

# Isolamento e identificação de compostos fenólicos em folhas de *Eugenia uniflora*

Carolina de Fatima Reis<sup>2</sup>, Ana Paula da Silva<sup>2</sup>, Sara Santiago Naves<sup>1</sup>, Gilmar Aparecida Corrêa Fortes<sup>1</sup>, Géssica Adriana Vasconcelos<sup>1</sup>, Suzana da Costa Santos<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química, <sup>2</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO  
74001-970, Brasil

E-mail: carolinareis-@hotmail.com, [suzana@quimica.ufg.br](mailto:suzana@quimica.ufg.br)

Palavras-chave: *Eugenia uniflora*, taninos hidrolisáveis, elagitaninos

## 1 INTRODUÇÃO

A espécie *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), conhecida por pitangueira, é caracterizada por árvores de pequeno porte que ocorrem naturalmente nas regiões sul e sudeste do Brasil. O decocto ou infusão das folhas desta espécie são empregados como hipotensor e diurético, assim como no tratamento de problemas digestivos (Henriques et al., 1993). Também são utilizados como adstringente, antipirético e antireumático (Alice et al., 1991). Testes *in vitro* e *in vivo* confirmaram suas atividades farmacológicas, tais como: diurética e antiinflamatória (Schapoval et al., 1994), antidiarreica (Gbolade et al., 1996), hipotensora (Consolini et al., 1999), hipotérmica e antiespasmódica (Amorin et al., 2009), bactericida e citotóxica (Bouzada et al., 2009).

As folhas de *E. uniflora* são ricas em taninos hidrolisáveis, sendo que os elagitaninos macrocíclicos Oenotheina B, Eugeniflorina D1 e Eugeniflorina D2 foram isolados e identificados, como também outros fenóis: 1,2,4,6-tetra-*O*-galoil- $\beta$ -D-glicose, galocatequina, mircetin-3-*O*-ramnoglicosídeo (Lee et al., 1997), mircitrina, quercetina, quercetin-3-*O*-ramnoglicosídeo e antraquinonas (Alice et al., 1991).

O fracionamento biodirecionado do extrato de folhas de *E. uniflora* utilizando a enzima responsável pela replicação do vírus Epstein-Barr, EBV DNA polimerase, mostrou alta atividade inibitória dos elagitaninos eugeniflorina D-1 e D-2 (Lee et al., 2000).

\*Revisado pelo orientador. Carolina F. Reis (orientanda), Suzana C. Santos (orientador) e Gilmar A. C. Fortes, Sara S. Naves, Géssica A. Vasconcelos, Ana P. Silva (colaboradores).

A Oenoteína B apresentou atividade antiviral, inibindo a proliferação do vírus herpes simplex (HSV-1 e HSV-2) em testes realizados *in vitro* (Fukuchi et al., 1989). Vários estudos também mostraram potente atividade antitumoral para Oenoteína B contra Sarcoma 180 em ratos (Wang et al., 1999), diversos tipos de carcinoma (Wang et al., 1999), leucemia (Wang et al., 1999) e hiperplasia de próstata (Kiss et al., 2006). Este mesmo composto inibiu o crescimento de leveduras do fungo sistêmico *Paracoccidioides brasiliensis* em testes *in vitro* (Santos et al., 2007a).

Recentemente, comprovou-se que a atividade antiinflamatória de espécies de *Epilobium* é principalmente devida a presença de Oenoteína B, que inibe as enzimas hialuronidase e mieloperoxidase (Kiss et al., 2010). Na espécie *Epilobium angustifolium* observou-se a atividade imunomodulatória deste composto (Schepetkin et al., 2009).

Os taninos hidrolisáveis são compostos altamente polares que se encontram nas plantas como monômeros e oligômeros polifenólicos. Eles são encontrados em folhas, frutos, casca ou madeira na proporção de até 50% do peso seco. Essas substâncias contribuem para a defesa das plantas contra o ataque de herbívoros e limita o crescimento de microorganismos patogênicos à planta. Vários trabalhos já demonstraram a atividade destas substâncias contra bactérias, fungos, leveduras (Scalbert, 1991).

Os taninos como outros metabólitos secundários variam em sua concentração nas diversas partes da planta. Esta variação está relacionada à biossíntese desses metabólitos secundários, seu destino e utilização dentro da planta. Além disso, também existe diferença de concentração nas diferentes estações do ano, o que depende da época de floração e frutificação de cada espécie e de fatores climáticos. Este fato foi observado para esta espécie, onde taninos hidrolisáveis foram produzidos principalmente nos meses de chuva, ao contrário dos flavonóides que predominaram na época seca (Santos et al., 2011a). Também foi observada correlação entre os teores de compostos fenólicos e a concentração de metais nas folhas (Santos et al., 2007b e 2011b). O estudo da sazonalidade do óleo essencial desta planta também mostrou correlação dos terpenos com os fatores climáticos e com os fenóis (Costa et al., 2009).

Para dar continuidade aos estudos de biossíntese e atividade biológica desta espécie se fazem necessários o isolamento e identificação dos compostos fenólicos majoritários. Estas substâncias puras serão utilizadas como padrões em quantificações e em ensaios biológicos.

## **2 OBJETIVOS**

Realizar o isolamento e elucidção estrutural de taninos hidrolisáveis presentes nas folhas da espécie *E. uniflora*.

## **3 METODOLOGIA**

### **3.1 Preparação do extrato bruto e partição entre solventes**

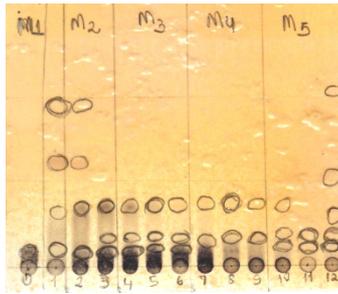
As folhas de *E. uniflora* (1,0 Kg) foram coletadas em Anápolis e foram extraídas com acetona aquosa 50%, a acetona foi evaporada sob vácuo e o extrato aquoso foi filtrado em funil de buchner para eliminação de clorofilas e graxas. Este extrato aquoso foi então liofilizado e obteve-se 174,27 g.

Parte do extrato seco (150 g) foi suspenso em água e submetido à partição com acetato de etila. Gerando assim uma fração acetato de etila (15 g). A fração aquosa resultante, após liofilização, foi solubilizada em metanol, obtendo-se assim duas frações, uma solúvel (81,76 g) e outra insolúvel (39,22 g), que foram separadas por filtração. A fração solúvel em metanol foi evaporada em rotaevaporador (Santos et al., 2007a).

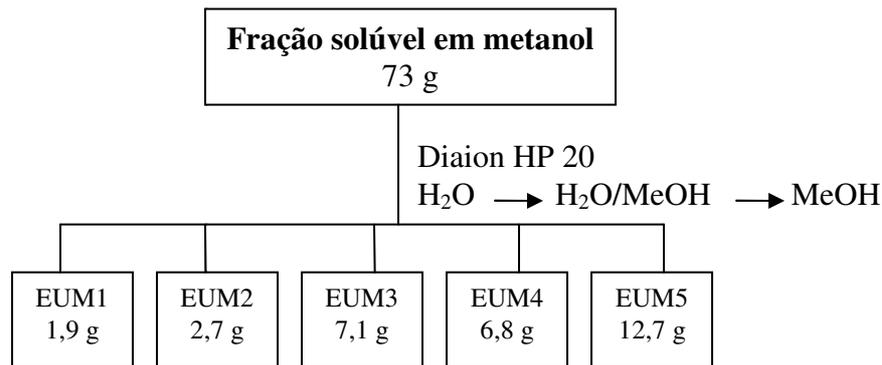
### **3.2 Cromatografia da fração solúvel em metanol**

#### **3.2.1 Cromatografia da fração solúvel em metanol em Diaion HP-20**

A fração solúvel em metanol foi dividida em seis porções (11, 12, 14, 12, 15 e 9g) e cada uma foi submetida à cromatografia em coluna com Diaion HP-20 como adsorvente (coluna de adsorvente 27 x 4 cm). Utilizou-se gradiente de água, água/metanol (20, 40, 60 e 80% metanol) até metanol puro (Esquema 1). Foram coletadas 38 frações em cada coluna, que foram reunidas em cinco frações principais após análise por cromatografia em camada delgada (Figura 1), tendo sílica-gel como adsorvente e ácido fórmico, formiato de etila e tolueno (1:7:1) como eluente e revelação com solução de FeCl<sub>3</sub>/HCl.



**Figura 1.** Cromatografia em camada delgada do fracionamento em Diaion HP-20



**Esquema 1.** Cromatografia em Diaion HP-20 da fração solúvel em metanol

### 3.2.2 Fracionamento das sub-frações solúveis em metanol

As sub-frações EUM3, EUM4 e EUM5 foram submetidas separadamente à cromatografia em coluna com Diaion HP-20 (coluna de adsorvente 27 x 4 cm). Utilizou-se gradiente de água, água/metanol (5, 10, 15 ...50% metanol) e metanol puro. As frações coletadas foram reunidas em frações principais (EUM6 a EUM17) após análise por cromatografia em camada delgada (ccd), com as mesmas condições usadas anteriormente.

Algumas das frações reunidas foram refracionadas através de cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 (coluna de adsorvente 28 x 4 cm), utilizando-se gradiente de água, água/metanol (10, 20, 30 ...90% metanol) e metanol. As frações principais (EUM18 a EUM55) foram reunidas após análise por ccd.

A fração EUM49 (2,3 g) foi refracionada em coluna com Sephadex LH-20 (coluna de adsorvente 28 x 4 cm), utilizando-se gradiente de clorofórmio/etanol, etanol, etanol/metanol (10, 20, 30...90% metanol) e metanol. Foram coletadas 68 frações, que foram reunidas em 10 frações principais (EUM55 a EUM64) após análise por ccd.

### 3.3 Análise espectroscópica das frações puras

As frações mais puras foram analisadas por Ressonância Magnética Nuclear de  $H^1$  e  $C^{13}$ , uni e bidimensional, em equipamento Bruker Avance 500, solubilizadas em acetona- $D_6$ , para algumas amostras foi necessária adição de gotas de  $D_2O$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Extração e fracionamentos

Dando continuidade aos estudos de sazonalidade e atividade biológica que foram realizados previamente com esta espécie de *Eugenia* (Santos et al., 2007a; Santos et al., 2011a), iniciou-se o fracionamento da fração solúvel em metanol (Esquema 1). O gel vinílico polimérico Diaion HP-20 foi escolhido por ser o mais adequado para uma separação mais grosseira de substâncias polares (Okuda *et al.*, 1989), com isso obtivemos cinco frações distintas, usando um gradiente de água para metanol.

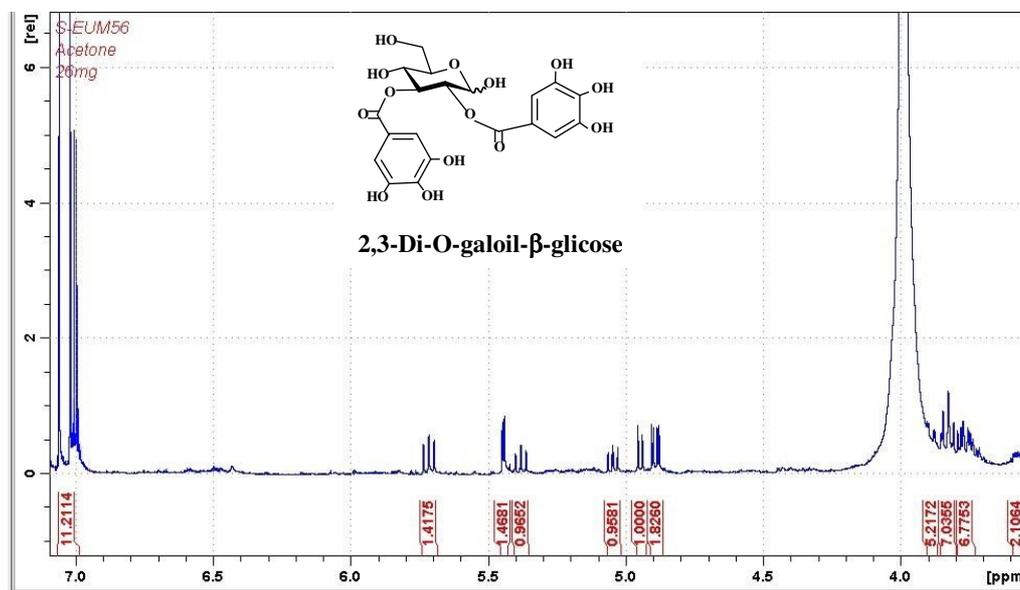
As três frações que apresentaram maior massa, EUM3, EUM4 e EUM5, foram refractionadas, inicialmente com o uso de Diaion HP-20, devido à elevada massa de cada fração. Os refractionamentos seguintes foram realizados com o gel dextrano hidroxipropilado, Sephadex LH-20, que mostrou separações mais eficientes quando um gradiente com aumento de polaridade foi usado, clorofórmio/etanol, etanol e metanol, desta forma o mecanismo de separação é mais por adsorção de substâncias do que por filtração em gel (Okuda *et al.*, 1989). Após os fracionamentos foram obtidas até o momento quatro substâncias puras que foram identificadas por espectroscopia.

### 4.2 Caracterização espectroscópica dos taninos isolados

#### 4.2.1 2,3-Di-O-galoil- $\beta$ -glicose

O galoil éster 2,3-Di-O-galoil- $\beta$ -glicose conhecido como nilocitin foi obtido na fração EUM56 (26 mg), sua estrutura foi determinada através de seus espectros de RMN  $H^1$  e COSY. Este galoil éster foi isolado pela primeira vez de flores da espécie *Tamarix nilotica* (Nawwar *et al.*, 1984).

O 2,3-Di-O-galoil- $\beta$ -glicose existe como uma mistura de anômeros  $\alpha$  e  $\beta$ , pois ele é um hemiacetal, sua hidroxila no C-1 não está esterificada, com isso seu espectro de RMN  $H^1$  é relativamente complexo (Figura 2). Os sinais de prótons foram identificados através do espectro de COSY (Tabela 1).



**Figura 2.** Espectro de RMN  $H^1$  do galoil éster 2,3-Di-O-galoil- $\beta$ -glicose.

**Tabela 1.** 2,3-Di-O-galoil- $\beta$ -glicose - dados de RMN  $H^1$

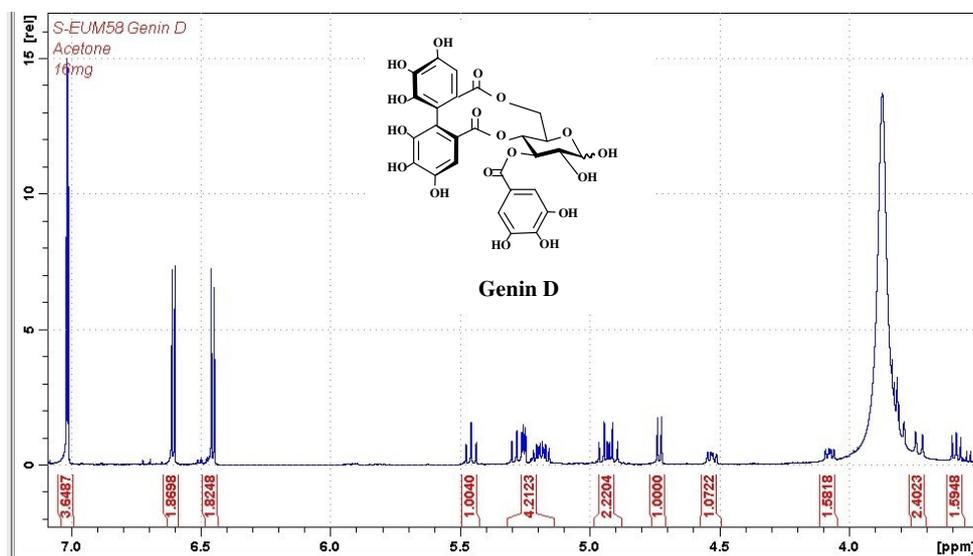
$\delta H^1$		
C/H	$\alpha$ anômero	$\beta$ anômero
1	5,45 d (3,6)	4,95 d (8,1)
2	4,90 dd (3,8; 10,2)	5,05 dd (8,1; 9,5)
3	5,72 dd (9,3; 10)	5,38 t (9,5)
4	3,83 dd (9,5; 10,9)	3,78 t (9,8)
5	3,58 m	3,58 m
6	3,83 dd (2,7; 11,9)	3,89 dd (2,4; 12,2)
6	3,72-3,79 m	3,72-3,79 m
Galoil 2' e 6'	7,02s; 7,06s;	6,99s; 7,00s

Espectro realizado em acetona- $d_6$ . (Constantes de acoplamento em Hz)

#### 4.2.2 Genin D

O elagitanino Genin D (3-O-galoil-4,6-O-(s)-hexahidroxi-fenoil-glicose) foi obtido nas frações EUM48 (204 mg) e EUM58 (207 mg), sua estrutura foi determinada através de seus espectros de RMN  $H^1$ , COSY e HMQC e comparação com dados da literatura (Yoshida *et al.*, 1985). Este elagitanino foi isolado pela primeira vez da espécie *Geum*

*japonicum* e está presente em várias outras espécies que contem taninos hidrolisáveis (Okuda *et al.*, 1993). O Genin D também existe como uma mistura de anômeros  $\alpha$  e  $\beta$ , pois sua hidroxila no C-1 não está esterificada, o que torna seu espectro de RMN  $H^1$  relativamente complexo (Figura 3). Dados de prótons e carbonos se encontram na Tabela 2.



**Figura 3.** Espectro de RMN  $H^1$  do elagitanino Genin D

**Tabela 2.** Genin D - dados de RMN  $H^1$  e  $C^{13}$

C/H	$\delta H^1$		$\delta C^{13}$	
	$\alpha$ anômero	$\beta$ anômero	$\alpha$ anômero	$\beta$ anômero
1	5,26 d (4)	4,73 d (8)	93,5	98,5
2	3,81 dd (4; 9)	3,57 m	71,6	74,0
3	5,48 t (9)	5,30 t (10)	74,2	75,7
4	4,93 t (10)	4,96 t (10)	71,0	71,0
5	4,54 dd (6;10)	4,07 dd (6;10)	66,9	71,5
6	5,20 dd (6; 13)	5,22 dd (6; 13)	63,5	63,5
6	3,73 d (13)	3,79 d (13)	-	-
Galoil 2' e 6'	7,02s	7,01s	109,8	
HHDF 2' e 6'	6,46s, 6,61s	6,45s, 6,62s	107,6; 107,7	

Espectro realizado em acetona- $d_6$  +  $D_2O$ . (Constantes de acoplamento em Hz)

### 4.2.3 Oenothaina B

O elagitanino dimérico Oenothaina B foi obtido nas frações EUM 32 e 33 (massa total 495 mg), sua estrutura foi determinada através de seus espectros de RMN de  $H^1$  e  $C^{13}$  e por comparação com dados da literatura (Santos e Waterman, 2001). Este elagitanino foi isolado pela primeira vez da espécie *Oenothera erythrosepala* e está presente em outras

espécies da família Onagraceae e também em espécies do gênero *Eucalyptus* (Okuda *et al.*, 1993; Santos e Waterman, 2001).

A Oenotheina B é um dímero macrocíclico formado por duas unidades de Tellimagrandina I. Apesar das duas glicoses estarem na forma de hemiacetais, este dímero não existe como uma mistura de  $\alpha$  e  $\beta$  anômeros, devido à rigidez de sua estrutura que favorece apenas um dos anômeros em cada unidade. Esta rigidez também é a causa do espectro de RMN  $H^1$  apresentar alguns sinais alargados, pois a estrutura macrocíclica dificulta a rotação livre das ligações (Figura 4).

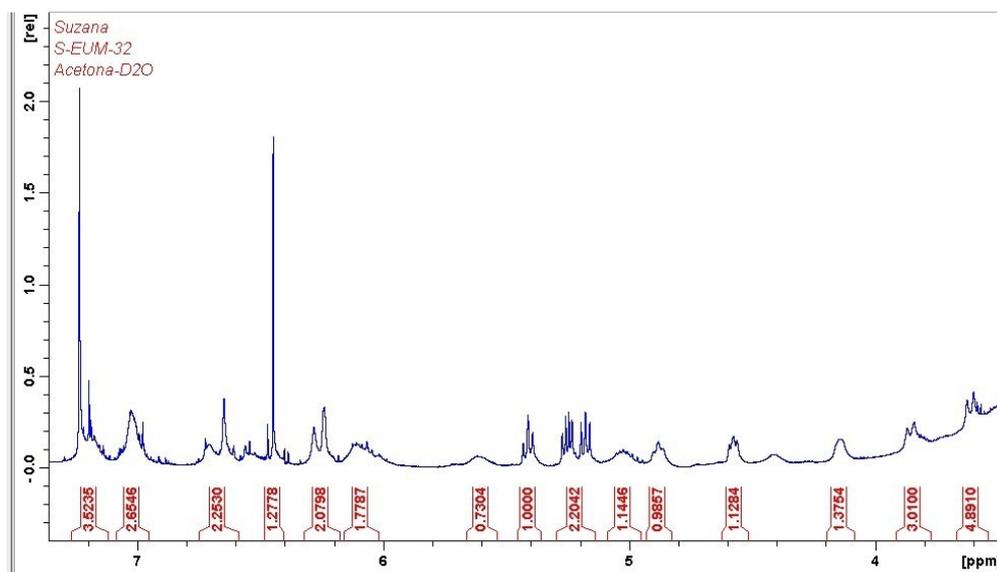
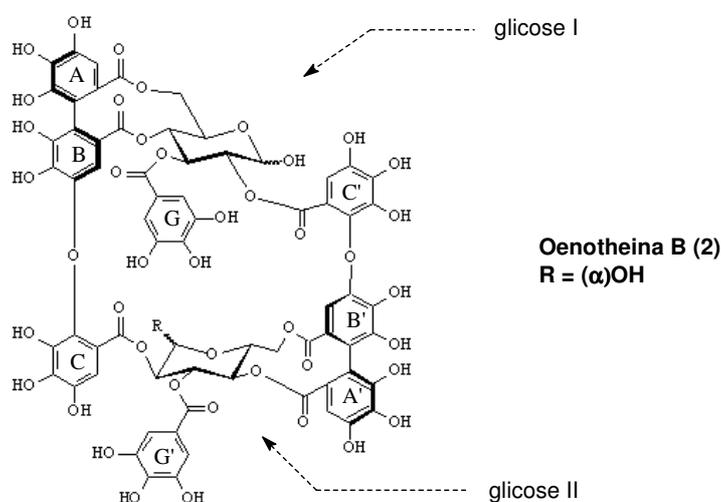


Figura 4. Espectro de RMN  $H^1$  do elagitanino Oenotheina B

Os dados de prótons e carbonos se encontram na Tabela 3 e foram obtidos por comparação com espectros originais.

**Tabela 3.** Oenotheina B - dados de RMN  $H^1$  e  $C^{13}$ 

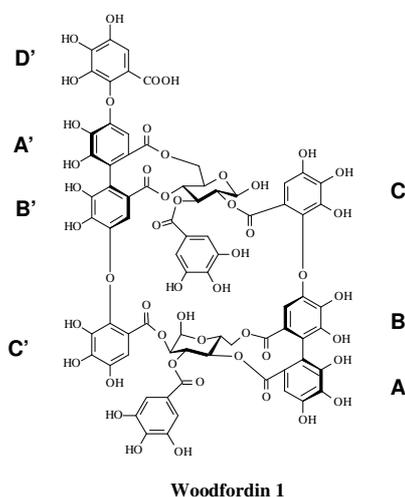
C/H	Glicose I		Glicose II	
	$\delta H^1$	$\delta C^{13}$	$\delta H^1$	$\delta C^{13}$
1	4,41 largo	95,76	6,24 d (3)	91,51
2	5,18 dd (8; 10)	74,81	6,03 largo	74,45
3	5,42 t (10)	73,28	6,11 largo	71,40
4	4,89 t (10)	73,80	5,61 largo	70,53
5	4,15 dd (5; 10)	72,00	4,58 dd (7; 10)	69,07
6	5,02 largo	63,25	5,25 dd (7; 13)	63,25
6	3,86 d (13)	-	3,61 d (13)	-
Anel A e A'	6,65 s	107,75	6,45 s	107,75
Anel B e B'	6,29 s	105,90	6,45 s	106,30
Anel C e C'	7,03 largo	110,29	6,65 s	109,00
Anel G e G'	7,24 s	110,50	7,03 largo	110,29

Espectro realizado em acetona- $d_6$ . (Constantes de acoplamento em Hz)

#### 4.2.4 Woodfordin 1

O elagitanino dimérico Woodfordin 1 foi obtido nas frações EUM63 (242 mg), sua estrutura foi determinada através de seus espectros de RMN de  $H^1$ , COSY, HMQC e HMBC e por comparação com dados da literatura (Yoshida *et al.*, 1992). Este elagitanino foi isolado pela primeira vez de flores da espécie *Woodfordia fruticosa* Kurz (Lythraceae) (Yoshida *et al.*, 1992).

O elagitanino Woodfordin 1 é um dímero macrocíclico tal como a Oenotheina B isolada anteriormente. Da mesma forma como no dímero anterior as duas glicoses também estão na forma de hemiacetais, porém devido à rigidez de sua estrutura apenas um dos anômeros prepondera em cada unidade. Esta rigidez também faz com que alguns sinais se apresentem alargados no espectro de RMN  $H^1$ , pois a estrutura macrocíclica dificulta a rotação livre das ligações (Figura 5).



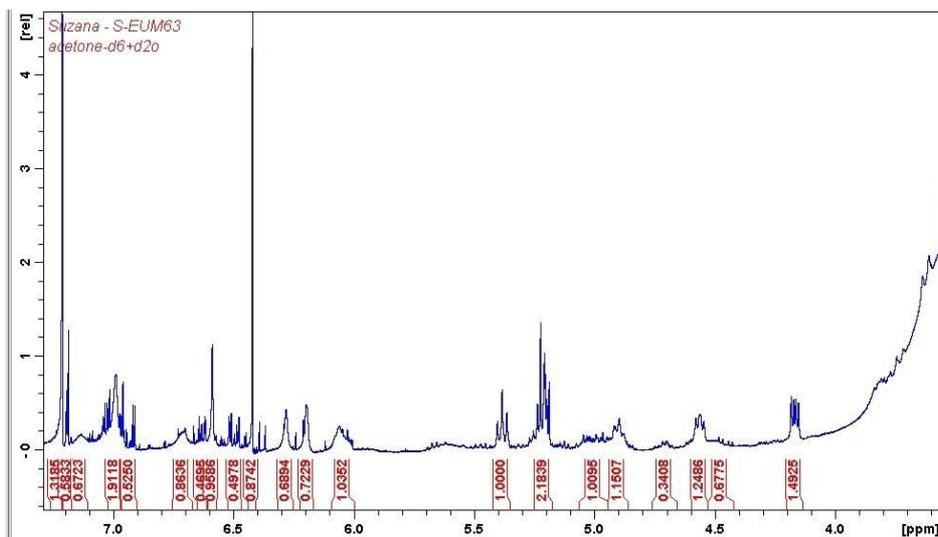


Figura 5. Espectro de RMN  $H^1$  do elagitanino Woodfordin 1

Os dados de prótons e carbonos se encontram na Tabela 4 e foram obtidos por comparação com dados da literatura (Yoshida *et al.*, 1992).

Tabela 4. Woodfordin 1 - dados de RMN  $H^1$  e  $C^{13}$

C/H	Glicose $\alpha$		Glicose $\beta$	
	$\delta H^1$	$\delta C^{13}$	$\delta H^1$	$\delta C^{13}$
1	6,20 largo	91,0	4,49 d (8)	95,5
2	6,02 dd (3,3; 8)	74,5	5,20 dd (8,2; 9)	74,5
3	6,06 largo	71,1	5,38 t (9,7)	73,0
4	5,68 t (9,8)	73,4	4,90 t (8,8)	73,4
5	4,56 dd (6,7; 10)	68,3	4,17 dd (5,3; 10)	71,7
6	5,22 dd (6,5; 13)	63,1	5,03 dd (7; 13)	63,7
6	3,62 d (13)	-	3,74 d (13)	-
Anel A e A'	6,42 s	107,4	6,59 s	107,0
Anel B e B'	6,29 largo	105,5	6,42 s	105,5
Anel C e C'	6,71 largo	108,6	7,19 s	110,1
Anel D'	-	-	7,14 largo	114,2
Anel G e G'	7,22 s	110,4	6,99 largo	110,0

Espectro realizado em acetona- $d_6$  +  $D_2O$ . (Constantes de acoplamento em Hz)

## 5 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi possível o isolamento e identificação de quatro taninos hidrolisáveis, um galoi éster e três elagitaninos. Esses compostos, além de outros que serão purificados de outras frações, serão utilizados para um estudo mais detalhado da sazonalidade

desta planta. Com isso visamos estudar a biossíntese destes compostos fenólicos e sua correlação com fatores ambientais.

## REFERÊNCIAS

Alice, C.B.; Vargas, V.M.F.; Silva, G.A.B.; Siqueira, N.C.S.; Achapoval, E.E.S.; Gleye, J.; Henriques J.A.B.; Henriques A.T. Screening of plants used in south Brazilian folk medicine. *J. Ethnopharmacol.* 35, 165-171, 1991.

Amorim, A.C.L.; Lima, C.K.F.; Hovell, A.M.C.; Miranda, A.L.P.; Rezende, C.M. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) *Phytomedicine* 16, 923-928, 2009.

Bouzada, M.L.M.; Fabri, R.L.; Nogueira, M.; Konno, T.U.P.; Duarte, G.G.; Scio, E. Antibacterial, cytotoxic and phytochemical screening of some traditional medicinal plants in Brazil. *Pharm. Biol.* 47, 44-52, 2009.

Consolini, A.E.; Baldini, O.A.N.; Amat, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. *J. Ethnopharmacol.* 66, 33-39, 1999.

Costa, D.P.; Santos, S.C.; Seraphin, J.C.; Ferri, P.H. Seasonal variability of the essential oils of *Eugenia uniflora* leaves, *J. Braz. Chem. Soc.*, v.20, 1287-1293, 2009.

Fukuchi, K., Sakagami, H., Okuda, T., Hatano, T., Tanuma, S., Kitajima, K., Inoue, Y., Inoue, S, Ichikawa, S., Nonoyama, M.; Konno, K. Inhibition of herpes simplex vírus infection by tannins and related compounds. *Antiviral Res.* 11, 285, 1989.

Gbolade, A.A.; Ilesanmi, O.R.; Aladesanmi, A.J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. *Phytotherapy Research* 10, 613-615, 1996.

Henriques, A.T.; Sobral, M.E.; Cauduro, A.D.; Schapoval, E.E.S.; Bassani, V.L., Lamaty, G.; Menut, C. e Bessiere, J.M. The chemical composition of some *Eugenia* essential oils. *J. Ess. Oil Res.* 5, 501-505, 1993.

Kiss, A.; Kowalski, J.; Melzig, M.F. Effect of *Epilobium angustifolium* L. extracts and polyphenols on cell proliferation and neutral endopeptidase activity in selected cell lines. *Pharmazie* 61, 66-69, 2006.

Kiss, A.K.; Bazytko, A.; Filipek, A.; Granica, S.; Jaszewska, E.; Kiarszys, U.; Kósmider, A.; Piwowarski, J. Oenothein B's contribution to the anti-inflammatory and antioxidant activity of *Epilobium* sp. *Phytomedicine*, 2010.

Lee, M.H.; Nishimoto, S.; Yang, L.L.; Yen, K.Y.; Hatano, T.; Yoshida, T.; Okuda, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimers from *Eugenia uniflora*. *Phytochemistry* 44, 1343-1349, 1997.

Lee, M.H.; Chiou, J.F.; Yen, K.Y. EBV DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*. *Cancer letters* 154, 131-136, 2000.

Nawwar, M. A. M.; Souleman, A. M. A.; Buddrus, J.; Bauer, H.; Linscheid, M. Polyphenolic constituents of the flowers of *Tamarix nilotica*: The structure of nilocitin, a new digalloylglucose. *Tetrahedron Letters* 25(1), 49-52, 1984.

- Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T. New methods of analyzing tannins. *Journal of natural Products*. 52, 1-31, 1989.
- Okuda, T.; Yoshida, T.; Hatano, T. Classification of oligomeric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. *Phytochemistry* 32(3), 507-521, 1993.
- Santos, G.D.; Santos, S.C.; Ferri, P.H.; Soares, C.M.A.; Pereira, M. Oenothien B inhibits the expression of pbFKS1 transcript and induces morphological changes in *Paracoccidioides brasiliensis*. *Medical Mycology* (Oxford), v. 45, p. 609-618, 2007a.
- Santos, R.M. Sazonalidade dos nutrientes minerais e dos fenóis em folhas de *Eugenia uniflora*. Dissertação de mestrado, Faculdade de Farmácia, UFG, 2007b, 44p.
- Santos, R.M.; Oliveira, M.S.; Ferri, P.H.; Santos, S.C. Seasonal variation in the phenol content of *Eugenia uniflora* L. leaves. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 13(1), 85-89, 2011a.
- Santos, R. M.; Fortes, G.A.C.; Ferri, P.H.; Santos, S.C. Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of *Eugenia uniflora* L., Myrtaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2011b, prelo.
- Santos, S.C; Waterman, P.G. Polyphenols from *Eucalyptus consideriana* and *Eucalyptus viminalis*. *Fitoterapia* 72, 95-97, 2001.
- Scalbert, A. Antimicrobial Properties of Tannins, *Phytochemistry* 30, 3875-3883, 1991.
- Schapoal, E.E.S.; Silveira, S.M.; Miranda, M.L.; Alice, C.B.; Henriques, A.T. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. *J. Ethnopharmacol.* 44,137-142, 1994.
- Schepetkin, I.A.; Kirpotina, L.N.; Jakiw, L.; Khlebnikov, A.I.; Blaskovich, C.L.; Jutila, M.A.; Quinn, M.T. Immunomodulatory Activity of Oenothien B Isolated from *Epilobium angustifolium*. *J. Immunology*, doi:10.4049/jimmunol.0901827, 2009.
- Yoshida, T; Maruyama, Y; Memon, MU, Shingu, T.; Okuda, T. Gemins D, E and F, ellagitannins from *Geum japonicum*. *Phytochemistry* 24(5), 1041-104, 1985.
- Yoshida, T.; Chou, T.; Nitta, A.; Okuda, T. Tannins and related polyphenols of Lythraceous plants. III. Hydrolysable tannins oligomers with macrocyclic structures, and accompanying tannins from *Woodfordia fruticosa* Kurz. *Chem. Pharm. Bull.* 40, 2023-2030, 1992.
- Wang, C.C.; Chen, L.G.; Yang, L.L. Antitumor activities of four macrocyclic ellagitannins from *Cuphea hyssopifolia*. *Cancer letters* 140, 195-200, 1999.