

## CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE *Qualea grandiflora*: ATRIBUIÇÃO DOS DADOS DE RMN DE DOIS FLAVONÓIDES GLICOSILADOS ACILADOS DIASTEREOMÉRICOS

Mariane Cruz Costa Ayres, Samuel Portela Escórcio, Danielly Albuquerque da Costa e Mariana H. Chaves\*

Departamento de Química, Universidade Federal do Piauí, 64049-550 Teresina – PI, Brasil

Gerardo Magela Vieira Júnior e Alberto J. Cavalheiro

Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 14800-900 Araraquara – SP, Brasil

Recebido em 30/10/07; aceito em 4/4/08; publicado na web em 4/9/08

CHEMICAL CONSTITUENTS FROM LEAVES OF THE *Qualea grandiflora*: ATTRIBUTION OF THE NMR DATA OF TWO DIASTEREOMERIC ACYLATED FLAVONOID GLYCOSIDS. Phytochemical investigation from leaves of the *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) resulted in the isolation and identification of kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(4''-*E*-*p*-coumaroyl)-rhamnoside, kaempferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(4''-*Z*-*p*-coumaroyl)-rhamnoside, squalene, phytol, lupeol,  $\alpha$ -amyrin,  $\beta$ -amyrin, sitosterol, sitostenone, sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside, ursolic and oleanolic acids. The structures of the compounds were identified by 1D- and 2D-NMR experiments, mass and UV spectrometry and comparison with literature data.

Keywords: *Qualea grandiflora*; Vochysiaceae; acylated kaempferol glycosids.

### INTRODUÇÃO

*Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae) é uma planta de ocorrência em mata de galeria, cerrado e cerradão, considerada símbolo dos cerrados.<sup>1</sup> É conhecida popularmente como pau-terra, pau-terra-do-campo, pau-terra-do-cerrado, pau-terra-da-folha-larga, ariavá, entre outros.<sup>2</sup> As cascas e folhas são medicinais e os frutos dão matéria tintorial amarela.<sup>2</sup> Infusão ou decocção das folhas de *Q. grandiflora* são usadas no tratamento de diarreia com sangue, cólicas intestinais e contra ameba.<sup>3</sup> As cascas são usadas, na forma de infusão, para limpeza externa de úlceras e feridas e no tratamento de doenças inflamatórias.<sup>1</sup> Segundo levantamento etnobotânico (dados não publicados), realizado no município de Nazaré do Piauí-PI, a infusão preparada com frutos desta espécie é usada no tratamento da asma.

O extrato etanólico das cascas de *Q. grandiflora* exibe ação antiulcerogênica<sup>4</sup> e o metanólico tem ação antibacteriana sobre o *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>5</sup> O extrato etanólico das folhas tem efeito antioxidante,<sup>6</sup> analgésico, depressor do sistema nervoso central, com potencial anticonvulsivante<sup>7</sup> e ação antibacteriana sobre o *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228 e MRSE H-111).<sup>8</sup>

O presente artigo relata pela primeira vez o estudo químico do extrato etanólico das folhas de *Q. grandiflora*, do qual foram isolados e identificados o kanferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(4''-*E*-*p*-cumaroyl)-raminosídeo (1), kanferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(4''-*Z*-*p*-cumaroyl)-raminosídeo (2), esqualeno, fitol, lupeol,  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina, sitosterol, sitostenona, ácidos

ursólico e oleanólico e 3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosídeo do sitosterol.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram obtidos em espectrômetro Brüker modelo Avance DRX-500 e DPX 300 e Varian Inova 500 operando a 500 e 300 MHz (<sup>1</sup>H), 125 e 75 MHz (<sup>13</sup>C), utilizando CD<sub>3</sub>OD ou CDCl<sub>3</sub> como solventes e TMS como referência interna. As placas cromatográficas foram preparadas utilizando uma mistura de gel de sílica 60 G Vetec e 60 GF<sub>254</sub> Fluka (1:1) e as revelações das cromatoplasas foram feitas por nebulização com solução de Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> e com vapores de iodo. Os solventes, etanol, metanol, hexano, acetato de etila, clorofórmio e diclorometano, utilizados na preparação dos extratos e fracionamentos cromatográficos clássicos, foram todos de grau analítico obtidos da Vetec. Para cromatografia líquida de alta eficiência em escala preparativa (CLAE-Prep), foi utilizado o seguinte equipamento: cromatógrafo preparativo Varian, modelo Prep star SD-1, com detector UV-VIS modelo 320, injetor manual Rheodyne modelo 7725i com alça de amostra de 2,5 mL, aquisição de dados via computador tipo Pentium III 550 MHz utilizando software Varian Star Chromatography Workstation, versão 5.31. Coluna Phenomenex – Luna fenil hexil, (250 x 21,20 mm, 10  $\mu$ m), sem pré-coluna. Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro VG Platform da Fisons Instruments.

#### Material vegetal

Folhas de *Q. grandiflora* foram coletadas no Município de Demerval Lobão-Piauí, em abril de 1998 e identificadas no Herbário Graziela Barroso - UFPI, onde se encontra depositada a exsicata, com o número TEPB 10.091.

#### Isolamento dos constituintes químicos

As folhas foram secas ao ar, moídas (1000 g) e extraídas exaustivamente com etanol a 95%. O volume do extrato etanólico, equi-

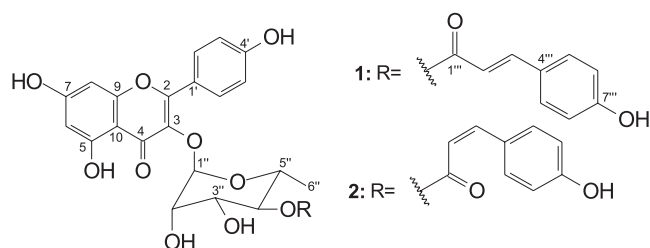


Figura 1. Estrutura dos flavonóides isolados das folhas de *Q. grandiflora*

\*e-mail: mariana@ufpi.br

valente a 98 g, determinado por meio do peso seco, foi reduzido a 300 mL, por concentração em evaporador rotativo, adicionado 600 mL de água e submetido à partição com acetato de etila, obtendo-se as frações aquosa (23,2 g), AcOEt e uma interfase (7,7 g). A fase AcOEt foi concentrada, suspensa em MeOH-H<sub>2</sub>O (9:1) e submetida à partição com hexano, resultando nas fases hidroalcoólica (48,1 g) e hexânica (9,5 g). A fase hidroalcoólica (10 g) foi fracionada em coluna filtrante (25 x 5,0 cm) preenchida com 140 g de gel de sílica, eluída com CHCl<sub>3</sub>-MeOH (5-100%), resultando em 40 frações de 150 mL, coletadas como segue: frações 1-6 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 95:5), 7-17 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 9:1), 18-28 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 8:2), 29-35 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 1:1) e 36-40 (MeOH 100%). A fração H-10 (227 mg) foi recromatografada em coluna de Sephadex LH-20 eluída com MeOH fornecendo uma mistura de flavonóides (56 mg) os quais foram separados em CLAE-UV DAD, eluída no modo gradiente exploratório H<sub>2</sub>O+HAc-0,5%/ACN (5-100%); 200-600 nm; 1 mL/min; 40 min. Após condicionamento para o modo isocrático, com múltiplas injeções, usando como eluente H<sub>2</sub>O/ACN (60:40), resultou na separação de **1** (24 mg) e **2** (8 mg).

*Kanferol-3-O- $\alpha$ -L-(4''-E-p-cumaroil)-raminosideo (1)*: UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm: 215, 266 e 311. EM-IES:  $m/z$  (int. rel) 578 [M<sup>+</sup>], 285 (100), 286. RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD): Tabela 1.

*Kanferol-3-O- $\alpha$ -L-(4''-Z-p-cumaroil)-raminosideo (2)*: UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm: 265 e 316 EM-IES:  $m/z$  (int. rel) 578 [M<sup>+</sup>], 285, 286 (100). RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD): Tabela 1.

A fase hexânica da partição, depois de concentrada, foi suspensa em MeOH a quente e refrigerada originando um precipitado graxo (7,2 g) e o material solúvel em MeOH (1,7 g). Este último foi fracionado em coluna de gel de sílica (36 x 2,6 cm), eluída com hexano-AcOEt (0-100%) e AcOEt-MeOH (1:1) resultando em 68 frações (S-1 a S-68), coletadas como segue: frações 1-4 (hexano 100%), 5-12 (hexano-AcOEt, 98:2), 13-15 (hexano-AcOEt, 95:5), 16-26 (hexano-AcOEt, 9:1), 27-40 (hexano-AcOEt, 8:2), 41-43 (hexano-AcOEt, 7:3), 44-52 (hexano-AcOEt, 6:4), 53-57 (hexano-AcOEt, 1:1), 58-59 (AcOEt 100%) e 60-68 AcOEt-MeOH, 1:1). Após evaporação do solvente em evaporador rotativo e análise por CCD, as frações coletadas foram reunidas em 11 grupos. O grupo S-2 (fração 2, 14 mg) correspondeu ao squaleno. Os grupos S-16 (frações 16-19, 169 mg) e S-20 (frações 20-24, 262 mg) foram recromatografados, o primeiro em Sephadex LH-20 com hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:4) fornecendo 48 mg de uma mistura de fitol, lupeol,  $\alpha$ - e  $\beta$ -amirina, o segundo grupo foi em coluna de gel de sílica, eluída de modo isocrático com CHCl<sub>3</sub>-MeOH (98:2), resultando na sitostenona (6 mg) e na fração S21-7, que foi recristalizada em MeOH fornecendo o sitosterol (100 mg). O grupo S-35 (frações 35-36, 40 mg) foi recromatografado em coluna de Sephadex LH-20, eluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-acetona (3:2), resultando em 9 mg de uma mistura dos ácidos ursólico e oleanólico. O tratamento desta mistura com excesso de CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, em banho de gelo, conduziu aos respectivos derivados metilados (10 mg). O grupo S-60 (frações 60-62, 603 mg) foi recromatografado em coluna de gel de sílica eluída com CHCl<sub>3</sub>-MeOH (0-10%) originando F16-30 (61 mg). O tratamento desta fração com anidrido acético (1 mL) em presença de piridina (1 mL) à temperatura ambiente por 12 h, forneceu, após filtração em gel de sílica, o tetracetado de 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo do sitosterol (30 mg).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O squaleno,<sup>9</sup> fitol,<sup>10</sup> lupeol,<sup>11</sup>  $\alpha$ -amirina,<sup>11</sup>  $\beta$ -amirina,<sup>11</sup> sitosterol,<sup>12</sup> sitostenona,<sup>13</sup> ácidos ursólico e oleanólico<sup>14</sup> e 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo do sitosterol<sup>15</sup> foram isolados do material solúvel em metanol, resultante da fase hexânica da partição do extrato etanólico das folhas de *Q. grandiflora*. Estas substâncias são comuns

em outras espécies, portanto suas estruturas foram identificadas por comparação dos dados espectroscópicos de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C obtidos com os relatados na literatura.<sup>9-15</sup>

O fitol, lupeol,  $\alpha$ - e  $\beta$ -amirina foram isolados em mistura e identificados por meio da análise dos espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C. O fitol apresentou-se como o constituinte majoritário, sendo evidenciado no espectro de RMN <sup>1</sup>H pelos sinais em  $\delta$  4,16 (d), atribuído aos hidrogênios oximetilênicos e alílicos, e  $\delta$  5,42 (t), referente ao hidrogênio olefínico. Esta análise foi confirmada pela observação no espectro de RMN <sup>13</sup>C dos sinais em  $\delta$  59,7 (CH<sub>2</sub>O), 123,4 e 140,5 (CH e C olefínicos).<sup>10</sup> O espectro de RMN <sup>1</sup>H da mistura apresentou ainda um duplo duplete característico de triterpenóides 3 $\beta$ -OH ( $\delta$  3,23;  $J=11,0$  e 5,2 Hz; H-3), sendo confirmado no espectro de RMN <sup>13</sup>C, pela presença do sinal  $\delta$  79,5 (C-3).<sup>11,16</sup> A ocorrência do lupeol,  $\alpha$ - e  $\beta$ -amirina foi determinada de acordo com a metodologia descrita na literatura para análise de mistura de triterpenóides, devido à existência de três pares de sinais em  $\delta$  109,6/151,2; 125,5/138,0; 122,0/145,5 característicos dos carbonos olefínicos nos esqueletos triterpênicos lupano, ursano e oleanano, respectivamente.<sup>16</sup>

O 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo do sitosterol foi identificado como derivado tetracetilado.<sup>15</sup> Os ácidos ursólico e oleanólico, após serem metilados com diazometano, foram identificados em mistura, na razão de 67:33. Esta proporção foi determinada no espectro de RMN <sup>1</sup>H pela comparação das integrações dos sinais dos hidrogênios olefínicos em  $\delta$  5,18 e 5,21, atribuídos ao H-12 no ursolato e oleanolato de metila, respectivamente, com a do sinal em  $\delta$  3,62 ( $J=10,8$  e 4,7 Hz), referente ao H-3 dos dois triterpenóides.<sup>17</sup> Este espectro apresentou ainda, entre outros sinais, um simpleto em  $\delta$  3,62 referente aos hidrogênios metoxílicos, confirmando a ocorrência da reação de metilação. O espectro de RMN <sup>13</sup>C apresentou sinais de carbonos metoxílico ( $\delta$  51,5) e carbonílico ( $\delta$  178,1) de éster, de carbono oximetínico ( $\delta$  79,0, C-3), além de dois pares de sinais em  $\delta$  125,6/138,1 e 122,3/144,0 atribuídos aos carbonos olefínicos C-12 e C-13 nos esqueletos triterpênicos ursano e oleanano, respectivamente.<sup>16</sup> Todos os dados de RMN observados foram consistentes com os relatados para o ursolato e oleanolato de metila.<sup>14</sup>

Os flavonóides **1** e **2**, isolados da fase hidroalcoólica, foram identificados utilizando os dados dos espectros de massas, RMN 1D e 2D COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H, HMQC e HMBC.

O espectro de RMN <sup>1</sup>H de **1** apresentou, na região de hidrogênios aromáticos, um par de dupletos em  $\delta$  6,21 e 6,37 ( $J=2,0$  Hz), característico de sistema AB, correspondente a dois hidrogênios *meta*-posicionados e atribuídos, respectivamente, a H-6 e H-8 de flavonóis. Os dois pares de dupletos em  $\delta$  7,01 e 7,76 ( $J=8,7$  Hz);  $\delta$  7,52 e 6,83 ( $J=8,6$  Hz), indicativos de sistemas do tipo AA'BB', caracterizaram dois anéis aromáticos *para*-dissubstituídos.<sup>18</sup> Além destes, o espectro apresentou um par de dupletos em  $\delta$  6,29 e 7,56 ( $J=16$  Hz) de um sistema de hidrogênios olefínicos com configuração *E* e sinais de hidrogênios ligados a carbonos oximetínicos ( $\delta$  3,21-5,60) de uma unidade osídica.<sup>18</sup> O duplete em  $\delta$  0,79 ( $J=6,2$  Hz, CH<sub>3</sub>) juntamente com o sinal em  $\delta$  5,50 ( $J=1,6$  Hz, CH), referente ao hidrogênio anomérico, sugeriu a existência de uma unidade de  $\alpha$ -raminose.<sup>18</sup> O mapa de contorno COSY <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H confirmou todos os acoplamentos observados no espectro de RMN <sup>1</sup>H unidimensional e permitiu evidenciar as correlações dos sinais dos hidrogênios em  $\delta$  5,50 (H-1'') com  $\delta$  4,23 (H-2''), do sinal de H-2'' com  $\delta$  3,92 (H-3''), de H-3'' com  $\delta$  4,94 (H-4''), de H-4'' com  $\delta$  3,21 (H-5'') e de H-5'' com  $\delta$  0,79 (H-6''). Esta análise juntamente com os dados de RMN <sup>13</sup>C e mapas de contornos bidimensionais HMQC e HMBC sugeriu tratar-se de um raminopiranosídeo do kanferol com uma das hidroxilas da raminose esterificando o ácido *p*-cumárico. O EM de **1** apresentou o pico do íon molecular a  $m/z$  578, consistente com a fórmula molecular C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>, e o pico base a  $m/z$  285 indicativo da unidade de kanferol.<sup>19</sup> A localização da raminose no C-3 do

**Tabela 1.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de **1** e **2**, incluindo resultados de mapas de contornos de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$  ( $n=1$ , HMQC;  $n=2$  e  $3$ , HMBC), em  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Deslocamentos químicos em  $\delta$  (ppm) e constantes de acoplamento ( $J$ , entre parêntese) em Hz

C	1				2			
	HMQC		HMBC		HMQC		HMBC	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
2	159,6			H-2'/H-6'	159,4			H-2'/H-6'
3	135,4			H-1''	135,7			H-1''
4	178,6				179,5			
5	163,4		H-6		163,2		H-6	
6	100,2	6,21 (d, 2,0)		H-8	100,1	6,21 (d, 2,0)		H-8
7	166,5		H-8, H-6		166,3		H-8, H-6	
8	95,1	6,37 (d, 2,0)		H-6	94,9	6,40 (d, 2,0)		H-6
9	158,8		H-8		158,7		H-8	
10	106,1			H-6, H-8	105,9			H-6, H-8
1'	122,8			H-3'/H5'	122,6			H-3'/H-5'
2' 6'	132,1	7,76 (d, 8,7)			131,9	7,73 (d, 8,5)		
3' 5'	116,7	7,01 (d, 8,7)			116,6	6,94 (d, 8,5)		
4'	161,9		H-3'/H-5'	H-2'/H-6'	161,7		H-3'/H-5'	H-2'/H6'
1''	102,3	5,50 (d, 1,6)			102,7	5,50 (d, 1,5)		
2''	71,9	4,23 (dd, 1,6 e 3,2)			71,9	4,23 (dd, 2,0 e 3,5)		
3''	70,3	3,92 (dd, 3,2 e 9,7)	H-4''	H-1''	70,2	3,89 (dd, 3,0 e 9,5)	H-4''	
4''	74,9	4,94 (t, 9,7)	H-3'', H-5''	H-2'', H-6''	74,5	4,90 (t, 9,5)	H-3'', H-5''	H-2'', H-6''
5''	69,8	3,21 (m)	H-4'', H-6''		69,8	3,30 (m)	H-4'', H-6''	H-1''
6''	17,8	0,79 (d, 6,2)		H-4''	17,6	0,79 (d, 6,5)		H-4''
1'''	168,9		H-2'''	H-3''', H-4''	167,7			H-3''', H-4''
2'''	115,3	6,29 (d, 16,0)	H-3'''		116,4	5,75 (d, 13,0)	H-3'''	
3'''	146,9	7,56 (d, 16,0)		H-5'''/H-9'''	145,6	6,87 (d, 13,0)		H-5'''/H-9'''
4'''	127,4			H-2''', H-6'''/H-8'''	127,6			H-6'''/H-8''' H-2'''
5''' 9'''	131,5	7,52 (d, 8,6)		H-3'''	133,9	7,66 (d, 8,5)		H-3'''
6''' 8'''	116,9	6,83 (d, 8,6)			115,8	6,74 (d, 8,5)		
7'''	161,4		H6'''/H-8'''	H-5'''/H-9'''	160,1		H6'''/H-8'''	H-5'''/H-9'''

kanferol foi evidenciada pela desblindagem de 9,6 ppm para C-3 em relação ao da aglicona,<sup>20</sup> sendo confirmada pela correlação do sinal em  $\delta$  135,4 (C-3) com  $\delta$  5,50 (d, 1,6 Hz), referente ao hidrogênio anomérico (H-1''). Definiu-se a localização da unidade *p*-cumaróila, por meio da observação no mapa de contorno HMBC, da correlação ( $^3J$ ) entre o sinal em  $\delta$  4,94, atribuído a H-4'' da raminose, e  $\delta$  168,9 referente à carbonila (C-1''') da unidade *p*-cumaróila. Todos os dados espectroscópicos observados e inequivocamente atribuídos (Tabela 1) são consistentes com a estrutura do kanferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(4''-*E*-*p*-cumaróil)-raminosídeo (**1**).

Os espectros de RMN e de massas da substância **2** mostraram-se semelhantes aos de **1**, porém a principal diferença observada foi no espectro de RMN  $^1\text{H}$ , pois os hidrogênios etilênicos, H-2''' e H-3''', encontram-se mais blindados, ficando situados em  $\delta$  5,75 e 6,87, respectivamente. A configuração *Z* foi deduzida pelo menor valor da constante de acoplamento (13 Hz) dos hidrogênios etilênicos em relação à observada para a configuração *E* (16 Hz), mostrando-se concordantes com o relatado para outros flavonóides glicosilados acilados.<sup>18</sup> Todos os dados obtidos (Tabela 1) são consistentes com a estrutura do kanferol-3-*O*- $\alpha$ -L-(4''-*Z*-*p*-cumaróil)-raminosídeo (**2**).

O flavonóide **1** foi relatado na espécie *Ocotea vellosiana*,<sup>21</sup>

pertencente à família Lauraceae e a mistura de **1+2** na *Philotheca pinoides* (Rutaceae),<sup>22</sup> contudo os dados de RMN só foram publicados parcialmente, portanto este artigo descreve pela primeira vez as atribuições inequívocas dos deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para os flavonóides diastereoisoméricos **1** e **2**.

O isolamento de flavonóides a partir do extrato etanólico das folhas de *Q. grandiflora* pode justificar em parte a atividade antioxidante deste extrato, relatada anteriormente.<sup>6</sup>

O estudo realizado com a *Q. grandiflora* contribui para o conhecimento da fitoquímica da família Vochysiaceae e está de acordo com o relatado para outras plantas desta família, as quais apresentam flavonóides, triterpenóides e esteróides, além de taninos, benzoquinonas e antraquinonas.

#### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, CAPES e FINEP pela bolsa (M. H. Chaves e D. A. Costa) e apoio financeiro, à Dra. G. M. Sousa do Herbário Graziela Barroso, UFPI, pela identificação do material botânico, ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN-UFC).

## REFERÊNCIAS

1. Almeida, S. P.; Proença, C. E. B.; Sano, S. M.; Ribeiro, J. F.; *Cerrado: espécies vegetais úteis*, EMBRAPA-CPAC: Distrito Federal, 1998.
2. Corrêa, M. P.; *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e exóticas cultivadas*, Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal: Rio de Janeiro, 1978, vol. 5.
3. Rodrigues, V. E. G.; Carvalho, D. A.; *Ciências Agrotecnológicas* **2001**, 25, 102.
4. Hiruma-Lima, C. A.; Santos, L. C.; Kushima, H.; Pellizzon, C. H.; Silveira, G. G.; Vasconcelos, P. C. P.; Vilegas, W.; Souza Brito, A. R. M.; *J. Ethnopharmacol.* **2006**, 104, 207.
5. Alves, T. M. A.; Silva, A. F.; Brandão, M.; Grandi, T. S. M.; Smânia, E. F. A.; Smânia Jr., A.; Zani, C. L.; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2000**, 95, 367.
6. Sousa, C. M. M.; Silva, H. R.; Vieira-Júnior, G. M.; Ayres, M. C. C.; Costa, C. L. S.; Araújo, D. S.; Cavalcante, L. C. D.; Barros, E. D. S.; Araújo, P. B. M.; Brandão, M. S.; Chaves, M. H.; *Quim. Nova* **2007**, 30, 351.
7. Gaspi, F. O. G.; Foglio, M. A.; Carvalho, J. E.; Moreno, R. A.; *J. Ethnopharmacol.* **2006**, 107, 19.
8. Ayres, M. C. C.; Brandão, M. S.; Vieira Júnior, G. M.; Menor, J. C. A. S.; Silva, H. B.; Soares, M. J. S.; Chaves, M. H.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2008**, 18, 90.
9. Breitmaier, E.; Voelter, W.; *Carbon-13 NMR spectroscopy: high resolution methods and applications in Organic Chemistry and Biochemistry*, 3<sup>rd</sup> ed., VCH: New York, 1987.
10. Rahman, A.; Ahmad, V. U.; *<sup>13</sup>C-NMR of Natural Products: Diterpenes*, Plenum Press: New York, 1992.
11. Mahato, S. B.; Nandy, A. K.; Roy, G.; *Phytochemistry* **1992**, 31, 2199.
12. De-Eknamkul, W.; Potduang, B.; *Phytochemistry* **2003**, 62, 389.
13. Chaves, M. H.; Roque, N. F.; Ayres, M. C. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, 15, 608; Tandon, S.; Rastogi, R. P.; *Planta Med.* **1976**, 29, 190.
14. Piozzi, F.; Paternostro, M.; Passannanti, S.; Gacs-Baitz, E.; *Phytochemistry* **1986**, 25, 539.
15. Fang, J.- M., Wang, K.- C.; Cheng, Y.- S.; *Phytochemistry* **1991**, 30, 3383.
16. Olea, R. S. G.; Roque, N. F.; *Quim. Nova* **1990**, 13, 278.
17. Vieira Júnior, G. M.; Souza, C. M. L.; Chaves, M. H.; *Quim. Nova* **2005**, 28, 183; Vieira Júnior, G. M.; Carvalho, A. A.; Gonzaga, W. A.; Chaves, M. H.; *Quim. Nova* **2007**, 30, 491.
18. Fiorini, C.; David, B.; Fourasté, I.; Vercauteren, J.; *Phytochemistry* **1998**, 47, 881.
19. Pizzolatti, M. G.; Cunha Jr., A.; Szpoganicz, B.; Sousa, E.; Braz-Filho, R.; Schripsema, J.; *Quim. Nova* **2003**, 26, 466.
20. Agrawal, P. K., ed; *Carbon-13 NMR of flavonoids*, Elsevier: Amsterdam, 1989.
21. Garcez, W. S.; Yoshida, M.; Gottlieb, O. R.; *Phytochemistry* **1995**, 39, 815.
22. Sultana, N.; Sarker, S. D.; Armstrong, J. A.; Wilson, P. G.; Waterman, P. G.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2003**, 31, 681.