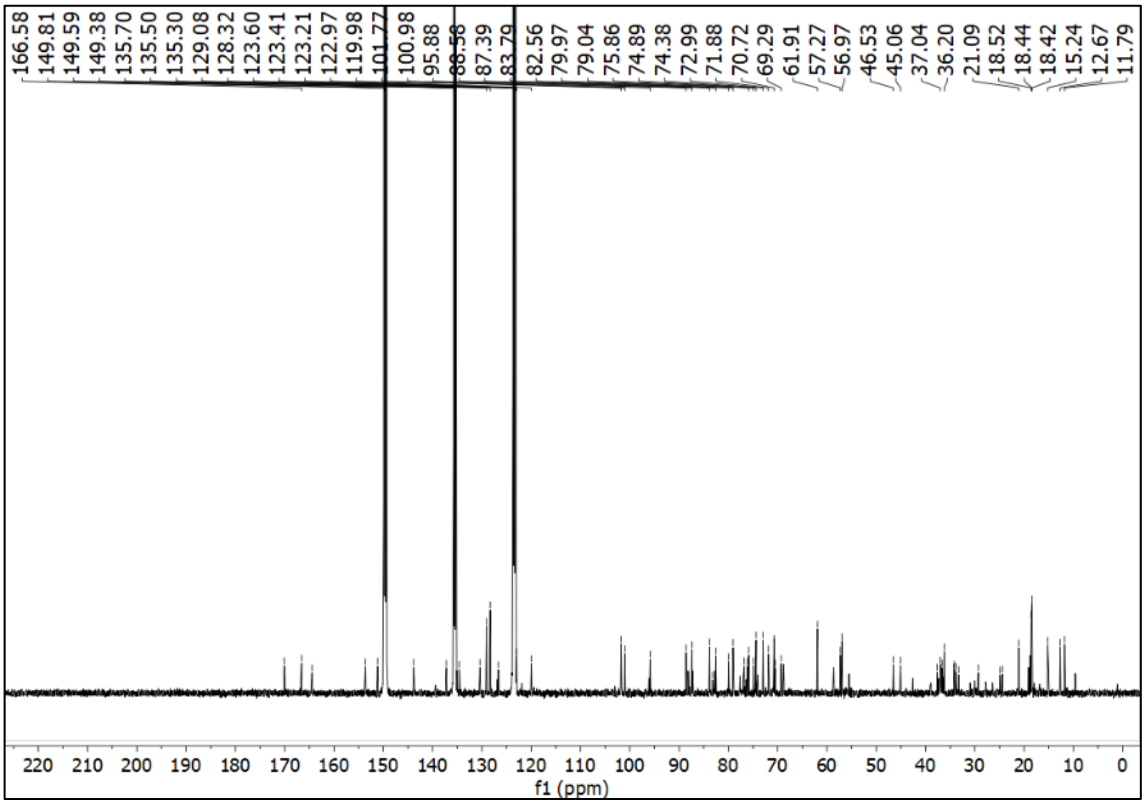


Figura S63. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 3

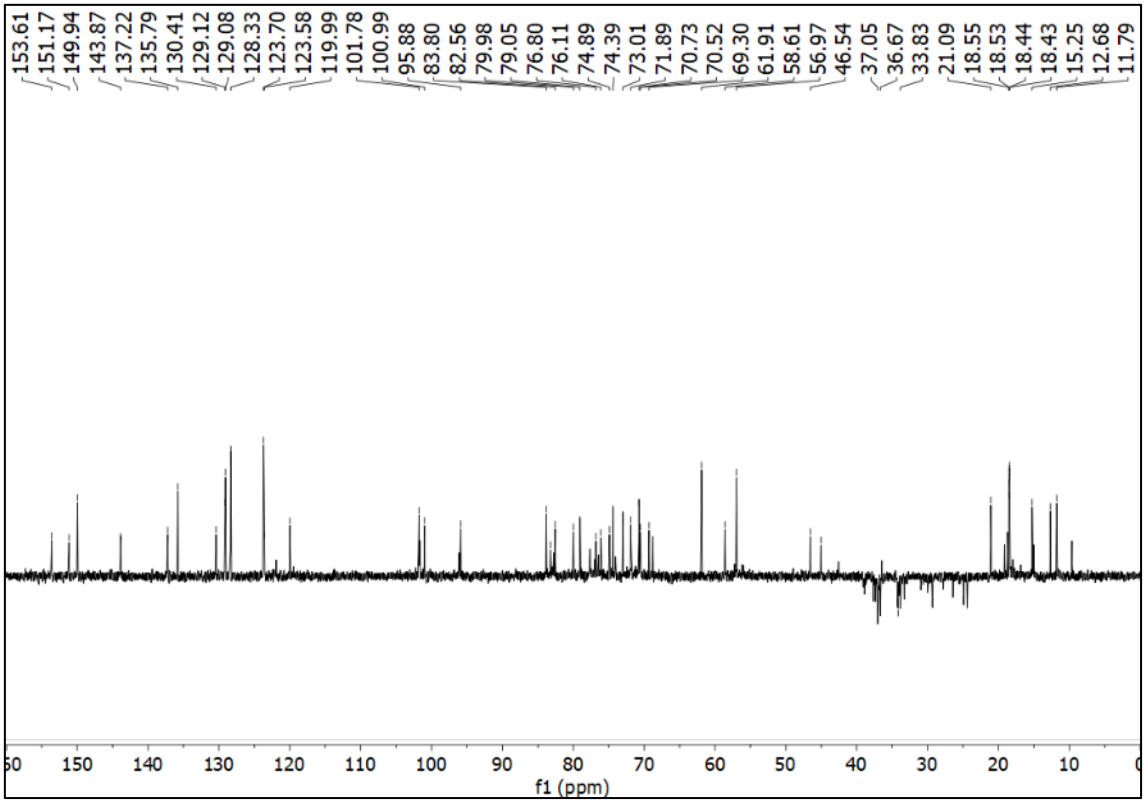


Figura S64. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 3

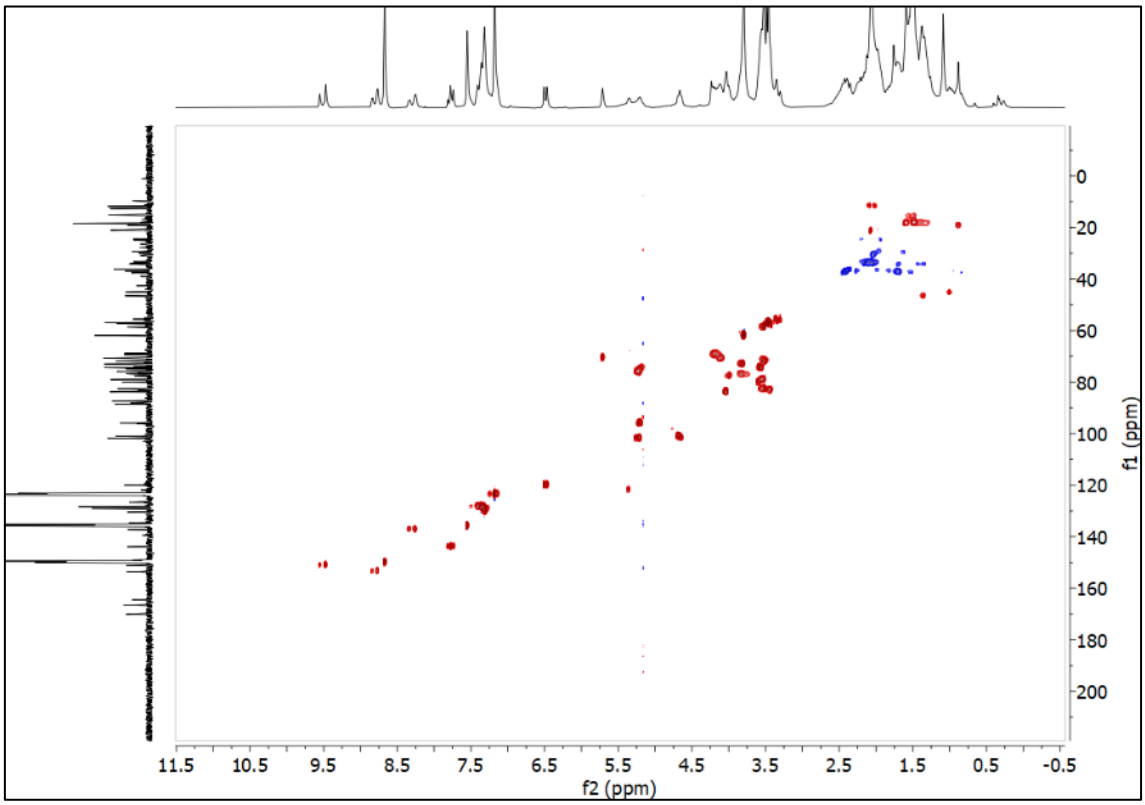


Figura S65. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3

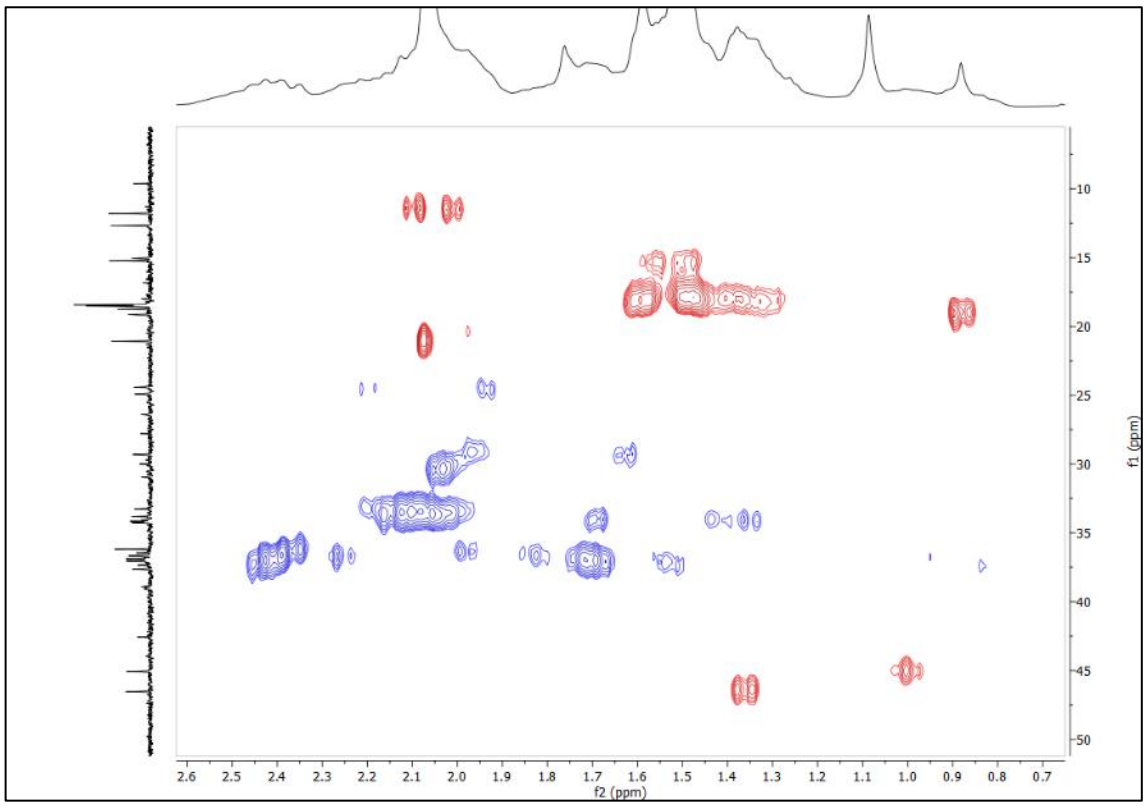


Figura S66. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 10-50 ppm e 0,7-2,6 ppm

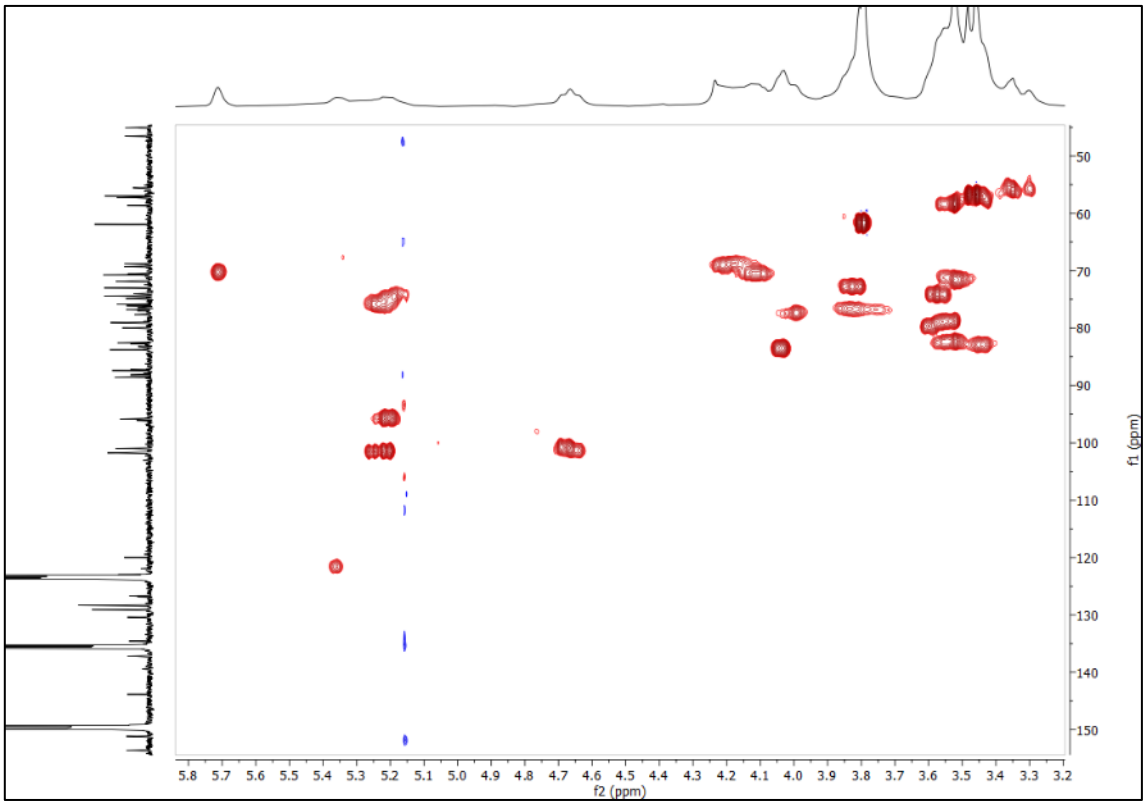


Figura S67. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 50-150 ppm e 3,2-5,8 ppm

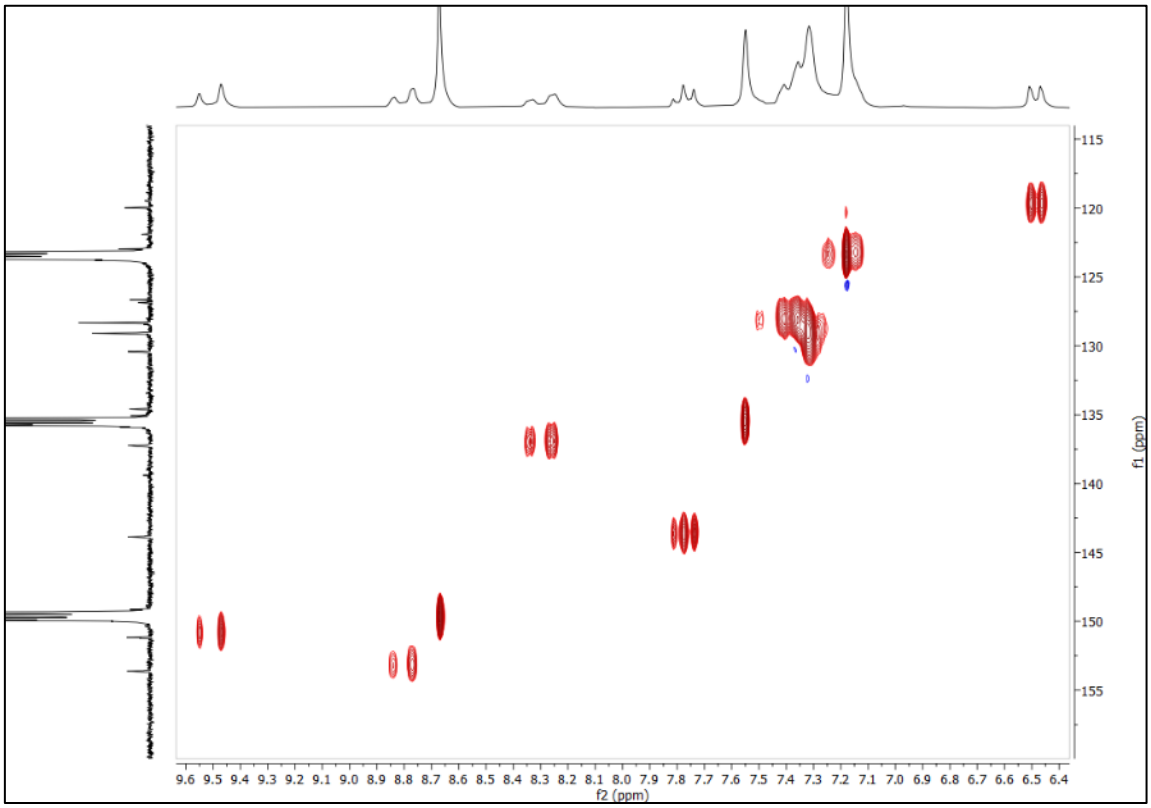


Figura S68. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 115-155 ppm e 6,4-9,6 ppm

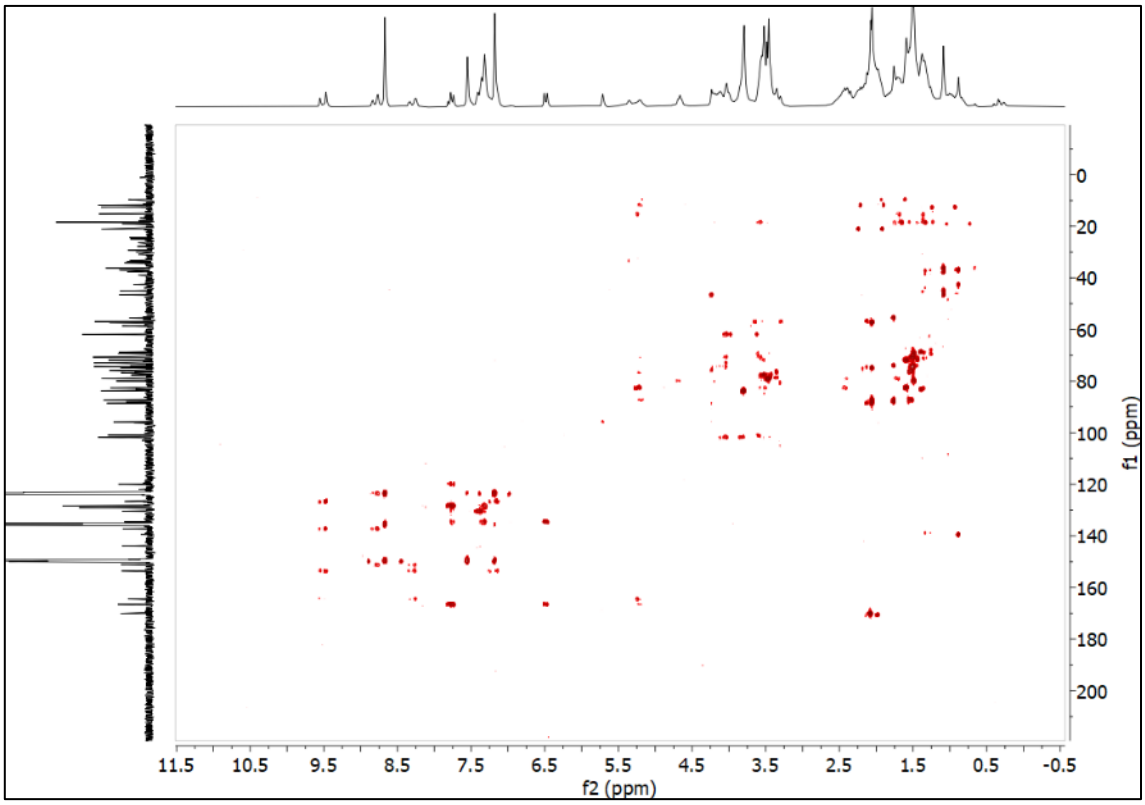


Figura S69. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3

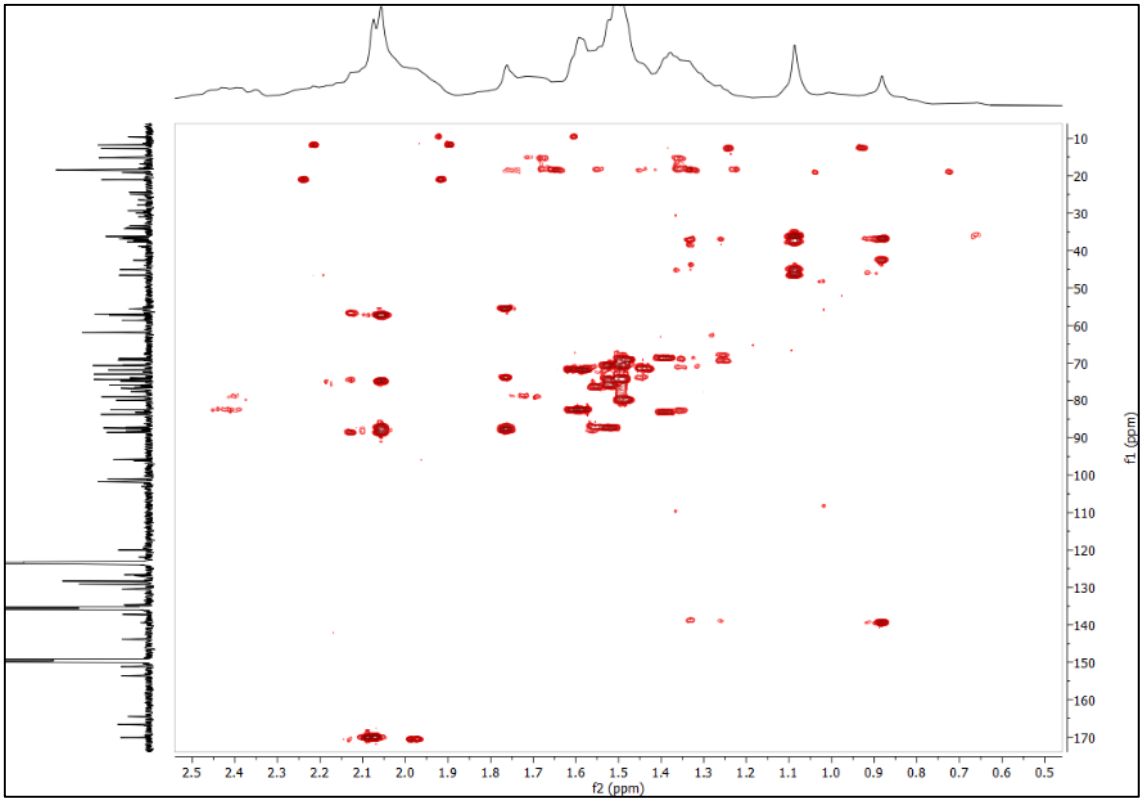


Figura S70. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 10-170 ppm e 0,5-2,5 ppm

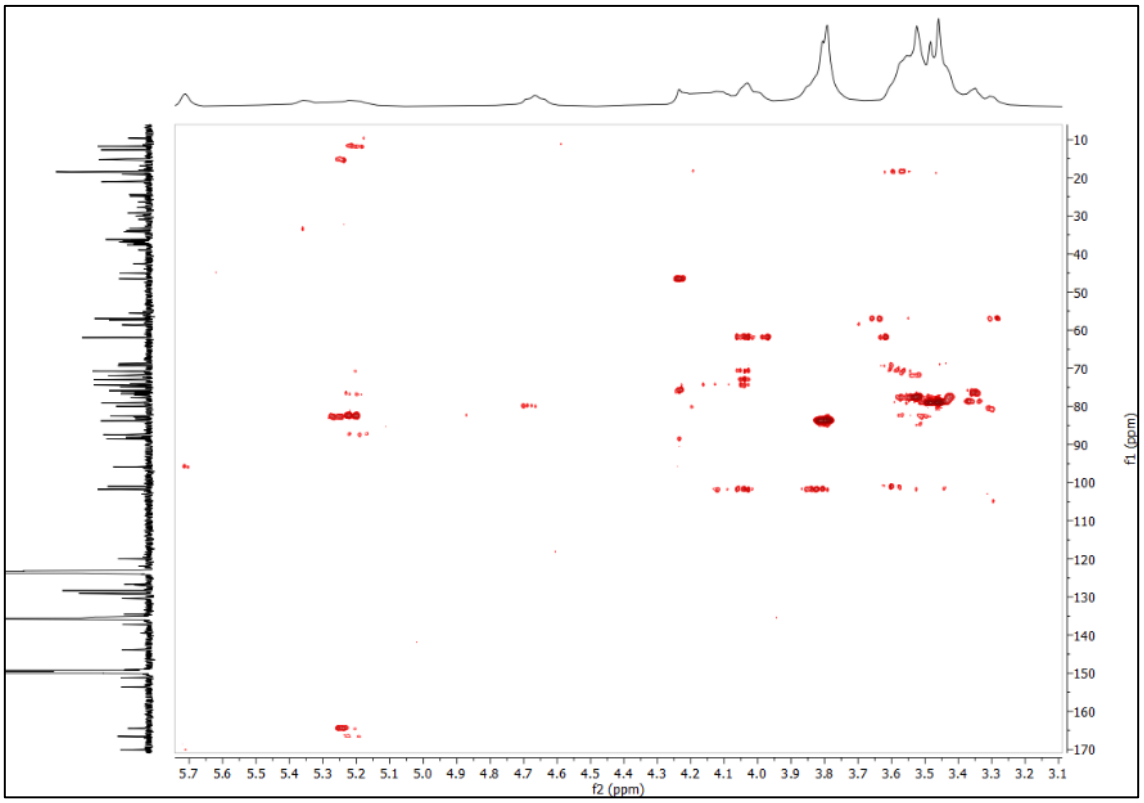


Figura S71. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,7 ppm

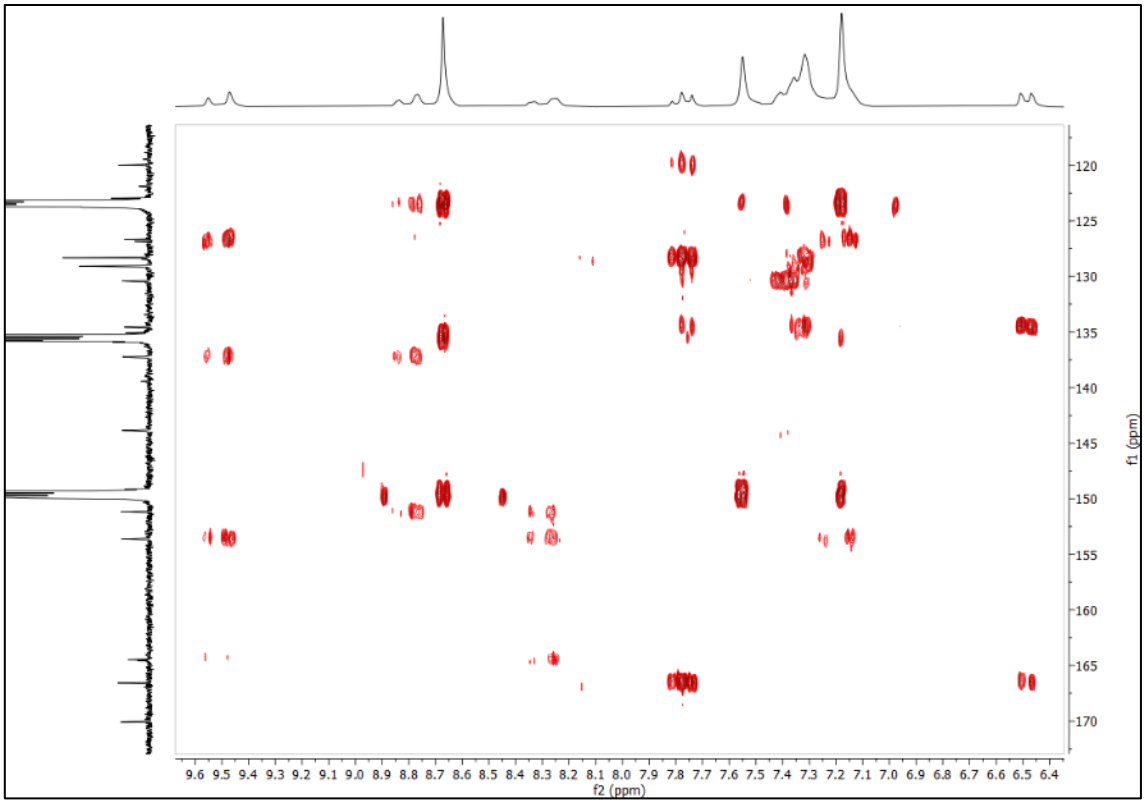


Figura S72. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 120-170 ppm e 6,4-9,6 ppm

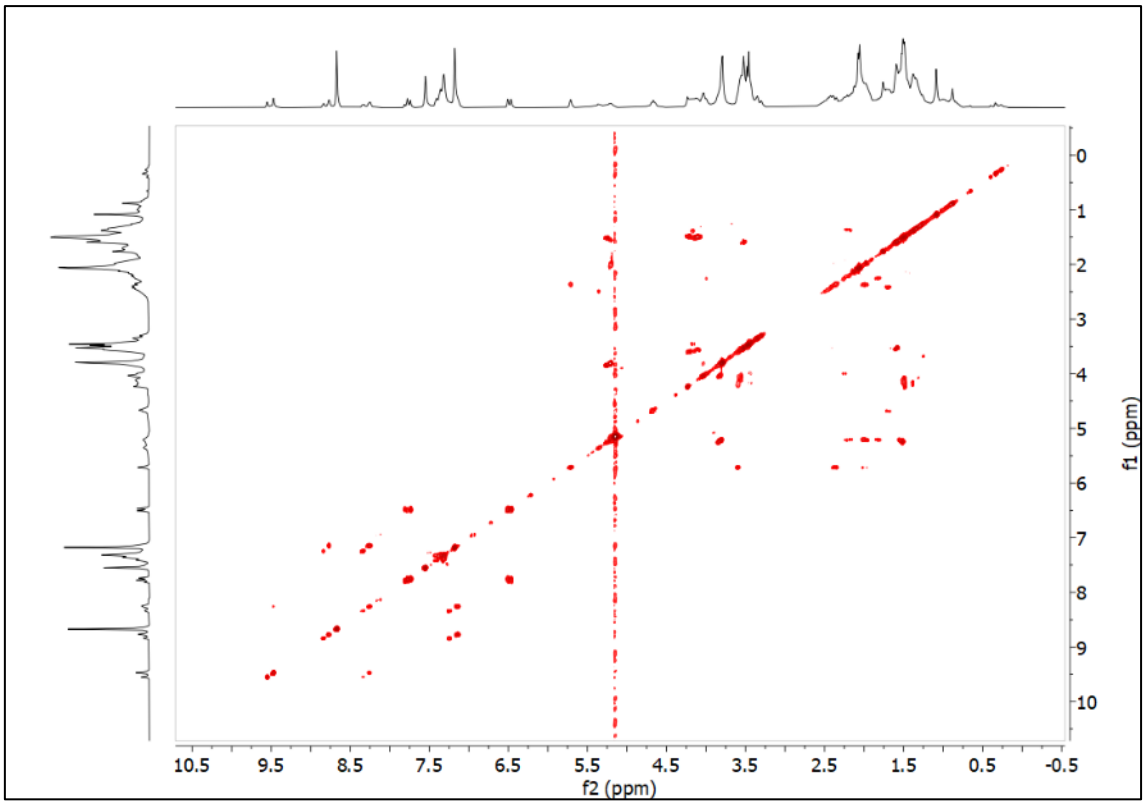


Figura S73. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3

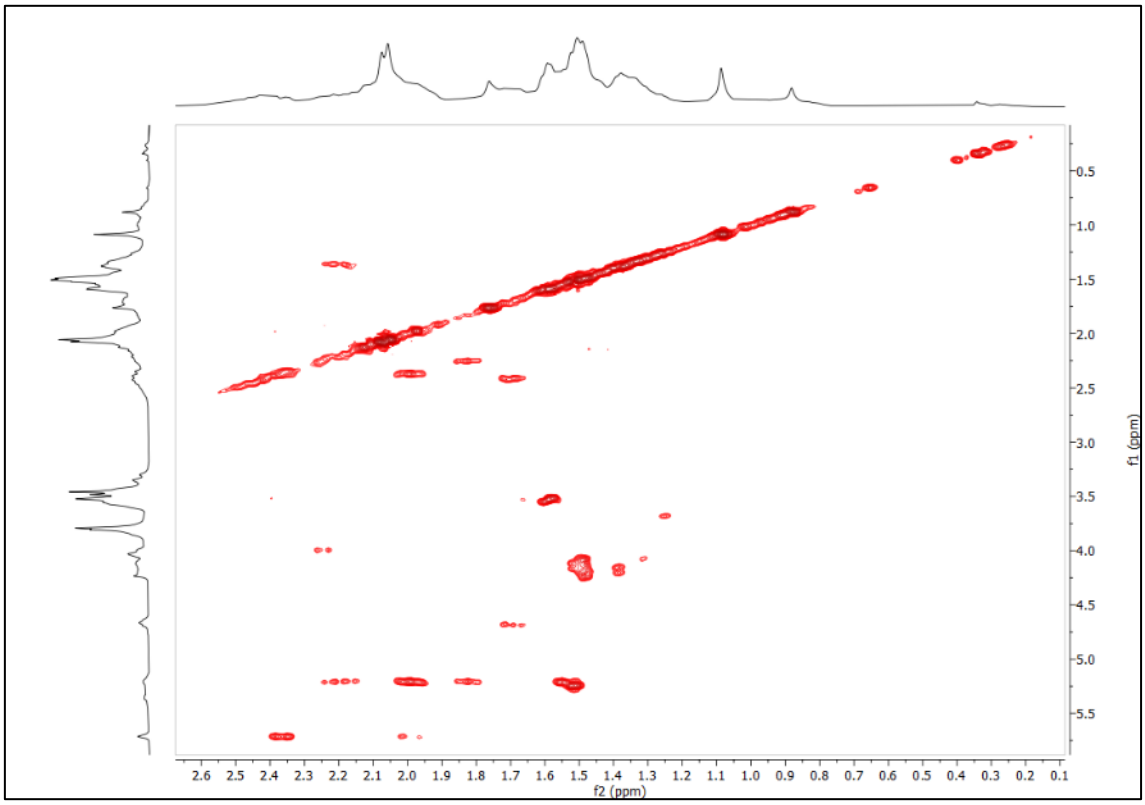


Figura S74. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,1-2,6 ppm

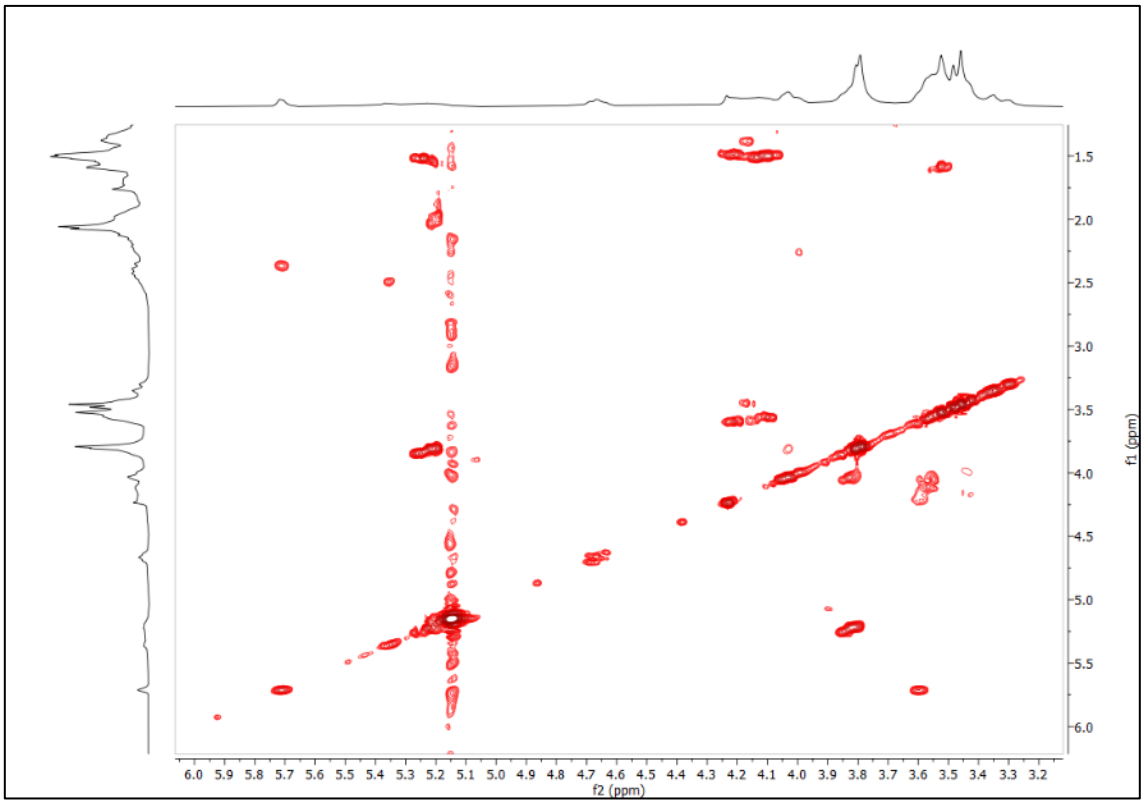


Figura S75. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,2-6,0 ppm

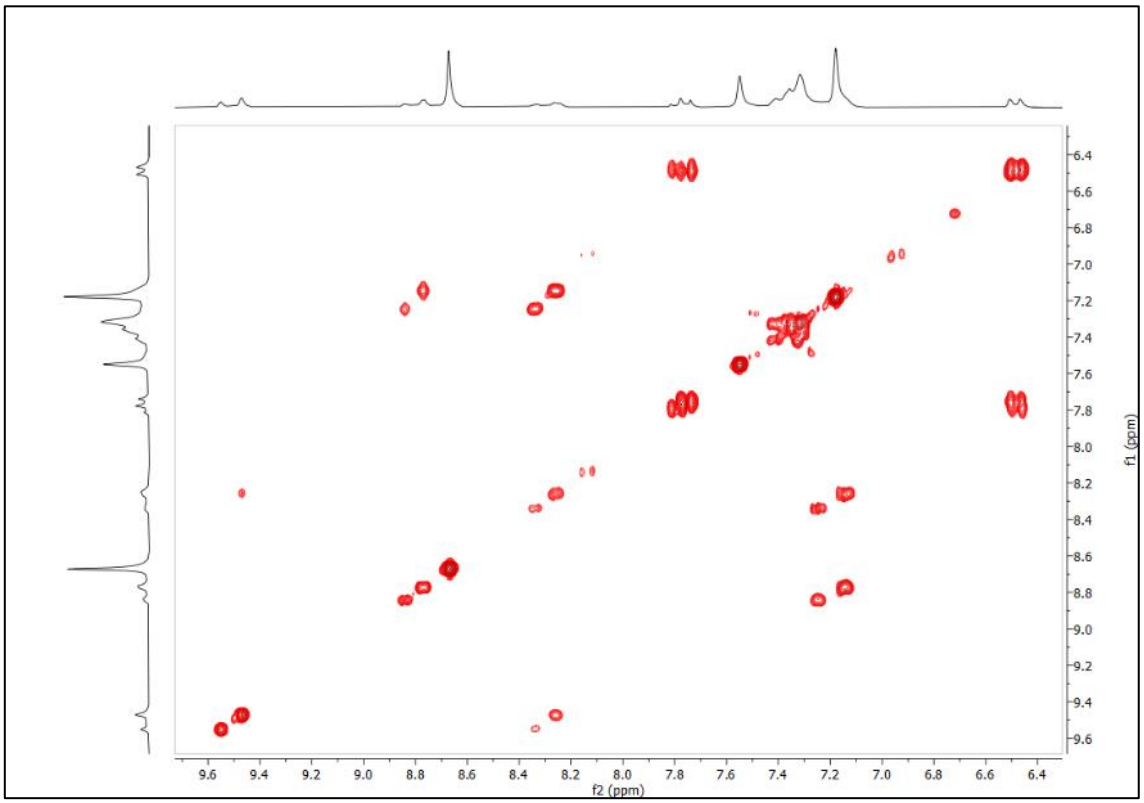


Figura S76. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 6,4-9,6 ppm e 6,4-9,6 ppm

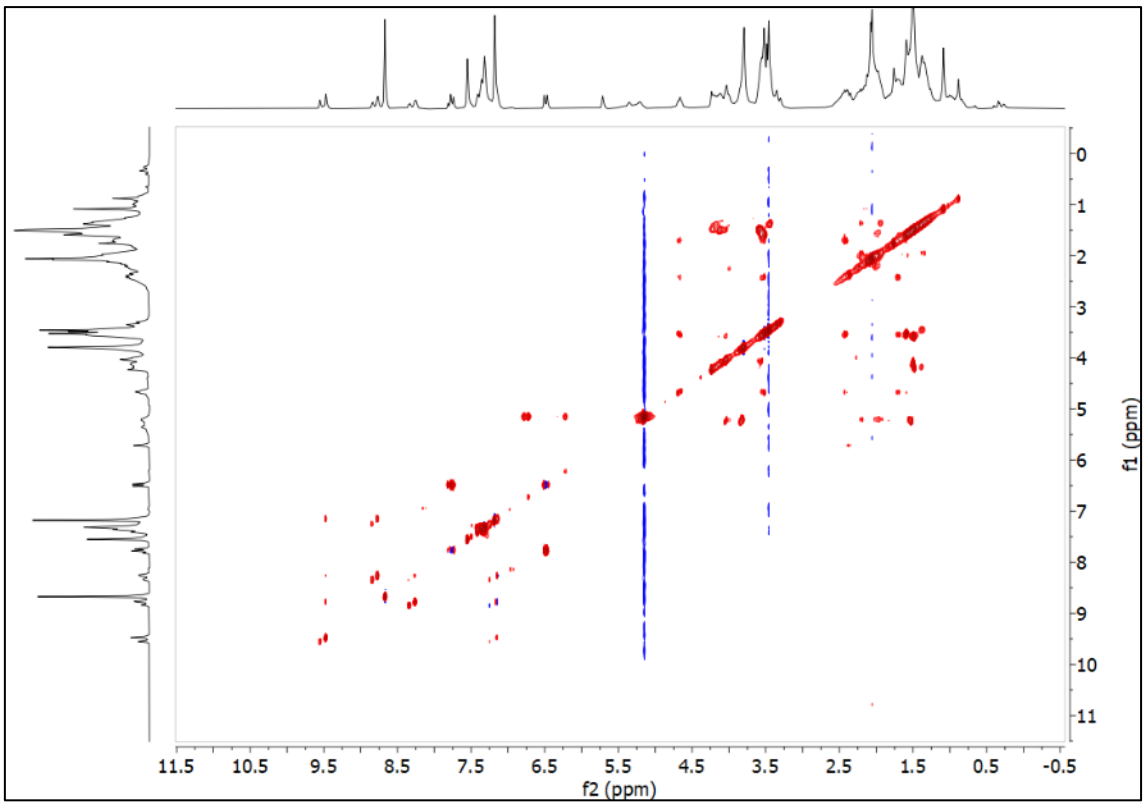


Figura S77. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3

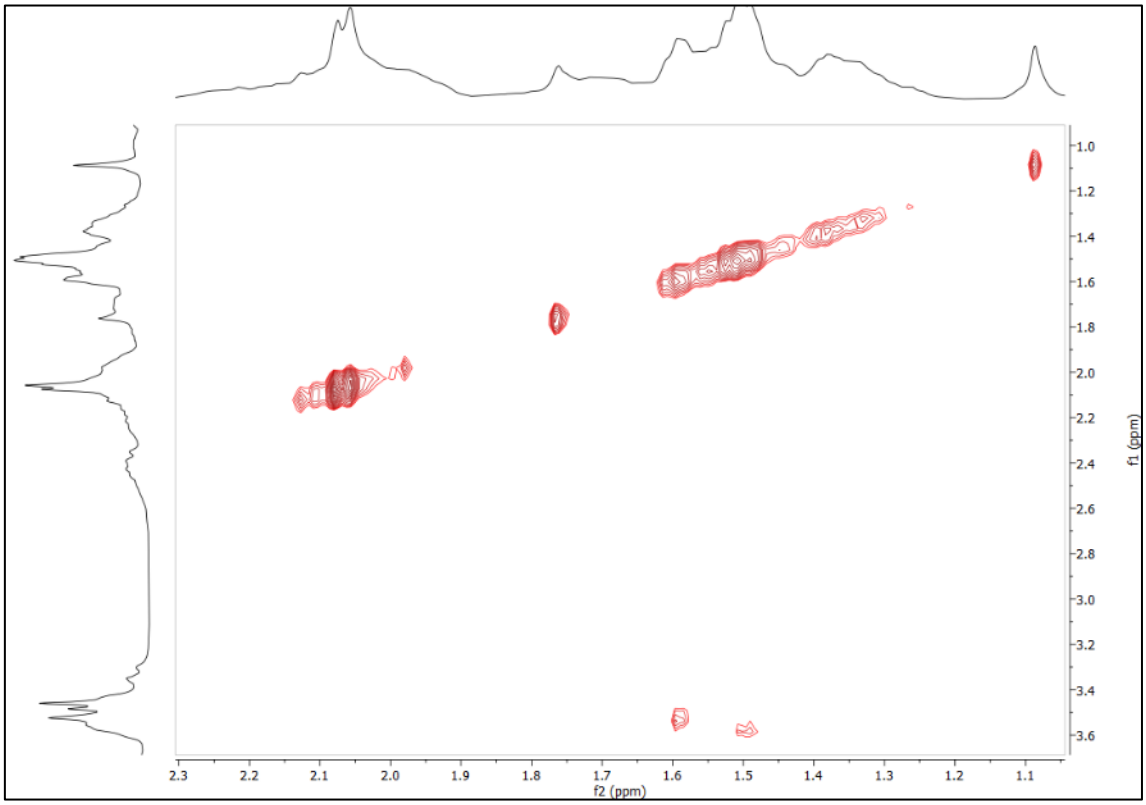


Figura S78. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 1,0-3,6 ppm e 0,2-2,5 ppm

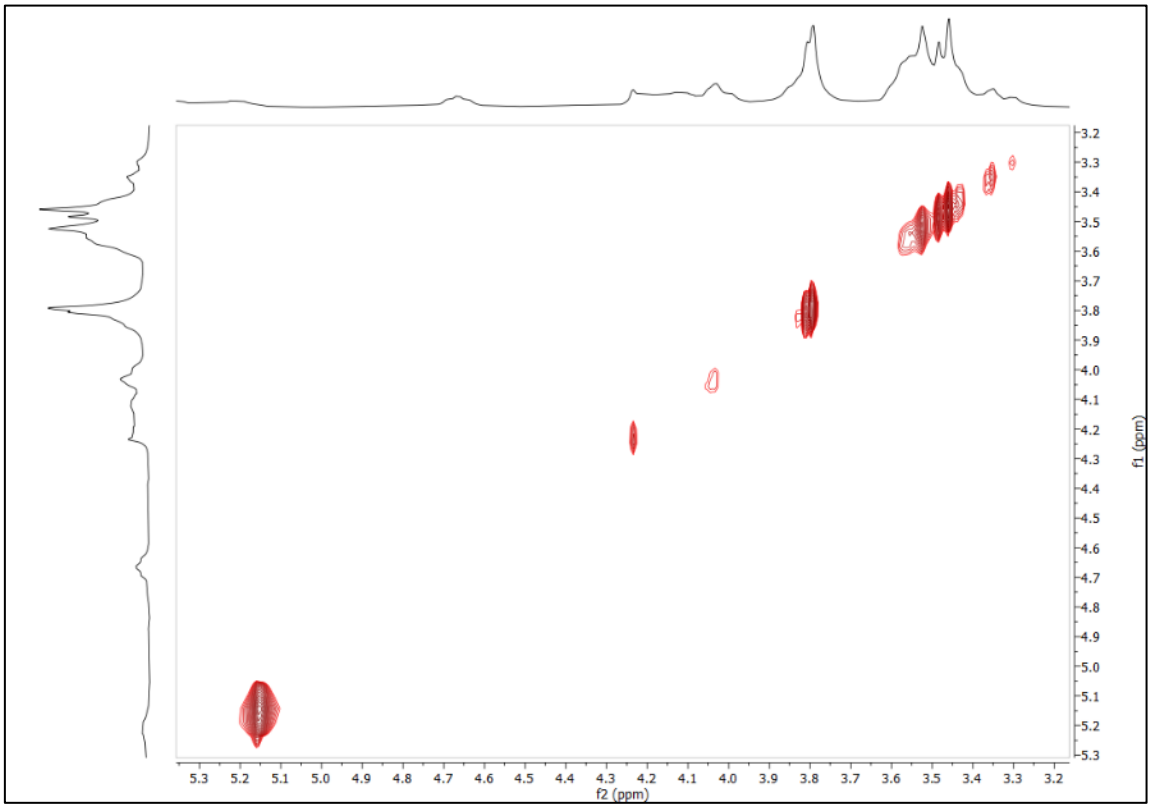


Figura S79. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 3,2-5,3 ppm e 3,2-5,3 ppm

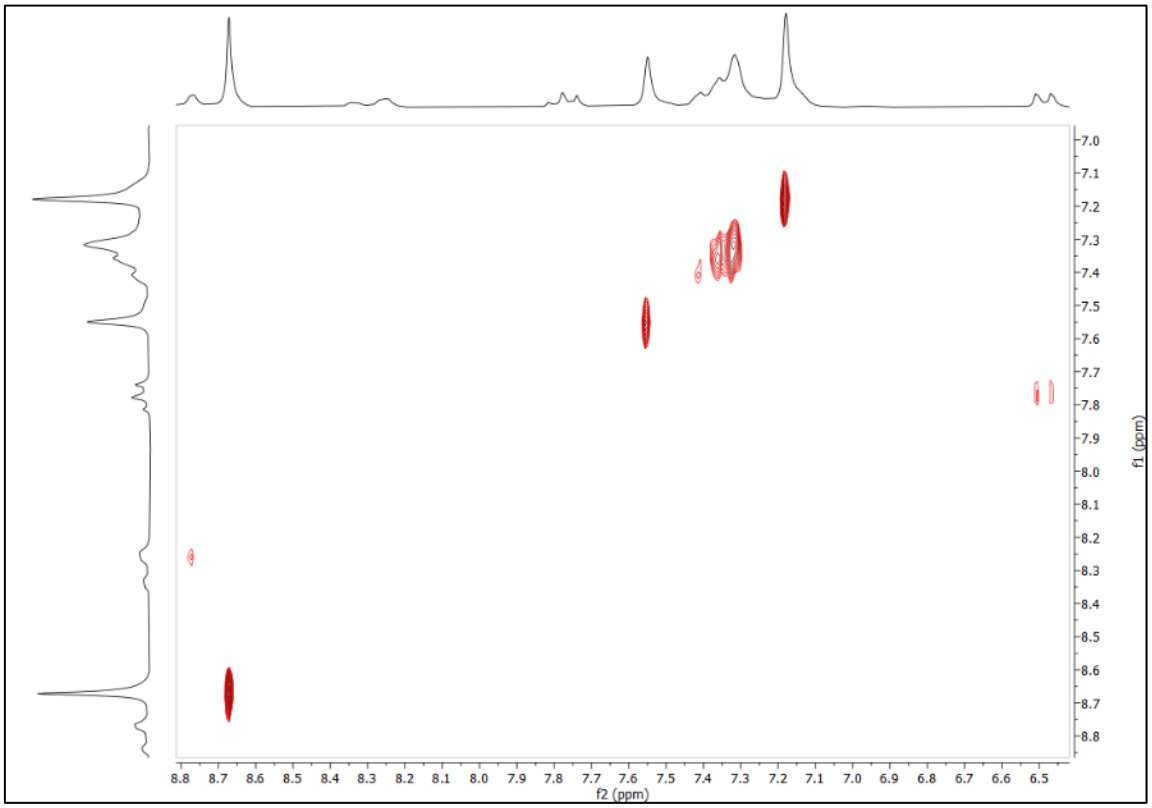


Figura S80. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 7,0-8,8 ppm e 6,5-8,8 ppm

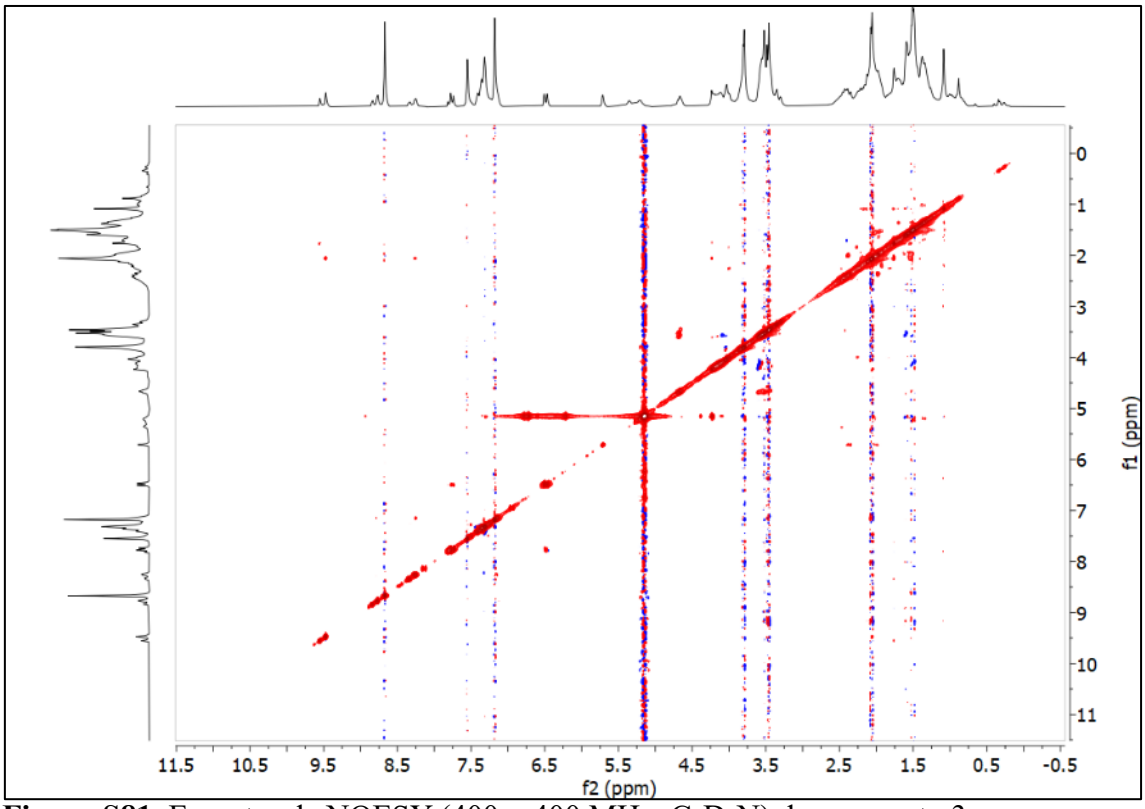


Figura S81. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3

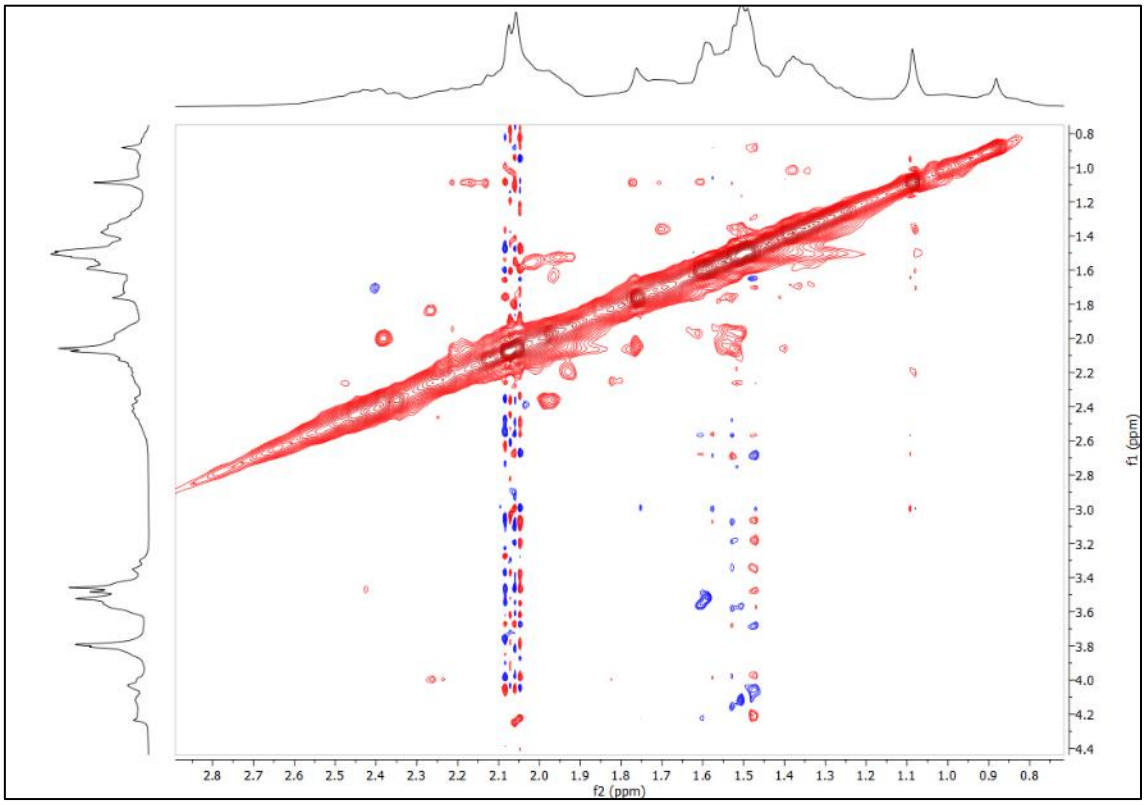


Figura S82. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 0,8-4,4 ppm e 0,8-2,8 ppm

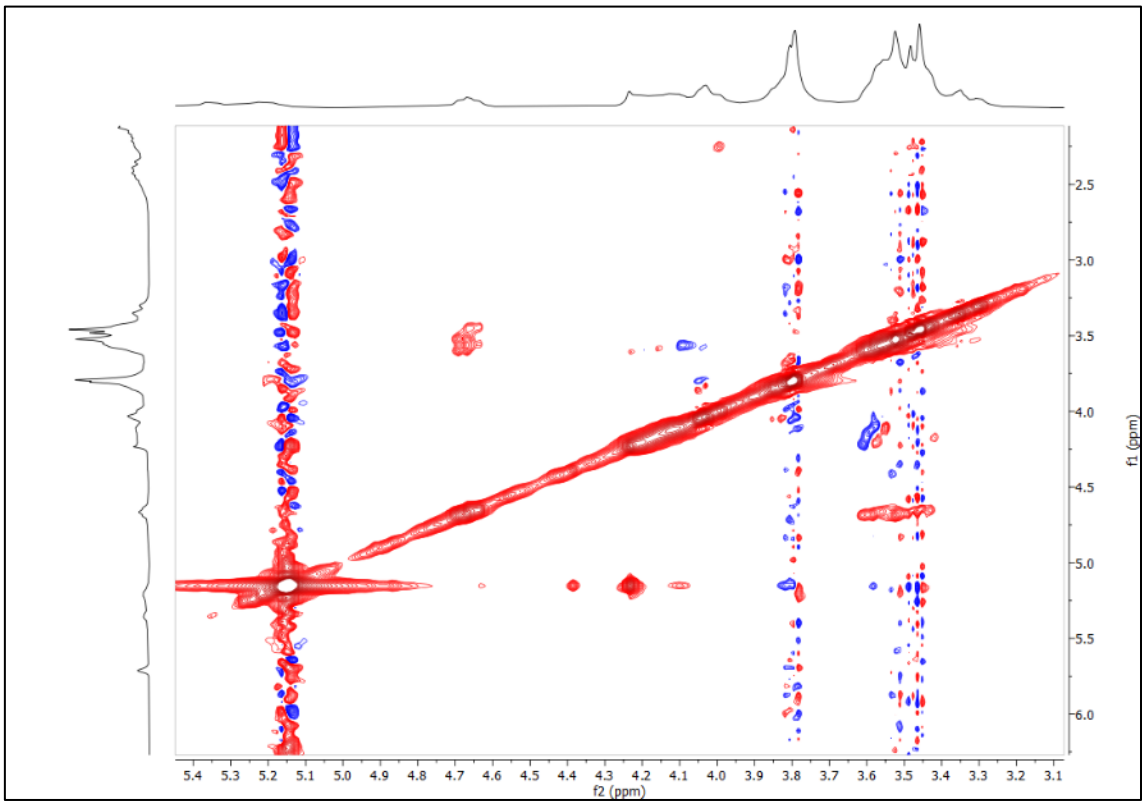


Figura S83. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 2,5-6,0 ppm e 3,1-5,4 ppm

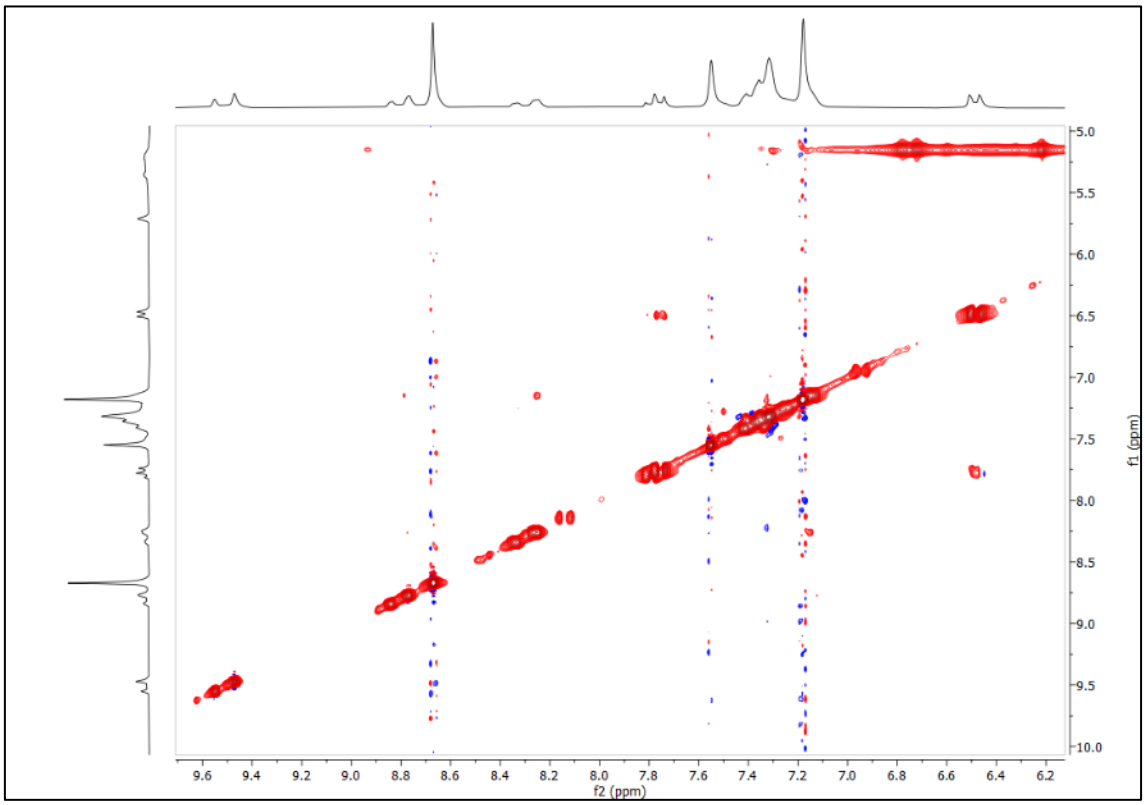


Figura S84. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 3 nas regiões de 5,0-10,0 ppm 6,2-9,6 ppm

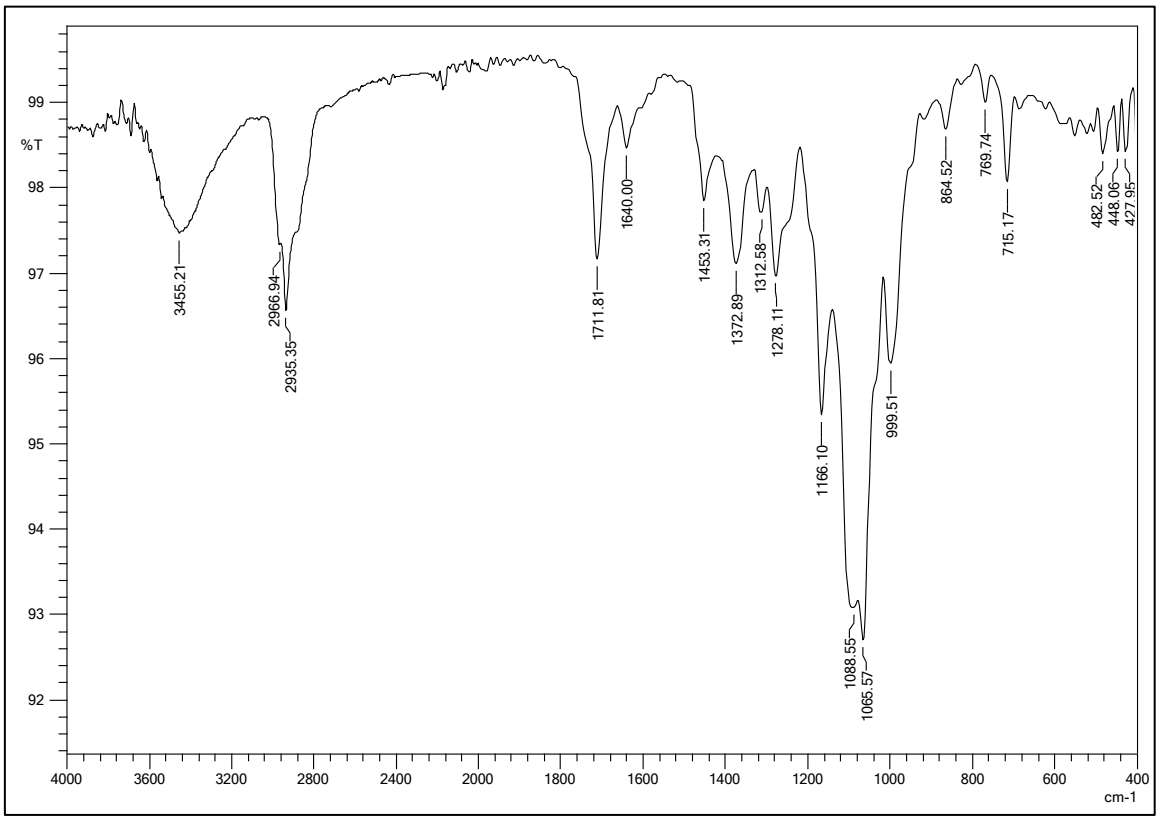


Figura S85. Espectro de infravermelho ATR do composto 4

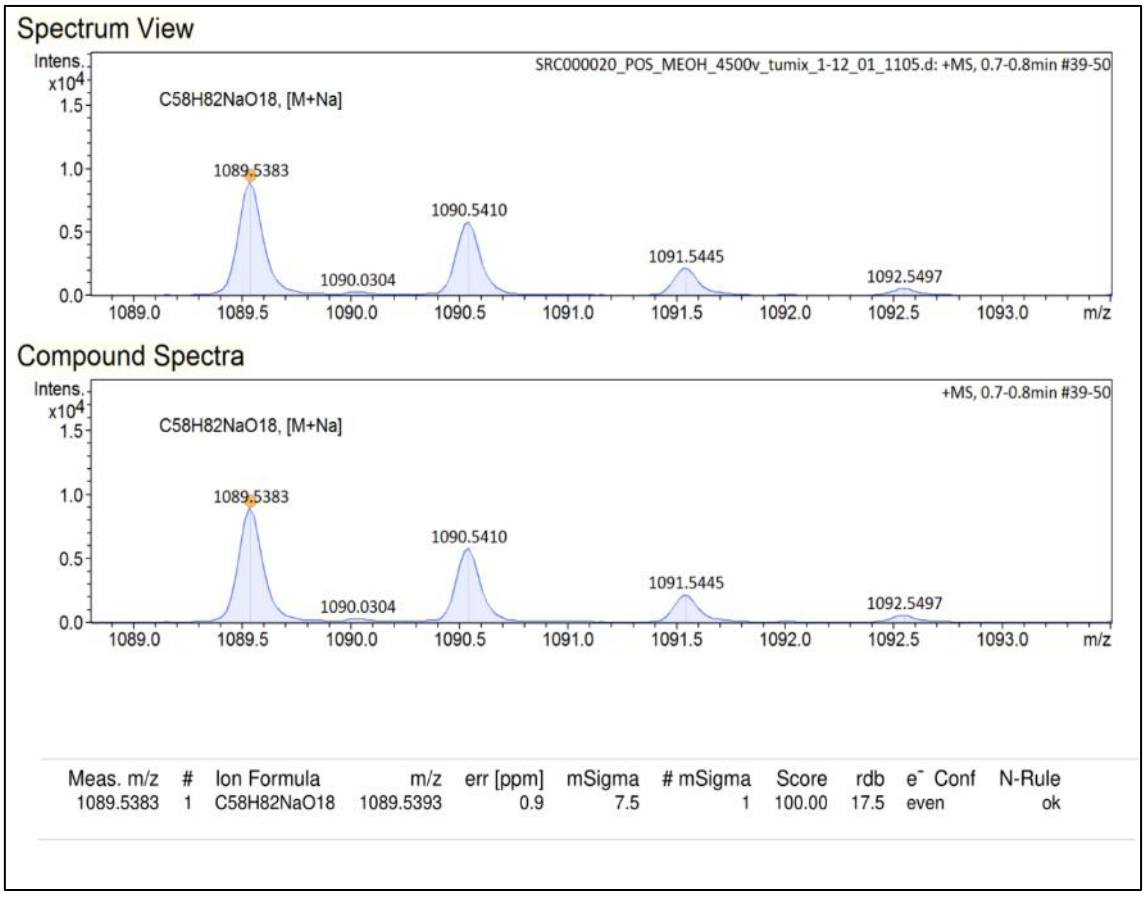


Figura S86. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 4

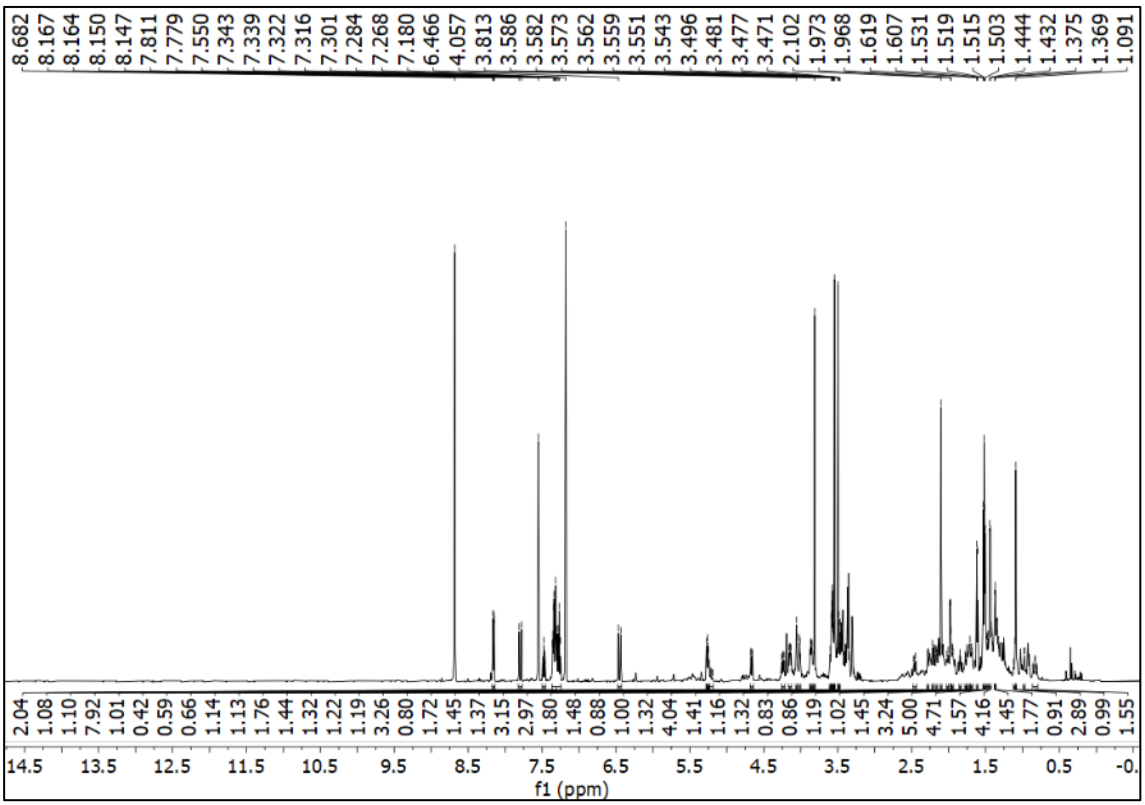


Figura S87. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 4

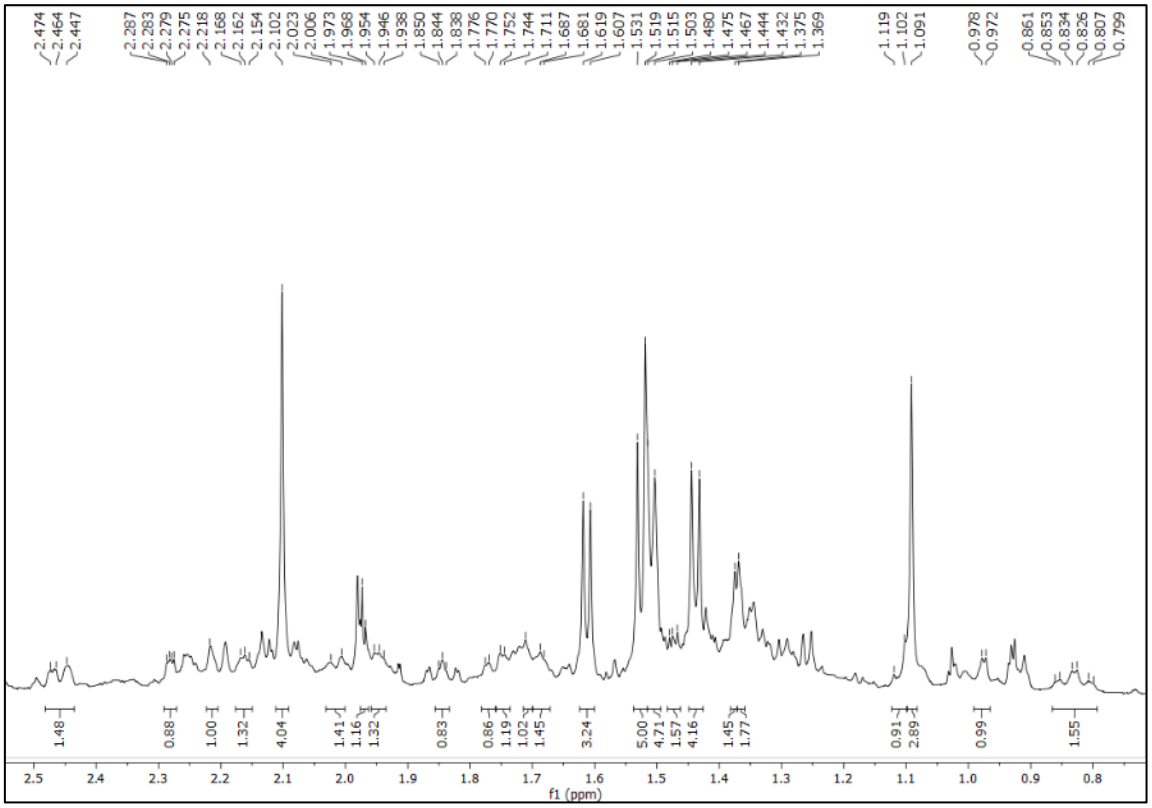


Figura S88. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 na região de 0,8-2,5 ppm

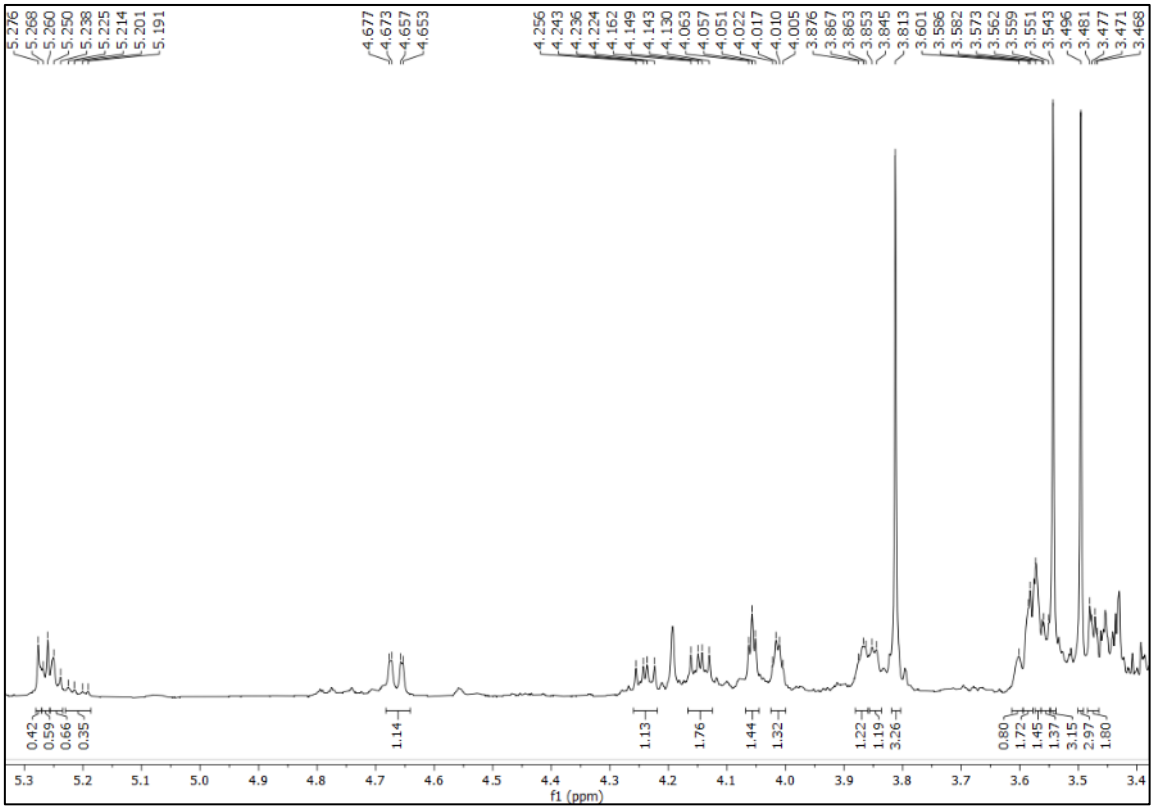


Figura S89. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 na região de 3,4-5,3 ppm

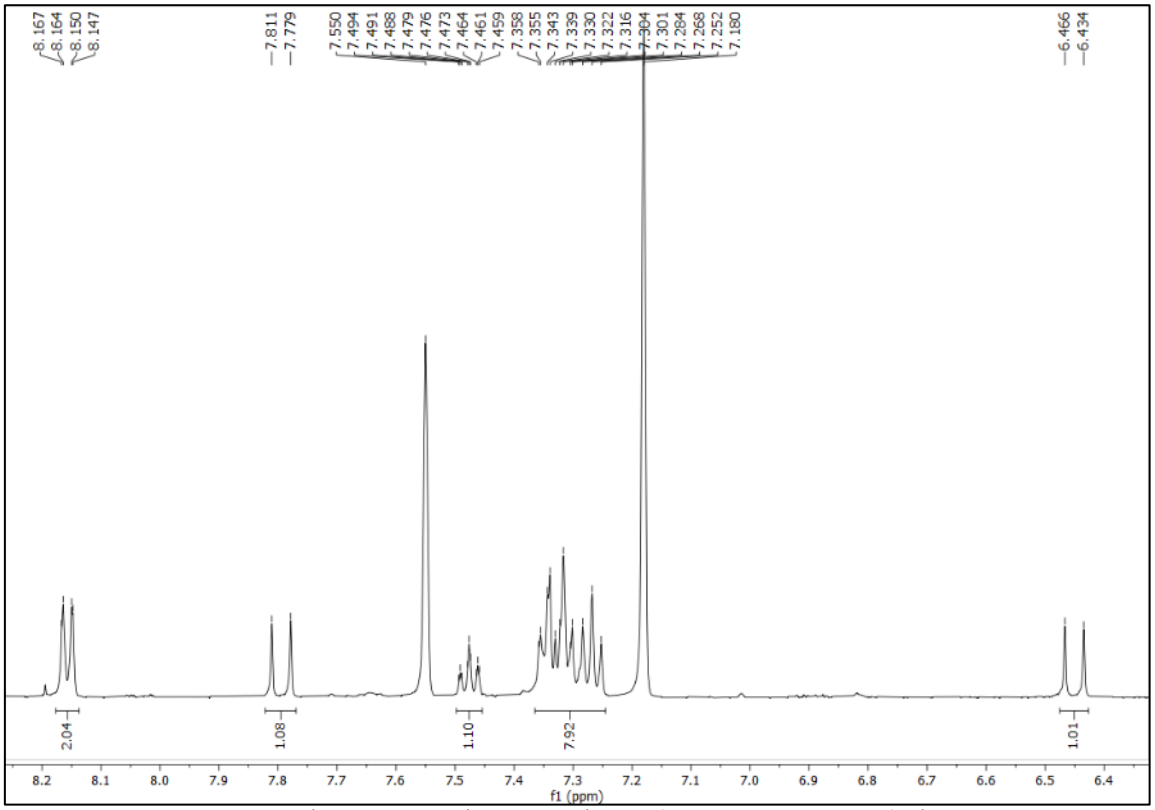


Figura S90. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 na região de 6,4-8,2 ppm

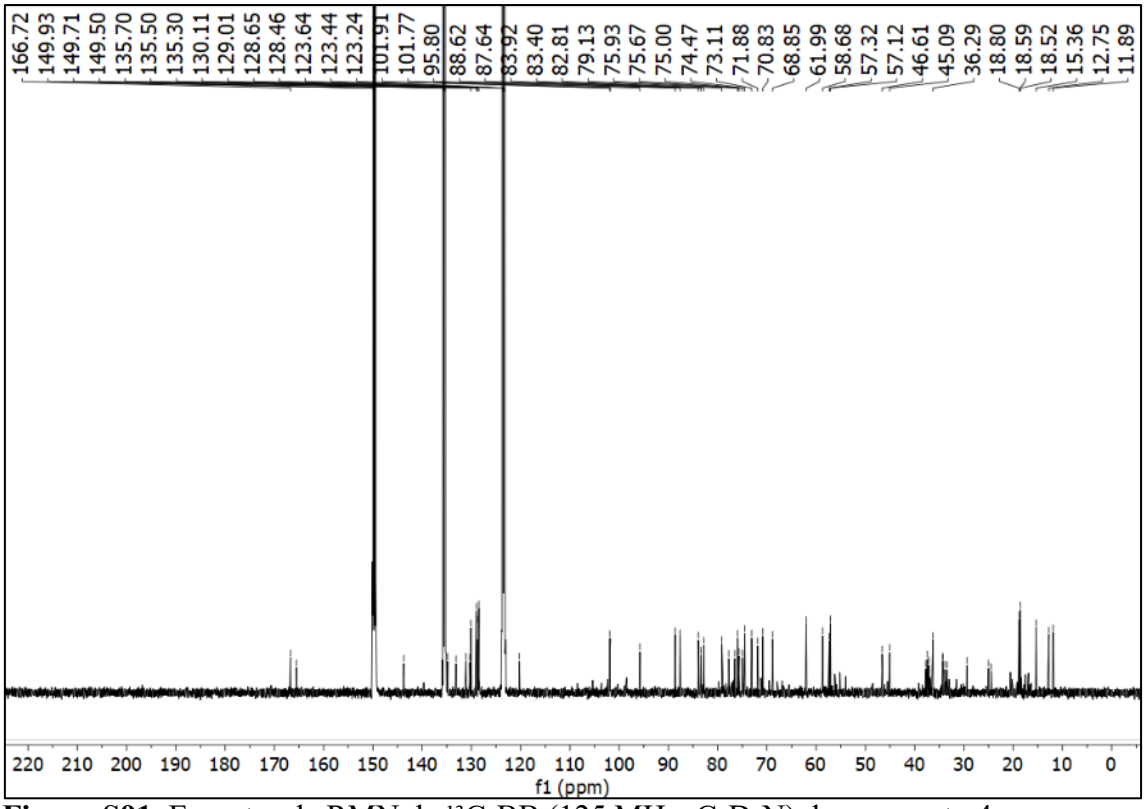


Figura S91. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 4

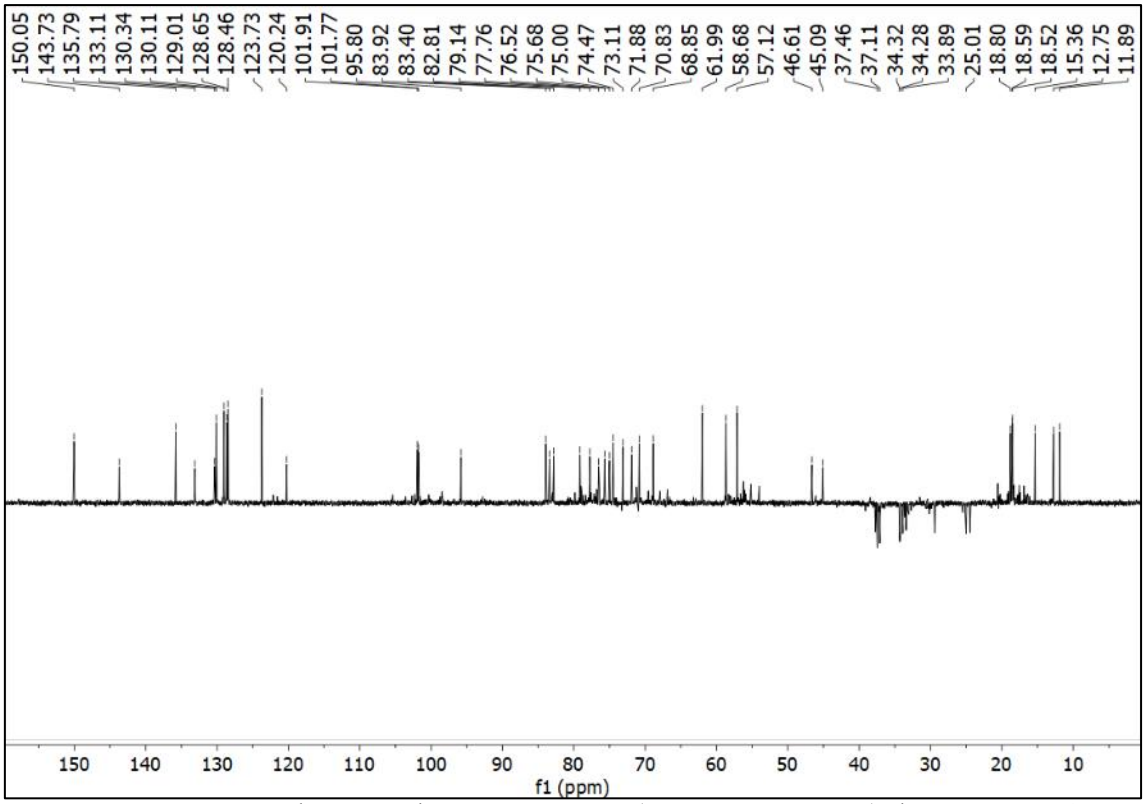


Figura S92. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 4

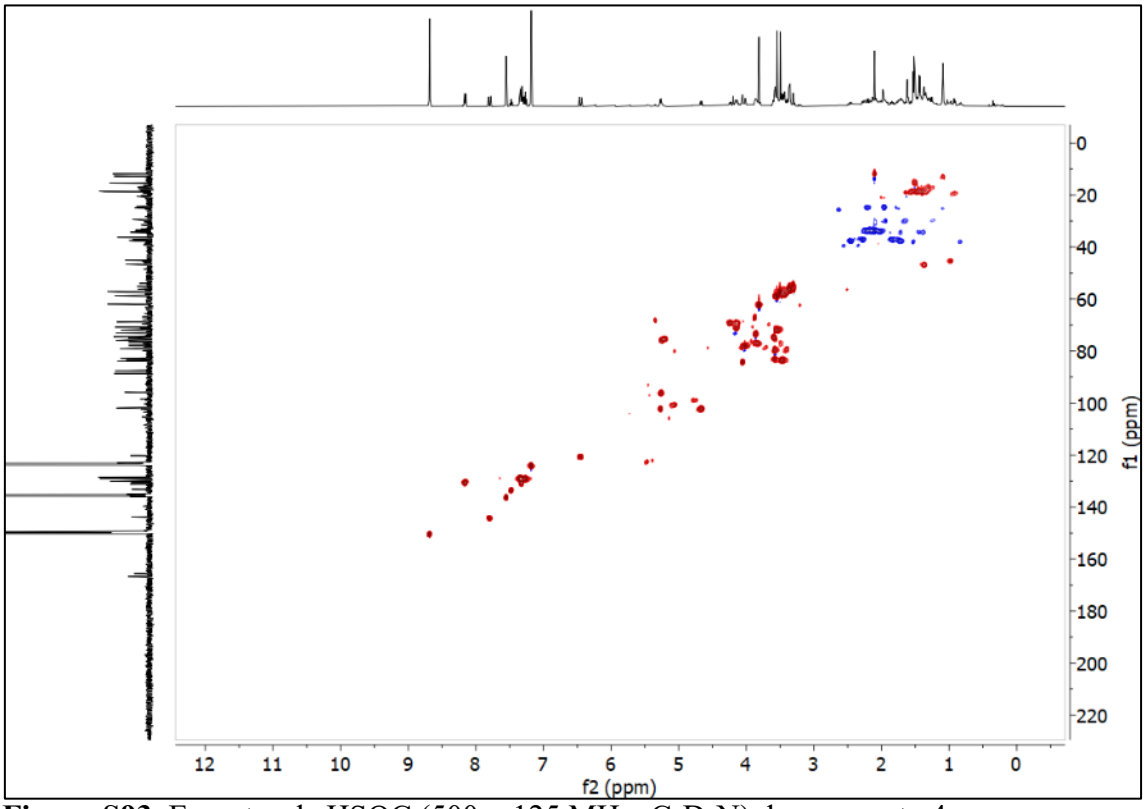


Figura S93. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4

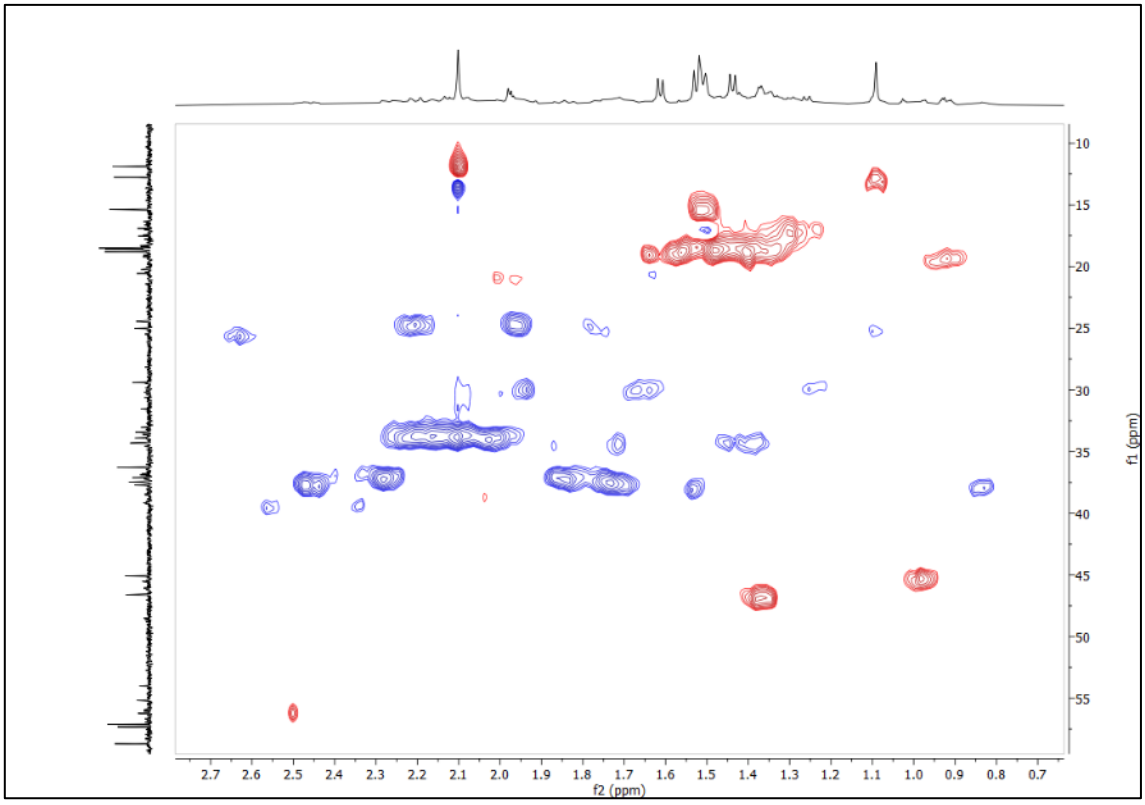


Figura S94. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 10-55 ppm e 0,7-5,7 ppm

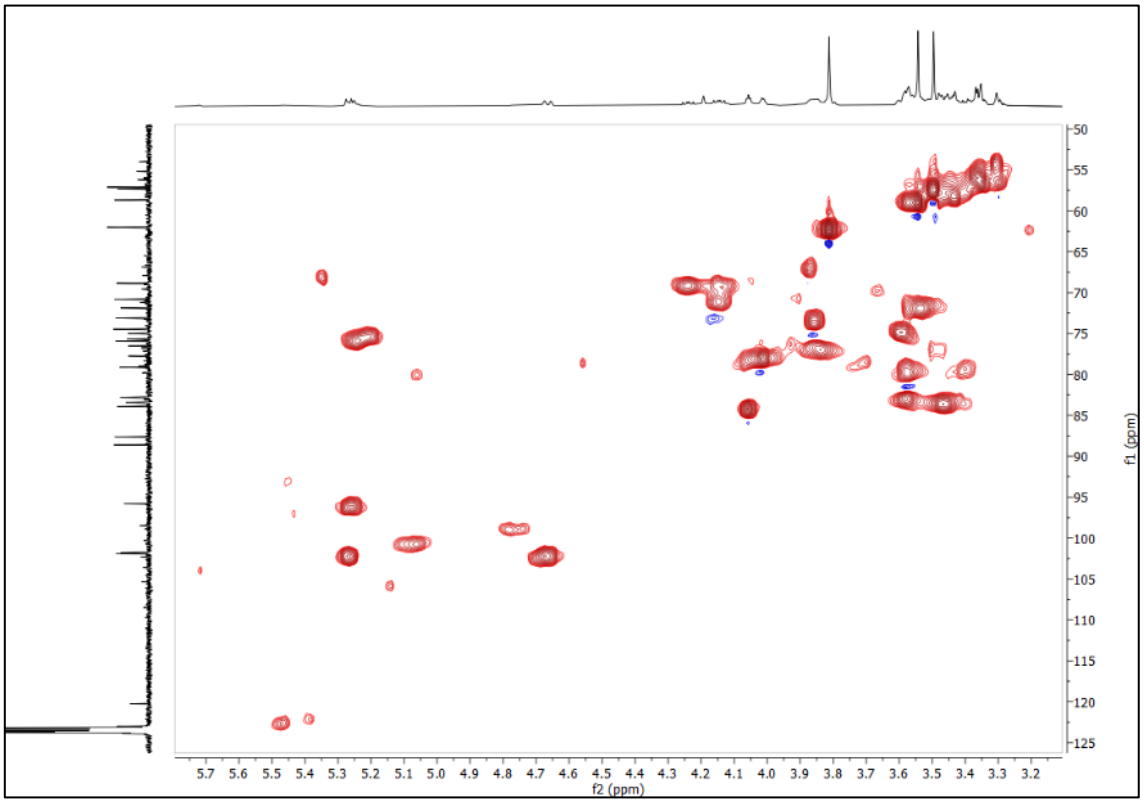


Figura S95. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 50-125 ppm e 3,2-5,7 ppm

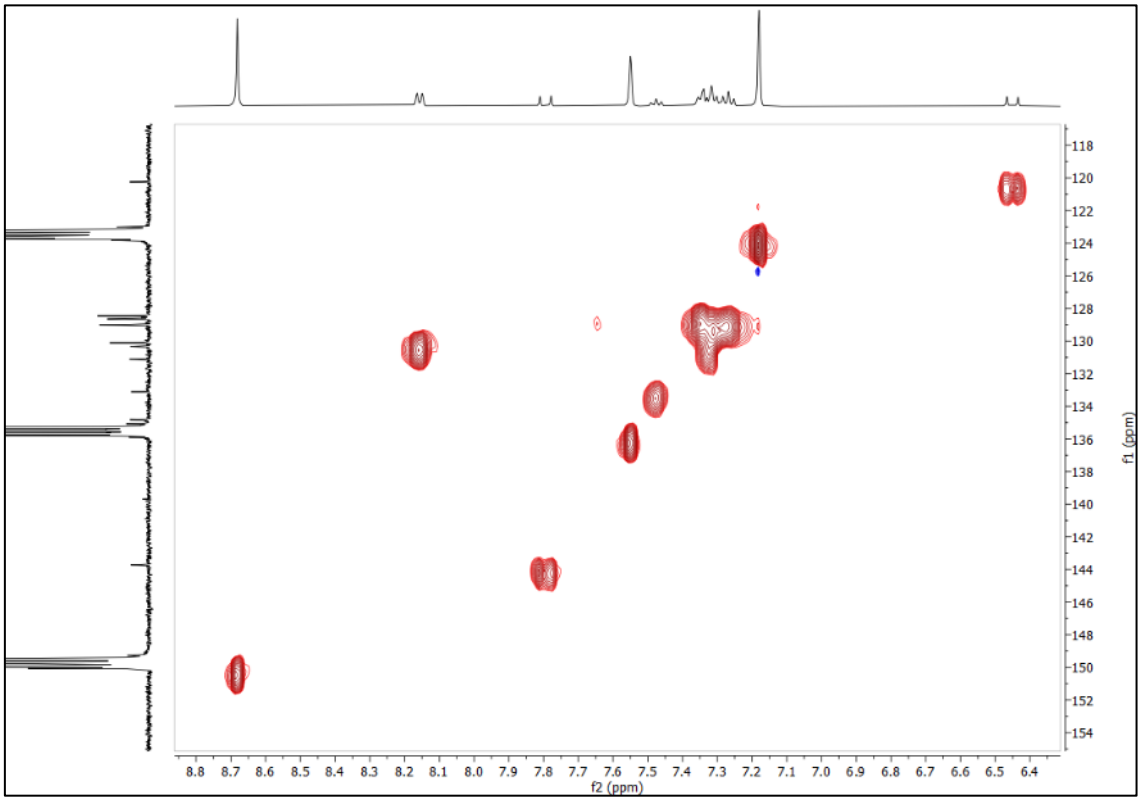


Figura S96. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 118-154 ppm e 6,4-8,8 ppm

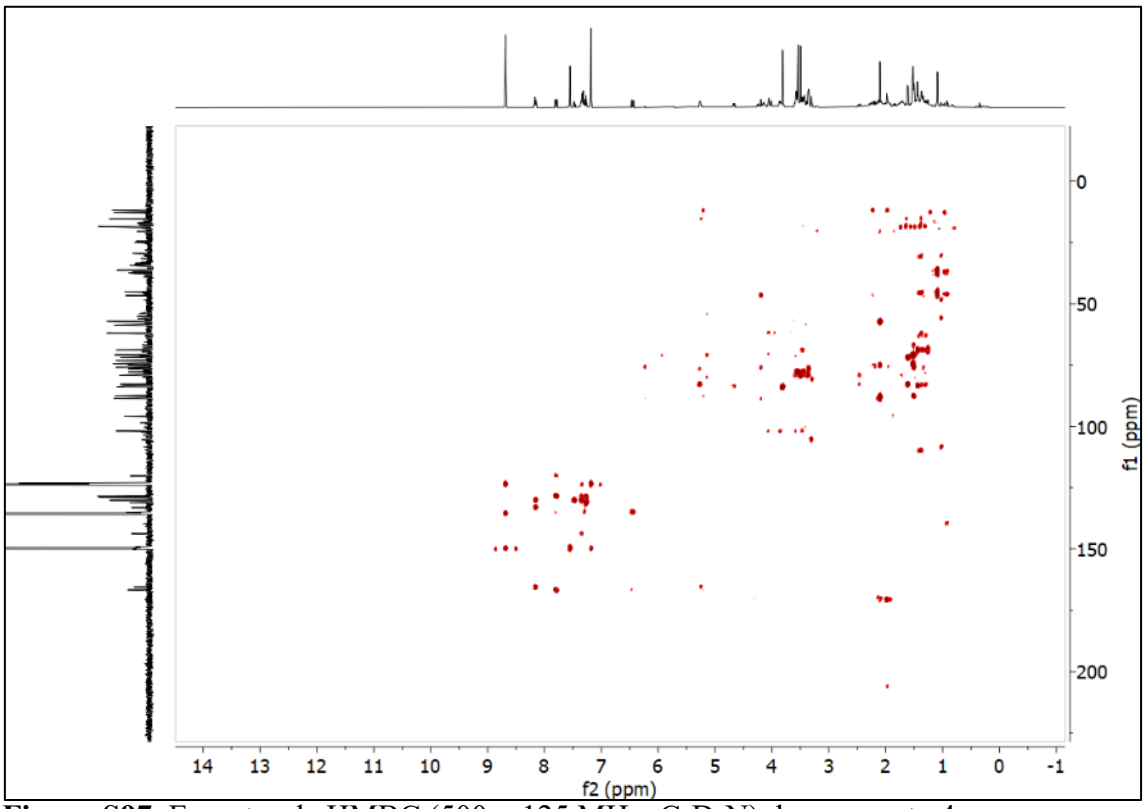


Figura S97. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4

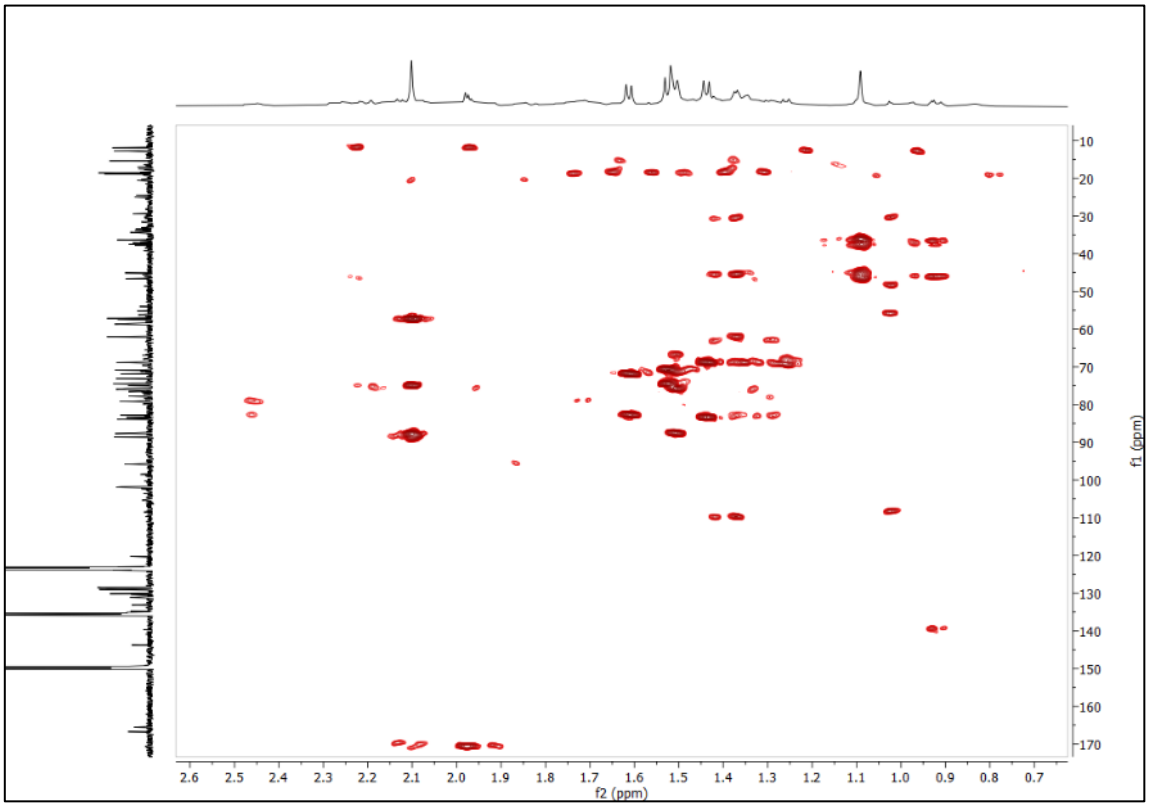


Figura S98 Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,6 ppm

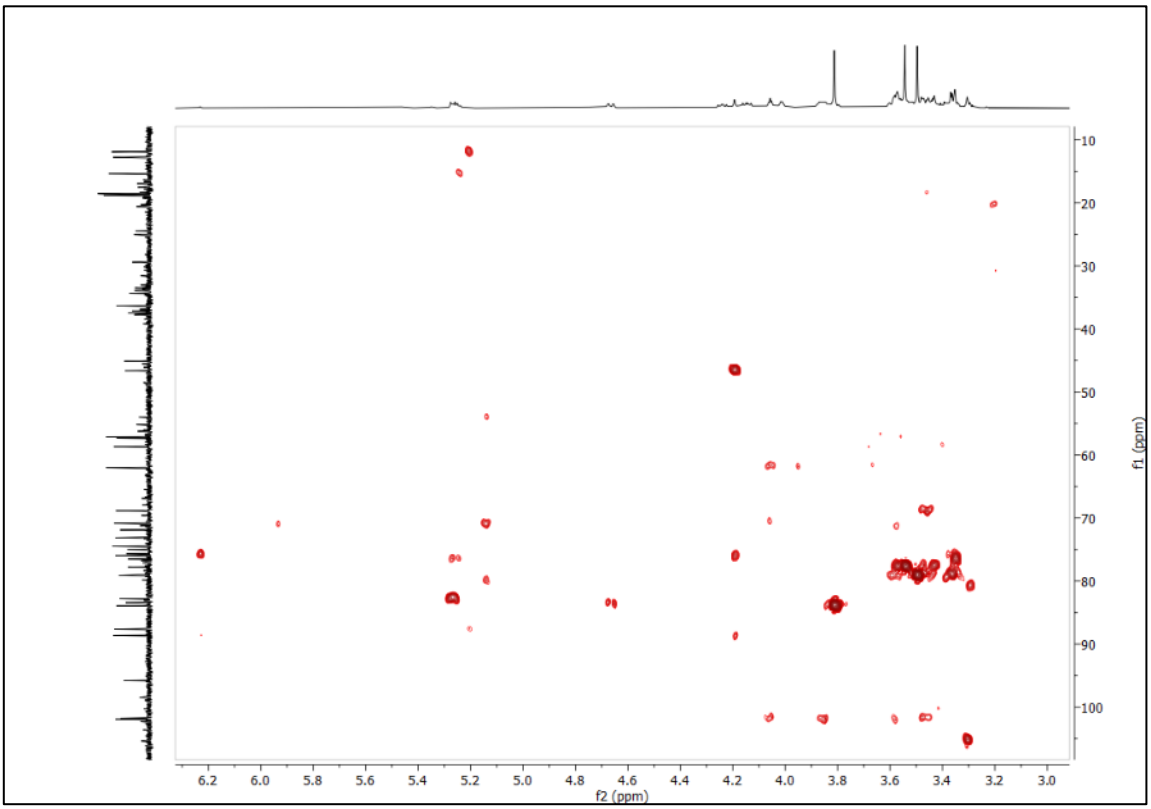


Figura S99 Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 10-100 ppm e 3,0-6,2 ppm

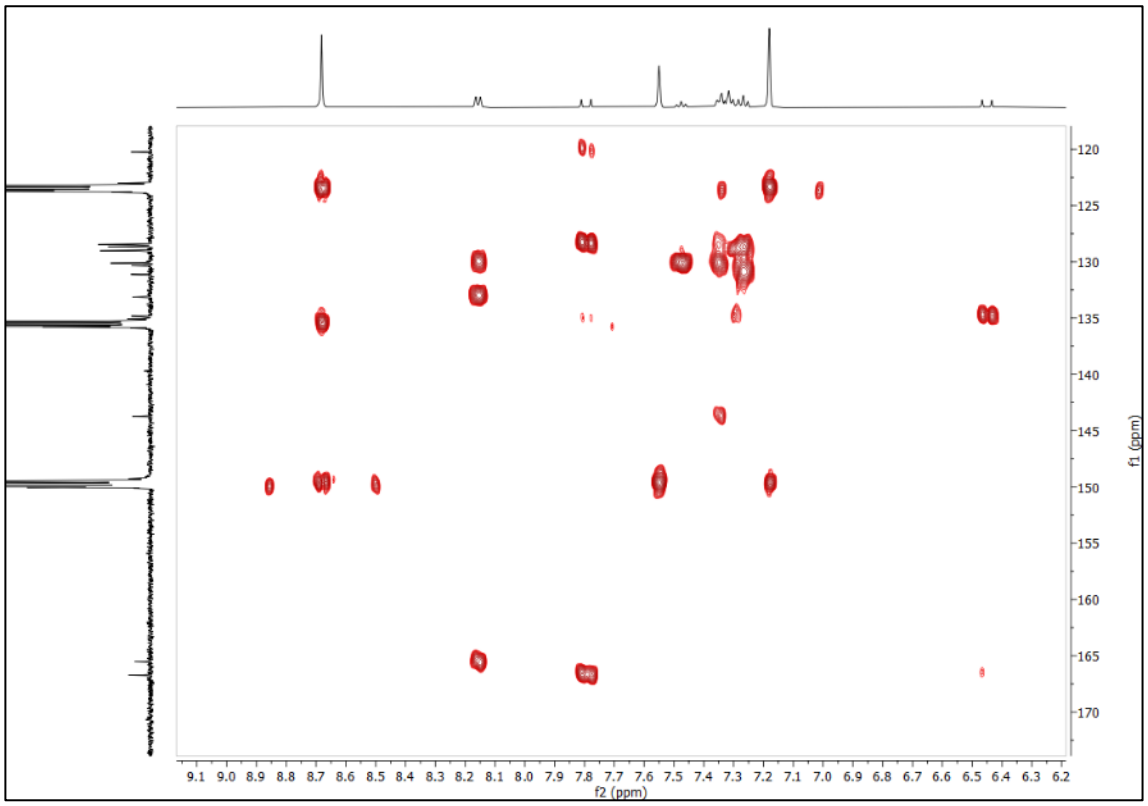


Figura S100 Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 120-170 ppm e 6,2-9,1 ppm

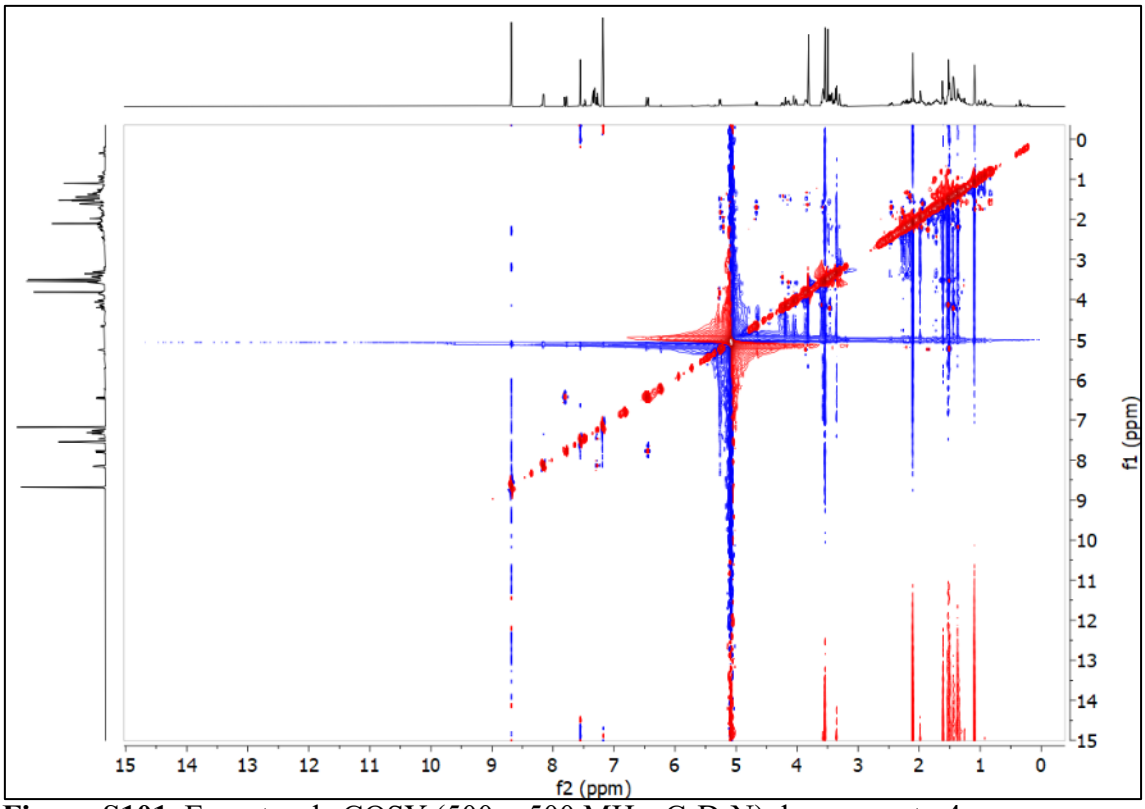


Figura S101. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4

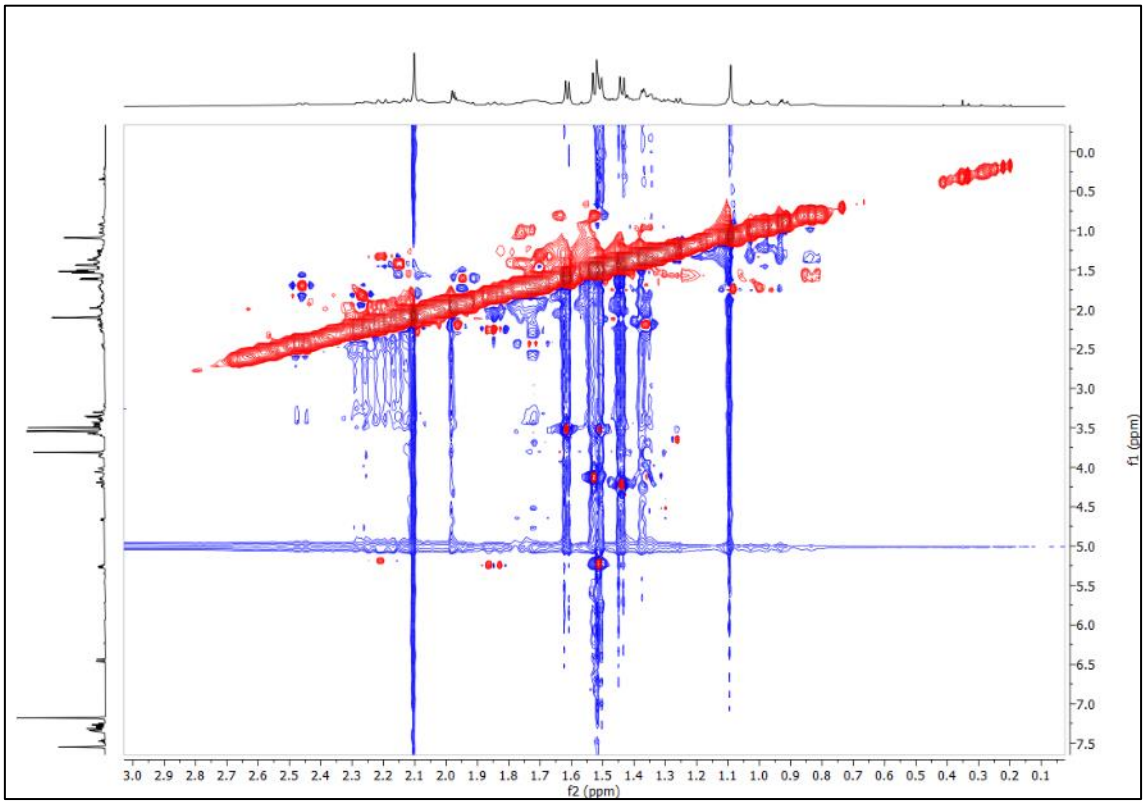


Figura S102. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 0,0-7,5 ppm e 0,1-3,0 ppm

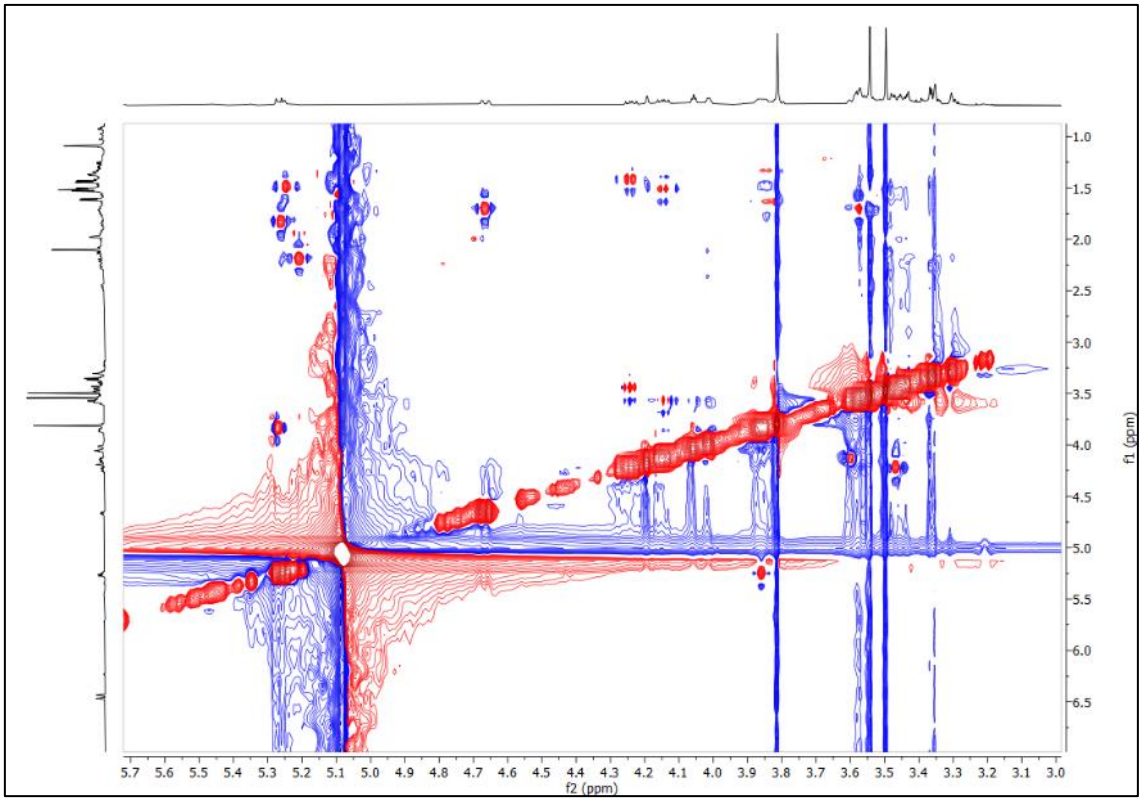


Figura S103. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,0-5,7 ppm

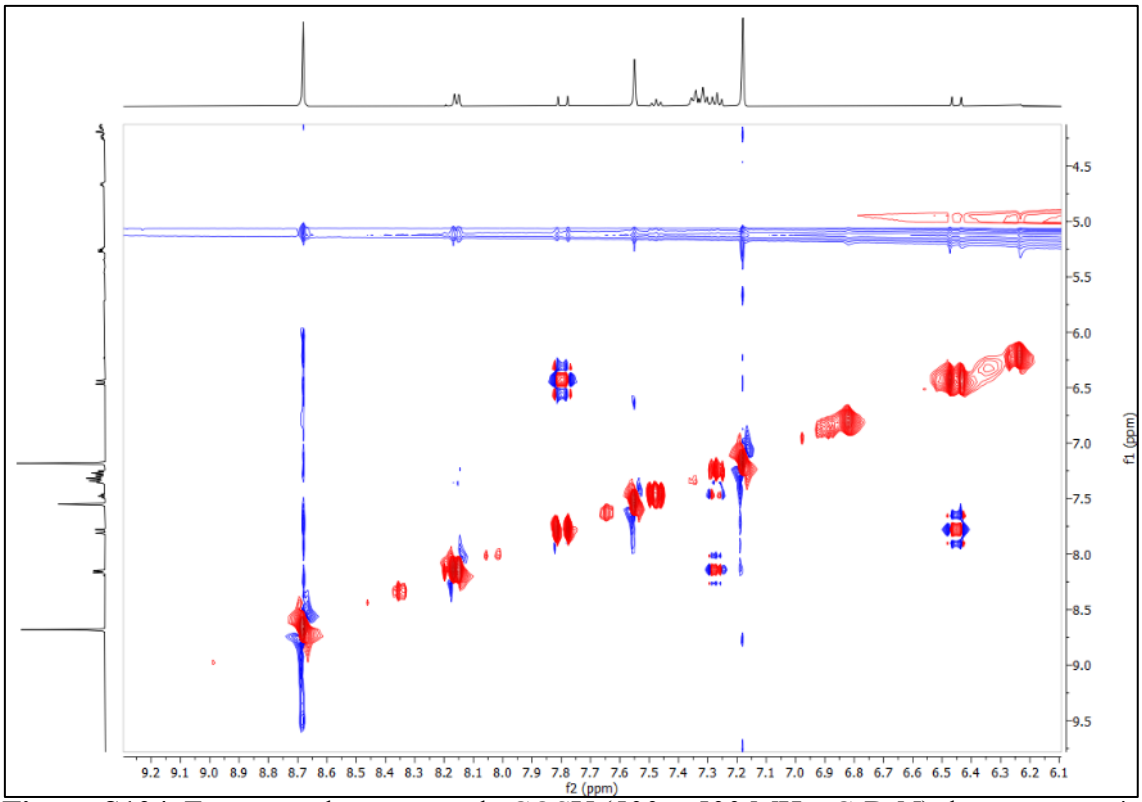


Figura S104. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 4,5-9,5 ppm e 6,1-9,2 ppm

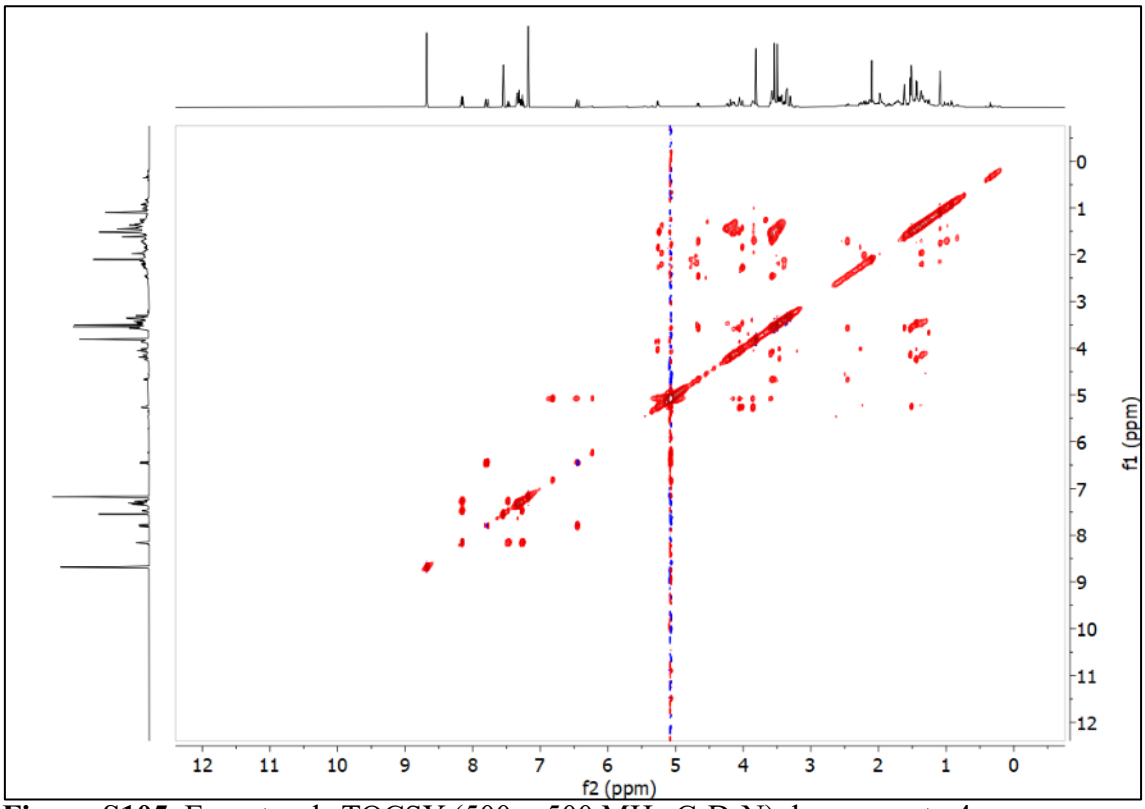


Figura S105. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz C_5D_5N) do composto 4

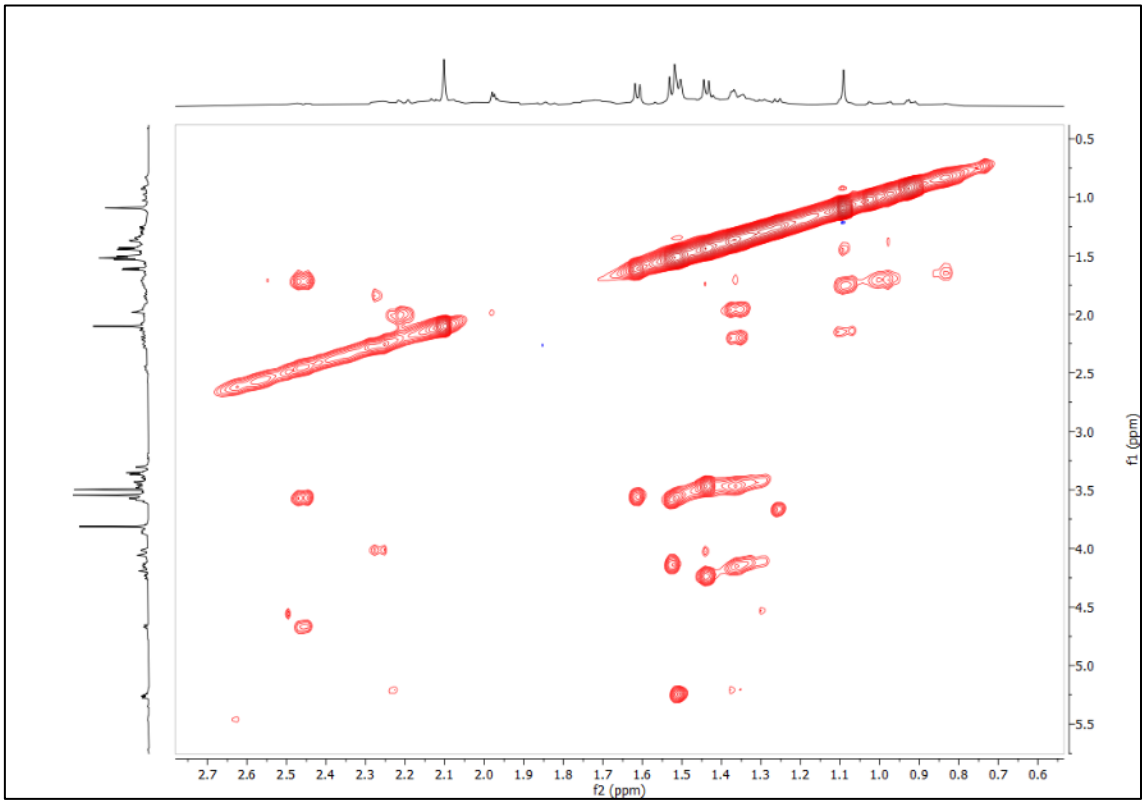


Figura S106. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,7 ppm

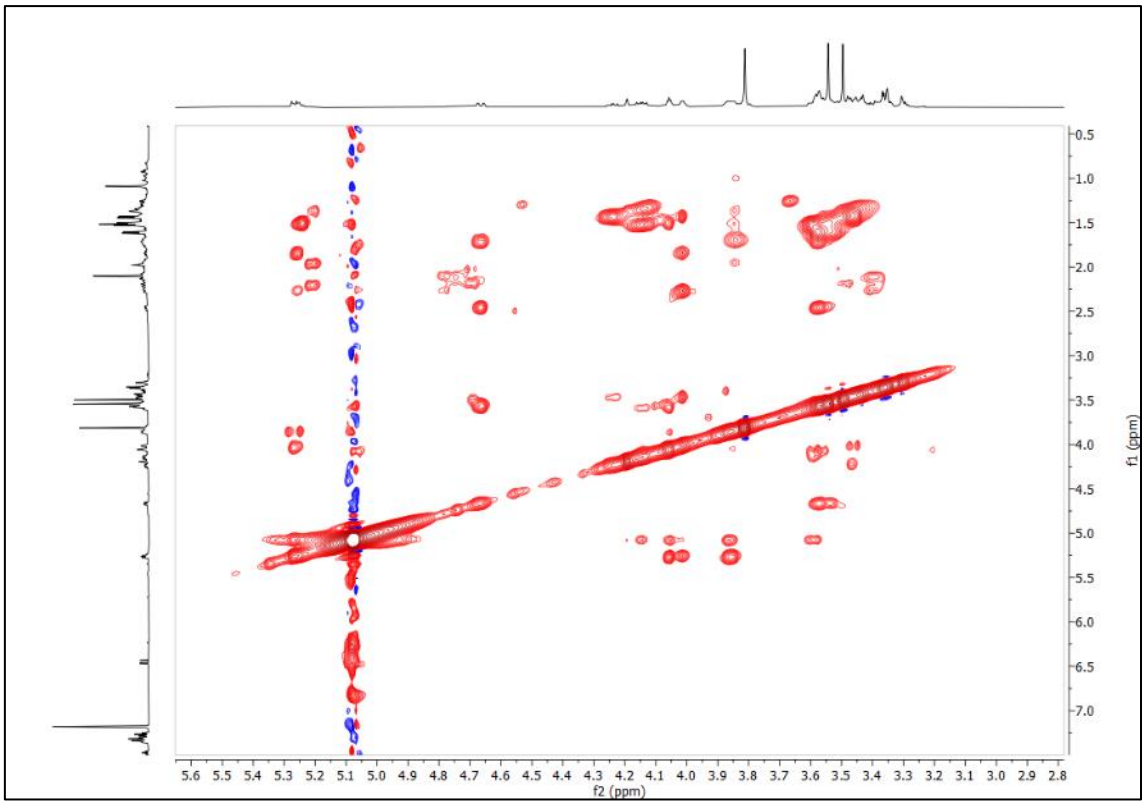


Figura S107. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 0,57,0 ppm e 2,8-5,6 ppm

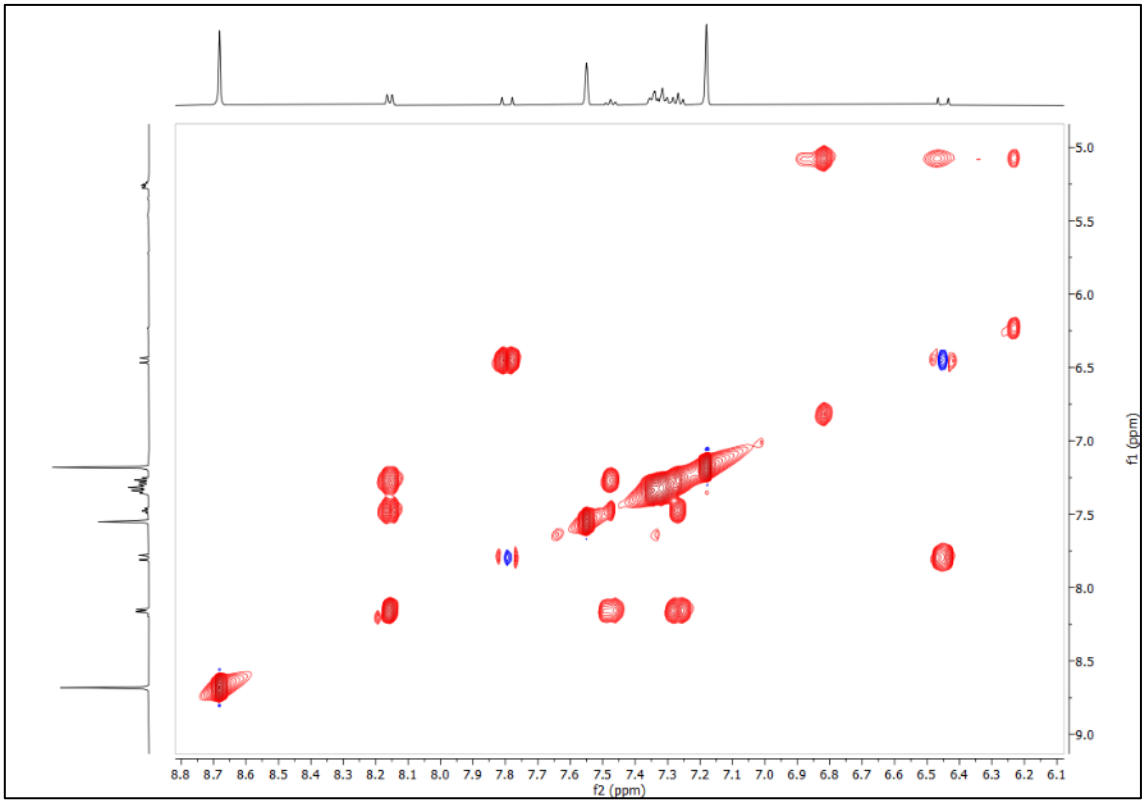


Figura S108. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,1-8,8 ppm

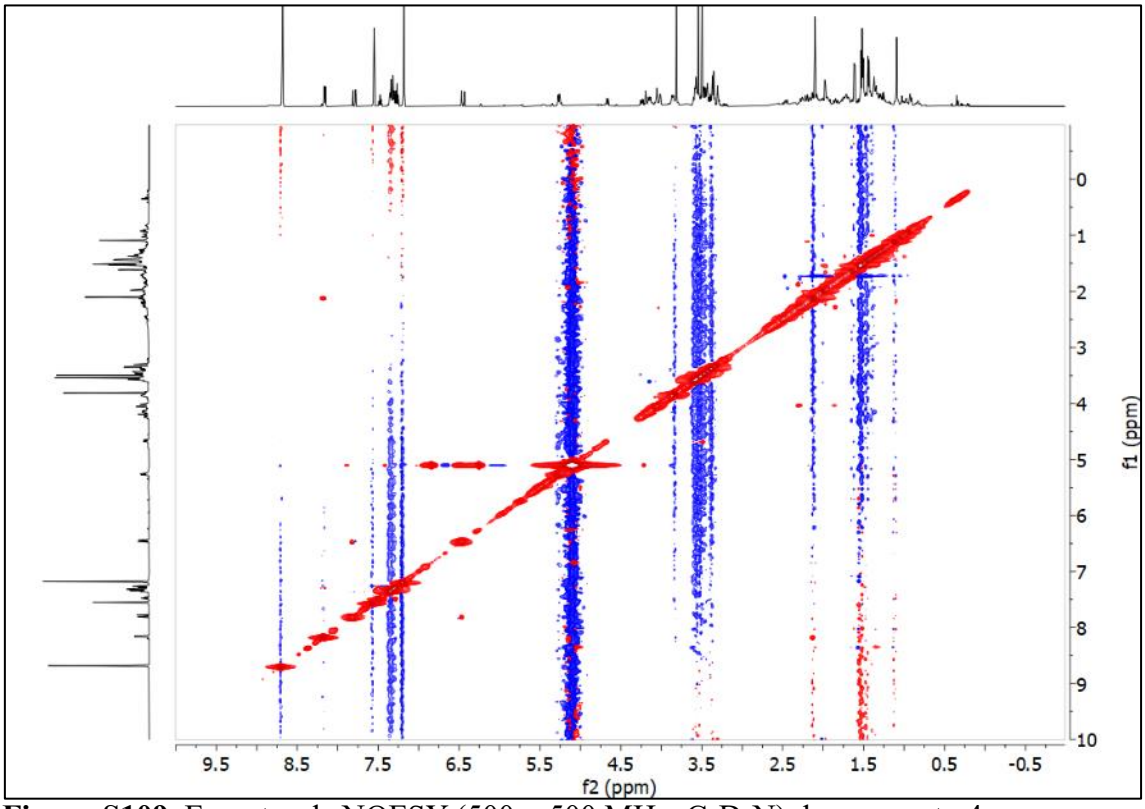


Figura S109. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4

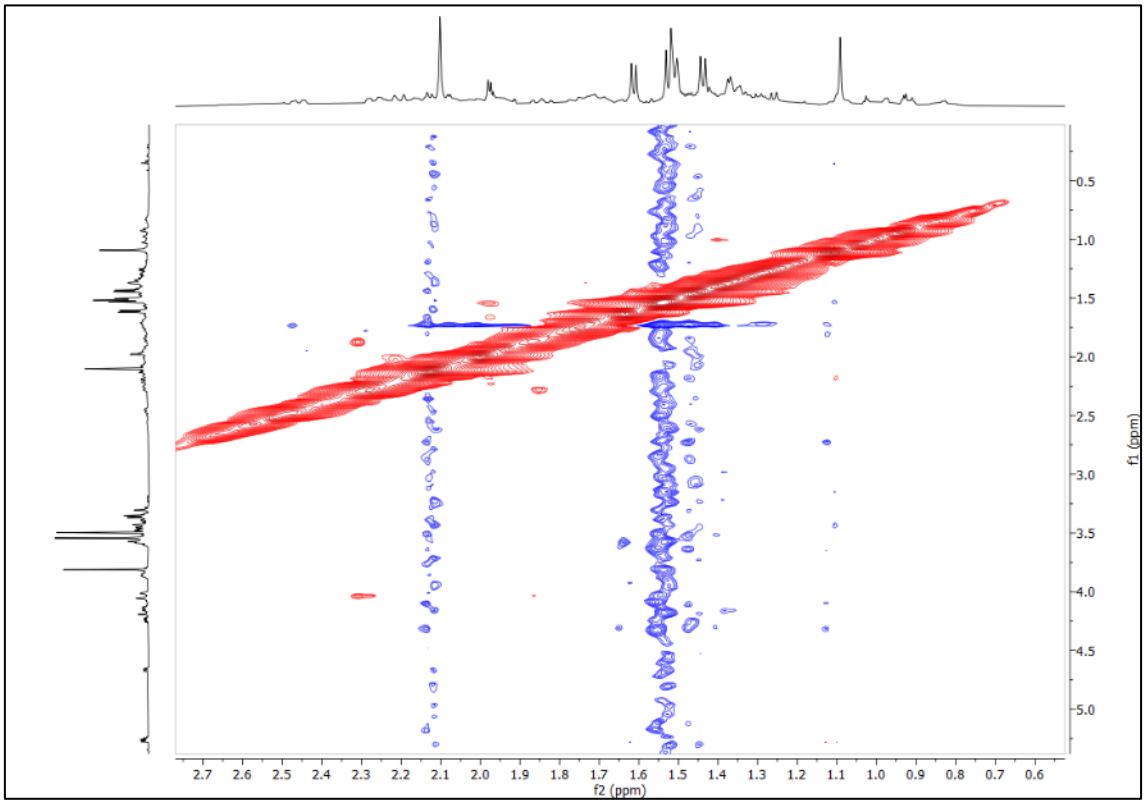


Figura S110. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,6-2,7 ppm

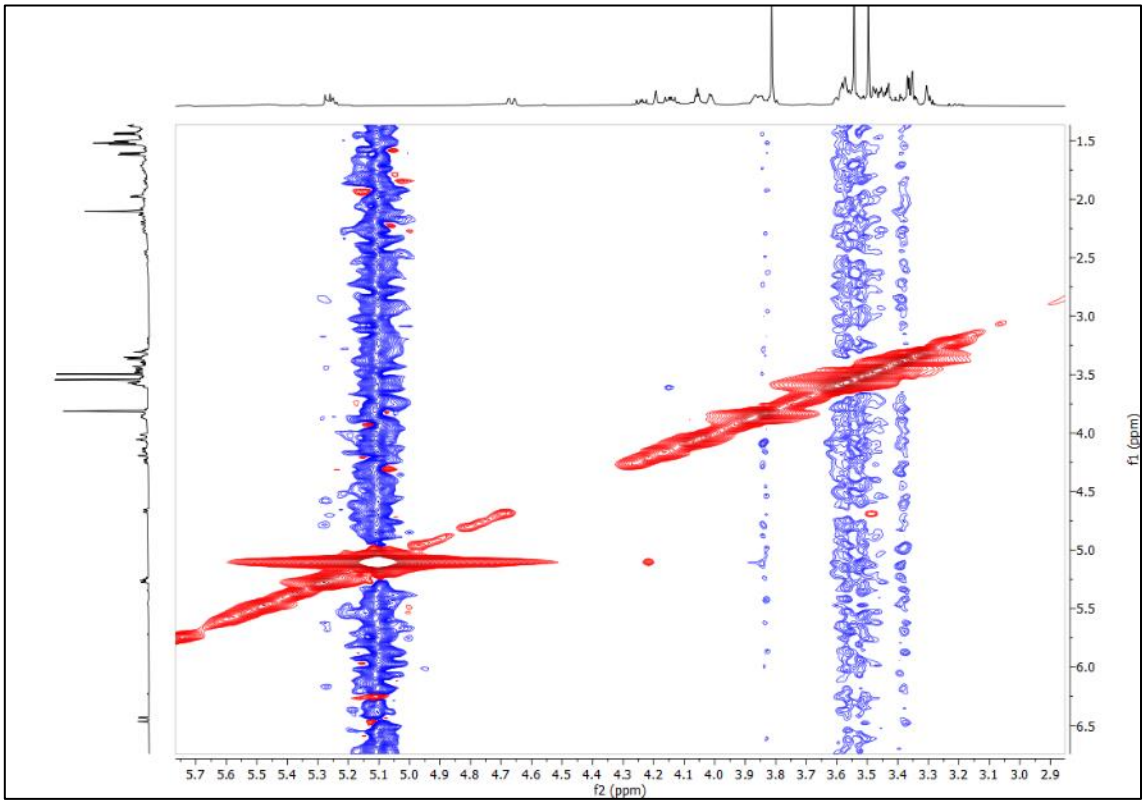


Figura S111. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 1,5-6,5 ppm e 2,9-5,7 ppm

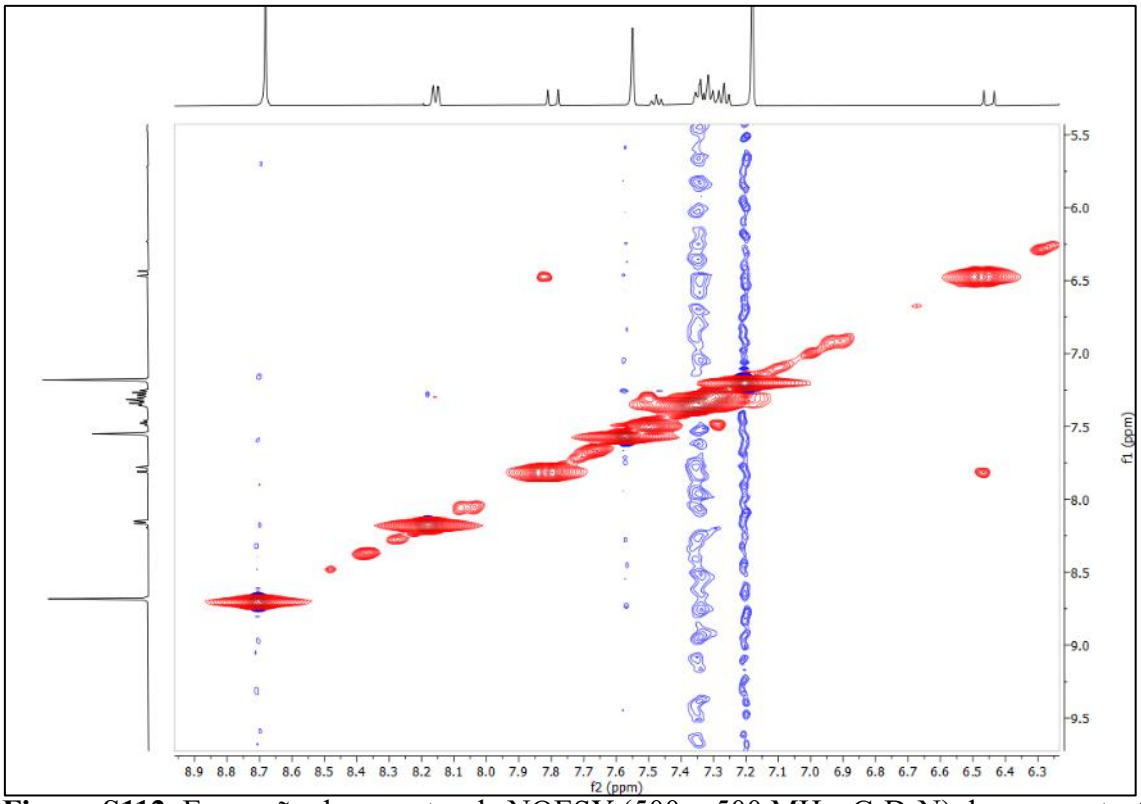


Figura S112. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 4 nas regiões de 5,5-9,5 ppm e 6,3-8,9 ppm

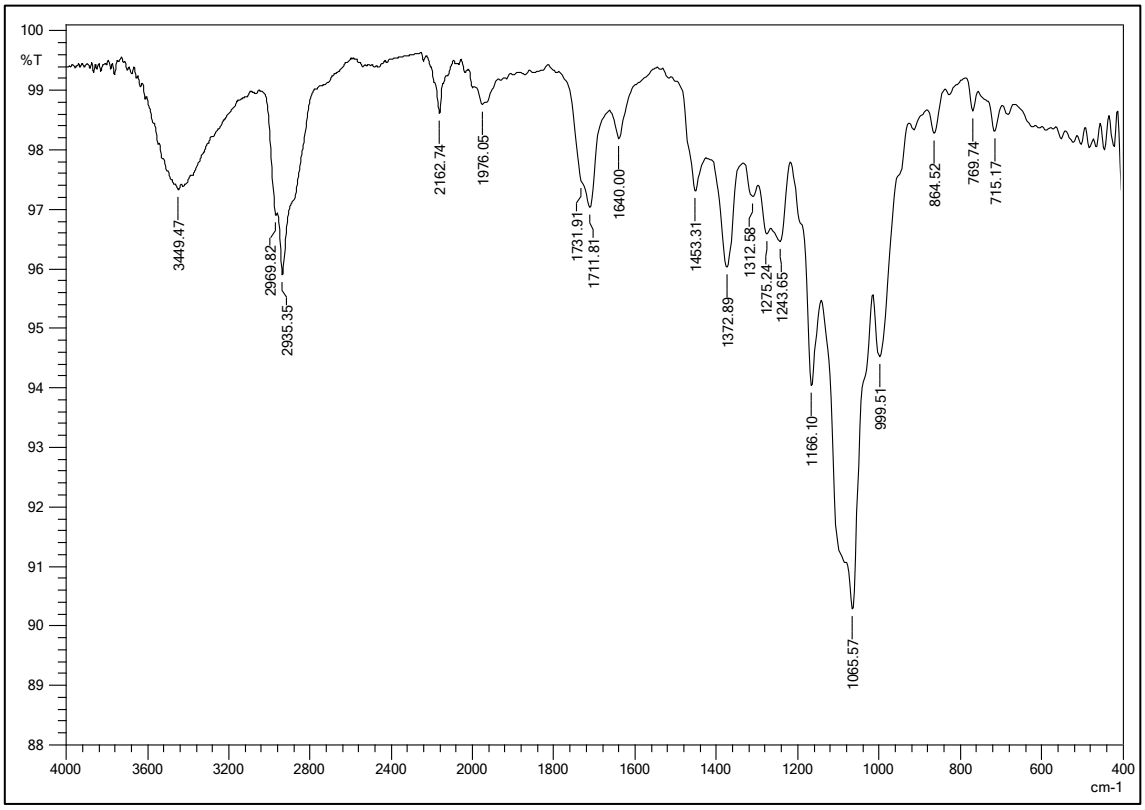


Figura S113. Espectro de infravermelho ATR do composto 5

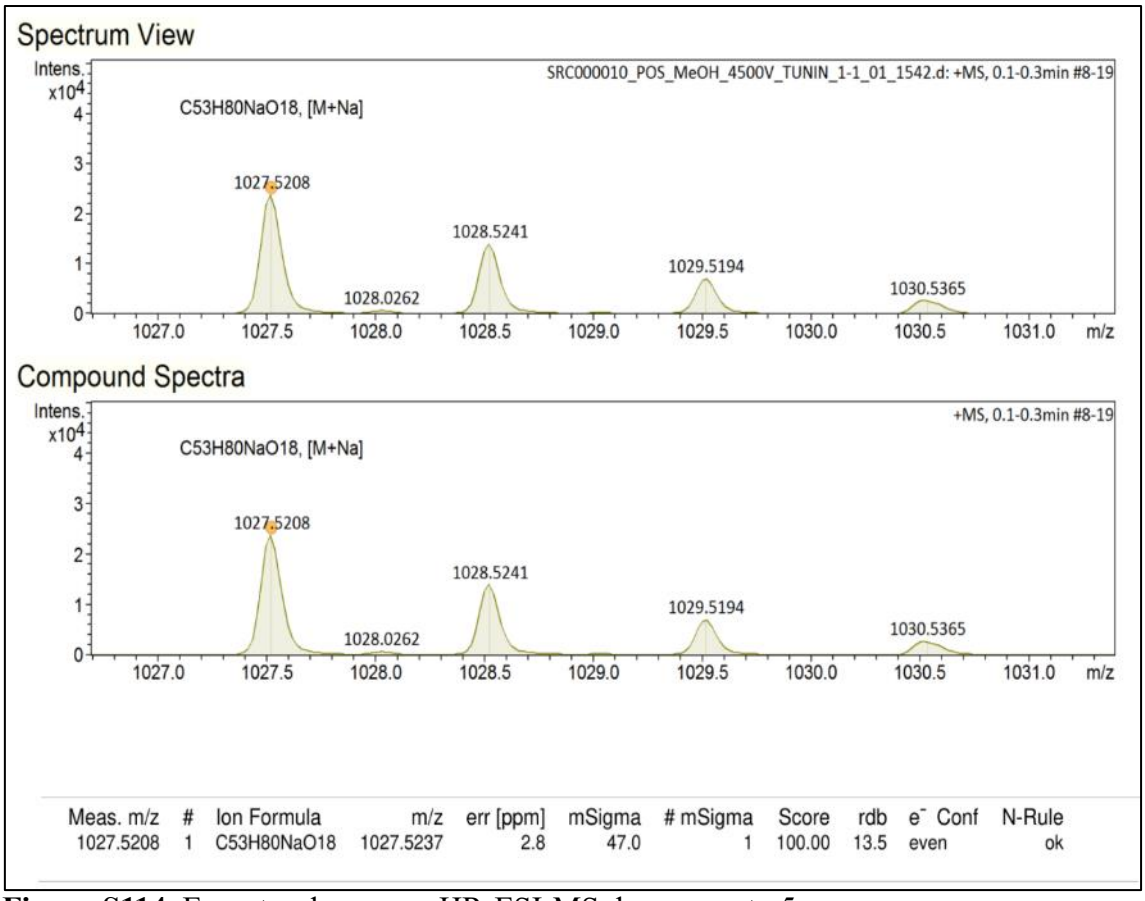


Figura S114. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 5

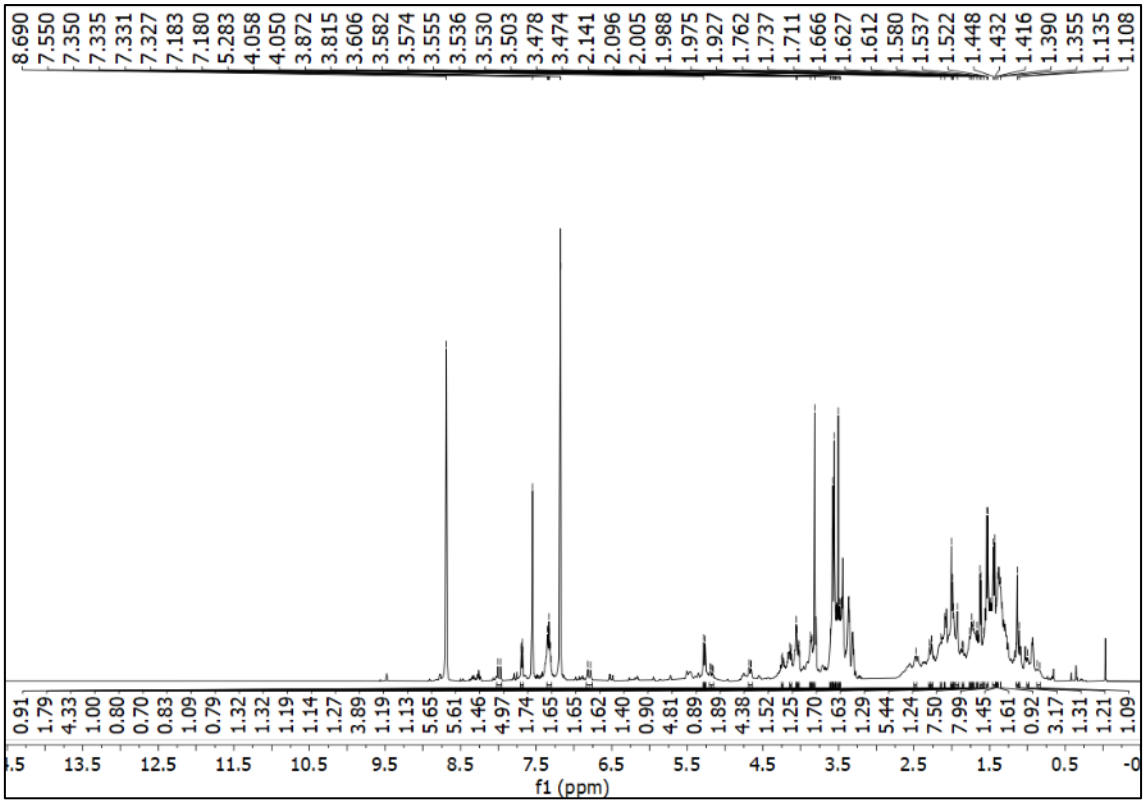


Figura S115. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 5

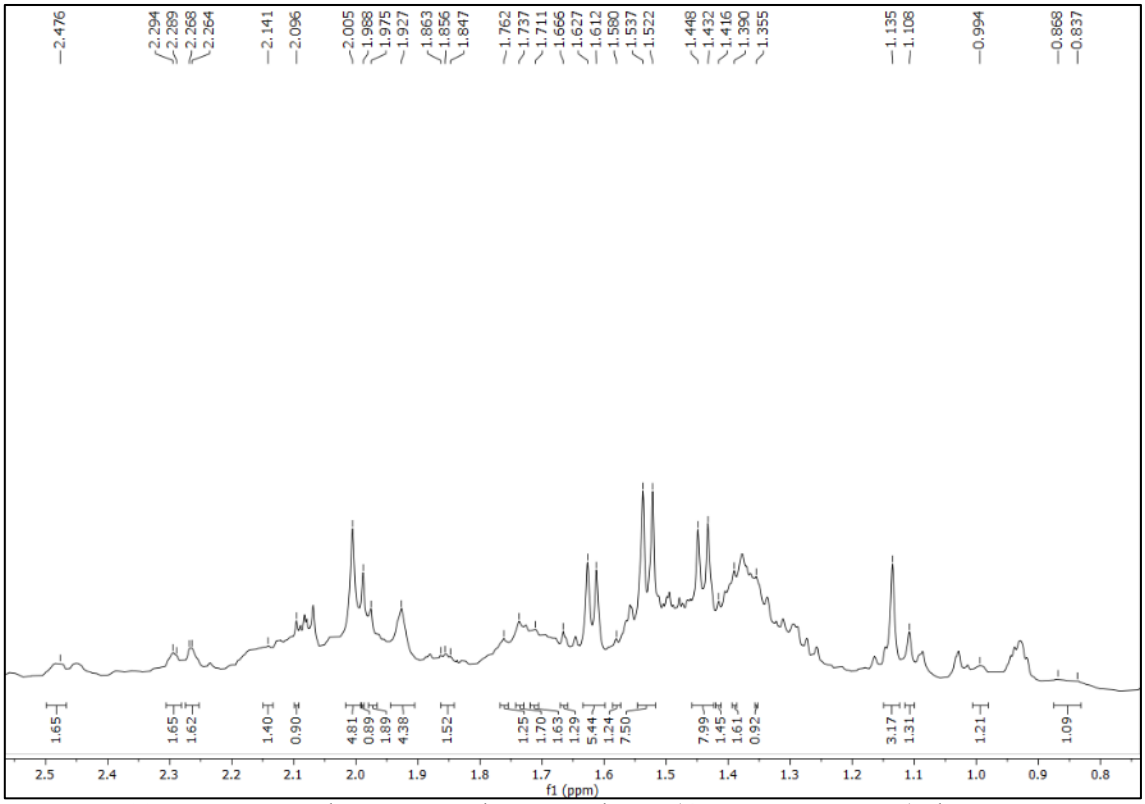


Figura S116. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 na região de 0,8-2,5 ppm

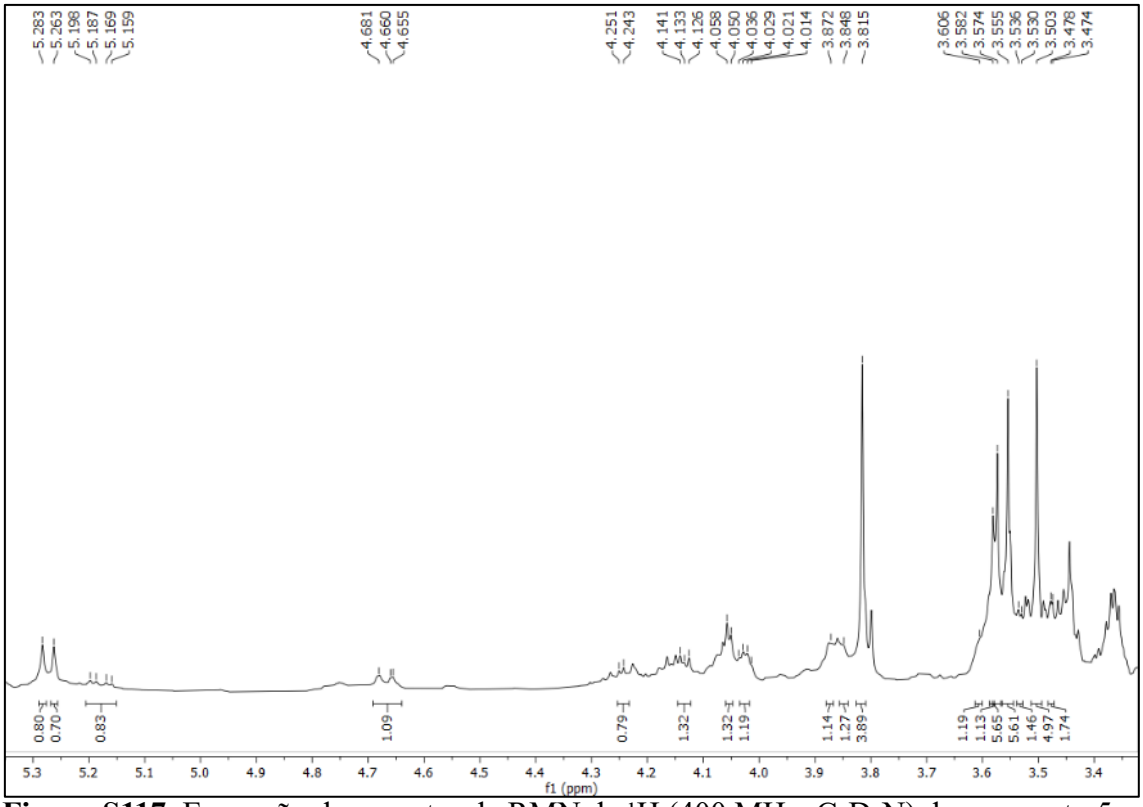


Figura S117. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 na região de 3,4-5,3 ppm

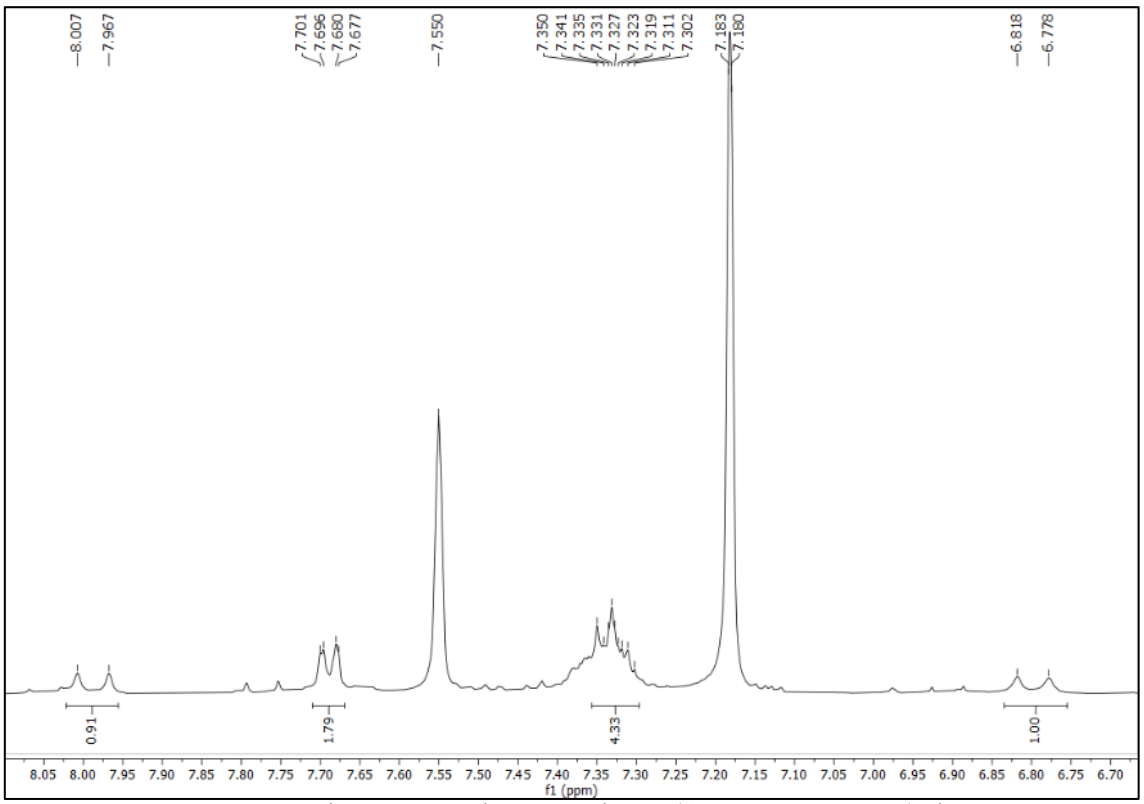


Figura S118. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 na região de 6,70-8,05 ppm

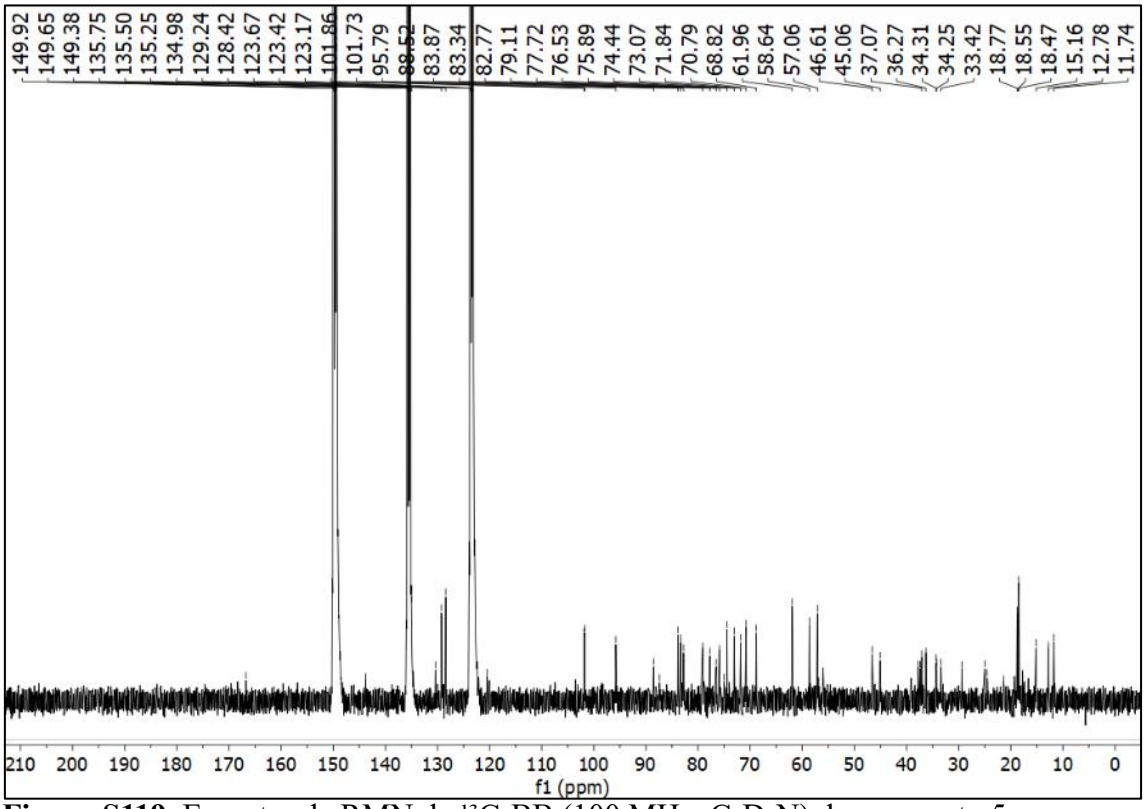


Figura S119. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 5

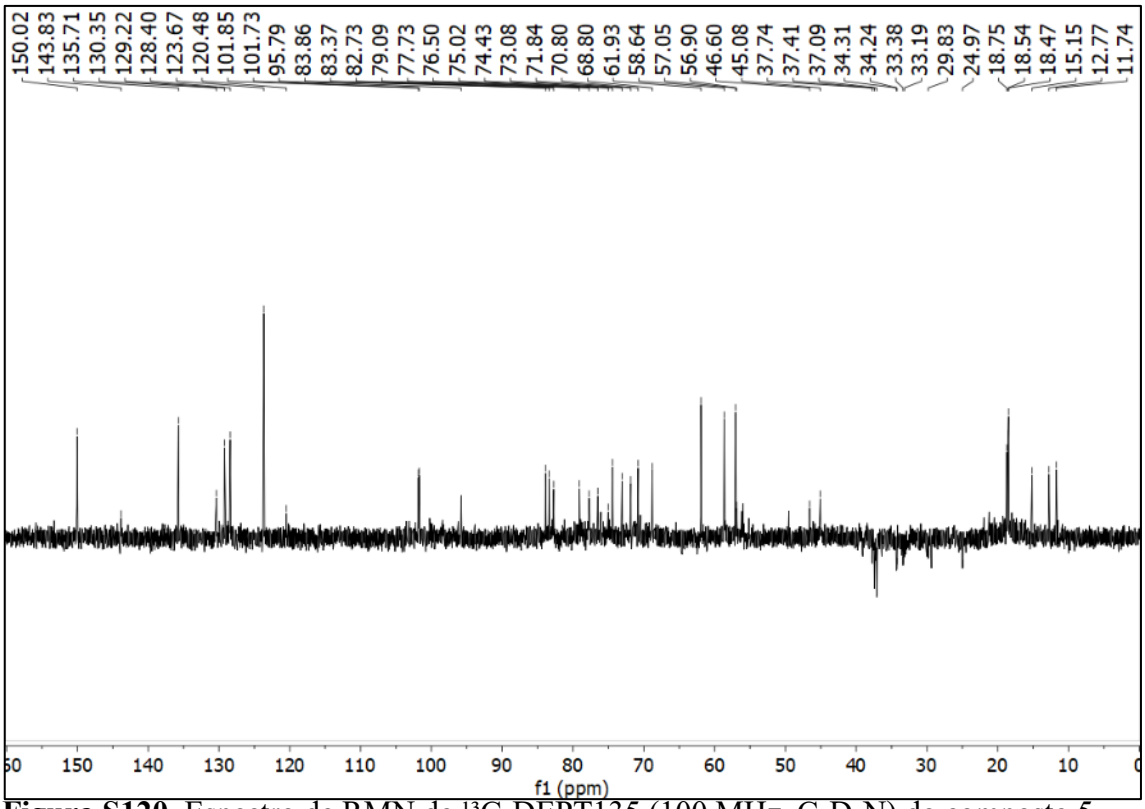


Figura S120. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 5

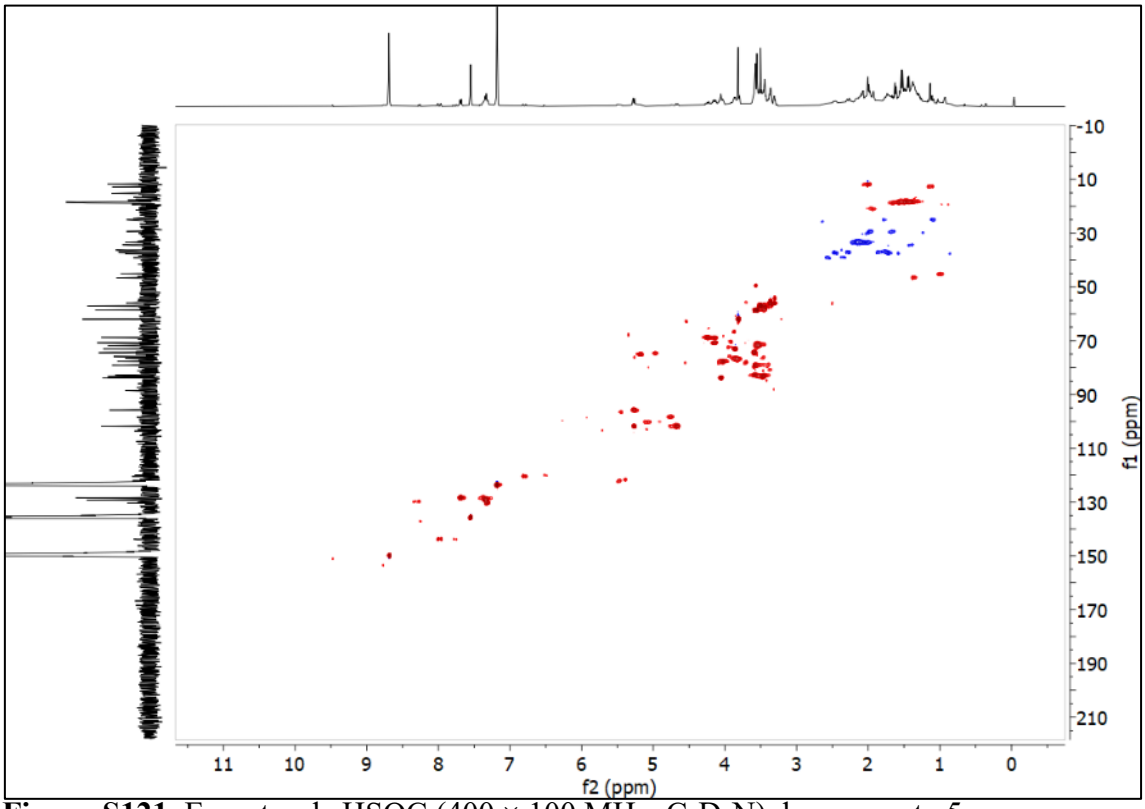


Figura S121. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5

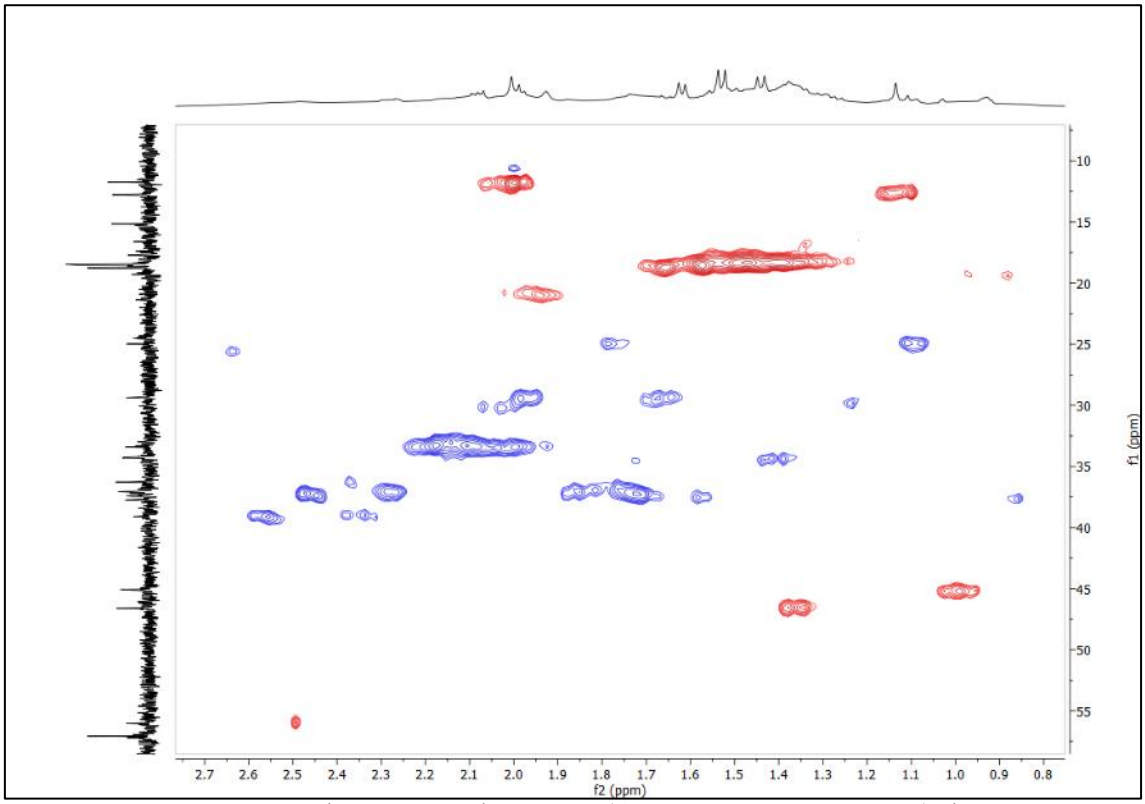


Figura S122. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 10-55 ppm e 0,8-2,7 ppm

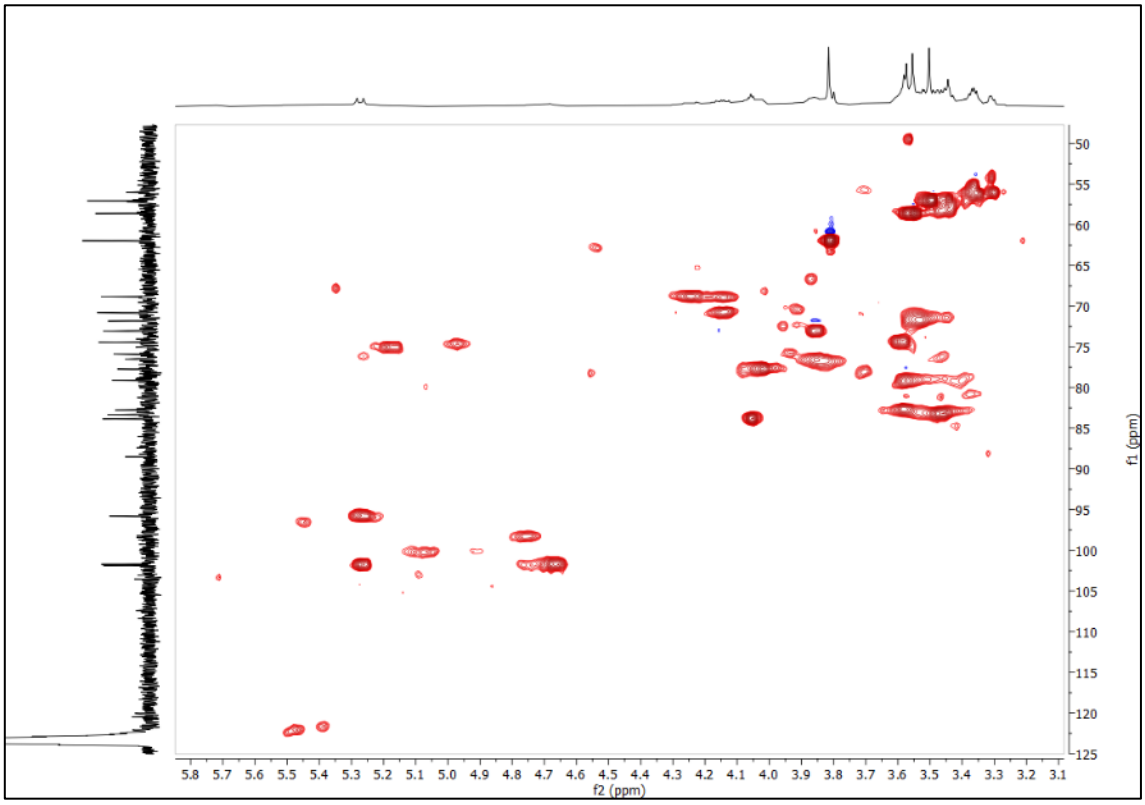


Figura S123. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 50-125 ppm e 3,1-5,8 ppm

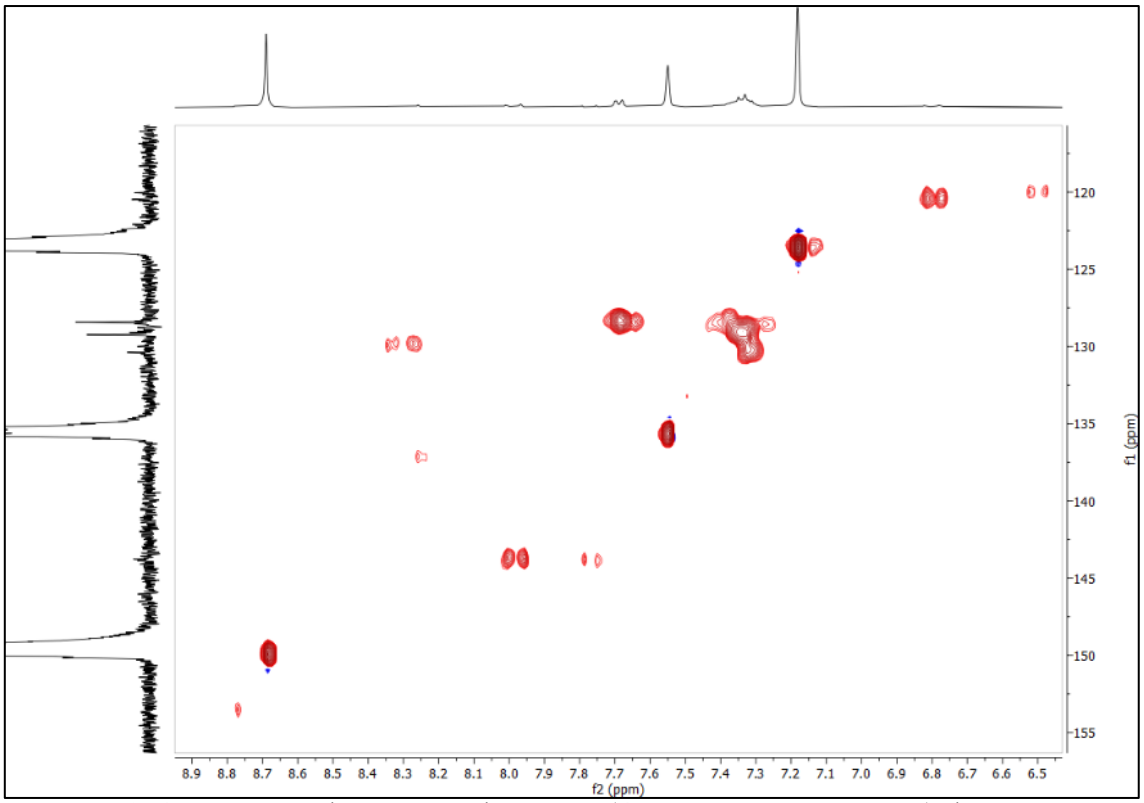


Figura S124. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 120-155 ppm e 6,5-8,9 ppm

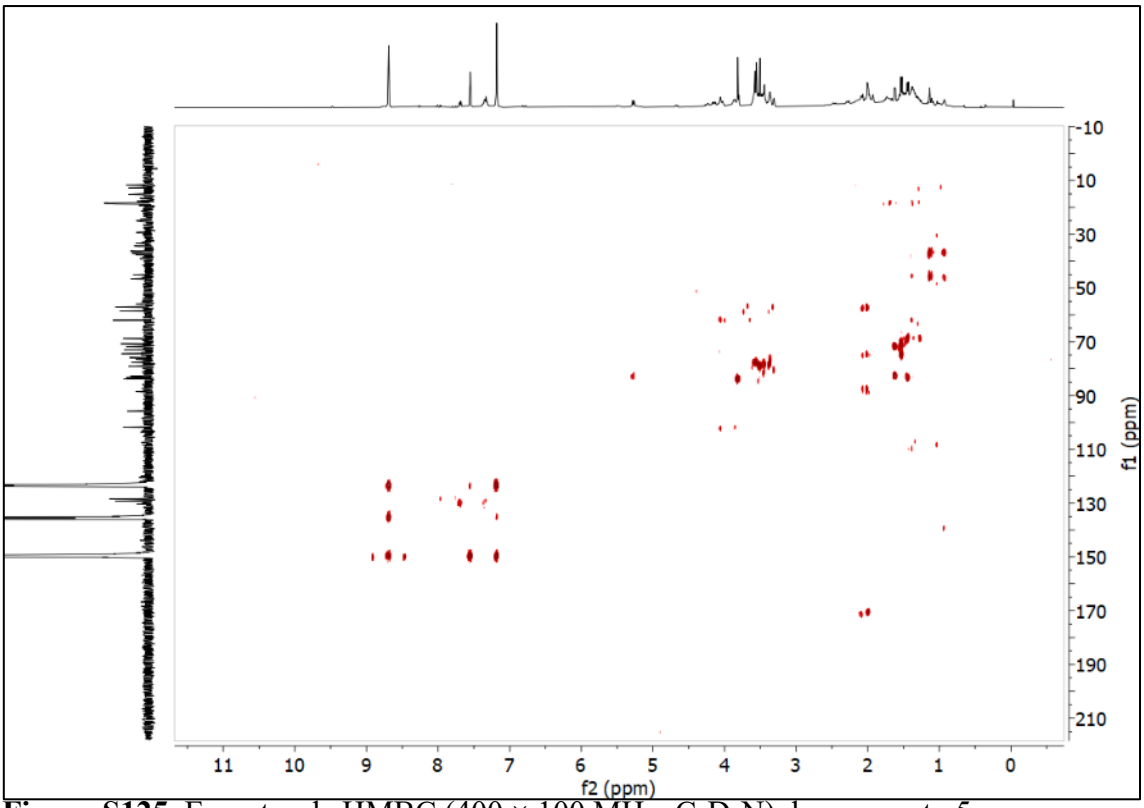


Figura S125. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5

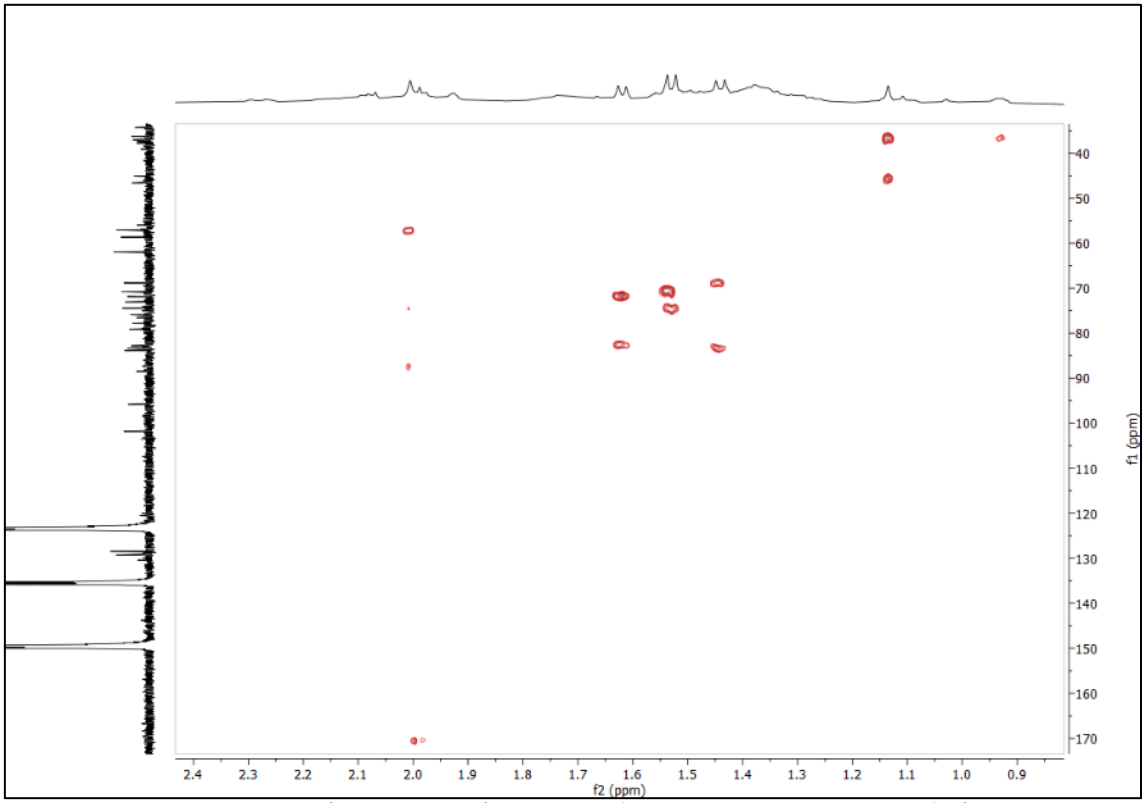


Figura S126. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 40-170 ppm e 0,9-2,4 ppm

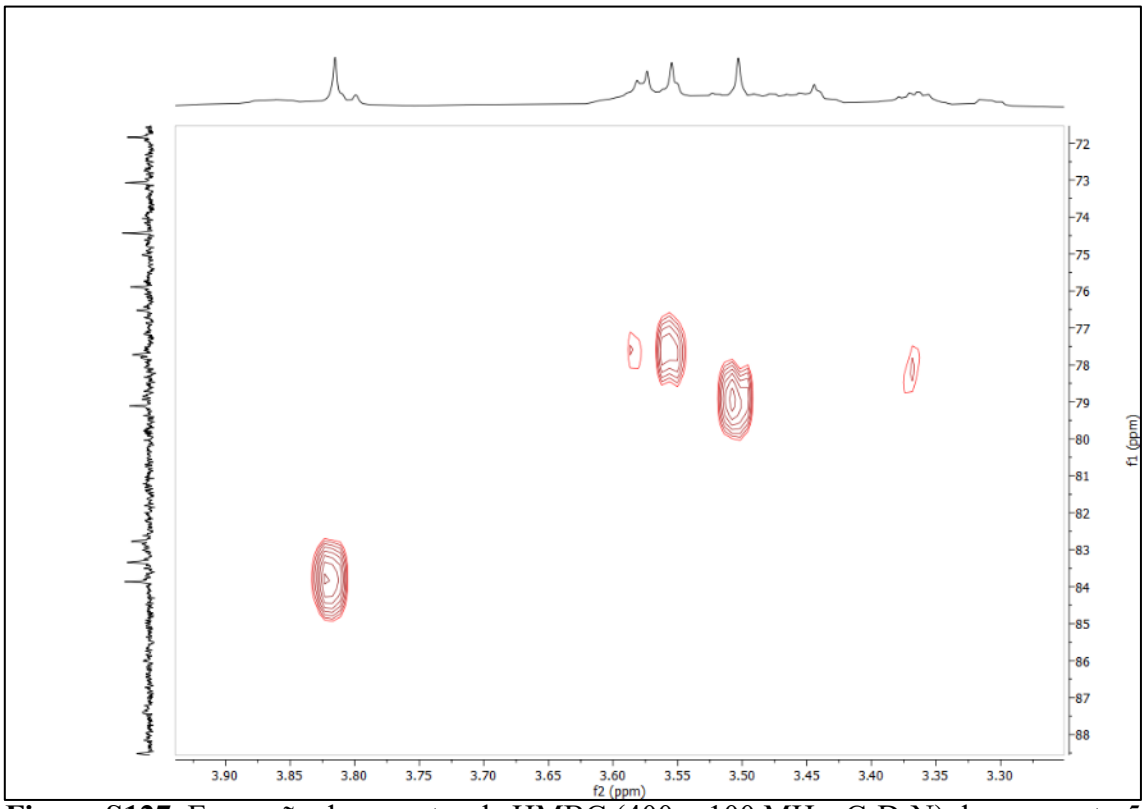


Figura S127. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 72-88 ppm e 3,30-3,90 ppm

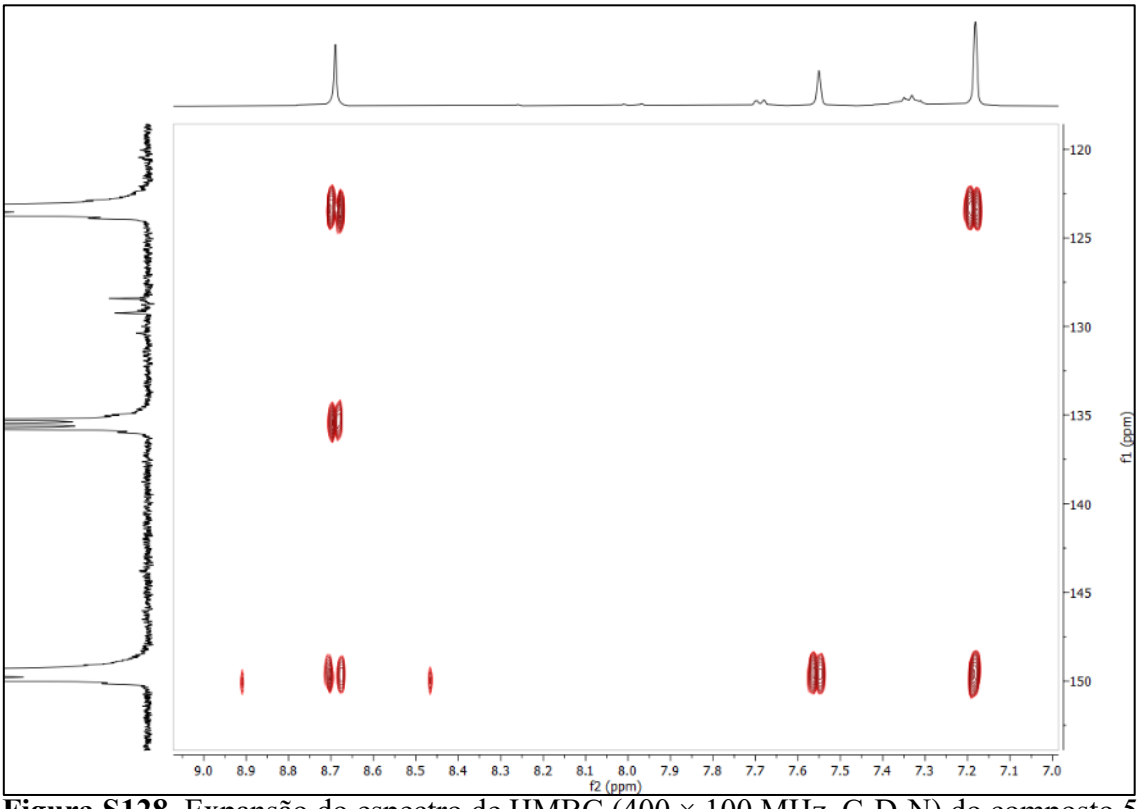


Figura S128. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 120-150 ppm e 7,0-9,0 ppm

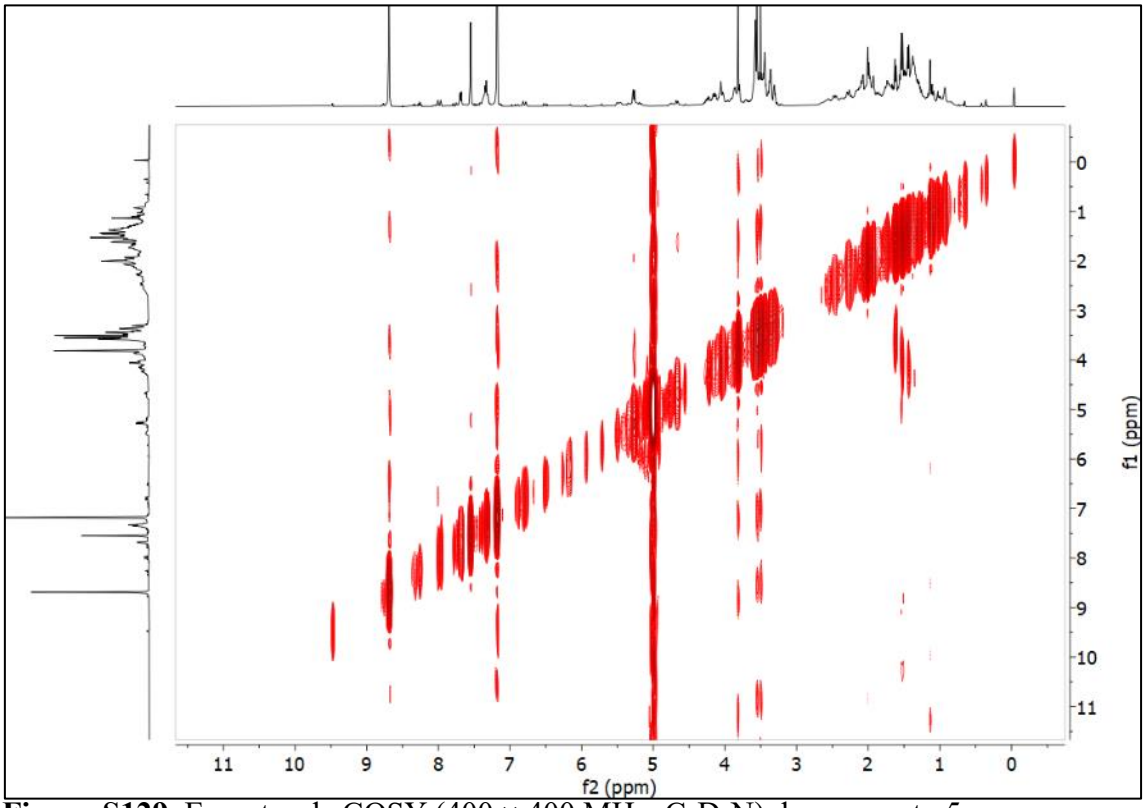


Figura S129. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5

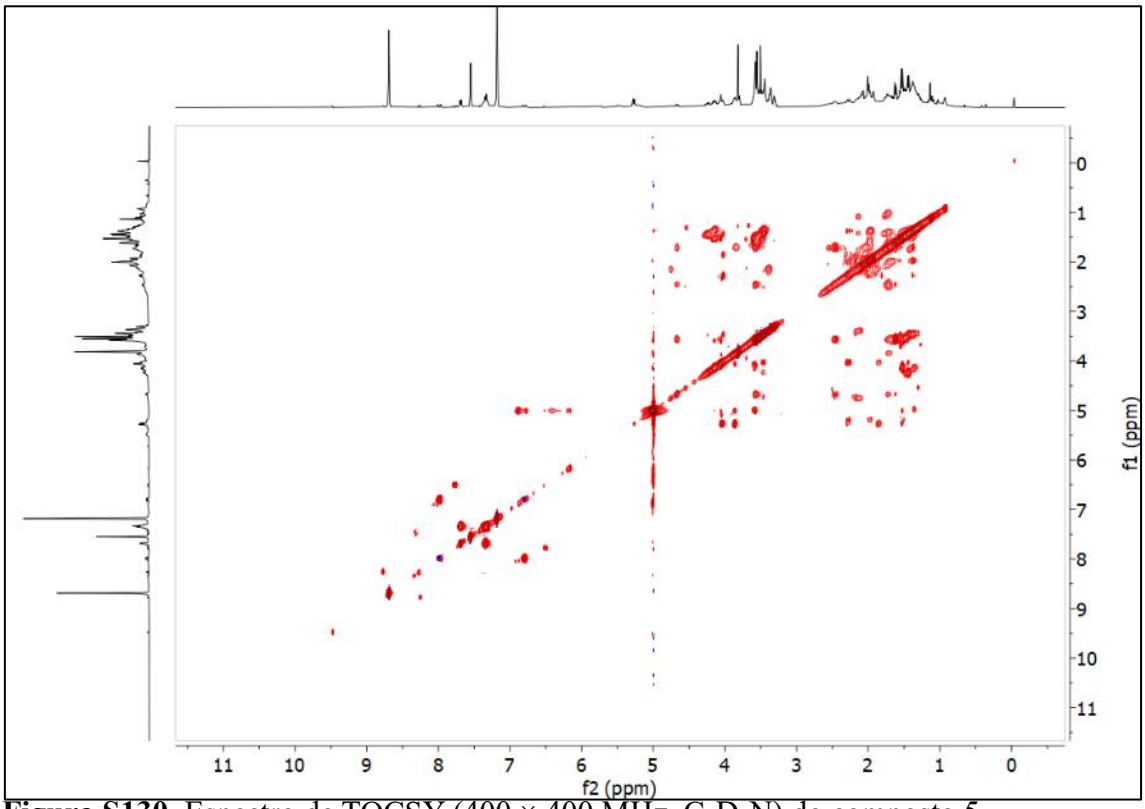


Figura S130. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5

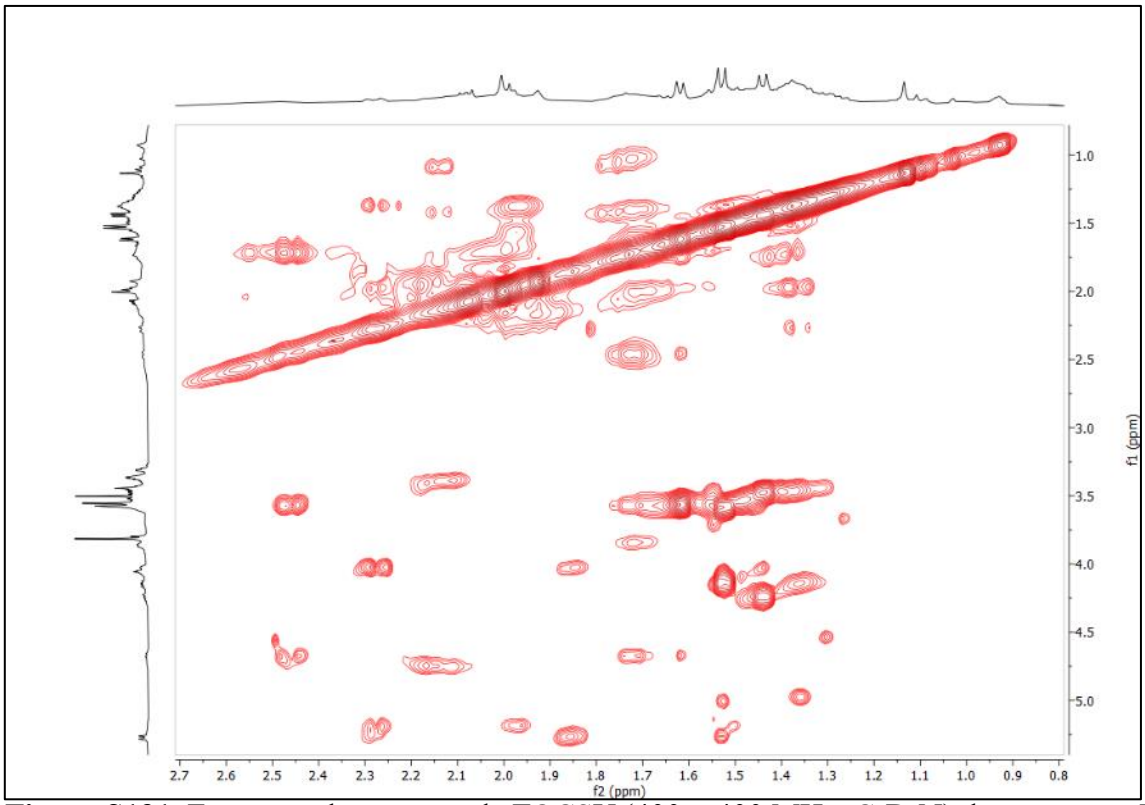


Figura S131. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 1,0-5,0 ppm e 0,8-2,7 ppm

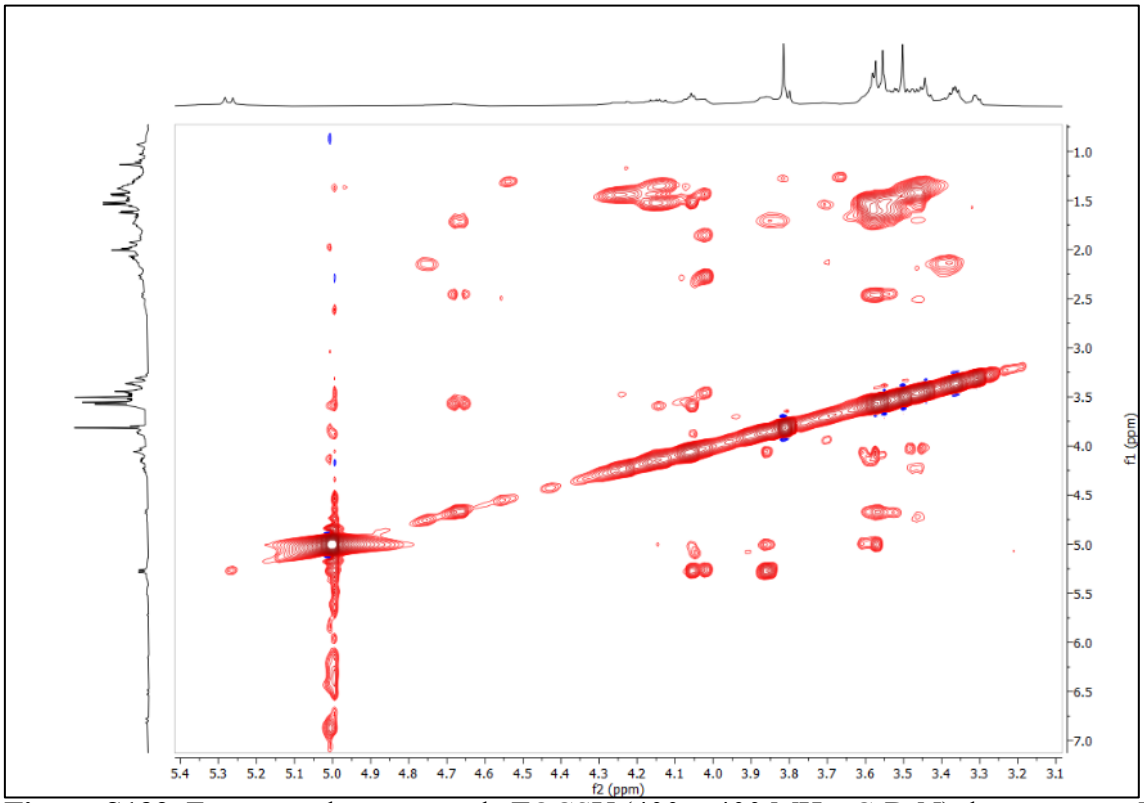


Figura S132. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 1,0-7,0 ppm e 3,1-5,4 ppm

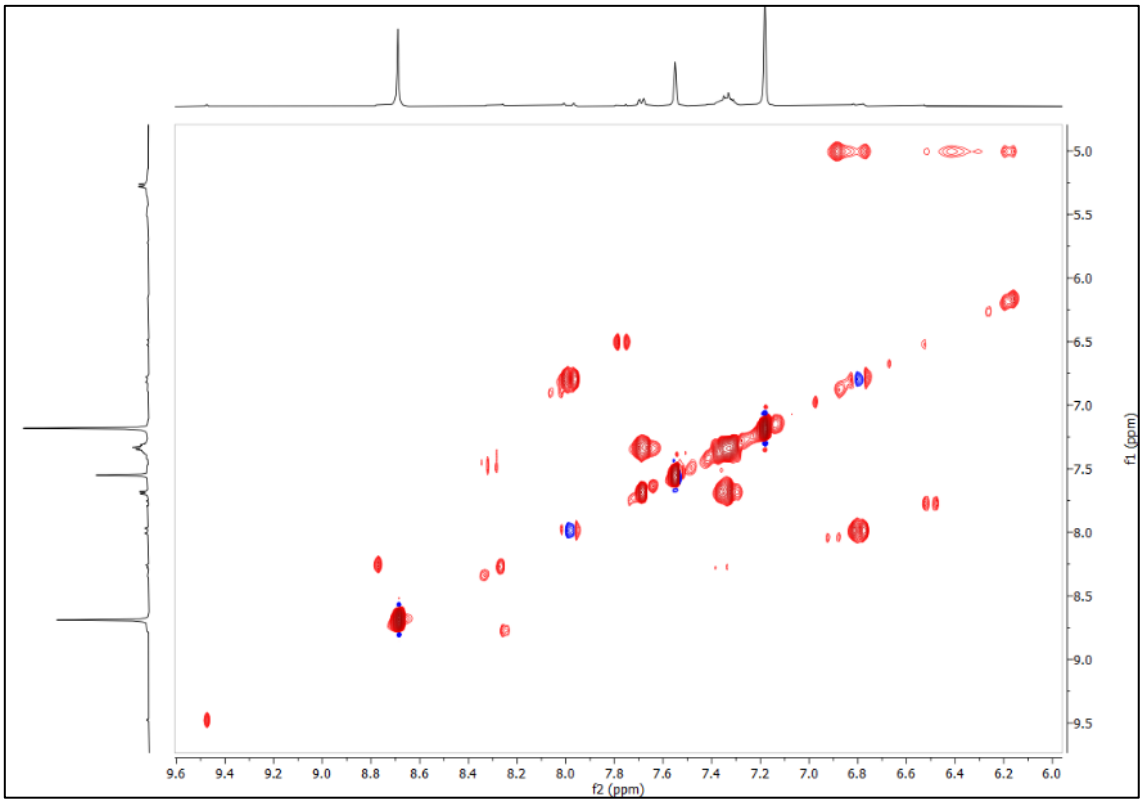


Figura S133. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 5,0-9,5 ppm e 6,0-9,6 ppm

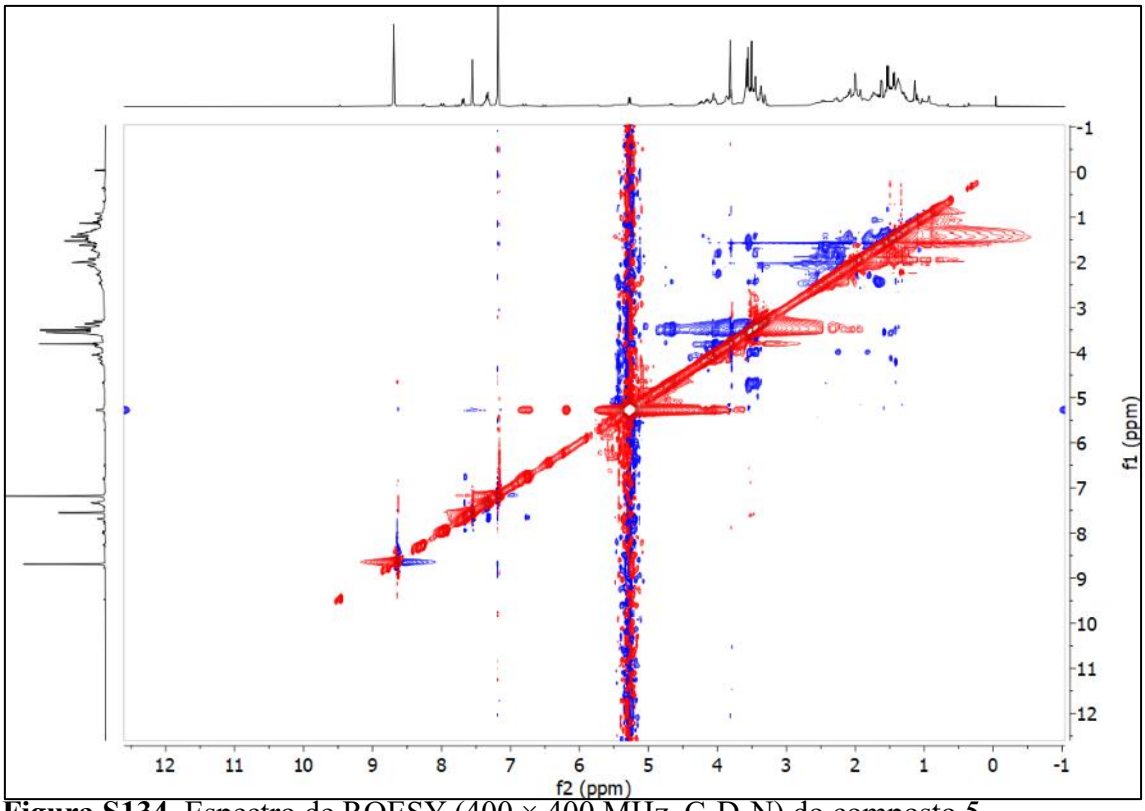


Figura S134. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5

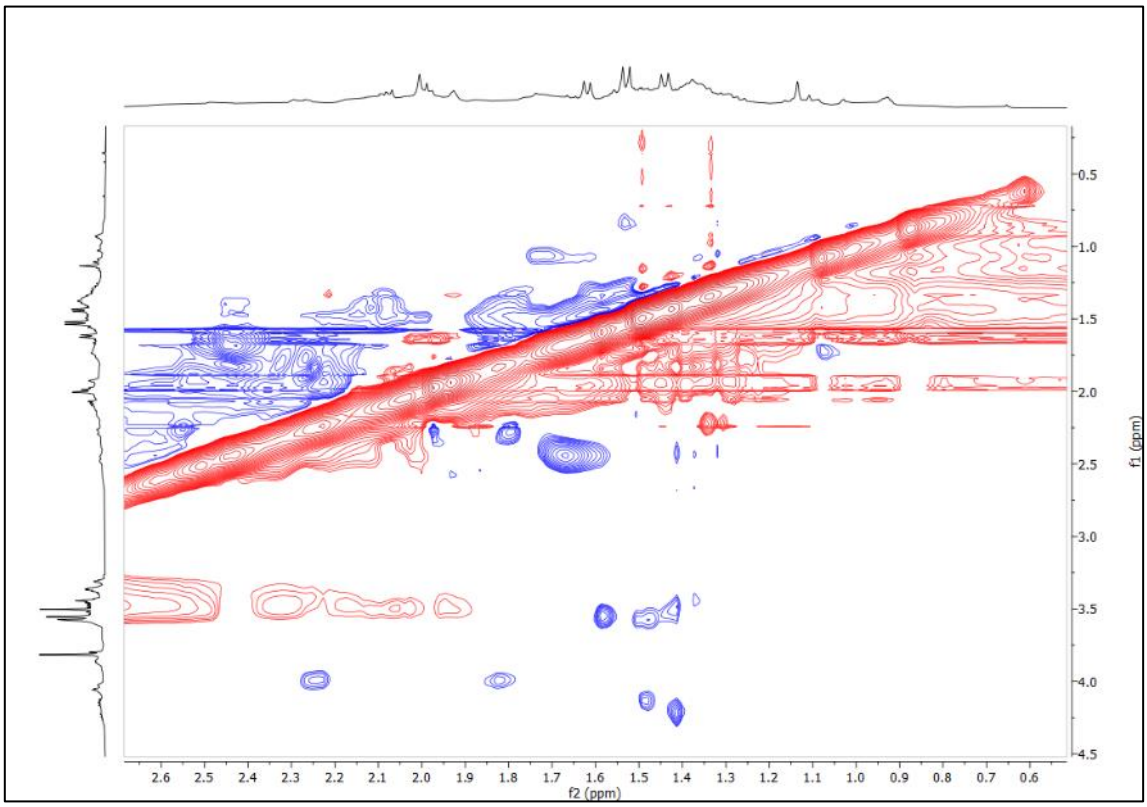


Figura S135. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 0,5-4,5 ppm e 0,6-2,6 ppm

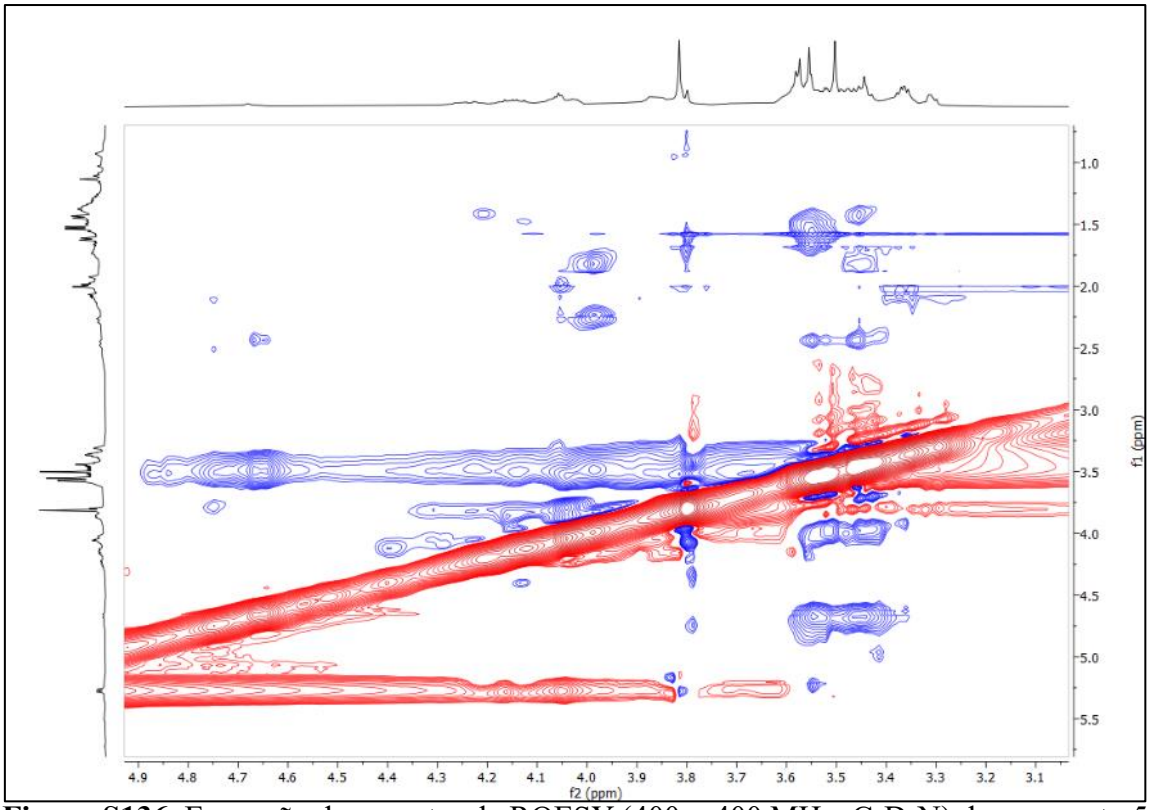


Figura S136. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 3,1-4,9 ppm

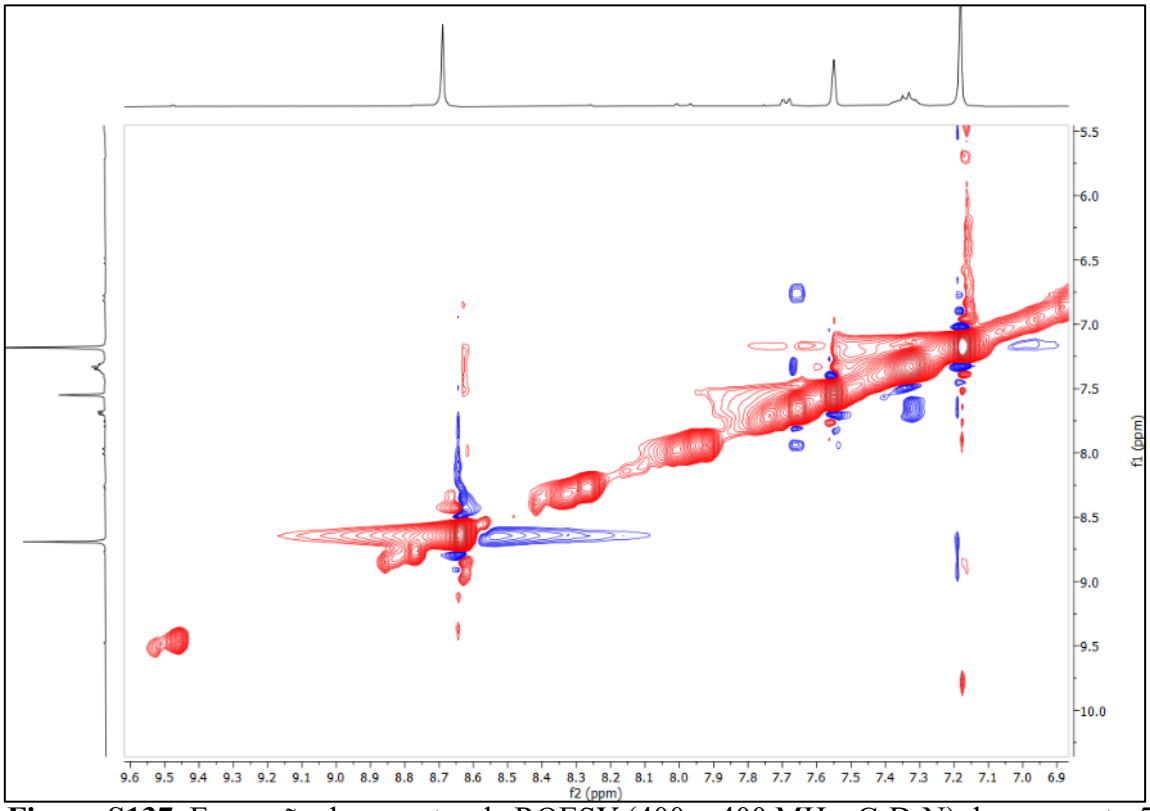


Figura S137. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 5 nas regiões de 5,5-10,0 ppm e 6,9-9,6 ppm

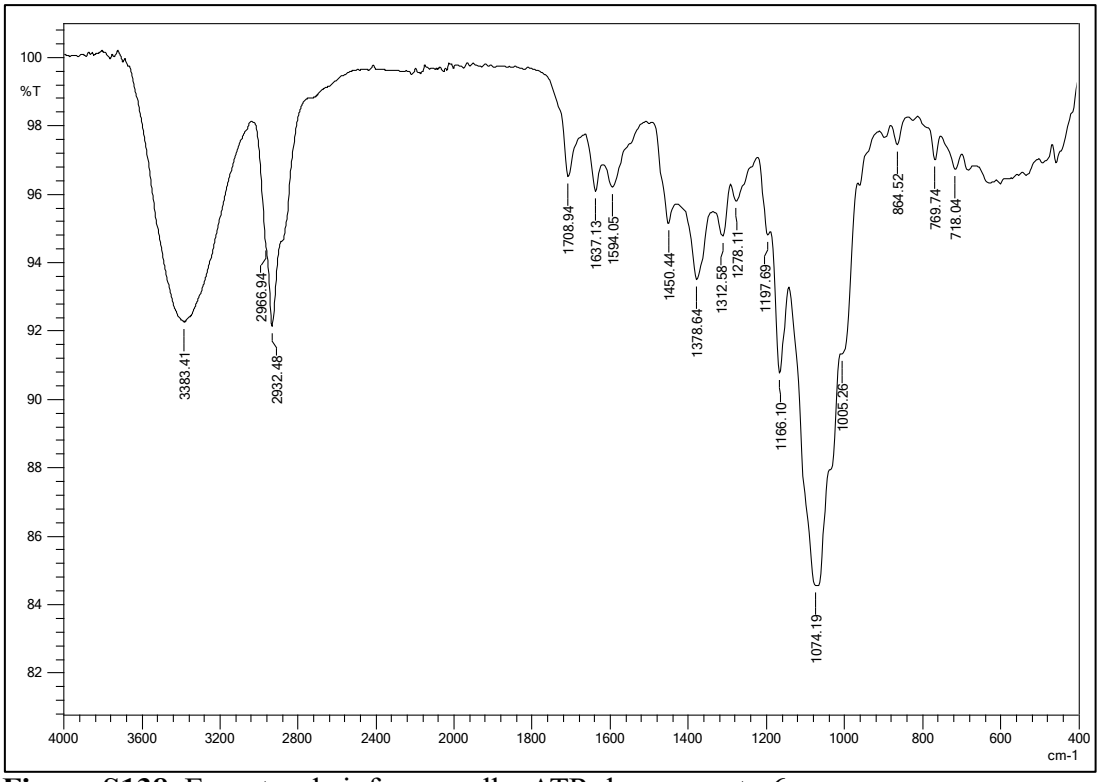


Figura S138. Espectro de infravermelho ATR do composto 6

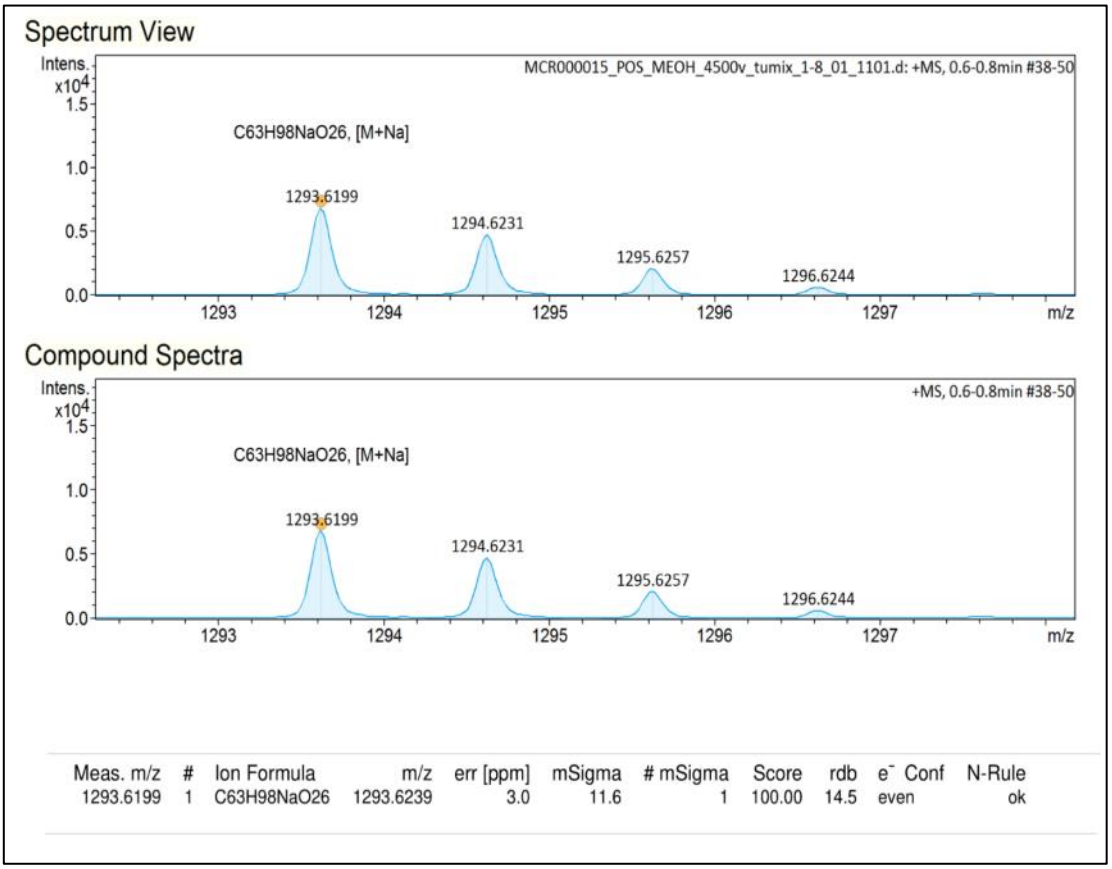


Figura S139. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 6

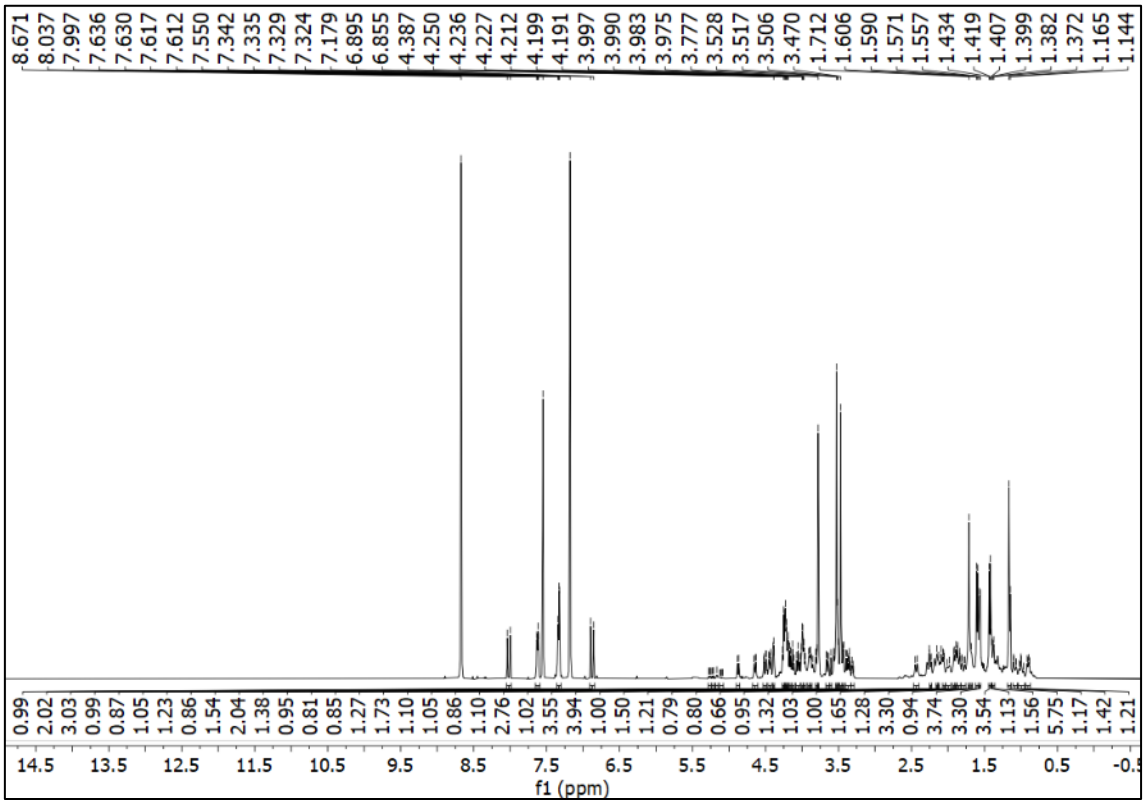


Figura S140. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 6

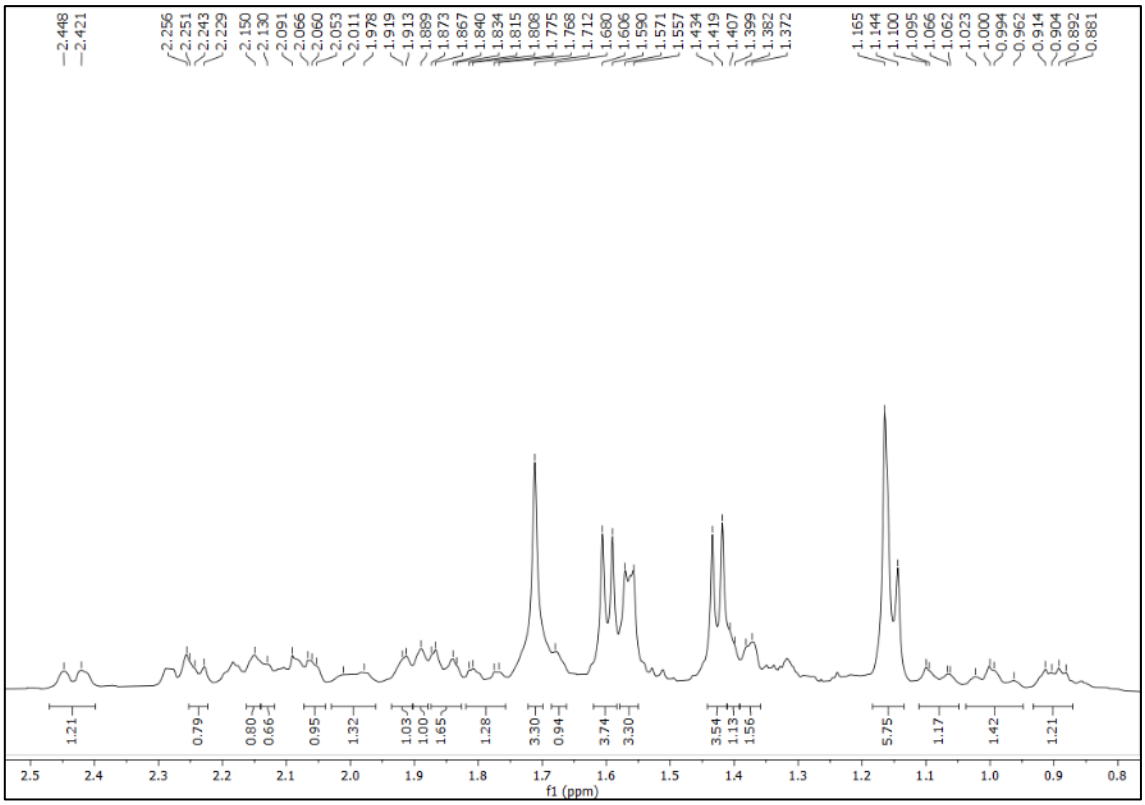


Figura S141. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 na região de 0,8-2,5 ppm

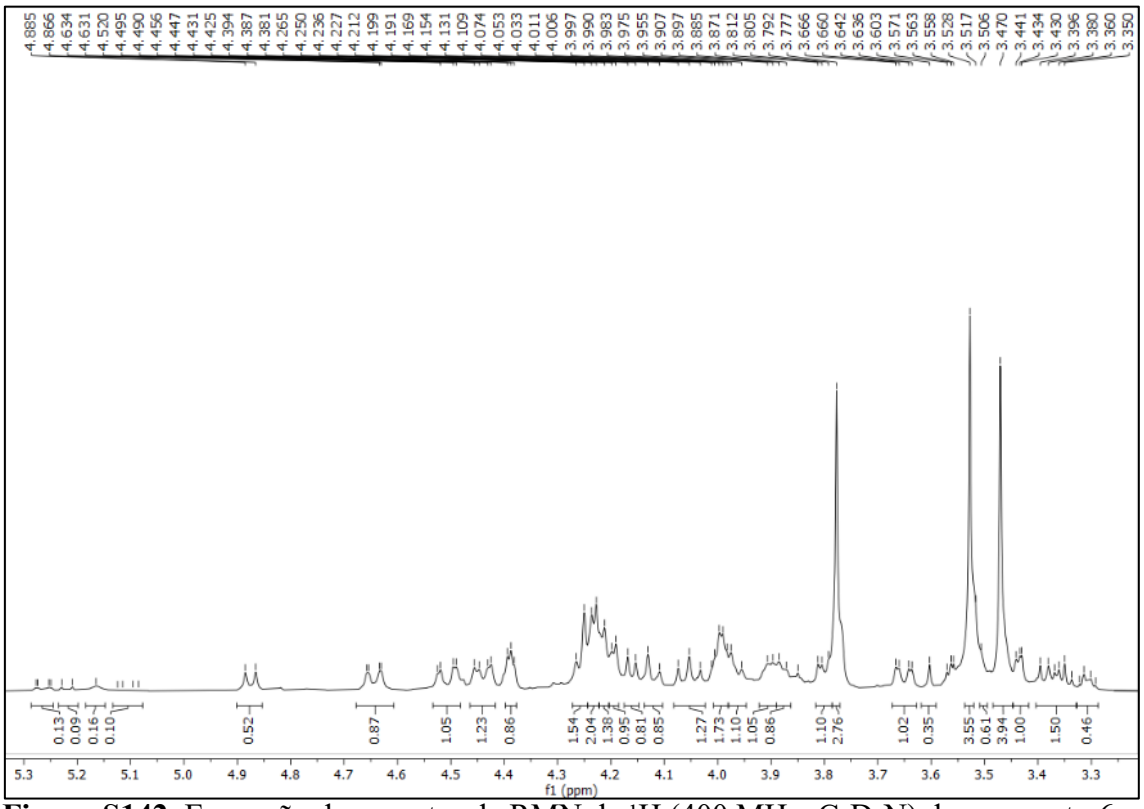


Figura S142. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 na região de 3,3-5,3 ppm

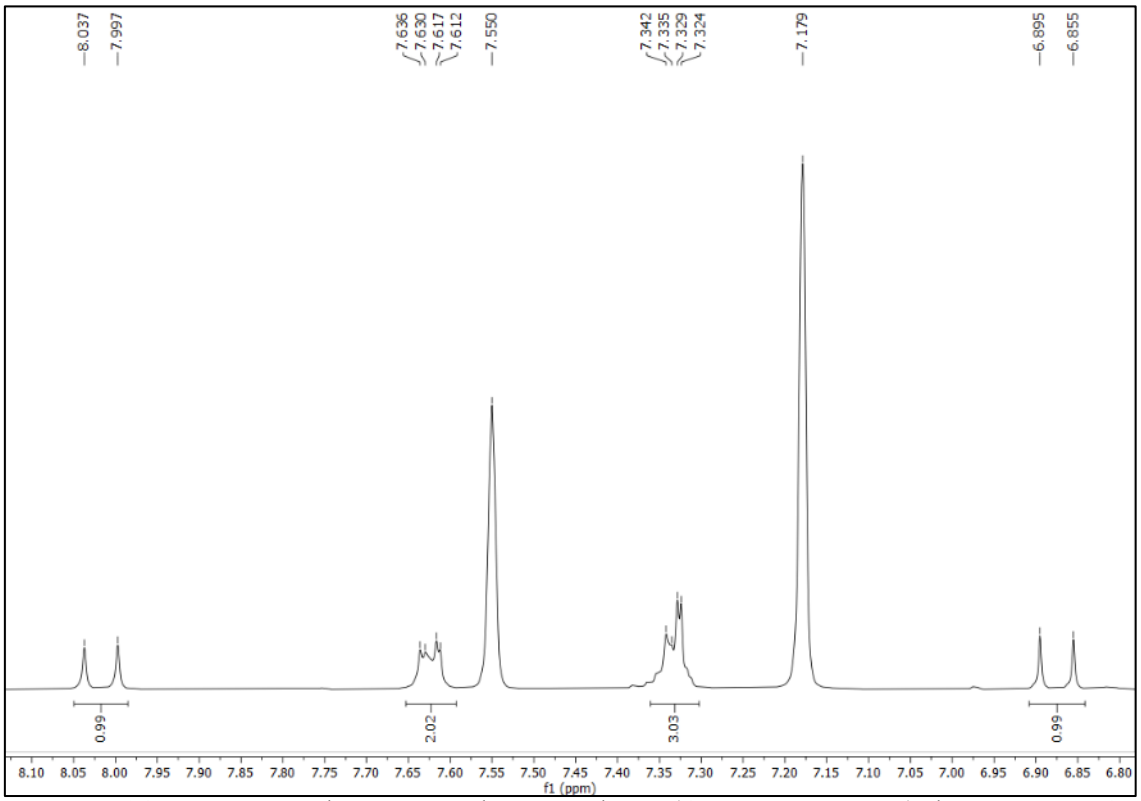


Figura S143. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 na região de 6,8-8,1 ppm

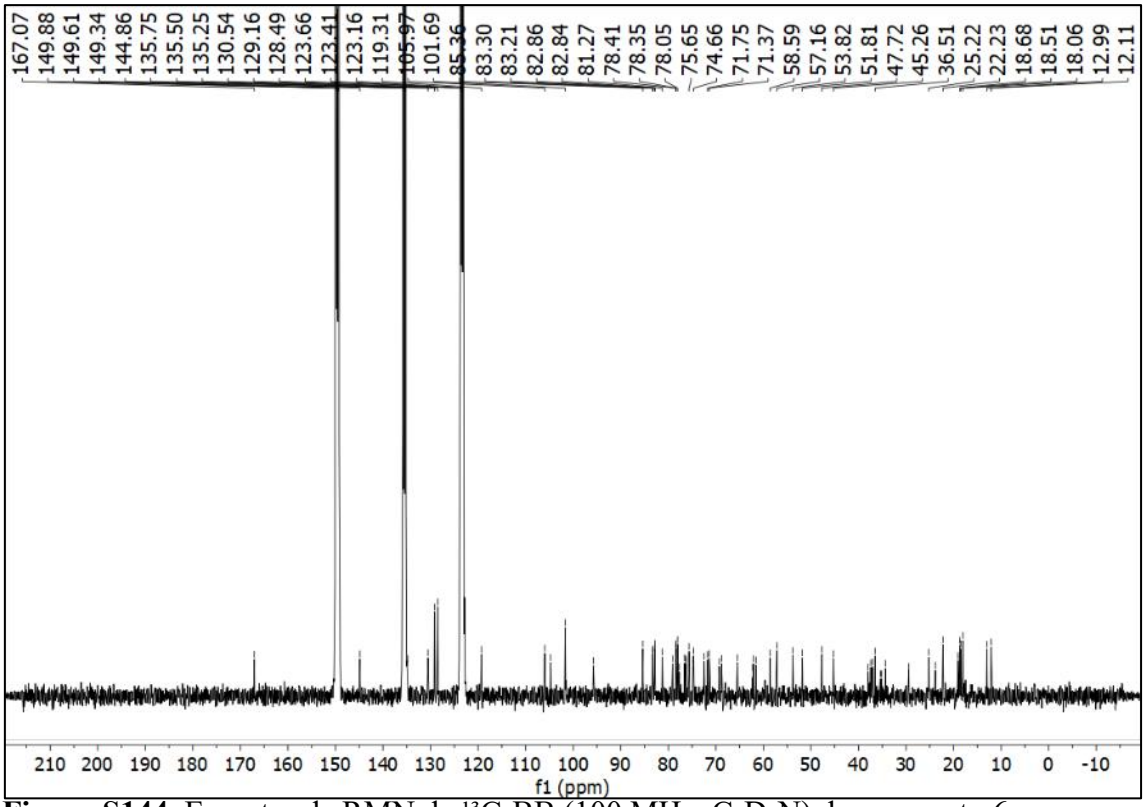


Figura S144. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 6

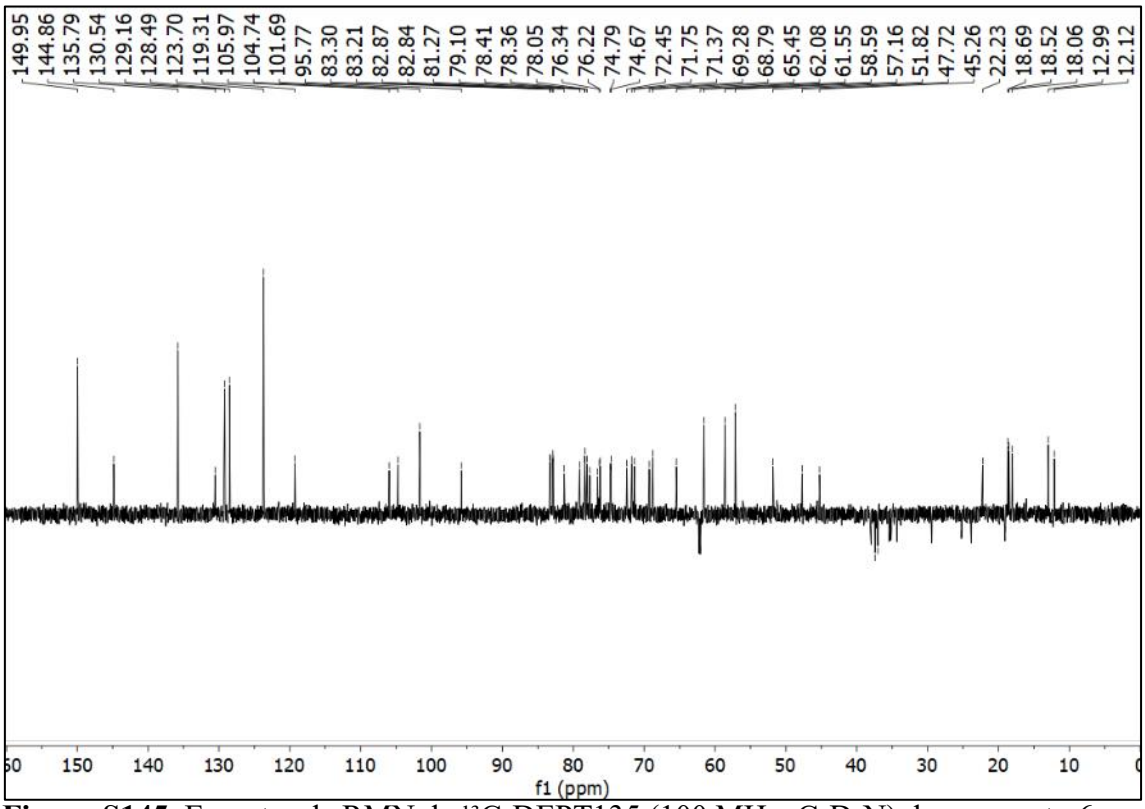


Figura S145. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 6

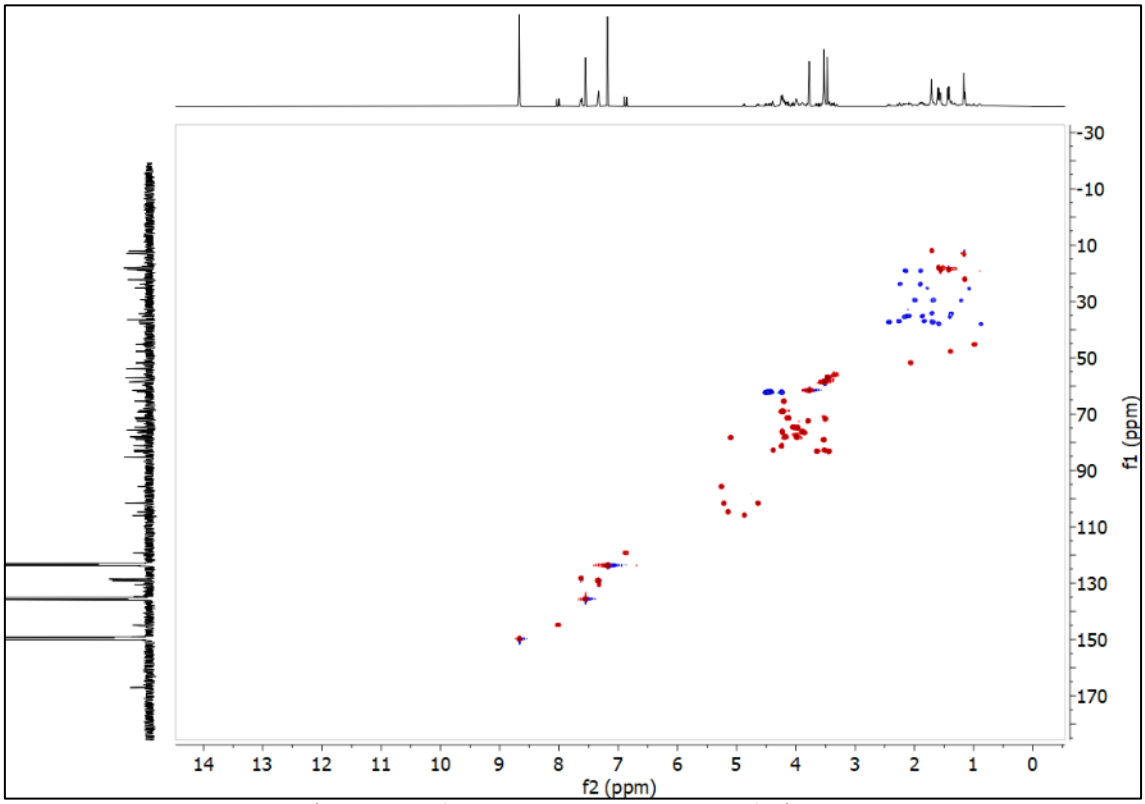


Figura S146. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6

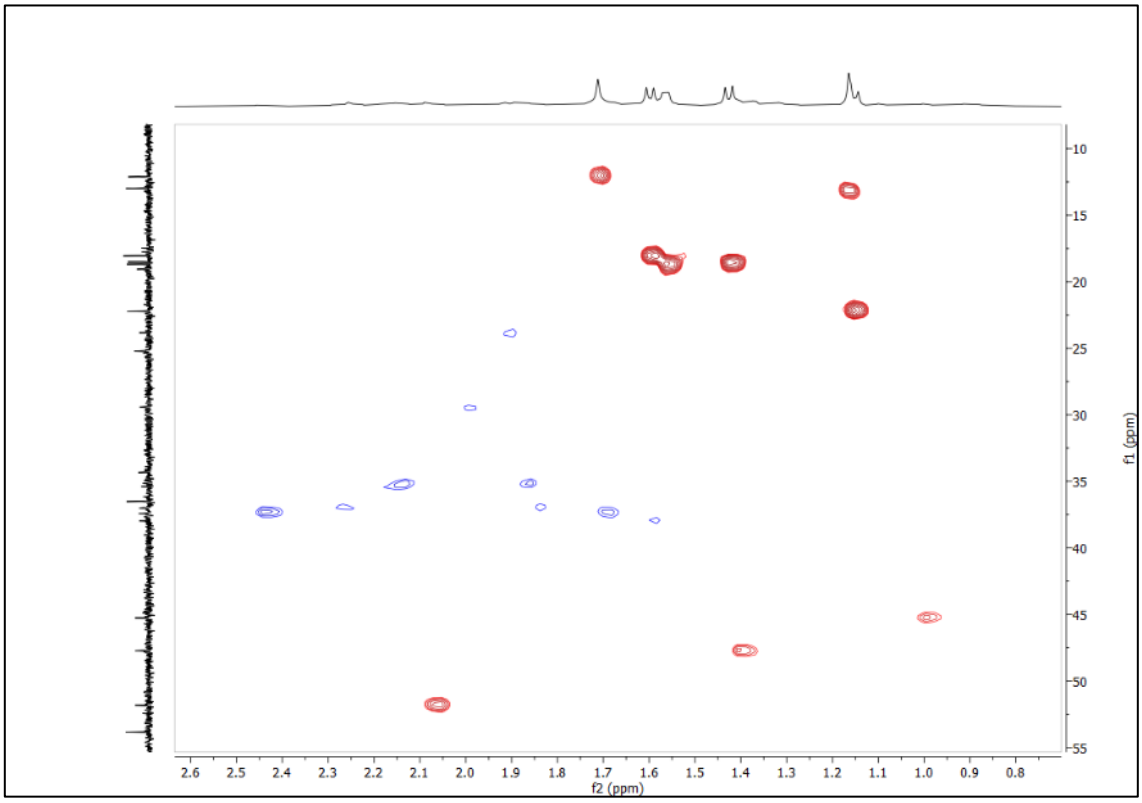


Figura S147. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 10-55 e 0,8-2,6 ppm

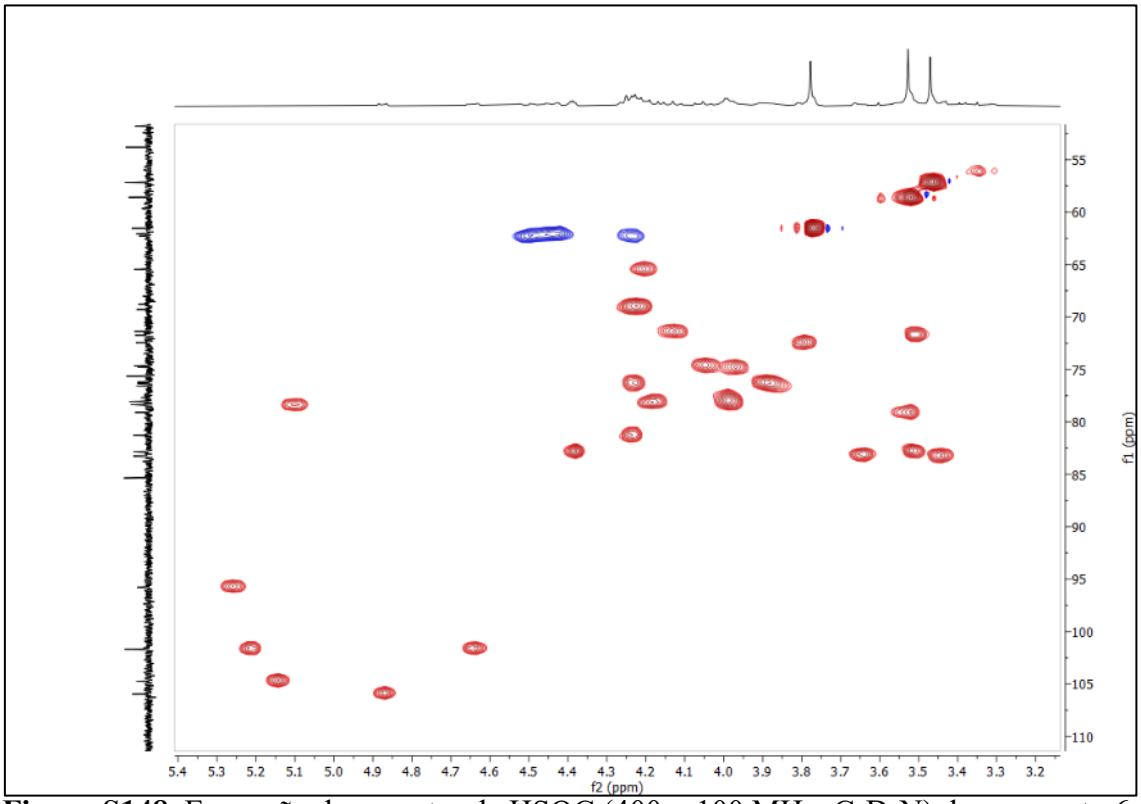


Figura S148. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 55-110 e 3,2-5,4 ppm

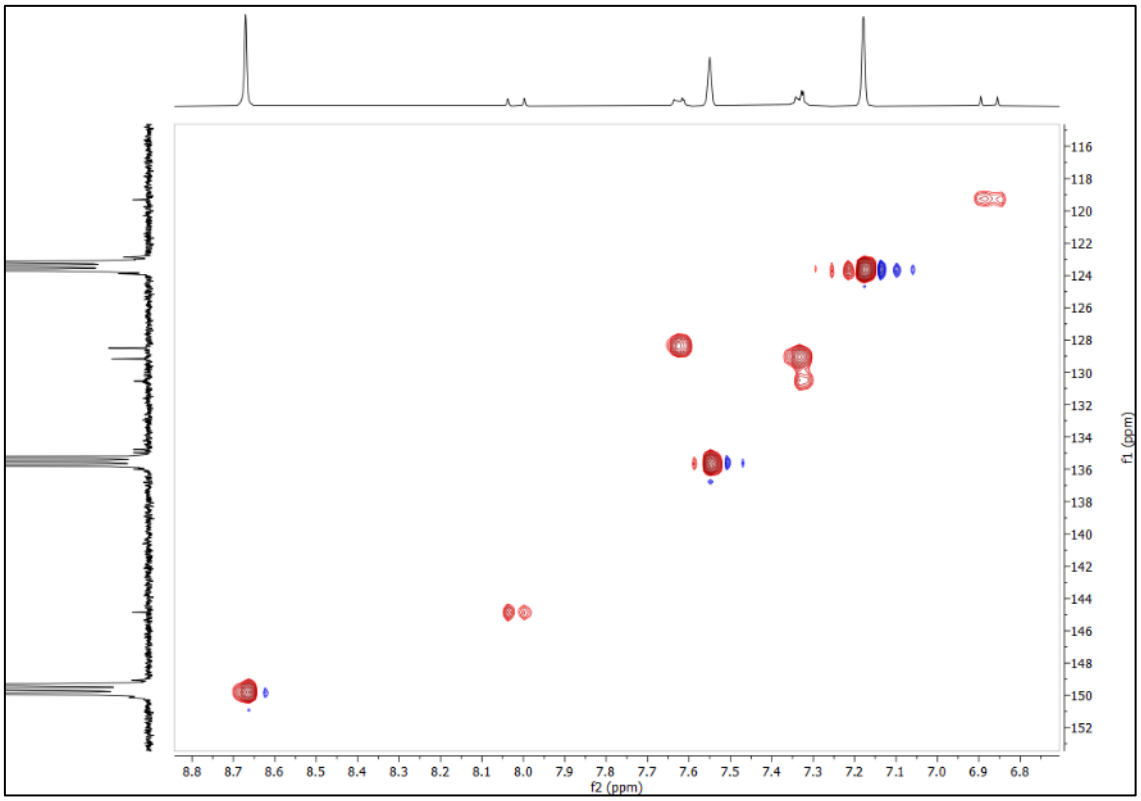


Figura S149. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 116-152 e 6,8-8,8 ppm

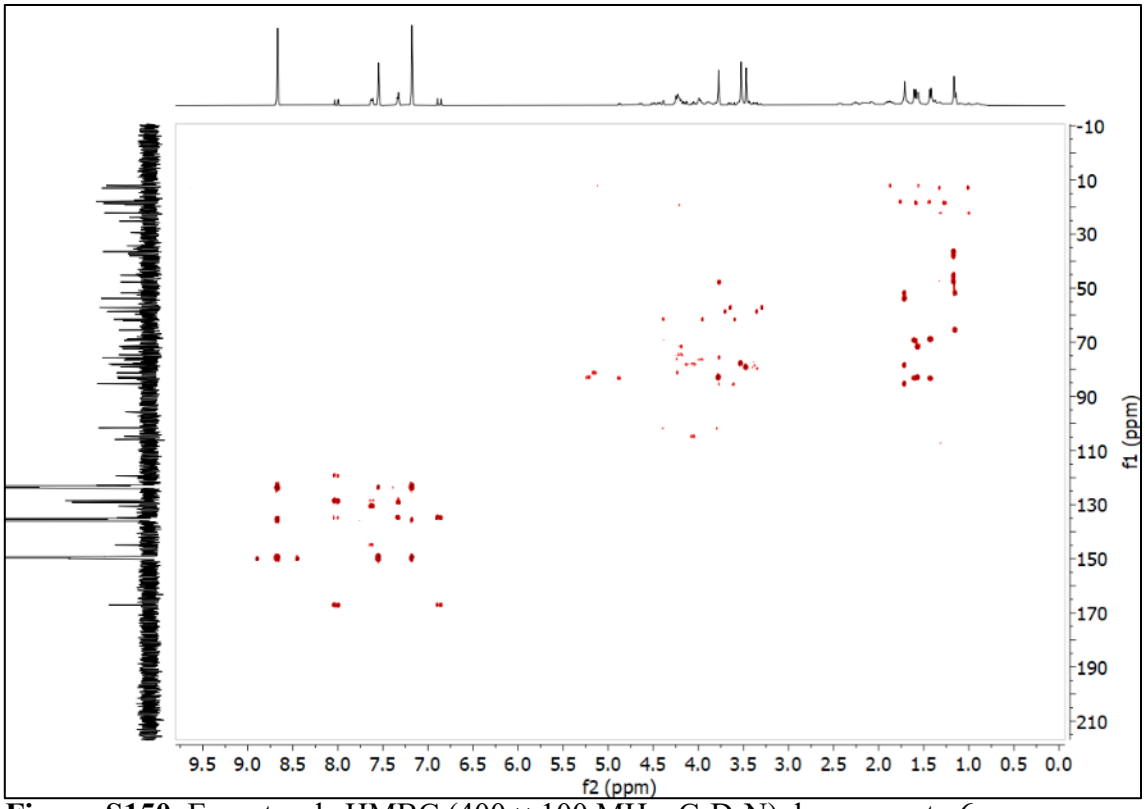


Figura S150. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6

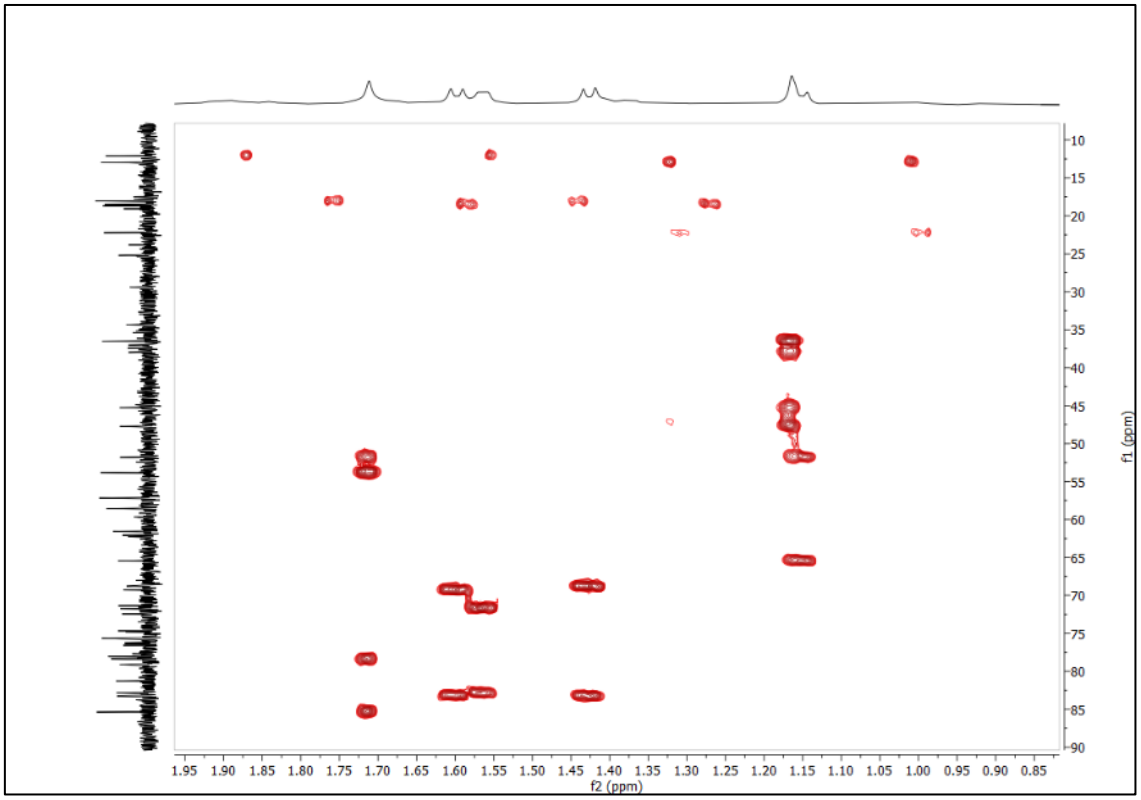


Figura S151. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 10-90 ppm e 0,85-1,95 ppm

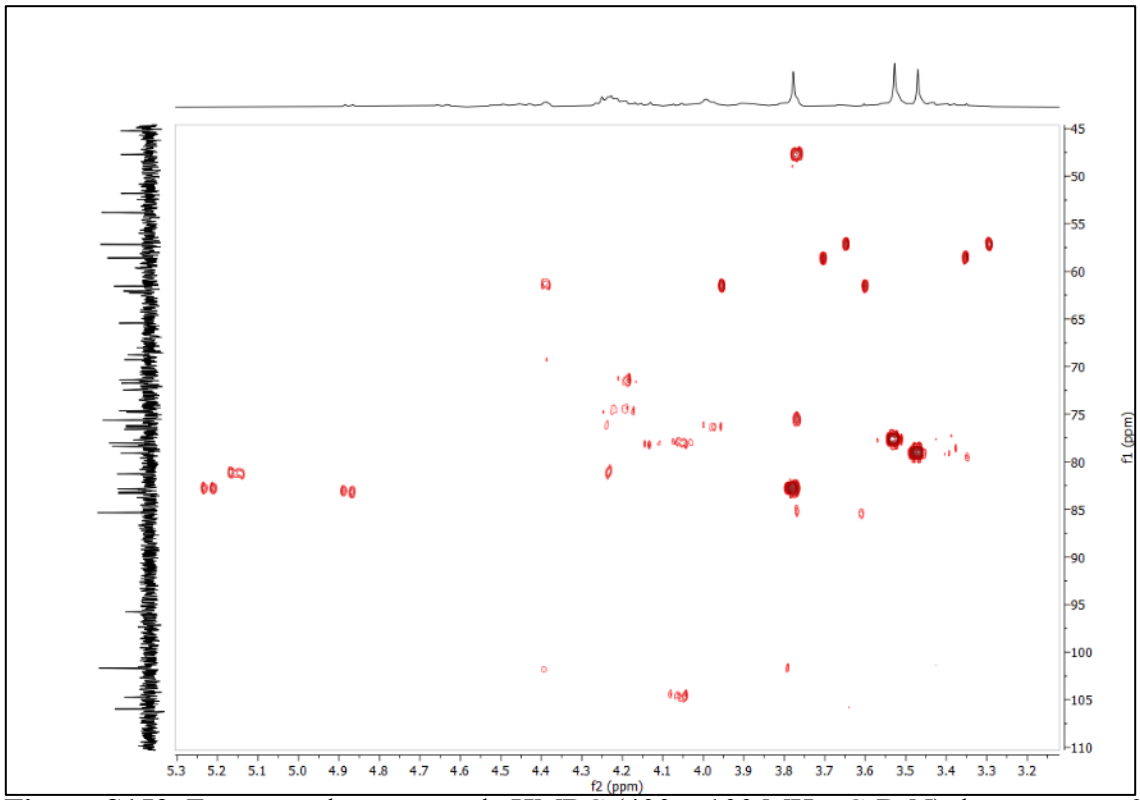


Figura S152. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 45-110 ppm e 3,2-5,3 ppm

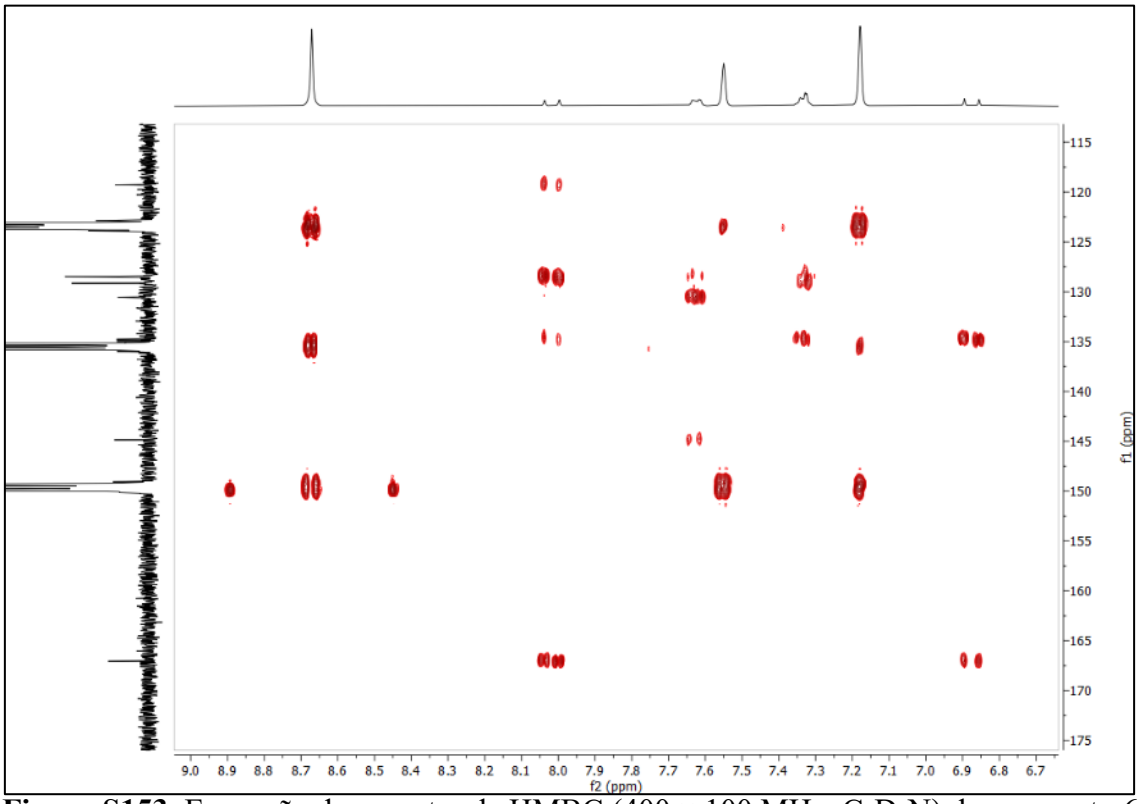


Figura S153. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 115-175 ppm e 6,7-9,0 ppm

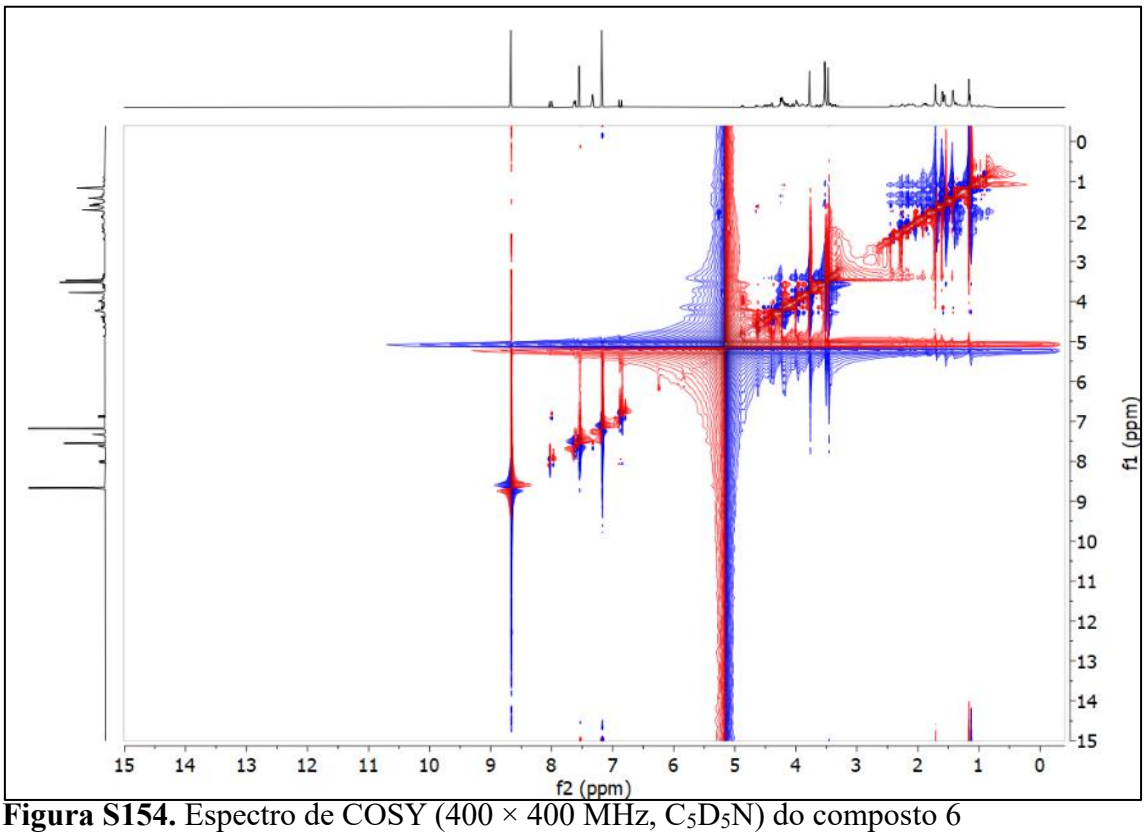


Figura S154. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6

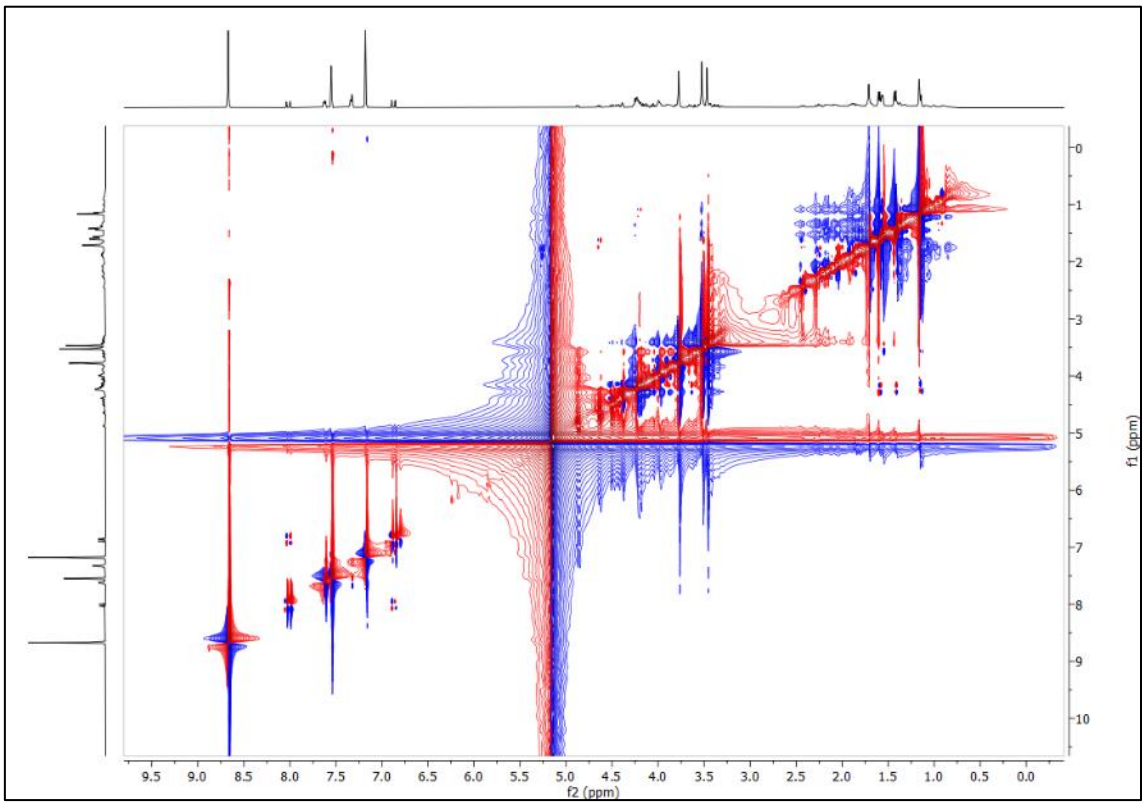


Figura S155. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 0-10 ppm e 0,0-9,5 ppm

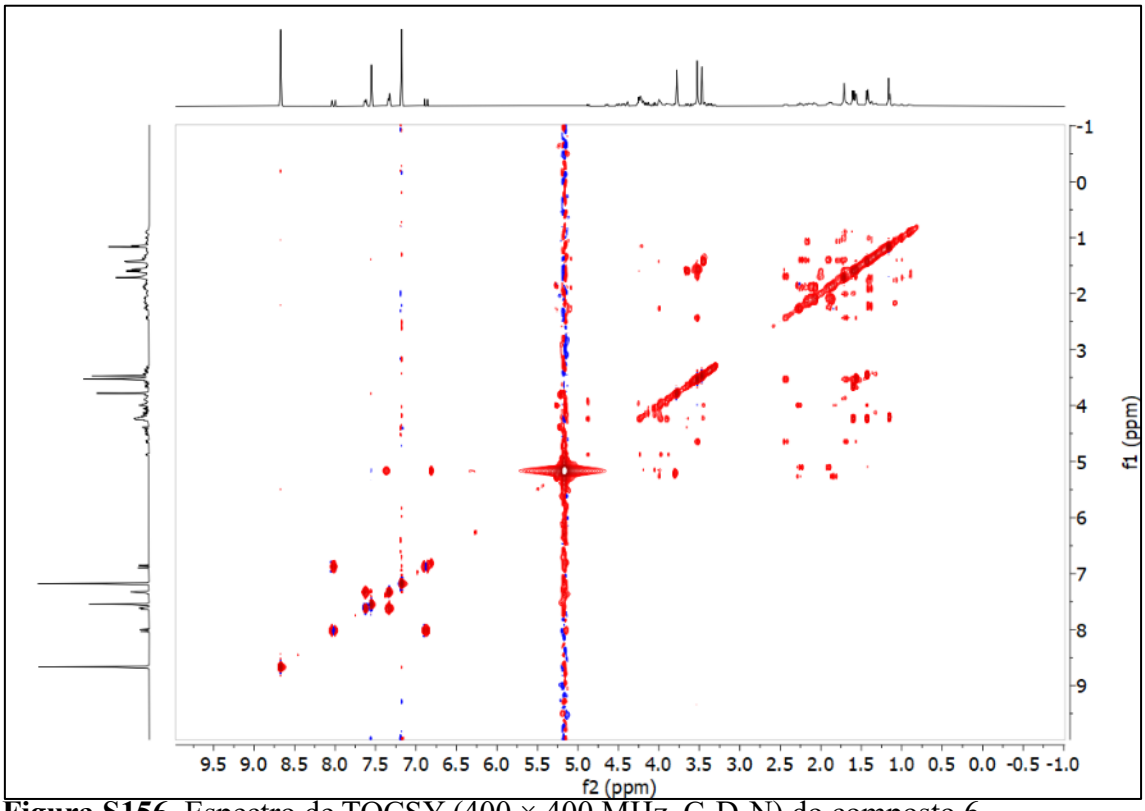


Figura S156. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6

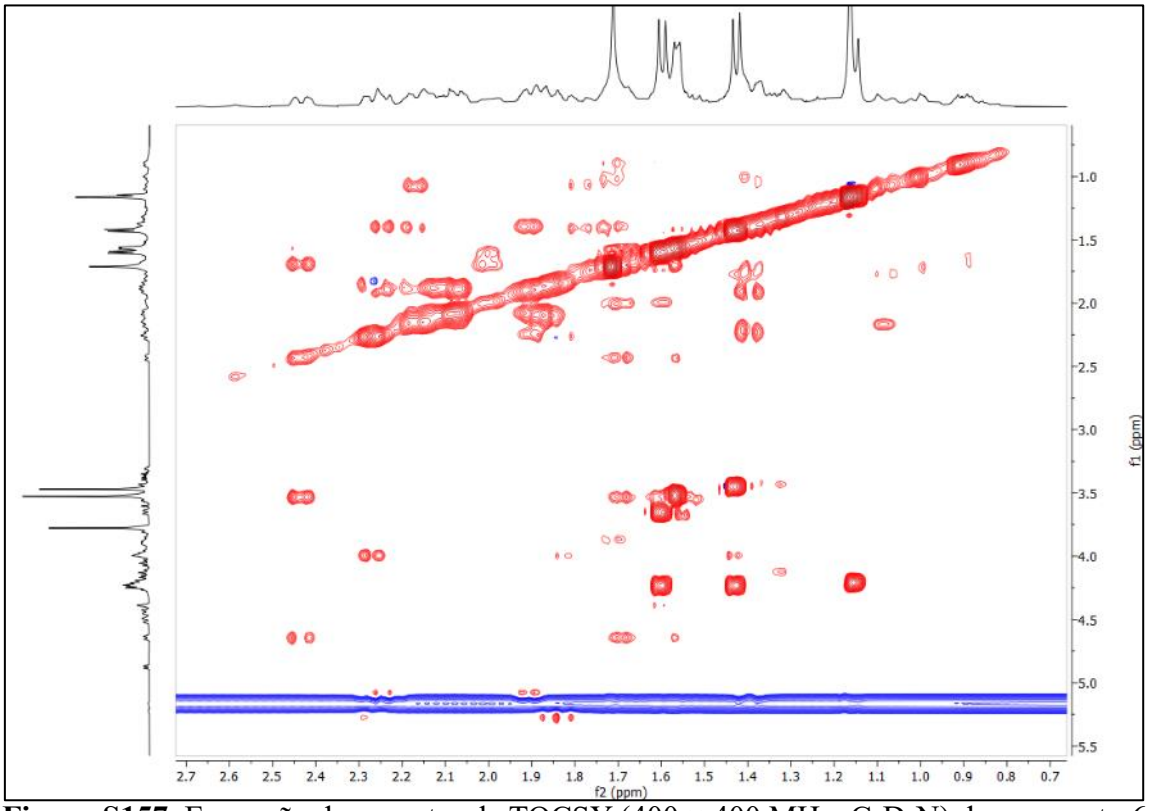


Figura S157. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,7-2,7 ppm

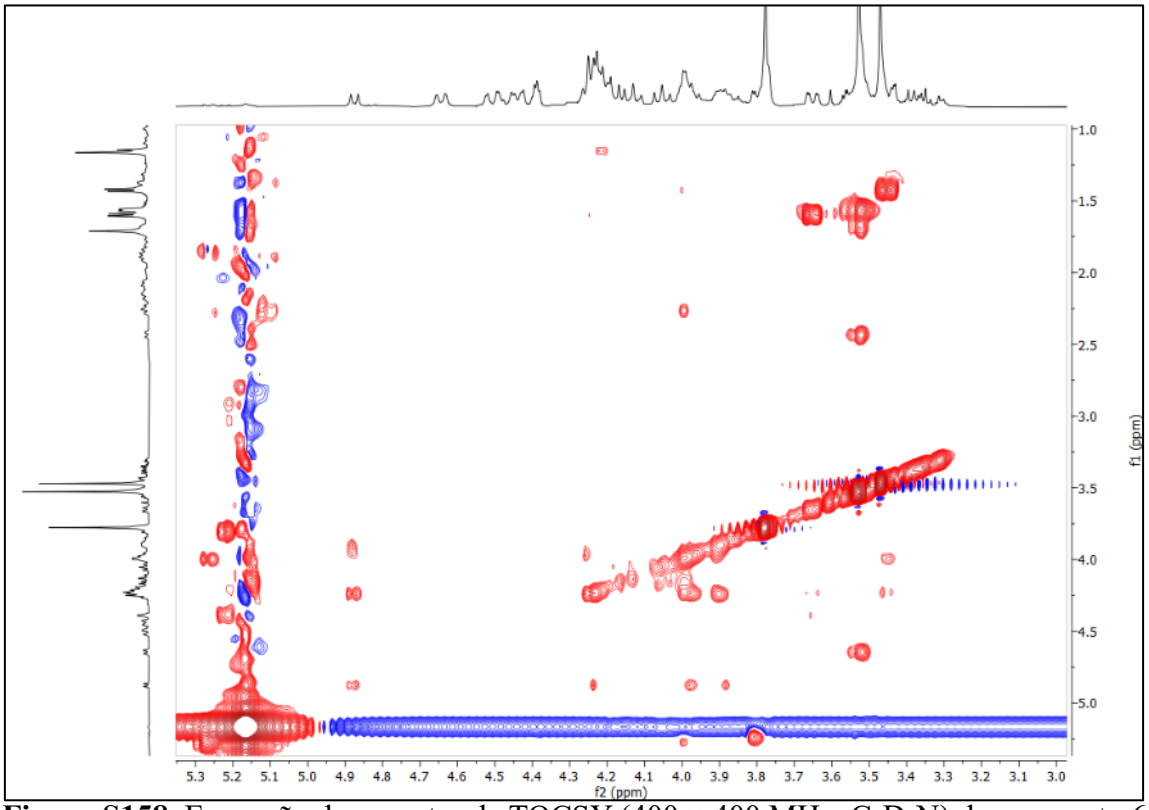


Figura S158. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 1,0-5,0 ppm e 3,0-5,3 ppm

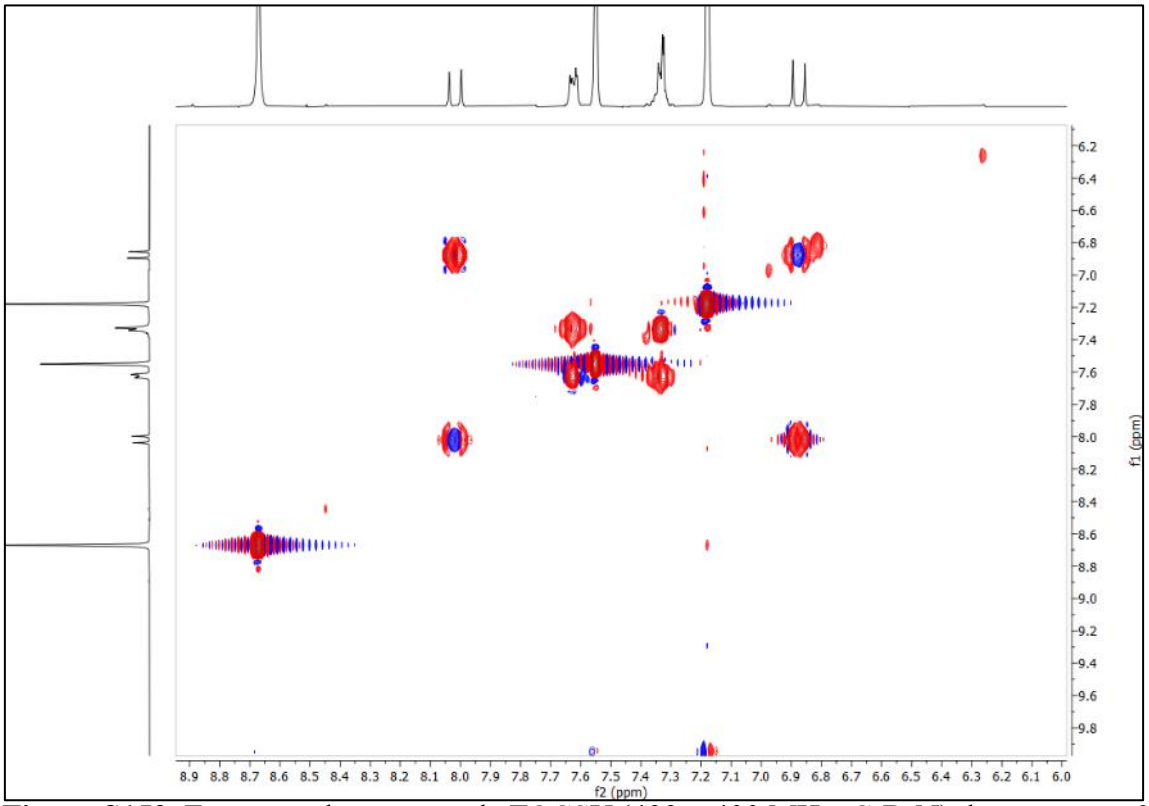


Figura S159. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 6,2-9,8 ppm e 6,0-8,9 ppm

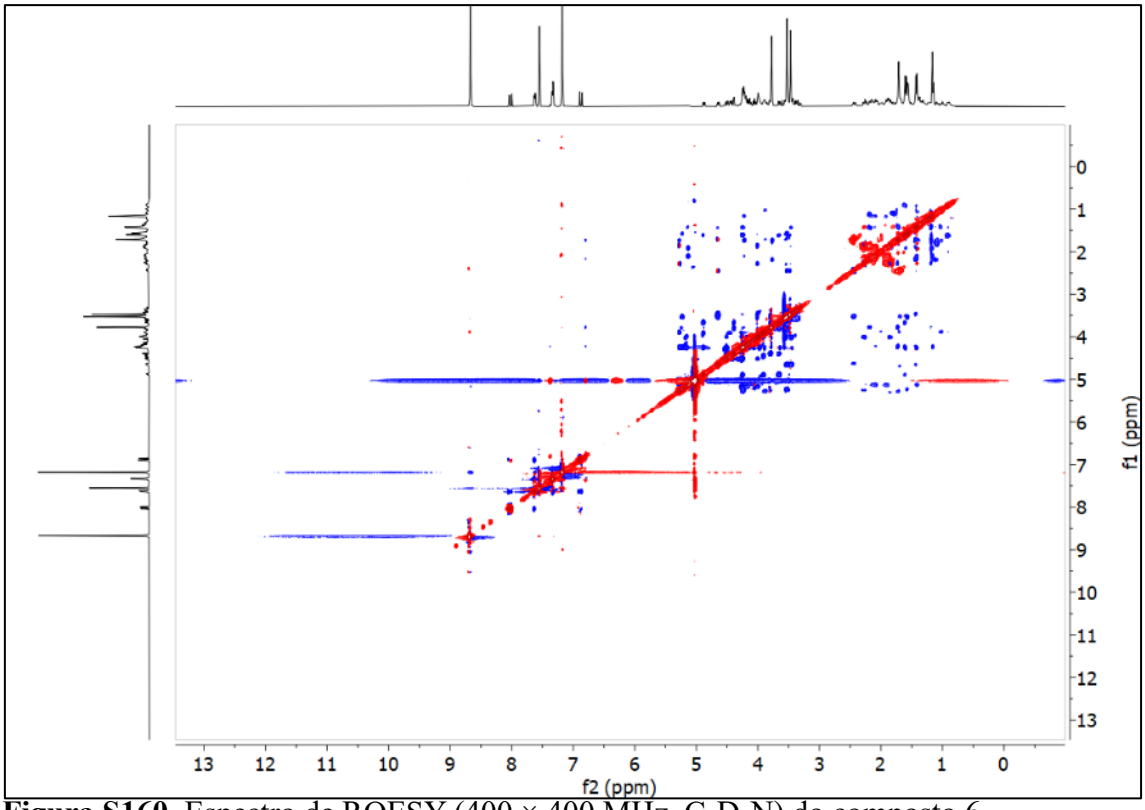


Figura S160. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6

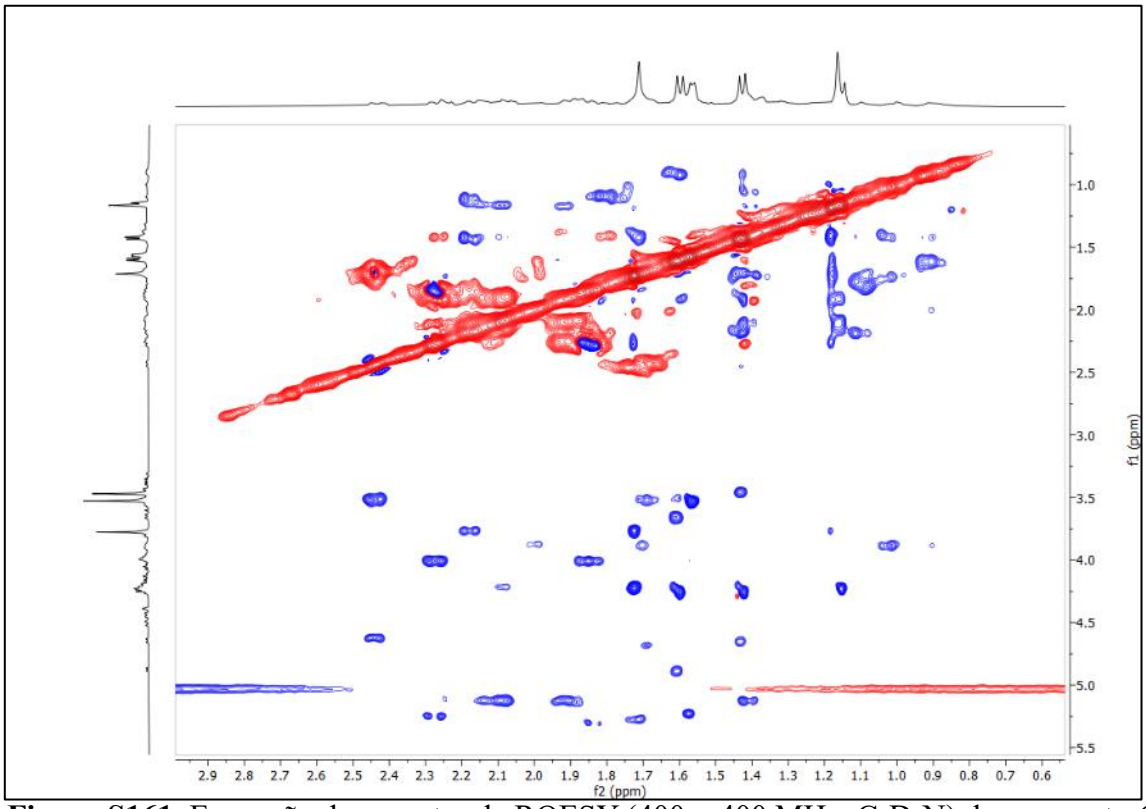


Figura S161. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,6-2,9 ppm

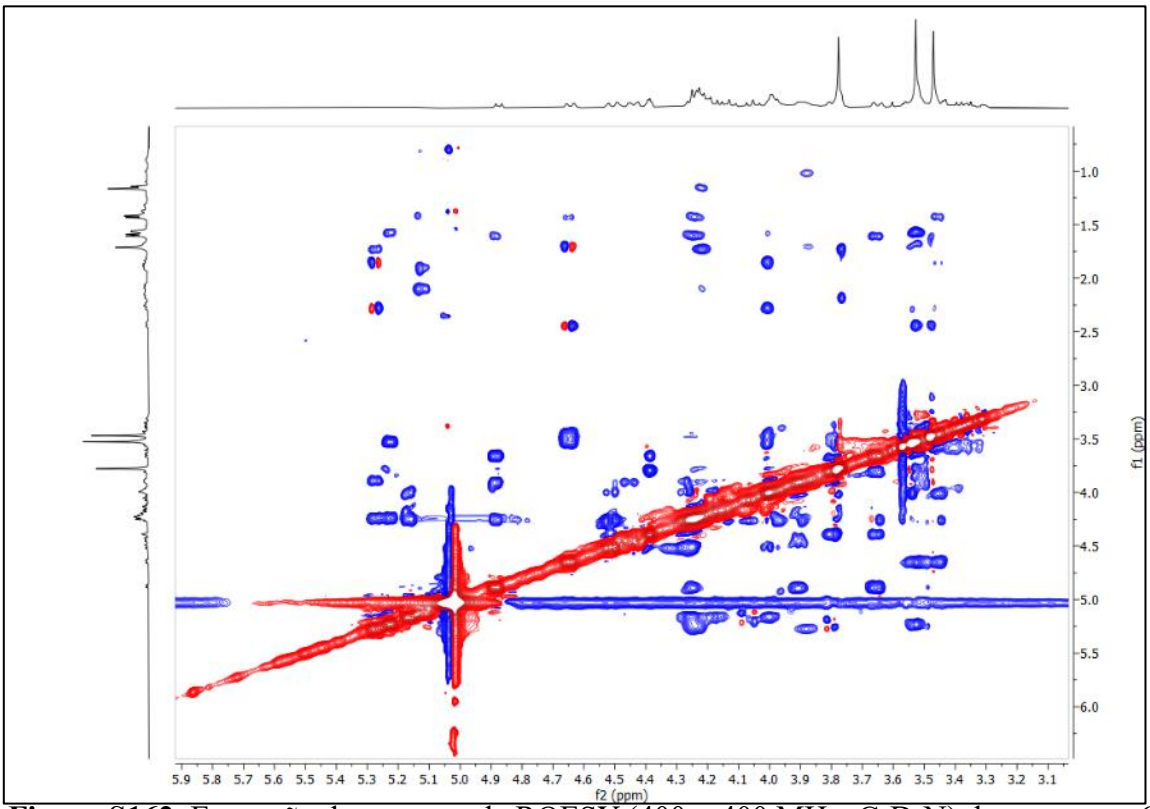


Figura S162. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 1,0-6,0 ppm e 3,0-5,9 ppm

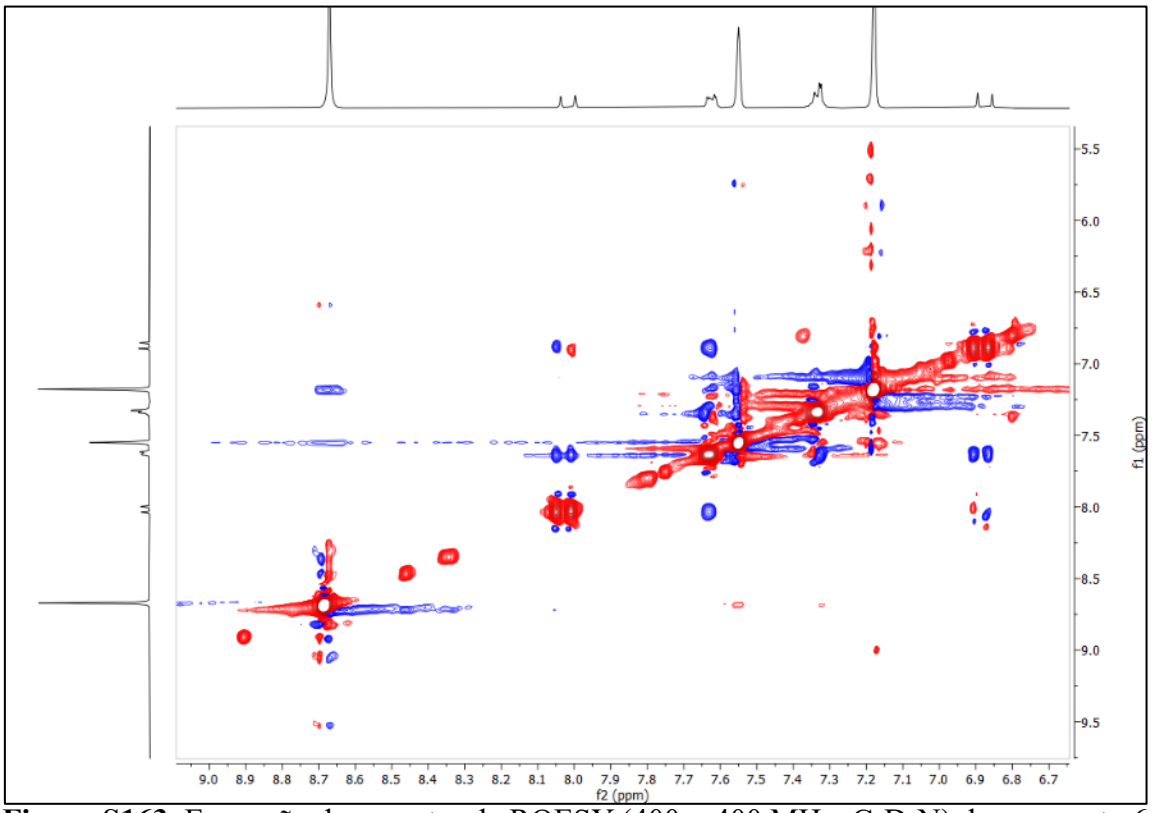


Figura S163. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 6 nas regiões de 5,5-9,5 ppm e 6,7-9,0 ppm

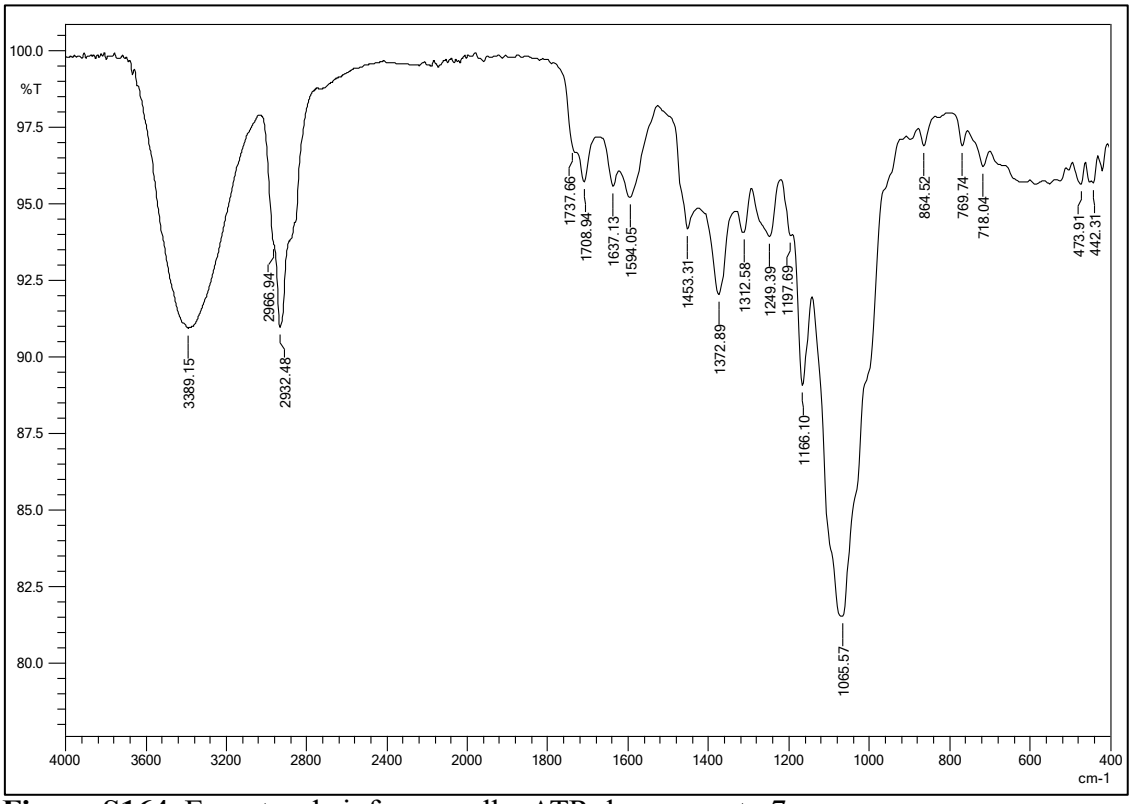


Figura S164. Espectro de infravermelho ATR do composto 7

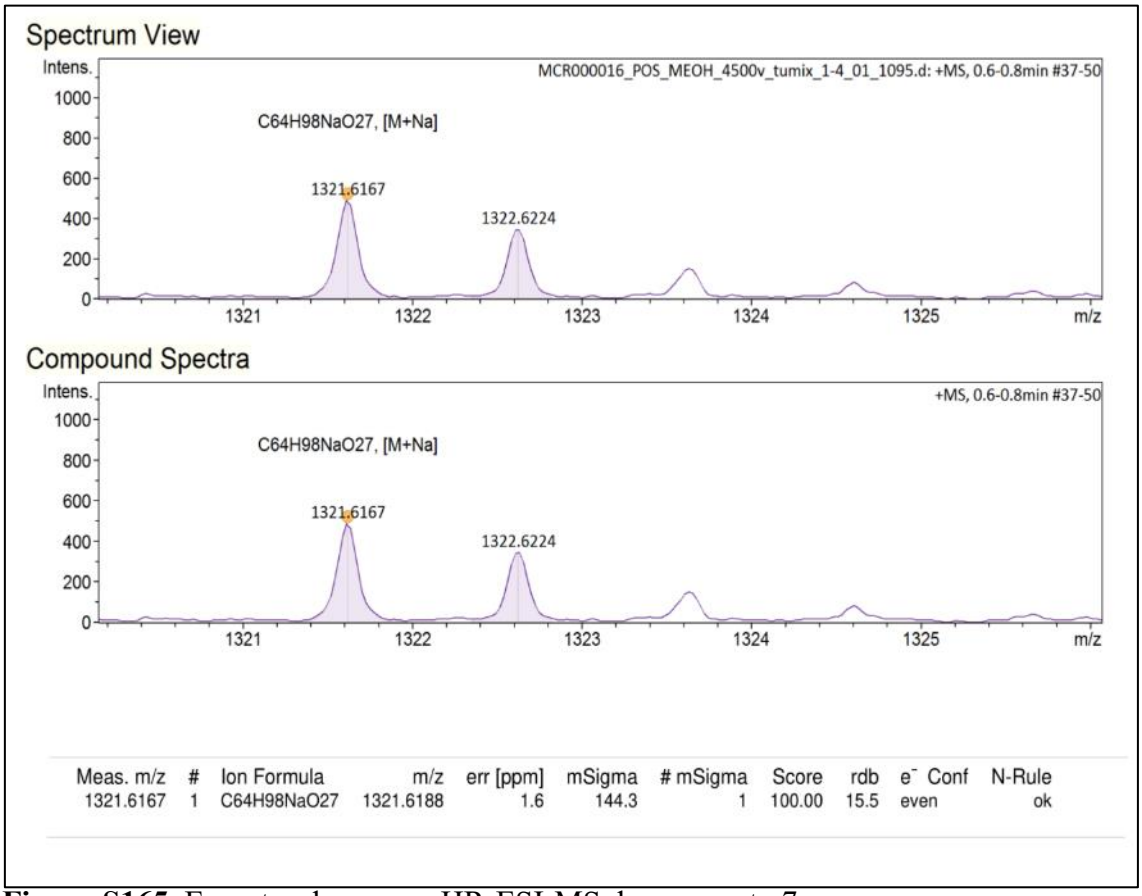


Figura S165. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 7

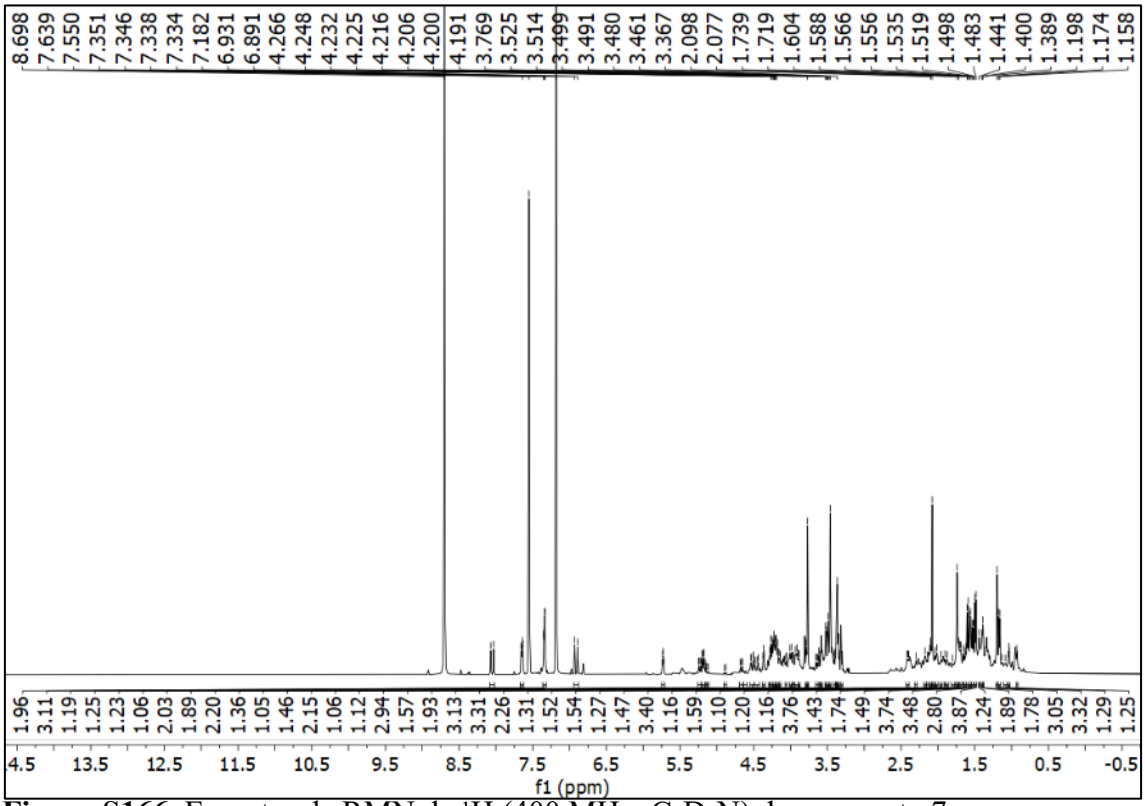


Figura S166. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 7

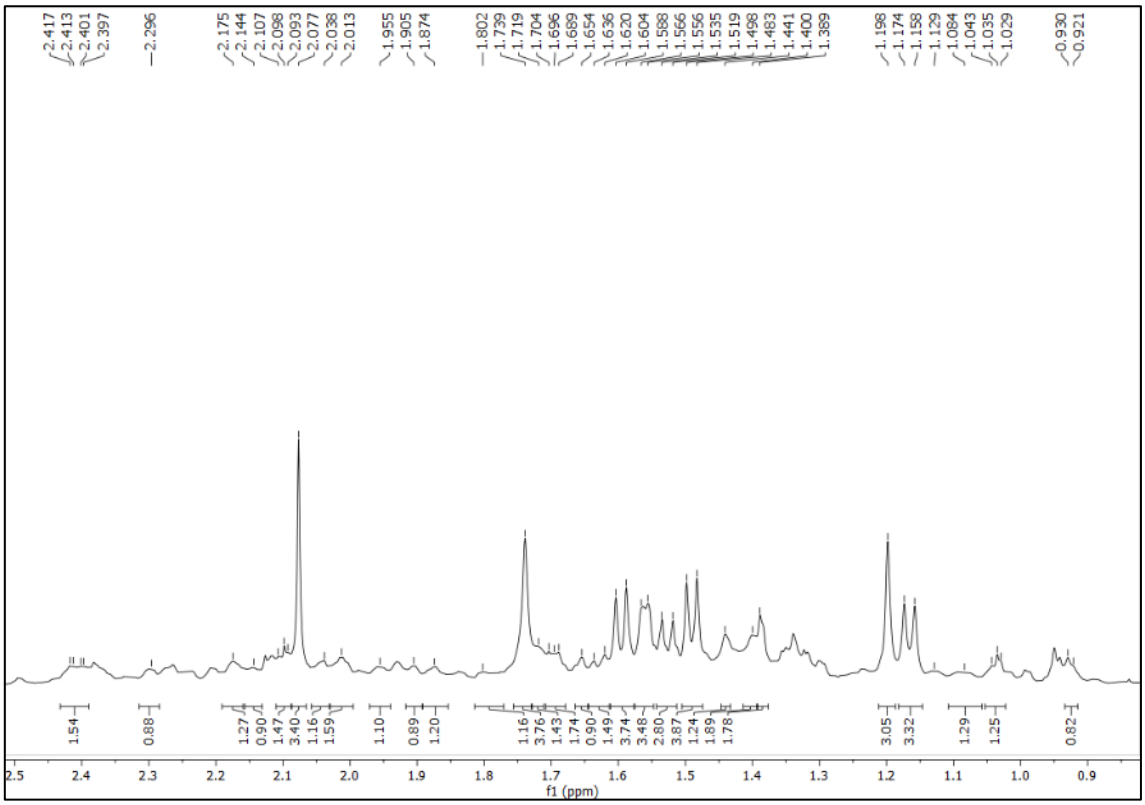


Figura S167. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 na região de 0,9-2,5 ppm

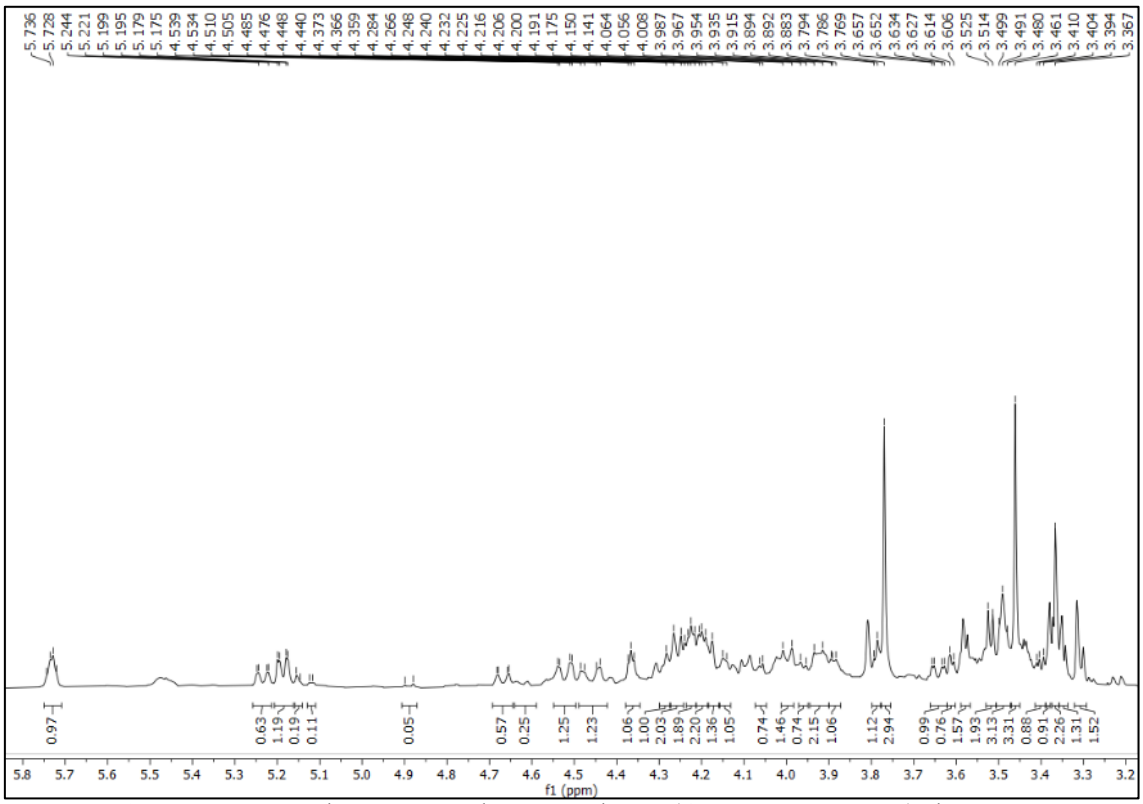


Figura S168. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 na região de 3,2-5,8 ppm

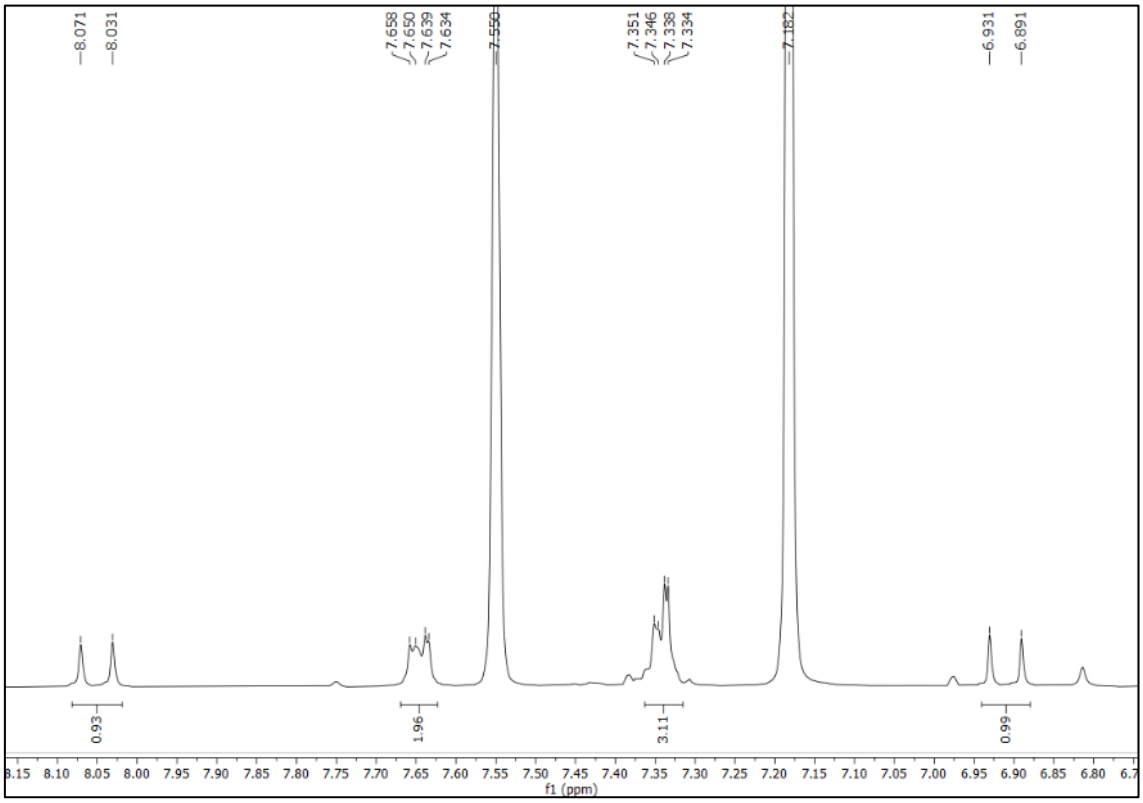


Figura S169. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 na região de 6,70-8,15 ppm

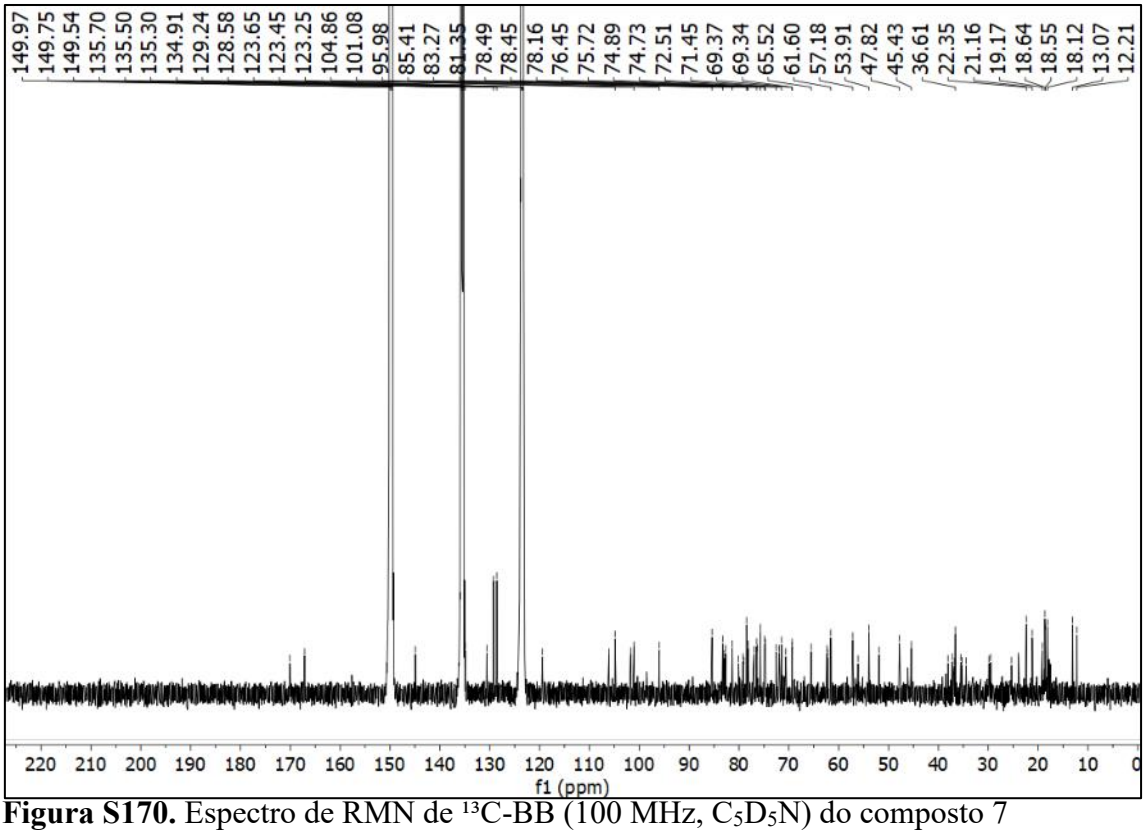


Figura S170. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 7

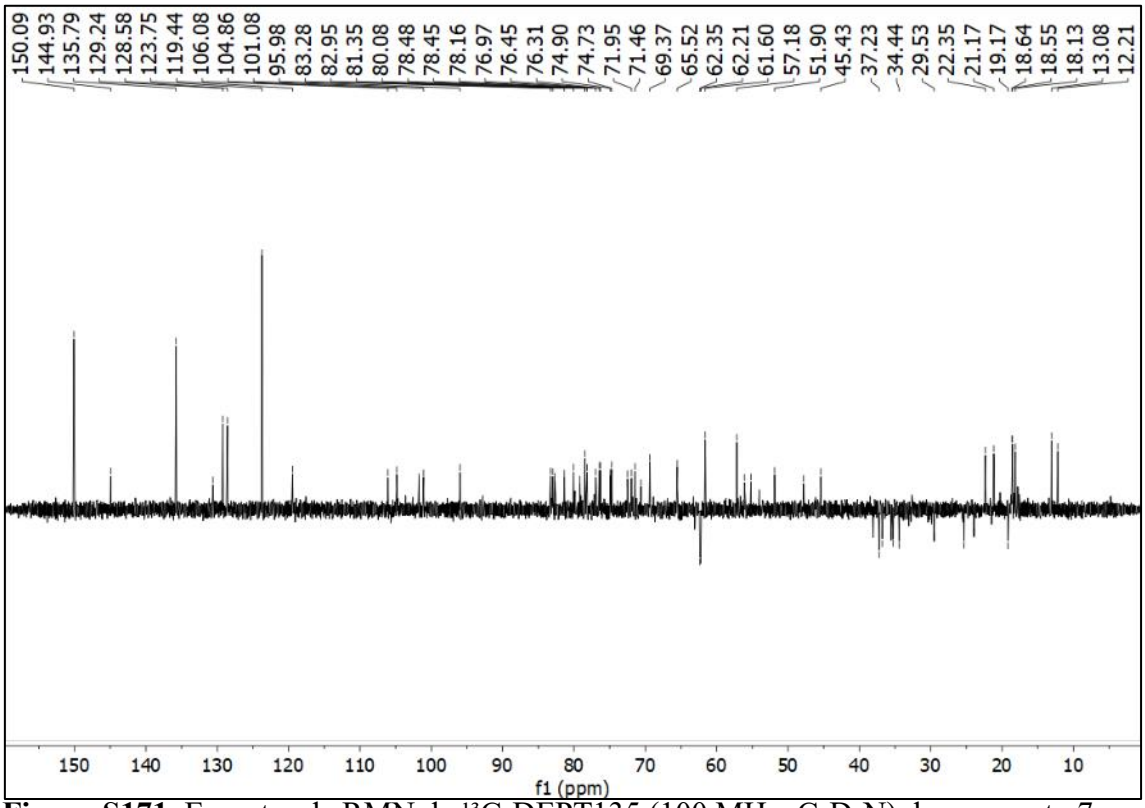


Figura S171. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 7

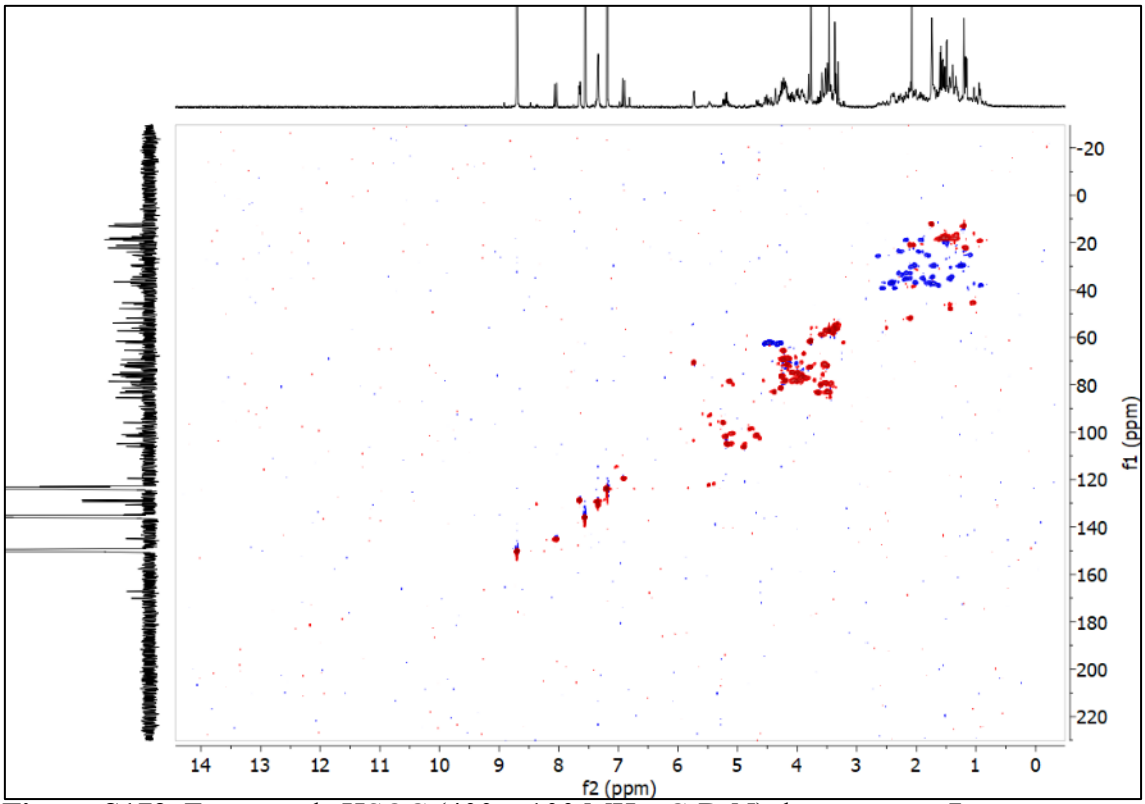


Figura S172. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7

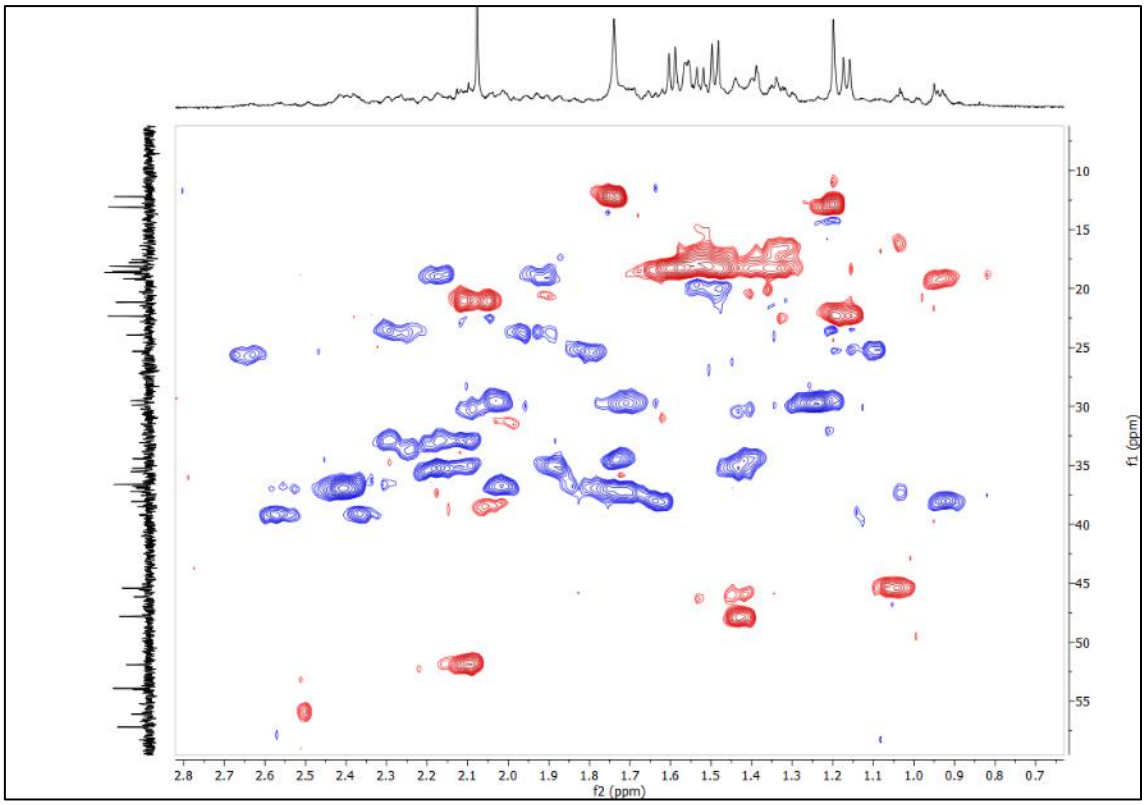


Figura S173. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 10-55 ppm e 0,7-2,8 ppm

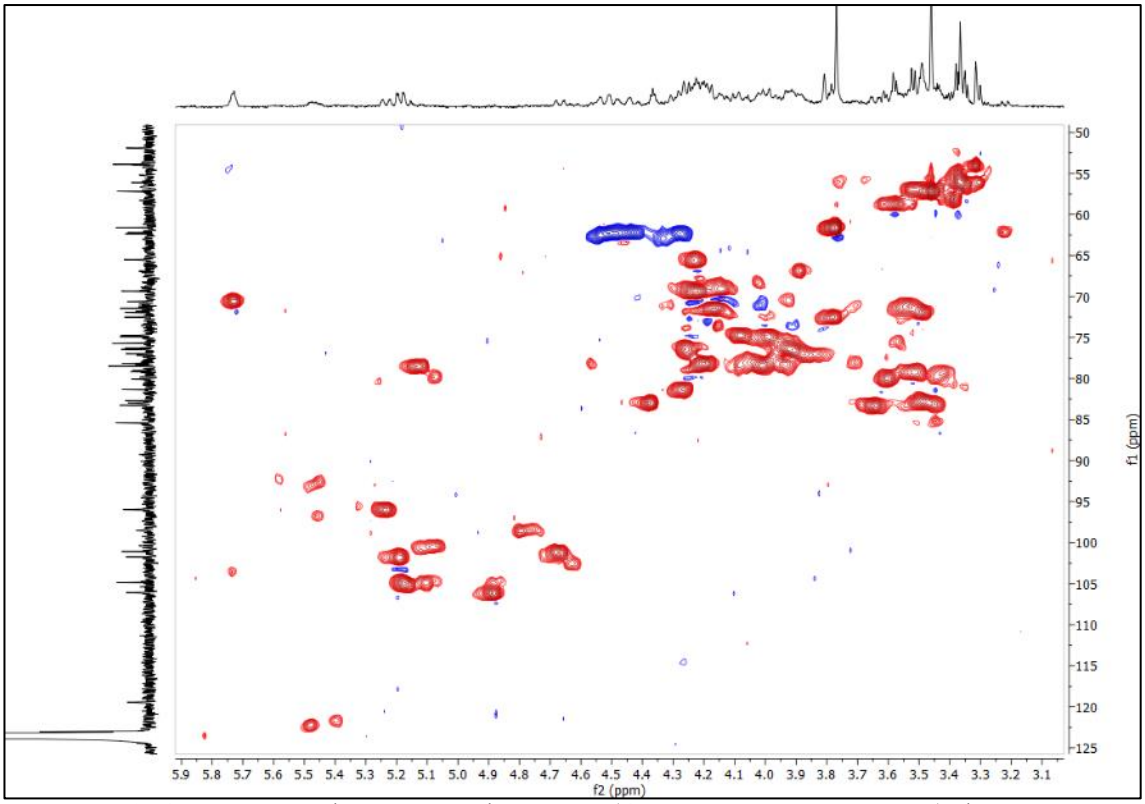


Figura S174. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 50-125 ppm e 3,1-5,9 ppm

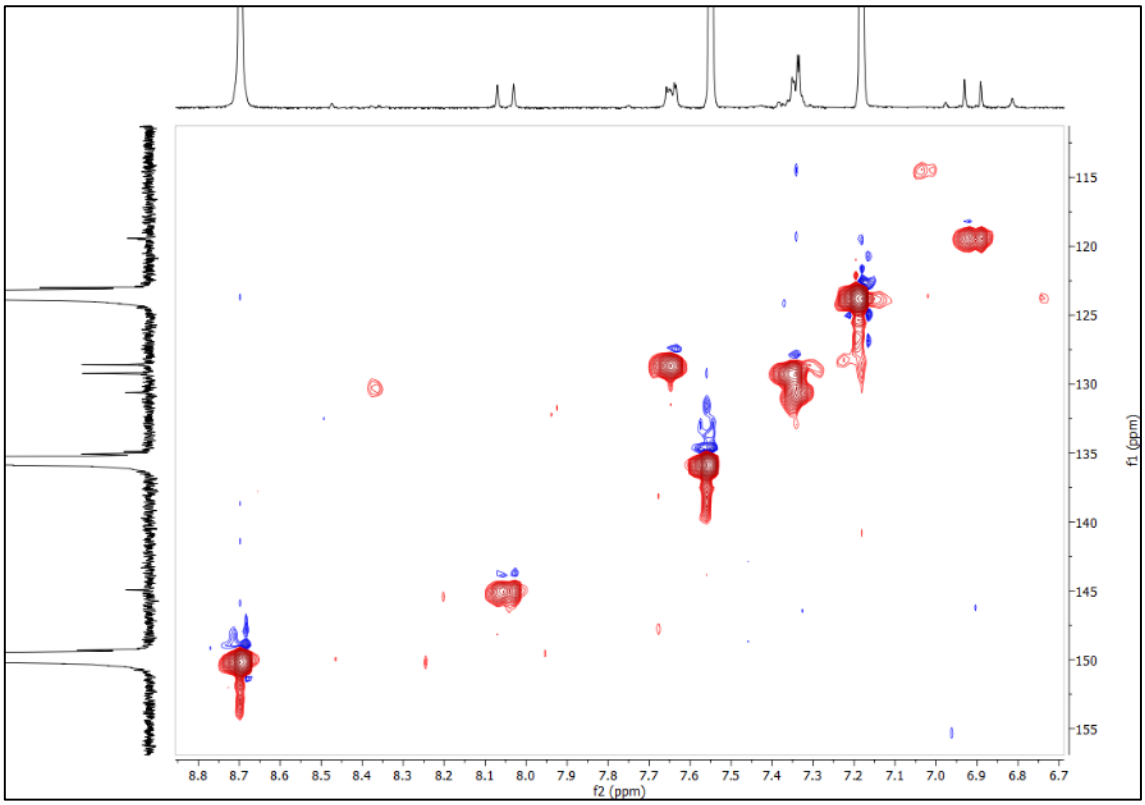


Figura S175. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 115-155 ppm e 6,7-8,8 ppm

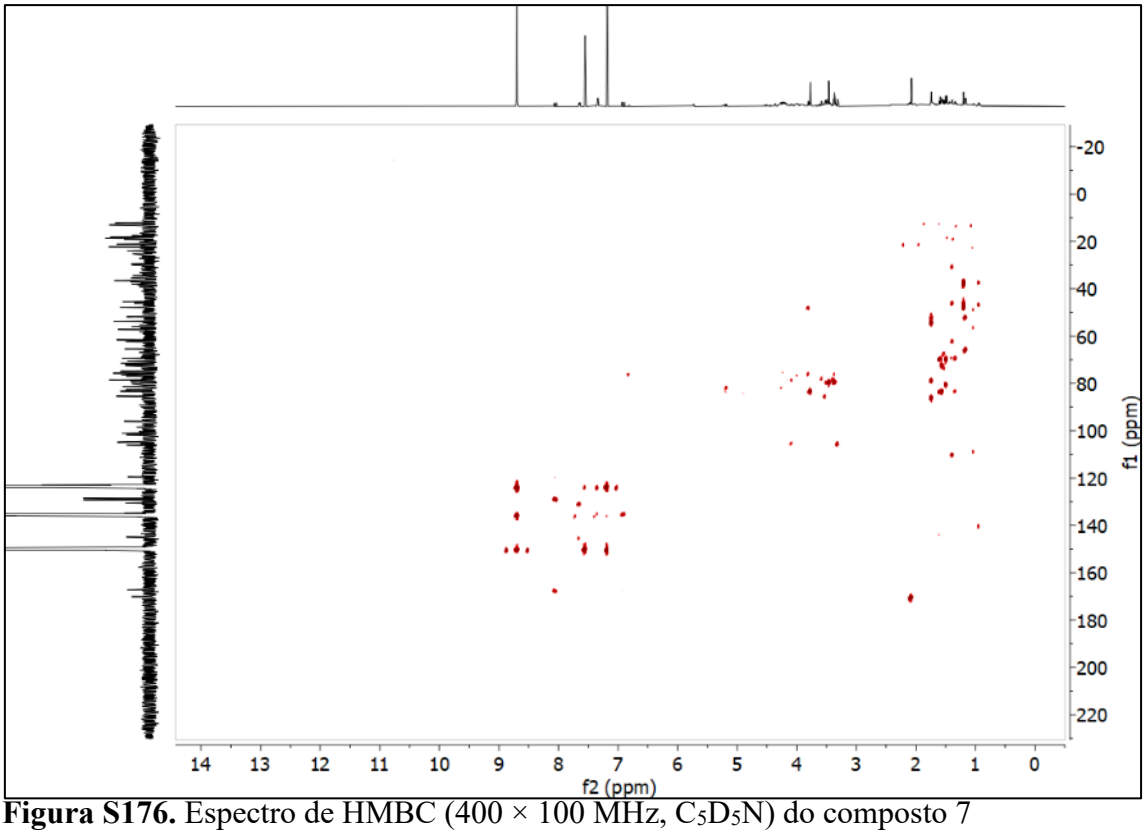


Figura S176. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7

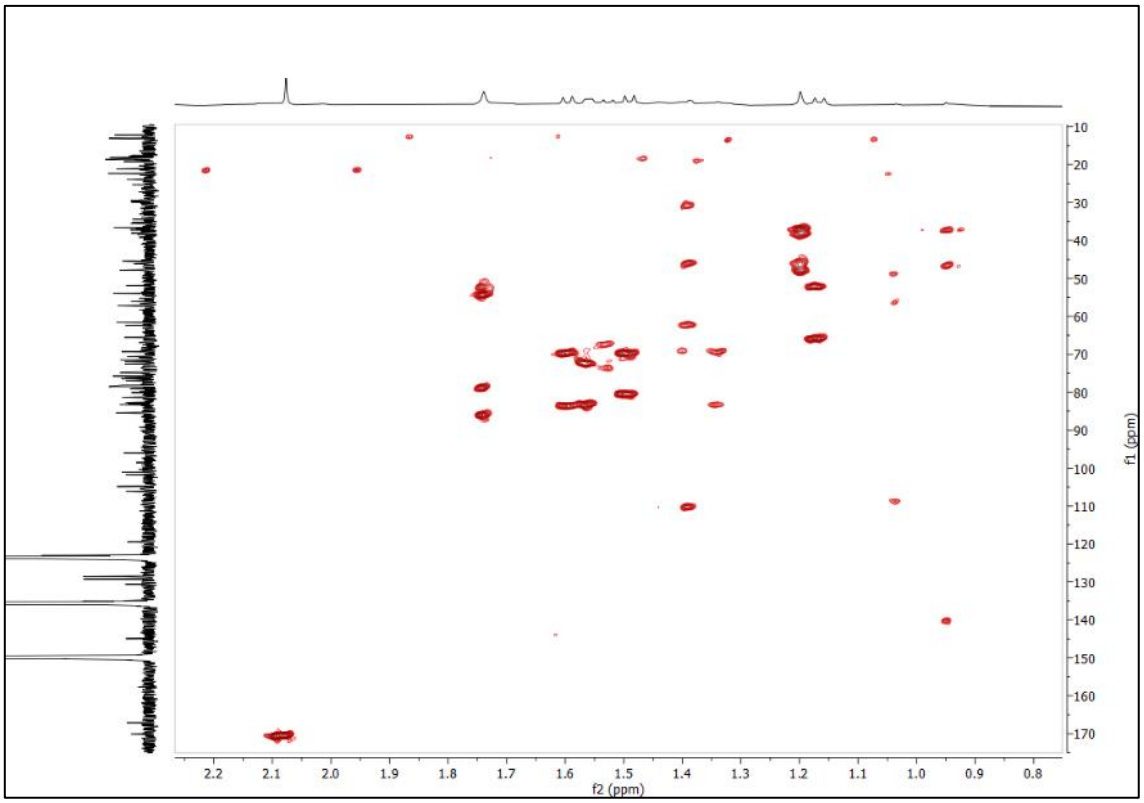


Figura S177. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 10-170 ppm e 0,8-2,2 ppm

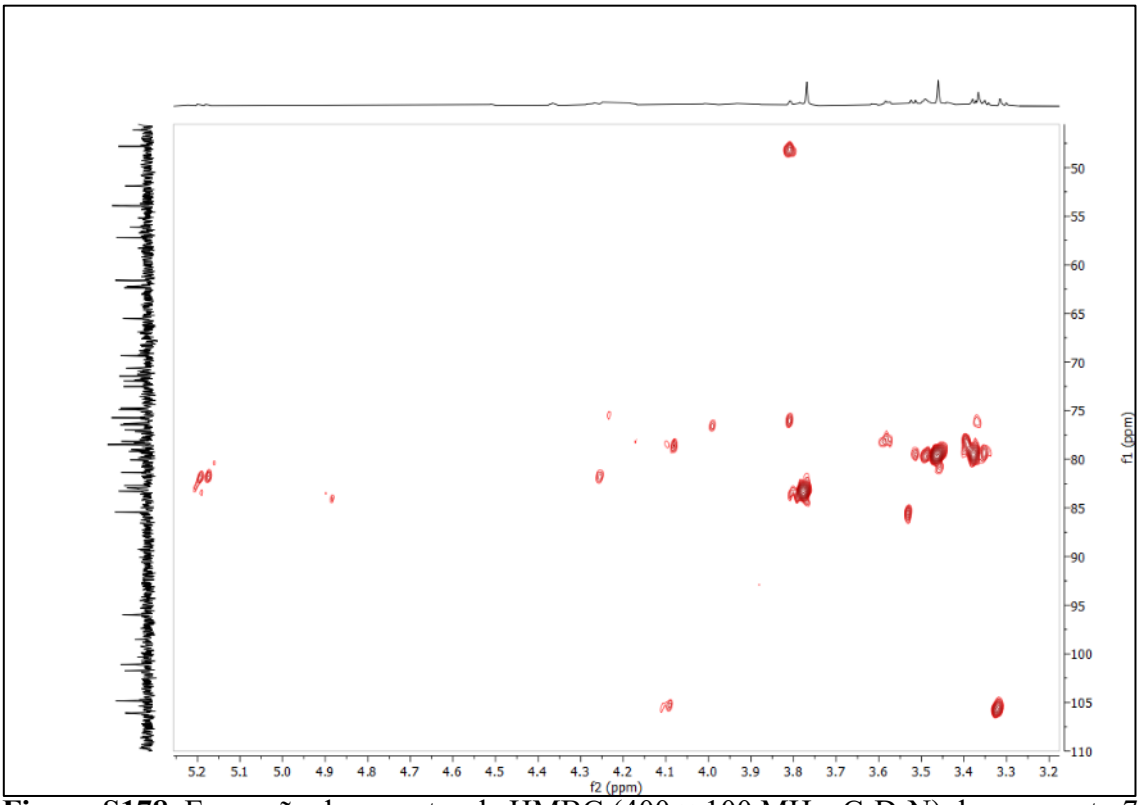


Figura S178. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 50-110 ppm e 3,2-5,2 ppm

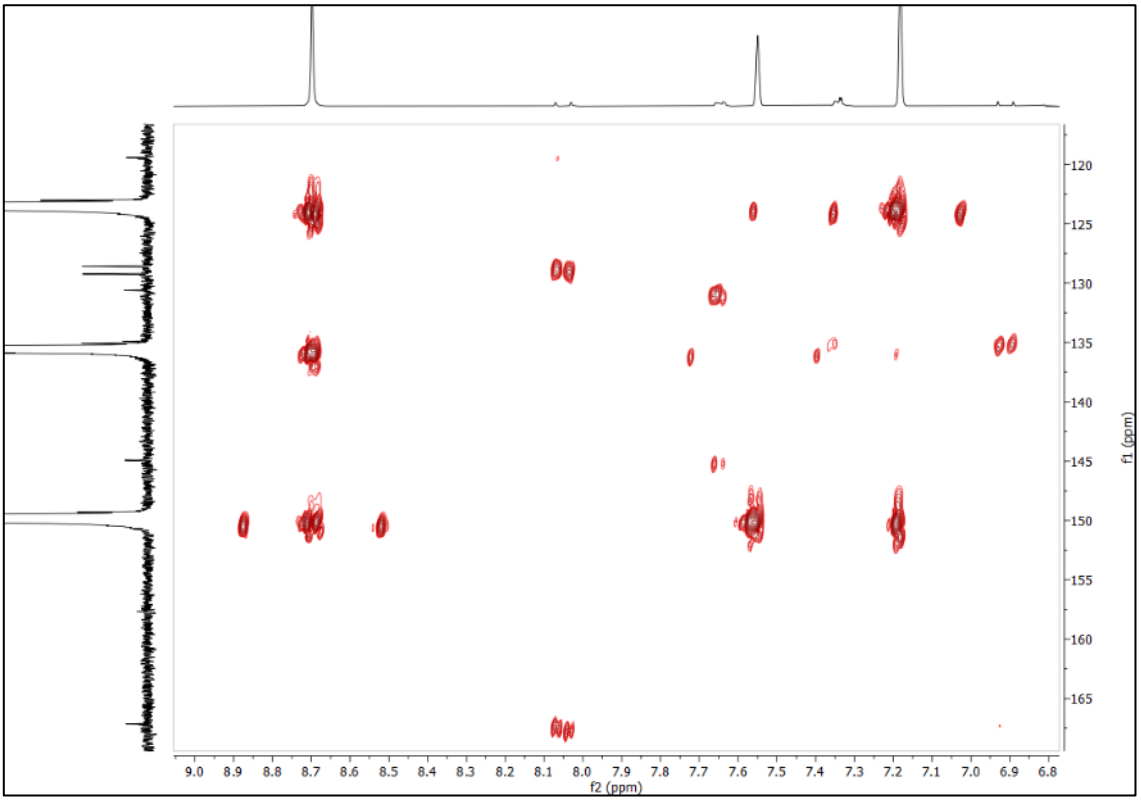


Figura S179. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 120-165 ppm e 6,8-9,0 ppm

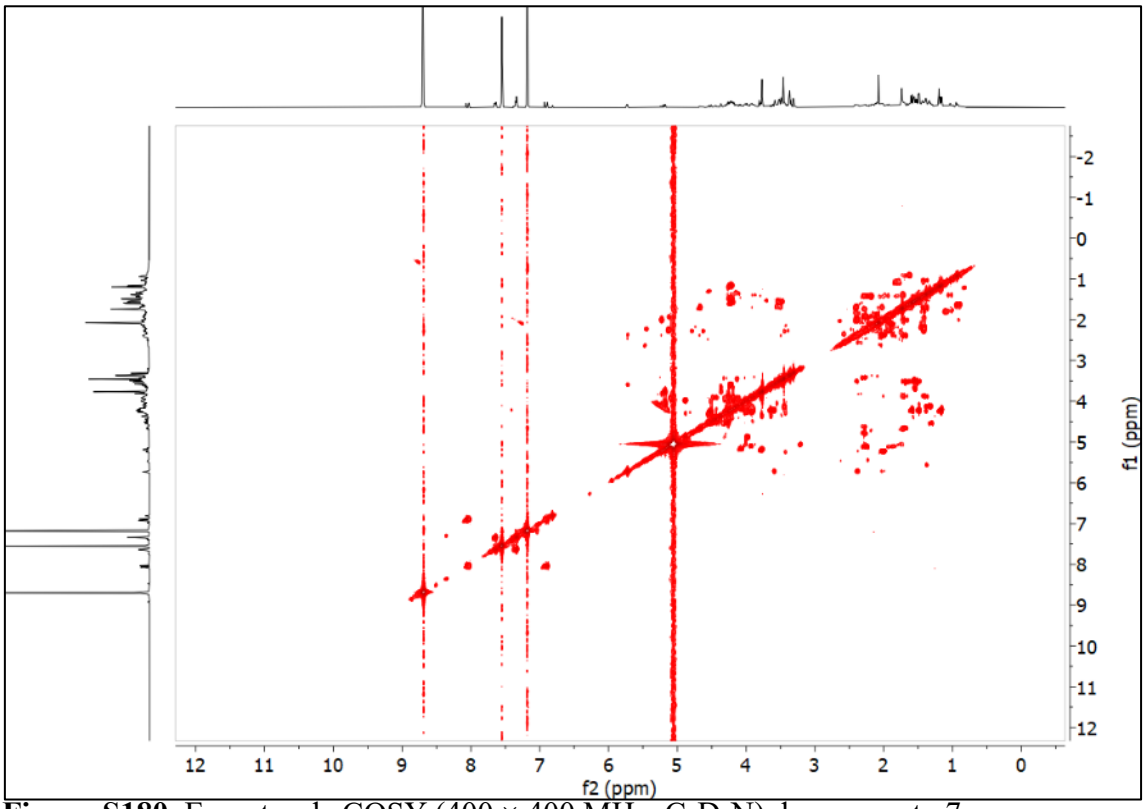


Figura S180. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7

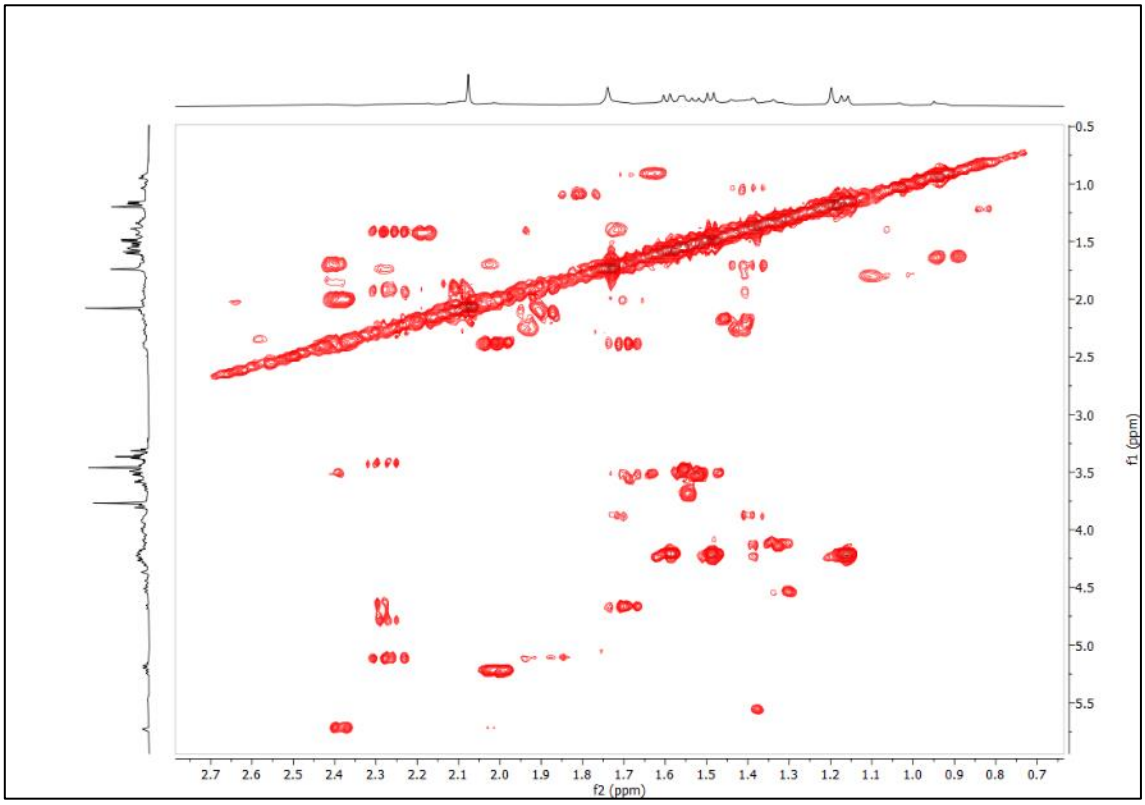


Figura S181. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,7-2,7 ppm

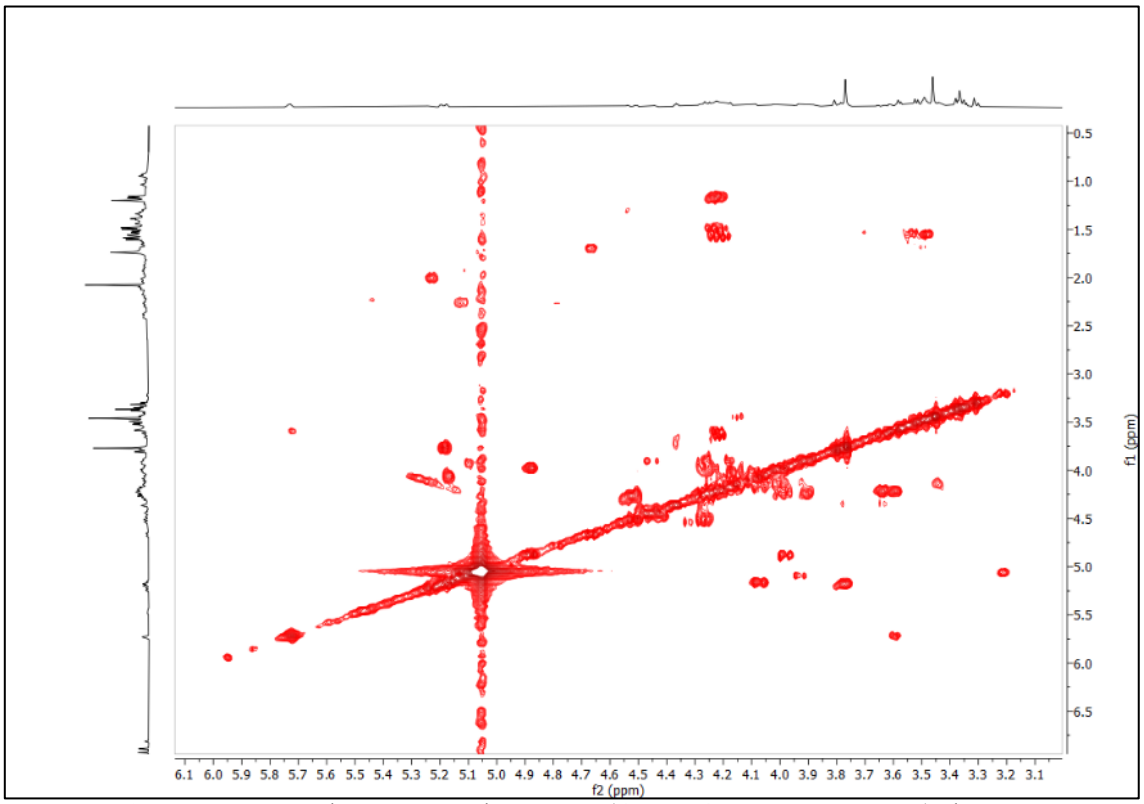


Figura S182. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 0,5-6,5 ppm e 3,1-6,1 ppm

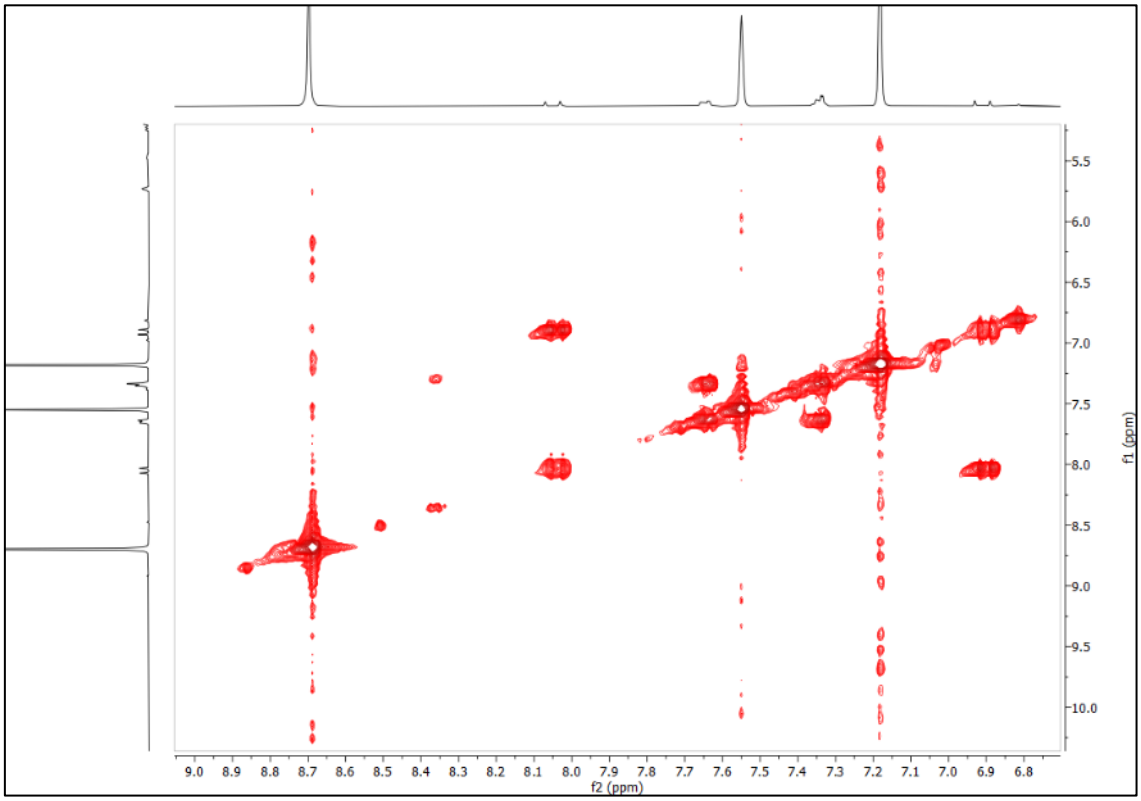


Figura S183. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 5,5-10,0 ppm e 6,8-9,0 ppm

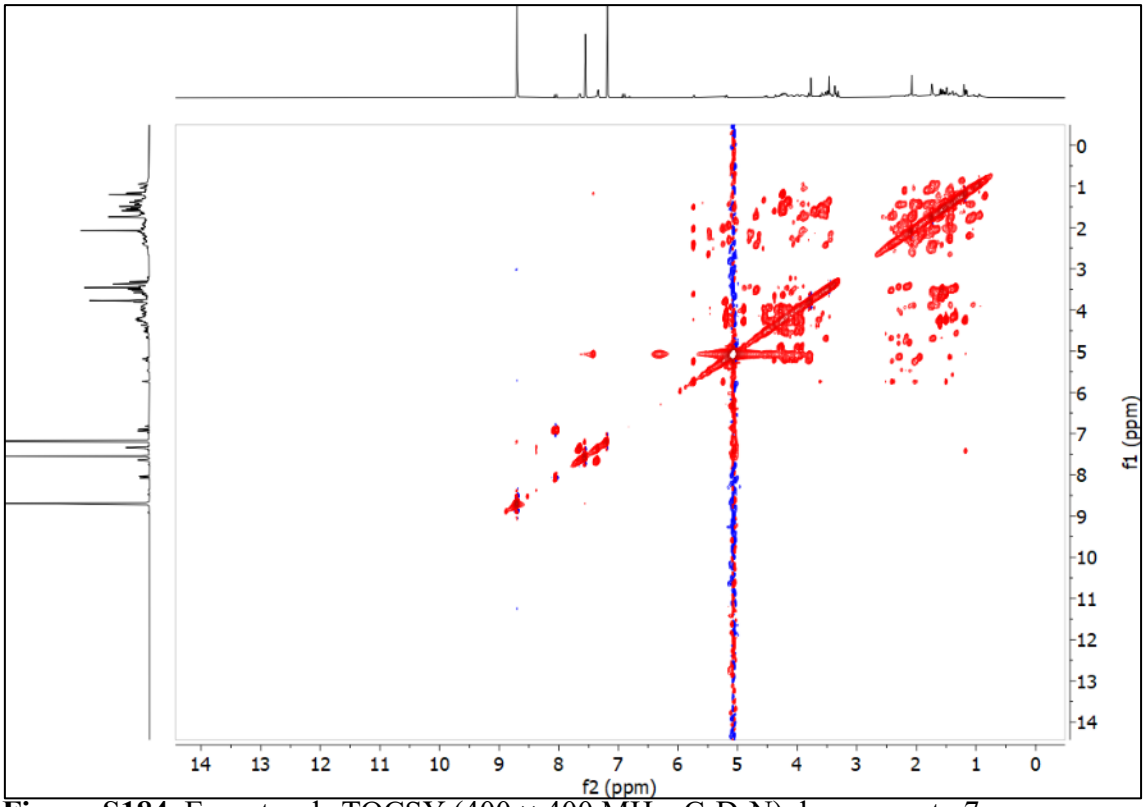


Figura S184. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7

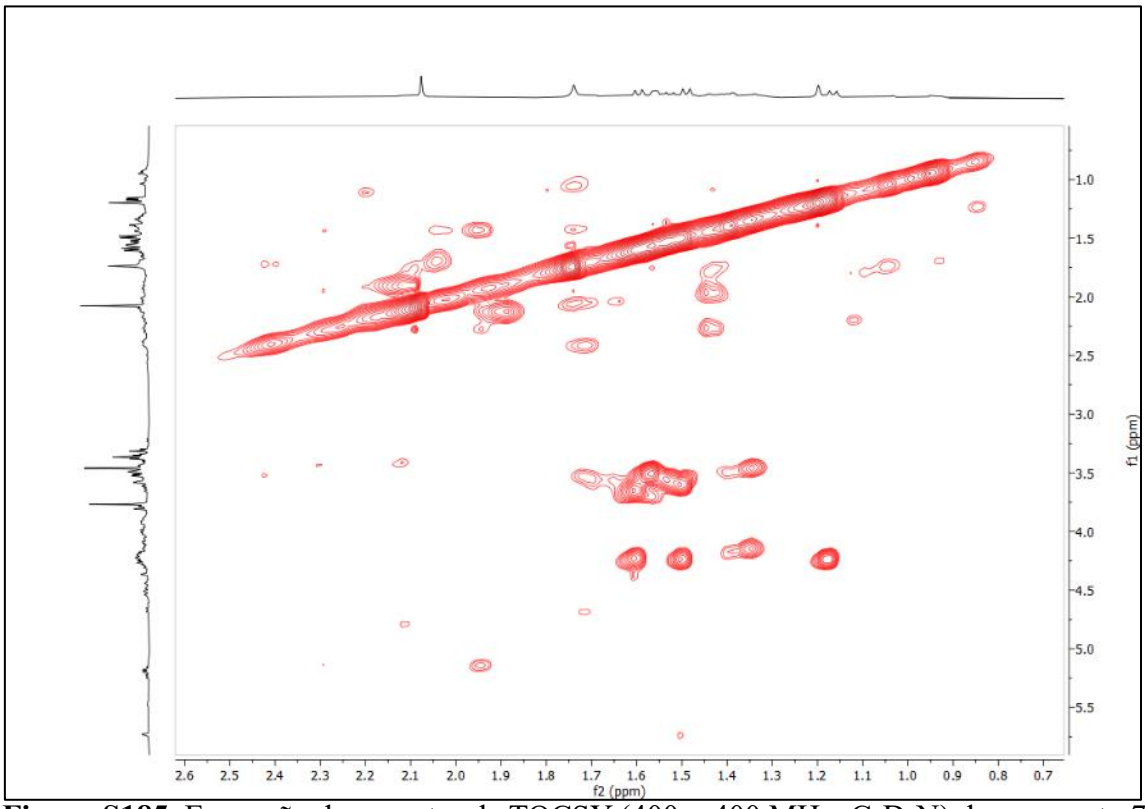


Figura S185. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,7-2,6 ppm

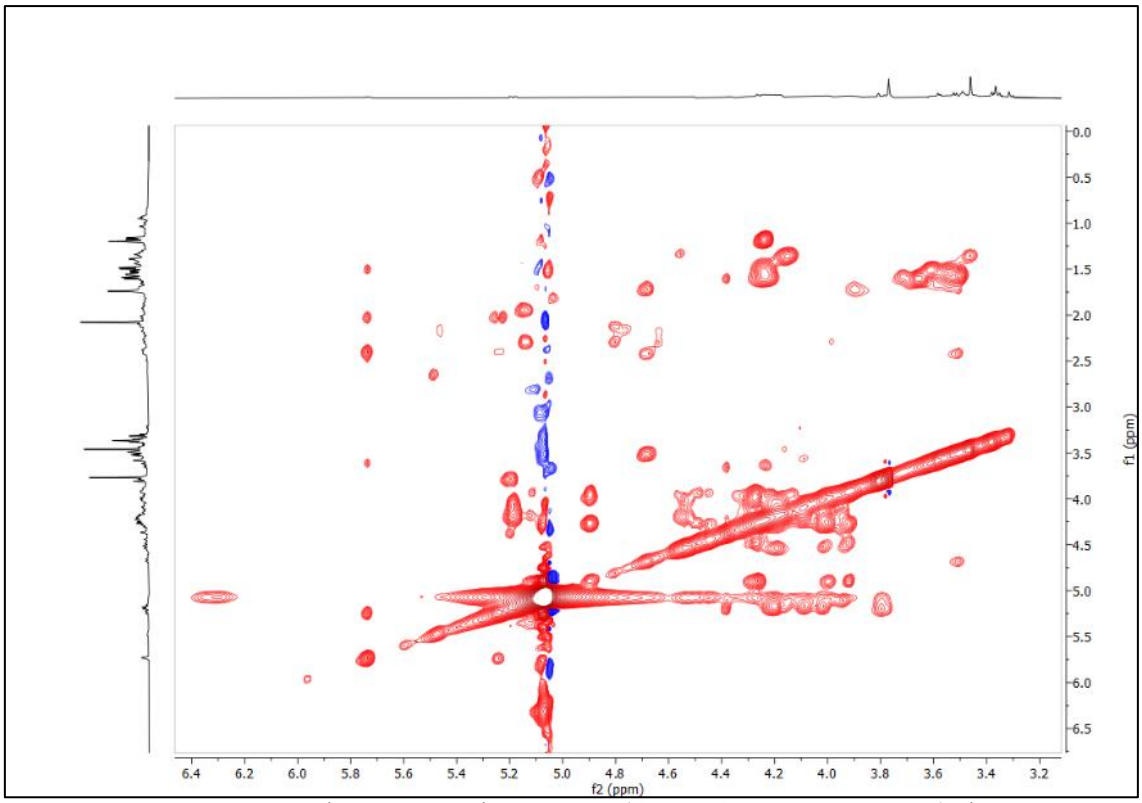


Figura S186. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 0,0-6,5 ppm e 3,2-6,4 ppm

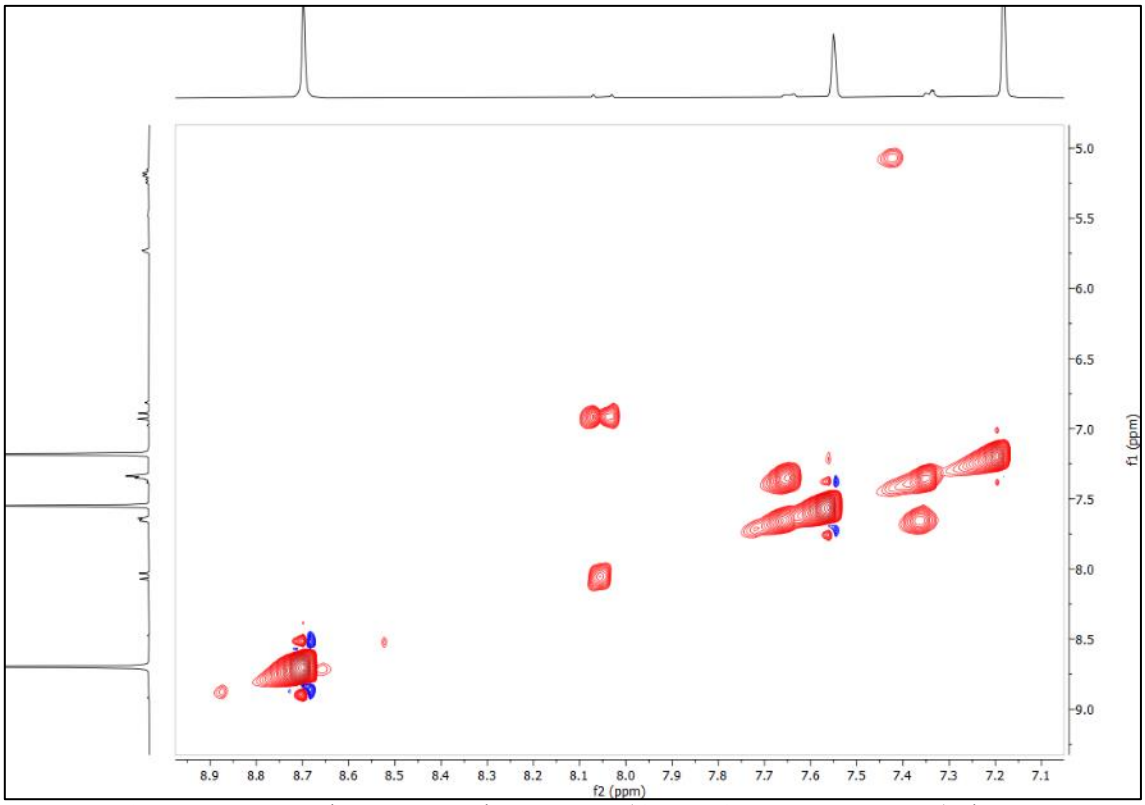


Figura S187. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 7,1-8,9 ppm

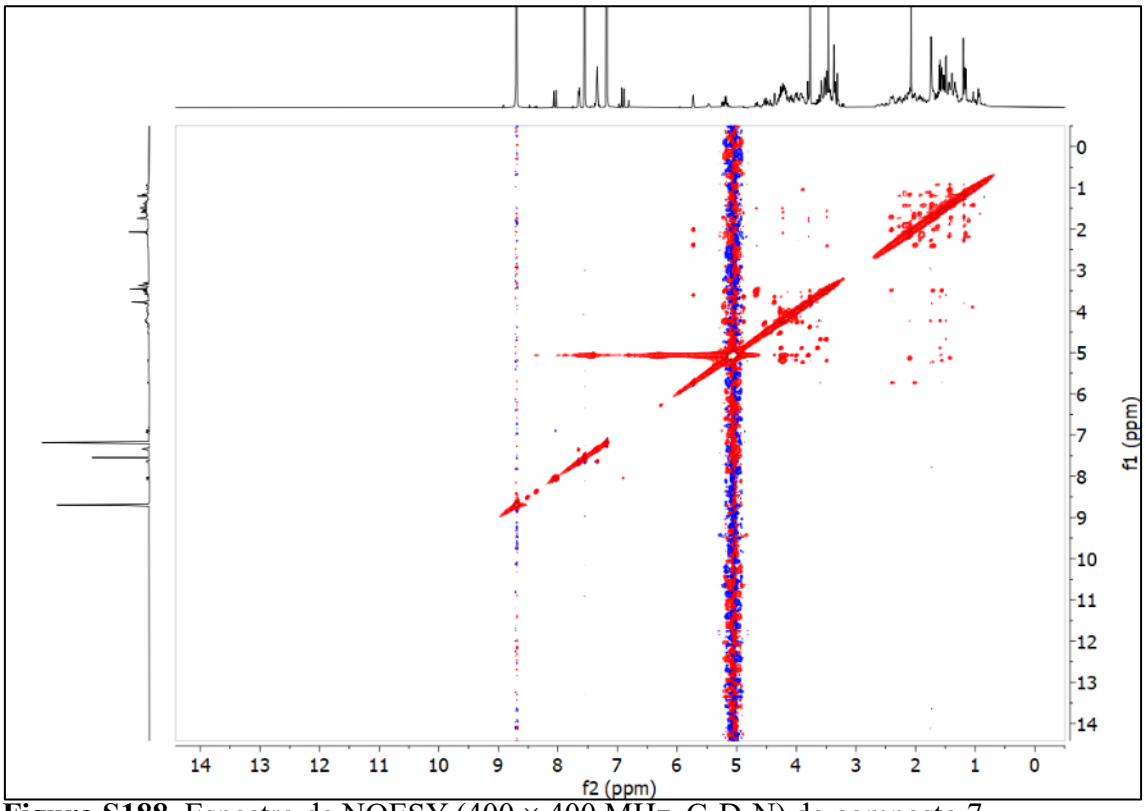


Figura S188. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7

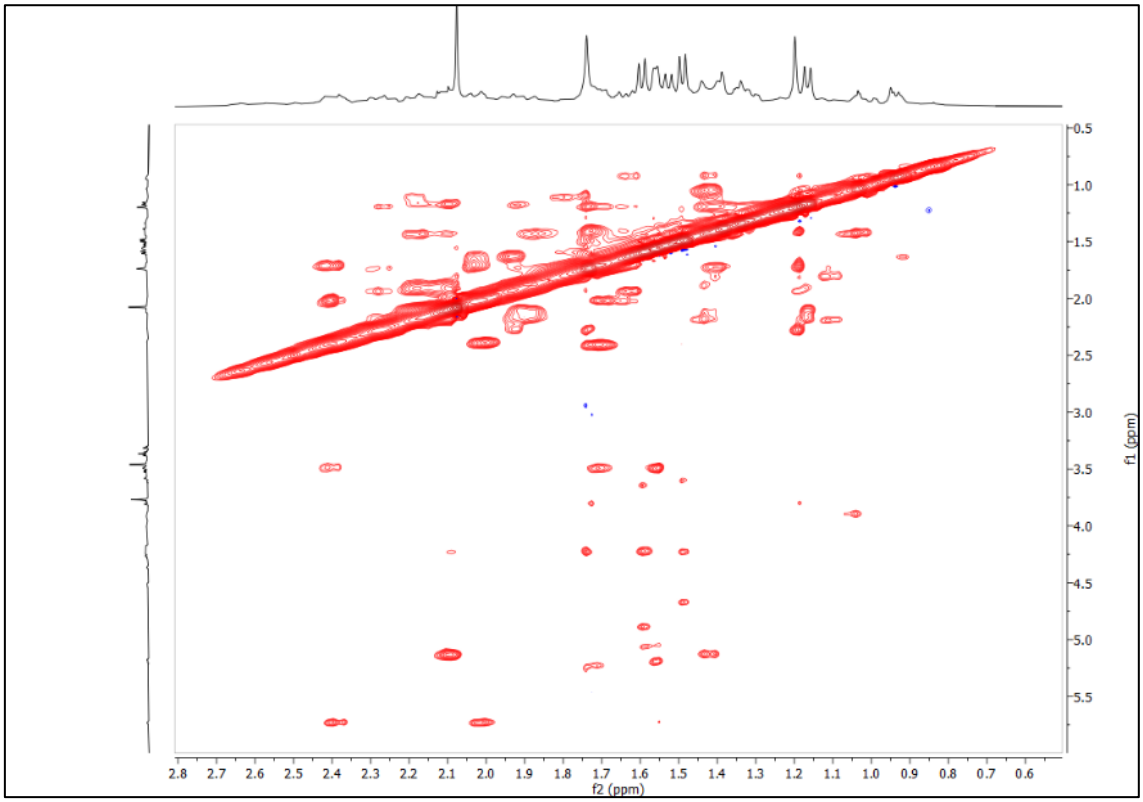


Figura S189. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,8 ppm

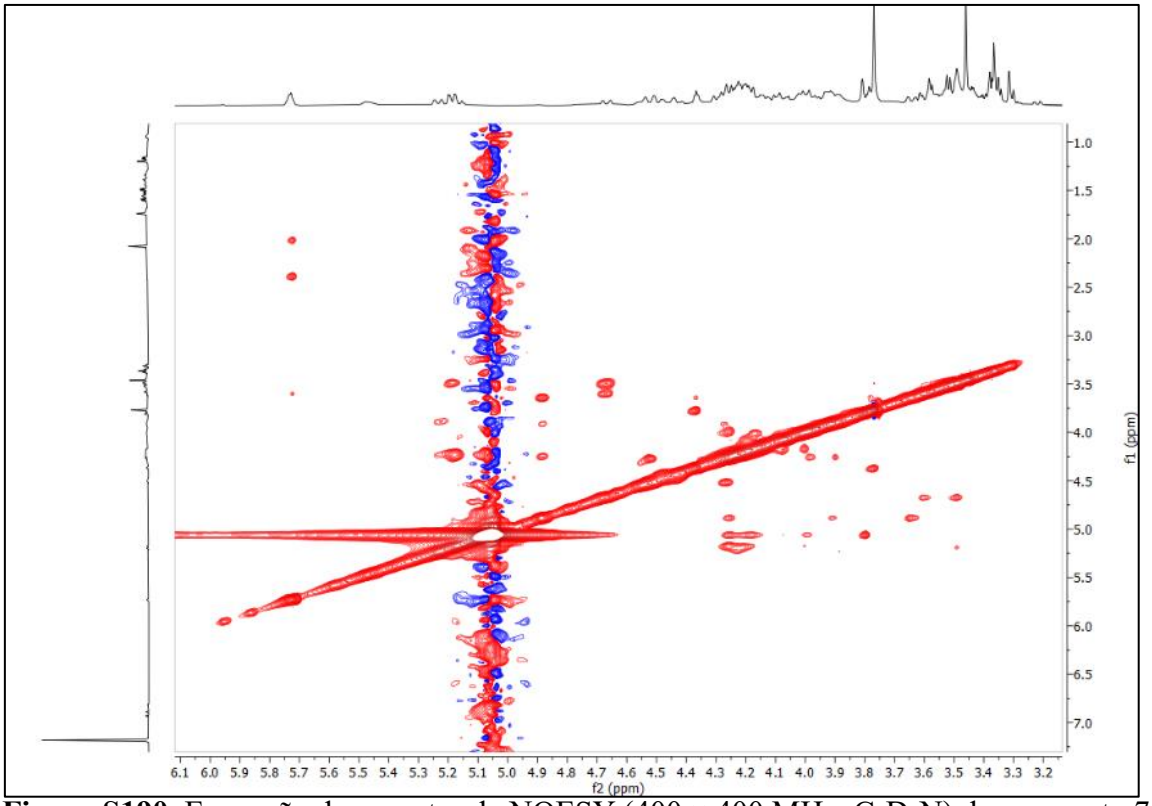


Figura S190. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 1,0-7,0 ppm e 3,2-6,1 ppm

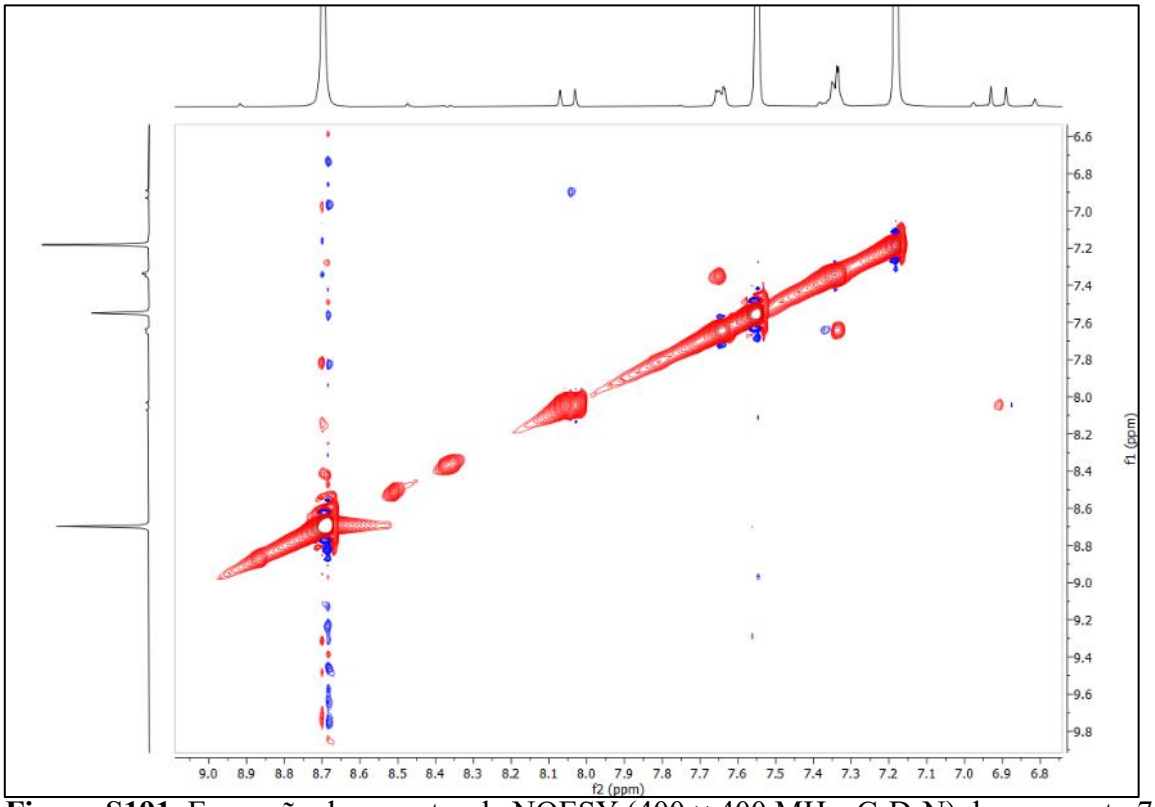


Figura S191. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 7 nas regiões de 6,6-9,8 ppm e 6,8-9,0 ppm

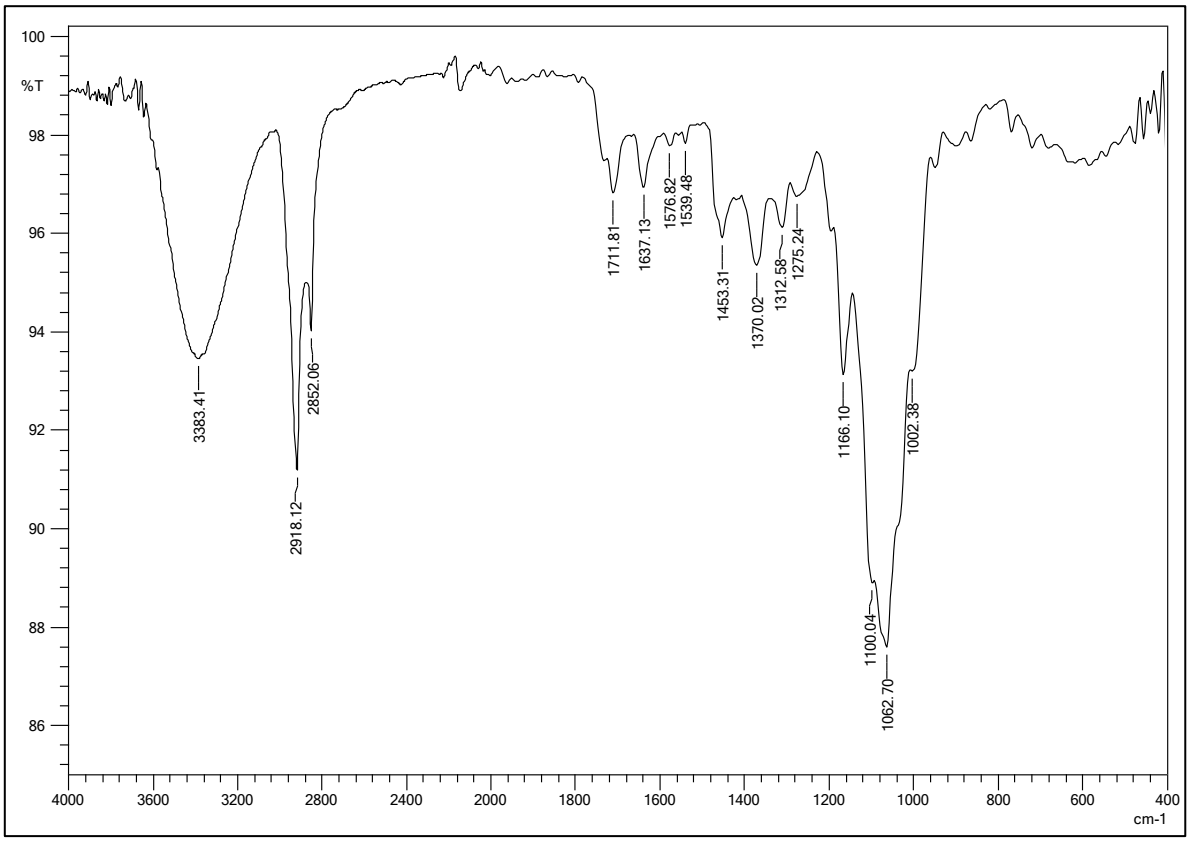


Figura S192. Espectro de infravermelho ATR do composto 8

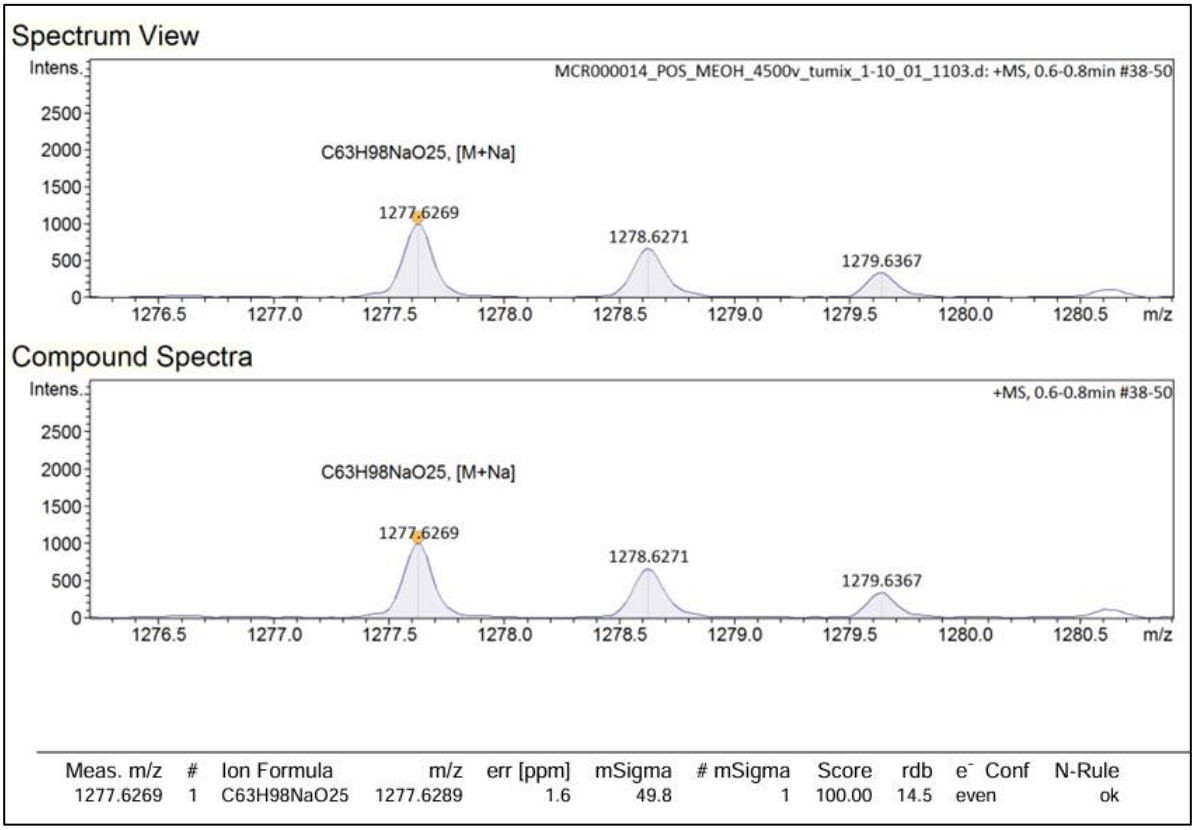


Figura S193. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 8

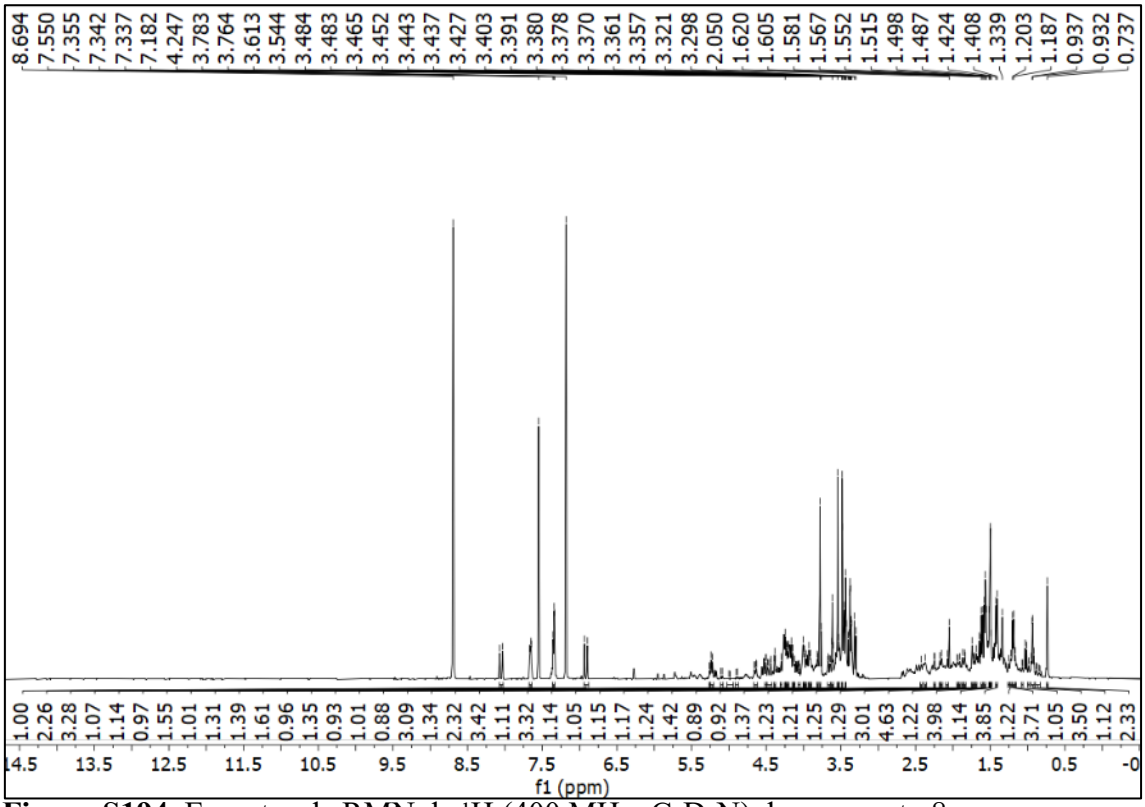


Figura S194. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 8

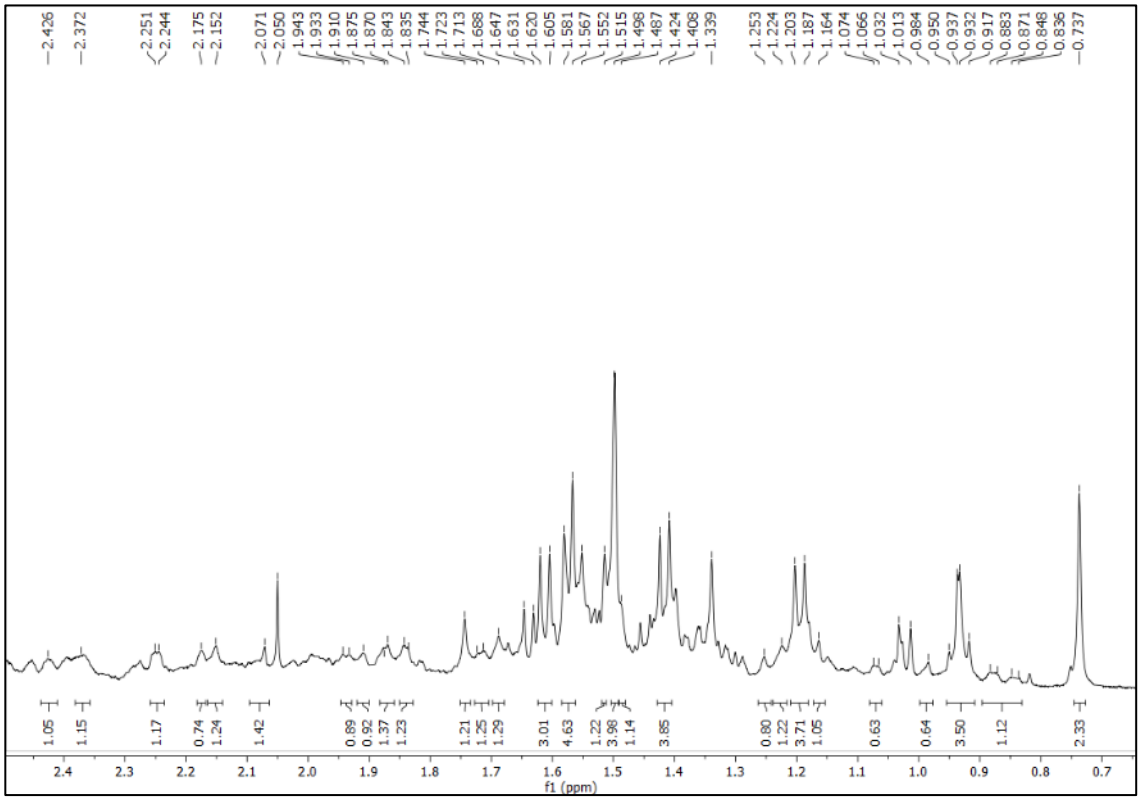


Figura S195. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 na região de 0,7-2,4 ppm

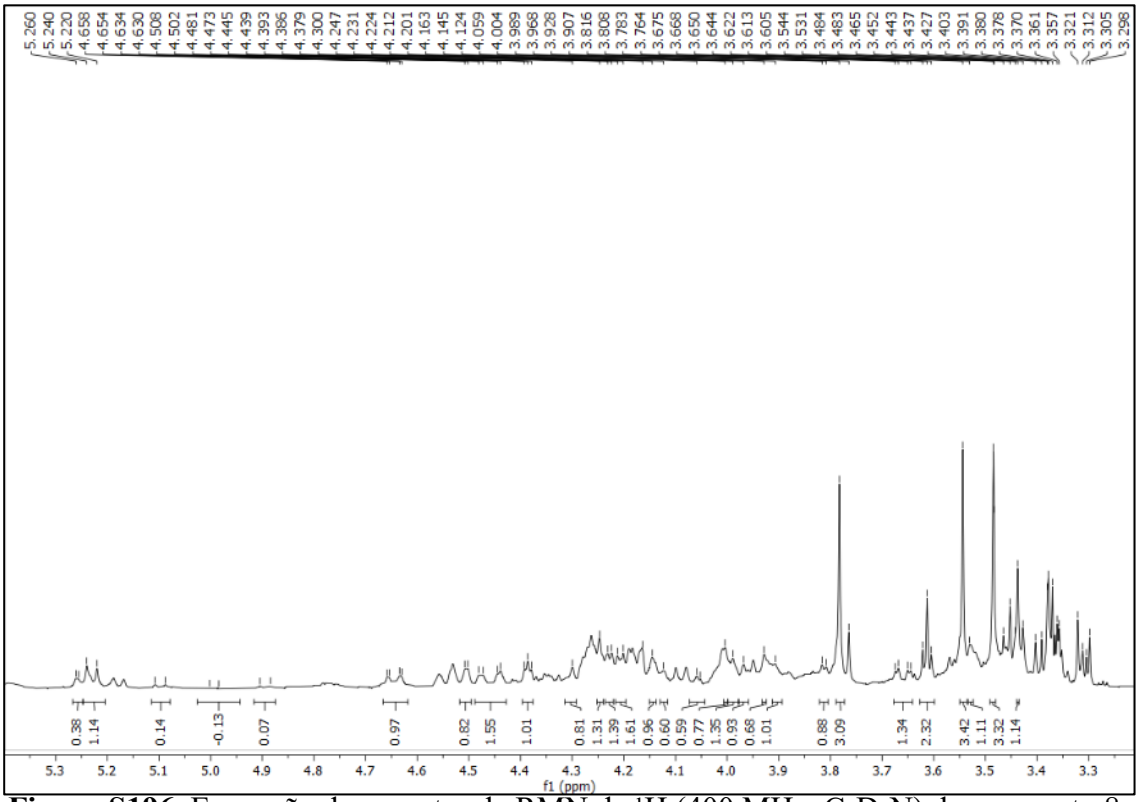


Figura S196. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 na região de 3,3-5,3 ppm

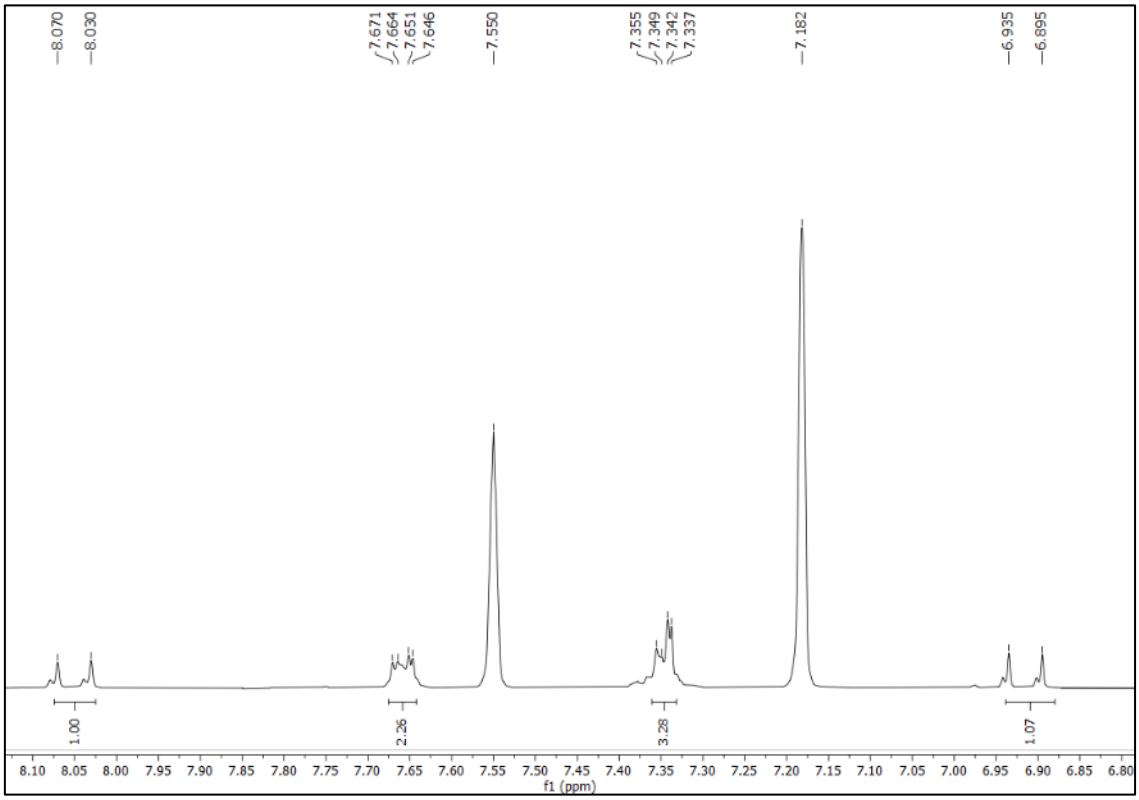


Figura S197. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 na região de 6,8-8,1 ppm

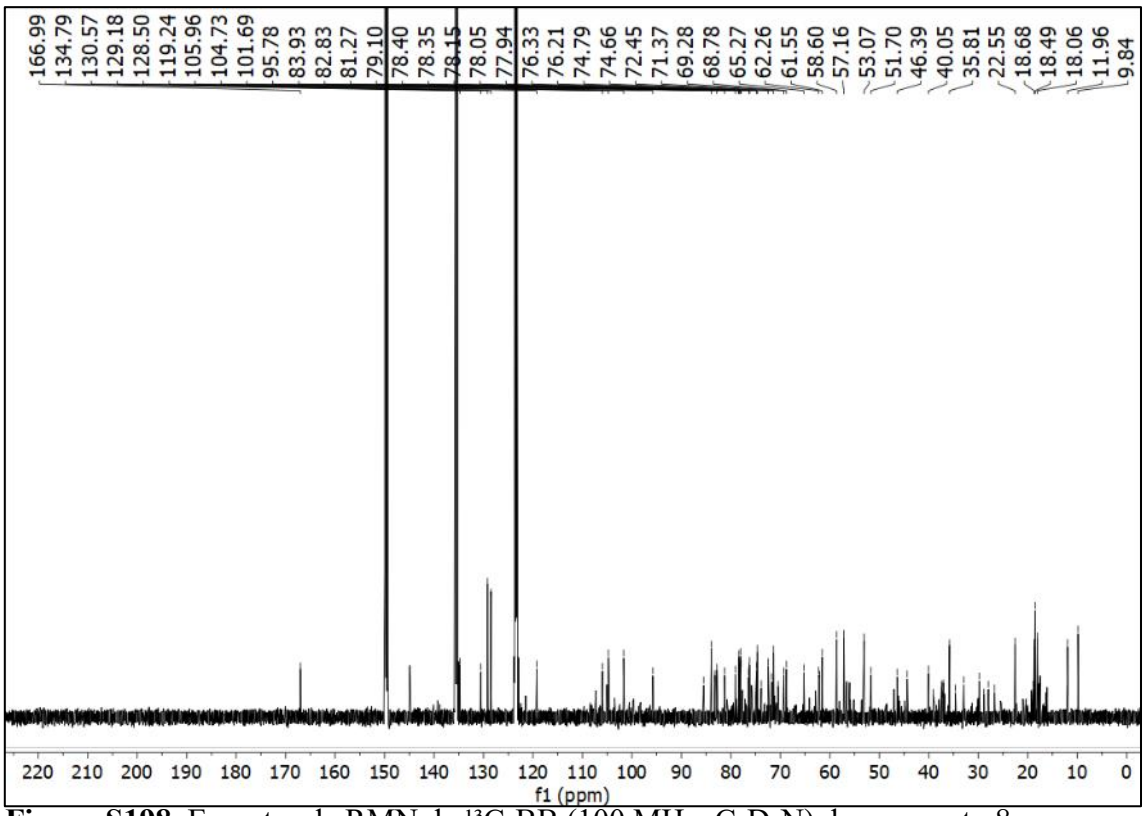


Figura S198. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 8

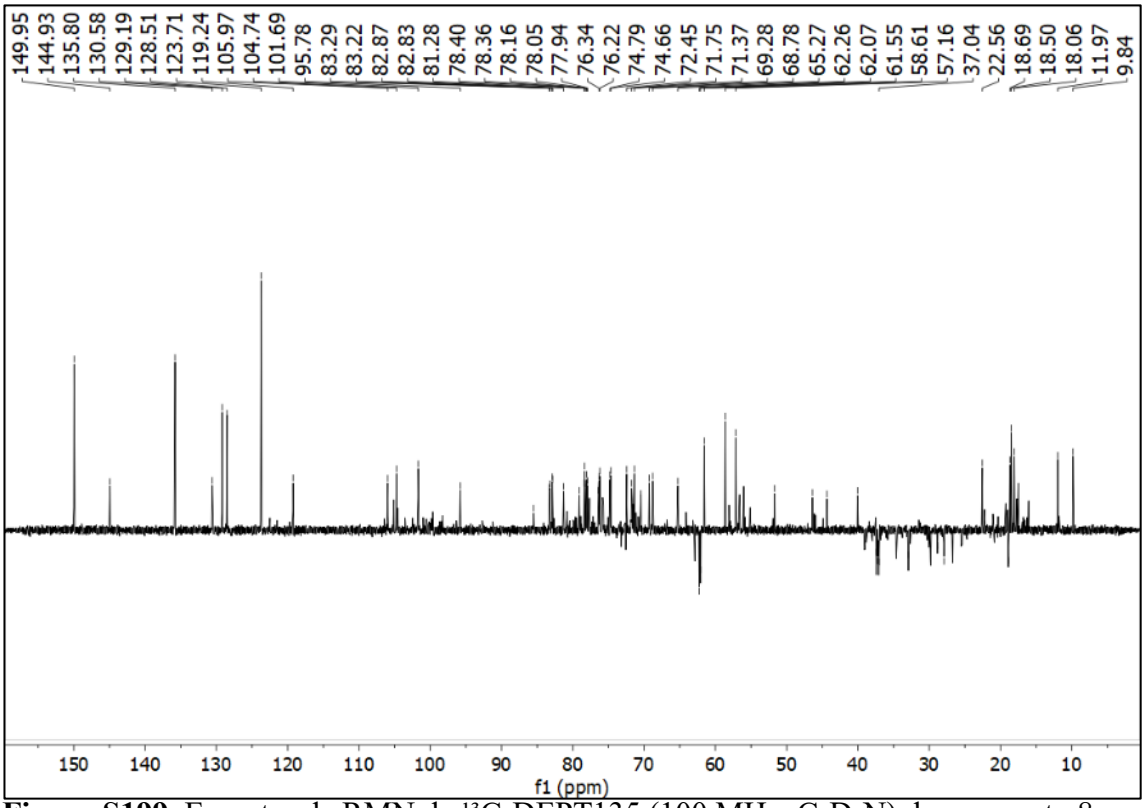


Figura S199. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 8

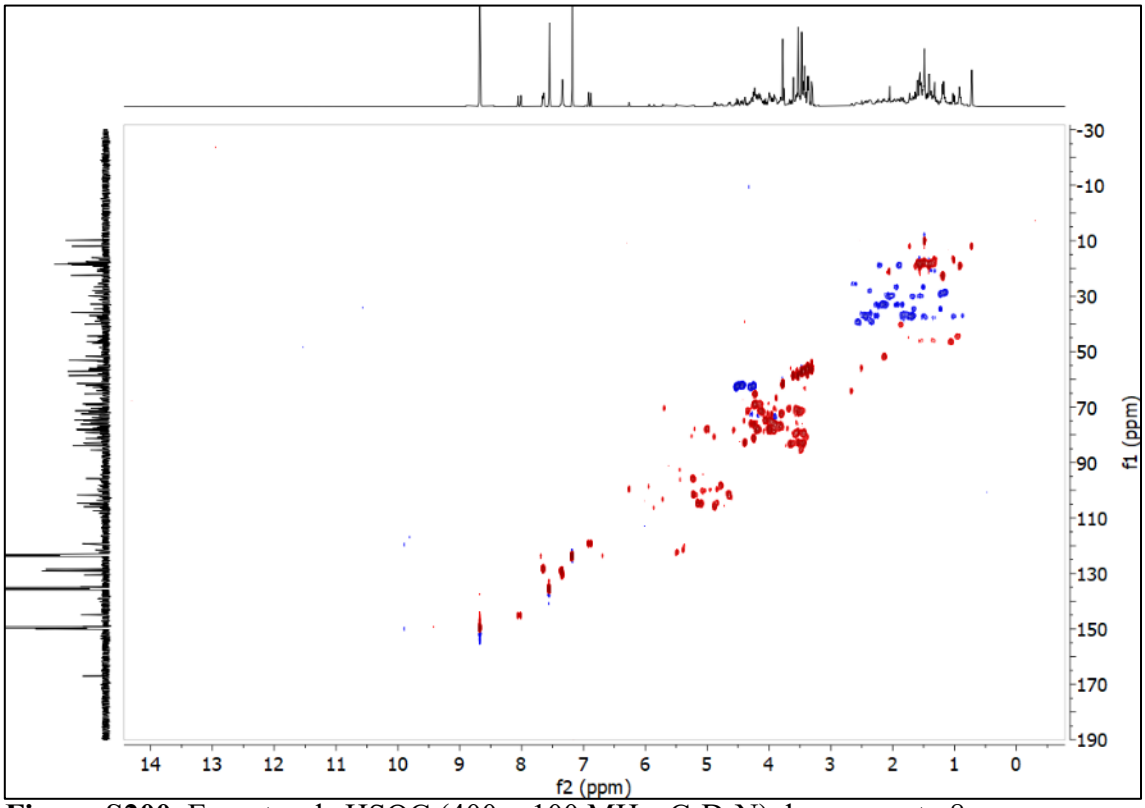


Figura S200. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8

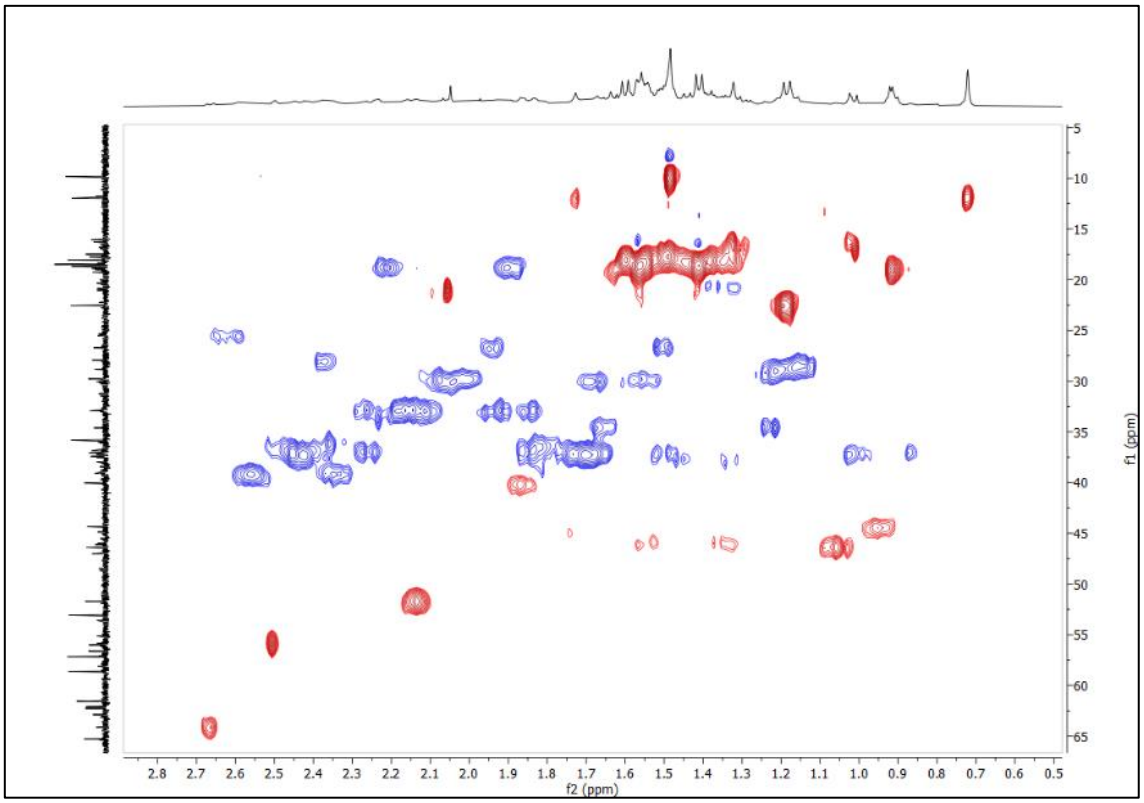


Figura S201. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 5-65 ppm e 0,5-2,8 ppm

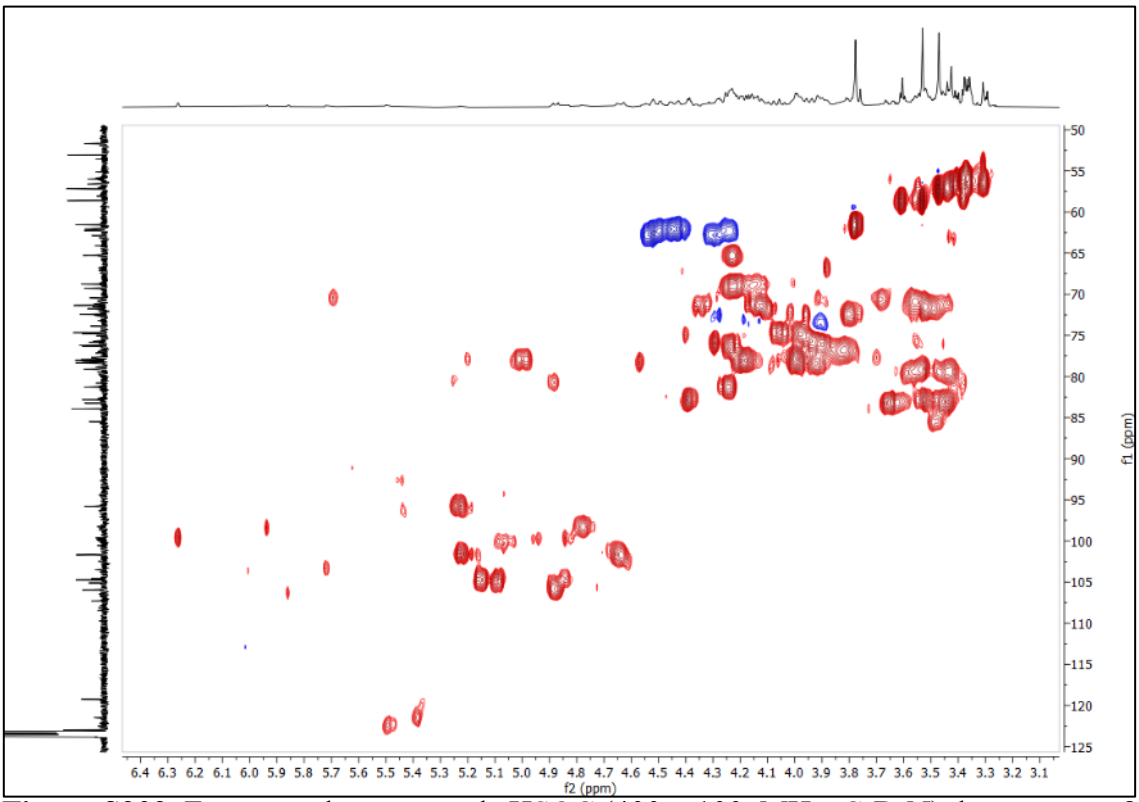


Figura S202. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 50-125 ppm e 3,1-6,4 ppm

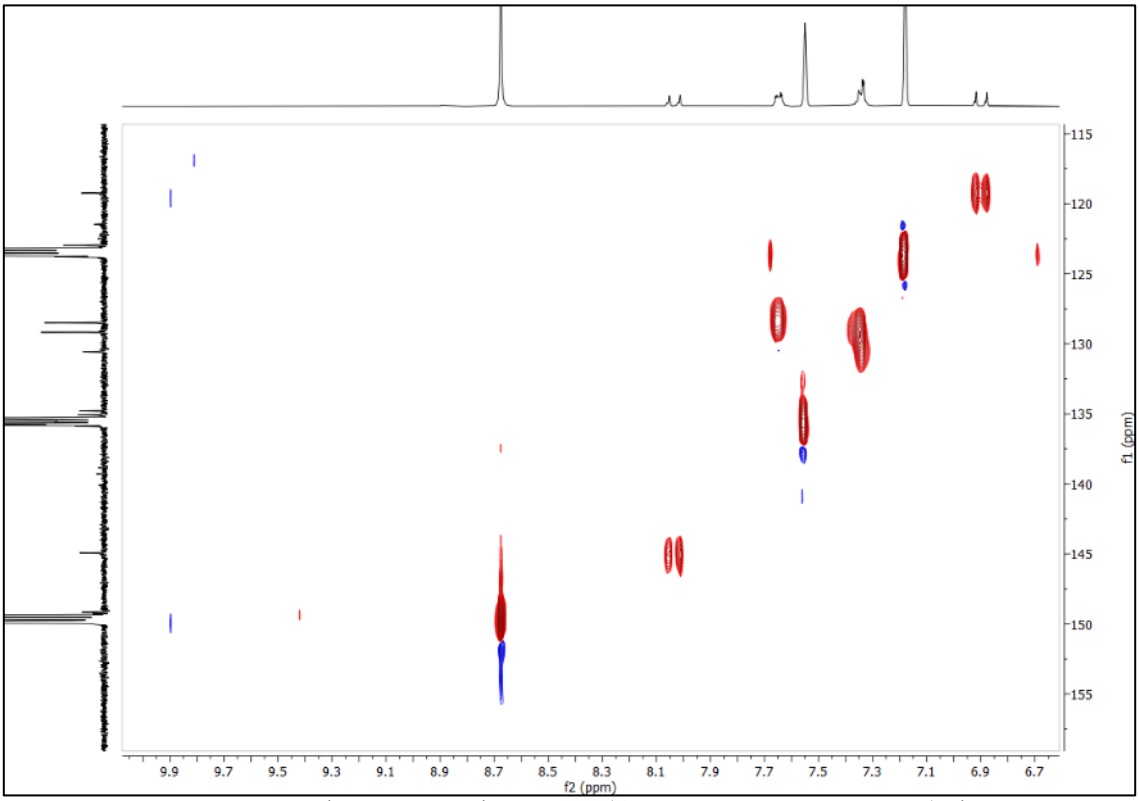


Figura S203. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 115-155 ppm e 6,7-9,9 ppm

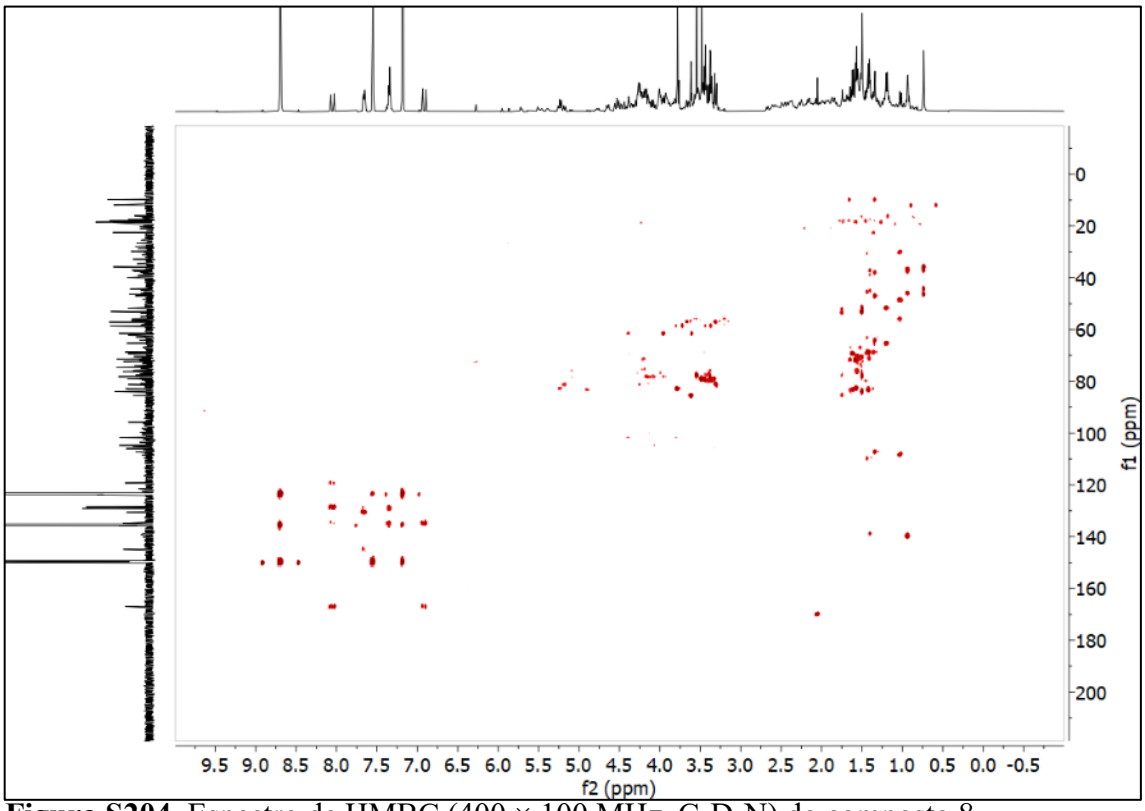


Figura S204. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8

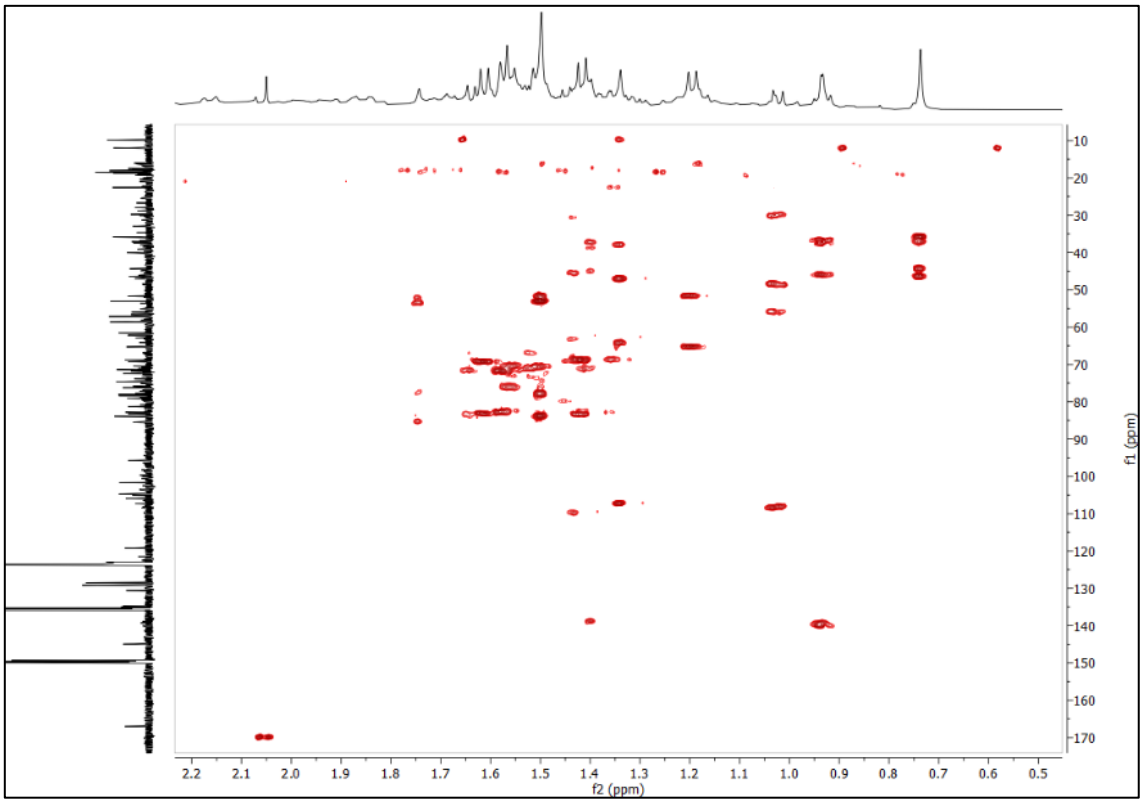


Figura S205. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 10-170 ppm e 0,5-2,2 ppm

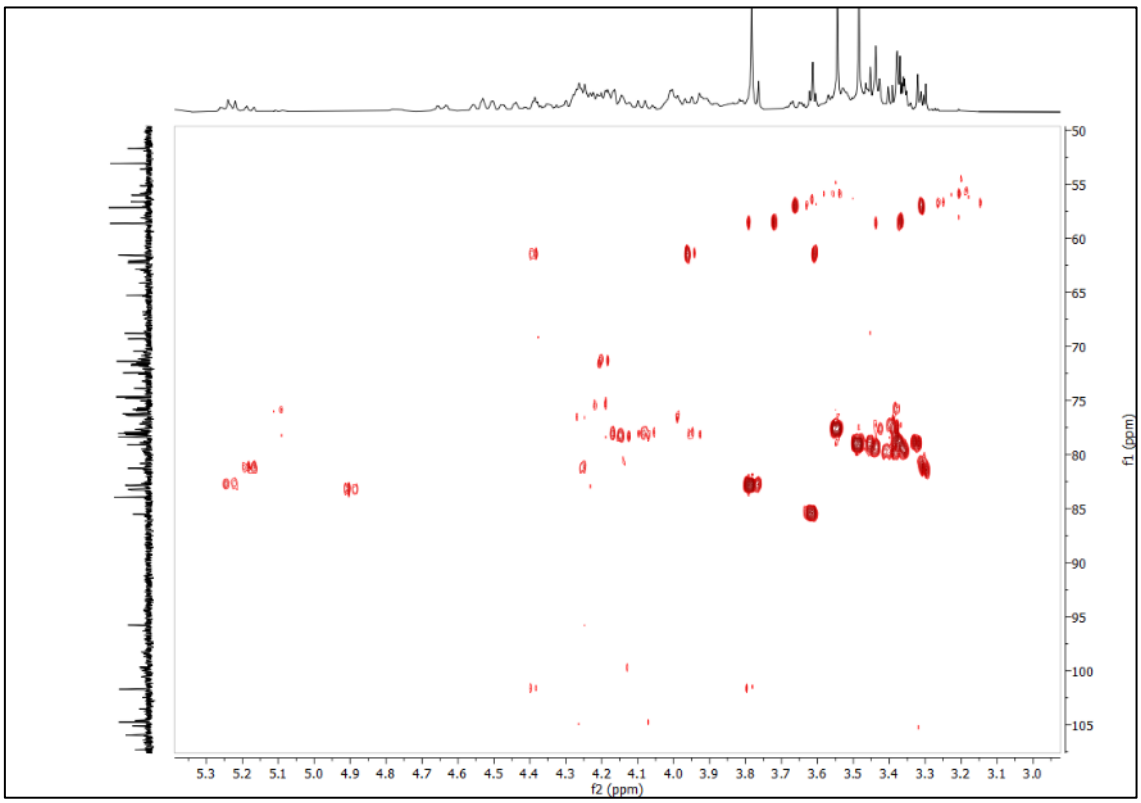


Figura S206. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 50-105 ppm e 3,0-5,3 ppm

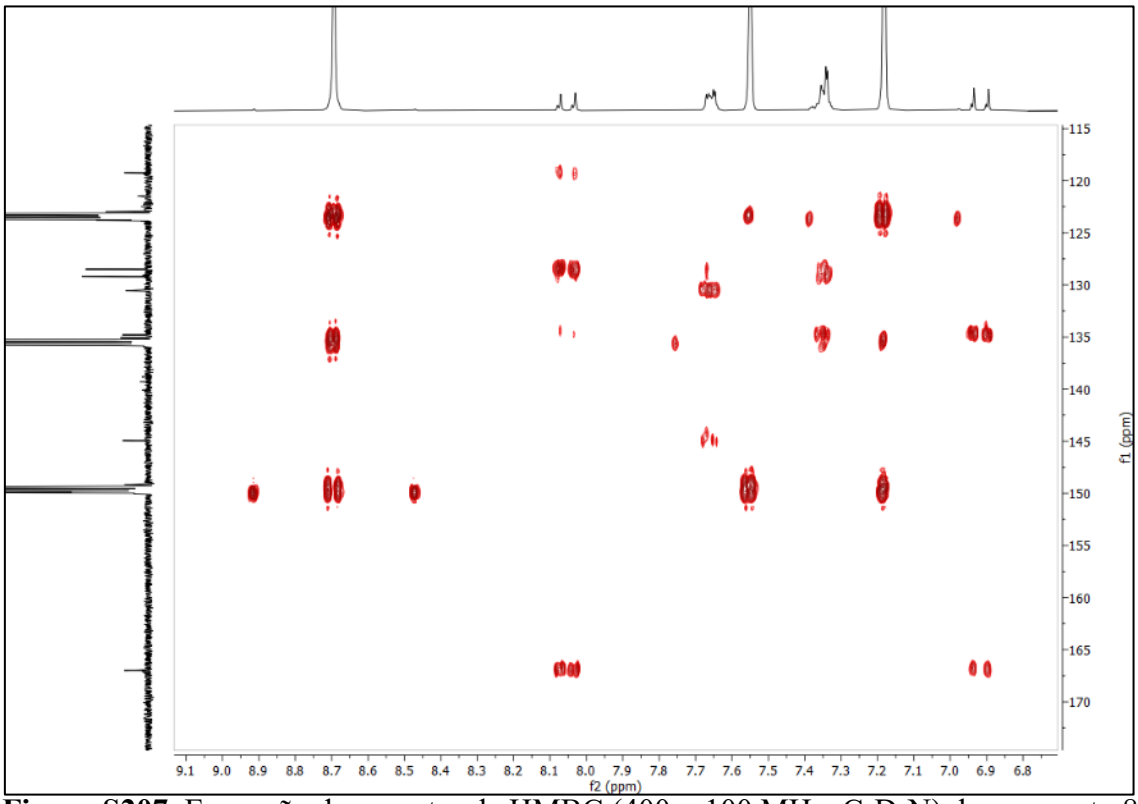


Figura S207. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 115-170 ppm e 6,8-9,1 ppm

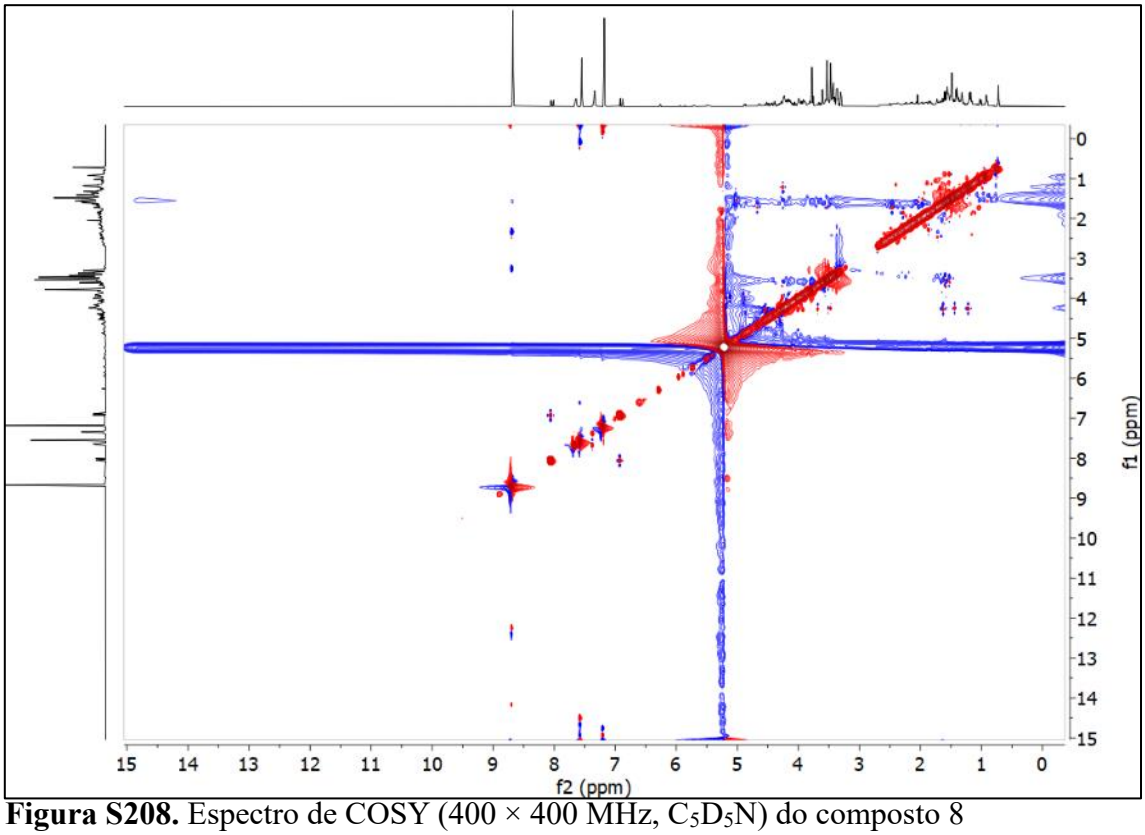


Figura S208. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8

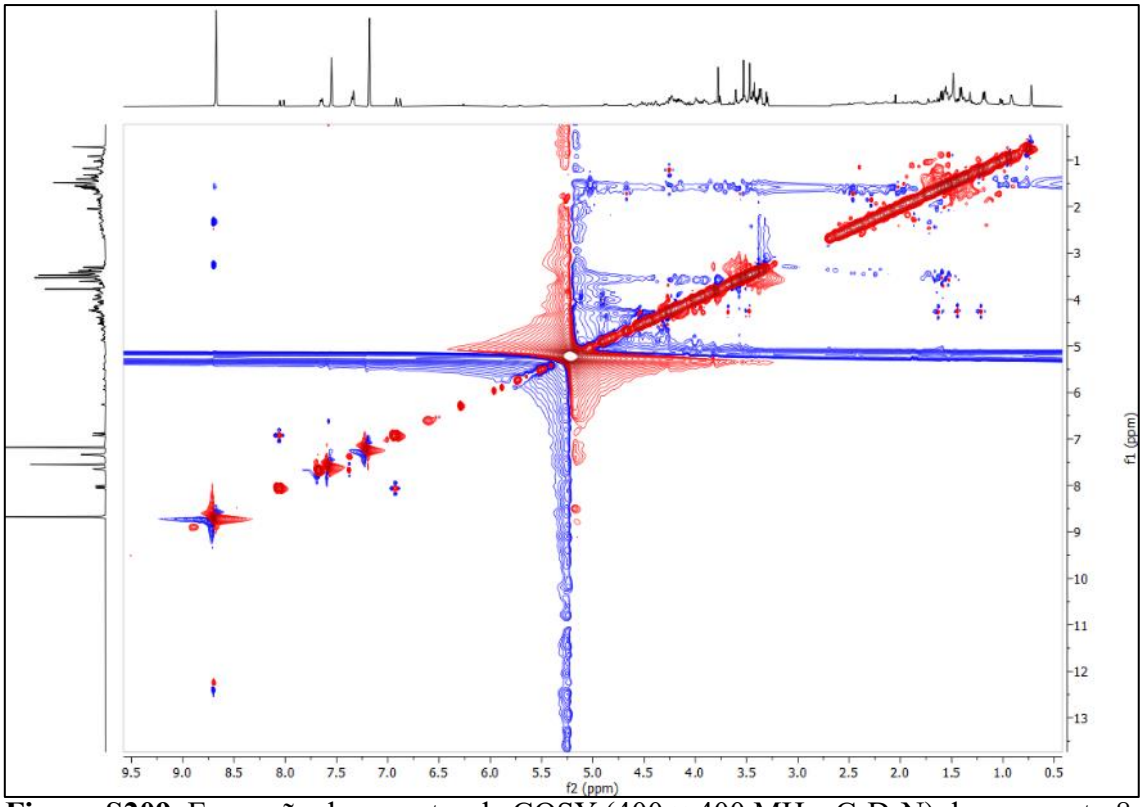


Figura S209. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 1-13 ppm e 0,5-9,5 ppm

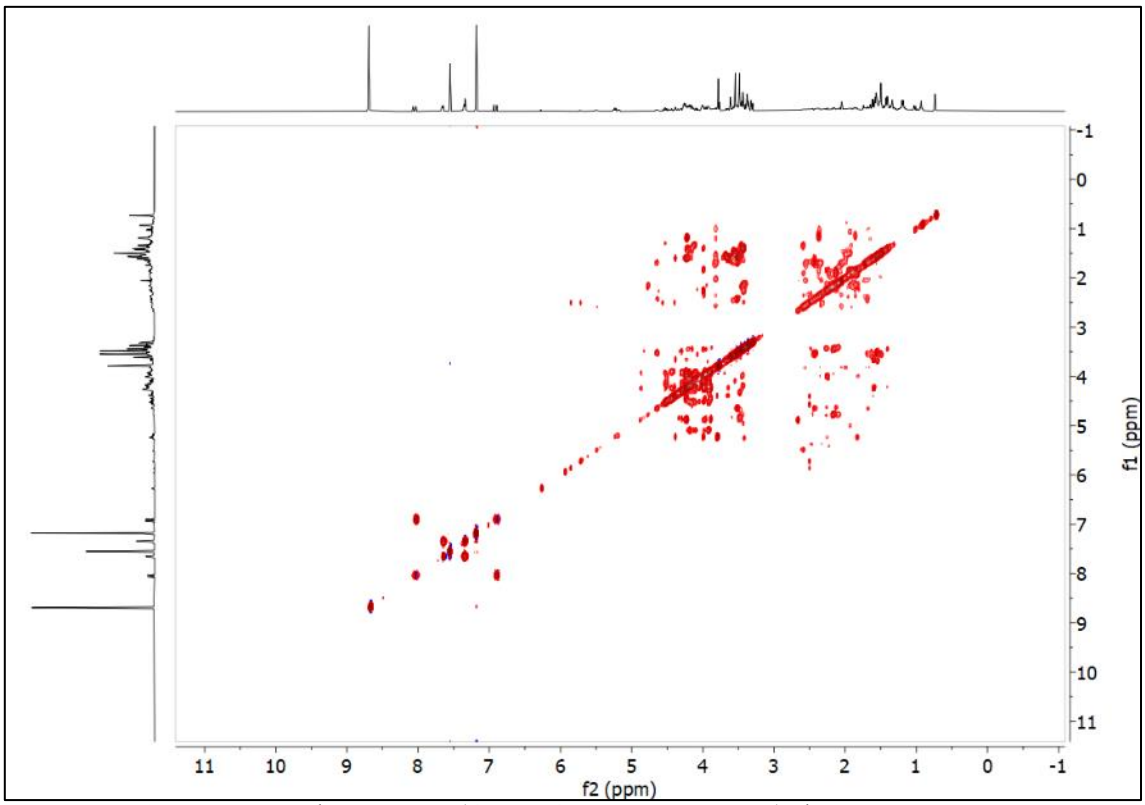


Figura S210. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8

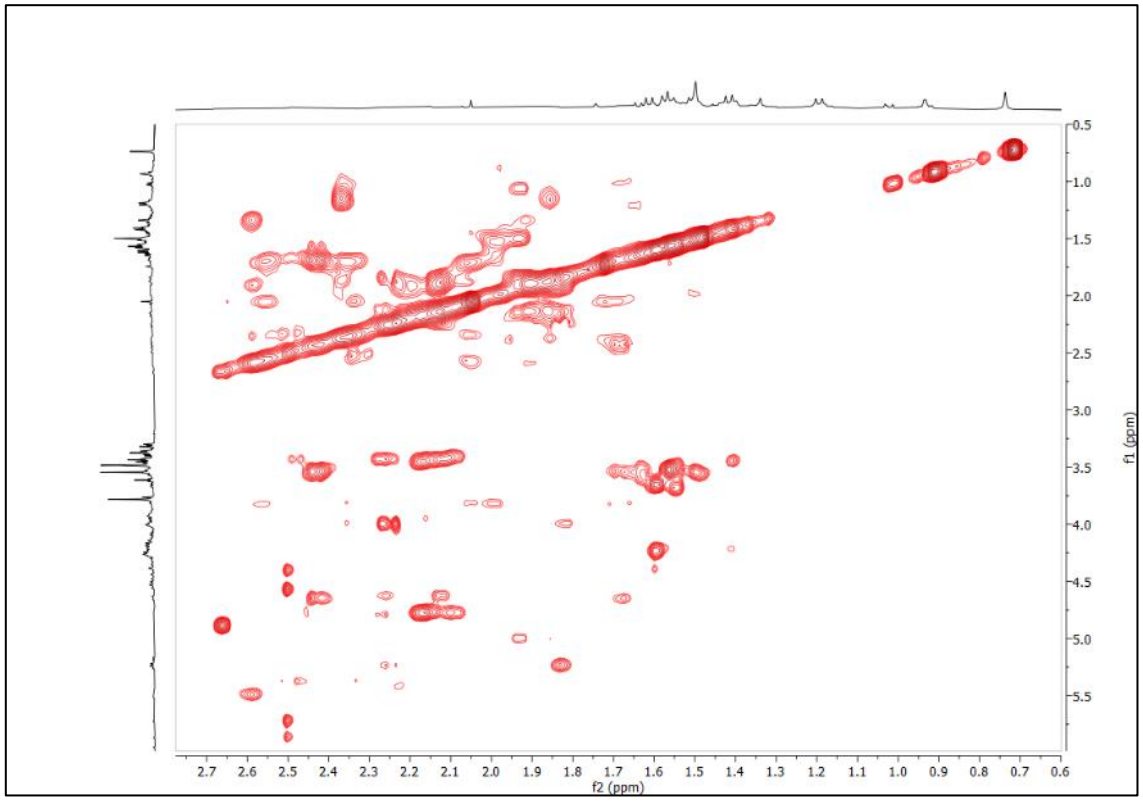


Figura S211. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,7 ppm

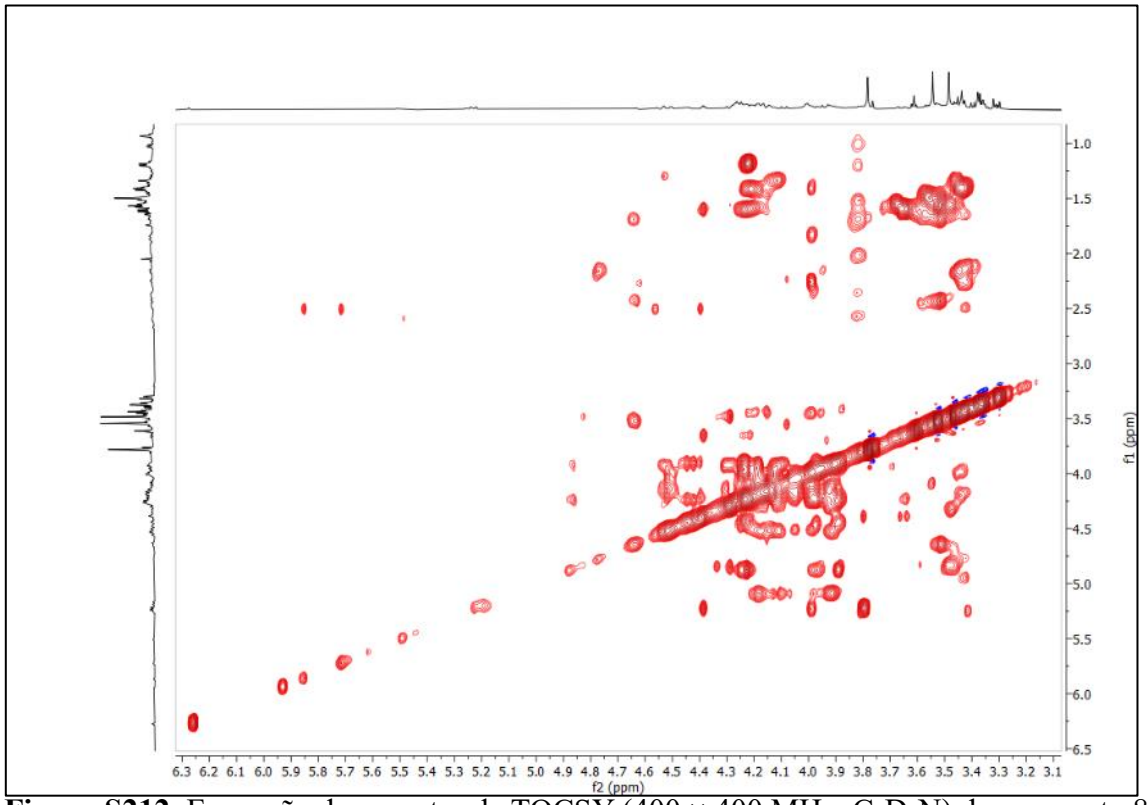


Figura S212. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,1-6,3 ppm

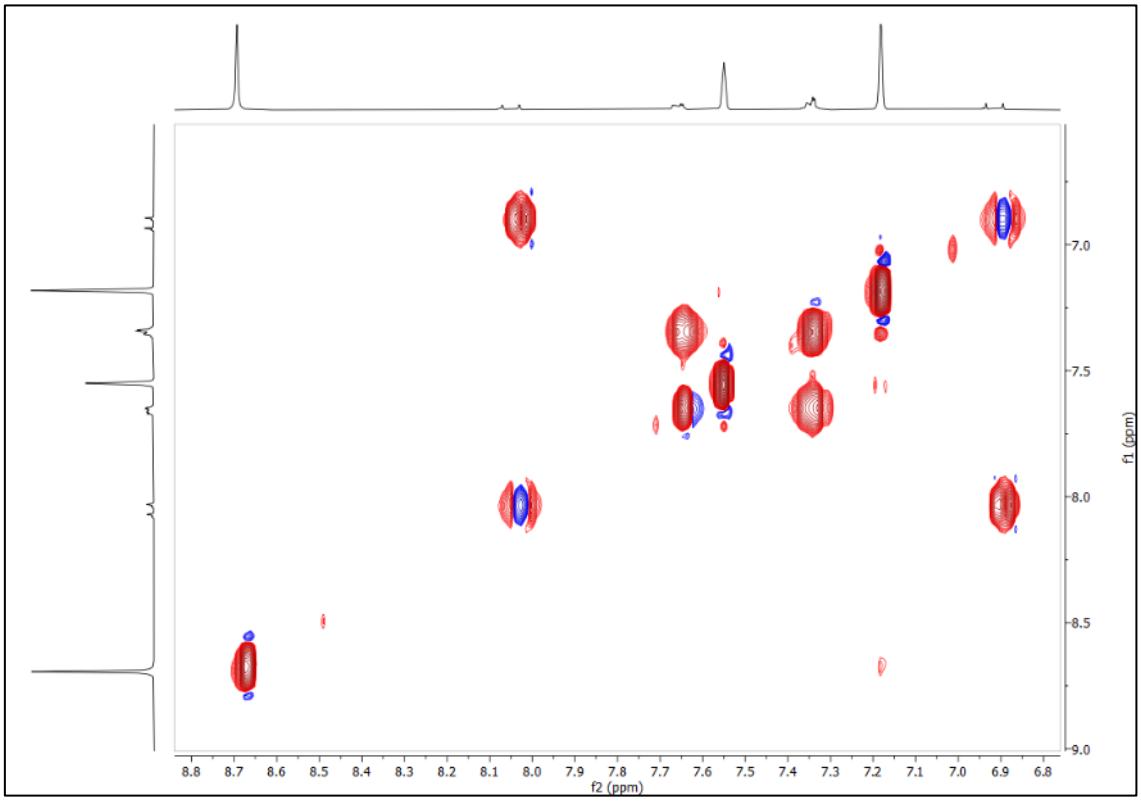


Figura S213. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 7,0-9,0 ppm e 6,8-8,8 ppm

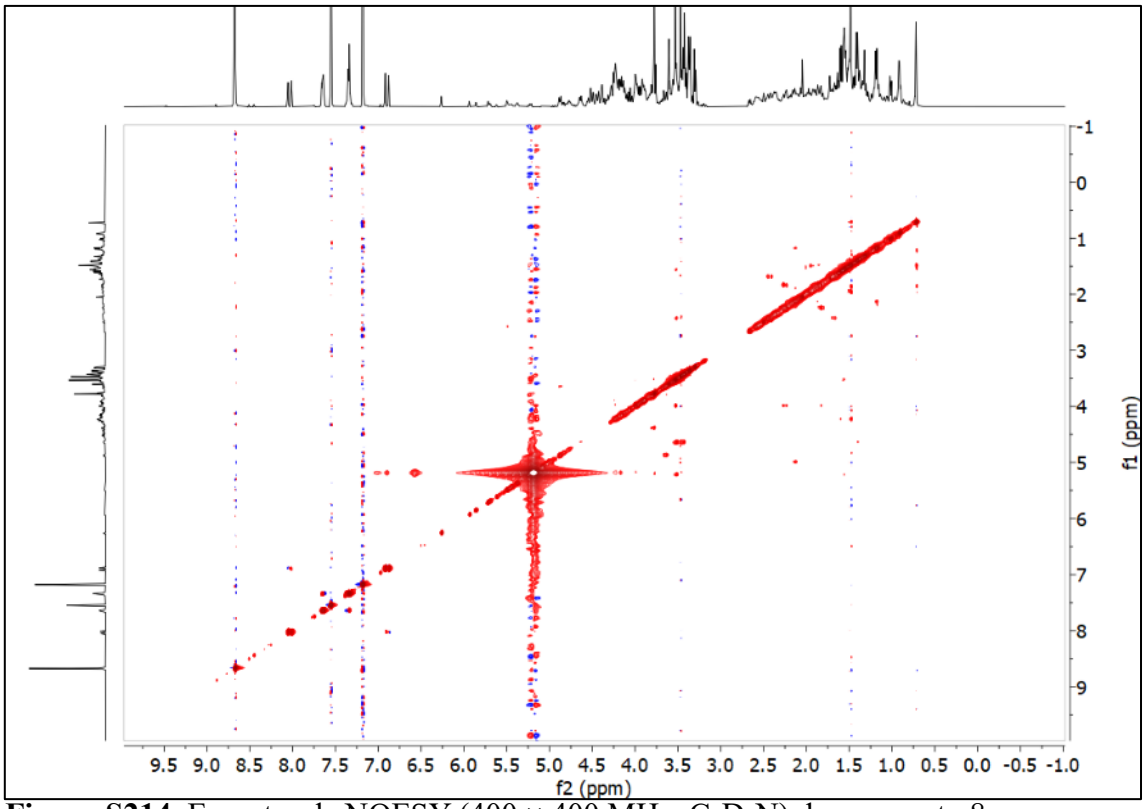


Figura S214. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8

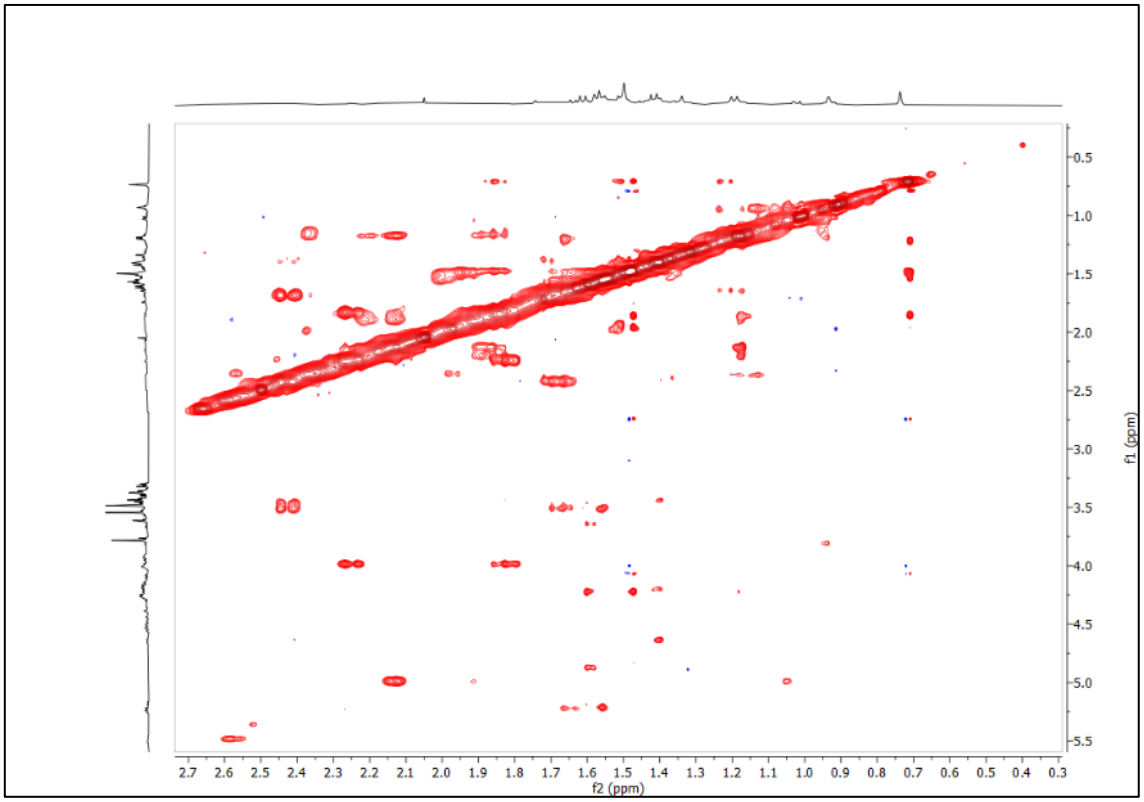


Figura S215. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,3-2,7 ppm

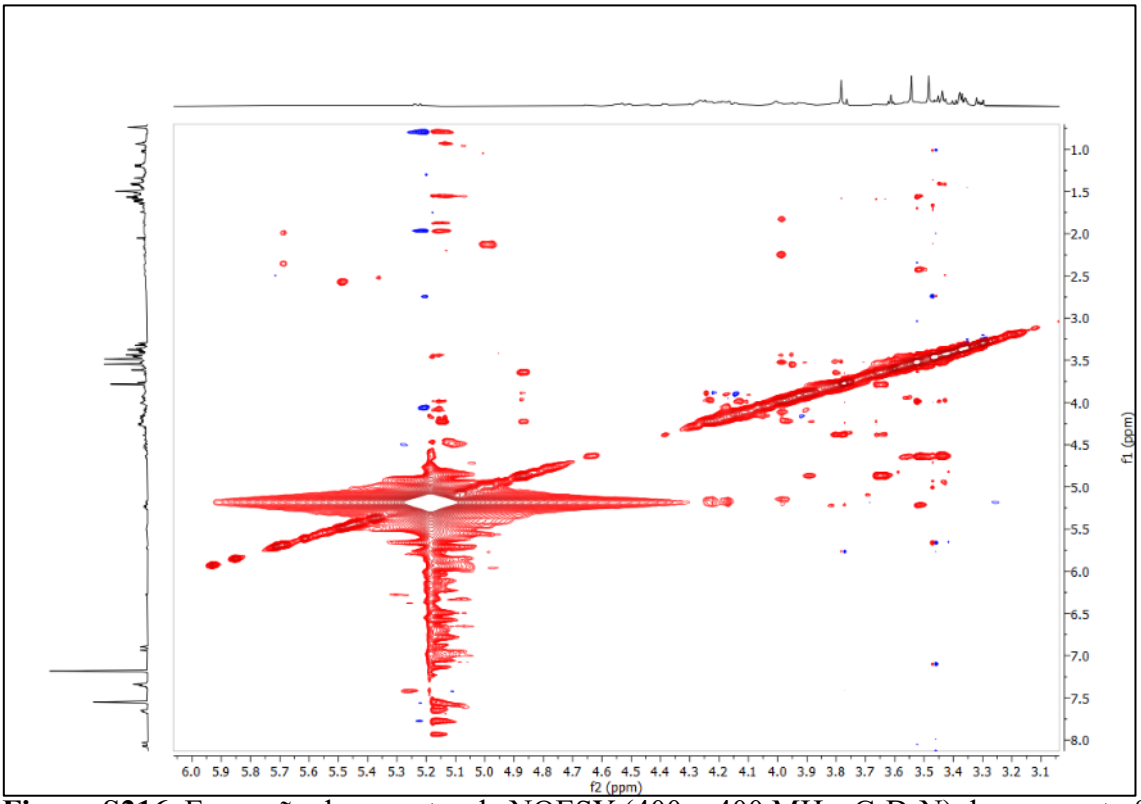


Figura S216. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 1,0-8,0 ppm e 3,1-6,0 ppm

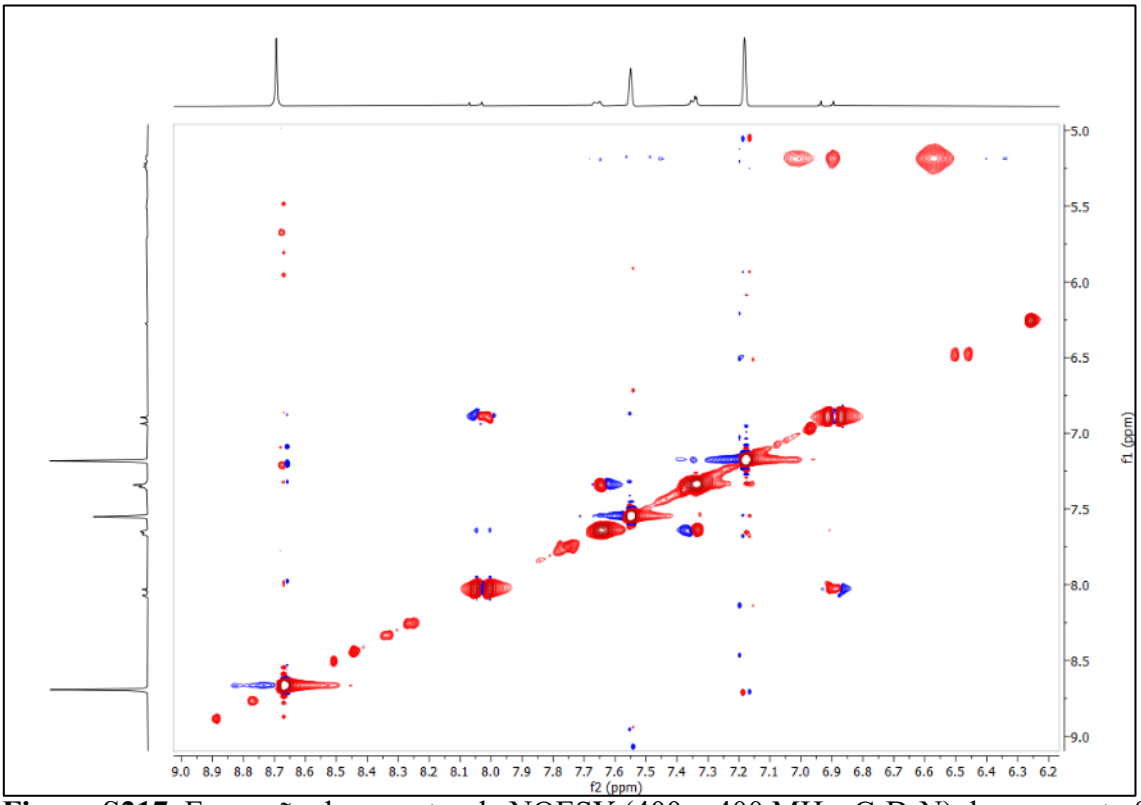


Figura S217. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 8 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,2-9,0 ppm

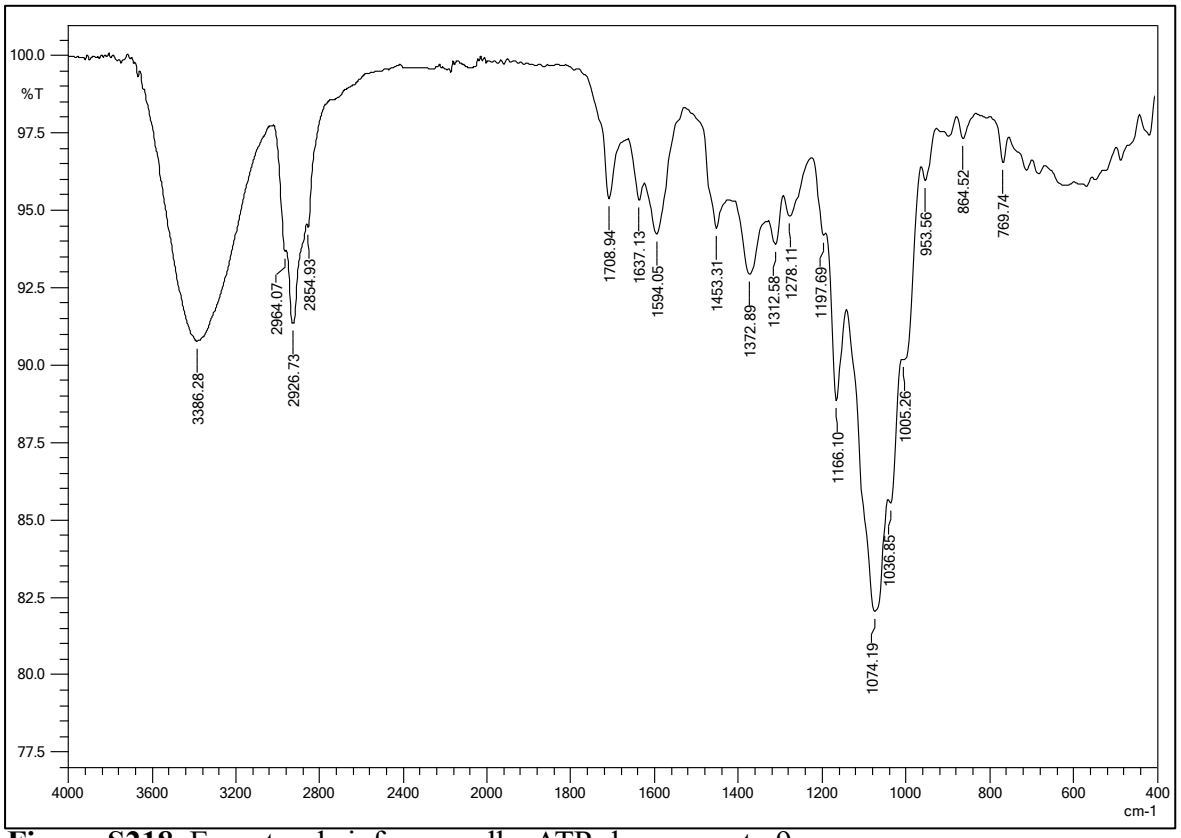


Figura S218. Espectro de infravermelho ATR do composto 9

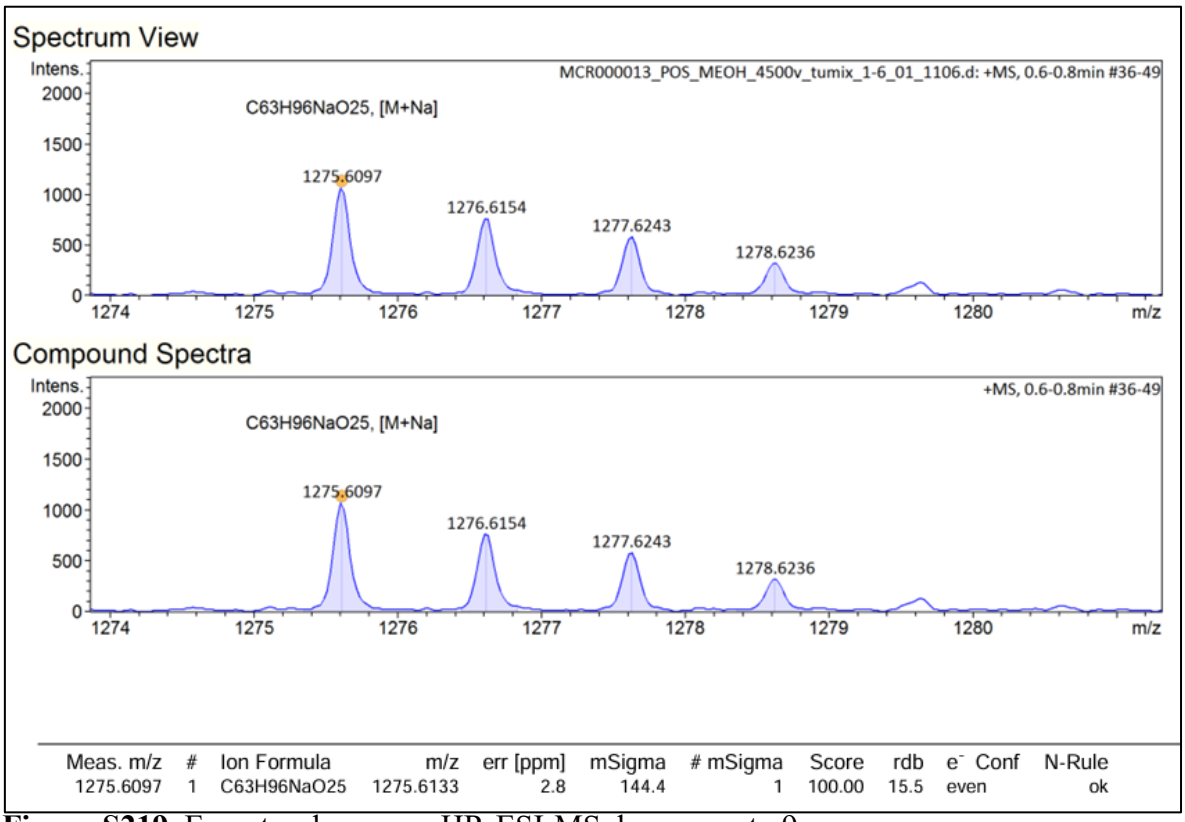


Figura S219. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 9

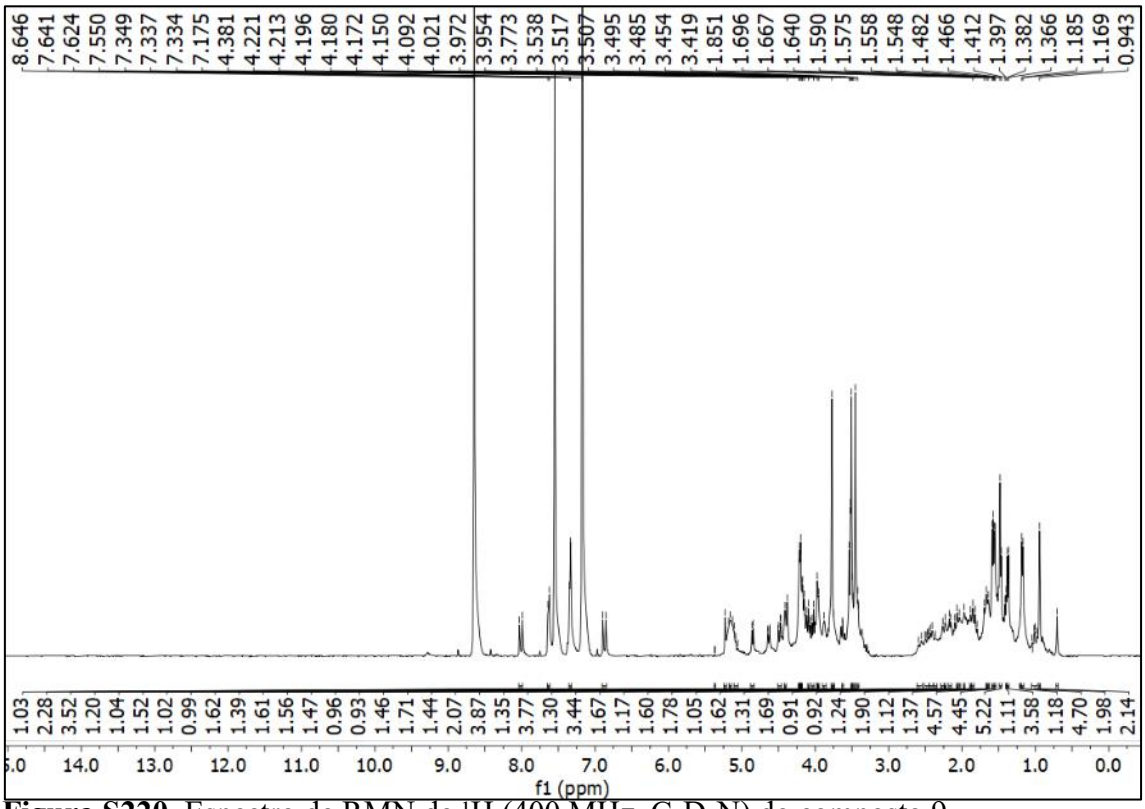


Figura S220. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 9

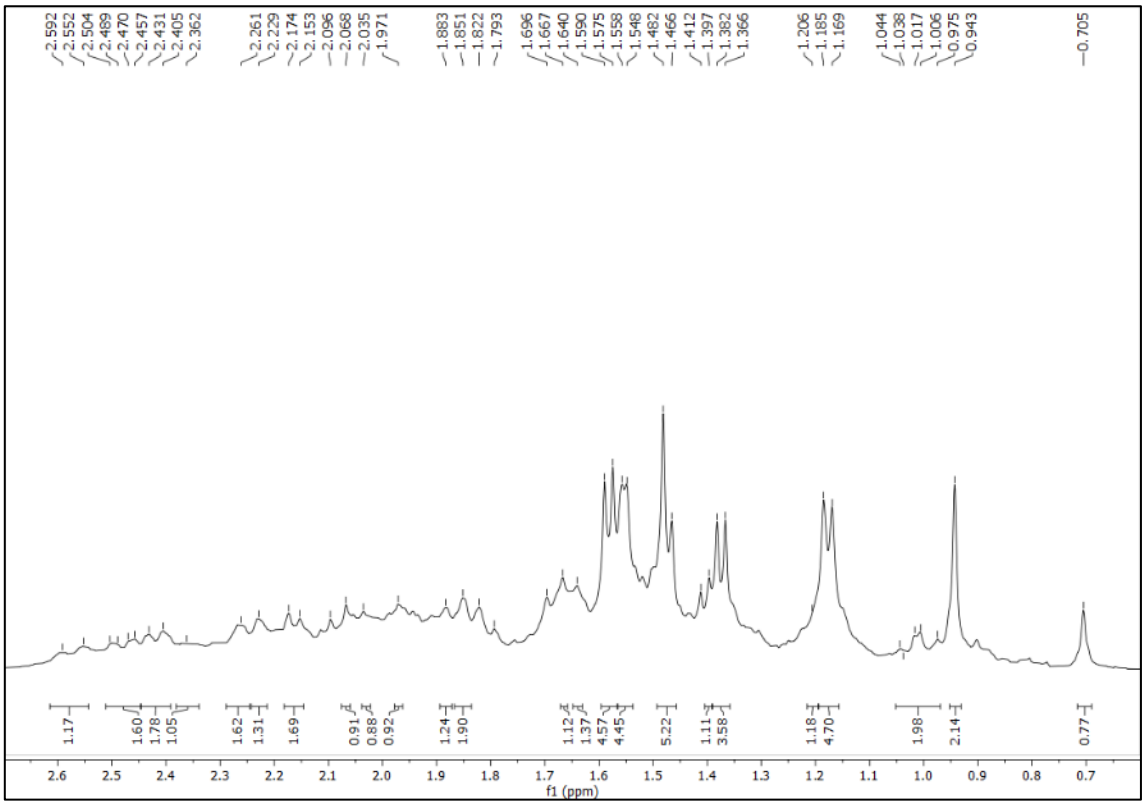


Figura S221. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 na região de 0,7-2,6 ppm

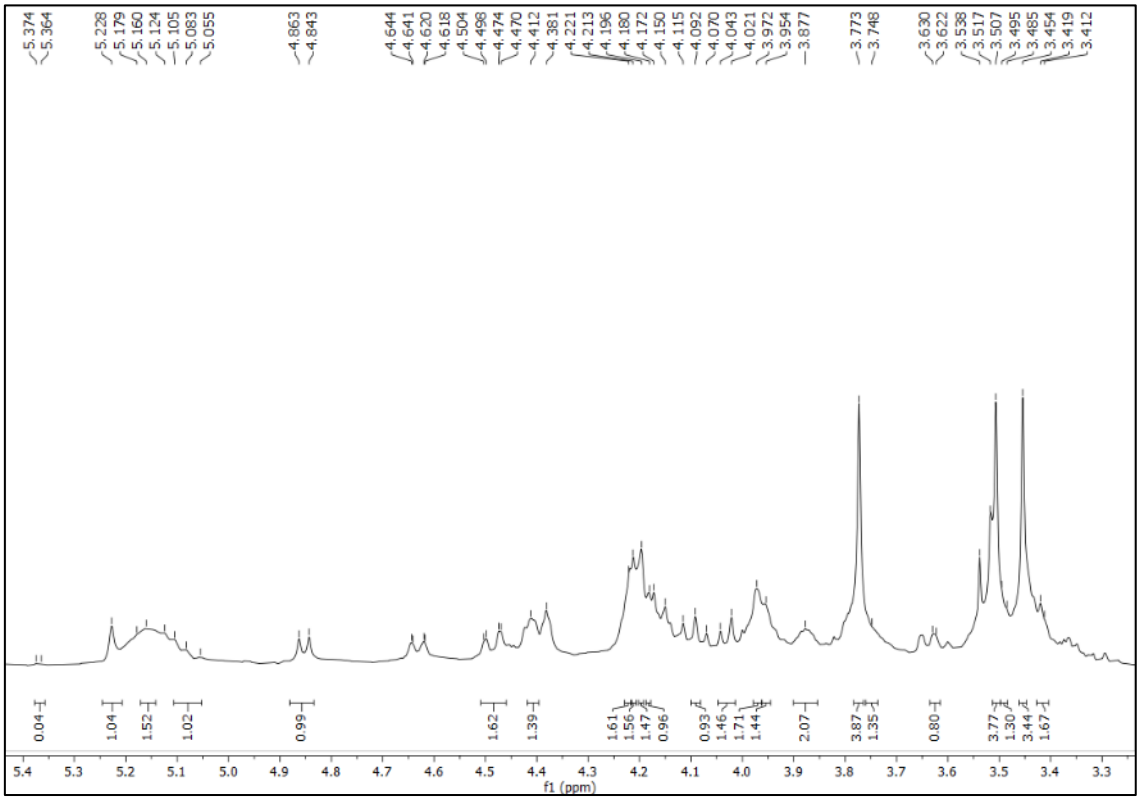


Figura S222. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 na região de 3,3-5,4 ppm

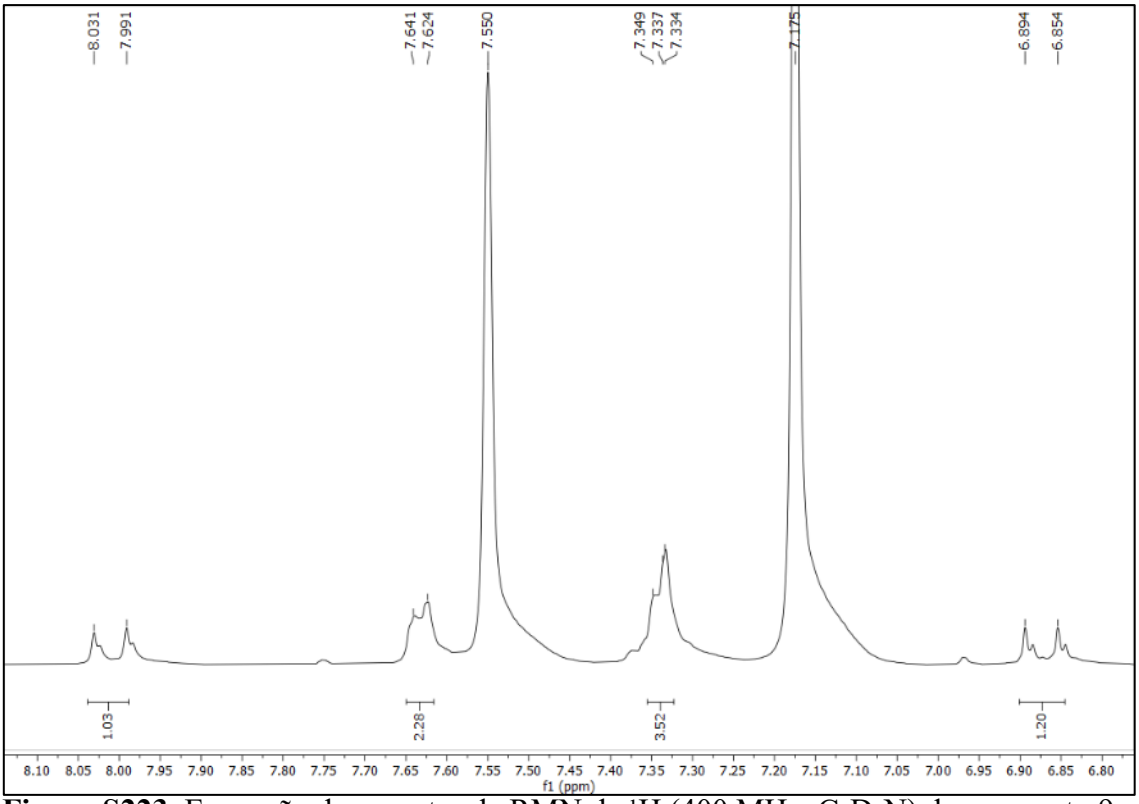


Figura S223. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 na região de 6,8-8,1 ppm

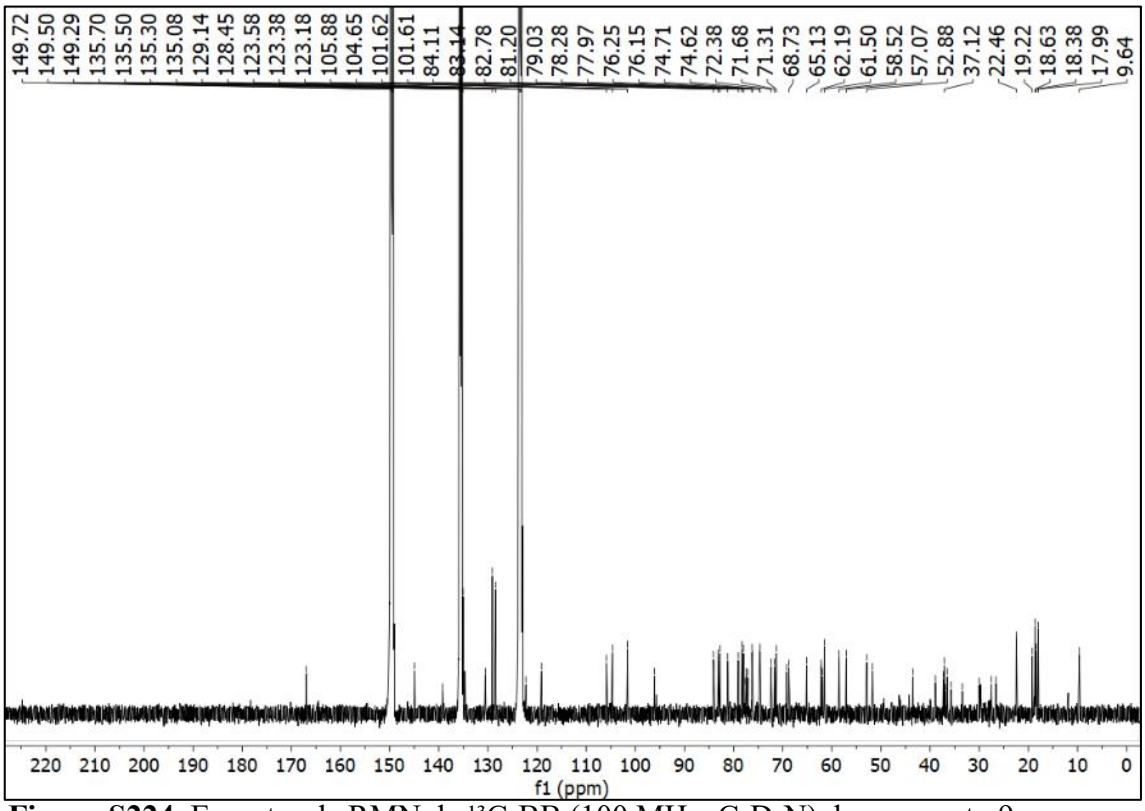


Figura S224. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 9

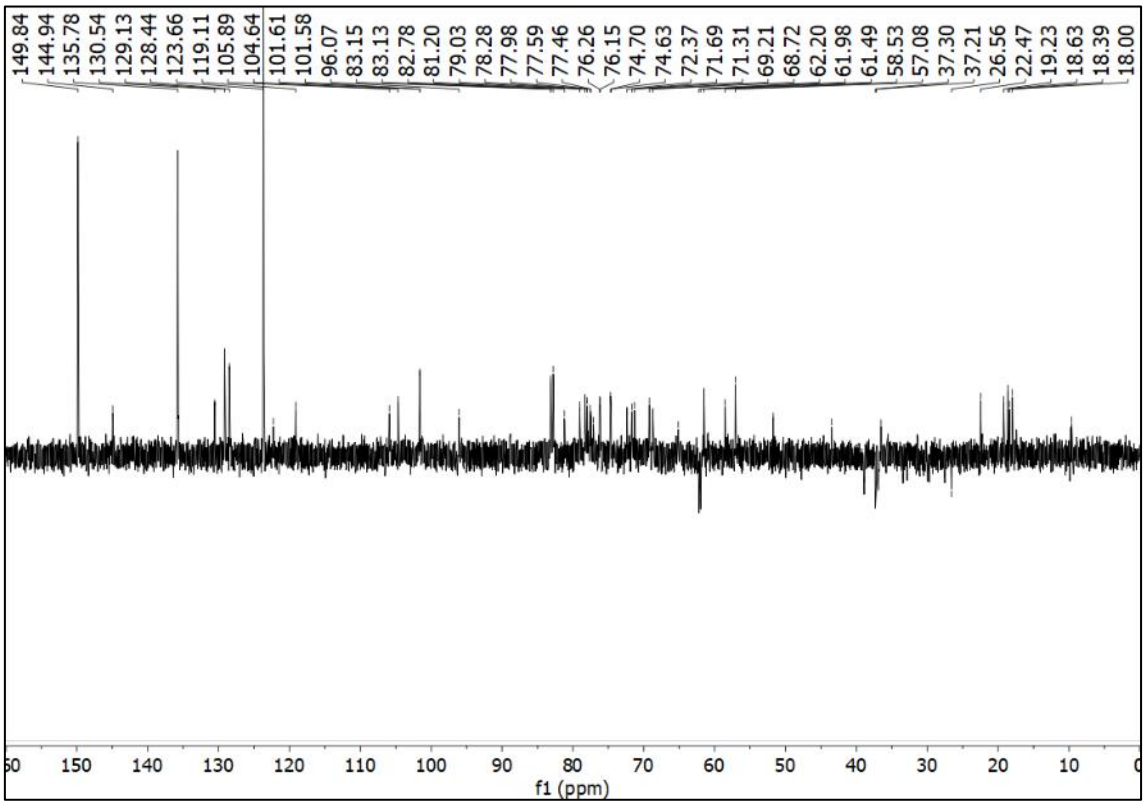


Figura S225. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 9

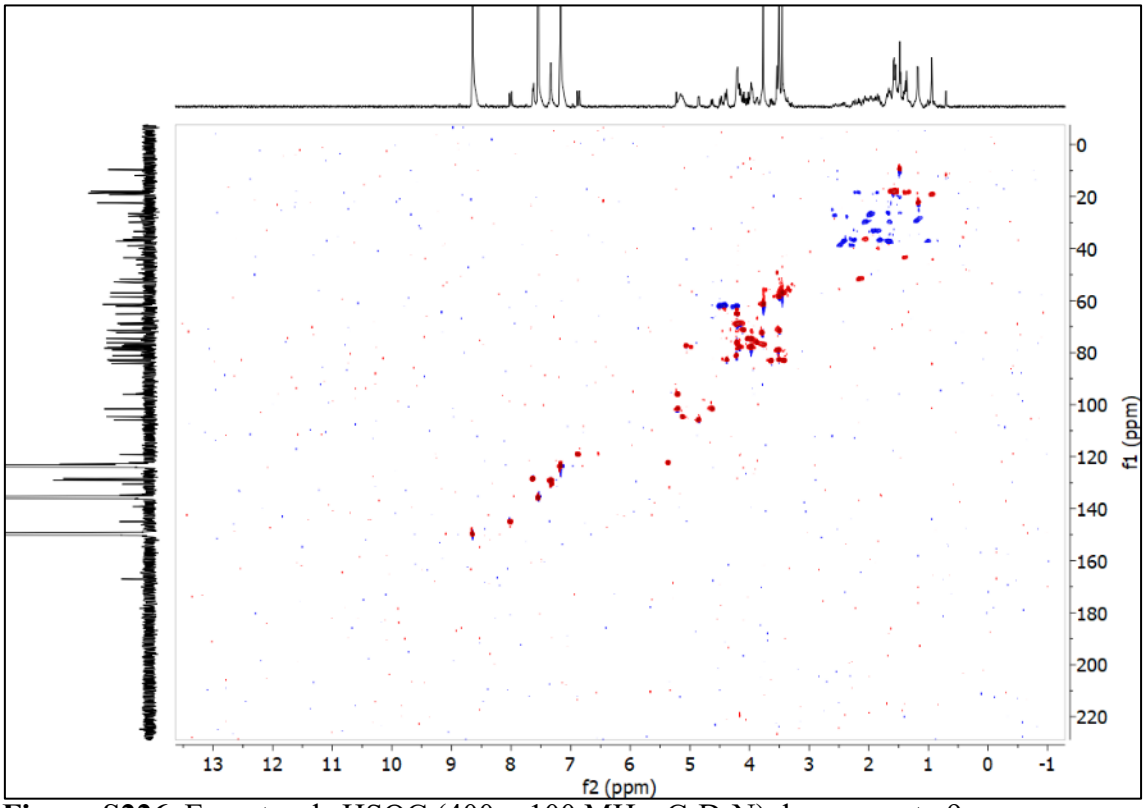


Figura S226. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9

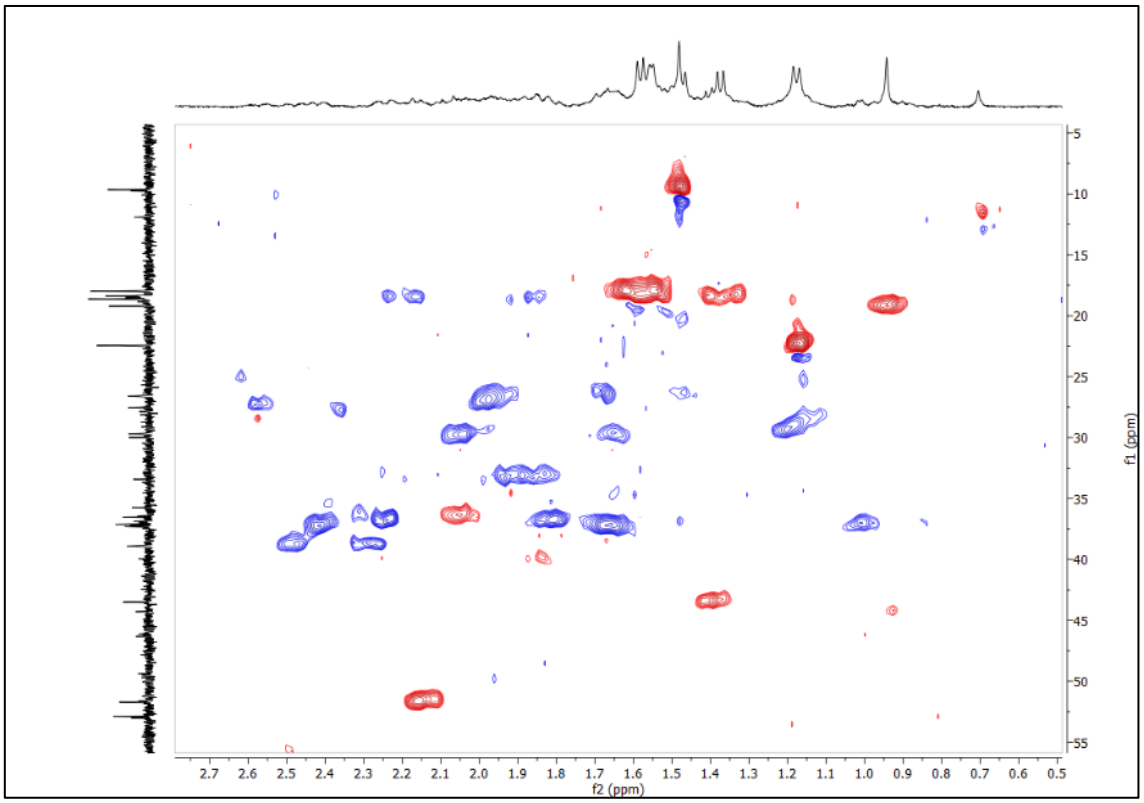


Figura S227. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 5-55 ppm e 0,5-2,7 ppm

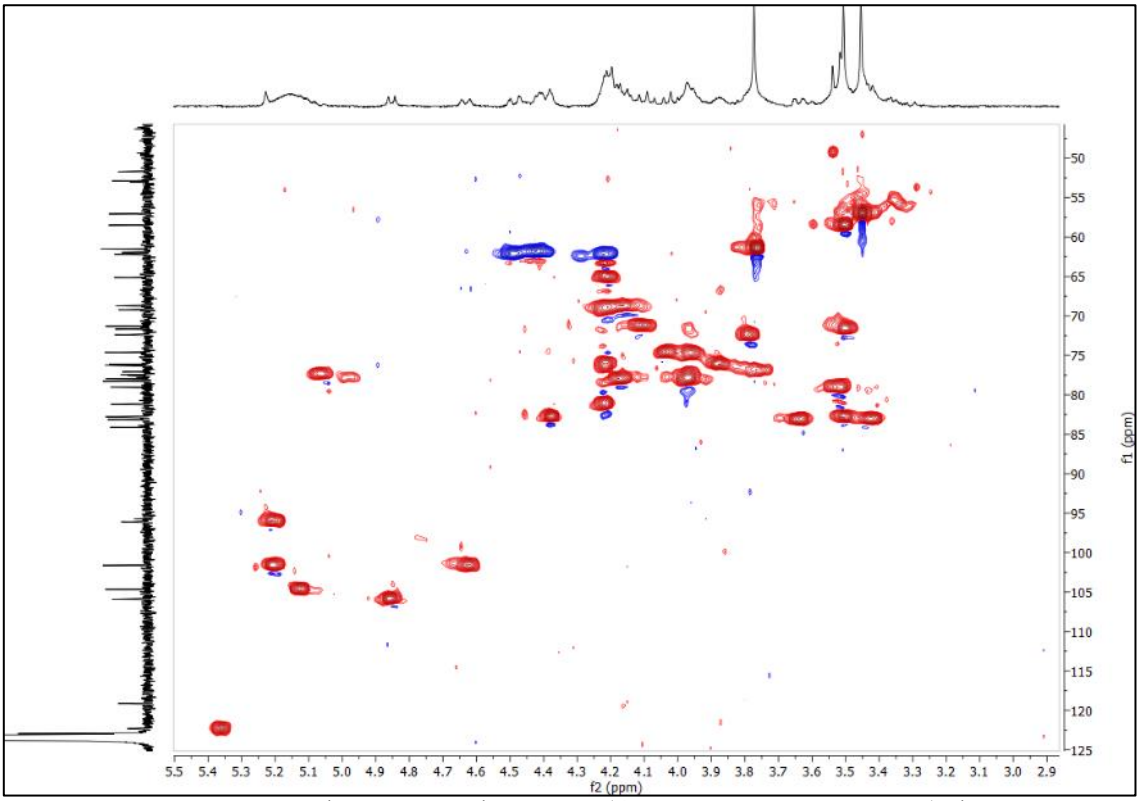


Figura S228. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 50-125 ppm e 2,9-5,5 ppm

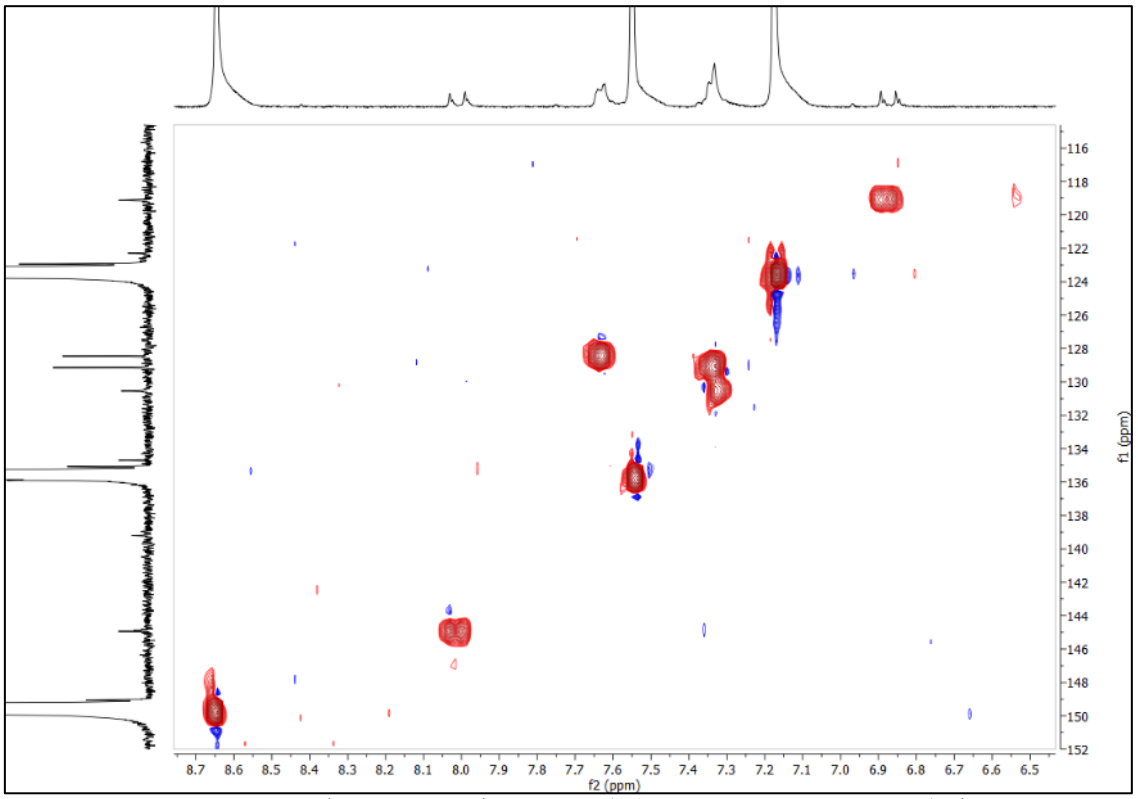


Figura S229. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 116-152 ppm e 6,5-8,7 ppm

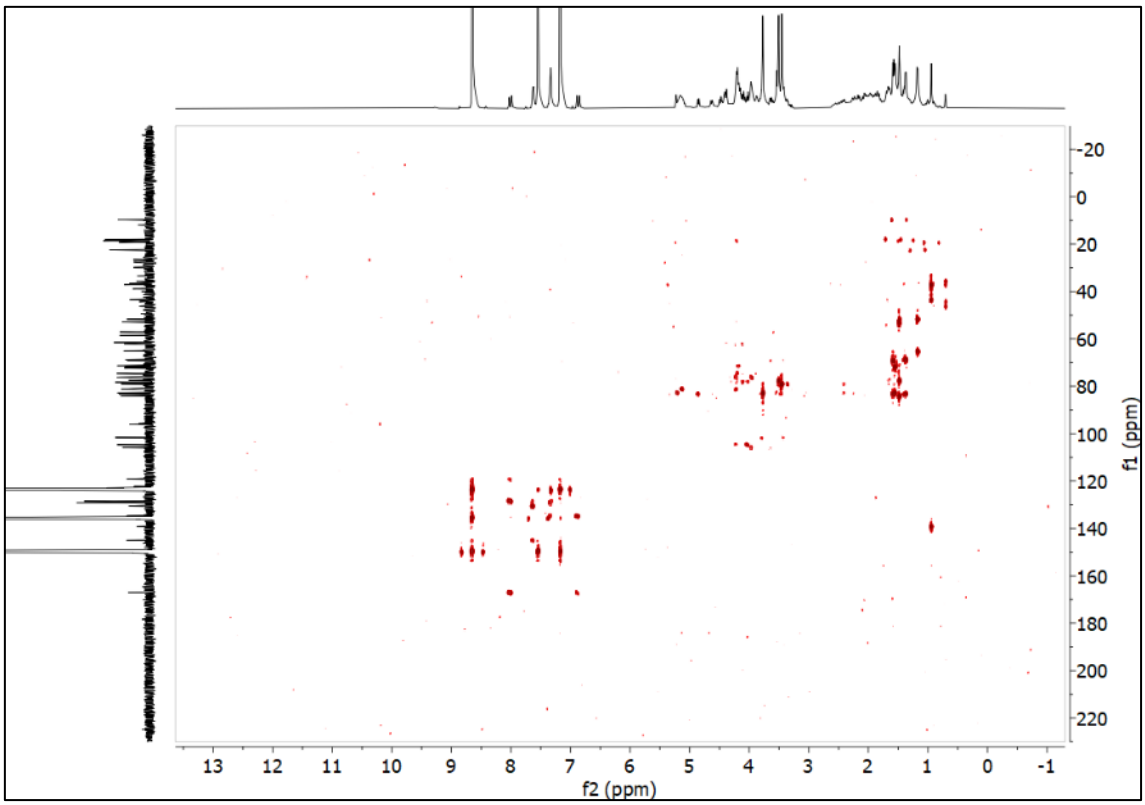


Figura S230. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9

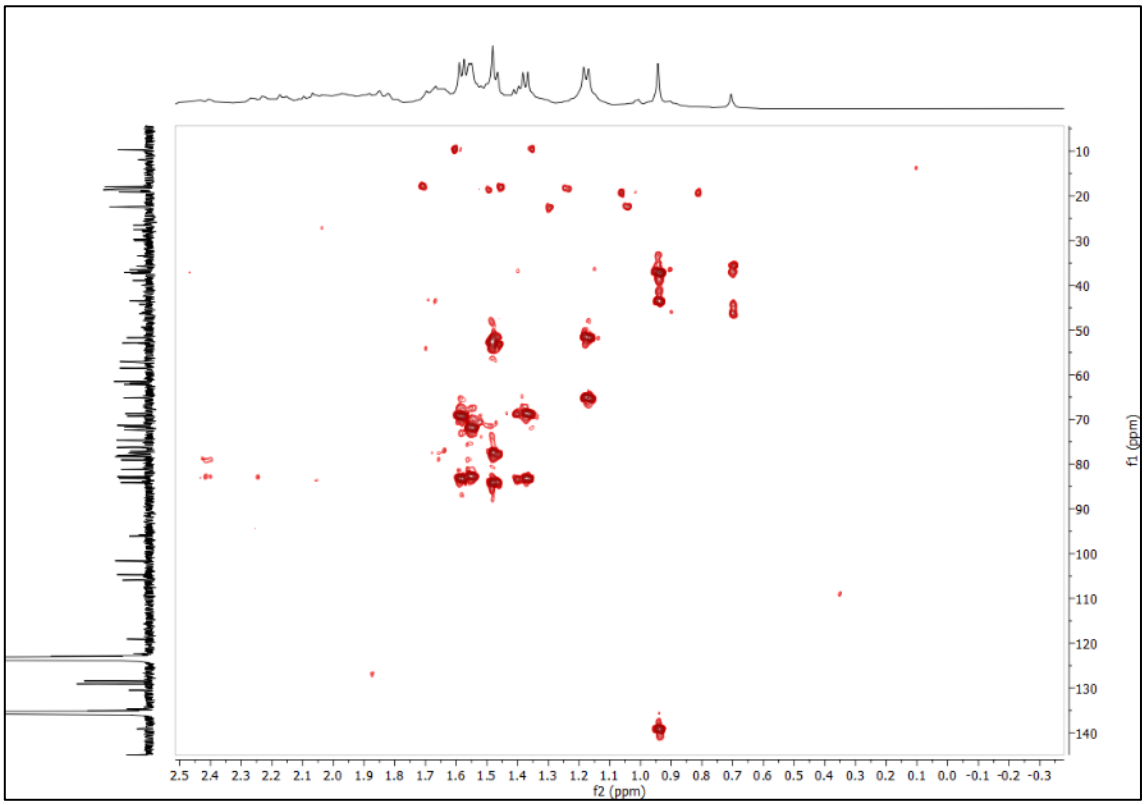


Figura S231. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 10-140 ppm e -0,3-2,5 ppm

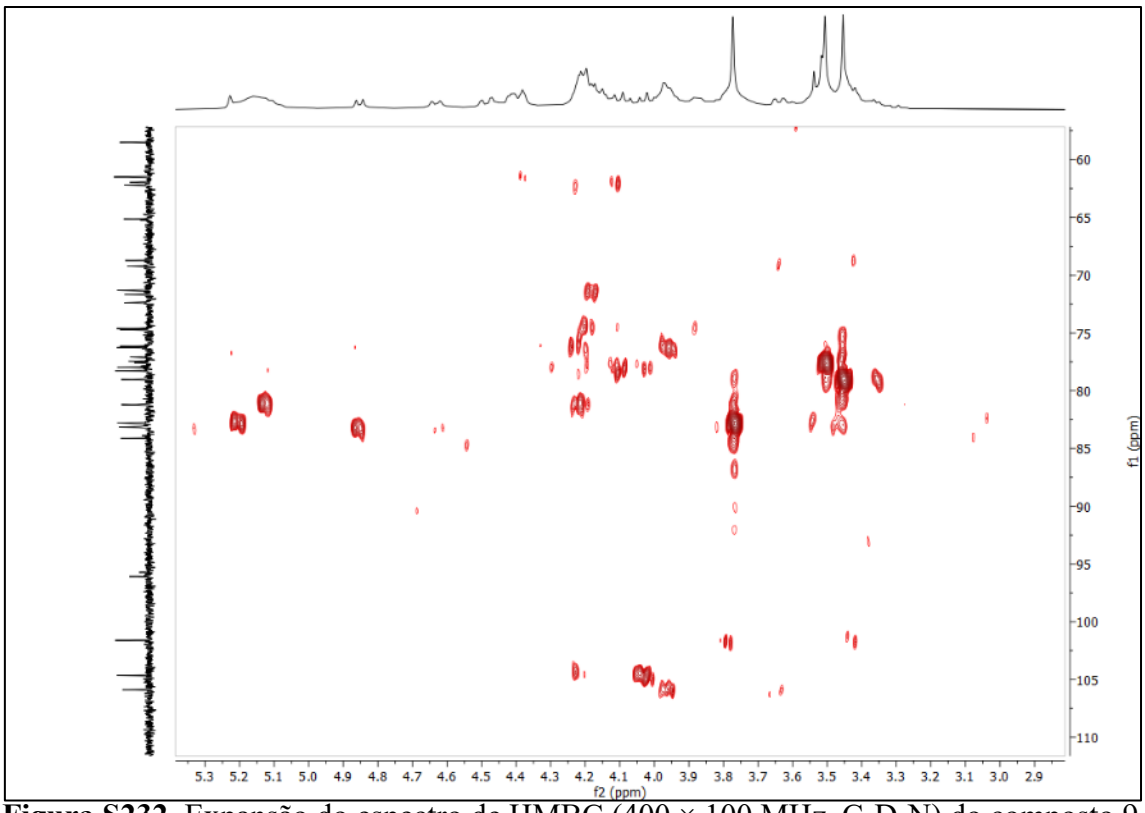


Figura S232. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 60-110 ppm e 2,9-5,3 ppm

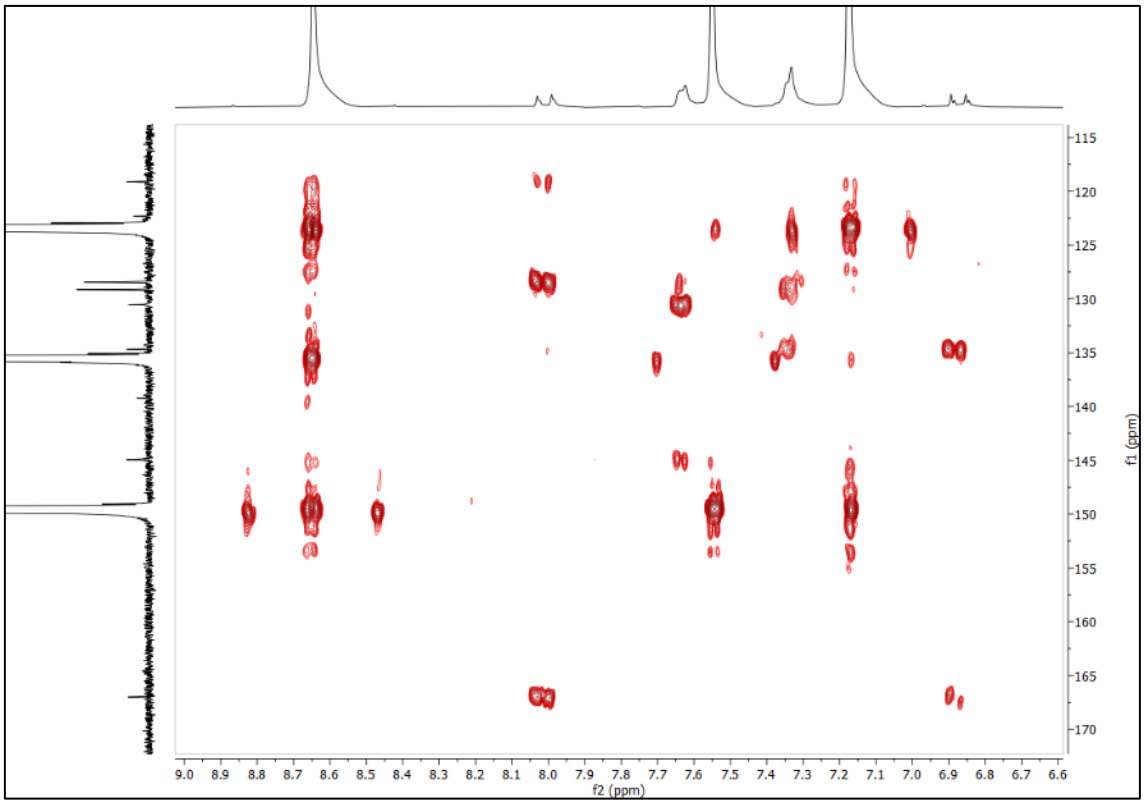


Figura S233. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 115-170 ppm e 6,6-9,0 ppm

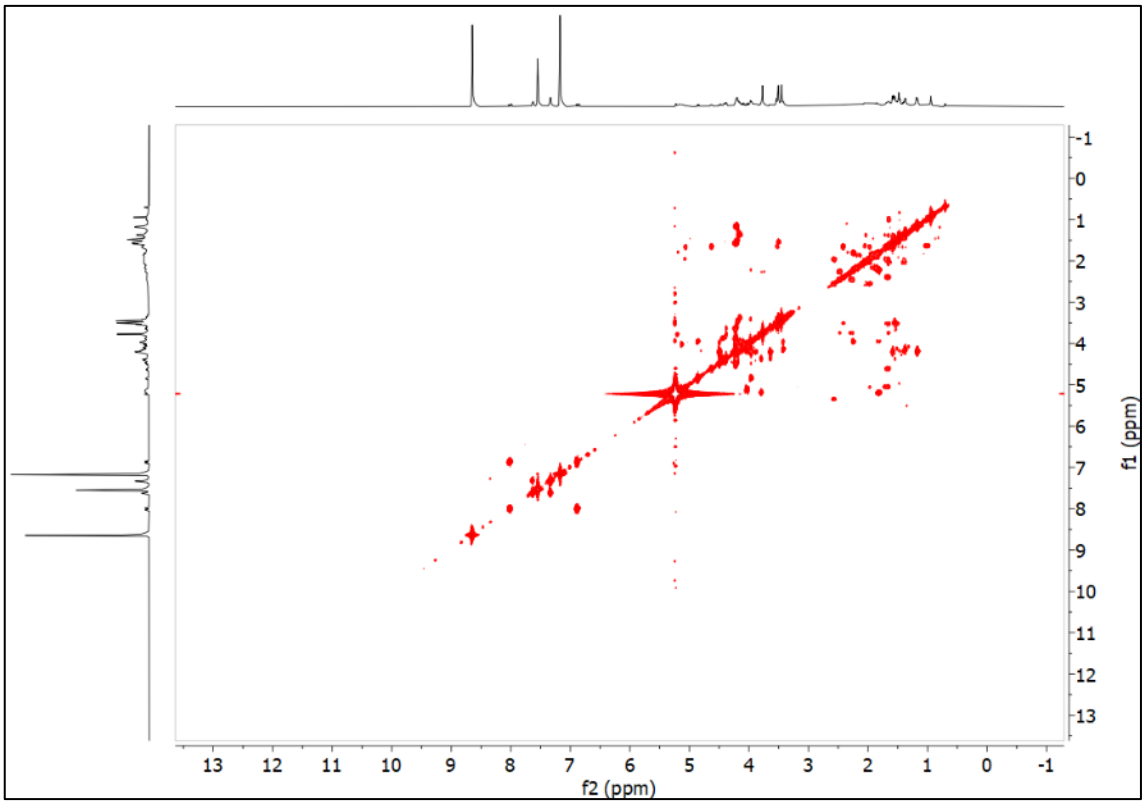


Figura S234. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9

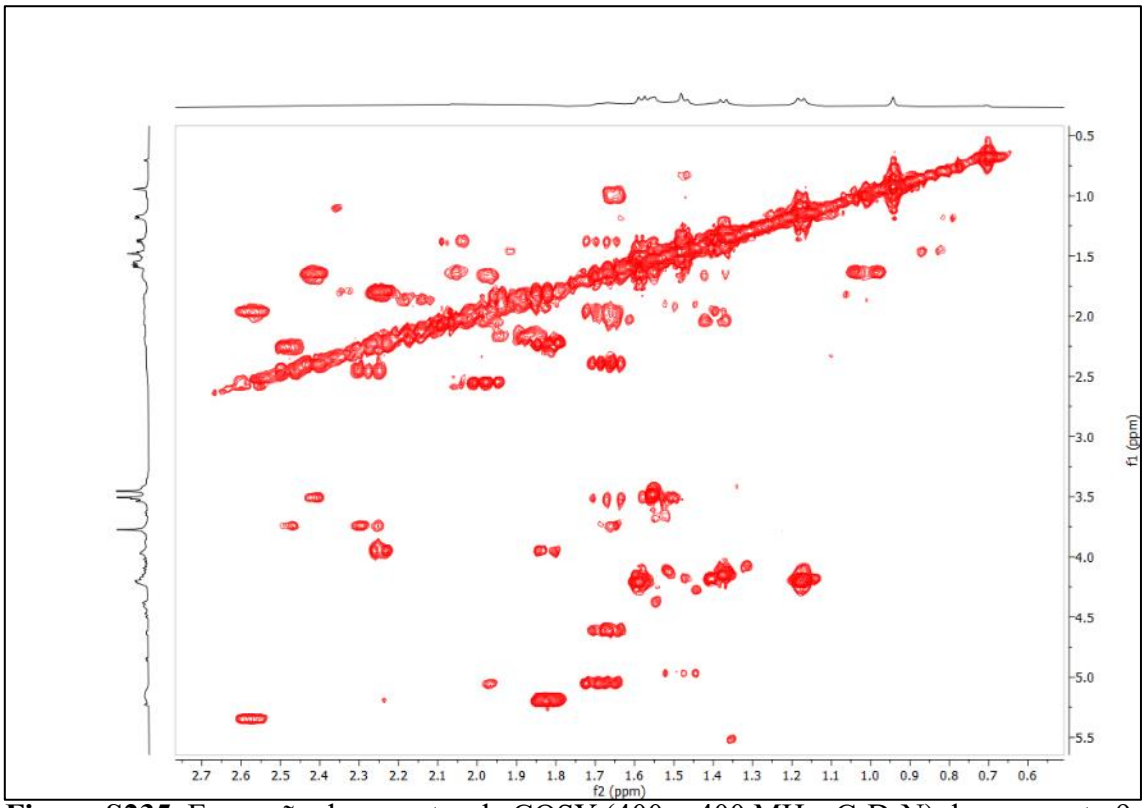


Figura S235. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,7 ppm

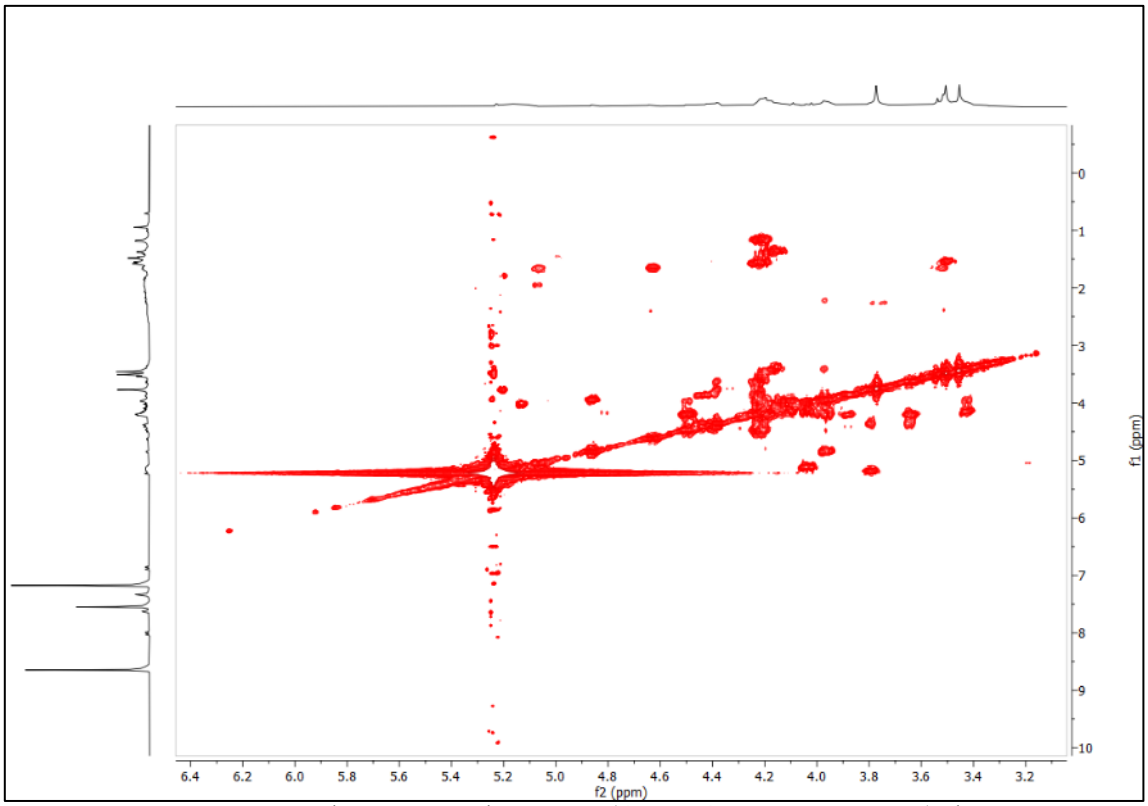


Figura S236. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 0-10 ppm e 3,2-6,4 ppm

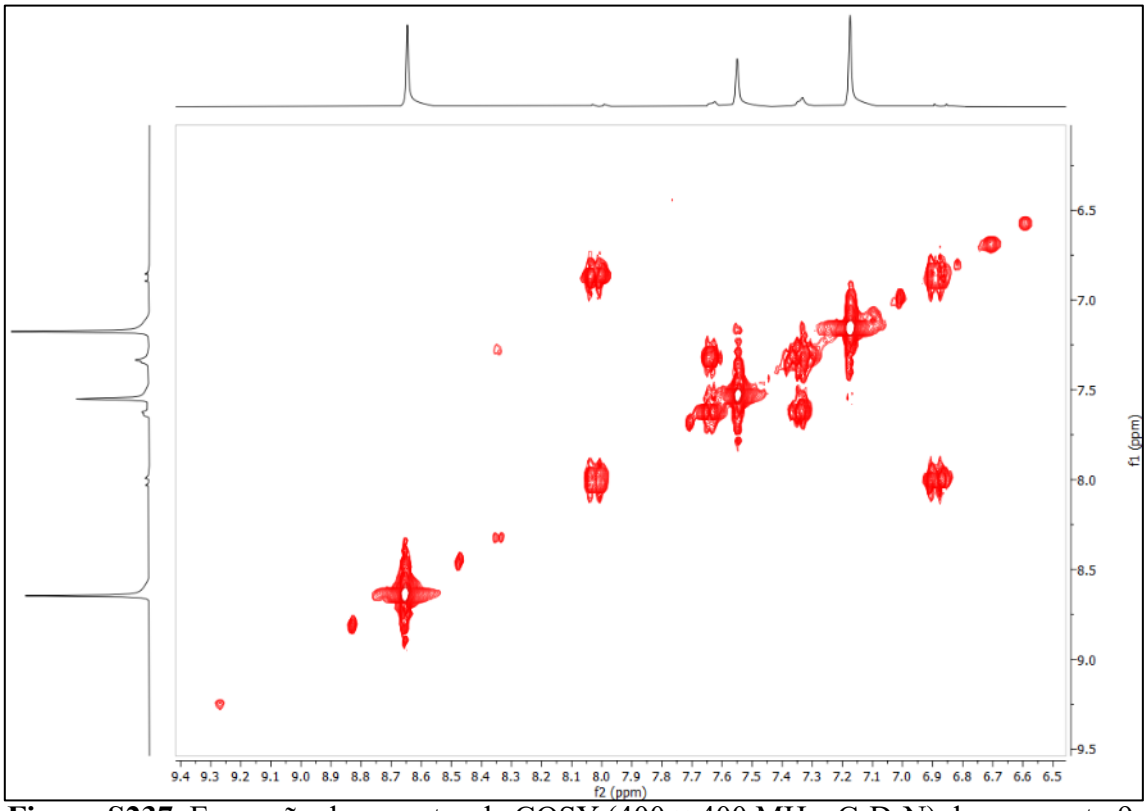


Figura S237. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 6,5-9,5 ppm e 6,5-9,4 ppm

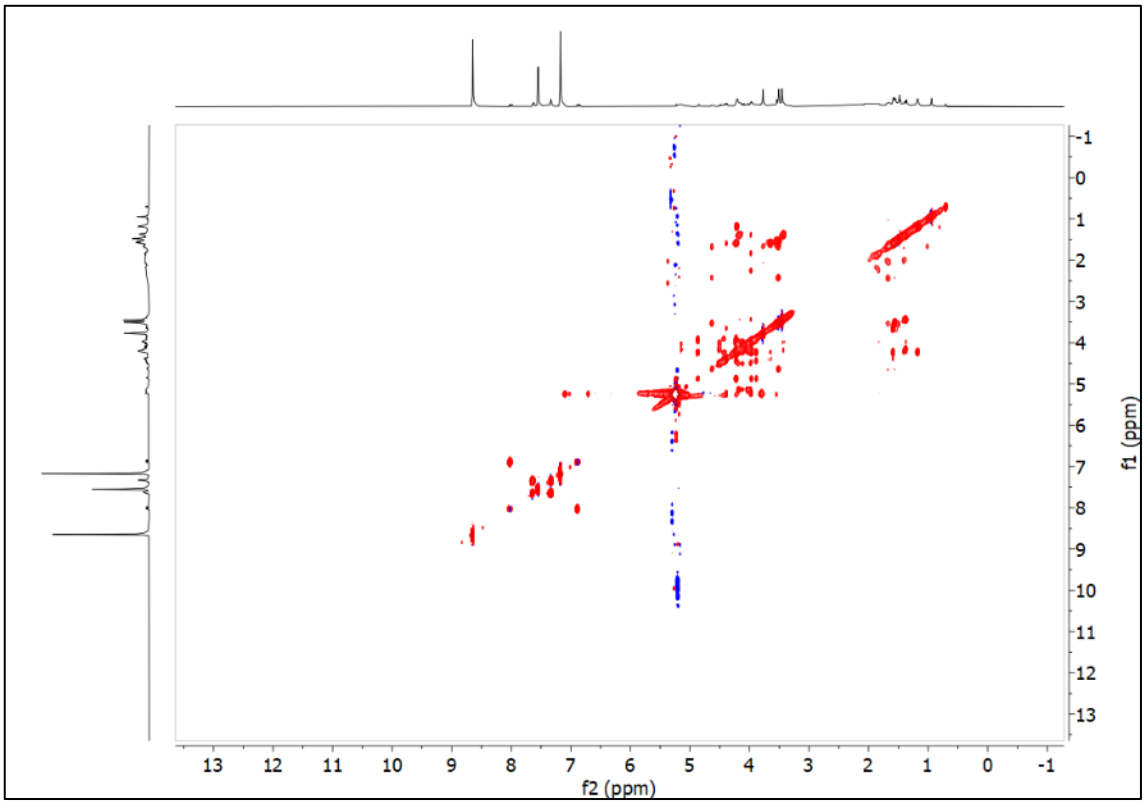


Figura S238. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9

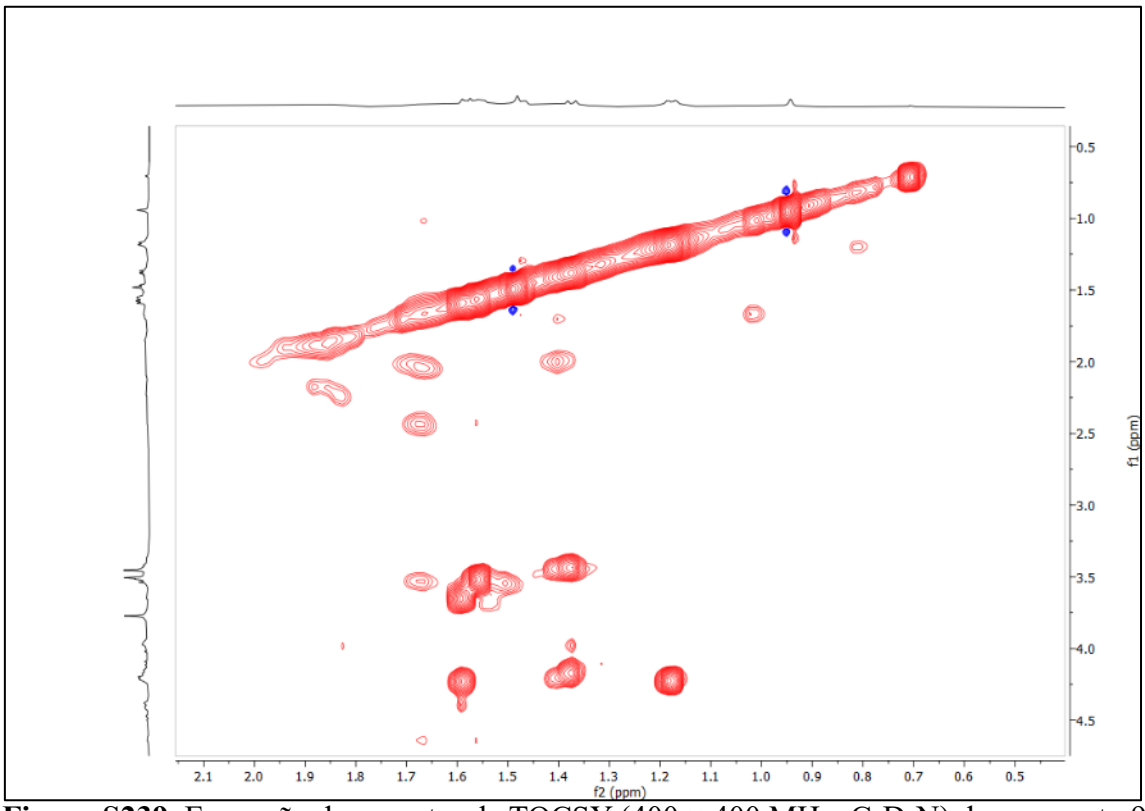


Figura S239. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 0,5-4,5 ppm e 0,5-2,1 ppm

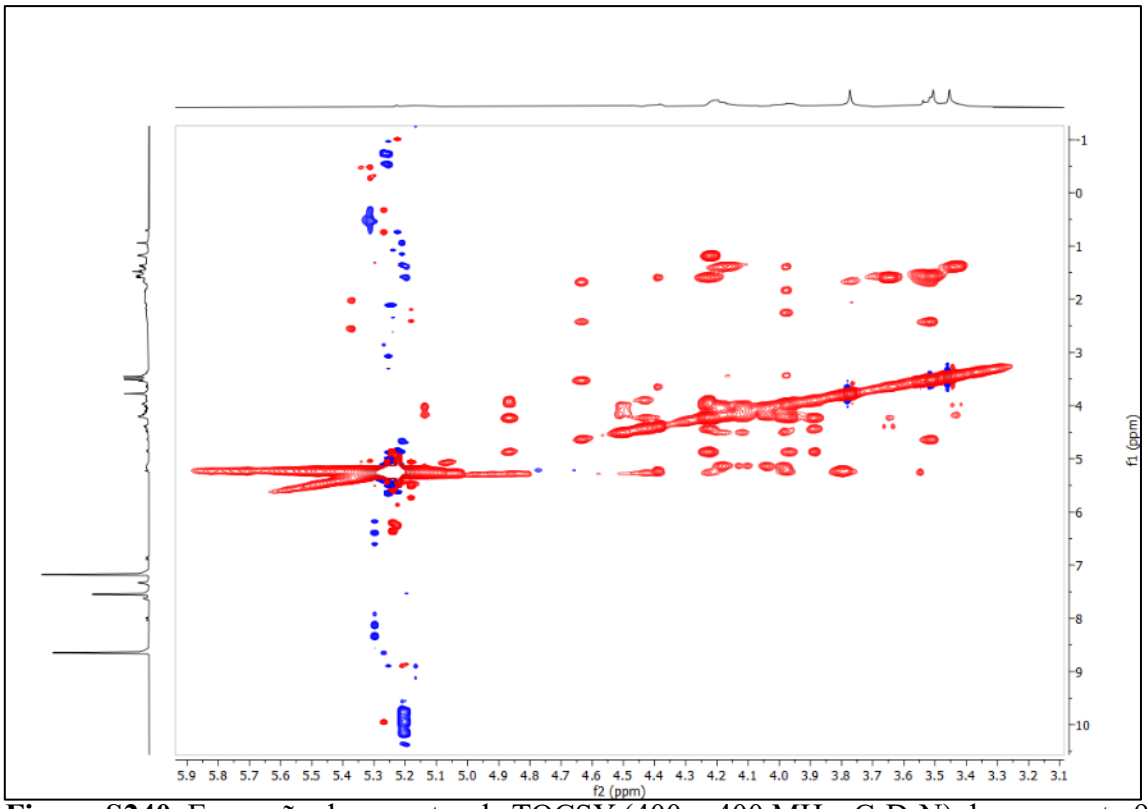


Figura S240. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de -1-10 ppm e 3,1-5,9 ppm

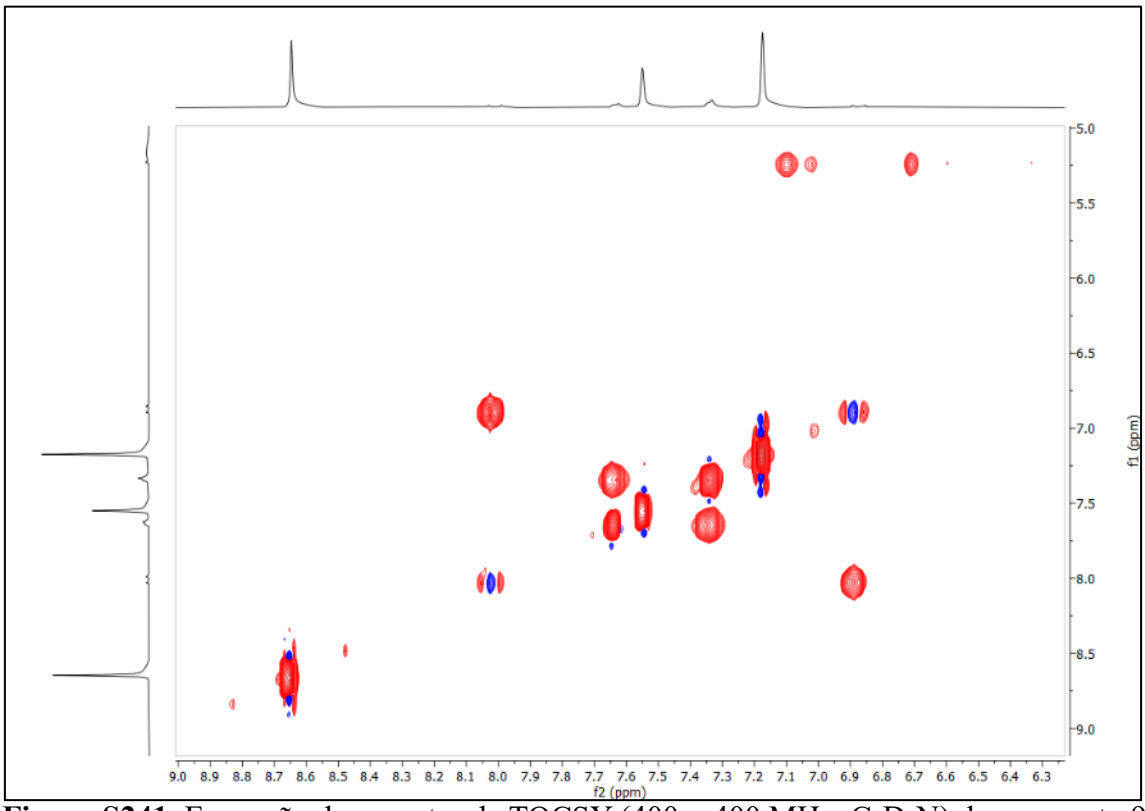


Figura S241. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,3-9,0 ppm

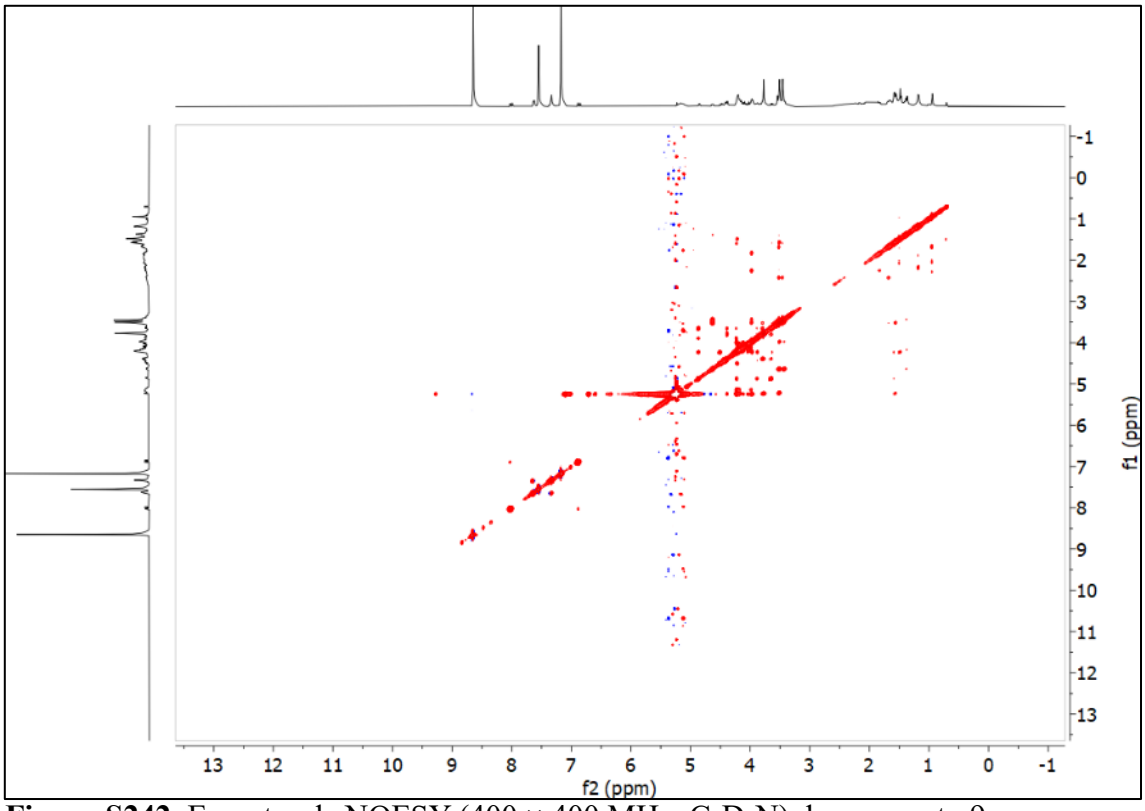


Figura S242. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9

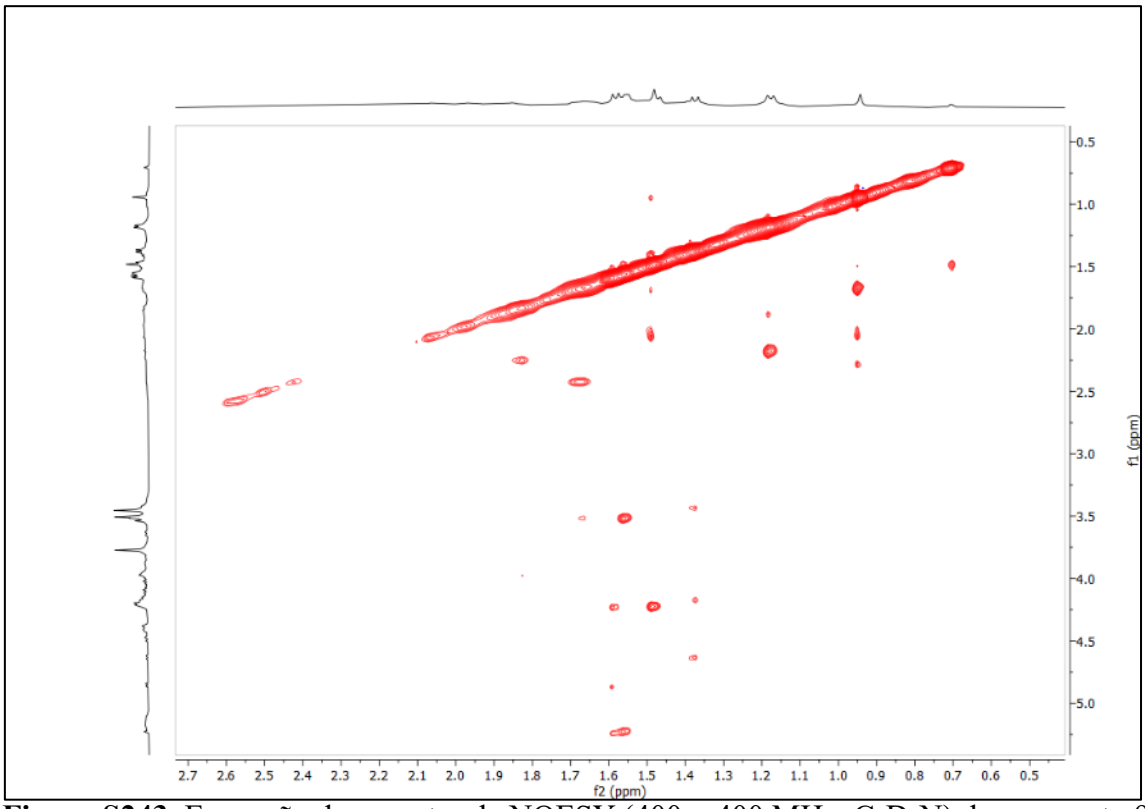


Figura S243. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,5-2,7 ppm

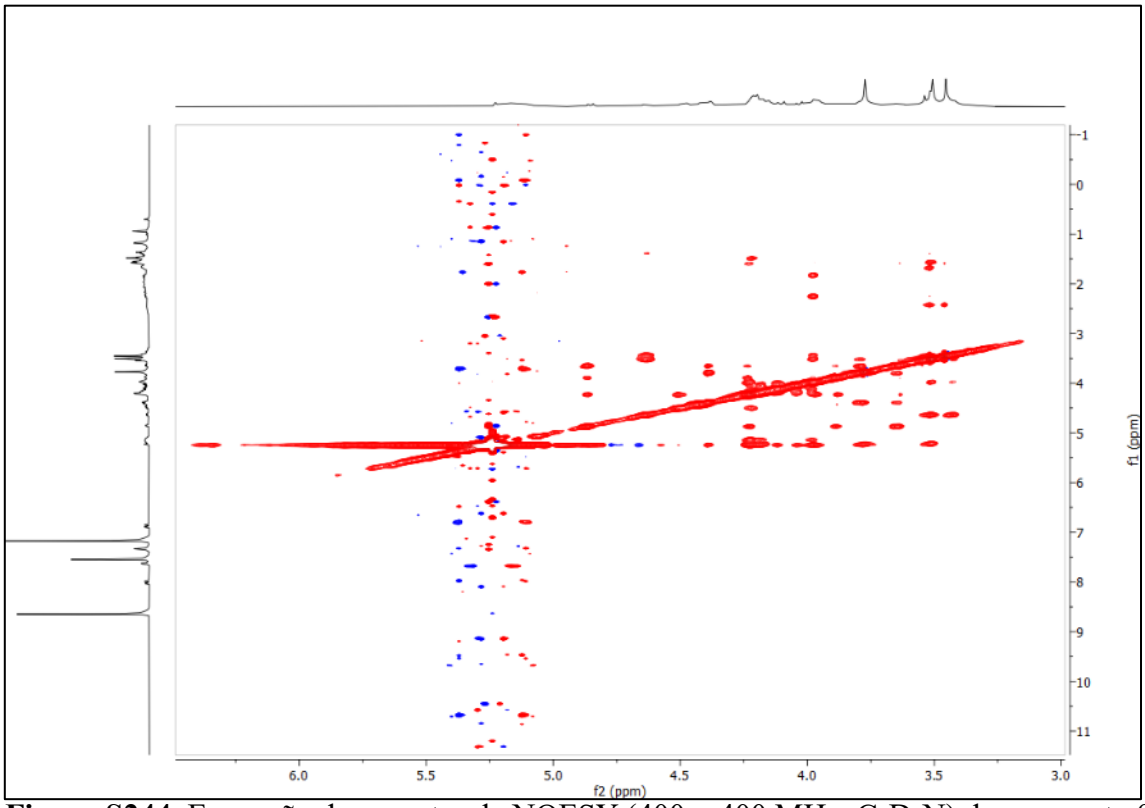


Figura S244. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de -1-11 ppm e 3,0-6,0 ppm

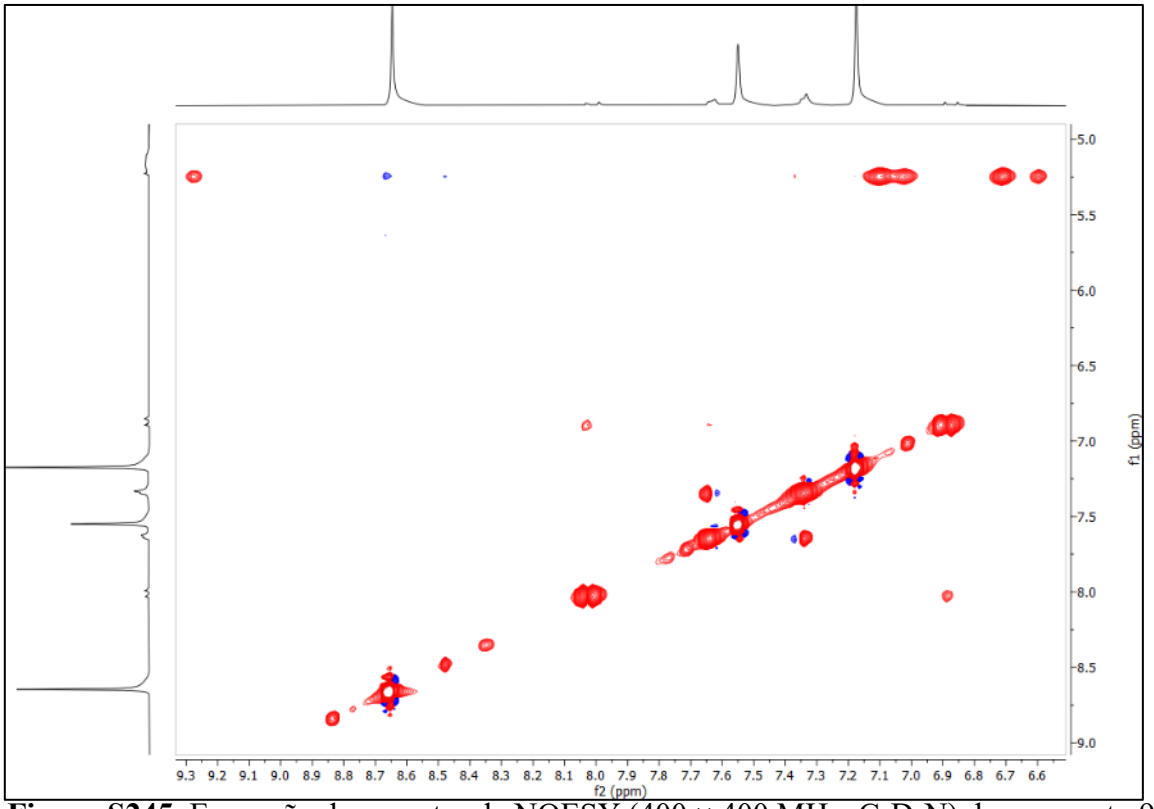


Figura S245. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 9 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,6-9,3 ppm

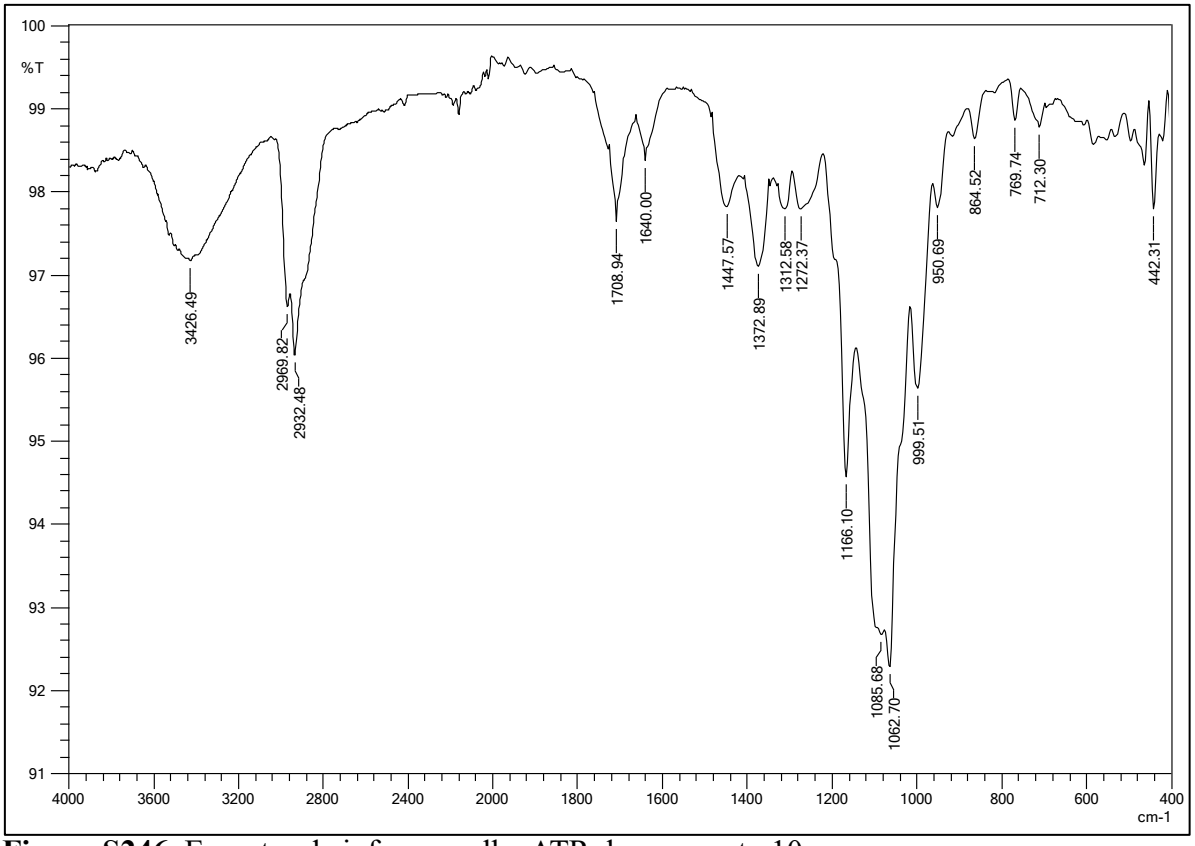


Figura S246. Espectro de infravermelho ATR do composto 10

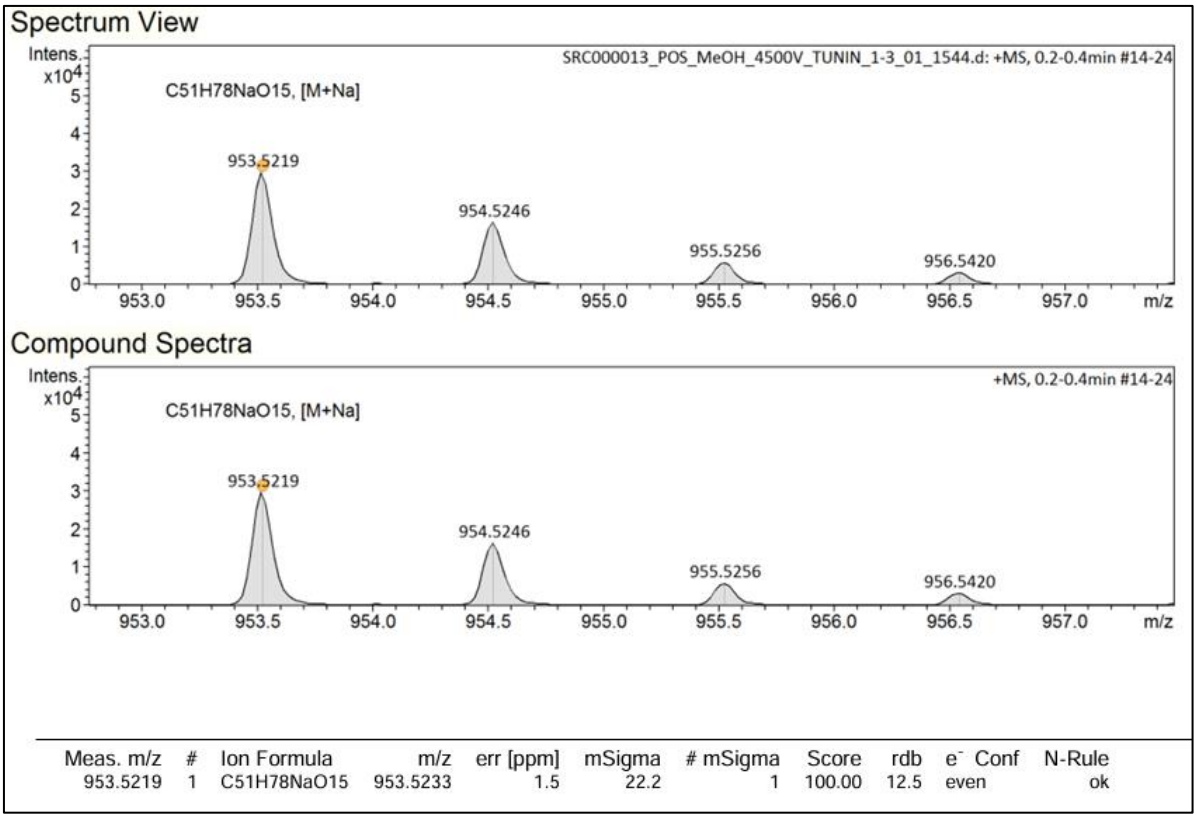


Figura S247. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 10

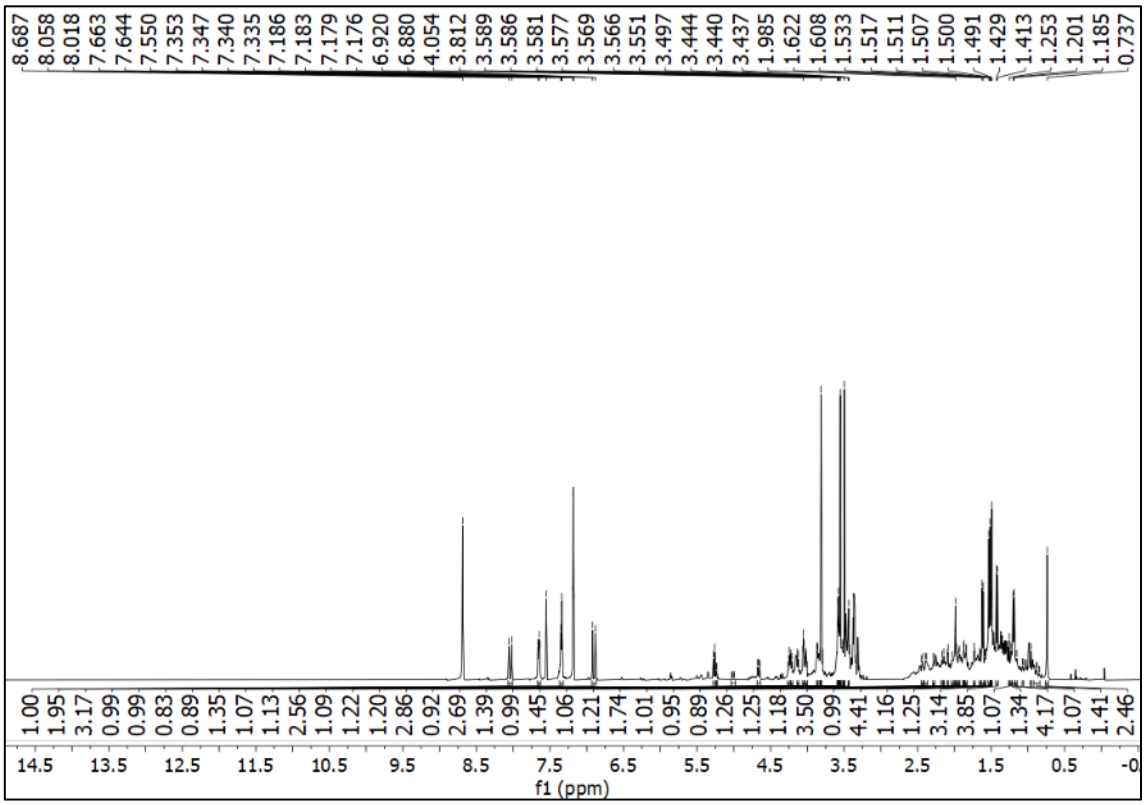


Figura S248. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 10

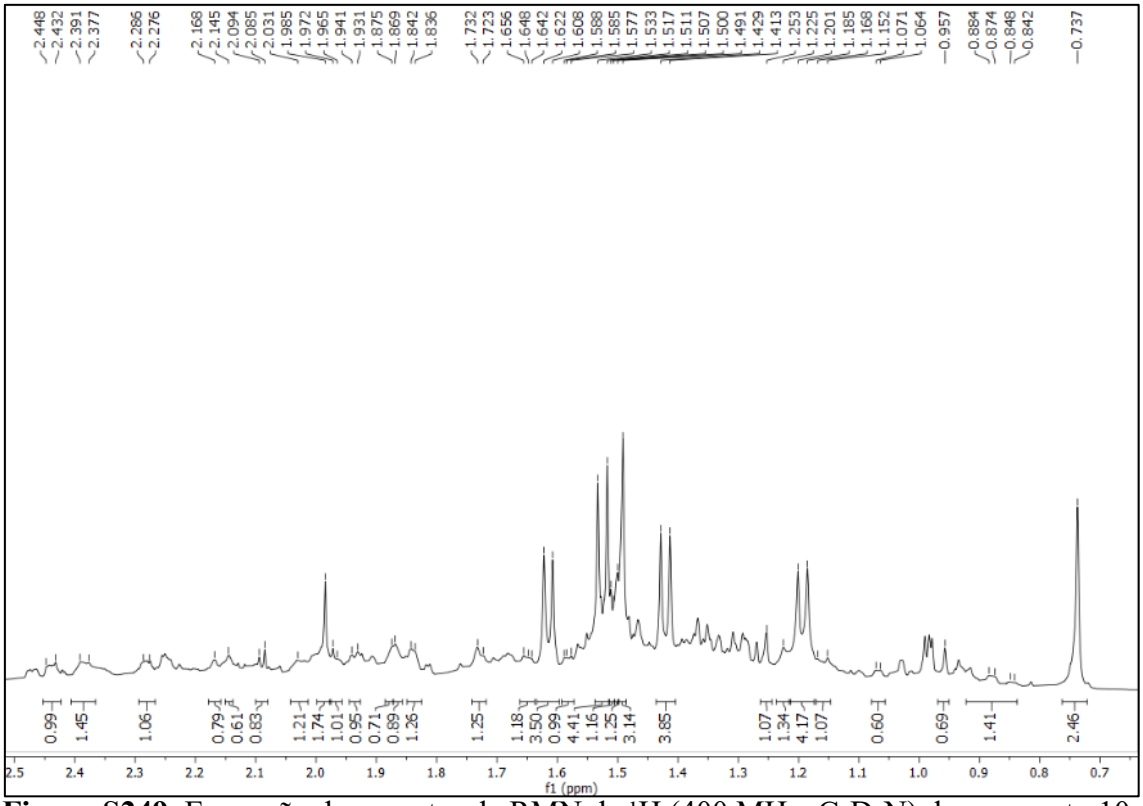


Figura S249. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 na região de 0,7-2,5 ppm

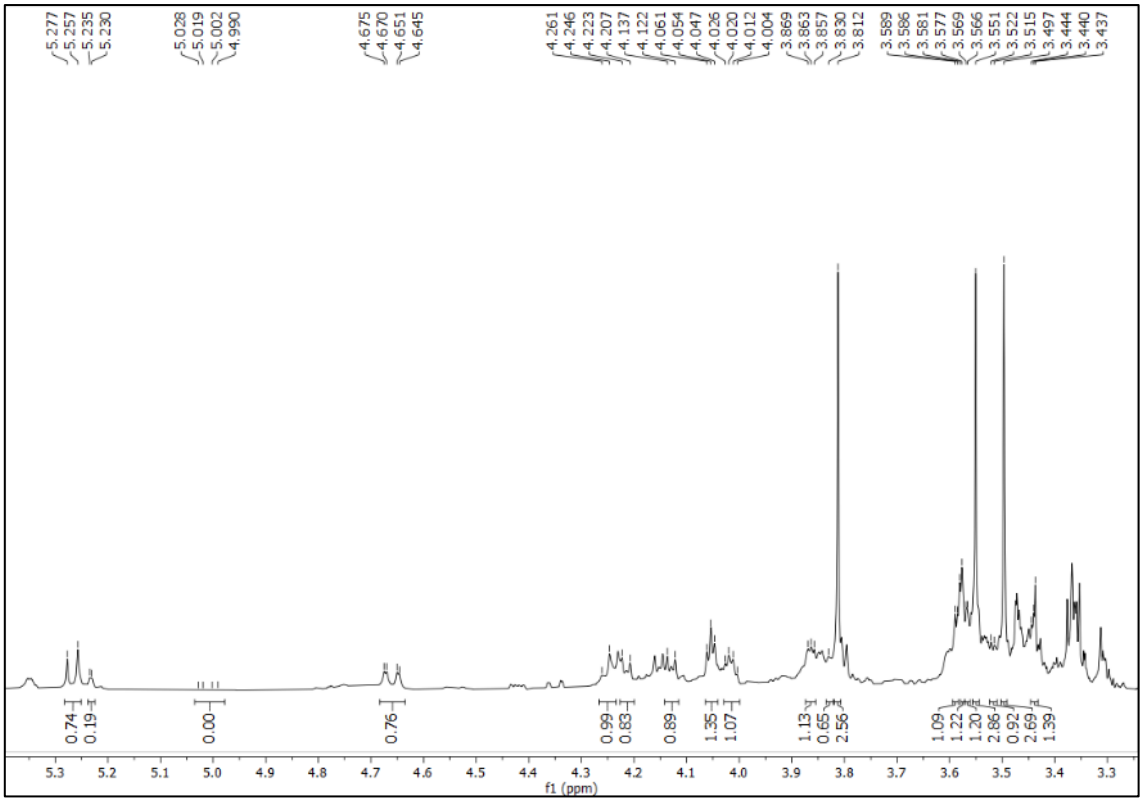


Figura S250. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 na região de 3,3-5,3 ppm

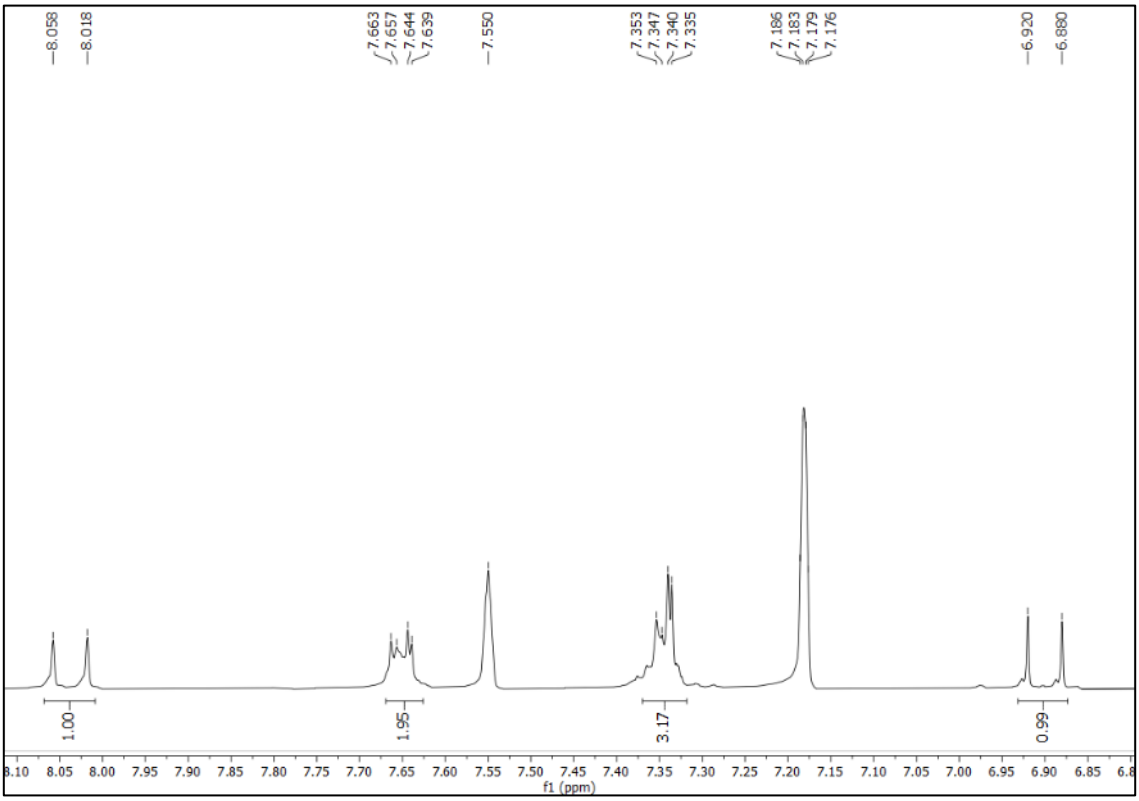


Figura S251. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 na região de 3,3-5,3 ppm

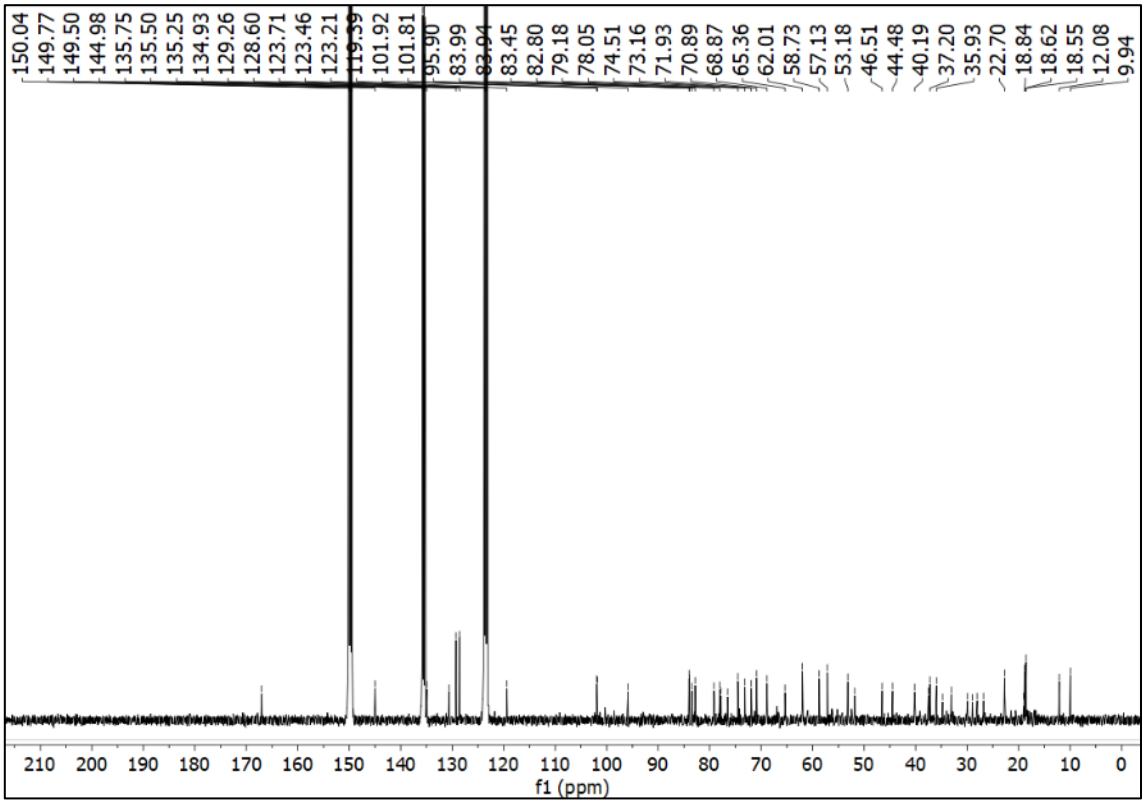


Figura S252. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 10

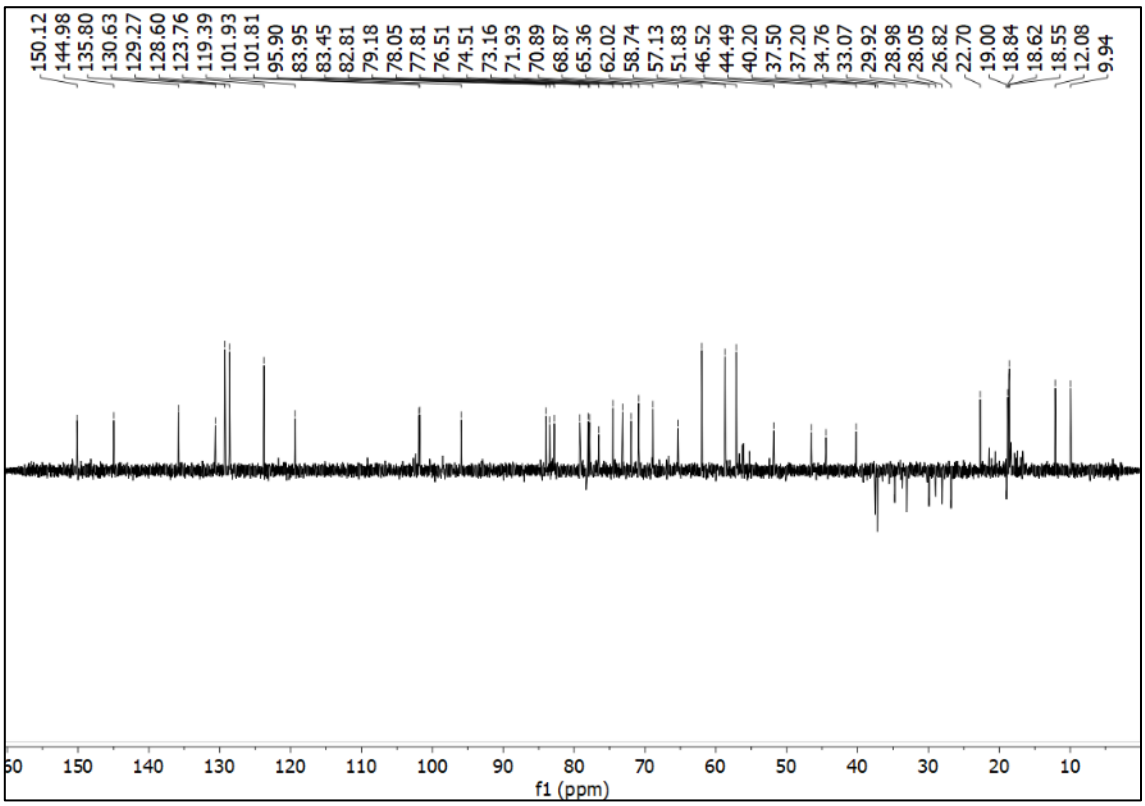


Figura S253. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 10

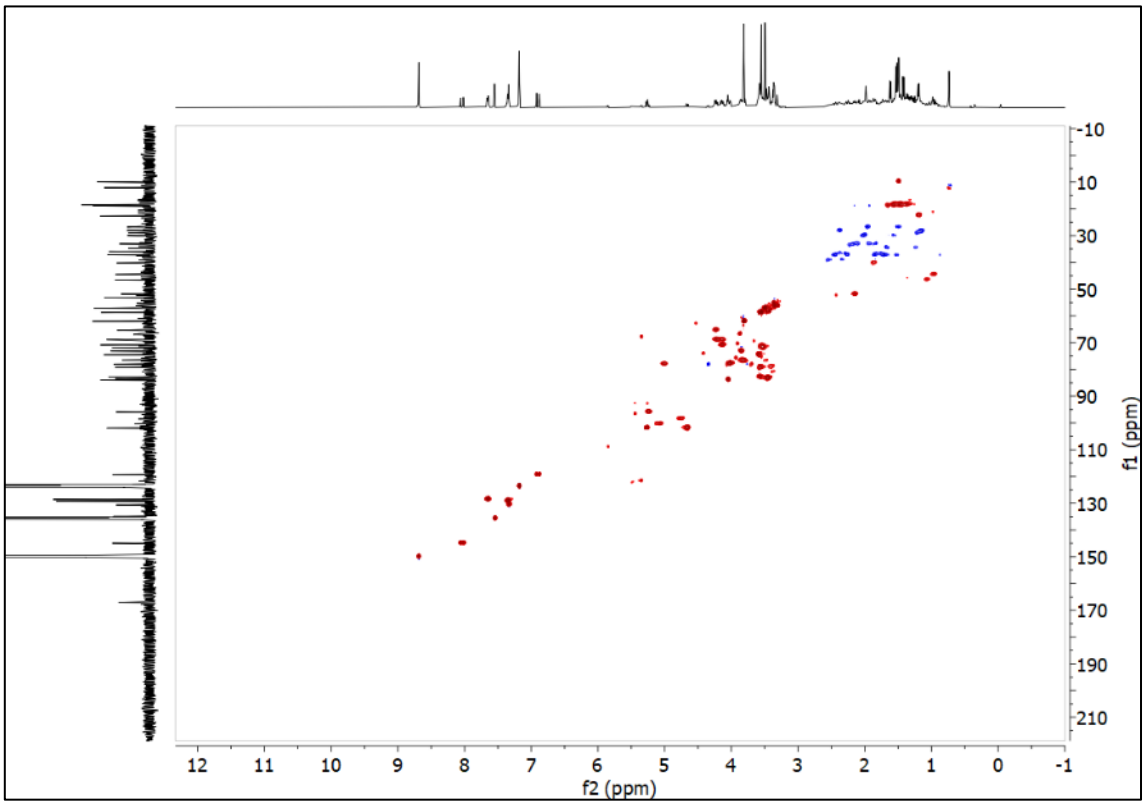


Figura S254. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10

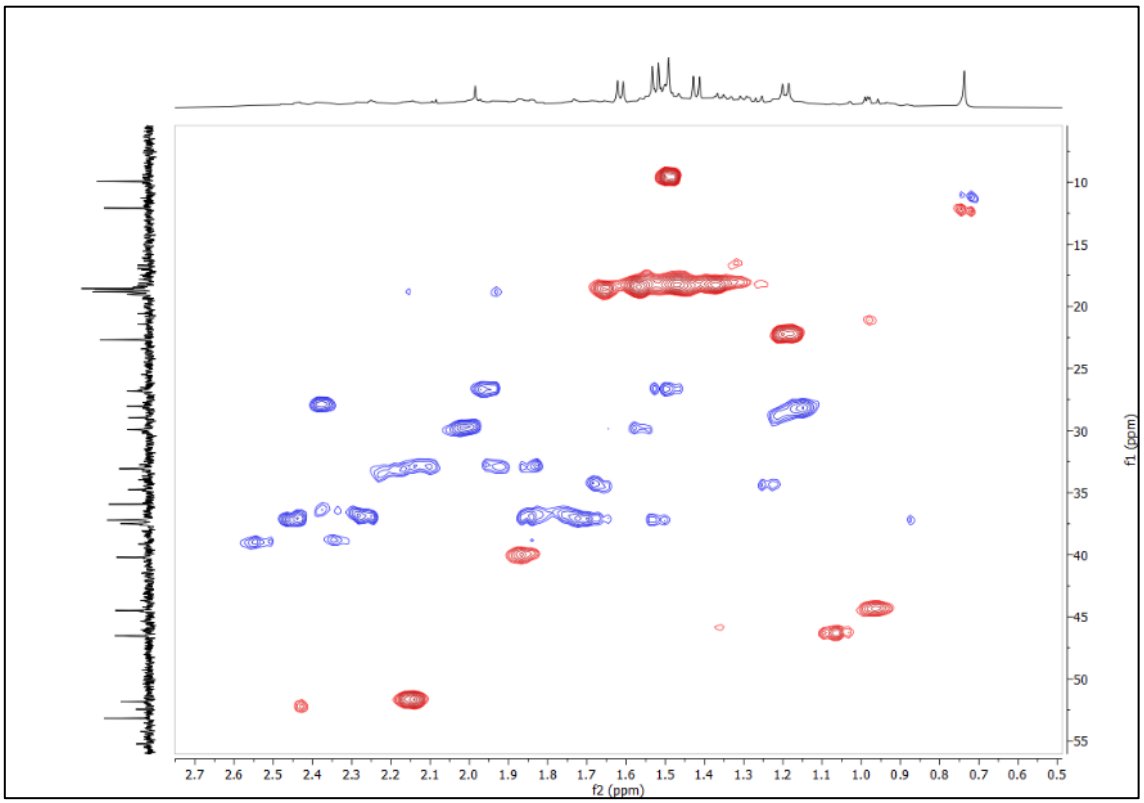


Figura S255. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 10-55 ppm e 0,5-2,7 ppm

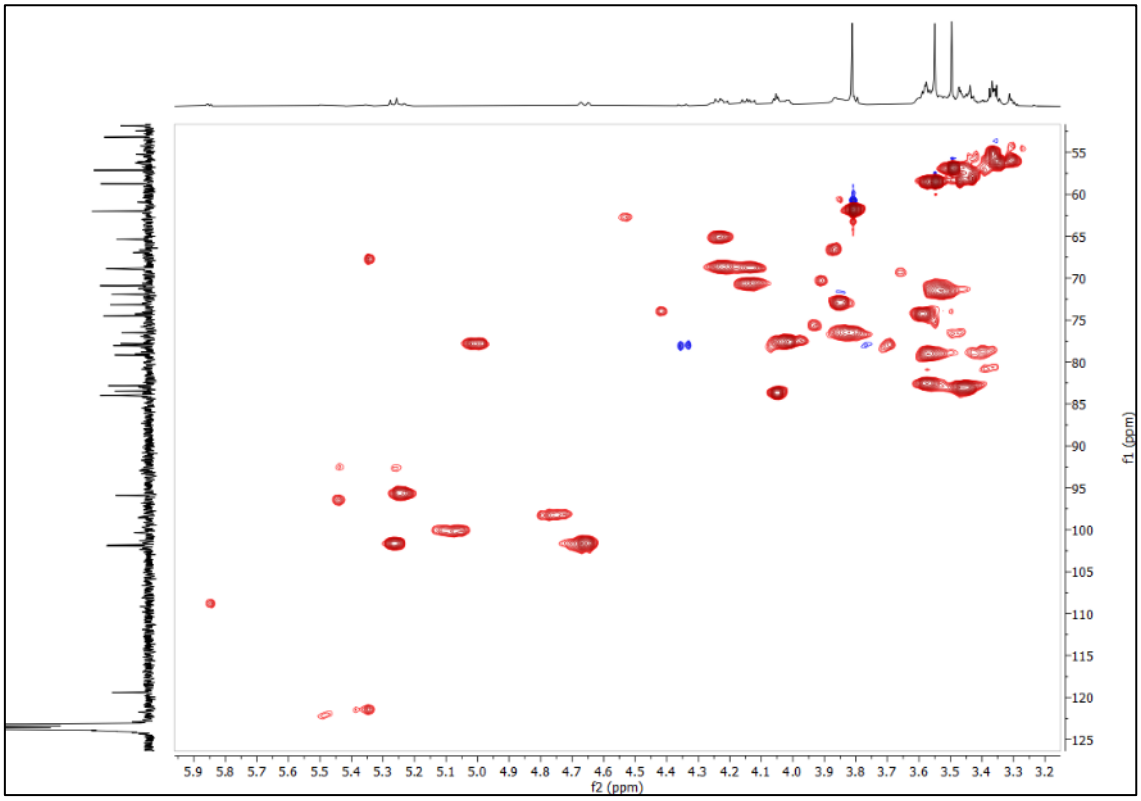


Figura S256. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 55-125 ppm e 3,2-5,9 ppm

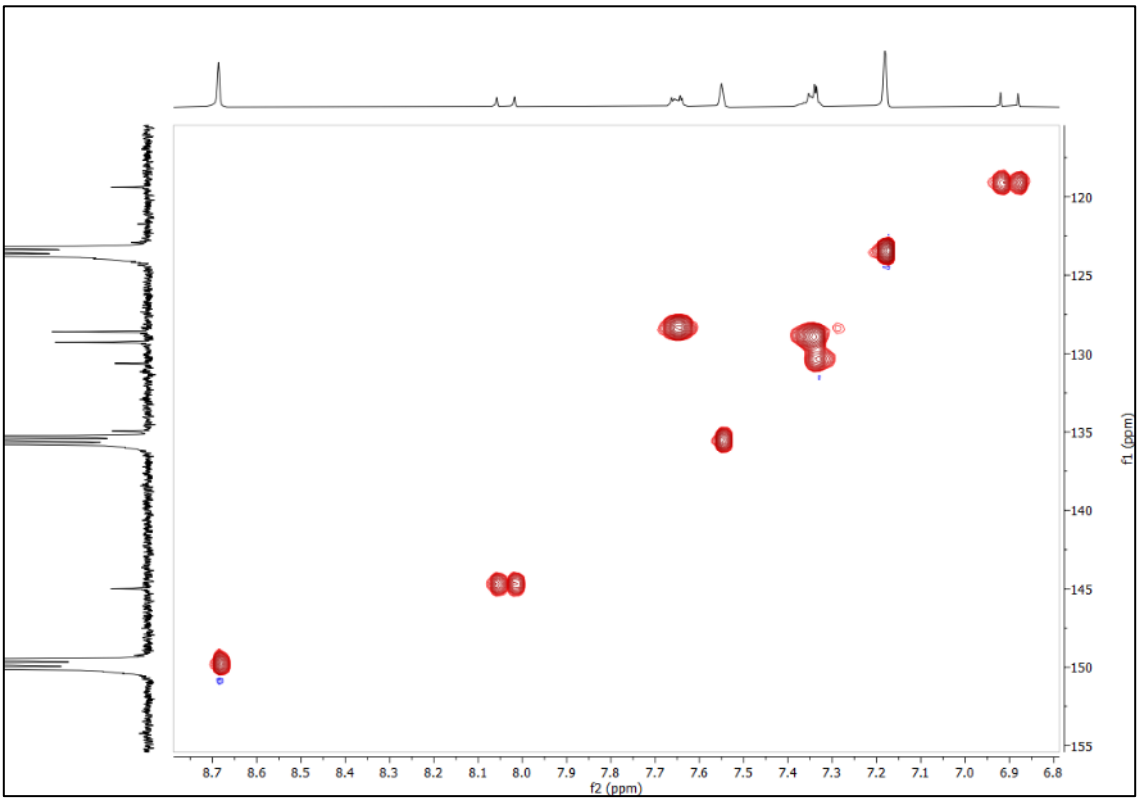


Figura S257. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 120-155 ppm e 6,8-8,7 ppm

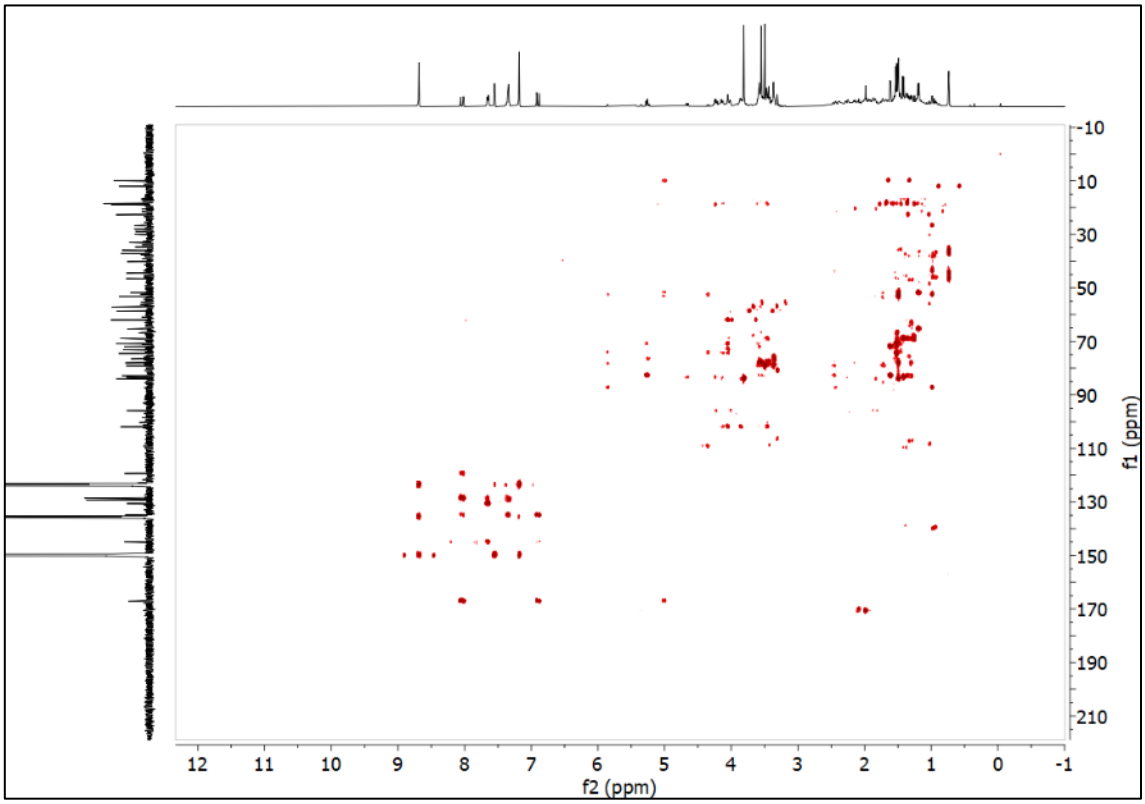


Figura S258. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10

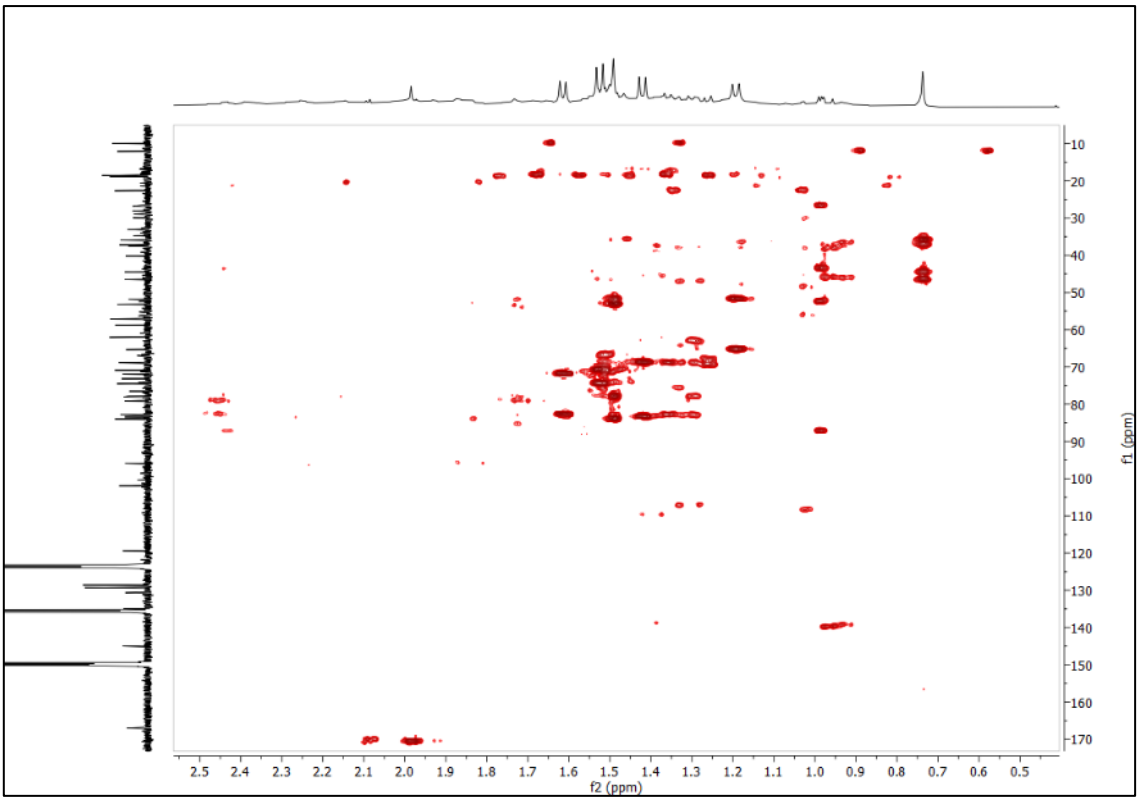


Figura S259. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 10-170 ppm e 0,5-2,5 ppm

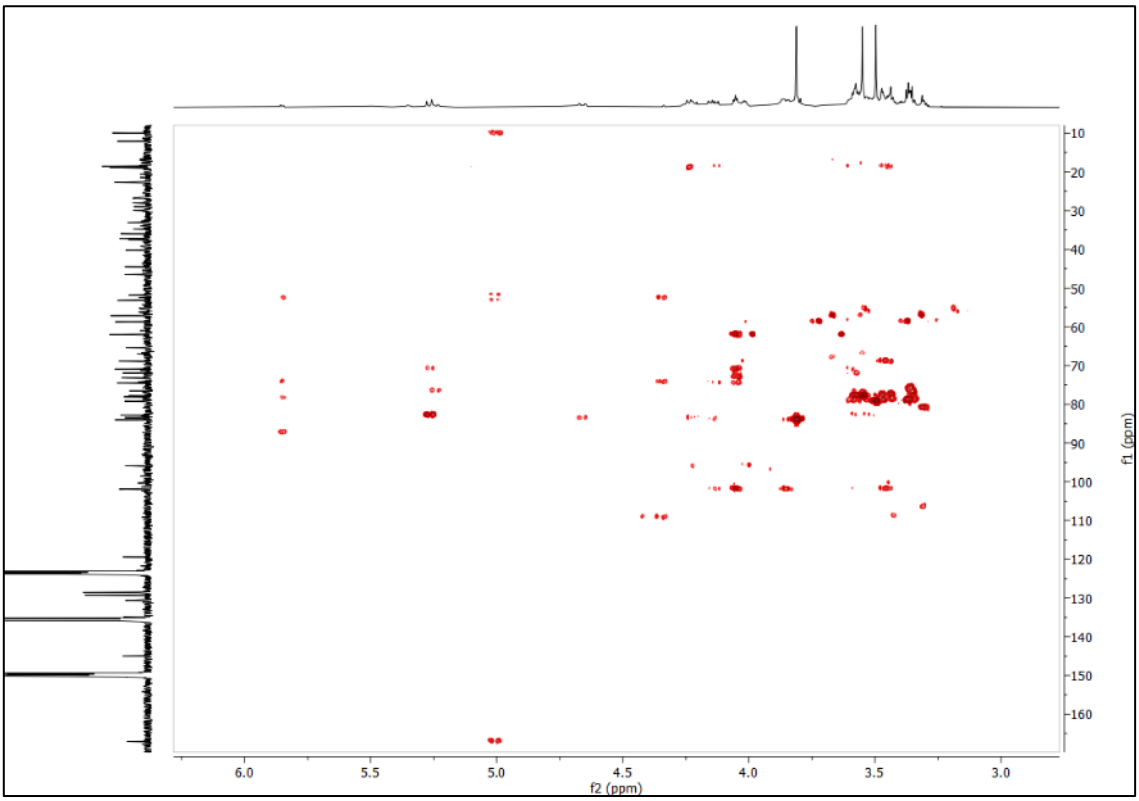


Figura S260. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 10-160 ppm e 3,0-6,0 ppm

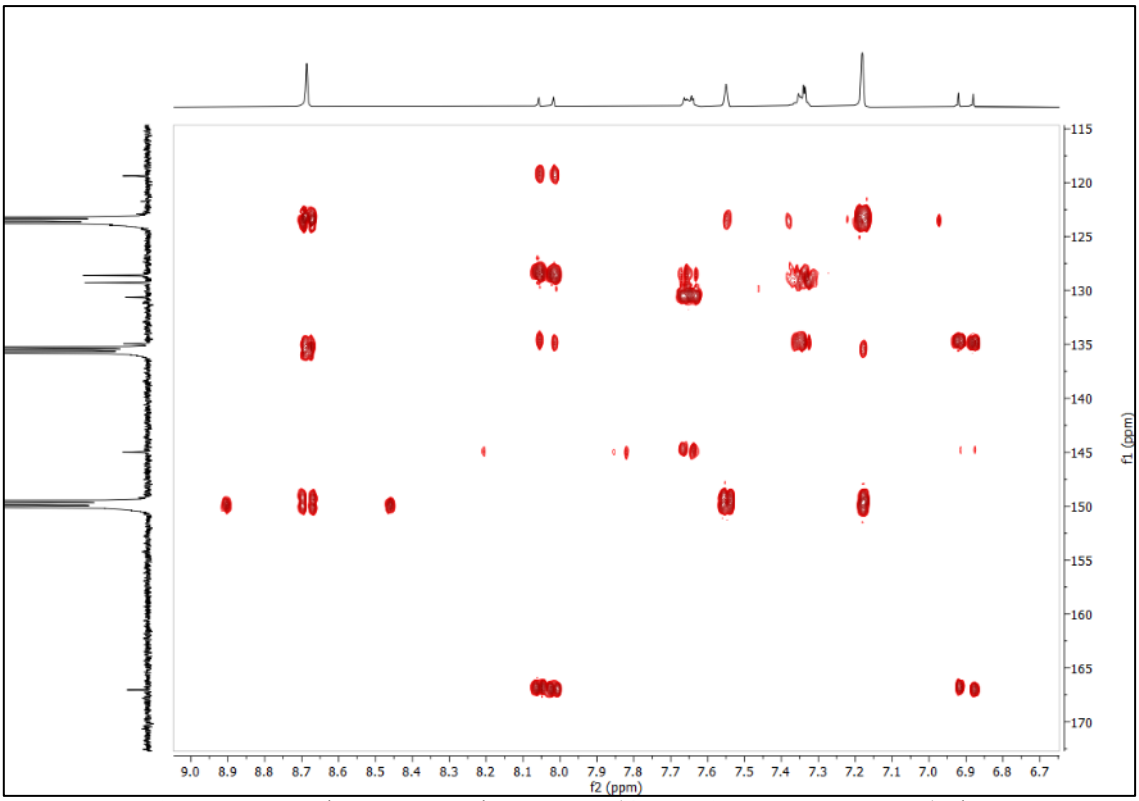


Figura S261. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 115-170 ppm e 6,7-9,0 ppm

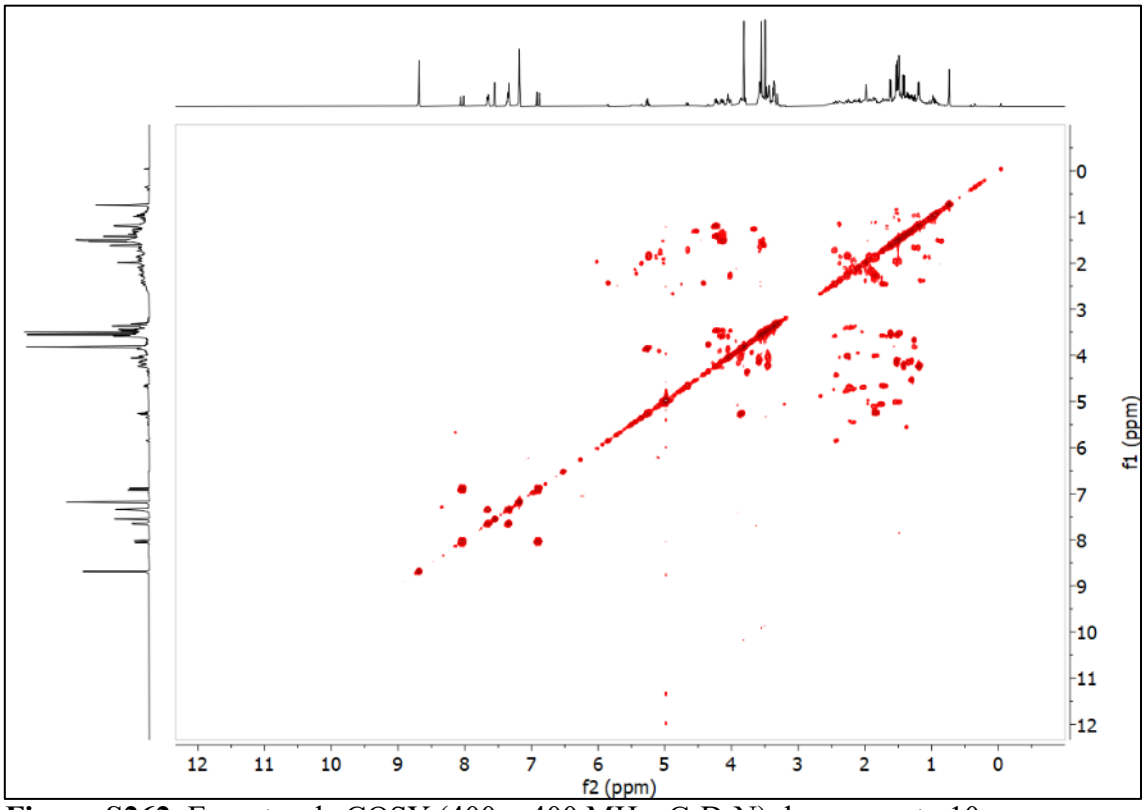


Figura S262. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10

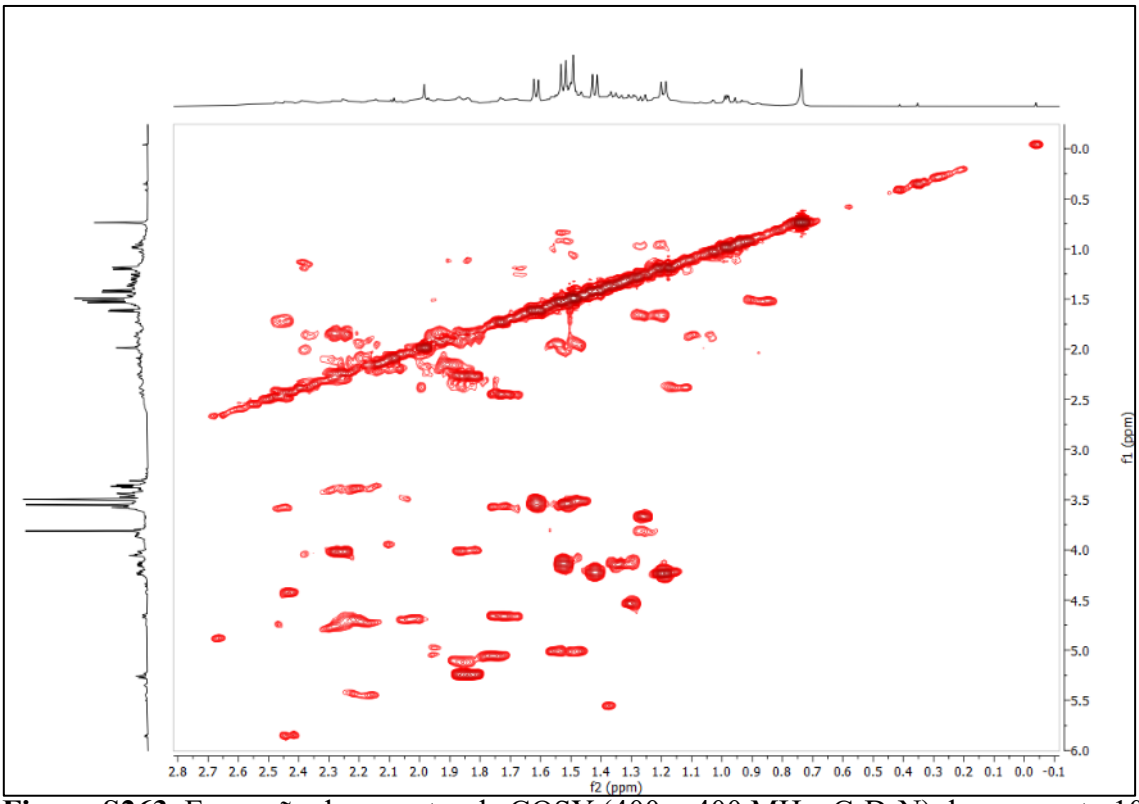


Figura S263. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 0,0-6,0 ppm -0,1-2,8 ppm

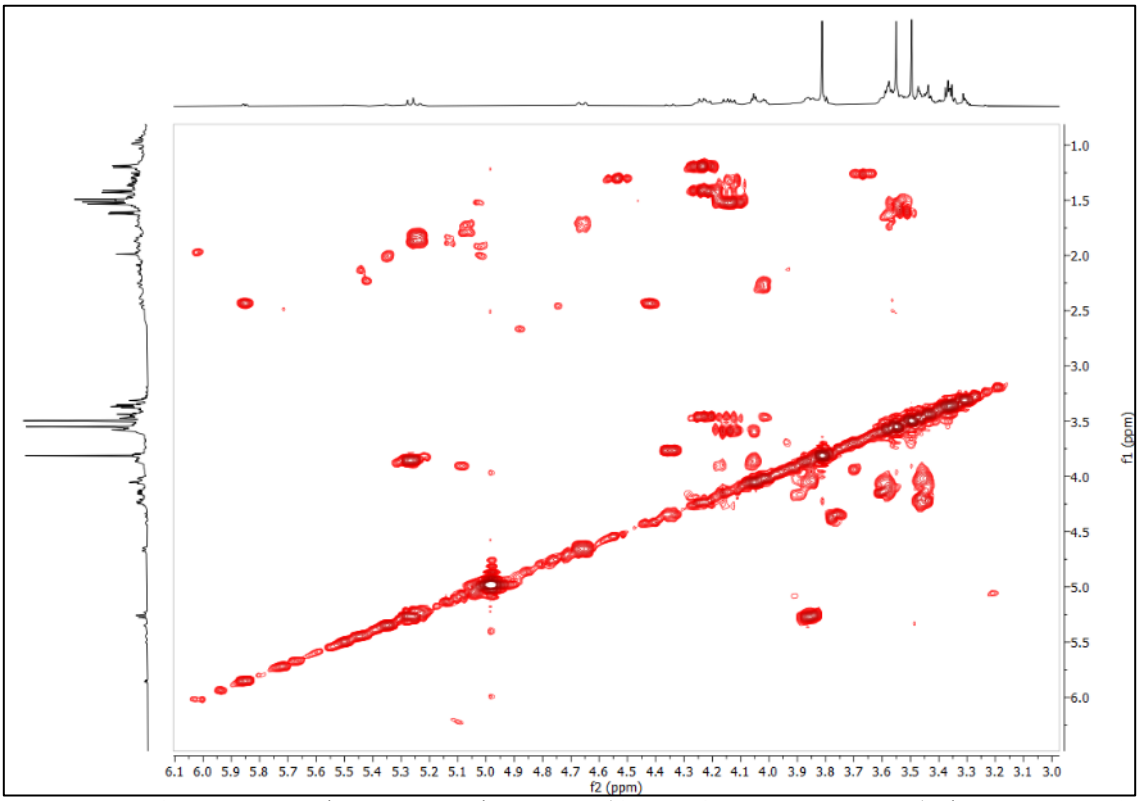


Figura S264. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 1,0-6,0 ppm 3,0-6,1 ppm

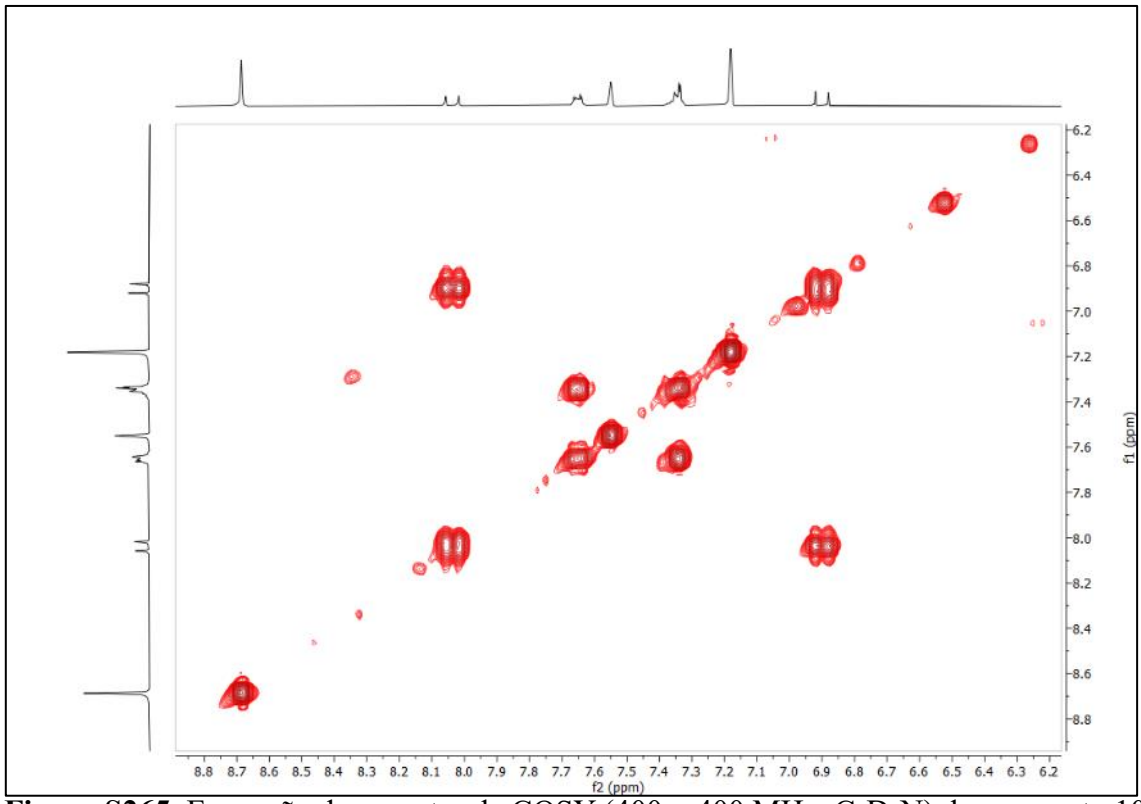


Figura S265. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 6,2-8,8 ppm 6,2-8,8 ppm

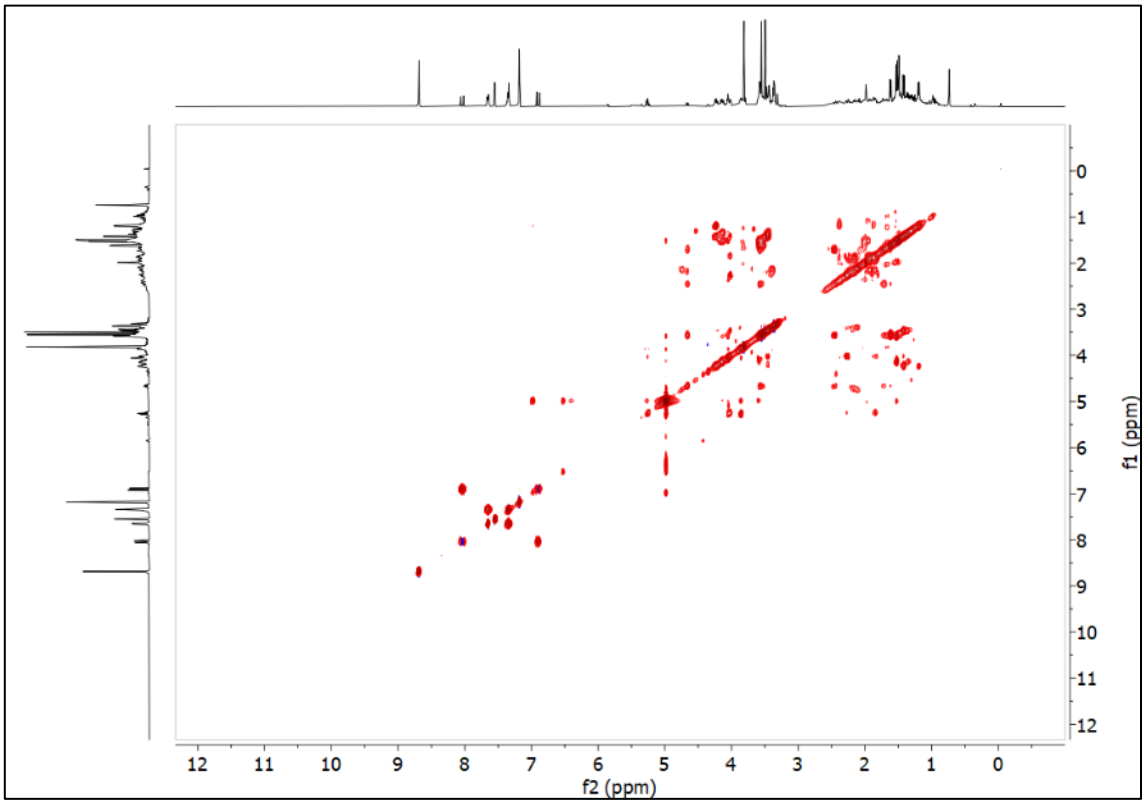


Figura S266. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10

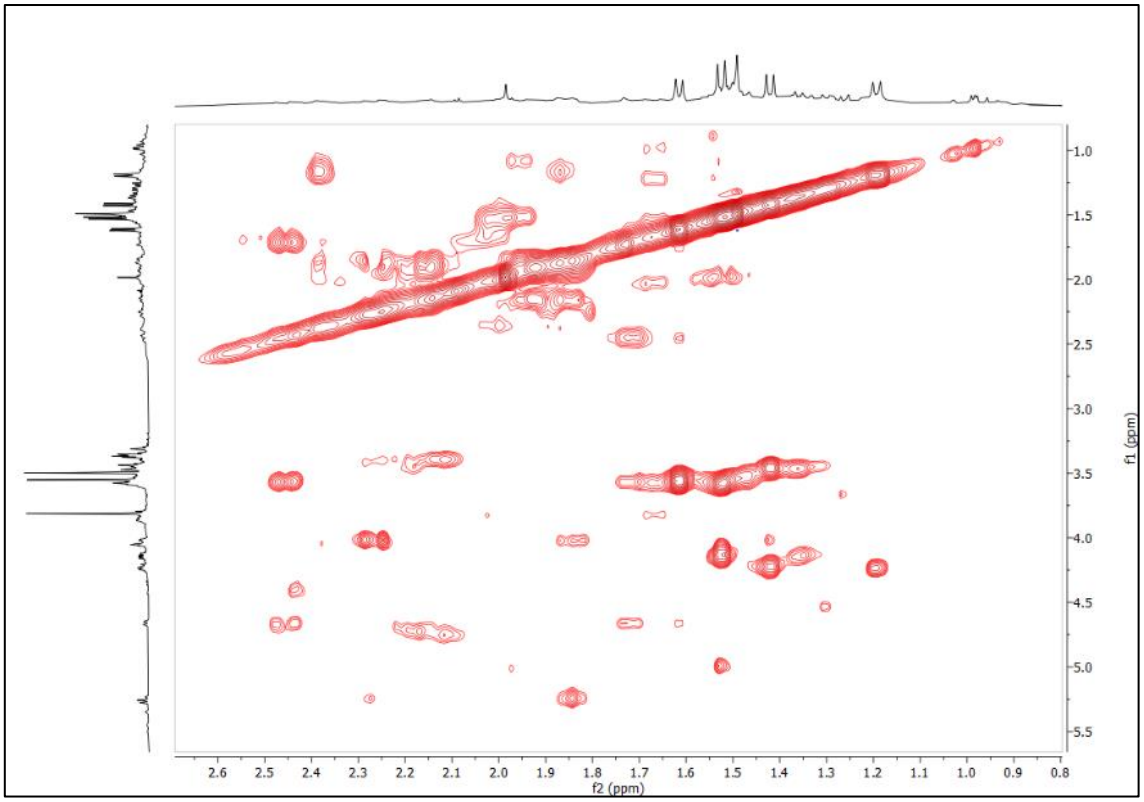


Figura S267. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,8-2,6 ppm

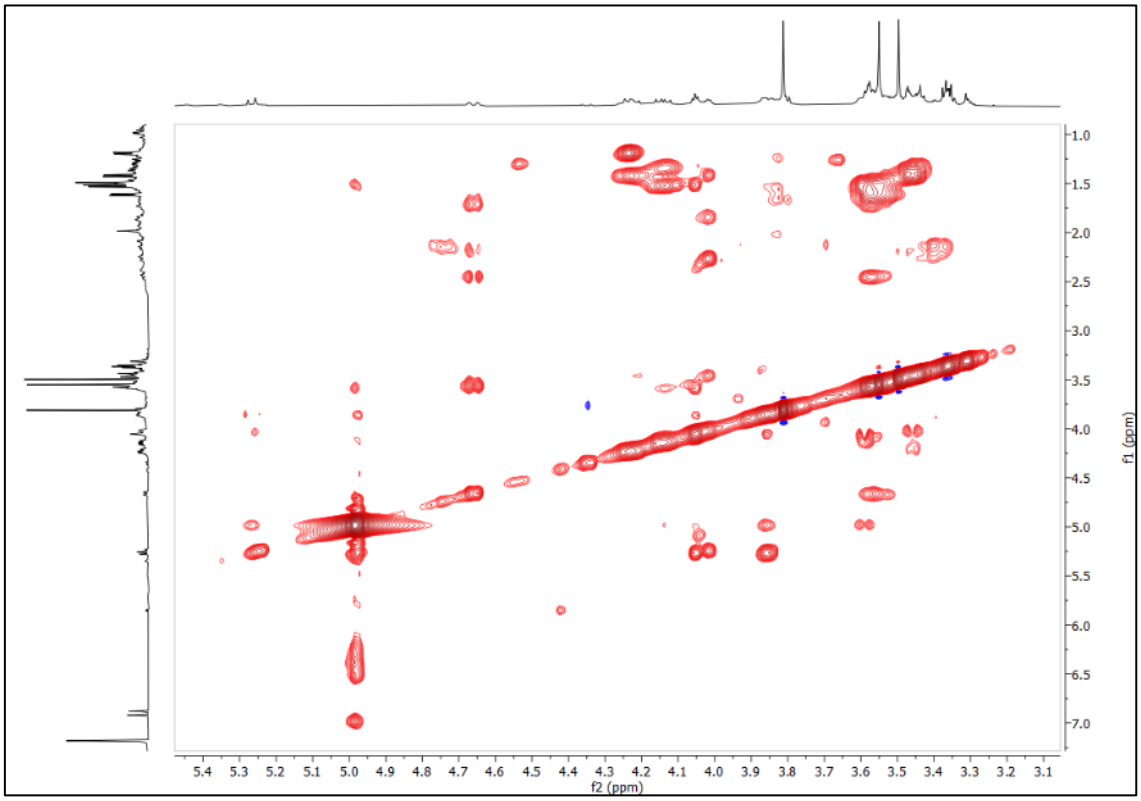


Figura S268. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 1,0-7,0 ppm e 3,1-5,4 ppm

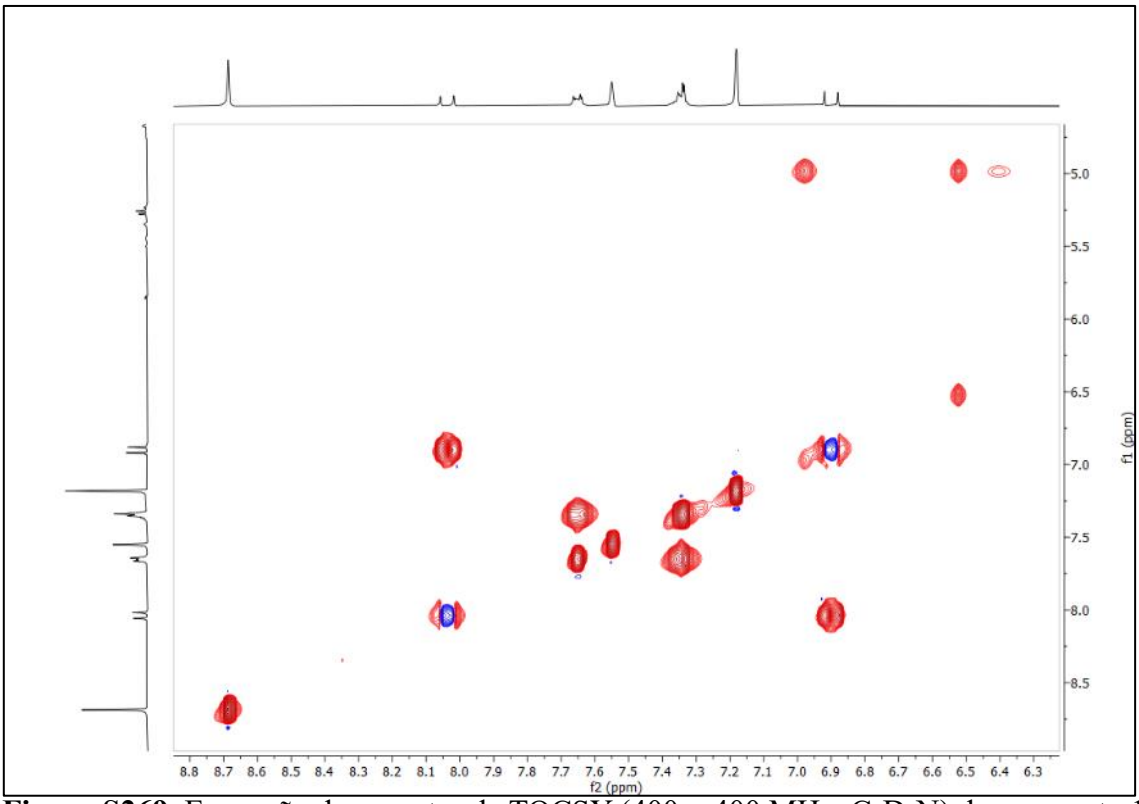


Figura S269. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 5,0-8,5 ppm e 6,3-8,8 ppm

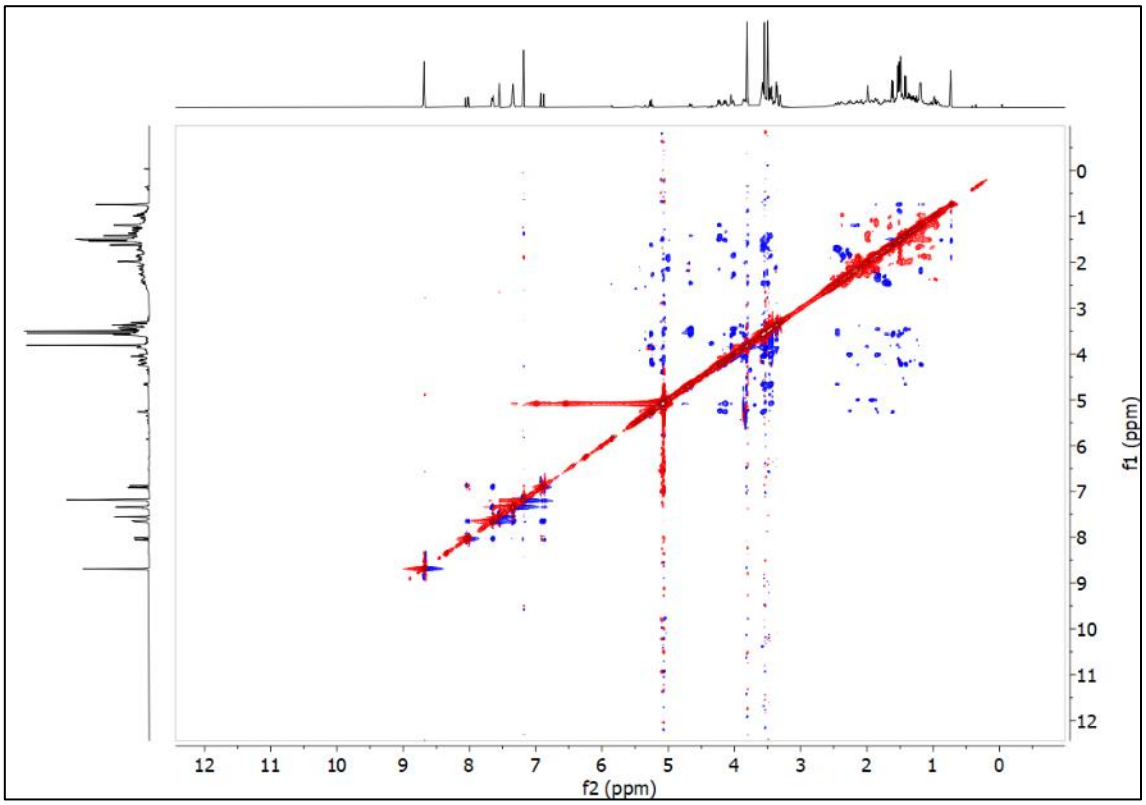


Figura S270. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10

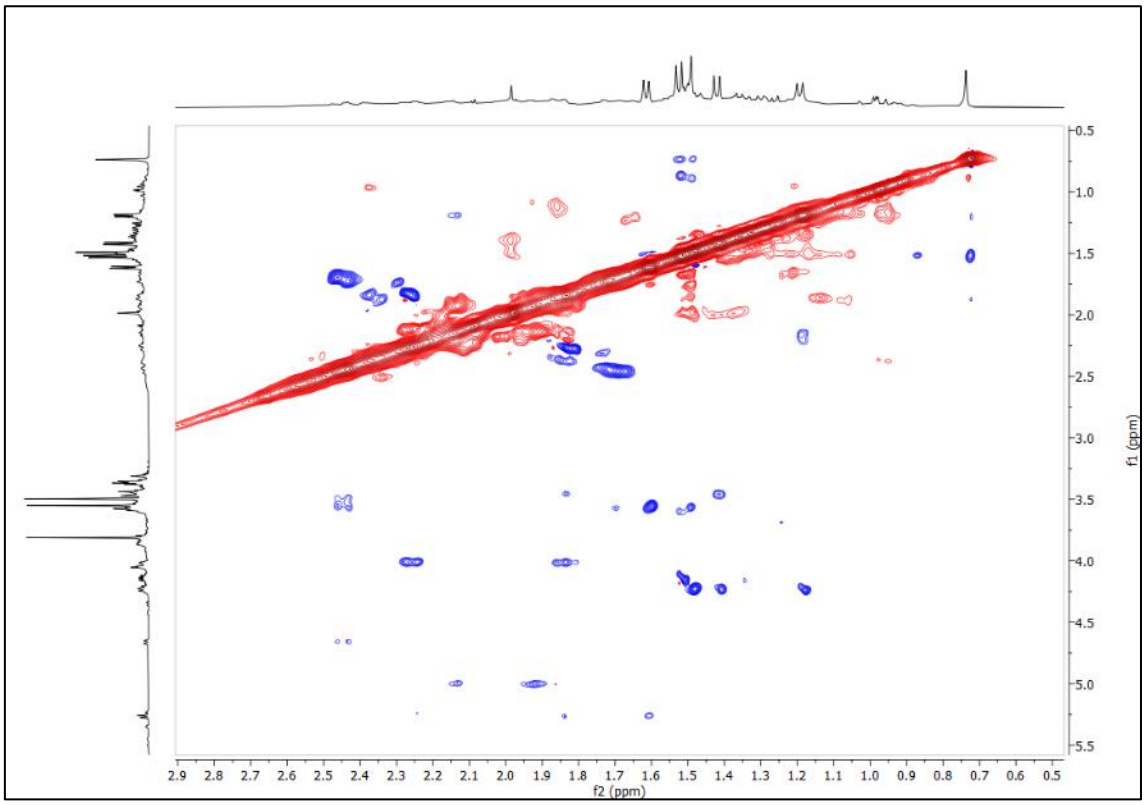


Figura S271. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,5-2,9 ppm

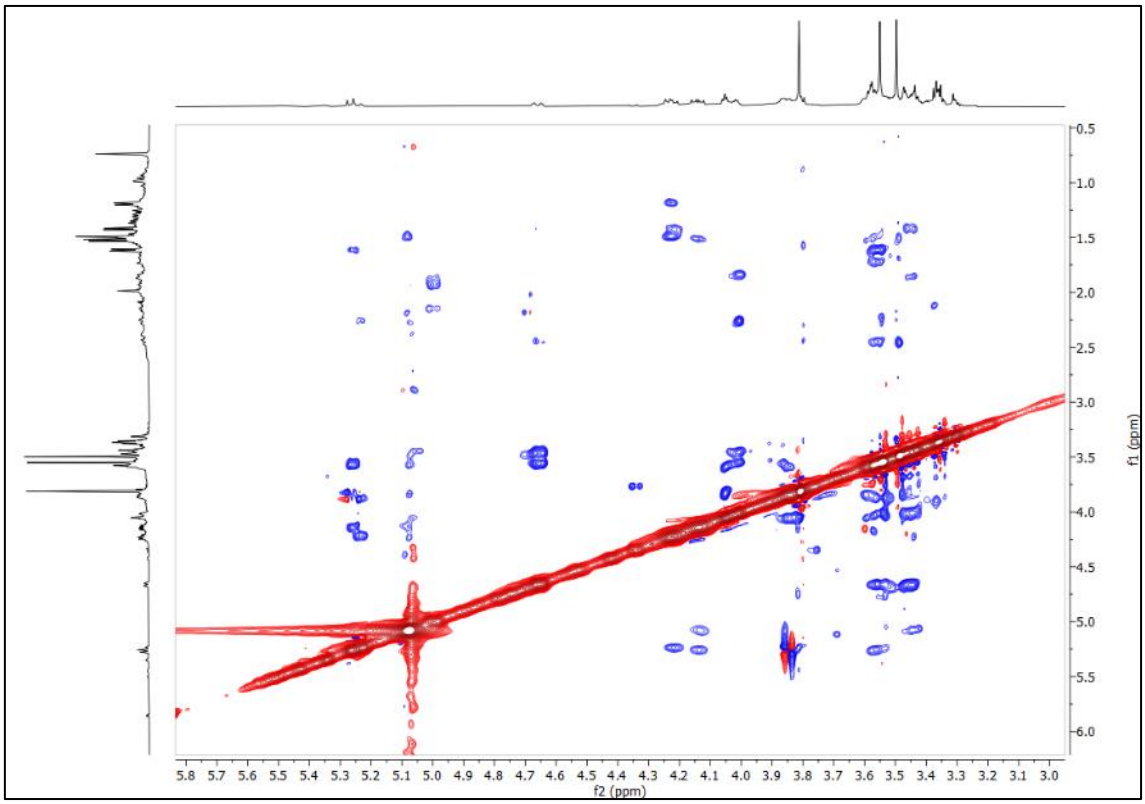


Figura S272. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 0,5-6,0 ppm e 3,0-5,8 ppm

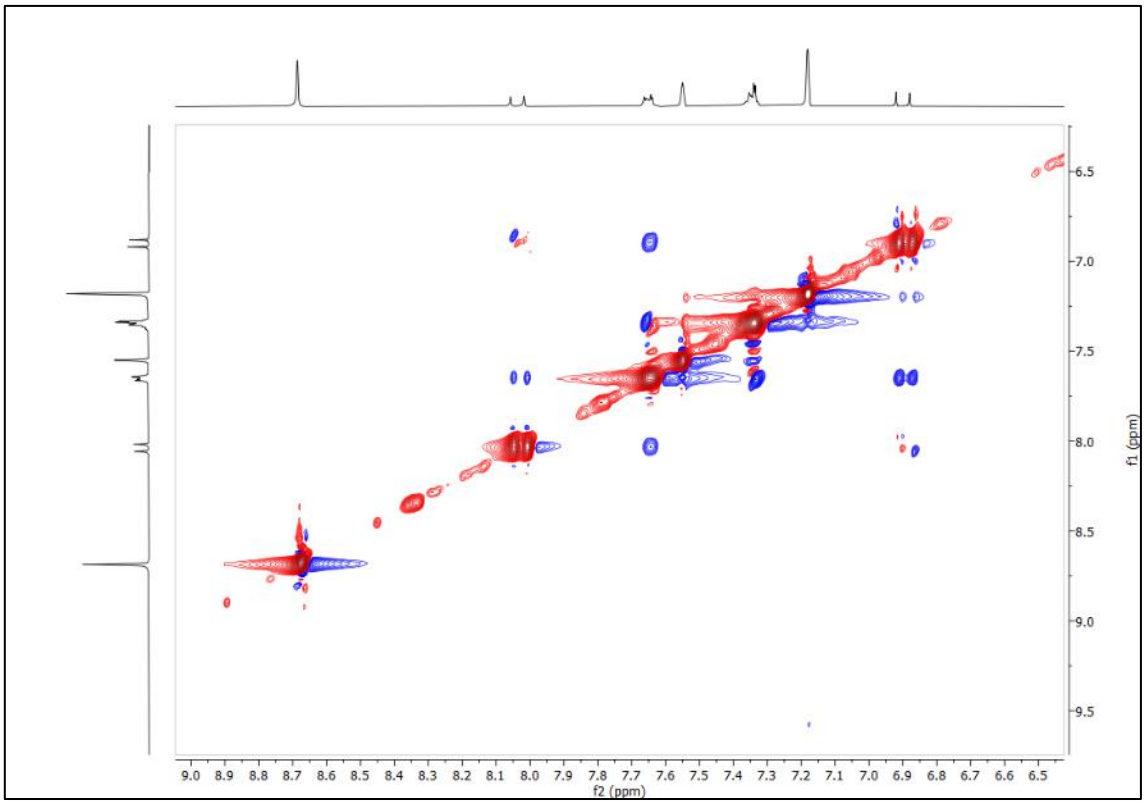


Figura S273. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 10 nas regiões de 6,5-9,5 ppm e 6,5-9,0 ppm

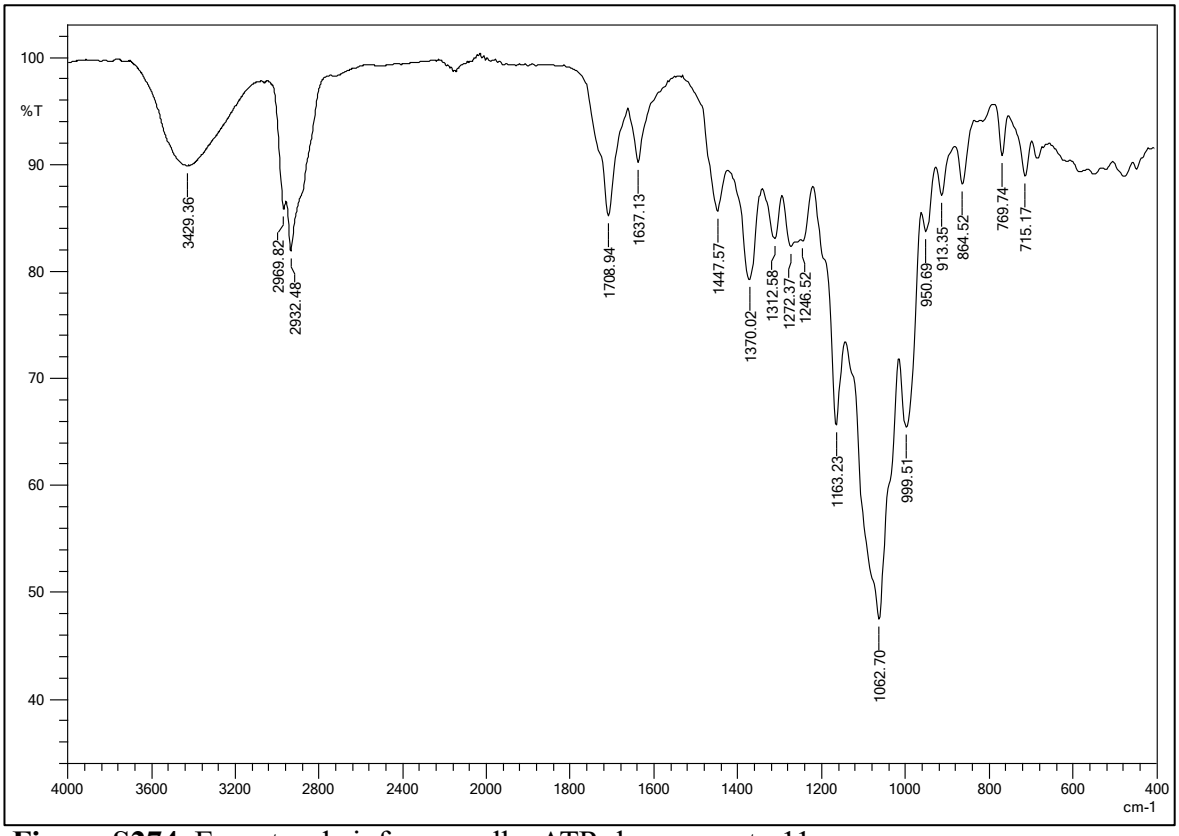


Figura S274. Espectro de infravermelho ATR do composto 11

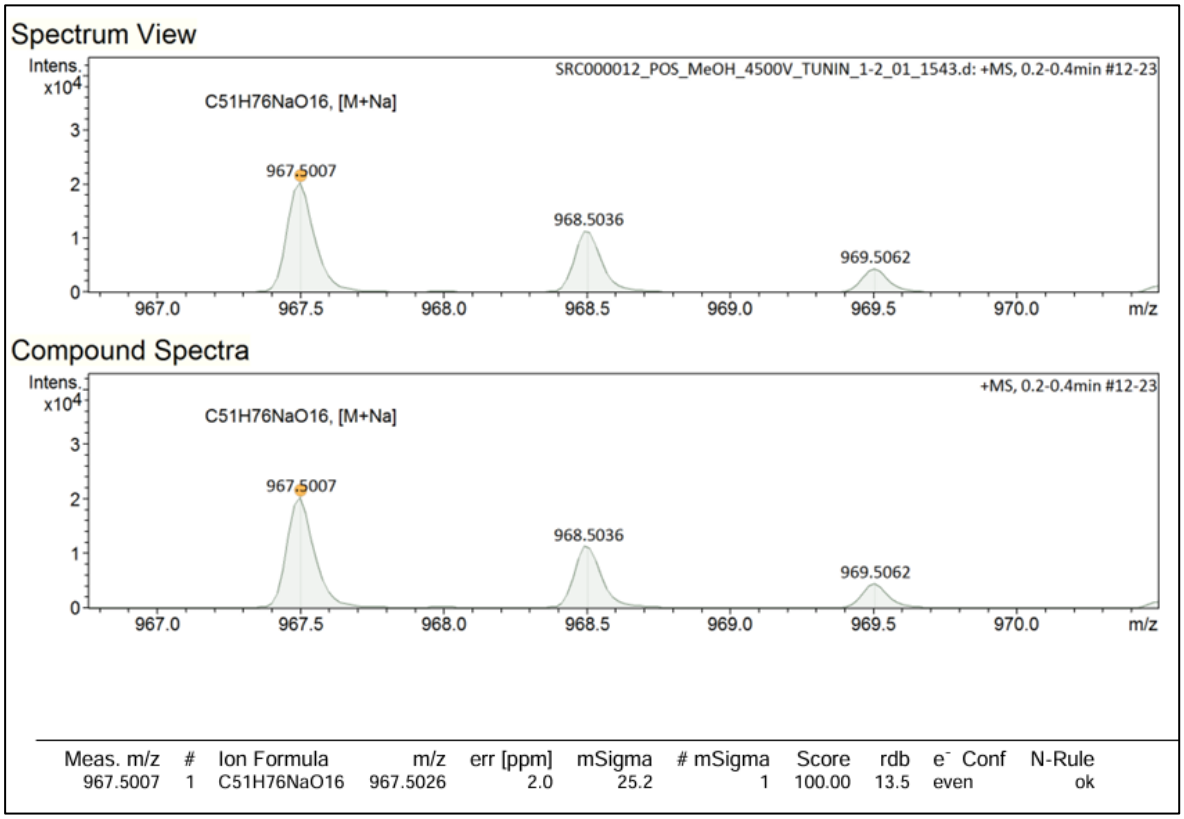


Figura S275. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 11

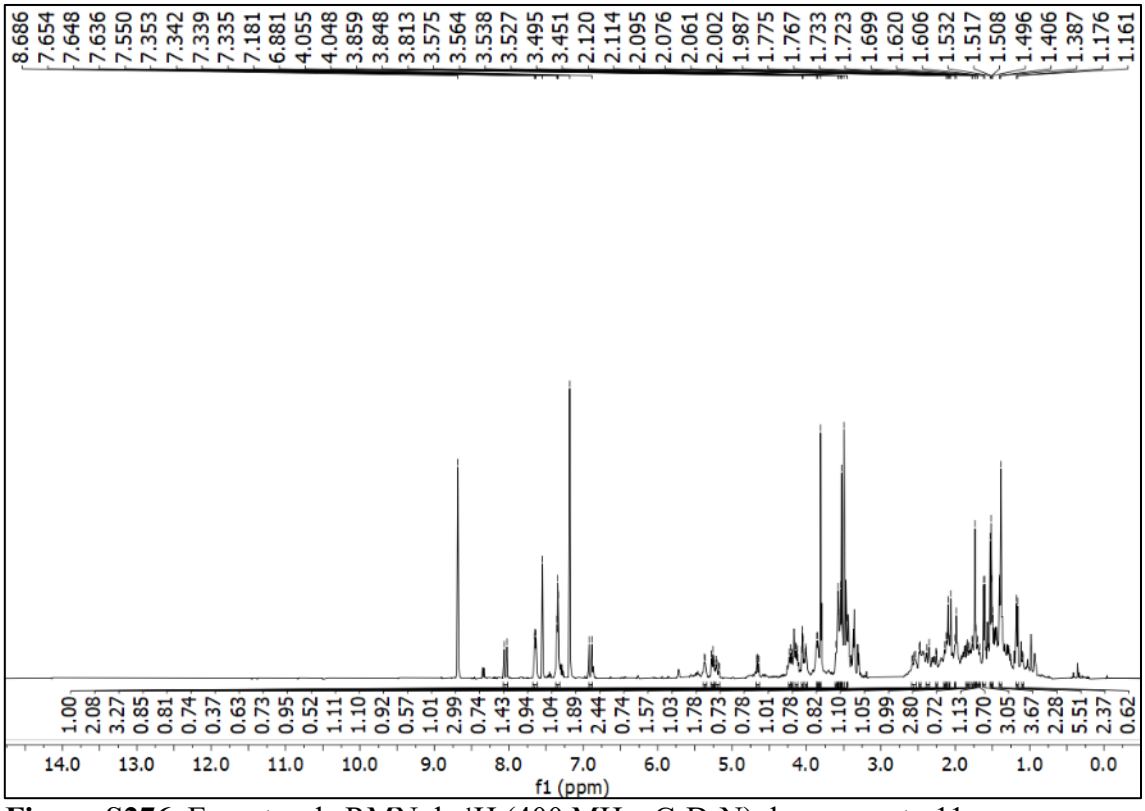


Figura S276. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 11

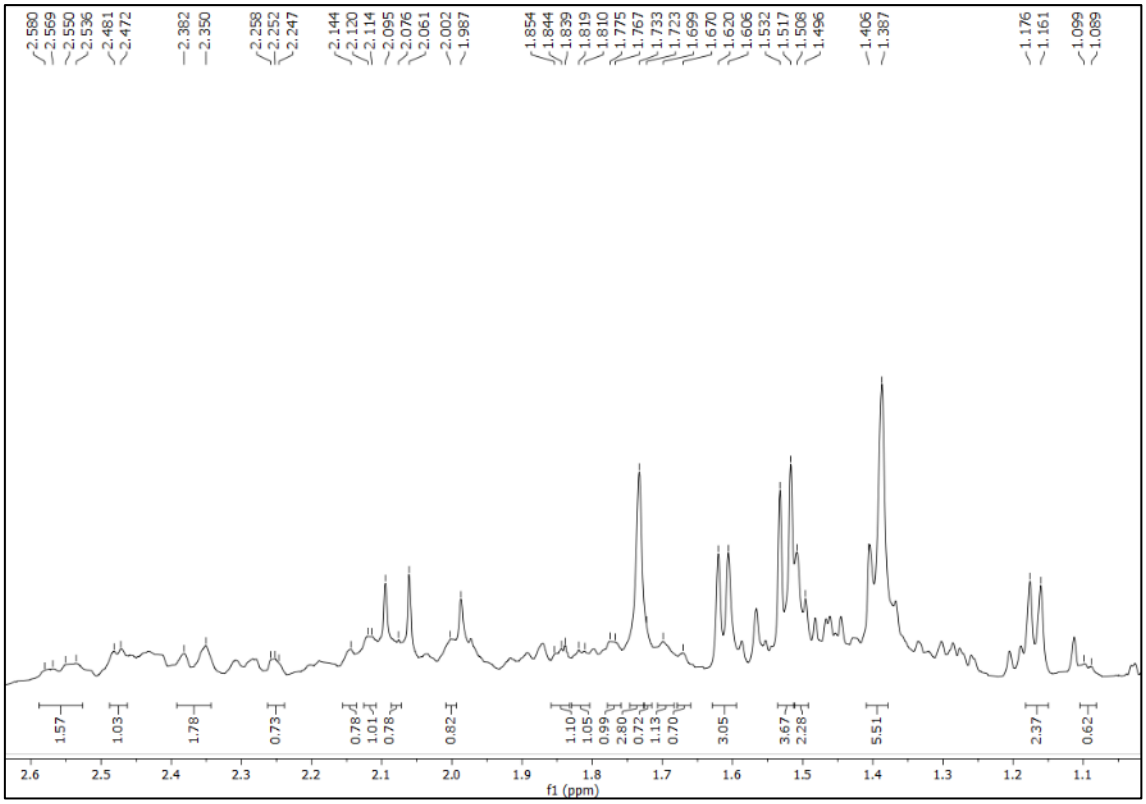


Figura S277. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 na região de 1,1-2,6 ppm

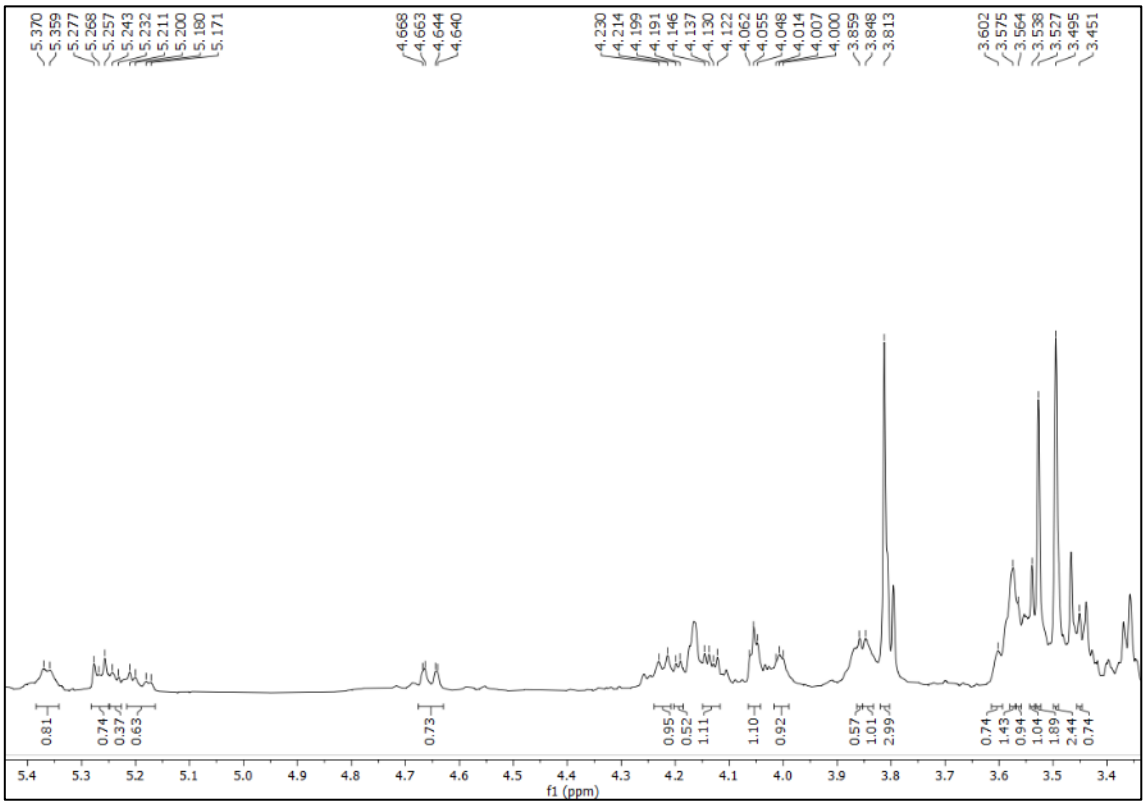


Figura S278. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 na região de 3,4-5,4 ppm

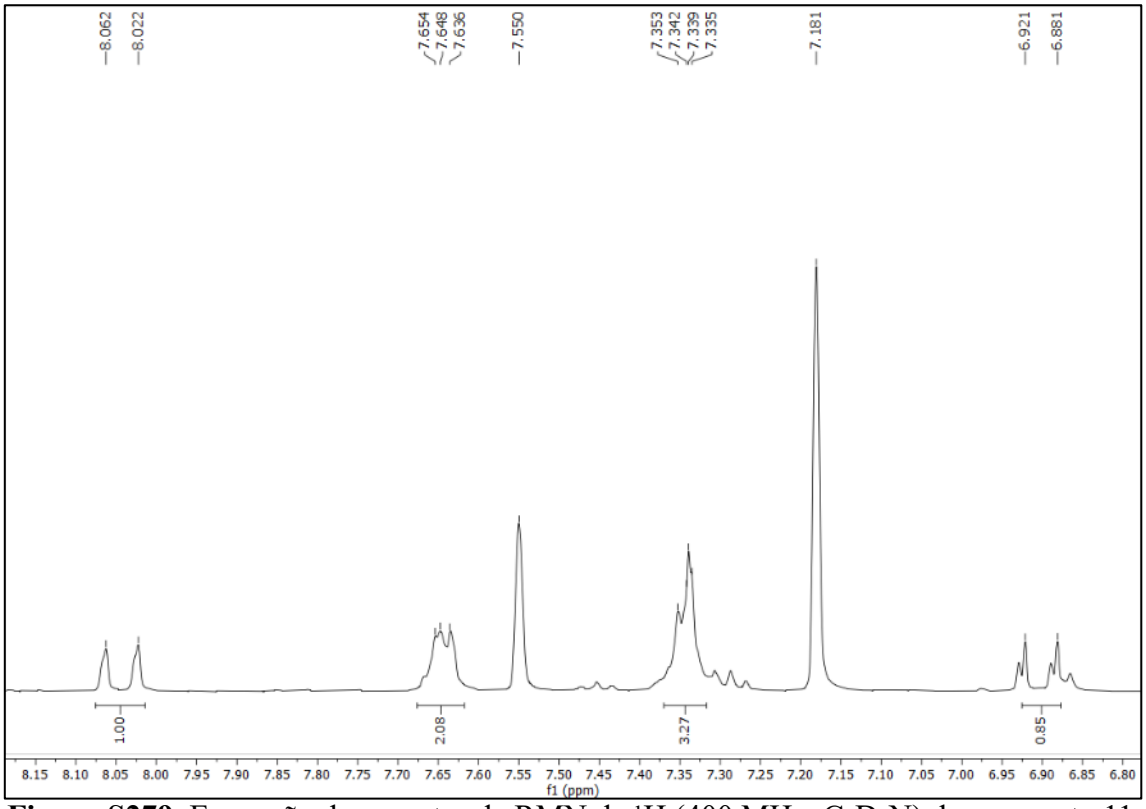


Figura S279. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 na região de 6,80-8,15 ppm

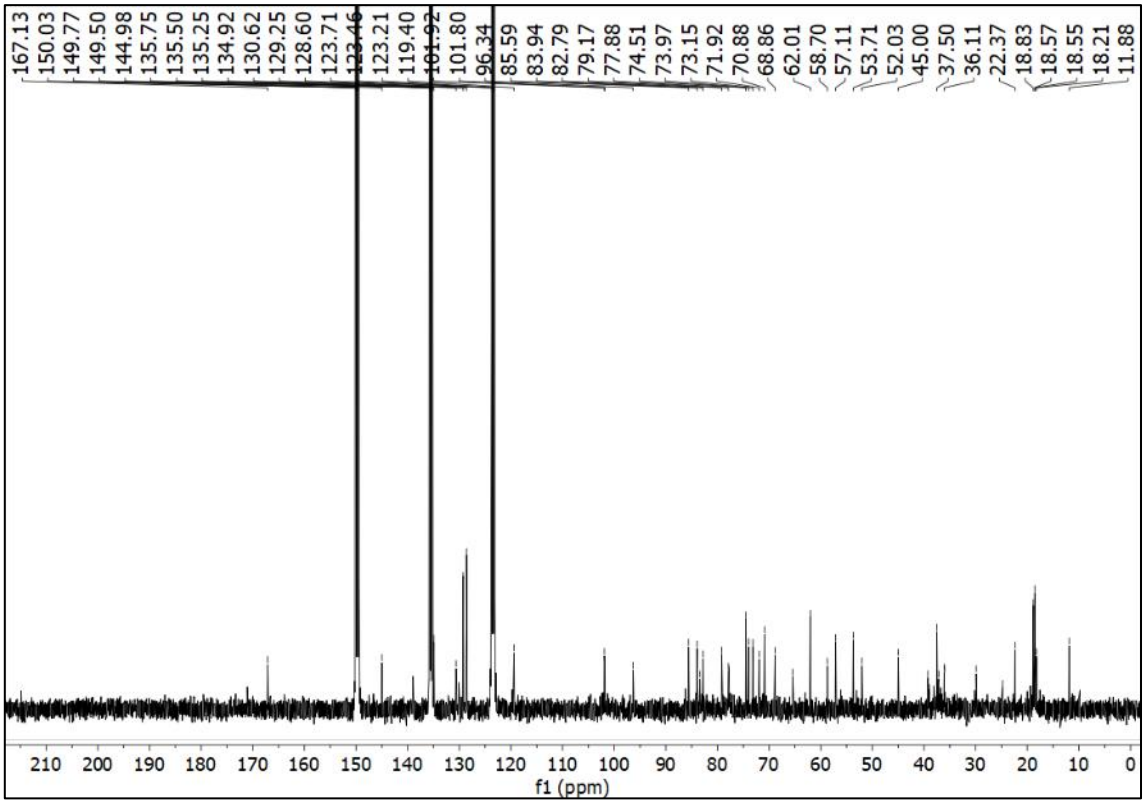


Figura S280. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 11

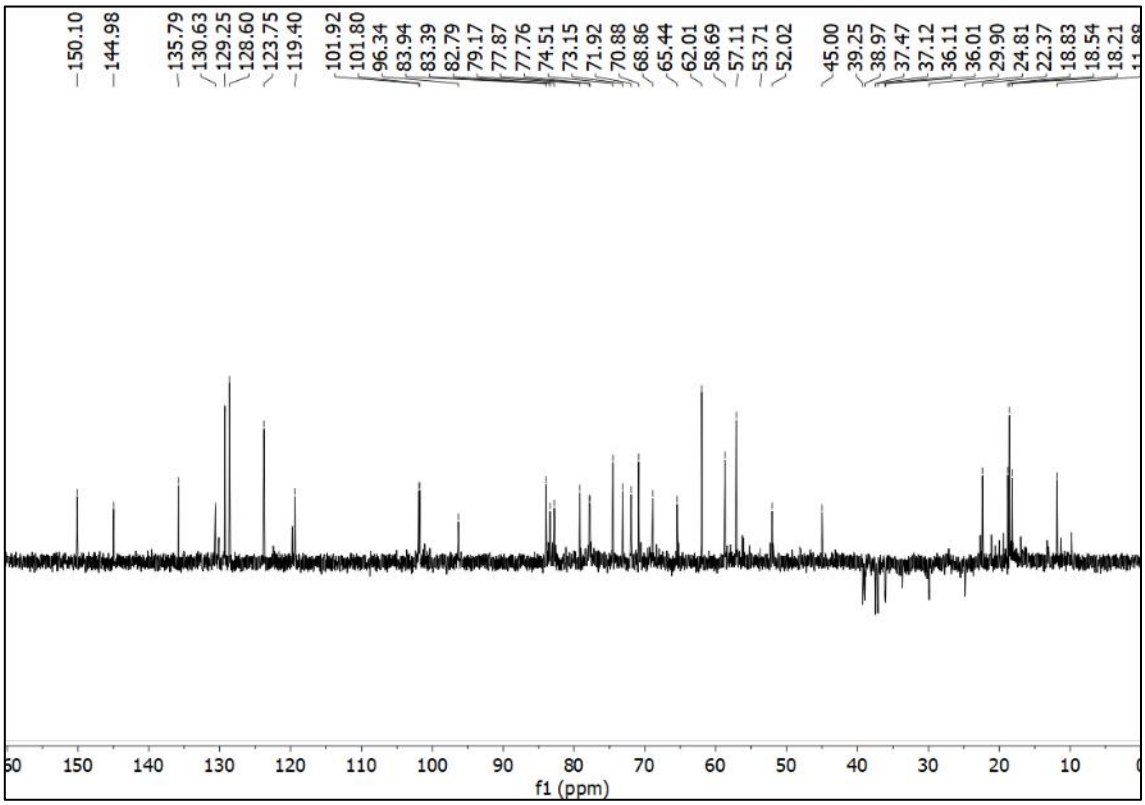


Figura S281. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 11

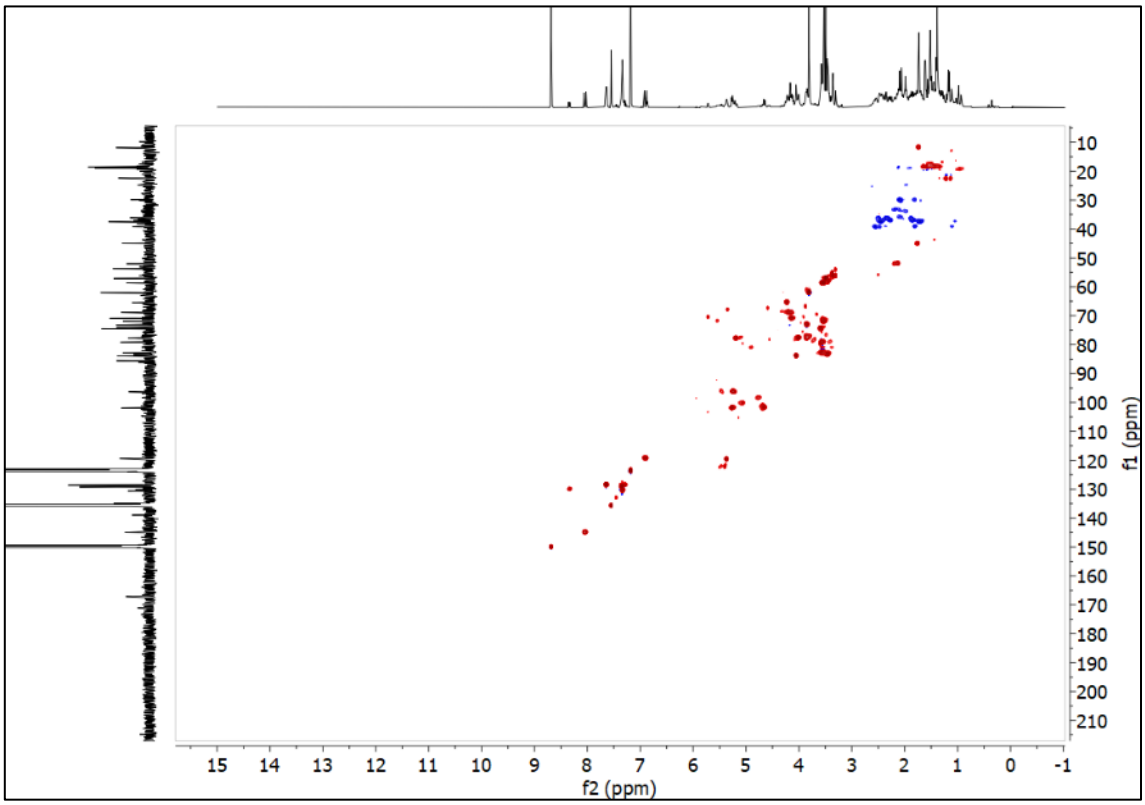


Figura S282. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11

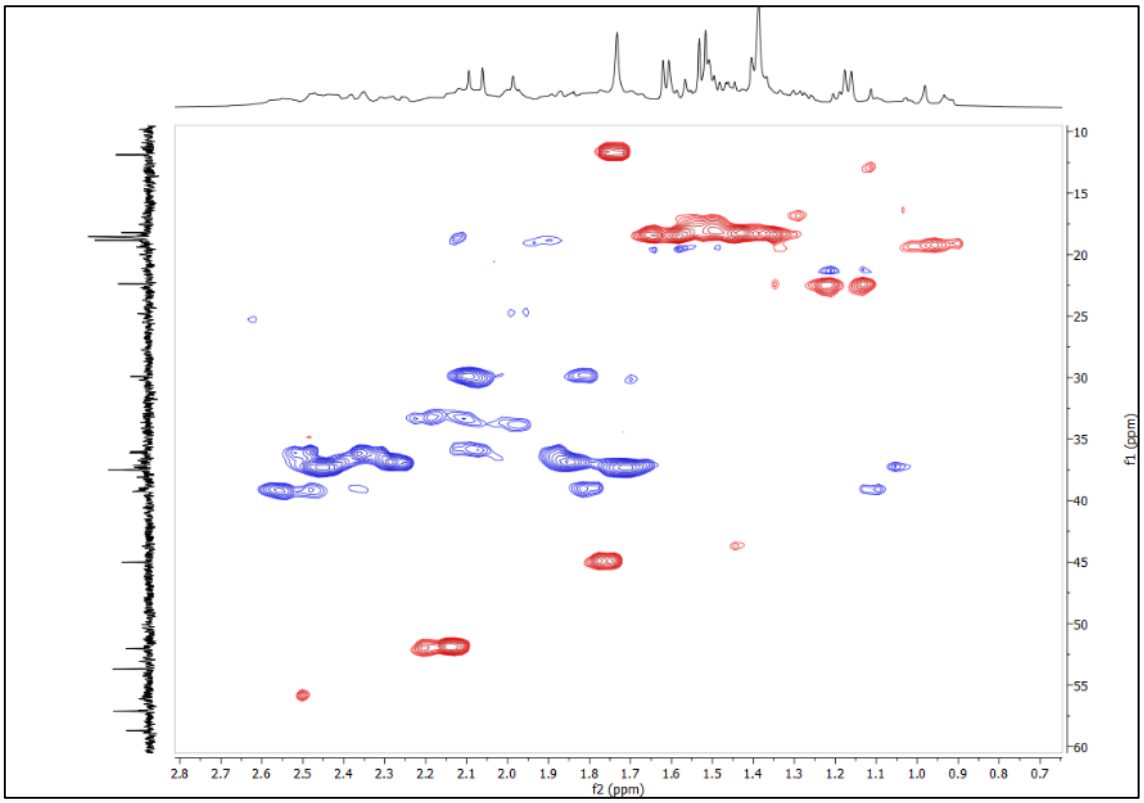


Figura S283. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 10-60 ppm e 0,7-2,8 ppm

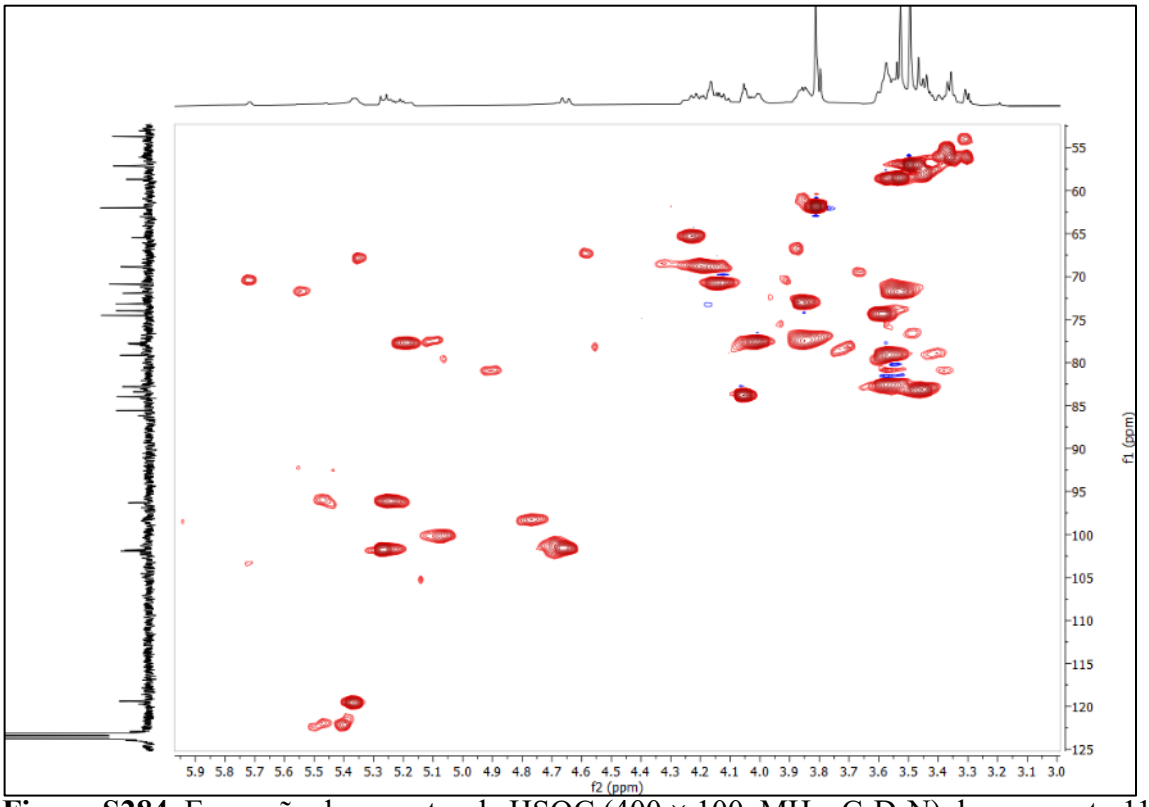


Figura S284. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 55-125 ppm e 3,0-5,9 ppm

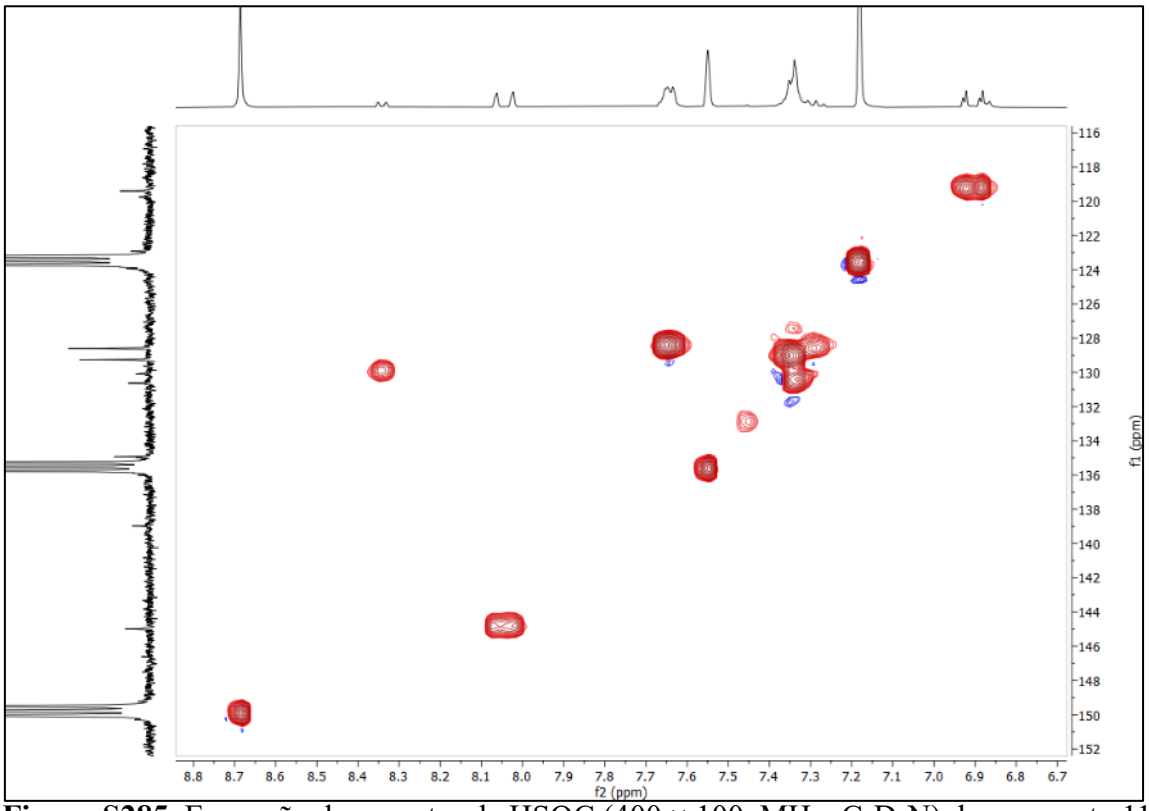


Figura S285. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 116-152 ppm e 6,7-8,8 ppm

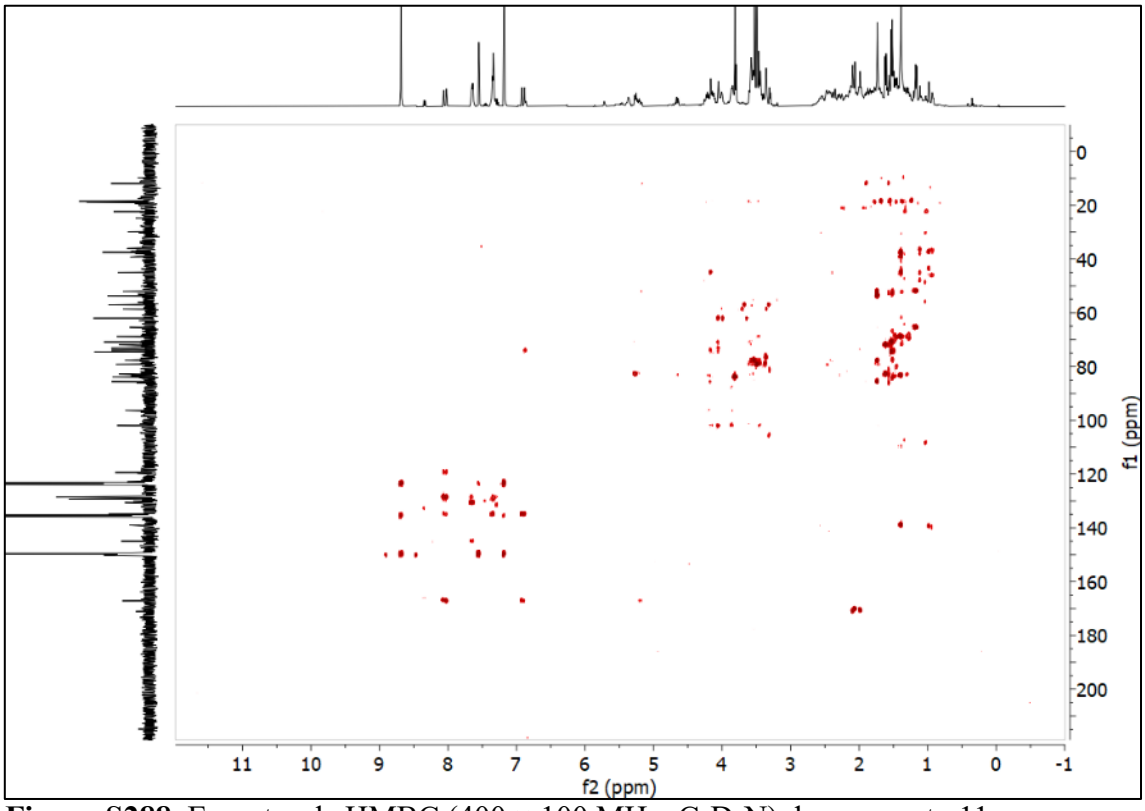


Figura S288. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11

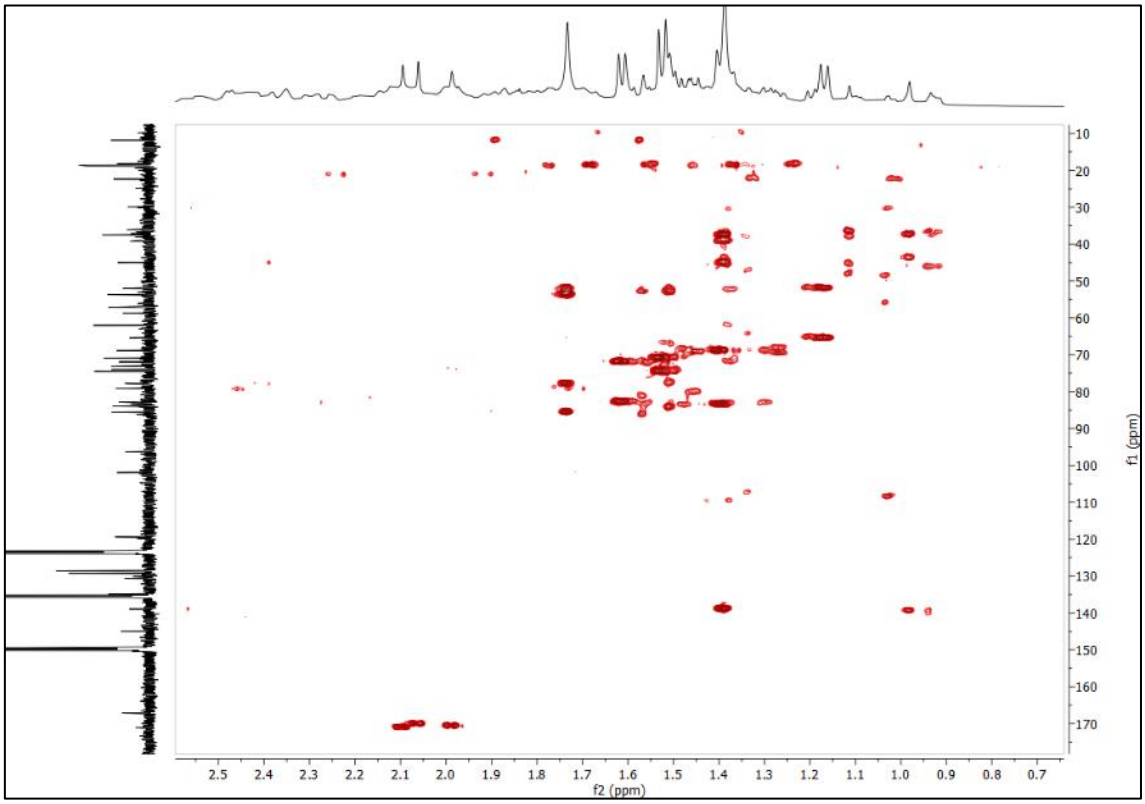


Figura S289. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,5 ppm

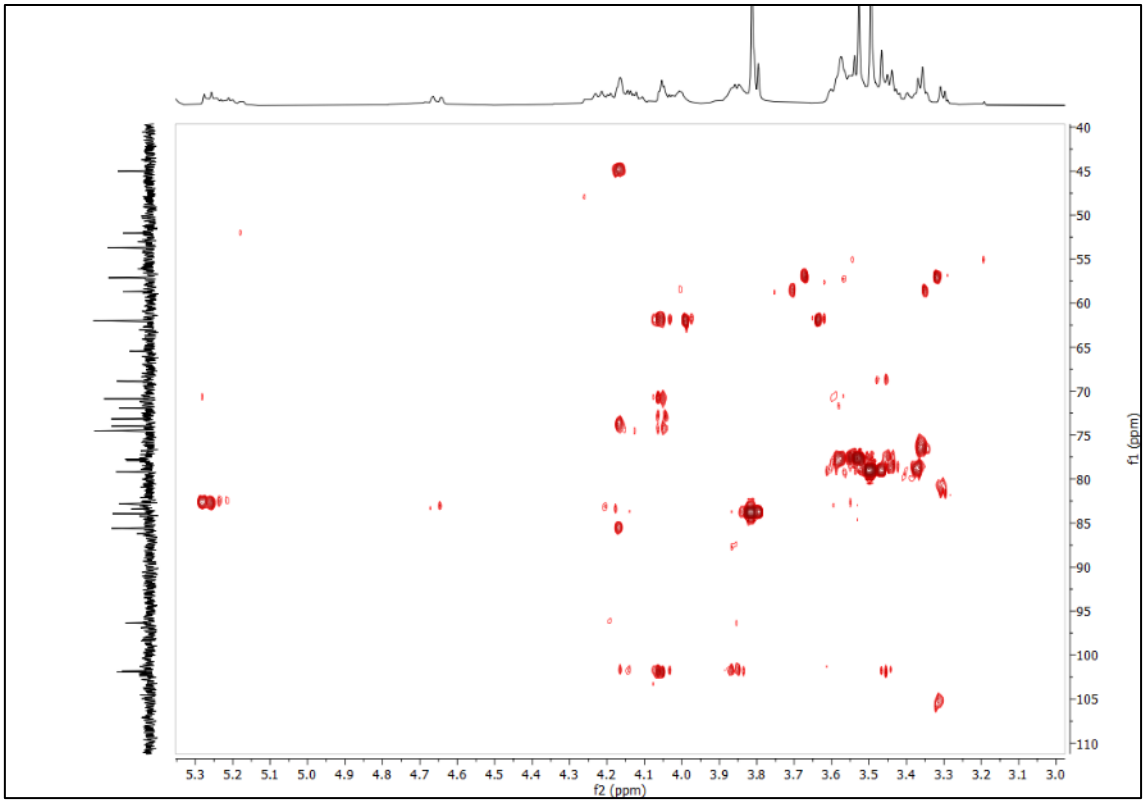


Figura S290. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 40-110 ppm e 3,0-5,3 ppm

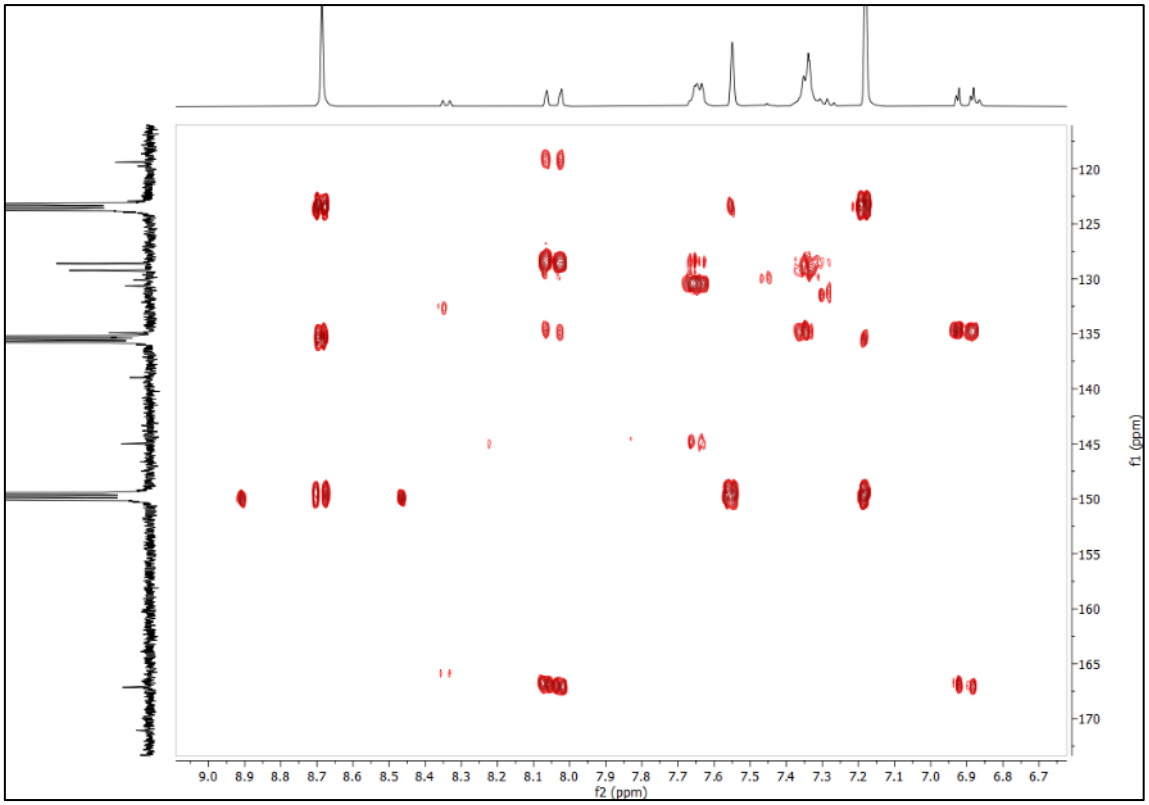


Figura S291. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 120-170 ppm e 6,7-9,0 ppm

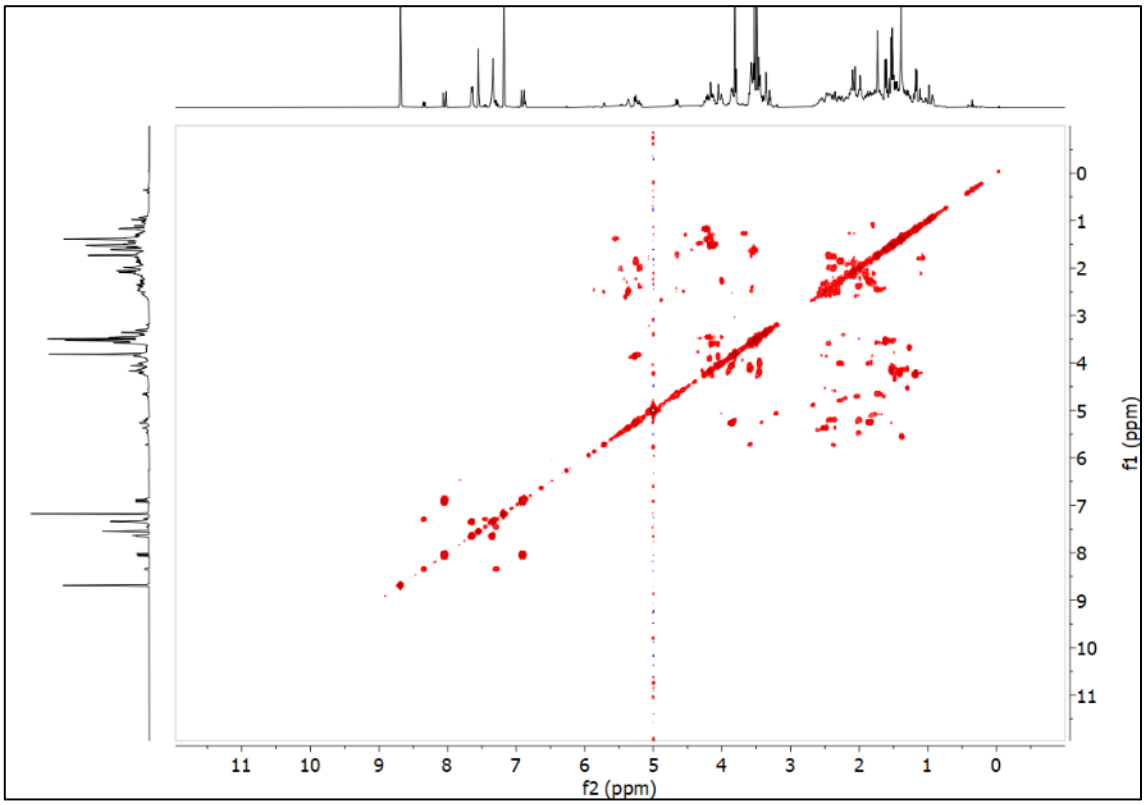


Figura S292. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11

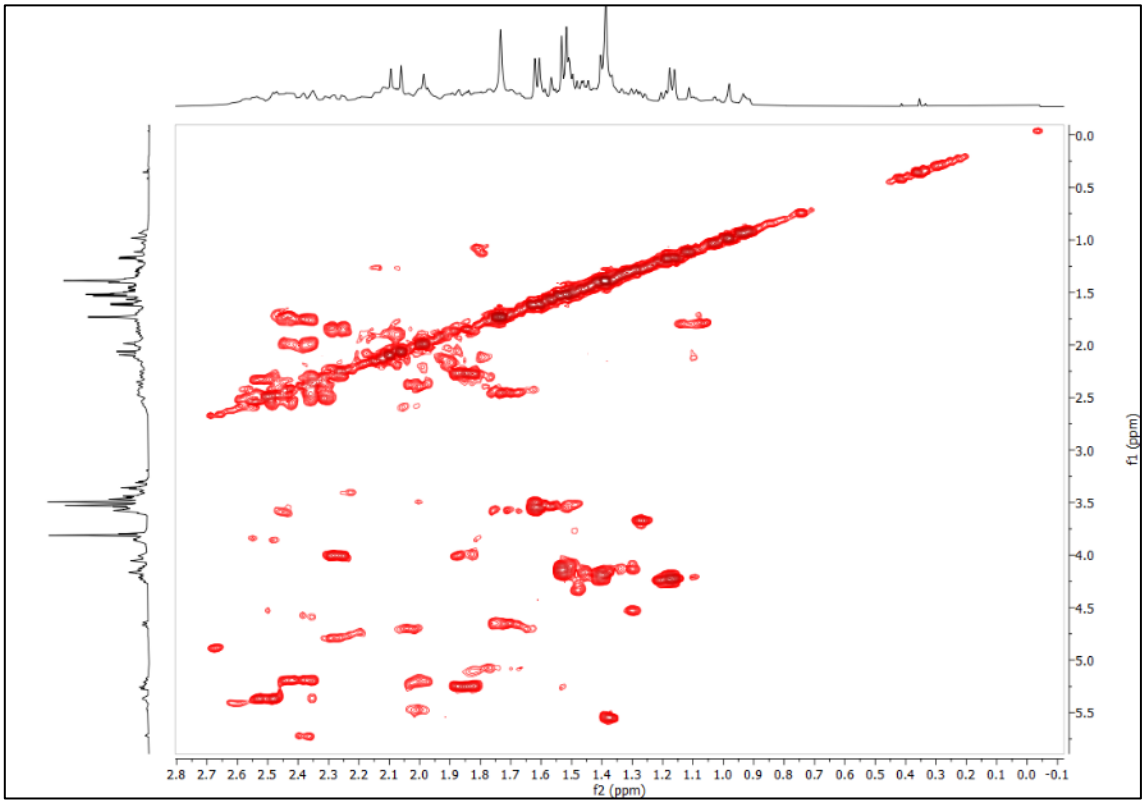


Figura S293. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 0,0-5,5 ppm e -0,1-2,8 ppm

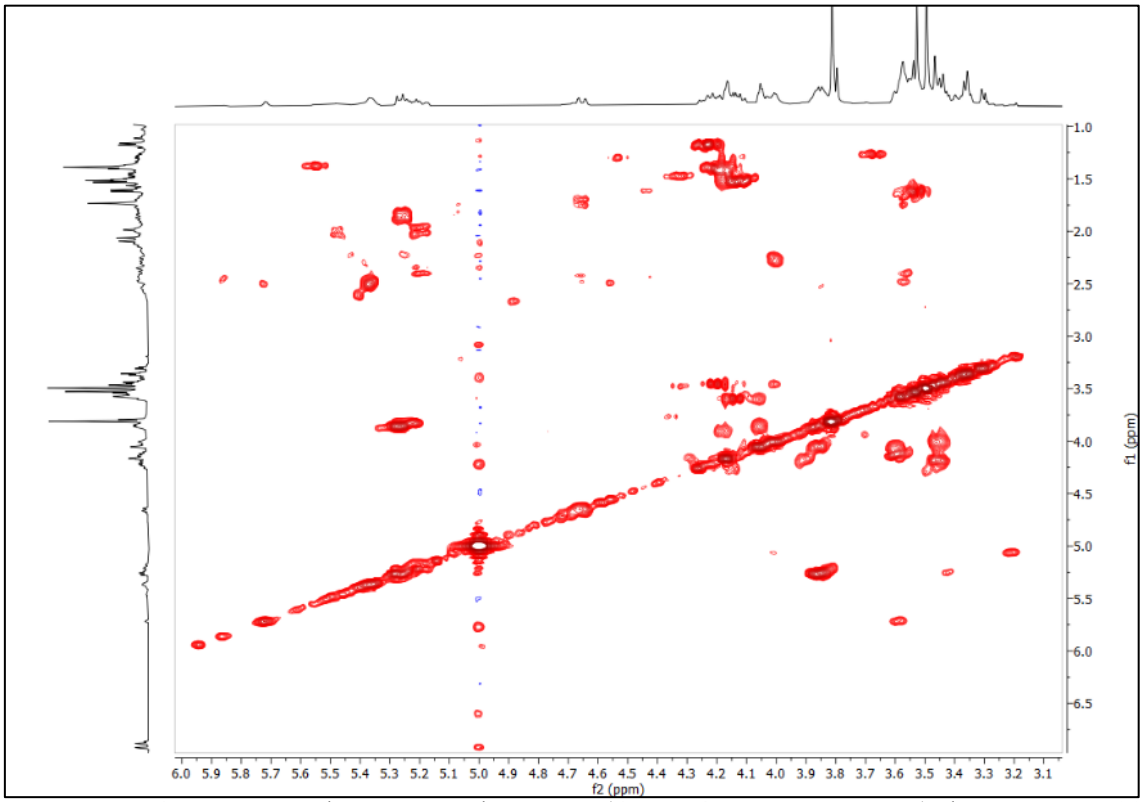


Figura S294. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,1-6,0 ppm

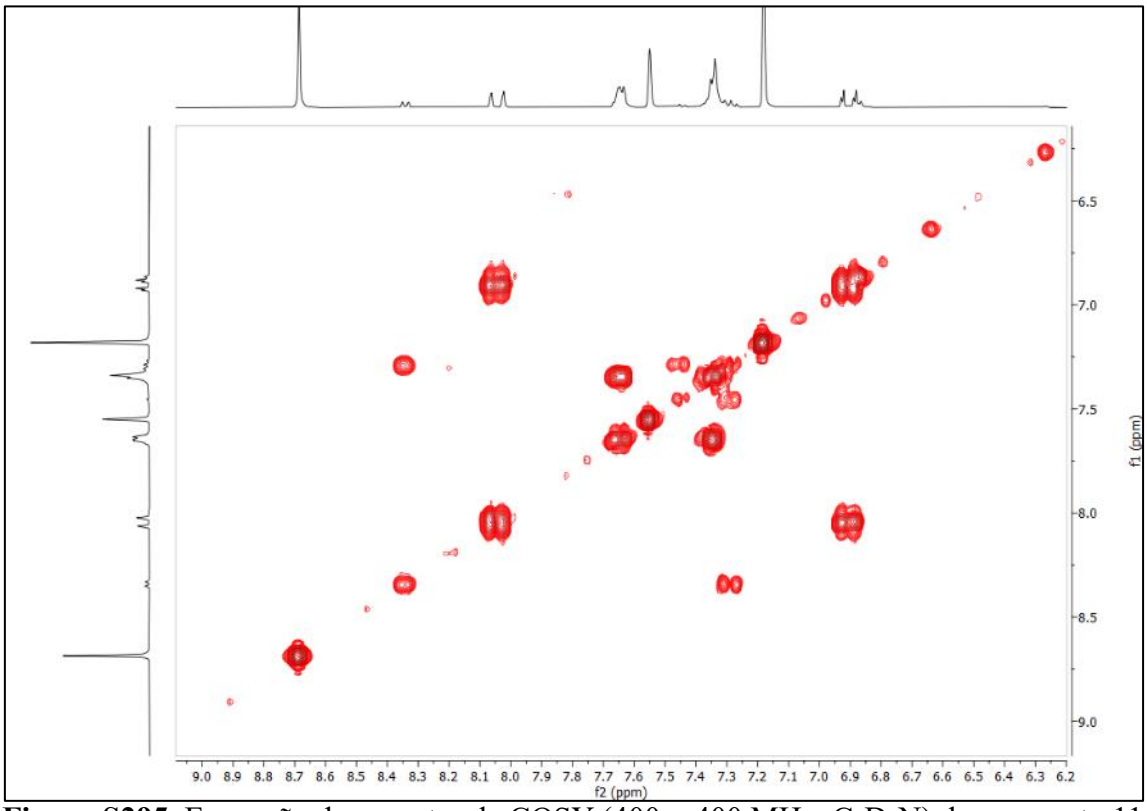


Figura S295. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 6,5-9,0 ppm e 6,2-9,0 ppm

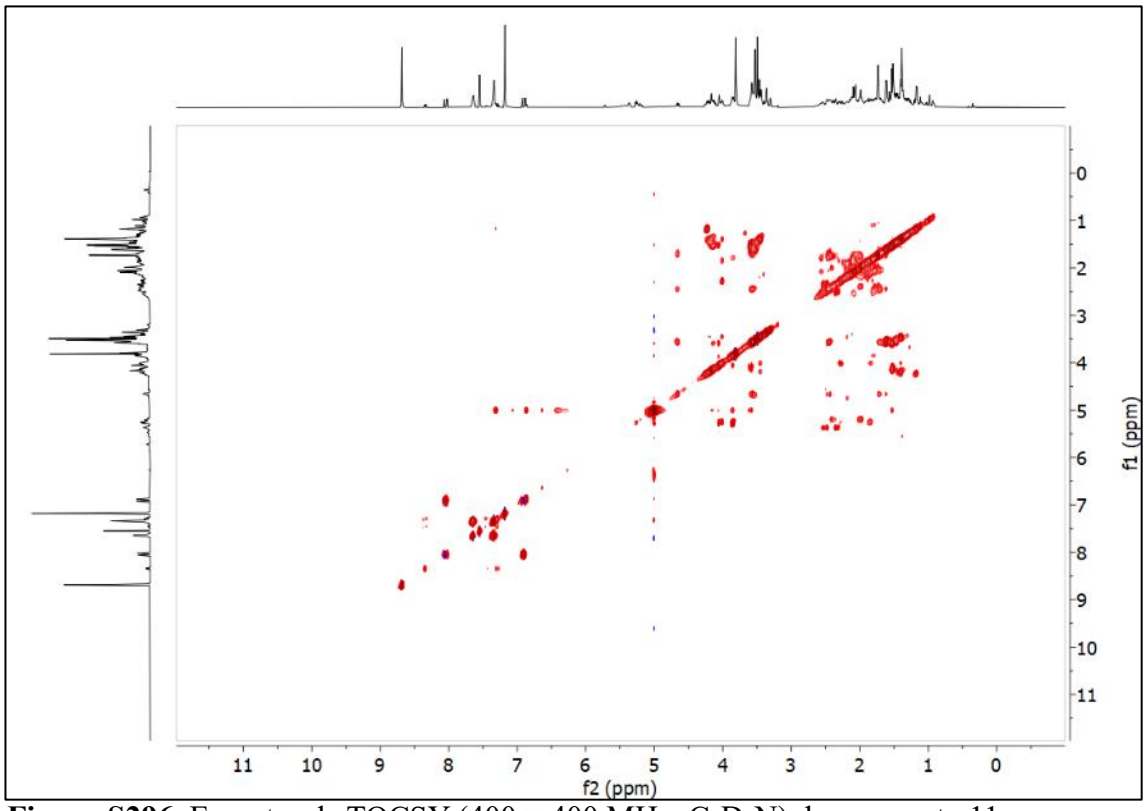


Figura S296. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11

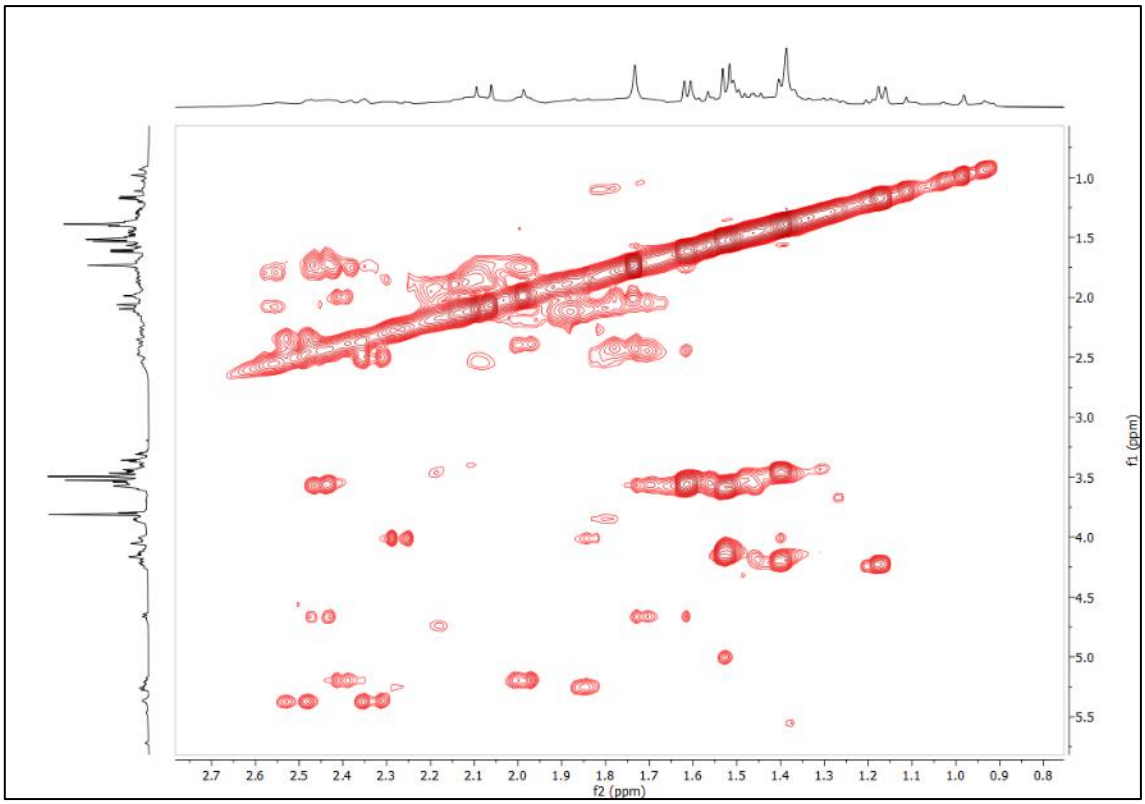


Figura S297. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,8-2,7 ppm

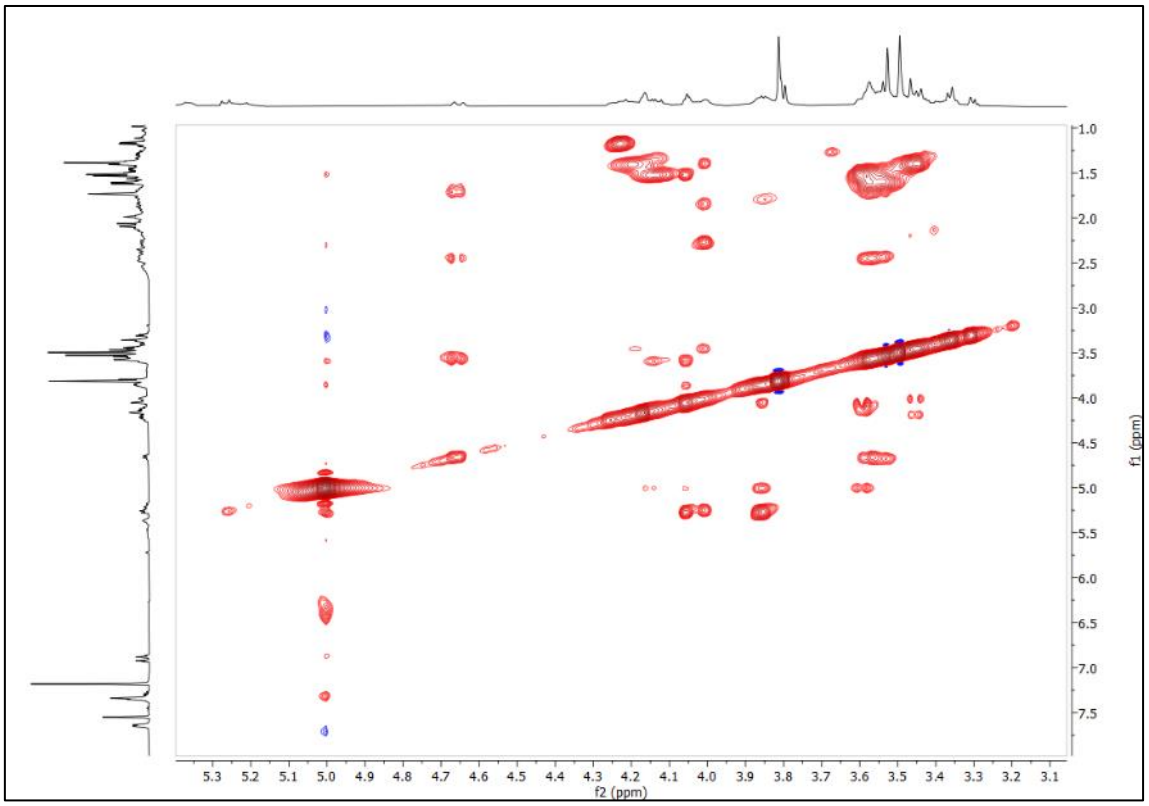


Figura S298. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 1,0-7,5 ppm e 3,1-5,3 ppm

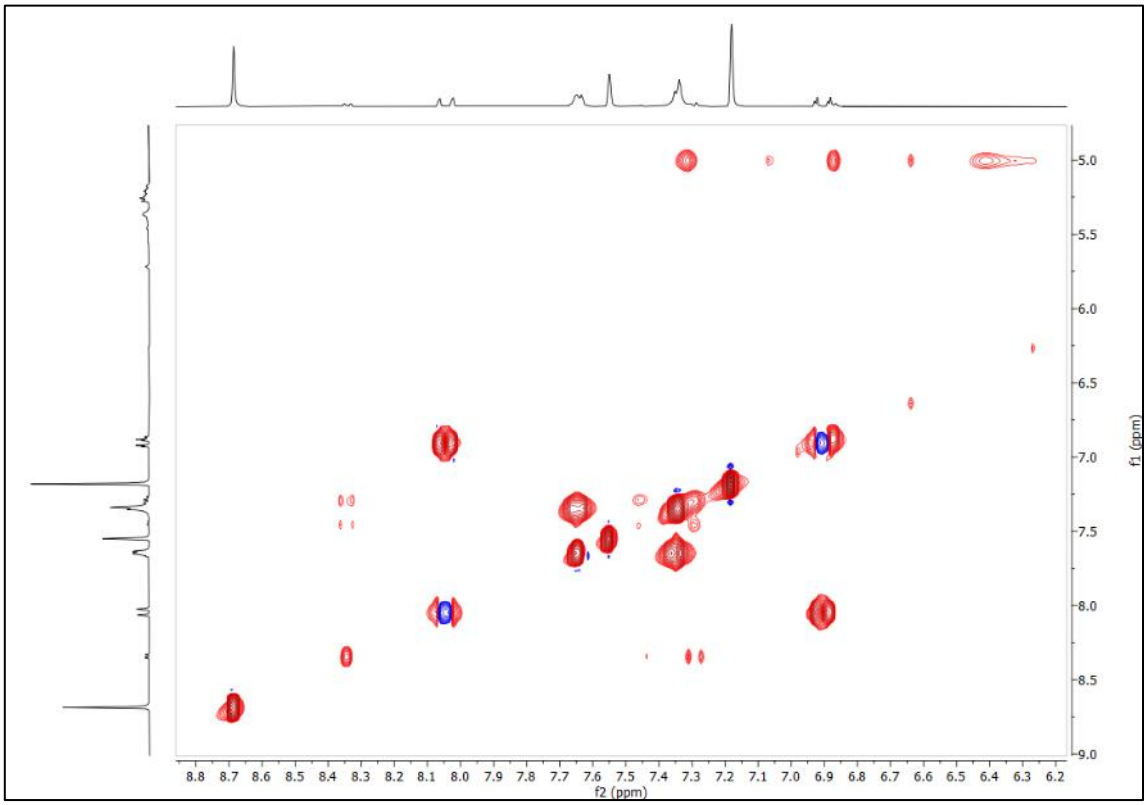


Figura S299. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,2-8,8 ppm

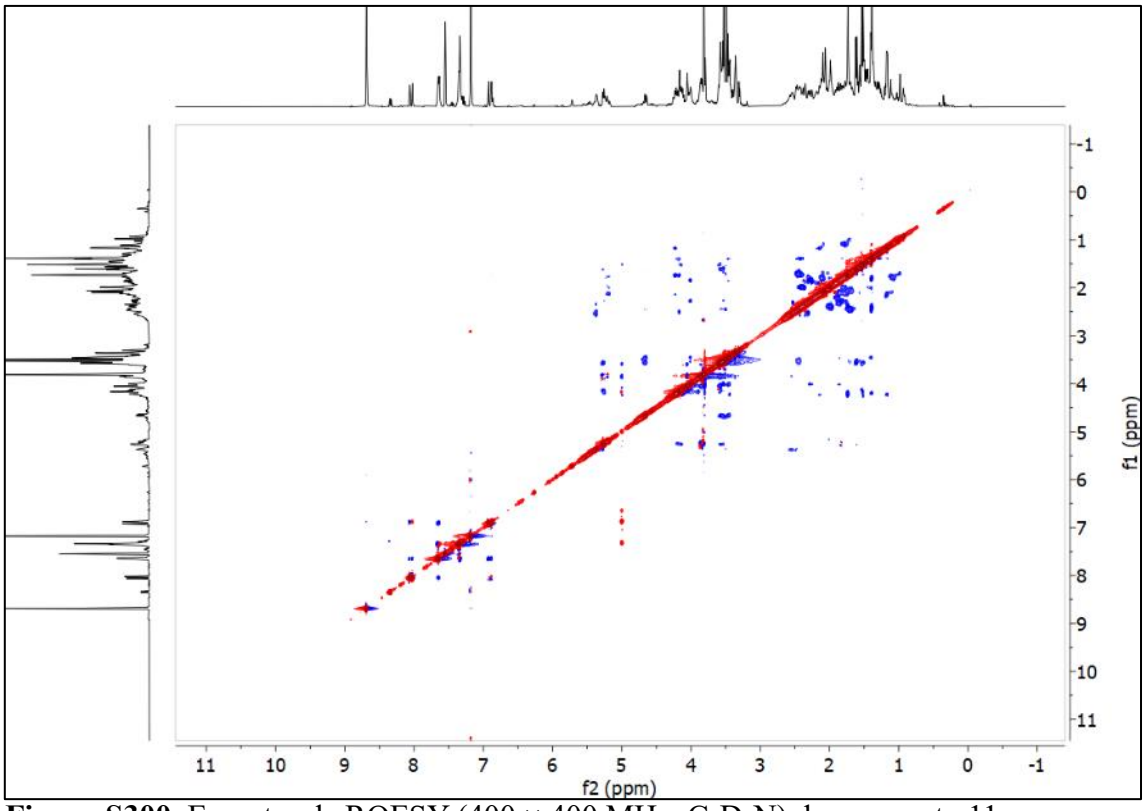


Figura S300. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11

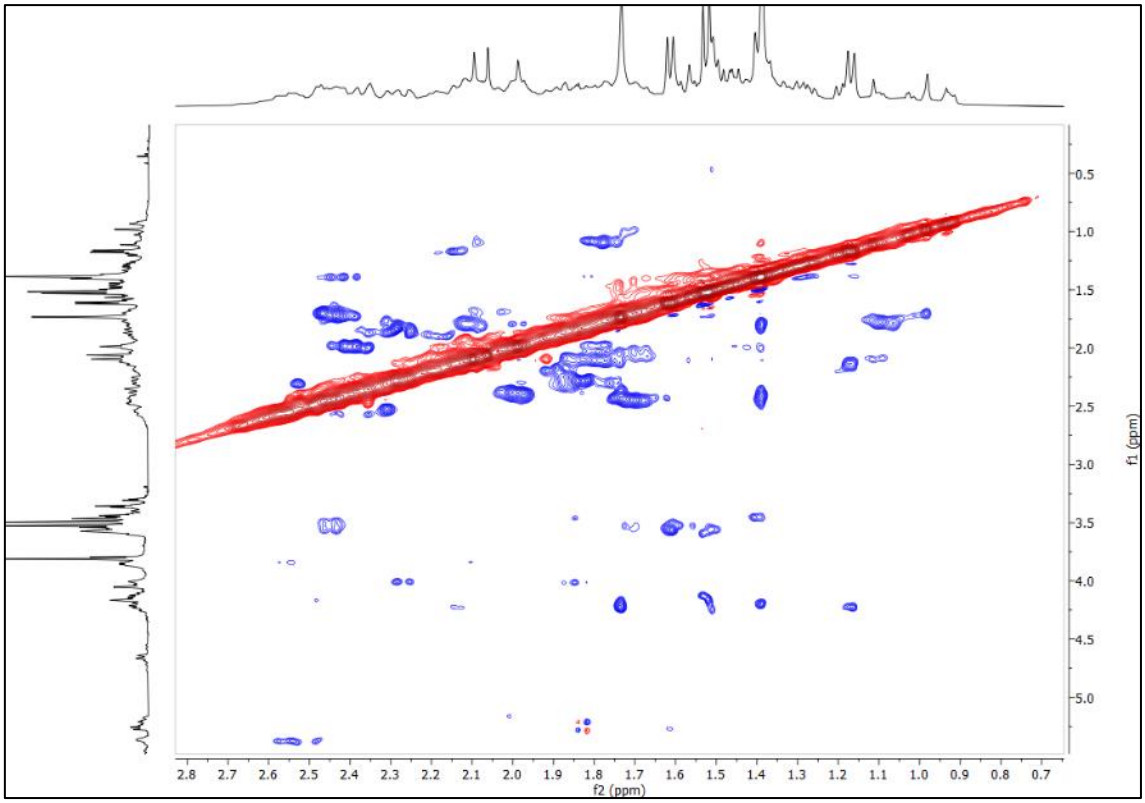


Figura S301. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,7-2,8 ppm

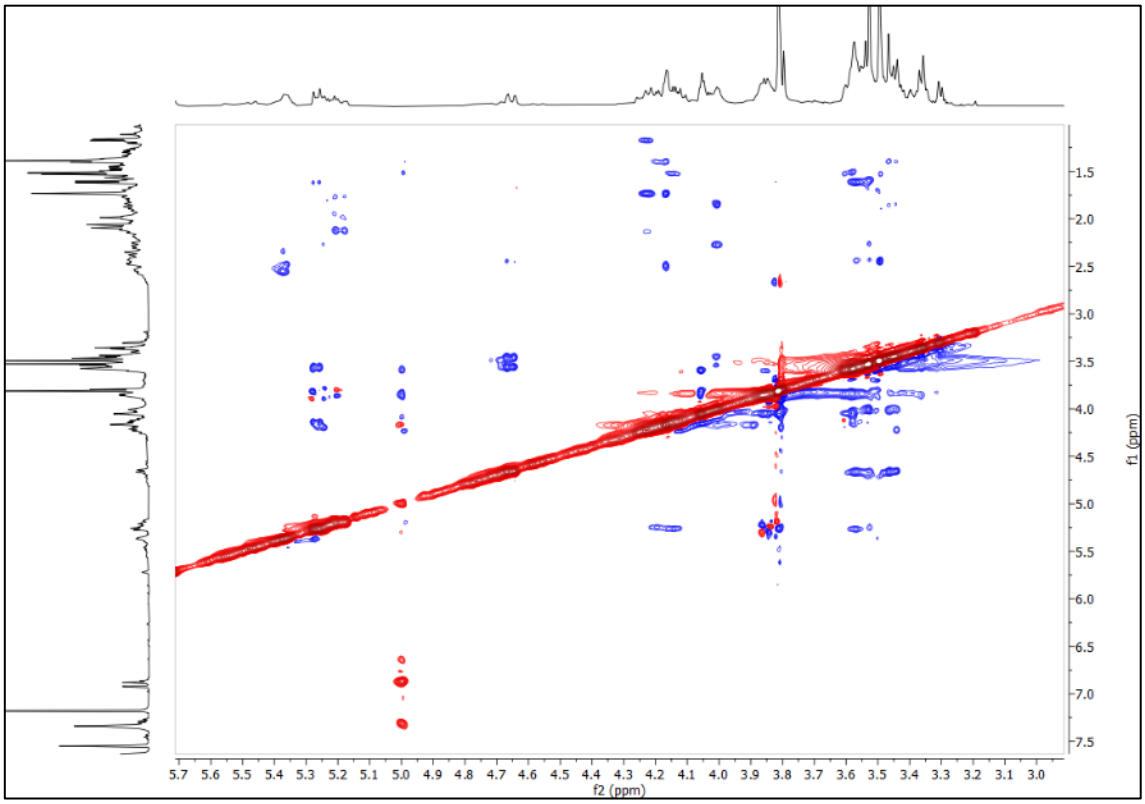


Figura S302. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 1,5-7,5 ppm e 3,0-5,7 ppm

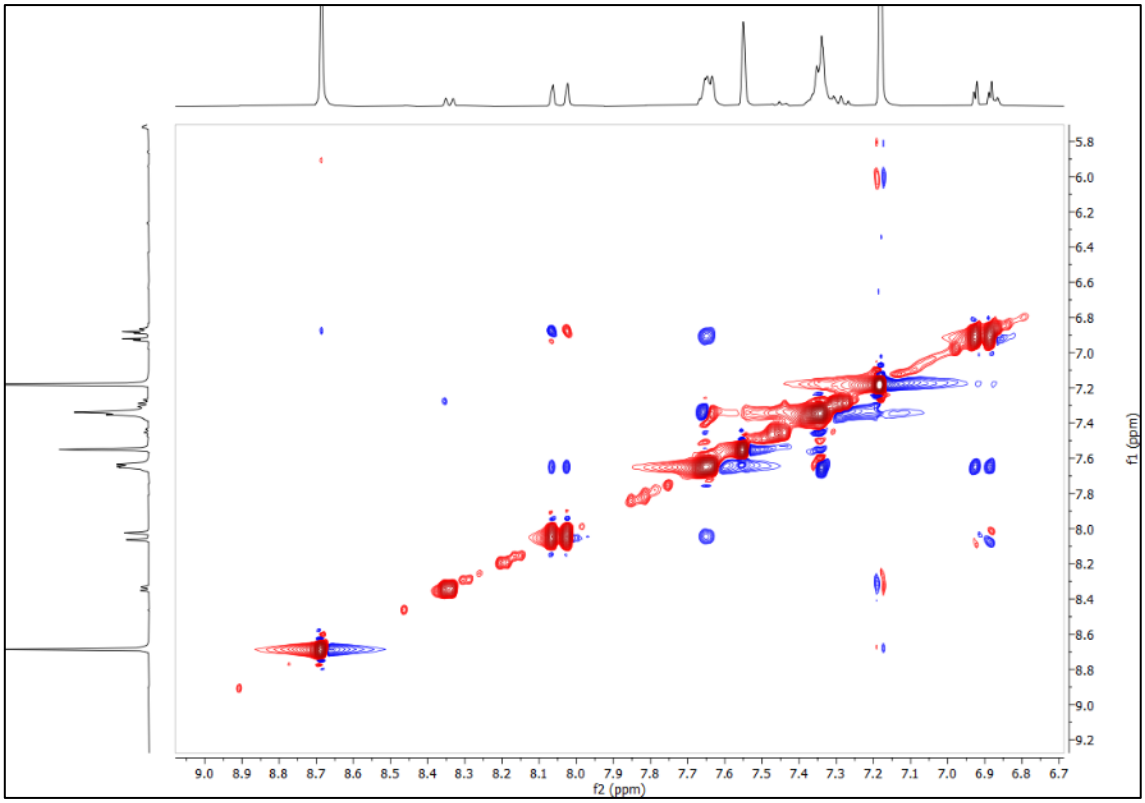


Figura S303. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 11 nas regiões de 5,8-9,2 ppm e 6,7-9,0 ppm

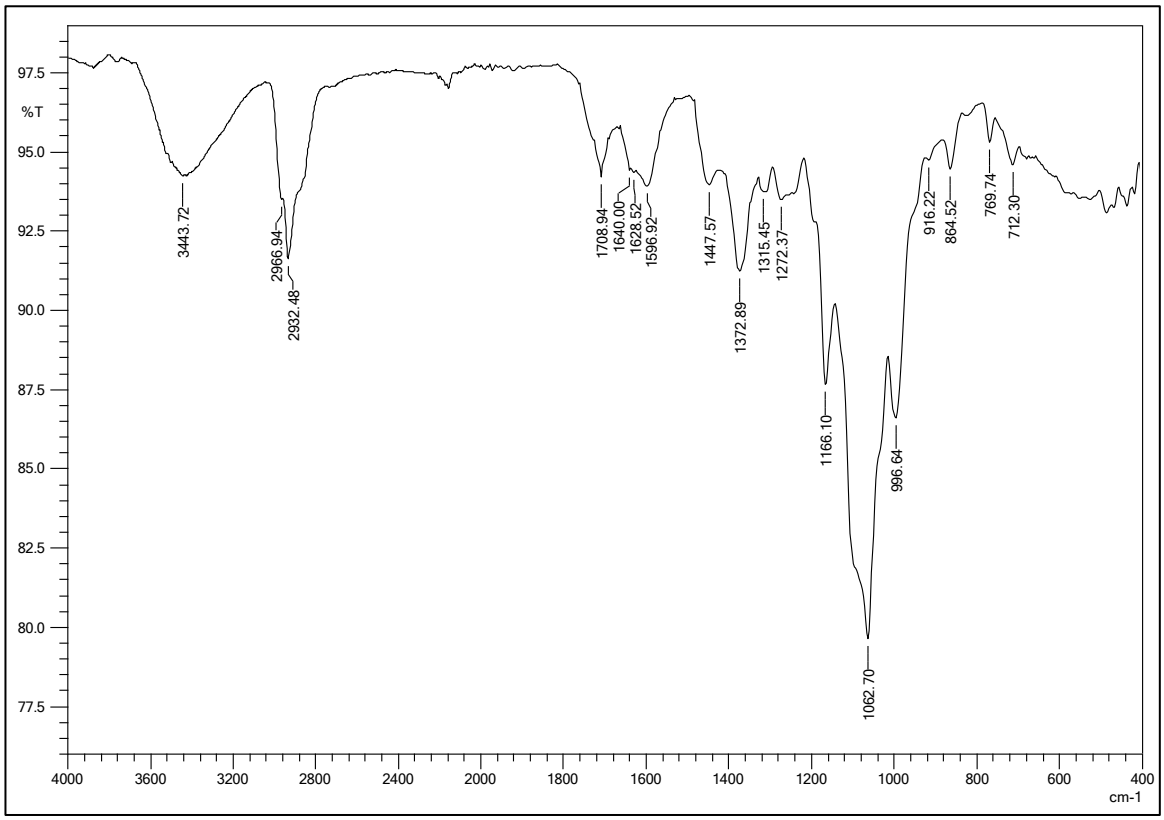


Figura S304. Espectro de infravermelho ATR do composto 12

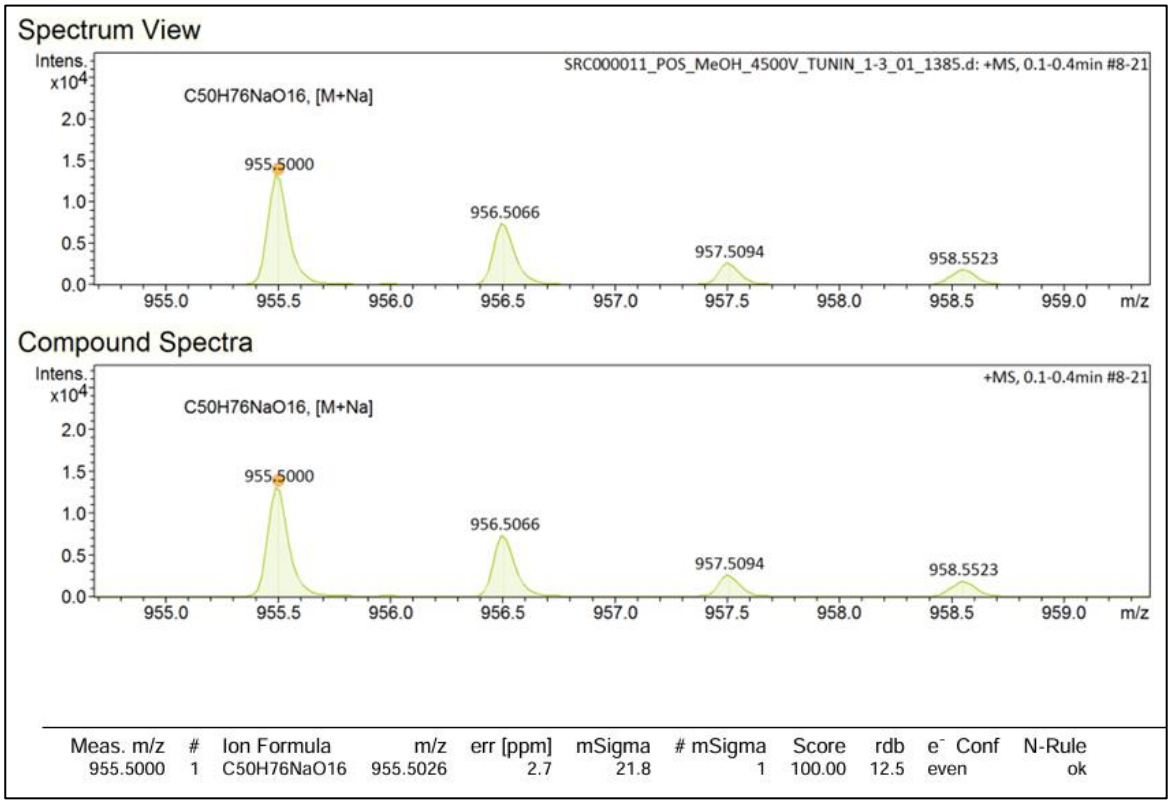


Figura S305. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 12

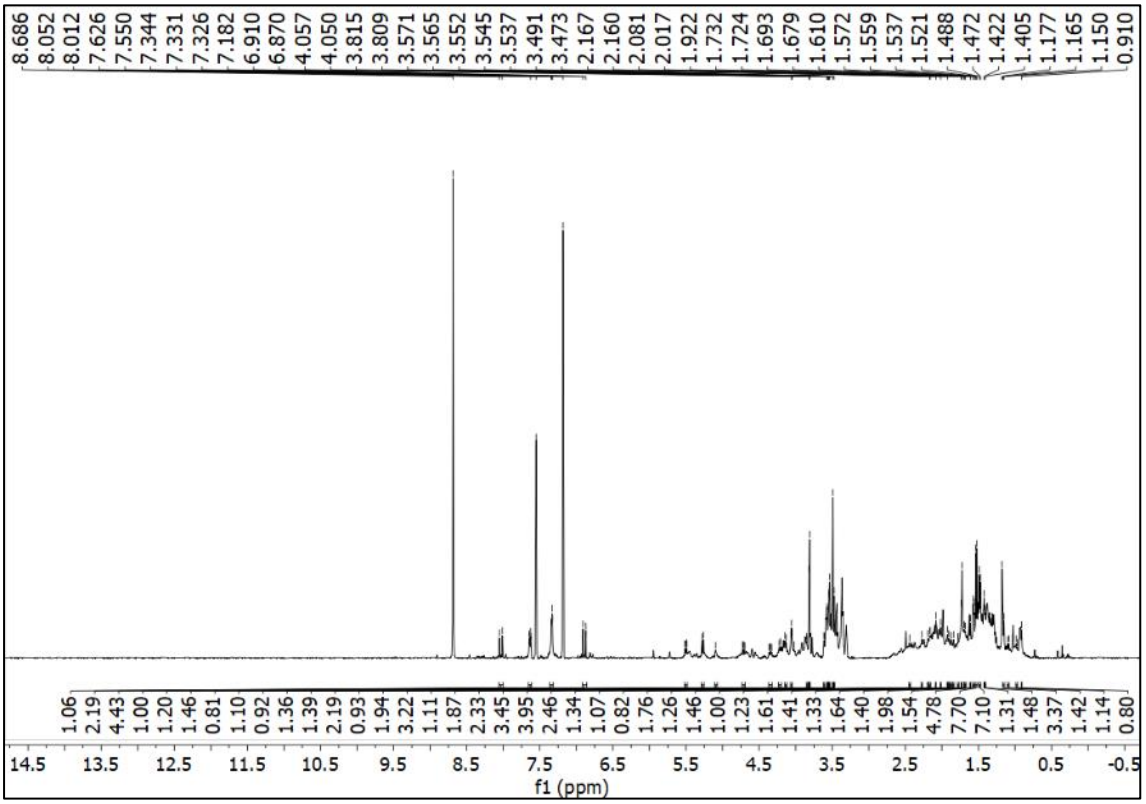


Figura S306. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 12

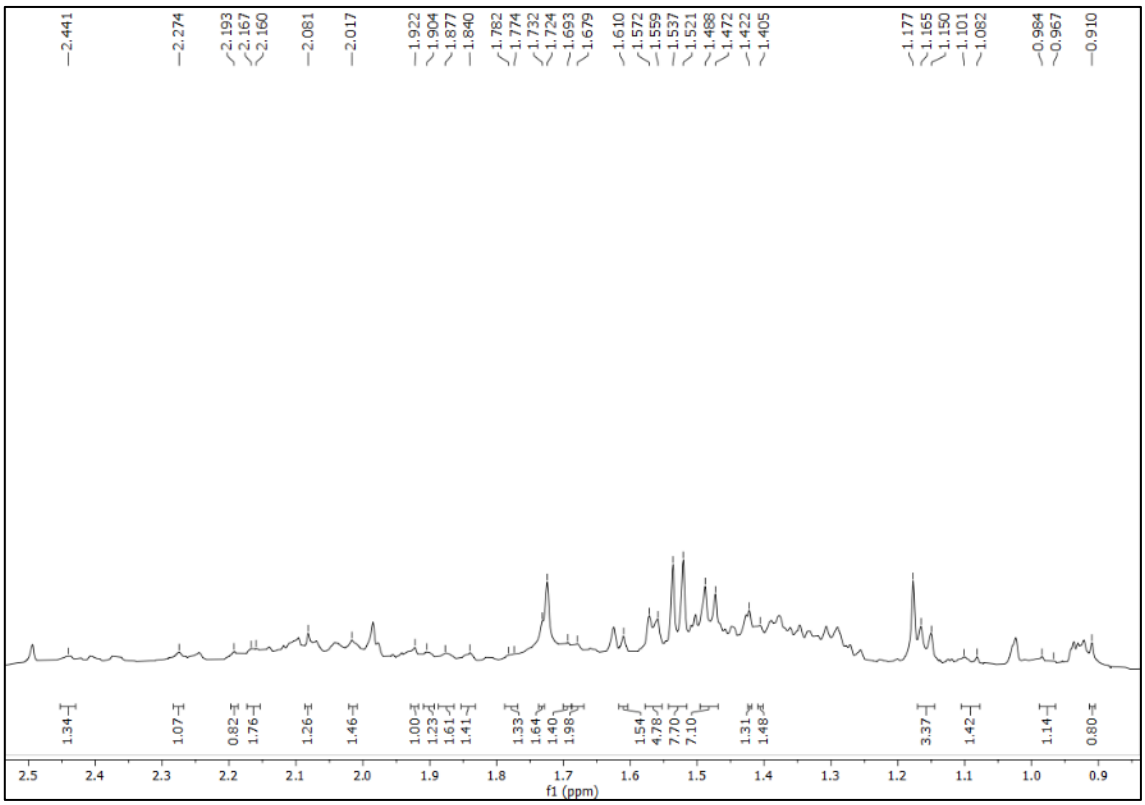


Figura S307. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 na região de 0,9-2,5 ppm

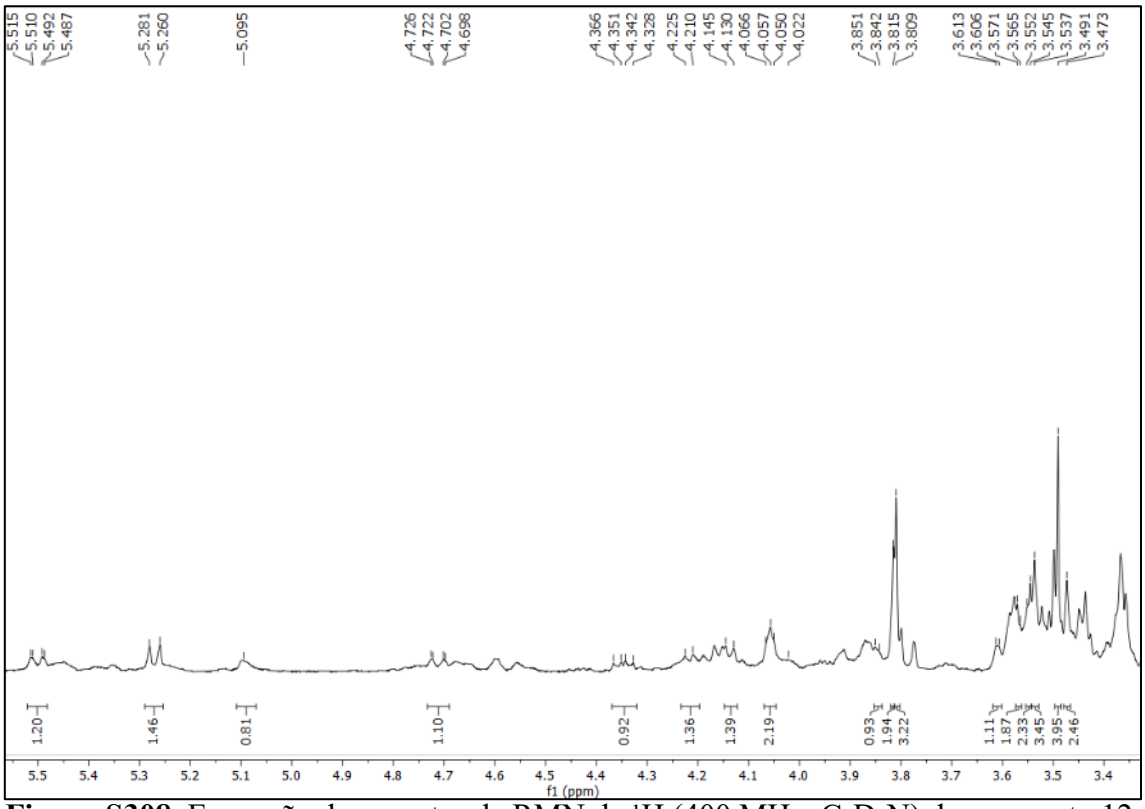


Figura S308. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 na região de 3,4-5,5 ppm

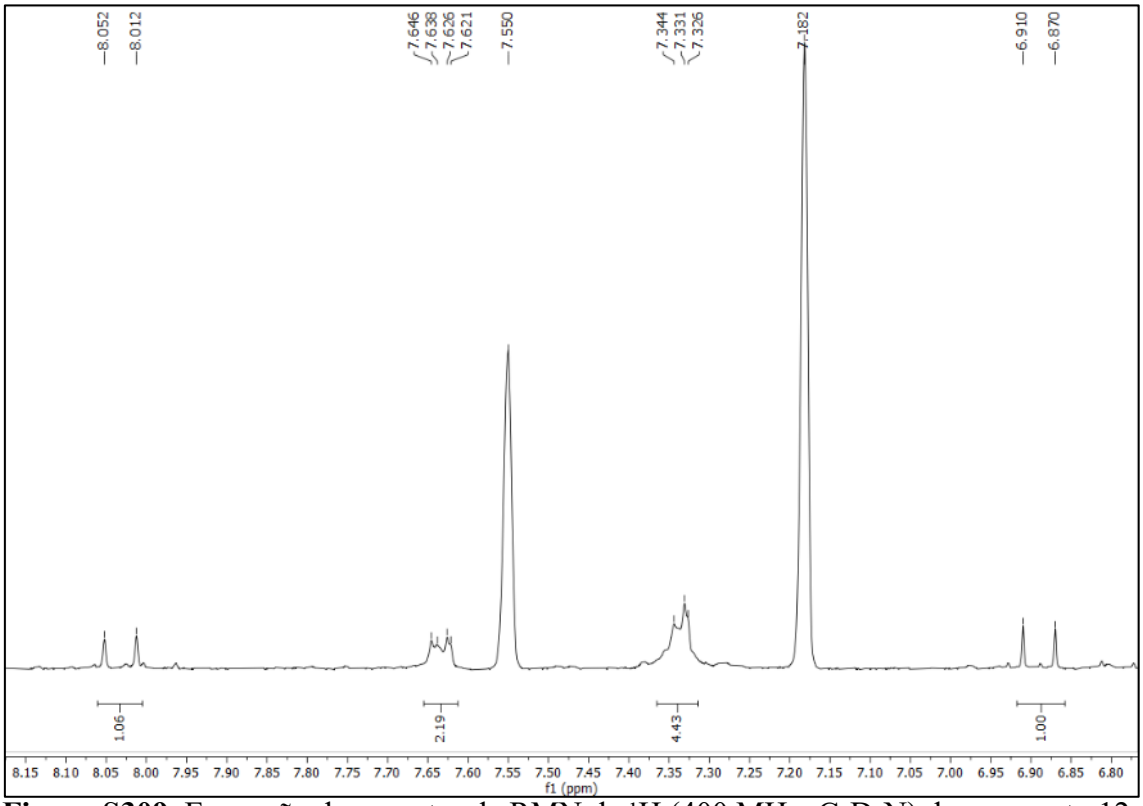


Figura S309. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 na região de 6,80-8,15 ppm

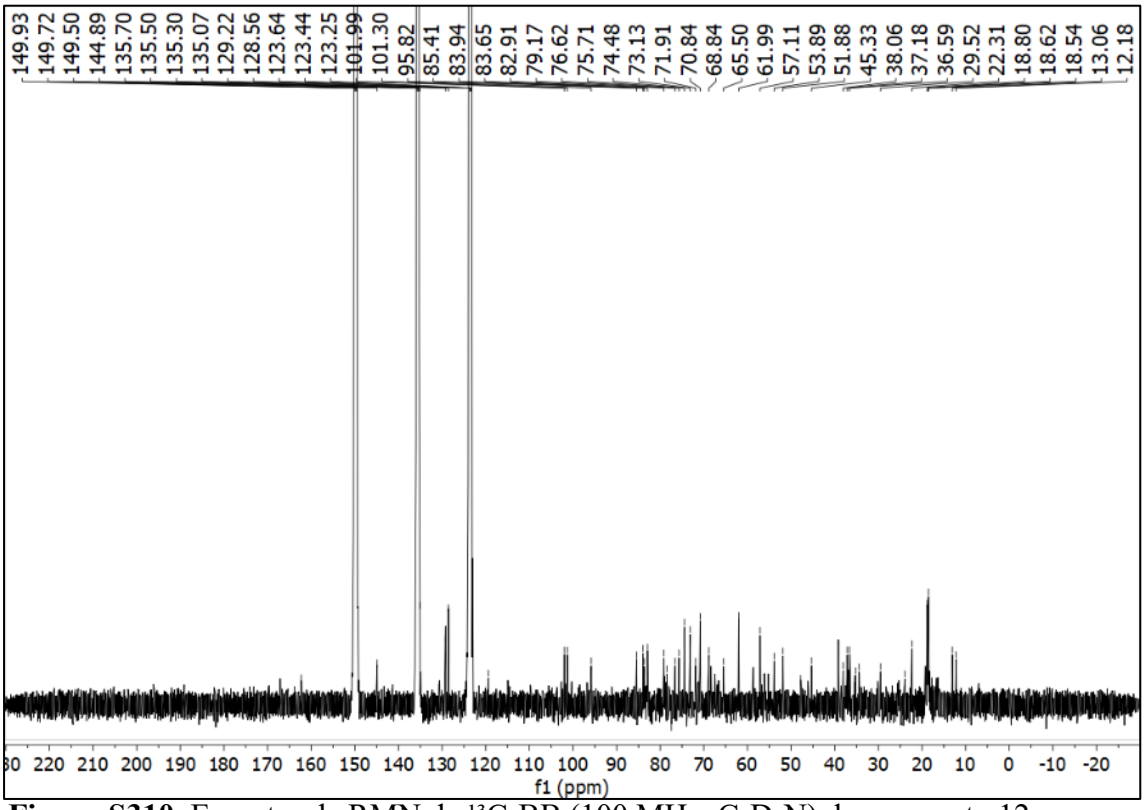


Figura S310. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 12

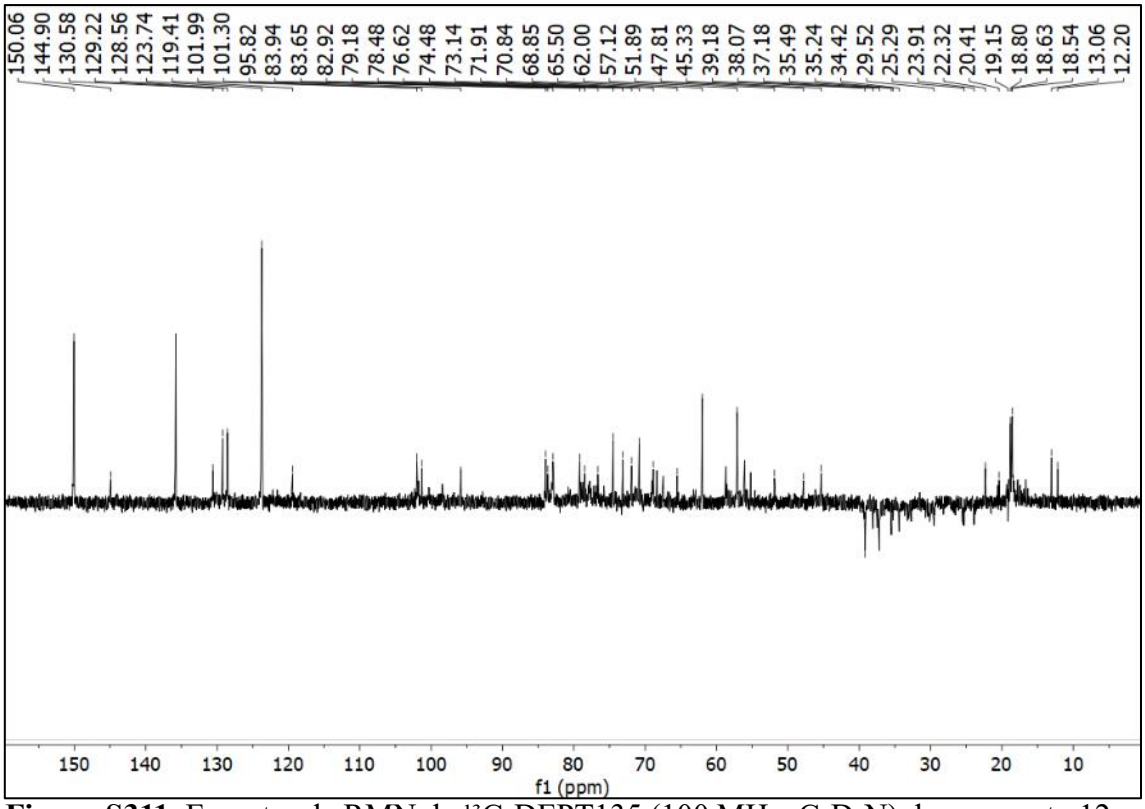


Figura S311. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 12

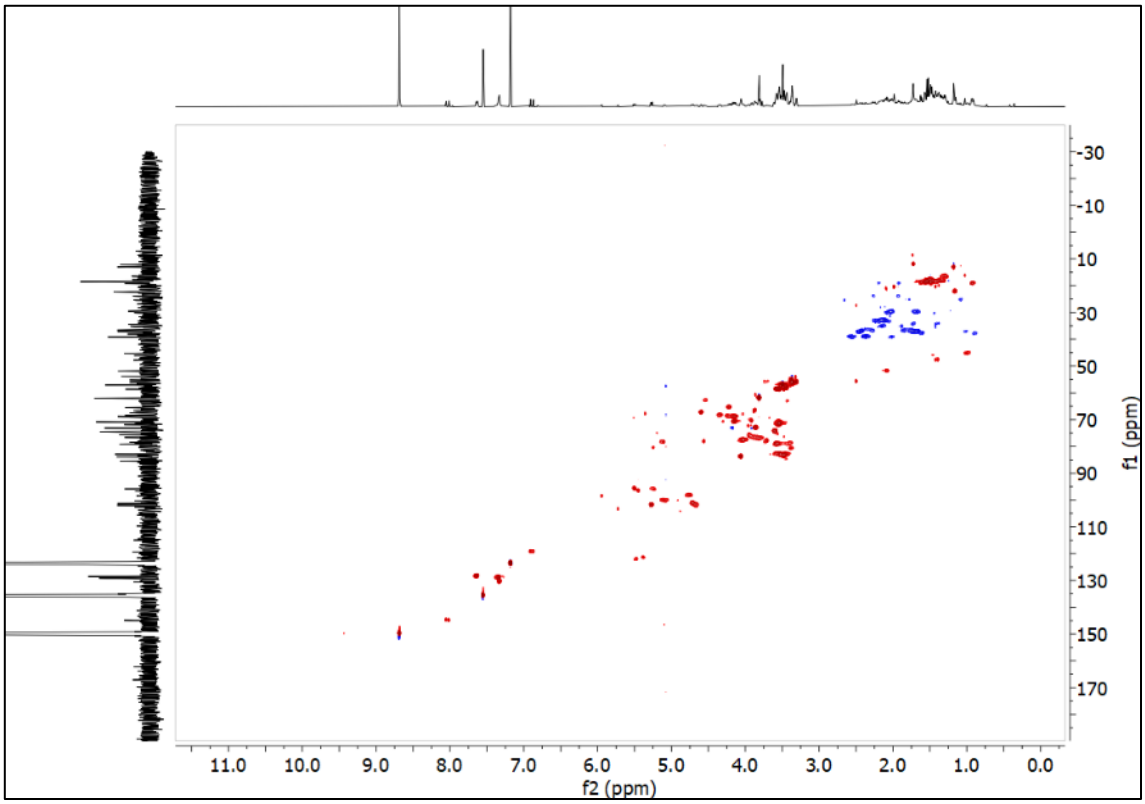


Figura S312. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12

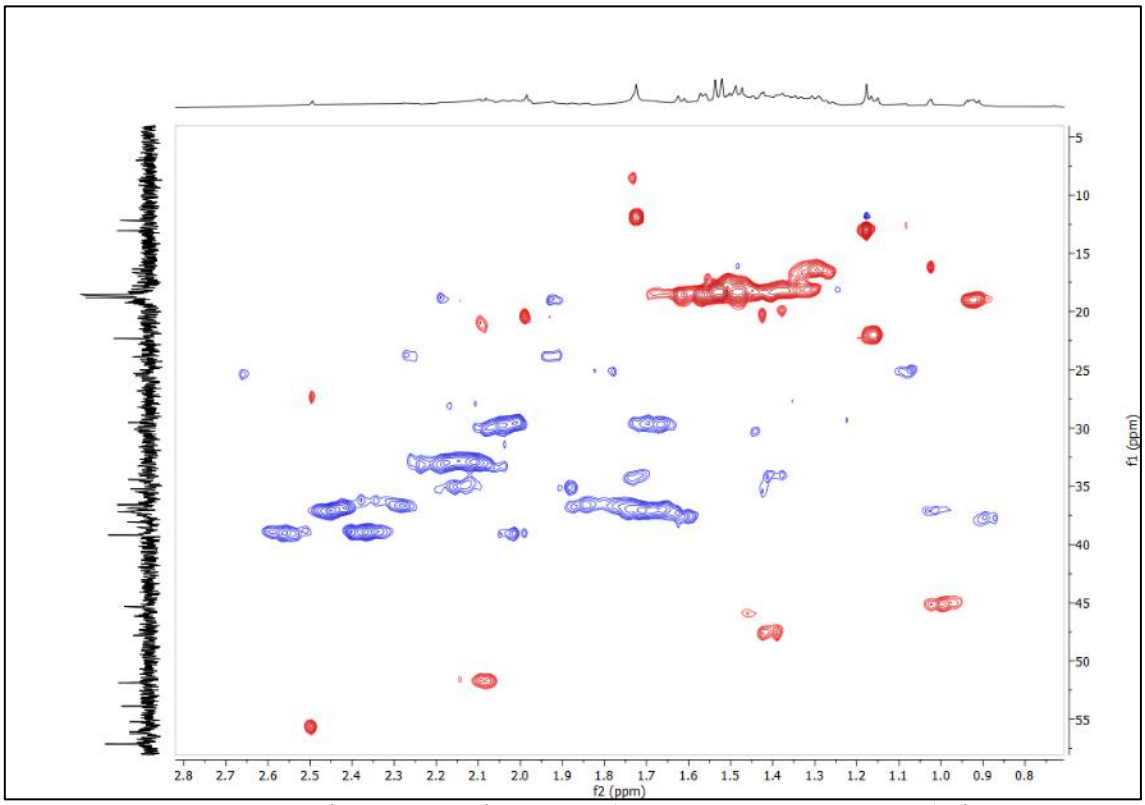


Figura S313. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 5-55 ppm e 0,8-2,8 ppm

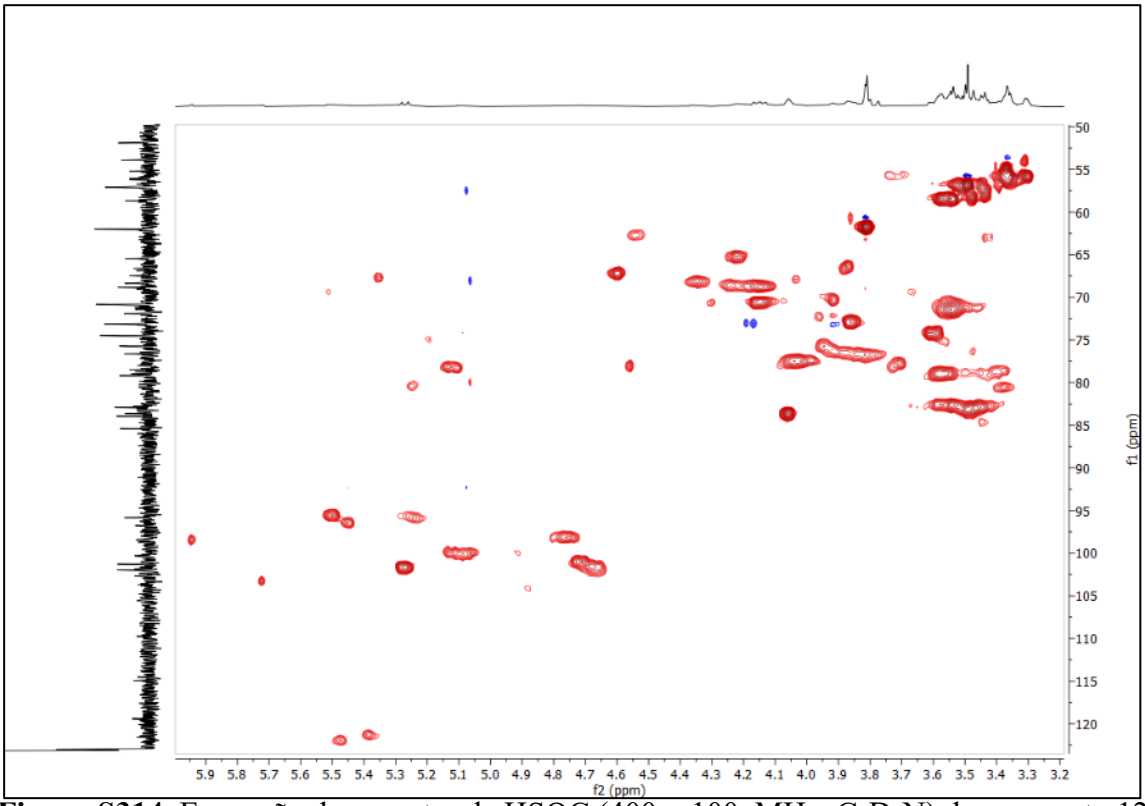


Figura S314. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 50-120 ppm e 3,2-5,9 ppm

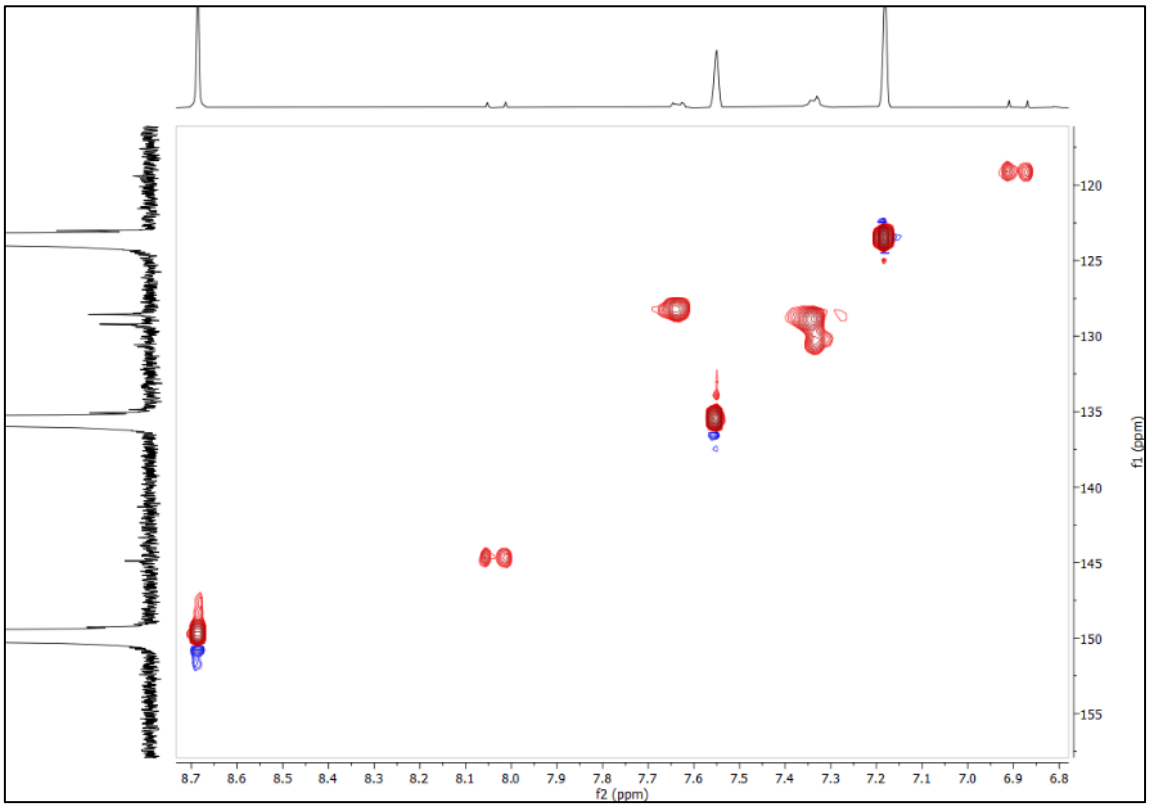


Figura S315. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 120-155 ppm e 6,8-8,7 ppm

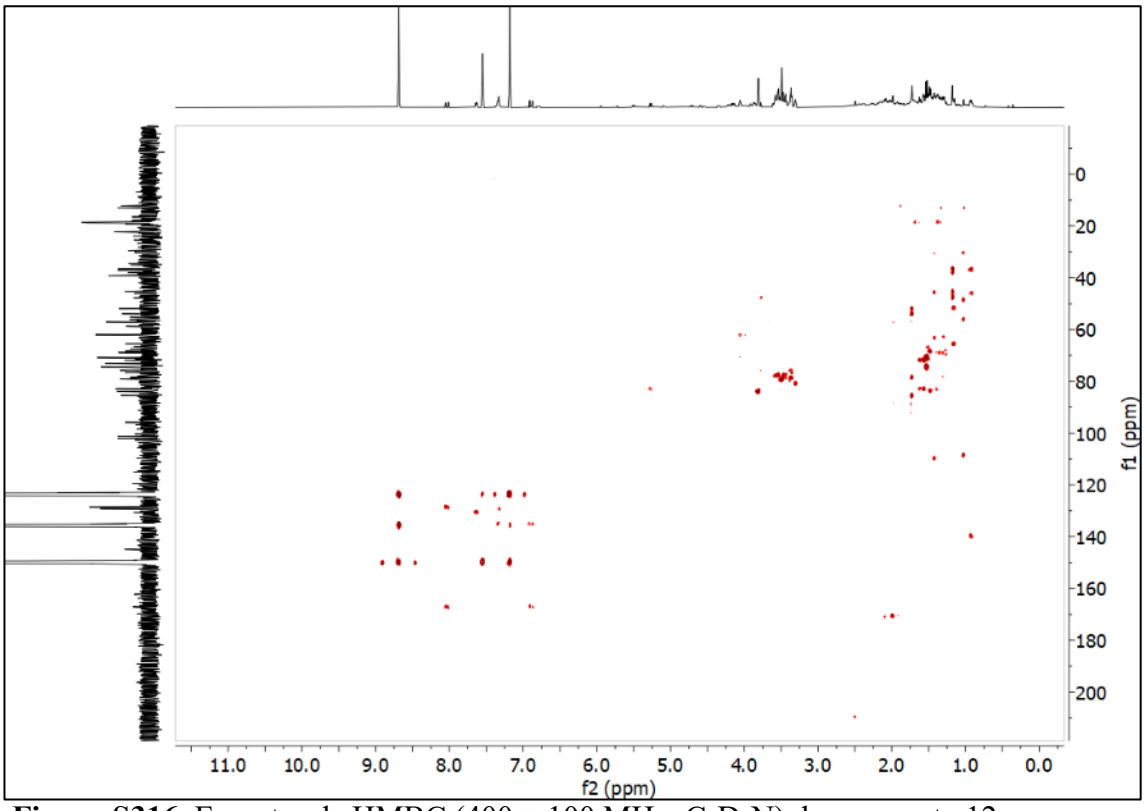


Figura S316. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12

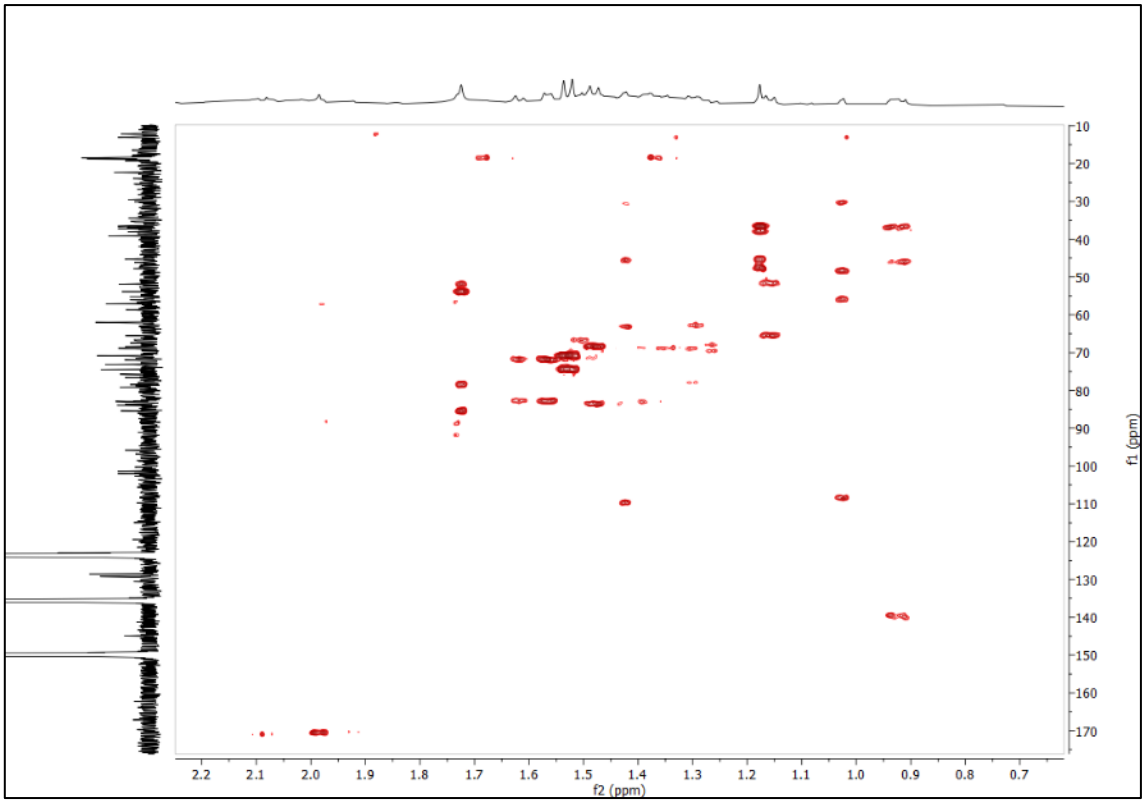


Figura S317. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,2 ppm

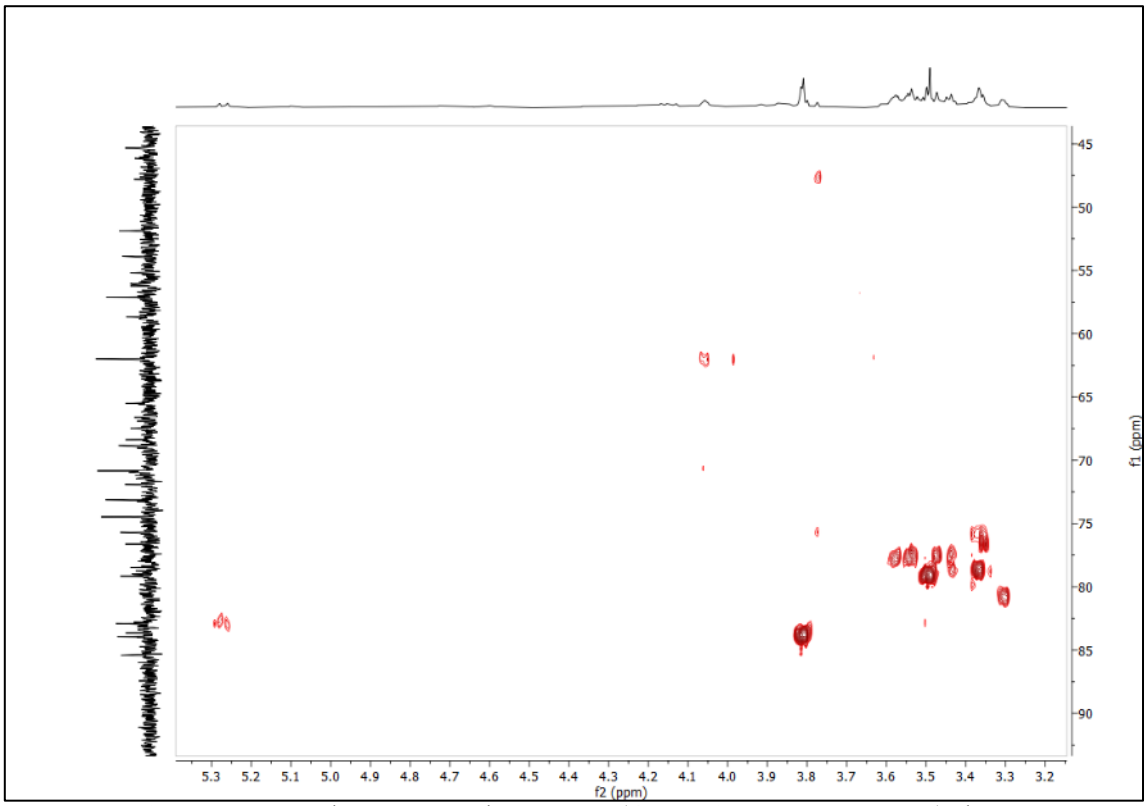


Figura S318. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 45-90 ppm e 3,2-5,3 ppm

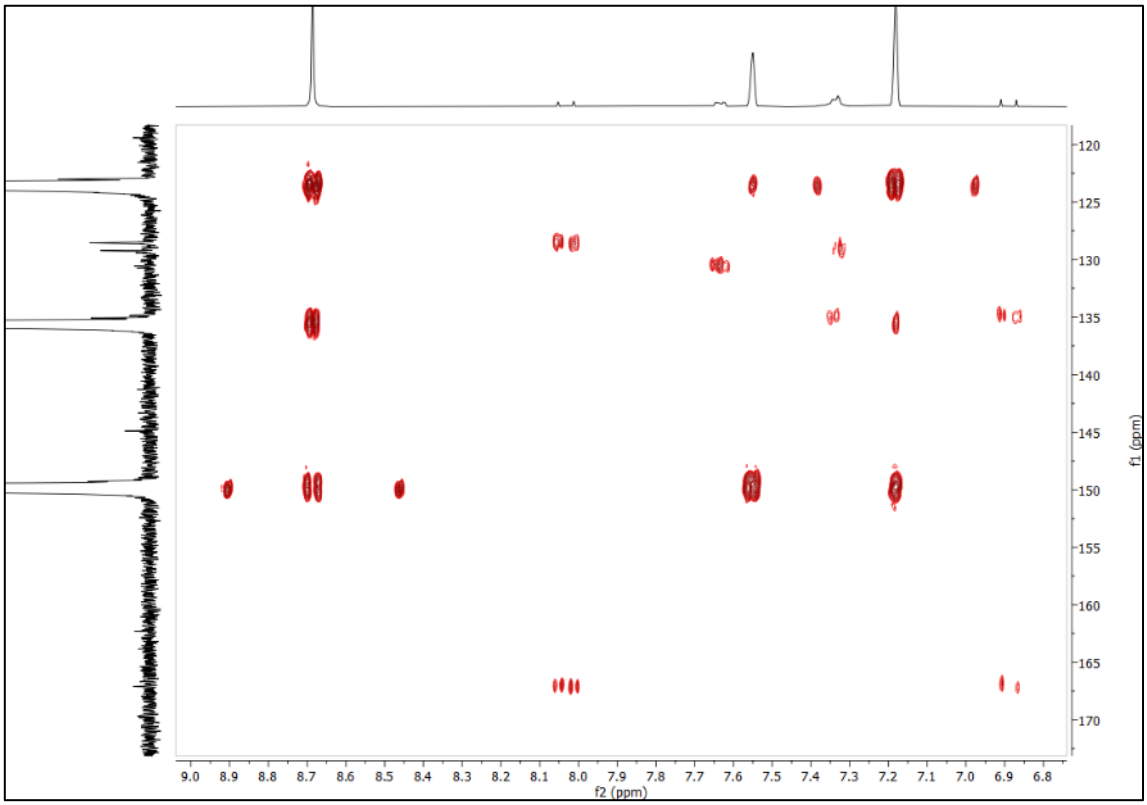


Figura S319. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 120-170 ppm e 6,8-9,0 ppm

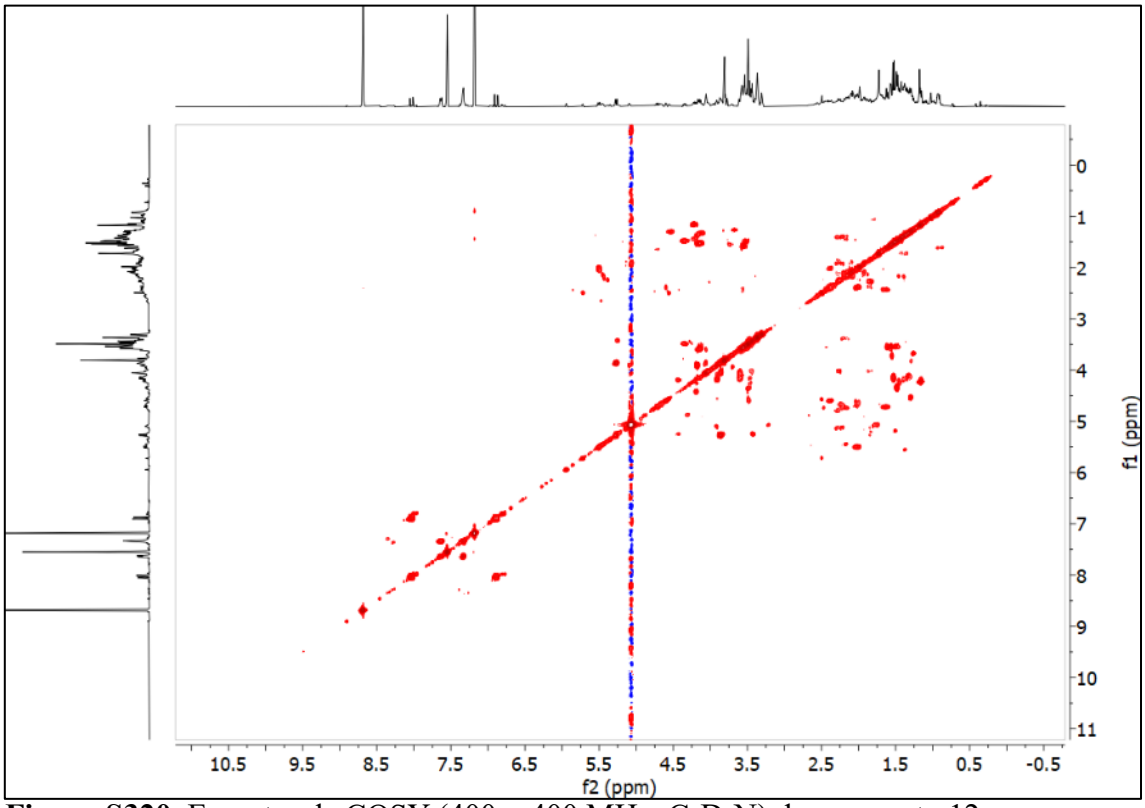


Figura S320. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12

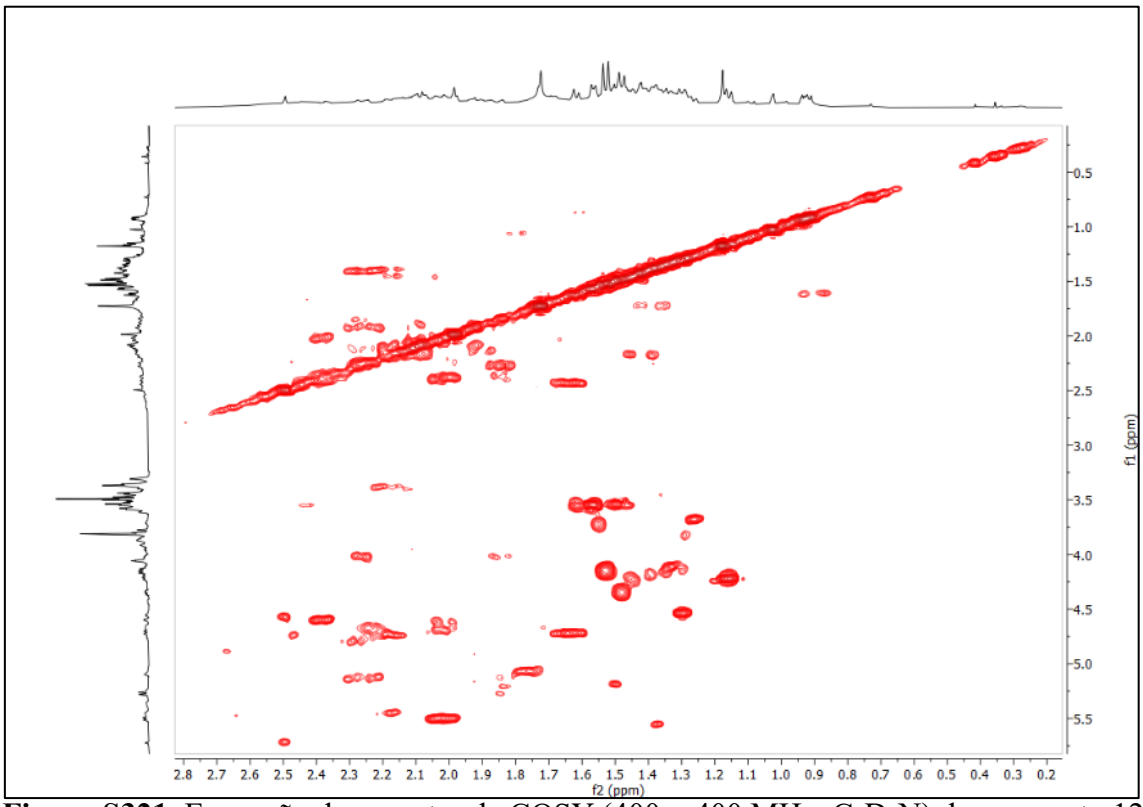


Figura S321. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,2-2,8 ppm

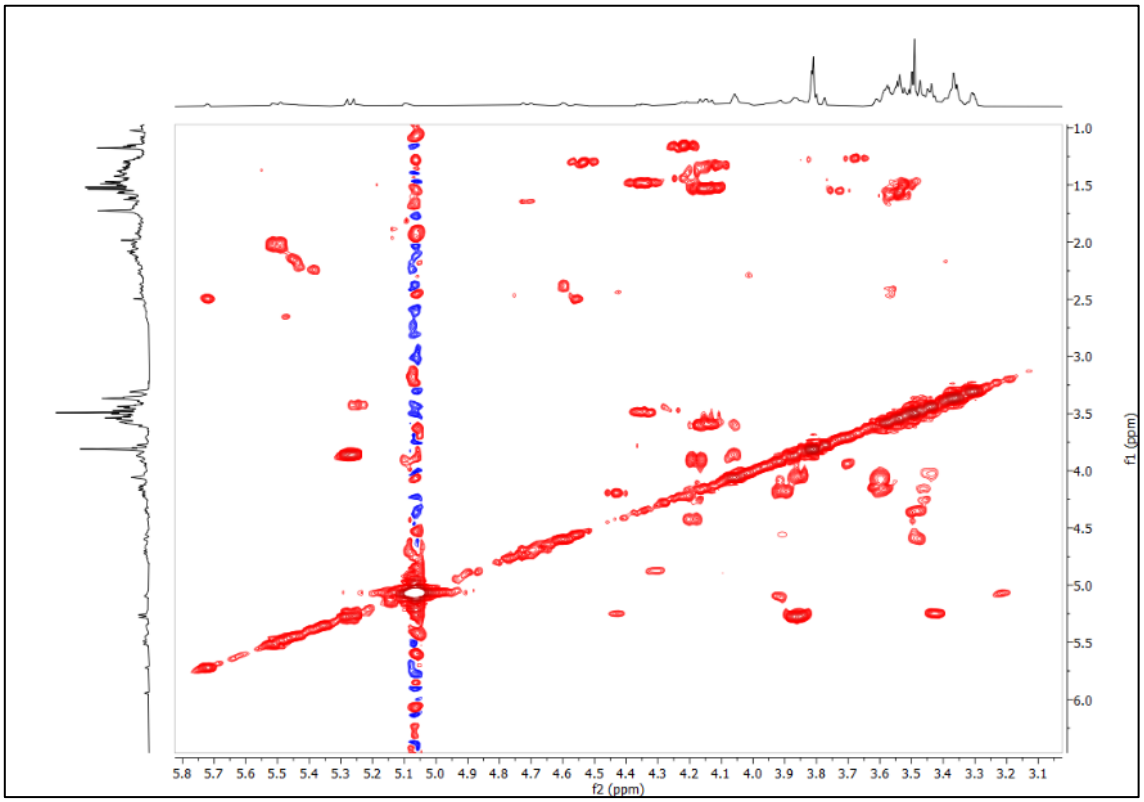


Figura S322. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 1,0-6,0 ppm e 3,1-5,8 ppm

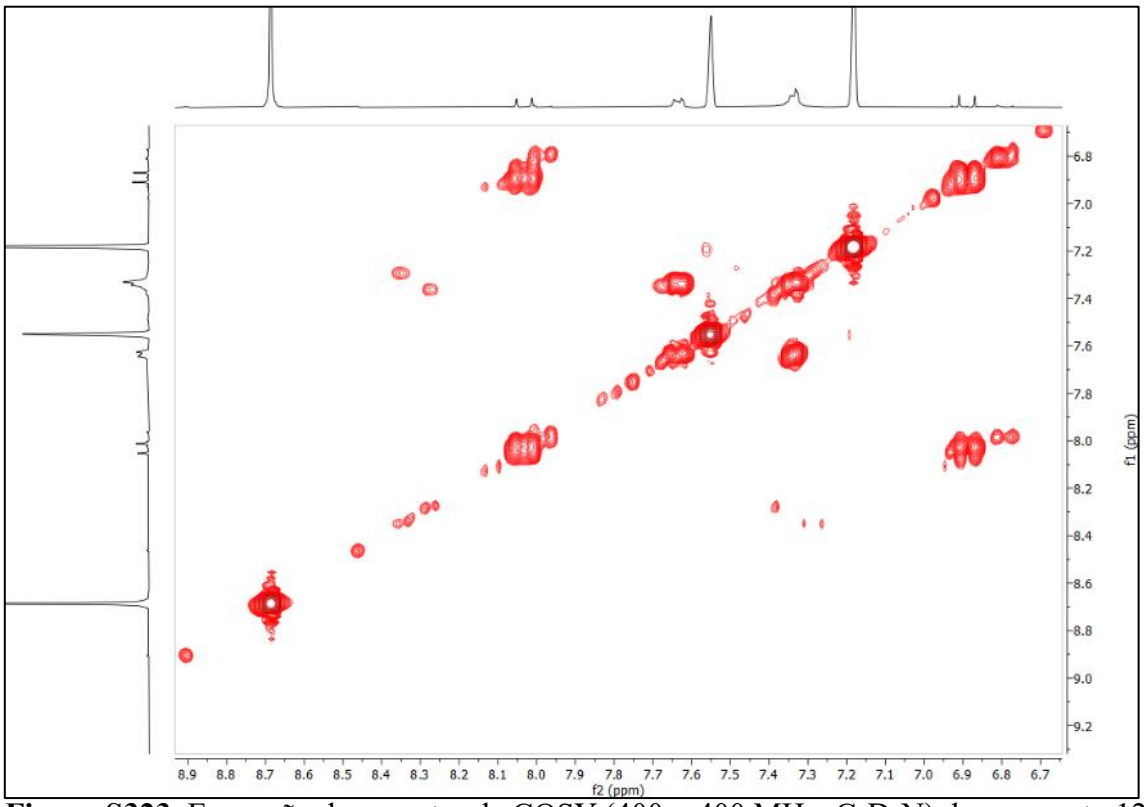


Figura S323. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 6,8-9,2 ppm e 6,7-8,9 ppm

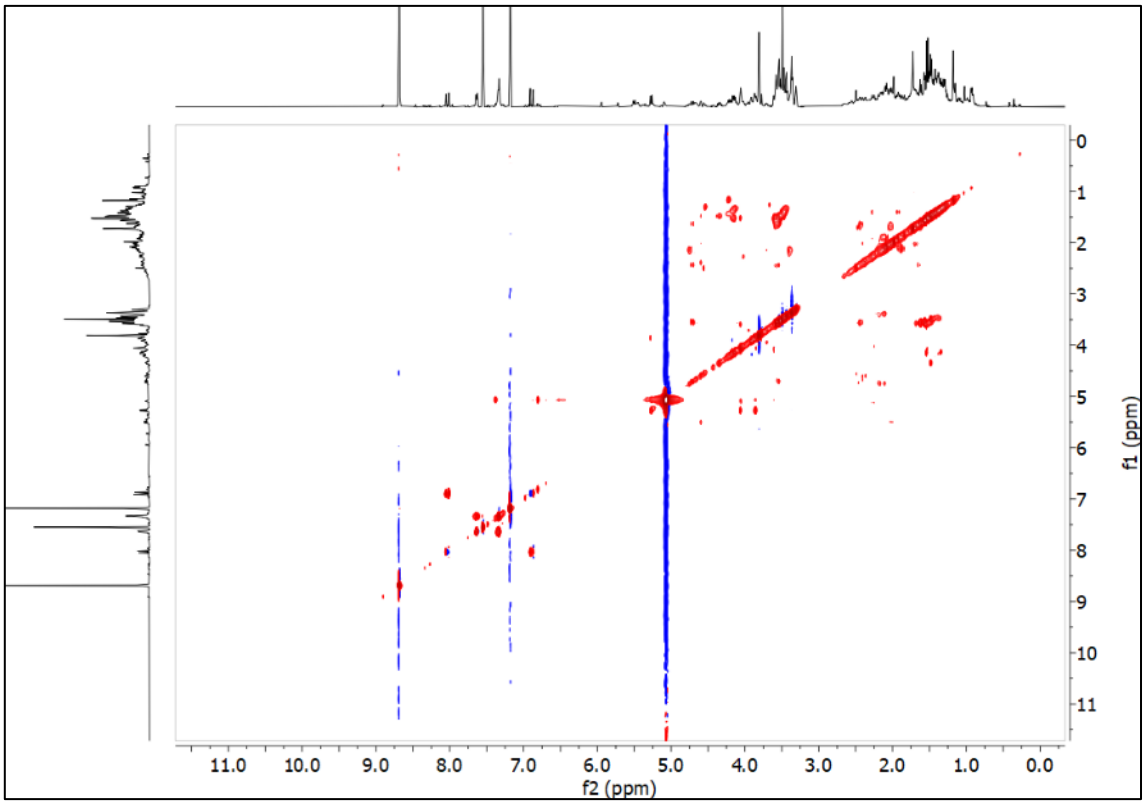


Figura S324. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12

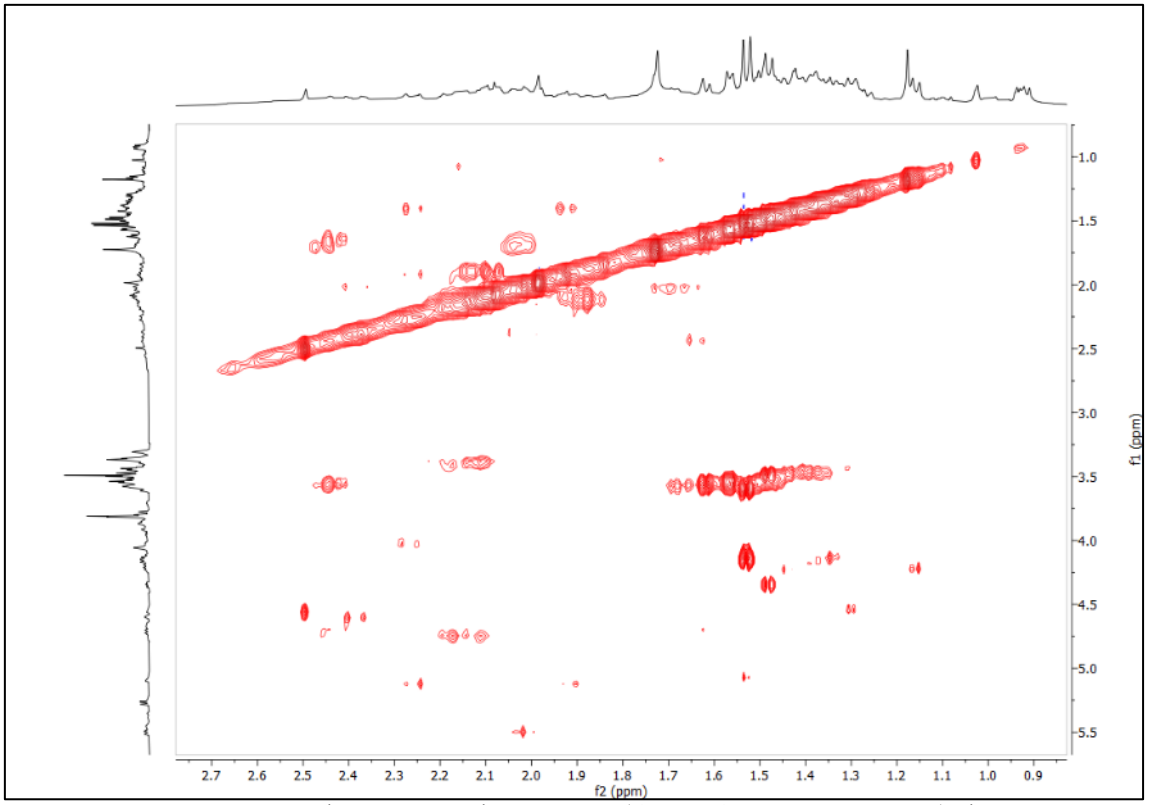


Figura S325. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,9-2,7 ppm

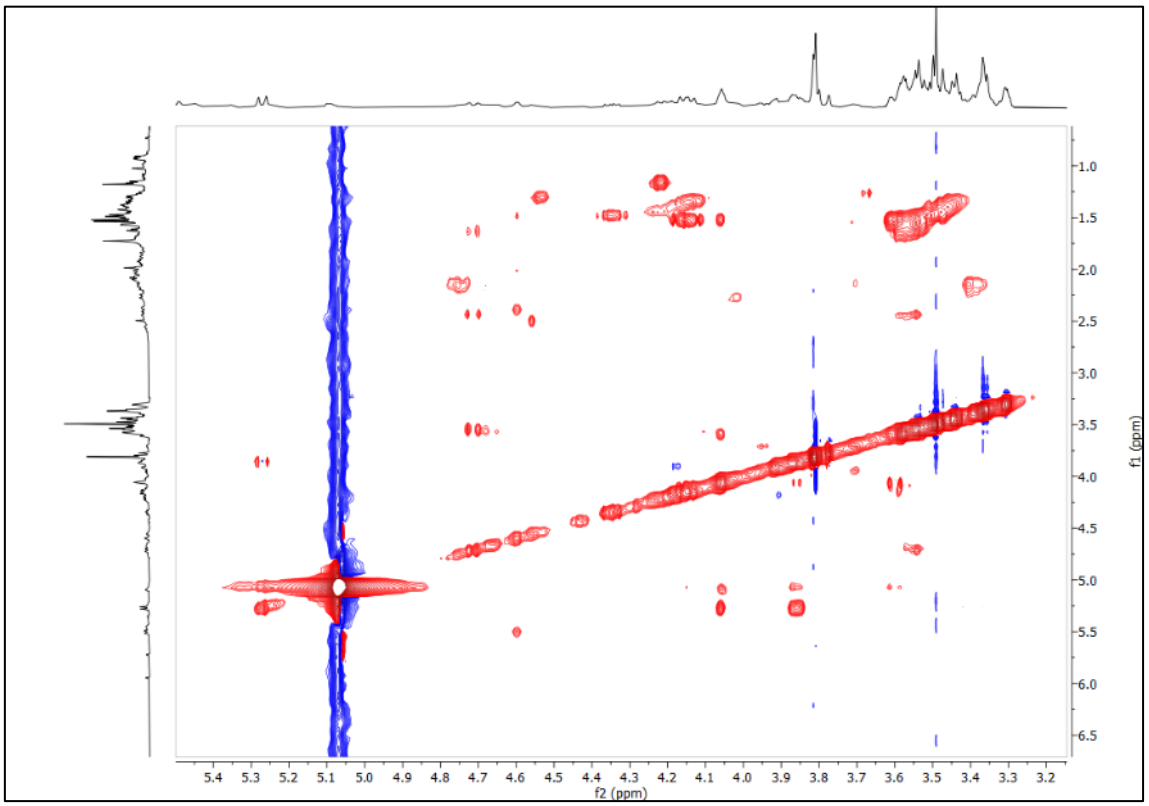


Figura S326. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,2-5,4 ppm

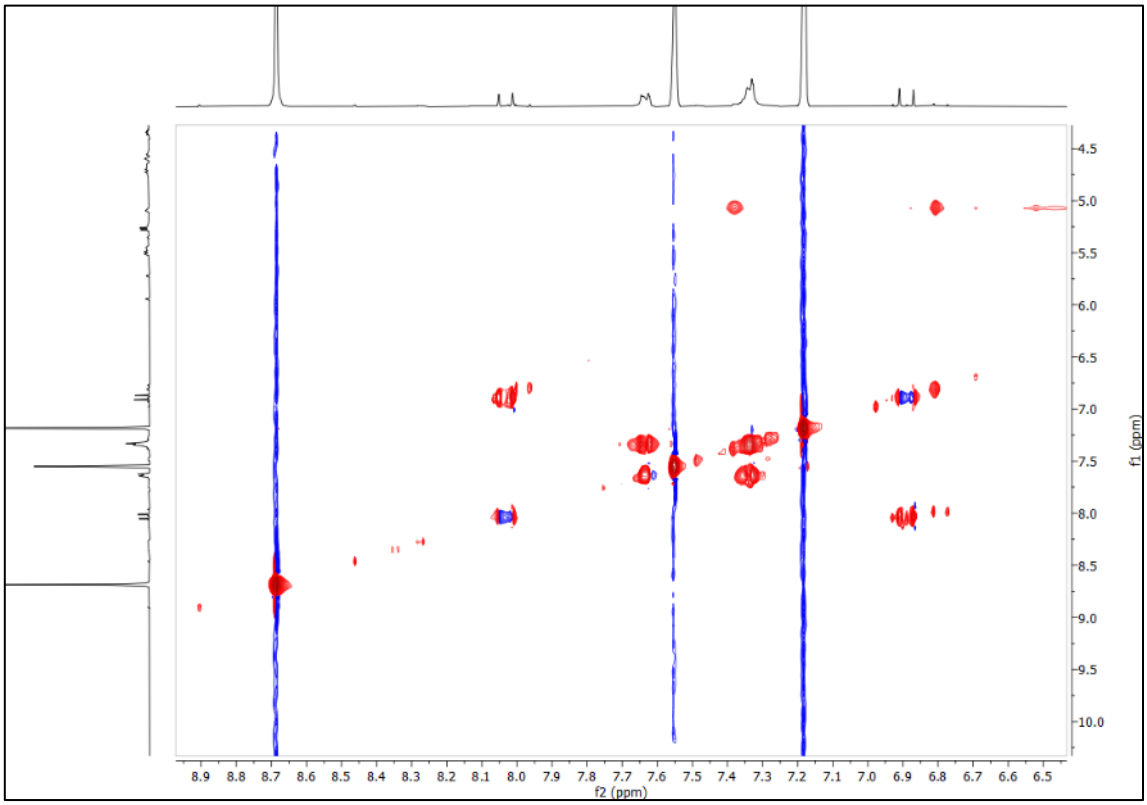


Figura S327. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 4,5-10,0 ppm e 6,5-8,9 ppm

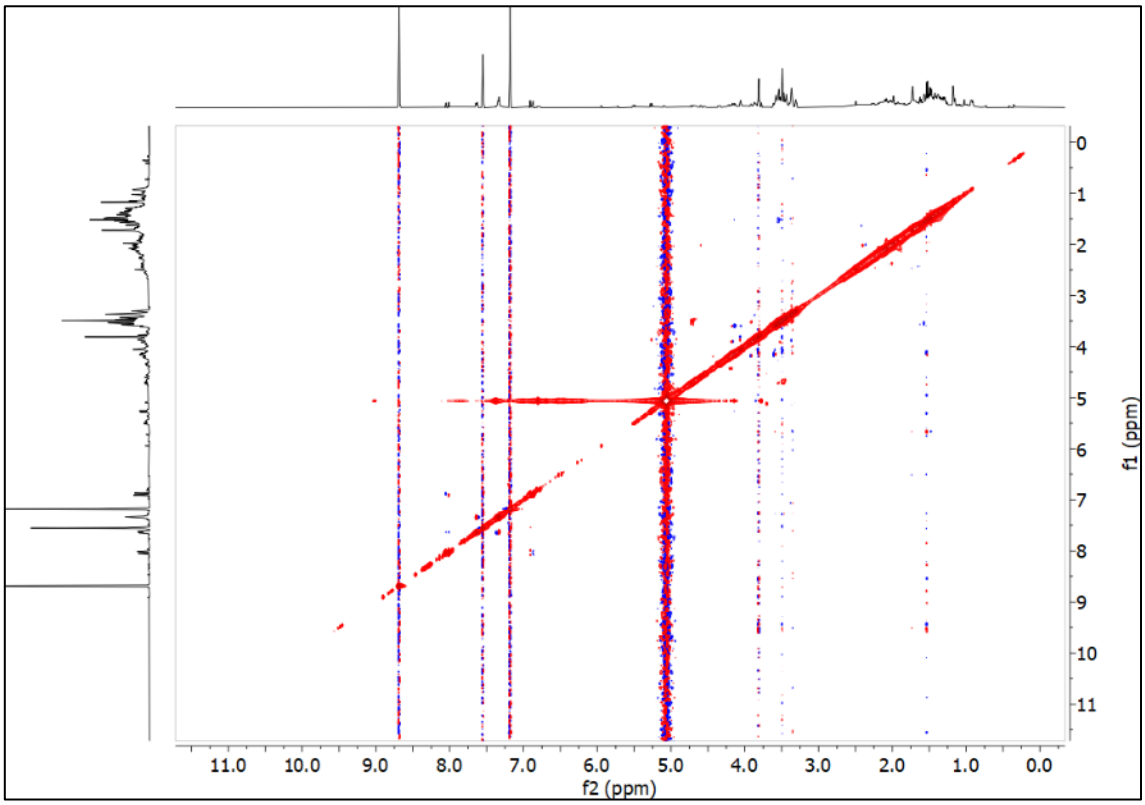


Figura S328. Espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12

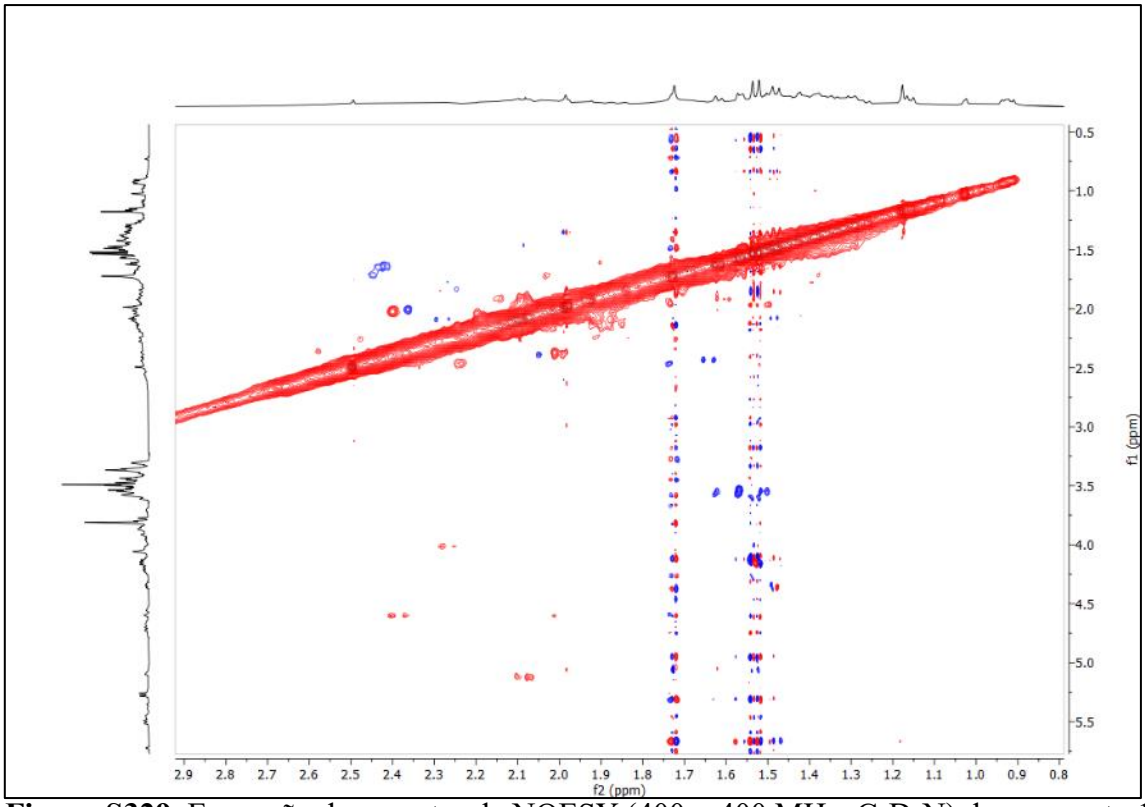


Figura S329. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,8-2,9 ppm

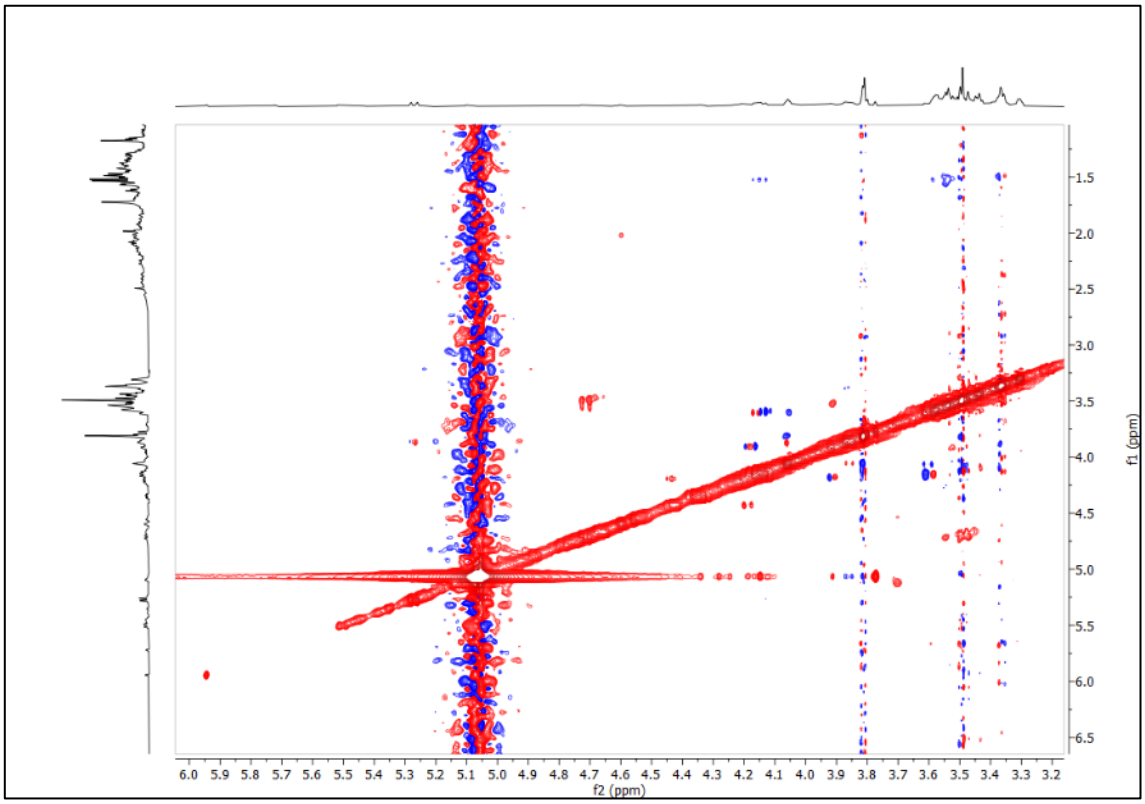


Figura S330. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 1,5-6,5 ppm e 3,2-6,0 ppm

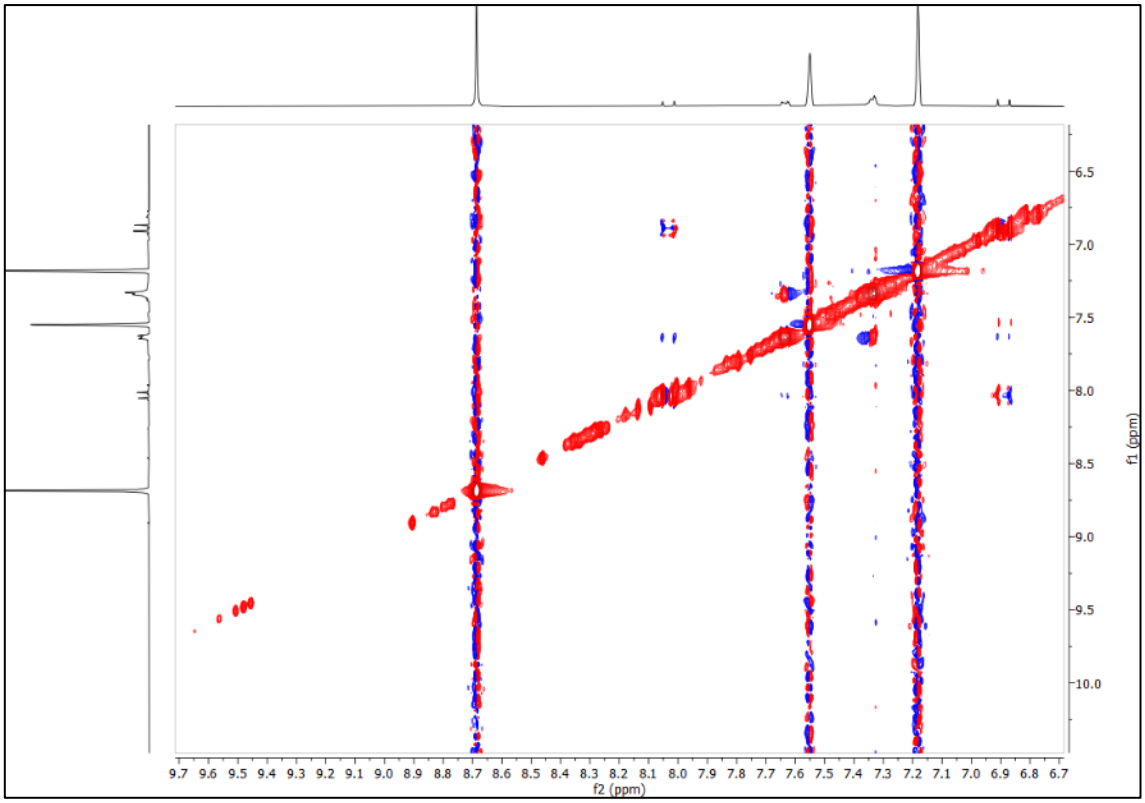


Figura S331. Expansão do espectro de NOESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 12 nas regiões de 6,5-10,0 ppm e 6,7-9,7 ppm

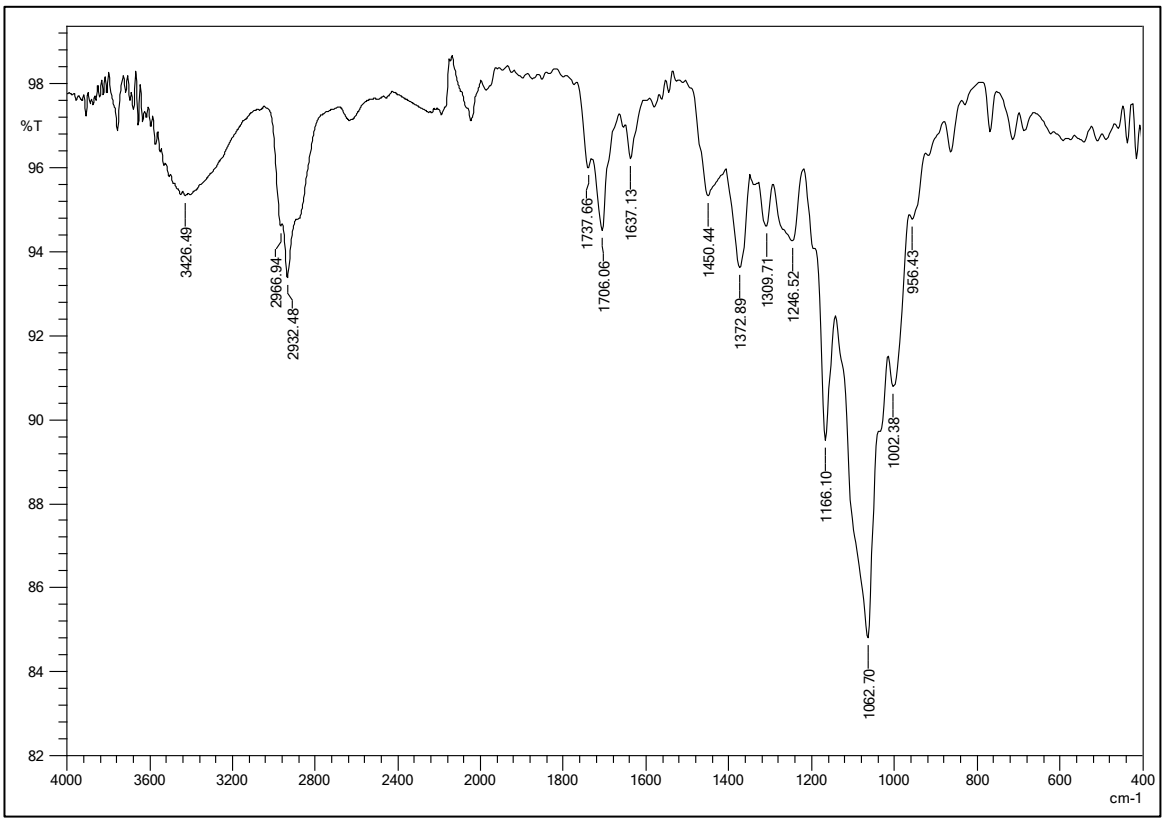


Figura S332. Espectro de infravermelho ATR do composto 13

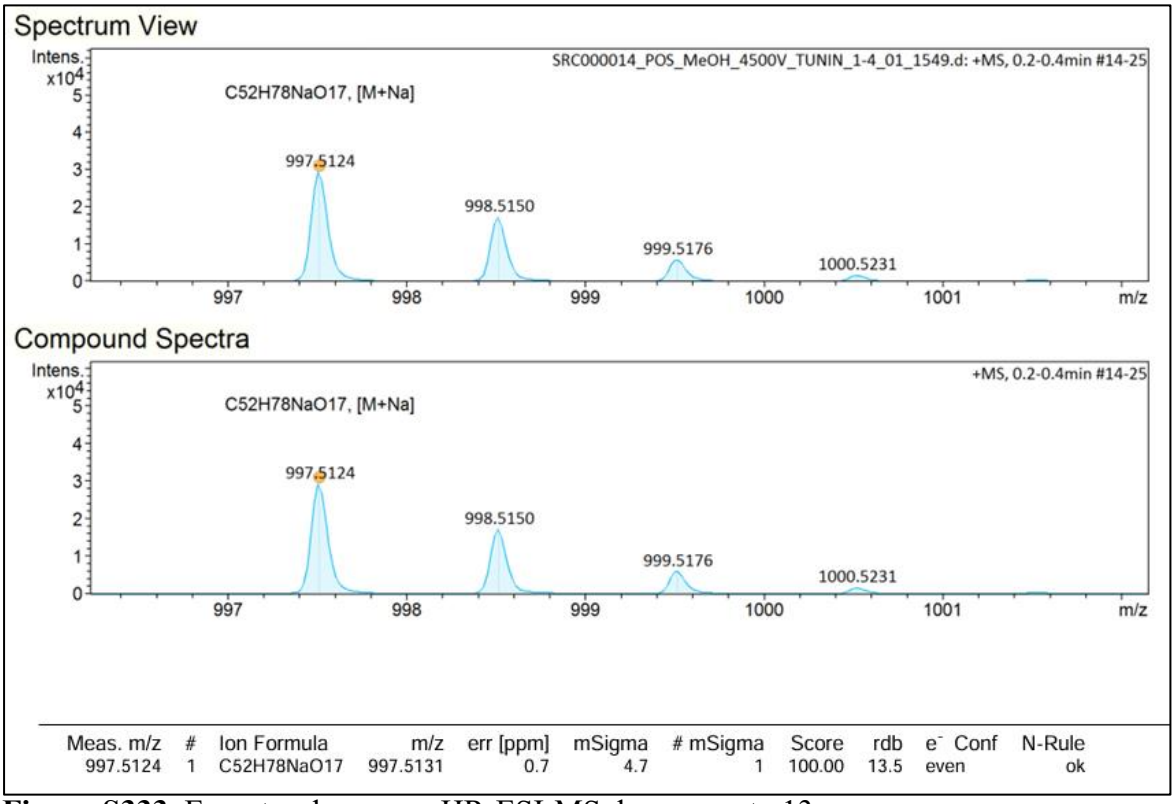


Figura S333. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 13

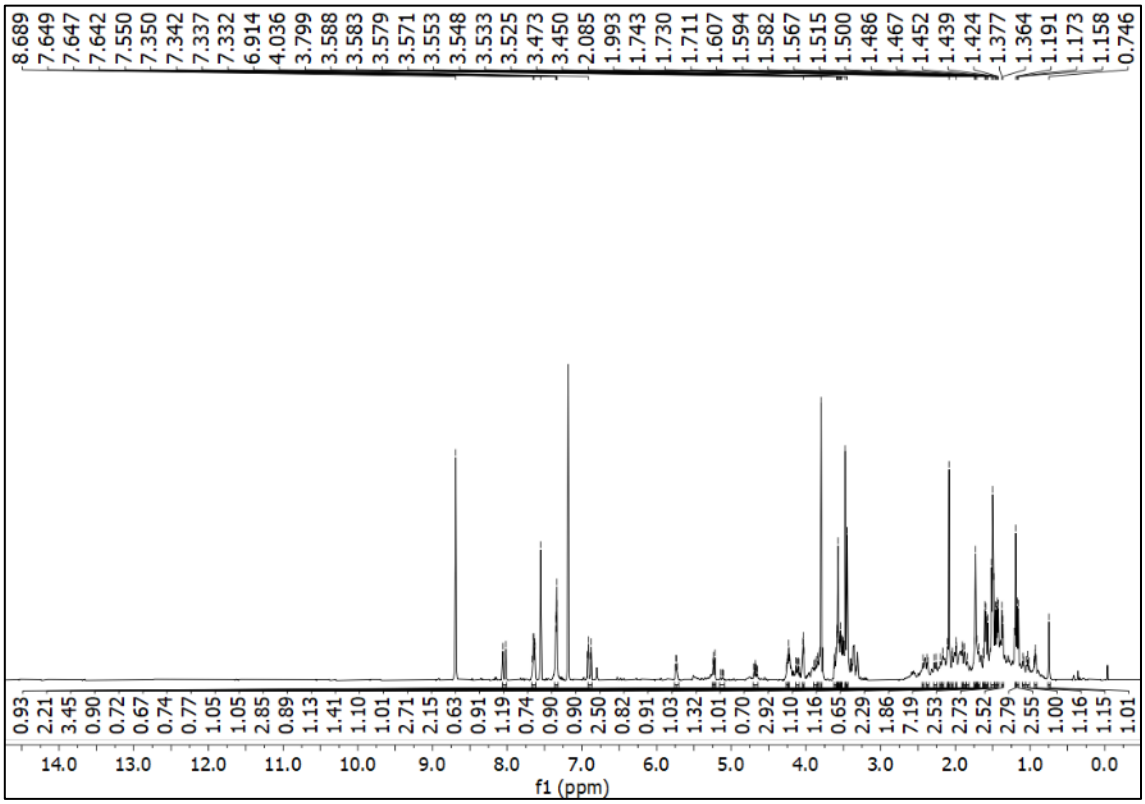


Figura S334. Espectro de RMN de ^{1}H (5400 MHz, C_5D_5N) do composto 13

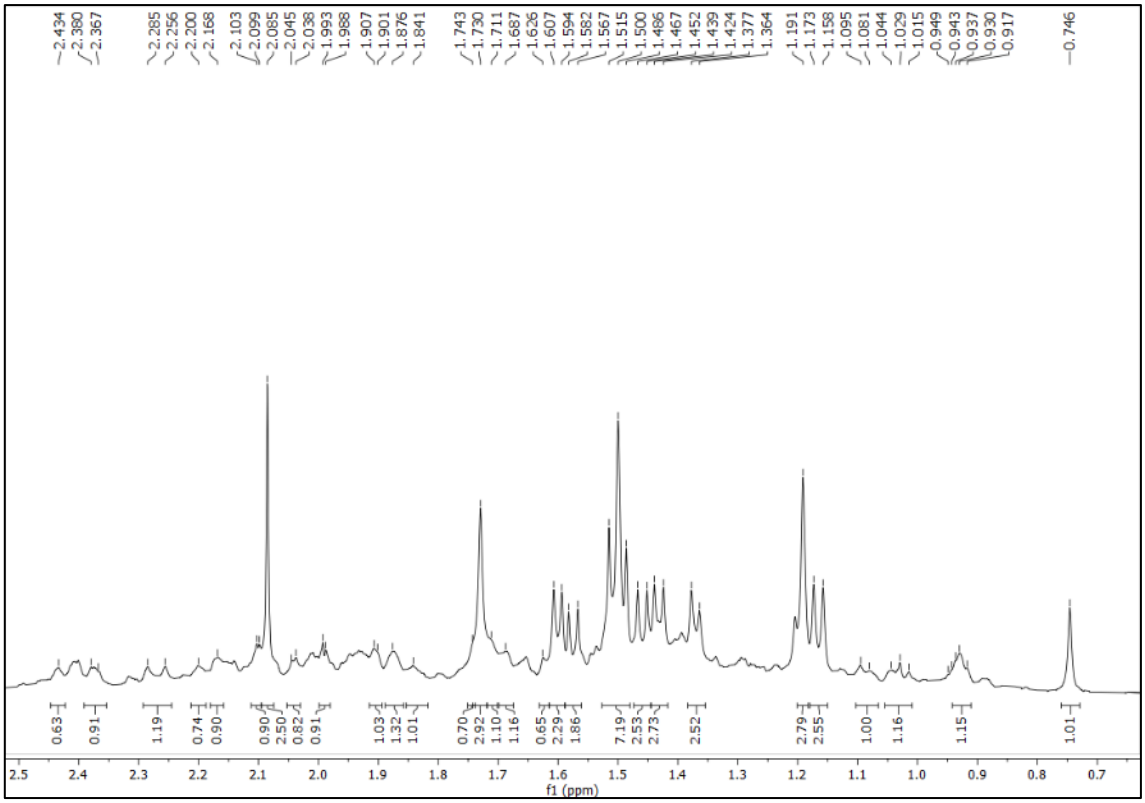


Figura S335. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 na região de 0,7-2,5 ppm

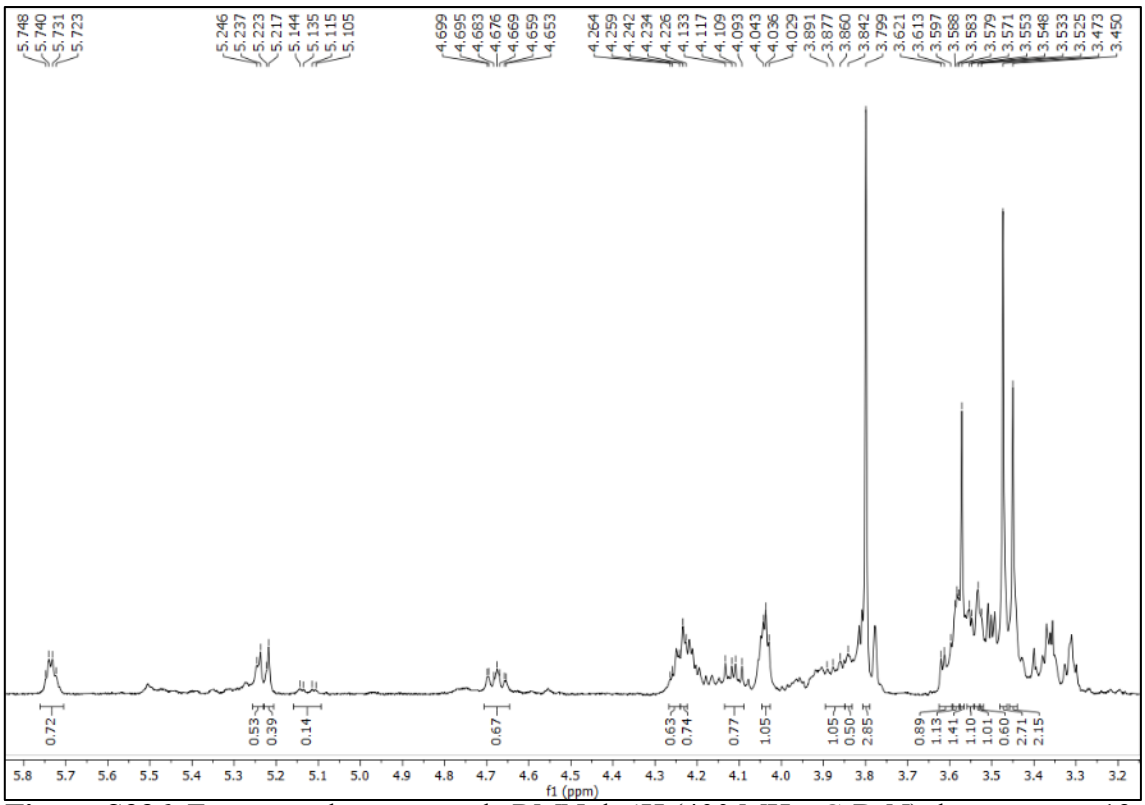


Figura S336. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 na região de 3,2-5,8 ppm

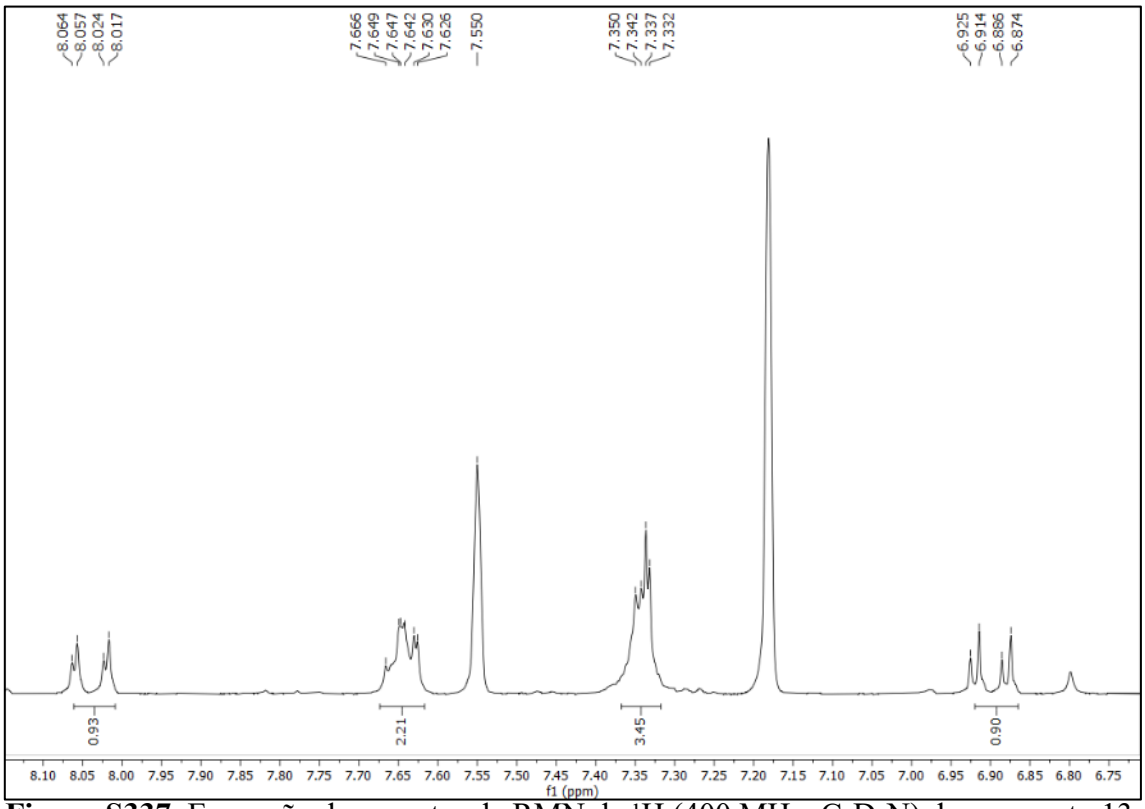


Figura S337. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 na região de 6,75-8,10 ppm

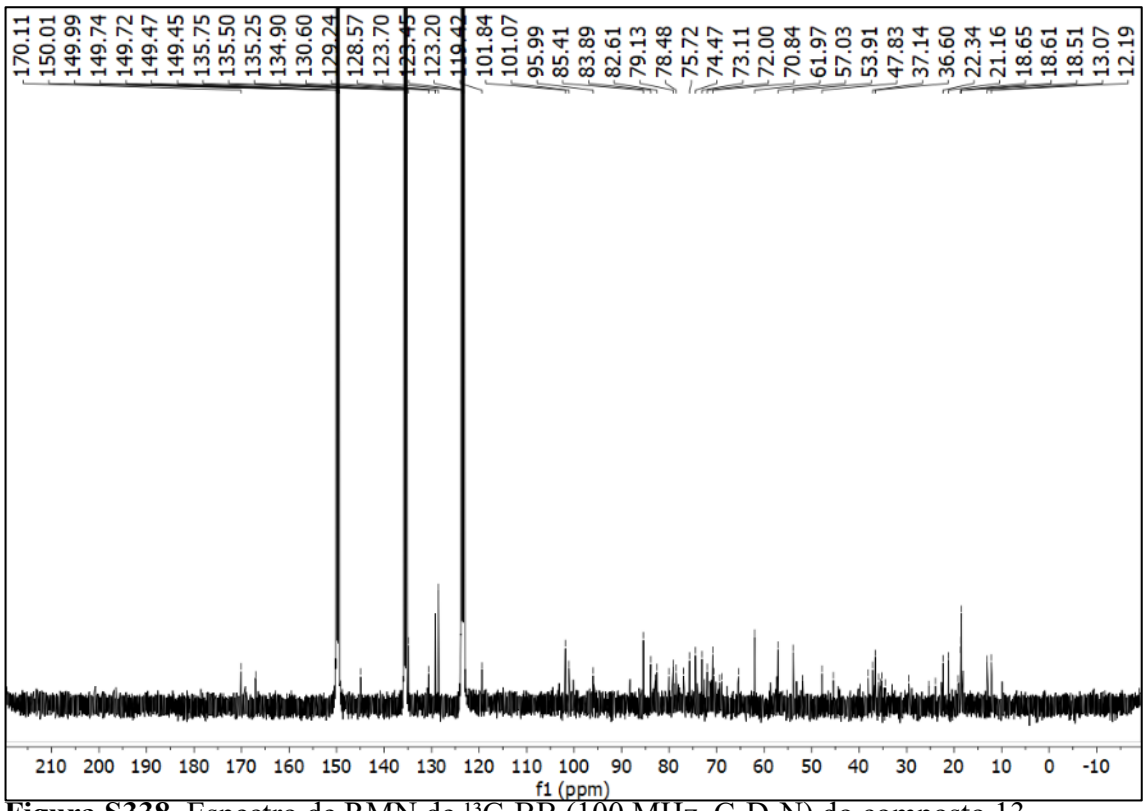


Figura S338. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 13

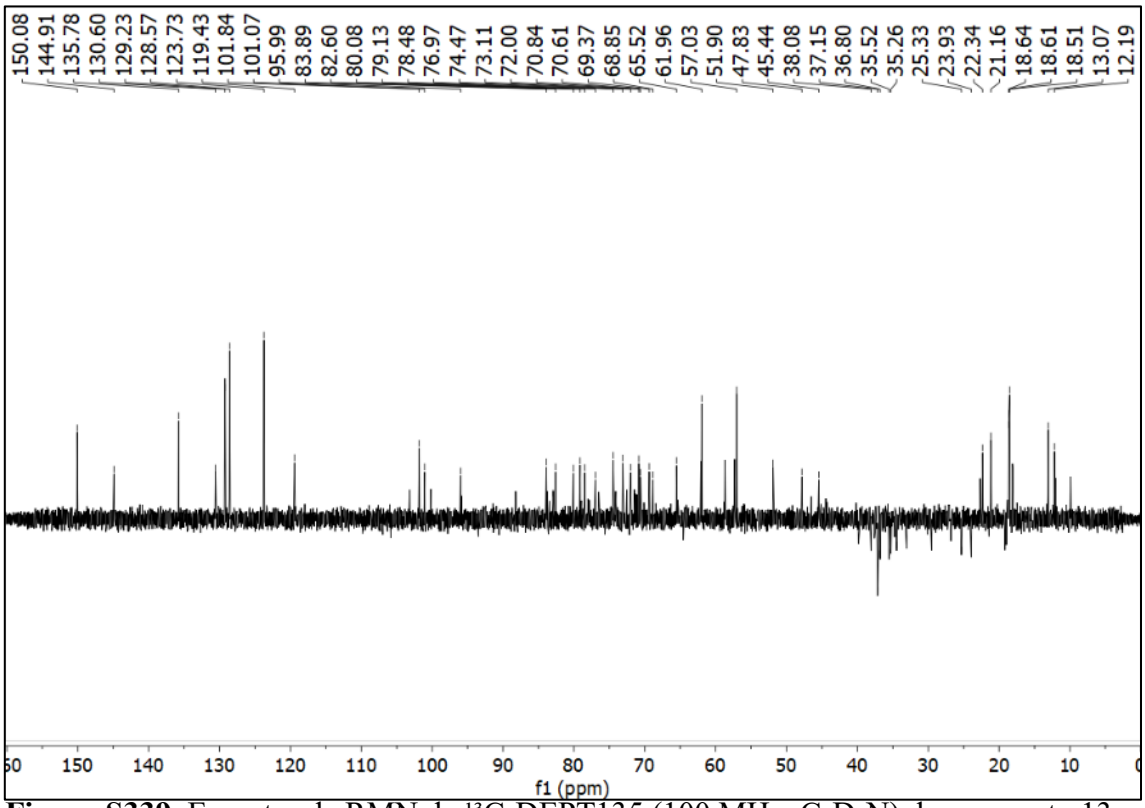


Figura S339. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 13

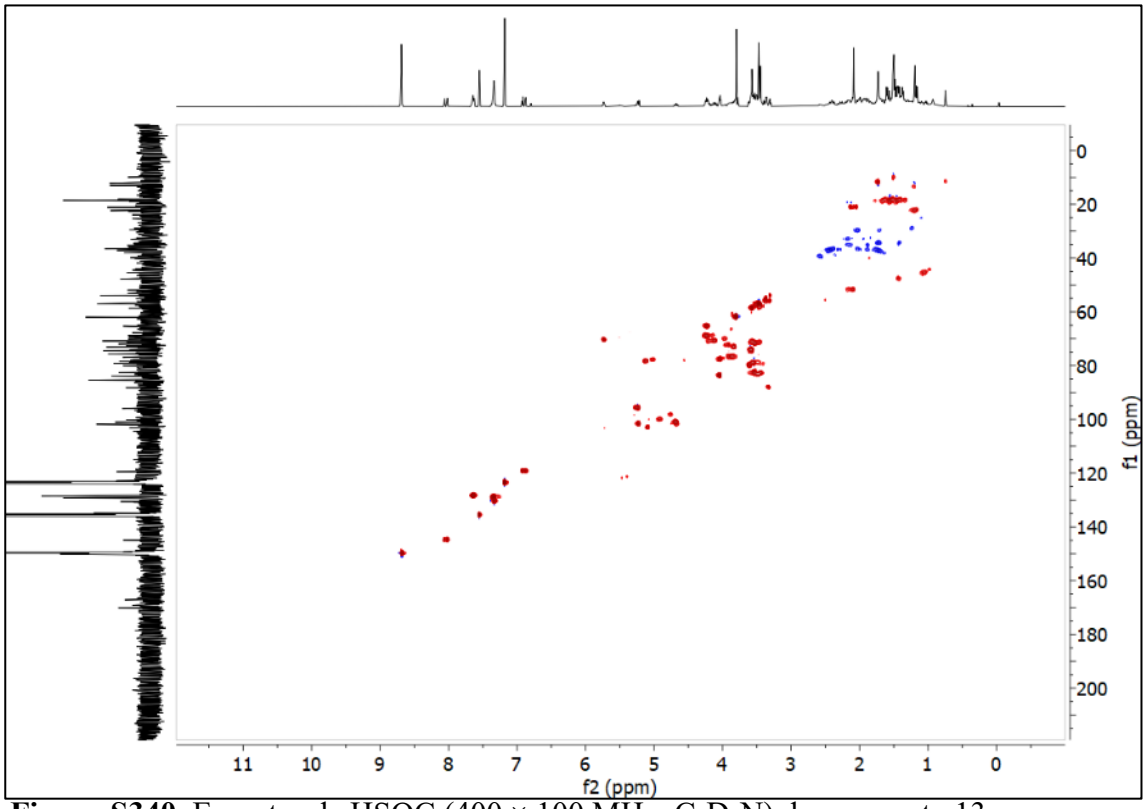


Figura S340. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13

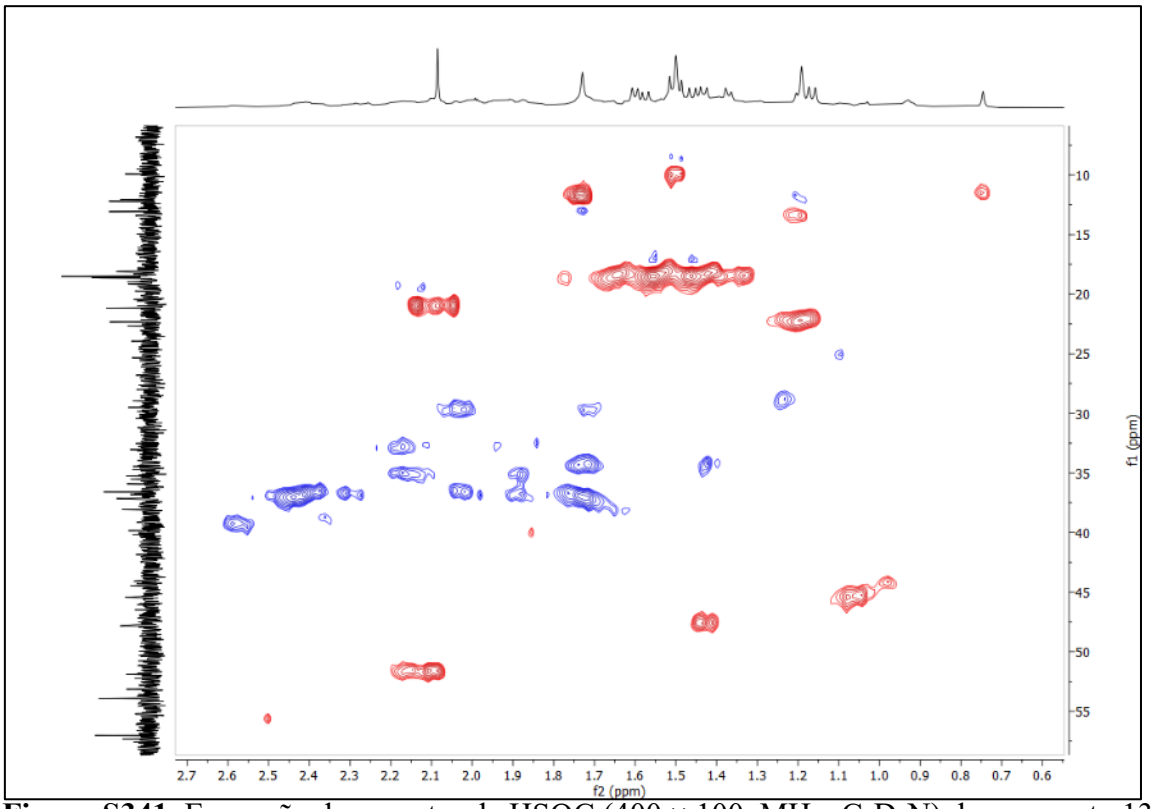


Figura S341. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 10-55 ppm e 0,6-2,7 ppm

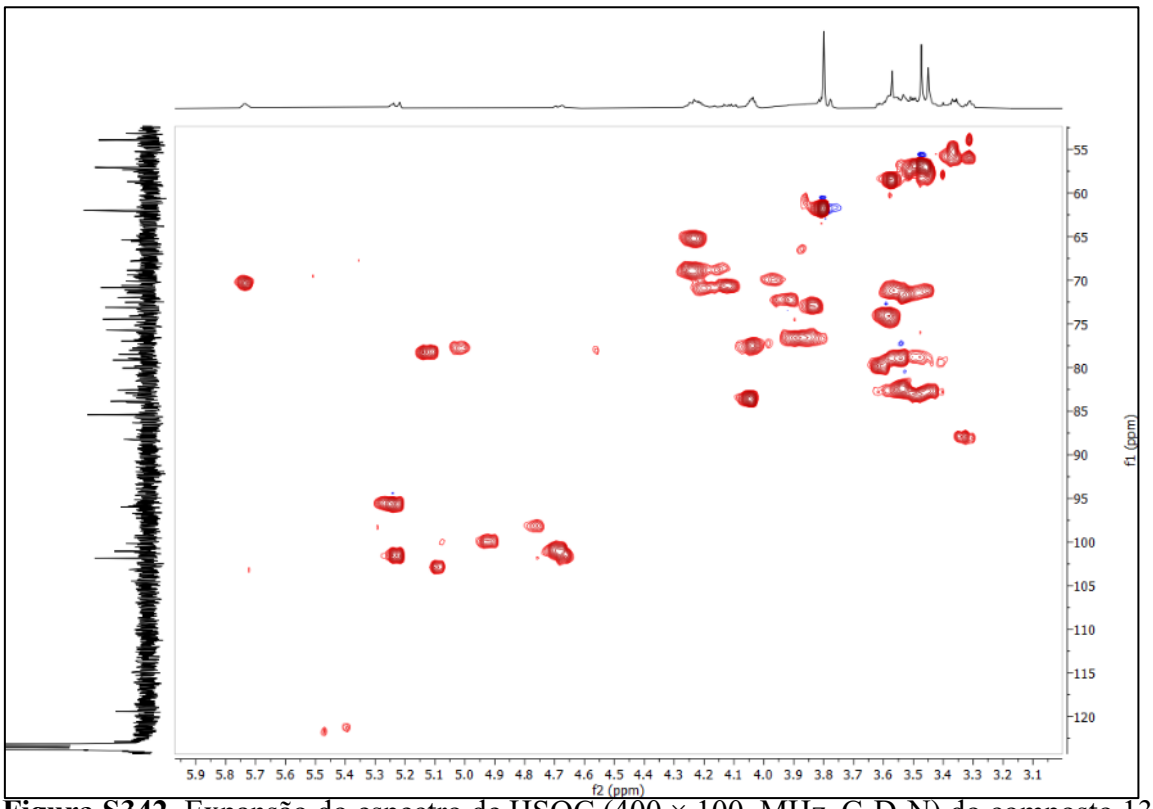


Figura S342. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 55-120 ppm e 3,1-5,9 ppm

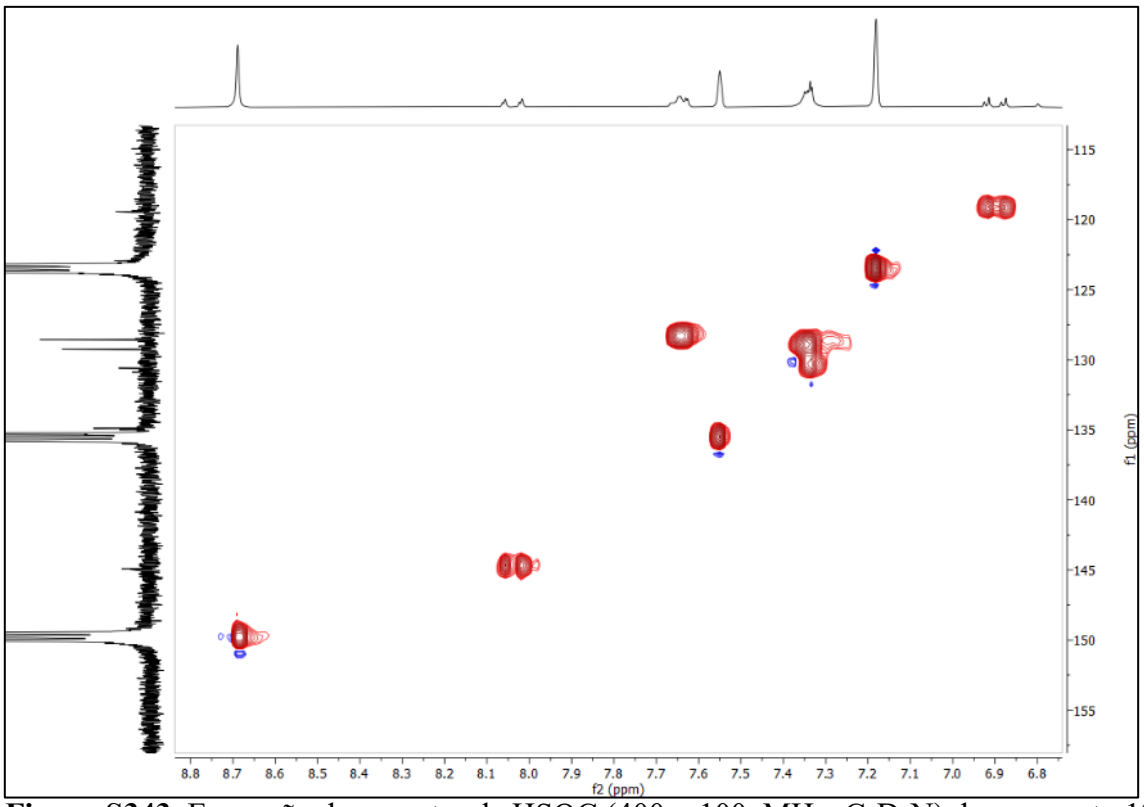


Figura S343. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 115-155 ppm e 6,8-8,8 ppm

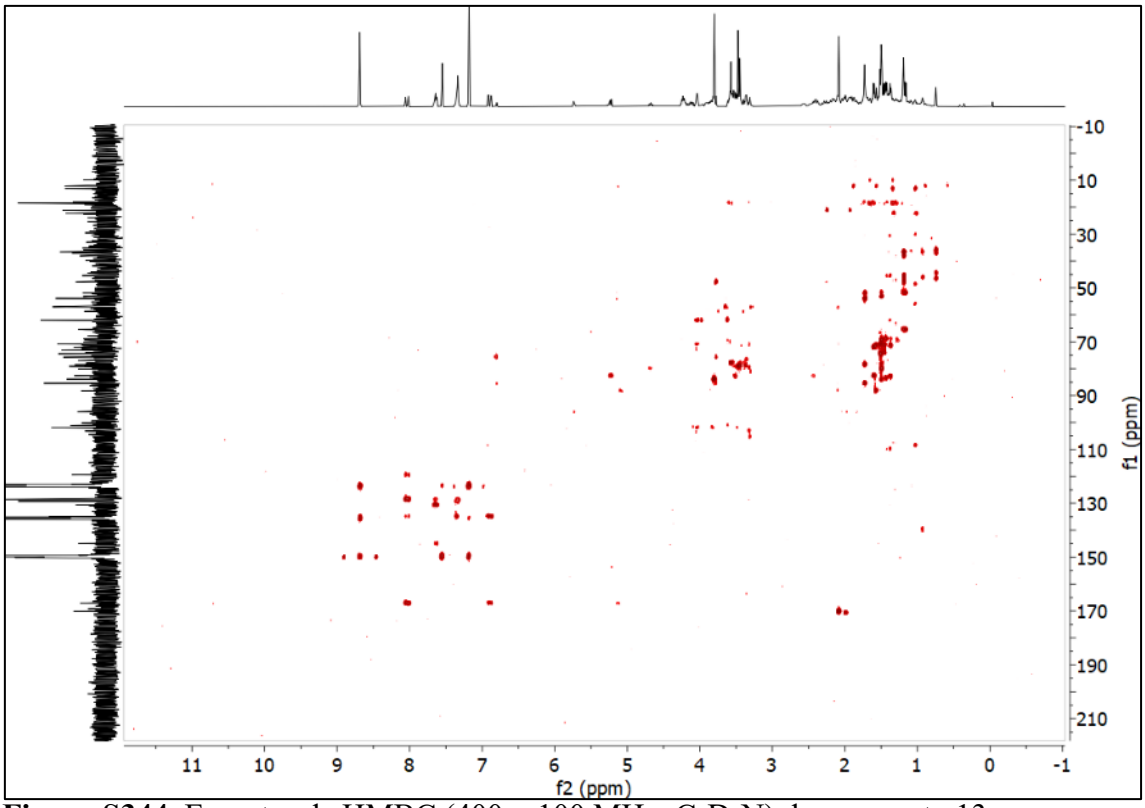


Figura S344. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13

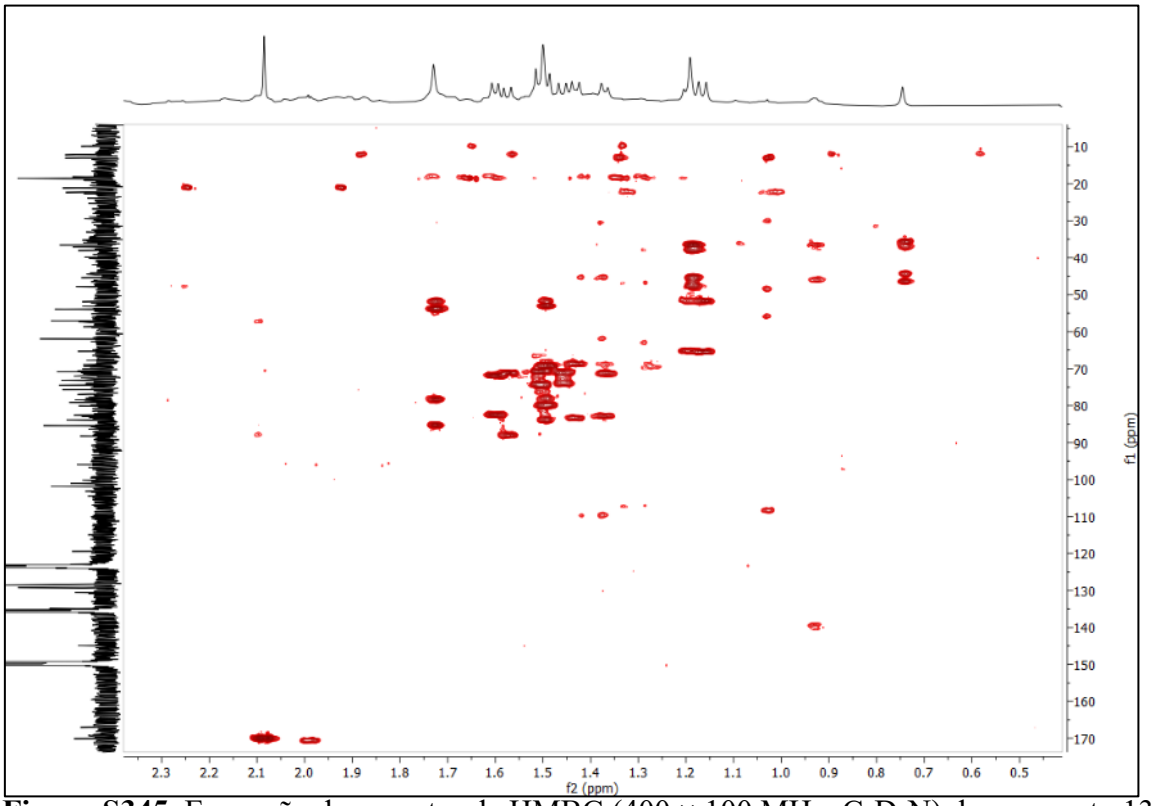


Figura S345. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 10-170 ppm e 0,5-2,3 ppm

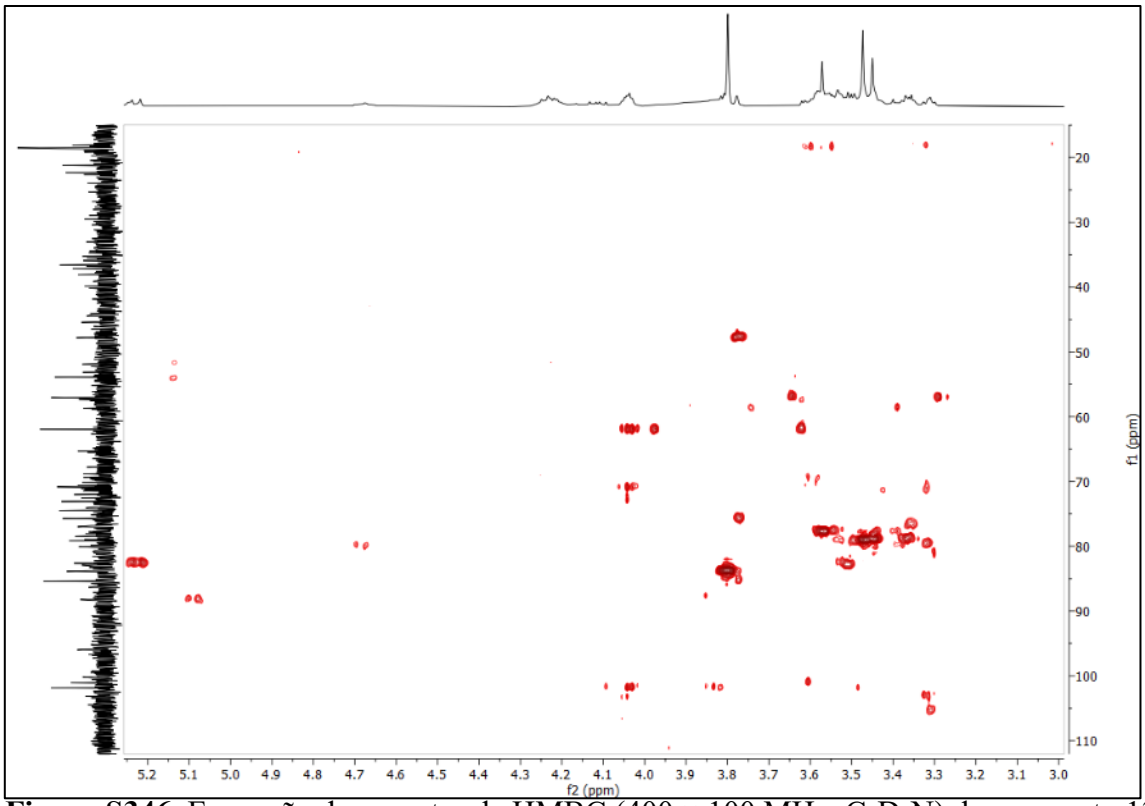


Figura S346. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 20-110 ppm e 3,0-5,2 ppm

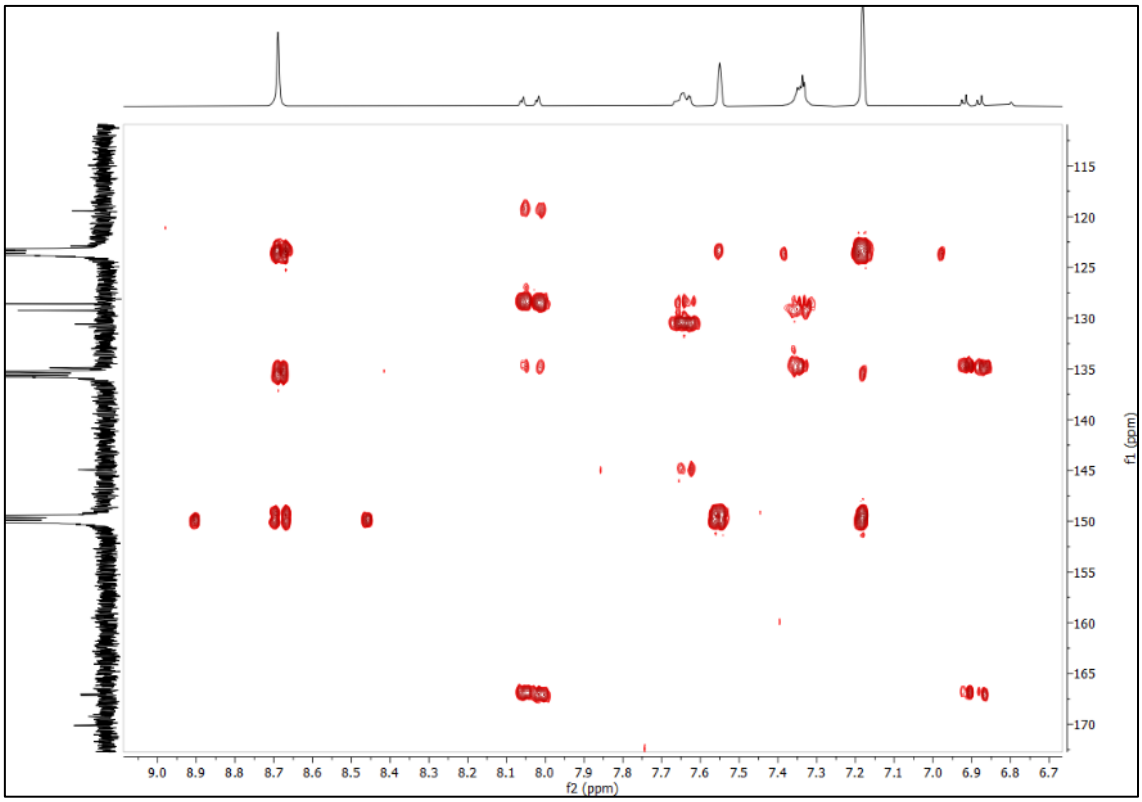


Figura S347. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 115-170 ppm e 6,7-9,0 ppm

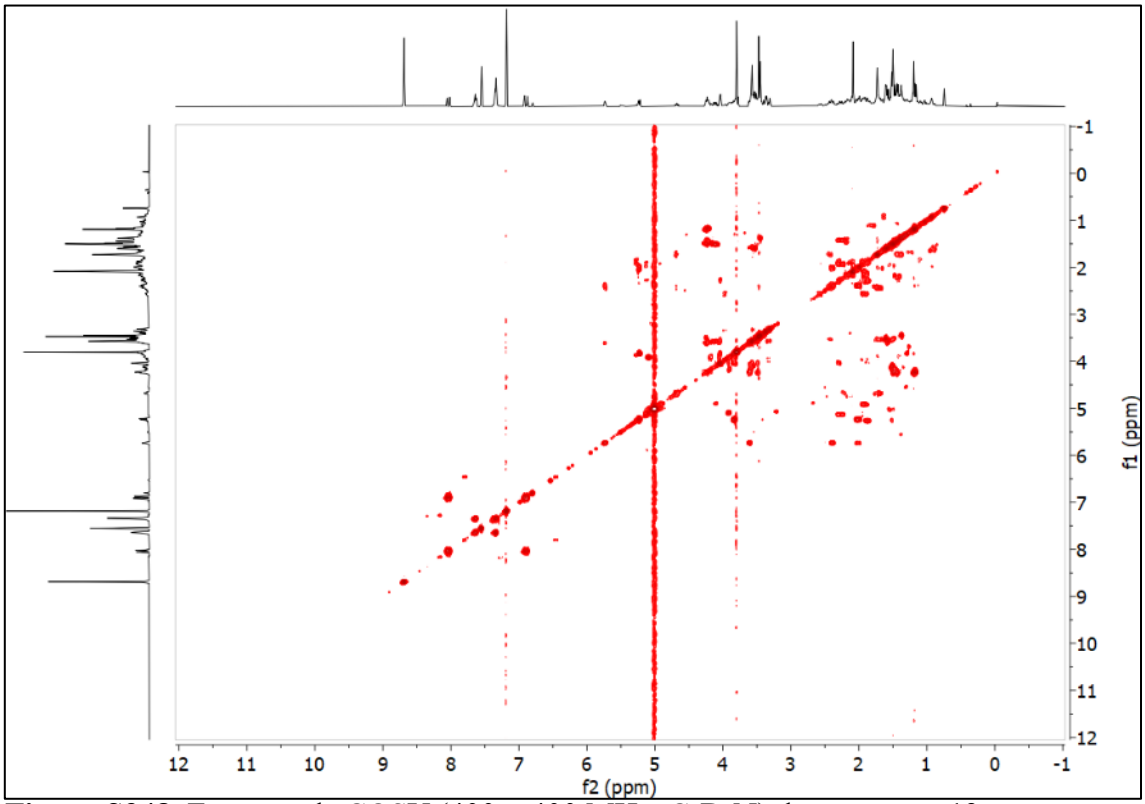


Figura S348. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13

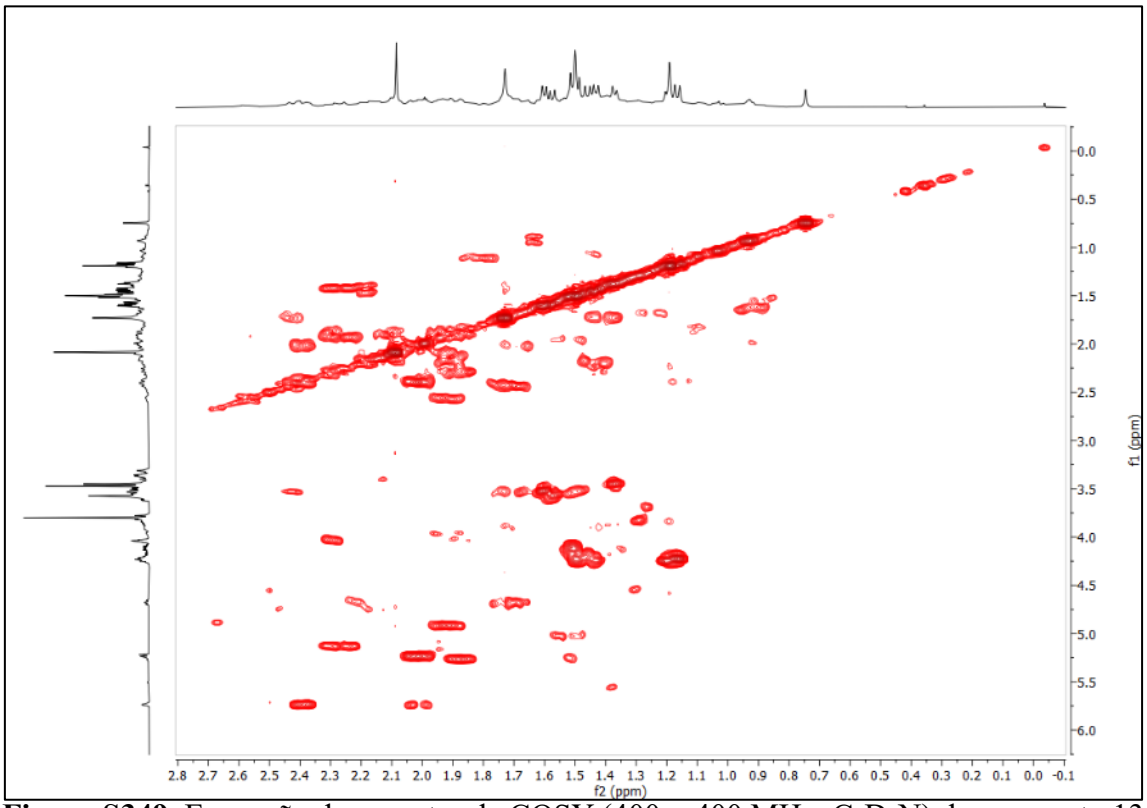


Figura S349. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,0-6,0 ppm e -0,1-2,8 ppm

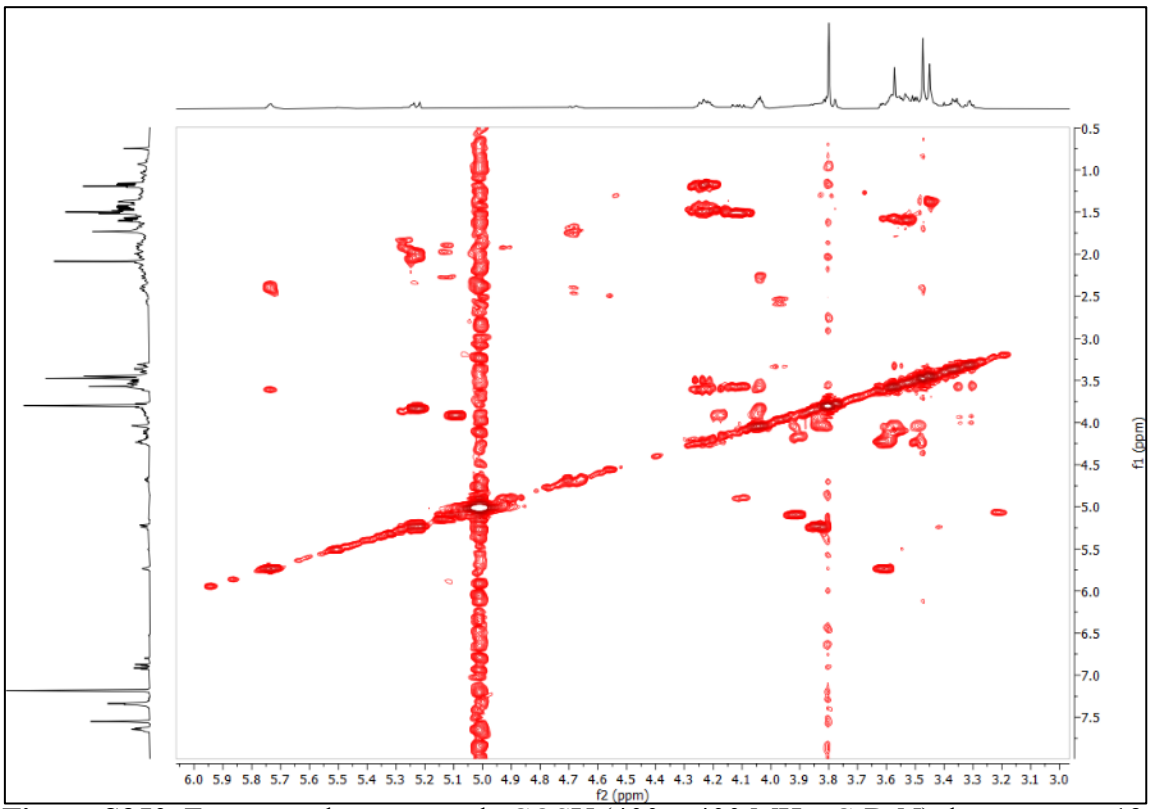


Figura S350. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,5-7,5 ppm e 3,0-6,0 ppm

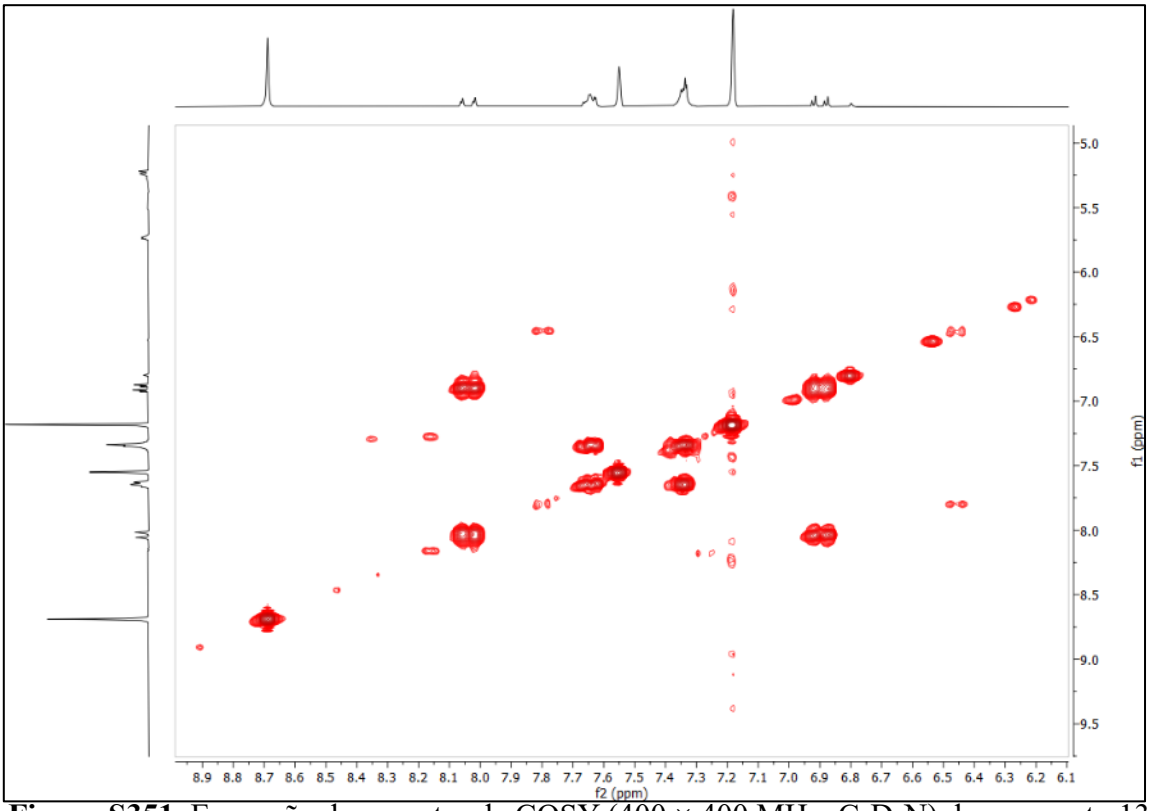


Figura S351. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 5,0-9,5 ppm e 6,1-8,9 ppm

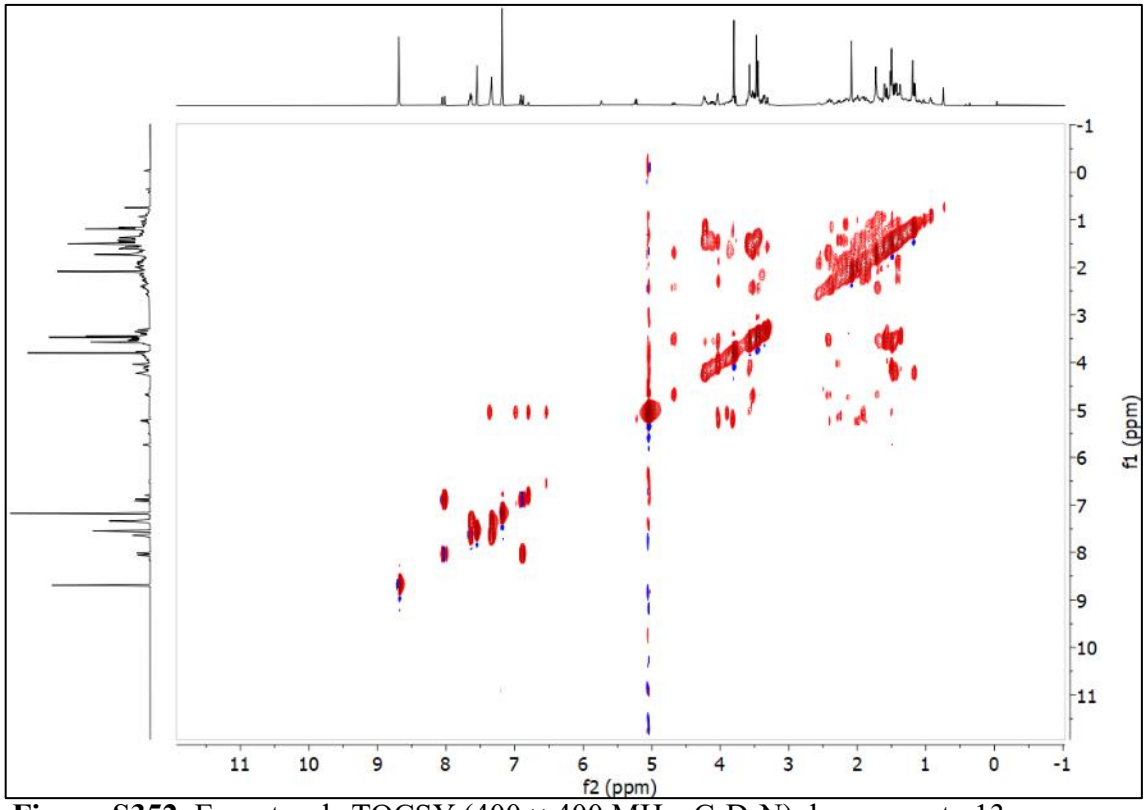


Figura S352. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13

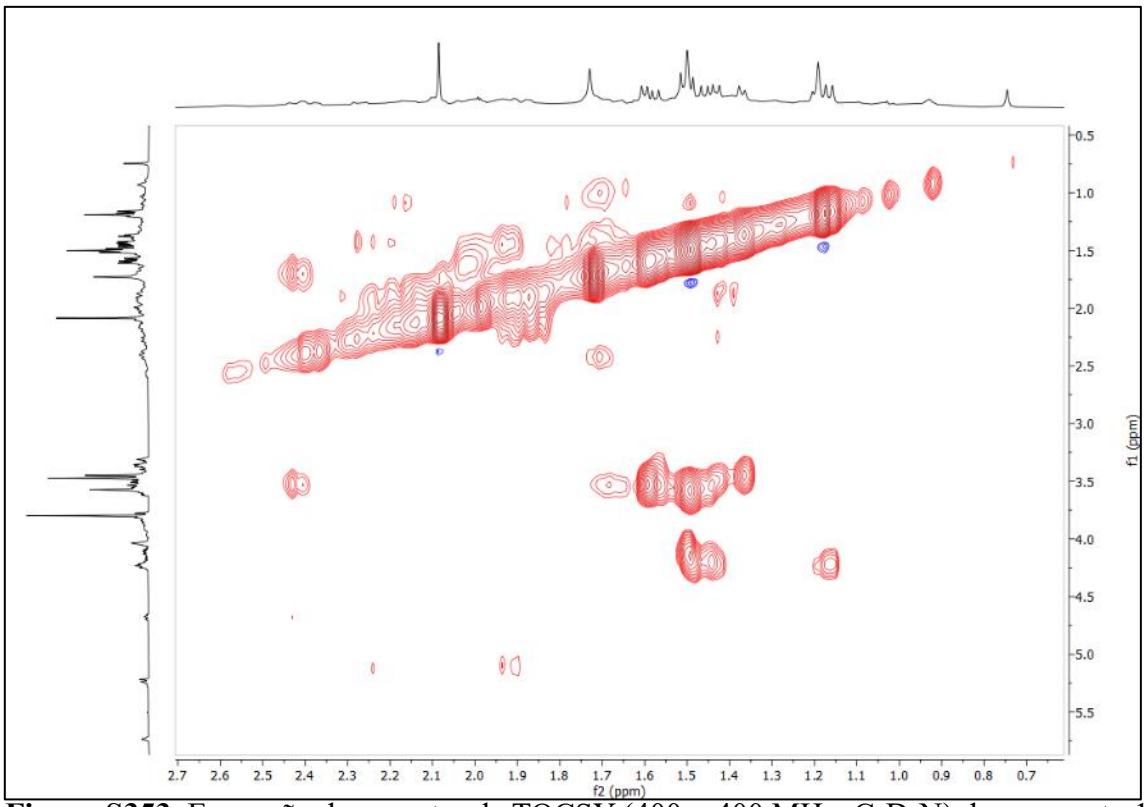


Figura S353. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,7-2,7 ppm

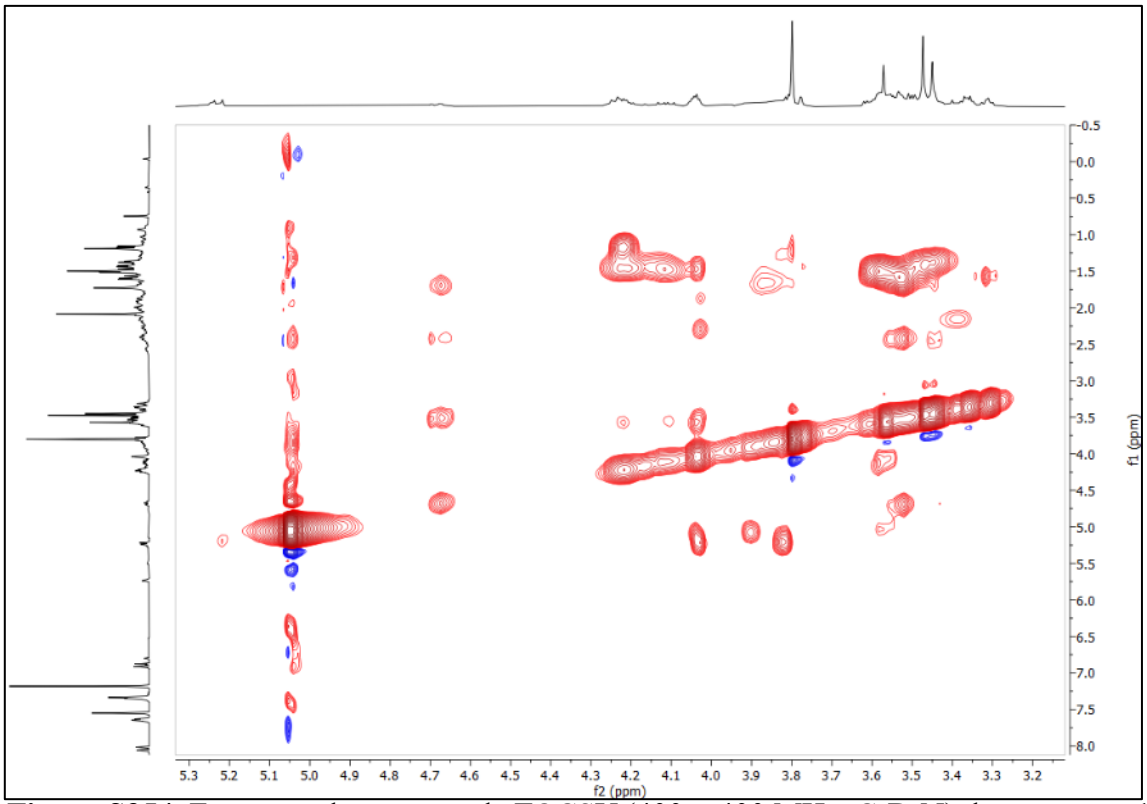


Figura S354. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,5-8,0 ppm e 3,2-5,3 ppm

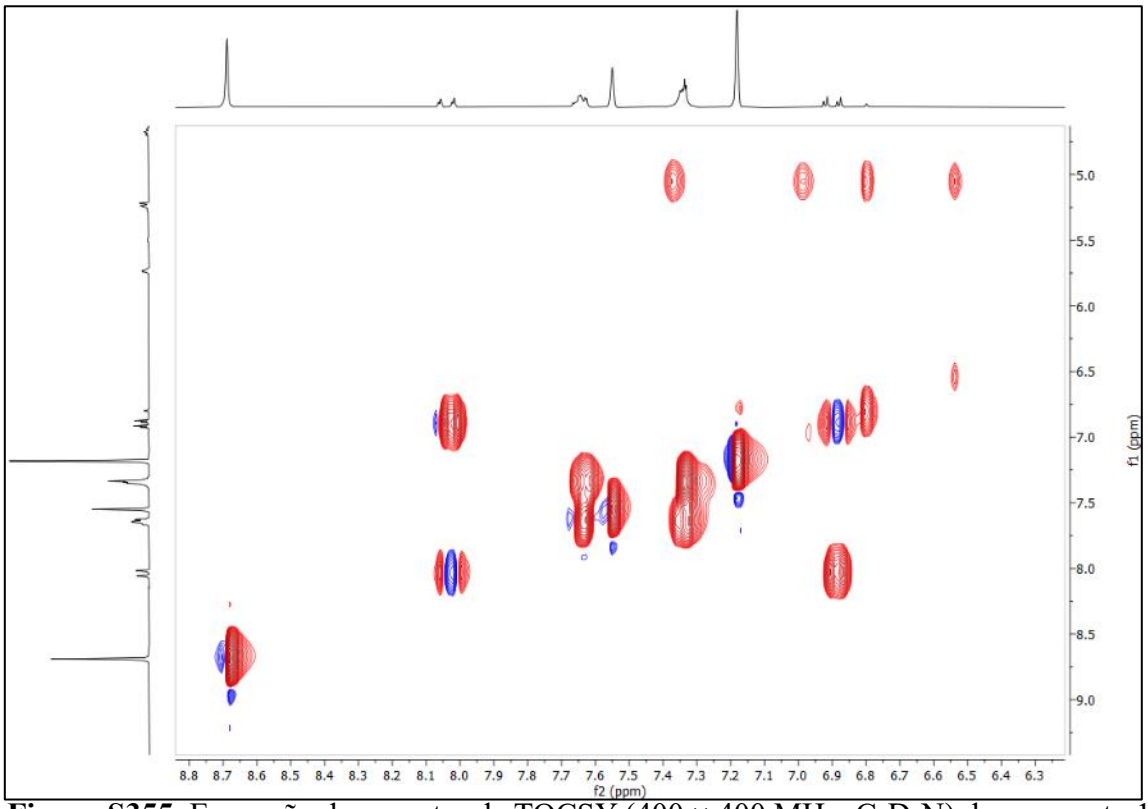


Figura S355. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 5,0-9,0 ppm e 6,3-8,8 ppm

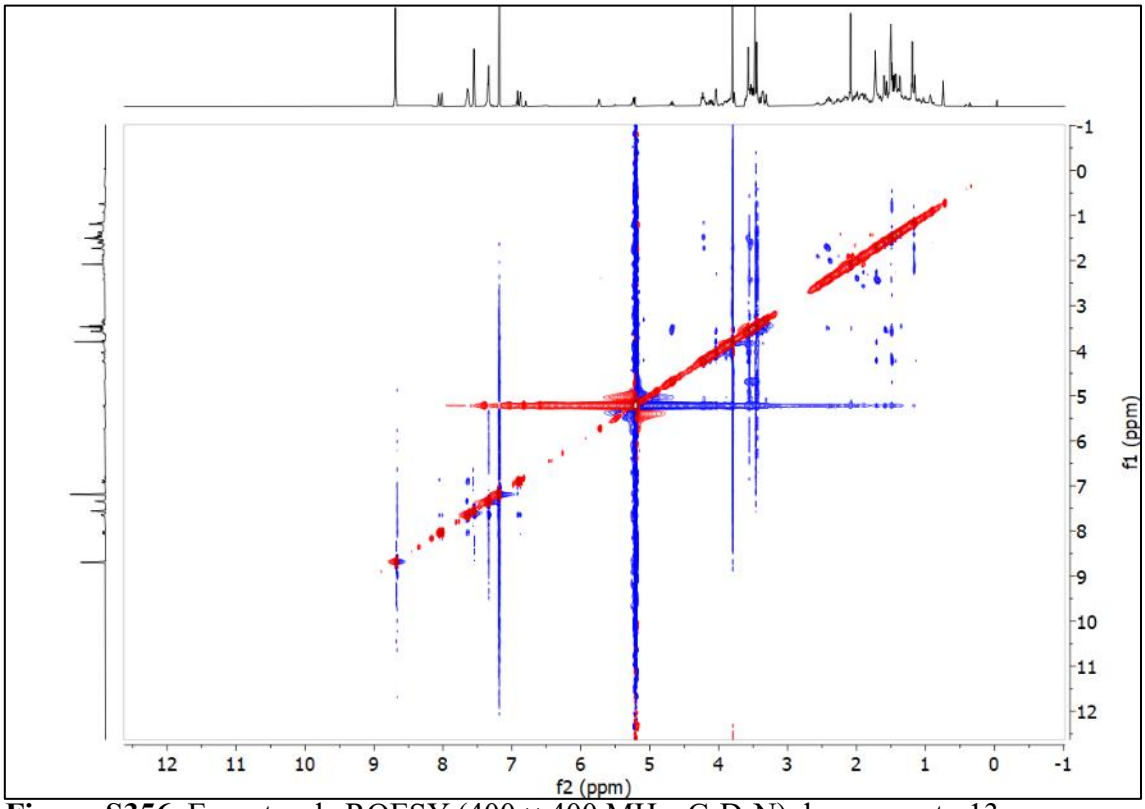


Figura S356. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13

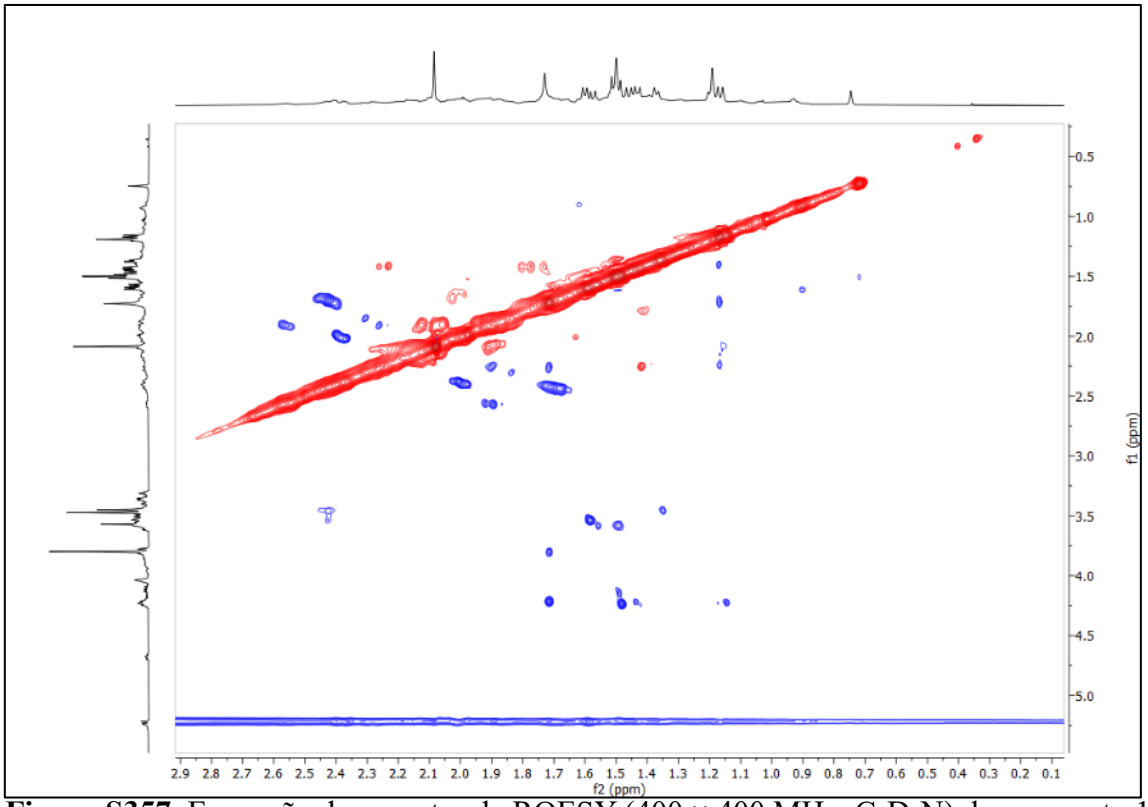


Figura S357. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,1-2,9 ppm

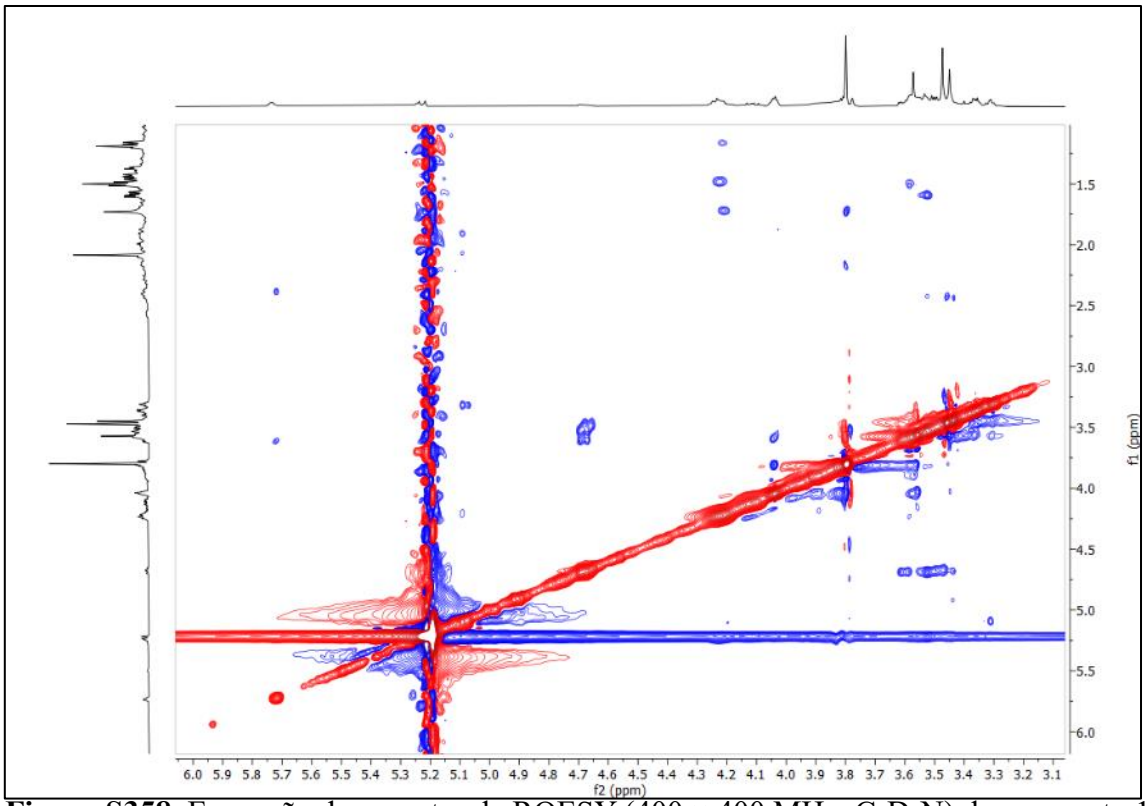


Figura S358. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,1-6,0 ppm

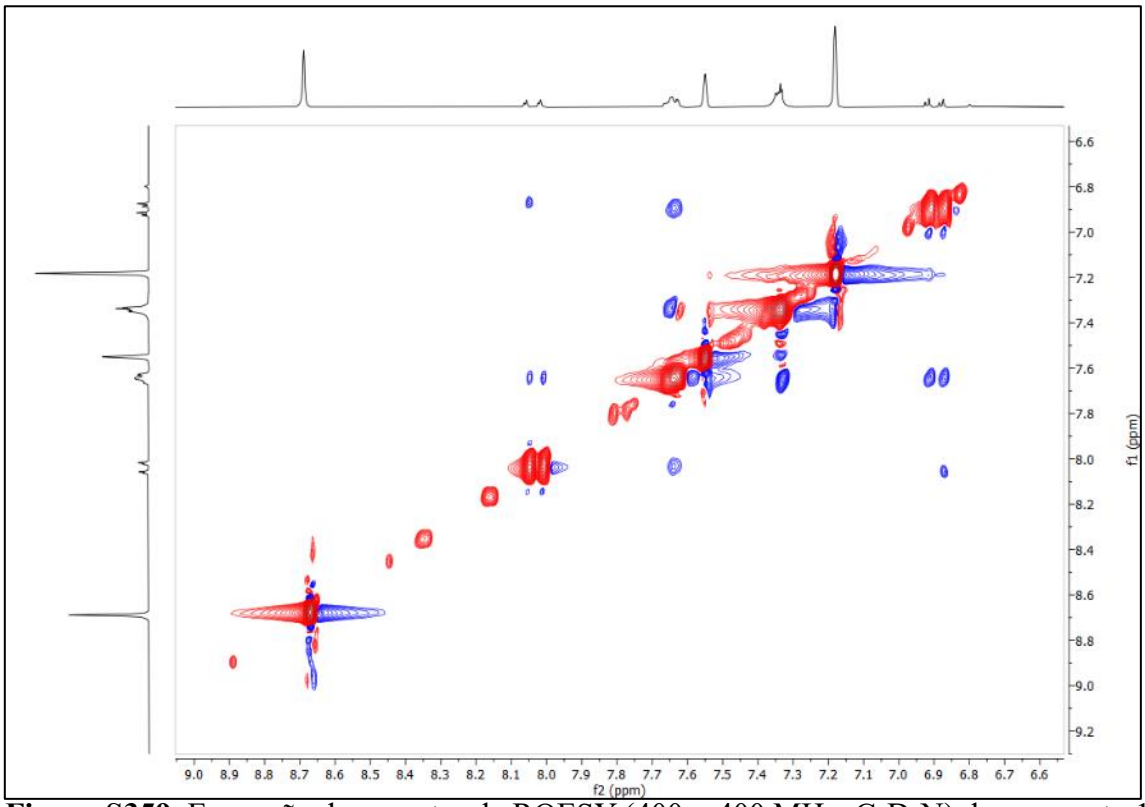


Figura S359. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 13 nas regiões de 6,6-9,2 ppm e 6,6-9,0 ppm

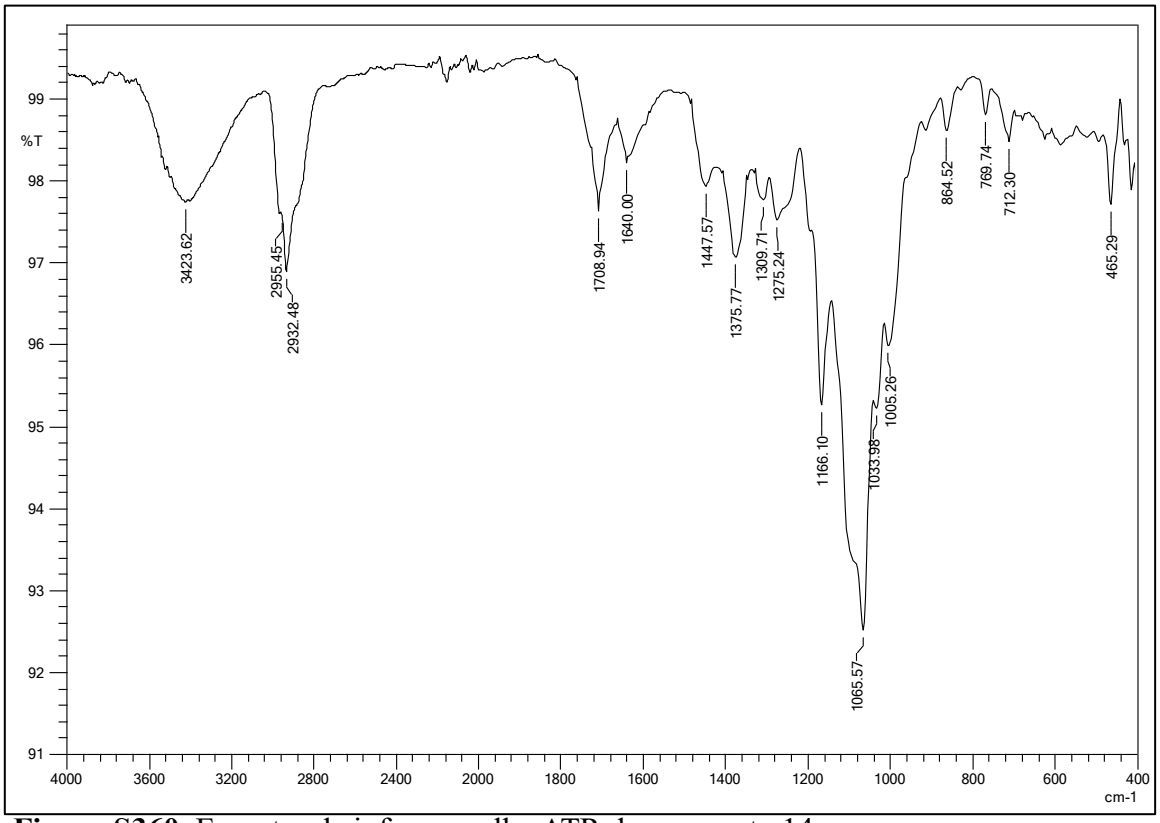


Figura S360. Espectro de infravermelho ATR do composto 14

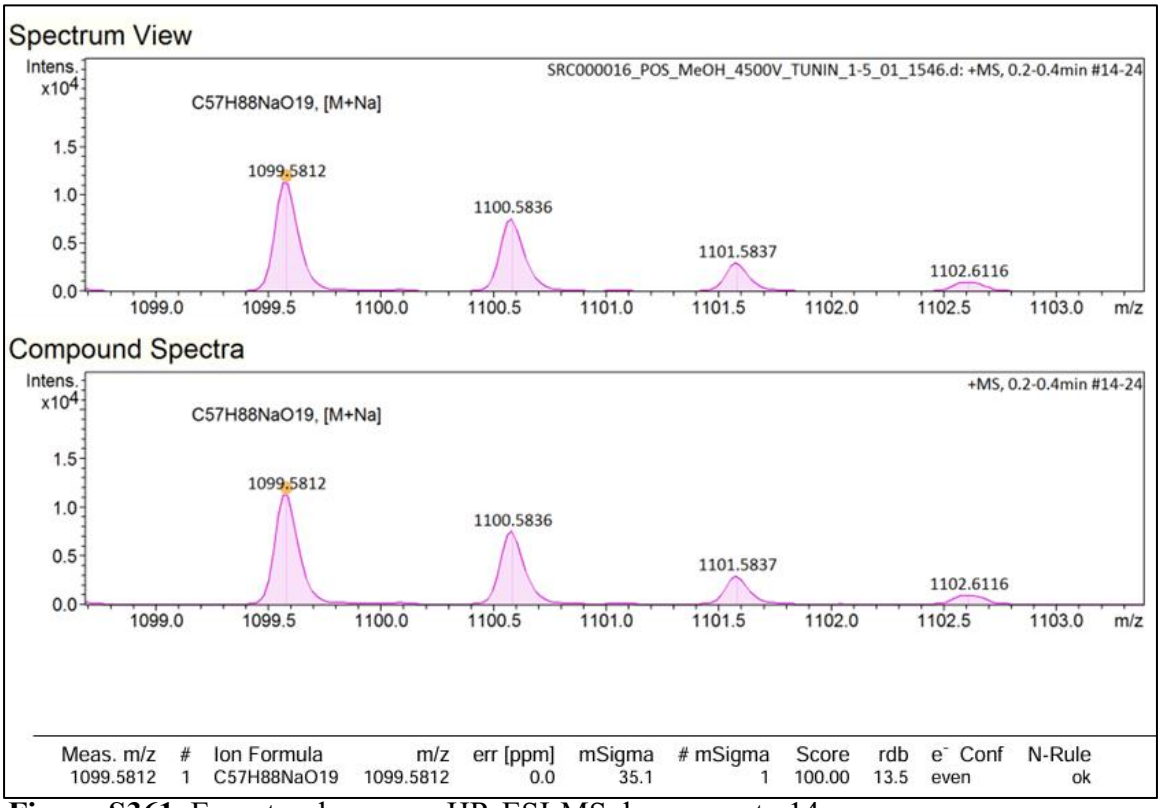


Figura S361. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 14

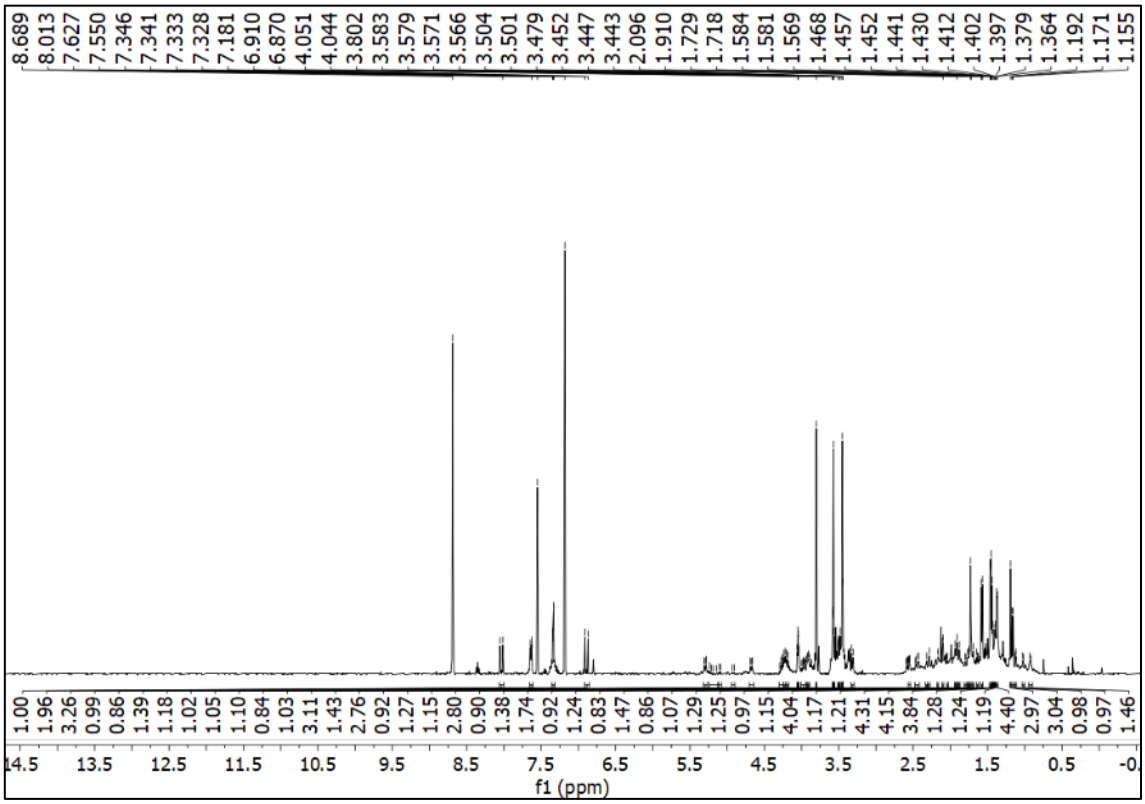


Figura S362. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 14

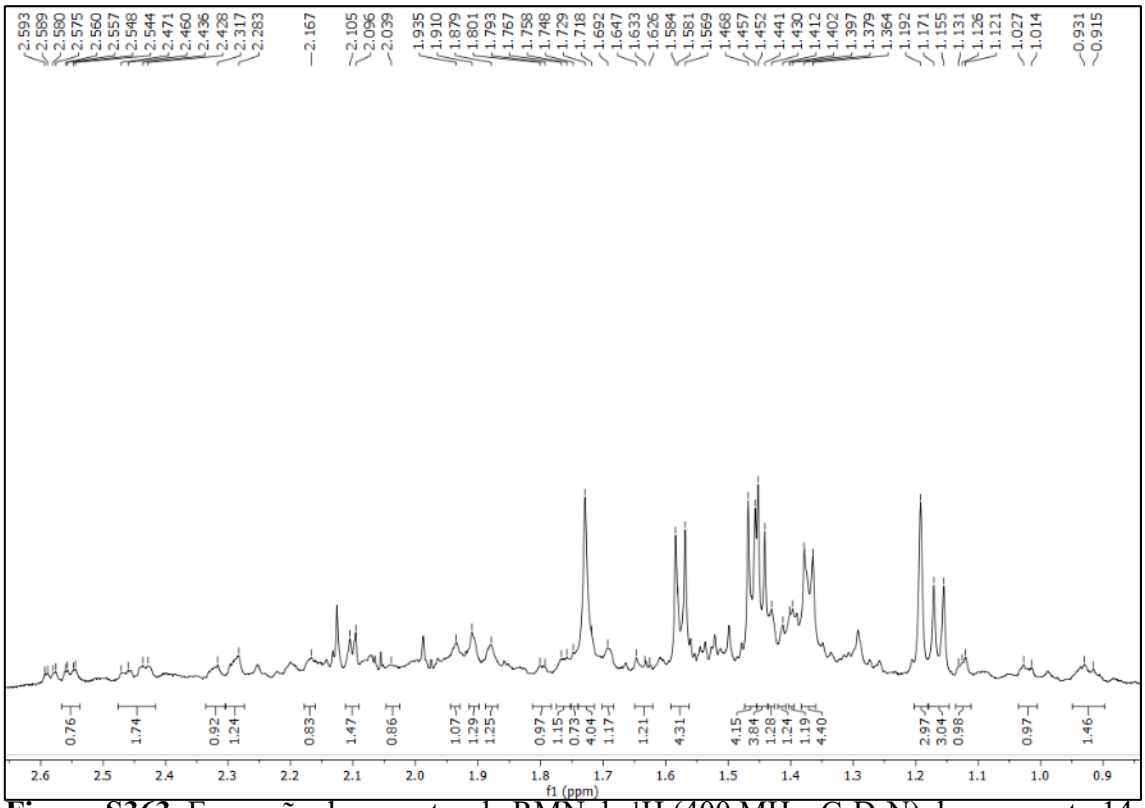


Figura S363. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 na região de 0,9-2,6 ppm

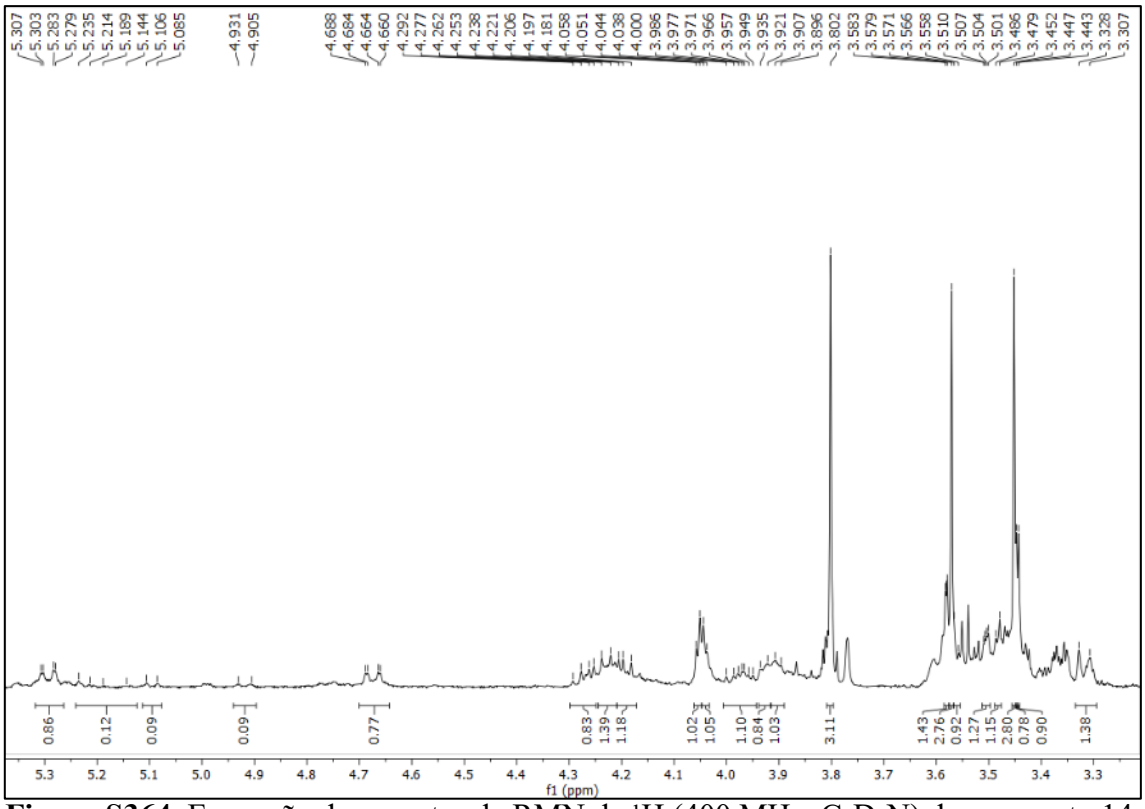


Figura S364. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 na região de 3,3-5,3 ppm

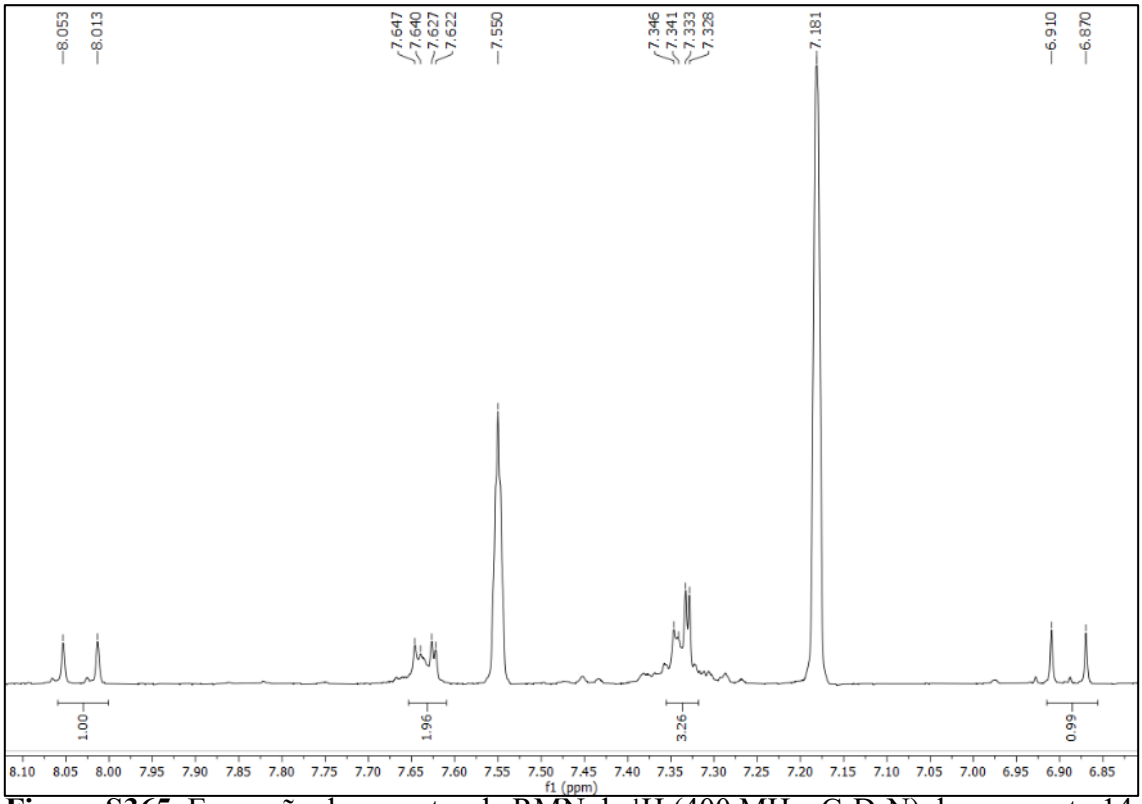


Figura S365. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 na região de 6,85-8,10 ppm

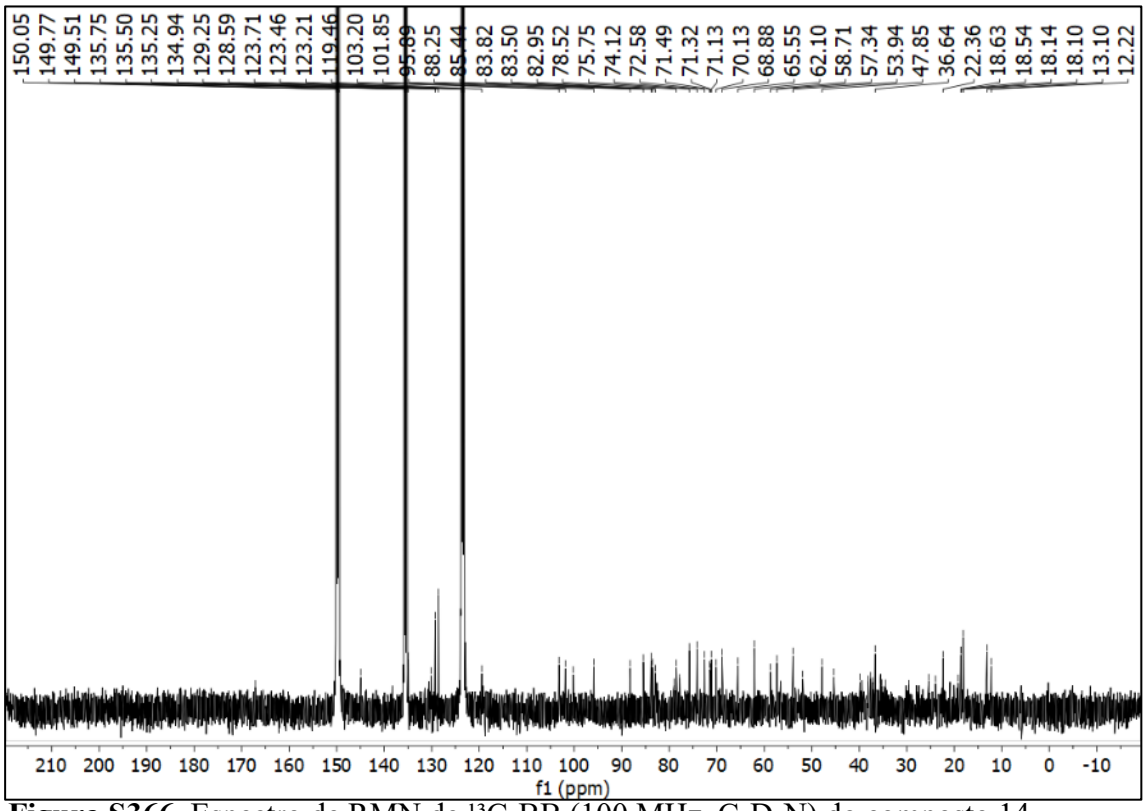


Figura S366. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 14

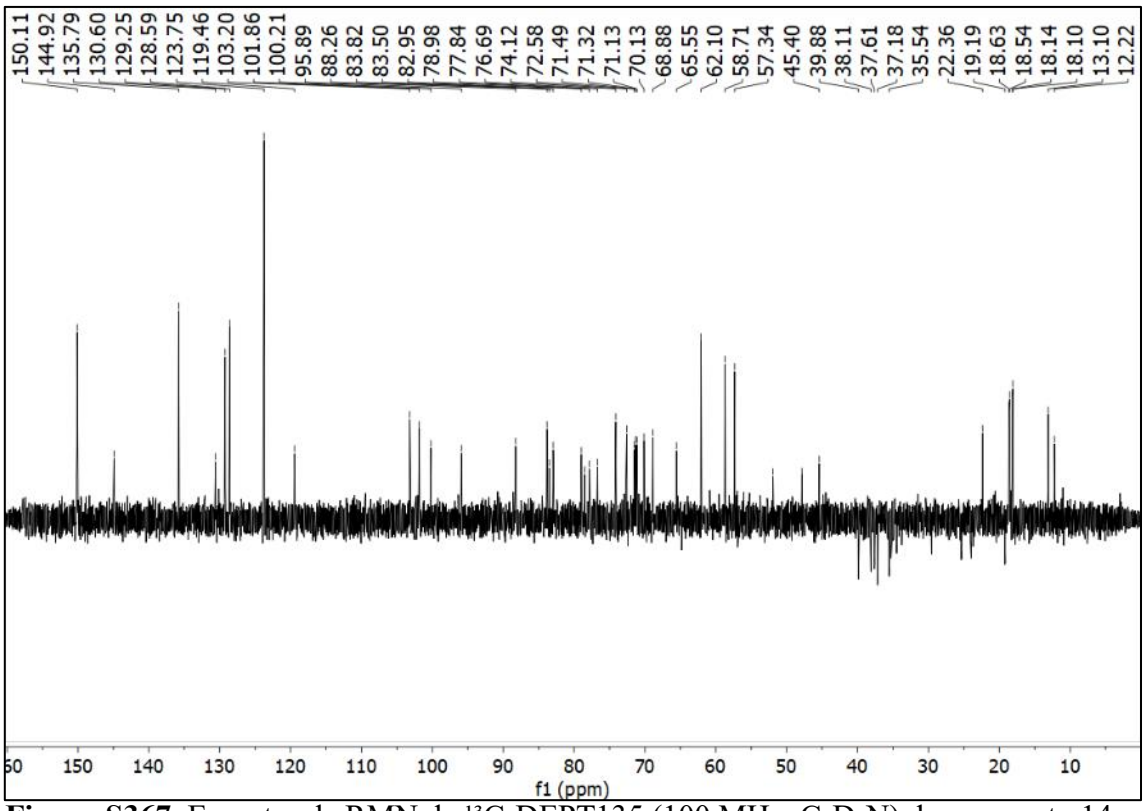


Figura S367. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 14

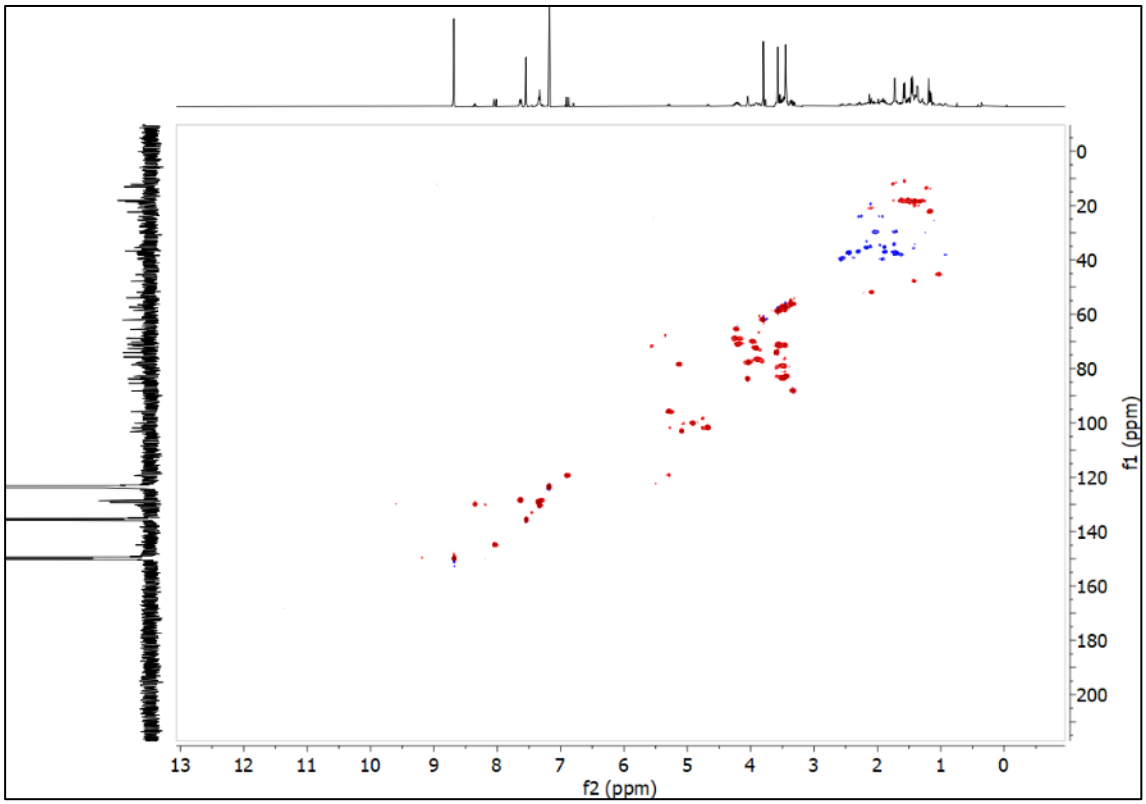


Figura S368. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14

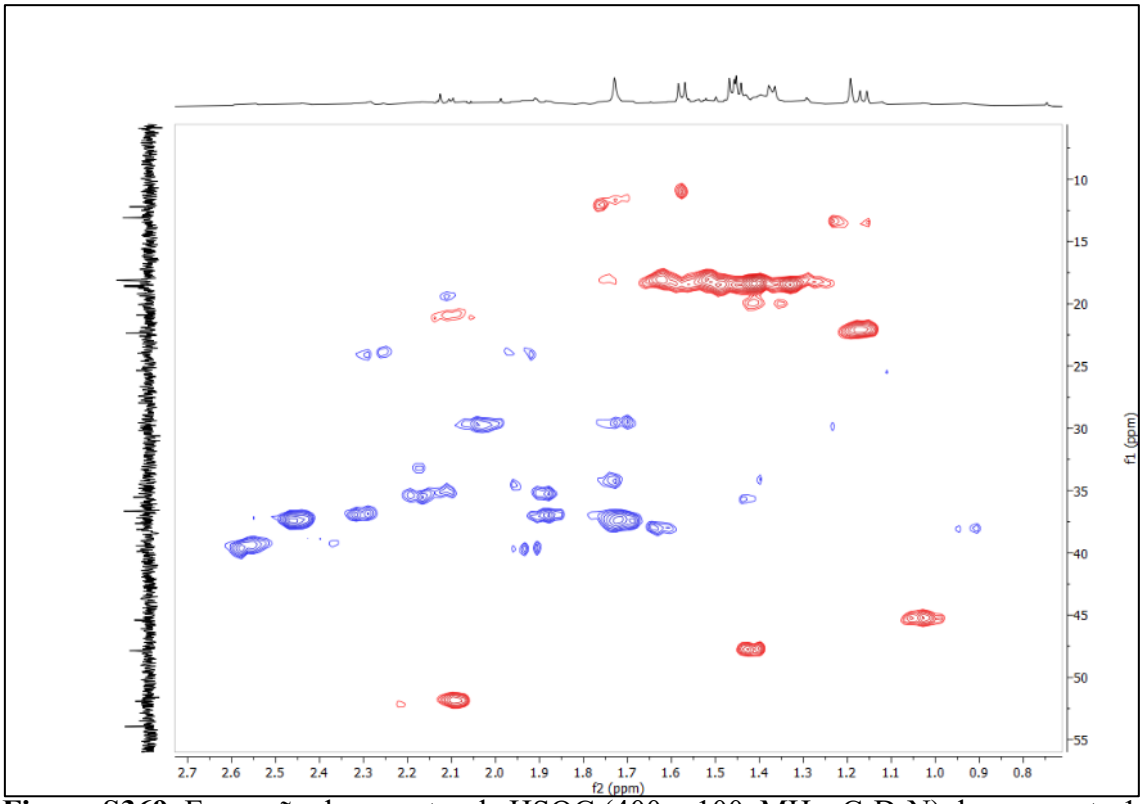


Figura S369. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 10-55 ppm e 0,8-2,7 ppm

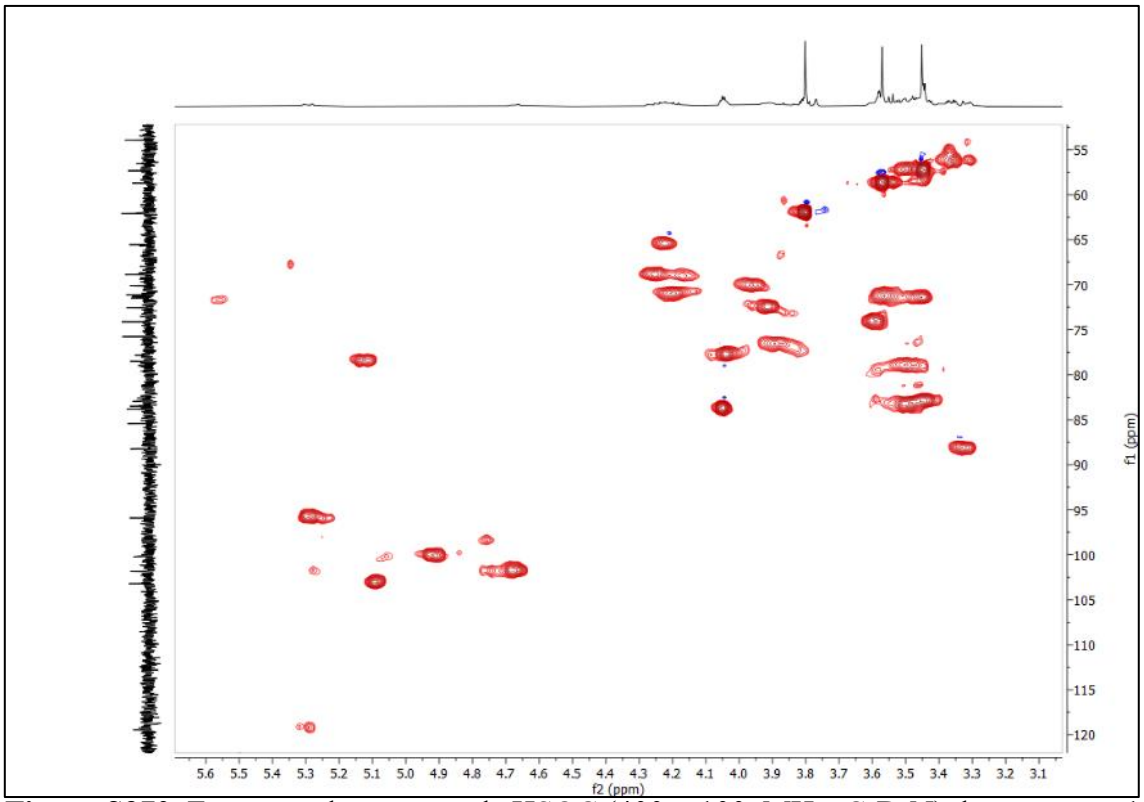


Figura S370. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 55-120 ppm e 3,1-5,6 ppm

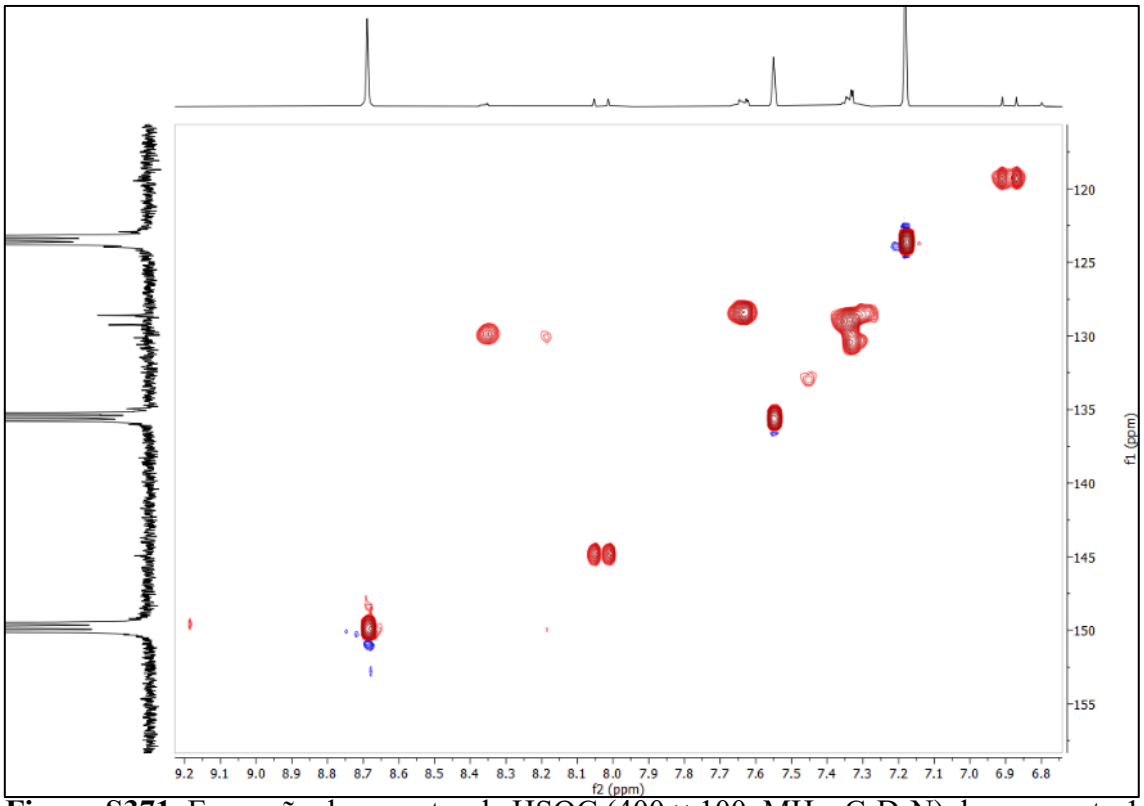


Figura S371. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 120-155 ppm e 6,8-9,2 ppm

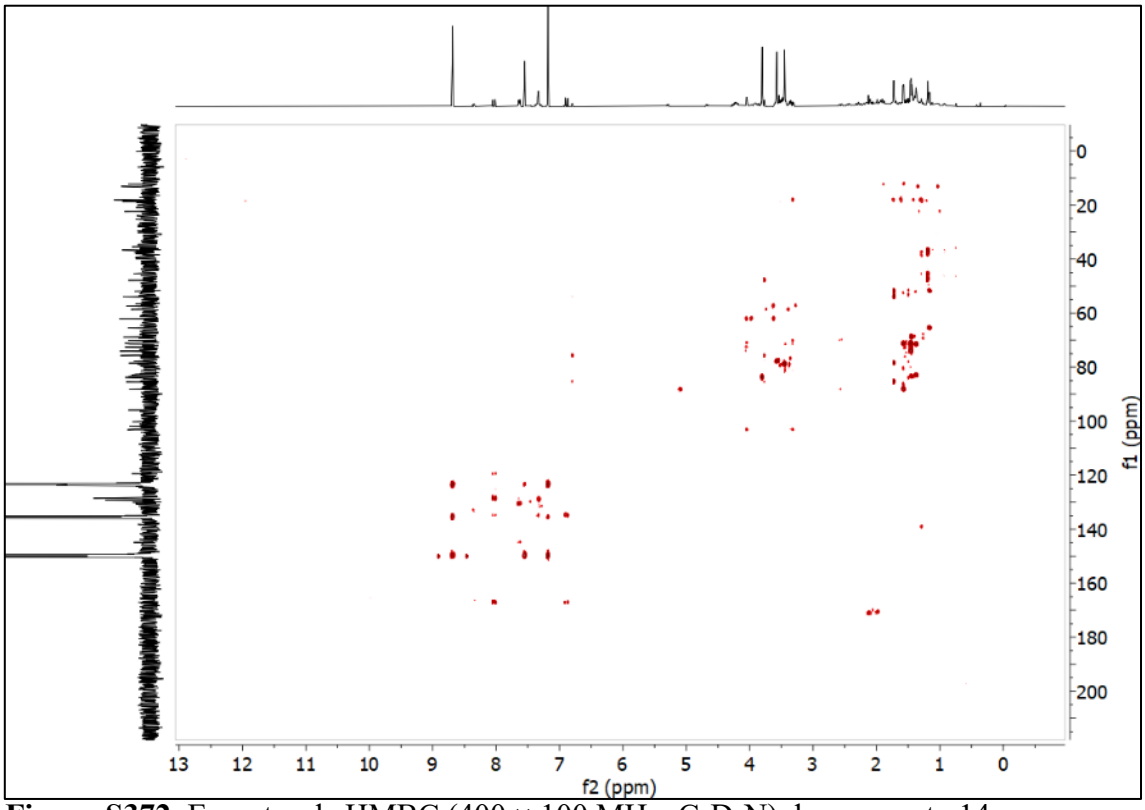


Figura S372. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14

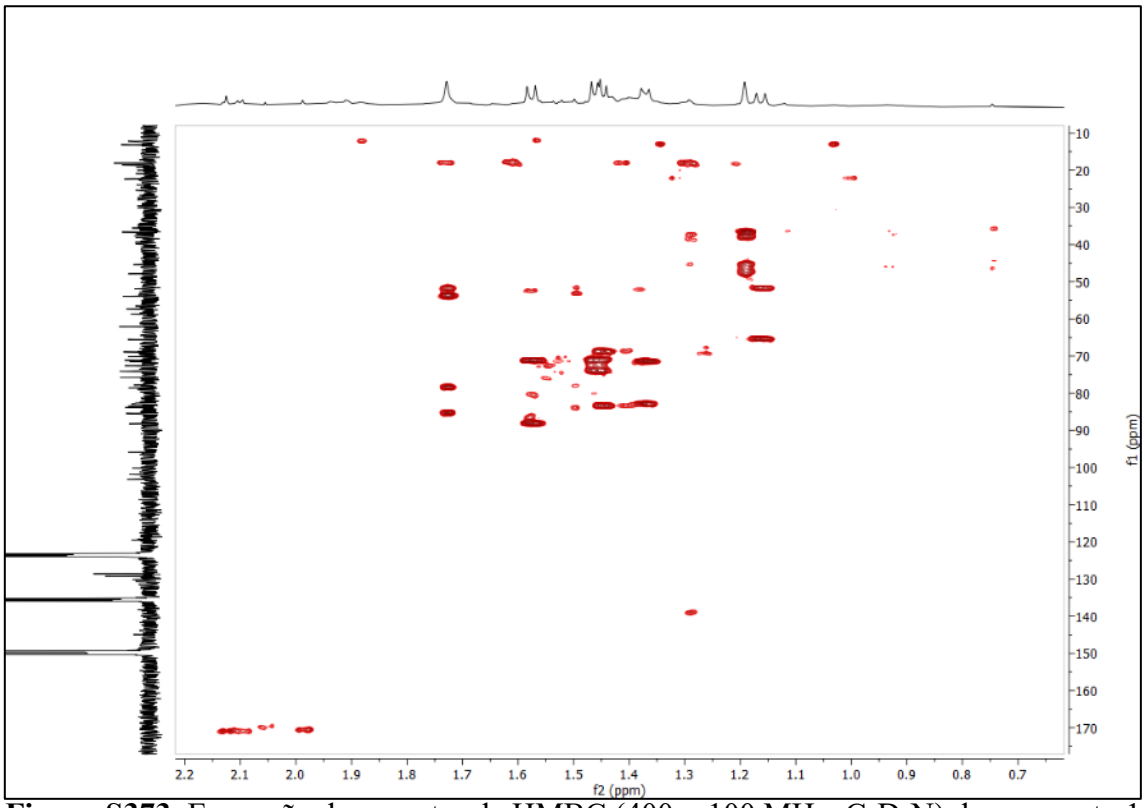


Figura S373. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,2 ppm

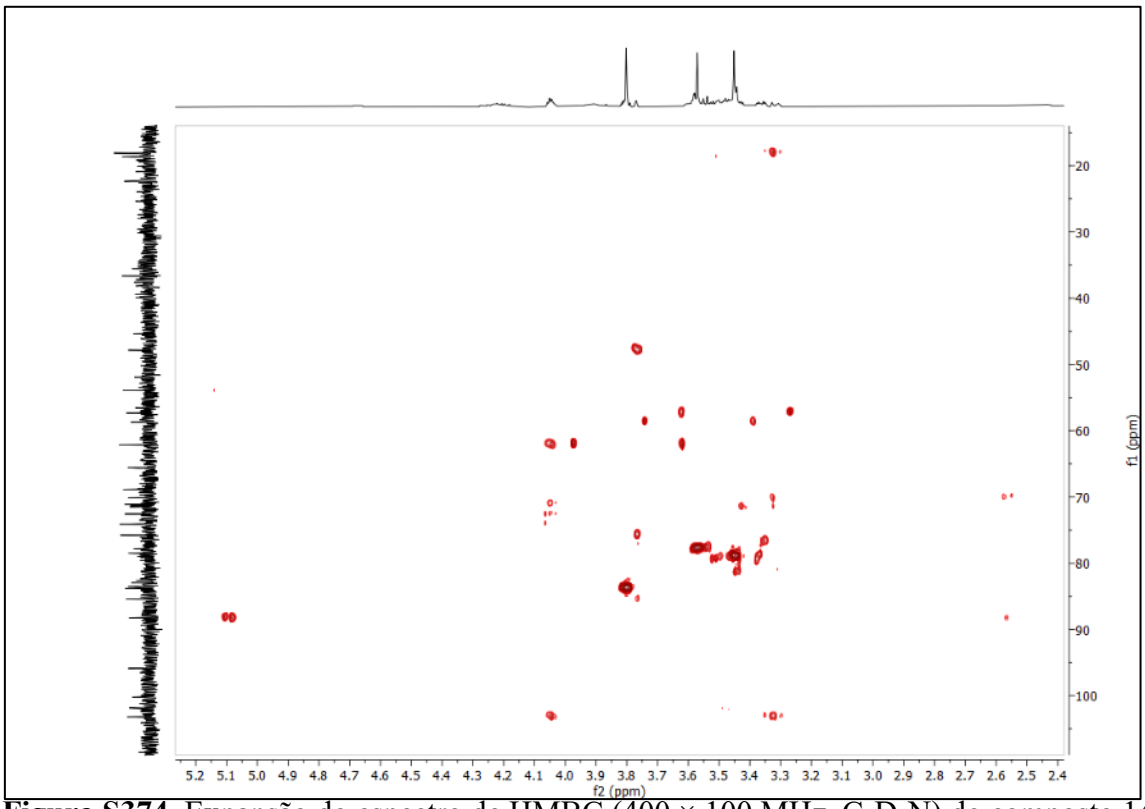


Figura S374. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 20-100 ppm e 2,4-5,2 ppm

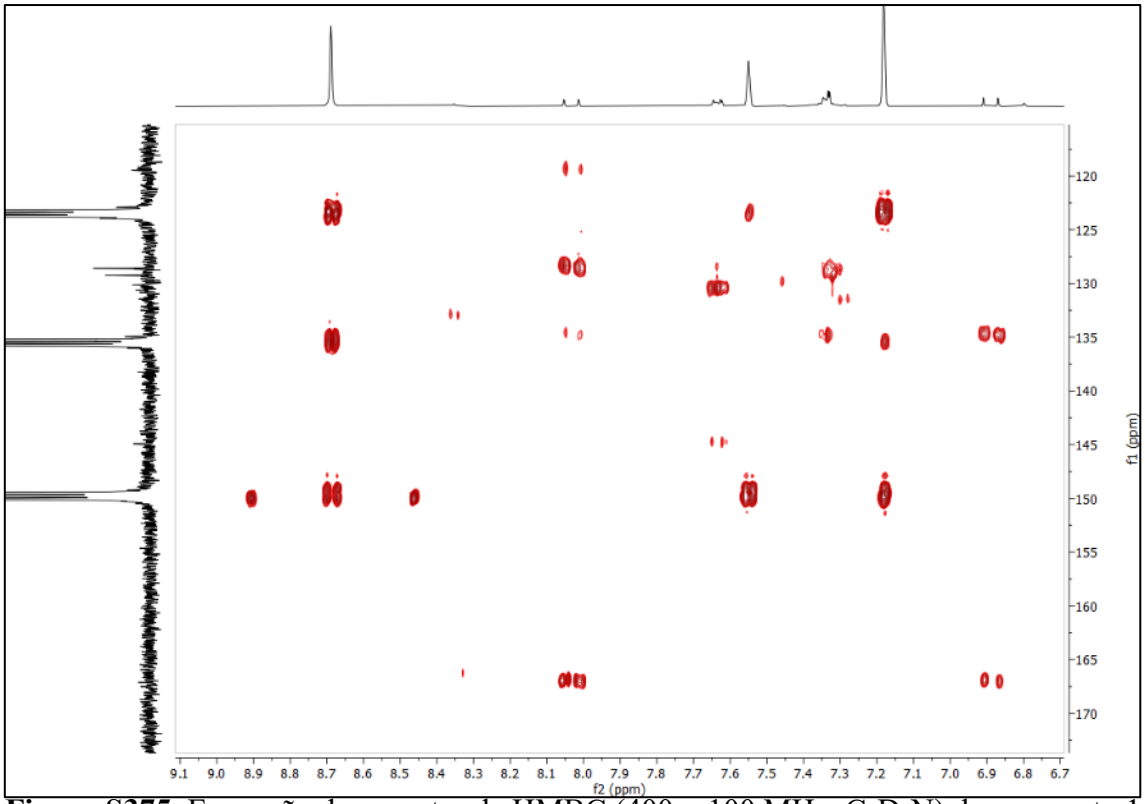


Figura S375. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 120-170 ppm e 6,7-9,1 ppm

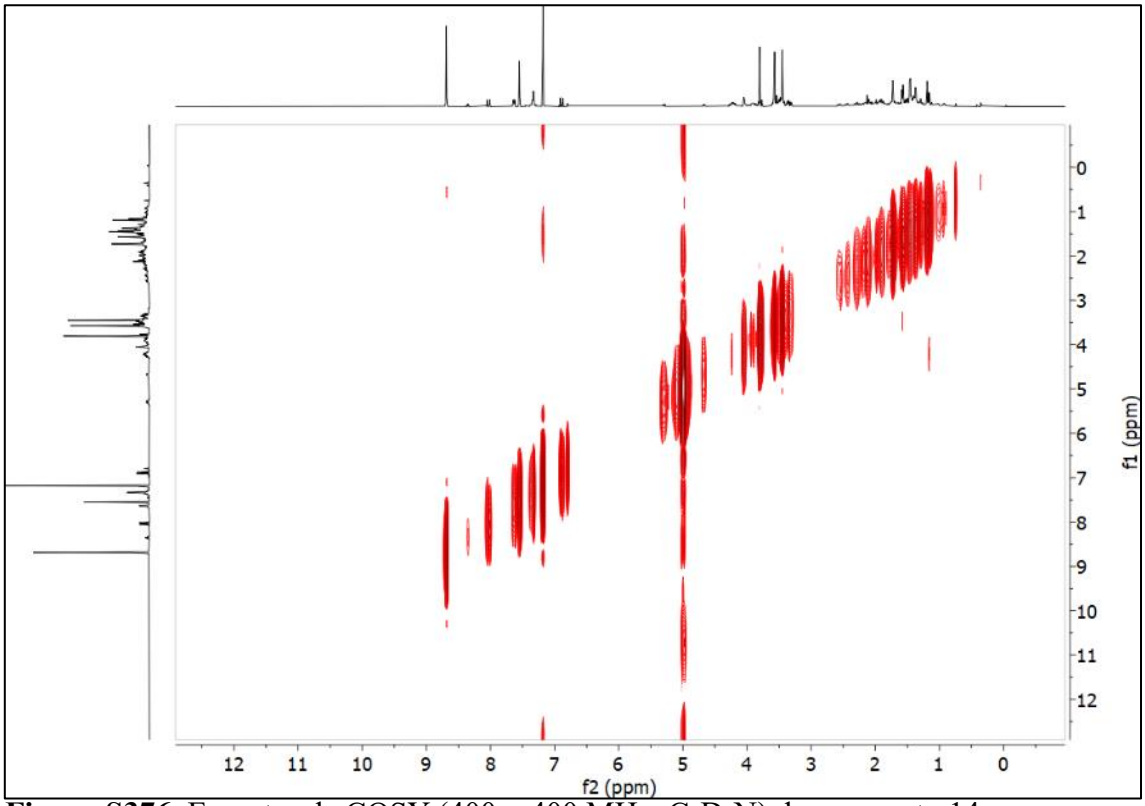


Figura S376. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14

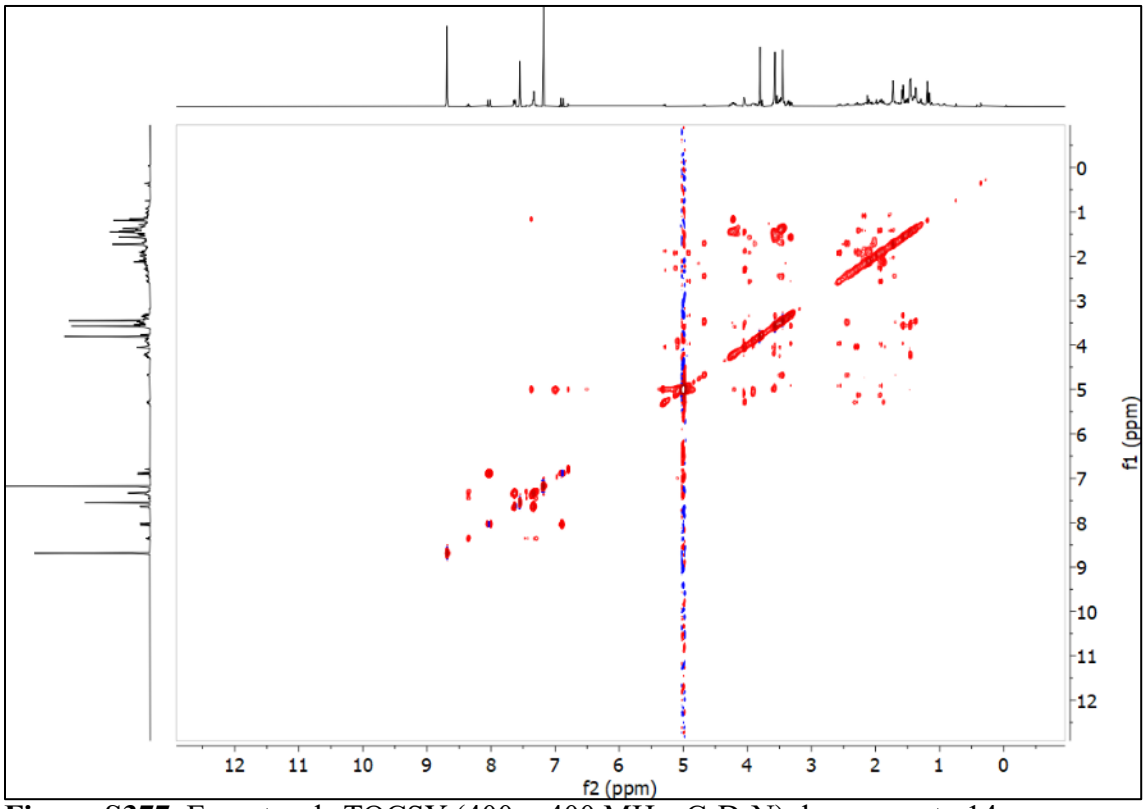


Figura S377. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14

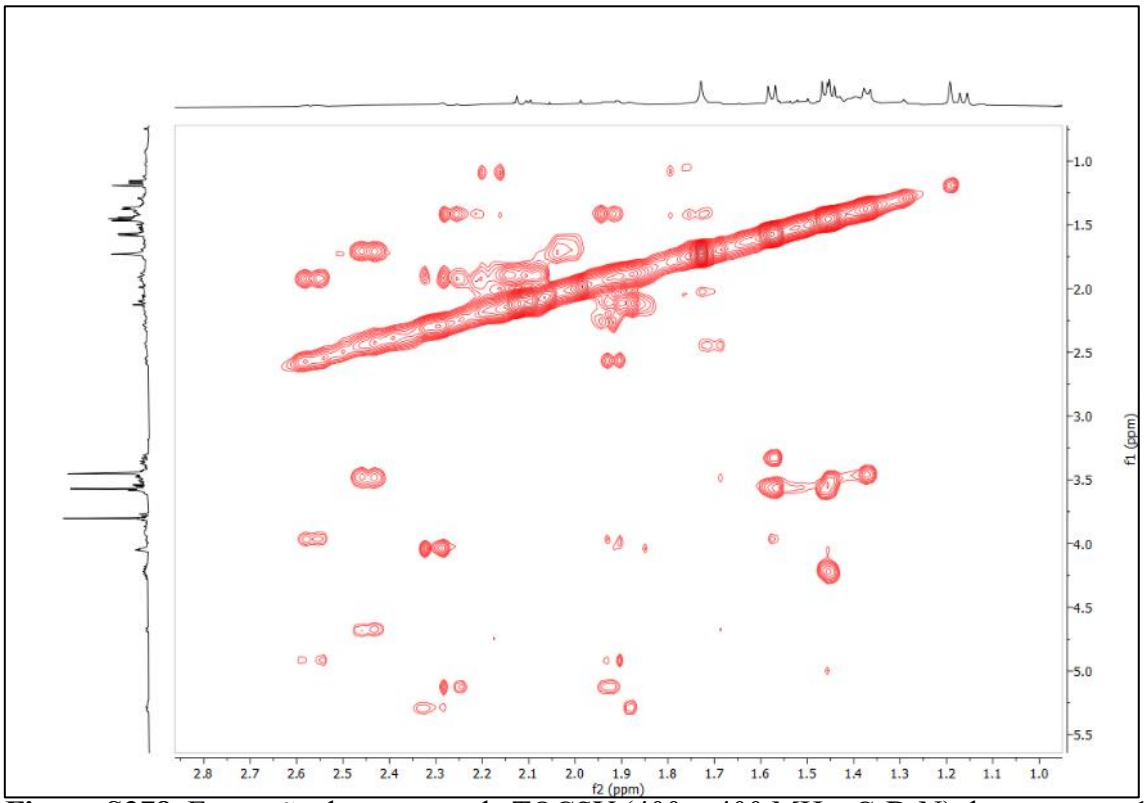


Figura S378. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 1,0-2,8 ppm

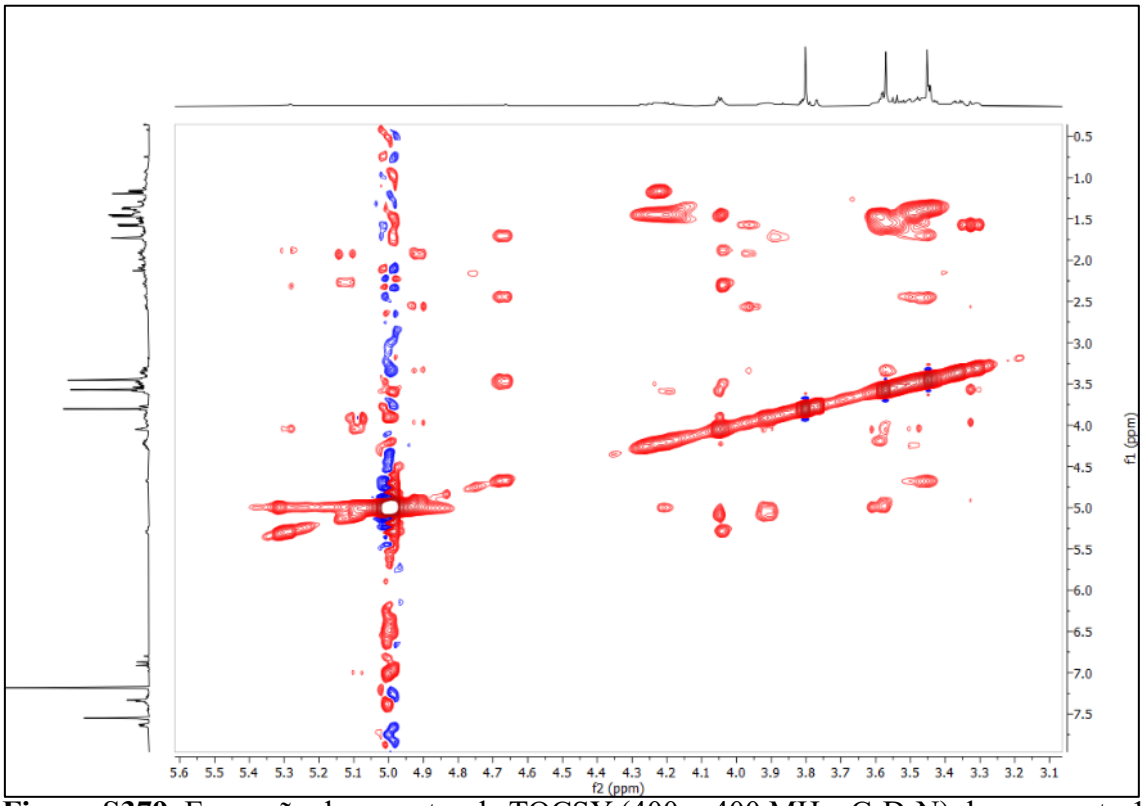


Figura S379. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 0,5-7,5 ppm e 3,1-5,6 ppm

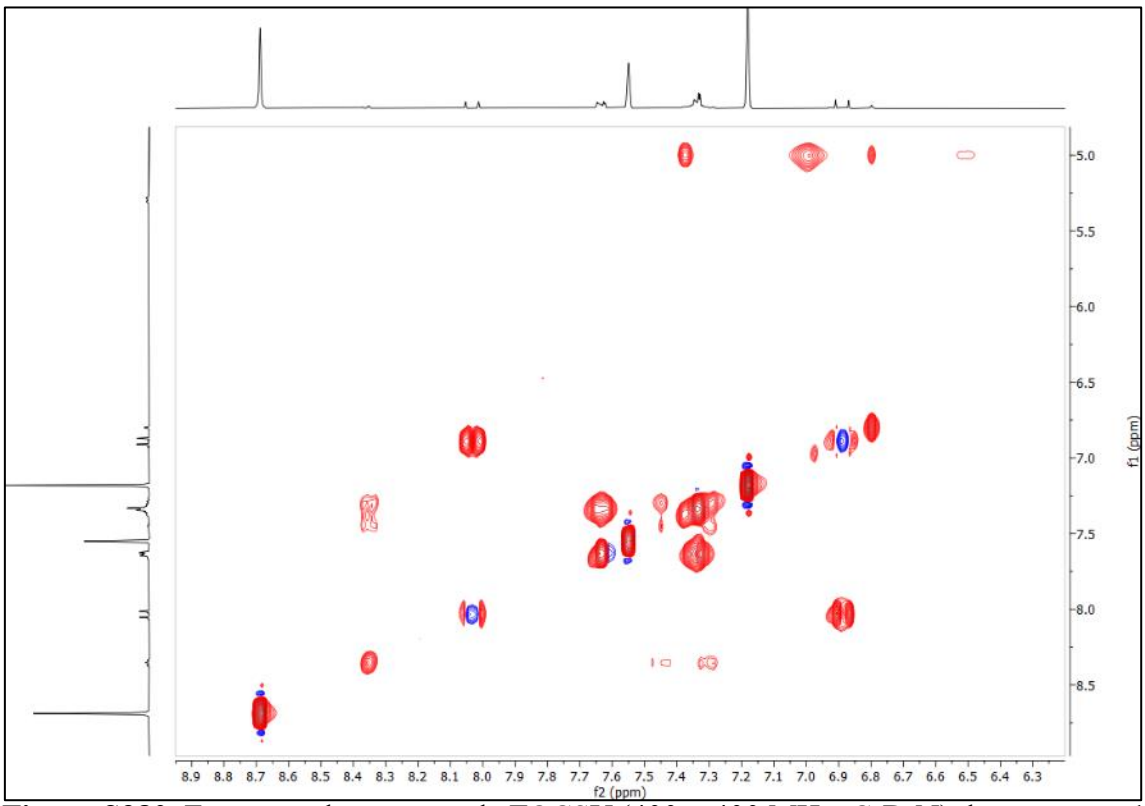


Figura S380. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 5,0-8,5 ppm e 6,3-8,9 ppm

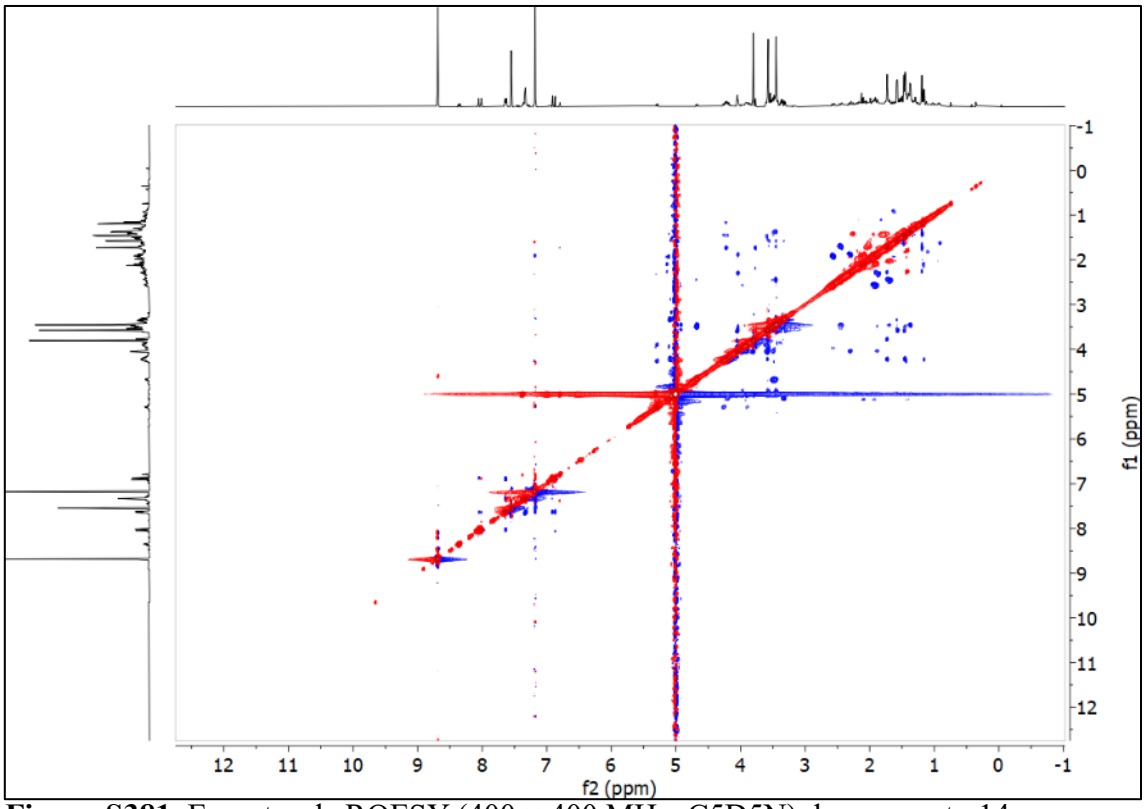


Figura S381. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C5D5N) do composto 14

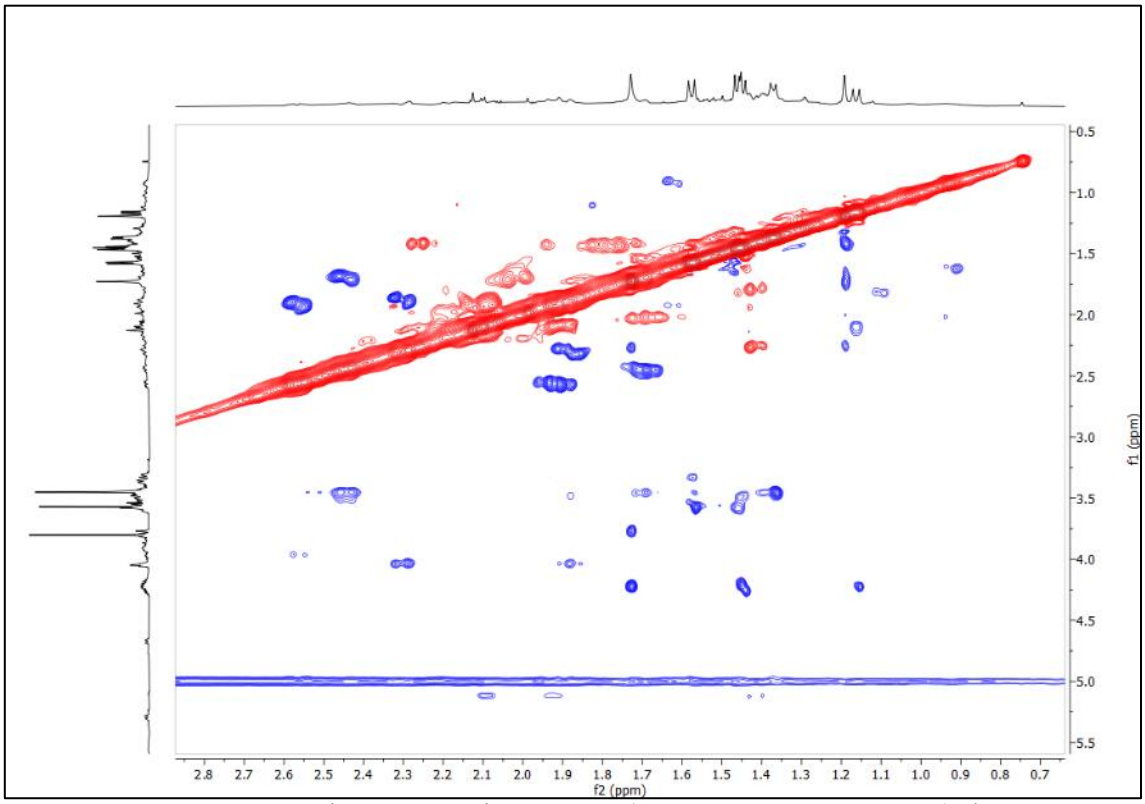


Figura S382. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,7-2,8 ppm

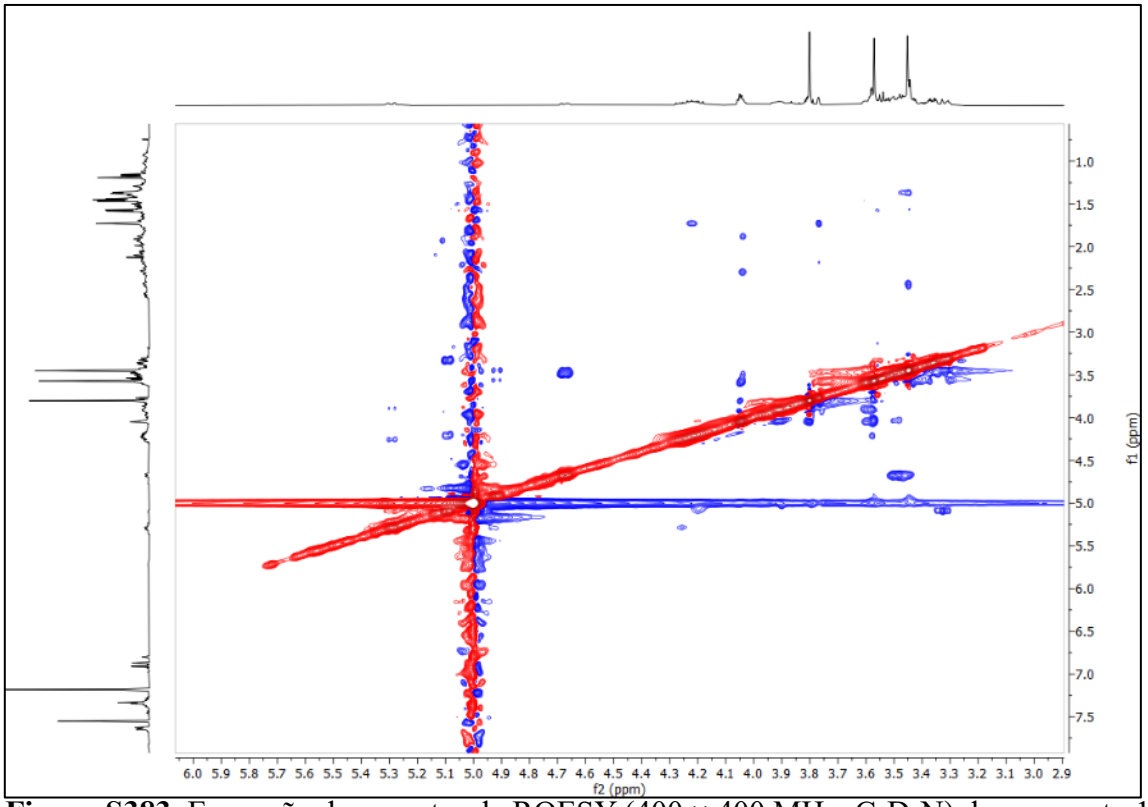


Figura S383. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 1,0-7,5 ppm e 2,9-6,0 ppm

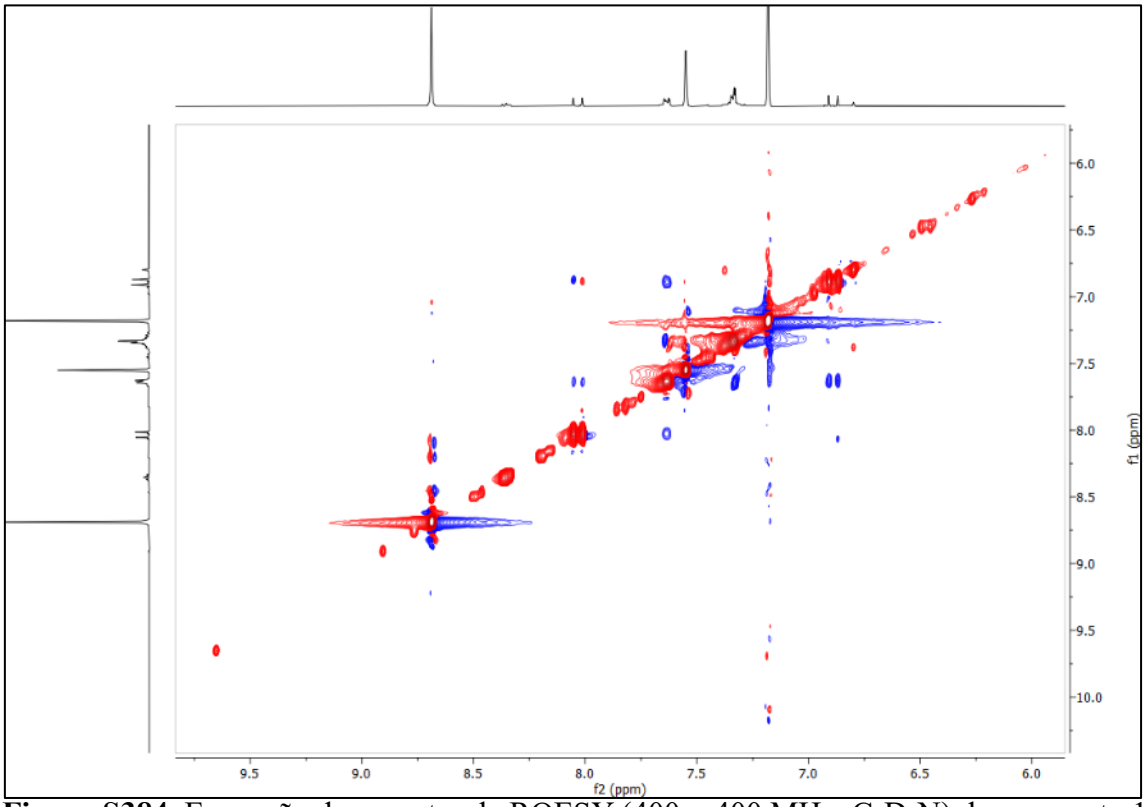


Figura S384. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 14 nas regiões de 6,0-10,0 ppm e 6,0-9,5 ppm

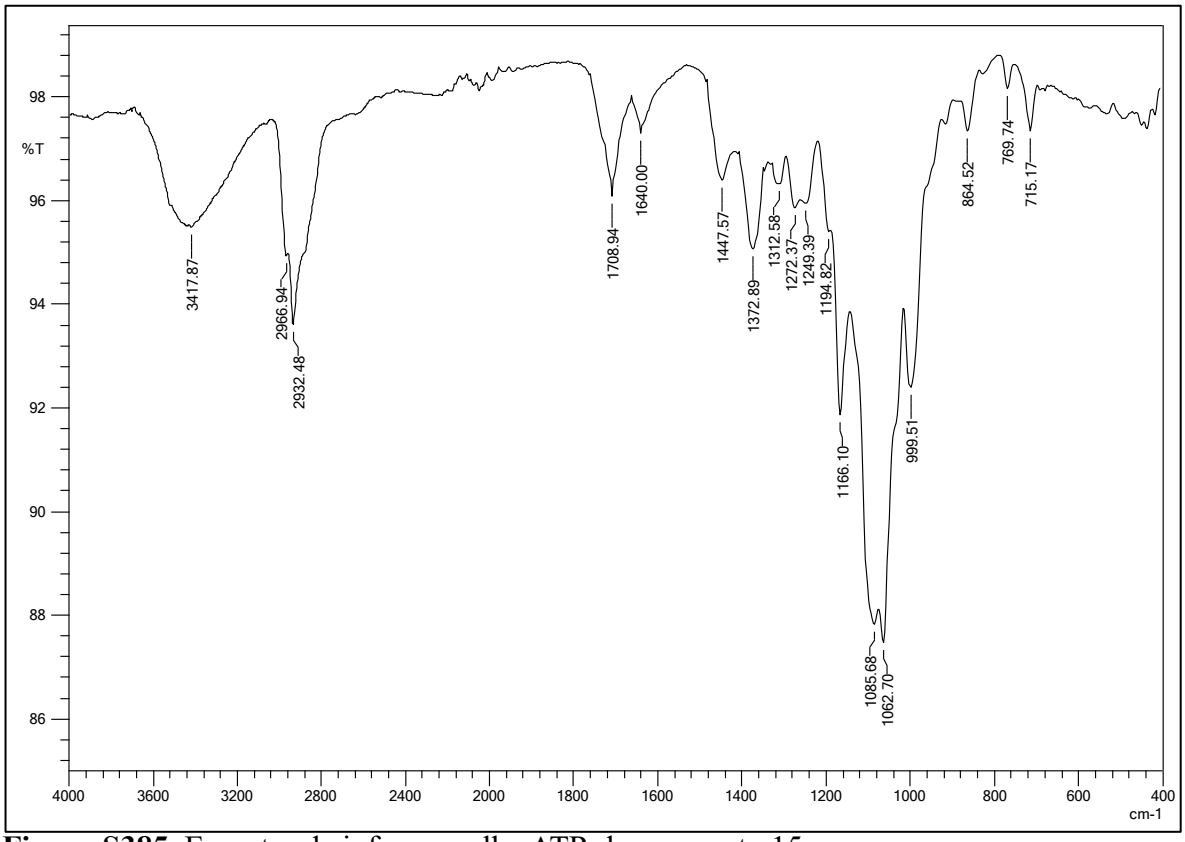


Figura S385. Espectro de infravermelho ATR do composto 15

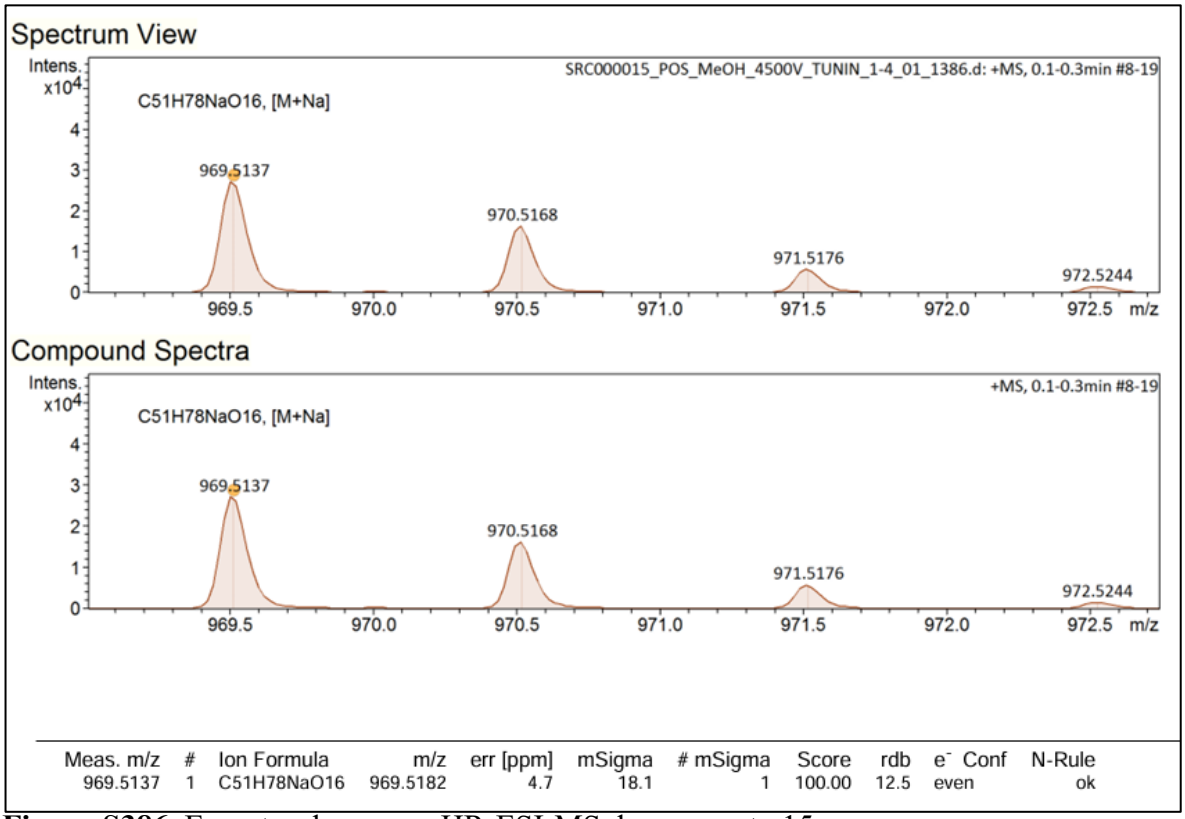


Figura S386. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 15

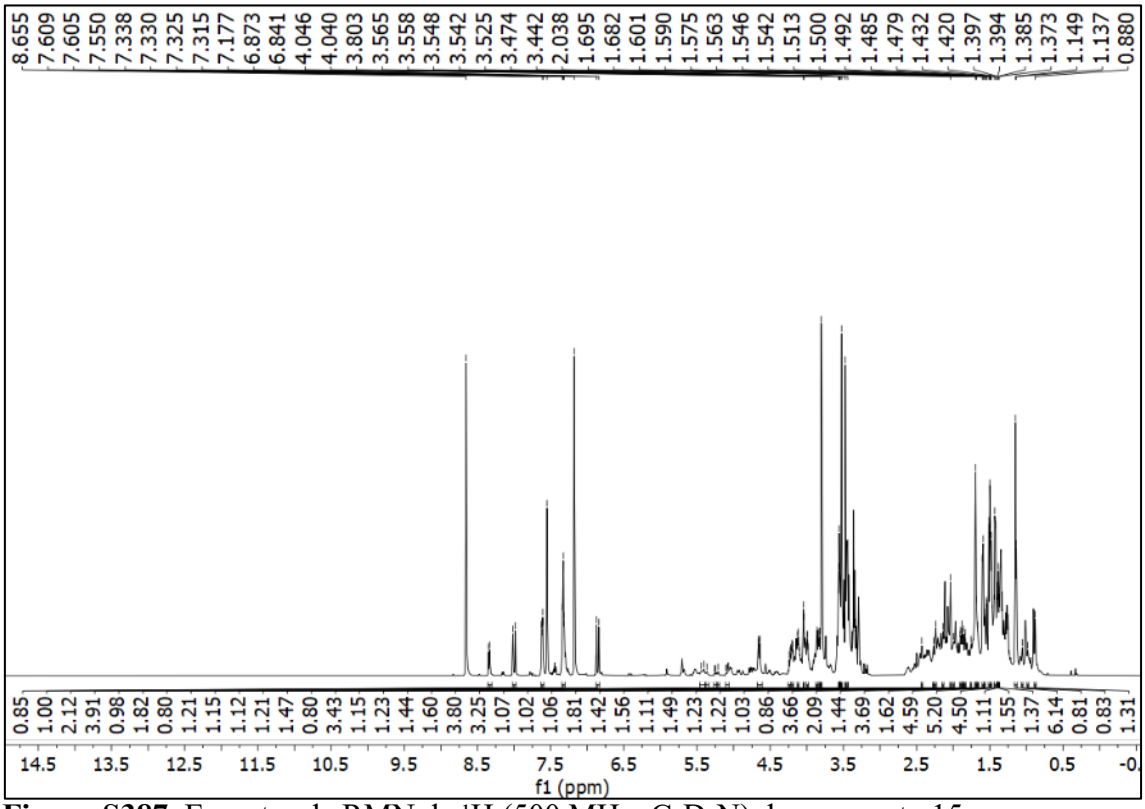


Figura S387. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 15

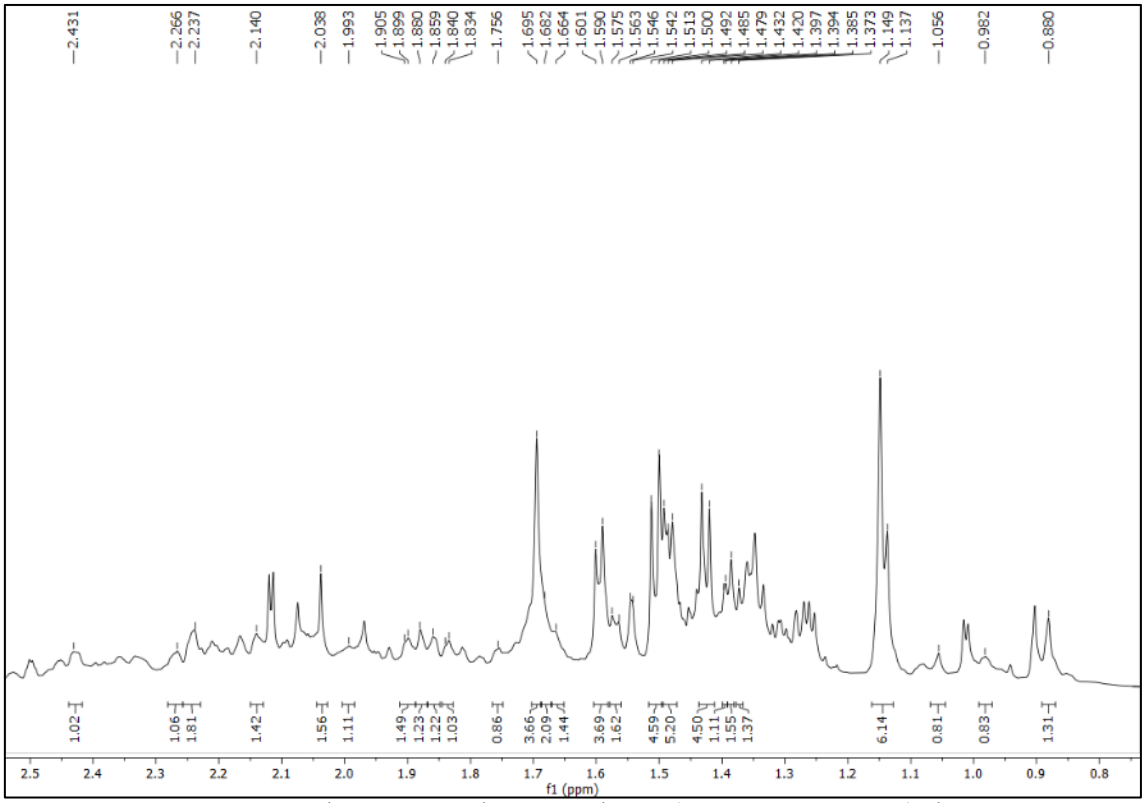


Figura S388. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 na região de 0,8-2,5 ppm

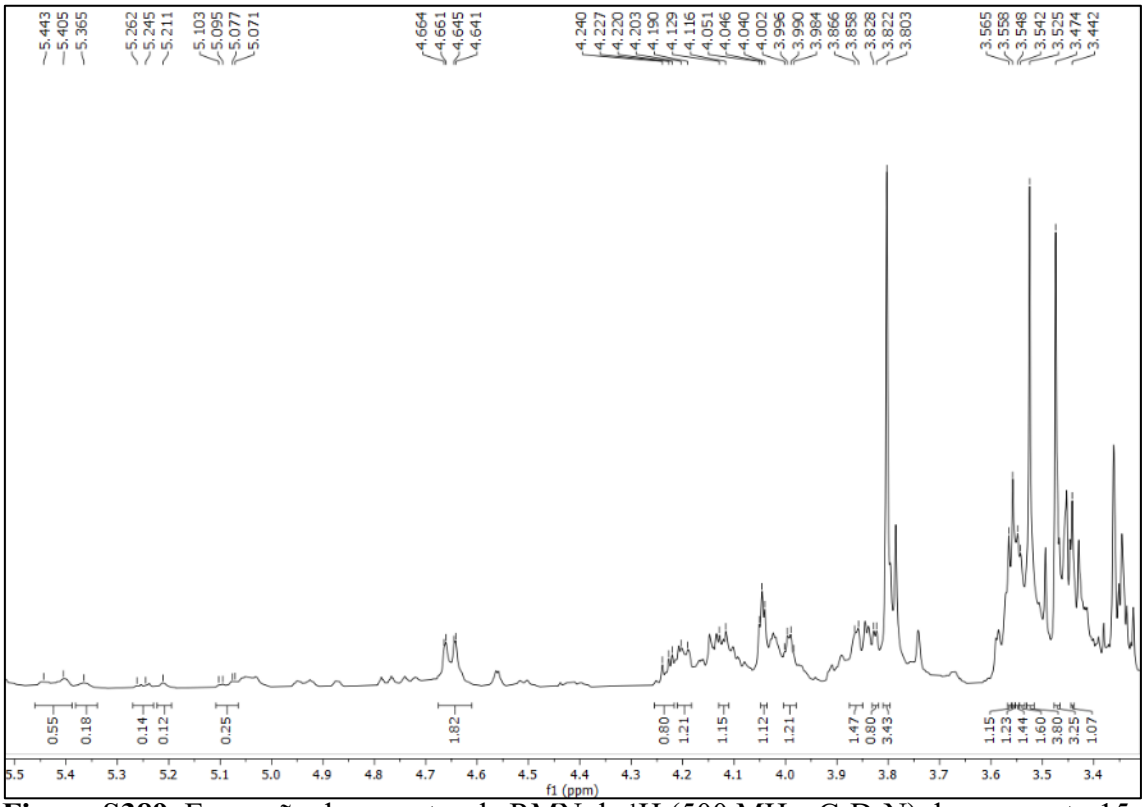


Figura S389. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 na região de 3,4-5,5 ppm

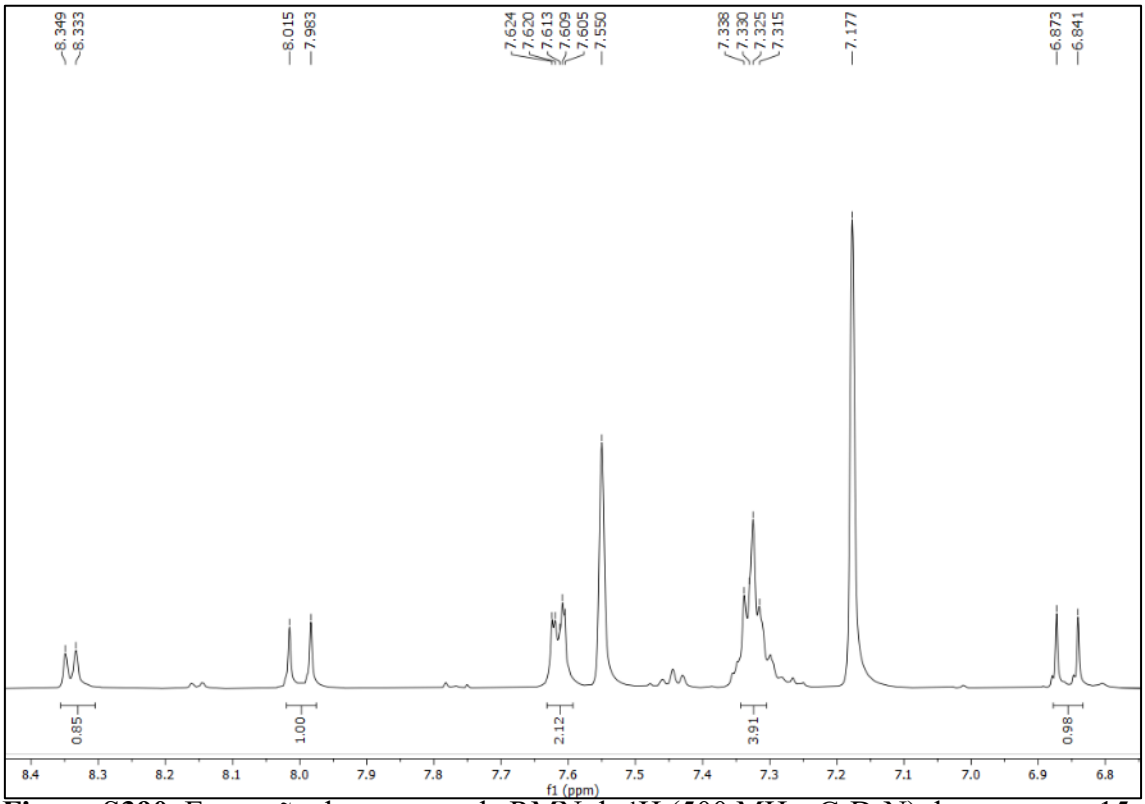


Figura S390. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 na região de 6,8-8,4 ppm

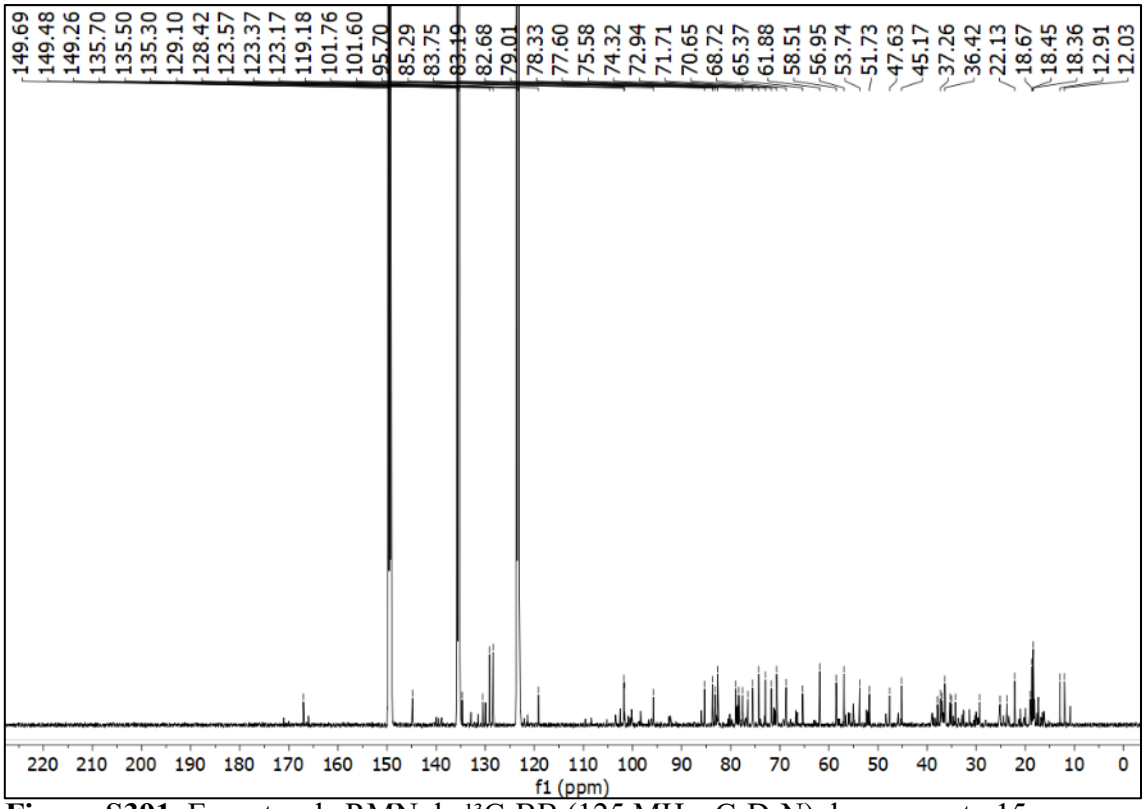


Figura S391. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 15

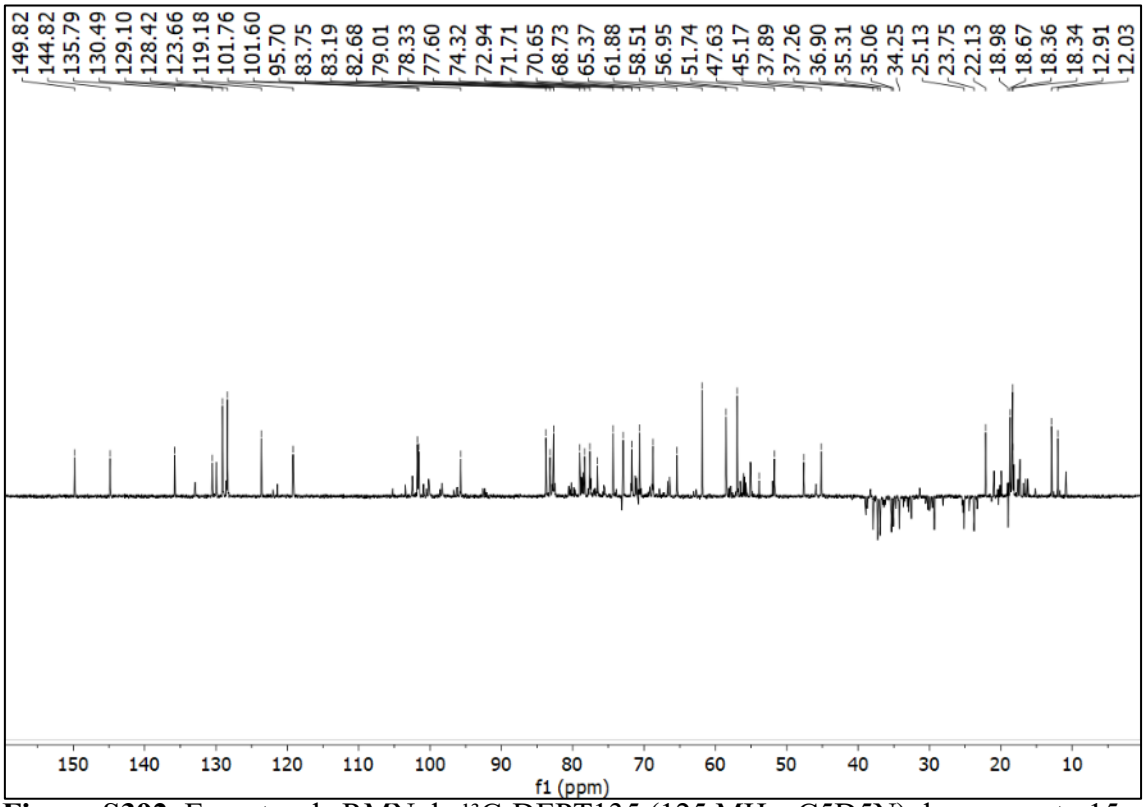


Figura S392. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C5D5N) do composto 15

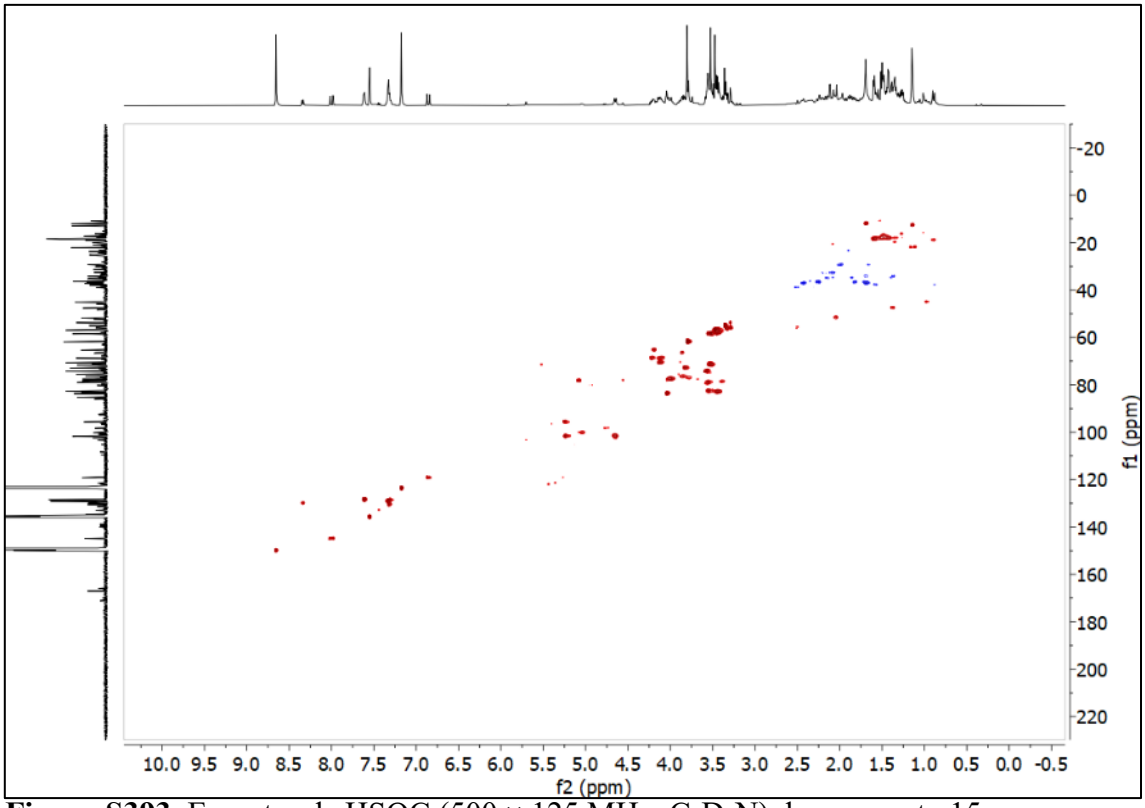


Figura S393. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15

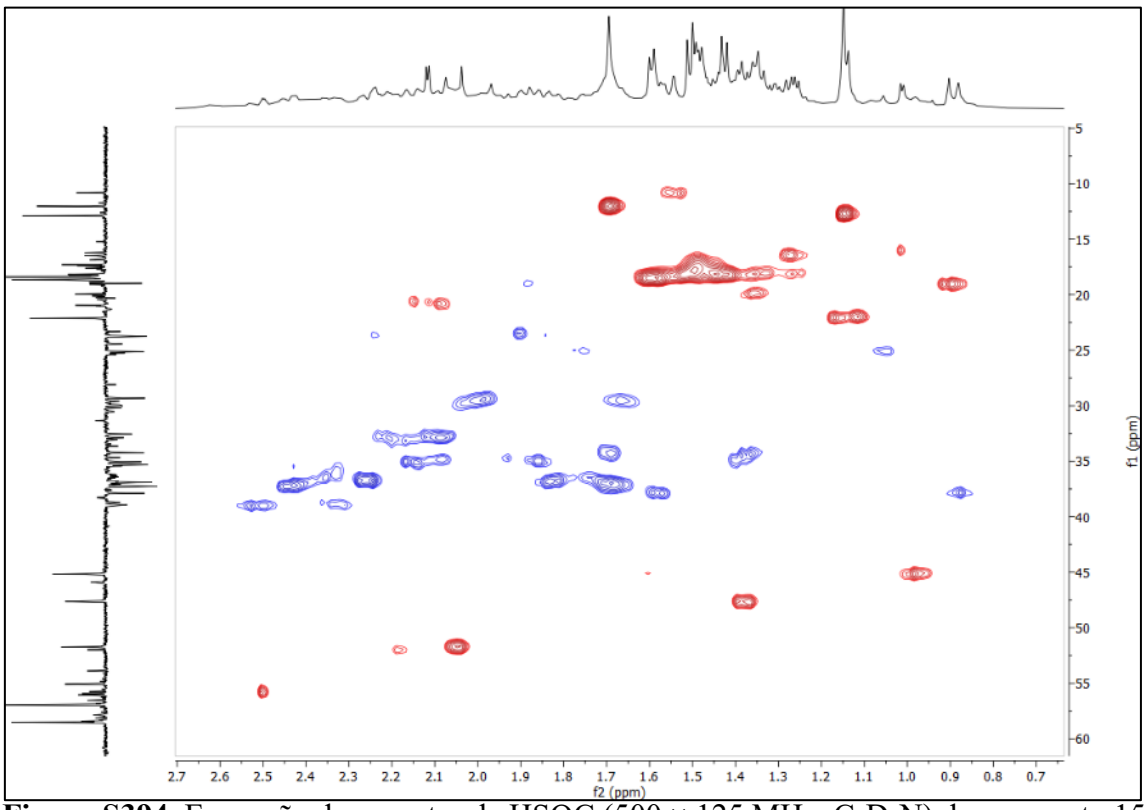


Figura S394. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 5-60 ppm e 0,7-2,7 ppm

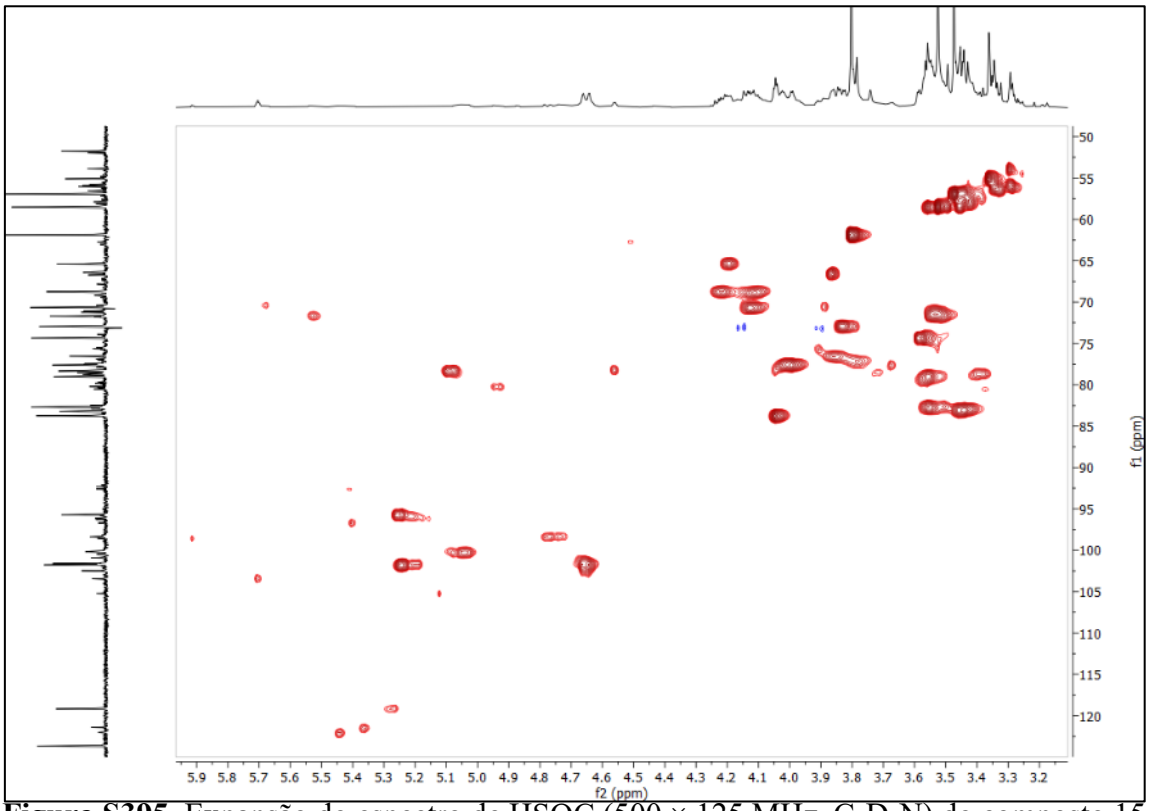


Figura S395. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 50-120 ppm e 3,2-5,9 ppm

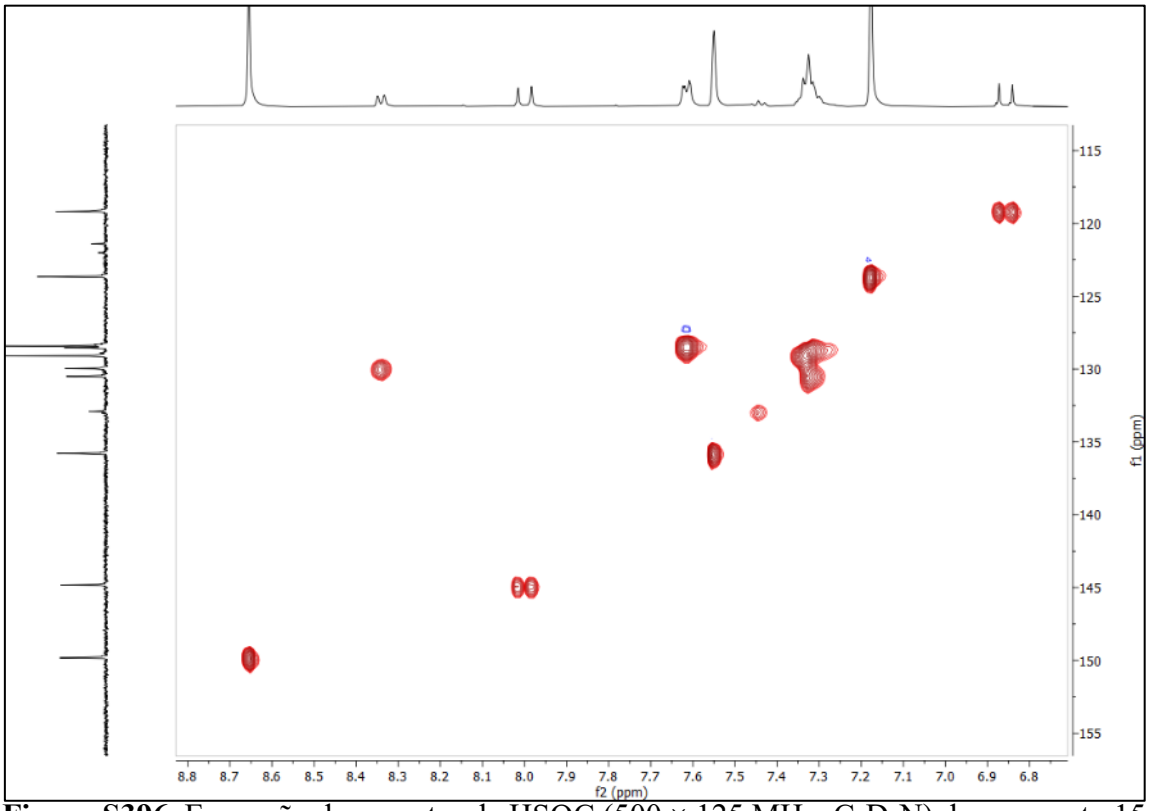


Figura S396. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 115-155 ppm e 6,8-8,8 ppm

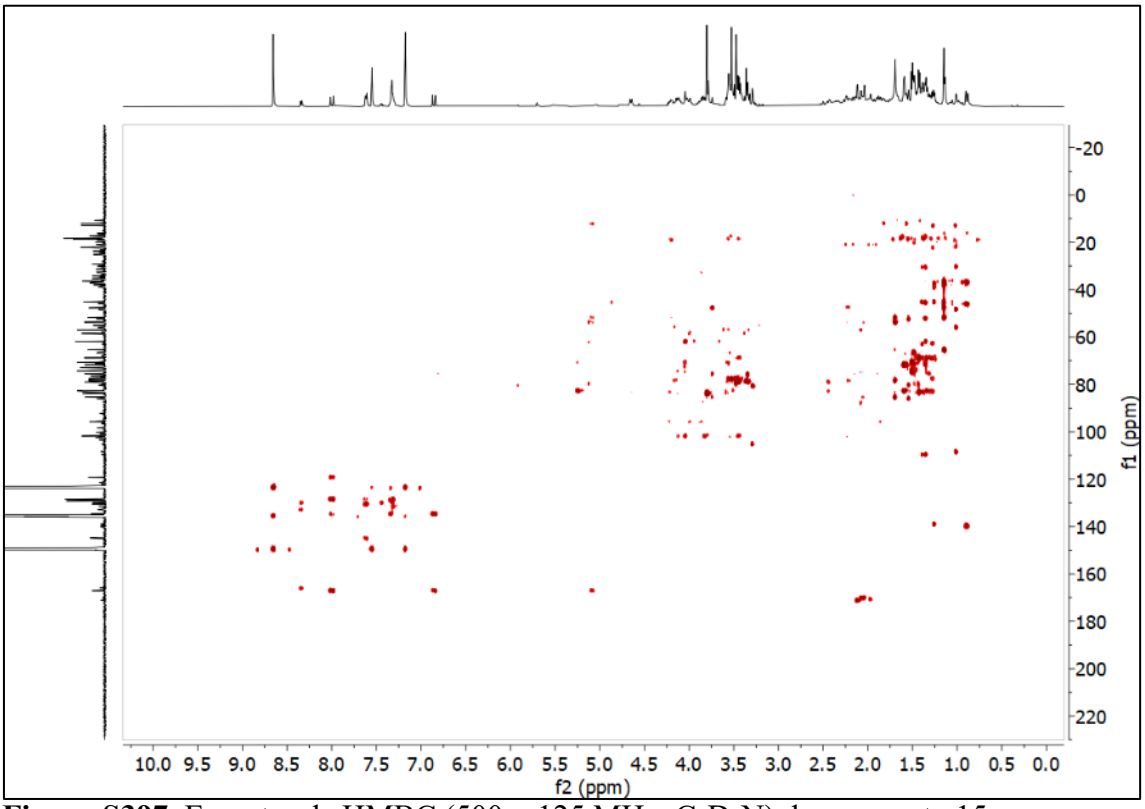


Figura S397. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15

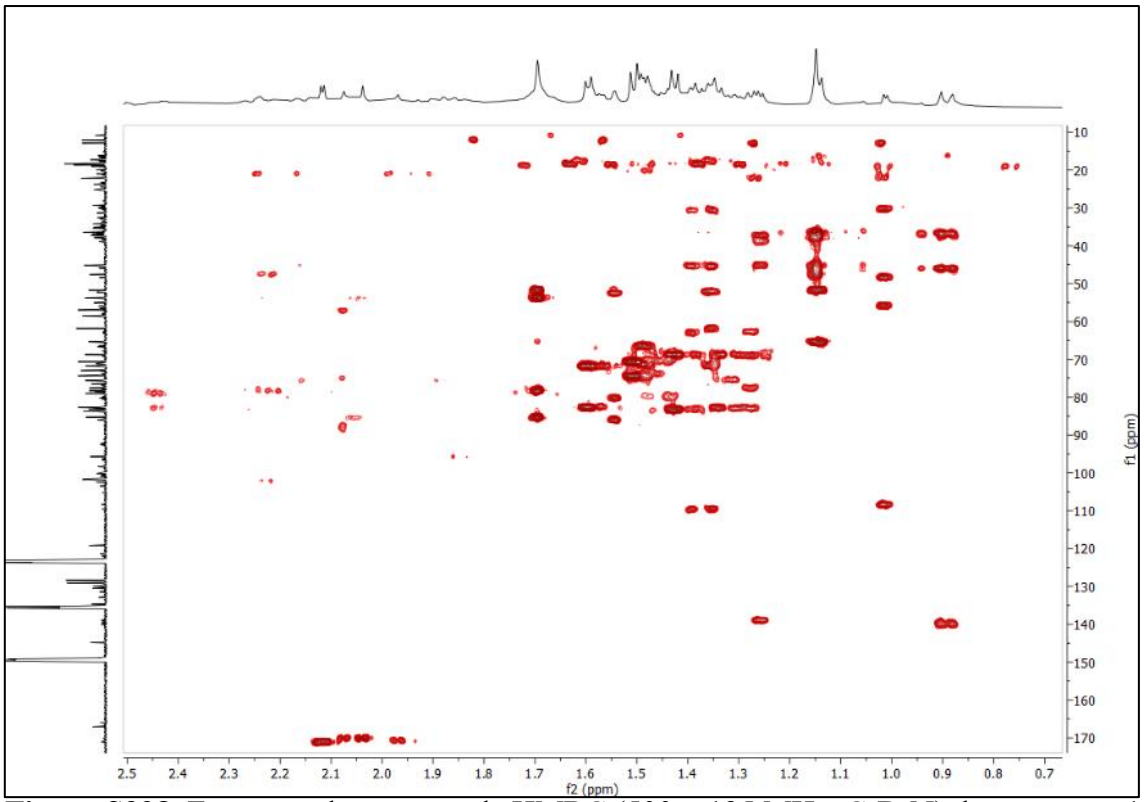


Figura S398. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,5 ppm

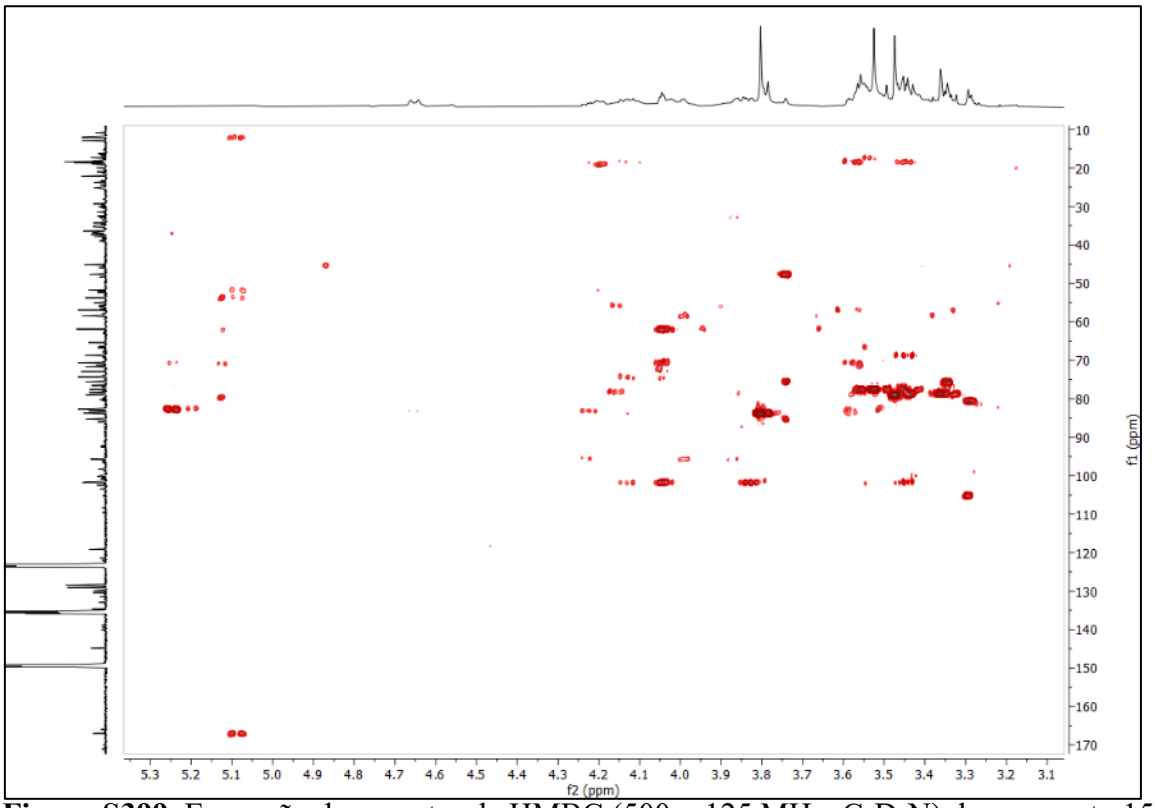


Figura S399. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,3 ppm

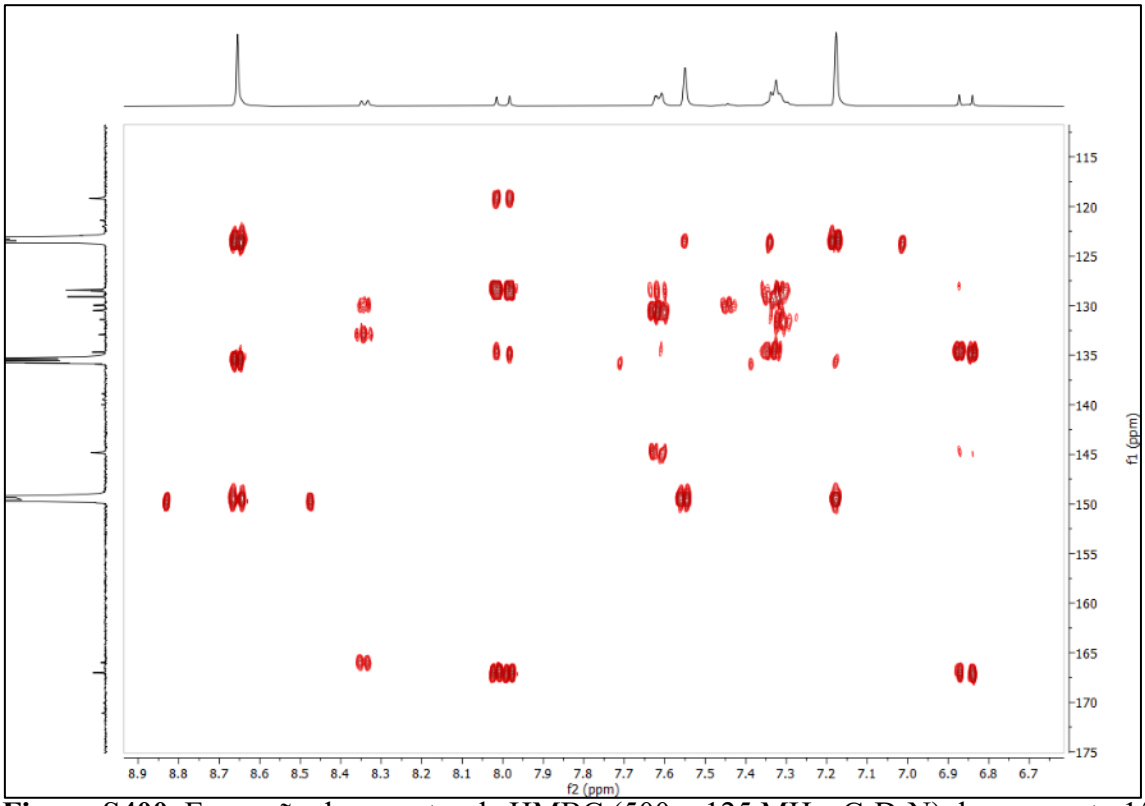


Figura S400. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 115-175 ppm e 6,7-8,9 ppm

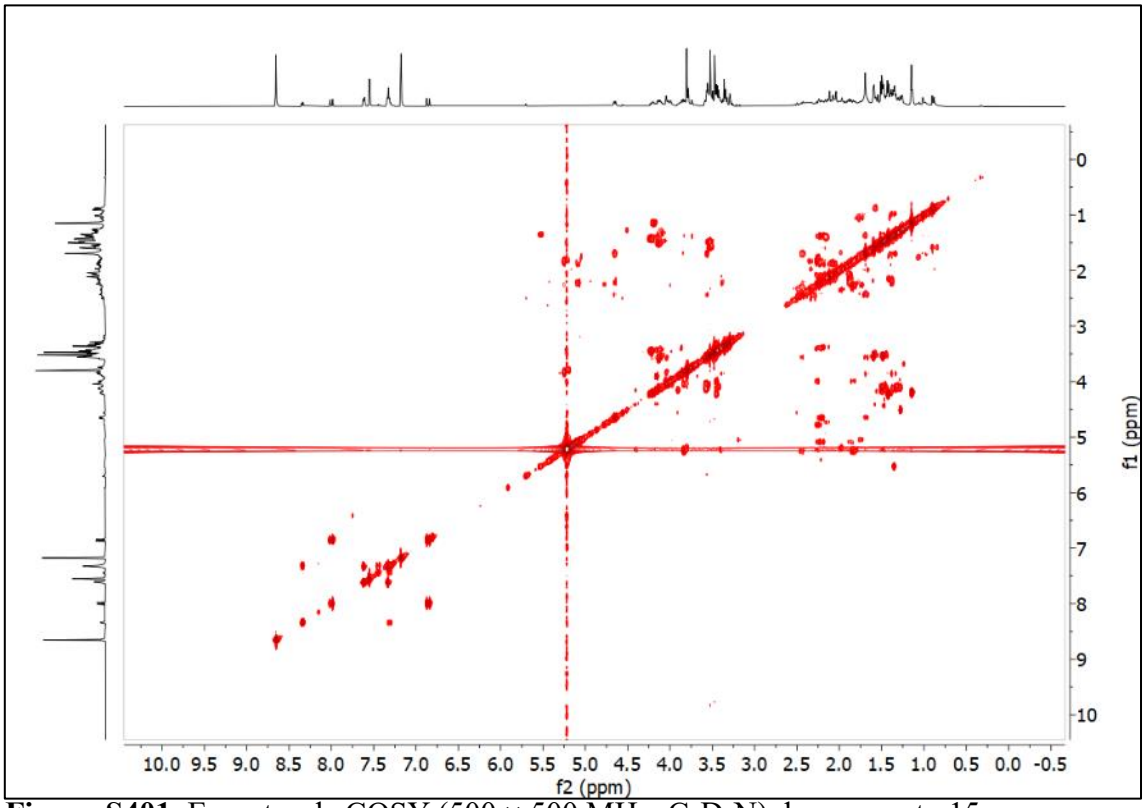


Figura S401. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15

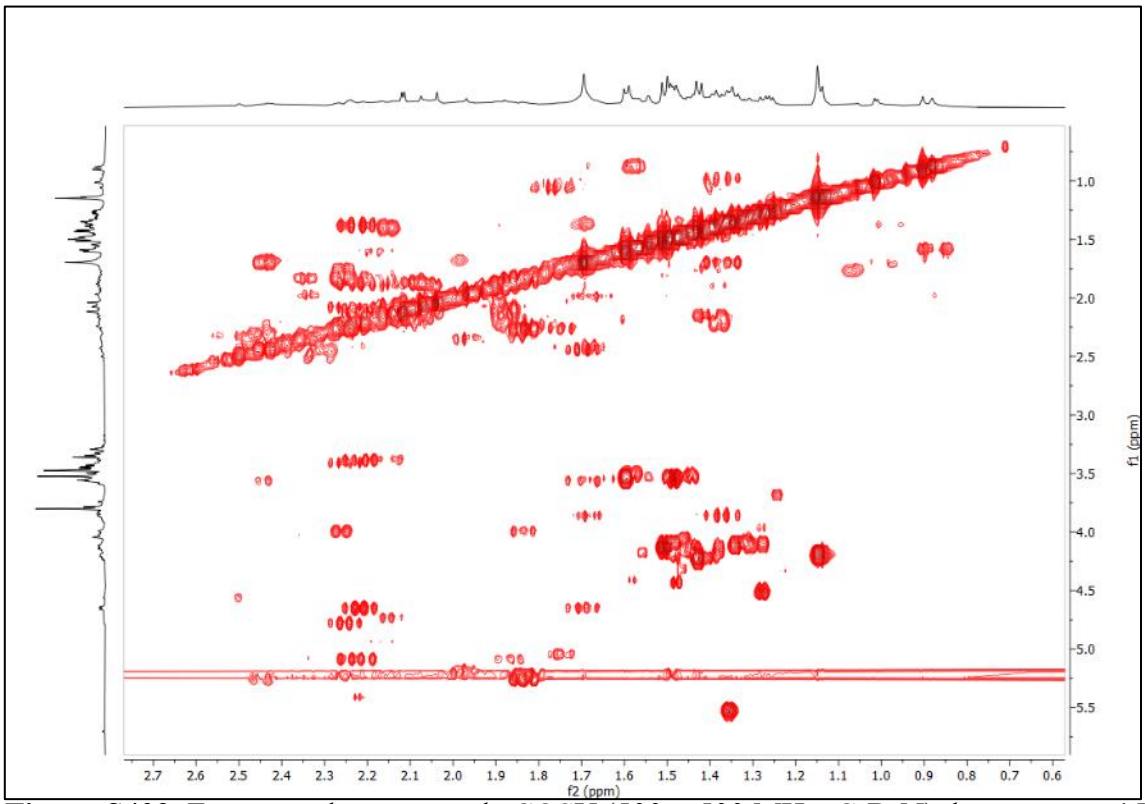


Figura S402. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,6-2,7 ppm

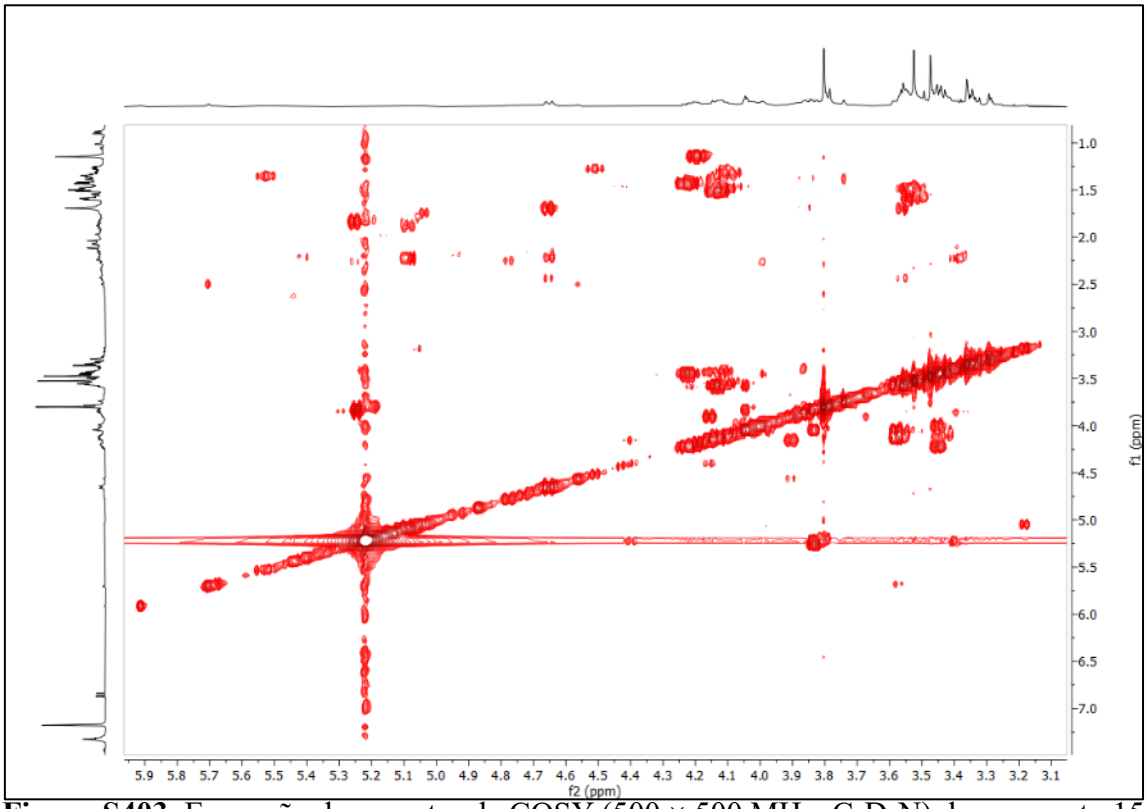


Figura S403. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,0-7,0 ppm e 3,1-5,9 ppm

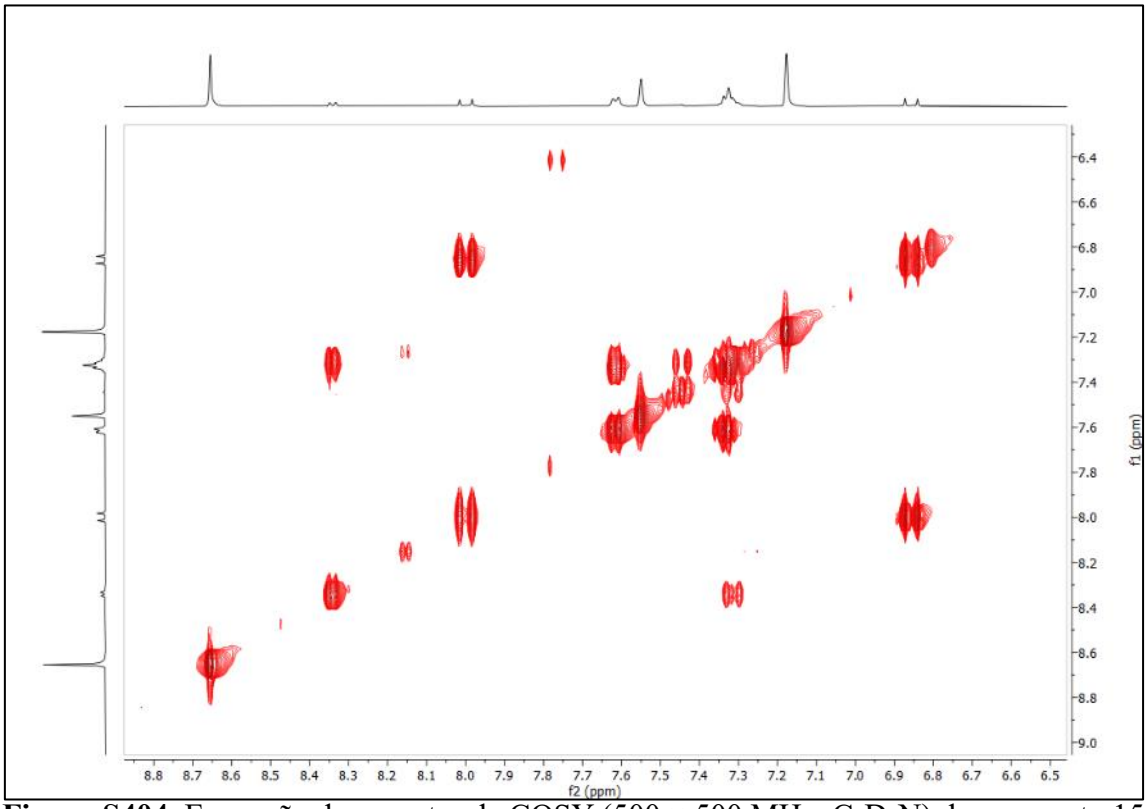


Figura S404. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 6,4-9,0 ppm e 6,5-8,8 ppm

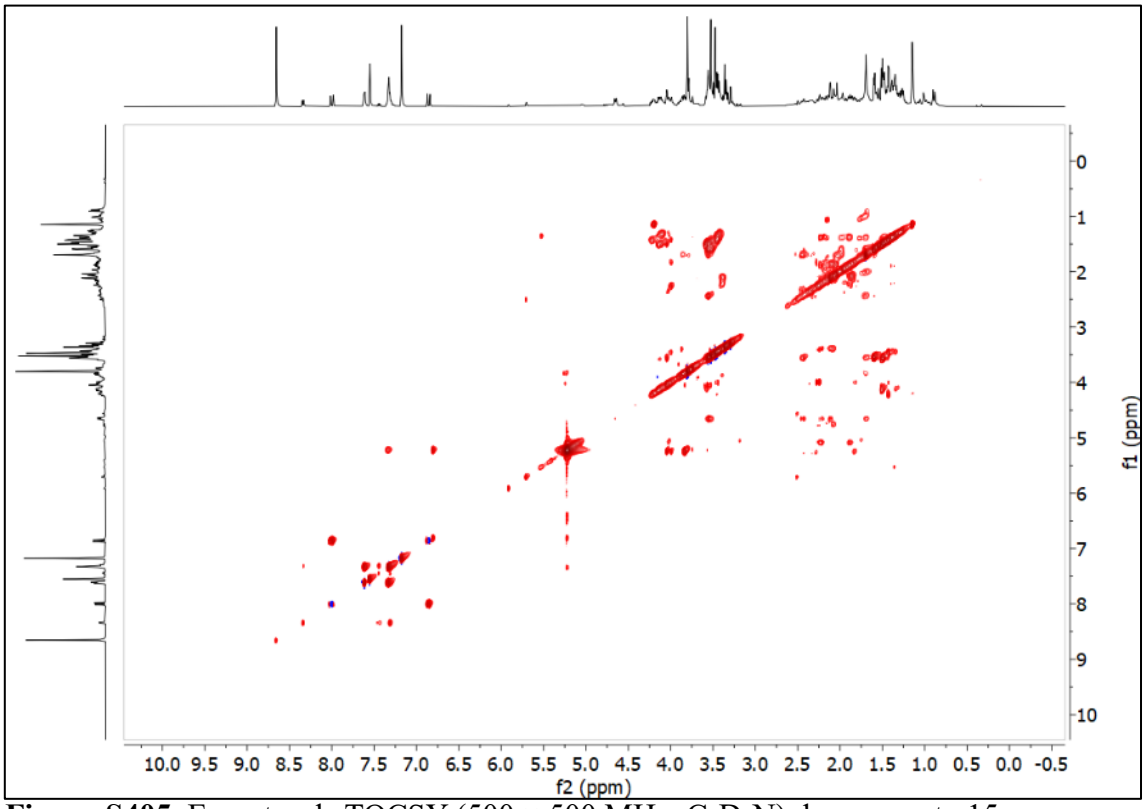


Figura S405. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15

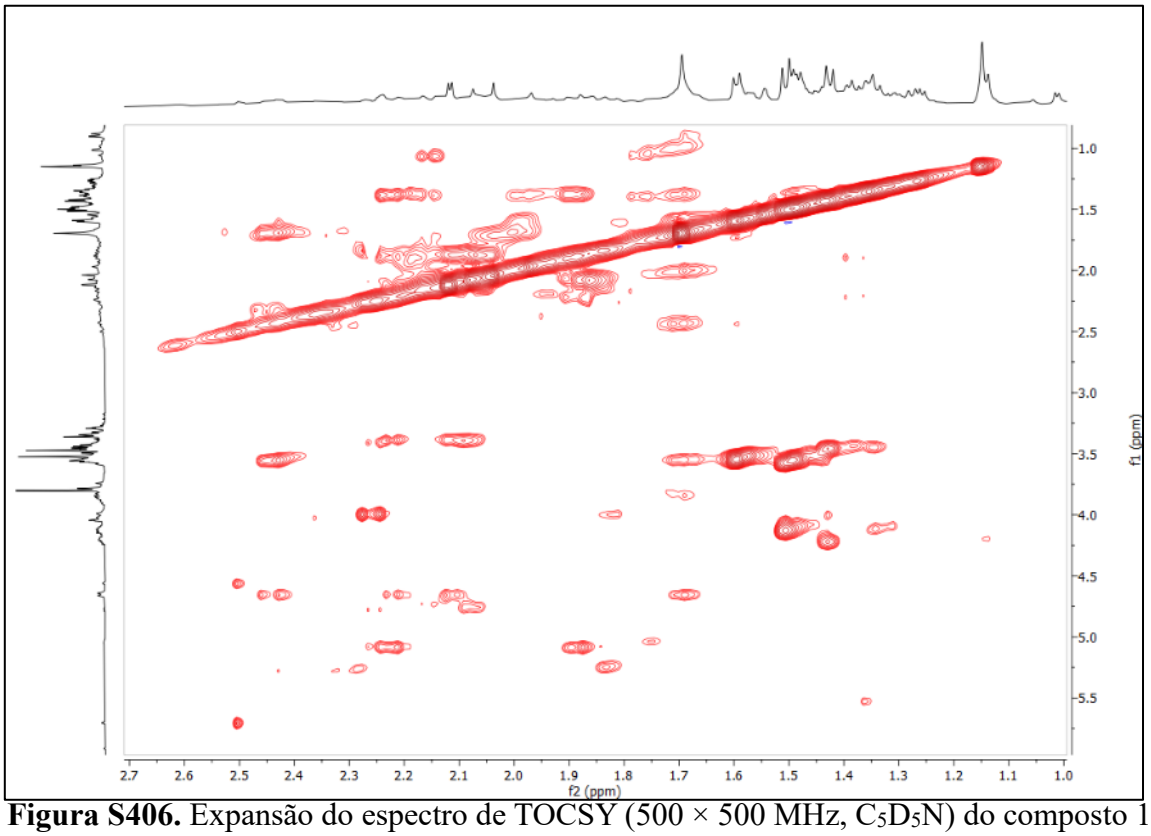


Figura S406. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 1,0-2,7 ppm

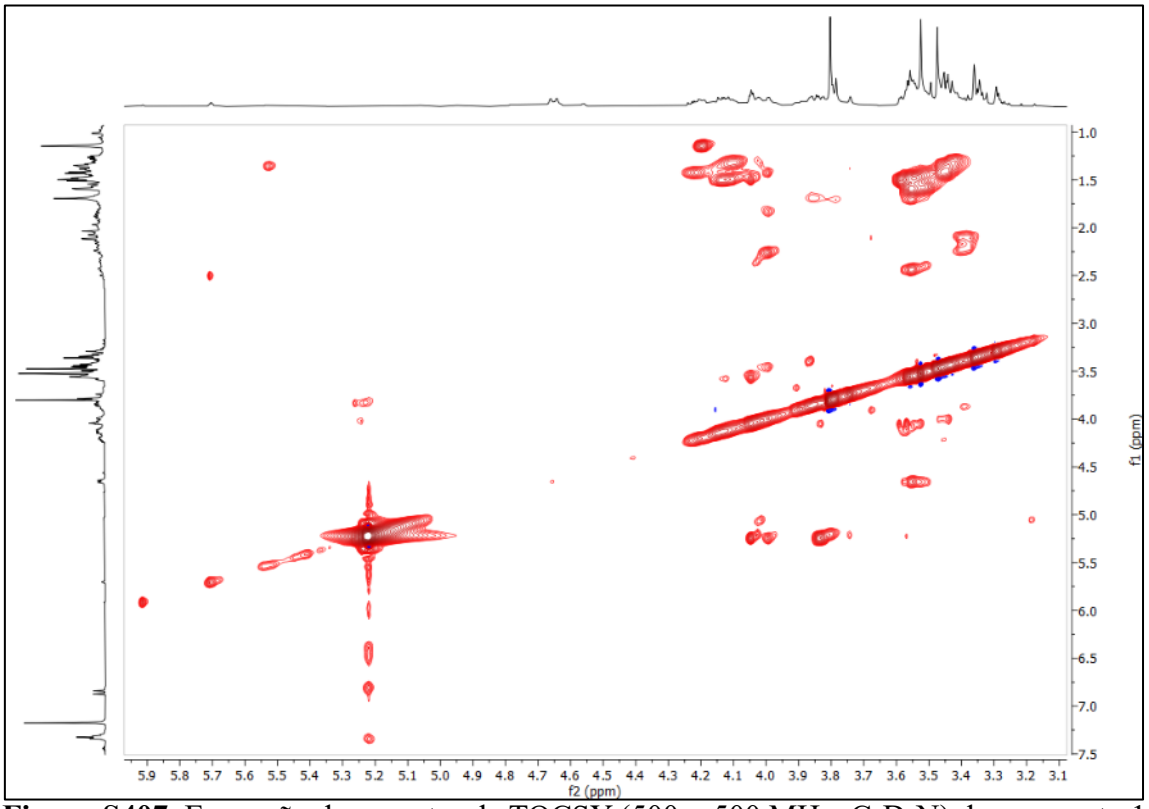


Figura S407. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,0-7,5 ppm e 3,1-5,9 ppm

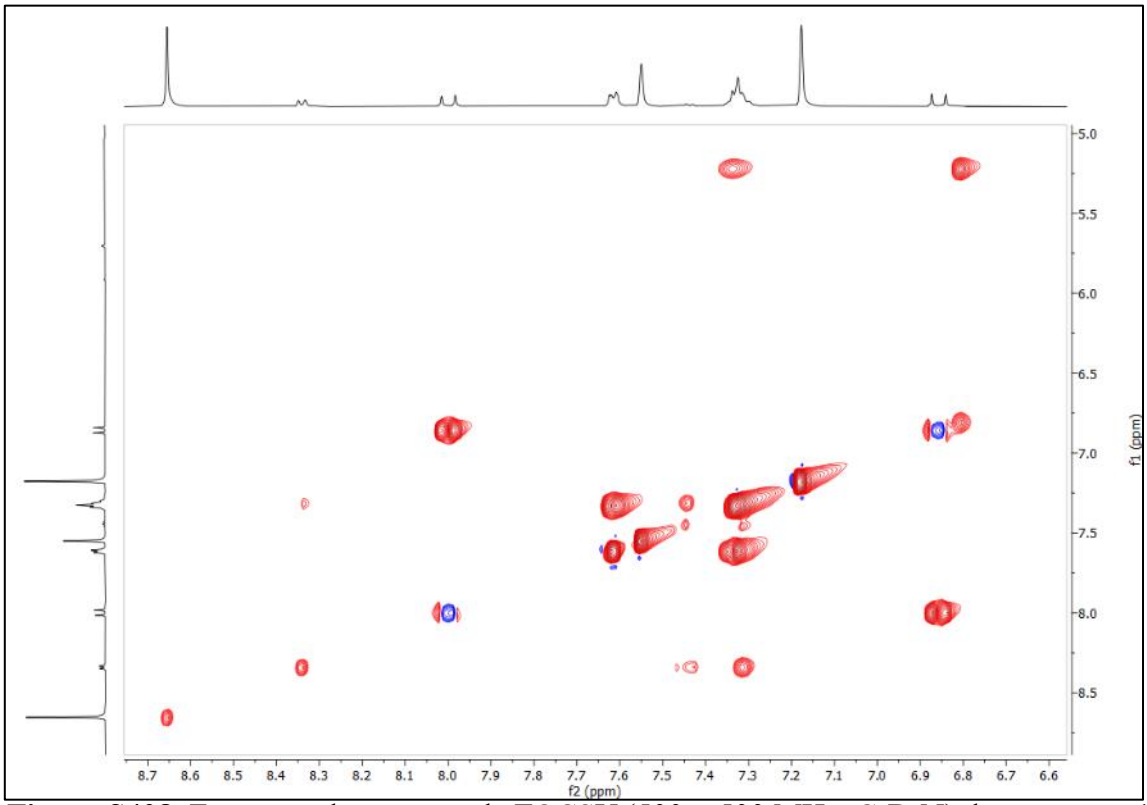


Figura S408. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 5,0-8,5 ppm e 6,6-8,7 ppm

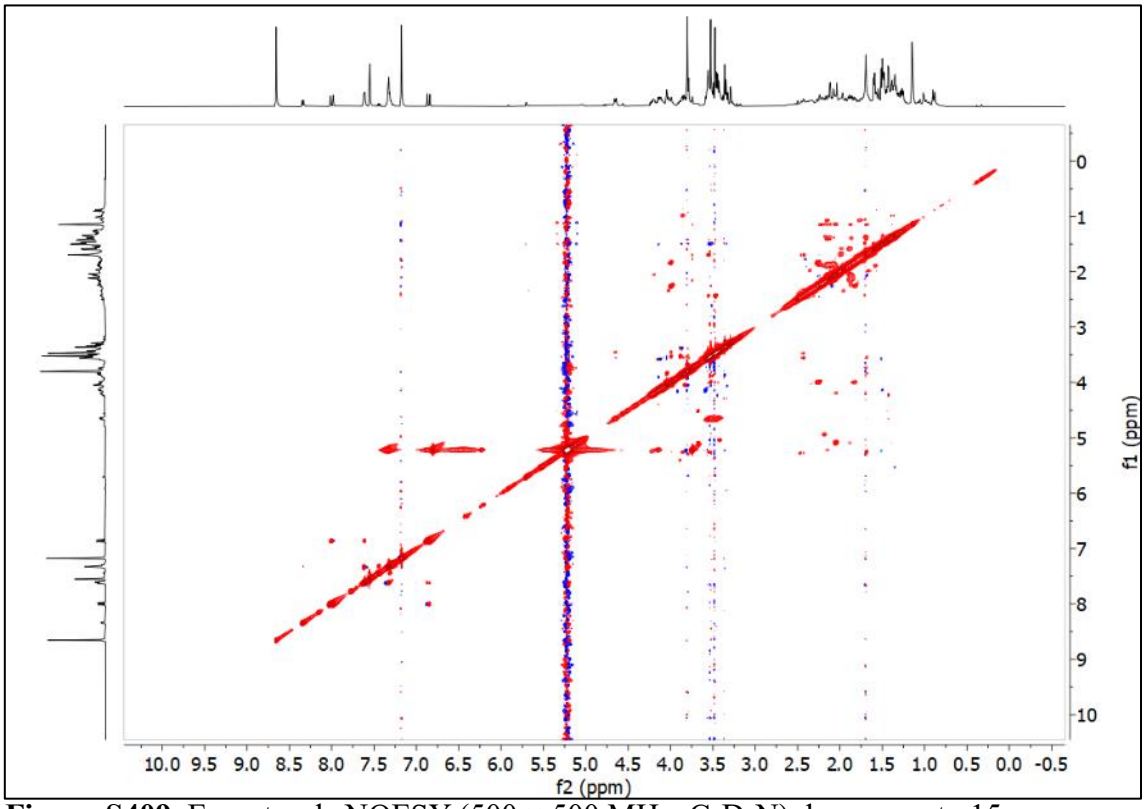


Figura S409. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15

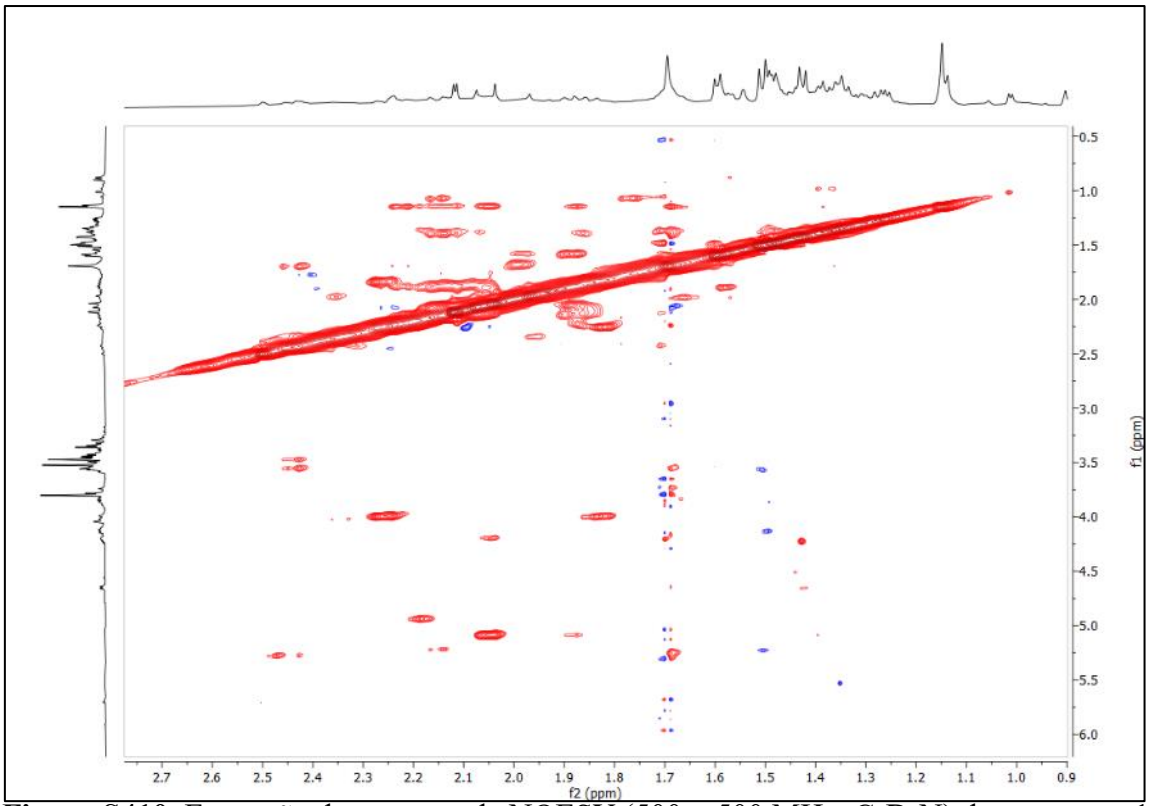


Figura S410. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 0,5-6,0 ppm e 0,9-2,7 ppm

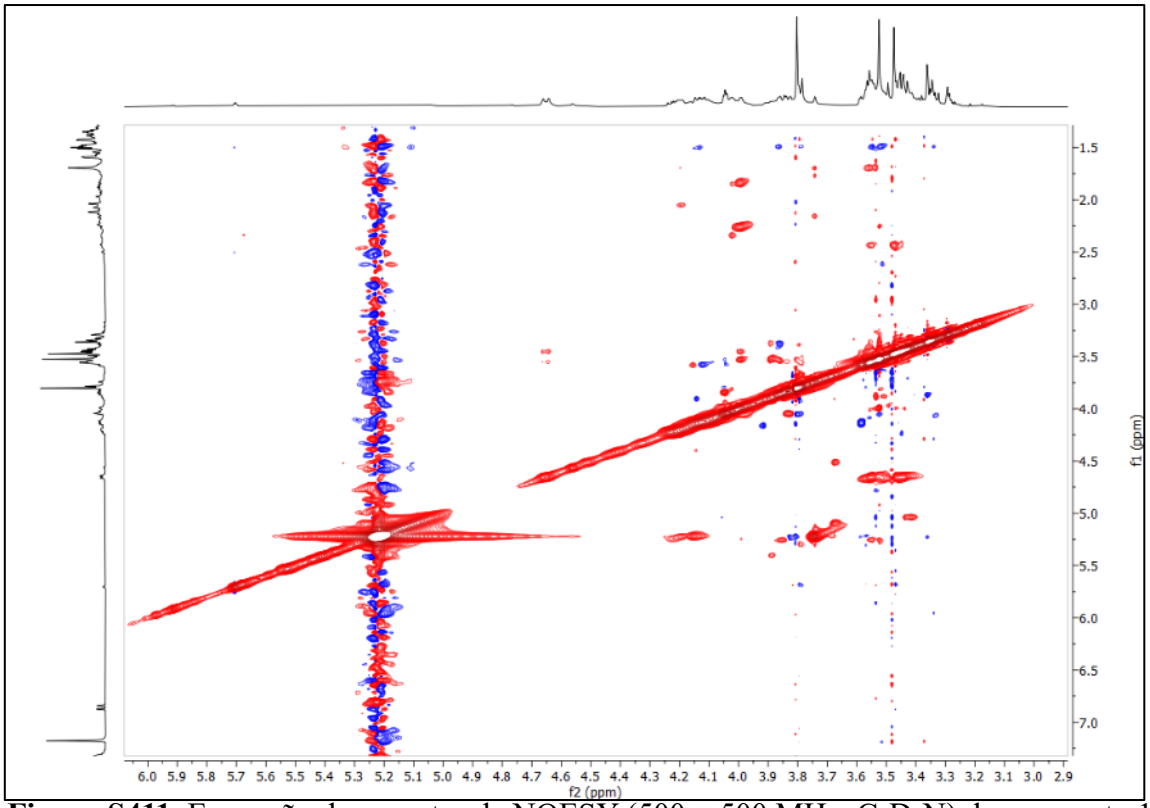


Figura S411. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 1,5-7,0 ppm e 2,9-6,0 ppm

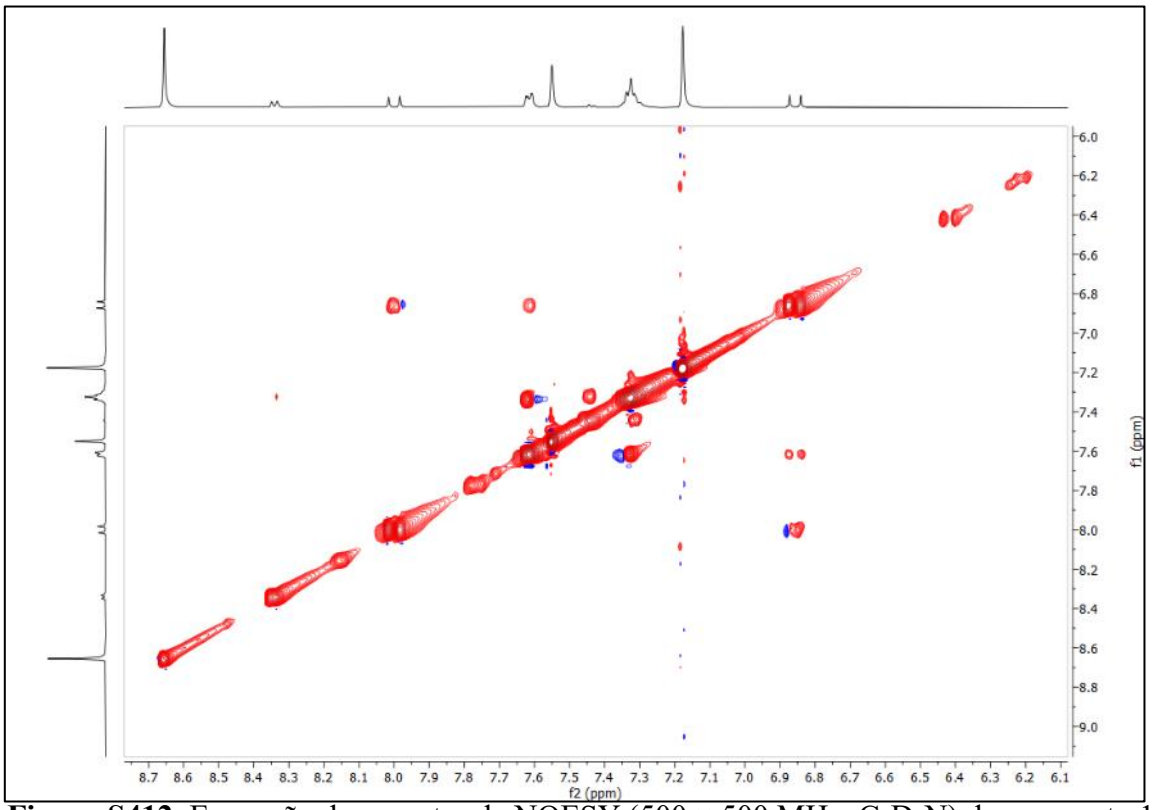


Figura S412. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 15 nas regiões de 6,0-9,0 ppm e 6,1-8,7 ppm

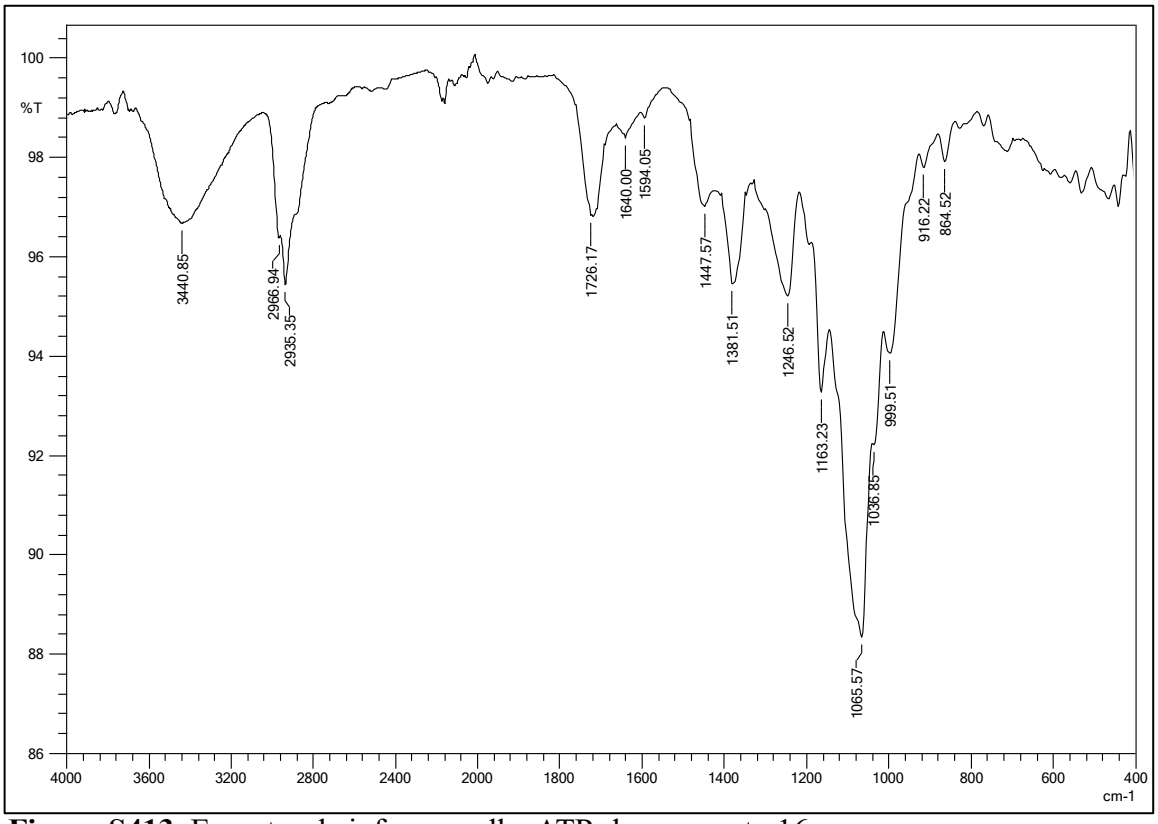


Figura S413. Espectro de infravermelho ATR do composto 16

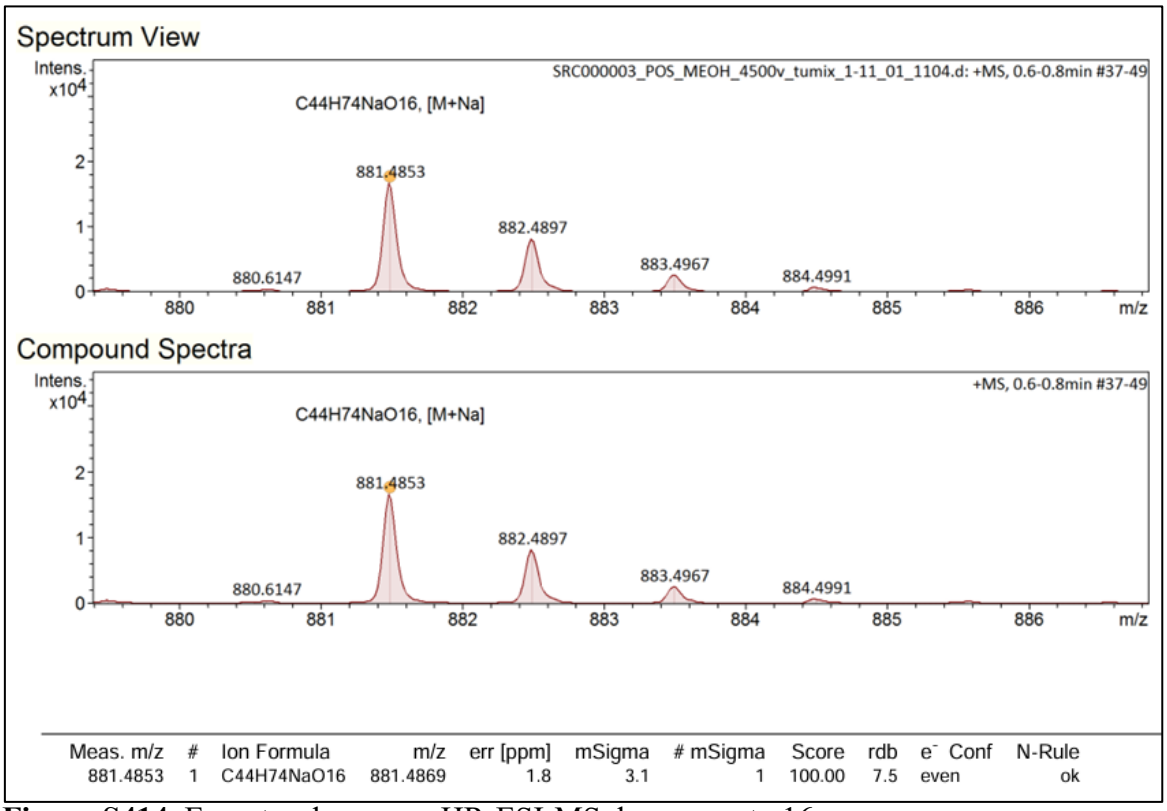


Figura S414. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 16

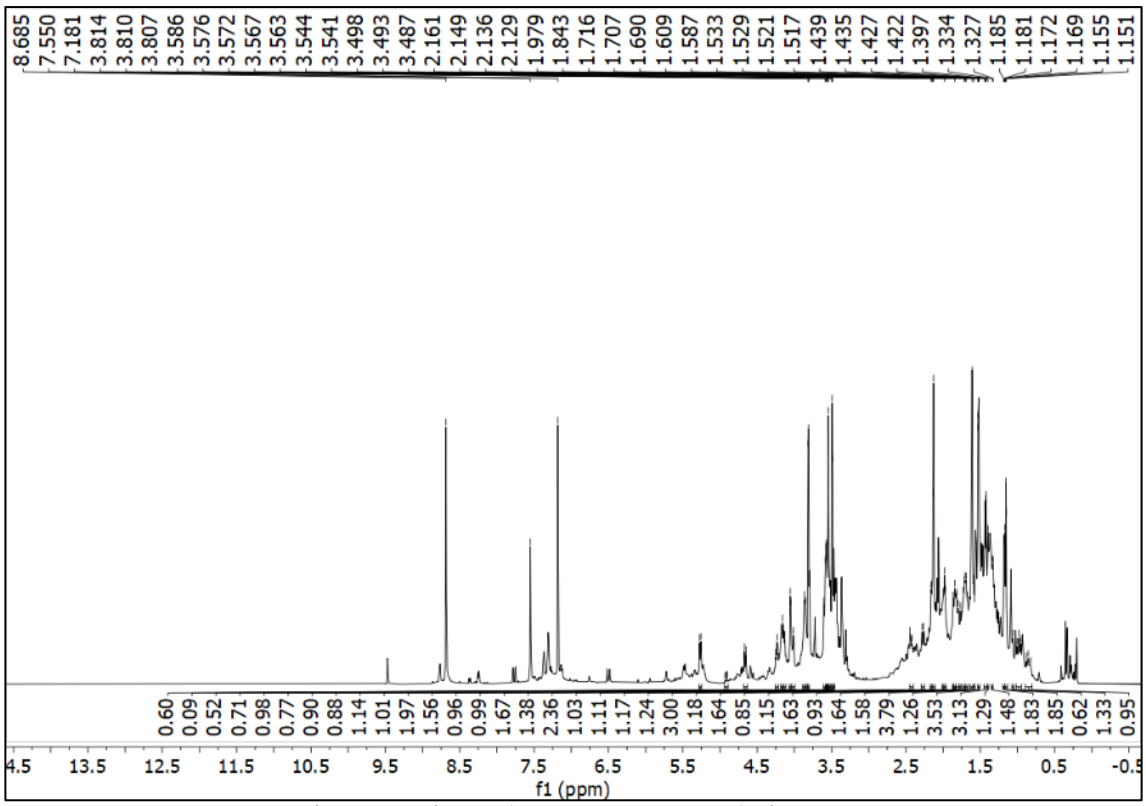


Figura S415. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 16

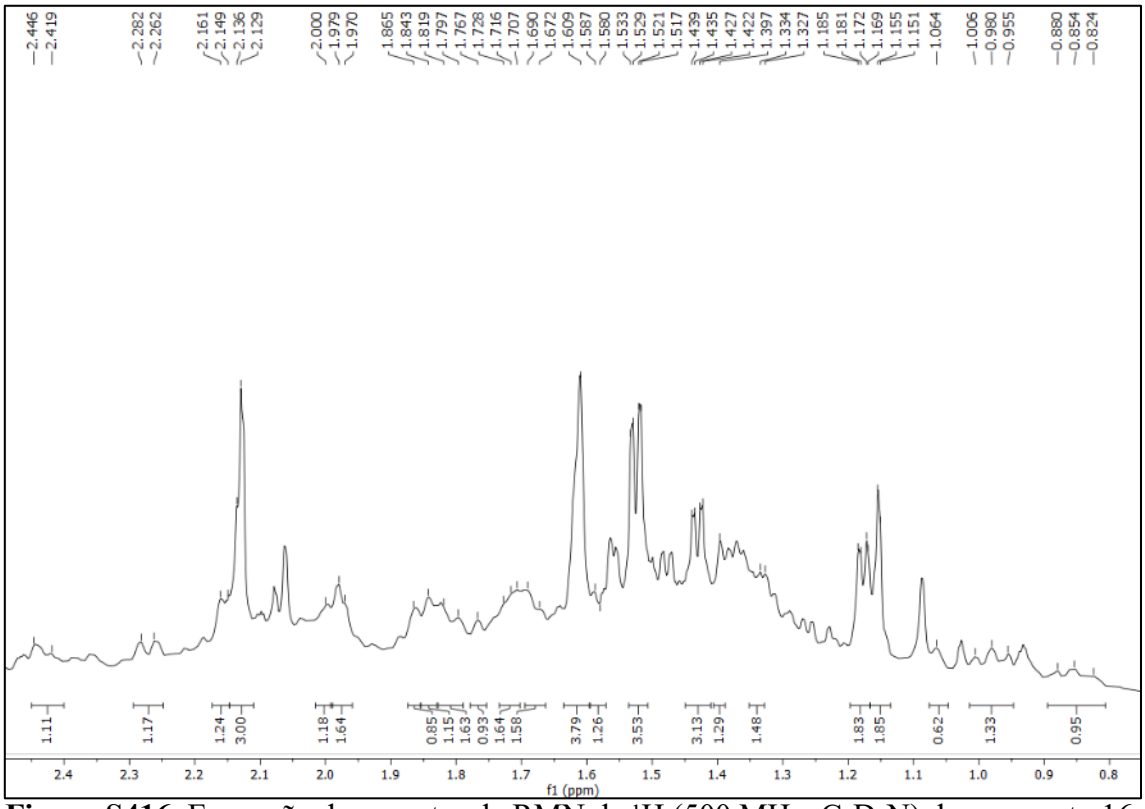


Figura S416. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 na região de 0,8-2,4 ppm

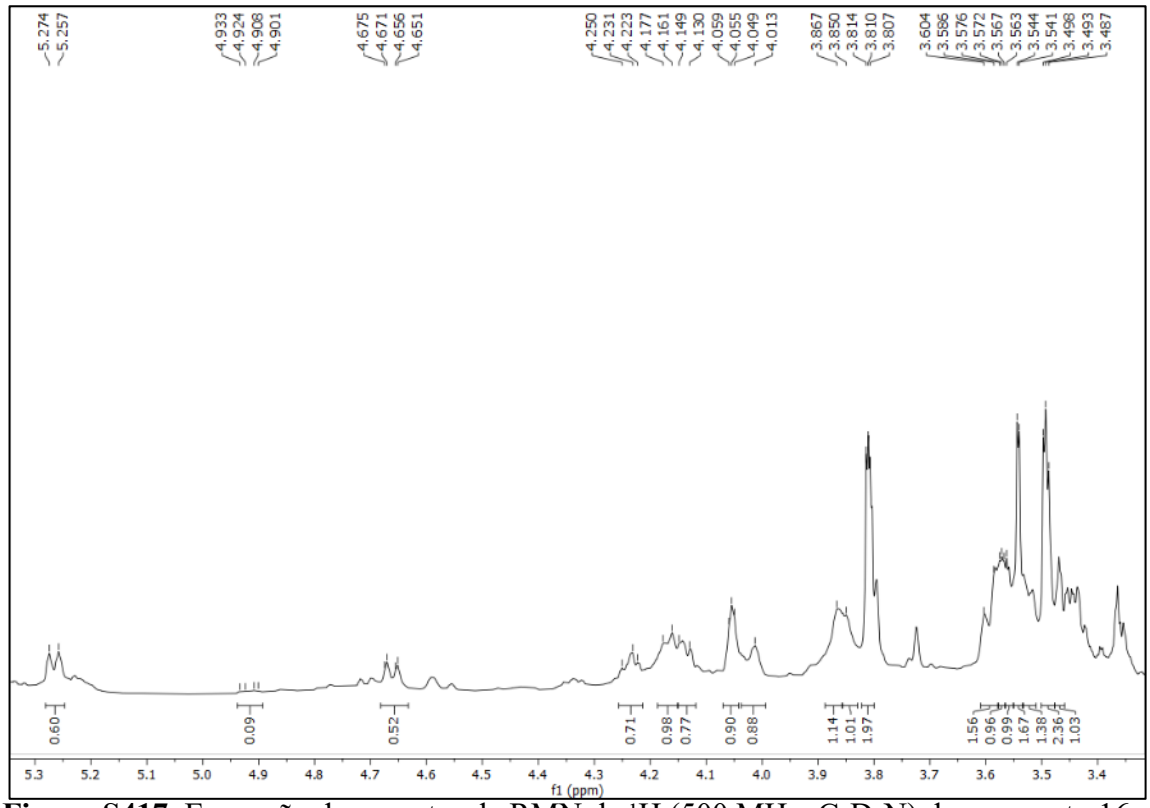


Figura S417. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 na região de 3,4-5,3 ppm

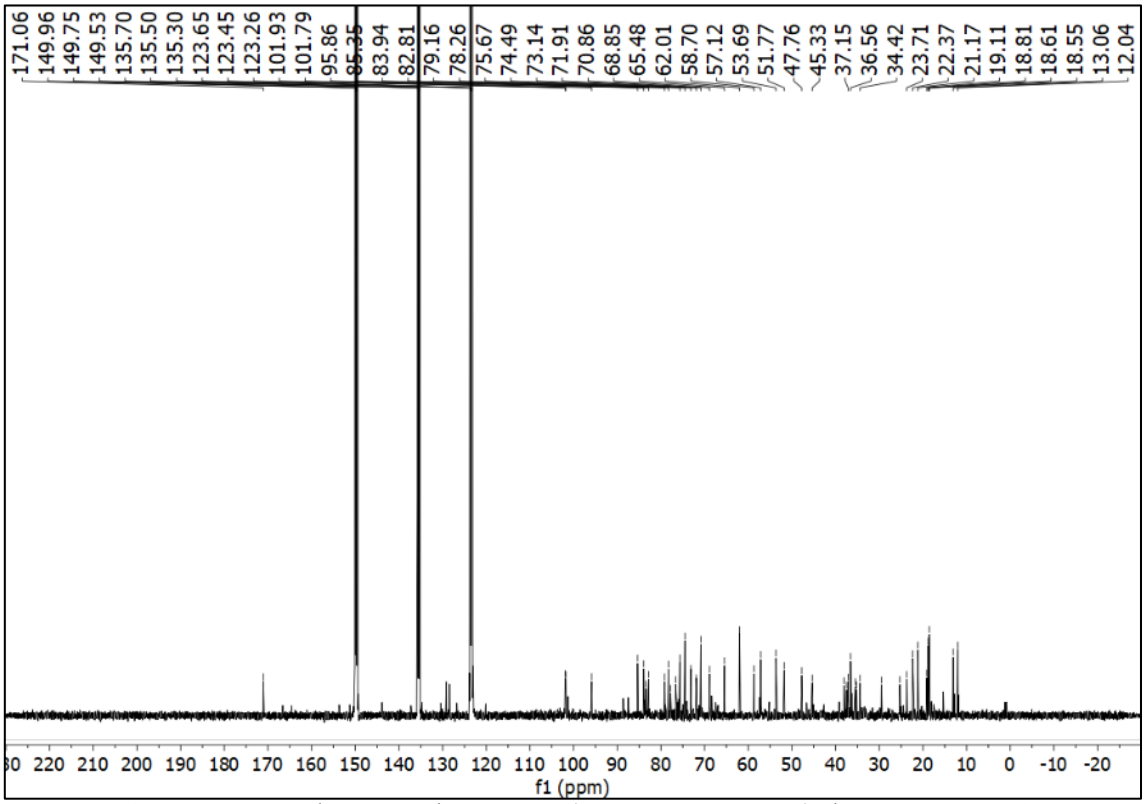


Figura S418. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 16

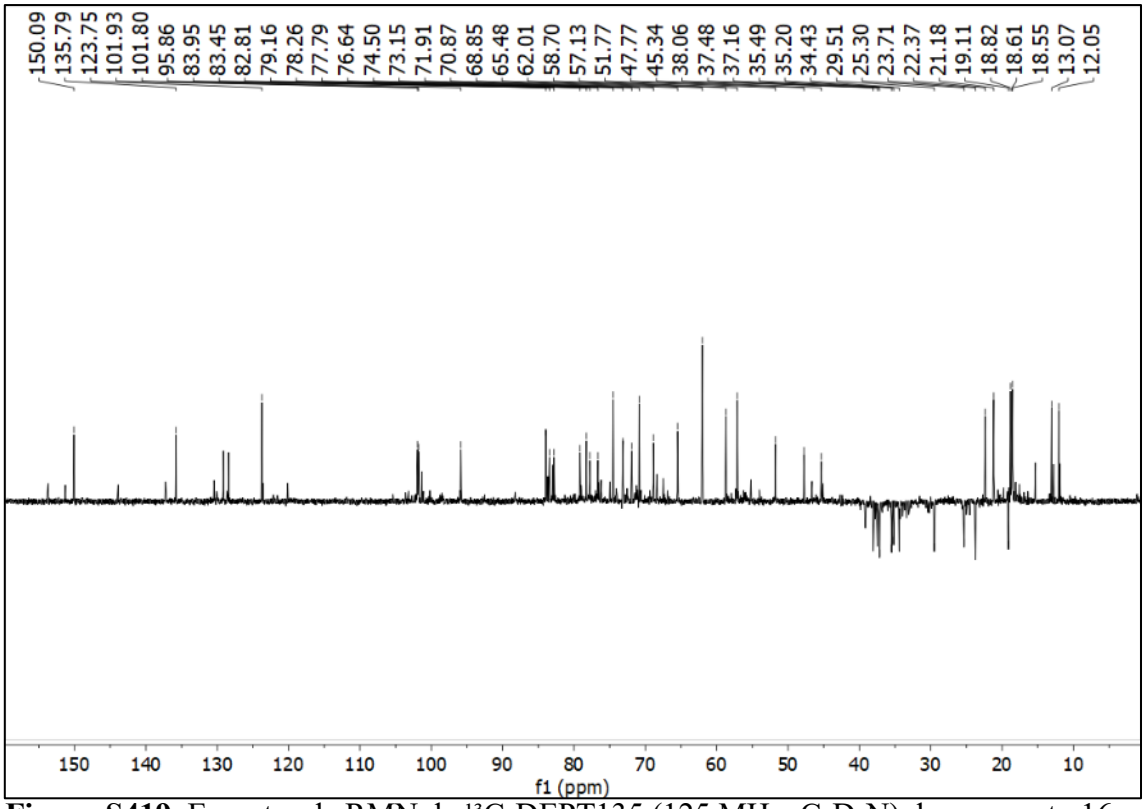


Figura S419. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 16

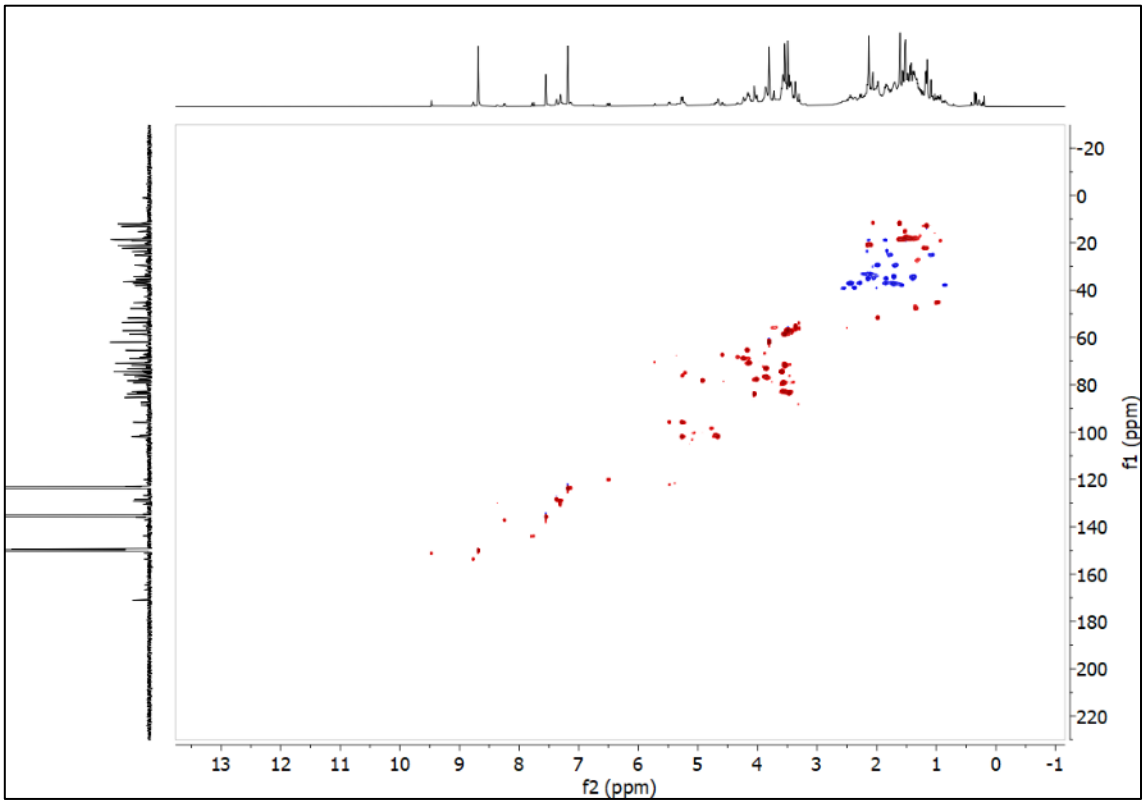


Figura S420. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16

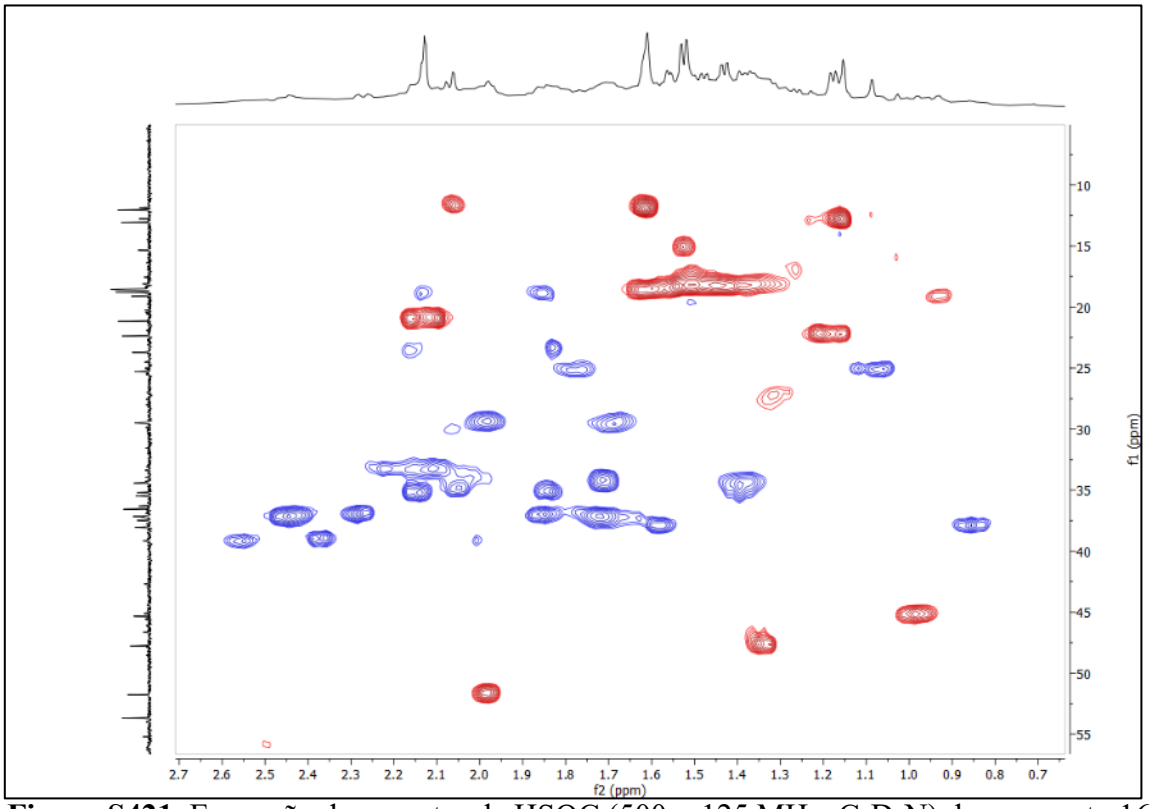


Figura S421. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 10-55 ppm e 0,7-2,7 ppm

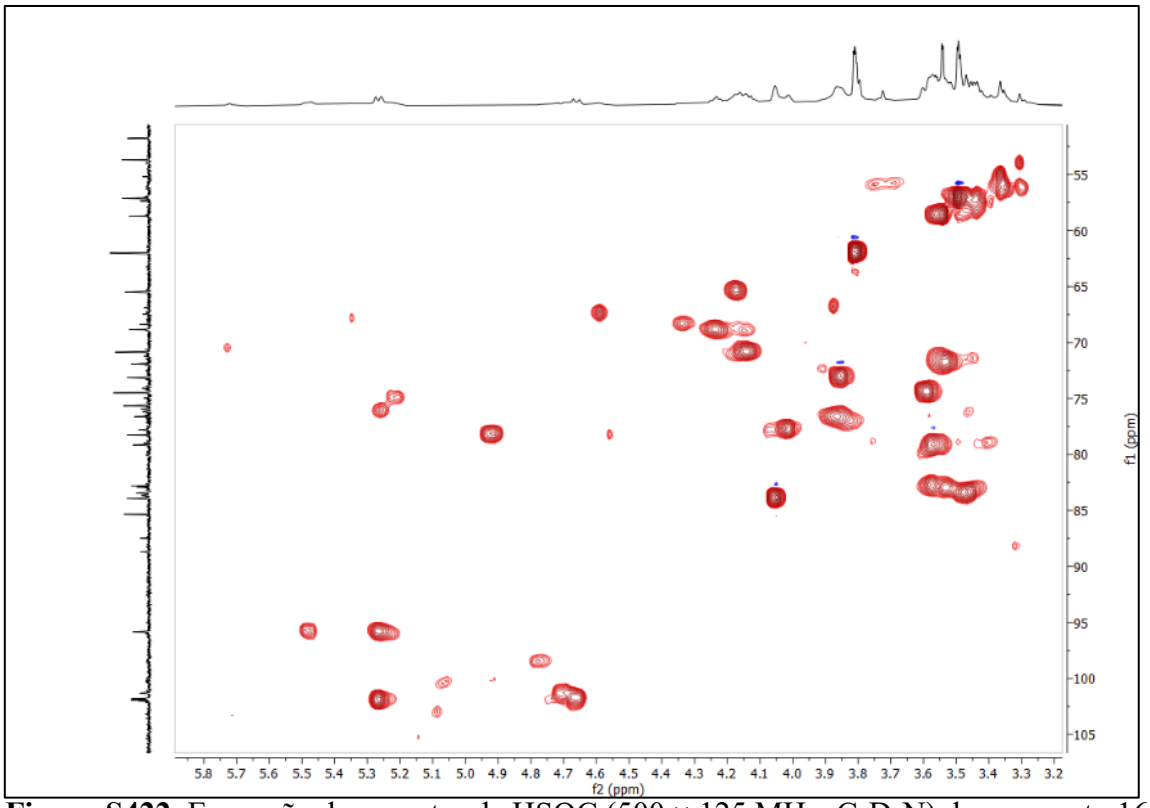


Figura S422. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 55-105 ppm e 3,2-5,8 ppm

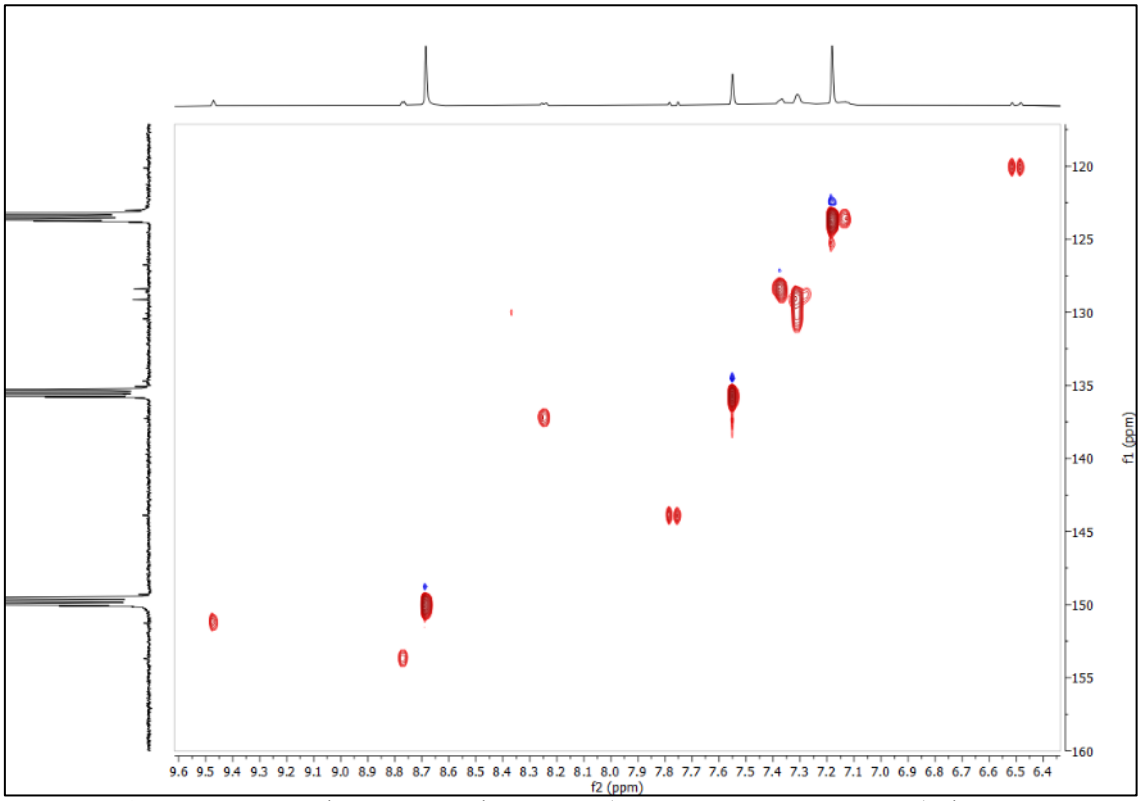


Figura S423. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 120-160 ppm e 6,4-9,6 ppm

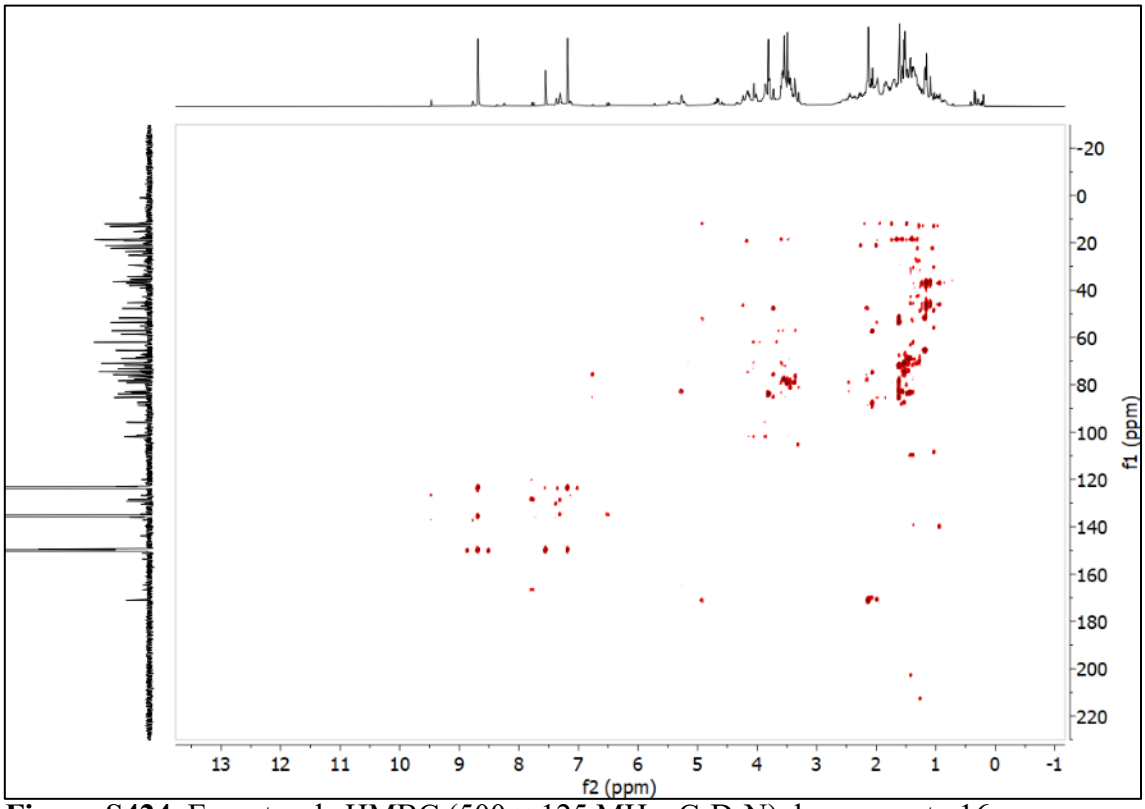


Figura S424. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16

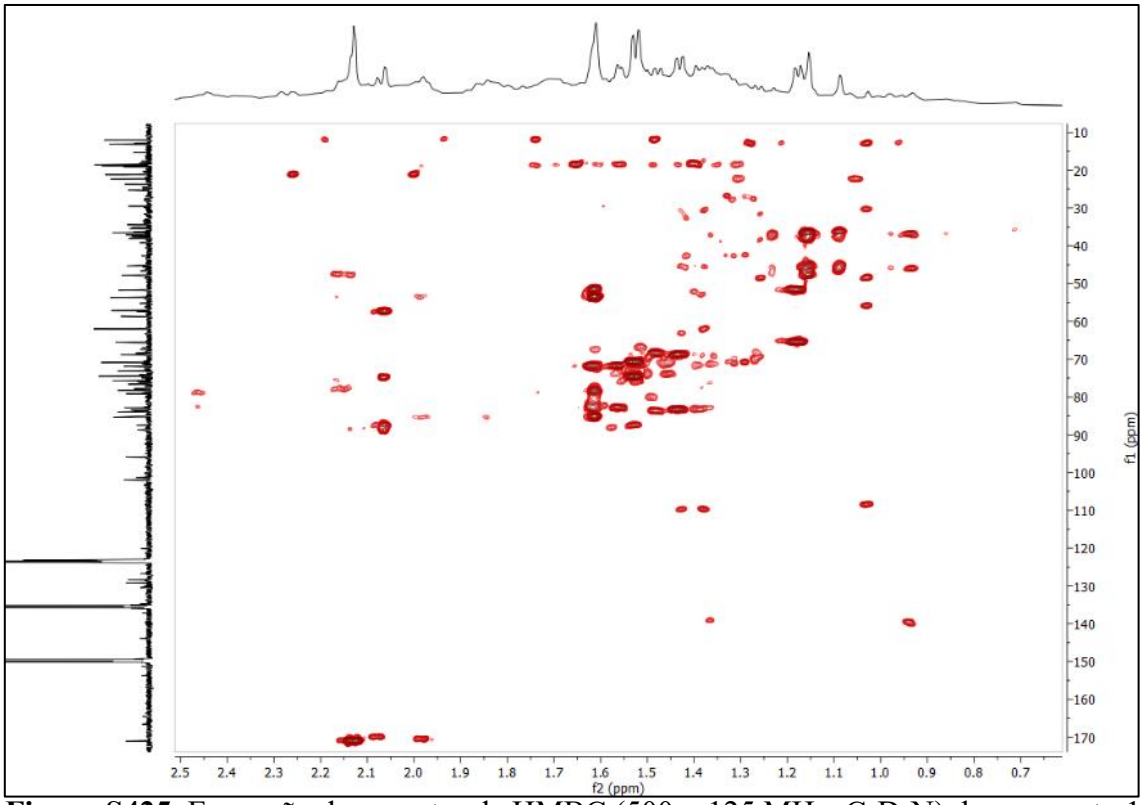


Figura S425. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 10-170 ppm e 0,7-2,5 ppm

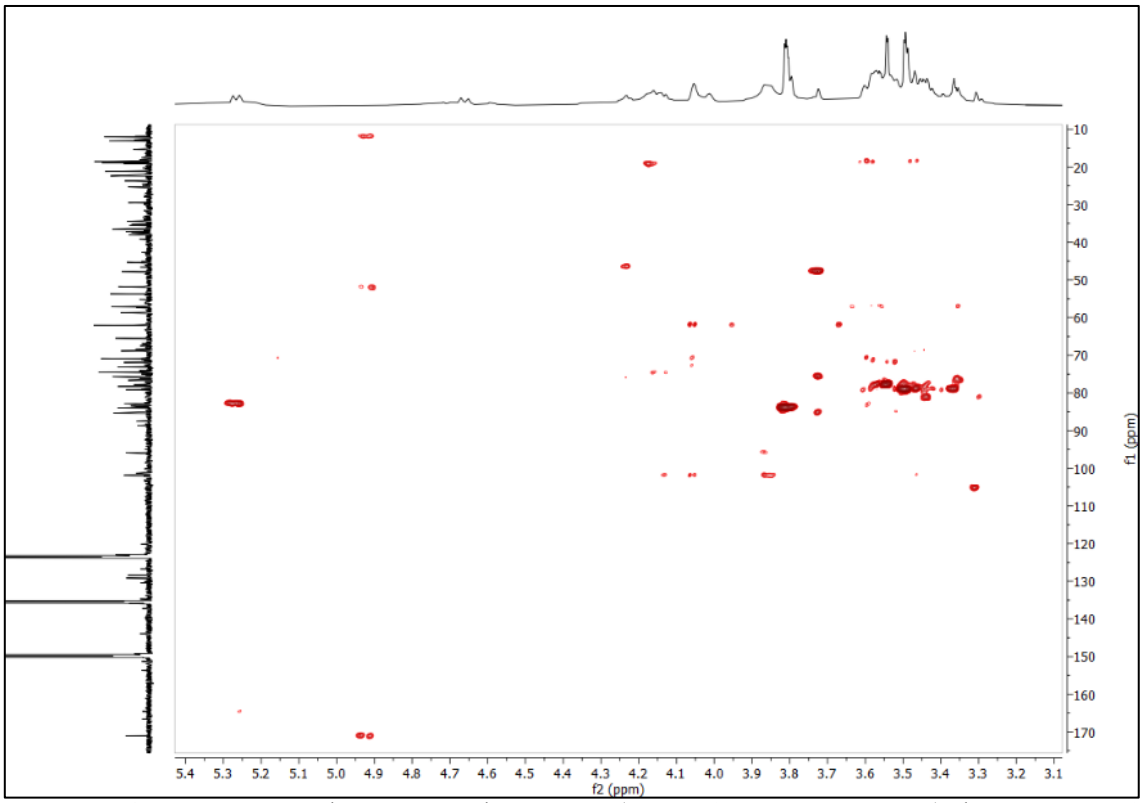


Figura S426. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,4 ppm

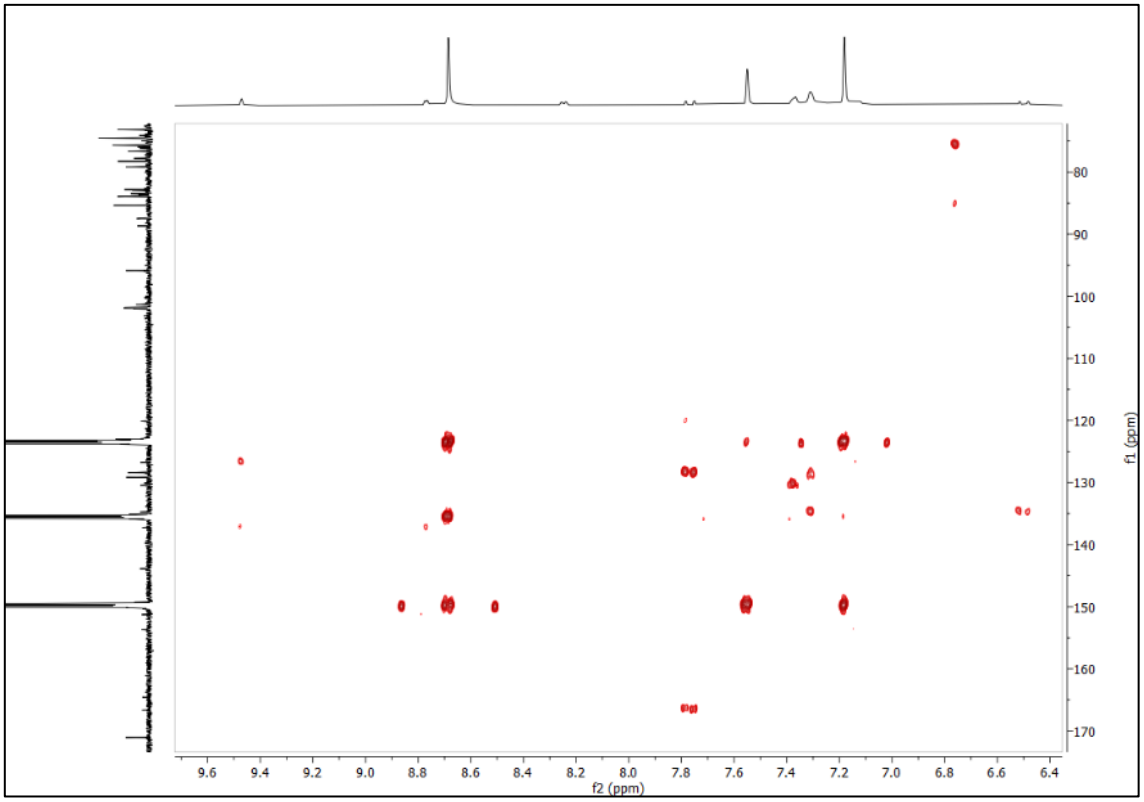


Figura S427. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 80-170 ppm e 6,4-9,6 ppm

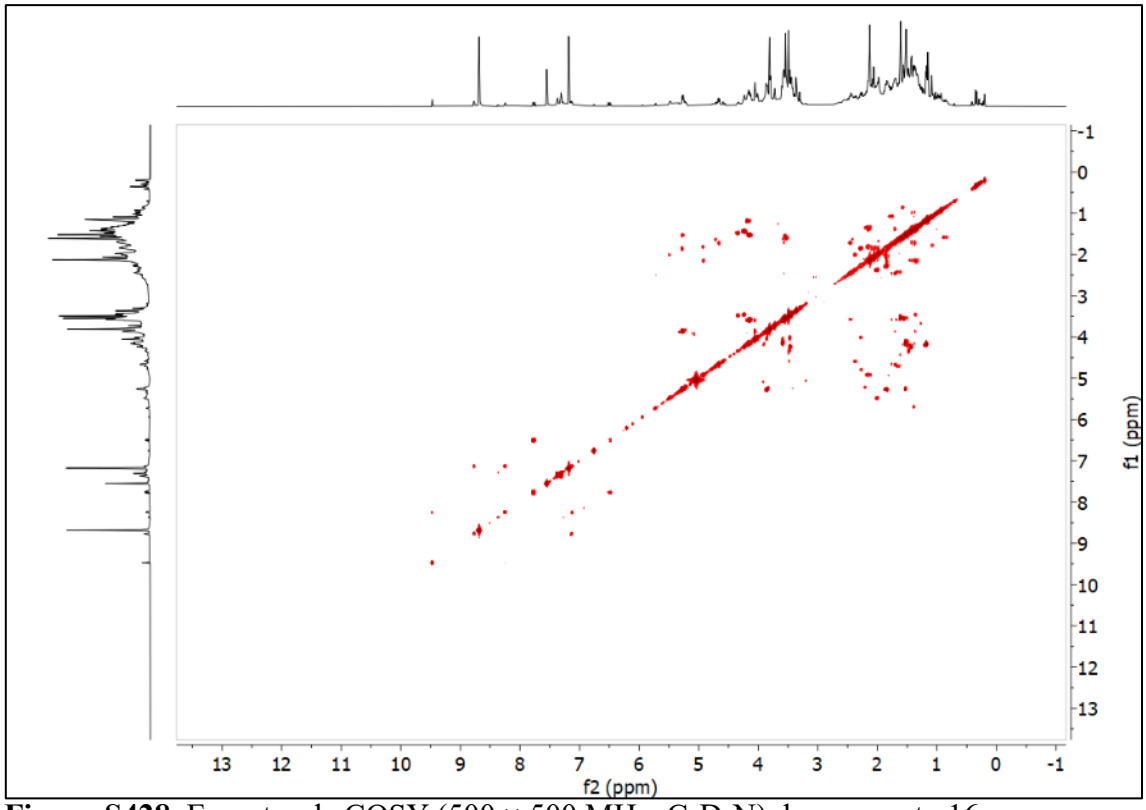


Figura S428. Espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16

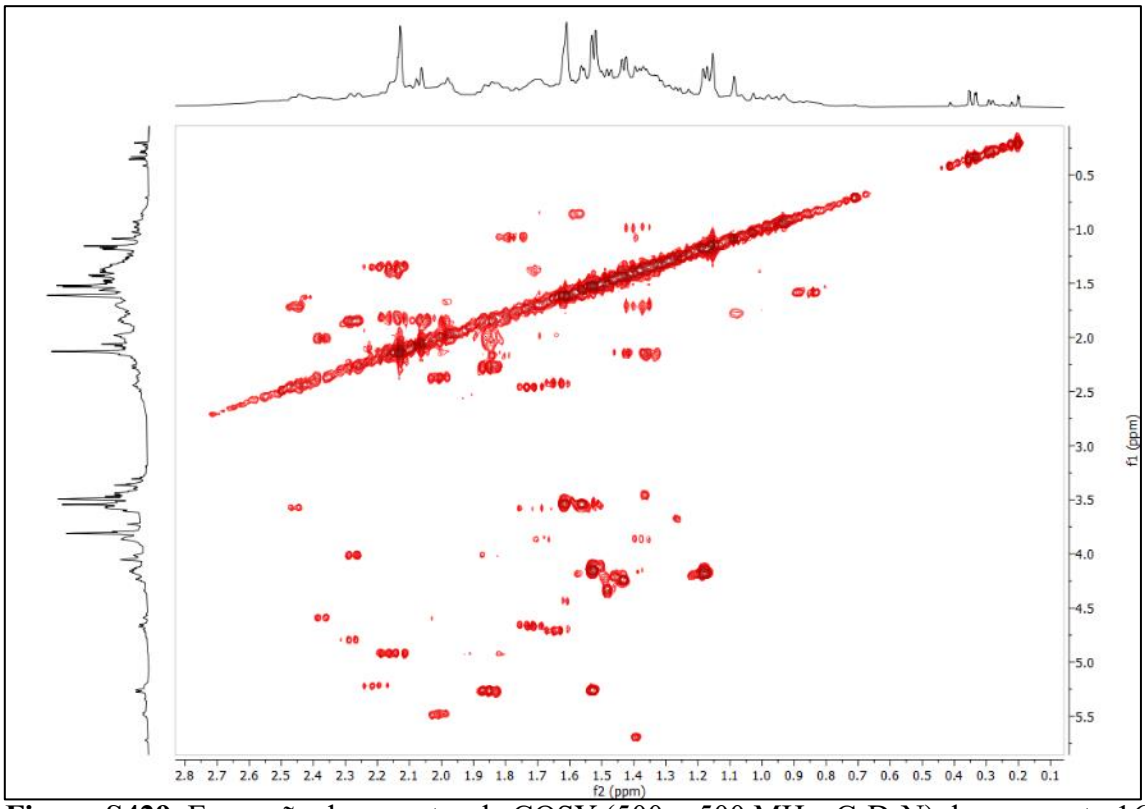


Figura S429. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,1-2,8 ppm

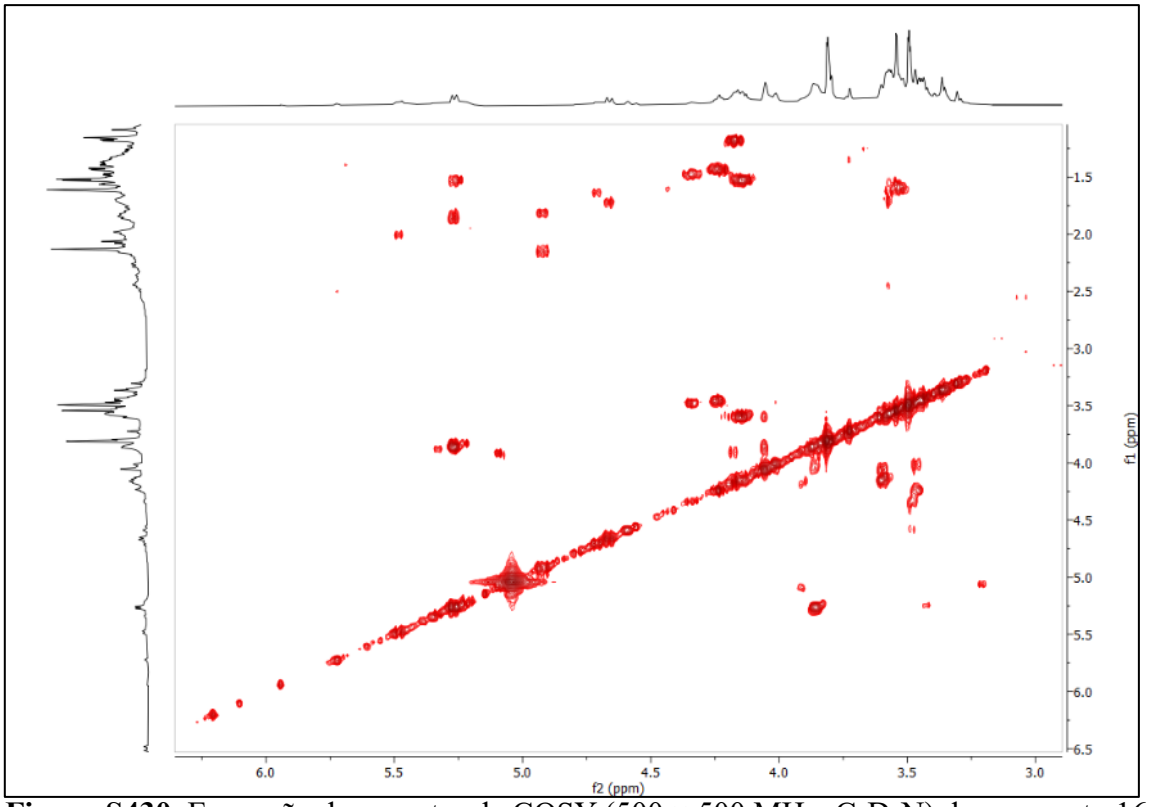


Figura S430. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 1,5-6,5 ppm e 3,0-6,0 ppm

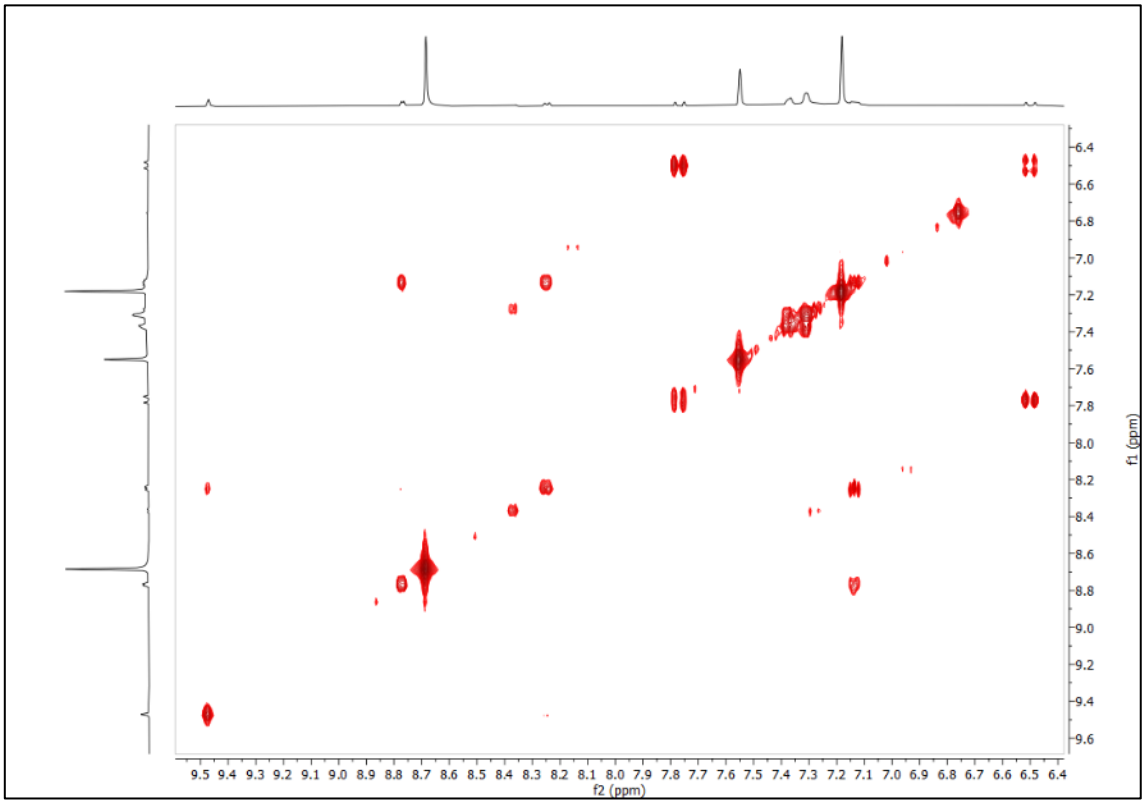


Figura S431. Expansão do espectro de COSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 6,4-9,6 ppm e 6,4-9,5 ppm

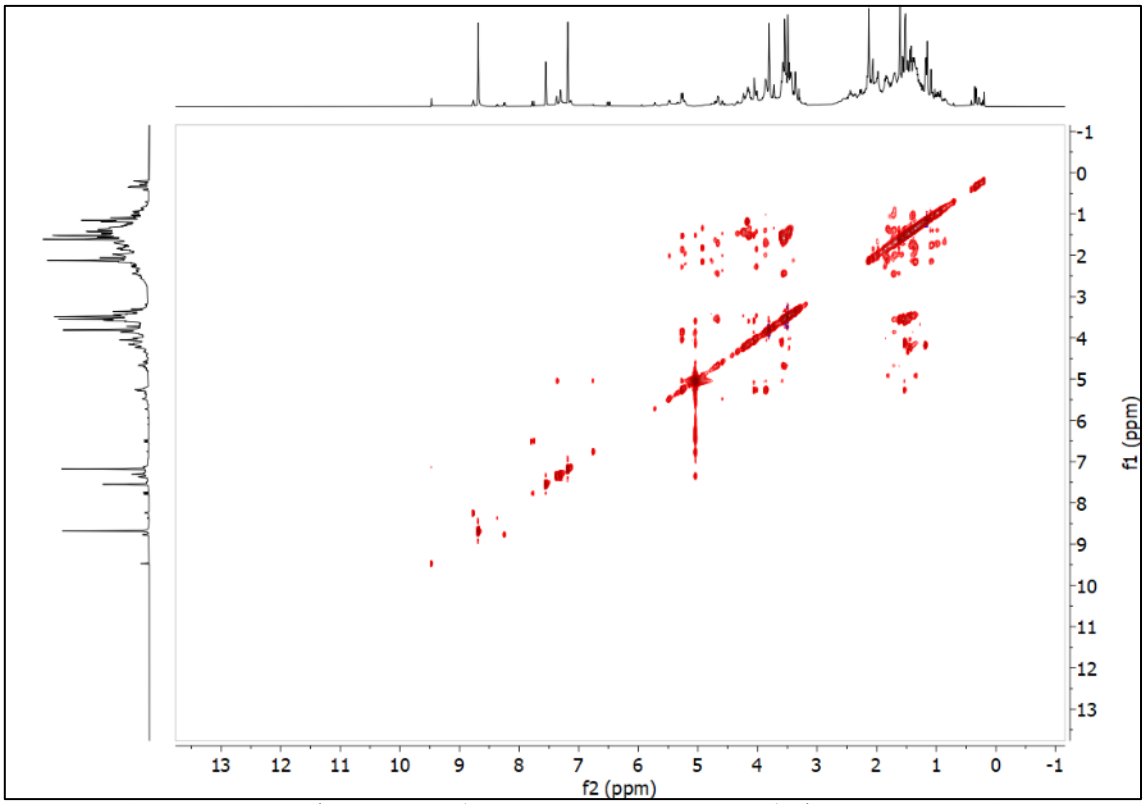


Figura S432. Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16

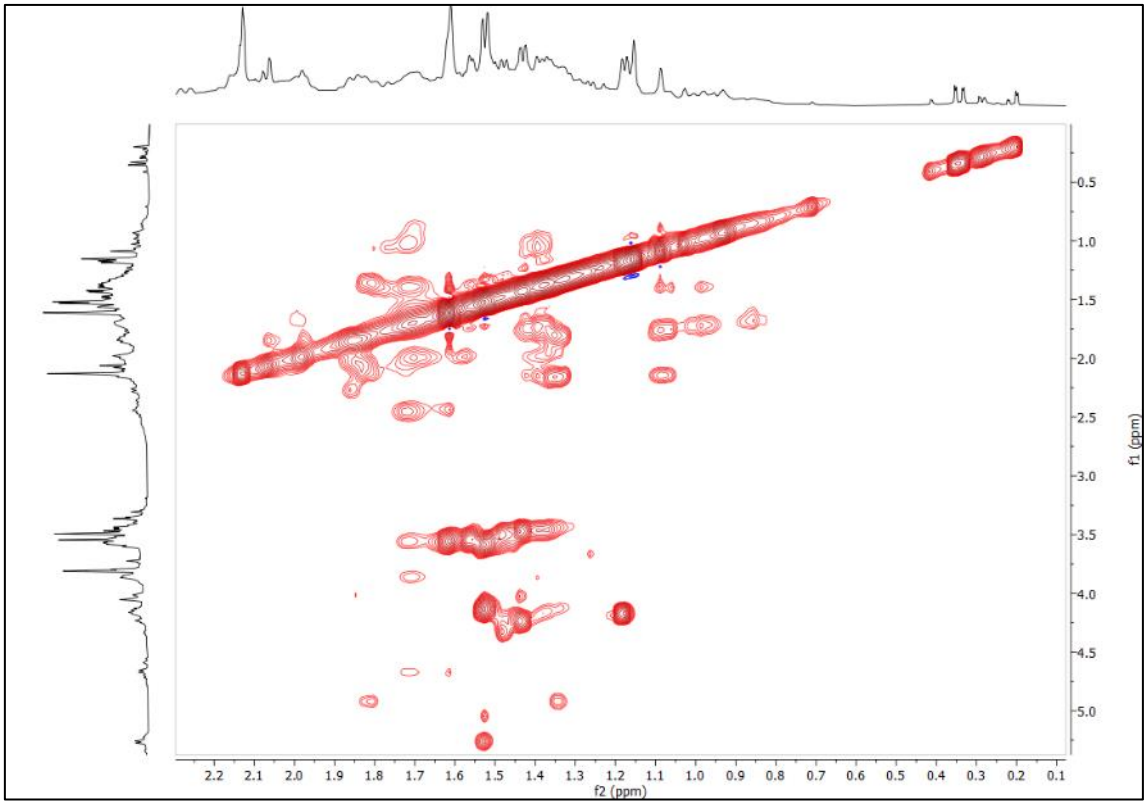


Figura S433. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,1-2,2 ppm

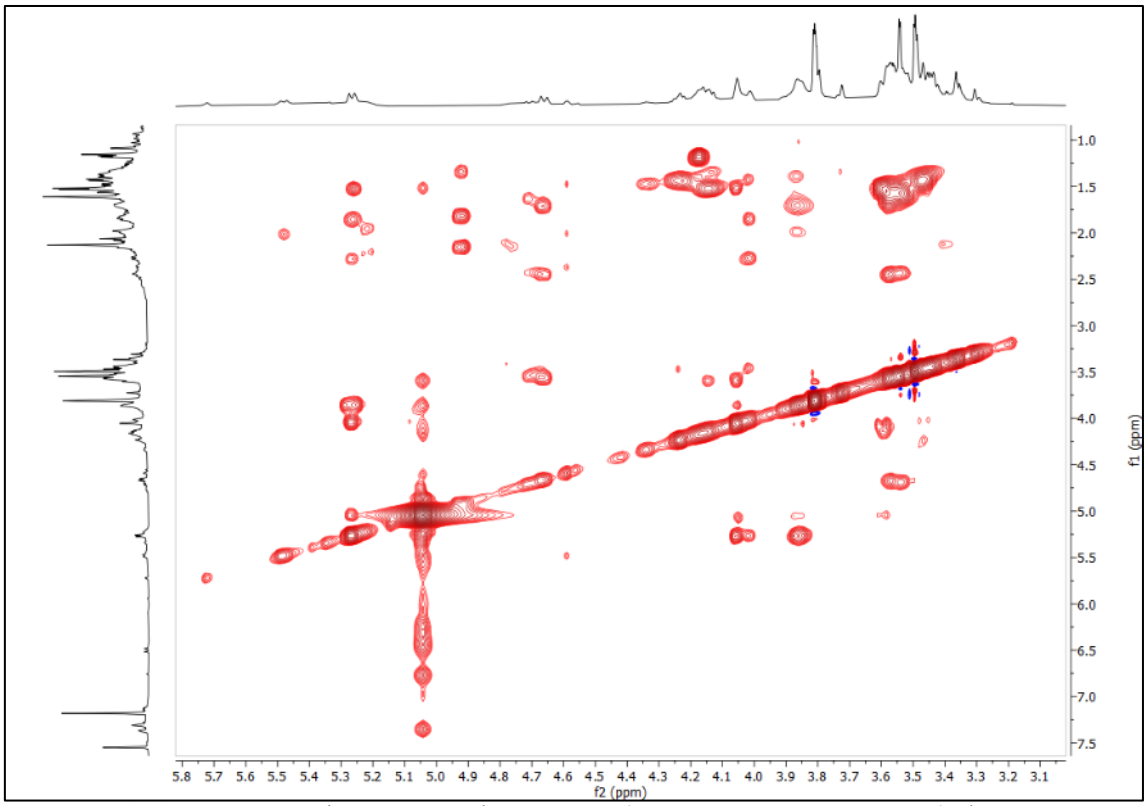


Figura S434. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 1,0-7,5 ppm e 3,1-5,8 ppm

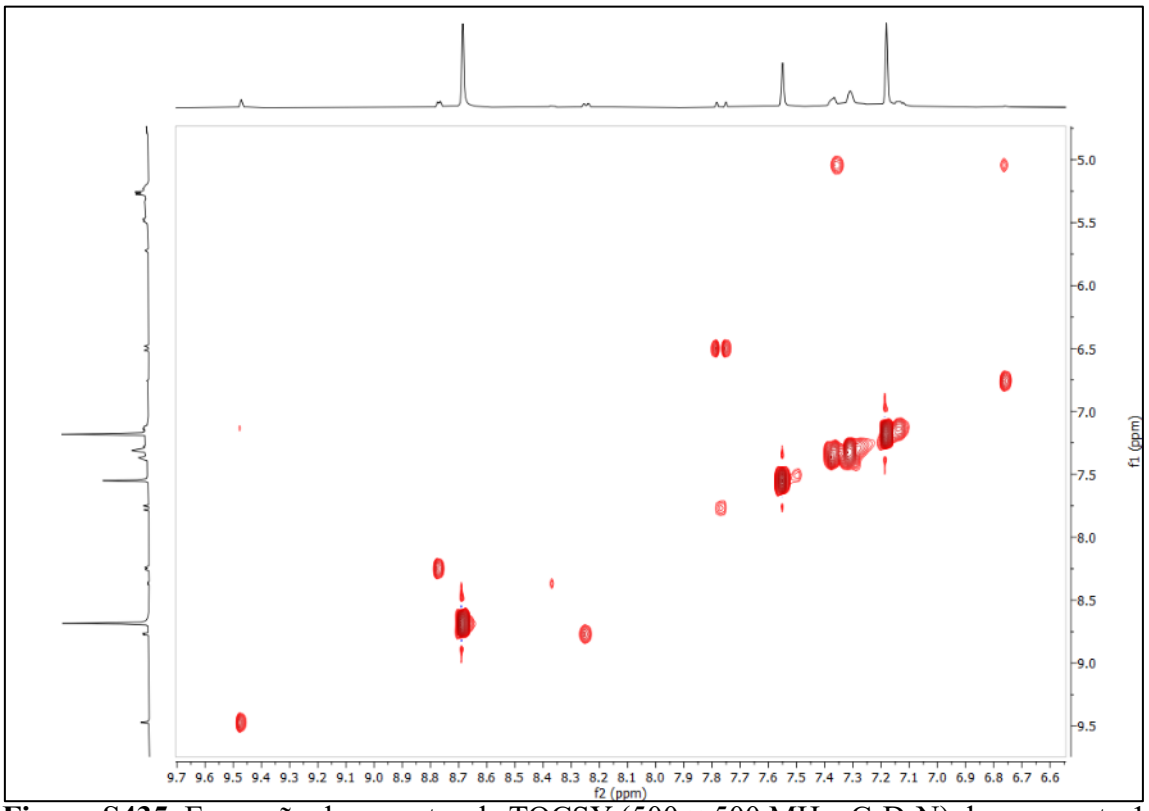


Figura S435. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 5,0-9,5 ppm e 6,6-9,7 ppm

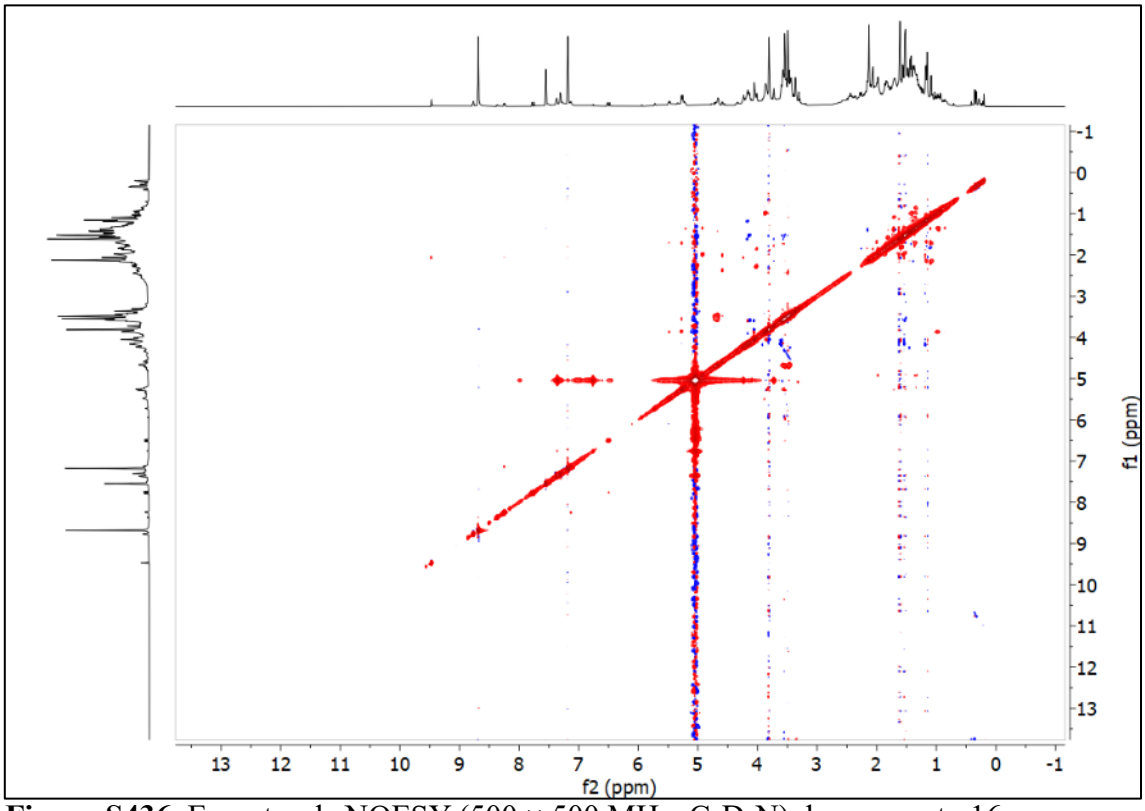


Figura S436. Espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16

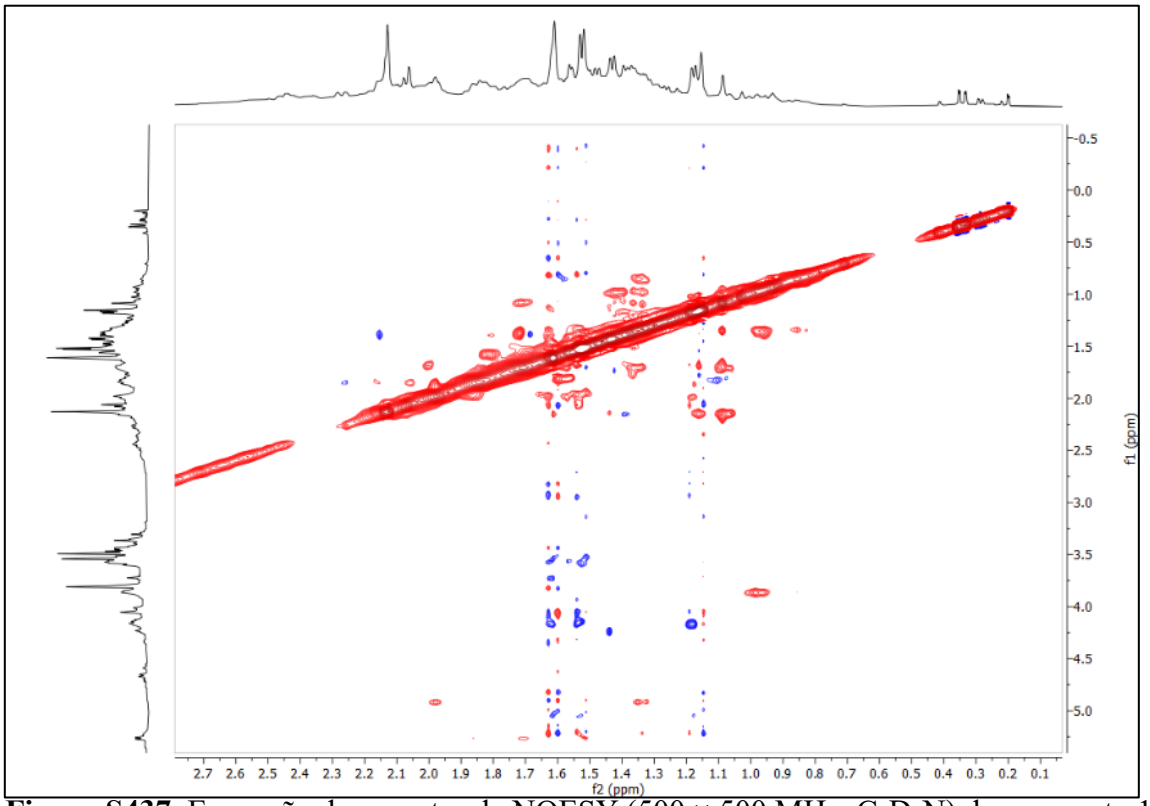


Figura S437. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 0,5-5,0 ppm e 0,1-2,7 ppm

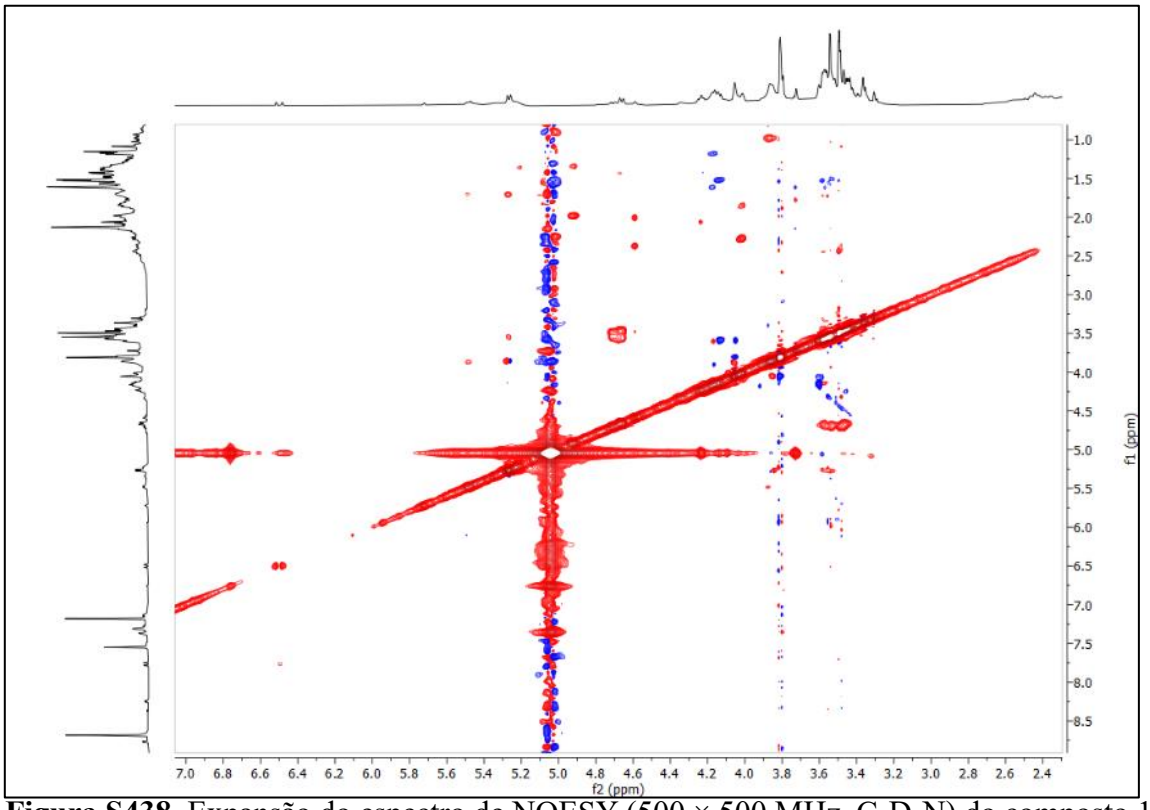


Figura S438. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 16 nas regiões de 1,0-8,5 ppm e 2,4-7,0 ppm

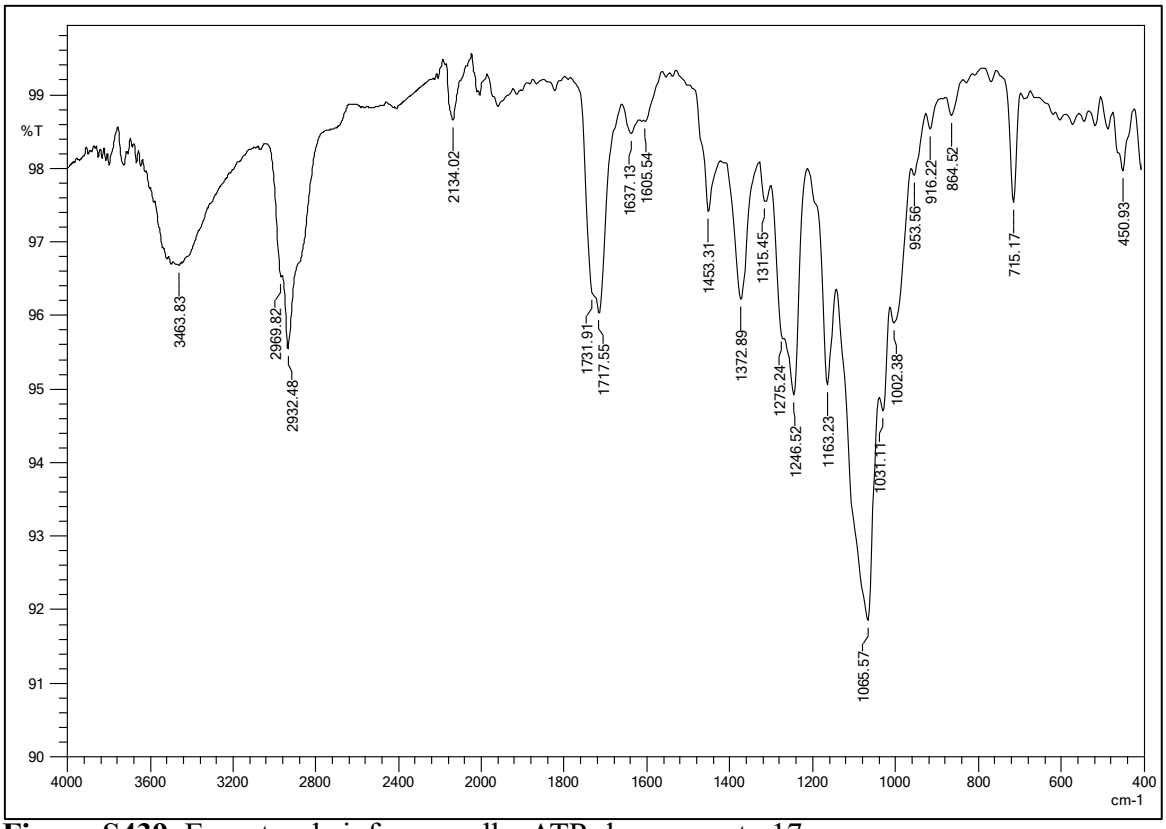


Figura S439. Espectro de infravermelho ATR do composto 17

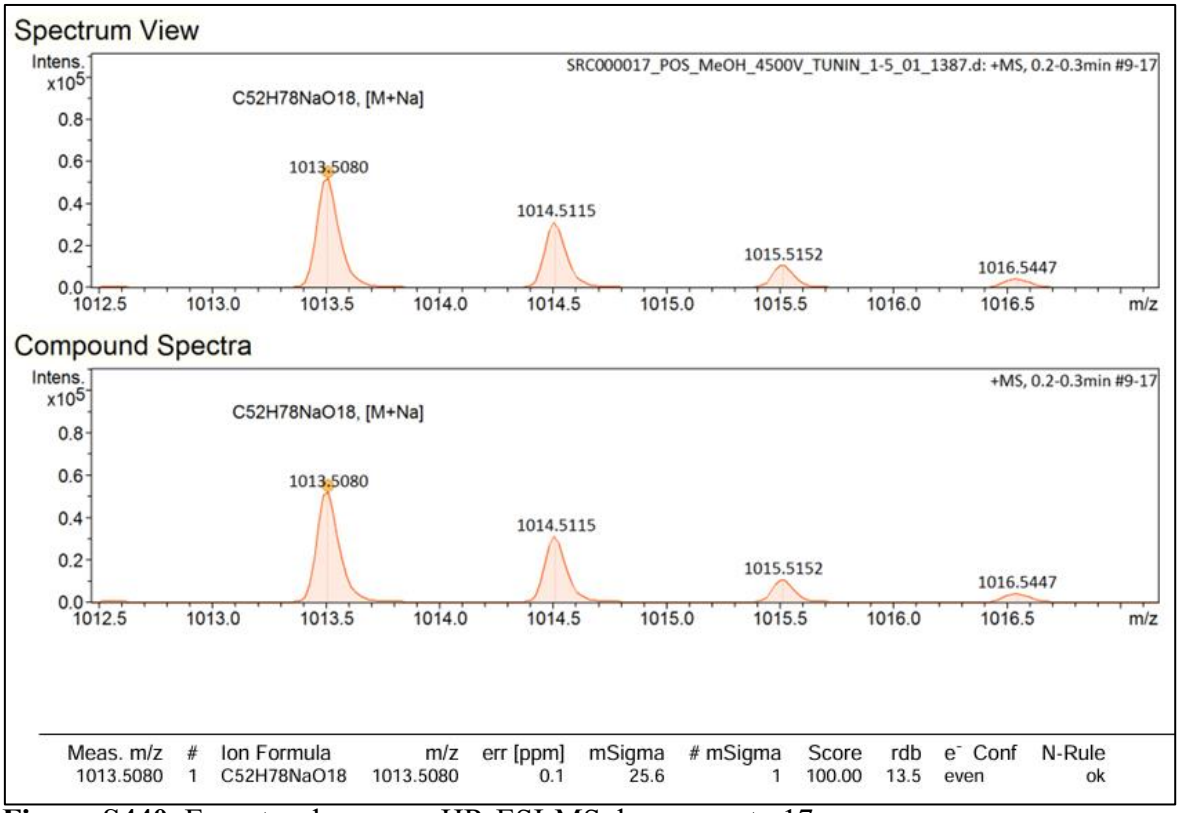


Figura S440. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 17

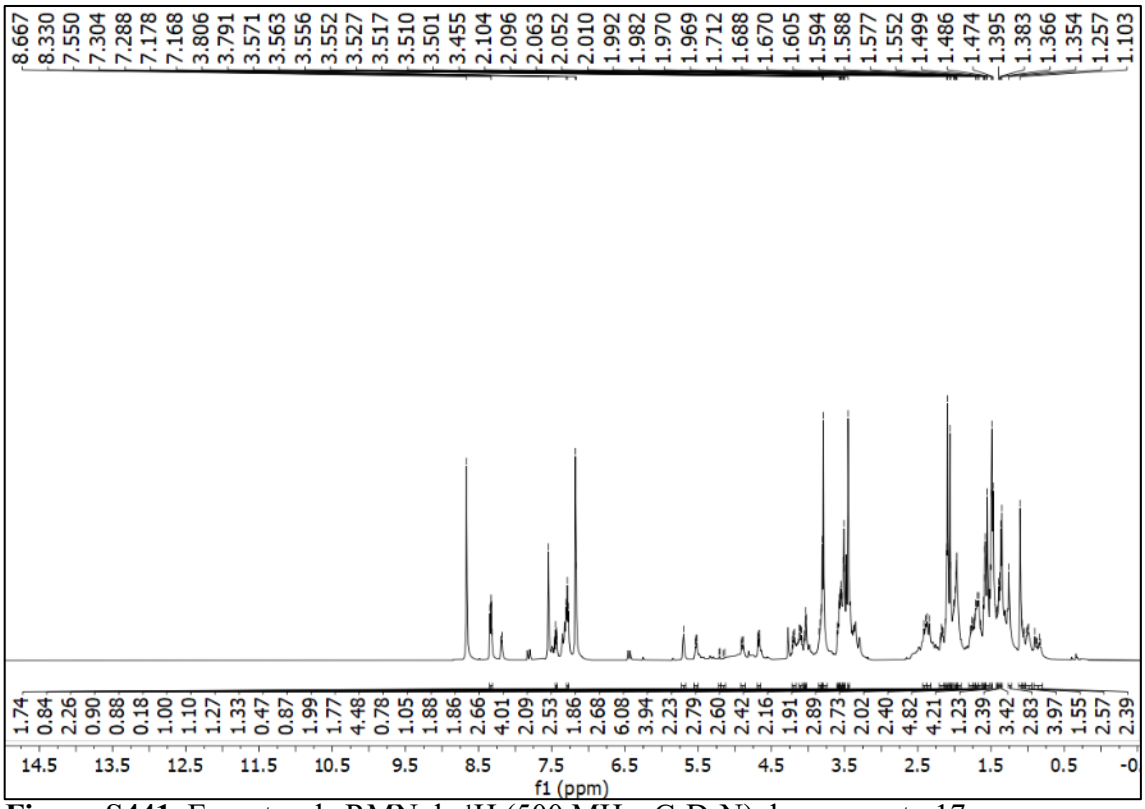


Figura S441. Espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 17

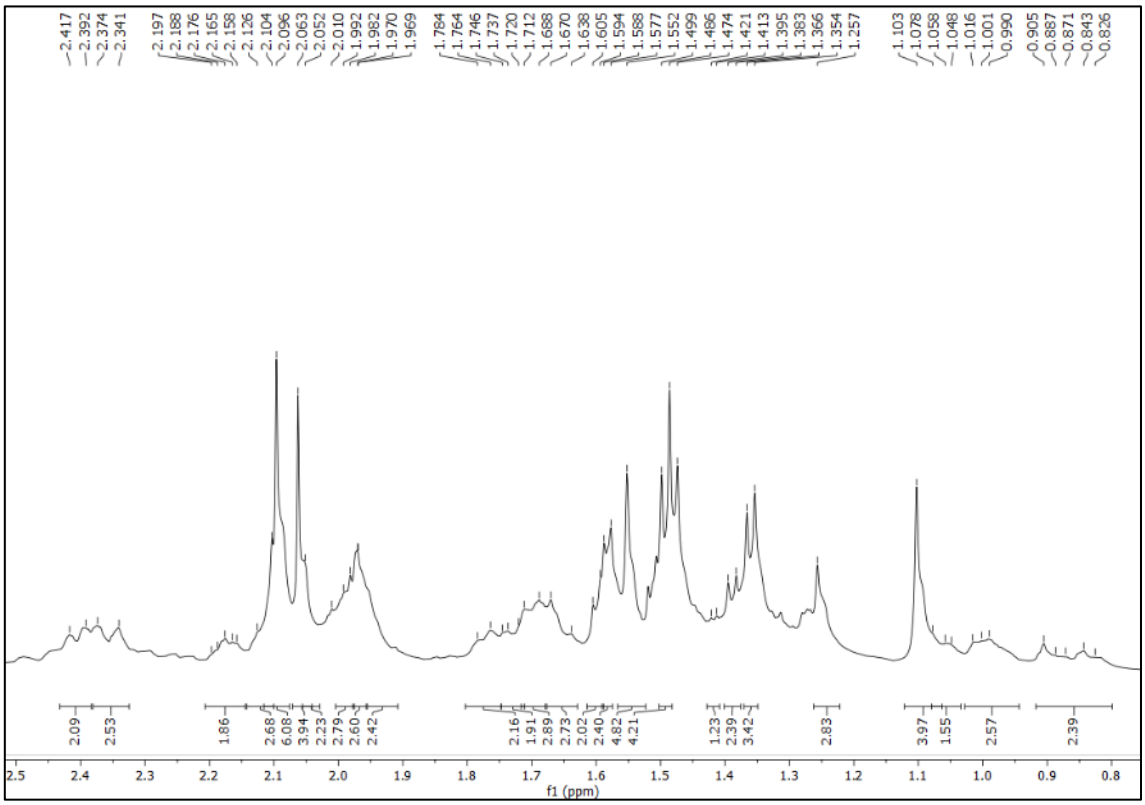


Figura S442. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 na região de 0,8-2,5 ppm

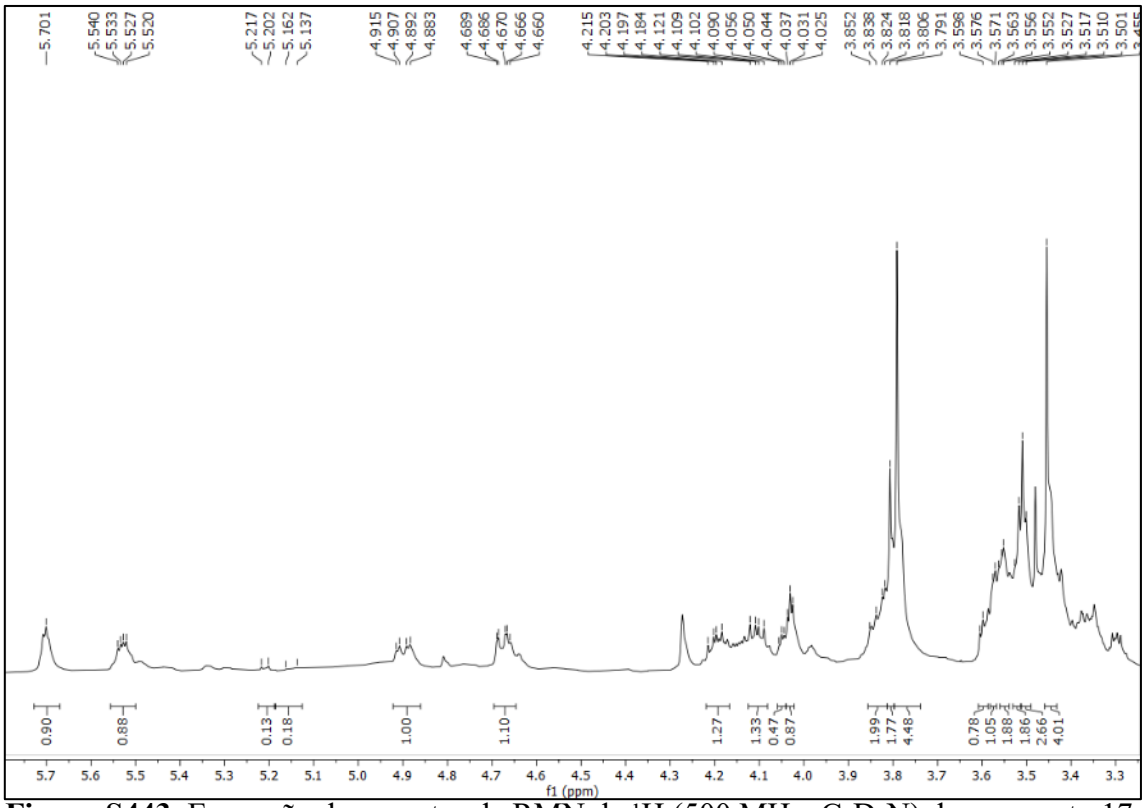


Figura S443. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 na região de 3,3-5,7 ppm

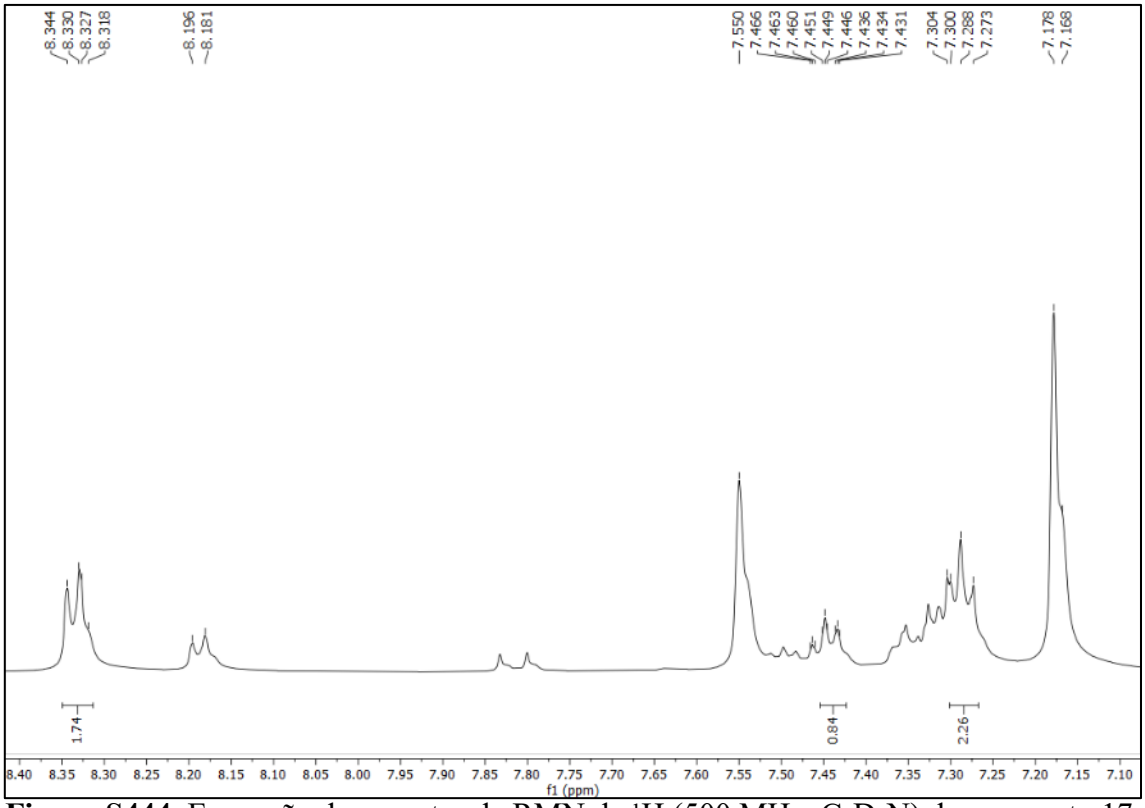


Figura S444. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 na região de 7,10-8,40 ppm

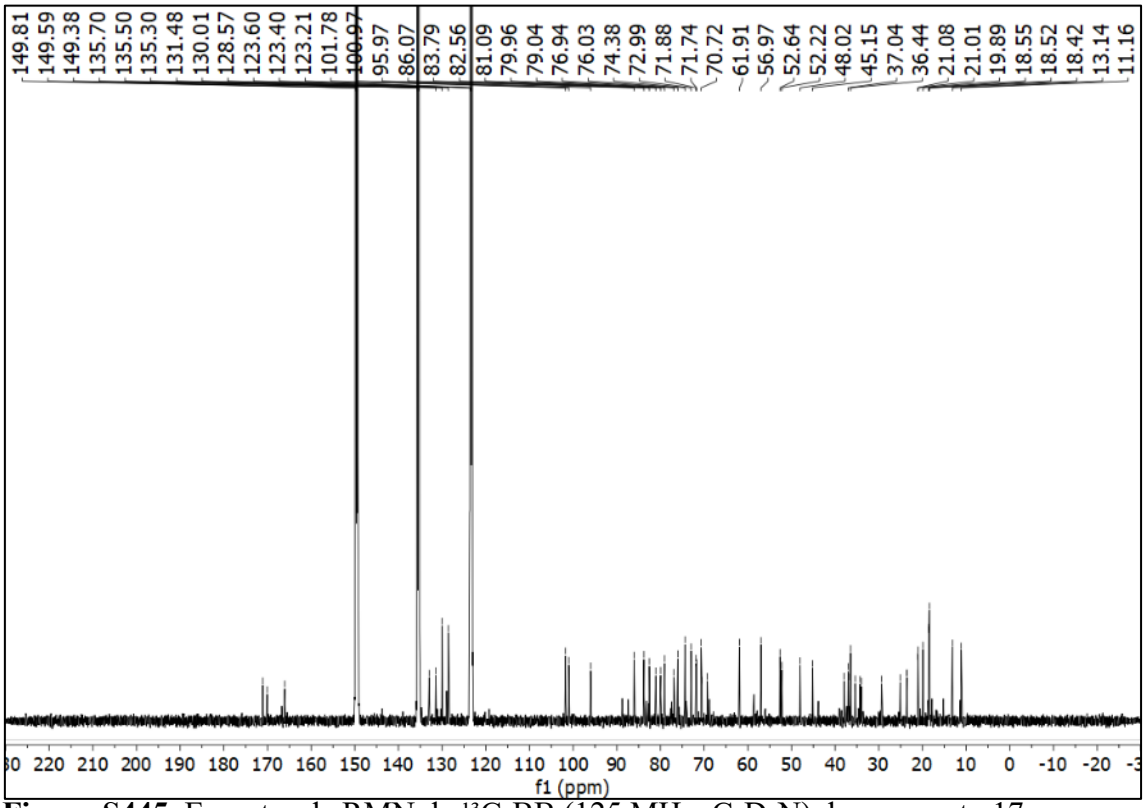


Figura S445. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (125 MHz, C_5D_5N) do composto 17

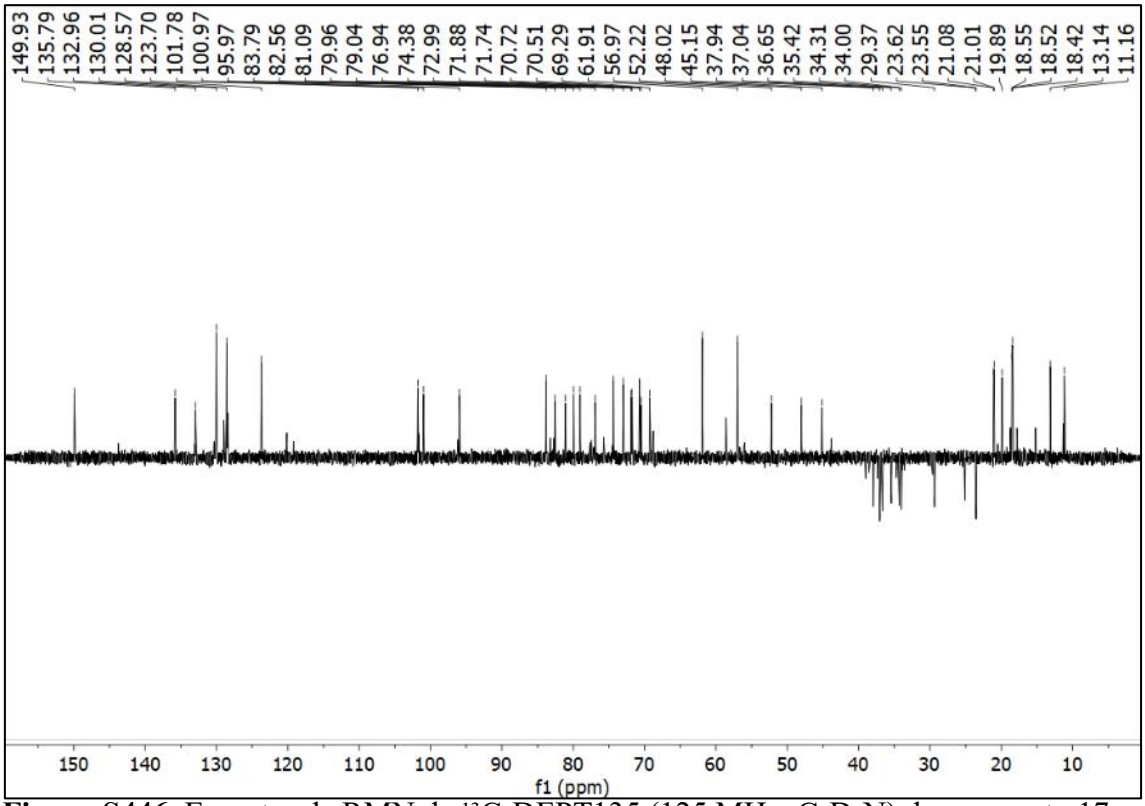


Figura S446. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (125 MHz, C_5D_5N) do composto 17

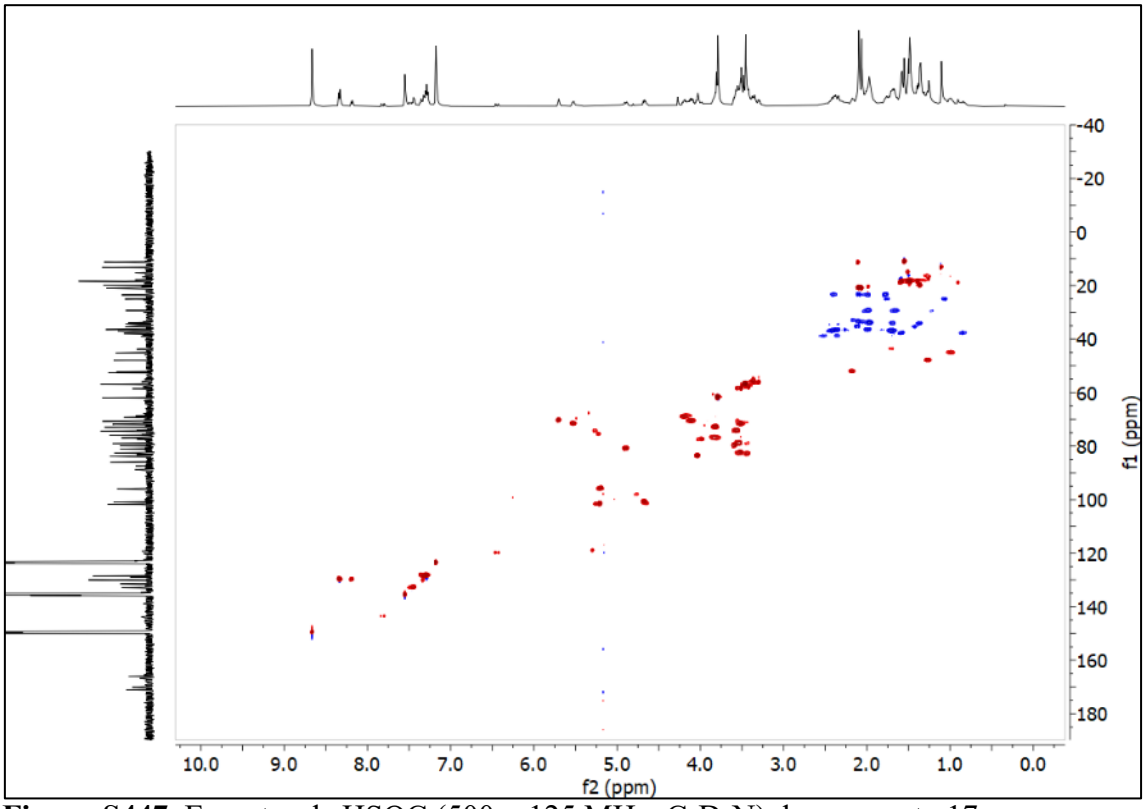


Figura S447. Espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17

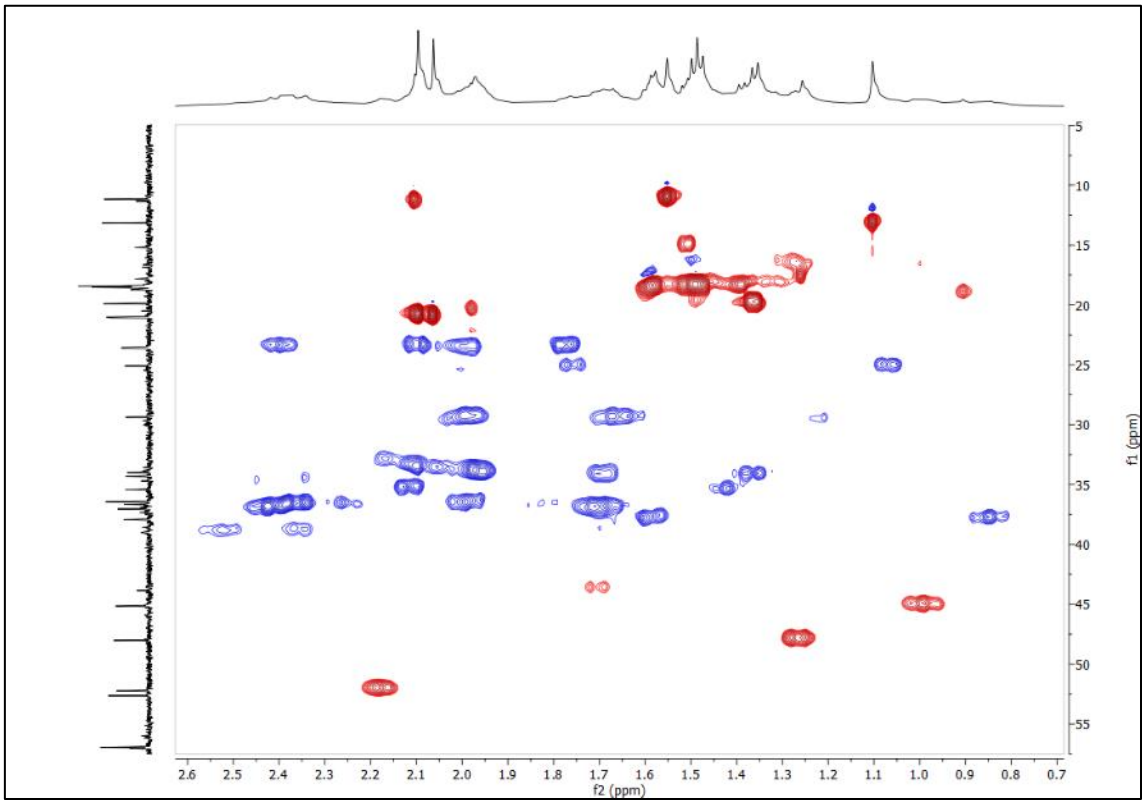


Figura S448. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 5-55 ppm e 0,7-2,6 ppm

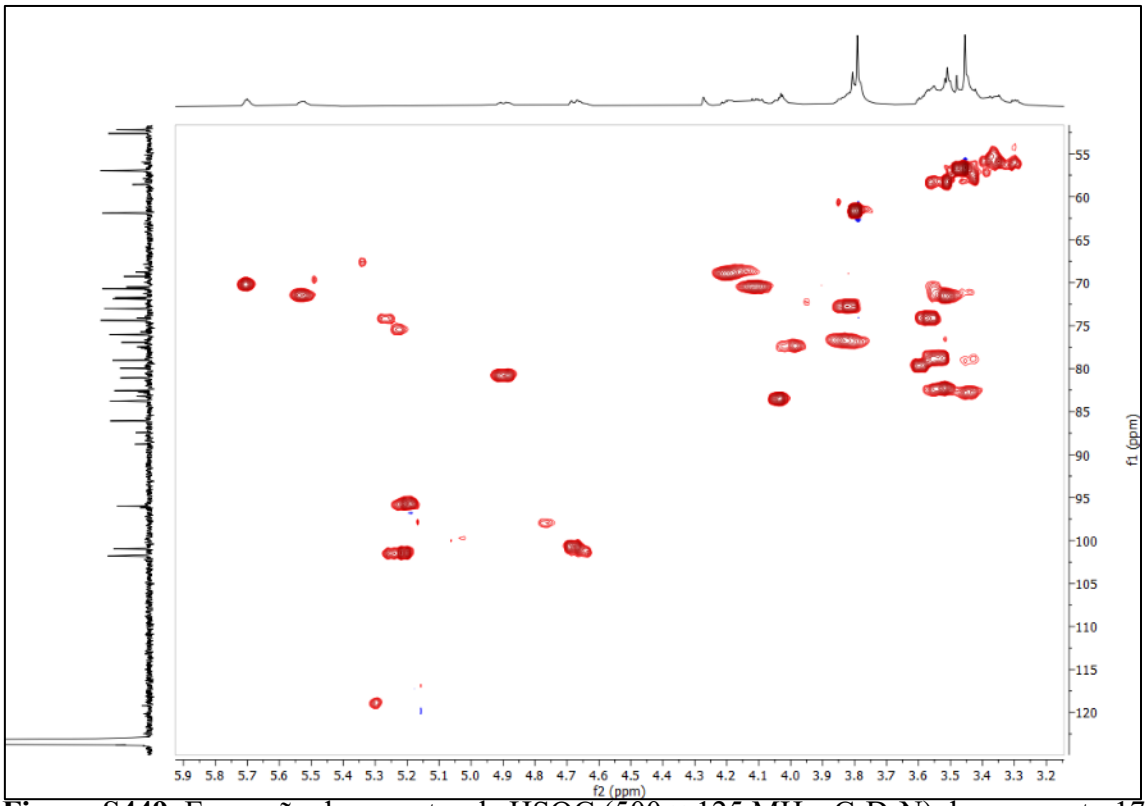


Figura S449. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 55-120 ppm e 3,2-5,9 ppm

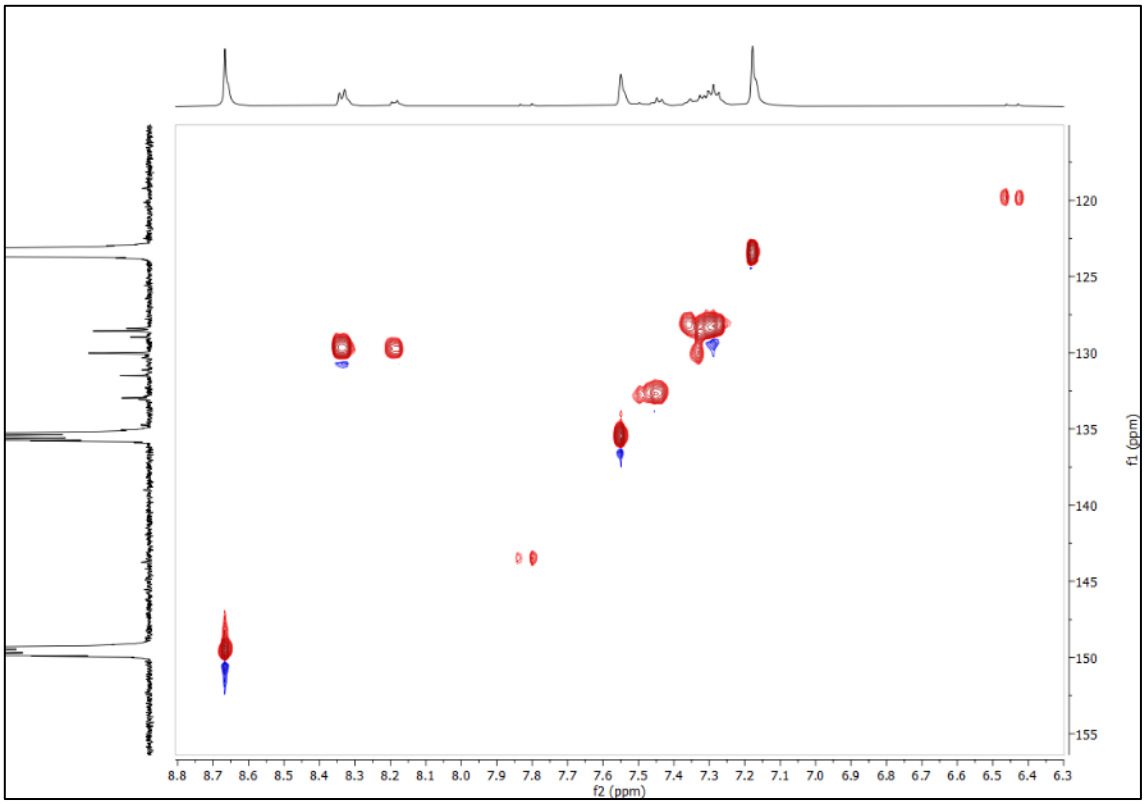


Figura S450. Expansão do espectro de HSQC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 120-155 ppm e 6,3-8,8 ppm

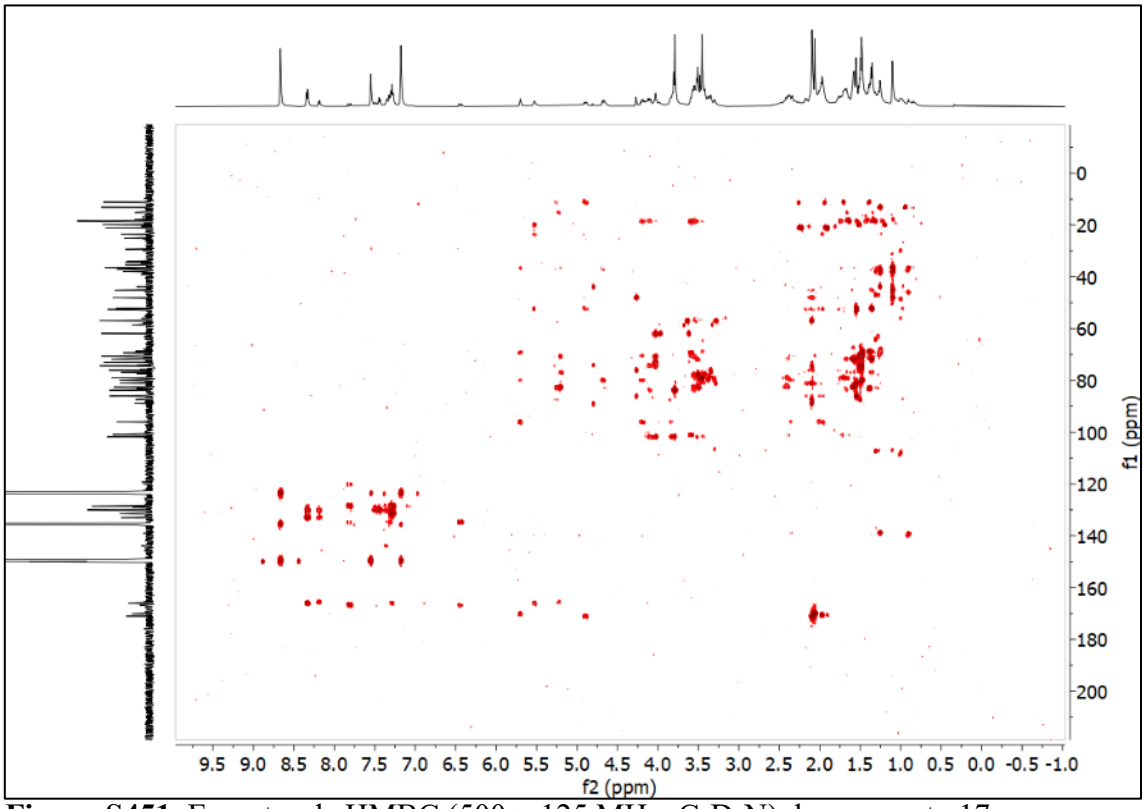


Figura S451. Espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17

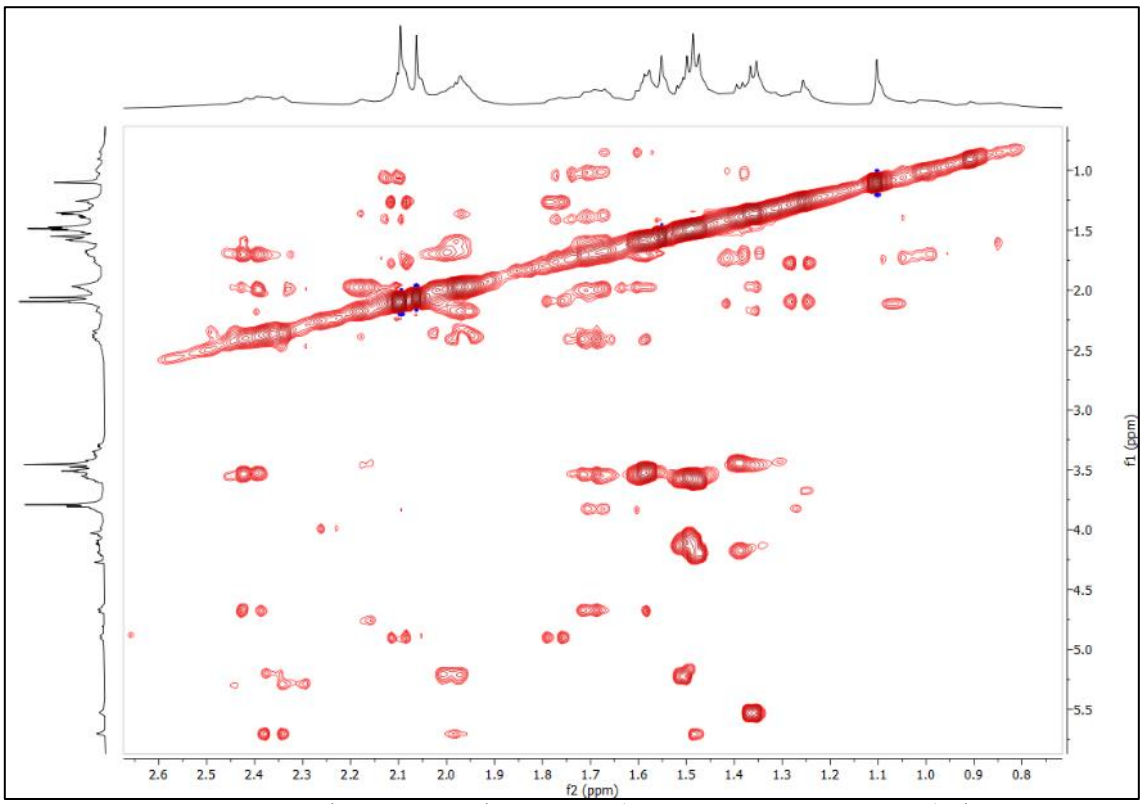


Figura S452. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,7-2,5 ppm

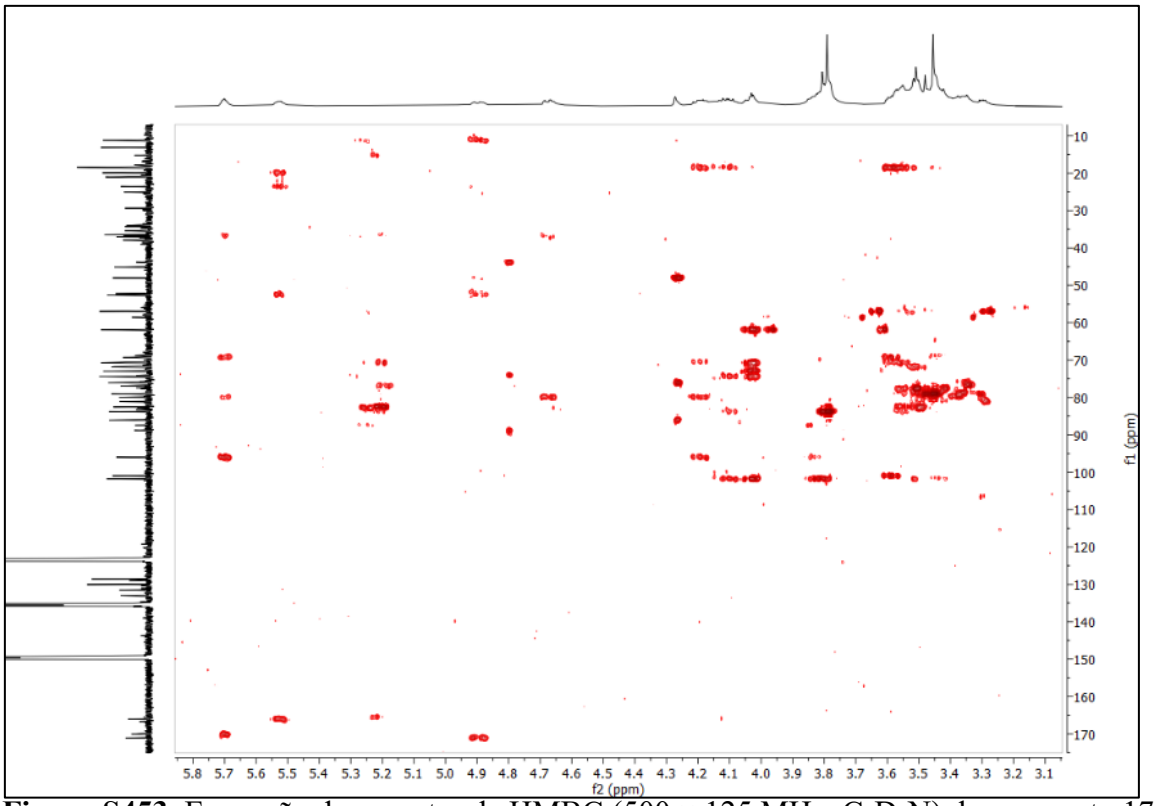


Figura S453. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 10-170 ppm e 3,1-5,8 ppm

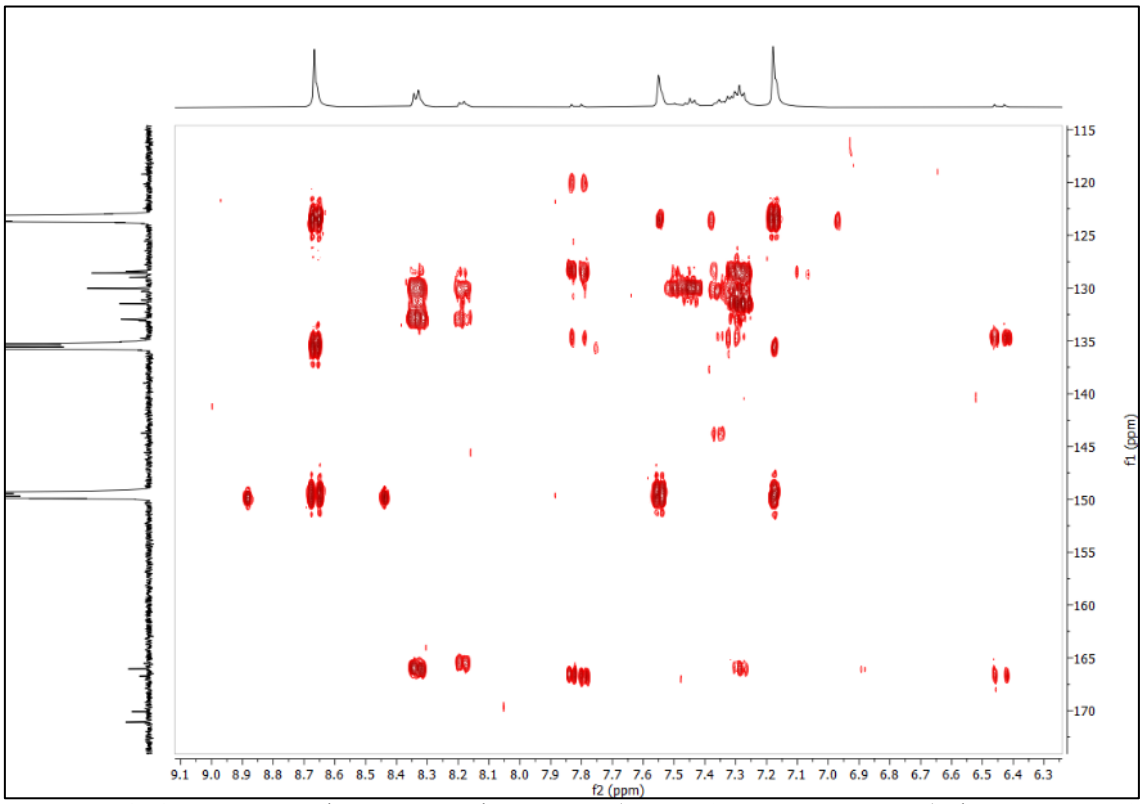


Figura S454. Expansão do espectro de HMBC (500 × 125 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 115-170 ppm e 6,3-9,1 ppm

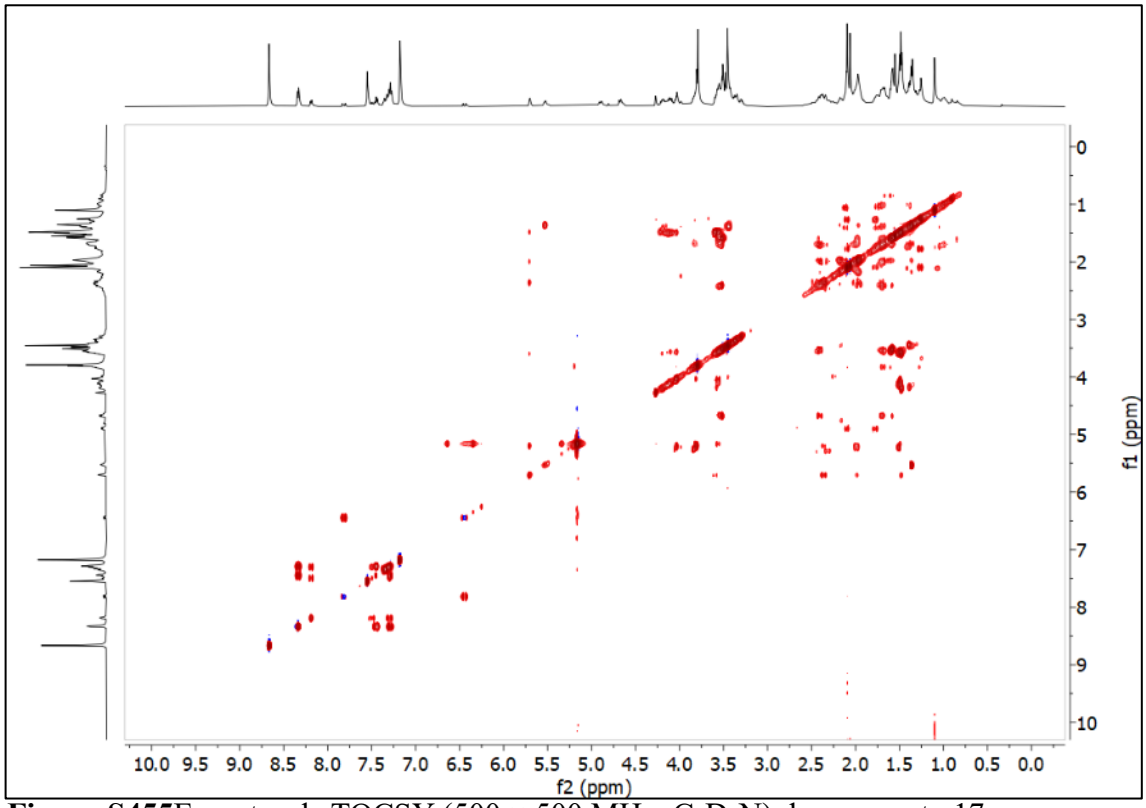


Figura S455 Espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17

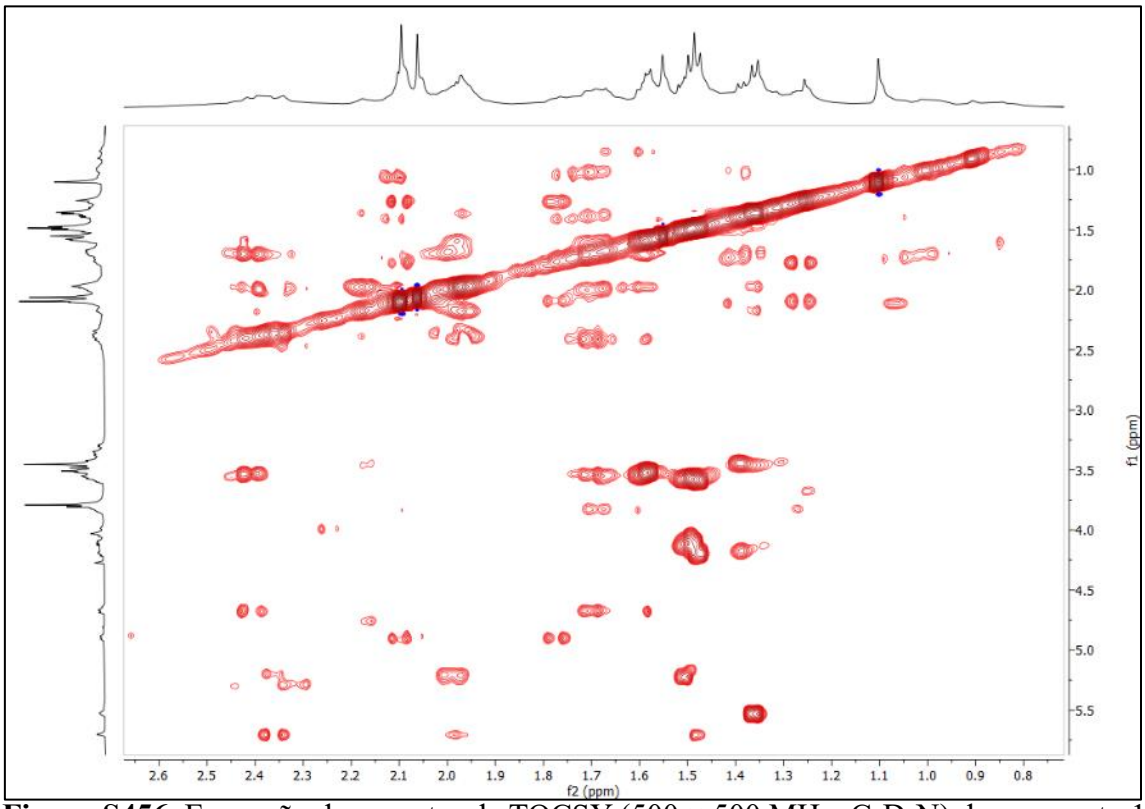


Figura S456. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,8-2,6 ppm

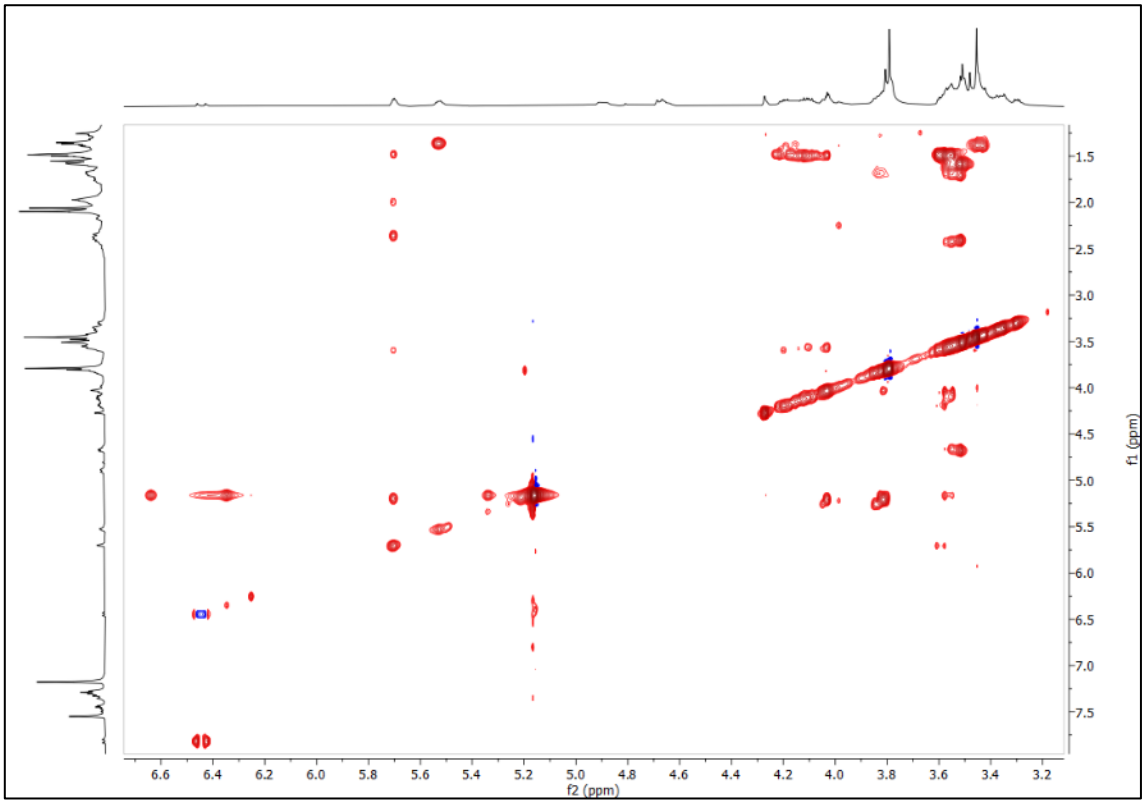


Figura S457. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 1,5-7,5 ppm e 3,2-6,6 ppm

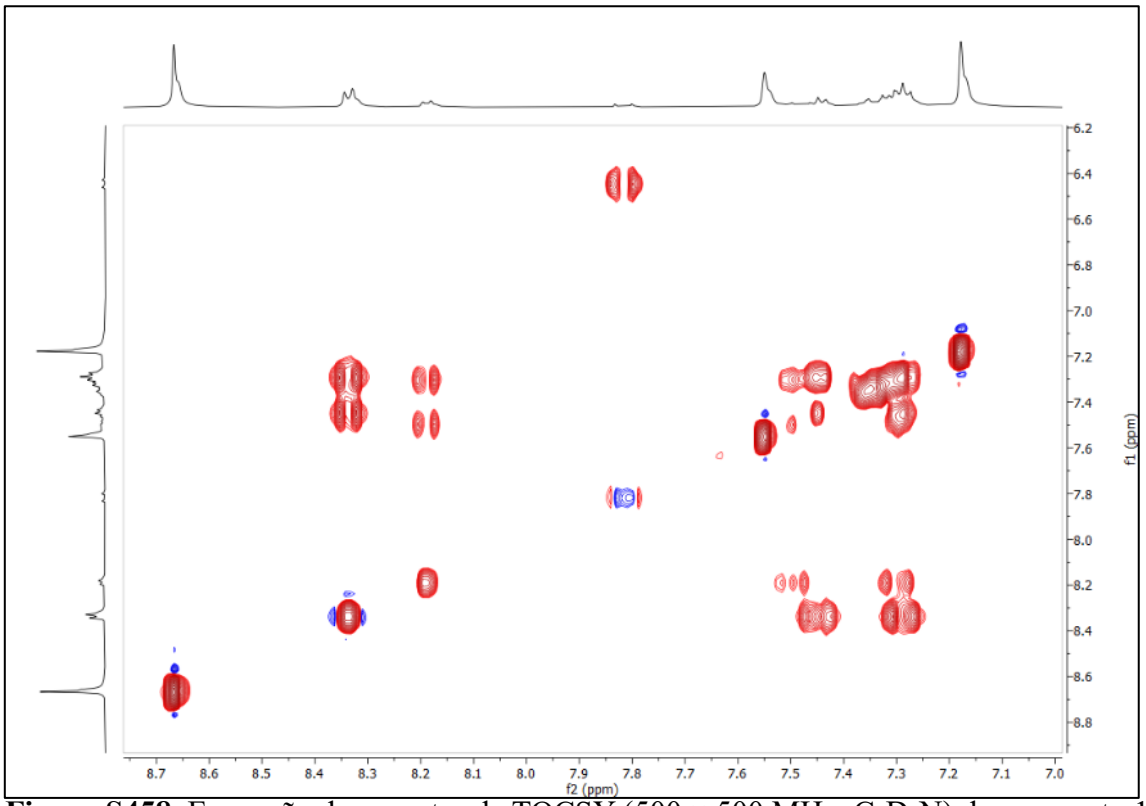


Figura S458. Expansão do espectro de TOCSY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 6,2-8,8 ppm e 7,0-8,7 ppm

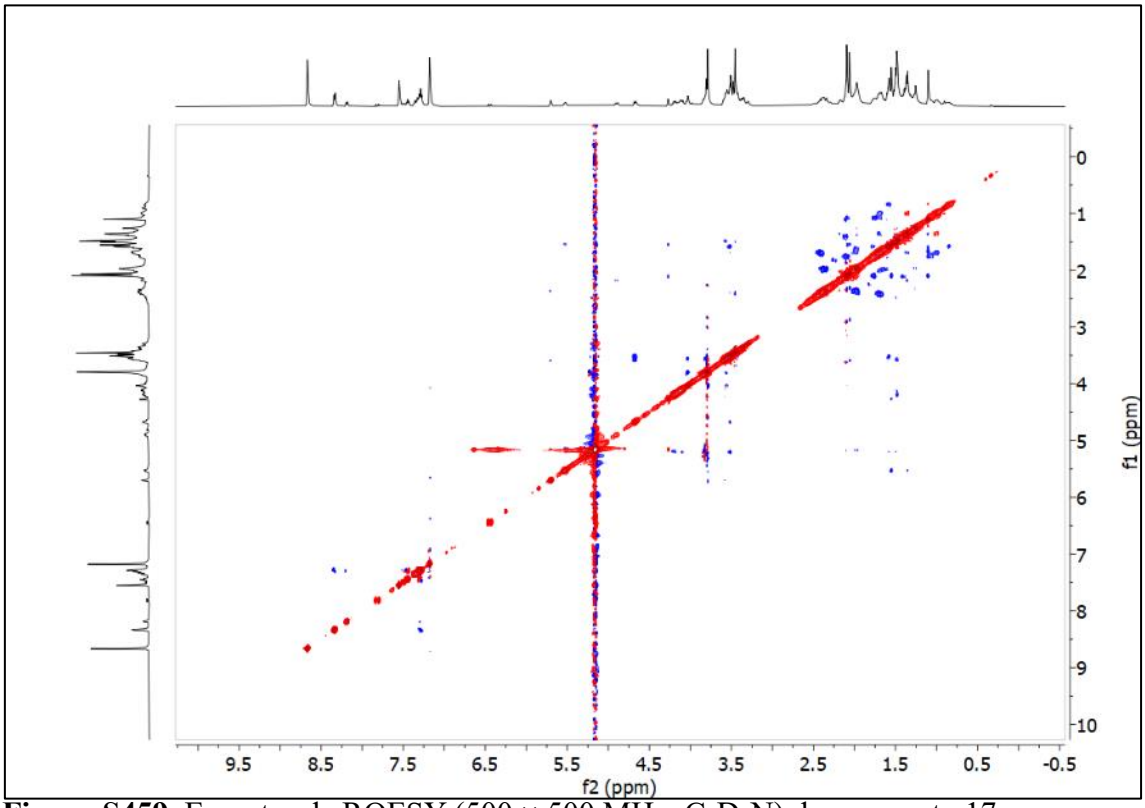


Figura S459. Espectro de ROESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17

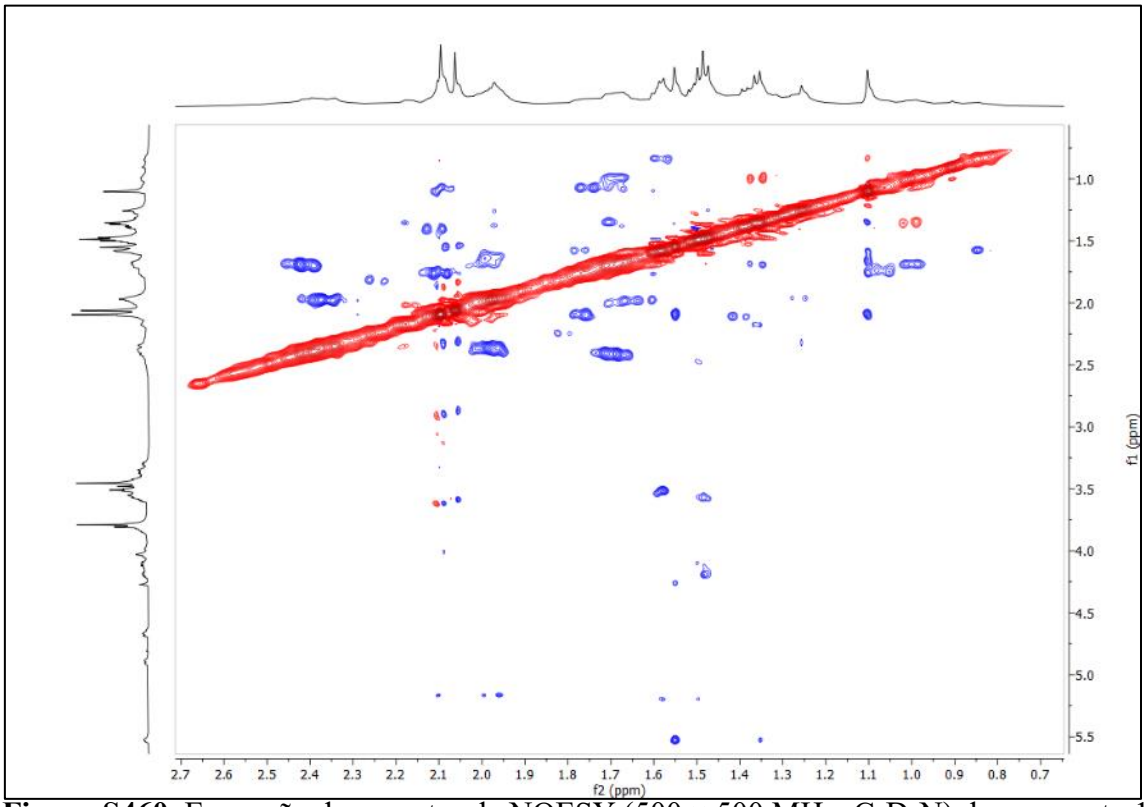


Figura S460. Expansão do espectro de NOESY (500 × 500 MHz, C_5D_5N) do composto 17 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 0,7-2,7 ppm

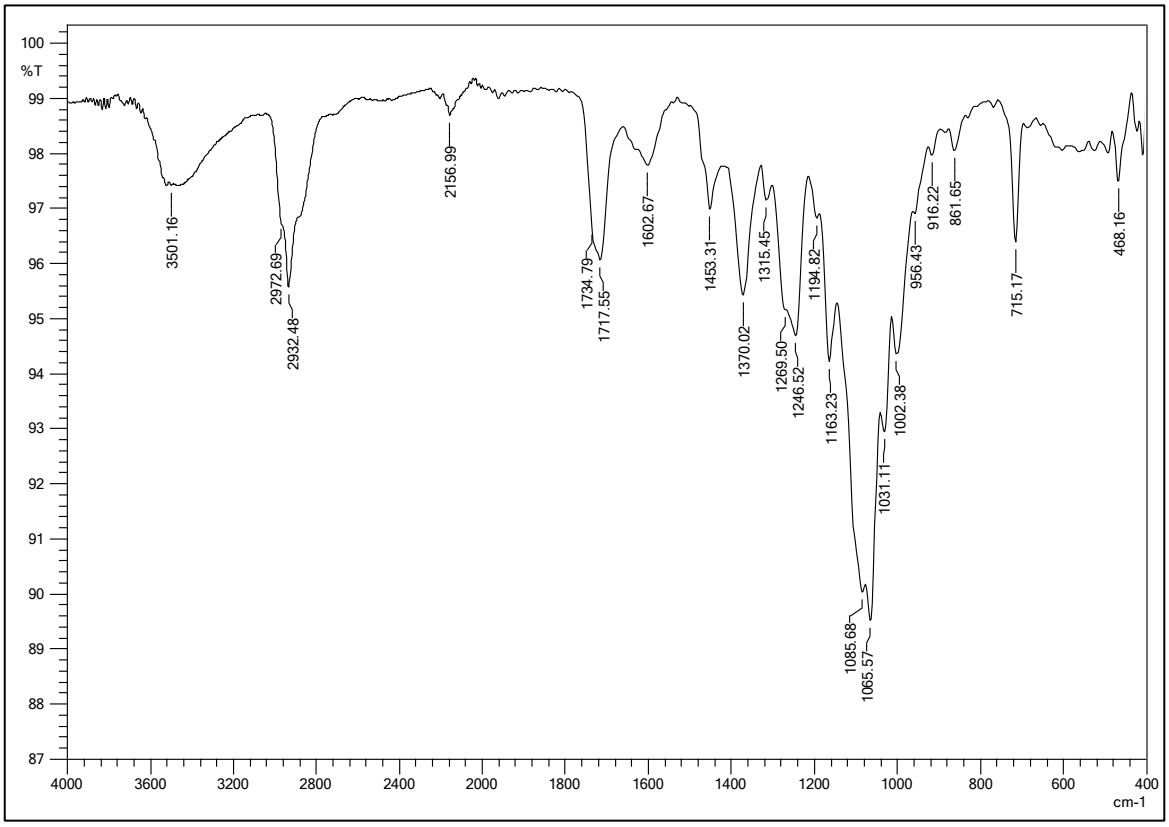


Figura S461. Espectro de infravermelho ATR do composto 18

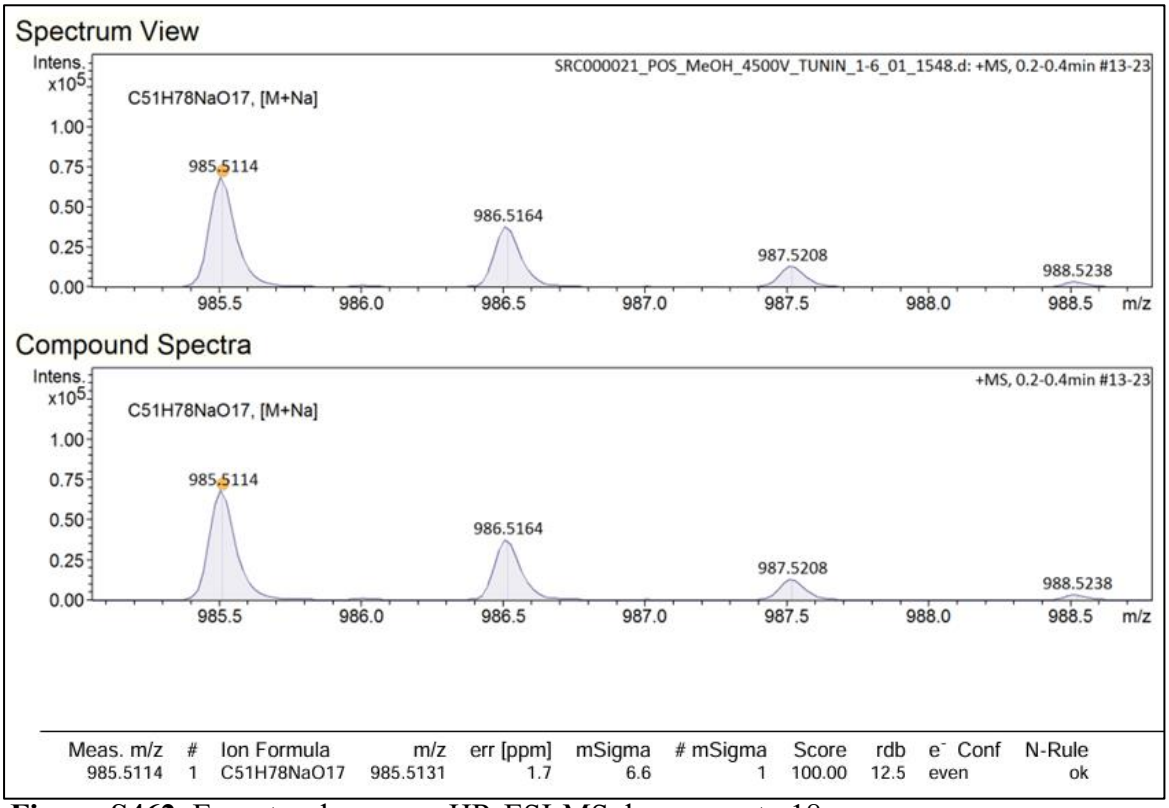


Figura S462. Espectro de massas HR-ESI-MS do composto 18

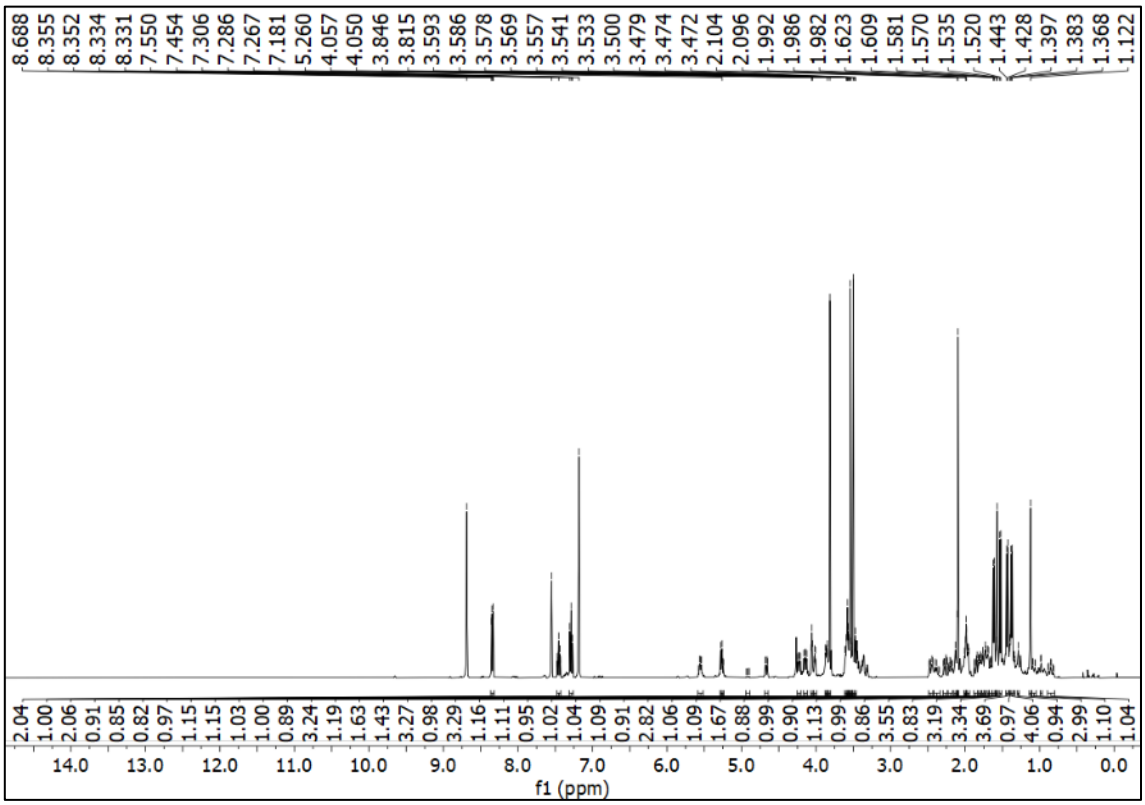


Figura S463. Espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 18

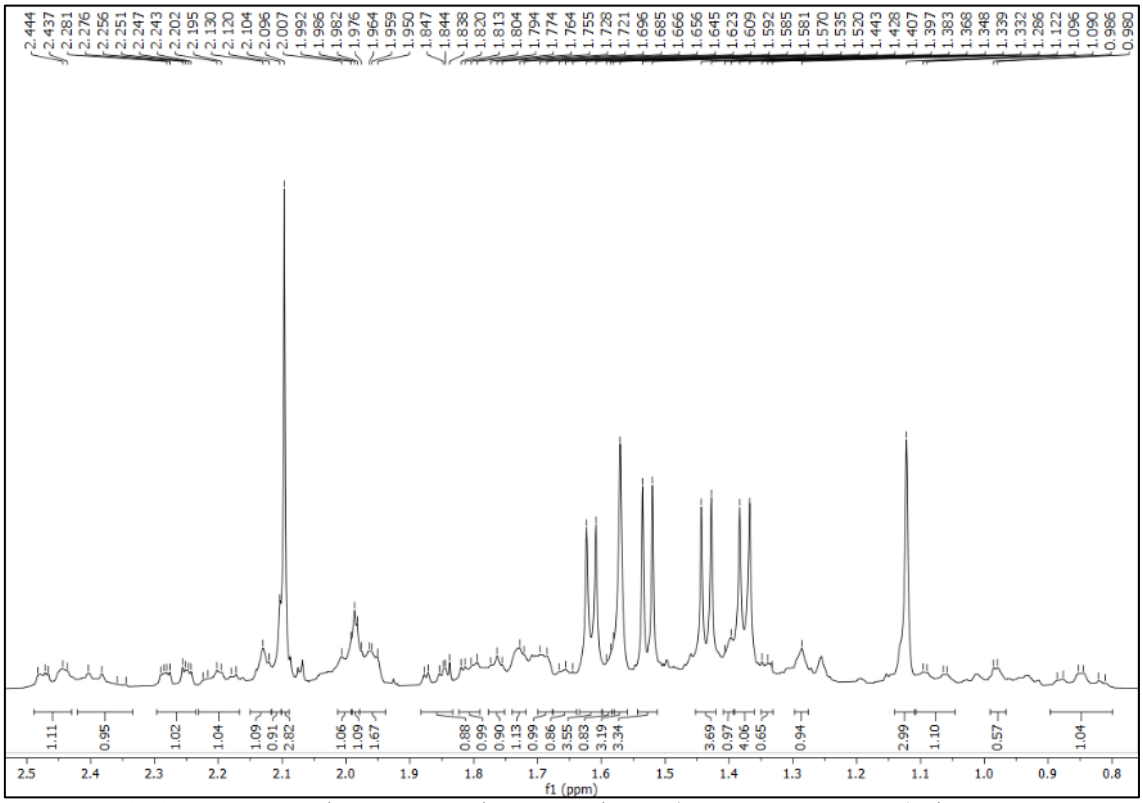


Figura S464. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 na região de 0,8-2,5 ppm

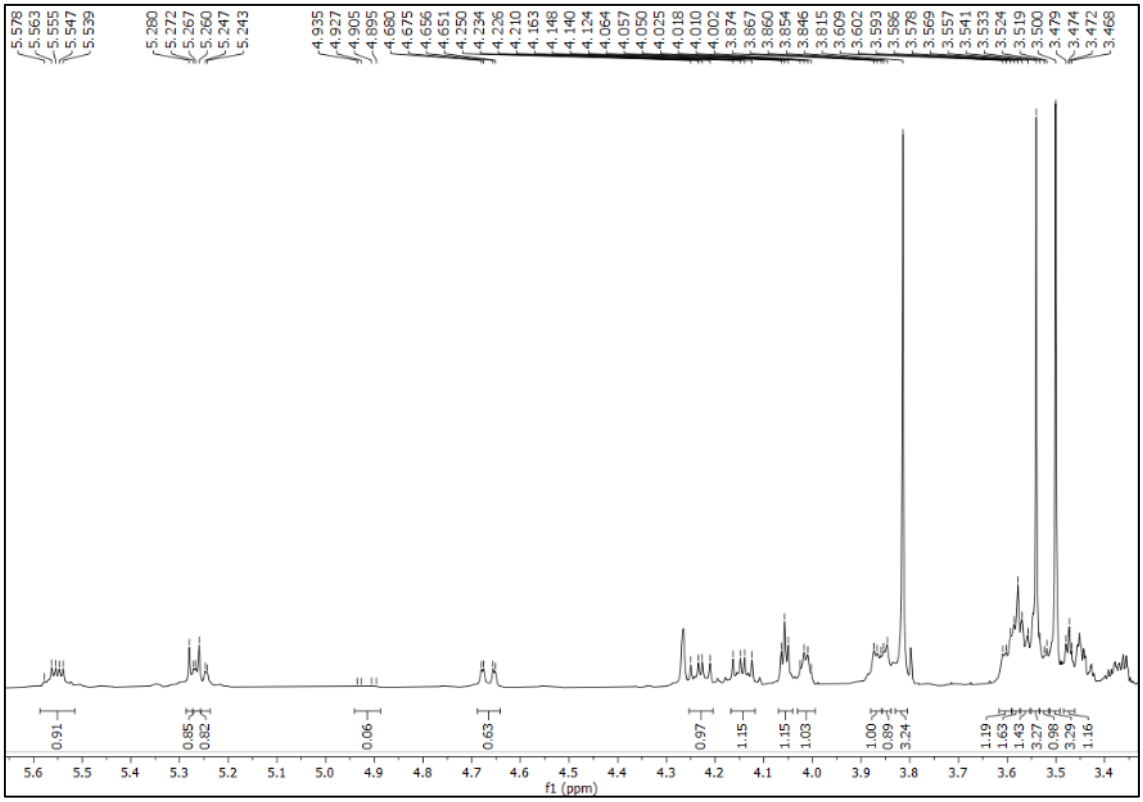


Figura S465. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 na região de 3,4-5,6 ppm

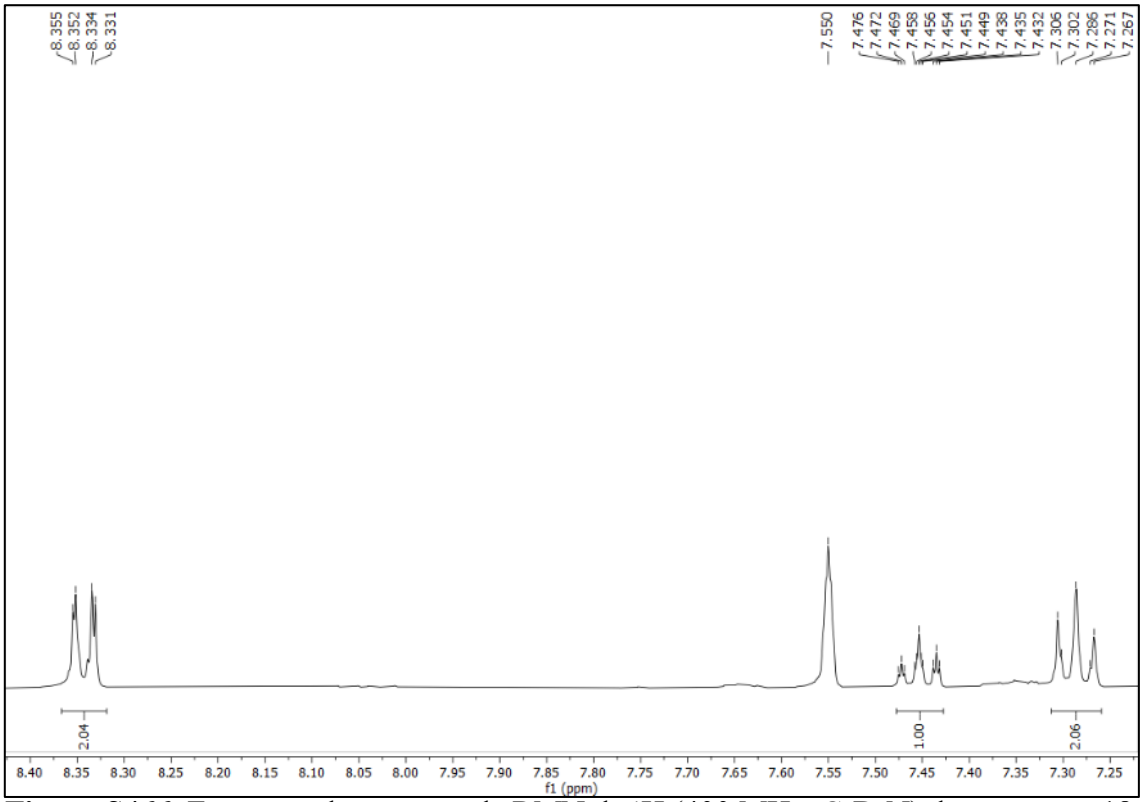


Figura S466. Expansão do espectro de RMN de ^{1}H (400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 na região de 7,25-8,40 ppm

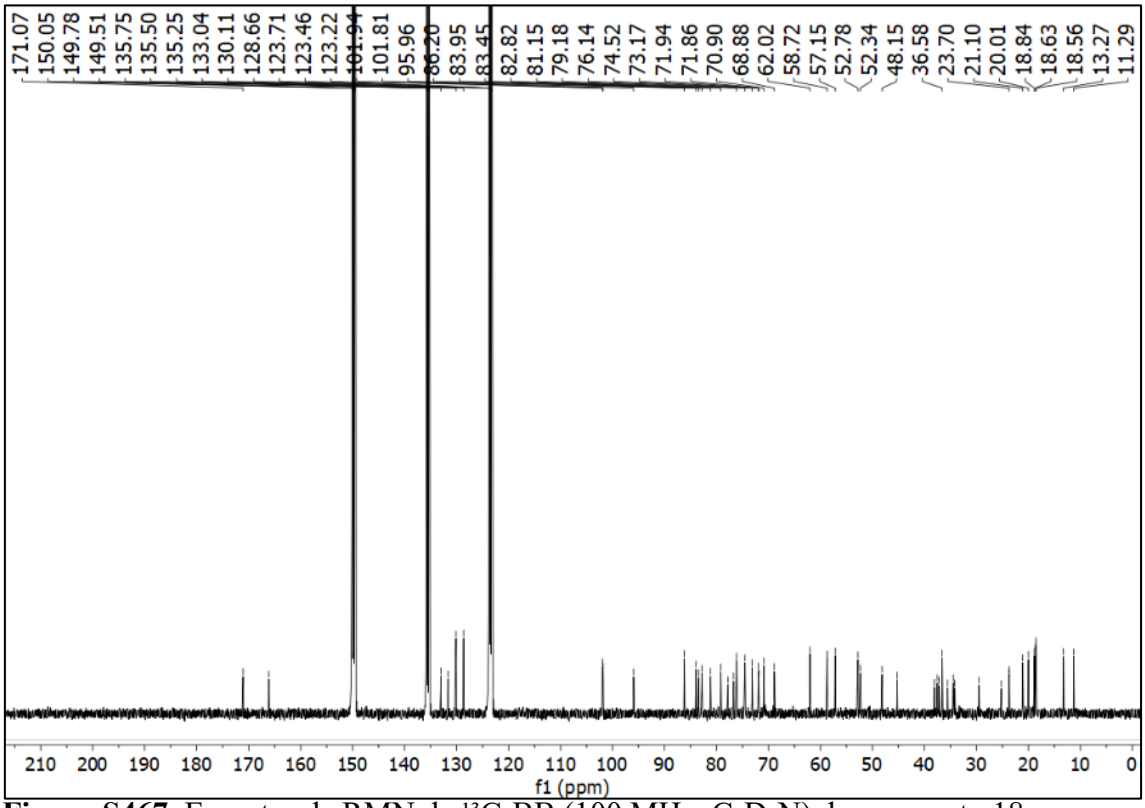


Figura S467. Espectro de RMN de ^{13}C-BB (100 MHz, C_5D_5N) do composto 18

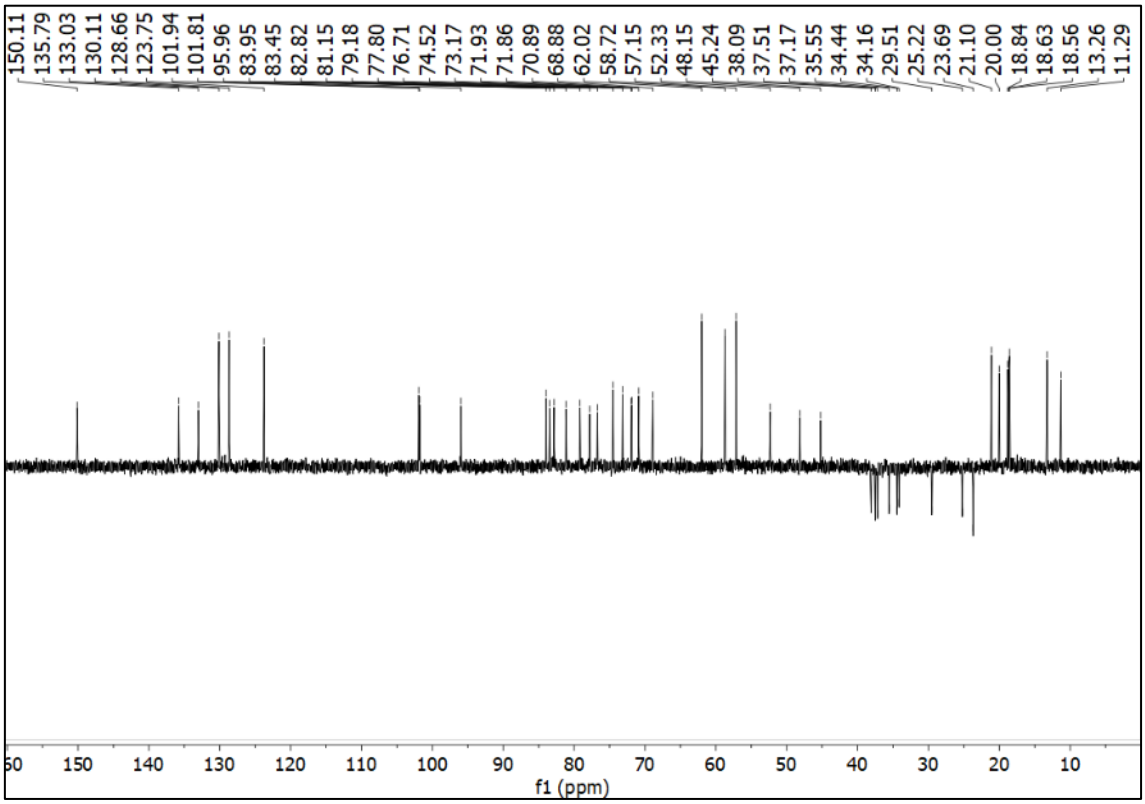


Figura S468. Espectro de RMN de ^{13}C-DEPT135 (100 MHz, C_5D_5N) do composto 18

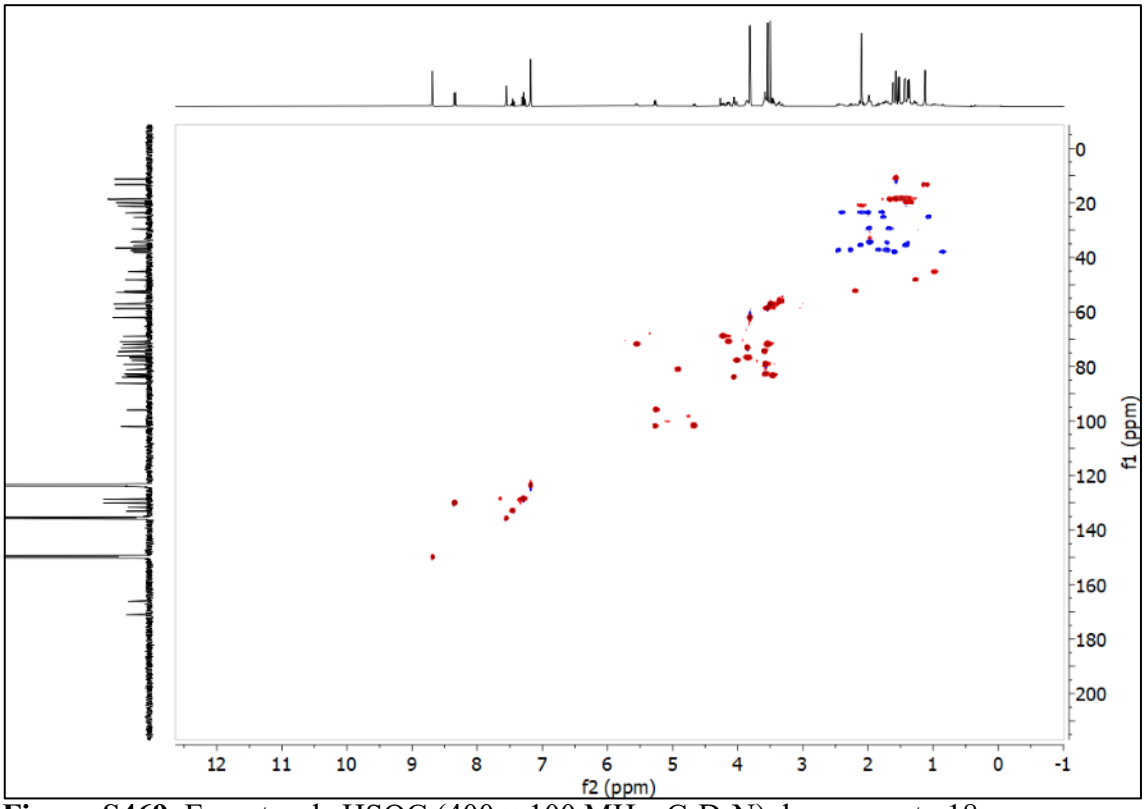


Figura S469. Espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18

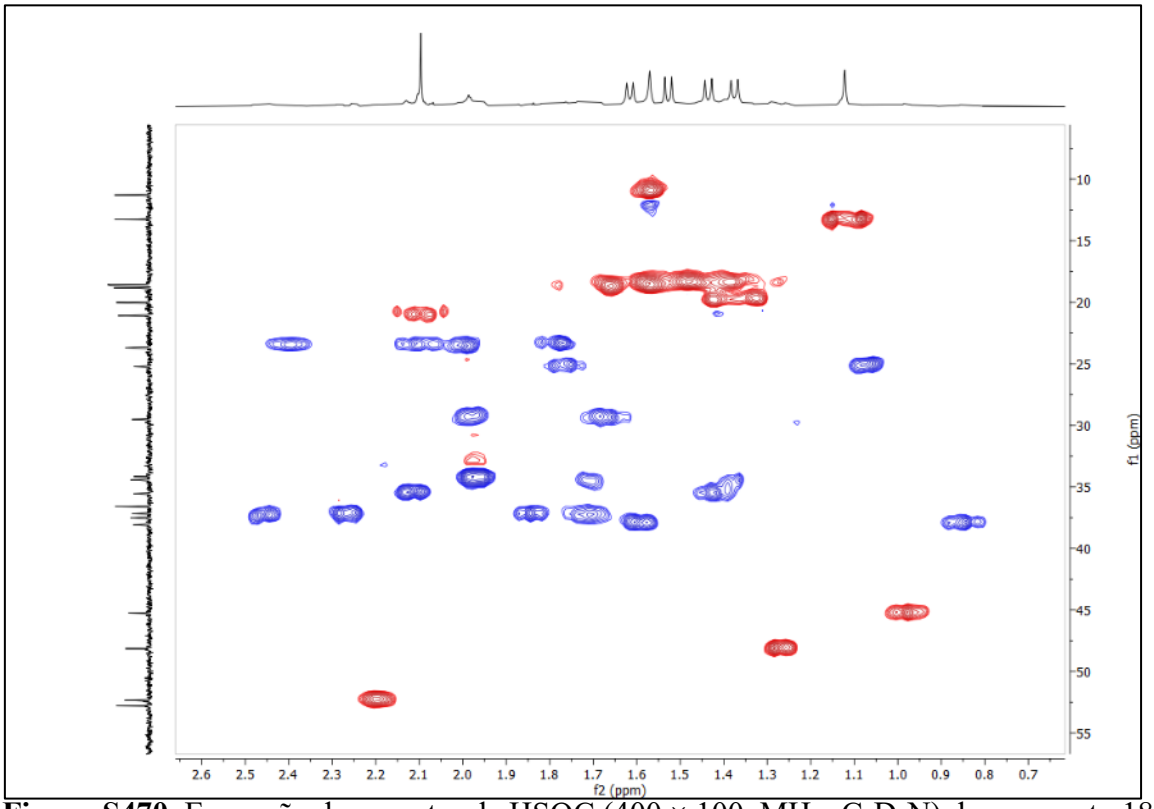


Figura S470. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 10-55 ppm e 0,7-2,6 ppm

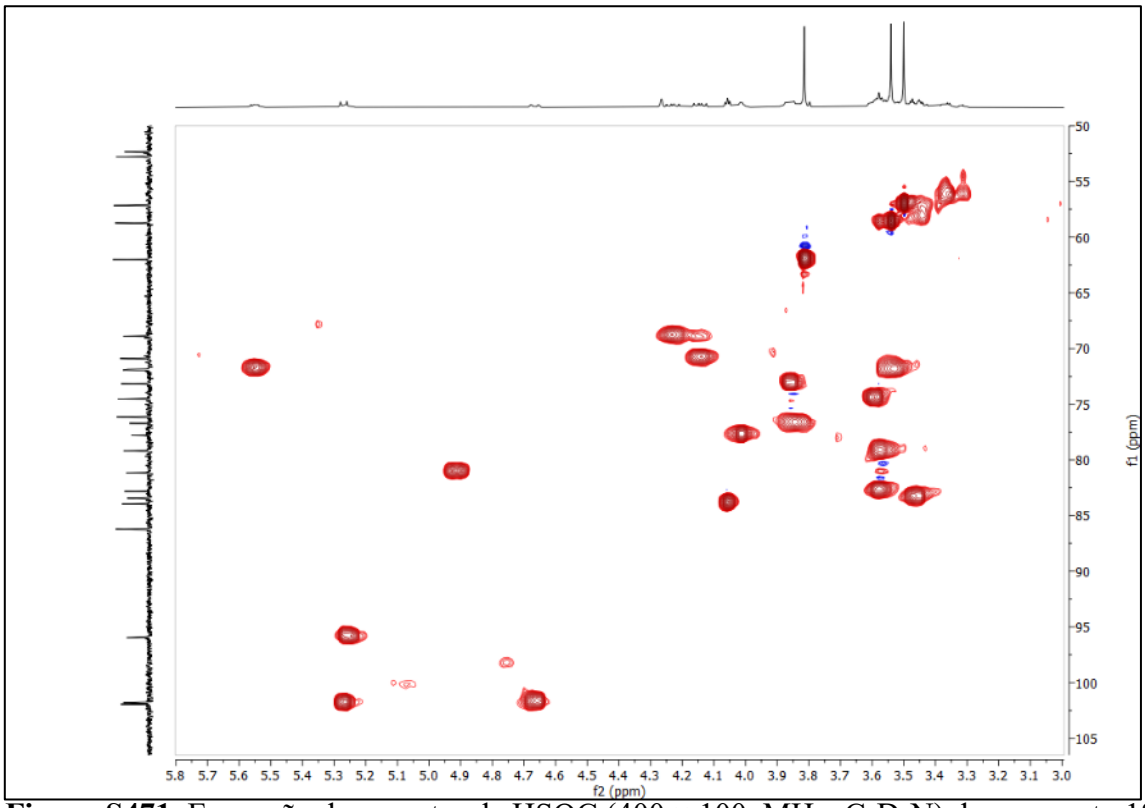


Figura S471. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 50-105 ppm e 3,0-5,8 ppm

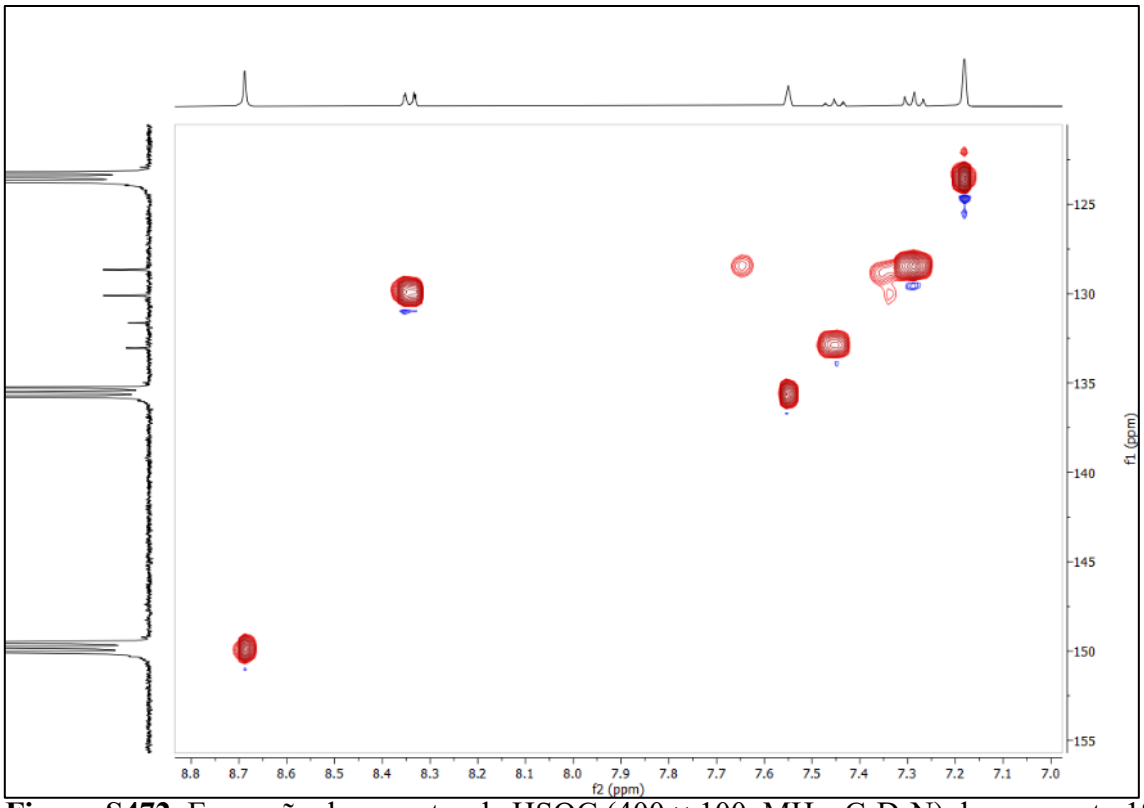


Figura S472. Expansão do espectro de HSQC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 125-155 ppm e 7,0-8,8 ppm

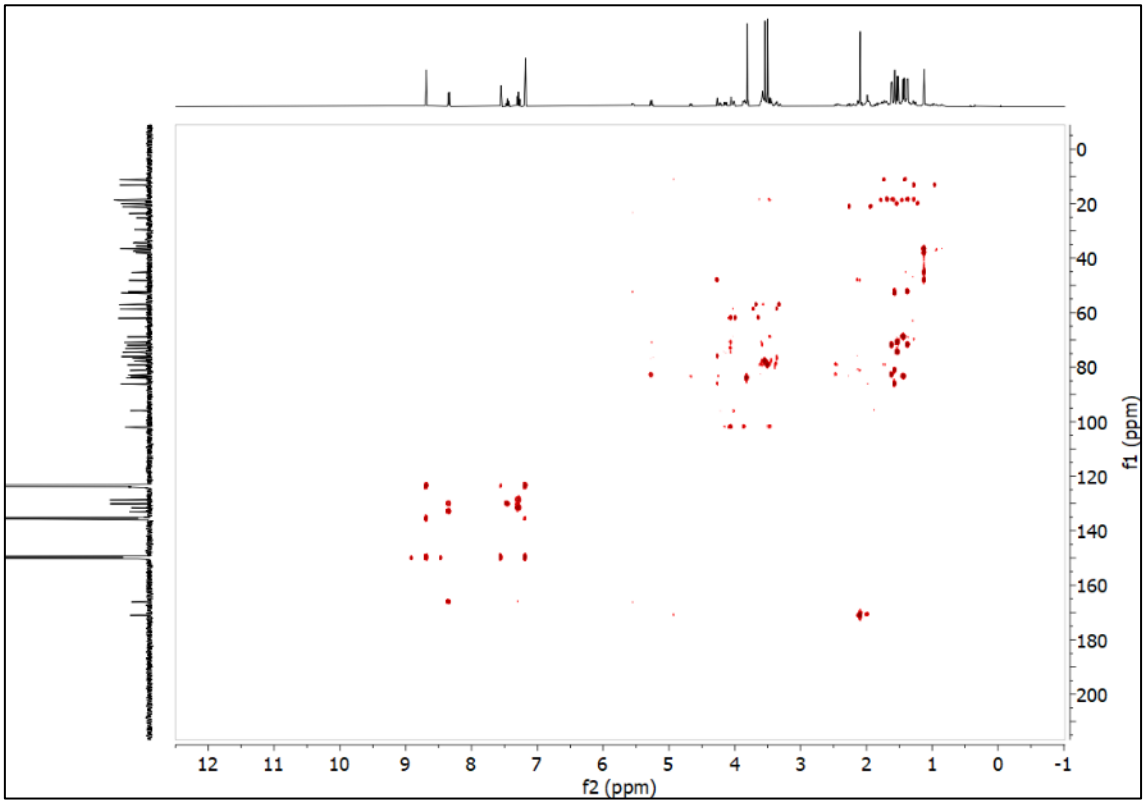


Figura S473. Espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18

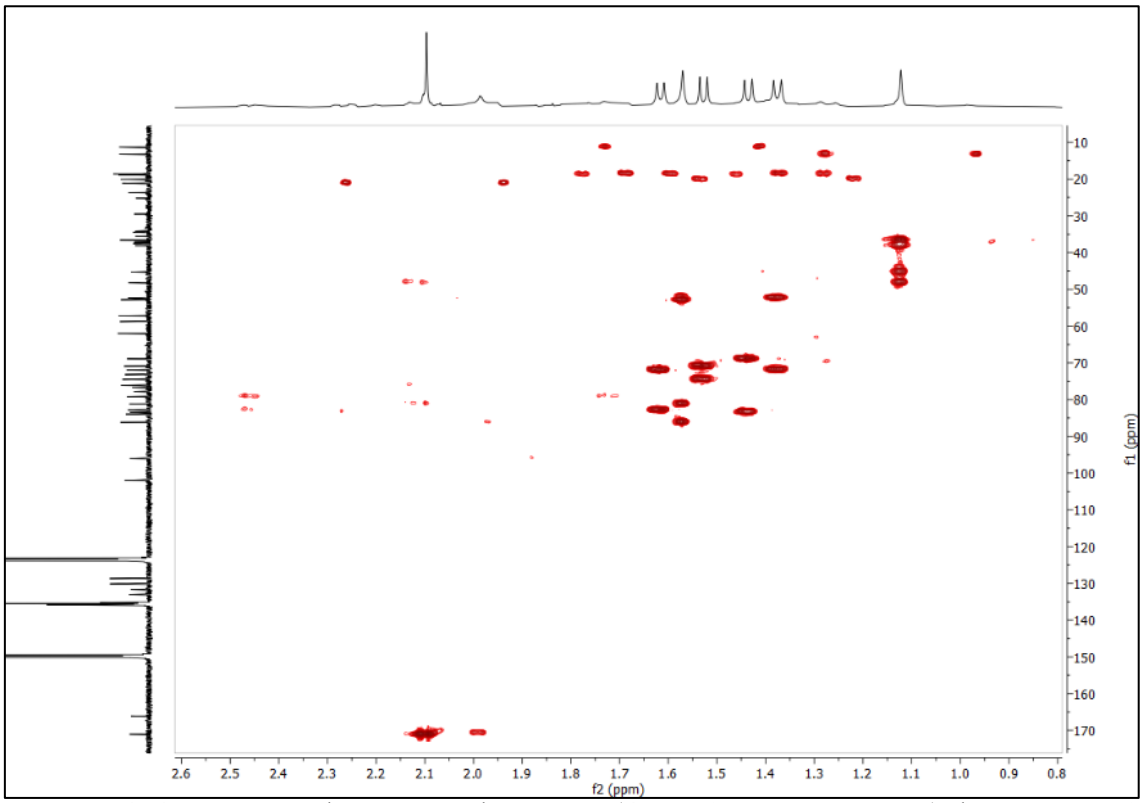


Figura S474. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 10-170 ppm e 0,8-2,6 ppm

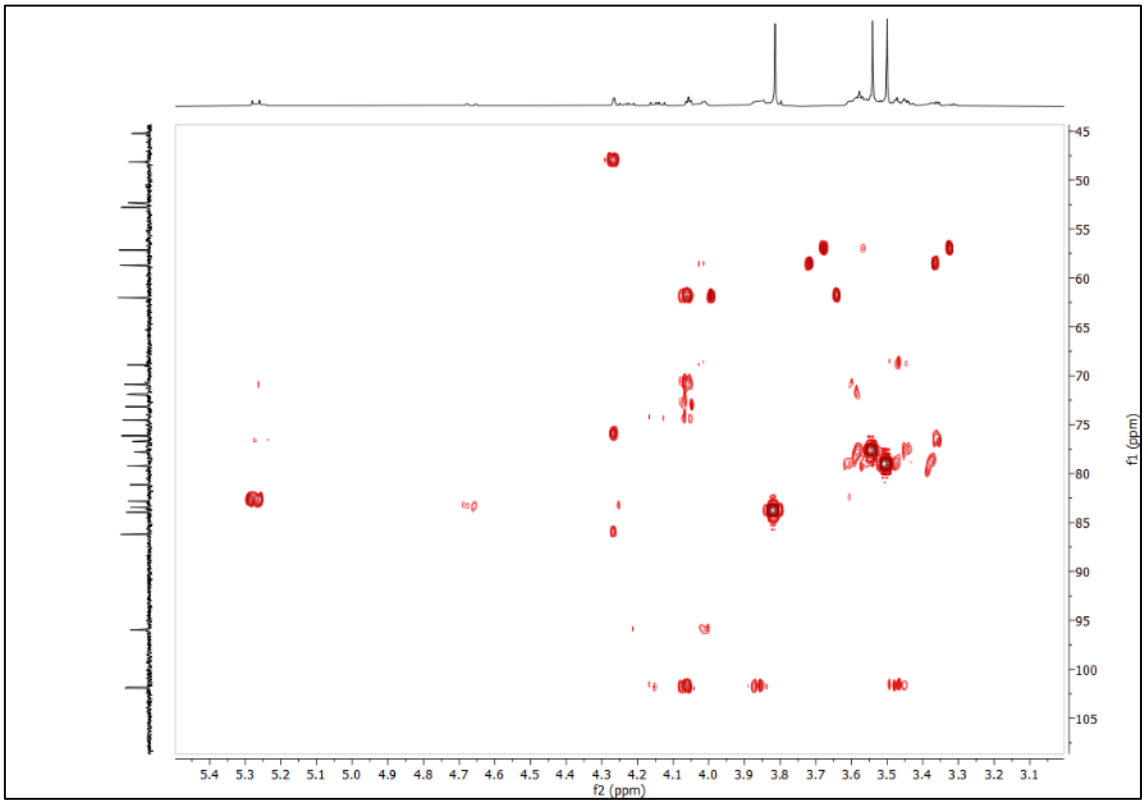


Figura S475. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 45-105 ppm e 3,1-5,4 ppm

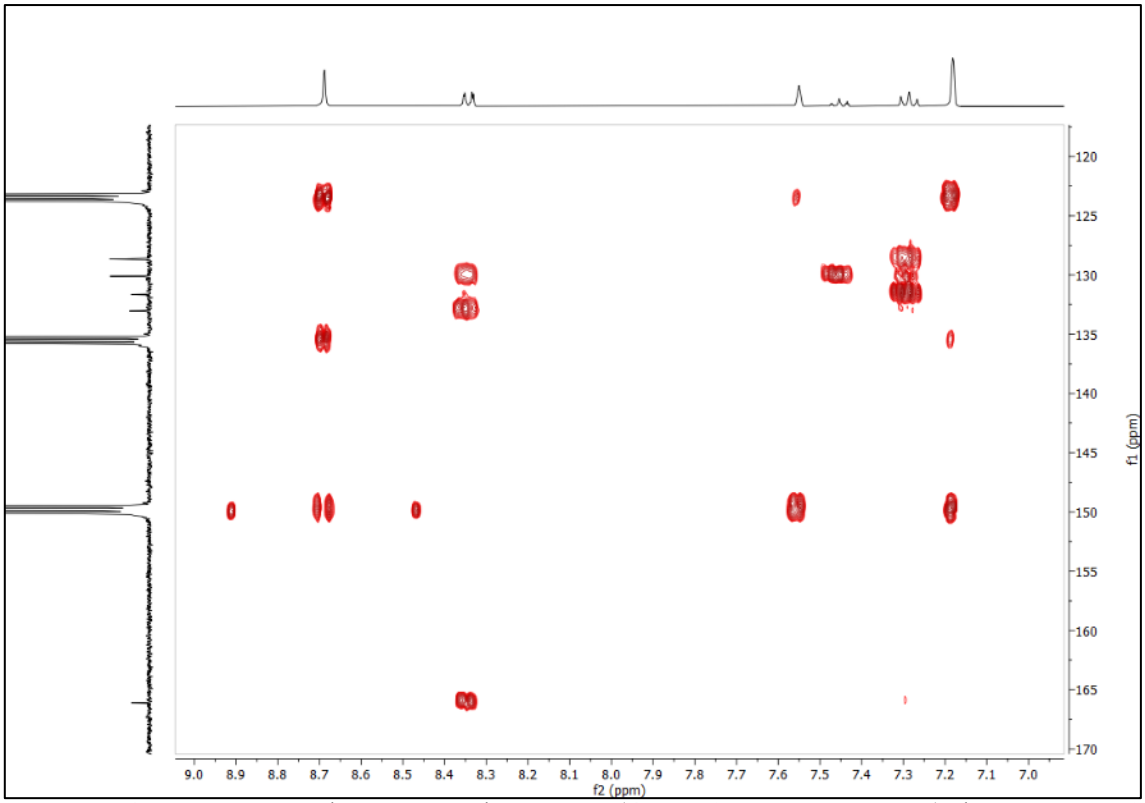


Figura S476. Expansão do espectro de HMBC (400 × 100 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 120-170 ppm e 7,0-9,0 ppm

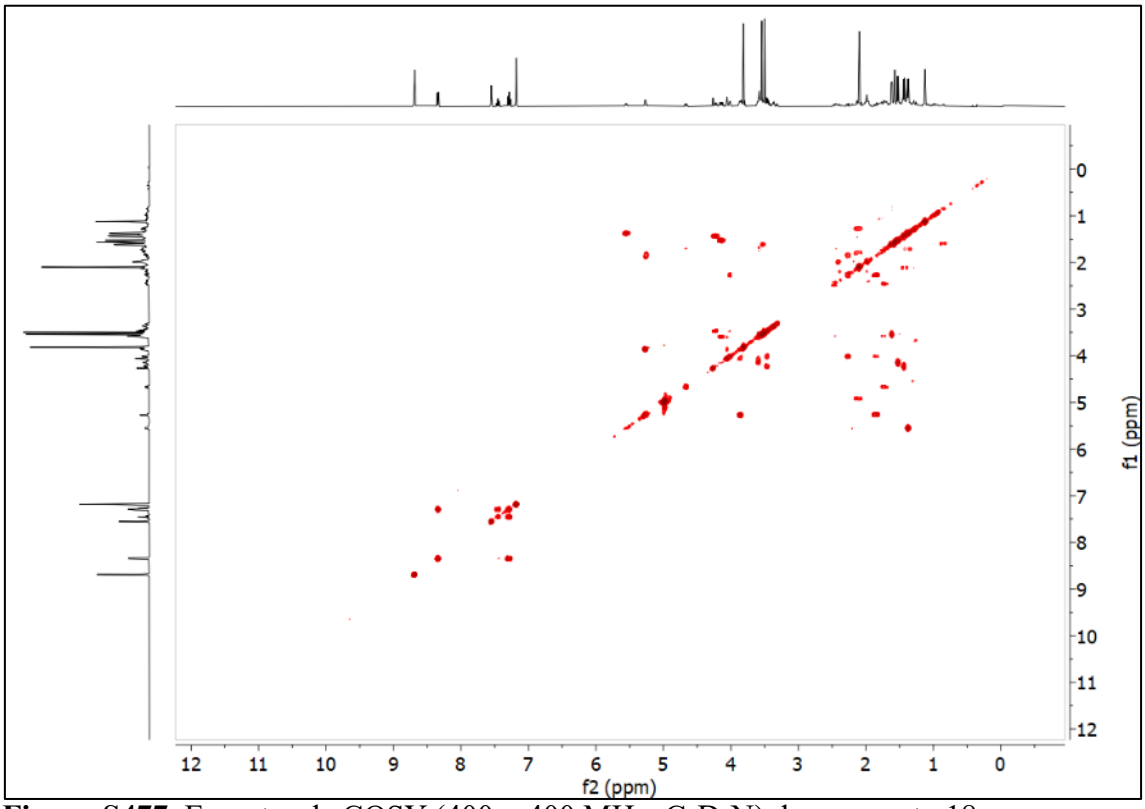


Figura S477. Espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18

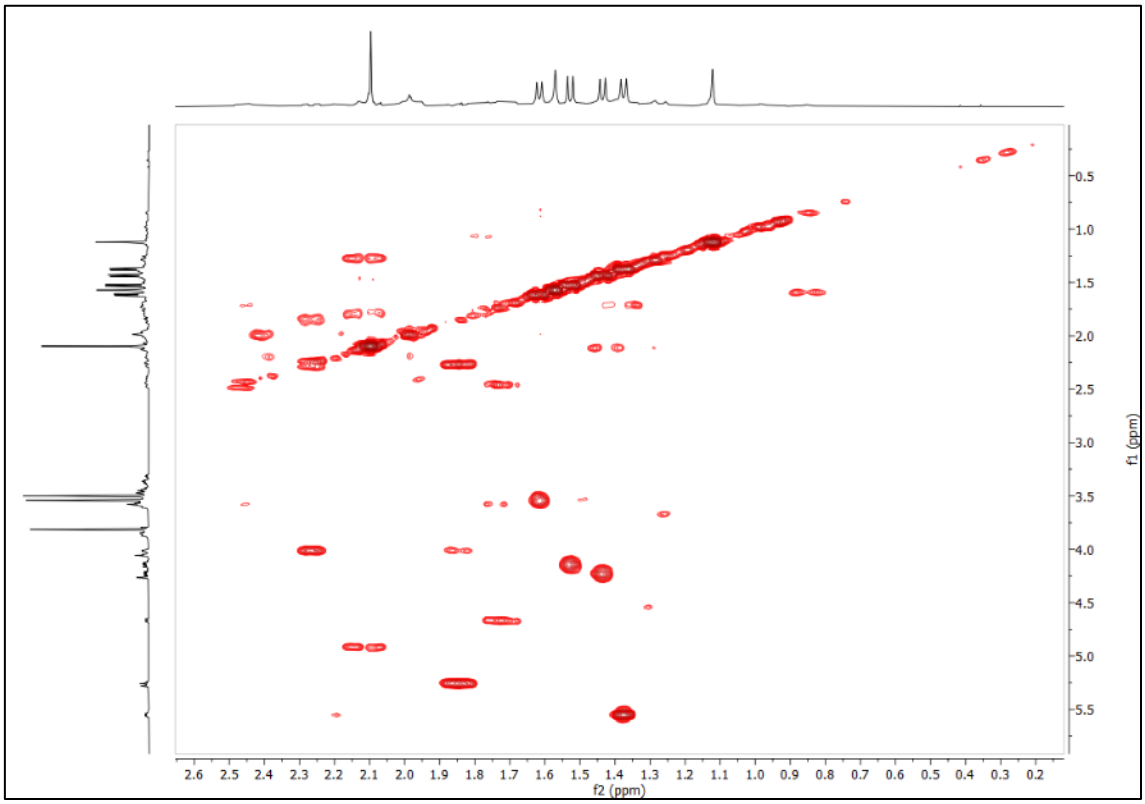


Figura S478. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,2-2,6 ppm

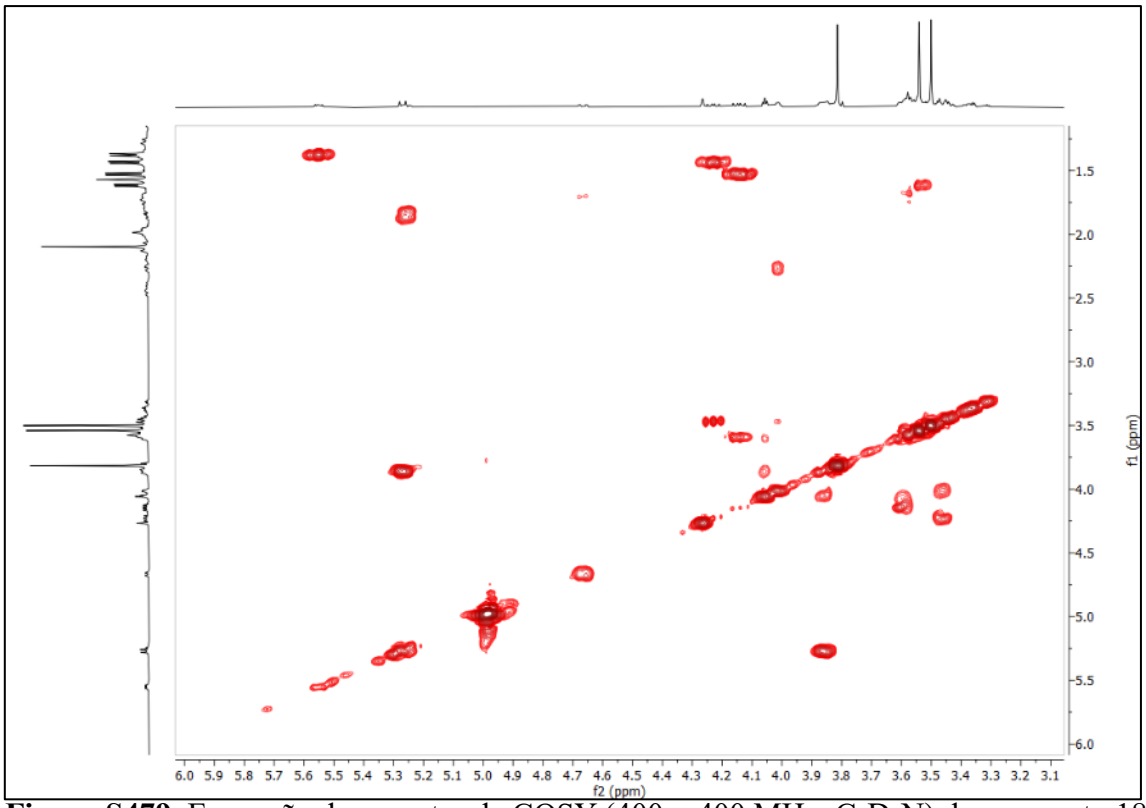


Figura S479. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 1,5-6,0 ppm e 3,1-6,0 ppm

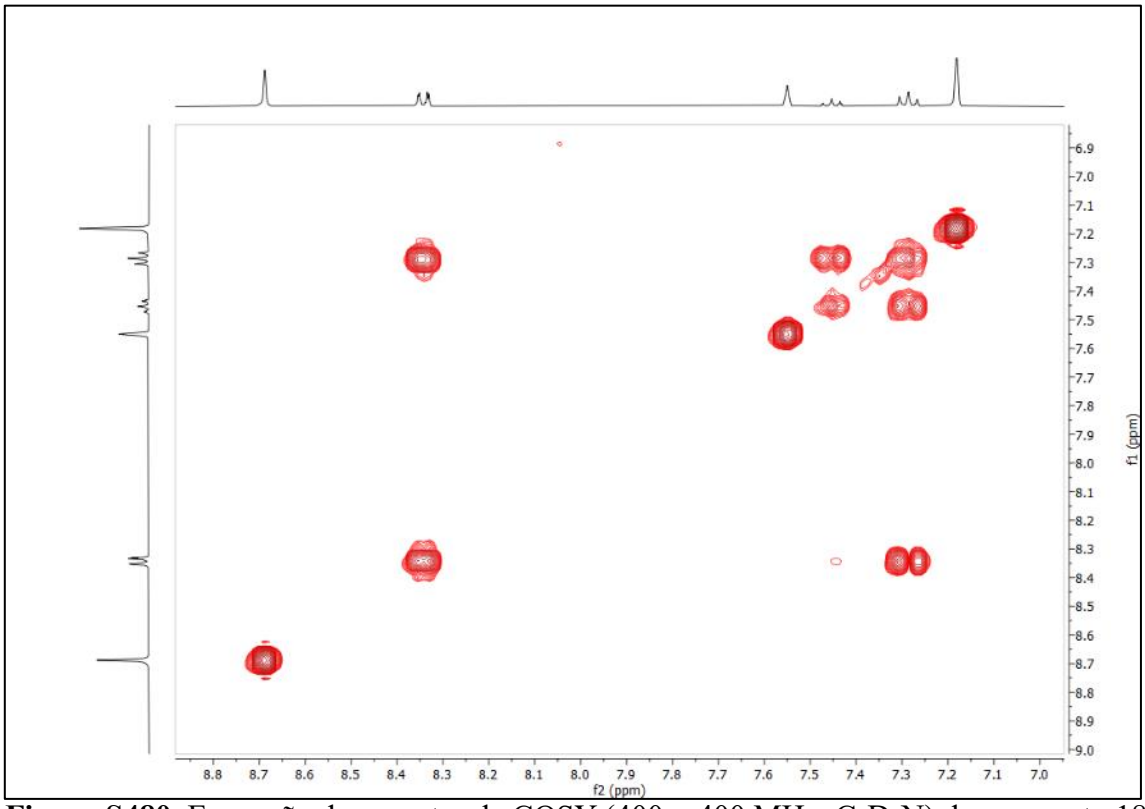


Figura S480. Expansão do espectro de COSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 6,9-9,0 ppm e 7,0-8,8 ppm

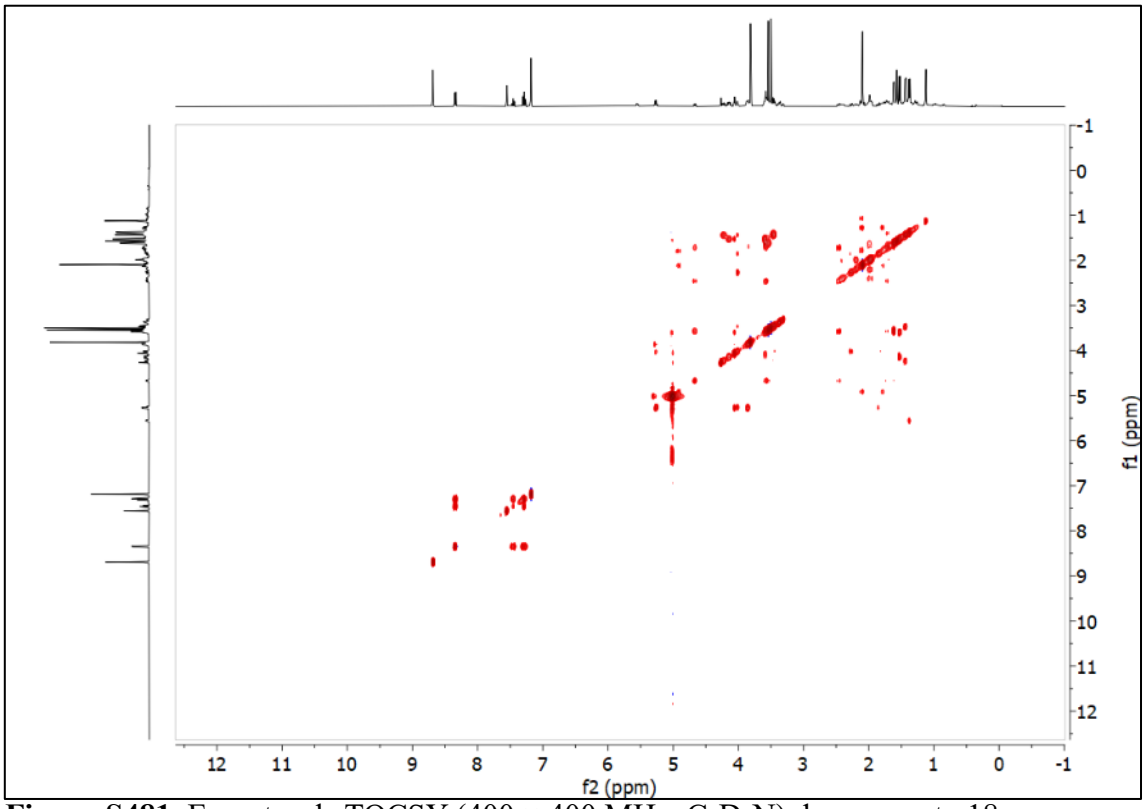


Figura S481. Espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18

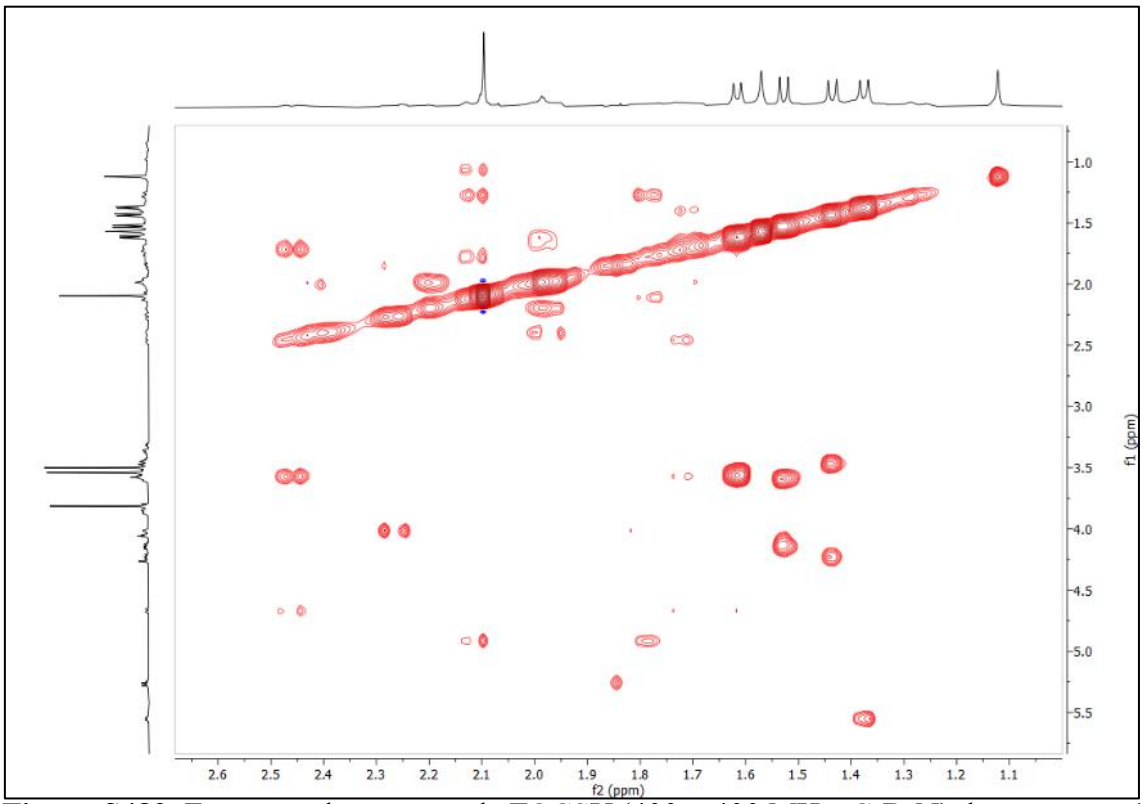


Figura S482. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 1,0-5,5 ppm e 1,1-2,6 ppm

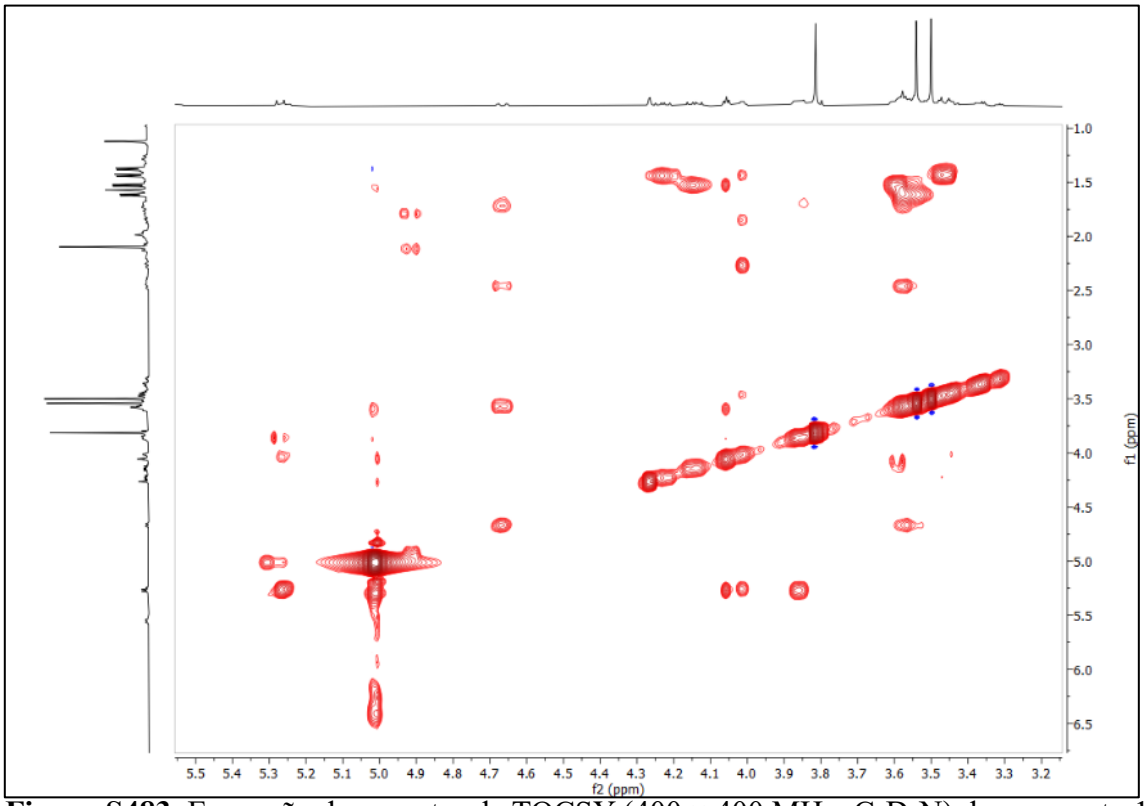


Figura S483. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 1,0-6,5 ppm e 3,2-5,5 ppm

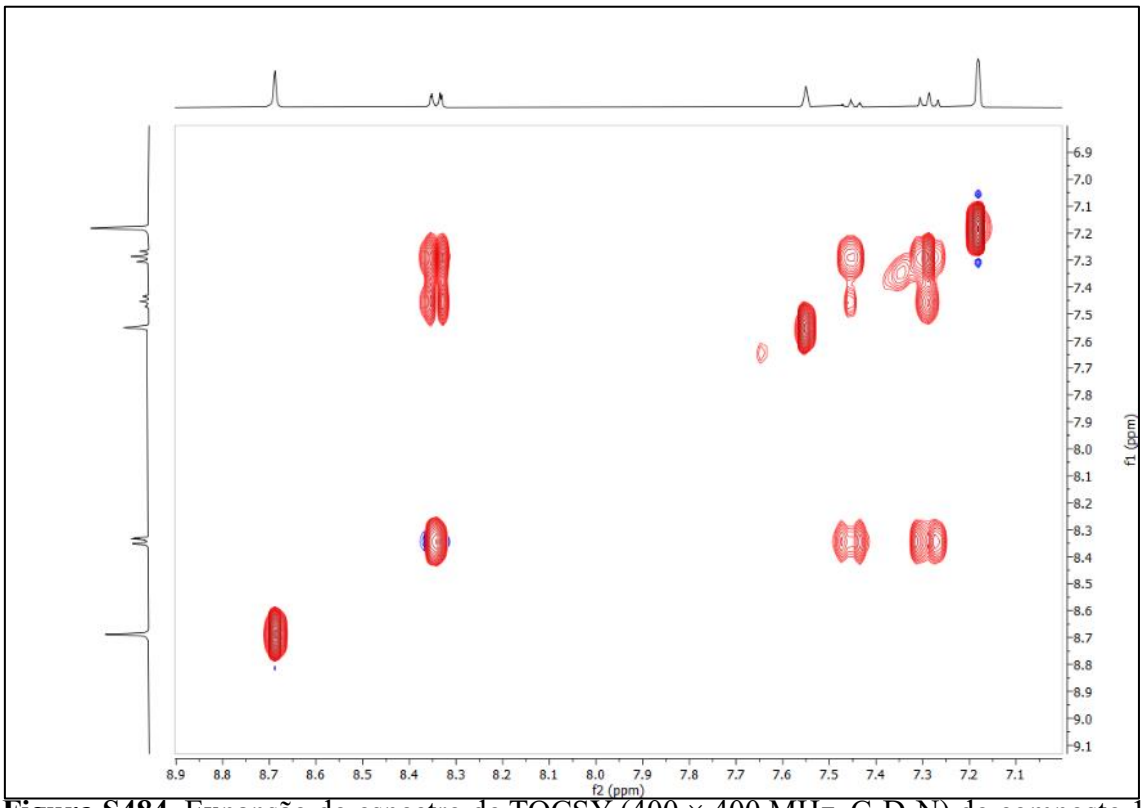


Figura S484. Expansão do espectro de TOCSY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 6,9-9,1 ppm e 7,1-8,9 ppm

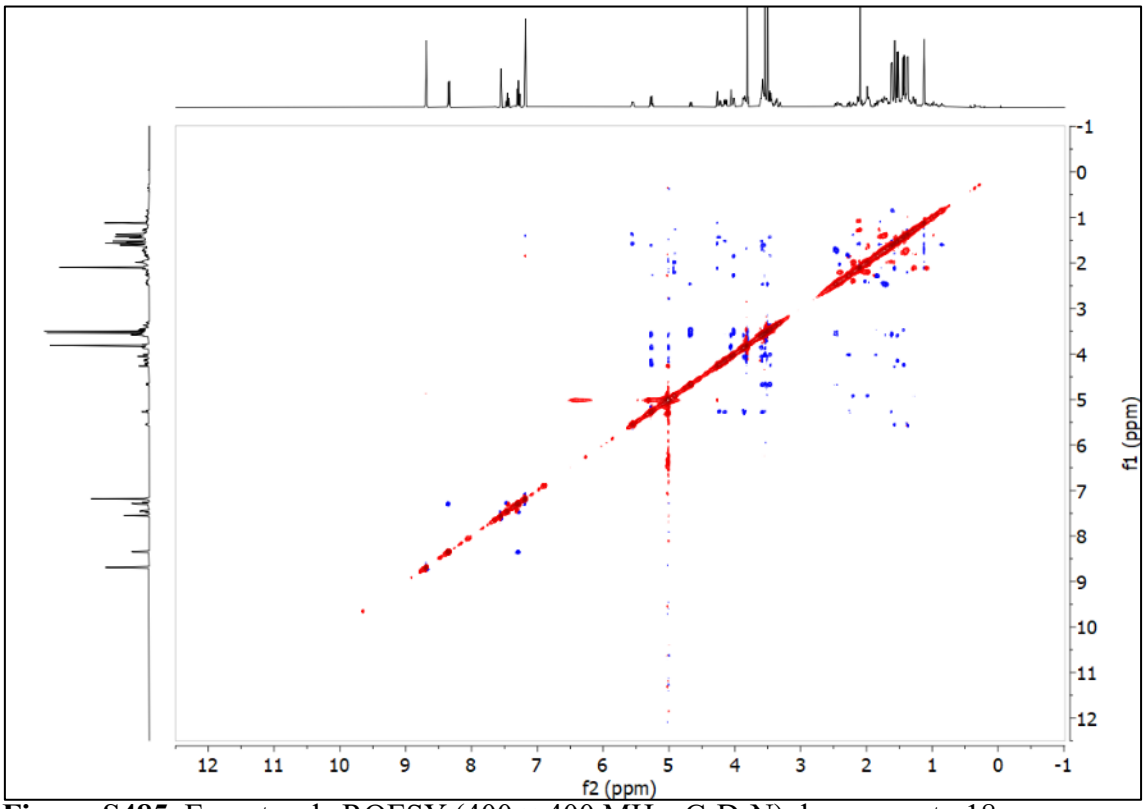


Figura S485. Espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18

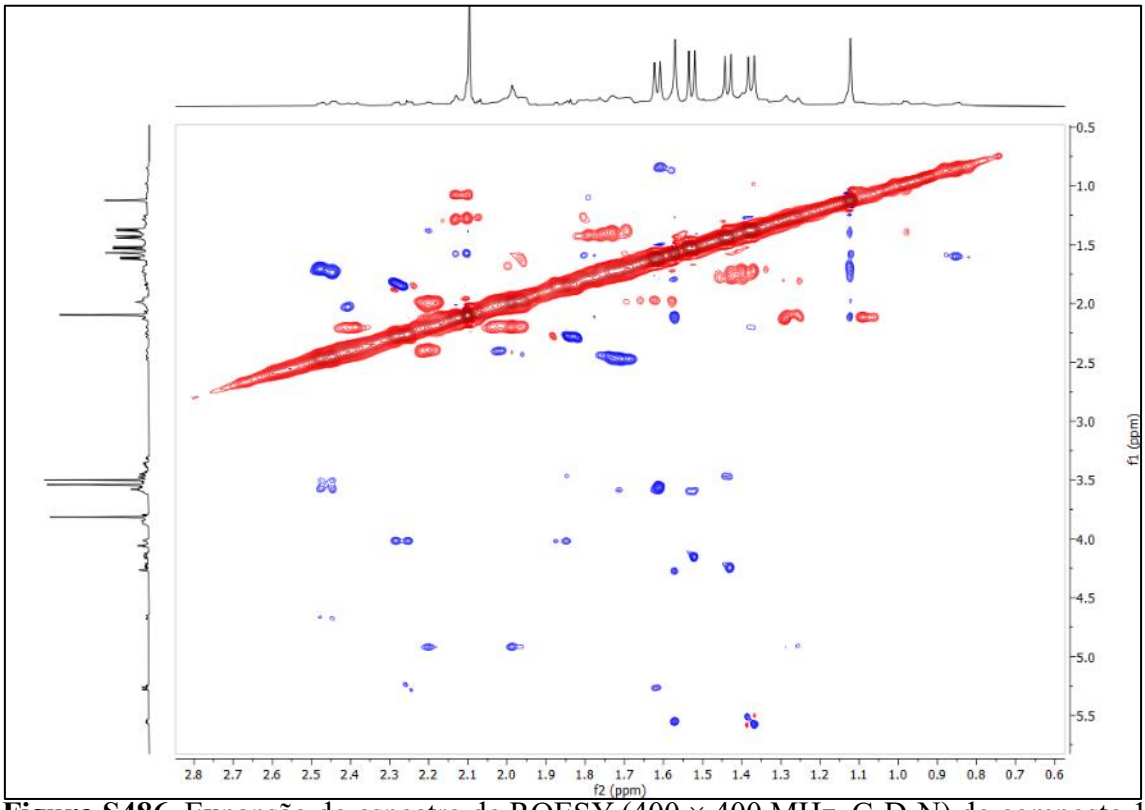


Figura S486. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 0,5-5,5 ppm e 0,6-2,8 ppm

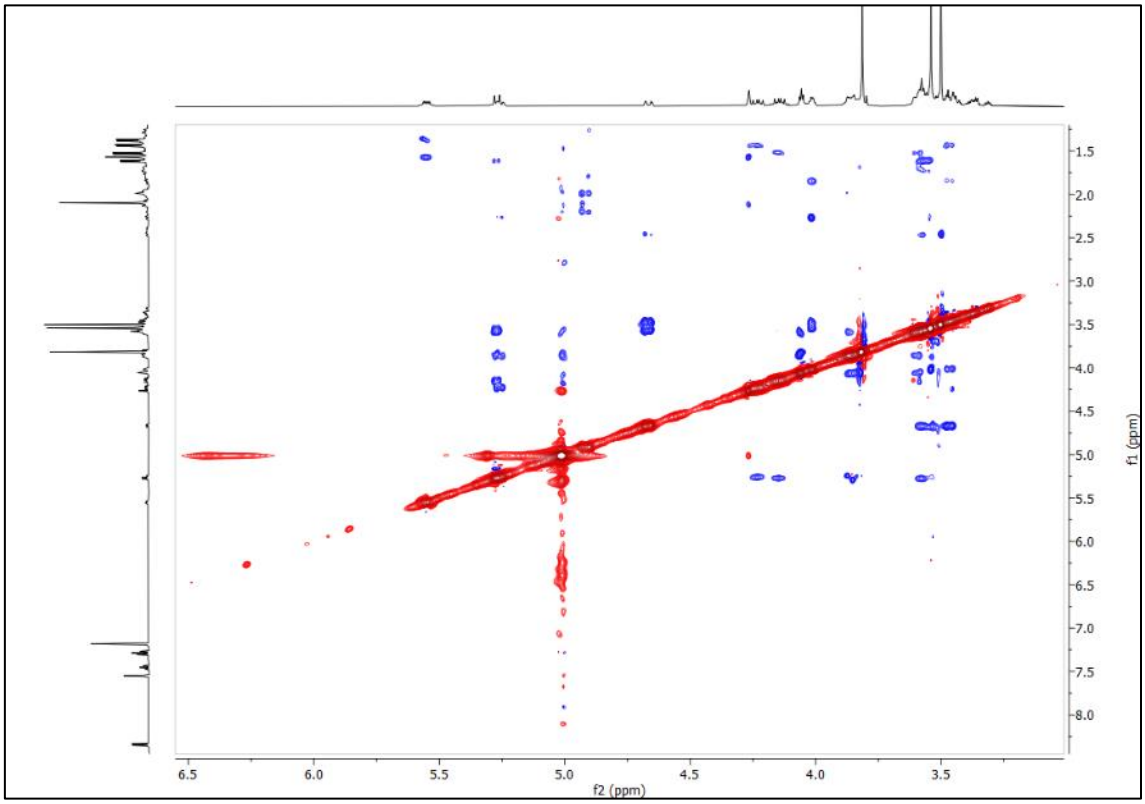


Figura S487. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 1,5-8,0 ppm e 3,5-6,5 ppm

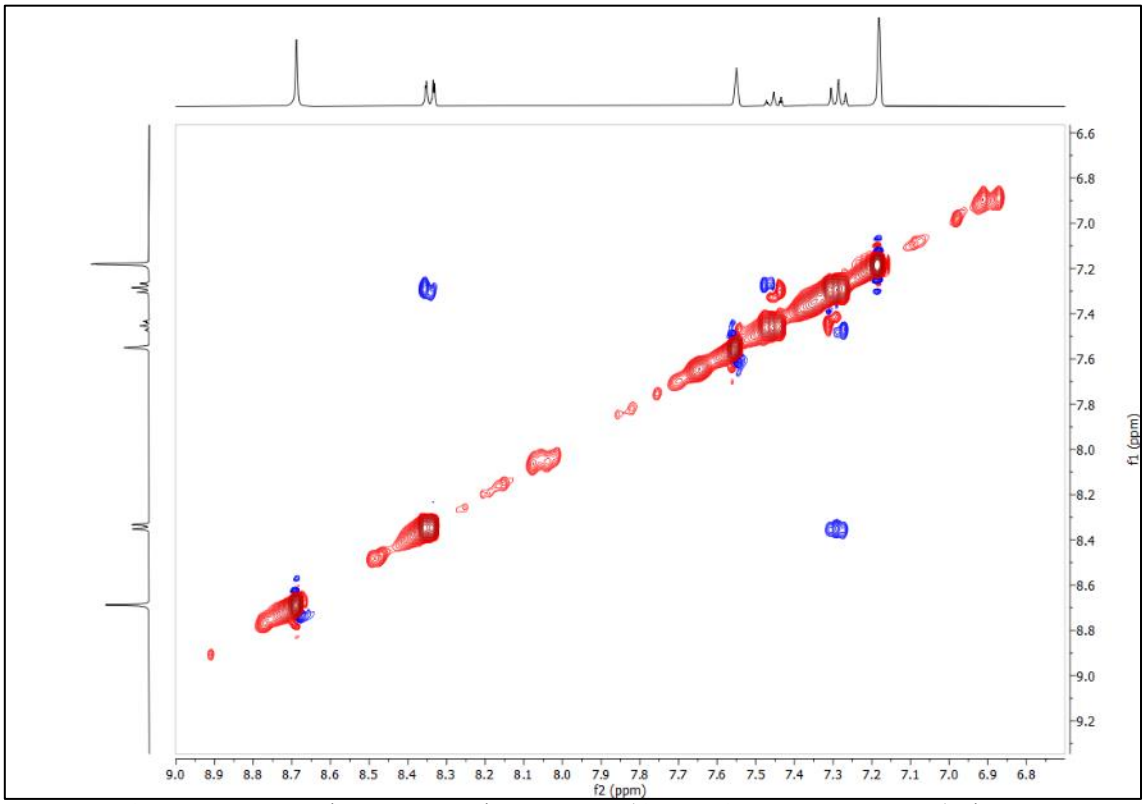


Figura S488. Expansão do espectro de ROESY (400 × 400 MHz, C_5D_5N) do composto 18 nas regiões de 6,6-9,2 ppm e 6,8-9,0 ppm

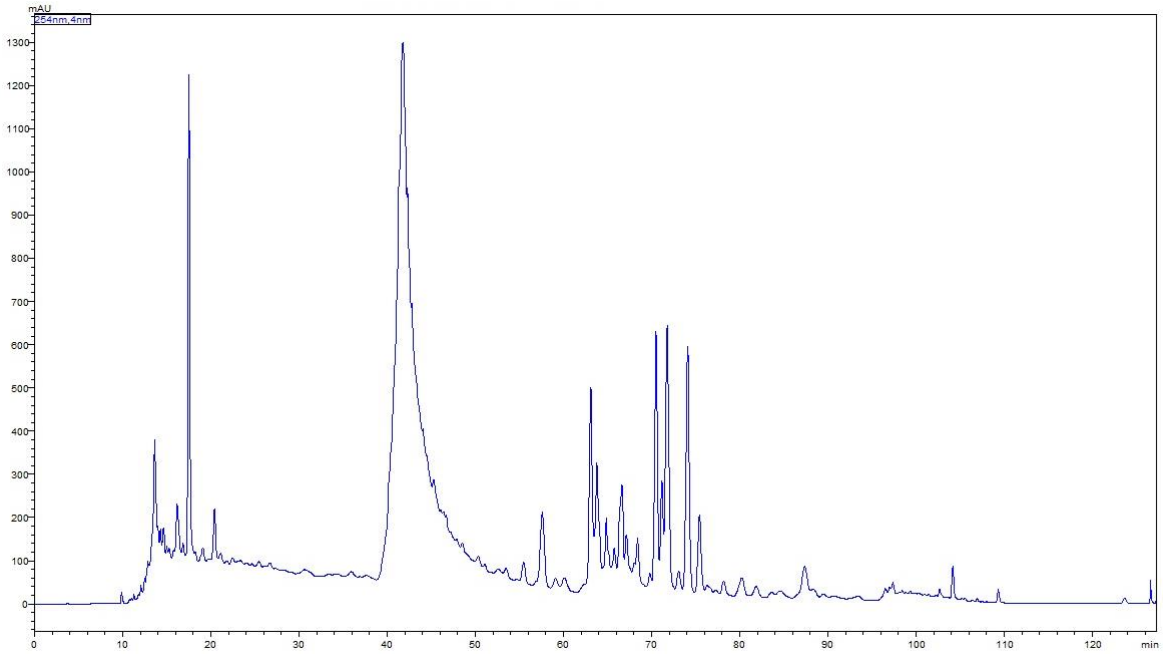


Figura S489. Cromatograma da CLAE-DAD da fração 9 a 18.9 e 10 da raiz de *R. caatingae*

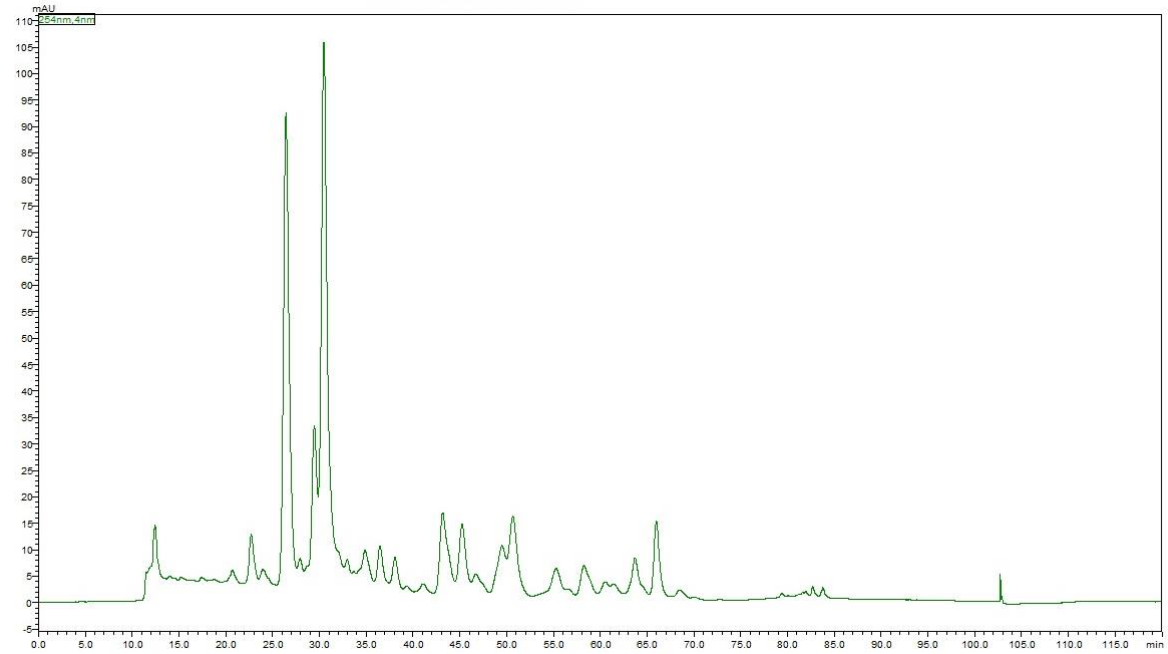


Figura S490. Cromatograma da CLAE-DAD da fração 9 a 18.3.7 da raiz de *R. caatingae*

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho descreve a primeira investigação fitoquímica do gênero *Ruehssia*, a partir do estudo da espécie *Ruehssia caatingae*, onde foi possível isolar três compostos das partes aéreas (folhas e ramos), sendo o composto ácido-3-metil-N-pentanóico-*β*-D-galactofuranosídeo inédito na literatura, o (-) - conduritol F isolado pela primeira vez no gênero e a timidina isolado pela primeira vez na família Apocynaceae. Estes compostos foram avaliados por ensaio de atividade citotóxica contra células de glioblastoma (U87-MG), neuroblastoma (SH-SY5Y) e adenocarcinoma de mama (MDA-MB-231), não promovendo atividade citotóxica significativa.

Além disso, foram isoladas dezoito novas saponinas esteroidais do núcleo pregnano das raízes desta espécie, denominados de Ruehssiosides A–R. Dentre estes, quatorze foram submetidos à um ensaio de atividade anti-inflamatória em modelos de macrófagos ativados, apresentando baixa citotoxicidade associada a inibição significativa da produção de IL-1β, IL-6 e óxido nítrico. Entre eles, o Ruehssioside J destacou-se por possuir a maior potência (IC_{50} = 17,5 μM) entre os compostos testados. A relação da estrutura-atividade destacou a importância das substituições em C-3 e C-20, assim como a presença de um hidrogênio em C-8, como fatores determinantes para a potência e eficácia.

Diante disto, este trabalho contribuiu para o conhecimento químico e farmacológico da Família Apocynaceae e o gênero *Ruehssia*, através do isolamento de novos compostos, em destaque as saponinas esteroidais do núcleo pregnano e suas potenciais atividades anti-inflamatórias. Isto reforça a relevância da família Apocynaceae como fonte promissora de metabólitos estruturalmente únicos e biologicamente ativos.

REFERÊNCIAS

AL-AWADHI, F. H. *et al.* Isolation and Characterization of the Cyanobacterial Macrolide Glycoside Moorenaside, an Anti-Inflammatory Analogue of Aurisides Targeting the Keap1/Nrf2 Pathway. **Journal of Natural Products**, v. 87, n. 10, p. 2355–2365, 25 out. 2024.

ALBANO, D. *et al.* The Role of Fibroblast Activation Protein Inhibitor Positron Emission Tomography in Inflammatory and Infectious Diseases: An Updated Systematic, **Review Pharmaceuticals Multidisciplinary Digital Publishing Institute** (MDPI), 1 jun. 2024.

ANTONELLI, A.*et al*. Settling a family feud: a high level phylogenomic framework for the Gentianales based on 353 nuclear genes and partial plastomes. **American Journal of Botany**, v. 108, p. 1143–1165, 2021.

AZIZ, M. A. *et al.* Exploration of anti-inflammatory activity of pyrazolo [3,4 d]pyrimidine/1,2,4-oxadiazole hybrids as COX-2, 5-LOX and NO release inhibitors: Design, synthesis, in silico and in vivo studies. **Bioorganic Chemistry**, v. 156, p. 108181, mar. 2025.

BAJAJ, S.; ONG, S. T.; CHANDY, K. G. Contributions of natural products to ion channel pharmacology. **Natural Product Reports**, v. 37, n. 5, p. 703-716, Fevereiro 2020.

BAJAJ, S.; ONG, S. T.; CHANDY, K. G. Contributions of natural products to ion channel pharmacology. **Natural Product Reports**, v. 37, n. 5, p. 703-716, Fevereiro, 2020.

BFG. Apocynaceae Juss. In: Flora e Funga do Brasil. Rio de Janeiro: **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2022.

BHADANE, B. S. *et al.* Ethnopharmacology, phytochemistry, and biotechnological advances of family Apocynaceae: A review. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 7, p. 1181–1210, 25 jul. 2018.

BHAT, S. V., NAGASAMPAGI, B. A. & SIVAKUMAR, M. **Chemistry of Natural Products** (Springer, 2005).

BIJI, C. A.; BALDE, A.; NAZEER, R. A. Anti-inflammatory peptide therapeutics and the role of sulphur containing amino acids (cysteine and methionine) in inflammation suppression: A review. **Inflammation Research**, v. 73, n. 7, p. 1203–1221, 21 jul. 2024.

BITENCOURT, C. *et al*. Evolution of dispersal, habit, and pollination in Africa pushed Apocynaceae diversification after the Eocene-Oligocene climate transition. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 9, p. 719741, 2021. DOI: 10.3389/fevo.2021.719741.

BOLZANI, V. S. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 68, Janeiro 2016.

BOUSBAA, H. Novel anticancer strategies. **Pharmaceutics**, v. 13, p. 275, 2021.

CHOO, M. Z. Y. *et al.* Privileged natural product compound classes for anti-inflammatory drug development. **Natural Product Reports**, 2025.

CHOO, M. Z. Y. *et al.* Privileged natural product compound classes for anti-inflammatory drug development. **Natural Product Reports**, 2025.

DA SILVA BARBOSA, D.C., *et al.* Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory potential, in silico, of *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg fruit peel essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 151, p. 112372, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112372

SILVA, J. M. C. da; LACHER, T. E. Caatinga—South America. In: GOLDSMITH, F. B. (ed.). **Encyclopedia of the World's Biomes. Elsevier**, 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.11984-0

DE ALMEIDA RODRIGUES, T. *et al*. A valorização das plantas medicinais como alternativa à saúde: um estudo etnobotânico. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 1, p. 411-428, 2020.

SOUZA, T. A. *et al*.. Asclepiadoideae subfamily (Apocynaceae): ethnopharmacology, biological activities and chemophenetics based on pregnane glycosides. **Phytochemistry Reviews**, 2024. DOI: https://doi.org/10.1007/s11101-024-09914-2.

VERAS, B. O. *et al*. The essential oil of the leaves of *Verbesina macrophylla* (Cass.) S. F. Blake has antimicrobial, anti-inflammatory and antipyretic activities and is toxicologically safe. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 265, p. 113248, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113248.

DEHELEAN, Cristina Adriana et al. Plant-derived anticancer compounds as new perspectives in drug discovery and alternative therapy. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 1109, 2021.

ENDRESS, M. E. *et al.* (eds.). Flowering plants. Eudicots: The families and genera of vascular plants. **Berlin: Springer International Publishing**, 2019. v. 15, p. 207–411. ISBN 978-3-319-93604-8. DOI: 10.1007/978-3-319-93605-5_3.

ESPÍRITO SANTO, F. S.; SANTOS, A. P. B.; RAPINI, A. ***Ruehssia*. In: Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB131799. Acesso em: 16 jun. 2025.

ESPÍRITO SANTO, Fabio da Silva do et al. Phylogeny of the tribe Marsdenieae (Apocynaceae), reinstatement of *Ruehssia* and the taxonomic treatment of the genus in Brazil. **Kew Bulletin**, v. 74, p. 1-79, 2019.

FISHBEIN, M. *et al*. A. Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers, and fruits. **American Journal of Botany**, v. 105, p. 495–513, 2018.

GATHUNGU, Rose M. *et al*. The integration of LC-MS and NMR for the analysis of low molecular weight trace analytes in complex matrices. **Mass spectrometry reviews**, v. 39, n. 1-2, p. 35-54, 2020.

GIULIETTI, A. M. *et al*. Biodiversity and conservation of plants in Brazil. **Conserv. Biol.,** v.19, n.3, p.632-639, 2005.

GOPALAIAH, Sinchana B.; JAYASEELAN, Kavitha. Analytical strategies to investigate molecular signaling, proteomics, extraction and quantification of withanolides–A comprehensive review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 723-747, 2025.

GRIFFITHS, Keith *et al*. Food antioxidants and their anti-inflammatory properties: a potential role in cardiovascular diseases and cancer prevention. **Diseases**, v. 4, n. 3, p. 28, 2016.

Gupta MR, Gupta V, Khare NK (2015) Structural Studies of Biologically Important Steroidal Pregnane Glycosides from Medicinal Plants. Trends in Carbohydrate Research, v. 7, n. 3.

KADATANE, S. P. *et al.* The Role of Inflammation in CKD. **Cells**, v. 12, n. 12, p. 1581, 7 jun. 2023.

KIM, H. N. *et al.* Anti-inflammatory activity of the extracts from *Rodgersia podophylla* leaves through activation of Nrf2/HO-1 pathway, and inhibition of NF-κB and MAPKs pathway in mouse macrophage cells. **Inflammation Research**, v. 69, n. 2, p. 233–244, 6 fev.

2020.

KOUBA, B. R. *et al.* Role of Inflammatory Mechanisms in Major Depressive Disorder: From Etiology to Potential Pharmacological Targets. **Cells**, v. 13, n. 5, p. 423, 28 fev. 2024.

KUO, C. L.; CHI, C. W.; LIU, T. Y. The anti-inflammatory potential of berberine in vitro and in vivo. **Cancer Letters**, v. 203, p. 127–137, 2004.

LEI, J. et al. Mechanistic insights into a classic wonder drug—aspirin. **Journal of the American Chemical Society**, v. 137, n. 1, p. 70–73, 14 jan. 2015.

LI, Z. *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory activities of berberine in the treatment of diabetes mellitus. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 289264, 2014.

LOU, T. *et al.* Berberine inhibits inflammatory response and ameliorates insulin resistance in hepatocytes. **Inflammation,** v. 34, p. 659–667, 2011.

LOU, Y. *et al.* Houttuynia cordata Thunb. e seu composto bioativo 2-undecanona suprimem significativamente a tumorigênese pulmonar induzida por benzo(a)pireno ao ativar a via de sinalização Nrf2-HO-1/NQO-1. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 38, n. 1, p. 242, 2019. DOI: https://doi.org/10.1186/s13046-019-1255-3.

MAHMOUD, A. M. *et al*. Modulatory effect of berberine on adipose tissue PPARγ, adipocytokines and oxidative stress in high fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 7, p. 1–10, 2017.

MARTINS, M. C.; GARLET, T. M. B. Developing and disseminating knowledge on medicinal plants. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 20, n. 1, p. 438-448, 2016.

MATOS, M. S.; ANASTÁCIO, J. D.; NUNES DOS SANTOS, C. Sesquiterpene Lactones: Promising Natural Compounds to Fight Inflammation. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 7, p. 991, 30 jun. 2021.

MISHRA, J. N.; VERMA, N. K. A brief study on *Catharanthus roseus*: a review. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 2, p. 20–23, 2017.

MOGES, Admasu; MOGES, Yohannes. Ethiopian common medicinal plants: their parts and uses in traditional medicine-ecology and quality control. **IntechOpen,** 2019.

MORALES, J. F.; ENDRESS, M. E.; LIEDE-SCHUMANN, S. Sex, drugs and pupusas: disentangling relationships in Echiteae (Apocynaceae). **Taxon**, v. 66, p. 623–644, 2017. DOI: https://doi.org/10.12705/663.7.

NAIDOO, C. M. *et al.* Chemistry, biological activities, and uses of latex from selected species of Apocynaceae. In: MURTHY, H. N. (ed.). **Gums, Resins and Latexes of Plant Origin**. Reference Series in Phytochemistry. Cham: Springer, 2022. p. 845–868.

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, p. 770–803, 2020.

Patil, R.H., Patil, M.P., Maheshwari, V.L., 2023. Morphology, ecology, taxonomy, diversity, habitat and geographical distribution of the Apocynaceae Family. Apocynaceae Plants. **Springer, Singapore**, pp. 1–11.

PEREZ-MATAS, E. *et al.* Insights sobre o controle do metabolismo de taxanos: alterações moleculares, celulares e metabólicas induzidas por elicitação em suspensões de células de *Taxus baccata*. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 942433, 2022. DOI: 10.3389/fpls.2022.942433.

RICARDO, L. M. *et al*. Evidence of traditionality of Brazilian medicinal plants: The case studies of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) *Coville* (barbatimão) barks and *Copaifera* spp (copaíba) oleoresin in wound healing. **Journal Ethnopharmacology,** v. 219, p. 319-336, 2018.

ROUBILLE, F. *et al.* Colchicine: an old wine in a new bottle? **Anti-inflammatory & Anti-allergy Agents in Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 14–23, 2013.

SCHIFF, P. B.; FANT, J.; HORWITZ, S. B. Promoção da montagem de microtúbulos *in vitro* por taxol. **Nature,** v. 277, p. 665–667, 1979. DOI: 10.1038/277665a0.

SHI, Z. *et al.* Maydistacins A–G, Terpestacin-type Sesterterpenoids with Anti-inflammatory Activity from the Phytopathogenic Fungus *Bipolaris maydis*. **Journal of Natural Products**, v. 87, n. 1, p. 68–76, 26 jan. 2024.

KURESI, Y. *et al.* Review on pregnane glycosides and their biological activities. **Phytochemistry Letters**, v. 47, p. 1–17, 2022.

SRISURICHAN, S.; PUTHONG, S.; PORNPAKAKUL, S. Pregnane-type steroidal glycosides from *Gymnema griffithii* ***Craib.*** **Phytochemistry**, v. 106, p. 197–206, 2014.

SUN, X. *et al.* Berberine inhibits hepatic stellate cell proliferation and prevents experimental liver fibrosis. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 32, p. 1533–1537, 2009.

VIEIRA FILHO, M. A. M. *et al*. Diversidad biocultural asociada al uso actual de plantas medicinales en una comunidad rural en el litoral piauiense (Noreste de Brasil). **Ethnoscientia: Revista Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia**, v. 3, 2018.

WANG, Mengting et al. Plant natural compounds in the cancer treatment: A systematic bibliometric analysis. **Heliyon**, v. 10, n. 14, 2024.

GU, X. J.; HAO, D. C. Recent advances in phytochemistry and pharmacology of C21 steroid constituents from *Cynanchum* plants. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 14, n. 5, p. 321–334, 2016.

XU, Y. *et al.* Phenolics and terpenoids with good anti-inflammatory activity from the fruits of *Amomum villosum* and the anti-inflammatory mechanism of active diterpene. **Bioorganic Chemistry**, v. 145, p. 107190, abr. 2024.

ZHANG, Z. *et al.* Berberine alleviates postoperative cognitive dysfunction by suppressing neuroinflammation in aged mice. **International Immunopharmacology**, v. 38, p. 426–433, 2016.