

Contribuição ao estudo fitoquímico de *Amaioua guianensis* (Rubiaceae)

Thays Fernandes Viera, Cecília Maria Alves de Oliveira

Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO 74001-970, Brasil

*e-mail: thaysfvieira@hotmail.com, cecilia@quimica.ufg.br

Palavras-chave: *Amaioua guianensis*, *Rubiaceae*, Diterpeno, Plumericina.

1 INTRODUÇÃO

A família *Rubiaceae* é a quarta maior família das dicotiledôneas, possuindo, aproximadamente 650 gêneros e cerca de 13.000 espécies. A mesma é representada por árvores, arbustos e ervas (DELPRETE, 2004). Segundo recentes estudos filogenéticos, a família subdivide-se em três subfamílias: *Cinchonoideae*, *Ixoroideae* e *Rubioideae*, correspondentes a cerca de 50 tribos (BREMER, 1995; ROVA, 2002).

Estudos fitoquímicos de *Rubiaceae* revelaram uma grande diversidade de metabólitos secundários, tais como iridóides (MOURA, 2006), alcalóides (HENRIQUES *et al*, 2004), antraquinonas (LING *et al*, 2002), lignanas (SILVA *et al*, 2006), flavonóides, derivados fenólicos, triterpenos, diterpenos, cumarinas (LUCIANO *et al*, 2004), etc., sendo que os mesmos possuem alto potencial biológico. Conseqüentemente, as espécies dessa família são amplamente utilizadas na medicina popular e na fabricação de fitoterápicos. Um exemplo é a unha de gato, fitoterápico formulado à base da raiz de *Uncaria tomentosa* e indicado no tratamento de reumatismo e artrite.

O gênero *Amaioua*, pertencente à família *Rubiaceae*, é posicionado na subfamília *Ixoroideae*, e possui como gênero mais próximo, o gênero *Duroia* (DELPRETE, comunicação pessoal, 2008). É constituído por cerca de 10 espécies naturais do Panamá ao Peru, Venezuela e Brasil, sendo que quatro destas espécies se encontram no bioma Cerrado (DELPRETE *et al*, 2004).

A espécie *A. guianensis*, conhecida popularmente pelos nomes de carvoeiro, pau-carvão, cinzeiro, coração-de-bugre (Santa Catarina), marmelada-brava, marmelinho-vermelho e guapeva-forte, apresenta-se como árvore de 10-20 m de altura e 20-50 cm de diâmetro e possui distribuição geográfica ampla, ocorrendo desde as Guianas, Peru, Amazonas e Costa do Atlântico até Santa Catarina. No Brasil, sua ocorrência se expande pela Floresta Amazônica, Cerrado, Pantanal e Mata Atlântica (DELPRETE *et al*, 2004).

O estudo fitoquímico das folhas e do caule dessa espécie, realizado por nosso grupo de pesquisa, revelou a presença de diversas classes de metabólitos secundários tais como: cumarina (1), alcalóide ciclopeptídeo (2), triterpenos pentacíclicos (3 e 6), proantocianidinas (4 e 5), ácidos clorogênicos (7 e 8), Figura 1.

Não há relatos do uso dessa espécie na medicina popular. Até o presente momento, o único relato sobre a espécie na literatura foi publicado recentemente pelo nosso grupo de pesquisa (IQ-UFG) em *Journal of Natural Products* (OLIVEIRA *et al*, 2009).

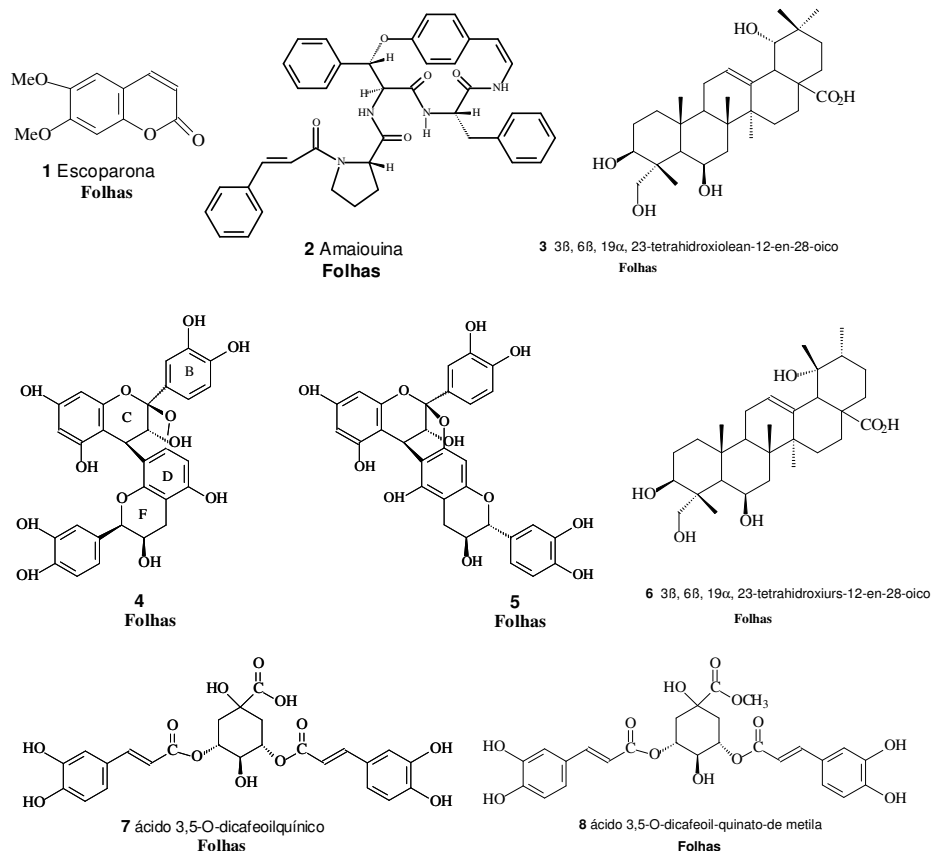


Figura 1. Substâncias isoladas das folhas de *Amaioua guianensis*.

2 OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo dar continuidade ao estudo fitoquímico da espécie *A. guianensis* por meio do isolamento e identificação de compostos micromoleculares presentes em suas raízes e frutos.

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais e métodos utilizados para o estudo fitoquímico

As cromatografias em coluna (CC) foram feitas utilizando sílica gel 60 e SEPHADEX LH-20. O acompanhamento do processo cromatográfico foi feito através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP). Os solventes utilizados na CC, CCDP, CCDA e recristalizações apresentavam grau de pureza PA ou foram tratados e destilados quando necessário.

As técnicas unidimensionais e bidimensionais de RMN (RMN ^1H , RMN ^{13}C , DEPT, COSY, HMQC, HMBC e NOESY) foram utilizadas para elucidação estrutural das substâncias. Os espectros de RMN uni- e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro Varian, Gemini 2000 BB, 300 MHz (300,6 MHz para ^1H e 75,4 MHz para ^{13}C) no Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá/PR e no espectrômetro Bruker 500 MHz (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C) no Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás. Os deslocamentos químicos foram dados em ppm, tendo como padrão de referência interna o TMS ($\delta = 0,0$ ppm). Os solventes deuterados utilizados para diluição das amostras foram CDCl_3 , CD_3OD , CD_3COCD_3 e D_2O , Aldrich ou Isotec.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram registrados em espectrofotômetro FT-IR Perkin Elmer, modelo Spectrum 400, na região de 400 a 4000 cm^{-1} , em pastilhas de KBr. Para as medidas dos pontos de fusão utilizou-se equipamento Karl Kolb, Scientific Technical Supplies.

Os dados cristalográficos foram obtidos em um difratômetro CAD 4, operando sob radiação de cobre (Cu) a temperatura ambiente pelo cristalógrafo Prof. Dr. José Ricardo Sabino, professor do Instituto de Física/UFG.

Os agentes reveladores empregados na detecção das amostras em CCDA e CCDP foram luz UV (254 e 365 nm), reagente de Dragendorff (específico para detecção de compostos nitrogenados), anisaldeído, iodo molecular e solução de ácido sulfúrico ($\text{MeOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$ 1:1 v/v, seguido de aquecimento).

3.2 Material vegetal

As raízes da espécie *A. guianenses* foram coletadas em setembro de 2009 no Parque Estadual da Serra dos Pirineus, Pirenópolis-GO, sua identificação foi realizada pelo Prof. Dr.

Piero Giuseppe Delprete, professor do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás (GO). A exsicata está depositada no Herbário do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, sob o número de coleta 9312. Os frutos foram coletados em julho de 2010 no Santuário de Vida Silvestre Vaga Fogo, Pirenópolis (GO). Uma nova coleta dos frutos foi realizada em maio de 2011.

3.3 Preparo e fracionamento do extrato bruto das raízes e dos frutos

As raízes coletadas foram secas em estufa com ventilação forçada a 40°C, moídas e submetidas à extração a frio em etanol PA por percolação. Os frutos, ainda frescos, foram submetidos à extração a frio em etanol PA por percolação. A evaporação do solvente sob vácuo em evaporador rotativo, de ambos os extratos, resultou nos extratos brutos etanólicos (27,87g da raiz e 0,30g dos frutos).

O extrato etanólico das raízes foi solubilizado em uma mistura de MeOH/H₂O (1:3) e, em seguida, submetido à partição em solventes de polaridade crescente. O extrato etanólico dos frutos foi submetido a uma extração sólido líquido utilizando-se hexano.

3.3.1 Fase clorofórmica das raízes (AGR-CI)

A fase AGF-CI foi cromatografada em coluna de florisil (C1), eluída em gradientes de solventes em ordem crescente de polaridade, obtendo-se um total de 123 frações. As frações, após analisadas por CCDA, foram reunidas em 8 novas frações de acordo com o perfil cromatográfico apresentado. A fração reunida 19-23 após evaporação do solvente, apresentou a formação de cristais incolores em forma de agulhas, os quais foram lavados com acetato de etila, resultando em 7,0 mg do cristal puro. A amostra recebeu o código **AGP 1**.

A fração reunida 53-83, foi submetida a uma nova coluna cromatográfica (C3) em sílica gel 60, eluída em gradientes de solventes em ordem crescente de polaridade, resultando um total de 43 frações. As frações, após analisadas em CCDA, foram reunidas em 8 novas frações de acordo com o perfil cromatográfico apresentado. A fração reunida 5-9, após evaporação do solvente, apresentou a formação de cristais incolores na forma de agulhas, os quais foram lavados com acetato de etila, resultando em 4,0 mg do cristal puro. A amostra recebeu o código **AGP 34**.

3.3.2 Fase hexânica das raízes (AGR-Hex)

Parte da fase AGR-Hex (1,1 g) foi cromatografada em coluna de sílica gel 60 (C9), eluída em gradientes de solventes em ordem crescente de polaridade, obtendo-se um total de 71 frações. As frações após analisadas em CCDA, foram reunidas em 8 novas frações de acordo com o perfil cromatográfico apresentado. A fração reunida 57-59 foi novamente cromatografada (C 18) em coluna de sílica gel 60, obtendo-se um total de 11 frações que foram reunidas em 5 novas frações de acordo com o perfil cromatográfico apresentado após análise por CCDA. A fração 4 apresentou a formação de cristais incolores que foram separados do após adição de metanol na amostra (2 mg) e recebeu o código **AGP 41**.

3.3.3 Fase etanólica dos frutos (AGFr-EtOH)

A fase AGFr-EtOH foi cromatografada em coluna de florisil, eluída em gradientes de solventes em ordem crescente de polaridade, obtendo-se um total de 44 frações. As frações, após analisadas em CCDA, foram reunidas em 6 novas frações de acordo com o perfil cromatográfico apresentado. A fração reunida 27-31 apresentou-se pura após análise por CCDA recebendo o código **AGFr 3**.

A metodologia utilizada no isolamento do composto AGFr 3 está representada na figura 2. A metodologia utilizada no isolamento dos compostos AGP 1, AGP 34 e AGP 41 está apresentada na figura 3.

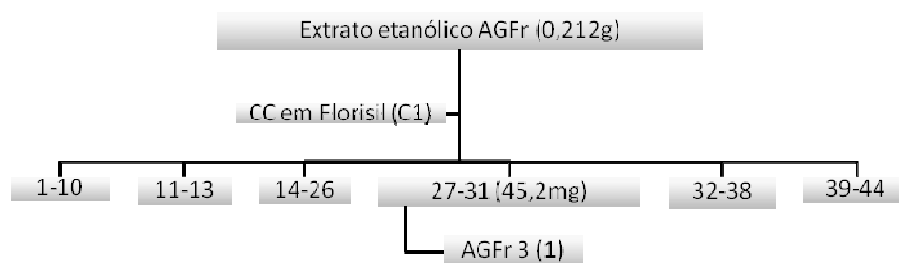
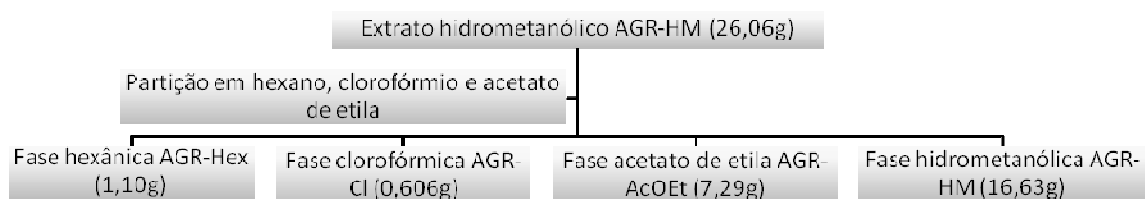


Figura 2. Fluxograma do fracionamento do extrato bruto dos frutos.



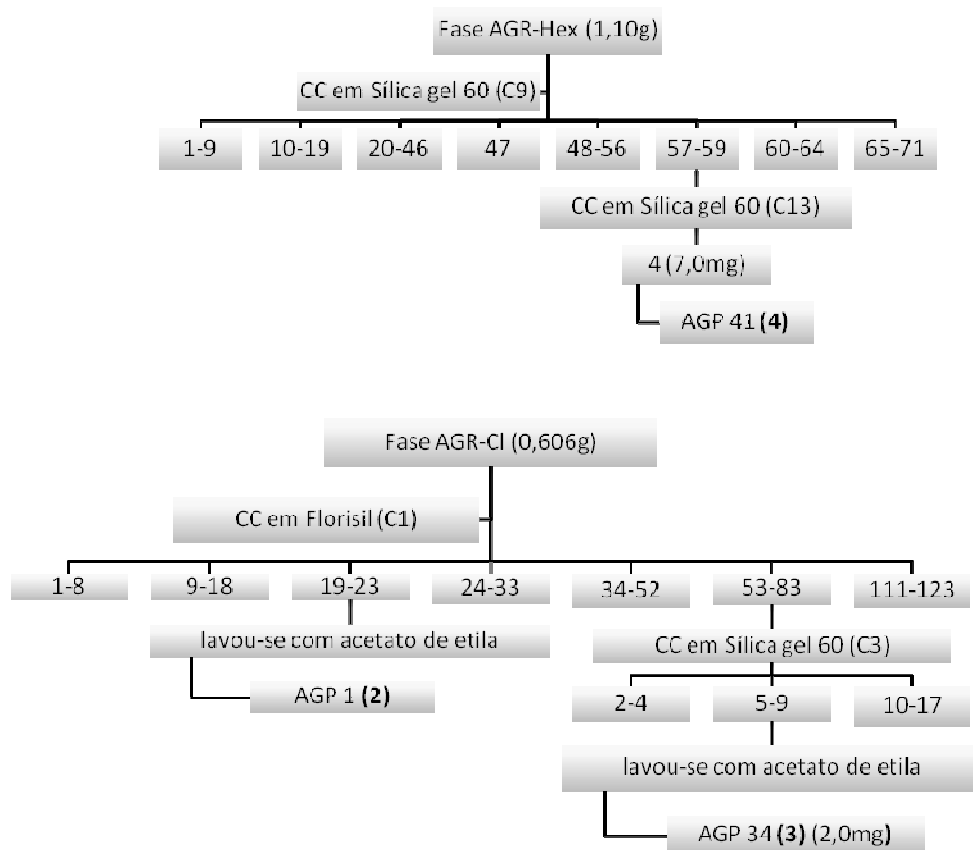


Figura 3. Fluxograma do fracionamento do extrato bruto das raízes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico das raízes e dos frutos de *A. guianensis* resultou até o momento no isolamento dos iridóides gardenosídeo (**1**) e plumericina (**2**), dos esteróides β -sitosterol glicosilado e β -estigmasterol glicosilado, do diterpeno (**4**), de triterpenos pentacíclicos, cujas estruturas estão em fase de elucidação, de um iridóide, cuja estrutura também está em fase de elucidação estrutural, além do reisolamento e identificação do alcalóide ciclopeptídeo amaiouina (**3**), dos esteróides β -sitosterol e β -estigmasterol e do açúcar álcool manitol. Dentre os compostos isolados até o momento, destaca-se o composto **4** por ser inédito na literatura. As estruturas dos compostos 1, 2, 3 e 4 isolados da espécie *A. guianensis* estão representadas na Figura 4.

As estruturas dos compostos isolados foram elucidadas com base nos dados de espectroscopia de infravermelho (IV), dados cristalográficos por difração de raios X de monocristal, ressonância magnética nuclear (RMN 1D e 2D), além da comparação com dados da literatura.

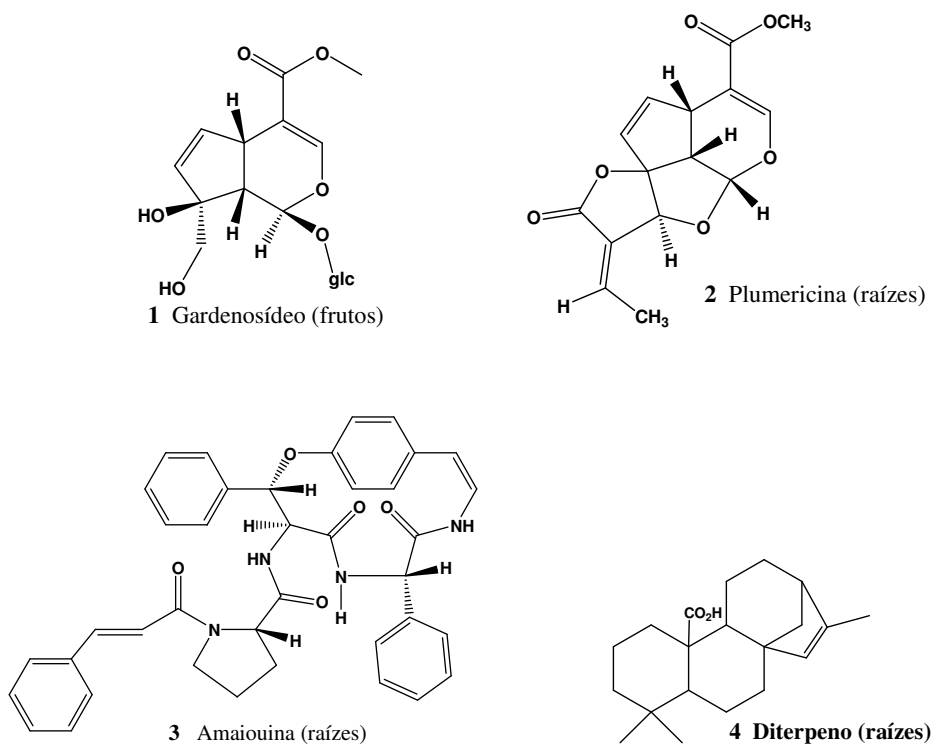


Figura 4. Substâncias isoladas das Raízes e dos Frutos de *A. guianensis*

4.1 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE *A. guianensis*

4.1.1 Gardenosídeo

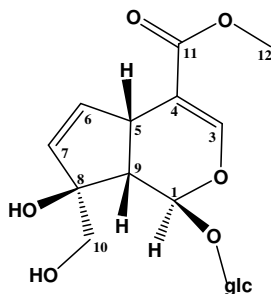


Figura 5. Estrutura do composto 1

O composto **1** foi isolado como óleo amarelo solúvel em mistura de clorofórmio/metanol.

O espectro de **1** no IV apresentou bandas de absorção grupos hidroxilas livres em 3398 cm^{-1} , grupos olefínicos em 1638 cm^{-1} , além de carbonila de éster α,β νσατυραδα em

1710 cm^{-1} . Os dados de RMN uni e bidimensionais evidenciaram a presença de um esqueleto iridoidal caracterizado pelos sinais em $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 7,41 (d, $J= 1,3$ Hz, H3, 1H)/151,9; 5,76 (d, $J= 2,9$ Hz, H1, 1H)/94,5; 5,74 (dd, $J= 1,9$ e 5,7 Hz, H7, 1H)/135,3; 6,18 (dd, $J= 2,7$ e 5,7 Hz, H6, 1H)/136,0; 3,70-3,74 (m, H5, 1 H)/38,8; 2,64 (dd, $J= 2,9$ e 8,4 Hz, H9, 1H)/51,8, além dos sinais em δ_{C} 86,1(C8) e 111,1 (C4). Além do esqueleto iridoidal o conjunto de sinais na região de $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 3,20-3,80 (H2'-H6')/62,5-77,7 em conjunto com o sinal em δ_{H} 4,69 (d, $J= 8,05$ Hz, H1', 1H)/99,7 determinaram a presença da unidade α -D-glicose. Sinais em $\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$ 168,8 (C11) e 3,73 (s; H12, 3H)/51,9 evidenciaram a presença de uma carbonila de éster α,β -insaturada e a presença de um sinal em $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$ 65,7/3,65 (d, $J= 11,2$ Hz, H10a) e 3,30 (d, $J= 11,2$ Hz, H10b) evidenciou a presença de um carbono carbinólico presente na mesma. As conectividades entre as unidades identificadas foram estabelecidas com base na análise dos espectros de HMBC. Pelo espectro de HMBC foi possível verificar a correlação existente entre o hidrogênio metoxílico em δ_{H} 3,73 (s) com o carbono olefínico quaternário em δ_{C} 111,1 (C4) do núcleo iridoidal, confirmando a presença do grupo carboximetila na posição C4, verificou-se também a correlação existente entre os hidrogênios carbinólicos em δ_{H} 3,50 (d) e 3,65 (d) com o carbono quaternário em δ_{C} 86,1 (C8) indicando a conectividade entre o núcleo iridoidal e o carbono carbinólico através da posição C8. Ainda pelo espectro de HMBC verificou-se a correlação existente entre o hidrogênio anomérico H1 em δ_{H} 5,76 (d) com o carbono anomérico C1' em δ_{C} 99,7 confirmando a presença da unidade glicosídica nesta posição.

A estereoquímica relativa para os hidrogênios H1, H5 e H9 foi inferida com base nos valores das constantes de acoplamento de H1(2,6 Hz) e H9 (2,6 e 8,4 Hz). A estereoquímica relativa para o carbono quaternário C8 foi inferida por comparação com dados espectrais de Farid (2002) e Santin (2009) onde mostram que o isômero monotropeína metil éster (galiosídeo) apresenta sinais referentes aos carbonos C6, C7 e C9 em δ_{C} 137,5, 133,7 e 45,4, respectivamente, e que o isômero gardenosídeo apresenta sinais referentes aos carbonos C6, C7 e C9 em δ_{C} 135,8, 135,7 e 51,9, respectivamente.

A análise dos dados obtidos e comparações com dados da literatura (Farid *et. al.*, 2002 e Santin *et. al.*, 2009) permitiram a caracterização da estrutura como sendo o iridóide gardenosídeo. A confirmação da estereoquímica absoluta do composto isolado se dará após obtenção dos dados de rotação específica para o mesmo.

4.1.2 Plumericina

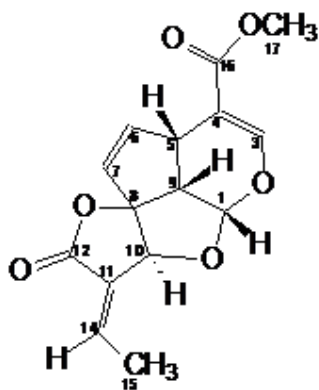


Figura 6. Estrutura do composto 2

O composto **2** foi isolado como cristais incolores solúveis em clorofórmio com PF de 208-210 °C e $[\alpha]_D^{25} + 199^\circ$ (CHCl₃; c 0,0025g/mL).

O espectro de **2** no IV apresentou bandas de absorção de éster e lactona α,β insaturada em 1710 e 1750 cm⁻¹. Os dados de RMN uni e bidimensionais evidenciaram a presença de um esqueleto iridoidal caracterizado pelos sinais em δ_H/δ_C 7,44 (s, H-3, 1H)/152,7; 5,57 (d, $J= 5,9$ Hz, H-1, 1H)/102,3; 5,65 (dd, $J= 2,1$ e 5,5 Hz, H-7, 1H)/126,4; 6,05 (dd, $J= 2,1$ e 5,5 Hz, H-6, 1H)/141,1. Além do esqueleto iridoidal os sinais em δ_H/δ_C 5,11 (sl, H-10, 1H)/80,3; 168,4 (C-12) e 127,4 (C-11), sinais em δ_H/δ_C 7,17 (dq; $J = 1,5$ e 7,2 Hz, H-14, 1H)/145,5; 2,09 (d; $J = 7,4$ Hz, H-15, 3H)/15,9 e sinais em δ_H/δ_C 166,7 (C-16) e 3,77 (s; H-17, 3H)/51,5 evidenciaram a presença de um grupamento lactônico, outro olefinico, além de uma carbonila de éster α,β insaturada, respectivamente. A análise do espectro de HMBC mostrou correlação entre a lactona (C-12) e o hidrogênio H-14 da unidade olefínica, além de correlações entre o carbono acetal (C-1) e o carbono C-8, ambos do esqueleto iridoidal, com o hidrogênio carbinólico H-10 do grupamento lactônico. A correlação entre os hidrogênios H-17 e H-3 com o carbono C-16 pelo espectro de HMBC, confirmaram a presença do grupo carboximetila para posição C-16.

A estereoquímica relativa da substância foi inferida através da análise do espectro de NOESY onde observou-se correlação entre o hidrogênio H-5 e os hidrogênios H-6 e H-9 e correlação entre o hidrogênio H-9 com os hidrogênios H-5 e H-1, sugerindo que todos possuem configuração relativa *cis*. Ainda pelo espectro de NOESY observou-se uma correlação entre o hidrogênio carbinólico H-10 com os hidrogênios metílicos H-15 sugerindo a configuração *trans* para dupla exocíclia ao anel lactônico.

A análise dos dados obtidos e comparações com dados da literatura (Stephens *et. al.*, 2008, Silva *et. al.*, 1998 e Martin *et. al.*, 1985) permitiram a caracterização da estrutura

como sendo o iridóide plumericina. A estrutura da substância e sua estereoquímica relativa foram confirmadas por difração de raios-X de monocristal. O diagrama ORTEP da estrutura cristalina deste composto está representado na figura 7.



Figura 7: Ortep do monocristal do composto 2.

4.1.3 Amaiouina

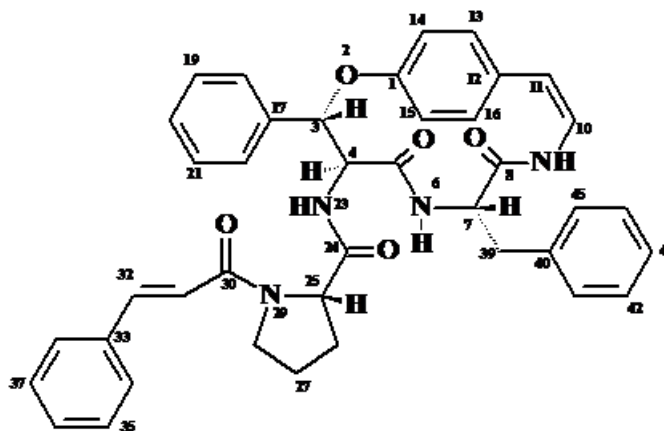


Figura 8. Estrutura do composto 3

O composto AGP 34 (**3**) foi isolado da fração clorofórmica como sólido cristalino incolor na forma de agulhas com PF 248-249 °C, $[\alpha]_D^{25} = -87,67^\circ$ (MeOH; c 1,27). A análise dos espectros de RMN uni e bidimensionais (^1H e HSQC) do mesmo, indicou-o como sendo o alcalóide ciclopeptídeo amaiouina anteriormente isolado das folhas de *A. guianensis* (OLIVEIRA, 2009).

4.1.4 Diterpeno

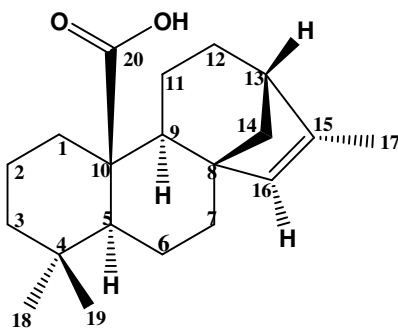


Figura 9. Estrutura do composto **4**

O composto **4** foi isolado como cristais incolores solúveis em mistura de clorofórmio/metanol com PF 188-193 °C, apresentando coloração roxa quando revelado em anisaldeído.

O espectro de **4** no IV apresentou banda de absorção intensa na região de 3354 cm⁻¹ típica do estiramento da ligação O-H, além de uma banda em 1672 cm⁻¹ característica do estiramento da ligação C=O, sugerindo a existência de um grupo –COOH na molécula.

A análise dos espectros de HSQC e HMBC (CDCl₃/MeOD, 500 MHz) evidenciaram a presença de 18 carbonos, sendo um carbonílico (δ 179,8), dois olefínicos (δ 134,8 e 143,5), três metínicos (δ 44,5; 54,0 e 56,5), três metílicos (δ 14,7; 21,7 e 32,6), um carbono quaternário do tipo sp³ (δ 34,1), além de oito carbonos metilênicos (δ 18,4; 19,2; 20,1; 23,0; 38,8; 39,5; 42,3 e 42,5), sugerindo a presença de um esqueleto terpênico para o composto **8**. A análise do espectro de ¹H RMN (CDCl₃/MeOD, 500 MHz) indicou a presença de um hidrogênio olefínico em δ 5,04 (dq, J = 1,3 e 1,6 Hz, H-15), três hidrogênios metínicos em δ 1,00 (dd, J = 2,3 e 12,2 Hz, H-5), 1,32 (d, J = 8,5 Hz, H-9) e 2,23 (m, H-13), nove hidrogênios de metilas em δ 1,69 (d; J = 1,6 Hz, H-17), 0,90 (s, H-18) e 0,82 (s, H-19), além de dezesseis hidrogênios metilênicos entre δ 1,36-2,64. Pelo espectro de HSQC observou-se correlação dos hidrogênios citados acima com carbonos em δ 134,8; 56,6; 54,0; 44,5; 14,7; 32,6; 21,7; 18,4; 19,2; 20,1; 23,0; 38,8; 39,5; 42,3 e 42,5, respectivamente. Através da análise do espectro de HMBC verificou-se correlação entre os hidrogênios metínicos H-5 e H-9 com o sinal referente ao carbono carbonílico em δ 179,8, indicando que o grupo carbonílico está localizado na posição C-20. Ainda pelo espectro de HMBC verificou-se a correlação existente entre os hidrogênios metílicos em δ 1,69 com o carbono olefínico quaternário em δ 143,5, confirmando que esta metila está ligada a posição C-15.

Os cristais obtidos do composto 8 permitiram a obtenção de dados de Raios-X. Os dados cristalográficos obtidos, juntamente com os dados de RMN (uni e bidimensionais) apresentados, permitiram a identificação estrutural e a confirmação da estereoquímica relativa do composto 8 como sendo um diterpeno do tipo caurano cuja estrutura ainda não foi descrita na literatura.

O diagrama ORTEP da estrutura cristalina deste composto está representado na figura 10.

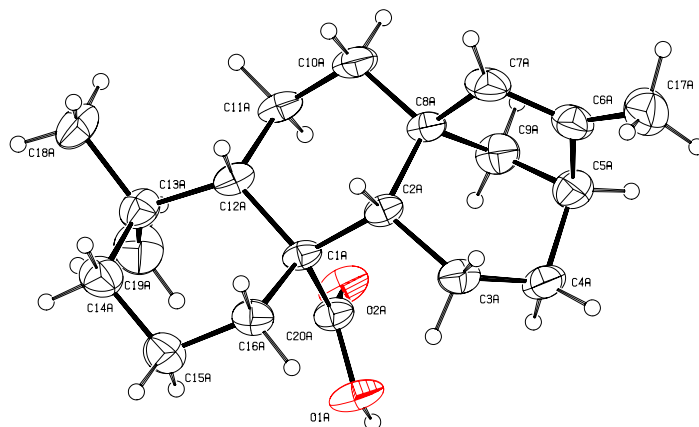


Figura 10: Ortep do monocristal do composto 4.

5 CONCLUSÃO

A continuação do estudo fitoquímico de *Amaioua guianensis* (raízes e frutos) resultou até o momento no isolamento de dois iridóides já descritos anteriormente, gardenosídeo e plumericina, do alcalóide ciclopeptídeo Amaiouina já foi isolado das folhas da mesma, e de um diterpeno do tipo caurano inédito na literatura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOLZANI, V. da S., YOUNG, M. C. M., FURLAN, M., CAVALHEIRO, A. J., ARAÚJO, A. R., SILVA, D. H. S., LOPES, M. N. Recent Res. Devel. **Phytochemistry**. v. 5, p. 19, 2001.

BENABADJI, S. H.; WEN, R.; ZHENG, J-B.; DONG, X-C.; YUAN S-G. Anticarcinogenic and antioxidant activity of diindolylmethane derivatives. **Acta Pharmacol Sin**, v. 25, p. 666-671, 2004.

BREMER, B.; ANDREASEN, K.; OLSSON, D. Subfamilial and tribal relationships in the Rubiaceae based on rbcL sequence data. **Annals of the Missouri Botanic Garden**, v. 82, p. 383-397, 1995.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M.. Constituintes das cascas de *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 36, 2003.

DELPRETE, P. G.; Flora dos estados de Goiás e Tocantins. Gráfica e Editora Vieira. Goiânia, 2010. (*Rubiaceae*, V. 40)

DELPRETE, P.G. Rubiaceae. In: SMITH, N.P. *et al.* Flowering Plant Families of the American Tropics. Ed. Princeton University Press/ New York Botanical Garden Press. p. 328-333, 2004a.

DELPRETE, P. G., SMITH, L. B., KLEIN, R. M. Rubiaceae, Vol. I – Gêneros de A-G: 1. Alseis até 19. Galium. In: A. Reis. (Ed), Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí, SC. 344 p, 2004b.

DELPRETE, P.G. Sinopse dos gêneros de Rubiaceae do Brasil. 49º Congresso Nacional de Botânica (26 Julho - 1 Agosto), Resumos, Salvador, Bahia, p. 85-86, 1998.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 2. ed. s. l: John Wiley & Sons Ltd, 2002.

DRÖGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. **Physiol Ver.** v. 82, 47-95, 2002.

FARID, H. A. R.; KUNERT, O.; HASLINGER, E.; SEGER, C. Isolation and structure elucidation of iridóides and coumarin derivatives from *Xeromphis nilotica* (Rubiaceae). **Monatshefte für Chemie**. v. 133, p. 1453-1458, 2002.

JUNGES, M. J.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, M. F. G. S.; FILHO, E. R.; FRUHAUF, M.; BARAÑANO, A. G. Triterpenos Ursânicos e Oleanânicos Isolados do Caule de *Eugenia Florida* DC. **Revista de Pesquisa e Pós-Graduação**, Erechim, RS, Brasil, v. 01, p. 13-30, 2000.

KOLEVA, II.; van BEEK, T.; LINSSEN, J. P.; de GROOT, A.; EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemistry. Anal* 13: 8-17, 2002.

LING, S-K.; LOMORITA, A.; TANAKA, T.; FUJIOKA, T.; MIHASHI, K.; KOUNO, I. Iridoids and Anthraquinones from the Malaysian Medicinal Plant, *Saprosma scortechinii* (Rubiaceae). **Chem. Pharm. Bull.** v. 50, n. 8, p. 1035-1040, 2002.

LUCIANO, J. H. S.; LIMA, M. A. S.; SIQUEIRA, E. R. Antifungal iridoids, Triterpenes and Phenol compounds from *Alibertia myrciifolia* Sprunge ex. Schum. **Química Nova.** v. 33. n. 2, 292-294, 2010.

LUCIANO, J. H. S.; LIMA, M. A. S.; SOUZA, E. B.; SILVEIRA, E. R. Chemical constituents of *Alibertia myrciifolia* Spruce ex K. Schum. **Biochemical systematics and ecology.** v. 32, p. 1227-1229, 2004.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features. **Phytochemistry**, v 37, p. 1517-1575, 1994.

MARTIN, G. E., SANDUJA, R., ALAM, M. Two-Dimensional NMR Studies of Marine Natural Products. Utilization of Two-Dimensional Proton Double Quantum Coherence NMR Spectroscopy in Natural Products Structure Elucidation-Determination of Long-Range Couplings in Plumericin. **J. Org. Chem.** v. 50, 1985.

MOURA, V. M.; SANTOS, D. P.; SANTIN, S. M. O. Constituintes químicos de *Galianthe brasiliensis* (Rubiaceae). **Química Nova.** v. 29, n. 3, p. 452-455, 2006.

OLIVEIRA, P. L. **Contribuição ao estudo de espécies da família Rubiaceae: Fitoquímica da espécie *Amaioua guianensis* Aulb.** Goiânia: UFG, 2009. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, 2009.

OLIVEIRA, P. R. N. *et al.* Saponinas triterpênicas das raízes de *Guettarda pohliana* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Química Nova** v. 31, n. 4, p. 755-758, 2008.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; PASTORE, G. Evaluation of the Antioxidant Properties of the Brazilian Cerrado Fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **JOURNAL OF FOOD SCIENCE**. v. 71, n. 2, 102-107, 2006.

ROVA, J. H. E.; DELPRETE, P. G.; ANDERSSON, L.; ALBERT, V. A. A *trnL-F* cpDNA sequence study of the Condamineae-Rondeletieae-Sipaneeae complex with implications on the phylogeny of the Rubiaceae. **American Journal of Botany**. v. 89, p. 145-159, 2002.

SANTIN, S. M. O.; de ARAUJO, F. C. V.; MARQUES, F. G. da SILVA, C. C. Terpenos isolados de *Coussarea platyphylla* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Química Nova**. v. 32, p. 1760-1763, 2009.

SANTOS, R. P. *et al.* Chemical constituents of *Cordial piauihensis*- Boraginaceae. **J. Braz. Chem. Soc.** v 16, n. 3B, p. 662-665, 2005.

SILVA, F. M.; KATO, L.; OLIVEIRA, C. M. A.; SILVA, C. C.; TANAKA, C. M. A.; SOARES, P. R. O.; GUILLO, L. A. Vallesiachotamina e atividade citotóxica de *Palicourea rigida* Kunth. 29^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ Águas de Lindóia, SP. 2006. QB-050.

SILVA, J. R. de A.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C. Ésteres triterpênicos de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson. **Química Nova**. v. 21, n. 6, p. 702-704, 1998.

STEPHENS, P. J.; PAN, J. J.; DEVLIN, F. J.; CHEESEMAN, J. R. Determination of the absolute configurations of natural products using TDDFT Optical Rotation Calculations: The Iridoid Oruwacin. **Journal of Natural Products**. v. 71, p. 285-288, 2008.

TADESMIR, D.; GÜNER, N. D.; PEROZZO, R.; BRUN, R.; DÖNMEZ, A. A.; ÇALIS, I.; RÜEDI, P. Anti-protozoal and plasmodial FabI enzyme inhibiting metabolites of *Scrophularia lepidota* roots. **Phytochemistry**.. v. 66, p. 355-362, 2005.

TAKETA, A. T. C. *et al.* Triterpenes and triterpenoidal glycosides from the fruits of *Ilex paraguariensis* (Maté). **J. Braz. Chem. Soc.** v. 15, n. 2, p. 205-211, 2004.