



# Estudo fitoquímico e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* e da atividade antimicrobiana de *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral, Myrtaceae

Elaine A. Domingues,<sup>\*1</sup> Celso V. Nakamura,<sup>2</sup> Maria C. de Souza,<sup>3</sup> Tatiane S. Teixeira,<sup>1</sup>  
Juliana L. B. Peixoto,<sup>1</sup> Maria H. Sarragiotto,<sup>1</sup> Gentil J. Vidotti<sup>†1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, 87020-900 Maringá-PR, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, 87020-900 Maringá-PR, Brasil

<sup>3</sup>Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, 87020-900 Maringá-PR, Brasil.

**RESUMO:** O estudo fitoquímico das folhas de *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral, Myrtaceae, resultou no isolamento e identificação de: sesquiterpeno [8-hidroxicalameneno (1)], triterpenos [ $\alpha$ -amirina (2a) e  $\beta$ -amirina (2b)], flavonóide [3-O- $\alpha$ -ramnopiranosil-7-O- $\beta$ -glucopiranosil canferol (3)], e alcalóide [1,2,3,4-tetraidro-1-metil- $\beta$ -carbolina (4)]. As estruturas das substâncias isoladas foram elucidadas com base nos seus dados de RMN em comparação com os da literatura. A substância 8-hidroxicalameneno apresentou atividade antibacteriana (MIC = 7,8  $\mu$ g/mL) e antifúngica (MIC = 15,6  $\mu$ g/mL).

**Unitermos:** *Calycorectes psidiiflorus*, Myrtaceae, constituintes químicos, ensaios biológicos.

**ABSTRACT:** "Phytochemical study and evaluation of toxicity against *Artemia salina* and antimicrobial activity of *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral, Myrtaceae". The phytochemical study of *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral leaves resulted in isolation and identification of the sesquiterpene 8-hydroxycalamenene (1), triterpenes  $\alpha$ -amyrin (2a) and  $\beta$ -amyrin (2b), flavonoid 3-O- $\alpha$ -rhamnopyranosyl-7-O- $\beta$ -glucopyranosyl kaempferol (3), and of the alkaloid 1,2,3,4-tetrahydro-1-methyl- $\beta$ -carboline (4). The structures of the isolated compounds were elucidated based on their spectroscopic NMR data and comparison with those reported in literature. Substance 1 presented antibacterial (MIC = 7.8  $\mu$ g/mL) and antifungal (MIC = 15.6  $\mu$ g/mL) activities.

**Keywords:** *Calycorectes psidiiflorus*, Myrtaceae, chemical constituents; biological assays.

## INTRODUÇÃO

*Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral pertence à família Myrtaceae, que abrange cerca de cem gêneros e três mil espécies (Trease, 1983). Compreende duas subfamílias, a Leptospermoideae que reúne as espécies de frutos secos com maior concentração na Austrália, e a Myrtoideae que apresenta espécies de frutos carnosos e se concentra principalmente nas Américas do Sul e Central (Romagnolo, 2003). A subfamília Myrtoideae possui espécies com características apícolas e produzem frutos comestíveis muito apreciados pela fauna silvestre e também pelo homem, tais como: pitanga, goiaba, araçá, jabuticaba, guabiroba, uvaia, jambolão, jambo (Romagnolo, 2003).

*Calycorectes psidiiflorus* é conhecida popularmente como guamirim-de-riedel ou cambuí (Romagnolo, 2003) e apresenta-se normalmente como

uma árvoreta, com cerca de três metros de altura, mas pode alcançar até dez metros; possui flores com pétalas brancas e frutos globosos (10-20 mm de diâmetro) de coloração vermelha quando maduros. Sua distribuição geográfica ocorre no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai. As folhas de *Calycorectes psidiiflorus*, conhecidas popularmente no Paraguai como Ñangapiry (Schmeda, 1995), em infusão ou decocção, são utilizadas como digestivo, anti-hipertensivo.

O gênero *Calycorectes* apresenta cerca de dezoito espécies distribuídas do México até a América do Sul e que são utilizadas na medicina popular, porém poucos estudos são apresentados na literatura.

O presente trabalho tem como objetivo a investigação fitoquímica de *Calycorectes psidiiflorus* (folhas e galhos) visando o isolamento e identificação dos principais compostos presentes na planta, de forma a

\*E-mail: pg41579@uem.br (Elaine A. Domingues), Tel. 55 44 3261 4332, Fax. 55 44 3261 4125  
†In Memoriam

ampliar os estudos químicos da espécie e contribuir para os estudos quimiotaxonômicos do gênero, bem como avaliar as atividades antibacteriana e antifúngica dos extratos e substâncias isoladas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Instrumentação e material cromatográfico

Nos procedimentos de separação por coluna cromatográfica (CC) foram utilizadas sílica gel 60 (0,063-0,200 mm) e sílica flash (0,035-0,070 mm) como fases estacionárias. Como fases móveis foram utilizados solventes puros e ou combinados, em ordem crescente de polaridade. Na cromatografia de camada delgada (CCD) e cromatografia de camada delgada preparativa (CCDP) foi utilizado sílica gel 60 GF (Merck), nas espessuras 0,3 e 0,8 mm, respectivamente.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  foram registrados em espectrômetro VARIAN, modelo Mercury Plus BB, 300 MHz, (300,06 MHz para  $^1\text{H}$  e 75,45 MHz para  $^{13}\text{C}$ ).

### Material vegetal

A espécie vegetal *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral, Myrtaceae (folhas e galhos), foi coletada em novembro de 2001, às margens da planície alagável do alto rio Paraná, na região de Porto Rico-PR. Sua identificação foi feita pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Conceição de Souza, do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá. Uma exsicata de *Calycorectes psidiiflorus* foi depositada no acervo do Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUM) sob n<sup>o</sup> 9602, coletor: M. B. Romagnolo 316.

### Extração e isolamento das substâncias

As folhas e os galhos secos e moídos de *C. psidiiflorus* foram, separadamente, submetidos à extração com etanol 95%, utilizando técnicas de maceração e percolação combinadas. Após liofilização obteve-se extrato bruto das folhas e extrato bruto dos galhos de *C. psidiiflorus*, os quais foram fracionados por partição em solventes originando as frações hexânica, clorofórmica e acetato de etila. A fração hexânica foi submetida a sucessivas colunas cromatográficas (CC) de sílica gel, empregando os eluentes hexano, clorofórmio e metanol (na forma binária e em ordem crescente de polaridade), o que resultou em sete sub-frações. A purificação da sub-fração 7.1 por cromatografia de camada delgada preparativa (CCDP, sílica gel,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , vapor de amônia) forneceu a substância **1** na forma de um líquido de coloração amarela.

A sub-fração 7.2 foi submetida a CC de sílica gel 60 com os eluentes hexano:éter etílico em ordem crescente de polaridade, e uma das frações forneceu a mistura das

substâncias **2a** e **2b**, na forma de cristais brancos solúveis em diclorometano. A quantidade obtida de **2a** e **2b** correspondeu a 29,51% da subfração, ou seja, 9,74% da fração hexânica e 2,38% do extrato bruto das folhas de *Calycorectes psidiiflorus*.

A fração acetato de etila foi submetida à CC de sílica gel com o eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH 2%, em ordem crescente de polaridade, sendo coletadas seis frações. A subfração 5 foi submetida à CCDP, sendo utilizado como fase móvel  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :metanol 20%, o que forneceu a substância **3** como um sólido amarelo.

Do extrato bruto dos galhos de *Calycorectes psidiiflorus* foi realizada uma extração ácido-base. A solução aquosa ácida (com solução de ácido sulfúrico pH 2) foi extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 100 mL) e então alcalinizada com hidróxido de amônio 30% até pH 10. A solução básica foi extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x100 mL) fornecendo a fração  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  básica. Esta fração foi submetida à CCDP, usando como fase móvel acetato de etila:metanol 70% (com vapor de amônia), o que levou ao isolamento da substância **4** que apresentou fluorescência a UV 254 nm e teste positivo para alcaloides com revelador de Dragendorff.

### Ensaio biológicos

A avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* foi realizada com o extrato bruto das folhas e dos galhos de *C. psidiiflorus* e com as frações resultantes de seu fracionamento. O bioensaio de toxicidade foi realizado conforme descrito na literatura (Dey & Harbone, 1993). Os testes foram realizados em triplicata. A concentração de amostra necessária para promover a mortalidade de 50% e 90% dos microcrustáceos ( $\text{DL}_{50}$  e  $\text{DL}_{90}$ ) foi calculada através do logaritmo da concentração versus a média da porcentagem de mortalidade.

No estudo da atividade antibacteriana e antifúngica foi utilizado o método de microdiluição (McLaughlin et al., 1991) para determinação da concentração mínima inibitória. Foi utilizado o extrato bruto das folhas e dos galhos de *C. psidiiflorus*, as frações resultantes do fracionamento do extrato bruto e as substâncias isoladas 8-hidróxicalameneno (**1**),  $\alpha$ -amirina (**2a**),  $\beta$ -amirina (**2b**), 3-*O*- $\alpha$ -raminopiranosil-7-*O*- $\beta$ -glicopiranosil canferol (**3**) e 1,2,3,4-tetraidro-1-metil- $\beta$ -carbolina (**4**).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico das folhas e galhos de *Calycorectes psidiiflorus* (O. Berg) Sobral, Myrtaceae, resultou no isolamento de três substâncias puras, identificadas como 8-hidróxicalameneno (**1**), 3-*O*- $\alpha$ -raminopiranosil-7-*O*- $\beta$ -glicopiranosil canferol (**3**) e 1,2,3,4-tetraidro-1-metil- $\beta$ -carbolina (**4**) e uma mistura de duas substâncias identificadas como  $\alpha$ -amirina (**2a**) e  $\beta$ -amirina (**2b**).

A substância **1** foi isolada da fração hexânica

das folhas de *C. psidiiflorus*. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  observaram-se dois singletos na região de hidrogênios aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  6,40 e 6,57, cada um apresentando integração para um hidrogênio. Foram verificados três dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  0,82 ( $J = 6,9$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  0,97 ( $J = 6,9$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  1,19 ( $J = 6,9$  Hz), cada um com integração para três hidrogênios, característicos de metilas. Foi observado também um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  2,22 com integração para três hidrogênios, sinal típico de metila ligada a um hidrogênio, e um singlete em  $\delta_{\text{H}}$  4,89, com integral para um hidrogênio, característico de hidroxila.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , com auxílio de experimentos de DEPT, foi possível determinar a presença de quatro carbonos metílicos ( $\delta_{\text{C}}$  19,8; 21,3; 21,4 e 22,3), dois carbonos metilênicos ( $\delta_{\text{C}}$  19,3 e 27,3), cinco carbonos metínicos ( $\delta_{\text{C}}$  26,8; 33,4; 43,3; 113,6 e 123,1) e de quatro carbonos não ligados a hidrogênio ( $\delta_{\text{C}}$  126,3; 135,2; 141,4 e 153,2). Através do espectro de HMQC foi possível verificar que a substância apresenta apenas um metileno ( $\delta_{\text{C}}$  27,3) com hidrogênios heterotópicos, correspondente aos hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  1,50 e  $\delta_{\text{H}}$  1,96 e ainda que as quatro metilas ( $\delta_{\text{C}}$  19,8,  $\delta_{\text{C}}$  21,3,  $\delta_{\text{C}}$  21,4 e  $\delta_{\text{C}}$  22,3) têm respectivamente,  $\delta_{\text{H}}$  0,82 ( $J = 6,9$  Hz),  $\delta_{\text{H}}$  2,22 singlete,  $\delta_{\text{H}}$  1,19 ( $J = 6,9$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  0,97 ( $J = 6,9$  Hz).

Conforme verificado no espectro de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, o hidrogênio heterotópico H-2a correlaciona com o H-3 e H-2b correlaciona com H-1, sendo que estes também correlacionam entre si. Outra correlação importante é observada para H-11 que se correlaciona com os hidrogênios H-12, H-13 e H-4.

Só foi possível definir a posição da hidroxila ( $\delta_{\text{H}}$  4,89) com o espectro de diferença de NOE que através da irradiação no sinal  $\delta_{\text{H}}$  1,19 (H-14) apresentou aumento na intensidade dos sinais dos hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  3,07 (H-1),  $\delta_{\text{H}}$  4,89 (OH),  $\delta_{\text{H}}$  1,50 (H-2a) e  $\delta_{\text{H}}$  1,78 (H-3a) e através da irradiação no sinal  $\delta_{\text{H}}$  3,07 (H-1) apresentou aumento na intensidade dos sinais dos hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  1,19 (H-14),  $\delta_{\text{H}}$  4,89 (OH),  $\delta_{\text{H}}$  1,50 (H-2a) e  $\delta_{\text{H}}$  1,96 (H-2b). Diante dessas informações e comparação com dados da literatura (Mulholland et al., 1998) foi possível determinar que a hidroxila está ligada ao C-8, e que as metilas 13, 14 e 15, na publicação de Mulholland et al. (1998), estão com  $\delta_{\text{C}}$  trocados, devendo serem corrigidos para  $\delta_{\text{C}}$  22,3 (13),  $\delta_{\text{C}}$  21,4 (14) e  $\delta_{\text{C}}$  21,3 (15). Desta forma, a substância isolada **1** foi identificada como sendo o sesquiterpeno: 8-hidróxicalameneno.

A mistura das substâncias **2a** e **2b** (cristais brancos, pouco solúveis em hexano e totalmente solúveis em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) foi isolada da fração hexânica das folhas de *C. psidiiflorus*. A concordância entre os dados de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , para as estruturas propostas, e comparação com os dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  da literatura (Mahato & Kundu, 1994), possibilitou a identificação das substâncias isoladas **2a** e **2b** como mistura dos triterpenos  $\alpha$ -amirina (**2a**) e  $\beta$ -amirina (**2b**).

A substância **3** (sólido amarelo fluorescente em

UV 254 nm) foi isolada da fração acetato de etila, das folhas de *C. psidiiflorus*. Através do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foi possível identificar a unidade aglicônica da substância **3** como canferol, devido à presença de dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,32 e  $\delta_{\text{H}}$  6,15, com integração para um hidrogênio cada, e com padrão de acoplamento meta ( $J = 1,8$  Hz) e dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  6,92 e  $\delta_{\text{H}}$  7,75, com integração para dois hidrogênios cada, e com acoplamento orto ( $J = 9,0$  Hz). Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e o DEPT confirmaram a unidade aglicônica como canferol, pela presença de uma carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  179,58 e sinais de carbonos na região de aromáticos, correspondentes aos quinze carbonos da unidade aglicônica.

A presença de duas unidades glicosídicas foi evidenciada pelos sinais de dois hidrogênios anoméricos em  $\delta_{\text{H}}$  4,25 (d,  $J = 7,5$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  5,35 (d,  $J = 1,8$  Hz) correlacionados aos carbonos anoméricos em  $\delta_{\text{C}}$  104,34 e  $\delta_{\text{C}}$  103,52, respectivamente, de acordo com o observado no espectro de HMQC. Uma das unidades glicosídicas foi caracterizada como glicose devido à presença de um carbono oximetilênico em  $\delta_{\text{C}}$  62,75, um hidrogênio anomérico com constante de acoplamento ( $J = 7,5$  Hz) caracterizando configuração  $\beta$  para o carbono anomérico e demais sinais de carbonos oximetínicos. A outra unidade glicosídica foi caracterizada como raminose, devido à presença de um grupo metílico em  $\delta_{\text{H}}$  0,91 (d,  $J = 6,0$  Hz) correlacionando ao sinal  $\delta_{\text{C}}$  17,64, de acordo com o observado no espectro de HMQC, e a presença do hidrogênio anomérico com constante de acoplamento ( $J = 1,8$  Hz) caracterizando configuração  $\alpha$  para o carbono anomérico, e acoplamento do tipo axial-equatorial entre o H-anomérico H-1''' com H-2''''.

A posição de ligação da raminose foi determinada pela análise do espectro de HMBC devido a correlação entre o sinal do hidrogênio anomérico  $\delta_{\text{H}}$  5,35 (H-1''') e o  $\delta_{\text{C}}$  136,17 (C-3) da unidade aglicônica. A concordância entre os dados de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , DEPT  $135^\circ$  e  $90^\circ$ , HMQC ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ ) e HMBC  $^3\text{J}$  ( $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ ) para a estrutura proposta e comparação com os dados de RMN de  $^1\text{H}$  da literatura (Sharafet al., 1997), possibilitou a identificação da substância isolada **3** como 3-*O*- $\alpha$ -ramnopiranosil-7-*O*- $\beta$ -glicopiranosil canferol.

A substância **4** foi isolada por extração ácido-base, dos galhos de *C. psidiiflorus*. No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  foram observados sinais na região de hidrogênios aromáticos, em  $\delta_{\text{H}}$  6,96 (td,  $J = 7,8$  e 1,2 Hz),  $\delta_{\text{H}}$  6,98 (td,  $J = 7,2$  e 1,2 Hz),  $\delta_{\text{H}}$  7,27 (dd,  $J = 7,8$  e 0,9 Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  7,37 (dd,  $J = 7,5$  e 0,9 Hz), cada um apresentando integração para um hidrogênio. Além destes, foram observados um quarteto em  $\delta_{\text{H}}$  4,15 ( $J = 6,6$  Hz), com integração para um hidrogênio; um multiplete em  $\delta_{\text{H}}$  2,99, com integração para dois hidrogênios e um dublete em  $\delta_{\text{H}}$  1,48 ( $J = 6,6$  Hz), correspondente a um grupo metila. Em  $\delta_{\text{H}}$  1,48 ( $J = 6,6$  Hz) foi verificado um dublete, com integração para três hidrogênios, característico de metila.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram observados

onze picos e através de DEPT 135° e 90° foi possível verificar que sete destes carbonos estavam ligados a hidrogênio: uma metila ( $\delta_c$  18,99), dois metilenos ( $\delta_c$  42,36 e  $\delta_c$  21,59) e quatro carbonos aromáticos ( $\delta_c$  110,61,  $\delta_c$  120,76,  $\delta_c$  118,44 e  $\delta_c$  117,37). Através do HMQC ( $^1\text{H}$  x  $^{13}\text{C}$ ) foi possível atribuir o valor do décimo segundo carbono ( $\delta_c$  48,50) que no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ficou sob o sinal do solvente.

Através do COSY ( $^1\text{H}$  x  $^1\text{H}$ ) foi possível verificar as correlações entre  $\delta_H$  7,27 (H-5) e  $\delta_H$  6,98 (H-6),  $\delta_H$  6,96 (H-7) e  $\delta_H$  7,37 (H-8) e entre os hidrogênios  $\delta_H$  6,98 (H-6) e  $\delta_H$  6,96 (H-7).

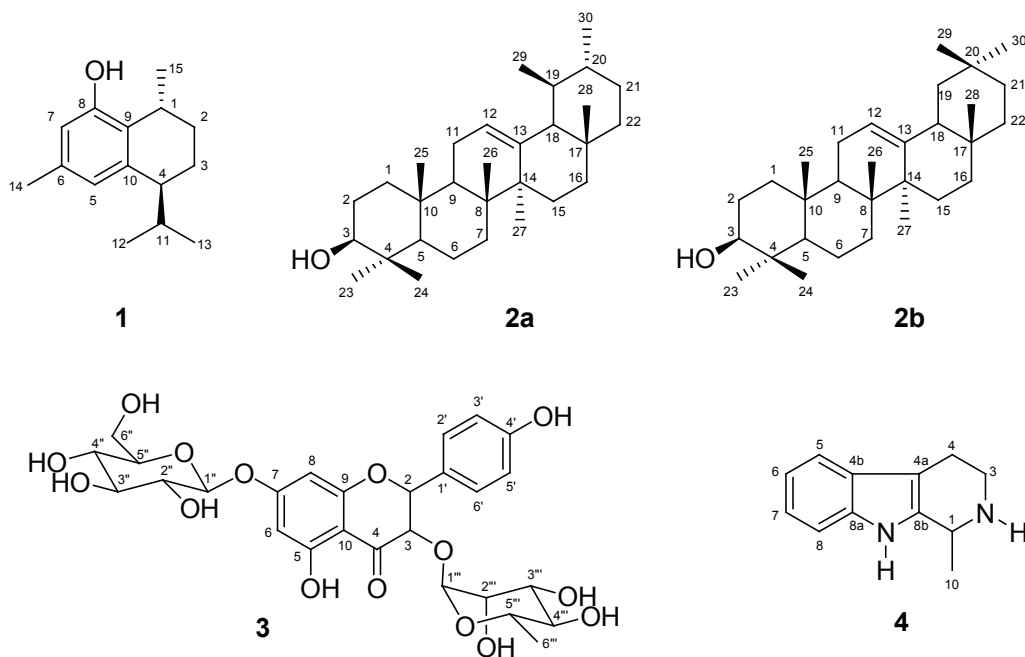
A concórdância entre os dados de RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135° e 90°, COSY ( $^1\text{H}$  x  $^1\text{H}$ ), HMQC ( $^1\text{H}$  x  $^{13}\text{C}$ ) para a estrutura proposta e comparação com os dados da literatura (Ortet, 2003), possibilitou a identificação da substância isolada **4** como sendo o alcaloide 1,2,3,4-tetraidro-1-metil- $\beta$ -carbolina (eleagenina).

A avaliação da toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* mostrou que o extrato bruto das folhas de *C. psidiiflorus* foi mais ativo que o extrato bruto dos galhos,  $\text{DL}_{50}$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) = 186,64 e 566,24, respectivamente. Dentre as frações de folhas e galhos, a que apresentou maior toxicidade foi a fração clorofórmica dos galhos de

*C. psidiiflorus* ( $\text{DL}_{50}$  = 84,91  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e  $\text{DL}_{90}$  = 746,44  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Na avaliação da atividade antibacteriana os extratos brutos e as frações acetato de etila e *n*-butanol das folhas e galhos de *C. psidiiflorus* apresentaram-se “moderadamente ativas” frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*. A substância isolada **1** (8-hidróxi-calameneno) apresentou-se “fortemente ativa” frente às bactérias *S. aureus* (CMI = 7,8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e CMB = 15,6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e *B. subtilis* (CMI e CMB = 7,8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Na avaliação da atividade antifúngica, dentre os extratos brutos das folhas e dos galhos, e suas frações, o melhor resultado foi observado para a fração hexânica das folhas de *C. psidiiflorus* que se apresentou “ativa” (CMI = 62,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) frente ao fungo *Candida parapsilosis* e “moderadamente ativa” frente aos fungos *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. As folhas apresentaram melhores resultados de atividade antifúngica que os galhos de *Calycorectes psidiiflorus*. A substância isolada **1** (8-hidróxi-calameneno) apresentou-se “mais ativa” frente aos fungos *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* (CMI = 15,6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e a substância isolada **4** (1,2,3,4-tetraidro-1-metil- $\beta$ -carbolina) apresentou-se “moderadamente ativa” frente ao fungo *Candida tropicalis*.



## AGRADECIMENTOS

À CAPES pela bolsa de mestrado (Elaine A. Domingues).

## REFERÊNCIAS

Dey PM, Harbone JB 1993. *Methods in plant biochemistry (assays for bioactivity)*. Ed. Academic Press 6: 7-10.

Mahato SB, Kundu AP 1994.  $^{13}\text{C}$  NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids-A compilation and some salient features. *Phytochemistry* 37: 1517-1575.

Mclaughlin JL, Chang CJ, Smith DL 1991. *Studies in natural products chemistry*. Ed. Atta Rahman 9: 383-409.

Mulholland DA, Iourine S, Taylor DAH 1998. Sesquiterpenoids from *Dysoxylum schiffneri*. *Phytochemistry* 47: 1421-1422.

Ortet MRLBV 2003. *Estudo Químico da espécie vegetal Eugenia*

- repanda Berg. (*Myrtaceae*). Maringá. Dissertação de mestrado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual de Maringá.
- Romagnolo MB 2003. *A família Myrtaceae na planície alagável do alto rio Paraná, estados de Mato Grosso do Sul e Paraná*, Brasil. Maringá, 120p. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Maringá.
- Schmeda HG 1995. Flavonoids from *Calycorectes*, *Campomanesia*, *Eugenia* e *Hexachlamys* species. *Fitoterapia* 66: 373-374.
- Sharaf M, El-Ansari MA, Saleh NAM 1997. Flavonoids of four cleome and three capparid species. *Biochem Syst Ecol* 25: 161-166.
- Trease GE 1983. *Pharmacognosy*. 12 ed. London:.