

FLAVONOIDES GLICOSILADOS DE *Erythroxylum pulchrum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae)

Camila Holanda de Albuquerque^a, Josean Fechine Tavares^{a,*}, Steno Lacerda de Oliveira^a, Tainá Souza Silva^a, Gregório Fernandes Gonçalves^b, Vicente Carlos de Oliveira Costa^a, Maria de Fátima Agra^c, Hilzeth de Luna Freire Pessôa^b e Marcelo Sobral da Silva^a

^aDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, 58051-900 João Pessoa – PB, Brasil

^bDepartamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, 58100-001 João Pessoa – PB, Brasil

^cDepartamento de Biotecnologia, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970 João Pessoa – PB, Brasil

Recebido em 12/09/2013; aceito em 18/12/2013; publicado na web em 20/02/2014

FLAVONOID GLYCOSIDES FROM *Erythroxylum pulchrum* A. St.-Hil. (Erythroxylaceae). The phytochemical investigation of *Erythroxylum pulchrum* St. Hil. (Erythroxylaceae) led to the isolation of three known flavonoid glycosides quercetin-3-*O*- α -L-rhamnoside, ombuin-3-rutinoside and ombuin-3-rutinoside-5-glucoside. These flavonoids are being described for the first time in this *E. pulchrum*. The structures of the compounds were determined by analysis of IR, MS and NMR data, as well as by comparison with literature data. The methanolic extract of leaves from *E. pulchrum* inhibited the growth of the *Bacillus subtilis* CCT 0516, *Escherichia coli* ATCC 2536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 8027, *P. aeruginosa* ATCC 25619, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 25925, *Streptococcus sanguinis* ATCC 15300, *S. salivarius* ATCC 7073, *S. mutans* ATCC 25175 and *Streptococcus ATCC. S. aureus* ATCC 25925 was the most sensitive among the other *S. sanguinis* while *S. salivarius* proved the most resistant.

Keywords: *Erythroxylum pulchrum*; flavonoid glycosides; antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

A família Erythroxylaceae compreende quatro gêneros e cerca de 240 espécies com distribuição pantropical, tendo seus principais centros de diversidade e endemismo na Venezuela, Brasil e Madagascar.¹ No Brasil, são encontradas 116 espécies das 187 registradas para a América tropical.² Destas, aproximadamente 74 (63%) possuem distribuição restrita. Para o Nordeste brasileiro foram listadas 66 e uma variedade, dentre as quais 25 (37%) foram registradas apenas para essa região. No estado da Paraíba, pertencente à região Nordeste, foram registradas 13 espécies, sendo uma endêmica.³ Estudos farmacológicos com espécies dessa família demonstraram excelentes resultados frente ao sistema biológico como vasorelaxamento em células do músculo liso de ratos,⁴ atividade psicoativa,⁵ antimicrobiana e antitumoral.⁶

Estudos realizados com *Erythroxylum spp.* coletadas no Nordeste brasileiro descreveram a presença de alcaloides tropanos com atividade citotóxica e inibidores da acetilcolinesterase,^{6,7} diterpenos,⁸⁻¹⁰ e flavonoides.¹¹

Dando continuidade aos nossos estudos com *Erythroxylum*, nesse trabalho descrevemos o isolamento e caracterização estrutural de três flavonoides glicosilados quercetina-3-*O*- α -L-ramnosídeo (**1**), ombuina-3-rutinosídeo (**2**) e ombuina-3-rutinosídeo-5-glucosídeo (**3**) de *Erythroxylum pulchrum*. O extrato metanólico das folhas dessa espécie foi submetido à avaliação dos efeitos antibacterianos frente às linhagens de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguinis*, *S. salivarius*, *S. mutans* e *S. mitis*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A substância **1** foi isolada na forma de um pó amarelo amorfo. O espectro de massas obtido com EM-IES mostrou o pico do íon

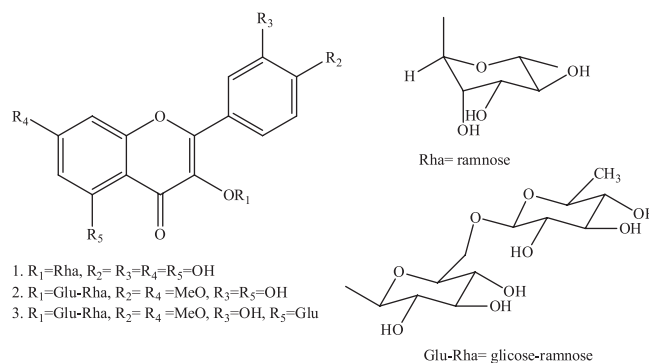


Figura 1. Flavonoides glicosilados de *E. pulchrum*

molecular de m/z 447, 1 [M-H]⁻, compatível com a fórmula molecular C₂₁H₂₀O₁₁. O espectro de IV de **1** evidenciou bandas de absorção em 3336 cm⁻¹ (estiramento O-H), 1654 cm⁻¹ (estiramento de carbonila conjugada), 1604 cm⁻¹ (estiramento C=C de anel aromático) e em 1357 cm⁻¹ (estiramento C-O).

No espectro de RMN de ¹H de **1** observou-se dois dubletos em δ_H 6,36 e 6,19 ($J = 2,0$ Hz), característicos de hidrogênios H-8 e H-6 de flavonas oxigenadas nas posições 5 e 7,¹² além de um duplo dubleto em δ_H 7,30 ($J = 8,0$ e 2,0 Hz), um dubleto em δ_H 6,91 ($J = 8,0$ Hz) e um dubleto em δ_H 7,33 ($J = 2,0$ Hz) que foram atribuídos aos hidrogênios H-6', H-5' e H-2', respectivamente do anel B de flavonas. Adicionalmente, neste espectro foram observados um dubleto em δ_H 5,34 correspondente a hidrogênio anomérico, multipletos entre δ_H 3,32-3,75 e um dubleto em δ_H 0,94. Esses dados foram condizentes com unidade osídica ramnose (Tabela 1). O espectro de RMN de ¹³C de **1** corroborou com a sugestão da presença de uma ramnose ao revelar sinal para o carbono anomérico em δ_C 103,5 e ainda para o carbono metílico em δ_C 17,6, além dos demais sinais relativos aos carbonos da unidade rarnosídica entre δ_C 71,8 e δ_C 73,2 (Tabela 2). A correlação observada no mapa de contorno HMBC de **1** em δ_H

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

5,34 (H-1'') com δ_C 136,2 confirmou a unidade osídica em C-3. A constante de acoplamento $J = 1,5$ Hz observada no espectro de RMN de ^1H corrobora com a unidade de α -L-ramnosídeo. Após análise dos dados espectrais e comparações com dados descritos na literatura foi possível identificar **1** como sendo quercetina-3-O- α -L-ramnosídeo.¹³

Tabela 1. Dados de RMN de ^1H de **1***, **2**** e **3**** (500 MHz, J em Hz, δ em ppm)

C	1	2	3
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	6,19 (d, $J = 2,0$ Hz)	6,36 (d, $J = 2,0$ Hz)	6,85 (d, $J = 2,5$ Hz)
7	-	-	-
8	6,36 (d, $J = 2,0$ Hz)	6,67 (d, $J = 2,0$ Hz)	6,92 (d, $J = 2,5$ Hz)
9	-	-	-
10	-	-	-
OMe	-	3,88 s	3,86 s
OMe	-	3,88 s	3,88 s
1'	-	-	-
2'	7,33 (d, $J = 2,0$ Hz)	7,55 (d, $J = 2,0$ Hz)	7,55 (d, $J = 2,0$ Hz)
3'	-	-	-
4'	-	-	-
5'	6,91(d, $J = 8,5$ Hz)	7,04 (d, $J = 8,5$ Hz)	7,03 (d, $J = 8,5$ Hz)
6'	7,30 (dd, $J = 2,0$; 8,0 Hz)	7,72 (dd, $J = 2,5$; 8,5 Hz)	7,76 (dd, $J = 2,0$ e 8,5 Hz)
1''	5,34 (d, $J = 1,5$ Hz)	5,38 (d, $J = 7,5$ Hz)	5,25 (d, $J = 7,0$ Hz)
2''	4,21 (dd, $J = 1,5$; 3,0 Hz)	3,22 m	3,39 m
3''	3,75 (dd, $J = 3,5$; 9,5 Hz)	3,25m	3,10 m
4''	3,32(m)	3,39 m	3,40 m
5''	3,42 (m)	3,24 m	3,24 m
6''	0,94 (d, $J = 6,0$ Hz)	3,70 (d, $J = 11,0$ Hz)	3,71 (d, $J = 10,0$ Hz)
1'''	-	4,39 sl	4,40 (d, $J = 1,5$ Hz)
2'''	-	3,29 m	3,25 m
3'''	-	3,08 m	3,10 m
4'''	-	3,07 m	3,08 m
5'''	-	3,26 m	3,26 m
6'''	-	0,97 (d, $J = 6,0$ Hz)	0,98 (d, $J = 6,0$ Hz)
1 ^{IV}	-	-	4,84 (d, $J = 7,5$ Hz)
2 ^{IV}	-	-	3,25 m
3 ^{IV}	-	-	3,24 m
4 ^{IV}	-	-	3,50 m
5 ^{IV}	-	-	3,51 m
6 ^{IV}	-	-	3,76 (dd, $J = 5,5$ e 11,5 Hz) 3,51 (dd, $J = 5,5$ e 11,5 Hz)

* CD₃OD; ** DMSO-*d*₆.

A substância **2** foi isolada na forma de pó amarelo amorfo. O espectro de massas obtido com EM-IES mostrou o pico do íon molecular de m/z 637,2 [M-H]⁺, compatível com a fórmula molecular C₂₉H₃₄O₁₆. Os espectros de IV e RMN de ^1H de **2** se mostraram semelhantes aos de **1**. Adicionalmente no espectro de RMN de ^1H , foram reveladas absorções compatíveis com a presença de duas unidades osídicas. Um dubleto em δ_H 5,38 ($J = 7,5$) e um singlete largo em δ_H

4,39 foram atribuídos a dois hidrogênios anoméricos. A presença de um dubleto em δ_H 3,70 e outro em 0,97, referentes aos hidrogênios metilênicos e metílicos, permitiram identificar uma glicose ligada a uma ramnose. A constante de acoplamento $J = 7,5$ Hz foi condizente com a unidade β -rutinosídeo (Tabela 1). O espectro de RMN ^{13}C -APT de **2** corroborou com a sugestão da presença de duas unidades osídicas ao revelar sinais para dois carbonos anoméricos em δ_C 101,1 e 100,7 e sinais para carbono metilênico em δ_C 66,8 e um carbono metílico em δ_C 17,6. O conjunto de sinais entre δ_C 66,8 e 76,4 sugeriram a presença da rutinose.¹⁴ Este mesmo espectro apresentou sinais em δ_C 55,6 e 56,1 referentes à presença de duas metoxilas (Tabela 2).

Tabela 2. Dados de RMN de ^{13}C de **1***, **2**** e **3**** (125 MHz, δ em ppm)

C	1	2	3
2	158,4	156,3	154,6
3	136,2	134,0	136,0
4	179,6	177,4	173,0
5	163,1	160,8	158,3
6	99,8	97,9	103,6
7	165,8	165,1	163,6
8	94,7	92,2	95,6
9	159,2	156,5	157,6
10	105,8	104,8	108,9
OMe	-	55,6	55,5
OMe	-	56,1	56,0
1'	122,9	122,3	122,5
2'	116,9	115,7	115,7
3'	146,3	145,7	145,8
4'	149,7	150,0	149,8
5'	116,3	111,1	111,2
6'	122,8	121,5	122,2
1''	103,5	101,1	101,3
2''	71,8	74,0	73,5
3''	72,1	75,7	76,4
4''	73,2	70,3	69,7
5''	72,0	76,4	75,7
6''	17,6	66,8	66,7
1'''	-	100,7	100,7
2'''	-	70,5	70,3
3'''	-	69,8	70,6
4'''	-	71,8	71,8
5'''	-	68,1	68,2
6'''	-	17,6	17,6
1 ^{IV}	-	-	103,1
2 ^{IV}	-	-	74,0
3 ^{IV}	-	-	75,6
4 ^{IV}	-	-	69,8
5 ^{IV}	-	-	77,6
6 ^{IV}	-	-	60,8

* CD₃OD; ** DMSO-*d*₆.

No espectro mapa de contornos HMBC de **2** foi possível determinar as correlações dos hidrogênios em δ_H 6,36 (H-6), 6,67 (H-8) e o sinal dos hidrogênios da metoxila em δ_H 3,88 com o carbono em δ_C 165,1, estabelecendo a posição de uma metoxila em C-7. As correlações entre os hidrogênios em δ_H 7,72 (H-6'); δ_H 7,55 (H-2'); δ_H 7,04 (H-5') e os hidrogênios da metoxila em δ_H 3,88 com o carbono em δ_C 150,0 confirmaram a posição de outra metoxila em C-4'. Ainda neste espectro, foi possível observar a correlação a três ligações entre os hidrogênios em δ_H 3,70 (H-6'') com o carbono em δ_C 100,6 (C-1'''),

confirmando a ligação do carbono C-1''' da ramnose com C-6'' da glicose. A correlação em δ_H 5,38 (H-1'') com δ_C 134,2 confirmou a unidade glicosídica em C-3. Com a análise dos dados espectrais foi possível atribuir a estrutura do 4',7-di-*O*-metilquercetina-3-*O*- β -rutinosídeo (Ombuina-3-rutinosídeo) para **2**. Substância já reportada na literatura na espécie *Ebenus pinnata*¹⁵ e em espécies cubanas de *Erythroxyllum*.¹⁴

A substância **3** (Figura 1) foi isolada na forma de pó amarelo amorfo. O espectro de massas obtido com EM-IES mostrou o pico do íon molecular de m/z 799,0 [M-H]⁺, compatível com a fórmula molecular C₃₅H₄₄O₂₁.

O espectro de RMN de ¹H de **3** apresentou-se semelhante a **1** e **2** para presença de uma flavona 3, 5, 7, 3', 4' pentasubstituída, com sistema ABX para o anel B. Neste mesmo espectro, observou-se a ausência do singlete em δ_H 14,00 de hidroxila quelada o que sugeriu está nessa posição uma metoxila ou uma unidade osídica. Adicionalmente, foram reveladas absorções em δ_H 5,25, 4,84 e 4,40 que permitiram atribuir a presença de três unidades glicosídicas (Tabela 1).

O espectro de RMN ¹³C-APT de **3** corroborou com a sugestão de três unidades osídicas ao revelar sinais para três carbonos anoméricos em δ_C 101,3, 100,7 e 103,1 e ainda sinais para dois carbonos metilênicos em δ_C 60,8 e 66,8 e um sinal para carbono metílico em δ_C 17,6 (Tabela 2). Após comparação com dados da literatura¹⁴ observou-se a presença de duas unidades glicosídicas e uma ramnose.

No espectro mapa de contorno HMBC de **3** foi possível observar que as posições das unidades osídicas foram estabelecidas a partir das correlações a três ligações entre o hidrogênio anomérico da glicose em δ_H 4,84 (H-1'') com o carbono C-5 em δ_C 158,3, bem como entre o hidrogênio anomérico de outra unidade de glicose em δ_H 5,25 (H-1'') com o carbono C-3 em δ_C 136,0, estabelecendo assim as posições das unidades de glicose nos carbonos 3 e 5 respectivamente. A correlação entre o hidrogênio anomérico da ramnose em δ_H 4,40 (H-1''') a três ligações com o carbono C-6'' em δ_C 66,7 tornou possível inferir a presença de uma ramnose terminal ligada à glicose em C-3. Ainda neste espectro, foi possível observar as correlações a três ligações dos hidrogênios em δ_H 3,88 (OCH₃) com o carbono em δ_C 163,6 (C-7) no anel A e a correlação entre o hidrogênio em δ_H 3,87 (OCH₃) com o carbono em δ_C 149,8 (C-4') no anel B da flavona confirmando as posições das metoxilas. Após análise dos dados de RMN e comparação com dados descritos na literatura, foi possível identificar **3** como sendo o 4',7-di-*O*-metilquercetina-3-*O*- β -glicosídeo (ombuina-3-rutinosídeo-5-glicosídeo). Esse composto já foi relatado em outras espécies de *Erythroxyllum*.¹⁴

O extrato metanólico de *E. pulchrum* inibiu o crescimento de todas as linhagens bacterianas testadas, tanto Gram-positivas como Gram-negativas. Entre as bactérias Gram-positivas, a linhagem de *S. aureus* ATCC 25925 foi sensível a uma menor concentração do extrato (64 μ g/mL) enquanto que as linhagens de *S. sanguinis* e *S. salivarius* foram sensíveis a uma maior concentração do extrato (512 μ g/mL). As linhagens de *S. mutans*, *S. mitis* e *B. subtilis* foram sensíveis a 128 μ g/mL. Todas as bactérias Gram-negativas testadas foram sensíveis a 256 μ g/mL (Tabela 3). Este resultado é bastante promissor uma vez que as bactérias Gram-negativas são normalmente mais resistentes a antibióticos que as bactérias Gram-positivas por possuírem uma membrana externa que impede a penetração de inúmeros antibióticos e pelo fato de o espaço periplasmático conter enzimas que são capazes de degradar moléculas estranhas oriundas do exterior da célula. Além disso, substâncias antibacterianas que atuam sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, denominados de amplo espectro, têm uma maior aplicação na clínica médica do que aquelas que atuam apenas sobre um grupo de bactérias.¹⁶ Há uma classificação para o efeito dos extratos vegetais com base nos resultados da CIM e consideram como forte inibição valores de CIM até 500 μ g/mL,

inibição moderada entre 600 e 1500 μ g/mL e inibição fraca acima de 1600 μ g/mL.¹⁷ Em outro estudo avaliou-se 137 extratos de diferentes plantas do semi-árido brasileiro, apenas sete demonstraram atividade antibacteriana significativa contra *S. aureus* e nenhum dos extratos testados foi ativo contra *E. coli*.¹⁸ Neste trabalho o extrato metanólico de *E. pulchrum* apresentou forte inibição frente a todas as linhagens testadas. A linhagem de *S. aureus* ATCC 25925 foi capaz de retomar o crescimento na ausência do extrato caracterizando o efeito antibacteriano como bacteriostático.

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato metanólico das folhas de *E. pulchrum*

LINHAGEM BACTERIANA	CIM (μ g/mL)
<i>B. subtilis</i> CCT 0516	128
<i>E. coli</i> ATCC 2536	256
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 8027	256
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 25619	256
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	256
<i>S. aureus</i> ATCC 25925	64
<i>S. sanguinis</i> ATCC 15300	512
<i>S. salivarius</i> ATCC 7073	512
<i>S. mutans</i> ATCC 25175	128
<i>S. mitis</i> ATCC 903	128

CCT = Coleção de Culturas Tropicais, ATCC = American Type Culture Collection.

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. Os espectros de massas de baixa resolução foram obtidos em espectrômetro Amazon da Bruker com fonte de ionização por Eletrospray no modo negativo. Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Varian Systems a 500 [500 MHz (¹H) e 125 MHz (¹³C)] (LMCA/UFPA). Os solventes empregados foram CD₃OD e DMSO-*d*₆ cujos picos característicos em RMN ¹H e ¹³C serviram para ajuste de escala de frequência. Para as cromatografias em coluna utilizou-se como fase estacionária sílica gel 60 (70-230 Mesh) da Merck. A Cromatografia Líquida de Média Pressão foi desenvolvida em aparelho Buchi Pump Manager. 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 sob os comprimentos de onda de 254 e 366 nm e pela impregnação das placas em cubas de vidro saturadas por vapores de iodo.

Material vegetal

O material vegetal (folhas) foi coletado no município de Maturéia, região Semi-árida da Paraíba, Brasil, em março de 2010. Uma exsiccata está depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB) na Universidade Federal da Paraíba sob identificação AGR 4947.

Procedimento para obtenção dos extratos e isolamento dos constituintes

As folhas foram dessecadas em estufa e após secagem, foram submetidas a um processo de pulverização. O pó obtido (1,3 Kg) foi

submetido à maceração com metanol. Após a extração, a solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura de 40 °C, obtendo, assim, o extrato metanólico bruto (281,3 g). Parte do extrato (100,0 g) foi dissolvido em metanol-água (7:3) e, em seguida, submetido a sucessivas partições líquido/líquido com hexano, diclorometano e acetato de etila em funil de 150 mL utilizando 4L de cada solvente, obtendo, assim, as frações hexânica (10,0 g), diclorometano (4,4 g) e acetato de etila (25,3 g). Uma alíquota da fase acetato de etila (6,0 g) foi submetida à cromatografia líquida de média pressão, utilizando sílica gel como adsorvente e acetato de etila e metanol em gradiente de 100% de acetato de etila a 50% de metanol durante 8 horas, com fluxo de 20 mL/min, obtendo-se 123 frações. Com o gradiente de 99:1 à 95:5 durante 1h obteve-se as frações 18 à 61. Com o gradiente de 95:5 à 50:50 durante 4h obteve-se as frações 62 à 123. Ao final do processo, todas as frações foram monitoradas por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA). As frações 28-30 foram reunidas e obtendo-se **1** (16,5 mg). As frações 72-93 foram reunidas e obtendo-se **2** (20,3 mg). As frações 100-103 foram reunidas obtendo-se **3** (15,1 mg). Todas as frações foram recristalizadas com acetona.

Ensaio de atividade antimicrobiana

Foram utilizadas as seguintes linhagens bacterianas: *Bacillus subtilis* CCT 0516, *Escherichia coli* ATCC 2536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 8027, *P. aeruginosa* ATCC 25619, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. aureus* ATCC 25925, *Streptococcus sanguinis* ATCC 15300, *S. salivarius* ATCC 7073, *S. mutans* ATCC 25175 e *S. mitis* ATCC 903.

Os meios de cultura utilizados para as análises foram: o BHI (Brain Heart Infusion – HIMEDIA), 8 g para 1L, para as linhagens de *Streptococcus* e o LB (Luria Bertani) preparado com 5 g de extrato de levedura (DIFCO), 10 g de triptona (DIFCO), 10 g de NaCl (VETEC) para 1L, para as demais linhagens. Todos os reagentes utilizados apresentavam grau de pureza P.A. Os meios de cultura foram preparados com água destilada e esterilizados por autoclavagem a 121 °C, 1 atm por 20 minutos.

O efeito antibacteriano foi avaliado através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pela técnica de microdiluição.¹⁹ Para isso, diluições seriadas a metade de uma solução do extrato metanólico de *E. pulchrum* (1024 - 1 µg) foram adicionadas a uma suspensão contendo 1×10^2 UFC/mL de cada uma das linhagens de *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. sanguinis*, *S. salivarius*, *S. mutans* e *S. mitis* em meio BHI ou LB e, em seguida, incubadas a 37 °C por 24 h. O crescimento foi avaliado por espectrofotometria a 630 nm (Elisa Plate Analyser ROBONIK). Para determinar se a atividade antibacteriana era bactericida ou bacteriostática uma alíquota das amostras CIM//4, CIM/2, CIM, CIMX2 CIMX4 foram plaqueadas em meio BHI ou LB ágar 1,5% e incubadas a 37 °C por 24 h. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Dados espectroscópicos dos compostos isolados estão disponíveis em <http://quimicanova.sbq.org.br>, na forma de arquivo PDF, com acesso livre.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, INSA, e FAPESQ-PB pelo apoio financeiro e ao LMCA-Central Analítica da UFPB pela obtenção dos espectros.

REFERÊNCIAS

- Daly, D. C. Em *Erythroxylaceae*; Smith, N.; Mori, S. A.; Henderson, A.; Stevenson, D. W.; Heald, S. V., eds.; New York Botanical Garden: Princeton, 2004, 143-145.
- Plowman, T. C.; Hensold, N.; *Brittonia* **2004**, *56*, 1.
- Loiola, M. I. B.; Agra, M. F.; Baracho, G. S.; Queiroz, R. T.; *Acta Bot. Bras.* **2007**, *21*, 473.
- Oliveira, A. C.; Sena-Filho, J. G.; Mendes-Júnior, L. G.; Anjos, R. A.; Ribeiro, T. P.; Barbosa-Filho, J. M.; Braga, V. A.; Medeiros, I. A.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2012**, *22*, 436.
- Tamagna, G. A.; Kula, N. S.; Baldessarini, R. J.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2117.
- Aguiar, S. J.; Oliveira, S. L.; Tavares, J. F.; Branco, M. V.; Lucena, H. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Agra, M. F.; Nascimento, S. C.; Silva, T. G.; Simione, C. A.; Araújo, J. X. J.; Silva, M. S.; *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 4121.
- Ribeiro, E. M. O.; Lima, L. S.; David, J. M.; Vale, A. E.; Lopes, L. M. X.; David, J. P.; *Phytochem. Lett.* **2013**, *6*, 232.
- Barreiros, M. L.; David, J. P.; David, J. M.; Lopes, L. M. X.; Sá, M. S.; Costa, J. F. O.; Almeida, M. Z.; Queiroz, L. P.; Sant'Ana, A. E. G.; *Phytochemistry* **2007**, *68*, 1735.
- Ribeiro, E. M. O.; David, J. P.; David, J. M.; Guedes, M. L. S.; Lopes, L. M. X.; Krsková, Z.; Dusek, J.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2013**, *50*, 90.
- Santos, C. C.; Lima, M. A. S.; Braz-Filho, R.; Silveira, E. R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, *17*, 1304.
- Barreiros, M. L.; David, J. M.; Queiroz, L. P.; David, J. P.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2005**, *33*, 537.
- Harborne, J. B. In *Methods in plant biochemistry: Plant phenolics*, 1st ed., Academic Press: London, 1989.
- Beltrame, F. L.; Sartoretto, J. L.; Bazotte, R. B.; Cuman, R. N.; Cortez, D. A. G.; Fernandes, L. C.; *Quim. Nova.* **2001**, *24*, 783.
- Gonzalez-Guevara, J. L.; Castro, V. H.; Gonzalez-Garcia, K. L.; Payo-Hill, A. L.; Gonzalez-Lavaut, J. A.; Torres, J. M.; Prieto-Gonzalez, S.; *Biochem. Syst. Ecol.* **2006**, *34*, 539.
- Abreu, P. M.; Braham, H.; Jannet, H. B.; Mighri, Z.; Matthew, S.; *Fitoterapia* **2007**, *78*, 32.
- Madigan, M.; Martinko, J. In *Brock – Biology of Microorganisms*. Prentice Hall: New Jersey, **2004**, 718.
- Aligianis, N.; Kalpoutzakis, E.; Mitaku, S.; Chinou, I. B.; *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4168.
- Novais, T. S.; Costa, J. F. O.; David, J. P. L.; David, J. M.; Queiroz, L. P.; França, F.; Giulietti, A. M.; Soares, M. B. P.; Santos, R. R.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2003**, *13*, 5.
- Eloff, J. N.; *Planta Med.* **1998**, *64*, 711.