

## TOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE FLAVONOIDES DAS CASCAS DAS RAÍZES DE *Lonchocarpus filipes*

Érica L. Santos, Emmanoel V. Costa, Francisco A. Marques, Nelissa P. Vaz e Beatriz Helena L. N. Sales Maia\*

Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, CP 19081, 81531-990 Curitiba - PR, Brasil

Eva G. Magalhães

Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, 13083-970 Campinas - SP, Brasil

Ana Maria A. Tozzi

Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, CP 6109, 13083-970 Campinas - SP, Brasil

Recebido em 17/3/08; aceito em 24/5/09; publicado na web em 6/11/09

TOXICITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FLAVONOIDS FROM *Lonchocarpus filipes* ROOT BARK. The phytochemical investigation of dichloromethane extract from root bark of *Lonchocarpus filipes* Benth (Leguminosae) afforded four flavonoids including three dibenzoylmethane derivatives rarely found in nature. The structures were established based on their spectral data ( $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, 2D-NMR) as being: lanceolatin B (1), pongamol (2), (*E*)-7-O-methylpongamol (3) and (*E*)-9-O-methylpongamol (4). Compound (4) is described herein for the first time as a natural product. The extracts and the isolated compounds (1), (2) and (3) displayed high toxicity in the brine shrimp lethality assay. Only compound (2) showed antioxidant activity using a DPPH radical scavenging assay. This is the first report on the phytochemical study of *Lonchocarpus filipes*.

Keywords: *Lonchocarpus filipes*; flavonoids; dibenzoylmethanes.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Lonchocarpus* Kunth (Leguminosae), conhecido comumente como “Timbó”, compreende cerca de 120 espécies, das quais 23 são nativas do Brasil.<sup>1</sup> Várias espécies desse gênero são utilizadas na medicina popular como, por exemplo, as raízes e caules de *L. chrysophyllus*, *L. martynii* e *L. spruceanus* no tratamento de tumores, AIDS, eczema, dores de cabeça e doenças de pele.<sup>2</sup> As raízes dessas espécies e as de *L. urucu* e *L. utilis* também são consideradas tóxicas para insetos e peixes, fato atribuído à presença da rotenona.<sup>2,3</sup> Estudos prévios em espécies de *Lonchocarpus* revelaram a presença de flavonoides, triterpenos, derivados de ácido benzoico, aminoácidos e alcaloides,<sup>4,5</sup> sendo os flavonoides considerados os constituintes predominantes em espécies desse gênero.<sup>6-8</sup>

Os flavonoides são considerados um dos maiores grupos de metabólitos secundários e têm se destacado por apresentarem diversas propriedades farmacológicas, agindo como antitumorais, anti-inflamatórios, antioxidantes, antivirais, fungicidas, antiprototozoários, bem como na redução de riscos de doenças cardiovasculares.<sup>8,9</sup>

O gênero *Lonchocarpus* é subdividido em dois subgêneros: *Lonchocarpus* subgênero *Punctati* o qual não está subdividido em seções, e *Lonchocarpus* subgênero *Lonchocarpus*, subdividido em cinco seções: *Laxiflori*, *Unguiflori*, *Pubiflori*, *Lonchocarpus* e *Densiflori*.<sup>10</sup> De acordo com essa classificação botânica, *Lonchocarpus filipes* Benth pertence ao subgênero *Lonchocarpus*, seção *Laxiflori*, ao lado de *L. campestris*.<sup>11</sup>

*Lonchocarpus filipes* é uma árvore tipicamente brasileira, variando de 2 a 4 m de altura, com distribuição restrita ao estado do Rio de Janeiro. É encontrada em matas e bosques da capital, estendendo-se até Petrópolis.<sup>10</sup> Atualmente é cultivada no Parque Ecológico da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Neste trabalho são descritos o isolamento, a avaliação da toxicidade e da atividade antioxidante dos extratos e substâncias isoladas

das cascas das raízes de *L. filipes*. Este é o primeiro relato de estudo fitoquímico dessa espécie.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fracionamento cromatográfico do extrato diclorometânico das cascas das raízes de *L. filipes* levou ao isolamento da flavona lanceolatina B (1) e de três derivados de dibenzoylmetanos, pongamol (2), (*E*)-7-O-metilpongamol (3) e (*E*)-9-O-metilpongamol (4), sendo o último inédito como produto natural. As estruturas das substâncias isoladas foram determinadas com base nas análises dos dados espectrais (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  1D e 2D) e por comparação com os dados descritos na literatura.

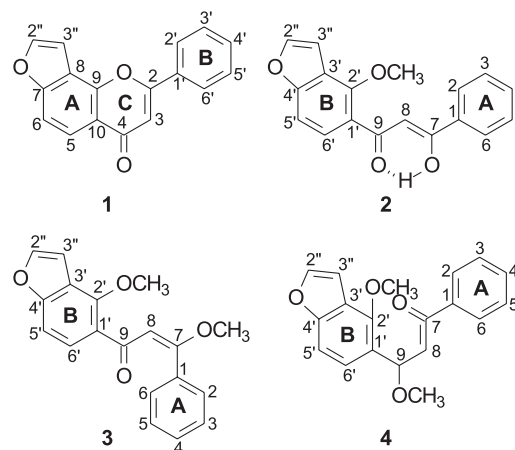


Figura 1. Substâncias isoladas das cascas das raízes de *L. filipes*

A flavona (1) apresentou-se como cristais amarelados em forma de agulhas. A estrutura foi definida por análise e comparação dos seus dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  com os da literatura,<sup>12</sup> sendo determinada como [2'', 3''; 7, 8] furanoflavona, também conhecida como

\*e-mail: noronha@ufpr.br

lanceolata B, isolada pela primeira vez de *Pongamia glabra* (Leguminosae).<sup>13</sup> No gênero *Lonchocarpus*, foi encontrada apenas em *L. latifolius*<sup>8</sup> e *L. montanus*.<sup>6</sup>

A  $\beta$ -hidroxichalcona (**2**) apresentou-se como um óleo viscoso avermelhado. Foi identificada pela análise e comparação dos seus dados de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C com os dados descritos na literatura, e determinada como sendo a substância  $\beta$ -hidroxibenzenofuranochalcona.<sup>14</sup> Esta é a forma enólica do composto também conhecido como pongamol, isolado pela primeira vez das raízes de *Pongamia glabra*<sup>13</sup> e encontrada em *L. montanus*.<sup>6</sup>

A estrutura da substância (*E*)-7-O-metilpongamol (**3**) foi identificada, principalmente de acordo com as análises dos espectros de RMN 1D e 2D, conforme observado na Tabela 1, além de comparação com os dados descritos na literatura.<sup>15</sup> A posição do grupo carbonila em C-9 e de uma das metoxilas em C-2' foi confirmada pela correlação observada no mapa de contorno gHMBC entre o sinal em  $\delta$  7,50 (H-6') e os sinais em  $\delta$  190,9 (C-9) e  $\delta$  152,7 (C-2') (Figura 2). Essa substância foi isolada, pela primeira vez, de *Tephrosia purpurea* (Leguminosae)<sup>16</sup> e, posteriormente, de *L. montanus*.<sup>6</sup>

Para a substância (**4**) observaram-se os mesmos substituintes que em (**3**), com deslocamentos químicos muito próximos no espectro de RMN <sup>1</sup>H (Tabela 1). Os sinais da substância (**4**) referentes a um anel furano foram observados em  $\delta$  7,55 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-2'') e  $\delta$  6,90 (1H, dd,  $J = 2,0$  e 0,8 Hz, H-3''), bem como os sinais de dois grupamentos metoxílicos em  $\delta$  3,98 (3H, s, 2'-OCH<sub>3</sub>) e  $\delta$  3,93 (3H, s, 9-OCH<sub>3</sub>). Observaram-se também os sinais para dois hidrogênios aromáticos acoplados e em posição *orto* em  $\delta$  7,15 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz, H-5') e  $\delta$  7,20 (1H, dd,  $J = 8,4$  e 0,8 Hz, H-6'), e os sinais referentes a um anel aromático monossustituído em  $\delta$  7,35-7,39 (2H, m, H-3 e H-5),  $\delta$  7,45 (1H, m, H-4) e  $\delta$  7,88 (2H, m, H-2 e H-6).

Pela análise comparativa dos espectros de RMN <sup>13</sup>C das substâncias (**3**) e (**4**), verificaram-se algumas similaridades, diferindo

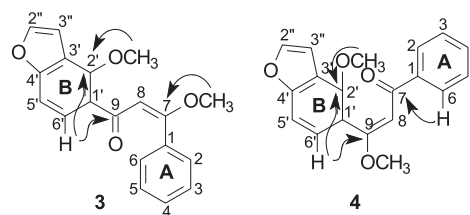


Figura 2. Correlações observadas nos mapas de contorno gHMBC para (**3**) e (**4**)

entre si em pequenos intervalos de deslocamentos químicos (Tabela 1). Os mapas de contorno gHMBC de (**3**) e (**4**) permitiram verificar que a única diferença entre os compostos é a localização do grupo metoxila em C-7 ou C-9. A presença do grupo metoxílico em C-9 de (**4**) foi confirmada pela análise do mapa de contorno gHMBC, devido à correlação do sinal em  $\delta$  7,20 (H-6') com os sinais dos carbonos em  $\delta$  169,3 (C-9) e  $\delta$  150,9 (C-2') (Figura 2). Esta substância foi elucidada como (*E*)-9-O-metilpongamol, e conhecida na literatura<sup>15,16</sup> como produto de metilação do pongamol, produzido em um estudo sobre a isomerização da ligação dupla nos carbonos C-7/C-8 ou C-8/C-9. Neste trabalho, ela é descrita pela primeira vez como produto natural.

As substâncias (**2**), (**3**) e (**4**), isoladas de *L. filipes*, são derivadas de dibenzoilmetanos, considerados uma classe de flavonoides raramente encontrada na natureza, e que têm sido isolados particularmente em espécies de *Lonchocarpus* que ocorrem no Brasil.<sup>6,8,17,18</sup> Estão descritos em literatura apenas treze derivados de dibenzoilmetanos em *Lonchocarpus*, desde seu primeiro relato no gênero até a presente data.<sup>4,6,8,17,18</sup> Devido à pouca ocorrência dessas substâncias, suas propriedades biológicas ainda são pouco exploradas mas, eles vêm se destacando por apresentarem fortes atividades fotoprotetoras e antitumorais.<sup>18,19</sup>

Os resultados do ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina*

Tabela 1. Dados de RMN <sup>13</sup>C e RMN <sup>1</sup>H para as substâncias (**3**)<sup>a</sup> e (**4**)<sup>a</sup>

Posição	Substância <b>3</b>		Substância <b>4</b>	
	C ( $\delta$ )	H ( $\delta$ ) (mult., $J$ em Hz)	C ( $\delta$ )	H ( $\delta$ ) (mult., $J$ em Hz)
1	135,6	-	139,7	-
2 e 6	128,8	7,44 (2H, m)	127,9	7,88 (2H, m)
3 e 5	127,5	7,30 (2H, m)	128,1	7,35-7,39 (2H, m)
4	129,5	7,30 (1H, m)	131,8	7,45 (1,m)
7	170,5	-	189,9	-
8	103,1	6,30 (1H, s)	99,7	6,40 (1H, s)
9	190,9	-	169,3	-
1'	127,5	-	121,1	-
2'	152,7	-	150,9	-
3'	119,0	-	118,4	-
4'	158,1	-	157,4	-
5'	106,4	7,15 (1H, dd 0,8 e 8,4)	106,1	7,15(1H, d, 8,4)
6'	126,7	7,50 (1H, d, 8,4)	126,0	7,20 (1H, dd , 0,8 e 8,4)
2''	144,5	7,57 (1H, d, 2,1)	144,1	7,55 (1H, d, 2,0)
3''	105,0	6,91 (1H, d, 0,8 e 2,1)	105,1	6,90 (1H, dd, 0,8 e 2,0)
Ar-OCH <sub>3</sub>	61,3	4,09 (3H, s)	60,3	3,98 (3H, s)
R-OCH <sub>3</sub>	56,3	3,88 (3H, s)	56,3	3,93 (3H, s)

<sup>a</sup> Experimento realizado a 400 MHz para <sup>1</sup>H e 100 MHz para <sup>13</sup>C em CDCl<sub>3</sub>, utilizando o TMS como padrão de referência interna. ( $\delta$ ) deslocamento químico dado em ppm.

(TAS) dos extratos éter de petróleo, diclorometânico e metanólico, bem como das substâncias isoladas (1), (2) e (3) das cascas das raízes de *L. filipes*, estão descritos na Tabela 2. Os extratos brutos mostraram forte atividade no teste de TAS com  $DL_{50} < 5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Dentre as substâncias puras testadas, todas se mostraram ativas, sendo (*E*)-7-*O*-metilpongamol (3), a substância que apresentou maior atividade com  $DL_{50} = 5,30 \mu\text{g mL}^{-1}$ , seguida da lanceolatina B (1) com  $DL_{50} = 6,72 \mu\text{g mL}^{-1}$  e pongamol (2) com  $DL_{50} = 13,22 \mu\text{g mL}^{-1}$ . As atividades destas substâncias estão muito próximas com as descritas na literatura.<sup>6</sup>

No ensaio de atividade antioxidante, apenas o pongamol (2) apresentou moderada atividade na inibição do radical DPPH em relação aos controles (ácidos ascórbico e cafeico), apresentando um  $IC_{50} = 16,8 \mu\text{g mL}^{-1}$ . As demais substâncias mostraram-se inativas neste ensaio. Os resultados estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 2.** Valores de toxicidade sobre *Artemia salina* e de atividade antioxidante

Amostras	TAS $DL_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Antioxidante $IC_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
Ácido Ascórbico <sup>a</sup>	---	0,53
Ácido cafeico <sup>a</sup>	---	0,83
Extrato EP	< 5,0	---
Extrato $\text{CH}_2\text{Cl}_2$	< 5,0	---
Extrato MeOH	< 5,0	---
Substância 1	6,72	232,30
Substância 2	13,22	16,80
Substância 3	5,30	310,55
Cafeína <sup>b</sup>	306	---

<sup>a</sup>Padrões utilizados no ensaio de atividade antioxidante. <sup>b</sup>Padrão utilizando no ensaio de TAS.

Diversas atividades biológicas já foram relatadas na literatura para as substâncias isoladas, tais como antimicrobiana e citotóxica para as substâncias 1 e 2,<sup>6,13,14,20</sup> e sedativa e anti-hiperglicêmica para a substância 2.<sup>21</sup>

## PARTE EXPERIMENTAL

### Procedimentos gerais

As medidas de ponto de fusão foram feitas em um aparelho Quimis Q-340S23. Os espectros de RMN 1D e 2D foram obtidos em um espectrômetro Brüker, modelo Avance DRX 400, operando a 9,4T, observando <sup>1</sup>H a 400 MHz e <sup>13</sup>C a 100 MHz, utilizando clorofórmio deuterado como solvente. Os deslocamentos químicos foram dados em ppm relativo ao TMS ( $\delta$  0,00) como padrão interno. Nas separações por cromatografia em coluna (CC) foi empregado gel de sílica 60 (70-230 mesh) da Merck. Nas separações por cromatografia em camada preparativa (CCDP) foi utilizado gel de sílica 60 PF<sub>254</sub> da Merck com 1 mm de espessura. Nas análises por cromatografia em camada analítica (CCDA) foram utilizadas cromatoplasmas de gel de sílica 60 F<sub>254</sub> em alumínio com 0,25 mm de espessura. Para a revelação das cromatoplasmas foram utilizadas luz UV (366 e 254 nm) e solução de anisaldeído, seguidas por aquecimento a 110 °C.

### Material vegetal

As raízes de *L. filipes* foram coletadas no Parque Ecológico da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, em setembro de

2006. A identificação botânica foi realizada pela Profa. Dra. A. M. Tozzi, do Instituto de Biologia da UNICAMP, especialista em taxonomia do gênero *Lonchocarpus*. A exsicata da espécie encontra-se depositada no herbário da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil, sob o número 143605.

### Extração e isolamento

Depois de secas, pesadas e moídas, as cascas das raízes de *L. filipes* (137,1 g) foram submetidas à extração em Soxhlet, com solventes em ordem crescente de polaridade, éter de petróleo, diclorometano e metanol. Os extratos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida à temperatura de 50 °C, fornecendo os extratos éter de petróleo (3,29 g, óleo amarelo viscoso), diclorometânico (5,27 g, sólido amorfo marrom) e metanólico (22,45 g, óleo viscoso marrom). Parte do extrato diclorometânico (4,0 g) foi cromatografado em uma coluna de gel de sílica, eluída com éter de petróleo, acetato de etila e metanol em misturas de polaridades crescentes, fornecendo 201 frações (30 mL cada), as quais foram reunidas em 32 subfrações, após análise comparativa por CCDA. A subfração 16 (100 mg) foi submetida à cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP) [ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100%, 2x)], obtendo-se a substância (2) (32,7 mg). A subfração 21 (80,5 mg) também foi submetida à CCDP [EP/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20:80, 2x)] resultando no isolamento da substância (1) (54,3 mg). A subfração 24 (200,0 mg) foi novamente submetida à CC eluída com éter de petróleo e diclorometano em misturas de polaridade crescente, obtendo-se 7 novas subfrações. A subfração F24-C (40,0 mg) foi submetida à CCDP [EP/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20:80, 3x)] obtendo-se as substâncias (3) (8,3 mg) e (4) (6,1 mg).

### Lanceolatina B (1)

Sólido amarelado em forma de agulhas ( $\text{CHCl}_3$ ); p.f. 138,4-138,9 °C (lit. 138,0 °C);<sup>12</sup>  $R_f$  0,47 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 1%). Os dados de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram coincidentes com os dados da literatura.<sup>12</sup>

### Pongamol (2)

Óleo viscoso avermelhado;  $R_f$  0,53 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Dados de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram coincidentes com os dados da literatura.<sup>14</sup>

### (E)-7-O-metilpongamol (3)

Óleo amarelado;  $R_f$  0,43 (EP:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:1) Os dados de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C estão descritos na Tabela 1.

### (E)-9-O-metilpongamol (4)

Óleo amarelado;  $R_f$  0,46 (EP:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:1) Os dados de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C estão descritos na Tabela 1.

### Ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* foi desenvolvido de acordo com a metodologia de Meyer *et al.*<sup>22</sup> As amostras utilizadas no ensaio foram os extratos éter de petróleo, diclorometânico e metanólico, e as substâncias (1), (2) e (3).

Os ovos de *A. salina* foram eclodidos em um pequeno recipiente de plástico (17,5 x 10,5 cm), preenchido com solução de sal marinho artificial (38 g L<sup>-1</sup>). Um plástico divisor com vários furos de 2 mm foi adicionado ao recipiente para formar dois compartimentos desiguais. Os ovos (30 mg) foram colocados dentro do maior compartimento, que foi escurecido, enquanto que o menor compartimento era iluminado. Após 48 h, as larvas de *A. salina* eclodiram e migraram para o compartimento iluminado. As amostras foram então preparadas, dissolvendo-se 10 mg da substância ou extrato em 2 mL do solvente apropriado, obtendo-se, no final, uma concentração de 5 mg mL<sup>-1</sup> (solução estoque). Da solução

estoque volumes de 200, 100, 50, 25 e 10  $\mu\text{L}$  para os extratos e 125, 100, 50, 25 e 10  $\mu\text{L}$  para as substâncias isoladas foram adicionados aos frascos de penicilina e secos ao ar. Após total evaporação dos solventes, cada um dos frascos recebeu 3 gotas de DMSO, 3 mL de solução de sal marinho, 10 larvas de *A. salina* e o volume foi ajustado para 5 mL. A concentração final das amostras ficou respectivamente 200, 100, 50, 25 e 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para os extratos, e 125, 100, 50, 25 e 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para as substâncias puras. O teste foi realizado em triplicata. Para o teste controle de cada frasco de penicilina, um frasco contendo o mesmo volume de DMSO (3 gotas), foram usadas 10 larvas de *A. salina*. Todas as etapas foram acompanhadas, utilizando-se a cafeína como controle positivo. Os valores das doses letais ( $\text{DL}_{50}$ ) foram determinados pela contagem das artemias mortas após um período de incubação de 24 h, comparando-se com o controle em um programa de computador (Probitos), sendo considerados ativos quando  $\text{DL}_{50} \leq 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , de acordo com Meyer et al.<sup>22</sup>

### Teste da atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante das substâncias (1), (2) e (3), isoladas de *L. filipes*, foi desenvolvida de acordo com a metodologia de Andrade et al.<sup>23</sup>

As substâncias (1, 2 e 3), ácido ascórbico e ácido cafeico (padrões), foram diluídas em etanol nas concentrações de 0,5, 25, 50, 75 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A cada 3 mL de cada amostra foram acrescentados 100  $\mu\text{L}$  de solução etanólica de 1,1-difenil-2-picril-hidrazina (DPPH) 1 mM. Após 30 min de incubação à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, a redução do radical livre DPPH foi medida pela leitura da absorbância em 517 nm, contra um branco específico (solução da amostra em suas respectivas diluições, sem adição de DPPH) em cada avaliação. Como controle foram utilizados 100  $\mu\text{L}$  de solução etanólica de DPPH 1 mM em 3 mL de etanol.

Para avaliar a atividade captadora do radical, foi obtida a porcentagem de inibição, de acordo com a equação: % de inibição = [(absorbância do controle - absorbância da amostra)/absorbância do controle] x 100

A determinação da concentração de amostra ou padrão que causa 50% de inibição da concentração ( $\text{IC}_{50}$ ) inicial de DPPH foi obtida por regressão linear dos pontos plotados graficamente. Para a plotagem dos pontos, foram utilizados os valores das médias obtidas de triplicatas realizadas para cada uma das substâncias.

### CONCLUSÃO

Este é o primeiro relato do estudo fitoquímico de *L. filipes*. A presença dos derivados de dibenzoilmetanos (2-4) nessa espécie é importante para a quimiotaxonomia do gênero *Lonchocarpus*, uma vez que ocorrem em várias espécies brasileiras desse gênero e apresentam ocorrências isoladas somente em gêneros afins, como *Tephrosia*, *Milletia* e *Pongamia*.

Os extratos das cascas das raízes de *L. filipes* mostraram-se fortemente ativos no ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina*, podendo essa atividade ser correlacionada com atividade antitumoral e/ou inseticida de acordo com Meyer et al.<sup>22</sup> Apenas a substância (2) apresentou atividade antioxidante, provavelmente decorrente da facilidade em se abstrair o hidrogênio que participa do equilíbrio cetona-enólica.

### AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação Araucária – PR, pela bolsa e apoio financeiro concedido.

### REFERÊNCIAS

- Tozzi, A. M. G. A.; Silva, M. J.; *Rodriguésia* **2007**, *58*, 275.
- Andel, T. V.; *Economic Botany* **2000**, *54*, 500.
- Fang, N.; Casida, J. E.; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 205.
- Waterman, P. G.; Mahmoud, E. N.; *Phytochemistry* **1985**, *24*, 571.
- Magalhães, A. F.; Santos, C. C.; Magalhães, E. G.; Nogueira, Marisa A.; *Phytochem. Anal.* **2002**, *13*, 215; Hostettmann, K.; Ioset, J. R.; Marston, A.; Gupta, M. P.; *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 710.
- Magalhães, A. F.; Tozzi, A. M. G. A.; Magalhães, E. G.; Sannomiya, M.; Soriano, M. D. P. C.; Perez, M. A. F.; *An. Acad. Bras. Cienc.* **2007**, *79*, 351.
- Borges-Argáez, R. B.; Rodriguez, L. M. G. P.; Waterman, P. G.; *Phytochemistry* **2002**, *60*, 533.
- Magalhães, A. F.; Tozzi, A. M. G. A.; Magalhães, E. G.; Nogueira, M. A.; Queiroz, S. C. N.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 787.
- Alavez-Solano, D.; Reyes-Chilpa, R.; Jimeáñez, M.; Goáñez, F.; Chavez-, I.; Sousa, M.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 953; Borges-Argáez, R.; Balnury, L.; Flowers, A.; Gimenes-Turba, A.; Ruiz, G.; Waterman, P. G.; Peña-Rodríguez, L. M.; *Phytomedicine* **2007**, *14*, 530; Cushine, T. P. T.; Lamb, A. J.; *Int. J. Antimicrob. Agents* **2005**, *26*, 343; Harborne, J. B.; Williams, C. A.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 481; Wang, L. S.; Stoner, G. D.; *Cancer Lett.* **2008**, doi:10.1016/j.canlet.2008.05.020; Tripoli, E.; Guardia, M.; Giammanco, S.; Majo, D.; Giammanco, M.; *Food Chem.* **2007**, *104*, 466; Pietta, P. G.; *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1035.
- Tozzi, A. M. G. A.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 1989.
- Firmino, C. A.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, 1998.
- Tanaka, T.; Inuma, M.; Yuki, K.; Fujii, Y.; Mizuno, M.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 993; Mbafor, J. T.; Atchaade, A. T.; Nkengfack, A. E.; Fomum, Z. T.; Sterner, O.; *Phytochemistry* **1995**, *40*, 949.
- Talapatra, S. K.; Mallik, A. S.; Talapatra, B.; *Phytochemistry* **1980**, *19*, 1199.
- Chang, L. C.; Gerhäuser, C.; Song, L.; Farnsworth, N. R.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D.; *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 869.
- Fumiyuki, K.; Cheng, X.; Tsuda, Y.; J. F.; *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 1862.
- Pelter, A.; Ward, R. S.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, *9*, 2491.
- Magalhães, A. F.; Tozzi, A. M. G. A.; Magalhães, E. G.; Blanco, I. S.; Soriano, M. D. P. C.; *An. Acad. Bras. Cienc.* **2004**, *76*, 651; Magalhães, A. F.; Tozzi, A. M. G. A.; Sales, B. H. L. N.; Magalhães, E. G.; *Phytochemistry* **1996**, *42*, 1459; Magalhães, A. F.; Tozzi, A. M. G. A.; Magalhães, E. G.; Blanco, I. S.; Nogueira, M. A.; *Phytochemistry* **1997**, *46*, 1029.
- Nogueira, M. A.; Magalhães, E. G.; Magalhães, A. F.; Biloti D. N.; Laverde A.; Pessine, F. B.; Carvalho, J. E.; Kohn L. K.; Antônio, M. A.; Marsaioli, A. J.; *Il Farmaco* **2003**, *58*, 1163.
- Jackson, K. M.; Deleon, M.; Verret, R.; Harris, W. B.; *Cancer Lett.* **2002**, *178*, 161.
- Sinha, B.; Natu, A. A.; Nanavati, D. D.; *Phytochemistry* **1982**, *21*, 1468.
- Mahli, S. S.; Basu, S. P.; Sinha, K. P.; Banerje, N. C.; *Indian J. Anim. Sci.* **1989**, *59*, 657; Tamrakar, A. K.; Yadav, P. P.; Tiwari, P.; Maurya, R.; Srivastava, A. K.; *J. Ethnopharmacol.* **2008**, *118*, 435.
- Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; McLaughlin, J. L.; *Planta Med.* **1982**, *45*, 31.
- Andrade, C. A.; Costa, C. K.; Bora, K.; Dallarmi, M.; Miguel, O. G.; Kerber, V. A.; *Braz. J. Pharmacogn.* **2007**, *17*, 231.