

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE *Rollinia leptopetala* R. E. FRIES

Vicente Carlos de O. Costa, Josean F. Tavares*, Cinthia S. Queiroga, Marianna V. S. Castello-Branco, Margareth F. F. Melo Diniz, Carolina Uchôa G. B. de Lima, Bárbara Viviana de O. Santos, João Carlos L. R. Pita e Marcelo Sobral da Silva

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970 João Pessoa - PB, Brasil

Ivana Maria Fachine Sette

Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, 58100-001 Campina Grande - PB, Brasil

Recebido em 14/3/11; aceito em 9/6/11; publicado na web em 5/8/11

CHEMICAL CONSTITUENTS OF THE LEAVES FROM *Rollinia leptopetala* R. E. FRIES. The phytochemical investigation of *Rollinia leptopetala* led to the isolation of a new compound named α -terpinyl caffeate, and five known compounds, being three sesquiterpenes, spathulenol, β -caryophyllene and $4\beta,10\alpha$ -aromadendrane-diol, and two alkaloids, (-)-3-hydroxynornuciferina and (+)-norisocorydine. These alkaloids are being described for the first time in this genus. The structures of the compounds were determined by analysis of IR, MS and NMR data, as well as by comparison with literature data. The crude extract of *R. leptopetala* leaves demonstrated a weak cytotoxicity on sarcoma 180 cells with an IC_{50} of 512.3 μ g/mL. However, the *in vivo* results showed that the extract exhibited a significant dose-dependent tumor growth reduction.

Keywords: *Rollinia leptopetala*; α -terpinyl caffeate; alkaloids.

INTRODUÇÃO

A família Annonaceae compreende 2.300 espécies, distribuídas em aproximadamente 130 gêneros.¹ Ocorre quase que exclusivamente em regiões tropicais,² sendo no neotrópico representada por aproximadamente 40 gêneros e 900 espécies.³ Essa família é caracterizada pela presença de terpenoides (principalmente diterpenos), alcaloides (principalmente derivados isoquinolínicos), além de óleos essenciais cuja composição é predominantemente de monoterpenos e sesquiterpenos.⁴ Trabalhos realizados por grupos de pesquisas no Brasil com Annonaceae reportaram vários tipos de metabólitos secundários, dentre eles, sesquiterpenos aromadendranos com atividade antifúngica,⁵ diterpenos diméricos,^{6,7} sesquiterpenos diméricos,⁸ diterpenos traquilobanos, óleos essenciais com atividade acaricida⁹ e alcaloides com atividade antifúngica¹⁰ e antioxidante.¹¹

Rollinia é um gênero com cerca de 65 espécies. Existem relativamente poucos relatos de investigações fitoquímicas sobre esse gênero quando comparado com outros da família Annonaceae, por exemplo, *Annona*.¹² É caracterizado principalmente pela presença de alcaloides¹³ e acetogeninas.¹⁴ *Rollinia leptopetala* R. E. Fries é uma árvore ou arbusto, endêmica do Brasil, conhecida popularmente como “pinha brava” e utilizada pela medicina popular como digestivo e para o tratamento de tumores.¹⁵ Dessa espécie já foram isolados alcaloides, acetogeninas e xantona,¹⁶ e descrita a caracterização química dos óleos essenciais de suas folhas e caules. O óleo essencial das folhas e o alcaloide liriodenina isolado das raízes apresentaram atividade larvicida em larvas no terceiro estágio do mosquito *Aedes aegypti* com CL_{50} de 34,7 e 3,6 ppm, respectivamente.¹⁷ Trabalhos prévios, realizados por nossa equipe com essa espécie, relataram a presença de alcaloides tetra-hidroprotoberberínicos¹⁸ e atividade moduladora da resistência bacteriana ao norfloxacino do óleo essencial de suas folhas.¹⁹ Por ser considerada uma fonte promissora de substâncias bioativas, continuamos o estudo fitoquímico de *R. leptopetala* e, neste artigo, descrevemos o isolamento e a

caracterização estrutural de um novo derivado cafeico, cafeato de α -terpineol (**1**), três sesquiterpenos, espatulenol (**2**), β -cariofileno (**3**), $4\beta,10\alpha$ -aromadendrano-diol (**4**) e dois alcaloides, (-)-3-hidro-xinornuciferina (**5**) e (+)-norisocoridina (**6**) (Figura 1), bem como a atividade antitumoral do extrato etanólico das folhas em células da linhagem sarcoma 180.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A substância **1** foi isolada na forma de um óleo incolor. O pico do íon molecular obtido por EM-AR-IES em m/z 315,1612 [M-H]⁻ foi compatível com a fórmula molecular $C_{19}H_{23}O_4$ (massa requerida 315,1602). No espectro RMN ¹³C observou-se a presença de 19 sinais. Destes, 6 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 7 a carbonos metínicos, 3 a carbonos metilênicos e 3 a carbonos metílicos. Os deslocamentos químicos dos carbonos (Tabela 1) foram similares aos descritos para o ácido cafeico e o monoterpeno α -terpineol.^{20,21} Os deslocamentos químicos observados em δ_c 85,2 e 166,8, absorções no IV em 1700 e 1270 cm^{-1} , juntamente com o espectro de massas, permitiram-nos inferir que **1** é formada por uma esterificação envolvendo essas duas unidades.

No espectro de RMN ¹H de **1** observou-se a presença de dois dubletos em δ_H 6,2 e 7,4 ($J = 16,0$ Hz) compatíveis com hidrogênios olefínicos α e β à carbonila, respectivamente. Observou-se ainda um conjunto de sinais em δ_H 7,05 (sl), 6,8 (d, $J = 8,0$ Hz) e 6,98 (dd, $J = 8,0$; $J = 2,0$ Hz) característicos de anel aromático trissubstituído, além de três singletos em δ_H 1,47; 1,51 e 1,64, condizentes com metilas presentes no α -terpineol (Tabela 1).

O espectro HMBC mostrou sinais de correlações do hidrogênio em δ_H 1,47 (H-9') com δ_c 85,2 (C-8') e com 42,8 (C-4'). Mostrou ainda a correlação do sinal em δ_H 1,64 (H-7') com δ_c 30,9 (C-2') confirmando a atribuição para C-2' (Tabela 1).

No espectro de correlação homonuclear COSY de **1** foi possível observar uma correlação do sinal em δ_H 5,40 (H-6') com δ_H 2,03 que foi atribuído a H-5'. No HMQC foi possível observar uma correlação do sinal em δ_H 2,03 (H-5') com o carbono em δ_c 26,4 que foi atribuído

*e-mail: josean@lft.ufpb.br

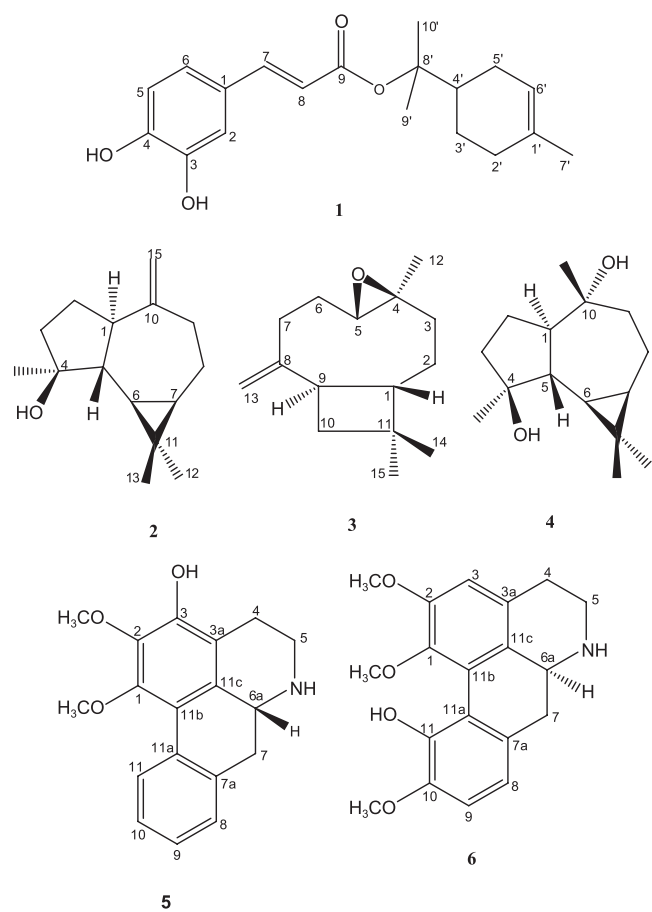


Figura 1. Substâncias isoladas de *Rollinia leptopetala*

Tabela 1. Dados de RMN ^1H e ^{13}C , (500 e 125 MHz) de **1** em CDCl_3 , J em Hz, δ em ppm

C	HMQC		HMBC	COSY	NOESY
	δ_{H}	δ_{C}			
1	-	127,9			
2	7,05 (sl)	114,3	C-4, C-6	H-6	H-8
3	-	143,6			
4	-	145,8			
5	6,80 (d, $J=8,0$)	115,5	C-1, C-3	H-6	
6	6,98 (dd, $J=2,0$ e $8,0$)	122,2	C-2, C-4	H-2, H-5	H-7
7	7,40 (d, $J=16,0$)	143,4	C-6, C-2, C-9	H-8	H-6
8	6,20 (d, $J=16,0$)	118,0	C-1, C-9	H-7	H-2
9	-	166,8			
1'	-	133,9			
2'	1,93 (m)	30,9			
3'	1,50 (m)	23,9			
4'	2,12 (m)	42,8			
5'	2,03 (m)	26,4			
6'	5,40 (sl)	120,3	C1', C-2', C4'		
7'	1,64 (s)	23,2			
8'	-	85,2			
9'	1,47 (s)	23,5	C-8', C-4', C-10'		H-8
10'	1,51 (s)	23,3	C-8', C-4', C-9'		

a C-5', portanto, o sinal em δ_{C} 23,9 foi atribuído a C-3'. A análise dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D) e comparação com dados da literatura possibilitaram a identificação de **1** como sendo o cafeato de α -terpineol, um novo produto natural.

Os sesquiterpenos espatulenol (**2**), β -cariofileno (**3**), $4\beta,10\alpha$ -aromadendrano-diol (**4**) foram identificados por comparação direta dos dados espectroscópicos obtidos com os valores descritos na literatura.^{22,23}

A análise do espectro de RMN ^{13}C de **5** permitiu identificar 18 sinais. Destes, 8 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 5 a carbonos metínicos, 3 a carbonos metilênicos e 2 a carbonos metoxilícos; os dados de RMN ^{13}C em conjunto com dados da literatura²⁴ permitiram propor o esqueleto carbônico de alcaloide aporfínico para **5**.

Os valores de deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^1H de **5** confirmaram essa substância como um alcaloide aporfínico. Os alcaloides desse tipo apresentam o hidrogênio ligado a carbono aromático H-11 mais desprotegido.²⁵ Desta forma, o deslocamento químico em δ_{H} 8,19 (dd, $J = 7,5$ e $1,0$ Hz) foi atribuído a H-11. Sinais múltiplos entre δ_{H} 7,15-7,28 foram atribuídos aos hidrogênios H-8, H-9 e H-10 e os sinais em δ_{H} 3,69 e 3,96 atribuídos a hidrogênios metoxilícos.

No espectro NOESY de **5** observou-se uma correlação do sinal em δ_{H} 8,19 (H-11) com o sinal em δ_{H} 3,69 (OCH_3) o que inferiu a localização de uma metoxila em C-1. Correlações observadas no HMBC entre o sinal em δ_{H} 3,69 com o δ_{C} 148,9 e do sinal em δ_{H} 3,96 com o δ_{C} em 138,9 definiram os deslocamentos químicos dos carbonos C-1 e C-2, respectivamente e inferiram a localização de uma metoxila em C-2, portanto, o sinal em δ_{C} 146,8 foi atribuído a C-3. As demais correlações são mostradas na Tabela 2. O $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -204 (c. 1,5, CHCl_3) permitiu inferir a configuração de C-6a como C6aR. Dessa forma, foi possível identificar **5** como sendo o alcaloide aporfínico (-)-3-hidroxinornuciferina. Essa é a primeira vez que os dados de RMN desse composto são atribuídos inequivocamente. Ressalta-se ainda que esse é o primeiro relato desse alcaloide no gênero *Rollinia*.

Tabela 2. Dados de RMN ^1H e ^{13}C , (500 e 125 MHz) de **5** em CDCl_3 , J em Hz, δ em ppm

C	HMQC		HMBC	COSY
	δ_{C}	δ_{H}		
1	149,9	-	1.OCH ₃	
2	138,9	-	2.OCH ₃	
3	146,8			
3a	118,3	-		
4	22,7	2,80-3,00 (m)		H-5
5	42,0	3,50-3,52 (m)		H-4
6a	53,5	3,85 (m)		H-7
7a	134,6	-		
7	36,4	2,6-2,90 (m)		
8	127,8	7,20 (m)	C-10, C11a	
9	126,6	7,15 (m)	C-7a, C-10	
10	127,0	7,28 (m)	C-8, C-11a	H-11
11a	132,2	-		
11b	115,9	-		
11c	131,2	-		
11	127,3	8,2 (dd, 7,5, 1,0)	C-7a, C-9	H-10
1. OCH₃	60,2	3,69 (s)		
2. OCH₃	61,2	3,96 (s)		

A análise do espectro de RMN ^{13}C de **6** permitiu identificar 19 sinais, destes, 9 foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, 4 a carbonos metínicos, 3 a carbonos metilênicos e 3 a carbonos metoxilícos. O resultado da rotação óptica foi $[\alpha]_D^{25} +240$ (c. 1,5, CHCl_3). Através da análise dos demais dados de RMN e comparação com a literatura²⁶ foi possível identificar **6** como sendo (+)-norisocoridina.

O EEB das folhas de *Rollinia leptopetala* reduziu a viabilidade de células sarcoma 180 a partir do tratamento com 400 $\mu\text{g/mL}$. O valor de CI_{50} foi de 512,3 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 2), sugerindo que o extrato apresenta baixa citotoxicidade nessa linhagem celular.

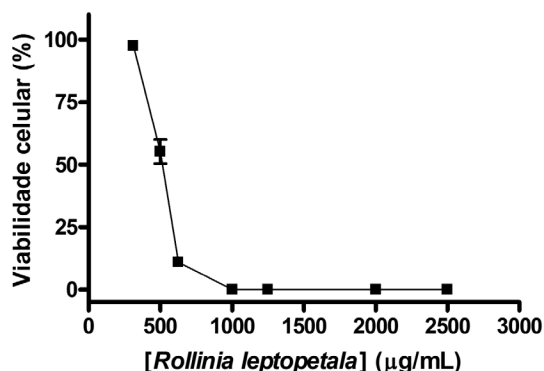


Figura 2. Viabilidade celular após tratamento com o EEB das folhas de *Rollinia leptopetala*. Concentração-resposta pelo ensaio de exclusão do azul de tripan. Cada ponto representa média \pm erro padrão da média de 3 experimentos em 4 replicatas, com intervalo de confiança de 95%

Os efeitos inibitórios do EEB das folhas de *R. leptopetala* no crescimento do tumor sólido, em camundongos transplantados com sarcoma 180, estão mostrados na Figura 3. Foi observada redução significativa e dose-dependente do peso do tumor nos animais tratados com o EEB das folhas de *R. leptopetala*, bem como nos tratados com 5-FU. No 9º dia, a média do peso do tumor do grupo controle transplantado foi $2,20 \pm 0,24$ g. O tratamento com 150 mg/kg do EEB das folhas de *R. leptopetala* reduziu significativamente a média dos pesos dos tumores para $1,10 \pm 0,13$ g. Para o grupo tratado com 5-FU, a média dos pesos dos tumores foi $0,44 \pm 0,08$ g. As taxas de inibição do crescimento tumoral foram 8,05; 38,72 e 49,73% para

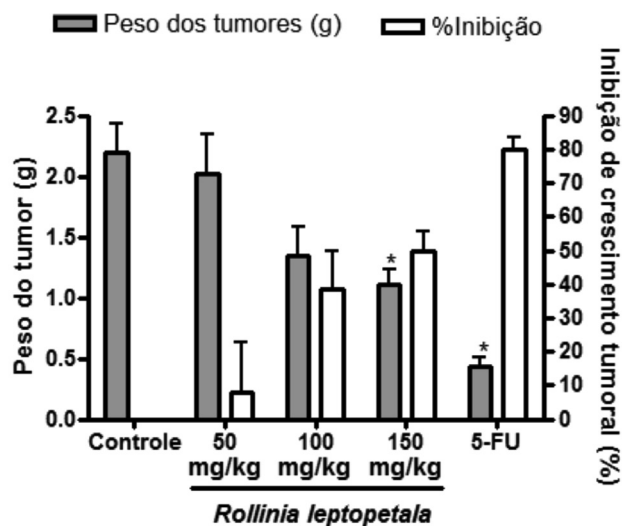


Figura 3. Efeito antitumoral do EEB das folhas de *R. leptopetala*. O gráfico mostra o peso do tumor (g) e a taxa de inibição do crescimento do tumor (%). Média \pm erro padrão da média de 6 animais. * $p < 0,05$ comparado com grupo controle transplantado por ANOVA seguido por Tukey

o tratamento com o EEB das folhas de *R. leptopetala*, 50, 100 e 150 mg/kg, respectivamente. 5-FU reduziu o peso do tumor em 80,06%.

Esses resultados mostram que, apesar do EEB das folhas de *R. leptopetala* não apresentar atividade antitumoral *in vitro*, um significativo efeito *in vivo* pôde ser observado. Embora os testes *in vitro* sejam bastante utilizados, há uma considerável limitação dos mesmos: compostos que se tornam ativos através da transformação metabólica são efetivos apenas se testados *in vivo*. A ciclofosfamida, por exemplo, um antineoplásico largamente utilizado na terapia do câncer, não mostra qualquer atividade antitumoral *in vitro*, na ausência de um sistema de metabolização. O composto deve ser transformado em metabólitos ativos alquilantes por enzimas microsossomais hepáticas. Portanto, os resultados apresentados sugerem que o EEB das folhas de *R. leptopetala*, possivelmente, contém compostos que necessitam de ativação metabólica para se tornarem ativos.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em aparelho Bomem modelo MB 100M em pastilhas de KBr. O espectro de massas de alta resolução foi obtido em espectrômetro MicroTof II da Bruker com fonte de ionização por *electrospray* no modo negativo. Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Mercury-Varian a [200 MHz (^1H) e 50 MHz (^{13}C)] e Varian Systems a 500 [500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C)], (LMCA/UFPB).

O solvente empregado foi CDCl_3 , cujos picos característicos em RMN ^1H e ^{13}C serviram para ajuste de escala de frequência. A rotação óptica foi obtida à temperatura ambiente em polarímetro Jasco modelo P-2000. Para as cromatografias em coluna utilizou-se como fase estacionária sílica gel 60 (70-230 Mesh) da Merck, óxido de alumínio 90 Seg. Brockman e Sephadex LH-20 (Pharmacia, Uppsala-Sweden). A cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) foi empregada para análise e reunião das frações obtidas por cromatografia em coluna. Foram utilizadas placas de vidro cuja fase fixa foi preparada com uma suspensão de sílica gel PF254 7749 (Merck) em água. As substâncias em análise foram evidenciadas pelo uso de radiação ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e pela impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo e reagente de Dragendorff.

Material vegetal

O material vegetal (folhas) foi coletado em Serra Branca, região semiárida da Paraíba, Brasil, em março de 2005. Uma exsicata está depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) na Universidade Federal da Paraíba, sob identificação AGRA 3567.

Procedimento para obtenção dos extratos e isolamento dos constituintes

As folhas secas e pulverizadas de *Rollinia leptopetala* (4,0 kg) foram submetidas à maceração com etanol a 95% por 3 dias consecutivos. Após exaustiva extração, a solução extrativa foi concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida e a uma temperatura de 45 $^\circ\text{C}$, obtendo-se 200 g do extrato etanólico bruto (EEB). Foram tomadas 120 g deste extrato, as quais foram solubilizadas em $\text{CHCl}_3:\text{H}_2\text{O}$ (2:1), resultando em uma fase aquosa e uma fase clorofórmica. Esta fase clorofórmica foi concentrada a vácuo, obtendo-se o extrato clorofórmico, o qual foi particionado em [Hex:(MeOH:H $_2$ O 10%)] na proporção de 2:1, resultando em uma fase solúvel em metanol (15 g) e uma fase solúvel em hexano (10 g).

Uma alíquota de 5,0 g da fase metanólica foi submetida à cromatografia em coluna de sephadex LH-20 com MeOH obtendo-se 20 frações. Essas frações foram monitoradas por CCDA e reunidas de acordo com seus fatores de retenção (Rfs). A fração 4-5 foi submetida à cromatografia em coluna com sílica gel e eluída com hexano e diclorometano em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se **1** (12,0 mg) e **2** (14,2 mg). A fração 6-7 foi filtrada em coluna com sílica gel e eluída em hexano e diclorometano, seguindo gradiente crescente de polaridade, obtendo-se **3** (8,0 mg). A fração 11-12 foi submetida a uma CCDP utilizando CHCl₃:MeOH (99:1) como fase móvel, obtendo-se **4** (21,8 mg).

Parte do EEB (80 g) foi tratada com uma solução de ácido clorídrico a 3% sob agitação mecânica e filtrada em Celite, fornecendo um precipitado que foi descartado e uma solução ácida que foi extraída com clorofórmio (3 x 300 mL) obtendo-se a fase clorofórmica I, que foi lavada com água destilada e seca com sulfato de sódio anidro, em seguida concentrada em rotaevaporador rendendo 3,0 g. A fase aquosa ácida foi alcalinizada, a frio, com uma solução de hidróxido de amônio até pH 9-10 e extraída com clorofórmio, até reação negativa com o reagente de Dragendorff, obtendo-se a fase clorofórmica II que depois de concentrada sob pressão reduzida forneceu um resíduo pesando 4,0 g, que foi denominado de fração de alcaloides totais (FAT). A FAT (4,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna utilizando como adsorvente alumina neutra e como eluente acetato de etila e metanol em gradiente crescente de polaridade, obtendo-se 17 frações que foram reunidas após análise em CCDA e revelação com reagente de Dragendorff. A fração 11 foi submetida a uma CCDP, que foi eluída com CHCl₃:MeOH (49:1) obtendo-se **5** (7,0 mg). A fração 15 foi submetida a uma CCDP utilizando CHCl₃:MeOH (48:2) como fase móvel, obtendo-se **6** (6,2 mg).

Ensaios de citotoxicidade e atividade antitumoral

Células tumorais da linhagem sarcoma 180 foram cultivadas em suspensão, em meio RPMI 1640 suplementado (25 mM HEPES, 2 mM L-glutamina, 100 U mL⁻¹ penicilina, 100 µg mL⁻¹ estreptomicina e 10% de soro bovino fetal). O ensaio de exclusão do azul de tripan (Sigma-Aldrich®) foi realizado como descrito por Renzi *et al.*²⁷ As células foram semeadas (2 x 10⁵ células/poço) e incubadas com diferentes concentrações do EEB de *Rollinia leptopetala* por 24 h. Ao final desse período, as células foram analisadas para observação de alterações morfológicas em hemocítometro, usando a solução azul de tripan (0,4% em PBS) e as células em suspensão em volumes iguais (0,1 mL). As células coradas em azul foram consideradas mortas.

Para os ensaios *in vivo*, foram utilizadas células tumorais malignas (sarcoma 180) de animais portadores do tumor com 8 dias de implantação. Os animais doadores foram eutanasiados para aspiração tumoral, e o tumor na forma ascítica foi introduzido nos animais receptores (n = 6), pela via subcutânea, na região subaxilar, numa concentração de 25 x 10⁶ células/mL. Vinte e quatro horas após a implantação, o EEB de *Rollinia leptopetala* foi solubilizado em Tween 80 (Sigma-Aldrich®) (5%) e administrado por via intraperitoneal durante 7 dias, nas doses de 50, 100 e 150 mg/kg.²⁸ 5-Fluorouracil (5-FU) (Sigma-Aldrich®) (25 mg/kg) foi usado como controle positivo. Ao grupo controle negativo foi administrada uma solução de 5% de Tween 80. No 9º dia, os animais foram eutanasiados e os tumores extirpados e pesados. A porcentagem de inibição tumoral (%) foi calculada pela seguinte fórmula: Inibição tumoral (%) = [(A - B)/A] x 100, onde A é a média dos pesos dos tumores do grupo controle negativo e B é a média dos pesos dos tumores de cada grupo tratado.

Para o ensaio de citotoxicidade em células sarcoma 180, foram realizados três experimentos com 4 replicatas. O valor de CI₅₀ (concentração que produz 50% de inibição do crescimento celular) foi

calculado através da expressão dos resultados como uma percentagem dos controles, e foi determinado graficamente a partir das curvas concentração-resposta por regressão não linear com intervalo de confiança de 95%. Os resultados obtidos nos experimentos *in vivo* foram analisados empregando-se o teste análise de variância (ANOVA) *one-way*, seguido do teste de Tukey onde os valores estão expressos em média ± erro padrão da média (e.p.m.), sendo os resultados considerados significativos quando *p* < 0,05.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Fotos de *R. leptopetala* e os dados espectroscópicos do cafeato de α-terpineol, estão disponíveis em <http://quimicanova.s bq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à CAPES e FAPESQ-PB pelo apoio financeiro e ao LMCA-Central Analítica da UFPB pela obtenção dos espectros.

REFERÊNCIAS

- Hutchinson, J.; *The families of flowering plants*, Clarendon Press: Oxford, 1973, p. 22-168; Maas, P. J. M.; Kamer, H. M.; Junikka, L.; Mello-Silva, R. D.; Rainer, H.; *Rodriguésia* **2001**, *65*, 98.
- Heywood, V. H.; *Flowering plants of the world*, Oxford University Press: Oxford, 1985.
- Chatrou, L. W.; Rainer, H.; Maas, P. J. M. Em *Annonaceae (Soursop Family)*; Smith, N.; Mori, S. A.; Henderson, A.; Stevenson, D. W.; Heald, S. V., eds.; Princeton University Press: New Jersey, 2004, p. 18.
- Leboeuf, M.; Cavé, A.; Bhaumik, P. K.; Mukherjee, B.; Mukherjee, R.; *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2783.
- Moreira, I. C.; Lago, J. H. G.; Young, M. C. M.; Roque, N. F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 828.
- Moreira, I. C.; Lago, J. H. G.; Roque, N. F.; *Biochem. System. Ecol.* **2006**, *34*, 883.
- Takahashi, J. A.; Boaventura, M. A. D.; Bayma, J. C.; Oliveira, A. B.; *Phytochemistry* **1995**, *40*, 607.
- Martins, D.; Osshiro, E.; Roque, N. F.; Marks, V.; Gottlieb, H. E.; *Phytochemistry* **1998**, *48*, 677.
- Takahashi, J. A.; Vieira, H. S.; Hanson, J. R.; Hitchcock, P. B.; Oliveira, A. B.; Boaventura, M. A. D.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 616; Pontes, W. J. T.; Oliveira, J. C. S.; Câmara, C. A. G.; Gondim-Júnior, M. G. C.; Oliveira, J. V.; Schwartz, M. O. E.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 838.
- Lago, J. H. G.; Chaves, M. H.; Ayres, M. C. C.; Agripino, D. G.; Young, M. C. M.; *Planta Med.* **2007**, *73*, 292.
- Silva, M. S.; Tavares, J. F.; Queiroga, K. F.; Agra, M. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Almeida, J. R. G. S.; Silva, S. A. S.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1566.
- Kuo, R.-Y.; Chang, F.-R.; Chen, C.-Y.; Teng, C.-M.; Yen, H.-F.; Wu, Y.-C.; *Phytochemistry* **2001**, *57*, 421.
- Sette, I. M. F.; DA-Cunha, E. V. L.; Barbosa Filho, J. M.; Agra, M. F.; Silva, M. S.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2000**, *28*, 318.
- Nascimento, F. C.; Boaventura, M. A. D.; Assunção, A. C. S.; Pimenta, L. P. S.; *Quim. Nova* **2003**, *23*, 319.
- Agra, M. F.; Freitas, P. F.; Barbosa-Filho, J. M.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2007**, *17*, 114.
- Arriaga, A. M.; Feitosa, E. M. A.; Lemos, T. L. G.; Santiago, G. M. P.; Lima, J. Q.; Oliveira, M. C. F.; Vasconcelos, J. N.; Rodrigues, F. E. A.; Gomes, T. B. M.; Braz-Filho, R.; *Nat. Prod. Commun.* **2008**, *3*, 1687.
- Feitosa, E. M. A.; Arriaga, A. M.; Santiago, G. M. P.; Lemos, T. L. G.; Oliveira, M. C. F.; Vasconcelos, J. N.; Lima, J. Q.; Malcher, G. T.; Nascimento, R. F.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 375.

18. Sette, I. M. F.; Da-Cunha, E. V. L.; Barbosa-Filho, J. M.; Agra, M. F.; Silva, M. S.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2000**, *28*, 393.
19. Costa, V. C. O.; Tavares, J. F.; Agra, M. F.; Falcão-Silva, V. S.; Facanali, S.; Vieira, M. A. R.; Marques, M. O. M.; Siqueira-Junior, J. P.; Silva, M. S.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2008**, *18*, 245.
20. Hoeneisen, M.; Alarcon, J.; Aqueveque, P.; Bittner, M.; Becerra, J.; Silva, M.; Jakupovic, J.; Z., *Naturforsch. C: J. Biosci.* **2003**, *58*, 39.
21. Silverstain, R. M.; Webster, F. X.; *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, 6ª ed., LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A.: Rio de Janeiro, 2000, p. 234.
22. Moreira, I. C.; Roque, N. F.; Contini, K.; Lago, J. H. G.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2007**, *17*, 55.
23. Meira, M.; David, J. M.; David, J. P.; Araújo, S. V.; Regis, T. L.; Giulietti, A. M.; Queiroz, L. P.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 751.
24. Sette, I. M. F.; Da-Cunha, E. V. L.; Barbosa-Filho, J. M.; Silva, M. S.; *Pharmaceutical Biology* **2000**, *38*, 318.
25. Leboeuf, M.; Cave, A.; *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 389.
26. Ferreira, M. L. R.; Pascoli, I. C.; Nascimento, I. R.; Zukerman-Schpector, J.; Lopes, L. M. X.; *Phytochemistry* **2010**, *71*, 469.
27. Renzi, D.; Valtolina, M.; Foster, R.; *Atla* **1993**, *21*, 89.
28. Montenegro, R. C.; Farias, R. A. F. F.; Pereira, M. R. P.; Alves, A. P. N. N.; Bezerra, F. S.; Andrade-Neto, M.; Pessoa, C.; De-Moraes, M. O.; Costa-Lotufo, L. V.; *Biol. Pharm. Bull.* **2008**, *31*, 454.