

UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO – UNAERP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

“ESTUDO QUÍMICO DE *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC. VISANDO A
DESCOBERTA DE INIBIDORES DA α -GLICOSIDASE”.

RIBEIRÃO PRETO - SP

2015

ANA CAROLINA DUÓ BARTOLOMEU

“ESTUDO QUÍMICO DE *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC. VISANDO A
DESCOBERTA DE INIBIDORES DA α -GLICOSIDASE”.

Dissertação apresentada à Universidade de
Ribeirão Preto - UNAERP, como requisito
para obtenção do grau de Mestre em
Biotecnologia.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Sílvia Helena Taleb Contini

Coorientadora: Prof^ª Dr^ª Ana Maria Soares Pereira

RIBEIRÃO PRETO - SP

2015

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento
Técnico da Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto -

Bartolomeu, Ana Carolina Duó, 1976-

B292e "Estudo químico de *Eugenia punicifolia* (Kunt) DC., visando a
descoberta de inibidores da α -glicosidase" / Ana Carolina Duó

Bartolomeu. - - Ribeirão Preto, 2016.

88 f.: il. color.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Silvia Helena Taleb Contini.

ANA CAROLINA DUÓ BARTOLOMEU

**ESTUDO QUÍMICO DE *EUGENIA PUNICIFOLIA* (KUNTH) DC. VISANDO A
DESCOBERTA DE DROGAS HIPOGLICEMIANTES**


Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto, para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.


Área de Concentração: Biotecnologia Aplicada à Saúde


Data da defesa: 11 de dezembro de 2015

Resultado: Aprovada

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dra. Silvia Helena Taleb Contini
Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP


Prof. Dra. Adriana Aparecida Lopes
Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP


Prof. Dra. Ana Lúcia Fachin Saltoratto
Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

**RIBEIRÃO PRETO - SP
2015**

Dedico este trabalho a meu pai Luiz Edinei Duó (*in memoriam*), à minha mãe, à todos meus irmãos, à meu esposo, ao meu querido filho, e ao meu amigo Degmar Ferro.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me concedido a oportunidade do aprendizado em minha vida

À minha orientadora Prof^a Dr^a Silvia Helena Taleb Contini pela condução deste trabalho

À minha coorientadora Prof^a. Dr^a. Ana Maria Soares Pereira pelo apoio

À Prof^a Dr^a Bianca Waléria Bertoni e a Dr^aJuliana Copede pela colaboração

Às técnicas Sarazet Pereira e Letícia Moreira do laboratório de Química de Produtos Naturais pelo auxílio no trabalho realizado

À bibliotecária Ana Luisa de Oliveira pela cooperação

Aos funcionários da Pós-graduação em Biotecnologia

ÀCAPES/UNAERP/PROSUP pela concessão da bolsa

RESUMO

Diabetes *mellitus* (DM) é uma patologia que se caracteriza por excesso de glicose no sangue. A incidência em 2014 foi de 387 milhões de indivíduos diagnosticados no mundo. Estudos farmacológicos têm demonstrado a eficácia das plantas medicinais como inibidores da α -glicosidase para o controle da glicemia e da lipídemia. Além disso, há relatos de que elementos inorgânicos, associados a uma dieta equilibrada, auxiliam na ação da insulina. *Eugenia punicifolia* (Kunt) DC, conhecida como "pedra-ume-caá", utilizada na medicina popular como hipoglicemiante, é uma das espécies do gênero *Eugenia* que compõe a família Myrtaceae. O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia da droga vegetal e frações de *E. punicifolia*, frente a enzima α -glicosidase. Dentre os resultados, foi constatada, pela primeira vez na espécie, a presença de ácidos graxos saturados: ácido esteárico, ácido hexadecanoico (ácido palmítico); poli-insaturados: ácido linoleico, ácido linolênico, ácido alfa-linoleico; assim como dos esteroides estigmasterol e beta-sitosterol. O trabalho também demonstrou que a espécie acumula ácido gálico em suas estruturas foliares. A fração aquosa apresentou os elementos inorgânicos magnésio (17,7976 mg/g), manganês (0,3481 mg/g), rubídeo (0,0651 mg/g), zinco (0,03771 mg/g), cobre (0,00198 mg/g), níquel (0,015276 mg/g), chumbo (0,00145 mg/g), cobalto (0,000717 mg/g), érbio (0,000056 mg/g), lutécio (0,000002 mg/g) e platina (0,000002 mg/g) em maior concentração. O ensaio *in vitro* mostrou a eficácia da fração aquosa (IC₅₀ 0,00934mg/mL), constituída por substâncias orgânicas e inorgânicas, frente a enzima α -glicosidase, quando comparado com o padrão acarbose (IC₅₀ 1,04933mg/mL).

Palavras Chaves: *Eugenia punicifolia*, inorgânicos, α -glicosidase

ABSTRACT

Diabetes *mellitus* (DM) is a pathology which is characterized by the excess of glucose in the blood. In 2014, 387 million people worldwide were diagnosed with this disease. Pharmacological studies have demonstrated the efficacy of medicinal plants as enzymatic inhibitors of α -glucosidase controlling glycemic and lipidemic. Additionally, studies have proven that inorganic elements associated with a balanced diet, significantly improve the effect of insulin. *Eugenia punicifolia* (Kunt) DC, known as "pedra-ume-caá" is popularly used as hypoglycemic remedy, belongs to the genus *Eugenia*, Myrtaceae family. Thus, the aim of this study was to evaluate the efficacy of plant drug and fractions of *E. punicifolia*, against α -glucosidase enzyme. Obtained results demonstrated the presence of saturated fatty acids, stearic and hexadecanoic acids (palmitic acid); polyunsaturated linoleic acid, linolenic acid and alpha-linoleic acid; as well as the stigmasterol and beta-sitosterol steroids which have not been reported in this species so far. It was also observed that the species accumulates gallic acid in their foliar structures. The aqueous fraction was rich in inorganic elements evidencing high concentration of magnesium (17.7976 mg/g). manganese (0.3481 mg/g). rubídium (0.0651 mg/g). zinc (0.03771 mg/g). copper (0.00198 mg/g). . nickel (0.015276 mg/g). lead (0.00145 mg/g). cobalt (0.000717 mg/g). érbium (0.000056mg/g). lutécium (0.000002 mg/g) and platinum (0.000002 mg/g). In vitro test showed the effectiveness (IC_{50} 0,00934mg/mL) of *E. punicifolia* aqueous fraction, consisting of organic and inorganic substances, against α -glucosidase enzyme when compared to the standard acarbose (IC_{50} 1,04933mg/mL).

Keywords: *Eugenia punicifolia*, inorganic, α -glucosidase

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Estudos Químico, Biológico e Farmacológico de Espécies do Gênero <i>Eugênia</i> ...	7
Tabela 2 Constituintes voláteis identificados do óleo essencial de <i>E. puniceifolia</i>	49
Tabela 3 Quantificação de elementos inorgânicos de <i>E. puniceifolia</i> (mg/g).....	53
Tabela 4 IC50 das frações de <i>E. puniceifolia</i> (mg/mL).....	55

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Estrutura molecular do miglitol, do voglibose, e da acarbose.	3
Figura 2 Estruturas químicas das flavanonas glicosiladas myrciacitrinas I, II, III, IV E V. .	5
Figura 3 Espécime <i>Eugenia punicifolia</i> (Kunth) DC da coleção de plantas medicinais da Unidade de Biotecnologia, UNAERP - Universidade de Ribeirão Preto -SP.	36
Figura 4 Fluxograma da obtenção do extrato bruto hidroalcoólico de <i>E. punicifolia</i>	42
Figura 5 Fluxograma da partição líquido-líquido do extrato bruto hidroalcoólico.	43
Figura 6 Exsicata de <i>E. punicifolia</i>	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DVI	droga vegetal inicial
FH	fração hexânica
FAC	fração acetato de etila
FM	fração metanólica
FAq	fração aquosa
DVF	droga vegetal final

LISTA DE SÍMBOLOS

α	alfa
β	beta
γ	gama
δ	delta
μ	micro Litro
$\lambda_{\text{máx}}$	comprimento de onda máxima no UV

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Diabetes <i>mellitus</i> (DM)	1
1.2 Inibidores da α -glicosidase	2
1.3 Família Myrtaceae e o gênero <i>Eugênia</i>	3
1.4 A espécie <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	36
1.5 Constituintes inorgânicos em plantas hipoglicemiantes	37
2 OBJETIVOS	39
2.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS	39
3 MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1 Coleta do material vegetal de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	40
3.2 Preparo e identificação da exsicata de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	40
3.3 Extração do óleo essencial de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	40
3.3.1 Análise dos Constituintes Voláteis de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	40
3.4 Obtenção e fracionamento do extrato bruto de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	41
3.6 Análise das frações de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC. por CG-EM	44
3.7 Reação de silanização	44
3.8 Análise da fração n-butanólica de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC. por clae-uv	44
3.9 Extração e análise dos constituintes inorgânicos de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunth) DC.	45
3.9.1 Análise Estatística	45
3.10 Ensaio biológico <i>in vitro</i> de inibição da enzima α -glicosidase	45
3.10.1 Preparo das Amostras	46
3.10.2 Preparo das Soluções	46
3.10.3 O Ensaio	46
3.10.4 Análise Estatística	47
4 Resultados e discussão	48
4.2 Análise dos constituintes voláteis.	48
4.3 Análise da fração hexânica de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunt) DC. por CG-EM	50
4.4 Análise da fração AcOEt de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunt) DC. por CG-EM	50
4.5 Análise da fração n-butanólica de <i>Eugenia puniceifolia</i> (Kunt) DC. por CLAE-UV .	51

4.6 Extração em soxleht da droga vegetal de <i>Eugenia punicifolia</i> (Kunt) DC.....	51
4.7 Ensaio <i>in vitro</i> da enzima α -glicosidase.....	55
5 CONCLUSÃO	56
6 ANEXOS.....	57
REFERÊNCIAS.....	79

1 INTRODUÇÃO

1.1 Diabetes *mellitus* (DM)

Diabetes *mellitus* (DM) é uma fisiopatologia que se caracteriza por excesso de glicose no sangue, causada por uma desordem endócrina. Hormônios pancreáticos como a insulina, o glucagon, e a somatostatina em níveis alterados deixam de realizar a homeostase da glicose no plasma (GOLAN et al., 2014).

Dentre todos os tipos de DM existentes, os mais comuns se classificam em tipo 1, o qual não produz insulina, e tipo 2, o qual produz insulina insuficiente. O desenvolvimento de diabetes do tipo 1 é usualmente súbito e dramático; enquanto os sintomas como cansaço, falta de energia, falta de concentração, sede excessiva e emagrecimento podem, muitas vezes, ser leve ou ausente em pessoas com diabetes do tipo 2 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2014; 2015).

Os fatores que mais predispõe o DM tipo 2 são estilo de vida, comportamento emocional do indivíduo e a genética, onde o padrão de expressão de genes pode ser alterado com o stress vivenciado pela mãe durante a gestação (SZYF, 2013; MURGATROYD, 2014; ZIMMET et al, 2014; GUSMÃO, 2015). O DM tipo 2 pode gerar complicações e até desencadear novas patologias como cegueira, ataque cardíaco, falência renal, entre outras (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2014; 2015).

Em 2014, estimava-se haver 387 milhões de pessoas no mundo com DM, já em 2015, 415 milhões eram portadores desta patologia, com projeção de chegar 642 milhões de indivíduos em 2040 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2014; 2015).

Em âmbito mundial, o DM causou 4,5 milhões de mortes no ano de 2014, e o gasto total para os cuidados desses pacientes adultos foi de aproximadamente 612 milhões de dólares (ISER et al, 2015).

A hiperglicemia pode levar à formação de peróxido de hidrogênio, o qual gera espécies reativas de oxigênio. Estas são responsáveis pela peroxidação de lipídeos, resultando no aumento de substâncias causadoras da agregação plaquetária e conseqüente trombose (NEGRI, 2005). Portanto, substâncias com atividade antioxidante promovem ação protetora sobre os danos oxidativos produzidos pelo diabetes.

Segundo Prince et al. (2004), o excesso de lipídeos no sangue está totalmente correlacionado com o DM. A diabetes descontrolada leva à lipemia diabética, a qual é caracterizada pelo acúmulo de colesterol e triglicérides no plasma. Conseqüentemente,

pacientes diabéticos são fortes candidatos a apresentar doenças coronarianas, arteriais e cerebrovasculares (SHOENFELDER et al., 2010).

Visando o tratamento e o controle da taxa de glicemia pós-prandial, muitas associações de medicamentos alopáticos são prescritos para pacientes com diabetes tipo 2, como a insulina exógena (ação hipoglicêmica), o glucagon exógena (ação hiperglicêmica), as sulfoniluréias e meglitinidas (estimulam a produção de insulina), as tiazolidinedionas e biguanidas (intensificam a ação da insulina nos tecidos alvos, por exemplo a metformina), terapia de combinação (metformina com insulina ou com sulfoniluréia), agonistas do GLP-1 e compostos miméticos (exenatida e sitaglepitina), e mais recentemente os inibidores da alfa-glicosidase (acarbose, voglibose e miglitol) (GOLAN et al., 2014; ADISAKWATTANA et al., 2012; DE CASTRO et al., 2015). Porém, efeitos adversos como dor abdominal, diarreia, tontura, nervosismo, cefaléia, náusea, são muito frequentes em pacientes que fazem uso destes medicamentos para o tratamento do DM (GOLAN et al., 2014).

Vale ressaltar que a metformina foi sintetizada a partir da galuteolina, um glicosídeo do vegetal *Galega officinalis*, purificado por Georges Barger (1920-1930) (BARGER and WHITE, 1923; WITTERS, 2001).

Vários estudos têm revelado o efeito hipoglicêmico e hipolipidêmico de substâncias fenólicas oriundas de vegetais, através de diferentes modelos experimentais; sugerindo o forte potencial destas substâncias a serem utilizadas no tratamento do diabetes (BRAHMACHARI, 2011; MALHEIROS et al., 2010).

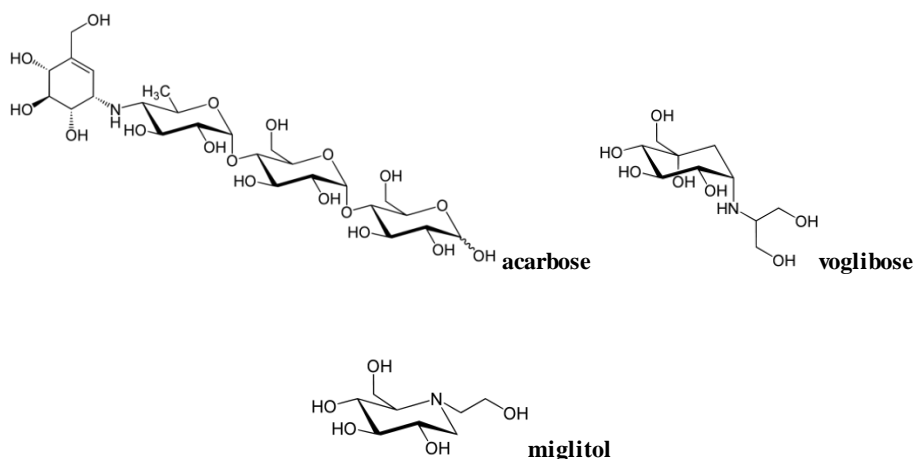
1.2 Inibidores da α -glicosidase

As enzimas α -glicosidases são as responsáveis por disponibilizar a glicose para a absorção no plasma, através da hidrólise de carboidratos complexos (ADISAKWATTANA et al., 2011; KUMAR et al., 2012).

Uma estratégia para o controle da hiperglicemia em paciente com diabetes tipo 2, tem sido o uso de fármacos inibidores das enzimas digestivas α -glicosidase, tais como o miglitol, o voglibose, e a acarbose (Figura 1) (GOLAN et al., 2014; ADISAKWATTANA et al., 2012).

A acarbose é um princípio ativo pseudotetrassacarídeo de origem microbiana, adjuvante da dieta em pacientes com DM tipo 2, sendo considerado um hipoglicemiante quando combinado com exercício físico (GOLAN et al., 2014).

Figura 1 Estrutura molecular do miglitol, do voglibose e da acarbose.



Fonte: GOLAN et al., 2014

No entanto, estes medicamentos causam efeitos adversos como intolerância gastrointestinal, gosto metálico, anorexia, náuseas, distensão abdominal, diarreia (GOLAN et al., 2014; NETO et al., 2105) e riscos cardiovasculares (CHANG et al., 2015).

Assim, vários estudos em todo mundo buscam avaliar a eficácia das plantas medicinais como inibidores da α -glicosidase, para o controle da glicemia e da lipidemia no plasma (ADISAKWATTANA et al., 2011; KUMAR et al., 2012).

1.3 Família Myrtaceae e o gênero *Eugenia*

Conhecida por apresentar espécies vegetais com propriedades medicinais, Myrtaceae está entre as famílias da flora brasileira com significativo interesse econômico para o Brasil. Compreende entre 3800 a 5800 espécies de árvores e arbustos, distribuídas em 121 gêneros, com nítida predominância nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (GRESSLER et al., 2006)

Entre seus vegetais, são encontradas plantas medicinais, ornamentais, produtoras de madeiras e de frutos comestíveis (JORGE et al., 2000). Dentre as inúmeras espécies frutíferas, a goiabeira (*Psidium guajava* L.), a jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* (Mart.)

O. Berg), e a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) destacam-se pelo grande potencial econômico da família Myrtaceae (GRESSLER et al., 2006).

Os gêneros *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Myrcia* e *Myrciaria* contribuem, significativamente, para que Myrtaceae esteja entre as doze principais famílias de plantas aromáticas predominantes na região da Amazônia (MAIA et al., 2009). Dentre as espécies do gênero *Myrcia*, podemos citar *M. bracteata* (Rich.) DC.; *M. citrifolia* (Aubl.) Urb.; *M. cúprea* (Kiaersk.); *M. eximia* DC.; *M. fallax* (Rich.) DC.; *M. multiflora* (Lam.) DC.; *M. poliantha* DC. var. *coriacea* Berg.; *M. speciosa* (Amsh.) Mc Vaugh e *M. sylvatica* (G.Meyer) DC.

As tribos indígenas e comunidades brasileiras utilizam várias espécies de *Eugenia* no tratamento de diabetes, diarreia, redução da pressão arterial, hemorragias, úlcera e como adstringente (CERQUEIRA et al., 2007).

Após detalhada revisão bibliográfica, verificou-se uma grande variação na composição química de espécies vegetais, pertencentes à família Myrtaceae, destacando-se os monoterpenos, sesquiterpenos, flavonóides, taninos, além de substâncias aromáticas e alifáticas (CERQUEIRA et al., 2009; COLE et al., 2008; CERQUEIRA et al., 2007; STEFANELLO et al., 2007; LIMBERGER et al., 2004; HENRIQUES et al., 1997).

Diante disto, estudos químicos voltados à identificação de espécies de Myrtaceae neotropical vêm sendo o foco das investigações de muitos pesquisadores (STEFANELLO et al., 2011).

Segundo Stefanello et al. (2011), o foco das pesquisas científicas realizadas com Myrtaceae foi direcionado ao estudo de substâncias voláteis, com maior número de investigações envolvendo espécies de *Myrcia* e *Eugenia*. Vale ressaltar que, na maioria das vezes, os óleos essenciais foram extraídos das folhas, e que variações sazonais e intra-específica foram muito pouco investigadas. (Tabela 1).

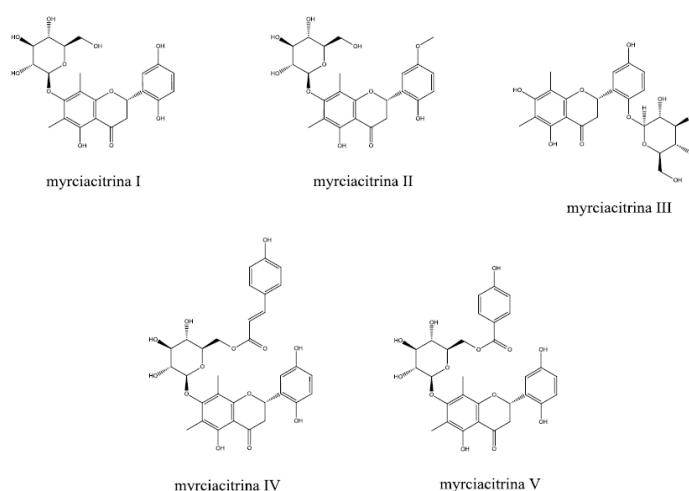
Um estudo realizado com o extrato etanólico da espécie *Myrcia multiflora* (Myrtaceae), resultou na obtenção da acetofenona, 2',4',6'-trihidroxiacetofenona (THA), a qual promoveu efeito hipolipidêmico, atribuído a forte redução na absorção de triglicérides (FERREIRA et al., 2011). O mesmo autor já havia demonstrado a atividade hepatoprotetora desta substância, a qual está correlacionada com sua propriedade antioxidante (FERREIRA et al., 2006).

Ferreira et al. (2006) relataram que os flavonoides glicosilados mearnsitrina e mirciacitrina também isolados de *M. multiflora* apresentaram efeito inibitório *in vitro*,

frente à enzima tiróideperoxidase. Em estudos prévios realizados com estas substâncias, também foi constatado seus efeitos antioxidantes.

As flavanonas glicosiladas myrciacitrinas I, II, III, IV e V (Figura 2); e as acetofenonas myrciafenonas A e B, isoladas e identificadas, durante estudos químicos realizados com as folhas de *M. multiflora* apresentaram atividades antidiabéticas, através da inibição das enzimas aldosedredutase e α -glicosidase (MATSUDA et al., 2002; YOSHIKAWA et al., 1998).

Figura2 Estruturas químicas das flavanonas glicosiladas myrciacitrinas I, II, III, IV E V.



Fonte: MATSUDA et al., 2002

Recentemente, foi demonstrada atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase do óleo volátil de *Eugenia riedeliana* O. Berg. A análise química dos constituintes do óleo detectou o valerianol como composto majoritário (SOUZA et al., 2010).

Os autores Salvador et al. (2011) verificaram que os extratos etanólicos das folhas de *E. pyriformis* Cambess, *M. laruotteana* Cambess e *M. obtecta* (Berg) Kiacsrk, exibiram atividade antioxidante, no ensaio de reação de transferência de elétron (DPPH). A análise cromatográfica empregando a técnica CLAE-UV/DAD, juntamente com as análises de espectrometria de massas (EM) com ionização por elétron spray (ESI), confirmou a presença de substâncias ácidas fenólicas nos extratos etanólicos. Na Tabela 1, estão apresentados os estudos químico, biológico e farmacológico, realizados com espécies do gênero *Eugenia*.

Tabela 1 Estudos Químico, Biológico e Farmacológico de Espécies do Gênero *Eugênia*

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência
<i>Eugenia acapulcensis</i> Steud.	folhas	-	-	disenteria	Bork et al., 1997
<i>Eugenia acutata</i>	folhas	óleo essencial	trans-caryophyllene	-	Nakamura et al., 2010
<i>Eugenia astringens</i> Cambess	folhas	óleo essencial	α - pinene	Citotóxico frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	Santos et al., 2015
			myrcene		
			terpinene		
			terpinen-7-al		
			sesquisabinene hydrate (cis)		
			farnesol (Z,Z)		
farnesol (E,E)					
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	folhas	etanólico	ácido ursólico	-	Frighetto et al., 2005
	folhas	hidroalcoólico (etanol 70%)	-	antiinflamatório	Pietrovski et al., 2008
		fração hexano	-		
		fração AcOEt	-		
		fração diclorometano	-		
	folhas	óleo essencial	quercetin	antiinflamatório (inibidor da enzima COX2)	
folhas	óleo essencial	α -terpineol	-	Magina, 2008	
		acetato de mirtenila			
		isoledeño			
		β -cariofileno			
		aromadendreno			

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	folhas	óleo essencial	α -neo-cloveno α -humuleno aloaromadendreno γ -muuroloeno germacreno D β -cis-guaieno valenceno biciclo germacreno β -trans-guaie no γ -cadineno δ -cadineno trans-calameno cadina-1,4-dieno α -calacoreno espatuleno1 óxido de cariofileno viridiflorol guaiol 1,10-di- <i>epi</i> -cubenol 10- <i>epi</i> -g-eudesmol 1- <i>epi</i> -cubenol τ -cadinol α -muurolol α -cadinol khusinol	-	Magina, 2008

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	folhas	Hidroalcoólico (etanólico)	-	antiinflamatório	Magina, 2008
		fração insolúvel	a-amirina b-amirina betulina	-	
		fração hexano	betulina	-	
		fração diclorometano	betulina 29-hidroxi-oleanólico	-	
		Fração AcOEt	-	antiinflamatório	
		fração AcOEt	quercetina	-	
			galocatequina	-	
			catequina	antiinflamatório	
			3,28-diacetato de betulina	bactericida frente <i>P. aeruginosa</i>	
			ácido betulônico	bactericida frente <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>	
	fração n-butanol	-	antioxidante		
	caule	Hidroalcoólico (etanólico)	-	fungiostático frente <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i>	
	folhas	aquoso	catechin	-	Dametto et al., 2014
			galocatechin	-	
ácido gálico			-		
ácido cafeico			-		
ácido quínico			-		
[<i>epi</i>]catequina			-		
[<i>epi</i>]galocatequina			-		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam	folhas	aquoso	ácido cafeoil- <i>O</i> -glicosídeo	-	Dametto et al., 2014
			quercetina-3- <i>O</i> -ramnosídeo	-	
			[<i>epi</i>]afzelequina-[<i>epi</i>]catequina	-	
			[<i>epi</i>]galocatequina-[<i>epi</i>]catequina	-	
			[<i>epi</i>]galocatequina-[<i>epi</i>]galocatequina	-	
	-	extrato EM1-Fo (metanólico)	-	antiinflamatório (inibidor da enzima COX1 e COX2)	
	-	extrato EM2-Fo (metanólico)	-	antiinflamatório (inibidor da enzima COX1)	
	folhas	-	dissacarídeo	-	
			2-(<i>S</i>)-7,5-di-hidroxi-6-metilflavanona	-	
			2-(<i>S</i>)-7,5-di-hidroxi-6,8-dimetilflavanona	-	
2'-6'-di-hidroxi-3'-metil-4'-metoxi-di-hidrochalcona			-		
(<i>R</i>)-7,8,7',8'-tetra-hidro-8,8'-dimetil-3,3'-dimetoxi-4,4'-di-hidroxi-dibenzociclooctadieno			-		
cianidina-3- <i>O</i> -soforosídeo			-		
delfinidina-3- <i>O</i> -laminaribiosídeo			-		
delfinidina-3- <i>O</i> -galactosídeo			-		
delfinidina-3- <i>O</i> -glicosídeo			-		
cianidina-3- <i>O</i> -galactosídeo	-				

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam	frutos	-	cianidina-3- <i>O</i> -laminaribiosídeo	-	-
			cianidina-3- <i>O</i> -sambubiosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -cafeoil-diglicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -cafeoil-glicosídeo		
			delfinidina-3- <i>O</i> -cumaroil-glicosídeo		
			pelargonidina-3- <i>O</i> -glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -maloil-glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -acetoil-glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -pentosídeo		
	definidina				
	folhas	óleo essencial	-	antibacteriano frente <i>Staphylococcus aureus</i>	
a-pineno			-		
b-pineno					
mirreno					
limoneno					
1,8-cineol					
	terpin-4-ol				
<i>E. beaurepaireana</i>	caule	fração AcOEt	-	Antibacteriana frente <i>Staphylococcus aureus</i>	Menoncin, 2007

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência
<i>E. beaurepaireana</i>	folhas	óleo essencial	-	Bacteriostático frente <i>P. aeruginosa</i>	Magina, 2008
		óleo essencial	α -pineno sabineno α -felandreno <i>o</i> -cimeno limoneno terpinoleno mircenol δ -elemeno α -cubebeno isoleveno α -copaeno β -bourboneno β -elemeno β -gurjuneno β -cariofileno γ -elemeno aromadendreno α -guaieno α - <i>neo</i> -cloveno α -humuleno aloomadendreno β -chamigreno germacreno D	-	

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência
<i>E. beaurepaireana</i>	folhas	óleo essencial	β -cis-guaieno	-	Magina, 2008
			valenceno		
			biciclo germacreno		
			β -trans-guaieno		
			γ -cadineno		
			δ -cadineno		
			cadina-1,4-dieno		
			α -cadineno		
			selina-3,7-(11)-dieno		
			ledol		
			espatulenol		
			viridiflorol		
			guaiol		
			1,10-di- <i>epi</i> -cubenol		
			10- <i>epi</i> - γ -eudesmol		
			1- <i>epi</i> -cubenol		
			τ -cadinol		
cubenol					
7- <i>epi</i> - γ -eudesmol					
Hidroalcoólico (etanol)	-	antioxidante antifúngica frente <i>C. glabrata</i>			
fração aquosa	-	antibacteriana frente <i>S. aureus</i>			
fração insolúvel	a-amirina b-amirina b-sitosterol	-			
frações mais polares das folhas	-	antioxidante			

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência
<i>E. beaurepaireana</i>	folhas	fração AcOEt	ácido gálico	-	Magina, 2008
	caule	Hidroalcoólico (eatnol)	-	Antifúngica frente <i>Cryptococcus neoformans</i>	
		fração aquosa	-	letal frente <i>Artemia salina</i>	
		fração AcOEt	-	letal frente <i>Artemia salina</i> reduzora sobre os íons férricos	
			fração n-butanólica	-	
<i>Eugenia calcyna</i>	frutas	Acetona 70%	teores totais de fenólicos e de taninos condensados	-	Rocha et al, 2011
<i>Eugenia candolleana</i> DC.	folhas	óleo essencial	-	antinociceptiva antiinflamatória	Guimarães et al, 2009
	folhas	óleo essencial	δ-elemene e viridiflorene	-	
<i>Eugenia copacabanensis</i> Kiaersk.	folhas	óleo essencial	epi-cubenol	-	Junior et al., 2014
		metanólico	-	antioxidante	
		fração hexânica	mistura de β-amirina e β-sitosterol	antioxidante	
			betulina	-	
			mistura de sesquiterpenos clovandiol, globulol e viridiflorol	antioxidante	
		ácido ursólico	-		
		ácido 30-hidroxi-ursólico	-		
canferol-3-O-β-D-ramnosídeo	-				

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade farmacológica e biológica	Referência	
<i>Eugenia copacabanensis</i> Kiaersk.	folhas	fração hexânica	quercetina-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> arabinosídeo	-	Junior et al., 2014	
			β -sitosterol glicosilado	-		
			quercetina	-		
	galhos	metanólico	-	antioxidante		
			fração da partição	friedelina		-
			fração da partição	friedelan-3,4-lactona		-
				taraxerol		antioxidante
		misturas dos ésteres cumarato de tetracosanila, cumarato de hexacosanila, cumarato de heptacosanila e cumarato de octacosanila				
<i>Eugenia dysenterica</i> DC	folhas	aquoso (infusão)	-	letal frente <i>Artemia salina</i>	Lima, 2007	
		etanólico	-	antidiarreico [causador de distúrbios eletrolíticos com atividade antibacteriana (<i>escherichia coli</i> e <i>staphylococcus aureus</i>) indireta]		
				letal frente <i>Artemia salina</i>		
	frutos	cloreto de sódio (NaCl)	polpa in natura	aumenta a motilidade intestinal		
			fração proteica 7 kDa	-		
	frutas	metanólico	teores totais de fenólicos e de taninos condensados	-	Rocha et al., 2011	
	folhas	aquoso	-	inibição frente α -amilase	Souza, 2011	
etanólico		-	inibição frente α -amilase e tirosinase			

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia dysenterica</i> DC.	folhas	hidroalcoólico (etanol)	-	antioxidante	Marcelino, 2013
	frutos	hidroalcoólico (etanol)	concentrações totais de fenóis flavonóides, taninos, glicídios, antocianinas e ácido ascórbico.	antioxidante	Angella, 2014
	folhas	aquoso	-	inibidor da α -amilase	Zorzin, 2014
<i>Eugenia edulis</i>	folhas	hidroalcoólico	gossypetin-3,8-dimethyl ether-5- <i>O</i> - β -glucopyranoside	-	Hussein et al., 2003
			gossypetin-3,5,-dimethyl ether		
			myricetin-3,5,3'-trimethyl ether		
<i>Eugenia involucrata</i>	sementes	metanólico	-	Gastroprotetor e antiúlcera	Rosa, 2013
	folhas	Aquoso (infusão)	-	Antioxidante e antiinflamatório	Dametto, 2014
	folhas	Aquoso (infusão)	ácido gálico	-	
			ácido cafeico		
			ácido quínico		
			[<i>epi</i>]catequina		
			[<i>epi</i>]galocatequina		
			ácido cafeoil- <i>O</i> -glicosídeo		
			quercetina-3- <i>O</i> -ramnosídeo		
			[<i>epi</i>]afzelequina-[<i>epi</i>]catequina		
[<i>epi</i>]galocatequina-[<i>epi</i>]catequina					
[<i>epi</i>]galocatequina-[<i>epi</i>]galocatequina					
frutos	aquoso	cianidina-3- <i>O</i> -soforosídeo	-		
		delfinidina-3- <i>O</i> -laminaribiosídeo			

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia involucrata</i>	frutos	aquoso	delfinidina-3- <i>O</i> -galactosídeo	-	Dametto, 2014
			delfinidina-3- <i>O</i> glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -galactosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -laminaribiosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -sambubiosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -cafeoil-diglicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -cafeoil-glicosídeo		
		-	delfinidina-3- <i>O</i> -cumaroil-glicosídeo		
			pelargonidina-3- <i>O</i> -glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -maloil-glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -acetoil-glicosídeo		
			cianidina-3- <i>O</i> -pentosídeo		
			definidina		
<i>Eugenia jambolana</i>	folhas	metanólico	mearnsetin 3- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -acetyl- α -L- ¹ C ₄ rhamnopyranoside	-	Mahmoud et al., 2001
			myricetin 3- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -acetyl-2''- <i>O</i> -galloyl) α -L- ¹ C ₄ -rhamnopyranoside		
			ácido gálico		
			methhylgallate		
			kaempferol		
			myricetin		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia jambolana</i>	folhas	metanólico	ellagic acid 7, 3- <i>O</i> -methylellagic acid	-	Mahmoud et al., 2001
			myricetin 3- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -acetyl α -L-rhamnopyranoside	-	
			myricetin 4'-methyl ether 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside	-	
			myricetin	-	
			chlorogenic acid	-	
			quercetrin 4''- <i>O</i> -acetate	-	
			quercetin 3- <i>O</i> - α -L-rhamnopyranoside	-	
			kaempferol 3- <i>O</i> - β -D-glucuronopyranoside	-	
			myricetin 3- <i>O</i> - β -D-glucuronopyranoside	-	
			ellagitannin	-	
			nilocitin	-	
folhas	Metanólico (1% HCL)			antioxidante, quimiopreventiva, antimalárica, antifúngica (<i>Candida parapsilosis</i>) e anticolinesterásica	Dametto, 2010
	fração hexânica		acetato de β -amirina	-	
			α -amirinona		
			germaniconona		
	campesterol				

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia jambolana</i>	frutos	Metanólico (1% HCL)	delfinidina-diglicosídeo	antioxidante, quimiopreventiva, antimalárica, antifúngica (<i>Candida parapsilosis</i>) e anticolinesterásica	Dametto, 2010
			cianidina-diglicosídeo	-	
		metanólico (1% HCL)	petunidinadiglicosídeo	-	
			cianidina-glicosídeo		
			petunidina-diglicosídeo		
		fração hidroalcoólica	malvidina-3-O-gentiobiosídeo		
		fração AcOEt			
		n-butanólico			
		fração hexânica			
			α -amirina		
			taraxerol		
			lupenona		
			α -amirinona		
	β -amirinona				
	campesterol				
	stigmasterol				
folhas	etanólico	-	atividade antiepimastigota de <i>Trypanosoma cruzi</i> e citotóxica	Santos, 2011	
	etanólico + Metronidazol	-	potencializador do seu efeito antifúngico frente <i>Candida albicans</i>		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia jambolana</i>	folhas	etanólico	-	Quimiopreventivo em hepatocarcinoma (indução da atividade da enzima quinona-redutase)	Augustoni, 2012
<i>E. macrosperma</i>	cascas	etanólico	-	moluscicida	Oliveira, 2006
		fração AcOEt	miricetina	-	
			mearnsetina	-	
	cascas	etanólico	-	-	Cavaglieri, 2012
		fração AcOEt	-	antioxidante	
fração hexânica		teores totais de fenólicos, flavonoides e taninos	-		
fração AcOEt					
Fração clorofômica					
<i>Eugenia malaccensis</i> L.	folhas	fração AcOEt	ácido gálico	-	Santos, 2013
	cascas do caule	etanólico	-	moluscicida	
		fração C ₆ H ₁₄	3-acetil ursólico	-	
	folhas	etanólico	-	Inibidor da catepsina V	
		fração AcOEt	mearnsetina	-	
			mearnsitrina		
<i>Eugenia protenta</i> McVaugh	folhas	voláteis	dimethylxanthoxylin	-	Zoghbi, 2011
			selin-11-en-4 α -ol		
			β -elemene		
			germacrene D		
			bicyclgermacrene		
			δ -cadinene		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia punicifolia</i> Kunt DC	folhas	óleo essencial	α -pineno	-	Oliveira et al., 2005
			β -pineno		
			1,8-cineol		
			<i>cis</i> -óxido de linalol		
			<i>trans</i> -óxido de linalol		
			linalol		
			isoborneol		
			terpinen-4-ol		
			α -terpinol		
			geraniato de metila		
			δ -cubebeno		
			β -elemeno		
			β -cariofileno		
			aromadendreno		
germacreno B					
elemol					
α -cadinol					
-	diclorometano	-	antiinflamatório	Leite et al., 2010	
frutas	acetona 70%	teores fenólicos totais e taninos condensados	-	Rocha et al., 2011	
folhas	diclorometano	-	aumento dos neurotransmissores colinérgicos	Pascual et al., 2012	
folhas	aquoso	-	inibidor da α -amylase, α -glucosidase, e xanthine oxidase	Galeno et al., 2013	
folhas	hidroalcoólico	kaempferol-3-O-rhamnoside	-	Sales et al., 2014	
		myricetin-3-O-rhamnoside	-		
		quercetin-3-O-galactoside	-		
		quercetin-3-O-xyloside	-		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia punicifolia</i> Kunt DC.	folhas	hidroalcoólico	quercetin-3-O-rhamnoside	-	Sales et al., 2014
		fração Hexânica	phytol	-	
		fração AcOEt	gallic acid	-	
		óleo essencial	trans-caryophyllene	-	
	material vegetal	-	-	adjuvante no tratamento do diabetes	
<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess.	casca	óleo essencial	-	bacteriostática frente <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Stieven et al., 2009
	casca com polpa		-		
	sementes		-		
	casca	etanólico	-	bacteriostática frente <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	
	casca com polpa		-		
	sementes		-	bacteriostática frente <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	
	casca	aquoso	-	bacteriostática frente <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	
	casca com polpa		-		
	sementes		-	bacteriostática frente <i>Enterococcus faecalis</i>	
	folhas	hidroalcoólico	-	antimicrobiano frente <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	Armstrong, 2011

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess.	folhas	hidroalcoólico	-	inibitório frente a <i>S. aureus</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	Armstrong, 2011
			glicosídeos flavônicos e esteroides e/ou triterpenoides	-	
			β -amirina	-	
			derivados porfirínicos feofitina <i>a</i> e feofitina <i>b</i>	-	
		fração clorofórmica	-	tóxica frente <i>Artemia salina</i>	
		fração AcOEt	-	antioxidante	
			-	tóxica frente <i>Artemia salina</i>	
	-		inibidor de crescimento frente a <i>S. aureus</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>		
	acetônico	-	bactericida frente <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>		
	caule	etanólico	-	inibidor de crescimento frente <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	
Fração hexânica			-	tóxica frente <i>Artemia salina</i>	
fração AcOEt			-		
fração hidroalcoólica		-			

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess	caule	acetônico	-	bactericida frente <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	Armstrong, 2011
	-	diclorometano	-	aumenta a neurotransmissão colinérgica (por liberação de catecolaminas)	Pascual et al, 2012
	folhas	etanólico	-	antimicrobiano frente <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Candida parapsilosis</i>	Souza, 2013
		fração AcOEt	-		
		acetônico	-		
		fração hexânica	-	antimicrobiano frente <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Candida albicans</i>	
		fração clorofórmica	-	antimicrobiano frente <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i>	
fração hidroalcoólica	-	antimicrobiano frente <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>			

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess	caule	etanólico	-	inibidor de crescimento frente <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Candida parapsilosis</i>	Souza, 2013
		acetônico			
		fração hexânica	-	inibidor de crescimento frente <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	
		fração clorofórmica			
		Fração AcOEt	-	inibidor de crescimento frente <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i>	
	caule	fração hidroalcoólica	-	inibidor de crescimento frente <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i>	
		fração hidroalcoólica + Vancomicina	-	Sinergismo frente <i>Enterococcus faecalis</i>	
		fração acetônica	feofitina <i>a</i>	antimicrobiano frente <i>Enterococcus faecalis</i>	
			feofitina <i>b</i>	-	
		fração metanólica	β -amirina		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia racemulosa</i> O. Berg	folhas	óleo essencial	limoneno	-	Senna et al., 2008
			(Z)-cariofileno		
			(E)-cariofileno		
			germacreno D		
			ledeno (viridifloreno)		
			lepidozeno		
			γ-elemeno		
			α-muuronele no		
			δ-cadineno		
			γ-selineno		
			espatulenol		
α-cadinol (majoritário 84,89%)					
<i>Eugenia riedeliana</i> O. Berg	folhas	óleo essencial	-	Inibidor da acetilcolinesterase	Souza et al., 2009
			α-pinene		
			α-cubebene		
			β-caryophyllene		
			α-humulene		
			allo-aromadendrene		
			aristolochene		
			β-selinene		
			α-selinene		
			γ-cadinene		
			δ-cadinene		
			β-sesquiphellandrene		
			α-calacorene		
selina-3,7(11)-diene					

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia riedeliana</i> O. Berg	folhas	óleo essencial	caryophyllene alcohol	-	Souza et al., 2009
			trans- sesquisabinene hydrate		
			caryophyllene oxide		
			5-epi-7-epi- α -eudesmol		
			10-epi- γ -eudesmol		
			α -muurolol		
			cubenol		
			β -eudesmol		
			valerianol (majoritário 28, 01%)		
			selin-7(11)-en-4-ol		
			6,10,14-trimetil-2-pentadecanone		
<i>Eugenia sandwicensis</i>	caules	metanólico	-	Potencial atividade inibitória frente as cultura orgânica de células mamárias	Gu et al., 2001
			3 β - <i>cis-p</i> -Coumaroyloxy-2 α ,23-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid	antioxidante	
			3 β - <i>trans-p</i> -Coumaroyloxy-2 α ,23-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid	-	
			23- <i>trans-p</i> -coumaroyloxy-2 α ,3 β -dihydroxyolean-12-en-28-oic acid	-	
			ácido gálico		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia sulcata</i> Spring ex Mart	folhas	óleo essencial	-	Bacteriostática frente <i>Staphylococcus aureus</i> Inseticida frente <i>Oncopeltus fasciatus</i> , <i>Dydercus peruvianus</i> e <i>Rhodnius prolixus</i> inibidor da acetilcolinesterase hipotensor da pressão sistólica e diastólica e também da frequência cardíaca Antiviral frente ao herpes vírus HSV-1 e HSV-2	Lima, 2012
			α-pineno	-	
			β-pineno		
			Mirceno		
			Limoneno		
			1,8-cineol		
			α-terpinol		
			α-cubebeno		
			α-copaeno		
			β-capaeno		
			β-cariofileno (majoritário 24,65%)		
			cis-muuro-la-3,5-dieno		
			α-humuleno		
			cis-muuro-la-4(14),5-dieno		
			germacreno-D		
			γ-himachaleno		
			β-selineno		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia sulcata</i> Spring ex Mart	folhas	óleo essencial	epizonareno γ -cadineno trans-calameneno trans-cadina-1,4-dieno spathuleno l óxido de cariofileno	-	Lima, 2012
	caule	óleo essencial	- α -pineno β -pineno linalool α -terpineol α -cubebeno α -copaeno β -elemeno β -copaeno cis-muuro la-3,5-dieno α -humuleno allo-aromadrendeno dauca-5,8-dieno β -cariofileno (majoritário 18,78%) germacreno D γ -himachaleno β -selineno α -amorpheno epizonareno γ -cadineno trans-calameneno	-	

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia sulcata</i> Spring ex Mart	caule	óleo essencial	trans-cadina-1,4-dieno	-	Lima, 2012
			spathulenol		
			óxido de cariofileno		
			globulol		
			viridiflorol		
			epi-1-eubebol		
			ácido canfórico		
			epi- α -cadinol		
			α -cadinol		
			selin-11-en-4- α -ol		
			<i>n</i> -alcano		
			<i>n</i> -tetradecanol		
	<i>n</i> -tricosano				
<i>n</i> -henecosano					
folhas	hexânico	ácido ursólico	-	-	
		ácido sumaresinólico	-		
<i>Eugenia umbeliflora</i> Berg	folhas	metanólico	-	Antibacteriano frente <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> e <i>Streptococcus agalactiae</i>	Machado, 2005
		fração diclorometano	mistura de α e β -amirina		
			mistura de ácido betuínico e betulina		
	frutos	metanólico	-	Antibacteriano frente <i>Staphylococcus aureus</i>	
		fração diclorometano	substancias 4, 5, 6, 7, 8, 9 (não citou o nome das substancias)		
	folhas	hidroalcoólico	-	Antibacteriano frente <i>Staphylococcus aureus</i>	Menoncin, 2007
diclorometânico		-	-		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia umbeliflora</i> Berg.	folhas	óleo essencial	-	antibacteriana frente <i>Staphylococcus aureus</i>	Magina, 2008
			α -tujeno	-	
			α -pineno		
			β -pineno		
			mirceno		
			α -felandreno		
			δ -3-careno		
			α -terpineno		
			<i>o</i> -cimeno		
			limoneno		
			β -felandreno		
			β -(E)-ocimeno		
			γ -terpineno		
			terpinoleno		
			terpin-4-ol		
			α -terpineol		
			α -cubebeno		
			isoleveno		
			α -gurjuneno		
			β -cariofileno		
			β -gurjuneno		
			aromadendreno		
			α -neo-cloveno		
			α -humuleno		
aloaromadendreno					
γ -muuroleno					
β -cis-guaieno					

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificada	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia umbeliflora</i> Berg.	folhas	óleo essencial	valenceno		Magina, 2008
			biciclo germacreno		
			β -trans-Guaieno		
			γ -cadineno		
			δ -cadineno		
			cadina-1,4-dieno		
			germacreno B		
			ledol		
			espatuleno l		
			óxido de cariofileno		
			viridiflorol		
			guaiol		
			1,10-di- <i>epi</i> -cubenol		
			10- <i>epi</i> - γ -eudesmol		
	1- <i>epi</i> -cubenol				
	fração hexânica		cubenol	-	
			α -muurolo l	-	
			α -cadinol	-	
			khusinol	Letal frente <i>Artemia salina</i>	
	caules	diclorometano		-	
			-		
folhas	hidroalcoólico		Antibacteriano frente <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina	Gilioli, 2010	
			Antibacteriano frente <i>Listeria monocytogenes</i>		

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificadas	Atividade biológica e farmacológica	Referência	
<i>Eugenia umbeliflora</i> Berg	folhas	hidroalcoólico	-	Antibacteriano frente <i>Staphylococcus aureus</i>	Gilioli, 2010	
				Antibacteriano frente <i>Staphylococcus epidermidis</i>		
		fração diclorometano	-	Inibidor da germinação em sementes de <i>Lactuca sativa</i>		
				Antibacteriano frente <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina		
		fração hexânica	-	Antibacteriano frente <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina		
		Fração AcOEt	-			
		fração hexânica	uvaol	-		
			eritrodiool	-		
		fração AcOEt	β - sitosterol	-		
			estigmasterol	-		
		fração n-butanol	quercetina	-		
			7 hidroxí- 3', 4' dimetoxiflavanol	-		
		Fração AcOEt e n-butanol após hidrólise ácida	canferol	-		
			eriodictiol	-		
miricetina	-					
quercetina	-					
<i>Eugenia uniflora</i> L.	folhas	aquoso (infusão)	-	Anti-inflamatório	Schapoal et al., 1994	
	folhas	aquoso	-	antihipertensivo	Consoline et al., 1999	
	folhas	acetona 70%	galocatechin			Lee et al., 2000
			oenothéin			
			eugeniflorins D1		Inibidor da polymerase DNA EBV	

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificadas	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia uniflora</i> L.	folhas	Acetona 70%	eugeniflorins D2	Inibidor da polymerase DNA EBV	Lee et al., 2000
	frutas	voláteis/suco	propyl acetate ethyl propionate isobutyl acetate n-butyl acetate 3-methyl butyl acetate α -thujene α -pinene β -pinene 1,5,8-p-menthatriene β -myrcene α -terpinene <i>p</i> -cymene trans-ocimene cis-ocimene trans-b-ocimene k-terpinene <i>p</i> -mentha-1,5,8-triene terpinolene, rosefuran linaloolb β -ocimene allo-ocimene	-	Oliveira et al 2006

Espécie	Parte utilizada	Extrato/fração	Substâncias isolada e ou identificadas	Atividade biológica e farmacológica	Referência
<i>Eugenia uniflora</i> L.	frutas	voláteis/suco	acetophenone	-	Oliveira et al 2006
			β -elemene		
			β -caryophyllene		
			k-elemene		
			germacrene-D		
			curzereneb		
			caryophyllene oxide		
			β -elemenone		
			selina-1,3,7(11)-trien-8-one		
	folhas	óleo essencial	-	antinociceptivo	Amorin et al., 2009
			spathuleno1	-	
			β -elemene		
			γ -elemene		
			globulol		
ledene					
β -caryophyllene					
folhas	fração pentano/metanol	atractylone	-		
		3-furanoeudesmene	-		
folhas	óleo essencial	-	antimicrobiano	Lago et al., 2011	

1.4 A espécie *Eugenia puniceifolia* (KUNTH) DC.

Conhecida como "pedra-ume-caá", é uma das espécies do gênero *Eugenia* que compõe a família Myrtaceae. Apresenta-se, geralmente, em porte arbustivo podendo chegar a quatro metros de altura. Suas flores são brancas e seu frutos ovalados com coloração verde amarelada, e quando maduros chegam a ser totalmente vermelhos (Figura 3). Ocorrem em vários tipos de vegetação como a caatinga (stricto sensu), campinarana, campo rupestre, cerrado (lato sensu), floresta estacional semidecidual, restinga, vegetação sobre afloramentos rochosos. Portanto é uma espécie endêmica, que está presente em quase todos os domínios fitogeográficos do território brasileiro como a Amazônia, Caatinga, Cerrado, e Mata atlântica. (SOBRAL et al., 2015).

O chá de suas folhas, assim como as cápsulas contendo droga vegetal, é utilizado pela população como hipoglicemiante.

Figura3 Espécime *Eugenia puniceifolia* (Kunth) DC da coleção de plantas medicinais da Unidade de Biotecnologia, UNAERP - Universidade de Ribeirão Preto -SP.



Fonte: autora

Recentemente, Sales et al (2014) verificaram uma redução significativa da linha de base sobre a pressão arterial sistólica e diastólica, da hemoglobina glicosilada, da insulina basal, do hormônio estimulante da tireóide (TSH), e sobre a proteína ultrasensível C-reativ (usCRP), em pacientes submetidos ao tratamento com material vegetal de *E. puniceifolia*, reduzindo significativamente a glicemia de jejum de 142 mg/dL para 134 mgdL. Neste mesmo trabalho, foram detectados cinco flavonoides: miricetina-3-*O*-ramnosídeo (miricetina-3-OR), quercetina-3-*O*-galactosídeo (quercetina-3-O-Ga), quercetin-3-*O*-xilósídeo (quercetina-3-OX), quercetina-3-*O*-ramnosídeo (quercetina-3-O-

R), e campferol 3-*O*-ramnosídeo (campferol 3-*O*-R), no extrato metanólico das folhas de *E. puniceifolia*. A análise em GC-MS da fração hexano e da fração acetato de etila mostrou a presença de dois compostos principais: fitol e ácido gálico. Já na análise do óleo essencial o trans-cariofileno foi identificado como componente majoritário.

1.5 Constituintes inorgânicos em plantas hipoglicemiantes

Estudos químicos envolvendo plantas utilizadas na medicina tradicional como hipoglicemiantes têm demonstrado que algumas espécies contêm níveis elevados de constituintes inorgânicos.

Dentre estes constituintes, verificou-se que o cromo desempenha um papel importante no metabolismo de carboidratos e gorduras, ajudando as células do organismo a responder adequadamente à insulina (ANDERSON, 1998; KAR et al., 1999; SUN et al., 2000; VINCENT, 2000; CHOWDHURY et al., 2003; CEFALU; HU, 2004; SHARMA et al., 2011; KWON et al., 2010).

Em 1957, SCHWARZ E MERTS relataram que o cromo era responsável pelo controle de taxas de açúcares no sangue, enquanto que CASTRO (1998) revelou que plantas aromáticas portuguesas, utilizadas no tratamento de diabetes, armazenam quantidades significativas de cromo em suas estruturas.

Segundo Lima et al (2005), a deficiência do íon magnésio é comum em pacientes com diabetes tipo 2, e pode aumentar a resistência periférica à insulina.

No entanto, Barbagallo e Dominguez (2015) relatam que nem todos os pacientes com diabetes tipo 2 possuem deficiência de magnésio, mas que é útil e necessário restaurar a deficiência para prevenir o stress oxidativo, a inflamação sistêmica e, conseqüentemente, a resistência à insulina.

Recentemente, Rotter et al (2015) observaram correlação do nível sérico de magnésio com a deficiência de testosterona total e a desordem metabólica em pacientes homens, entre 50 à 75 anos de idade.

O magnésio é um dos minerais mais abundantes no corpo e tem sido reconhecido como o co-fator responsável por mais de 300 reações enzimáticas. É um elemento indispensável na contração muscular, na condução neuromuscular, nos tônus vasomotores, na excitabilidade cardíaca, e no metabolismo da insulina. Com a deficiência do magnésio, mais conhecida como hipomagnesemia, o indivíduo pode desenvolver doenças crônicas

como o acidente vascular cerebral, a doença de Alzheimer, o DM tipo 2, entre outras (REIS et al., 2002; GRÖBER et al., 2015). Entretanto, Ziniewicz et al. (2015) demonstra que não somente o magnésio, mas como também o cálcio tem relação com desordem metabólica e resistência a insulina.

É importante ressaltar que algumas plantas medicinais têm predisposição em acumular metais pesados constituindo um fator de alto risco para a saúde de quem a utiliza. Dessa forma, análises mais específicas e ensaios clínicos devem ser desenvolvidos como critério de segurança para o seu uso (FREIRE, 2005).

Com base nestas informações, a quantificação dos elementos inorgânicos de *E. puniceifolia* (Kunt) DC contribuirá com os estudos que correlacionam o acúmulo destes minerais, em plantas hipoglicemiantes da família Myrtaceae.

2 OBJETIVOS

Estudo químico de *Eugenia punicifloia* (Kunt) DC, visando à descoberta de inibidores da α -glicosidase.

2.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Coleta do material vegetal (folhas) e preparo da exsicata;
- Obtenção do óleo essencial e análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM);
- Obtenção e partição do extrato bruto hidroalcoólico;
- Análise das frações por CG-EM e por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada ao detector de Ultravioleta (CLAE-UV);
- Quantificação dos constituintes inorgânicos da droga vegetal e das frações obtidas por soxleht.
- Avaliação da eficácia de inibição das frações frente à enzima α -glicosidase.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta do material vegetal de *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC.

Folhas de *E. punicifolia* foram coletadas (2 Kg) em uma população de quatro indivíduos da coleção de plantas medicinais da Unidade de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP, no mês novembro de 2013. A estabilização do material vegetal foi dada em estufa de ar circulante a 45°C após 48 horas.

3.2 Preparo e identificação da exsicata de *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC.

Ramos floridos dos espécimes foram coletados na coleção de plantas medicinais da Unidade de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP, e também no Sítio Irmãs Marie - "Casa Espírita Terra de Ismael" - Distrito de Jurucê - SP para o preparo das exsicatas. Para tanto, as amostras foram prensadas em estrados de madeira contendo folhas de jornal para sua separação, elásticos para amarrações adequadas e inseridas em estufa de ar circulante a 45°C. Após 72 horas, os ramos secos foram retirados da estufa, e fixados em papel cartolina, com ficha de catalogação pré-enchida a lápis. Depois de prontas, as exsicatas foram armazenadas em freezer -80°C durante 72 horas para a eliminação de possíveis patógenos. O descongelamento aconteceu em bancada asséptica com etanol 70% durante 6 horas.

3.3 Extração do óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC.

A extração do óleo essencial foi realizada por arraste a vapor em aparelho Clevenger, adaptado a um balão de fundo redondo, com capacidade de 2.000 mL. Nesse balão foram colocados 40g de folhas dessecadas de *E. punicifolia* em 600 mL de água destilada. O tempo de extração foi de 150 min a 100 °C. Após obtenção do hidrolato (mistura de água mais óleo), retirou-se toda a água das amostras, com o auxílio de uma seringa de vidro, e, posteriormente, os frascos contendo as amostras foram vedados, identificados e mantidos em freezer. até o momento da análise cromatográfica.

3.3.1 Análise dos Constituintes Voláteis de *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC.

A análise dos constituintes químicos presentes no óleo essencial foi realizada por CG-EM, utilizando-se aparelho Varian 3900 com detector seletivo de massa, modelo Saturn 2100T. As condições de análise foram: coluna capilar: DB-5 (30m x 0,25mm x 0,25µm);

temperatura do injetor: 240°C; temperatura do detector: 230°C; impacto de elétrons: 70 eV; gás de arraste: He; fluxo: 1,0 mL/min.; split: 1/20; programa de temperatura: 60°C – 240°C, 3°C/minuto, volume de injeção: 1 µL de solução (1 µL óleo essencial/1 mLAcOEt).

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 62 lib.), e índice de retenção de Kovats (IR). Para a obtenção do IR (ADAMS, 1995), foi utilizada a seguinte fórmula:

$$IR = 100n + 100 \cdot (t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n)$$

Onde:

n= número de carbono do hidrocarboneto eluído antes do pico de interesse

t_x= tempo de retenção da substância a ser analisada

t_n= tempo de retenção da substância eluída antes do pico de interesse

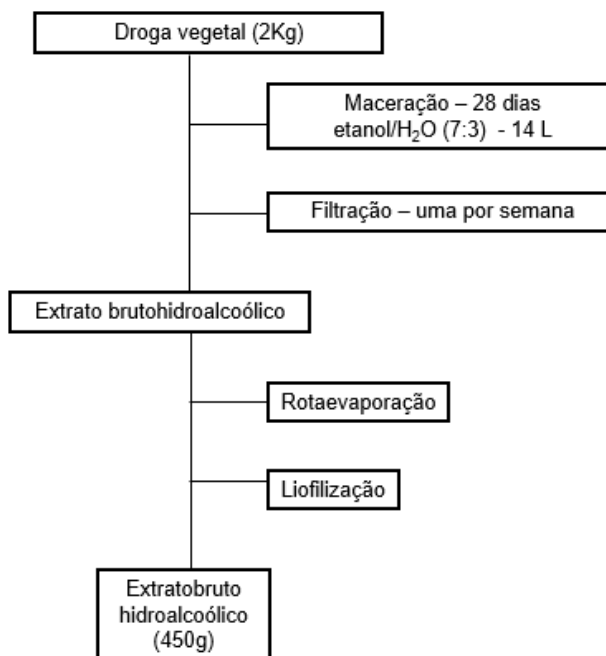
t_{n+1}= tempo de retenção da substância eluída após o pico de interesse

As análises foram realizadas na Unidade de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP.

3.4 Obtenção e fracionamento do extrato bruto de *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC.

Após serem estabilizadas em estufa de ar circulante à temperatura de 45°C, folhas da espécie *E. punicifolia* foram pulverizadas em moinho de faca e teve sua granulometria selecionada à 25 mesh. O pó seco (2 Kg) passou pelo processo de maceração exaustiva à temperatura ambiente, utilizando-se etanol/H₂O (7:3) como solvente extrator, durante 28 dias, sendo filtrado uma vez por semana. Em seguida, os extratos resultantes das quatro macerações foram filtrados, rotaevaporados, congelados e liofilizados (Figura 4).

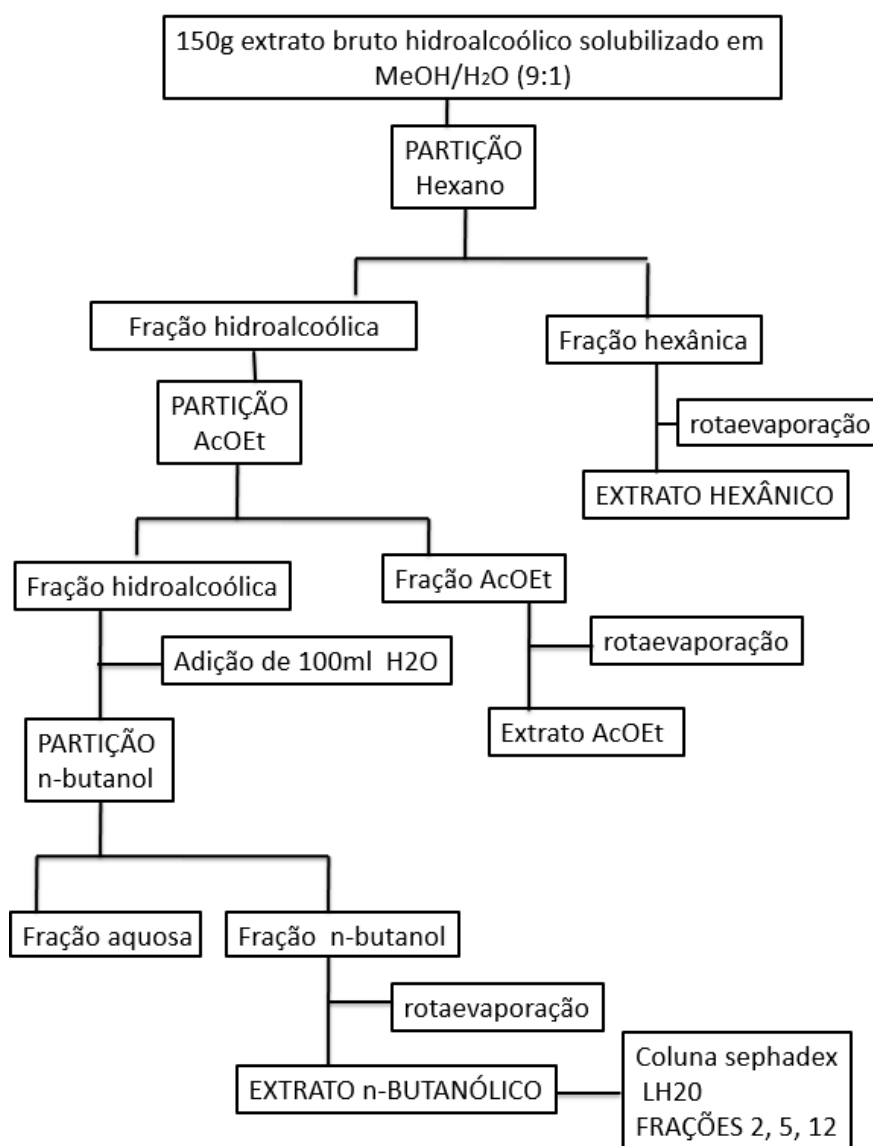
Figura 4 Fluxograma da obtenção do extrato bruto hidroalcoólico de *E. puniceifolia*.



Fonte: autora

Do extrato bruto hidroalcoólico foi pesado apenas 150g para a partição líquido - líquido, e foram utilizados para a obtenção das frações os seguintes solventes orgânicos: hexano, diclorometano, AcOEt e n-butanol, restando a fração aquosa a qual foi liofilizada (Figura 5).

Figura 5 Fluxograma da partição líquido-líquido do extrato bruto hidroalcoólico.



Fonte: autora

3.5 Fracionamento e purificação de *Eugenia puniceifolia* (Kunth) DC.

Visando isolar e purificar os constituintes orgânicos das frações aquosa e n-butanólica, resultantes da partição líquido-líquido, estas foram submetidas à cromatografia em coluna clássica (CC), contendo Sephadex LH 20 como fase estacionária, sendo o eluente EtOH, e EtOH/H₂O (7:3). Todas as frações resultantes das purificações foram analisadas por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), utilizando sílica gel 60 F254 como

fase estacionária, BAW (n-butanol/ác. acético /H₂O (4:1:5) como eluente e NP/PEG, vanilina e luz UV, como reveladores (SANTOS et al., 2008).

3.6 Análise das frações de *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC. por CG-EM

Visando identificar os constituintes químicos presentes nas frações hexânica e acetato de etila de *E.punicifolia*, as mesmas foram submetidas à reação de silanização, e tal análise foi realizada no cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas-Shimadzu-QP-2010, do Núcleo de Pesquisas de Produtos naturais da FCFRP-USP.

Para análise dos constituintes químicos, as condições de análise foram: coluna capilar: DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) Agilent J&W; temperatura do injetor: 260°C; temperatura do detector: 250 °C; impacto de elétrons: 70 eV; gás de arraste: He; fluxo: 1,1 mL/min,; split: 1/40; Temperatura: 100°C – 290°C, 3°C/minuto; volume de injeção: 1µL de solução (1 µL da amostra/1 mLAcOEt).

3.7 Reação de silanização

As frações acetato de etila, analisadas por CG-EM, foram, previamente, hidrolisadas e silanizadas. Para a hidrólise, foram adicionados 50 mL de HCl (2M) em 10mg de amostra. Após esse procedimento, foi levado em banho maria à 80°C por uma hora e meia. A extração da fase orgânica foi concluída com 50 mL do solvente acetato de etila para cada amostra.

As amostras (1mg) já hidrolisadas foram pesadas, separadamente; as quais foram dissolvidas em 100 µL de piridina. Para silanização, em cada amostra foi adicionado 200 µL da solução BSTFA (bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide – SUPELCO) (2000µL) e TMCS (Clorometiltrimetilsilano 98% - ALDRICH) (41µL).

Após este procedimento, as amostras foram mantidas em banho maria à 80°C por uma hora e meia. O esfriamento ocorreu em frasco fechado (FRANQUI et al., 2012).

3.8 Análise da fração n-butanólica de *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC. por CLAE-UV

As sub-frações, resultantes do processo de purificação (Sephadex-LH-20) da fração n-butanólica, foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE-UV, com o intuito de detectar substâncias fenólicas. As amostras analisadas foram preparadas na concentração de 1mg/ml em metanol/H₂O (7:3). A análise cromatográfica foi desenvolvida em coluna Phenomenex, Macclesfield, UK Luna C18 (250x4.6x5µm). A fase móvel foi constituída de água/ácido acético (0,1%) (A) e metanol (B), começando com 20% B em gradiente chegando a 50% B até 30min. e 100% B até 40min. O volume para injeção das

amostras foi de 20 μ l e o fluxo 1mL/min.. Os espectros de ultravioleta foram obtidos em 254 e 350nm. Os dados obtidos foram comparados com os resultados da análise do padrão 2' 4' 6'-trihidroxiacetofenona (Sigma-aldrich), visando detectar ácidos fenólicos ou derivados, comumente encontrados em espécies do gênero *Eugenia*.

3.9 Extração e análise dos constituintes inorgânicos de *Eugenia punicifolia* (KUNTH) DC.

Folhas de *E. punicifolia* foram coletadas na coleção de plantas medicinais da Unidade de Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP, em agosto de 2014. Estas foram estabilizadas em estufa de ar circulante à 45°C, por três dias consecutivos. O material vegetal teve sua granulometria determinada a partir de sua seleção a 25 mesh. Sachês (4 unidades) contendo 80g de material vegetal, foram submetidos a extração em Soxhlet (8 horas) (ZULLU et al, 1987) com os seguintes solventes orgânicos: hexano, acetato de etila, metanol e água. Todas as frações passaram por processo de evaporação do solvente e liofilização. O material vegetal final foi seco em estufa de ar circulante à 45°C, por três dias consecutivos. As frações passaram pelo processo de calcinação a 500°C.

A quantificação dos constituintes inorgânicos de *E. punicifolia* foi realizada com a droga vegetal inicial, com as frações hexânica, AcOEt, metanólica, aquosa e com a droga vegetal final. As análises foram realizadas no Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais, do Departamento de Análises Clínicas Toxicológicas e Bromatológicas da FCFRP/USP, pelo colaborador Prof. Dr. Fernando Barbosa, de acordo com Nardi et al., 2009.

3.9.1 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada na Unidade de Biotecnologia da UNAERP- Universidade de Ribeirão Preto - SP, com a colaboração da Prof^a Dr^a Bianca Waléria Bertoni.

Os resultados foram apresentados na forma de média ponderada, com os respectivos desvios padrão. Foi realizada análise de variância Teste Scott-knott (1974), seguida de teste de média.

3.10 Ensaio biológico *in vitro* de inibição da enzima α -glicosidase

O experimento foi realizado seguindo a metodologia descrita por Wang et al. (2012), sendo modificado o preparo da solução tampão fosfato, onde foi utilizado o protocolo de Choo et al. (2012), sob a supervisão da Dr^a Juliana Coppede.

3.10.1 Preparo das Amostras

O ensaio *in vitro* foi realizado com as frações hexânica, acetato de etila e metanólica, solubilizadas em H₂O/DMSO (9:1); e com a fração aquosa, a qual foi 100% solubilizada em água deionizada, bem como o controle positivo, Acarbose (Sigma®). Todas estas frações foram obtidas da extração em soxlhet (item 3.9).

3.10.2 Preparo das Soluções

- **Preparo da solução tampão fosfato 67 mM pH 6,8:** 4,18g de K₂HPO₄ (Vetec®) e 3,54g de KH₂PO₄ (Synth®) foram pesados e solubilizados em 100 mL de água deionizada, separadamente, obtendo uma solução 0,24 e 0,26M, respectivamente. Para obter a solução tampão a 67 mM foram transferidos 13,4 mL de cada uma das soluções estoque para balões volumétricos distintos e completados os volumes para 100 mL com água deionizada. O ajuste do pH a 6,8 foi realizado adicionando aos poucos a solução de K₂HPO₄ à solução de KH₂PO₄.
- **Preparo da enzima α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (EC 3.2.1.20) (Sigma®):** uma solução a 0.2 U.mL⁻¹ de enzima foi obtida em tampão fosfato.
- **Preparo do pNPG (ρ -nitrofenil- α -D-glucopiranosídeo) (Sigma®):** 0,06989g foram solubilizados em 10 mL de solução tampão fosfato.
- **Preparo do Na₂CO₃ (Carbonato de Sódio):** 1,0599g de Carbonato de Sódio foi solubilizado em 10 mL de água deionizada.
- **Preparo da Acarbose (Sigma®):** 0,1032 g de acarbose solubilizada em 1mL de água deionizada.

3.10.3 O Ensaio

O ensaio *in vitro* consistiu na avaliação da capacidade das frações de *E. puniceifolia* em inibir a ação da enzima α -glicosidase e frente o substrato ρ -nitrofenil- α -D-glucopiranosídeo (p-NPG) (Sigma®).

O substrato p-NPG ao ser degradado pela enzima α -glicosidase libera a substância p-nitrofenil a qual absorve luz U.V no comprimento de onda de 405nm (WANG et al., 2012). Quanto maior a ação da enzima α -glicosidase sobre o substrato, maior a concentração de p-nitrofenil liberado.

Substâncias capazes de inibir a ação desta enzima, tal como a acarbose, competem com o substrato p-NPG interferindo na liberação do produto da reação (p-nitrofenil). Por este motivo, a acarbose foi utilizada como controle positivo deste experimento.

O ensaio foi realizado em placa de Elisa 96 poços adicionados de 25 μL de cada amostra em concentrações diferentes a cada seis poços. Em seguida, 175 μL da solução tampão fosfato foram adicionados em todos os poços e 25 μL da enzima $0.2\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ a três poços. Os outros três poços que não receberam a enzima foram acrescidos de 25 μL da solução tampão fosfato. Após este procedimento, a placa permaneceu na temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ por 10 minutos, e em seguida a adição de 25 μL de pNPG. A placa foi incubada em banho-maria à 37°C por 15 minutos. Para estancar a reação de hidrólise, foram adicionados 50 μL de Carbonato de Sódio. A leitura da absorbância foi realizada em leitor de microplaca Universal Microplate Reader ELX 800 uv (BIO TEK Instruments, INC) à 405 nm. Como controle da atividade enzimática foram utilizados os veículos de solubilização respectivos de cada amostra, distribuídos em seis poços, sendo três acrescidos da enzima α -glicosidase e três não. A acarbose foi utilizada como controle positivo.

As concentrações das amostras que inibiram 50% da atividade da enzima (IC_{50}) foram determinadas a partir da equação geral da reta obtida por gráfico correlacionando o valor da inibição, expressa pela absorbância, e a concentração do ativo. Os ensaios foram conduzidos em três experimentos independentes, para cada amostra ensaiada ($n=9$).

3.10.4 Análise Estatística

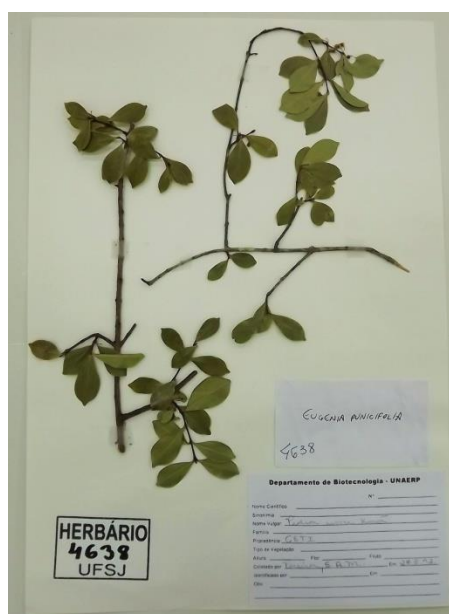
Cada amostra foi aferida em triplicata e os resultados foram apresentados na forma de média ponderada, com os respectivos desvios padrão. Foi realizada análise de variância Teste Scott-knott (1974), seguida de teste de média.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Exsicata de *Eugenia puniceifolia* (Kunt) DC.

A identificação dos ramos floridos do material vegetal foi realizada pelo Prof. Dr. Marcos Sobral da Universidade Federal de São João del-Rei-MG (DCNAT-UFSJ). A exsicata está depositada no herbário da universidade, sob o *Voucher* 4638 (Figura 6).

Figura 6 Exsicata de *E. puniceifolia*



Fonte: autora

4.2 Análise dos constituintes voláteis.

Conforme relatado no item 3.3.1, a análise seguiu as condições descritas neste item, e a identificação das substâncias foi efetuada através da comparação de seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG-EM (NIST 62 lib.), e índice de retenção de Kovats (IR) (ADAMS, 1995).

Conforme observado neste presente trabalho, todos os 90,1% dos constituintes voláteis de *E. puniceifolia* foram identificados como sesquiterpenos, sendo que 74,3% desse total possuem a função hidrocarboneto alceno cíclico, 14,6% álcool e 1,1% éter.

Dentre os constituintes majoritários identificados no óleo essencial de *E. puniceifolia* estão o trans-cariofileno (22,45%), γ -muuroleno (10,33%), biciclogermacreno (10,19%), germacreno B (6,26%), δ -cadineno (4,87%), trans-muurola-3,5 dieno (4,46%) (Tabela 2).

Tabela 2 Constituintes voláteis identificados do óleo essencial de *E. puniceifolia*.

IR	Constituintes	% relativa
Hidrocarboneto alceno cíclico		
1373	α -ilangeno	2,107
1386	β -elemeno	2,354
1416	Trans-cariofileno	22,45
1424	β -copaeno	0,834
1427	γ -elemeno	1,164
1434	α -guaieno	1,241
1448	Muurolo-3,5dieno<trans->	4,464
1455	Muurolo-4(14),5dieno<cis->	0,513
1470	Gurjuneno<gamma->	1,149
1474	Muurolo-eno<gamma->	10,33
1479	Widra-2,4(14)-dieno	1,836
1490	Biclogermacreno	10,19
1493	Amorfeno<delta->	1,141
1499	Bulseno<alpha->	1,191
1505	Valenceno	0,829
1511	Selineno<7-epi-alpha->	0,688
1515	Cadineno<delta->	4,876
1530	Cadineo<alpha->	0,697
1550	Germacreno B	6,261
Total		74,315
Álcool		
1509	Cicloisolongifol-5-ol<trans->	0,536
1563	Espatuleno	1,751
1573	Globulol	2,207
1580	Viridiflorol	1,092
1582	Cubeban-11-ol	0,723
1585	Guaiol	0,500
1610	Eudesmol<5-epi-7-epi-2>	0,592
1615	Cubenol<1,10-di-epi->	0,529
1627	Eremolegenol	2,190
1630	Cadin-4-en-7-ol<cis->	1,114
1639	Muurolo-eno<epi-alpha->	3,089
1678	Cedranol<5-neo->	0,328
Total		14,651
Éter		
1568	Cariofileno óxido	1,153
Total		90,119

Fonte: autora

O cromatograma e os respectivos espectros de massas das substâncias trans-cariofileno, γ -muurolo-eno, biclogermacreno, germacreno, δ -cadineno, trans-muurolo-3,5dieno identificados neste trabalho encontram-se em anexo (Anexo 1-7).

De acordo com Salvador et al. (2011), o hidrocarboneto trans-cariofileno foi o componente majoritário (23.6%), presente no óleo essencial de *E. puniceifolia*. Nakamura et al. (2010) identificaram que o óleo essencial de *E. acutata*, também possui o trans-cariofileno

(26,93%) como constituinte majoritário; já no óleo essencial de *E.candolleana* foi constatado 13,87% do γ -elemeno e 6,75% do óxido de cariofileno.

4.3 Análise da fração hexânica de *Eugenia punicifolia* (kunt) DC. por CG-EM

A análise da fração hexânica de *E punicifolia*, empregando a técnica de CG-EM possibilitou, através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema Nist, a identificação das seguintes substâncias: o ácido palmítico (Anexos 8 e 9), ácido linoleico (Anexos 8 e 10), ácido linolênico (Anexos 8 e 11), fitol (Anexos 8 e 12), ácido 9,2-octadecadienoico (Anexos 8 e 13), ácido alfa-linoleico (Anexos 8 e 14), ácido esteárico (Anexos 8 e 15), ácido hexadecanoico (Anexos 8 e 16), alfa-tocoferol (Anexos 8 e 17), estigmasterol (Anexos 8 e 18) e beta-sitosterol (Anexos 8 e 19)). Vale ressaltar que somente foram identificadas as substâncias que apresentaram índice de similaridade de seus espectros de massas, com os dados da biblioteca, com valor igual ou acima de 90%.

O cromatograma e os respectivos espectros de massas das substâncias identificadas da fração hexânica encontram-se em anexo (Anexos 8-19).

4.4 Análise da fração AcOEt de *Eugenia punicifolia* (KUNT) DC. por CG-EM

A análise da fração AcOEt de *E punicifolia*, empregando a técnica de CG-EM possibilitou, através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema Nist, a identificação das seguintes substâncias: sorbopiranosose (Anexos 20 e 21), α -D-glucopiranosose (Anexos 20 e 22), ácido gálico (Anexos 20 e 23) e quercetina (Anexos 20 e 24). Vale ressaltar que somente foram identificadas as substâncias que apresentaram índice de similaridade de seus espectros de massas, com os dados da biblioteca, com valor igual ou acima de 90%.

De acordo com Silva e Teixeira (2015), a presença de compostos fenólicos derivados do ácido gálico, no extrato hidroetanólico de *Endopleura uchie* está relacionada com suas atividades antioxidante e antibacteriana; podendo atuar como agentes supressores da hiperglicemia através da inibição da enzima α -glicosidase.

O cromatograma e os respectivos espectros de massas das substâncias identificadas da fração AcOEt encontram-se nos Anexos 20-24.

4.5 Análise da fração n-butanólica de *Eugenia punicifolia* (KUNT) DC. por CLAE-UV

O perfil cromatográfico das frações, analisadas por CLAE, permitiu detectar a presença de substâncias da classe dos flavonoides e dos ácidos fenólicos ou derivados (Anexos 25-31).

Após análise dos espectros de ultravioleta da amostra 5 (Anexos 22 e 23), verificou-se que a substância, eluída em $t=15,10\text{min.}$, apresentou 2 bandas de absorção, em torno de $\lambda_{\text{máx}}=254\text{nm}$ e 350nm , características de substâncias fenólicas da classe dos flavonoides.

Os espectros de ultravioleta das amostras 12 e 2 (Anexos 24-27) apresentaram banda de absorção máxima em torno de $\lambda=275\text{nm}$; perfil semelhante ao encontrado no espectro de ultravioleta do padrão de 2',4',6'-trihidróxiacetofenona. Tais resultados estão de acordo com os valores de $\lambda_{\text{máx}}$ relatados para ácidos fenólicos (VERZA, 2006), tal como o ácido gálico, identificado no presente trabalho.

4.6 Extração em soxleht da droga vegetal de *Eugenia punicifolia* (KUNT) DC.

As frações resultantes das extrações em soxleht tiveram os seguintes rendimentos: fração hexânica ($m=6,46\text{ g}$), fração acetato de etila ($m=13,02\text{ g}$), fração metanólica ($m= 60,94\text{ g}$), fração aquosa ($m= 15,00\text{ g}$), e droga vegetal final ($m=130,00\text{ g}$).

Conforme observado, a espécie vegetal contém uma maior concentração de moléculas orgânicas com afinidade ao metanol. Tais moléculas podem ser atribuídas às substâncias fenólicas. Conforme mostrado no item 4.4, após processo de isolamento e purificação dos constituintes químicos, presentes na fração mais polar n-butanólica do presente estudo, verificamos a presença de substâncias da classe dos flavonóides, juntamente com ácidos fenólicos, os quais apresentam alta solubilidade em solventes orgânicos mais polares. Na fração metanólica (FM) o único elemento que esteve em maior concentração foi o tório (Th) ($0,000020\text{ mg/g}$).

Na droga vegetal inicial (DVI) a identificação dos inorgânicos em maior concentração foram cromo (Cr) ($0,021498\text{ mg/g}$), bismuto (Bi) ($0,000440\text{ mg/g}$), belírio (Be) ($0,00018\text{ mg/g}$), (Cd) cádmio (Cd) ($0,000088\text{ mg/g}$), e tálio (Tl) ($0,000082\text{ mg/g}$).

Na fração hexânica (FH) não houve nenhum elemento que se apresentou em maior concentração. Já na fração acetato de etila (FAC) os elementos túlio (Tm) ($0,0000006\text{ mg/g}$) e arsênio (As) ($0,022532\text{ mg/g}$) estiveram em maior concentração.

Observou-se que a fração aquosa (Faq) com maior concentração de magnésio (Mg) ($17,7976\text{ mg/g}$), manganês (Mn) ($0,3481\text{ mg/g}$), rubídio (Rb) ($0,0651\text{ mg/g}$), zinco (Zn)

(0,03771 mg/g), cobre (Cu) (0,0198 mg/g), níquel (Ni) (0,015276 mg/g), chumbo (Pb) (0,001454 mg/g), cobalto (Co) (0,000717 mg/g), érbio (Er) (0,000056 mg/g), lutécio (Lu) (0,000002 mg/g), platina (Pt) (0,000002 mg/g), foi a fração que melhor inibiu a enzima α -glicosidase (IC_{50} 0,00934mg/mL). Tal atividade poderia ser justificada pelo fato que a espécie vegetal estudada apresenta ácido gálico, o qual compõe a estrutura dos taninos hidrolisáveis detectados em altas concentrações em *E. puniceifolia* (ROCHA et al., 2011), e que estes se complexam com os metais presentes na planta (FREIRE et al., 2005; SIMÕES et al., 2002).

A maior concentração dos elementos inorgânicos na droga vegetal final (DVF) é justificada pela diminuição da concentração dos elementos orgânicos, após sucessivas extrações com os solventes hexano, acetato de etila e metanol. Os elementos identificados na fração DVF em maior concentração foram os seguintes: cálcio (Ca) (13,7017 mg/g), ferro (Fe) (1,1826 mg/g), alumínio (Al) (0,853917 mg/g), estrôncio (Sr) (0,0485 mg/g), bário (Ba) (0,0409 mg/g), escândio (Sc) (0,002214 mg/g), selênio (Se) (0,002527 mg/g), cério (Ce) (0,001171 mg/g), lítio (Li) (0,0007 mg/g), lantânio (La) (0,000695 mg/g), neodímio (Nd) (0,000642 mg/g), molibidênio (Mo) (0,000188 mg/g), praseodímio (Pr) (0,000155 mg/g), antimônio (Sb) (0,000151 mg/g), berílio (Be) (0,00015 mg/g), gadolínio (Gd) (0,000144333 mg/g), samário (Sa) (0,000101 mg/g), itérbio (Yb) (0,000025 mg/g), térbio (Tb) (0,000017 mg/g), disprósio (Dy) (0,00006 mg/g), európio (Eu) (0,00004 mg/g), hólmio (Ho) (0,00001 mg/g), e túlio (Tm) (0,000003 mg/g).

Devido à possibilidade da ação hipoglicemiante de várias plantas medicinais estar relacionada com a presença de minerais, e de haver interações sinérgicas entre os vários princípios ativos (orgânicos e inorgânicos) de uma droga vegetal (SIXEL et al., 2005), os resultados obtidos, após análise das frações orgânicas de *E. puniceifolia*, contribuirá, significativamente, com os estudos farmacológicos desta planta medicinal.

Vale ressaltar que o acúmulo de metais pesados em plantas medicinais é um dos grandes riscos para a saúde humana. Grande parte da população que utiliza a medicina alternativa, para o tratamento de diversas enfermidades, não tem idéia de que ao utilizar as preparações farmacêuticas na forma de infusões, alcoolaturas, tinturas, etc, pode ingerindo altas concentrações de metais tóxicos ao organismo (Freire et al., 2005).

Os resultados das análises dos constituintes inorgânicos de *E. puniceifolia* estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 Elementos inorgânicos de *E. puniceifolia* (mg/g).

ELEMENTOS	DVI	FH	FAc	FM	FAq	DVF
Ca (Cálcio)	8,0997b	0,2537d	0,2439d	0,3049d	3,2824c	13,7017a
Mg (Magnésio)	4,7411b	0,1407d	0,5318d	1,4045c	17,7976a	4,8438b
Fe (Ferro)	0,8351b	0,0029c	0,0056c	0,0107c	0,428c	1,1826a
Cu (Cobre)	0,0067b	0,0011c	0,0038c	0,0032c	0,0198a	0,0063b
Zn (Zinco)	0,0240c	0,009d	0,0116d	0,0094d	0,03771a	0,0380b
Mn (Manganês)	0,1115c	0,0030d	0,0008d	0,0042d	0,3481a	0,1591b
Ni (Níquel)	0,00372b	0,00144e	0,000099e	0,002039d	0,015276a	0,002692c
Mo (Molibdênio)	0,000017b	0,0000003b	0,000003b	0,000013b	0,000049b	0,000188a
Sm (Samário)	0,000068b	0,000017c	0,00008c	0,000009c	0,000050b	0,000101a
Tb (Térbio)	0,000010b	0,000002c	0,0000016c	0,000001c	0,000005c	0,000017a
Tm (Túlio)	0,00000a	0,000001a	0,0000006a	0,0000003a	0,000002a	0,000003a
Yb (Ítérbio)	0,000020a	0,000005b	0,000004b	0,000003b	0,000016a	0,000025a
La (Lantânio)	0,000449b	0,000085d	0,000049d	0,00037d	0,000176c	0,000695a
Ce (Cério)	0,000744b	0,000158c	0,000104c	0,000088c	0,000369b	0,001171a
Dy (Disprósio)	0,00005b	0,000009d	0,000004d	0,000005d	0,00003c	0,00006a
Er (Érbio)	0,000020b	0,000005c	0,00000036c	0,000006c	0,000056a	0,000026b
Eu (Európio)	0,00002b	0,000005d	0,000002d	0,000002d	0,00001c	0,00004a
Gd (Gadolínio)	0,000090667a	0,000020000a	0,000011667a	0,000012333a	0,000049667a	0,000144333a
Ho (Hólmio)	0,000007a	0,000002b	0,0000016b	0,0000013b	0,000007a	0,00001a
Lu (Lutécio)	0,000000c	0,000001b	0,0000003c	0,000001b	0,000002a	0,000000c
Nd (Neodímio)	0,000464b	0,000086d	0,000044d	0,000042d	0,000192c	0,000642a
Pr (Praseodímio)	0,000089b	0,000022d	0,000012d	0,000010d	0,000046c	0,000155a
Sc (Escândio)	0,001472a	0,000000b	0,000000b	0,000000b	0,000469b	0,002214a
Th (Tório)	0,00004a	0,000012a	0,000016a	0,000020a	0,00003a	0,000017a
Sb (Antimônio)	0,000150a	0,000009b	0,000024b	0,000024b	0,000138a	0,000151a
Sn (Estanho)	0,000405a	0,000063b	0,000041b	0,000096b	0,000087b	0,000255a
Cd (Cádmio)	0,000088a	0,000011b	0,000006b	0,000029b	0,000045b	0,000066a
Ba (Bário)	0,0261b	0,0015d	0,0009d	0,00104d	0,0144c	0,0409a

ELEMENTOS	DVI	FH	FAc	FM	FAq	DVF
Pb (Chumbo)	0,001172b	0,000379c	0,000382c	0,000387c	0,001454a	0,001103b
Be (Berílio)	0,00018a	0,000007b	0,000005b	0,00002b	0,00004b	0,00015a
Bi (Bismuto)	0,000440a	0,000000c	0,000000c	0,000000c	0,000000c	0,000264b
Rb (Rubídio)	0,0082c	0,0001e	0,0002e	0,0125b	0,0651a	0,0039d
Cr (Cromo)	0,021498a	0,002131c	0,008895b	0,009563b	0,008299b	0,0019188a
Se (Selênio)	0,001293b	0,000254b	0,00390b	0,000808b	0,000298b	0,002527a
Al (Alumínio)	0,578930b	0,226031c	0,258619c	0,198792c	0,257270c	0,853917a
Co (Cobalto)	0,000271c	0,0000070e	0,0000073e	0,000110d	0,000717a	0,000313b
Tl (Tálio)	0,000082a	0,000001c	0,000001c	0,000006c	0,000050b	0,000054b
Sr (Estrôncio)	0,0291b	0,00087d	0,00068d	0,00080d	0,0175c	0,0485a
Li (Lítio)	0,0006a	0,00043a	0,00047a	0,00045a	0,0005a	0,0007a
As (Arsênio)	0,012143a	0,018576a	0,022532a	0,020759a	0,021281a	0,014507a
Pt (Platina)	0,000000b	0,000000b	0,000000b	0,0000003b	0,000002a	0,000000b

Médias com a mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Scott-Knott 5%.

*DVI= droga vegetal inicial, *FH= fração heânica, *FAc=fração acetato de etila, *FM= fração metanólica, *FAq=fração aquosa, *DVF= droga vegetal final

Fonte: autora

4.7 Ensaio *in vitro* da enzima α -glicosidase

Verificou-se neste trabalho a eficácia da fração aquosa (IC₅₀ 0,00934mg/mL) (Tabela 6), frente a enzima α -glicosidase, quando comparada com o controle positivo a acarbose (1,04933 mg/mL). Essa atividade do extrato aquoso 112 vezes superior à molécula controle é um forte indício da expressividade da ação deste extrato e sua possível efetividade, como composto fitoterápico, para controle do diabetes.

Tabela 4. IC₅₀ das frações de *E. puniceifolia* (mg/mL)

Amostra	mg/mL	mM
FAq	0,00934	-
FAC	0,01255	-
FH	n.d	-
FM	0,01141	-
Acarbose	1,04933	1.63

*FAq=fração aquosa, *FAC=fração acetato de etila, *FH= fraçãohexânica,
*FM= fração metanólica

n.d = não determinado em concentrações \leq à 1mg/mL.

Fonte: autora

No que diz respeito a estudos de inibição da ação da enzima α -glicosidase, Galeno et al (2013) demonstrou que o extrato vegetal aquoso (valor do IC₅₀ de 2,4g/mL) de *E. puniceifolia*, foi similar a inibição do extrato de *E. jambolana*.

Araújo (2015) constatou que o suco da polpa de *E. dysenterica* (valor do IC₅₀ 410 μ g/mL) obteve uma atividade superior ao padrão acarbose, e que os flavonoides não apresentaram qualquer atividade inibitória. Tais resultados foram opostos aos de Galeno et al., (2013), onde os valores de inibição foram iguais, tanto para o extrato de *E. puniceifolia* quanto para a quercetina.

Diante disto, verificou-se que até a fração metanólica, deste estudo (valor do IC₅₀ 0,011mg/mL), obteve melhor inibição da enzima α -glicosidase, quando comparada com o extrato aquoso de *E. puniceifolia* de Galeno et al (2013) e *E. jambolana*.

5 CONCLUSÃO

O trabalho desenvolvido resultou na obtenção do óleo essencial das folhas de *E.punicifolia*; assim como na identificação de seus constituintes. A variação no teor e composição química dos constituintes dos óleos, quando comparados com estudos prévios realizados, irá colaborar com os estudos taxonômicos da espécie *E. puniceifolia*.

Até o momento, os ácidos graxos saturados ác. esteárico, ác. hexadecanoico (ac. palmítico); poli-insaturados ác. linoleico, ác. linolênico, ác. alfa-linoleico; assim como dos esteroides estigmasterol e beta-sitosterol estão sendo relatados pela primeira vez na espécie. Observou-se a importância destas moléculas funcionais e nutracêuticas presentes nesta espécie, *E. puniceifolia*, pelos benefícios que se dispõem os pacientes com DM tipo 2, já que estas previnem doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes.

O trabalho realizado, também possibilitou observar que a espécie, conhecida na medicina popular como “pedra-hume-caá”, acumula ácido gálico em suas estruturas foliares.

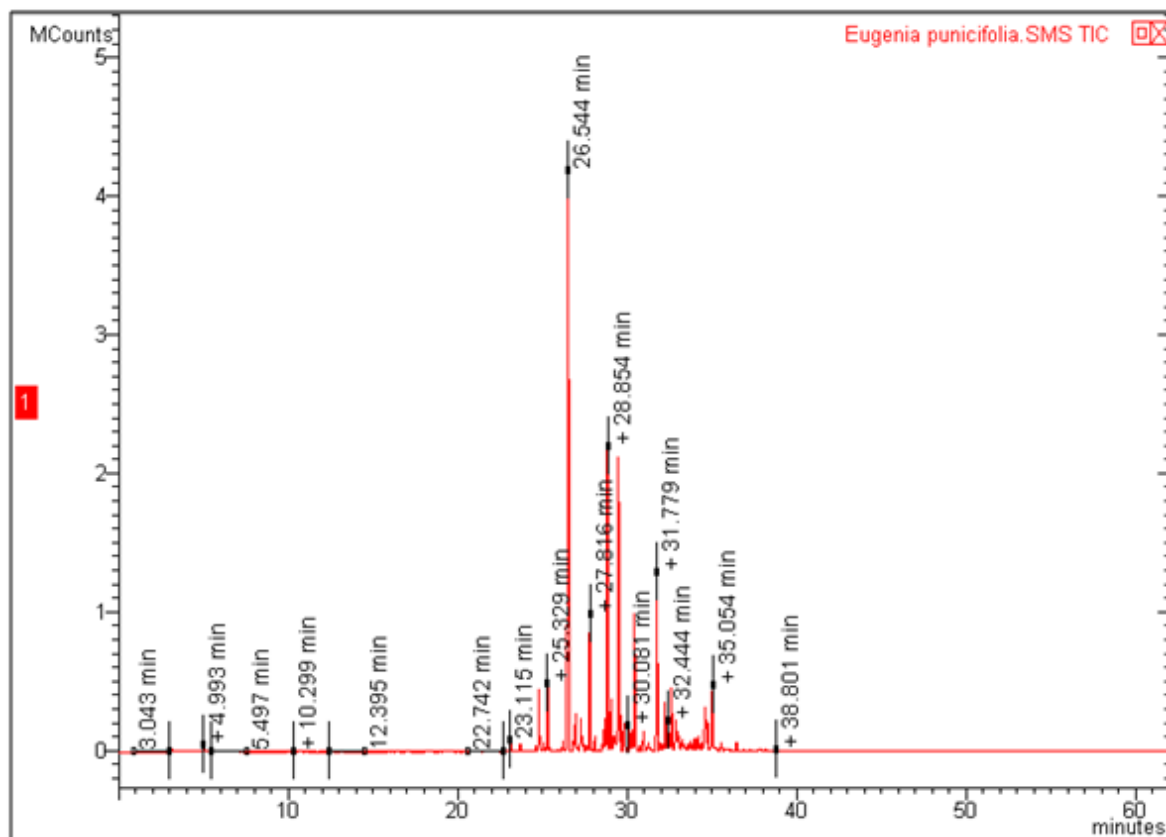
Após análise quantitativa dos constituintes inorgânicos de *E. puniceifolia*, verificamos que a droga vegetal inicial (DVI) contém os elementos cálcio (Ca) e magnésio (Mg) em concentrações significativas. Porém, na fração aquosa (Faq), o elemento magnésio (Mg) se apresentou em maior concentração. Sendo assim, esta fração aquosa (Faq) por conter o elemento magnésio (Mg), elemento adjuvante na resistência à insulina, justifica ainda mais a sua eficácia, já que a fração aquosa (Faq) foi a fração que melhor inibiu a ação da enzima α -glicosidase.

O acúmulo de magnésio (Mg) e cálcio (Ca) identificados na droga vegetal e na fração de *E.punicifolia* é um forte indicativo de que tais elementos atuam em sinergismo com os constituintes orgânicos desta espécie, no controle da glicemia.

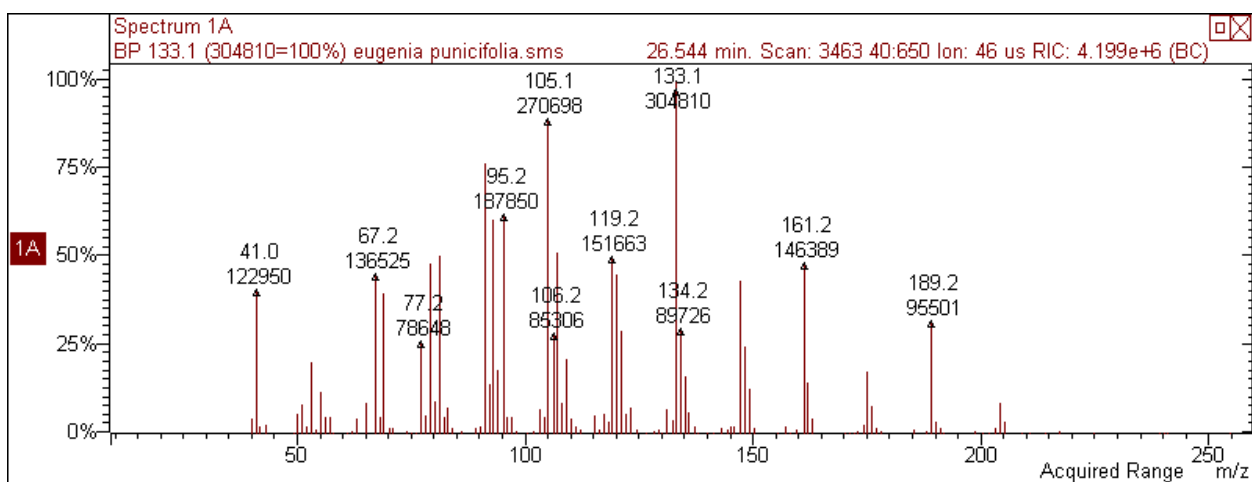
A espécie *E. puniceifolia* tem a predisposição em acumular substâncias tóxicas tais como cádmio, tório, chumbo, tálio, ardênio, antimônio. Sendo assim, o local de cultivo e coleta desta planta medicinal deve ser criterioso quanto à qualidade do solo, da água e na utilização da adubação química, a qual pode introduzir ao solo quantidades significativas de metais pesados.

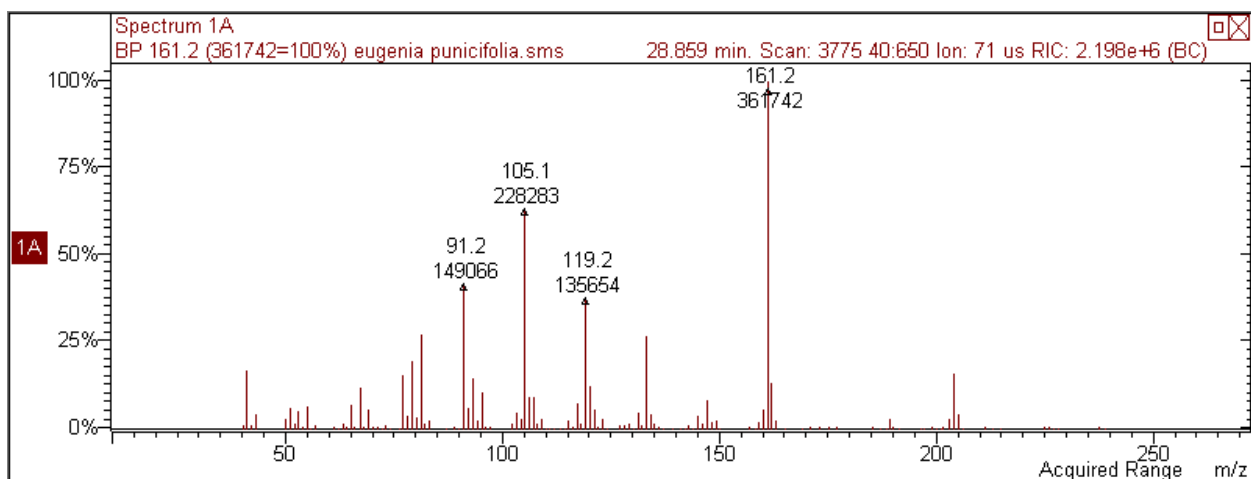
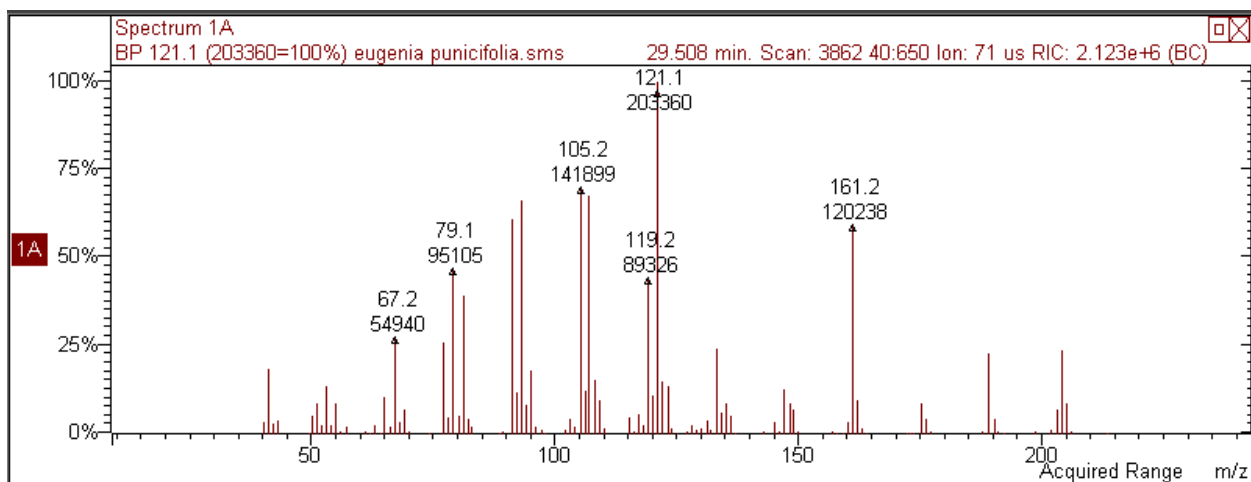
6 ANEXOS

Anexo 1 Cromatograma obtido após análise por CG-EM do óleo essencial de *E. punicifolia* (Kunth) DC.

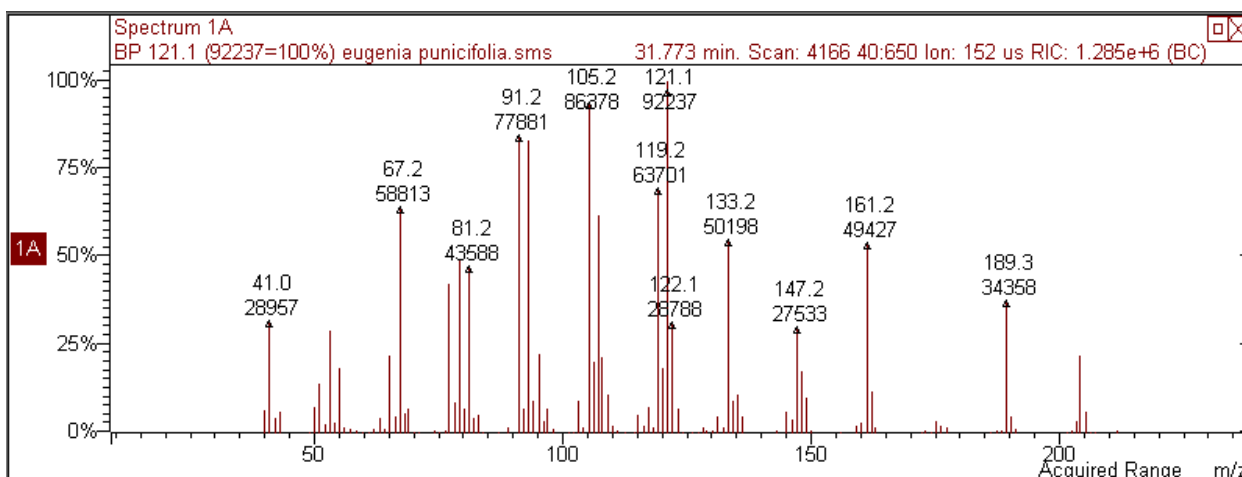


Anexo 2 Espectro de massas do constituinte majoritário trans- cariofileno, substancia eluida no tr = 26.544 min.

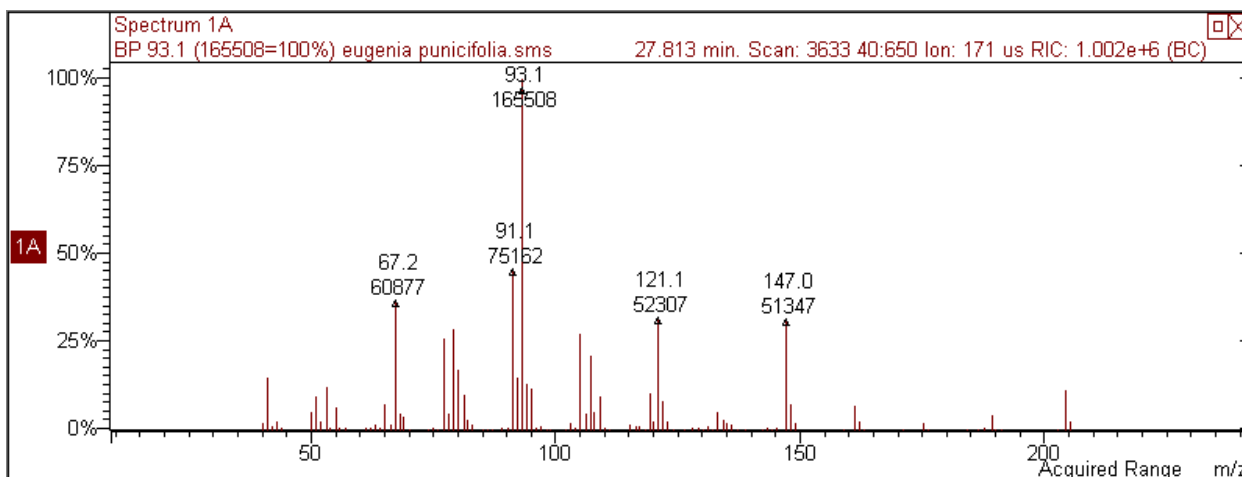


Anexo 3 Espectro de massas do γ -muurolene, substancia eluida no $t_r = 28.859$ min.**Anexo 4** Espectro de massas do biciclogermacreno, substancia eluida no $t_r = 29.508$ min.

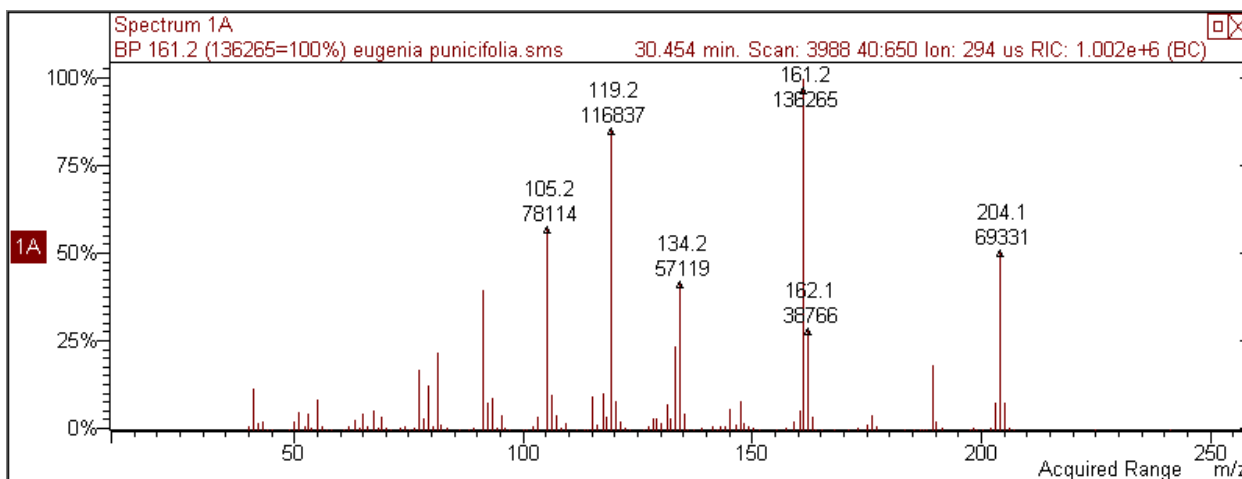
Anexo 5 Espectro de massas do germacreno B, substancia eluida no tr = 31.773 min.

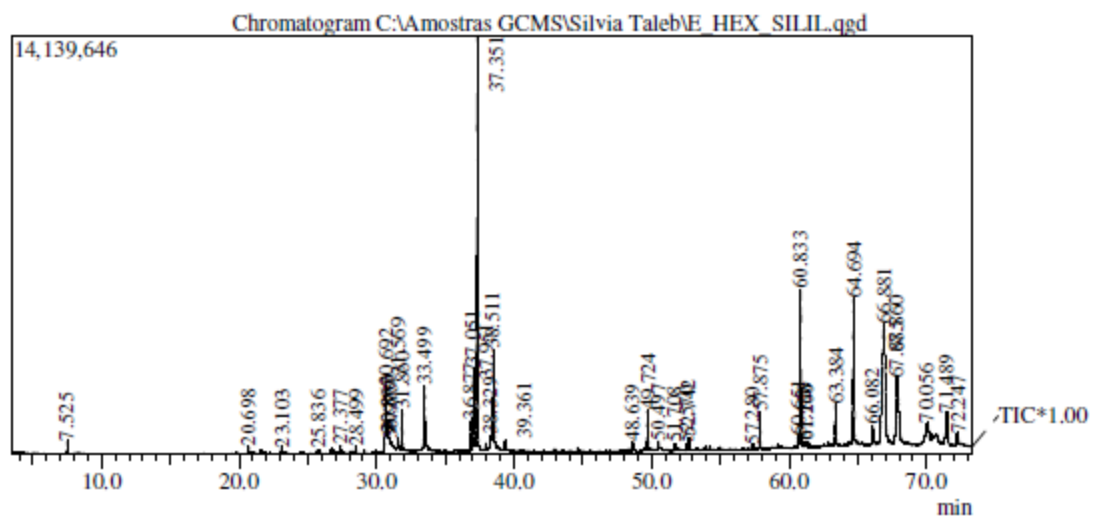


Anexo 6 Espectro de massas do trans-muuro-la-3,5dieno, substancia eluida no tr = 27.813 min.



Anexo 7 Espectro de massas do δ -cadinene, substancia eluida no tr = 30.454 min.

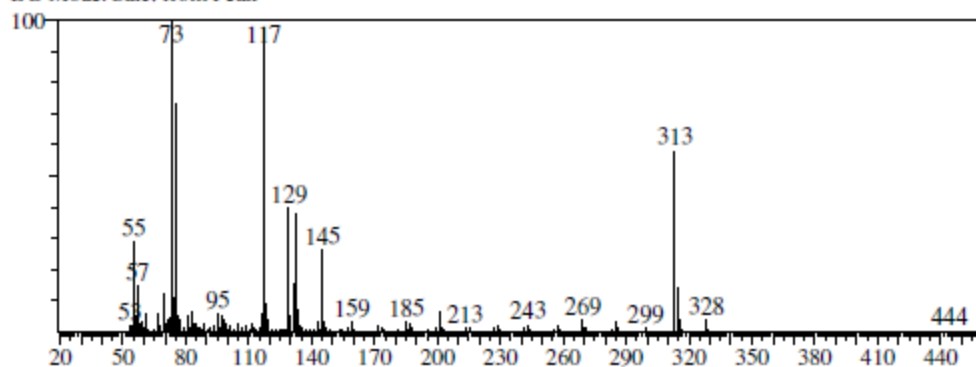


Anexo8 Cromatograma da fração hexânica de *E. puniceifolia*.

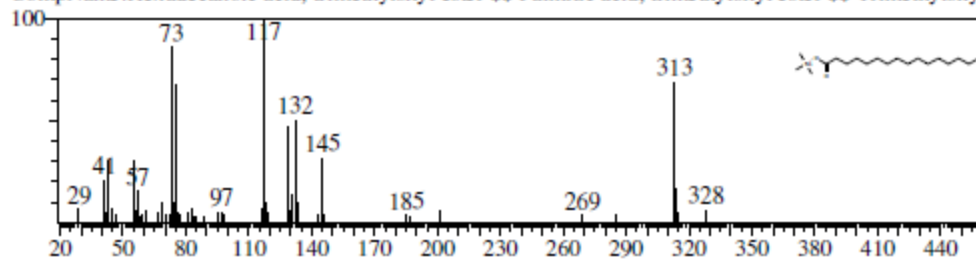
Anexo 9 Espectro de massas da substância ác. palmítico eluída no tr=33,5 min., comparado com o banco de dados.

<< Target >>

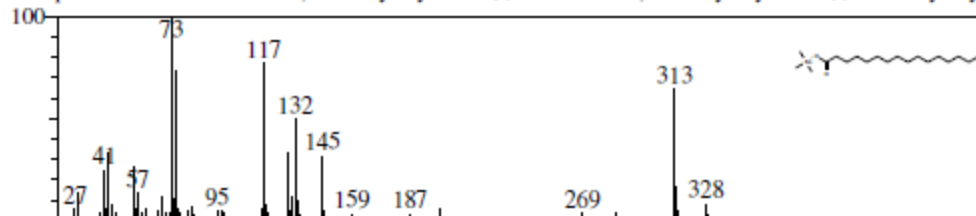
Line#: 8 R. Time: 33.500 (Scan#: 6001) MassPeaks: 143
RawMode: Averaged 33.495-33.505 (6000-6002) BasePeak: 73.10 (265352)
BG Mode: Calc. from Peak



Hit#: 1 Entry: 131372 Library: NIST08.LIB
SI: 96 Formula: C₁₉H₄₀O₂Si CAS: 55520-89-3 MolWeight: 328 RetIndex: 1987
CompName: Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Palmitic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Trimethylsilyl

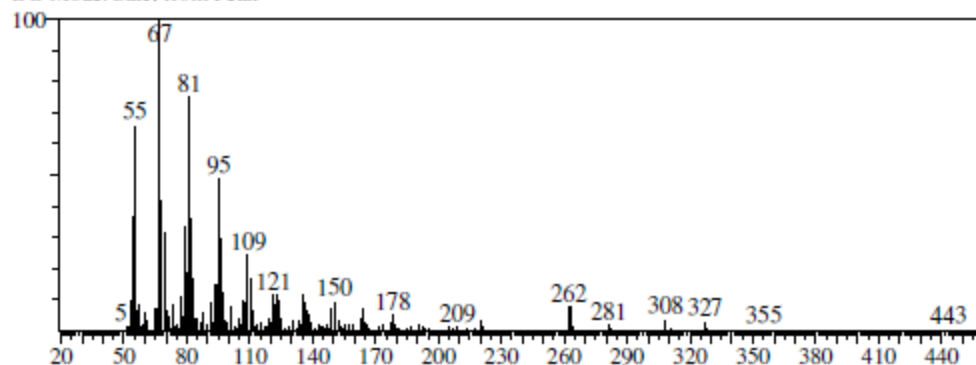


Hit#: 2 Entry: 25529 Library: NIST08s.LIB
SI: 95 Formula: C₁₉H₄₀O₂Si CAS: 55520-89-3 MolWeight: 328 RetIndex: 1987
CompName: Hexadecanoic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Palmitic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Trimethylsilyl

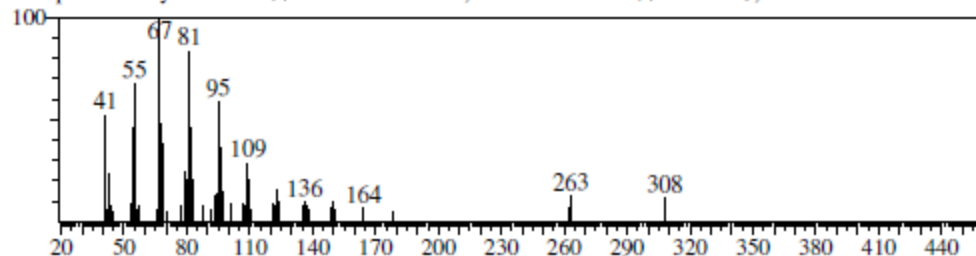


Anexo 10 Espectro de massas da substância ác. linoleico eluída no $t_r=36,9$ min., comparado com o banco de dados.

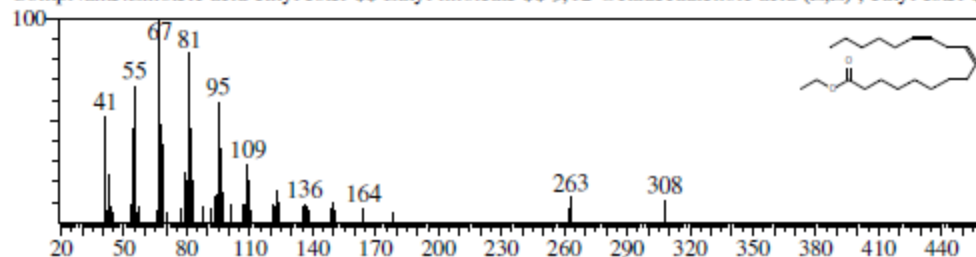
Line#:9 R.Time:36.875(Scan#:6676) MassPeaks:133
RawMode:Averaged 36.870-36.880(6675-6677) BasePeak:67.05(102585)
BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:219480 Library:WILEY7.LIB
SI:94 Formula:C20H36O2 CAS:544-35-4 MolWeight:308 RetIndex:0
CompName:Ethyl linoleate \$\$ LINOLEIC ACID, ETHYL ESTER \$\$ ETHYL 9,12-OCTADECADIENIC

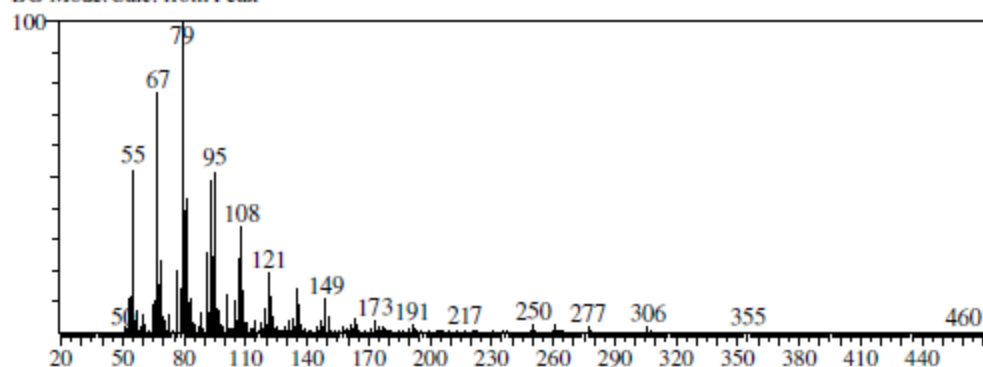


Hit#:2 Entry:24704 Library:NIST08s.LIB
SI:94 Formula:C20H36O2 CAS:544-35-4 MolWeight:308 RetIndex:2193
CompName:Linoleic acid ethyl ester \$\$ Ethyl linoleate \$\$ 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, ethyl ester \$

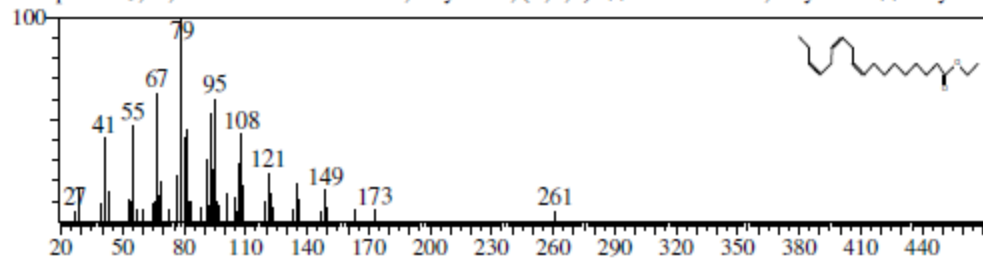


Anexo 11 Espectro de massas da substância ác. linolênico eluída no $t_r=37,1$ min., comparado com o banco de dados.

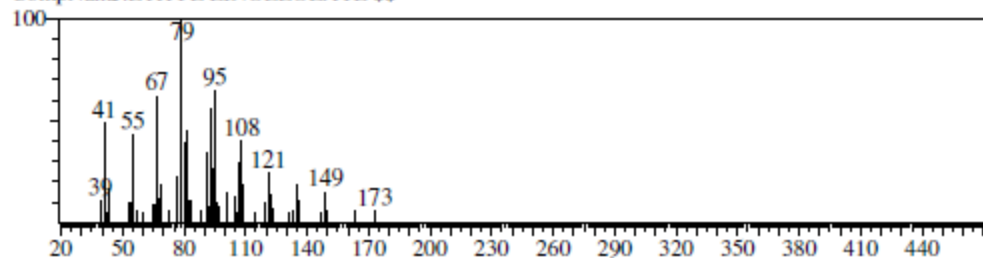
Line#: f0 R.Time:37.050(Scan#:6711) MassPeaks:165
RawMode:Averaged 37.045-37.055(6710-6712) BasePeak:79.05(278333)
BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:24616 Library:NIST08s.LIB
SI:95 Formula:C₂₀H₃₄O₂ CAS:1191-41-9 MolWeight:306 RetIndex:2201
CompName:9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)- \$\$ Linolenic acid, ethyl ester \$\$ Ethyl cis

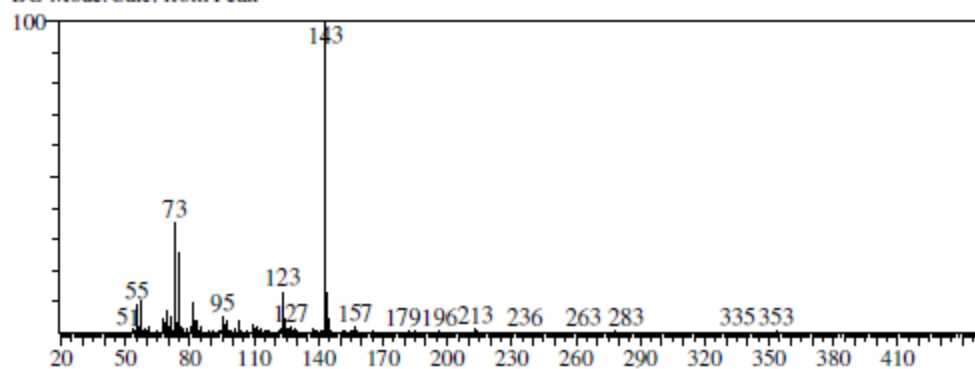


Hit#:2 Entry:219172 Library:WILEY7.LIB
SI:95 Formula:C₂₀H₃₆O₂ CAS:544-35-4 MolWeight:308 RetIndex:0
CompName:ETHYL LINOLEOLATE \$\$

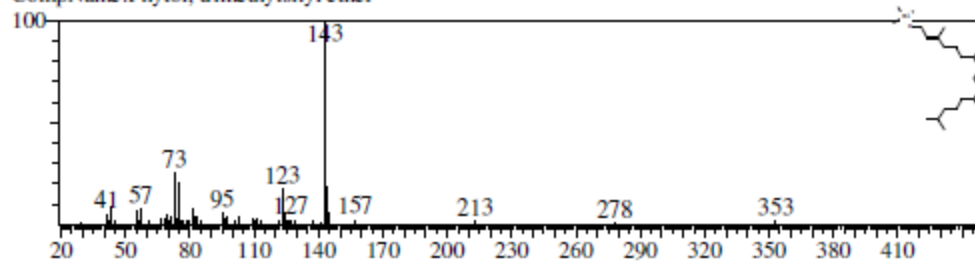


Anexo 12 Espectro de massas da substância fitol eluída no $t_r=37,4$ min., comparado com o banco de dados.

Line#:11 R.Time:37.350(Scan#:6771) MassPeaks:167
RawMode:Averaged 37.345-37.355(6770-6772) BasePeak:143.10(4261017)
BG Mode:Calc. from Peak

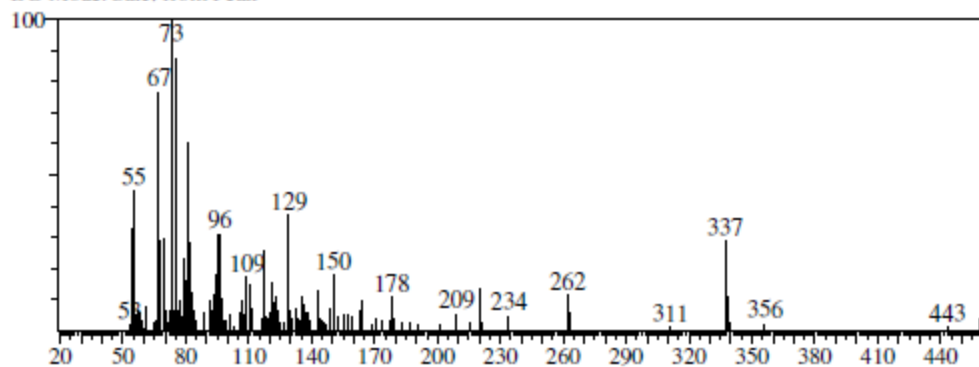


Hit#:1 Entry:154684 Library:NIST08.LIB
SI:95 Formula:C₂₃H₄₈OSi CAS:0-0-0 MolWeight:368 RetIndex:2086
CompName:Phytol, trimethylsilyl ether

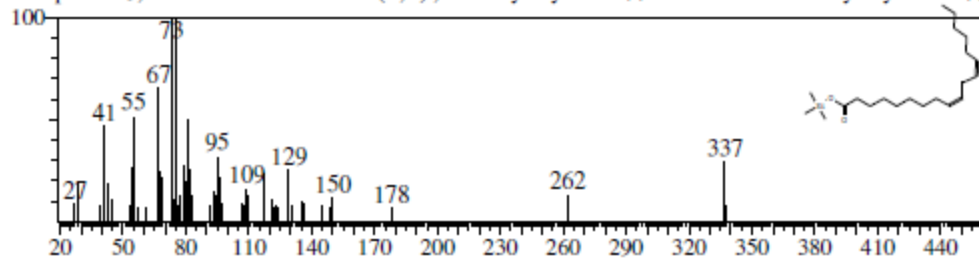


Anexo 13 Espectro de massas da substância ác. 9,12-octadecadienoico eluída no tr =38,4 min., comparado com o banco de dados.

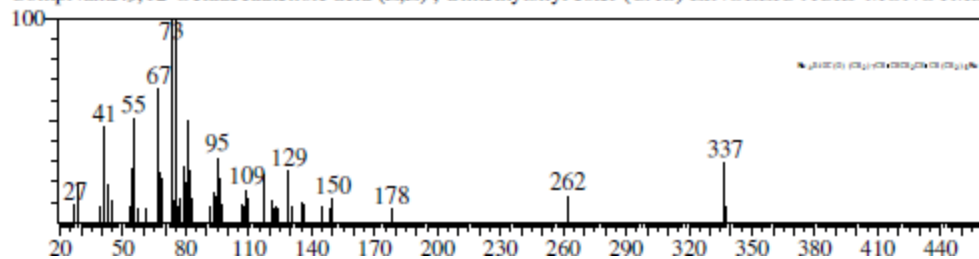
Line#: 13 R.Time:38.330(Scan#:6967) MassPeaks: 108 -----
Raw Mode: Averaged 38.325-38.335(6966-6968) BasePeak: 73.05(16376)
BG Mode: Calc. from Peak



Hit#: 1 Entry: 146189 Library: NIST08.LIB
SI: 91 Formula: C₂₁H₄₀O₂Si CAS: 56259-7-5 MolWeight: 352 RetIndex: 2202
CompName: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, trimethylsilyl ester \$\$ Linoleic acid trimethylsilyl esterI \$\$

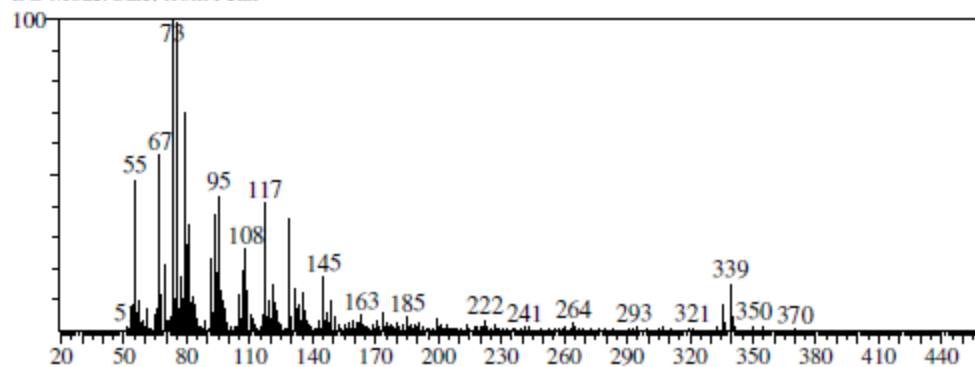


Hit#: 2 Entry: 255915 Library: WILEY7.LIB
SI: 91 Formula: C₂₁H₄₀O₂Si CAS: 56259-7-5 MolWeight: 352 RetIndex: 0
CompName: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, trimethylsilyl ester (CAS) LINOLEIC ACID-MONOTMS

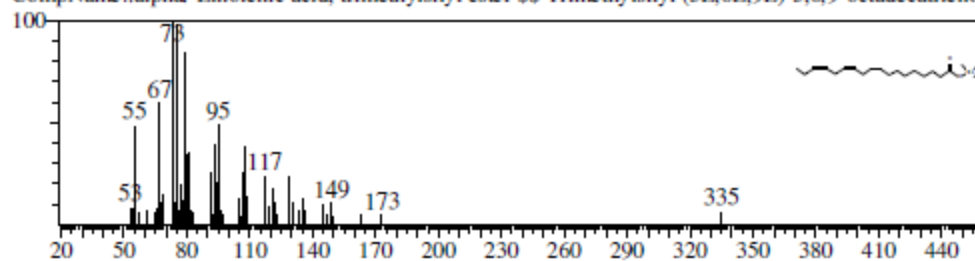


Anexo 14 Espectro de massas da substância ácido alfa-linolênico eluída no $t_r = 38,5$ min., comparado com o banco de dados.

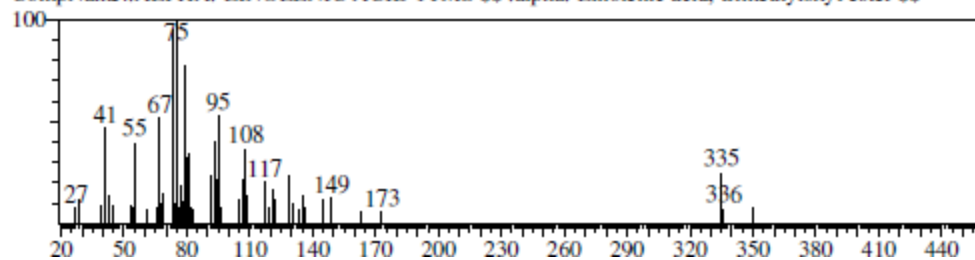
Line#: 14 R. Time: 38.510 (Scan#: 7003) MassPeaks: 217
RawMode: Averaged 38.505-38.515 (7002-7004) BasePeak: 73.05 (239979)
BG Mode: Calc. from Peak



Hit#: 1 Entry: 26182 Library: NIST08s.LIB
SI: 93 Formula: C₂₁H₃₈O₂Si CAS: 97844-13-8 MolWeight: 350 RetIndex: 2210
CompName: .alpha.-Linolenic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Trimethylsilyl (3E,6E,9E)-3,6,9-octadecatrienoic acid

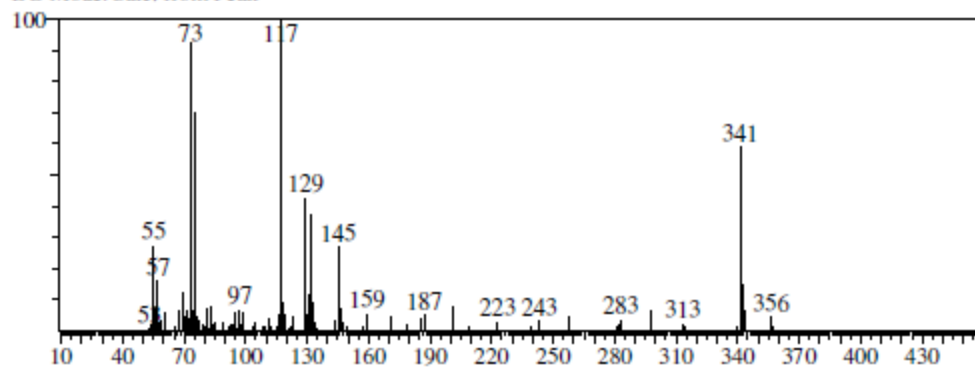


Hit#: 2 Entry: 254146 Library: WILEY7.LIB
SI: 92 Formula: C₂₁H₃₈O₂Si CAS: 97844-13-8 MolWeight: 350 RetIndex: 0
CompName: .ALPHA.-LINOLENIC ACID 1TMS \$\$.alpha.-Linolenic acid, trimethylsilyl ester \$\$

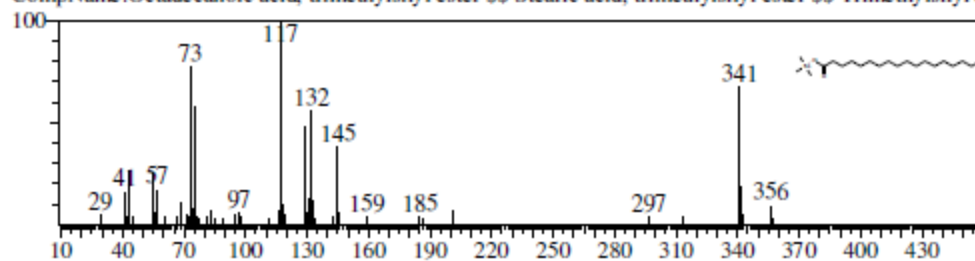


Anexo 15 Espectro de massas da substância ác esteárico eluída no $t_r=39,4$ min., comparado com o banco de dados.

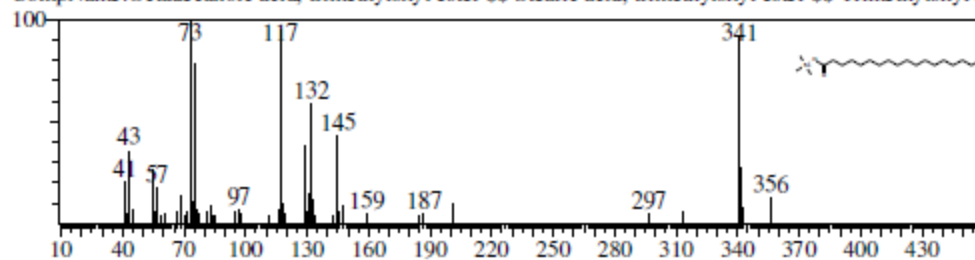
Line#: 15 R. Time: 39.360(Scan#: 1173) MassPeaks: 89
RawMode: Averaged 39.355-39.365(7172-7174) BasePeak: 117.05(28923)
BG Mode: Calc. from Peak



Hit#: 1 Entry: 148420 Library: NIST08.LIB
SI: 92 Formula: C₂₁H₄₄O₂Si CAS: 18748-91-9 MolWeight: 356 RetIndex: 2186
CompName: Octadecanoic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Stearic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Trimethylsilyl e

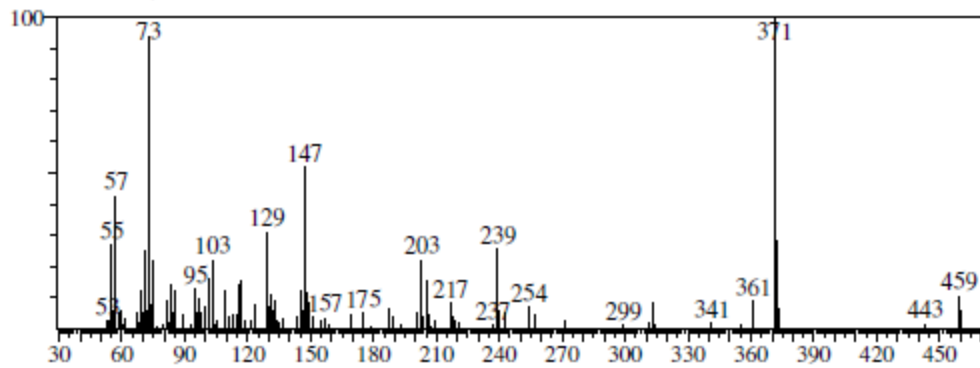


Hit#: 2 Entry: 26321 Library: NIST08s.LIB
SI: 92 Formula: C₂₁H₄₄O₂Si CAS: 18748-91-9 MolWeight: 356 RetIndex: 2186
CompName: Octadecanoic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Stearic acid, trimethylsilyl ester \$\$ Trimethylsilyl e

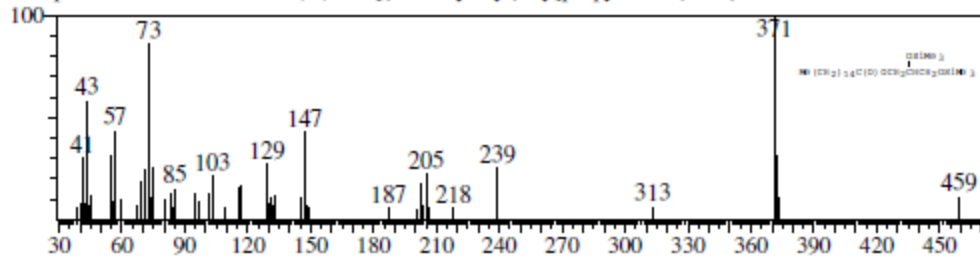


Anexo 16 Espectro de massas da substância ác hexadecanóico eluída no $t_r=48,6$ min., comparado com o banco de dados.

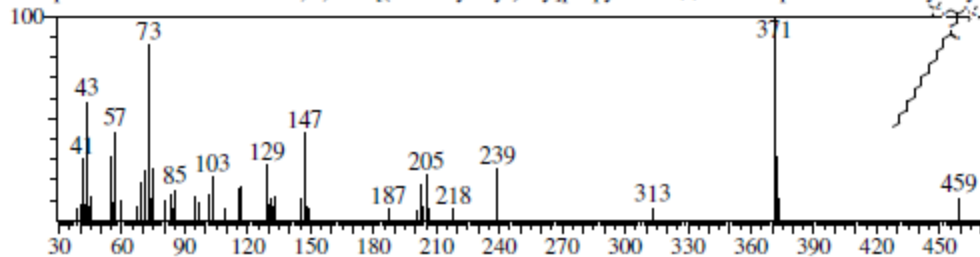
Line#: f6 R.Time:48.640(Scan#:9029) MassPeaks:102
RawMode:Averaged 48.635-48.645(9028-9030) BasePeak:371.30(30021)
BG Mode: Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:311323 Library:WILEY7.LIB
SI:91 Formula:C25H54O4Si2 CAS:1188-74-5 MolWeight:474 RetIndex:0
CompName:Hexadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester (CAS) 1-MONOPALMITIN-DI

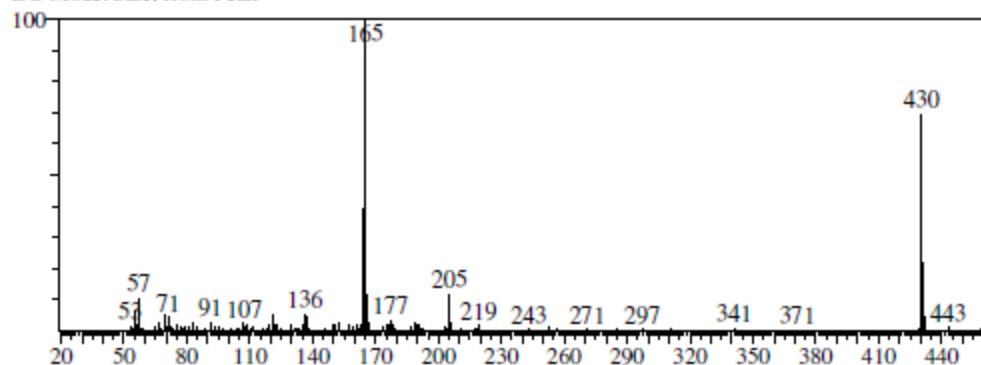


Hit#:2 Entry:27922 Library:NIST08s.LIB
SI:91 Formula:C25H54O4Si2 CAS:1188-74-5 MolWeight:474 RetIndex:2581
CompName:Hexadecanoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester \$\$ 1-Monopalmitin trimethylsilyl

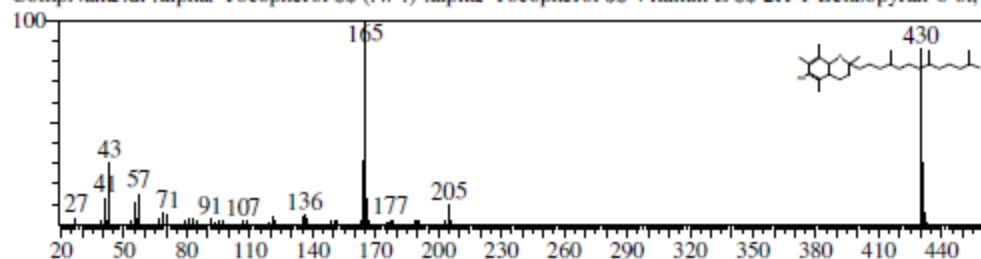


Anexo 17 Espectro de massas da substância ác hexadecanóico eluída no $t_r=48,6$ min., comparado com o banco de dados.

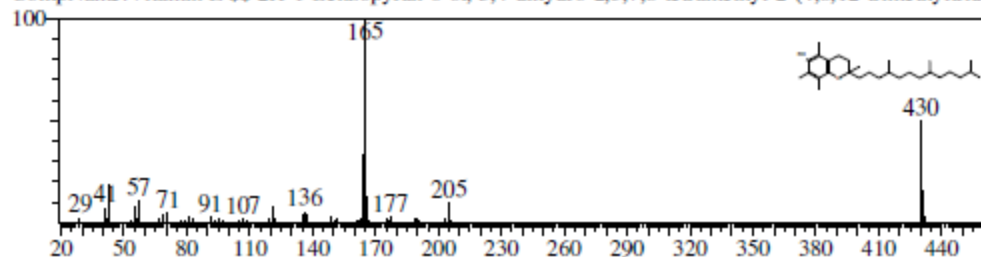
Line#:19 R.Time:60.650(Scan#:11431) MassPeaks:103
RawMode:Averaged 60.645-60.655(11430-11432) BasePeak:165.10(85217)
BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:27663 Library:NIST08s.LIB
SI:93 Formula:C₂₉H₅₀O₂ CAS:10191-41-0 MolWeight:430 RetIndex:3149
CompName:dl- α -Tocopherol SS (+/-)- α -Tocopherol SS Vitamin E SS 2H-1-Benzopyran-6-ol,

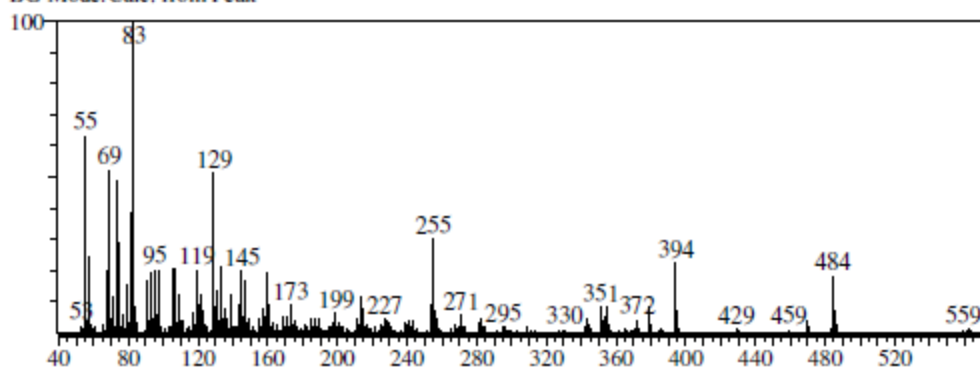


Hit#:2 Entry:27664 Library:NIST08s.LIB
SI:93 Formula:C₂₉H₅₀O₂ CAS:59-2-9 MolWeight:430 RetIndex:3149
CompName:Vitamin E SS 2H-1-Benzopyran-6-ol, 3,4-dihydro-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltrid

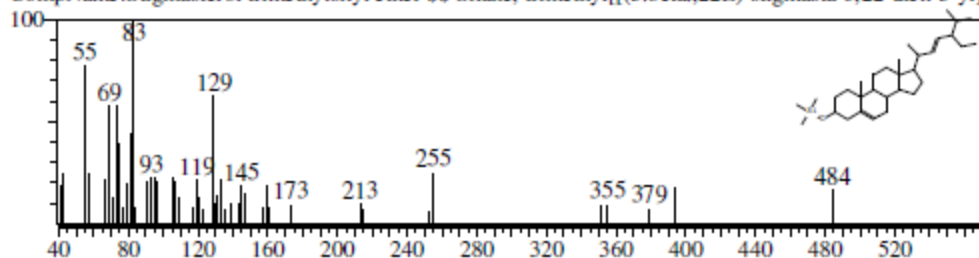


Anexo 18 Espectro de massas da substância estigmasterol eluída no $t_r=63,4$ min., comparado com o banco de dados.

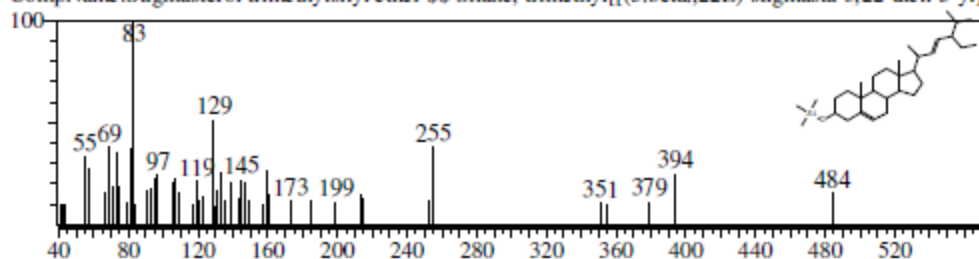
Line#: 21 R.Time: 63.385(Scan#: 11978) MassPeaks: 250
RawMode: Averaged 63.380-63.390(11977-11979) BasePeak: 83.10(97820)
BG Mode: Calc. from Peak



Hit#: 1 Entry: 183323 Library: NIST08.LIB
SI: 95 Formula: C₃₂H₅₆OSi CAS: 14030-29-6 MolWeight: 484 RetIndex: 2797
CompName: Stigmasterol trimethylsilyl ether \$\$ Silane, trimethyl[[3.beta.,22E)-stigmasta-5,22-dien-3-yl]

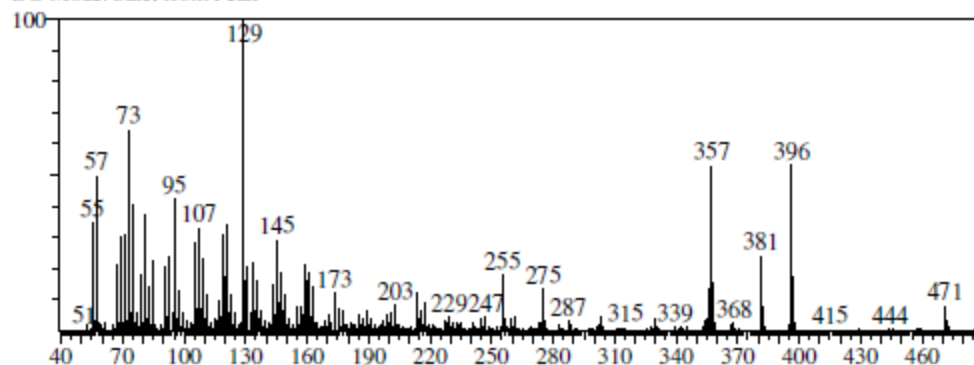


Hit#: 2 Entry: 27965 Library: NIST08s.LIB
SI: 92 Formula: C₃₂H₅₆OSi CAS: 14030-29-6 MolWeight: 484 RetIndex: 2797
CompName: Stigmasterol trimethylsilyl ether \$\$ Silane, trimethyl[[3.beta.,22E)-stigmasta-5,22-dien-3-yl]

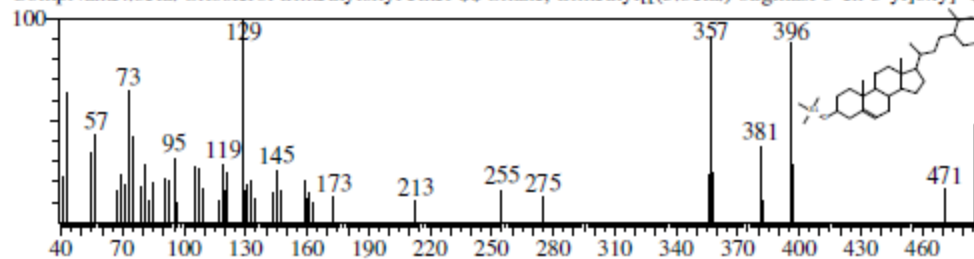


Anexo 19 Espectro de massas da substância sitosterol eluída no $t_r=64,7$ min., comparado com o banco de dados.

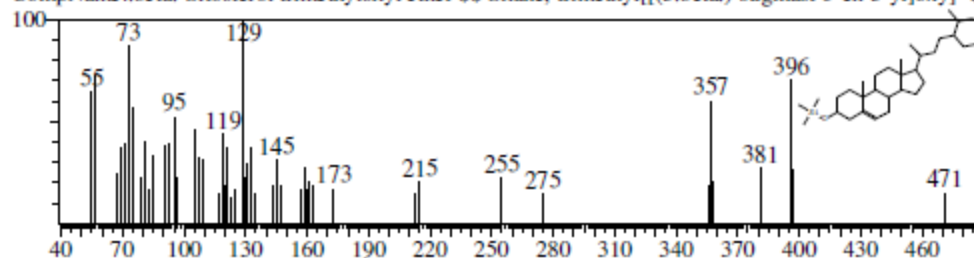
Line#:22 R.Time:64.695(Scan#:12240) MassPeaks:300
RawMode:Averaged 64.690-64.700(12239-12241) BasePeak:129.10(276335)
BG Mode:Calc. from Peak

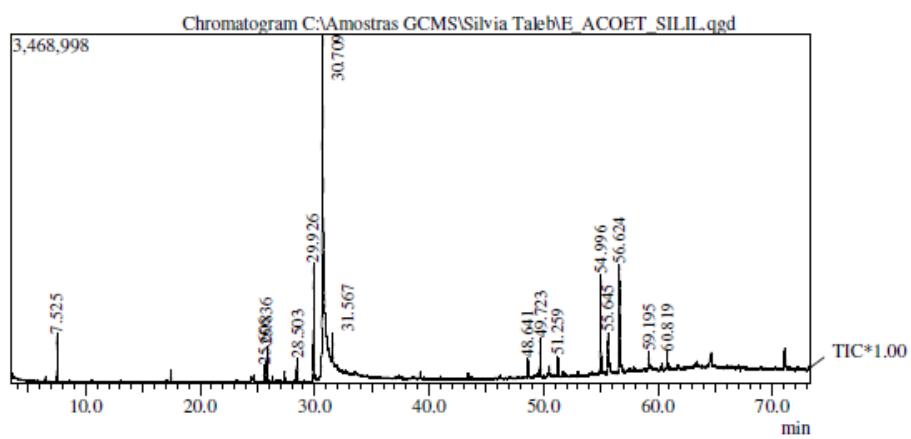


Hit#:1 Entry:183531 Library:NIST08.LIB
SI:91 Formula:C32H58OSi CAS:2625-46-9 MolWeight:486 RetIndex:2789
CompName:..beta.-Sitosterol trimethylsilyl ether \$\$ Silane, trimethyl[[3.beta.)-stigmast-5-en-3-yl]oxy]- S:



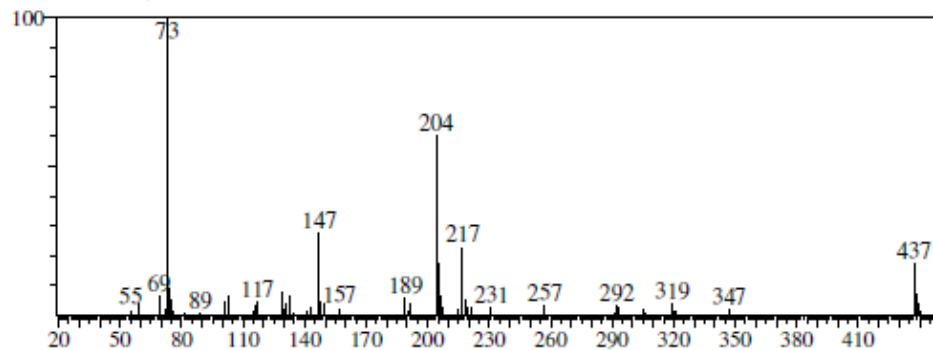
Hit#:2 Entry:27974 Library:NIST08s.LIB
SI:88 Formula:C32H58OSi CAS:2625-46-9 MolWeight:486 RetIndex:2789
CompName:..beta.-Sitosterol trimethylsilyl ether \$\$ Silane, trimethyl[[3.beta.)-stigmast-5-en-3-yl]oxy]- S:



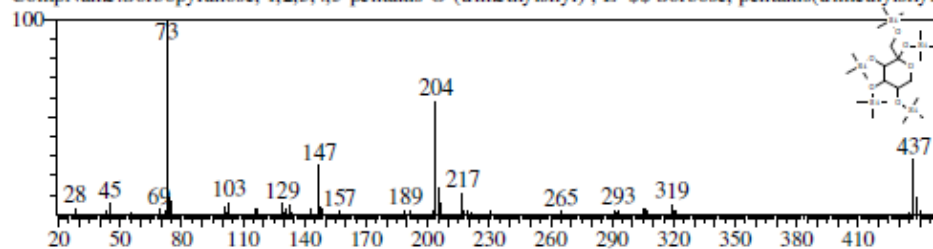
Anexo 20 Cromatograma obtido da fração AcOEt de *E. punicifolia*

Anexo 21 Espectro de massas da substância sorbose eluída no tr =25,8 min., comparado com o banco de dados.

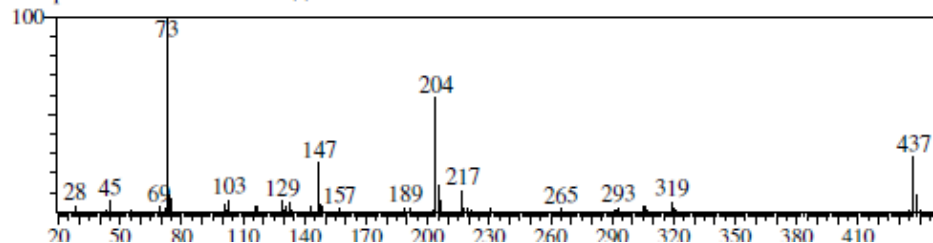
Line#:3 R. Time:25.835(Scan#:4468) MassPeaks:53
Raw Mode: Averaged 25.830-25.840(4467-4469) BasePeak:73.05(84680)
BG Mode: Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:186943 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C₂₁H₅₂O₆Si₅ CAS:30645-2-4 MolWeight:540 RetIndex:2049
CompName: Sorbopyranose, 1,2,3,4,5-pentakis-O-(trimethylsilyl)-, L- \$\$ Sorbose, pentakis(trimethylsilyl)

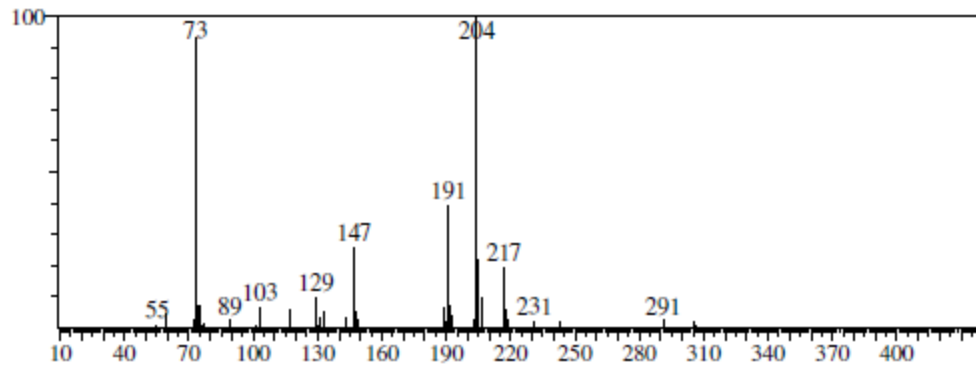


Hit#:2 Entry:322851 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C₂₁H₅₂O₆Si₅ CAS:0-0-0 MolWeight:540 RetIndex:0
CompName:SORBOSE STMS \$\$

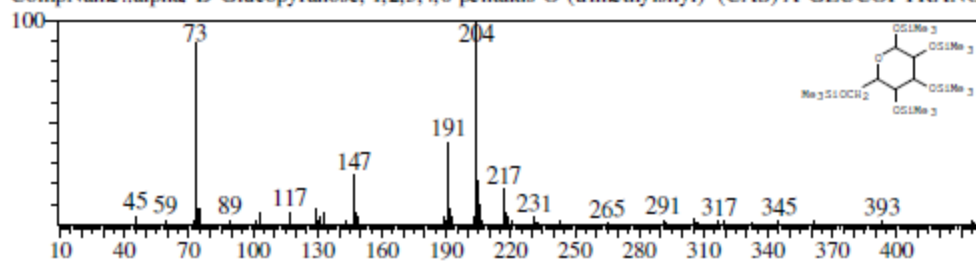


Anexo 22 Espectro de massas da substância alfa-D-glucopironose eluída no $t_r=28,5$ min., comparado com o banco de dados.

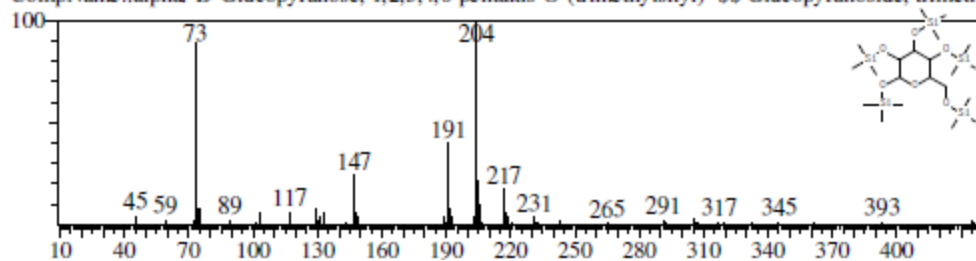
Line#: 4 R.Time: 28.505(Scan#: 5002) MassPeaks: 38
RawMode: Averaged 28.500-28.510(5001-5003) BasePeak: 204.10(52825)
BG Mode: Calc. from Peak



Hit#: 1 Entry: 323004 Library: WILEY7.LIB
SI: 96 Formula: C₂₁H₅₂O₆Si₅ CAS: 3327-61-5 MolWeight: 540 RetIndex: 0
CompName: .alpha.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)- (CAS) A-GLUCOPYRANO

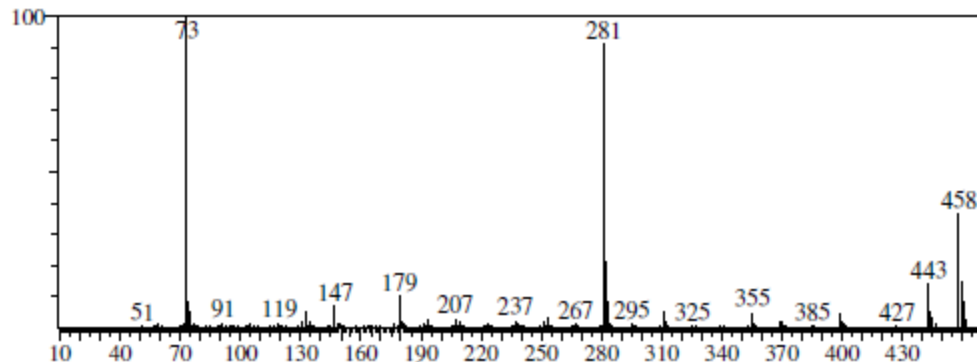


Hit#: 2 Entry: 186953 Library: NIST08.LIB
SI: 96 Formula: C₂₁H₅₂O₆Si₅ CAS: 3327-61-5 MolWeight: 540 RetIndex: 2037
CompName: .alpha.-D-Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)- \$\$ Glucopyranoside, trimethy

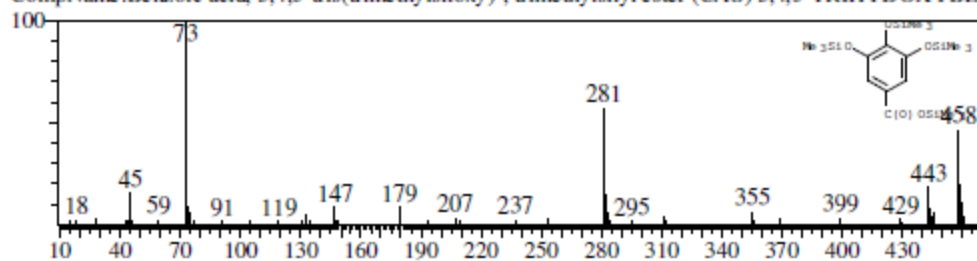


Anexo 23 Espectro de massas da substância ácido gálico eluída no $t_r=30,7$ min., comparado com o banco de dados.

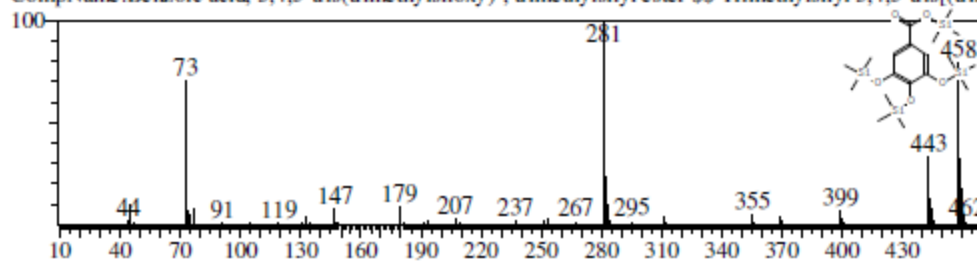
Line#:6 R.Time:30.710(Scan#:5443) MassPeaks:190
RawMode:Averaged 30.705-30.715(5442-5444) BasePeak:73.10(678255)
BG Mode:Calc. from Peak



Hit#:1 Entry:306959 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C19H38O5Si4 CAS:2078-17-3 MolWeight:458 RetIndex:0
CompName:Benzoic acid, 3,4,5-tris(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester (CAS) 3,4,5-TRIHYOXYBEI

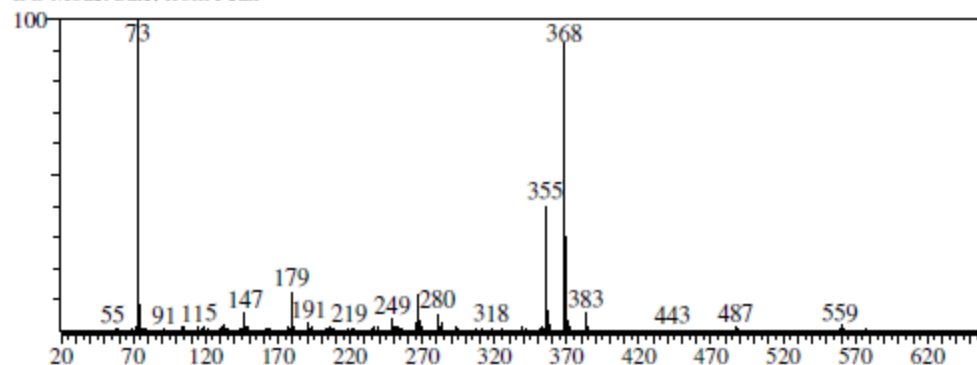


Hit#:2 Entry:27821 Library:NIST08s.LIB
SI:90 Formula:C19H38O5Si4 CAS:2078-17-3 MolWeight:458 RetIndex:2063
CompName:Benzoic acid, 3,4,5-tris(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester \$\$ Trimethylsilyl 3,4,5-tris[(trin

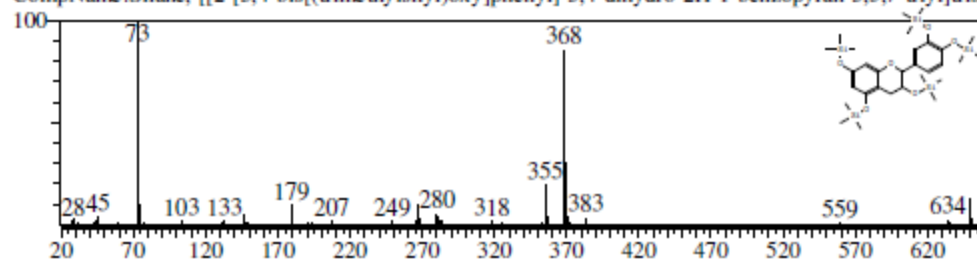


Anexo 24 Espectro de massas da substância quercetina eluída no $t_r=54,99$ min., comparado com o banco de dados.

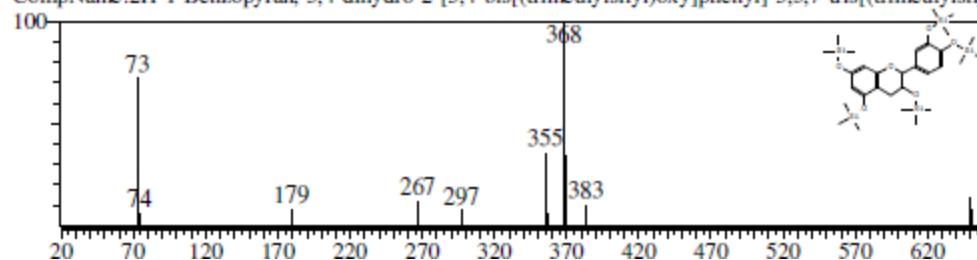
Line#:11 R.Time:54.995(Scan#:10300) MassPeaks:125
RawMode:Averaged 54.990-55.000(10299-10301) BasePeak:73.10(214160)
BG Mode:Calc. from Peak

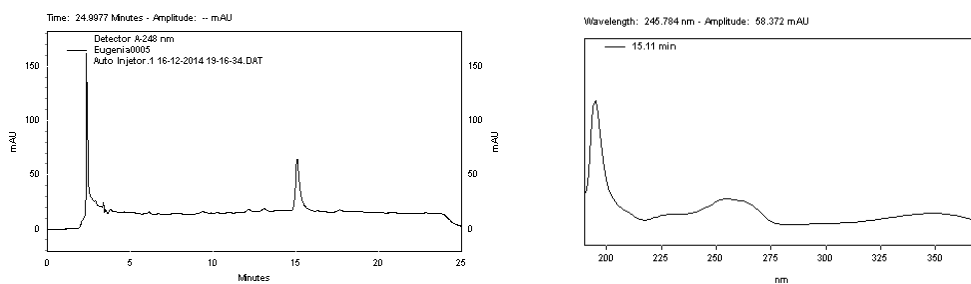
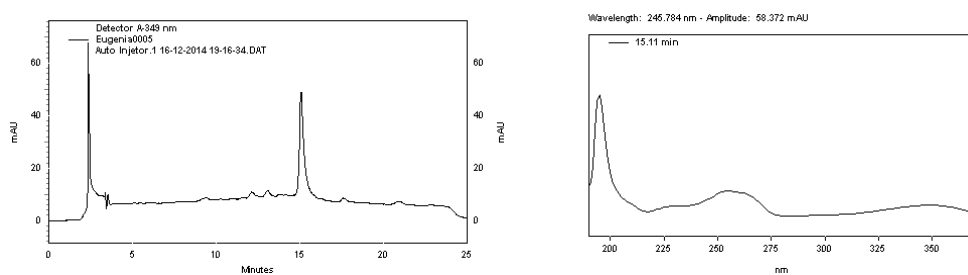
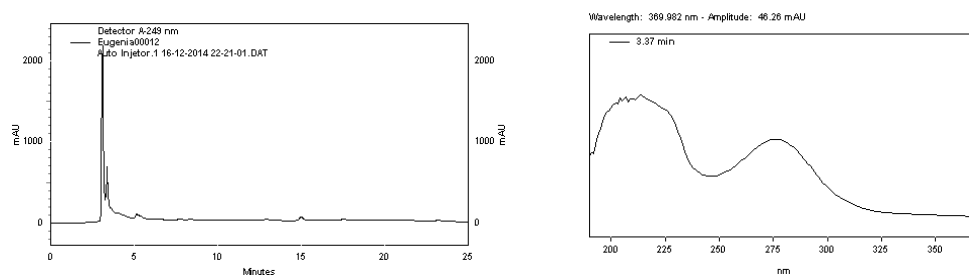
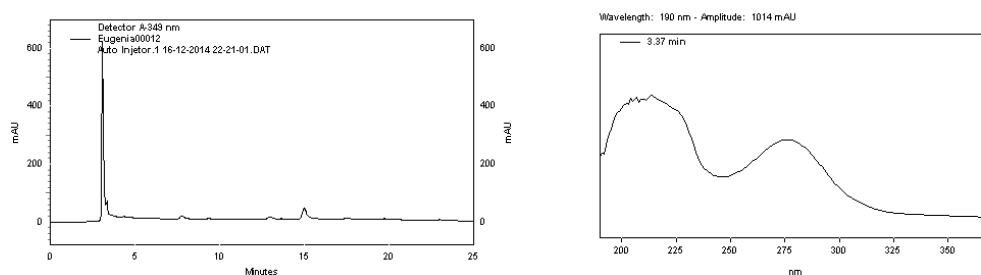


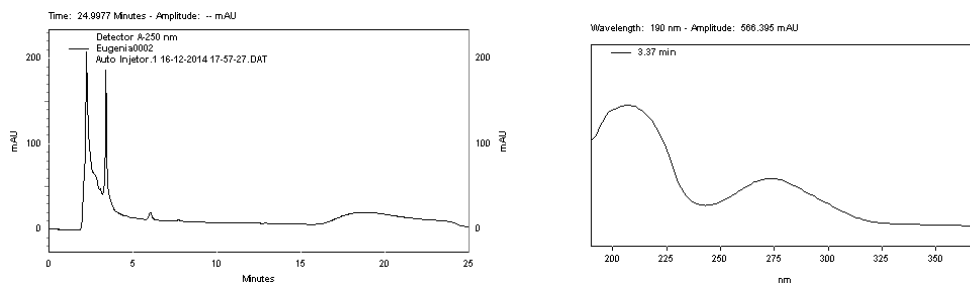
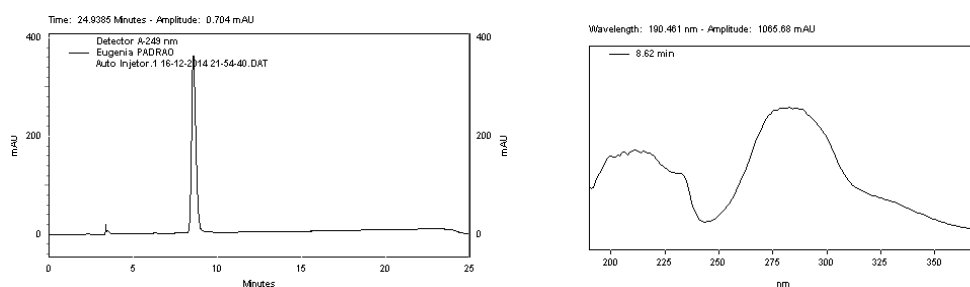
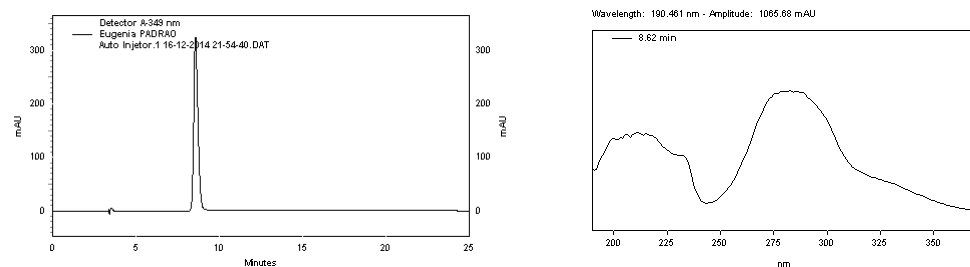
Hit#:1 Entry:189947 Library:NIST08.LIB
SI:90 Formula:C₃₀H₅₄O₆Si₅ CAS:89267-68-5 MolWeight:650 RetIndex:3228
CompName:Silane, [[2-[3,4-bis(trimethylsilyloxy)phenyl]-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-3,5,7-triyl]tris(



Hit#:2 Entry:189948 Library:NIST08.LIB
SI:83 Formula:C₃₀H₅₄O₆Si₅ CAS:64138-54-1 MolWeight:650 RetIndex:3228
CompName:2H-1-Benzopyran, 3,4-dihydro-2-[3,4-bis(trimethylsilyloxy)phenyl]-3,5,7-tris(trimethylsilyloxy)phenyl]



Anexo 25 Cromatograma e espectro de U.V $\lambda=250\text{nm}$ da amostra 5**Anexo 26** Cromatograma e espectro de U.V $\lambda=350\text{nm}$ da amostra 5**Anexo 27** Cromatograma e espectro de U.V $\lambda=250\text{nm}$ da amostra 12**Anexo 28** Cromatograma e espectro de U.V $\lambda=350\text{nm}$ da amostra 12

Anexo 29 Cromatograma e espectro de U.V $\lambda=250\text{nm}$ da amostra 0002**Anexo 30** Cromatograma e espectro de U.V $\lambda=250\text{nm}$ do padrão 2' 4' 6'-trihidroxiacetofenona**Anexo 31** Cromatograma e espectro de U.V $\lambda=350\text{nm}$ do padrão 2' 4' 6'-trihidroxiacetofenona

REFERÊNCIAS

- ADAMS, RP. **Identification of Essential Oils Components by Gas chromatography/Mass Spectrometry**, Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL. 1995.
- ADISAKWATTANA, S.; CHANATHONG, B. Alpha-glucosidase inhibitory activity and lipid-lowering mechanisms of *Moringa oleifera* leaf extract. **Eur Rev Med PharmacolSci**, v. 15, n. 7, p. 803-8, 2011.
- ADISAKWATTANA, S. et al. In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 12, n. 1, p. 110, 2012.
- AGUSTONI, D. **Avaliação da capacitação de quimioprevenção de *Eugenia jambolana* em linhagem de hepatocarcinoma celular (HepG2 e Hepa 1c1c7)**. 2012. Dissertação. Universidade Estadual Paulista "JULIO DE MESQUITA FILHO" - UNESP
- AMORIM, A. C. L. et al. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomedicine**, v. 16, n. 10, p. 923-928, 2009.
- AMOROZO, M.C.M.; GÉLY, A. Uso de plantas medicinais por caboclos do Baixo Amazonas, Barcarena, PA, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, série Botânica, v.4 (1), p.47-131, 1998.
- ANDERSON, R. A. Chromium, glucose intolerance and diabetes. **Journal of the American College of Nutrition**. v. 17, n. 6, p. 548-555, 1998.
- ANGELA, F. C. DE OLIVEIRA **Avaliação da atividade antioxidante em extratos de frutas típicas do cerrado brasileiro**. 2014. Dissertação. Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo.
- ARAÚJO, R.L. **Efeito dos compostos fenólicos de *E. dysenterica* DC. sobre aglicemia pós-prandial de indivíduos com síndrome metabólica e disglícemia**. Dissertação (Mestrado) -Faculdade de Ciências farmacêuticas-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- ARMSTRONG, L. **Estudos morfoanatômico, fitoquímico e de atividades biológicas de folha e caule de *Eugenia pyriformis* Cambess., Myrtaceae** 2011. Dissertação. Universidade Federal do Paraná.
- BATISTA, A.N.; COLOMBO, R.; DE PASCOLI, I.C.; TELES, H.L.; SILVA, G.H.; BOMFI M, G.C.C.; BURGOS, R.C.R.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.S.; SILVA, D.H.S; REIMBERG, M.C.H. Development and validation of a HPLC method for standardization of herbal and commercial extracts of *Myrciauniflora*. **Braz J. Pharmacogn**, 21(3), p.402-406, 2011.

- BARBAGALLO, M.; DOMINGUEZ, L.J. Magnesium and type 2 diabetes. **World journal of diabetes**, v. 6, n. 10, p. 1152, 2015.
- BARGER, G.; WHITE, F. D. Galuteolin, a New Glucoside from Galega officinalis. **Biochemical Journal**, v. 17, n. 6, p. 836, 1923.
- BORGES, K.B.; BAUTISTA, H.B.; GUILERA, S. Diabetes – Utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, p.12-20, 2008.
- BORK, P. M. et al. Sesquiterpene lactone containing Mexican Indian medicinal plants and pure sesquiterpene lactones as potent inhibitors of transcription factor NF- κ B. **FEBS letters**, v. 402, n. 1, p. 85-90, 1997.
- BRAHMACHARI, G. Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey. **Opportunity, challenge and scope of natural products in medicinal chemistry**, v. 2, p. 187-212, 2011.
- CÂNDIDO, C.S., PORTELLA, C.S.A.; LARANJEIRA, B.J.; DA SILVA, S.S.; ARRIAGA, A.M.C.; SANTIAGO, G.M.P.; GOMES, G.A.; ALMEIDA, P.C.; CARVALHO, C.B.M. Effects of *Myrcia ovata* Cambess. Essential oil on planktonic growth of gastrointestinal microorganisms and biofilm formation of *Enterococcus faecalis*. **Braz. J. Microbiol**, 41, p. 621-627, 2010.
- CASTRO, V.R. Chromium in a series of Portuguese plants used in the herbal treatment of diabetes. **Biol Trace Elem Res**, v.62 (1-2), p.101-6, 1998.
- CEFALU, W.T.; HU, F.B. Role of chromium in human health and in diabetes. **Diabetes Care**. v. 27, n. 11, 2004.
- CERQUEIRA M.D.; SOUZA-NETA L.; PASSOS, M.G.V. M.; LIMA, E.O.; ROQUE, N.F.; MARTINS, D.; GUEDES, M.L.S.; CRUZ, F.G. Seasonal variation and antimicrobial activity of *Myrcia myrtifolia* essential oils. **J Braz Chem Soc**, v. 18, p. 998-1003, 2007.
- CERQUEIRA, M.D.; MARQUES, E.J.; MARTINS, D.; ROQUE, N.F.; CRUZ, F.G.; GUEDES, M.L.S. Variação sazonal da composição do óleo essencial de *Myrcia salzmannii* Berg. (Myrtaceae). **Quimica Nova**, v.32, p.1544-1548, 2009.
- CHANG, Chia-Hsuin et al. Cardiovascular Risk Associated With Acarbose Versus Metformin as the First-Line Treatment in Patients With Type 2 Diabetes: A Nationwide Cohort Study. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 3, p. 1121-1129, 2015.
- CHOO, C.Y. et al. Vitexin and isovitexin from the leaves of *Ficus deltoidea* with in-vivo α -glucosidase inhibitor. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p.-776-781. 2012.

CHOWDHURY, S.; PANDIT, K.; ROYCHOWDURY, P.; BHATTACHARYA, B. Role of chromium in human metabolism, with special reference to type 2 diabetes. **Japi**. v. 51, 2003.

COLE, R.A.; HABER, W.A.; SETZER, W.N. The leaf oil composition of *Myrcia splendens* from Monte verde, Costa Rica. **J. Essent Oil-Bear Plants**, v.11, p.41-44, 2008.

COSTA-LOTUFO, L.V.; MONTENEGRO, R.C.; ALVES, A.P.N.N., MADEIRA, S.V.F.; PESSOA, C.; MORAES, M.E.A.; MORAES, M.O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Rev. Virtual Quim.**, v.2 (1), p.47-58, 2010.

CONSOLINI, A. E.; BALDINI, O. A.N.; AMAT, A. G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, n. 1, p. 33-39, 1999.

CRUZ, A.V.M; KAPLAN, M.A.C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomaceae no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 11, p. 47 - 52, 2004.

DAMETTO, A. C. Bioprospecção em *Eugenia jambolana* (Myrtaceae). 2010.

DAMETTO, A. C. **Estudo químico e avaliação da atividade biológica de *Eugenia brasiliensis* e *Eugenia involucrata* (Myrtaceae)**. 2014. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista.

DA ROSA, R. L. **Avaliação do potencial gastroprotetor e antiúlcera das sementes da *Eugenia involucrata* DC (cereja do mato) e *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jaca) em roedores** 2013. Dissertação. Universidade do Vale do Itajaí.

DE CASTRO, J. J. et al. Efetividade e segurança de vildagliptina comparativamente com outros antidiabéticos orais em doentes com diabetes tipo 2: estudo EDGE em Portugal. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, 2015.

DE SOUZA, A. M. **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Eugenia pyriformis* Cambess., Myrtaceae e estudo da associação sinérgica com agentes antibacterianos e antifúngicos de uso clínico**. 2013. Dissertação. Universidade Federal do Paraná.

DO NASCIMENTO, A. C. C.; DO NASCIMENTO, I. A.; CLAUDINO, G. P. **Prospecção Química, Atividade Citotóxica e Avaliação do Potencial Antioxidante dos Extratos da Casca do Caule de uma Espécie de *Eugenia* L.** Instituto Federal do Espírito Santo.

DOS SANTOS, K. K. A. **Atividade anti-epimastigota, citotóxica e fungicida de plantas medicinais da Região do Cariri**, 2011. Dissertação. Universidade do Criri - Urca.

FRANQUI, L. S. et al. Extração de ácido trans-trans mucônico urinário com polímeros de impressão molecular e análise por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Quim. Nova**, v. 35, n. 8, p. 1577-1581, 2012.

FERREIRA, A.C.F.; NETOS, J.C.; DA SILVA, A.C.M.; KUSTER, R.M.; CARVALHO, D.P. Inhibition of thyroid peroxidase by *Myrcia uniflora* flavonoids. **Chem. Res. Toxicol.**, v.19, p.351-355, 2006.

FERREIRA, E. A. et al. Potent hepatoprotective effect in CCl₄-induced hepatic injury in mice of phloracetophenone from *Myrcia multiflora*. **Libyan Journal of Medicine**, v. 5, n. 1, 2010.

FERREIRA, E.A.; GRIS, E.F.; REEBLLO, J.M.; CORREIA, J.F.; de OLIVEIRA, L.F.; FILHO, D.W.; PEDROSA, R.C. The 2',4',6'-Trihydroxyacetophenone isolated from *Myrcia multiflora* has antiobesity and mixed hypolipidemic effects with the reduction of lipid intestinal absorption. **Planta Med.**, 2011

FREIRE, M. de Fátima I. Metais pesados e plantas medicinais. **Rev. Cient. Eletr. Agron**, p. 1-14, 2005.

FRIGHETTO, N. et al. Aplicação de cromatografia centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. **Rev Bras Farmacogn**, v. 15, p. 338-343, 2005.

GALENO, D. M. L. et al. Extract from *Eugenia punicifolia* is an antioxidant and inhibits enzymes related to metabolic syndrome. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 172, n. 1, p. 311-324, 2014.

GILIOLI, A. **Análise fitoquímica e atividade biológica de *Eugenia umbelliflora*** 2010. Dissertação. Universidade de Santa Catarina.

GUIMARÃES, A. G. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Eugenia candolleana* DC., Myrtaceae, on mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 883-887, 2009.

GRÖBER, U.; SCHMIDT, J.; KISTERS, K. Magnesium in Prevention and Therapy. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 8199-8226, 2015.

GOLAN, D. E.; TASHJIAN, J. A.; ARMSTRONG, E.J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de farmacologia - A base fisiopatológica da farmacologia**, ed. 2014.

GU, Jian-Qiao et al. Constituents of *Eugenia sandwicensis* with potential cancer chemopreventive activity. **Phytochemistry**, v. 58, n. 1, p. 121-127, 2001.

GUSMÃO, E.C.R. "Diabetes mellitus: dimensões psicoemocionais à luz da medicina tradicional chinesa (Diabetes mellitus: psycho-emotional dimensions in the light of traditional Chinese medicine)." **Revista CES Psicologia** 8.1 (2015): 47-62.

HENRIQUES, A.T.; SOBRAL, M.; BRIDI, R.; VÉRIN, P.; MENUT, C.; LAMATY, G.; BESSIÈRE, J.M. Essential oils from five southern brazilian species of Myrcia (Myrtaceae). **J Essent Oil Res**, v.9: 13-18, 1997.

HONG-FANG, J.; LI, X; ZHANG, H. Natural products and drug discovery.**EMBO reports**, v.10, p.194-200, 2009.

HUSSEIN, S. A. M et al. Polyoxygenated flavonoids from *Eugenia edulis*.**Phytochemistry**, v. 64, n. 4, p. 883-889, 2003.

ISER, Betine Pinto Moehlecke et al. Prevalência de diabetes autorreferido no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde 2013.**Epidemiol. Serv. Saúde** [online]. 2015, v.24, n.2, p. 305-314. Epub Apr 2015.ISSN 2237-9622.

JORGE, L.; AGUIAR, J.; SILVA, M.L. Anatomia foliar de pedra-hume (Myrtaceae). **Actaamazônica**, v.30(1), p.49-57, 2000.

KAR, A.; CHOUDHARY, B.K.; BANDYOPADHYAY, N.G. Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycaemic herbs on oral glucose tolerance test.**J.Ethnopharmacol.**, v.64(2), p.179-84, 1999.

KUMAR, S.; KUMAR V.; RANA, M.; KUMAR D. Enzymes Inhibitors From Plants: An Alternate Approach To Treat Diabetes **Pharmacognosy Communications** v.2, n.2, Apr / June 2012.

KWON, M.J.; CHUNG, H.S.; YONN, C.S.; KO, J.H.; JUN, H.J.; KIM, T.K.; LEE, S.H.; KO, K.S.; RHEE, B.D.; KIM, M.K.; PARK, J.H. The effect of chromium on rat insulinoma cells in high glucose conditions.**Life Sciences**, v.87, p.401-404, 2010.

LAGO, J. H. G. et al. Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of myrtaceae *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, v. 16, n. 12, p. 9827-9837, 2011.

LEE, Mei-Hsien et al. EBV DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*. **Cancer letters**, v. 154, n. 2, p. 131-136, 2000.

LEITE, P. E. C. et al. Anti-inflammatory activity of *Eugenia puniceifolia* extract on muscular lesion of mdx dystrophic mice. **Journal of cellular biochemistry**, v. 111, n. 6, p. 1652-1660, 2010.

LIMA, B. G. **Estudo fitoquímico e biológico de *Eugenia sulcata* Spring ex Mart** 2012. Dissertação. Universidade Federal Fluminense

LIMBERGER, R.P. APEL, M.A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E.E.S.; HENRIQUES, A. "Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de espécies da família Myrtaceae.". **Revista Brasileira de Farmácia** 79 (1998): 49-52.

LIMBERGER, R.P.; SOBRAL, M., HENRIQUES, A.T.; MERUT,C., MEMERE, J.M. Óleos voláteis de espécies de Myrcia Nativas do Rio grande do Sul.**Química Nova**, 27(6), p.916-919, 2004.

- LIMA, T. B. **Caracterização fitoquímica da cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) para compostos laxativos e antidiarréicos.** 2007. Tese de Doutorado. Universidade Católica de Brasília.
- MACHADO, K. E. et al. Potent Antibacterial Activity of *Eugenia umbelliflora*. **Pharmaceutical biology**, v. 43, n. 7, p. 636-639, 2005.
- MAHMOUD, I. I. et al. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. **Phytochemistry**, v. 58, n. 8, p. 1239-1244, 2001.
- MAIA, J.G.S.; ANDRADE, E.H.A.A. Database of the amazon aromatic plants and their essential oils. **Química Nova**, v.32(3), p.595-622, 2009.
- MALHEIROS, S.V.P.; REGAZZINI, R.V.; SEGURA, R.A.P.; OLIVO, L.P.; STELLA, H.J.; BREDASTELLA, M. Effect of *Myrcia guianensis* (Pedra-ume-cao) infusion on Wistar rat glycemia and lipidemia. **Perspectivas Médicas**, v.21(2), p.17-23, 2010.
- MAHMOUD, I. I. et al. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. **Phytochemistry**, v. 58, n. 8, p. 1239-1244, 2001.
- MATSUDA, M.; NISHIDA, N.; YOSHIKAWA, M. Antidiabetic principles of natural medicines. V. aldose reductase inhibitors from *Myrcia multiflora* DC. (2): Structures of Myrciacitrins III, IV and V. **Chem. Pharm. Bull**, v.50(3), p.429-431, 2002.
- MENONCIN, S. M. **Avaliação da atividade antibacteriana de extratos e frações de *Eugenia umbelliflora* e *Eugenia beaurepaireana* através do método de microdiluição em caldo** 2007. Dissertação. Universidade Regional de Blumenau.
- MORS, W.B.; RIZZINI, C.T., PEREIRA, N.A. **Medicinal Plants of Brazil**. 1ª ed. Michigan, USA: Reference Publications, 2000. 501 p.
- MURGATROYD, C. "Epigenetic programming of neuroendocrine systems during early life." **Experimental physiology** 99.1 (2014): 62-65.
- NARDI, E. P. et al. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 727-732, 2009.
- NAKAMURA, M. J. et al. Essential oils of four Myrtaceae species from the Brazilian southeast. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, n. 6, p. 1170-1175, 2010.
- NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v.41(2), 2005.
- NETO, E. M. R. et al. Metformina: uma revisão da Literatura. **Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 2, p. 355-362, 2015.

- OLIVEIRA, A. Marques de et al. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L.(Myrtaceae). **Rev. bras. farmacogn**, v. 16, n. supl, p. 618-624, 2006.
- OLIVEIRA, R. N de; DIAS, I. J. M.; CÂMARA, C. A. G. Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugenia puniceifolia* (HBK) DC. de diferentes localidades de Pernambuco. **Rev Bras Farmacogn**, v. 15, p. 39-43, 2005.
- PASCUAL, R. de et al. Augmentation of catecholamine release elicited by an *Eugenia puniceifolia* extract in chromaffin cells. **Rev. bras. farmacogn**. [online]. 2012, v.22, n.1, p. 1-12. Epub Oct 14, 2011. ISSN 0102-695X.
- PEPATO, M.T.; OLIVEIRA, J.R.; KETTELHUT, I.C.; MIGLIORINI, R.H. Assessment of the antidiabetic activity of *Myrcia uniflora* extracts in streptozotocin diabetic rats. **Diabetes Res**, v. 22(2), p.49-57, 1993.
- PRINCE, P.S.M.; KAMALAKKNNAN, N.; MENON, V.P. Antidiabetic and antihyperlipidaemic effect of alcoholic *Syzygium cumini* seeds in alloxan induced diabetic albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p.209–213, 2004.
- REIS, M. A. de Barros; VELLOSO, L.A.; REYES, F. G. Alterações do metabolismo da glicose na deficiência de magnésio. **Rev. nutr**, v. 15, n. 3, p. 333-340, 2002.
- ROCHA, W.S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.
- RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J.M.; PIRES, J.M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte I. **Braz. J. Pharmacogn.**, 20(6), 981-991, 2010.
- ROTTER, I. et al. Relationship between serum magnesium concentration and metabolic and hormonal disorders in middle-aged and older men. **Magnesium Research**, v. 28, n. 3, p. 99-107, 2015.
- RUSSO, E.M.K.; REICHEL, J.R.; DE-SÁ, R.P.; FURLANETTO, R.C.S; MOISÉS, T.S.; KASAMATSU, T.S.; CHACRA, A.R. Clinical Trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v.23, p.11-20, 1990.
- SALVADOR, M.J.; DE LOURENCO, C.C.; ANDREAZZA, N.L.; PASCOAL, A.C.R.F.; STEFANELLO, M.E.A. Antioxidant capacity and phenolic content of four myrtaceae plants of the south of Brazil. **Nat. Prod. Comm.**, v. 6(7), p.977-982, 2011.
- SALES, D. S. et al. *Eugenia puniceifolia* (Kunth) DC.as an adjuvant treatment for type-2 diabetes mellitus: a non-controlled, pilot study. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 12, p. 1816-1821, 2014.
- SANTOS, H.S.; MESQUITA, F.M.R.; LEMOS, T.L.G.; MONTE, F.J.Q.; BRAZ-FILHO, R. Diterpenos casbanos e acetofenonas de *Croton nepetaefolius* (Euphorbiaceae). **Quim. Nova**, v. 31, n. 3, p. 601-604, 2008.

- SANTOS, J. L. Dos et al. Essential oil *Eugenia astringens* Cambess. quantitative analysis and potential assessment antimicrobial, cytotoxic and genotoxic. **European Journal of Botany Plant Science and Pathology**, v. 2, n. 1, p. 1-17, 2015.
- SANTOS, M. H. F. et al. **Estudo químico e avaliação biológica das espécies *Byrsonima coccolobifolia* Kunth. (malpighiaceae) e *Eugenia malaccensis* L.(myrtaceae).** 2013. Dissertação. Universidade Federal de Goiás
- SENNA, Leonardo Martins et al. Composição volátil das folhas de *Eugenia racemulosa* O. Berg. (Myrtaceae). **Rev. Bras. Farm.**, v. 92, n. 2, p. 51-54, 2011.
- SOUZA, P. Monteiro de. **Atividade de inibição enzimática por espécies vegetais do bioma cerrado.** 2011. Dissertação. Universidade de Brasília.
- SCHAPOVAL, E. E. S. et al. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. **Journal of ethnopharmacology**, v. 44, n. 3, p. 137-142, 1994.
- SCHOENFELDER, T.; WARMLIN, C.; MANFREDINI, M.S.; PAVEI, L.L.; RÉUS, J.V.; TRISTÃO, T.C.; FERNANDES, M.S.; COSTA-CAMPOS, L. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of leaves from *Syzygium cumini* (L.) Skeels, Myrtaceae. in diabetic rats. **Braz. J. Pharmacogn.**, v.20(2), p. 222-227, 2010.
- SHINDE, et al., Alpha-glucosidase inhibitory activity of *Syzygiumcumini* (Linn.)Skeels seed kernel in vitro and in Goto-kakizaki (GK) rats **Carbohydrate Research**, v. 343, n. 7, 19 May 2008, p. 1278-1281
- SHARMA, S.; AGRAWAL, R.P.; CHOUDHARY, M.; JAIN, S.; GOYAL, S.; AGRAWAL, V. Beneficial effect of chromium supplementation on glucose HbA 1 C and lipid variables in individuals with newly onset type-2 diabetes. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, 2011.
- SHIM, Young-Jun et al. Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhuschinensis* on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose. **Journal of ethnopharmacology**, v. 85, n. 2, p. 283-287, 2003.
- SCHWARS, K.; MERTZ, W. A glucose tolerance factor and its differentiation from factor 3. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.72 (2), p.515-518, 1957.
- SILVA, L. R.; TEIXEIRA, R. Phenolic profile and biological potential of *Endopleura uchi* extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 2015.
- SIXEL, P. J.; PECINALLI, N. R. Características farmacológicas gerais das plantas medicinais. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 16, n. 13/14, p. 74-77, 2013.
- SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. **Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 27 Fev. 2015.

- SOUZA, Amanda de et al. Chemical composition and acetylcholinesterase inhibitory activity of essential oils of *Myrceugenia myrcioides* (Cambess.) O. Berg and *Eugenia riedeliana* O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 175-179, 2010.
- STEFANELLO, M.E.A.; CERVI, A.C.; WISNIEWSKI JR, A.; SIMIONATTO, E.L. Essential oil composition of *Myrcia laruotteana* Camb. **J Essent Oil Res**, v.19, p. 466-467, 2007.
- STEFANELLO, M.E.A; PASCOAL, A.C.R.F.; SALVADOR, M.J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical Diversity and Biological Properties. **Chemistry & Biodiversity**, v.8, p.73-94, 2011.
- STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. **Eclética Química**, v. 34, n. 3, p. 7-16, 2009.
- VIEIRA, G.P. **Compostos fenólicos, capacidade antioxidante e alcaloides em folhas e frutos (pericarpo, polpa e sementes) de *Passifloras spp.*** Dissertação para obtenção do grau de mestre, do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos e Nutrição Experimental, Área de Bromatologia, Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, 2013.
- VINCENT, J. B. The biochemistry of chromium. **J Nutr**, v.130, n. 4, p. 715-8, 2000.
- WANG, ZHI-BIN et al. α -Glucosidase inhibitory constituents from *Acanthopanax senticosus* harm leaves. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6269-6276, 2012.
- WITTERS, Lee A. The blooming of the French lilac. **The Journal of clinical investigation**, v. 108, n. 8, p. 1105-1107, 2001.
- YOSHIKAWA, M.; SHIMADA, H.; NISHIDA, N.; LI, Y.; TOGUCHIDA, I.; YAMAHARA, J.; MATSUDA, H. Antidiabetic principles of natural medicines. II. Aldose reductase and alpha-glucosidase inhibitors from Brazilian Natural Medicine, the leaves of *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae): Structures of Myrciacitrins I and II and Myrciaphenones A and B. **Chem. Pharm. Bull**, v.46 (1), p.113-119, 1998.
- ZIMMET, P. Z., et al. "**Diabetes: a 21st century challenge.**" *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2.1 (2014): 56-64.
- ZINIEWICZ, H.K. et al. Relationships between serum calcium and magnesium levels and lipoproteins, homocysteine and insulin resistance/sensitivity markers at birth. **Nutr Hosp**, v. 31, n. 1, p. 278-285, 2015.
- ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SILVA, M.H.L.; CARREIRA, L.M.M.; MAIA, J.G.S. Essential oils from three *Myrcia* species. **FlavourFrag J.**, v.18, p. 421-424, 2003.

ZOGHBI, M. G. B. et al. Chemical variability of the volatiles from the leaves of *Eugenia protenta* McVaugh (Myrtaceae) growing wild in the North of Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, n. 4, p. 660-665, 2011.

ZORZIN, F. M. **Avaliação da atividade de inibição de alfa-amilase e padronização do extrato aquoso da folha de *Eugenia dysenterica***. 2014. Dissertação. Universidade de Brasília.

ZULLO, M.A.T. Extração e isolamento de diosgenina de barbasco. **Bragantia**, v. 46, n. 1, p. 9-15, 1987.